



(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 I876687 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 03 月 11 日

(21)申請案號：112144815

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 16 日

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

C07K16/30 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

G01N33/574 (2006.01)

(30)優先權：2015/06/16 美國

62/180,459

(71)申請人：美商建南德克公司(美國) GENENTECH, INC. (US)

美國

(72)發明人：赫尼爾 伊西得洛 HOTZEL, ISIDRO (US)；強提拉 提姆 T JUNTILA, TEEMU

T. (FI)；李 吉 LI, JI (US)；舍爾 賈斯汀 SCHEER, JUSTIN (US)；迪卡拉 丹

尼爾 DICARA, DANIELLE (GB)；埃勒曼 迪亞哥 ELLERMAN, DIEGO (US)；施

皮斯 克里斯托夫 SPIESS, CHRISTOPH (DE)；卡特 保羅 CARTER, PAUL (US)

(74)代理人：陳長文；朱淑尹

(56)參考文獻：

TW 201508008A

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：70 項 圖式數：41 共 439 頁

(54)名稱

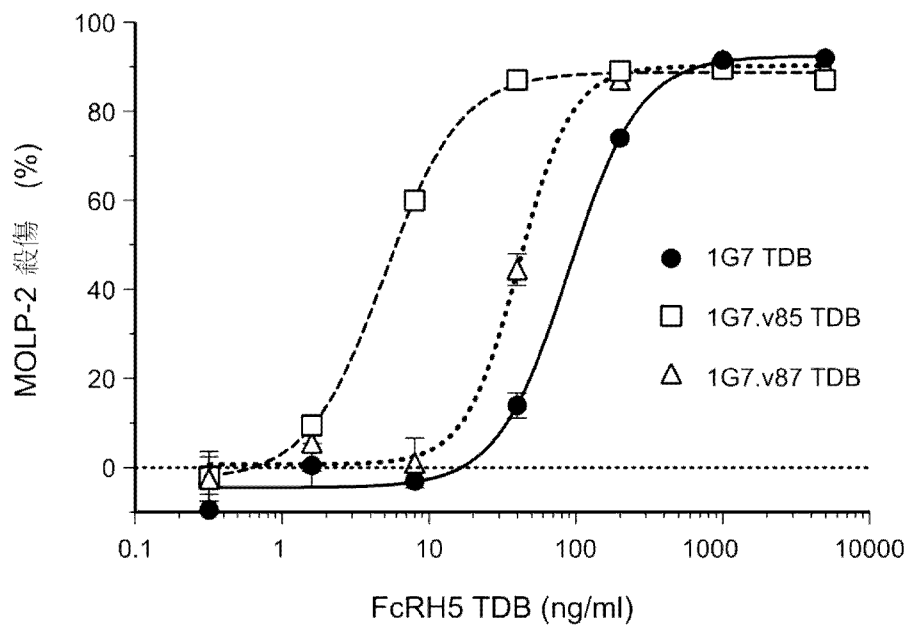
FcRH5 之人源化及親和力成熟抗體及使用方法

(57)摘要

本發明係關於抗 FcRH5 抗體，包括包含 FcRH5 結合域及 CD3 結合域之抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 T 細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體)，及使用該抗體之方法。

The present invention relates to anti-FcRH5 antibodies, including anti-FcRH5 antibodies comprising an FcRH5 binding domain and a CD3 binding domain (e.g., FcRH5 T cell-dependent bispecific (TDB) antibodies), and methods of using the same.

指定代表圖：



【圖19B】



I876687

【發明摘要】

【中文發明名稱】

FcRH5之人源化及親和力成熟抗體及使用方法

【英文發明名稱】

HUMANIZED AND AFFINITY MATURED ANTIBODIES TO
FcRH5 AND METHODS OF USE

【中文】

本發明係關於抗FcRH5抗體，包括包含FcRH5結合域及CD3結合域之抗FcRH5抗體(例如，FcRH5 T細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體)，及使用該抗體之方法。

【英文】

The present invention relates to anti-FcRH5 antibodies, including anti-FcRH5 antibodies comprising an FcRH5 binding domain and a CD3 binding domain (e.g., FcRH5 T cell-dependent bispecific (TDB) antibodies), and methods of using the same.

【指定代表圖】

圖19B

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

FcRH5之人源化及親和力成熟抗體及使用方法

【英文發明名稱】

HUMANIZED AND AFFINITY MATURED ANTIBODIES TO
FcRH5 AND METHODS OF USE

【技術領域】

【0001】 本發明係關於抗FcRH5抗體及使用其之方法。

【先前技術】

【0002】 細胞增殖病症，諸如癌症之特徵為細胞亞群的不受控制之生長。它們是發達國家的死亡之主要原因，發展中國家的死亡之第二大原因，每年確診超過1400萬新增癌症病例，超過800萬人死於癌症。美國國家癌症研究所估計，超過50萬美國人將在2016年死於癌症，佔了全國死亡人數的將近四分之一。隨著老年人口之增長，癌症發病率同時上升，因為在七十歲後患癌症之概率增加兩倍。因此，癌症治療代表了顯著和不斷增加的社會負擔。

【0003】 Fc受體樣5(FcRH5，亦稱為FcRL5及IRTA2)屬於免疫球蛋白超家族(IgSF)之6個新近識別基因之家族。此基因家族與具有保守基因組結構、細胞外Ig域組成及免疫受體酪胺酸基抑制(ITIM)及免疫受體酪胺酸基活化(ITAM)樣信號傳導基序之Fc受體密切相關(Davis等人*Eur. J. Immunol.* 35:674-80, 2005)。已描述FcRH/IRTA受體家族之六個成員：FcRH1/IRTA5、FcRH2/IRTA4、FcRH3/IRTA3、FcRH4/IRTA1、FcRH5/IRTA2及FcRH6 (Polson等人*Int. Immunol.*

18(9):1363-1373, 2006。FcRH cDNA編碼具有多個含有一致免疫受體酪胺酸基活化及/或抑制性信號傳導基序之Ig樣細胞外域及細胞質域的I型跨膜醣蛋白。FcRH基因在結構上相關，且其蛋白質產物彼此共有28-60%細胞外一致性。其亦與其最密切FcR相關物共有15-31%一致性。在不同FcRH之間存在高度同源性。

【0004】 FcRH5之配位體未知，但FcRH5已牽涉於在抗原致敏之B細胞發育期間增強之增殖及下游同型表現中(Dement-Brown等人*J. Leukoc. Biol.* 91:59-67, 2012)。FcRH5基因座具有三種主要mRNA同功異型物(FcRH5a、FcRH5b及FcRH5c)。由此等轉錄物編碼之主要FcRH5蛋白同功異型物共有直至殘基560之共同胺基酸序列，該胺基酸序列之特徵在於具有共同信號肽及六個細胞外Ig樣域。FcRH5a表示具有759個胺基酸之分泌醣蛋白，其具有八個Ig樣域，繼之以在其C端處之13個獨特、主要呈極性之胺基酸。FcRH5b在胺基酸殘基560處不同於FcRH5a且延伸具有32個額外殘基之短鏈段，該鏈段之疏水性可與其經由GPI錨蛋白與質膜對接相容。FcRH5c為最長同功異型物，其序列在胺基酸746處不同於FcRH5a。FcRH5c編碼具有977個胺基酸之I型跨膜醣蛋白，該醣蛋白具有容納八個潛在N連接糖基化位點之九個細胞外Ig型域、具有23個胺基酸之跨膜域，及具有具備ITIM一致序列之三個一致SH2結合基序的具有104個胺基酸之細胞質域。

【0005】 FcRH基因在染色體1之1q21-23區域中之經典FcR基因(FcγRI、FcγRII、FcγRIII及FcεRI)中間叢集在一起。此區域含有1個與造血組織腫瘤中，尤其多發性骨髓瘤中之惡性表型相關之最常見次級染色體異常(Hatzivassiliou等人*Immunity.* 14:277-89, 2001)。FcRH5僅

在B細胞譜系中表現，早在前B細胞即開始，但直至成熟B細胞階段方才達成完全表現。不同於大多數已知其他B細胞特異性表面蛋白質(例如CD20、CD19及CD22)，FcRH5繼續在漿細胞中表現，而其他B細胞特異性標記物經下調(Polson等人*Int. Immunol.* 18:1363-73, 2006)。此外，FcRH5 mRNA在具有1q21異常之多發性骨髓瘤細胞株中過度表現，如藉由寡核苷酸陣列所偵測(Inoue *Am. J. Pathol.* 165:71-81, 2004)。表現樣式指示FcRH5可為用於治療多發性骨髓瘤之抗體基療法的目標。多發性骨髓瘤是一種特徵為骨骼病變、腎衰竭、貧血及高鈣血症之漿細胞惡性腫瘤，並且它基本上不可藉由當前療法來治癒。用於多發性骨髓瘤之當前藥物治療劑包括蛋白體抑制劑硼替佐米(bortezomib)(VELCADE®)、免疫調節劑來那度胺(lenalidomide)(REVLIMID®)及類固醇地塞米松(dexamethasone)之組合。

【0006】基於單株抗體(mAb)之療法已經成為癌症之重要治療形式。FcRH5c特異性抗體基療法及偵測方法可特別有效，因為其並非識別FcRH5之可溶性同功異型物與FcRH5之膜同功異型物兩者的抗體，其特異性識別靶細胞之膜相關FcRH5。然而，僅FcRH5之末個Ig樣域(Ig樣域9)為在FcRH5之三種主要同功異型物(例如FcRH5a、FcRH5b及FcRH5c)之間有差異的獨特細胞外區域，且在FcRH5內之Ig樣域之間存在顯著同源性。此外，末個Ig樣域在FcRH1、FcRH2、FcRH3及FcRH5之間高度保守。特異性靶向FcRH5之任何抗體基療法皆將與其他FcRH具有最小交叉反應性以避免不利脫靶效應(off-target effect)(例如FcRH3係在正常NK細胞上表現)。

【0007】 鑒於上述，在領域存在對於用於治療細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5陽性癌症，例如，多發性骨髓瘤)之安全及有效藥劑的未滿足需求。

【發明內容】

【0008】 本發明提供抗FcRH5抗體(例如，雙特異性抗體，例如，FcRH5 T細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體)，組合物，及使用其來治療細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5陽性癌症，例如，多發性骨髓瘤)之方法。

【0009】 在第一態樣中，本發明提供一種抗Fc受體樣5 (FcRH5) 抗體，其包括包含以下六個高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之HVR-L3。

【0010】 在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 104具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的重鏈可變(VH)域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 105具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的輕鏈可變(VL)域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之

VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區構架區(FR)：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 104。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 57之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 105。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 104之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 105之VL域。

【0011】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 106具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 107具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 53之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之FR-H2，(c)包含

胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 106。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 57之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 107。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 106之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 107之VL域。

【0012】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 82具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 83具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 82。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含

胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 56之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 83。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 82之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 83之VL域。

【0013】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 21之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 84具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 85具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 84。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 57之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基

酸序列SEQ ID NO: 85。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 84之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 85之VL域。

【0014】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 17之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 22之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 86具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 87具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 86。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 57之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 87。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 86之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 87之VL域。

【0015】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 21之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 88具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 89具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 88。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 57之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 89。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 88之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 89之VL域。

【0016】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO:

9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 90具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 91具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 90。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 57之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 91。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 90之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 91之VL域。

【0017】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 22之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序

列SEQ ID NO: 92具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 93具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 92。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 56之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 93。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 92之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 93之VL域。

【0018】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 19之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 24之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 94具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 95具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例

中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 94。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 57之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 95。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 94之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 95之VL域。

【0019】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 25之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 96具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 97具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 53之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID

NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 96。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 57之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 97。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 96之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 97之VL域。

【0020】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 25之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 98具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 99具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 55之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 98。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO:

57之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 99。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 98之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 99之VL域。

【0021】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 25之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 100具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 101具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 100。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 57之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 101。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合

域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 100之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 101之VL域。

【0022】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含包括以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 102具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 103具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 102。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 56之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 103。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 102之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 103之VL域。

【0023】 在另一態樣中，本發明提供一種抗FcRH5抗體，其包

括包含以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 32之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 33之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 34之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 35之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 36之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 37之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 110具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 111具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 66之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 67之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 68之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 69之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 110。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 70之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 71之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 72之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 73之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 111。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 110之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 111之VL域。

【0024】 在另一態樣中，本發明提供一種抗FcRH5抗體，其包括包含以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 38之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 41

之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 42之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 43之HVR-L3。在其他實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 112具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 113具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在其他實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 74之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 75之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 76之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 77之FR-H4。在其他實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 112。在其他實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 78之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 79之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 80之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 81之FR-L4。在其他實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 113。在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 112之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 113之VL域。

【0025】 在另一態樣中，本發明提供一種抗FcRH5抗體，其包括包含以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 26之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 27之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 28之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 29之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 30之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 31之HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 108具有至少95%序列一致性之胺基

酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 109具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 58之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 59之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 60之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 61之FR-H4。在一些實施例中，VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 108。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 62之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 63之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 64之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 65之FR-L4。在一些實施例中，VL域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 109。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 108之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 109之VL域。

【0026】 在前述態樣中任一項之一些實施例中，抗FcRH5抗體結合至FcRH5之Ig樣域9中之抗原決定基。在一些實施例中，抗原決定基包含SEQ ID NO: 114之胺基酸743-850之一部分。在一些實施例中，結合域結合至人FcRH5、食蟹猴(獼猴)FcRH5，或兩者。在一些實施例中，結合域不特異性結合至FcRH1、FcRH2、FcRH3及/或FcRH4。在一些實施例中，抗FcRH5抗體以約100 nM或更低之 K_D 結合人FcRH5。在一些實施例中，抗FcRH5抗體以約10 pM與約100 nM之間之 K_D 結合人FcRH5。在一些實施例中，抗FcRH5抗體以約100 pM與約100 nM之間之 K_D 結合人FcRH5。在一些實施例中，抗FcRH5抗體以約1 nM與約20 nM之間之 K_D 結合人FcRH5。在一些實施例中，抗

FcRH5抗體以約1 nM與約10 nM之間之 K_D 結合人FcRH5。在一些實施例中，抗FcRH5抗體以約100 nM或更低之 K_D 結合獼猴FcRH5。在一些實施例中，抗FcRH5抗體以約10 pM與約100 nM之間之 K_D 結合獼猴FcRH5。在一些實施例中，抗FcRH5抗體以約100 pM與約100 nM之間之 K_D 結合獼猴FcRH5。在一些實施例中，抗FcRH5抗體以約1 nM與約50 nM之間之 K_D 結合獼猴FcRH5。

【0027】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體包含非糖基化位點突變。在一些實施例中，非糖基化位點突變為取代突變。在一些實施例中，非糖基化位點突變減少抗FcRH5抗體之效應功能。在一些實施例中，取代突變在胺基酸殘基 N297、L234、L235、D265 及 / 或 P329(EU編號)處。在一些實施例中，取代突變選自由以下組成之群：N297G、N297A、L234A、L235A、D265A及P329G。在一些實施例中，取代突變為N297G突變。

【0028】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體為IgG抗體。

【0029】 在一些實施例中，抗FcRH5抗體為結合FcRH5之抗體片段。在一些實施例中，抗體片段選自由以下組成之群：雙-Fab、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv及(Fab')₂片段。在一些實施例中，抗體片段為雙-Fab片段。

【0030】 在其他實施例中，抗FcRH5抗體為全長抗體。

【0031】 在一些實施例中，抗FcRH5抗體為單特異性抗體。

【0032】 在一些實施例中，抗FcRH5抗體為多特異性抗體。在一些實施例中，多特異性抗體為雙特異性抗體。在一些實施例中，雙特異性抗體包含結合分化抗原簇3(CD3)之第二結合域。在一些實施例

中，第二結合域結合至CD3上之抗原決定基，包含CD3之胺基酸殘基Glu6。在一些實施例中，抗原決定基進一步包含一或多個選自由以下組成之群之額外胺基酸殘基：CD3之Gln1、Asp2及Met7。在一些實施例中，抗原決定基包含CD3之胺基酸殘基Gln1、Asp2及Glu6。在一些實施例中，抗原決定基包含CD3之胺基酸殘基Gln1、Asp2、Glu6及Met7。在一些實施例中，抗原決定基不包含CD3之胺基酸殘基Glu5。在一些實施例中，抗原決定基不包含CD3之胺基酸殘基Gly3及Glu5。在一些實施例中，抗原決定基由CD3之胺基酸殘基Gln1、Asp2、Glu6及Met7組成。在一些實施例中，第二結合域能夠結合至人CD3多肽或獼猴CD3多肽。在一些實施例中，人CD3多肽或獼猴CD3多肽分別為人CD3 ϵ 多肽或獼猴CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，人CD3多肽或獼猴CD3多肽分別為人CD3 γ 多肽或獼猴CD3 γ 多肽。在一些實施例中，第二結合域以約100 nM或更低之 K_D 結合人CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，第二結合域以約10 pM至約100 nM之間之 K_D 結合人CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，第二結合域以約100 pM至約50 nM之間之 K_D 結合人CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，第二結合域以約1 nM至約10 nM之間之 K_D 結合人CD3 ϵ 多肽。

【0033】 在一些實施例中，第二結合域包含以下六個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 117之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 120之HVR-L3。在一些實施例中，第二結合域包含以下六個HVR：(a)包含

胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 133具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 134具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，第二結合域包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 125之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 126之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 127之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 128之FR-H4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域。在一些實施例中，第二結合域進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 129之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 130之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 131之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 132之FR-L4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 134之VL域。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 134之VL域。

【0034】 在其他實施例中，第二結合域包含以下六個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序

列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 124之HVR-L3。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 137具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 138具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，第二結合域包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 125之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 126之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 127之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 128之FR-H4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 137之VH域。在一些實施例中，第二結合域進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 129之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 130之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 131之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 132之FR-L4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 138之VL域。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 137之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 138之VL域。

【0035】 在其他實施例中，第二結合域包含以下六個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 139之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 140之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 141之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 142之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 143之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 144之HVR-L3。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 153具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包

含與胺基酸序列SEQ ID NO: 154具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，第二結合域包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 145之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 146之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 147之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 148之FR-H4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 153之VH域。在一些實施例中，第二結合域進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 149之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 150之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 151之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 152之FR-L4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 154之VL域。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 153之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 154之VL域。

【0036】 在其他實施例中，第二結合域包含以下六個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 155之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 156之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 157之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 158之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 159之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 160之HVR-L3。

【0037】 在一些實施例中，第二結合域包含以下六個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 155之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 162之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 157之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 158之HVR-L1；(e)包含胺基酸序

列SEQ ID NO: 159之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 160之HVR-L3。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 172具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH域，(b)包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 173具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL域，或(c)如(a)中之VH域及如(b)中之VL域。在一些實施例中，第二結合域包含以下重鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 164之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 165之FR-H2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 166之FR-H3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 167之FR-H4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 172之VH域。在一些實施例中，第二結合域進一步包含以下輕鏈可變區FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 168之FR-L1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 169之FR-L2，(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 170之FR-L3，及(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 171之FR-L4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 173之VL域。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 172之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 173之VL域。

【0038】 在其他實施例中，結合FcRH5之結合域包含包括電荷區(CR₁)之VH域(VH₁)及包含電荷區(CR₂)之VL域(VL₁)，其中VH₁中之CR₁與VL₁中之CR₂形成電荷對。在一些實施例中，CR₁包含鹼性胺基酸殘基並且CR₂包含酸性胺基酸殘基。在一些實施例中，CR₁包含Q39K取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₁由Q39K取代突變組成。在一些實施例中，CR₂包含Q38E取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₂由Q38E取代突變組成。在一些實施例中，結合CD3之第二

結合域包含包括電荷區(CR₃)之VH域(VH₂)及包括電荷區(CR₄)之VL域(VL₂)，其中VL₂中之CR₄與VH₂中之CR₃形成電荷對。在一些實施例中，CR₄包含鹼性胺基酸殘基並且CR₃包含酸性胺基酸殘基。在一些實施例中，CR₄包含Q38K取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₄由Q38K取代突變組成。在一些實施例中，CR₃包含Q39E取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₃由Q39E取代突變組成。在一些實施例中，VL₁域連接至輕鏈恆定(CL)域(CL₁)並且VH₁連接至第一重鏈恆定(CH1)域(CH1₁)，其中CL₁包含電荷區(CR₅)並且CH1₁包含電荷區(CR₆)，並且其中CL₁中之CR₅與CH1₁中之CR₆形成電荷對。在一些實施例中，CR₅包含鹼性胺基酸殘基並且CR₆包含酸性殘基。在一些實施例中，CR₅包含V133K取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₅由V133K取代突變組成。在一些實施例中，CR₆包含S183E取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₆由S183E取代突變組成。

【0039】 在其他實施例中，VL₂域連接至CL域(CL₂)並且VH₂連接至CH1域(CH1₂)，其中CL₂包含電荷區(CR₇)並且CH1₂包含電荷區(CR₈)，並且其中CH1₂中之CR₈與CL₂中之CR₇形成電荷對。在一些實施例中，CR₈包含鹼性胺基酸殘基並且CR₇包含酸性胺基酸殘基。在一些實施例中，CR₈包含S183K取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₈由S183K取代突變組成。在一些實施例中，CR₇包含V133E取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₇由V133E取代突變組成。

【0040】 在其他實施例中，VL₂域連接至CL域(CL₂)並且VH₂連接至CH1域(CH1₂)，其中(a)CL₂包含胺基酸殘基F116、L135、S174、S176及/或T178(EU編號)處之一或多個突變並且(b)CH1₂包含胺基酸殘

基A141、F170、S181、S183及/或V185(EU編號)處之一或多個突變。在一些實施例中，CL₂包含一個或多個以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F及/或T178V。在一些實施例中，CL₂包含以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F及T178V。在一些實施例中，CH₁₂包含一個或多個以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A及/或V185A。在一些實施例中，CH₁₂包含以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A及V185A。

【0041】 在其他實施例中，結合FcRH5之結合域包含包括電荷區(CR₁)之VH域(VH₁)及包括電荷區(CR₂)之VL域(VL₁)，其中VL₁中之CR₂與VH₁中之CR₁形成電荷對。在一些實施例中，CR₂包含鹼性胺基酸殘基並且CR₁包含酸性胺基酸殘基。在一些實施例中，CR₂包含Q38K取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₂由Q38K取代突變組成。在一些實施例中，CR₁包含Q39E取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₁由Q39E取代突變組成。在一些實施例中，結合CD3之第二結合域包含包括電荷區(CR₃)之VH域(VH₂)及包括電荷區(CR₄)之VL域(VL₂)，其中VH₂中之CR₃與VL₂中之CR₄形成電荷對。在一些實施例中，CR₃包含鹼性胺基酸殘基並且CR₄包含酸性胺基酸殘基。在一些實施例中，CR₃包含Q39K取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₃由Q39K取代突變組成。在一些實施例中，CR₄包含Q38E取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₄由Q38E取代突變組成。在一些實施例中，VL₁域連接至輕鏈恆定(CL)域(CL₁)並且VH₁連接至第一重鏈恆定(CH1)域(CH₁₁)，其中CL₁包含電荷區(CR₅)並且CH₁₁包含電荷區(CR₆)，及其中CH₁₁中之CR₆與CL₁中之CR₅形成電荷對。在一些實施

例中，CR₆包含鹼性胺基酸殘基並且CR₅包含酸性胺基酸殘基。在一些實施例中，CR₆包含S183K取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₆由S183K取代突變組成。在一些實施例中，CR₅包含V133E取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₅由V133E取代突變組成。

【0042】 在其他實施例中，VL₂域連接至CL域(CL₂)並且VH₂連接至CH1域(CH1₂)，其中CL₂包含電荷區(CR₇)並且CH1₂包含電荷區(CR₈)，並且其中CL₂中之CR₇與CH1₂中之CR₈形成電荷對。在一些實施例中，CR₇包含鹼性胺基酸殘基並且CR₈包含酸性殘基。在一些實施例中，CR₇包含V133K取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₇由V133K取代突變組成。在一些實施例中，CR₈包含S183E取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR₈由S183E取代突變組成。

【0043】 在其他實施例中，VL₂域連接至CL域(CL₂)並且VH₂連接至CH1域(CH1₂)，其中(a)CL₂包含胺基酸殘基F116、L135、S174、S176及/或T178(EU編號)處之一或多個突變並且(b)CH1₂包含胺基酸殘基A141、F170、S181、S183及/或V185(EU編號)處之一或多個突變。在一些實施例中，CL₂包含一個或多個以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F及/或T178V。在一些實施例中，CL₂包含以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F及T178V。在一些實施例中，CH1₂包含一個或多個以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A及/或V185A。在一些實施例中，CH1₂包含以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A及V185A。在一些實施例中，抗FcRH5抗體包含一或多個重鏈恆定域，其中一或多個重鏈恆定域選自第一CH2域(CH2₁)、第一CH3域(CH3₁)，第二CH2域(CH2₂)及第二CH3

域(CH3₂)。在一些實施例中，一或多個重鏈恆定域中之至少一者與另一個重鏈恆定域配對。在一些實施例中，CH3₁及CH3₂各自包含隆凸(P₁)或空腔(C₁)，並且其中CH3₁中之P₁或C₁可定位於CH3₂中之相應C₁或P₁中。在一些實施例中，CH3₁及CH3₂在P₁與C₁之間界面處相接。在一些實施例中，CH2₁及CH2₂各自包含(P₂)或空腔(C₂)，並且其中CH2₁中之P₂或C₂可定位於CH2₂中之相應C₂或P₂中。在一些實施例中，CH2₁及CH2₂在P₂與C₂之間界面處相接。

【0044】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含包括以下六個HVR之第一結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3；及抗CD3臂，該抗CD3臂包含包括以下六個HVR之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂及抗CD3臂各自包含N297G取代突變(EU編號)，並且其中抗FcRH5臂包含T366W取代突變並且抗CD3臂包含T366S、L368A及Y407V取代突變。

【0045】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗

FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個 HVR 之第一結合域：(a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及 (f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個 HVR 之第二結合域：(a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及 (f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0046】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a) 抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域，其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，及 (b) 抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域，其中抗 CD3 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0047】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含包括以下六個HVR之第一結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3；及抗CD3臂，該抗CD3臂包含包括以下六個HVR之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變之重鏈，並且其中抗CD3臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

【0048】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含：(a)抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 104之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 105之VL域，其中抗FcRH5臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變之重鏈，及(b)抗CD3臂，該抗CD3臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 134之VL域，其中抗CD3臂包含包括Q38E及V133K取代

突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

【0049】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含包括以下六個HVR之第一結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3；及抗CD3臂，該抗CD3臂包含包括以下六個HVR之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變之重鏈，並且其中抗CD3臂包含包括Q38K、F116A、L135V、S174A、S176F及T178V取代突變之輕鏈及包括Q39E、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

【0050】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含：(a)抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 104之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 105之VL域，其中抗FcRH5臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變之重鏈，及(b)抗CD3臂，該抗CD3臂包含第二結合域，該第

二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 134之VL域，其中抗CD3臂包含包括Q38K、F116A、L135V、S174A、S176F及T178V取代突變之輕鏈及包括Q39E、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

【0051】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含包括以下六個HVR之第一結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3；及抗CD3臂，該抗CD3臂包含包括以下六個HVR之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變之重鏈，並且其中抗CD3臂包含包括Q38E、F116A、L135V、S174A、S176F及T178V取代突變之輕鏈及包括Q39K、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

【0052】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含：(a)抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂

包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 104之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 105之VL域，其中抗FcRH5臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變之重鏈，及(b)抗CD3臂，該抗CD3臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 134之VL域，其中抗CD3臂包含包括Q38E、F116A、L135V、S174A、S176F及T178V取代突變之輕鏈及包括Q39K、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

【0053】 在本發明之態樣中任一項之一些實施例中，抗FcRH5抗體具有約10 ml/kg/日至約35 ml/kg/日之間之靜脈內注射後清除率。在一些實施例中，抗FcRH5抗體在小鼠中具有約10 ml/kg/日至約20 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些實施例中，抗FcRH5抗體在小鼠中具有約12 ml/kg/日至約16 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些實施例中，抗FcRH5抗體在獼猴中具有約20 ml/kg/日至約40 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些實施例中，抗FcRH5抗體在獼猴中具有約25 ml/kg/日至約35 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些實施例中，抗FcRH5抗體在獼猴中具有約30 ml/kg/日至約35 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。

【0054】 在另一態樣中，本發明提供分離核酸，該核酸編碼前述態樣中任一項之抗FcRH5抗體或其一部分，該部分包含其結合至FcRH5之結合域。

【0055】 在另一態樣中，本發明提供包含先前態樣之分離核酸

之載體。

【0056】 在另一態樣中，本發明提供包含先前態樣之載體之宿主細胞。在某些實施例中，宿主細胞為哺乳動物細胞。在其他實施例中，哺乳動物細胞為中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。在一些實施例中，宿主細胞為原核細胞。在一些實施例中，原核細胞為大腸桿菌細胞。

【0057】 在另一態樣中，本發明提供產生本發明之前述態樣中任一項之抗FcRH5抗體的方法，該方法包含將先前態樣之宿主細胞在培養基中培養。在一些實施例中，該方法進一步包含將抗FcRH5抗體從宿主細胞或培養基回收。在一些實施例中，該方法進一步包含培養第二宿主細胞，該第二宿主細胞包含第二核酸，該第二核酸編碼包含結合CD3之結合域的抗CD3抗體。在一些實施例中，將宿主細胞共培養。在一些實施例中，該方法進一步包含將雙特異性抗FcRH5抗體從宿主細胞或培養基回收。

【0058】 在另一態樣中，本發明提供免疫結合物，其包含先前態樣中任一項之抗FcRH5抗體及細胞毒性劑。

【0059】 在另一態樣中，本發明提供包含本發明之態樣中任一項之抗FcRH5抗體的組合物。在一些實施例中，該組合物進一步包含醫藥學上可接受之賦形劑或稀釋劑。在一些實施例中，醫藥學上可接受之賦形劑為緩衝液、載劑、穩定劑或防腐劑。在一些實施例中，組合物為醫藥組合物。在一些實施例中，組合物進一步包含PD-1軸結合拮抗劑或額外治療劑。

【0060】 在另一態樣中，本發明提供作為藥物使用的本發明之前述態樣中任一項之抗FcRH5抗體。

【0061】 在另一態樣中，本發明提供本發明之前述態樣中任一項之抗FcRH5抗體，其用於治療或延遲有需要之受試者之FcRH5陽性癌症之進程。

【0062】 在另一態樣中，本發明提供本發明之前述態樣中任一項之抗FcRH5抗體，其用於增強患有FcRH5陽性癌症之受試者之免疫功能。在一些實施例中，FcRH5陽性癌症為B細胞癌症。在另一態樣中，B細胞癌症選自由以下組成之群：多發性骨髓瘤(MM)、慢性淋巴性白血病(CLL)、套膜細胞淋巴瘤(MCL)、彌散性大B-細胞淋巴瘤(DLBCL)及濾泡性淋巴瘤(FL)。在另一實施例中，B細胞癌症為MM。

【0063】 在另一態樣中，本發明提供使用先前態樣中任一項之抗FcRH5抗體或組合物來製造供治療或延遲受試者之FcRH5陽性癌症進程的藥物。在另一態樣中，本發明提供使用先前態樣中任一項之抗FcRH5抗體或組合物來製造供增強患有FcRH5陽性癌症之受試者之免疫功能之藥物。在一些實施例中，FcRH5陽性癌症為B細胞癌症。在一些實施例中，B細胞癌症選自由以下組成之群：MM、CLL、MCL、DLBCL及FL。在一些實施例中，B細胞癌症為MM。

【0064】 在另一態樣中，本發明提供治療或延遲有需要之受試者之FcRH5陽性癌症之進程的方法，該方法包含向受試者投與本發明之前述態樣中任一項之抗FcRH5抗體。在另一態樣中，本發明提供增強患有FcRH5陽性癌症之受試者之免疫功能的方法，該方法包含向受試者投與有效量的本發明之前述態樣中任一項之抗FcRH5抗體。在一些實施例中，FcRH5陽性癌症為B細胞癌症。在一些實施例中，B細胞癌症選自由以下組成之群：MM、CLL、MCL、DLBCL及FL。在一

些實施例中，B細胞癌症為MM。在一些實施例中，抗FcRH5抗體結合至(a)定位於靶細胞上之FcRH5分子及(b)定位於免疫效應細胞上之CD3分子。在一些實施例中，抗FcRH5抗體在結合至FcRH5分子及CD3分子之後活化免疫效應細胞。在一些實施例中，活化免疫效應細胞能夠對於靶細胞施加細胞毒性作用及/或凋亡作用。在一些實施例中，靶細胞為漿細胞。在一些實施例中，漿細胞為短壽命漿細胞。在一些實施例中，漿細胞為長壽命漿細胞。在一些實施例中，漿細胞為骨髓瘤細胞。在一些實施例中，該方法包含以約0.01 mg/kg/wk至約50 mg/kg/wk之劑量向受試者投與抗FcRH5抗體。在一些實施例中，該方法包含以約0.1 mg/kg/wk至約10 mg/kg/wk之劑量向受試者投與抗FcRH5抗體。在一些實施例中，該方法包含以約1 mg/kg/wk之劑量向受試者投與抗FcRH5抗體。

【0065】 在其他實施例中，該方法進一步包含向受試者投與PD-1軸結合拮抗劑及/或額外治療劑。在一些實施例中，PD-1軸結合拮抗劑或額外治療劑在投與抗FcRH5抗體之前或之後投與。在一些實施例中，PD-1軸結合拮抗劑或額外治療劑與抗FcRH5抗體同時投與。在一些實施例中，PD-1軸結合拮抗劑選自由以下組成之群：PD-L1結合拮抗劑、PD-1結合拮抗劑及PD-L2結合拮抗劑。在一些實施例中，PD-1軸結合拮抗劑為PD-L1結合拮抗劑。在一些實施例中，PD-L1結合拮抗劑選自由以下組成之群：MPDL3280A(阿佐利珠單抗)、YW243.55.S70、MDX-1105、MEDI4736(德瓦魯單抗)及MSB0010718C(納武單抗)。在一些實施例中，PD-L1結合拮抗劑為MPDL3280A(阿佐利珠單抗)。在一些實施例中，PD-1軸結合拮抗劑

為PD-1結合拮抗劑。在一些實施例中，PD-1結合拮抗劑選自由以下組成之群：MDX1106(奈武單抗)、MK-3475(帕姆利珠單抗)、CT-011(匹地利珠單抗)、MEDI-0680 (AMP-514)、PDR001、REGN2810及BGB-108。在一些實施例中，PD-1軸結合拮抗劑為PD-L2結合拮抗劑。在一些實施例中，PD-L2結合拮抗劑為抗體或免疫黏附素。在一些實施例中，受試者類固醇、免疫調節劑(IMiD)、蛋白體抑制劑(PI)或其組合。在一些實施例中，類固醇為糖皮質激素。在一些實施例中，糖皮質激素為地塞米松。在一些實施例中，IMiD為來那度胺。在一些實施例中，PI為硼替佐米。

【0066】 在其他實施例中，該方法包含靜脈內、皮下、肌肉內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、植入、吸入、鞘內、心室內或鼻內投與前述態樣中任一項之抗FcRH5抗體、PD-1軸結合拮抗劑、類固醇、IMiD、PI或其組合。在一些實施例中，該方法包含靜脈內投與抗FcRH5抗體、PD-1軸結合拮抗劑、類固醇、IMiD、PI或其組合。在一些實施例中，該方法包含皮下投與抗FcRH5抗體、PD-1軸結合拮抗劑、類固醇、IMiD、PI或其組合。在前述態樣中任一項之一些實施例中，受試者為人。

【0067】 在另一態樣中，本發明提供偵測來自受試者之生物樣品中之FcRH5的方法，其中該方法包含：(a)使生物樣品與本發明之態樣中任一項之抗FcRH5抗體在容許抗FcRH5抗體結合至生物樣品中之天然存在FcRH5的條件下接觸，並且(b)偵測是否在抗FcRH5抗體及生物樣品中之天然存在FcRH5之間形成複合物。在一些實施例中，生物樣品為血液樣品。在一些實施例中此態樣，受試者為人。

【0068】 在另一態樣中，本發明提供套組，其包含本發明之前述態樣中任一項之抗FcRH5抗體及藥品說明書，包含使用抗FcRH5抗體來治療或延遲受試者之FcRH5陽性癌症之進程的說明。在另一態樣中，本發明提供套組，其包含本發明之前述態樣中任一項之抗FcRH5抗體及藥品說明書，包含使用抗FcRH5抗體來增強患有FcRH5陽性癌症之受試者之免疫功能之說明。在此等態樣之一些實施例中，受試者為人。

【圖式簡單說明】

【0069】 該申請文件包含以彩色執行的至少一個附圖。具有彩色附圖之本專利或專利申請之副本將在請求並支付必要費用之後由專利局提供。

【0070】 圖1A為展示具有包括一或多個電荷區域之VL、VH、CL及CH1域之FcRH5 TDB之示例性合理設計組態(組態1)的示意圖。對於組態1，VH₁、CL₁、VL₂及CH1₂域含有鹼性電荷區域，並且VL₁、CH1₁、VH₂及CL₂域含有酸性電荷區域。

【0071】 圖1B為展示具有包括一或多個電荷區域之VL、VH、CL及CH1域之FcRH5 TDB之示例性合理設計組態(組態2)的示意圖。對於組態2，VH₁、CL₁、VL₂及CH1₂域含有酸性電荷區域，並且VL₁、CH1₁、VH₂及CL₂域含有鹼性電荷區域。

【0072】 圖1C為展示具有包括一或多個電荷區域之VL、VH、CL及CH1域之FcRH5 TDB之示例性羅塞塔設計組態(組態1)的示意圖。對於組態1，VH₁、CL₁及VL₂域含有鹼性電荷區域，並且VL₁、CH1₁及VH₂域含有酸性電荷區域。另外，CH1₂域含有空腔，並且CL₂

域含有隆凸。空腔及隆凸描繪為CH₁₂/CL₂界面處之黑色方框。

【0073】 圖1D為展示具有包括一或多個電荷區域之VL、VH、CL及CH₁域之FcRH5 TDB之示例性羅塞塔設計組態(組態2)的示意圖。對於組態2，VH₁、CL₁及VL₂域含有酸性電荷區域，並且VL₁、CH₁₁及VH₂域含有鹼性電荷區域。另外，CH₁₂域含有空腔，並且CL₂域含有隆凸。空腔及隆凸描繪為CH₁₂/CL₂界面處之黑色方框。

【0074】 圖1E為展示具有包括一或多個電荷區域之VL、VH、CL及CH₁域之FcRH5 TDB之示例性替代羅塞塔設計組態(替代組態1)的示意圖。對於替代組態1，VL₁、VH₂及CL₂域含有酸性電荷區域，並且VH₁、CH₁₂及VL₂域含有鹼性電荷區域。另外，CH₁₁域含有空腔，並且CL₁域含有隆凸。空腔及隆凸描繪為CH₁₁/CL₁界面處之黑色方框。

【0075】 圖1F為展示具有包括一或多個電荷區域之VL、VH、CL及CH₁域之FcRH5 TDB之示例性替代羅塞塔設計組態(替代組態2)的示意圖。對於替代組態2，VL₁、VH₂及CL₂域含有鹼性電荷區域，並且VH₁、CH₁₂及VL₂域含有酸性電荷區域。另外，CH₁₁域含有空腔，並且CL₁域含有隆凸。空腔及隆凸描繪為CH₁₁/CL₁界面處之黑色方框。

【0076】 圖2為選擇抗FcRH5抗體之輕鏈可變(VL)域序列之比對。與1G7(參見美國公開案第2015-0098900號，全部以引用方式併入本文)之變化在深色方框中示出。高變區(HVR)藉由比對上方及/或下方之線來指示。此等VL域序列亦揭示為SEQ ID NO: 83、85、87、89、91、93、95、97、99及101。

【0077】 圖3為選擇抗FcRH5抗體之重鏈可變(VH)域序列之比對。與純系1G7(參見美國公開案第2015-0098900號)之變化在深色方框中示出。高變區(HVR)藉由比對上方及/或下方之線來指示。此等VH域序列亦揭示為SEQ ID NO: 82、84、86、88、90、92、94、96、98及100。

【0078】 圖4為展示所指示抗FcRH5抗體之位置52之胺基酸取代對於結合親和力之影響的表。

【0079】 圖5A為hu1G7.v85及hu1G7.v93之重鏈可變(VH)域序列之比對。與人生殖系序列hIGHV4-59*01之變化在橙色方框中示出。高變區(HVR)藉由比對上方之標記來指示。此等VH域序列亦揭示為SEQ ID NO: 104(hu1G7.v85)及106(hu1G7.v93)。

【0080】 圖5B為hu1G7.v85及hu1G7.v93之輕鏈可變(VL)域序列之比對。與人生殖系序列hIGKV1-16*01之變化在橙色方框中示出。高變區(HVR)藉由比對上方之標記來指示。此等VL域序列亦揭示為SEQ ID NO: 105(hu1G7.v85)及107(hu1G7.v93)。

【0081】 圖6A為hu1G7.v85、1G7及一致H4之重鏈可變(VH)域序列之比對。與人源化、親和力成熟及精煉純系1G7(參見美國公開案第2015-0098900號，全部以引用方式併入本文)之變化在橙色方框中示出。高變區(HVR)藉由比對上方之標記來指示。hu1G7.v85之VH域序列揭示為SEQ ID NO: 104。

【0082】 圖6B為hu1G7.v85、1G7及一致KI之輕鏈可變(VL)域序列之比對。與人源化、親和力成熟及精煉純系1G7之變化在橙色方框中示出。hu1G7.v85之VL域序列揭示為SEQ ID NO: 105。

【0083】 圖7A示出抗FcRH5抗體hu1G7.v93之重鏈可變(VH)域序列(SEQ ID NO: 106)。

【0084】 圖7B示出抗FcRH5抗體hu1G7.v93之輕鏈可變(VL)域序列(SEQ ID NO: 107)。

【0085】 圖8為展示1G7.v85及1G7.v87抗體之抗體效價之圖表。

【0086】 圖9A為將具有不同抗FcRH5臂(即，m1G7(「1G7 TDB」)、1G7.v85(「1G7.v85 TDB」)及1G7.v1.4(「1G7.v1.4 TDB」))之FcRH5/38E4.v1 TDB結合至FcRH3過度表現細胞進行比較的直方圖之覆蓋。

【0087】 圖9B為展示1G7.v85 TDB在 ≤ 20 $\mu\text{g/mL}$ 之濃度下不消耗自然殺手(NK)細胞之圖表；1G7.v85 TDB在漿細胞(PC)上具有25 ng/mL 之中值EC50。

【0088】 圖10A為將FcRH5 TDB 1G7.v1.4/38E4.v1(「1G7.v1.4 TDB」)結合FcRH3、人FcRH5及獼猴FcRH5之能力進行比較的一系列圖表。

【0089】 圖10B為將1G7.v85 TDB結合FcRH3、人FcRH5及獼猴FcRH5之能力進行比較的一系列圖表。

【0090】 圖10C為將FcRH5 TDB 1G7/38E4.v1(「1G7 TDB」)結合FcRH3、人FcRH5及獼猴FcRH5之能力進行比較的一系列圖表。

【0091】 圖10D為將對照抗體結合FcRH3、人FcRH5及獼猴FcRH5之能力進行比較的一系列圖表。

【0092】 圖11A示出人源化、兔衍生抗FcRH5抗體hu7D8.L1H2之重鏈可變(VH)域序列之序列。hu7D8.L1H2之VH域序列揭示為SEQ

ID NO: 108。

【0093】圖11B示出人源化、兔衍生抗FcRH5抗體hu7D8.L1H2之輕鏈可變(VL)域序列之序列。hu7D8.L1H2之VL域序列揭示為SEQ ID NO: 109。

【0094】圖12A示出小鼠衍生抗FcRH5抗體17B1之重鏈可變(VH)域序列之序列。17B1之VH域序列揭示為SEQ ID NO: 110。

【0095】圖12B示出小鼠衍生抗FcRH5抗體17B1之輕鏈可變(VL)域序列之序列。17B1之VL域序列揭示為SEQ ID NO: 111。

【0096】圖13A示出小鼠衍生抗FcRH5抗體15G8之重鏈可變(VH)域序列之序列。15G8之VH域序列揭示為SEQ ID NO: 112。

【0097】圖13B示出小鼠衍生抗FcRH5抗體15G8之輕鏈可變(VL)域序列之序列。15G8之VL域序列揭示為SEQ ID NO: 113。

【0098】圖14為展示兔衍生抗FcRH5抗體7D8.Rb及h7D8.L1H2之人源化變異體與人FcRH5及獼猴FcRH5之結合親和力的一系列圖表。

【0099】圖15為展示FcRH5 TDB 1G7.v85 TDB及hu1G7.v93/38E4.v1(「1G7.v93 TDB」)以可比較的親和力結合至人FcRH5及獼猴FcRH5的一系列圖表。

【0100】圖16A-16B為展示1G7.v85 TDB分別以2.35 nM及6.76 nM之解離常數(KD)結合至人FcRH5及獼猴FcRH5之動力學分析的圖表，如藉由BIAcore®以hIgG捕獲格式使用單價親和力之1:1結合模型來量測。

【0101】圖17A-17B為展示使用1G7之人源化及親和力成熟變異

體的MOLP-2細胞(即，內源性表達FcRH5之人多發性骨髓瘤細胞)之增加FcRH5誘導細胞毒性的圖表，該等變異體被設定形式為具有38E4.v1之CD3-結合臂的T細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體(參見PCT公開案第WO 2015-095392 A1號，全部以引用方式併入本文)。在圖17A中，評估1G7 TDB、hu1G7.v1.1/38E4.v1 (「1G7.v1.1 TDB」)、hu1G7.v1.2/38E4.v1 (「1G7.v1.2 TDB」)、hu1G7.v1.3/38E4.v1 (「1G7.v1.3 TDB」)及1G7.v1.4 TDB。在圖17B中，評估1G7.v1.4 TDB、hu1G7.v1.5/38E4.v1 (「1G7.v1.5 TDB」)、hu1G7.v1.13/38E4.v1 (「1G7.v1.13 TDB」)、hu1G7.v1.7/38E4.v1 (「1G7.v1.7 TDB」)及hu1G7.v1.13.1/38E4.v1 (「1G7.v1.13.1 TDB」)。1G7.v1.4 TDB改良靶細胞殺傷(EC50)超過鼠科1G7 TDB(n=10)5至13倍。

【0102】圖18A-18D為1G7.v1.4 TDB及1G7.v85 TDB活化T細胞(圖18A)、殺傷靶MOLP-2細胞(圖18B)、殺傷靶獼猴漿細胞(圖18C)及殺傷靶獼猴B細胞(圖18D)之能力進行比較的圖表。

【0103】圖19A為將1G7.v85 TDB及hu1G7.v87/38E4.v1 TDB(「1G7.v87 TDB」)結合至並且與表達人FcRH5(圖1)、獼猴FcRH5(圖2)及人FcRH3(圖3)之小鼠SVT2細胞交叉反應之能力進行比較的一系列直方圖。

【0104】圖19B-19D為將1G7.v85 TDB及1G7.v87 TDB殺傷靶MOLP-2細胞(圖19B)、人B細胞(圖19C)及獼猴B細胞(圖19D)之能力進行比較的圖表。

【0105】圖20A-20D為展示如與無應力的相應對照(圖21A及

21C)相比，在經歷2,2'-偶氮雙(2-脒基丙烷)鹽酸鹽(AAPH)應力測試(圖20B)或光應力測試(圖20D)之後，1G7.v85 TDB結合FcRH5之能力減小的圖表。

【0106】圖21A為展示1G7.v85 TDB之粒徑分佈分析之圖表。在pH 5.5之組胺酸乙酸鹽溶液中兩週應力之後，1G7.v85 TDB失去0.1%的單體峰。

【0107】圖21B為展示1G7.v85 TDB之電荷非均勻性的圖表。在pH 5.5之組胺酸乙酸鹽溶液中兩週應力之後，1G7.v85 TDB失去7.7%的單體峰

【0108】圖22A為展示在pH 5.5之組胺酸乙酸鹽溶液中兩週應力之後，1G7.v85 TDB在輕鏈質量之約化質量概況方面沒有可觀察到之變化的圖表。

【0109】圖22B為展示在pH 5.5之組胺酸乙酸鹽溶液中兩週應力之後，1G7.v85 TDB在重鏈質量之約化質量概況方面沒有可觀察到之變化的圖表。

【0110】圖 23A 為用 1 $\mu\text{g/ml}$ 之 1G7/UCHT1.v9 TDB、10A8/UCHT1.v9 TDB (「10A8 TDB」)及抗gD/UCHT1.v9 TDB (「抗gD TDB」)刺激之健康供體周邊CD8細胞，及表達具有N末端gD表現標籤之人FcRH5之細胞的磷酸-SLP76蛋白質印跡。指示TCR信號傳導的總SLP76之印跡用於確定相等樣品負載。

【0111】圖 23B 為展示用 1G7/UCHT1.v9 TDB 或抗 gD TDB 及 CD8⁺ T細胞之FcRH5靶細胞殺傷的圖表。

【0112】圖23C為具有現在膜近側之gD抗原決定基之截斷FcRH5

構建物的示意圖。

【0113】 圖 23D 為展示使用具有 1G7 TDB 或抗 gD TDB 之截斷 FcRH5 構建物之靶細胞殺傷的圖表。近端 1G7/UCHT1.v9 TDB 之活性增加 25 倍 ($EC_{50}=20\text{ pM}$)，並且當由 ECD 造成之干擾得以移除時，抗 gD TDB 能夠有效地介導細胞之殺傷 ($EC_{50}=0.19\text{ nM}$)。截斷構建物在 293 細胞中表現。

【0114】 圖 23E 為展示識別膜近側抗原決定基之五種替代 FcRH5 TDB (虛線) 之靶細胞殺傷與藉由 1G7/UCHT1.v9 TDB 介導之殺傷相等並且顯著好於 10A8 TDB 的圖表。

【0115】 圖 24A 為 SVT2-親本、gD-FcRH5 全長及 gD-FcRH5-域 9 細胞之流式細胞術分析的直方圖覆蓋。

【0116】 圖 24B 為展示藉由 1G7/UCHT1.v9 TDB、2H7/UCHT1.v9 TDB (「2H7 TDB」)、3G7/UCHT1.v9 TDB (「3G7 TDB」)、10A8 TDB 及抗 gD TDB 之靶細胞殺傷百分比的圖表。

【0117】 圖 25A 為六種細胞株 (SVT2-載體，SVT2-FcRH1、SVT2-FcRH2、SVT2-FcRH3、SVT2-FcRH4 及 SVT2-FcRH5) 之覆蓋直方圖，展示 1G7.v85 TDB 結合至 FcRH5，但是不結合至其他家族成員。

【0118】 圖 25B 為三種細胞株 (293 親本、293-FcRH5 全長及 293-FcRH5-D9-缺失) 之直方圖覆蓋，展示 1G7.v85 TDB 結合至 FcRH5 之膜近側域。

【0119】 圖 25C 為三種細胞株 (SVT2-載體，SVT2-huFcRH5 及 SVT2-獼猴 FcRH5) 之覆蓋直方圖，展示 1G7.v85 TDB 結合至獼猴

FcRH5及人FcRH5。

【0120】圖26A-26D為三種細胞株(SVT2-載體，SVT2-huFcRH5及SVT2-獼猴FcRH5)之覆蓋直方圖，展示1G7/38E4.v1TDB(「1G7 TDB」)結合至多發性骨髓瘤(MM)細胞株及原代細胞。對於MOLP-2細胞(圖26A)、人CD20+B細胞(圖26B)、人CD38+CD138+漿細胞(圖26C)及來自MM骨髓吸出物之CD38+CD138+MM腫瘤細胞(圖26D)，示出同型-PE及1G7 TDB之覆蓋直方圖。

【0121】圖27A為展示藉由流式細胞術分析偵測，在用靶細胞(MOLP-2)及1G7 TDB刺激後，CD8+細胞之劑量依賴性活化的圖表。

【0122】圖27B為展示藉由1G7 TDB之靶細胞依賴性殺傷的圖表。插圖示出親本Fox-NY細胞株及轉染以表達較低或較高水準之人FcRH5的純系的流式細胞術覆蓋。誤差棒為重複三次之標準偏差。

【0123】圖27C-27E為展示1G7 TDB誘導CD8增殖響應(5天)之圖表，如藉由流式細胞術量測CFSE螢光強度稀釋來偵測。僅CFSE標記之人CD8+細胞(圖27C)，與MOLP-2一起共培養(圖27D)，或與MOLP-2及1000 ng/ml之1G7.v85 TDB一起共培養(圖27E)。

【0124】圖27F為展示使用含有不同抗CD3臂(例如，UCHT1.v9、38E4.v1及40G5c)之FcRH5 TDB的靶依賴性細胞殺傷的圖表(參見PCT公開案第WO 2015/095392A1號，全部以引用方式併入本文)。抗CD3臂38E4.v1(單價 K_D 0.5 nM，BIACORE®)，UCHT1.9(單價 K_D =2.5 nM，BIACORE®及Scatchard)，及40G5c(單價 K_D =51 nM，BIACORE®)各自與m1G7之抗FcRH5臂(K_D =11 nM，BIACORE®)配對並且測試結合至純化人CD8+細胞。

【0125】 圖 27G 為展示使用 1G7 TDB 及 1G7/38E4.v1 雙 - Fab(「1G7雙-Fab」)之靶依賴性細胞殺傷的圖表。

【0126】 圖28A為展示原代多發性骨髓瘤腫瘤細胞、健康供體周邊B細胞及骨髓漿細胞中之FcRH5表現的圖表。FcRH5表現藉由流式細胞術分析並且相對於MOLP-2內部及分析對照中之表現來正規化。FcRH5之相對水準計算如下：(「X」之FcRH5之幾何平均值/「X」之同型對照之幾何平均值)/(MOLP-2之FcRH5之幾何平均值/MOLP-2之同型對照之幾何平均值)。

【0127】 圖28B為展示1G7.v85 TDB對於人漿細胞之細胞毒性活性的圖表。人骨髓單核細胞(BMMC)與1G7.v85 TDB一起培養並且活的CD38+CD138+之細胞數目藉由流式細胞術分析。

【0128】 圖28C為展示1G7.v85 TDB對於不同患者衍生原代骨髓瘤細胞之細胞毒性活性的圖表。人骨髓瘤BMMC與從健康供體分離之CD8+ T細胞及1G7.v85 TBD共培養。

【0129】 圖28D為展示靶細胞中之非常低FcRH5表現足夠用於有效殺傷活性的圖表。每個細胞之FcRH5複本數目藉由Scatchard分析來判定。

【0130】 圖28E(頂部)為展示具有1q21增益之高風險骨髓瘤患者之骨髓生檢中之FcRH5 mRNA水準之qRT-PCR分析的圖表。mRNA表現水準藉由 δCt (dCt)方法來計算。統計分析使用曼-惠特尼U測試來進行。(底部)為對於原代多發性骨髓瘤生檢之FISH分析之影像，展示1q21之正常二倍體(左側)及1q21之約三個至六個複本之混合物(右側)。當所計分腫瘤細胞之>20%具有1q21.3基因座之三個或更多個複

本時，腫瘤樣品識別為1q21增益。

【0131】 圖29A為同型-PE及抗FcRH5純系1G7-PE之直方圖覆蓋，描繪獼猴CD20+ B細胞上之FcRH5之表現。

【0132】 圖29B為同型-PE及抗FcRH5純系1G7-PE之直方圖覆蓋，描繪獼猴CD45-CD20-CD38+PC+漿細胞上之FcRH5之表現。

【0133】 圖29C-29D為展示在使用人CD8+ T細胞或獼猴CD8+ T細胞之SVT2-獼猴-FcRH5(圖29C)及MOLP-2(圖29D)之體外殺傷分析中，獼猴CD8+ T細胞與人CD8+ T細胞之間之可比較的劑量依賴性細胞毒性活性的圖表。

【0134】 圖29E為展示1G7.v85 TDB對於獼猴CD20+ B細胞(n=14)之體外殺傷活性的圖表。

【0135】 圖29F為展示1G7.v85 TDB對於八個不同供體(n=8)之獼猴骨髓之CD45-CD20-CD38+PC+漿細胞之體外殺傷活性的圖表。

【0136】 圖30A為展示從人源化NOD/SCID γ 小鼠(NSG)之脾分離之脾臟人T細胞與來自健康供體之周邊人T細胞具有可比較活性的圖表。

【0137】 圖30B為展示1G7 TDB治療誘導人源化NSG小鼠中之皮下MOLP-2異種移植腫瘤之消退的圖表。小鼠用單一靜脈內劑量之媒劑或0.5 mg/kg之1G7.v85 TDB來治療。指示平均腫瘤體積(黑色粗線)、個別腫瘤體積(灰色)及對照組之平均值(藍色虛線)。

【0138】 圖31A為展示在單一劑量投與1 mg/kg、2 mg/kg或4 mg/kg之1G7.v85 TDB至三個動物/群組之後，在研究持續時間內繪製之FcRH5 TDB之血清濃度的圖表。展示藥效學參數之表如下示出。

【0139】 圖31B為展示在單一劑量投與3 mg/kg之抗gD TDB或0.3 mg/kg或3 mg/kg之FcRH5 TDB至三個動物/群組之後，在研究持續時間內繪製之FcRH5 TDB(1G7.v85 TDB及1G7.v87/38E4.v1 TDB(「1G7.v87 TDB」))之血清濃度的圖表。展示藥效學參數之表如下示出。

【0140】 圖 31C-31D 為展示在單一劑量靜脈內投與媒劑或1G7.v85 TDB(1 mg/kg、2 mg/kg或4 mg/kg)至三個動物/群組之後，獼猴周邊血中之1G7.v85 TDB誘導瞬態T細胞活化的圖表。

【0141】 圖 31E-31H 為展示在單一劑量靜脈內投與媒劑或1G7.v85 TDB(1 mg/kg、2 mg/kg或4 mg/kg)至三個動物/群組之後，獼猴之周邊血(圖31E)、脾(圖31F)、下頷淋巴結(圖31G)及骨髓(圖31H)中之CD20+ B細胞之絕對計數的圖表。圖31F-31H以組平均值及平均標準誤差(SEM)來繪製。

【0142】 圖31I為展示1G7.v85 TDB耗盡獼猴中之骨髓漿細胞的圖表，其中繪製群組量測SEM。

【0143】 圖31J為展示對於治療之獼猴IgG水準響應之變化的圖表，使用式 $\{(\text{給藥前 IgG 水準}) - (\text{結束研究 IgG 水準})\} / (\text{給藥前 IgG 水準}) \times 100$ 來計算。給藥前與治療之後之間之差異藉由未配對t-測試來分析。資料以組平均值及平均標準誤差(SEM)來繪製。

【0144】 圖 32A-32B 為展示在單一劑量靜脈內投與媒劑、1 mg/kg之1G7.v85 TDB、2 mg/kg之1G7.v85 TDB或4 mg/kg之1G7.v85 TDB之後，四組動物中之周邊血中之CD4+ T細胞(圖32A)及CD8+ T細胞(圖32B)之絕對計數的圖表。

【0145】 圖32C為展示1G7.v85 TDB治療之後腸系膜淋巴節中之

CD20+ B細胞之絕對計數減少的圖表。繪圖以個別動物及平均組使用SEM來繪製。

【0146】圖32D為展示單一劑量靜脈內投與1 mg/kg、2 mg/kg或4 mg/kg之1G7.v85 TDB之後之FcRH5佔用的圖表。

【0147】圖33A-33F為展示單一劑量靜脈內投與媒劑、1 mg/kg之1G7.v85 TDB、2 mg/kg之1G7.v85 TDB及4 mg/kg之1G7.v85 TDB之後，四組動物中之細胞因子IL-6(圖33A)、IL-2(圖33B)、IFN- γ (圖33C)、IL-1R α (圖33D)、IL-5(圖33E)及MCP-1(圖33F)之濃度變化的圖表。

【0148】圖34為展示1G7.v85 TDB治療誘導人T細胞中之PD1表現的一系列繪圖。CD8+ T細胞用1G7.v85 TDB及MOLP-2靶細胞刺激48小時，然後藉由流式細胞術分析。

【0149】圖35A為展示單一劑量靜脈內投與媒劑、1 mg/kg、2 mg/kg及4 mg/kg之1G7.v85 TDB之後，獼猴中之CD8+ T細胞中之PD1+百分比的圖表。1G7.v85 TDB治療導致在體內誘導獼猴T細胞中之PD1。

【0150】圖35B為展示單一劑量靜脈內投與媒劑、1 mg/kg、2 mg/kg及4 mg/kg之1G7.v85 TDB之後，獼猴中之CD4+ T細胞中之PD1+百分比的圖表。

【0151】圖36A-36D為展示來自血液之CD4+ T細胞(圖19A)、來自脾之CD8+ T細胞(圖36B)、來自淋巴結之CD8+ T細胞(圖36C)，及來自骨髓之CD8+ T細胞(圖36D)中之PD-1表現的繪圖，如給予1G7.v85 TDB或媒劑之後七天藉由FACS分析。

【0152】 圖37A-37B為展示在存在或不存在抗PD-L1或抗PD-1抗體的情況下，1G7.v85 TDB重定向預刺激CD8+ T細胞之活性以殺傷表達FcRH5及PD-1之HEK-293T細胞(「293-FcRH5-PD-L1細胞」)的能力的圖表。圖37A中之曲線以三次重複之平均值及標準誤差(SD)來繪製。

【0153】 圖38A為展示在存在及不存在地塞米松(Dex)的情況下，藉由1G7.v85 TDB之SVT2-FcRH5之靶細胞殺傷的圖表。

【0154】 圖38B為展示在存在及不存在1 μ M Dex的情況下，用1G7.v85 TDB治療之後之細胞因子(即，IL-2、IL-6、TNF- α 及IFN- γ)釋放的一系列圖表。

【0155】 圖39為展示從人IgG1產生雙-Fab的示意圖。

【0156】 圖40A為展示如藉由ELISA分析判定，藉由雙-Fab A-D及F(ab')₂A來結合FcRH5的圖表。

【0157】 圖40B為展示如藉由ELISA分析判定，藉由雙-Fab A-D及F(ab')₂A來結合CD3的圖表。

【0158】 圖41為展示藉由雙-FabA-D及F(ab')₂A的靶介導T細胞活化之量的圖表。

【實施方式】

I. 定義

【0159】 如本文使用之術語「約」係指熟習此技術領域者容易知曉之相應值的通常誤差範圍。本文中對「約」某一個值或參數的提及包括(並且描述)針對該值或參數本身的實施例。

【0160】 出於本文之目的，「接受體人類構架」為以下構架，

其包含源於如以下定義之人類免疫球蛋白構架或人類一致構架之輕鏈可變域(VL)構架或重鏈可變域(VH)構架的胺基酸序列。「源於」人類免疫球蛋白構架或人類一致構架之接受體人類構架可包含與人類免疫球蛋白構架或人類一致構架相同之胺基酸序列，或其可含有胺基酸序列變化。在一些實施例中，胺基酸變化數目為10或10以下、9或9以下、8或8以下、7或7以下、6或6以下、5或5以下、4或4以下、3或3以下、或2或2以下。在一些實施例中，VL接受體人類構架之序列與VL人類免疫球蛋白構架序列或人類一致構架序列一致。

【0161】 「親和力」係指分子(例如抗體)之單個結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間非共價相互作用的強度總和。除非另外指示，否則如本文所用之「結合親和力」係指反映結合對(例如抗體與抗原)成員之間1:1相互作用的固有結合親和力。分子X對其搭配物Y之親和力可通常由解離常數(K_D)表示。親和力可藉由此項技術中已知之常用方法(包括本文所述者)加以量測。在下文中描述量測結合親和力之特定說明性及示範性實施例。

【0162】 「親和力成熟」抗體係指在一或多個高變區(HVR)中具有一或多處改變之抗體，與不具有該等改變之親本抗體相比，該等改變改良該抗體對抗原之親和力。

【0163】 術語「抗FcRH5抗體」及「結合FcRH5之抗體」係指能夠以足夠親和力結合FcRH5之抗體，從而該抗體適用作靶向FcRH5之診斷劑及/或治療劑。在一個實施例中，抗FcRH5抗體與無關非FcRH5蛋白之結合程度小於抗體與FcRH5之結合的約10%，如例如藉由放射免疫分析(RIA)所量測。在某些實施例中，結合FcRH5之抗體之解離

常數(K_D) $\leq 1\ \mu\text{M}$ 、 $\leq 100\ \text{nM}$ 、 $\leq 10\ \text{nM}$ 、 $\leq 1\ \text{nM}$ 、 $\leq 0.1\ \text{nM}$ 、 $\leq 0.01\ \text{nM}$ 或 $\leq 0.001\ \text{nM}$ (例如 $10^{-8}\ \text{M}$ 或以下，例如 $10^{-8}\ \text{M}$ 至 $10^{-13}\ \text{M}$ ，例如 $10^{-9}\ \text{M}$ 至 $10^{-13}\ \text{M}$)。在某些實施例中，抗FcRH5抗體結合在來自不同物種之FcRH5間保守的FcRH5抗原決定基。

【0164】術語「抗CD3抗體」及「結合CD3之抗體」係指能夠以足以使抗體在靶向CD3時適用作診斷劑及/或治療劑之親和力結合CD3之抗體。在一個實施例中，抗CD3抗體結合無關非CD3蛋白質之程度小於抗體與CD3之結合之約10%，如例如藉由放射免疫分析(RIA)所量測。在某些實施例中，結合CD3之抗體之解離常數(K_D)為 $\leq 1\ \mu\text{M}$ 、 $\leq 100\ \text{nM}$ 、 $\leq 10\ \text{nM}$ 、 $\leq 1\ \text{nM}$ 、 $\leq 0.1\ \text{nM}$ 、 $\leq 0.01\ \text{nM}$ 或 $\leq 0.001\ \text{nM}$ (例如 $10^{-8}\ \text{M}$ 或以下，例如 $10^{-8}\ \text{M}$ 至 $10^{-13}\ \text{M}$ ，例如 $10^{-9}\ \text{M}$ 至 $10^{-13}\ \text{M}$)。在某些實施例中，抗CD3抗體結合CD3中在來自不同物種之CD3中保守的抗原決定基。

【0165】術語「抗體」在本文中係以最廣泛意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(例如雙-Fab)，只要其展現所需抗原結合活性即可。

【0166】「抗體片段」係指除完整抗體以外之分子，其包含完整抗體之一部分且結合完整抗體所結合之抗原。抗體片段之實例包括但不限於雙-Fab；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)；及由抗體片段形成之多特異性抗體。

【0167】「結合域」意指化合物或分子的特異性結合至靶抗原

決定基、抗原、配位體或受體之部分。結合域包括但不限於抗體(例如，單株、多株、重組、人源化及嵌合抗體)、抗體片段或其一部分(例如，雙-Fab片段、Fab片段、F(ab')₂、scFv抗體、SMIP、域抗體、雙功能抗體、小分子抗體、scFv-Fc、親和體、奈米抗體及VH及/或VL域抗體)、受體、配位體、適體及具有確定結合搭配物之其他分子。

【0168】 如本文使用，術語「電荷區」係指多肽(例如，抗體)的包括一或多個(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)鹼性或酸性胺基酸之位置，該等鹼性或酸性胺基酸能夠與具有一或多個(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)或鹼性或酸性胺基酸之同源電荷區形成電荷對，此時電荷區及其同源電荷區具有相反總相對電荷。

【0169】 如本文使用，術語「電荷對」係指在相反總電荷之兩個電荷區之間形成之鍵。

【0170】 「化學治療劑」為適用於治療癌症之化合物。化學治療劑之例子包括烷化劑諸如塞替派及環磷醯胺(CYTOXAN®)；磺酸烷基酯諸如白消安、英丙舒凡及哌泊舒凡；氮丙啶類諸如苯佐替派(benzodopa)、卡波醌、美妥替派(meturedopa)及烏瑞替派(uredopa)；乙烯亞胺及甲基密胺，包括六甲蜜胺、三亞乙基密胺、三亞乙基磷醯胺、三亞乙基硫代磷醯胺及三羥甲基密胺；番荔枝內酯(acetogenin)(尤其是布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))； δ -9-四氫大麻酚(屈大麻酚，MARINOL®)； β -拉帕醌；拉帕醇；秋水仙鹼；樺木酸；喜樹鹼(包括合成類似物托泊替康(HYCAMTIN®)、CPT-11(伊立替康，CAMPTOSAR®)；乙醯基喜樹

鹼、莨菪素及9-胺基喜樹鹼)；苔蘚抑素；callystatin; CC-1065(包括其合成類似物阿多來新、卡澤來新及比澤來新)；鬼臼毒素；鬼臼酸；替尼泊苷；念珠藻環肽(尤其是念珠藻環肽1和念珠藻環肽8)；多拉司他汀；多卡米星(包括合成類似物KW-2189和CB1-TM1)；艾榴塞洛素；水鬼蕉鹼；sarcodictyin；海綿抑素；氮芥類諸如苯丁酸氮芥、萘氮芥、膽磷醯胺(chlorophosphamide)、雌莫司汀、異環磷醯胺、氮芥、鹽酸氧氮芥、美法侖、新氮芥、苯芥膽甾醇、潑尼莫司汀、曲磷胺、烏拉莫司汀；硝基脲類諸如卡莫司汀、氯脲菌素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀、雷莫司汀；抗生素類諸如烯二炔抗生素(例如刺孢黴素，尤其是刺孢黴素 γ II和刺孢黴素 Ω II(參見，例如，Nicolaou等人*Angew. Chem Intl. Ed. Engl.* 33: 183-186, 1994)；CDP323；經 α -4整聯蛋白抑制劑；達內黴素，包括達內黴素A；埃斯培拉黴素；以及新制癌菌素生色團及有關色蛋白烯二炔抗生素生色團)、阿克拉黴素(aclacinomycin)、放線菌素、氨茴黴素(authramycin)、偶氮絲氨酸、博來黴素、放線菌素、carabycin、洋紅黴素(caminomycin)、嗜癌黴素、色黴素、更生黴素、柔紅黴素、地托比星、6-重氮基-5-氧代-L-正白胺酸、多柔比星(包括ADRIAMYCIN®、嗎啉代-多柔比星、氰基嗎啉代-多柔比星、2-吡咯啉代-多柔比星、多柔比星HCl脂質體注射劑(DOXIL®)、脂質體多柔比星TLC D-99(MYOCET®)、聚乙二醇脂質體多柔比星(CAELYX®)及脫氧多柔比星)、表柔比星、依索比星、伊達比星、麻西羅黴素、絲裂黴素類諸如絲裂黴素C、麥考酚酸、諾拉黴素、橄欖黴素、培洛黴素、泊非黴素、嘌呤黴素、三鐵阿黴素、羅多比星、鏈黑黴素、鏈佐星、殺結核菌素、烏苯美司、淨司他丁、佐

柔比星；抗代謝藥諸如甲氨蝶呤、吉西他賓(GEMZAR®)、喃氟啉(UFTORAL®)、卡培他濱(XELODA®)、埃博黴素及5-氟尿嘧啶(5-FU)；考布他汀；葉酸類似物諸如二甲葉酸、甲氨蝶呤、蝶羅呤、三甲曲沙；嘌呤類似物諸如氟達拉濱、6-巯嘌呤、硫咪嘌呤、硫鳥嘌呤；嘧啶類似物諸如安西他濱、阿紮胞苷、6-氮雜尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、二脫氧尿苷、去氧氟尿苷、依諾他濱、氟尿苷；雄激素類諸如卡普羥酮、丙酸屈他雄酮、環硫雄醇、美雄烷、羥內酯；抗腎上腺類諸如氨魯米特、米托坦、曲洛司坦；葉酸補充劑諸如亞葉酸(frolic acid)；醋葡醛內酯；醛磷醯胺糖苷；胺基酮戊酸；恩尿嘧啶；安吡啶；bestrabucil；比生群；依達曲沙(edatraxate)；地磷醯胺(defofamine)；秋水仙胺；地吡醌；elformithine；依利醋鉍；埃博黴素；依託格魯；硝酸鎂；羥基脲；香菇多糖；氯尼達明；美登素類化合物諸如美坦辛及安絲菌素；米托胍脲；米托蒽醌；莫哌達醇；尼曲吡啶；噴司他丁；蛋氨酸芥；吡柔比星；洛索蒽醌；2-乙基醯肼；丙卡巴肼；PSK®多醣複合物(JHS Natural Products, Eugene, Oreg.)；雷佐生；根黴素；西佐喃；鎳螺胺；替奴佐酸；三亞胺醌；2,2',2'-三氯三乙胺；單端孢黴烯類(尤其T-2毒素，疣孢菌素A，桿孢菌素A及蛇形菌素)；烏拉坦；長春地辛(ELDISINE®, FILDESIN®)；達卡巴嗪；甘露氮芥；二溴甘露醇；二溴衛矛醇；哌泊溴烷；gacytosine；阿糖胞苷(「Ara-C」)；塞替派；紫杉烷，例如，紫杉醇(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)，紫杉醇之白蛋白工程化奈米顆粒調配物(ABRAXANE™)，及多西紫杉醇(TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France)；苯丁酸氮芥；6-硫鳥嘌呤；巯

基嘌呤；甲胺蝶呤；鉑劑諸如順鉑，奧克賽鉑（例如，ELOXATIN®），及卡波鉑；長春花，其防止微管蛋白聚合形成微管，包括長春花鹼（VELBAN®），長春新鹼（ONCOVIN®），長春地辛（ELDISINE®, FILDESIN®），及長春瑞賓（NAVELBINE®）；依託泊苷（VP-16）；異環磷醯胺；米托蒽醌；亞葉酸；諾肖林；依達曲沙；柔紅黴素；胺基蝶呤；伊班膦酸鹽；拓撲異構酶抑制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸（DMFO）；類視色素諸如視黃酸，包括蓓薩羅丁（TARGRETIN®）；雙膦酸鹽類諸如氯膦酸鹽（例如，BONEFOS®或OSTAC®），依替膦酸鹽（DIDROCAL®），NE-58095，唑來膦酸/唑來膦酸鹽（ZOMETA®），阿侖膦酸鹽（FOSAMAX®），帕米膦酸鹽（AREDIA®），替魯膦酸鹽（SKELID®），或利塞膦酸鹽（ACTONEL®）；曲沙他濱（1,3-二氧戊環核苷胞嘧啶類似物）；反義寡核苷酸，尤其抑制涉及異常細胞增殖之信號傳導途徑中之基因表達的反義寡核苷酸，例如像，PKC- α 、Raf、H-Ras及表皮生長因子受體（EGF-R）（例如，厄洛替尼（Tarceva™））；及減少細胞增殖之VEGF-A；疫苗諸如THERATOPE®疫苗及基因治療疫苗，例如，ALLOVECTIN®疫苗，LEUVECTIN®疫苗，及VAXID®疫苗；拓撲異構酶1抑制劑（例如，LURTOTECAN®）；rmRH（例如，ABARELIX®）；BAY439006（索拉非尼；Bayer）；SU-11248（舒尼替尼，SUTENT®, Pfizer）；哌立福辛、COX-2抑制劑（例如，塞來昔布或依託考昔），蛋白體抑制劑（例如，PS341）；硼替佐米（VELCADE®）；CCI-779；替吡法尼（R11577）；orafenib，ABT510；Bcl-2抑制劑諸如奧利默森納（GENASENSE®）；匹杉瓊；EGFR抑制劑；酪胺酸激酶抑制劑；絲胺酸-蘇胺酸激酶抑制

劑諸如納巴黴素(西羅莫司，RAPAMUNE®)；法呢醯轉移酶抑制劑諸如洛那法尼(SCH 6636, SARASAR™)；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；以及上述兩者或兩者以上之組合諸如CHOP，環磷醯胺、多柔比星、長春新鹼與潑尼龍之混合療法之縮寫；及FOLFOX，具有奧克賽鉑(ELOXATIN™)與5-FU及亞葉酸組合之治療方案之縮寫，及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；以及上述兩者或兩者以上之組合。

【0171】如本文定義之化學治療劑包括「抗激素劑」或「內分泌治療劑」，其用於調節、減少、阻斷或抑制可促進癌症生長之激素的作用。其可為激素本身，包括但不限於：抗雌激素及選擇性雌激素受體調控劑(SERM)，包括，例如，它莫西芬(包括NOLVADEX®它莫西芬)，雷洛昔芬，屈洛昔芬，4-羥基它莫西芬，曲沃昔芬，雷洛西芬，LY117018，奧那司酮，及FARESTON.cndot.托瑞米芬；抑制芳香酶的芳香酶抑制劑，其調節腎上腺腺體中雌激素產生之，例如像4(5)-咪唑，氨魯米特，MEGASE®甲地孕酮，AROMASIN®依西美坦，福美司坦，法屈唑，RIVISOR®伏氯唑，FEMARA®來曲唑，及ARIMIDEX®阿那曲唑；及抗雄激素諸如氟他胺，尼魯米特，比卡魯胺，亮丙瑞林及戈舍瑞林；以及曲沙他濱(1,3-二氧戊環核苷胞嘧啶類似物)；反義寡核苷酸，尤其抑制涉及異常細胞增殖之信號傳導途徑中之基因表達的反義寡核苷酸，例如像PKC- α 、Raf及H-Ras；核酶諸如VEGF表現抑制劑(例如，ANGIOZYME®核酶)及HER2表現抑制劑；疫苗諸如基因治療疫苗，例如，ALLOVECTIN®疫苗，LEUVECTIN®疫苗，及VAXID®疫苗；PROLEUKIN® rIL-2；

LURTOTECAN®拓撲異構酶1抑制劑；ABARELIX®rmRH；長春瑞賓及埃斯培拉黴素(參見美國專利第4,675,187號)，及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；以及上述兩者或兩者以上之組合。

【0172】術語「免疫調節藥物」或「IMiD」係指以下類別藥物，其諸如藉由刺激抗體形成及/或抑制周邊血細胞活性來改變免疫系統響應或免疫系統之功能，並且包括但不限於沙立度胺(α -N-鄰苯二甲醯-戊二醯亞胺)及其類似物，REVLIMID®(來那度胺)，ACTIMID™(泊馬度胺)，OTEZLA®(阿普斯特)，及其醫藥學上可接受之鹽或酸。

【0173】術語「嵌合」抗體係指重鏈及/或輕鏈之一部分源於特定來源或物種，而重鏈及/或輕鏈之其餘部分源於不同來源或物種之抗體。

【0174】如本文所用之術語「FcRH5」係指由細胞中之FcRH5蛋白所產生之任何天然FcRH5。除非另外指示，否則該術語包括來自任何脊椎動物來源之FcRH5，該脊椎動物來源包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類及食蟹猴(*cynomolgus monkey*))；及齧齒動物(例如小鼠及大鼠)。該術語亦包括FcRH5之天然存在之變異體，例如拼接變異體或對偶基因變異體。示範性人類FcRH5蛋白質序列之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO:114中。示範性食蟹猴FcRH5蛋白質之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 215中。

【0175】除非另外指示，否則如本文使用之術語「分化抗原簇3」或「CD3」係指來自任何脊椎動物來源之任何天然CD3，該脊椎動物來源包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)及齧齒動物(例如

小鼠及大鼠)，包括例如CD3 ϵ 、CD3 γ 、CD3 α 及CD3 β 鏈。該術語包括「全長」未加工CD3(例如，未加工或未修飾之CD3 ϵ 或CD3 γ)，以及由細胞加工所產生之任何形式之CD3。該術語亦包括CD3之天然存在變異體，包括例如拼接變異體或對偶基因變異體。CD3包括例如人CD3 ϵ 蛋白質(NCBI RefSeq No. NP_000724)，其為207個胺基酸長度，及人CD3 γ 蛋白質(NCBI RefSeq No. NP_000064)，其為182個胺基酸長度。

【0176】 抗體之「類別」係指抗體重鏈所具有之恆定域或恆定區之類型。存在五個主要抗體類別：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且此等類別中之若干類別可進一步分成子類(同型)，例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及IgA₂。對應於不同免疫球蛋白類別之重鏈恆定域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。

【0177】 應瞭解本文所述之本發明之態樣及實施例包括「由態樣及實施例組成」及/或「基本上由態樣及實施例組成」。

【0178】 如本文所用之術語「細胞毒性劑」係指抑制或阻止細胞功能及/或導致細胞死亡或破壞之物質。細胞毒性劑包括但不限於放射性同位素(例如At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹²及Lu之放射性同位素)；化學治療劑或藥物(例如甲胺蝶呤(methotrexate)、阿德力黴素(adriamycin)、長春花生物鹼(長春新鹼(vincristine)、長春花鹼(vinblastine)、依託泊苷(etoposide))、小紅莓(doxorubicin)、美法侖(melphalan)、絲裂黴素C(mitomycin C)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、道諾黴素(daunorubicin)或其他嵌入劑)；生長抑制劑；酶及其片段，諸如核分解酶；抗生素；細菌、真菌、植物或動物來源之毒素，諸如小分子毒素或酶活性毒素，包括其片段及/或

變異體；及以下揭示之各種抗腫瘤劑或抗癌劑。

【0179】「病症」為將受益於治療之任何病狀包括但不限於慢性及急性病症或疾病包括使哺乳動物易患所述病症之彼等病理狀況。

【0180】術語「細胞增殖病症」及「增殖病症」係指與某種程度之異常細胞增殖相關之病症。在一實施例中，細胞增殖病症為癌症。在一實施例中，細胞增殖性疾病為腫瘤。

【0181】術語「癌症」及「癌性」係指或描述哺乳動物之特徵通常在於細胞生長/增殖失調之生理學病狀。癌症之實例包括(但不限於)黑素瘤、癌瘤、淋巴瘤(例如霍奇金氏及非霍奇金氏淋巴瘤)、母細胞瘤、肉瘤及白血病。在一些實施例中，癌症為FcRH5陽性癌症。此等癌症之更特定實例包括多發性骨髓瘤(MM)、慢性淋巴性白血病(CLL)、套膜細胞淋巴瘤(MCL)、彌散性大B-細胞淋巴瘤(DLBCL)、濾泡性淋巴瘤(FL)、急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增殖異常症候群(MDS)、慢性髓性白血病(CML)、慢性髓單核細胞白血病、急性前髓細胞白血病(APL)、慢性骨髓增殖病症、血小板性白血病、前驅B-細胞急性淋巴母細胞白血病(前-B-ALL)、前驅T細胞急性淋巴母細胞白血病(前-T-ALL)、肥大細胞疾病、肥大細胞白血病、肥大細胞肉瘤、骨髓性肉瘤、淋巴性白血病及未分化白血病。在一些實施例中，癌症為B細胞癌症。具體而言，癌症可包括涉及過量抗體產生之病狀，諸如單株丙種球蛋白病，輕鏈澱粉樣變性，未確定顯著性之單株丙種球蛋白病及孤立漿細胞瘤，分離漿細胞瘤及髓外漿細胞瘤。

【0182】如本文使用，「腫瘤」係指所有贅生性細胞生長及增殖，不論惡性或良性，及所有前癌性及癌性細胞及組織。如本文提及

之術語「癌症」、「癌性」、「細胞增殖病症」、「增殖病症」及「腫瘤」並非互斥的。

【0183】「效應功能」係指可歸因於抗體之Fc區之彼等生物活性，其隨抗體同型而變化。抗體效應功能之實例包括：C1q結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體)之下調；及B細胞活化。

【0184】「有效量」之化合物，例如，本發明之抗FcRH5抗體或其組合物(例如，醫藥組合物)至少為達成所需治療或預防結果所需要之最小量，諸如特定病症(例如，細胞增殖病症，例如，癌症)之可量測改善或預防。本文中之有效量可根據諸如患者之疾病狀態、年齡、性別及體重、及抗體於個體中引發所要反應之能力等因素變化。有效量亦為治療有利作用超過治療之任何毒性或有害作用的量。對於預防性使用，有利或所需結果包括諸如以下結果：消除或減少風險，減輕嚴重程度，或延遲疾病之發作，包括疾病之生化、組織學及/或行為症狀，其併發症，及在疾病之顯現期間呈現的中間病理表型。對於治療性使用，有利或所需結果包括諸如以下臨床結果：減少由疾病產生之一或多個症狀，增加患疾病者之生活品質，減少治療疾病所需要之其他藥物之劑量，諸如經由靶向輸送來增強另一種藥物之作用，延遲疾病之進程，及/或延長存活。在癌症或腫瘤之情形下，有效量之藥物可減少癌細胞之數目；降低腫瘤尺寸；抑制(亦即在某種程度上減慢且較佳地停止)癌細胞浸潤至外周器官中；抑制(亦即在某種程度上減慢且較佳地停止)腫瘤轉移；在某種程度上抑制腫瘤生長；及/

或在某種程度上減輕與癌症相關之一或多種症狀。有效量可分一或多次投藥來投與。出於本發明之目的，藥物、化合物或醫藥組合物之有效量為足以直接或間接地實現預防性或治療性治療之量。如在臨床情形中瞭解，藥物、化合物或醫藥組合物之有效量可能結合另一種藥物、化合物或醫藥組合物來達成或可能不達成。因此，「有效量」可在投與一或多種治療劑之情形下考慮，並且若結合一或多種其他藥劑，可達成或達成理想結果，則單一藥劑可被認為以有效量給予。

【0185】術語「Fc區」在本文中用於定義免疫球蛋白重鏈之含有至少一部分恆定區之C端區域。該術語包括天然序列Fc區域及變異體Fc區域。在一實施例中，人IgG重鏈Fc區域從Cys226，或Pro230延伸至重鏈之羧基末端。然而，Fc區域之C末端離胺酸(Lys447)可存在或可不存在。除非本文另外規定，Fc區域或恆定區中之胺基酸殘基之編號係根據EU編號系統，亦稱為EU索引，如在Kabat等人*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991中所描述。

【0186】「構架」或「FR」係指除高變區(HVR)殘基以外之可變域殘基。可變域之FR通常由四個FR域組成：FR1、FR2、FR3及FR4。因此，HVR及FR序列通常按以下順序出現在VH(或VL)中：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0187】術語「FcRH5陽性細胞」係指在表面上表現FcRH5之細胞。在一些實施例中，FcRH5為FcRH5a、FcRH5b、FcRH5c、UniProt識別符Q96RD9-2及/或FcRH5d之一或多者。在一些實施例中，FcRH5為FcRH5c。

【0188】術語「FcRH5陽性癌症」係指包含在表面上表現FcRH5之細胞之癌症。出於確定細胞是否在表面上表現FcRH5之目的，將FcRH5 mRNA表現視為與FcRH5在細胞表面上表現相關聯。在一些實施例中，FcRH5 mRNA之表現係藉由選自原位雜交及RT-PCR(包括定量RT-PCR)之方法加以測定。或者，細胞表面上之FcRH5之表現可例如使用FcRH5之抗體在諸如免疫組織化學、FACS等之方法中來判定。在一些實施例中，FcRH5為FcRH5a、FcRH5b、FcRH5c、UniProt識別符Q96RD9-2及/或FcRH5d中之一或多者。在一些實施例中，FcRH5為FcRH5c。

【0189】術語「全長抗體」、「完整抗體」及「完全抗體」在本文中可互換使用來表示具有與天然抗體結構實質上類似之結構或具有含有如本文定義之Fc區之重鏈的抗體。

【0190】術語「FcRH5之糖基化形式」係指藉由添加碳水化合物殘基而經轉譯後修飾的FcRH5之天然存在之形式。

【0191】在本文使用時，「生長抑制劑」係指在體外或體內抑制細胞生長之化合物或組合物。在一實施例中，生長抑制劑為防止或減少表達與抗體結合之抗原的細胞之增殖的生長抑制抗體。在另一實施例中，生長抑制劑可為顯著減少S期中之細胞之百分比的抑制劑。生長抑制劑之實例包括阻斷細胞週期進程(在除了S期以外的位置處)的試劑，諸如誘導G1停止及M期停止之試劑。經典M期阻滯劑包括長春花(長春新鹼及長春花鹼)、紫杉烷類，及拓撲異構酶II抑制劑諸如多柔比星、表柔比星、柔紅黴素、依託泊苷及博來黴素。停止G1之彼等試劑亦發展成S期停止，例如，DNA烷化劑諸如它莫西芬、潑尼

松、達卡巴嗪、二氯甲基二乙胺、順鉑、甲胺蝶呤、5-氟尿嘧啶及 ara-C。進一步資訊可發現於 Mendelsohn 及 Israel 編, *The Molecular Basis of Cancer*, Chapter 1, 標題為「Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs」 Murakami 等人(W.B. Saunders, Philadelphia, 1995), 登錄第13頁中。紫杉烷類(紫杉醇及多西紫杉醇)為均來源於紫杉樹之抗癌藥物。來源於歐洲紫杉之多西紫杉醇 (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer)為紫杉醇(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb)之半合成類似物。紫杉醇及多西紫杉醇促進從微管蛋白二聚體組裝微管及藉由防止解聚合來使微管穩定, 從而導致抑制細胞中之有絲分裂。

【0192】術語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及「宿主細胞培養物」可互換使用且係指已引入有外源性核酸之細胞, 包括此等細胞之子代。宿主細胞包括「轉型體」及「轉型細胞」, 其包括初級轉型細胞及源於其之子代而不考慮繼代數目。子代在核酸內含物方面可能與母細胞不完全相同, 而可能含有突變。本文包括具有與在原始轉型細胞中所篩檢或選擇相同之功能或生物活性之突變型子代。

【0193】「人類抗體」為具有對應於由人類或人類細胞所產生或源於利用人類抗體譜系或其他人類抗體編碼序列之非人類來源之抗體胺基酸序列之胺基酸序列的抗體。人類抗體之此定義明確排除包含非人類抗原結合殘基之人源化抗體。人類抗體可使用此項技術中已知之各種技術, 包括噬菌體展示文庫來產生。Hoogenboom及Winter. *J. Mol. Biol.* 227:381,1991; Marks等人*J. Mol. Biol.* 222:581,1991。在Cole等人*Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner等人*J. Immunol.*, 147(1):86-95,1991中描述之方法亦可

用於製備人單株抗體。亦參見 van Dijk 及 van de Winkel. *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74, 2001。人抗體可藉由將抗原投與轉殖基因動物來製備，該動物已經改變以響應於抗原攻擊來產生此等抗體，但是其內源性基因座具有停用，例如，經免疫轉殖基因小鼠（關於 XENOMOUSE™ 技術，參見例如美國專利第 6,075,181 及 6,150,584 號）。關於經由人 B-細胞融合瘤技術來產生之人抗體，亦參見例如 Li 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103:3557-3562, 2006。

【0194】「人類一致構架」為代表在人類免疫球蛋白 VL 或 VH 構架序列之選擇中最常出現之胺基酸殘基的構架。一般而言，人類免疫球蛋白 VL 或 VH 序列係選自可變域序列之亞群。總體上，序列之亞群為如 Kabat 等人 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), 第 1-3 卷中之亞群。在一個實施例中，對於 VL，亞群為如 Kabat 等人(同上)中之亞群 κ I。在一個實施例中，對於 VH，亞群為如 Kabat 等人(同上)中之亞群 III。

【0195】「人源化」抗體係指包含來自非人類 HVR 之胺基酸殘基及來自人類 FR 之胺基酸殘基的嵌合抗體。在某些實施例中，人源化抗體將包含實質上全部至少一個且通常兩個可變域，其中全部或實質上全部 HVR(例如 CDR)對應於非人類抗體之 HVR，且全部或實質上全部 FR 對應於人類抗體之 FR。人源化抗體視情況可包含源於人類抗體之抗體恆定區之至少一部分。例如非人類抗體之抗體之「人源化形式」係指已進行人源化之抗體。

【0196】如本文所用之術語「高變區」或「HVR」係指抗體可

變域中序列高變(「互補決定區」或「CDR」)及/或形成結構確定之環(「高變環」)及/或含有抗原接觸殘基(「抗原接觸」)之各區域。一般而言，抗體包含六個HVR；三個在VH中(H1、H2、H3)，且三個在VL中(L1、L2、L3)。示例性HVR在本文中包括：

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

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

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

(d) (a)、(b)及/或(c)之組合，包括HVR胺基酸殘基46-56 (L2)、47-56 (L2)、48-56 (L2)、49-56 (L2)、26-35 (H1)、26-35b (H1)、49-65 (H2)、93-102 (H3)及94-102 (H3)。

【0197】 除非另外指示，否則HVR殘基及可變域中之其他殘基(例如FR殘基)在本文中係根據Kabat等人(同上)加以編號。

【0198】 「免疫結合物」為結合於一或多個異源分子(包括但不限於細胞毒性劑)之抗體。

【0199】 「受試者」或「個體」為哺乳動物。哺乳動物包括但不限於馴養動物(例如母牛、綿羊、貓、狗及馬)、靈長類動物(例如人

類及非人類靈長類動物，諸如猴)、兔及齧齒動物(例如小鼠及大鼠)。
在某些實施例中，受試者或個體為人類。

【0200】 「經分離抗體」為已與天然環境之組分分離之抗體。
在一些實施例中，將抗體純化至大於95%或99%純度，如藉由例如電泳(例如SDS-PAGE、等電聚焦(IEF)、毛細管電泳)或層析(例如離子交換或逆相HPLC)所測定。對於評估抗體純度之方法之評述，參見例如Flatman等人*J. Chromatogr. B* 848:79-87, 2007。

【0201】 「經分離核酸」係指已與其自然環境之組分經分離核酸分子。經分離核酸包括通常含有核酸分子之細胞中含有之核酸分子，但該核酸分子係存在於染色體外或存在於不同於其天然染色體位置之染色體位置處。

【0202】 「編碼抗FcRH5抗體之經分離核酸」係指一或多個編碼抗體重鏈及輕鏈(或其片段)之核酸分子，包括在單個載體或各別載體中之此(此等)核酸分子及存在於宿主細胞中之一或多個位置處之此(此等)核酸分子。

【0203】 「編碼抗CD3抗體之經分離核酸」係指一或多個編碼抗體重鏈及輕鏈(或其片段)之核酸分子，包括在單一載體或各別載體中之此(等)核酸分子及存在於宿主細胞中之一或多個位置上之此(等)核酸分子。

【0204】 如本文所用之術語「單株抗體」係指自實質上均質之抗體群體獲得之抗體，亦即除可能之變異抗體(例如含有天然存在之突變或在製備單株抗體製備物期間產生，此等變異體通常少量存在)之外，構成該群體之個別抗體相同及/或結合相同抗原決定基。與通

常包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體之多株抗體製備物不同，單株抗體製備物之各單株抗體係針對抗原上之單個決定子。因此，修飾語「單株」指示如從抗體之實質上均質群體獲得之抗體的特性，並且不應理解為要求該等任何特定方法來產生抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由各種技術製成，包括但不限於融合瘤方法、重組DNA方法、噬菌體展示方法，及利用含有全部或一部分人免疫球蛋白基因座之轉殖基因動物的方法，此等方法及製造單株抗體之其他示例性方法在本文中描述。

【0205】 「裸抗體」係指未結合於異源部分(例如細胞毒性部分)或放射性標記之抗體。裸抗體可存在於醫藥調配物中。

【0206】 「天然抗體」係指具有不同結構之天然存在之免疫球蛋白分子。舉例而言，天然IgG抗體為約150,000道爾頓(dalton)之雜四聚醣蛋白，由經二硫鍵鍵結之兩個相同輕鏈及兩個相同重鏈構成。自N端至C端，各重鏈具有可變區(VH)，亦稱為可變重域或重鏈可變域，隨後為三個恆定域(CH1、CH2及CH3)。類似地，自N端至C端，各輕鏈具有可變區(VL)，亦稱為可變輕域或輕鏈可變域，隨後為恆定輕(CL)域。抗體之輕鏈可基於其恆定域之胺基酸序列指定為稱為 κ 及 λ 之兩種類型中之一者。

【0207】 術語「藥品說明書」用於指慣常包括在治療性產品之商業包裝中之說明書，其含有關於與使用此等治療性產品相關之適應症、用法、劑量、投藥、組合療法、禁忌症及/或警告的資訊。

【0208】 術語「PD-1軸結合拮抗劑」係指如下分子，該分子抑制PD-1軸結合搭配物與其結合搭配物中之一或多者之相互作用，以便

消除由PD-1信號傳導軸上之信號傳導所導致的T細胞功能障礙，結果為恢復或增強T細胞功能(例如，增殖、細胞因子產生、靶細胞殺傷)。如本文使用，PD-1軸結合拮抗劑包括PD-1結合拮抗劑、PD-L1結合拮抗劑及PD-L2結合拮抗劑。

【0209】 術語「PD-1結合拮抗劑」係指減少、阻斷、抑制、消除或干擾PD-1與其結合搭配物諸如PD-L1、PD-L2中之一或多者之相互作用所導致的信號轉導的分子。在一些實施例中，PD-1結合拮抗劑為抑制PD-1結合至其結合搭配物中之一或多者的分子。在具體實施例中，PD-1結合拮抗劑抑制PD-1結合至PD-L1及/或PD-L2。舉例而言，PD-1結合拮抗劑包括抗PD-1 抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白質、寡肽及減少、阻斷、抑制、消除或干擾PD-1與PD-L1及/或PD-L2之相互作用所導致的信號轉導的其他分子。在一實施例中，PD-1結合拮抗劑減少在經由PD-1之T淋巴細胞介導信號傳導時表現之細胞表面蛋白質所介導的負性共刺激信號，以使得功能失調T細胞之功能失調減少(例如，增強對於抗原識別之效應響應)。在一些實施例中，PD-1結合拮抗劑為抗PD-1抗體。在具體實施例中，PD-1結合拮抗劑為MDX-1106(奈武單抗)。在另一個具體實施例中，PD-1結合拮抗劑為MK-3475(帕姆利珠單抗)。在另一個具體實施例中，PD-1結合拮抗劑為CT-011(匹地利珠單抗)。在另一個具體實施例中，PD-1結合拮抗劑為AMP-224。在另一個具體實施例中，PD-1結合拮抗劑為MED1-0680。在另一個具體實施例中，PD-1結合拮抗劑為PDR001。在另一個具體實施例中，PD-1結合拮抗劑為REGN2810。在另一個具體實施例中，PD-1結合拮抗劑為BGB-108。

【0210】術語「PD-L1結合拮抗劑」係指減少、阻斷、抑制、消除或干擾PD-L1與其結合搭配物諸如PD-1、B7-1中之一或多者之相互作用所導致的信號轉導的分子。在一些實施例中，PD-L1結合拮抗劑為抑制PD-L1結合至其結合搭配物的分子。在具體實施例中，PD-L1結合拮抗劑抑制PD-L1結合至PD-1及/或B7-1。在一些實施例中，PD-L1結合拮抗劑包括抗PD-L1抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白質、寡肽及減少、阻斷、抑制、消除或干擾PD-L1與其結合搭配物諸如PD-1、B7-1中之一或多者之相互作用所導致的信號轉導的其他分子。在一實施例中，PD-L1結合拮抗劑減少在經由PD-L1之T淋巴細胞介導信號傳導時表現之細胞表面蛋白質所介導的負性共刺激信號，以使得功能失調T細胞之功能失調減少(例如，增強對於抗原識別之效應響應)。在一些實施例中，PD-L1結合拮抗劑為抗PD-L1抗體。在仍然另一個具體實施例中，抗PD-L1抗體為MPDL3280A(阿佐利珠單抗，以WHO藥物資訊(藥用物質的國際非專利名稱)作為TECENTRIQ™銷售，建議INN：清單74，第29卷，第3期，2015(參見第387頁))。在具體實施例中，抗PD-L1抗體為YW243.55.S70。在另一個具體實施例中，抗PD-L1抗體為MDX-1105。在另一個具體實施例中，抗PD-L1抗體為MSB0015718C。在仍然另一個具體實施例中，抗PD-L1抗體為MEDI4736。

【0211】術語「PD-L2結合拮抗劑」係指減少、阻斷、抑制、消除或干擾PD-L2與其結合搭配物諸如PD-1中之一或多者之相互作用所導致的信號轉導的分子。在一些實施例中，PD-L2結合拮抗劑為抑制PD-L2結合至其結合搭配物中之一或多者的分子。在具體實施例中，

PD-L2結合拮抗劑抑制PD-L2結合至PD-1。在一些實施例中，PD-L2拮抗劑包括抗PD-L2抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白質、寡肽及減少、阻斷、抑制、消除或干擾PD-L2與其結合搭配物諸如PD-1中之一或多者之相互作用所導致的信號轉導的其他分子。在一實施例中，PD-L2結合拮抗劑減少在經由PD-L2之T淋巴細胞介導信號傳導時表現之細胞表面蛋白質所介導的負性共刺激信號，以使得功能失調T細胞之功能失調減少(例如，增強對於抗原識別之效應響應)。在一些實施例中，PD-L2結合拮抗劑為免疫黏附素。

【0212】 除非另外指示，否則如本文所用之術語「蛋白質」係指來自任何脊椎動物來源之任何天然蛋白質，該脊椎動物來源包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)及齧齒動物(例如小鼠及大鼠)。該術語涵蓋「全長」未加工蛋白質以及蛋白質之由在細胞中加工所產生之任何形式。該術語亦包括蛋白質之天然存在之變異體，例如拼接變異體或對偶基因變異體。

【0213】 相對於參照多肽序列之「胺基酸序列一致性百分比(%)」定義為在比對參照多肽序列與候選序列且必要時引入間隙以達成最大序列一致性百分比之後，且在不將任何保守性取代視為序列一致性之一部分的情況下，候選序列中與參照多肽序列中之胺基酸殘基一致的胺基酸殘基之百分比。可以此項技術中之技能範圍內之多種方式，例如使用可公開獲得之電腦軟體，諸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)軟體來比對以便測定胺基酸序列一致性百分比。熟習此項技術者可確定適用於比對序列之參數，包括在所比較之序列之全長上達成最大對準所需之任何算法。然而，出於本文目

的，使用序列比較電腦程式ALIGN-2產生胺基酸序列一致性百分比值。ALIGN-2序列比較電腦程式由Genentech, Inc.創造，且原始程式碼已與使用說明書一起在美國版權局(U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559)存檔，其中其以美國版權登記號TXU510087登記。ALIGN-2程式可公開自Genentech, Inc., South San Francisco, California獲得，或可自原始程式碼編譯。ALIGN-2程式應編譯用於UNIX操作系統(包括數位UNIX V4.0D)。所有序列比較參數皆由ALIGN-2程式設定且不改變。

【0214】在採用ALIGN-2進行胺基酸序列比較之情形下，既定胺基酸序列A對於、與或相對於既定胺基酸序列B之胺基酸序列一致性百分比(或者可稱為既定胺基酸序列A對於、與或相對於既定胺基酸序列B具有或包含某一百分比之胺基酸序列一致性)係如下加以計算：

$$100 \times \text{分數 } X/Y$$

其中X為藉由序列比對程式ALIGN-2在彼程式進行A與B比對時計分為相同匹配之胺基酸殘基數，且其中Y為B中之胺基酸殘基總數。應瞭解當胺基酸序列A之長度不等於胺基酸序列B之長度時，A對於B之胺基酸序列一致性百分比將不等於B對於A之胺基酸序列一致性百分比。除非另外明確陳述，否則本文使用之所有胺基酸序列一致性百分比值皆係使用ALIGN-2電腦程式如前一段中所述來獲得。

【0215】術語「醫藥調配物」係指以下製劑，其呈允許當中所含之活性成分之生物活性有效之形式，且不含對調配物所將投與之受試者有不可接受毒性之其他組分。

【0216】「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥調配物中除活性

成分以外之對受試者無毒的成分。醫藥學上可接受之載劑包括但不限于緩衝劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

【0217】 如本文所用之「治療(treatment)」(及其語法變化形式, 諸如「治療(treat)」或「治療(treating)」)係指試圖改變所治療個體之自然病程, 且可為達成防治目的或在臨床病理過程中進行之臨床介入。合乎需要之治療作用包括但不限于防止疾病發生或復發、減輕症狀、減弱疾病之任何直接或間接病理學結果、防止轉移、降低疾病進展速率、改善或緩解疾病病況及緩和或改善預後。在一些實施例中, 本發明之抗體用於延遲疾病發展或減緩疾病進展。

【0218】 如本文使用, 「延遲病症或疾病之進展」意指推遲、阻礙、減慢、阻止、穩定及/或延遲疾病或病症(例如, 細胞增殖病症, 例如, 癌症)之發展。此延遲可為不同時間長度, 取決於疾病歷史及/或所治療之個體。如熟習此項技術者顯而易知, 足夠或顯著延遲可事實上包括預防, 只要個體不患上疾病。舉例而言, 可延遲晚期階段癌症, 諸如轉移之發展。

【0219】 術語「抗原決定基」係指抗體所結合之在抗原分子上之特定位點。在一些實施例中, 抗體所結合之在抗原分子上之特定位點藉由羥基足跡分析(例如, FcRH5結合域)來判定。在一些實施例中, 抗體所結合之在抗原分子上之特定位點藉由晶體學來判定。

【0220】 「減少」或「抑制」意指導致總體減少例如20%或更大、50%或更大, 或75%、85%、90%、95%或更大之能力。在某些實施例中, 減少或抑制可涉及由抗體Fc區域介導之抗體之效應功能, 此等效應功能尤其包括補體依賴性細胞毒性(CDC)、抗體依賴性細胞毒

性(ADCC)及抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)。

【0221】術語「可變區」或「可變域」係指抗體重鏈或輕鏈中涉及抗體與抗原結合之結構域。天然抗體之重鏈可變域及輕鏈可變域(分別為VH及VL)通常具有類似結構，其中各結構域包含四個保守構架區(FR)及三個高變區(HVR)。(參見例如Kindt等人*Kuby Immunology*, 6th ed. W.H. Freeman and Co., page 91 (2007).)單一VH或VL域可足以賦予抗原結合特異性。此外，可分別使用來自結合特定抗原之抗體之VH或VL域篩檢互補VL或VH域之文庫來分離結合該特定抗原之抗體。參見例如Portolano等人*J. Immunol.* 150:880-887, 1993; Clarkson等人*Nature* 352:624-628, 1991。

【0222】「變異體Fc區域」包含由於至少一個胺基酸修飾，較佳一或多個胺基酸取代而不同於天然序列Fc區域的胺基酸序列。較佳地，與天然序列Fc區域或親本多肽之Fc區域相比，變異體Fc區域具有至少一個胺基酸取代，例如，在天然序列Fc區域或親本多肽之Fc區域中約一個至約十個胺基酸取代，及較佳約一個至約五個胺基酸取代。本文中的變異體Fc區域較佳與天然序列Fc區域或親本多肽之Fc區域具有至少約80%同源性，並且最佳與其具有至少約90%同源性，更佳與其具有至少約95%同源性。

【0223】如本文所用之術語「載體」係指核酸分子，其能夠使其所連接之另一核酸增殖。該術語包括呈自我複製核酸結構形式之載體以及併入當中已引入有其之宿主細胞之基因組中的載體。某些載體能夠導引與其可操作地連接之核酸表現。此等載體在本文中稱為「表現載體」。

【0224】如本文使用，「投與」意指給予受試者一定劑量化合物(例如，本發明之抗FcRH5抗體或編碼本發明之抗FcRH5抗體之核酸)或組合物(例如，醫藥組合物，例如，包括本發明之抗FcRH5抗體之醫藥組合物)的方法。本文描述方法所使用之組合物可例如肌肉內、靜脈內、皮內、經皮、動脈內、腹膜內、病灶內、顱內、關節內、前列腺內、胸腔內、氣管內、鼻內、玻璃體內、陰道內、直腸內、局部、瘤內、腹腔、皮下、結膜下、囊內、黏膜、心包內、臍帶內、眼內、經口、表面、局部、藉由吸入、藉由注射、藉由輸注、藉由連續輸注、藉由直接局部灌注靶細胞、藉由導管、藉由灌洗、以奶油形式或以脂質組合物形式來投與。投與方法可取決於各種因素(例如，所投與化合物或組合物及所治療病狀、疾病或病症之嚴重程度)而變化。

II. 組合物及方法

【0225】在一態樣中，本發明部分地基於抗FcRH5抗體。在某些實施例中，抗FcRH5抗體為多特異性(例如，雙特異性)並且除了FcRH5或其片段以外，結合至第二生物分子(例如，細胞表面抗原，例如，T細胞標記，例如，CD3(例如，CD3 ϵ 及/或CD3 γ))。本發明抗體適用於例如診斷及/或治療或延遲受試者之細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5陽性癌症，例如，多發性骨髓瘤)之進展。

A. 示例性抗FcRH5抗體

【0226】在一個態樣中，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含

胺基酸序列SEQ ID NO: 2之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之HVR-L3。

【0227】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包括與SEQ ID NO: 104具有至少80%(例如，80%例如，81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的重鏈可變(VH)域及/或包含與SEQ ID NO: 105具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的輕鏈可變(VL)域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含分別包括序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包括胺基酸序列SEQ ID NO: 104之重鏈可變(VH)域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括分別包含序列SEQ ID NO: 48、57、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-

L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 105之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v85，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 104之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 105之VL域。

【0228】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：SEQ ID NO: 1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包括與SEQ ID NO: 106具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 107具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含分別包括序列SEQ ID NO: 53、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 106之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括分別包

含序列SEQ ID NO: 48、57、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 107之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v93，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 106之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 107之VL域。

【0229】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 82具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 83具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況

下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 82之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 83之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 82之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 83之VL域。

【0230】 在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 21之HVR-L3。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含與SEQ ID NO: 84具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 85具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括分別為SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4。在一些情況

下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 84之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括分別包含序列SEQ ID NO: 48、57、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 85之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1.1，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 84之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 85之VL域。

【0231】 在一些情況下，抗FcRH5抗體具有包含六個高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 17之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 22之HVR-L3。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含與SEQ ID NO: 86具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 87具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包含進一步包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-

H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 86之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括分別包含序列SEQ ID NO: 48、57、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 87之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1.2，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 86之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 87之VL域。

【0232】 在一些情況下，抗FcRH5抗體具有包含六個高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 21之HVR-L3。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含與SEQ ID NO: 88具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 89具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括分別包

含胺基酸序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 88之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括分別包含序列SEQ ID NO: 48、57、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 89之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1.3，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供包含結合域之抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 88之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 89之VL域。

【0233】 在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有結合域，該結合域包括與SEQ ID NO: 90具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 91具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺

基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 90之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括分別包含序列SEQ ID NO: 48、57、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 91之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1.4，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 90之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 91之VL域。

【0234】 在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 22之HVR-L3。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含與SEQ ID NO: 92具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 93具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、

96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含分別包括序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 92之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括分別包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 93之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1.5，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 92之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 93之VL域。

【0235】 在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 19之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 24之HVR-L3。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含與SEQ ID NO: 94具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 95具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、

86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 94之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括分別包含序列SEQ ID NO: 48、57、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 95之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1.6，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域之抗FcRH5抗體，該結合域包括(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 94之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 95之VL域。

【0236】 在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 25之HVR-L3。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含與SEQ ID NO: 96具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID

NO: 97具有至少80%(例如, 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下, 抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 53、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下, 抗FcRH5抗體包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 96之VH域。在一些情況下, 抗FcRH5抗體包括包含序列SEQ ID NO: 48、57、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下, 抗FcRH5抗體包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 97之VL域。在特定實例中, 抗FcRH5抗體可為1G7.v1.7, 或其衍生物或純系相關物。在一些情況下, 舉例而言, 本發明提供具有結合域之抗FcRH5抗體, 該結合域包括(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 96之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 97之VL域。

【0237】 在一些實施例中, 本發明提供一種包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之HVR之抗FcRH5抗體: (a)包含胺基酸序列SEQ ID NO:1之HVR-H1; (b)包含胺基酸序列SEQ ID NO:7之HVR-H2; (c)包含胺基酸序列SEQ ID NO:9之HVR-H3; (d)包含胺基酸序列SEQ ID NO:12之HVR-L1; (e)包含胺基酸序列SEQ ID NO:18之HVR-L2; 及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO:25之HVR-L3。在一些情況下, 抗FcRH5抗體包括包含與SEQ ID NO: 98具有至少80%(例如, 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%

或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 99具有至少80%(例如, 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下, 抗FcRH5抗體包含分別包括序列SEQ ID NO: 52、55、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下, 抗FcRH5抗體包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 98之VH域。在一些情況下, 抗FcRH5抗體包括包含序列SEQ ID NO: 48、57、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下, 抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 99之VL域。在特定實例中, 抗FcRH5抗體可為1G7.v1.13, 或其衍生物或純系相關物。在一些情況下, 舉例而言, 抗FcRH5抗體可包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 98之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 99之VL域。

【0238】 在一些情況下, 抗FcRH5抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域: (a) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1; (b) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2; (c) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3; (d) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1; (e) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HVR-L2; 及(f) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 25之HVR-L3。在一些情況下, 抗FcRH5抗體包括(a) 包含與SEQ ID NO: 100具有至少80%(例如, 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%

或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 101具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 100之VH域。在一些情況下，如申請專利範圍第79-82項中任一項之抗FcRH5抗體，其中該抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、57、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 101之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1.13.1，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，例如，本發明提供抗FcRH5抗體，該抗體包括(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 100之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 101之VL域。

【0239】 在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括(a)包含與SEQ ID NO: 102具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、

88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或(b)包含與SEQ ID NO: 103具有至少80%(例如, 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下, 抗FcRH5抗體進一步包含分別包括序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下, 抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 102之VH域。在一些情況下, 抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下, 抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 103之VL域。在特定實例中, 抗FcRH5抗體可為1G7.v87, 或其衍生物或純系相關物。在一些情況下, 舉例而言, 本發明提供抗FcRH5抗體, 該抗體包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 102之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 103之VL域。

【0240】 在一些情況下, 抗FcRH5抗體可具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域: (a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 32之HVR-H1; (b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 33之HVR-H2; (c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 34之HVR-H3; (d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 35之HVR-L1; (e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 36之HVR-L2; 及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 37之HVR-L3。在一些情況下, 抗FcRH5抗體包括包含與SEQ ID NO: 110具有至

少80%(例如, 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 111具有至少80%(例如, 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下, 抗FcRH5抗體包含分別包括序列SEQ ID NO: 66、67、68及69之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下, 如申請專利範圍第95項之抗FcRH5抗體, 其中VH域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 110。在一些情況下, 抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 70、71、72及73之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下, 抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 111之VL域。在特定實例中, 抗FcRH5抗體可為17B1, 或其衍生物或純系相關物。在一些情況下, 舉例而言, 本發明提供抗FcRH5抗體, 該抗體包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 110之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 111之VL域。

【0241】 在一些情況下, 抗FcRH5抗體具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域: (a) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 38之HVR-H1; (b) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39之HVR-H2; (c) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40之HVR-H3; (d) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 41之HVR-L1; (e) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 42之HVR-L2; 及(f) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 43之HVR-L3。

在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含與SEQ ID NO: 112具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 113具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含分別包括序列SEQ ID NO: 74、75、76及77之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 112之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 78、79、80及81之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 113之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為15G8，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供抗FcRH5抗體，該抗體包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 112之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 113之VL域。

【0242】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 26之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 27之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 28之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 29之HVR-L1；(e)包含

胺基酸序列SEQ ID NO: 30之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 31之HVR-L3。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括包含與SEQ ID NO: 108具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 109具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含分別包括序列SEQ ID NO: 58、59、60及61之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 108之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 62、63、64及65之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 109之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為7D8，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供抗FcRH5抗體，該抗體包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 108之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 109之VL域。

【0243】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO:

9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 185具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 186具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 179、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 185之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 186之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1A，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 185之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 186之VL域。

【0244】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的

抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 187具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 188具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 180、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 188之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1B，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 188之VL域。

【0245】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 189具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 190具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 181、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 189之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 190之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1C，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序

列SEQ ID NO: 189之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 190之VL域。

【0246】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 191具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 192具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 23、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 191之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 192之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為

1G7.v1D，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 191之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 192之VL域。

【0247】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 193具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 194具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 52、182、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 193之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例

如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 194之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1E，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 193之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 194之VL域。

【0248】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 175之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 195具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 196具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 195之VH域。在

一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 196之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1F，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 195之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 196之VL域。

【0249】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 176之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 197具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 198具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、

FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 197之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 198之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1G，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 197之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 198之VL域。

【0250】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 177之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 199具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 200具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列

一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 199之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 200之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1H，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 199之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 200之VL域。

【0251】 在一些實施例中，本發明提供一種包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之HVR之抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 178之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 201具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 202具有至少80%(例如，80%、81%、82%、

83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 201之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 202之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1I，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 201之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 202之VL域。

【0252】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 203具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序

列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 204具有至少80%(例如, 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下, 抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 52、54、183及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下, 抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 203之VH域。在一些情況下, 抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下, 抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 204之VL域。在特定實例中, 抗FcRH5抗體可為1G7.v1J, 或其衍生物或純系相關物。在一些情況下, 舉例而言, 本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體, 該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 203之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 204之VL域。

【0253】 在一些情況下, 本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體: (a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1; (b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2; (c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3; (d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1; (e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2; 及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之HVR-L3。在一些情況下, 如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 205具有至少80%(例如, 80%、81%、

82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 206具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 52、54、184及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 205之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 206之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1K，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 205之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 206之VL域。

【0254】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID

NO: 20之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 207具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 208具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 207之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 208之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v1L，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 207之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 208之VL域。

【0255】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO:

9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 209具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 210具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 209之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 210之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v86，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 209之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 210之VL域。

【0256】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的

抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 211具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 212具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 53、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 211之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 212之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v191，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 211之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 212之VL域。

【0257】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗FcRH5抗體：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗FcRH5抗體可具有包含與SEQ ID NO: 213具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 214具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含包括序列SEQ ID NO: 52、54、46及47之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 213之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括包含序列SEQ ID NO: 48、56、50及51之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，抗FcRH5抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 214之VL域。在特定實例中，抗FcRH5抗體可為1G7.v92，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗FcRH5抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序

列SEQ ID NO: 213之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 214之VL域。

【0258】 在某些實施例中，本文提供之抗體為單株、人、人源化或嵌合抗體。在一些情況下，抗FcRH5抗體為IgG抗體。抗FcRH5可為全長抗體及/或單特異性抗體。在某些實施例中，抗FcRH5抗體可結合至FcRH5之Ig樣域9中之抗原決定基。舉例而言，抗原決定基可包含SEQ ID NO: 114之胺基酸743-850之一部分。在一些情況下，抗FcRH5抗體結合至人FcRH5或食蟹猴(獼猴)FcRH5，或兩者。在其他情況下，結合域不特異性結合至FcRH1、FcRH2、FcRH3及/或FcRH4。

【0259】 在一些情況下，抗FcRH5抗體具有約10 ml/kg/日至約45 ml/kg/日之間(例如，約1 ml/kg/日、5 ml/kg/日、10 ml/kg/日、11 ml/kg/日、12 ml/kg/日、13 ml/kg/日、14 ml/kg/日、15 ml/kg/日、16 ml/kg/日、17 ml/kg/日、18 ml/kg/日、19 ml/kg/日、20 ml/kg/日、21 ml/kg/日、22 ml/kg/日、23 ml/kg/日、24 ml/kg/日、25 ml/kg/日、26 ml/kg/日、27 ml/kg/日、28 ml/kg/日、29 ml/kg/日、30 ml/kg/日、31 ml/kg/日、32 ml/kg/日、33 ml/kg/日、34 ml/kg/日、35 ml/kg/日、36 ml/kg/日、37 ml/kg/日、38 ml/kg/日、39 ml/kg/日、40 ml/kg/日、41 ml/kg/日、42 ml/kg/日、43 ml/kg/日或44 ml/kg/日)之靜脈內注射後清除率。

【0260】 在一些情況下，抗FcRH5抗體具有約1 ml/kg/日至約5 ml/kg/日、約6 ml/kg/日至約10 ml/kg/日、約11 ml/kg/日至約15 ml/kg/日、約16 ml/kg/日至約20 ml/kg/日、約21 ml/kg/日至約25 ml/kg/日、

約26 ml/kg/日至約30 ml/kg/日、約31 ml/kg/日至約35 ml/kg/日、約36 ml/kg/日至約40 ml/kg/日、約41 ml/kg/日至約45 ml/kg/日小鼠之靜脈內注射後清除率。在一些情況下，抗FcRH5抗體在小鼠中具有約10 ml/kg/日至約35 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些情況下，抗FcRH5抗體在小鼠中具有約10 ml/kg/日至約20 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些情況下，抗FcRH5抗體在小鼠中具有約12 ml/kg/日至約16 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。

【0261】 在一些情況下，抗FcRH5抗體在獼猴中具有約1 ml/kg/日至約5 ml/kg/日、約6 ml/kg/日至約10 ml/kg/日、約11 ml/kg/日至約15 ml/kg/日、約16 ml/kg/日至約20 ml/kg/日、約21 ml/kg/日至約25 ml/kg/日、約26 ml/kg/日至約30 ml/kg/日、約31 ml/kg/日至約35 ml/kg/日、約36 ml/kg/日至約40 ml/kg/日、約41 ml/kg/日至約45 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些情況下，抗FcRH5抗體在獼猴中具有約20 ml/kg/日至約40 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些情況下，抗FcRH5抗體在獼猴中具有約25 ml/kg/日至約35 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些情況下，抗FcRH5抗體在獼猴中具有約30 ml/kg/日至約35 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。

【0262】 在另一態樣中，根據任何以上實施例之抗FcRH5抗體可併有單獨或呈組合形式之如以下部分1-7中所述之任何特徵。

1. 抗體親和力

【0263】 在具體實例中，抗FcRH5抗體以 $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{ nM}$ 、 $\leq 10\text{ nM}$ 、 $\leq 1\text{ nM}$ 、 $\leq 0.1\text{ nM}$ 、 $\leq 0.01\text{ nM}$ 或 $\leq 0.001\text{ nM}$ (例如， 10^{-8} M 或更小，例如， 10^{-8} M 至 10^{-13} M ，例如， 10^{-9} M 至 10^{-13} M ，例如， 10^{-10} 至 10^{-13}

M，例如， 10^{-11} 至 10^{-13} M，例如， 10^{-12} 至 10^{-13} M)之解離常數(K_D)結合至人及/或獼猴FcRH5。舉例而言，在一些情況下抗FcRH5抗體以 ≤ 100 nM(例如， ≤ 90 nM、 ≤ 80 nM、 ≤ 70 nM、 ≤ 60 nM、 ≤ 50 nM、 ≤ 40 nM、 ≤ 30 nM、 ≤ 20 nM、 ≤ 10 nM、 ≤ 5 nM、 ≤ 1 nM、 ≤ 750 pM、 ≤ 500 pM、 ≤ 250 pM、 ≤ 100 pM、 ≤ 50 pM、 ≤ 25 pM、 ≤ 10 pM、 ≤ 5 pM或 ≤ 1 pM)或更低之 K_D 結合至人FcRH5。

【0264】 在一些情況下，抗FcRH5抗體以約1 pM至約500 nM(例如，約1 pM至200 pM、100 pM至300 pM、200 pM至400 pM、300 pM至500 pM、400 pM至600 pM、500 pM至700 pM、600 pM至800 pM、700 pM至900 pM、800 pM至1 nM、900 pM至100 nM、1 nM至200 nM、100 nM至300 nM、200 nM至400 nM或300 nM至500 nM)之 K_D 結合至人FcRH5。在一些情況下，抗FcRH5抗體以約1 pM至約1 nM(例如，約1 pM至100 pM、50 pM至150 pM、100 pM至200 pM、150 pM至250 pM、200 pM至300 pM、250 pM至350 pM、300 pM至400 pM、350 pM至450 pM、400 pM至500 pM、450 pM至550 pM、500 pM至600 pM、550 pM至650 pM、600 pM至700 pM、650 pM至750 pM、700 pM至800 pM、750 pM至850 pM、800 pM至900 pM、850 pM至950 pM或900 pM至1 nM)之 K_D 結合至人FcRH5。在一些情況下，抗FcRH5抗體以約100 pM至約500 pM(例如，約100 pM、125 pM、150 pM、175 pM、200 pM、225 pM、250 pM、275 pM、300 pM、325 pM、350 pM、375 pM、400 pM、425 pM、450 pM、475 pM或500 pM)之 K_D 結合至人FcRH5。在一些情況下，抗FcRH5抗體以約100 pM至約160 pM(例如，約100 pM、105 pM、110 pM、115 pM、120 pM、125 pM、

130 pM、135 pM、140 pM、145 pM、150 pM、155 pM或160 pM)之 K_D 結合至人FcRH5。在一些情況下，抗FcRH5抗體以約1 nM至約150 nM(例如，約1 nM、2 nM、3 nM、4 nM、5 nM、6 nM、7 nM、8 nM、9 nM、10 nM、11 nM、12 nM、13 nM、14 nM、15 nM、16 nM、17 nM、18 nM、19 nM、20 nM、21 nM、22 nM、23 nM、24 nM、25 nM、26 nM、27 nM、28 nM、29 nM、30 nM、31 nM、32 nM、33 nM、34 nM、35 nM、36 nM、37 nM、38 nM、39 nM、40 nM、41 nM、42 nM、43 nM、44 nM、45 nM、46 nM、47 nM、48 nM、49 nM、50 nM、55 nM、60 nM、65 nM、70 nM、75 nM、80 nM、85 nM、90 nM、95 nM、100 nM、105 nM、110 nM、115 nM、120 nM、125 nM、130 nM、135 nM、140 nM、145 nM或150 nM)之 K_D 結合至人FcRH5。

【0265】 在一些情況下抗FcRH5抗體以 ≤ 100 nM(例如， ≤ 90 nM、 ≤ 80 nM、 ≤ 70 nM、 ≤ 60 nM、 ≤ 50 nM、 ≤ 40 nM、 ≤ 30 nM、 ≤ 20 nM、 ≤ 10 nM、 ≤ 5 nM、 ≤ 1 nM、 ≤ 750 pM、 ≤ 500 pM、 ≤ 250 pM、 ≤ 100 pM、 ≤ 50 pM、 ≤ 25 pM、 ≤ 10 pM、 ≤ 5 pM、或 ≤ 1 pM、例如， 10^{-8} M至 10^{-13} M，例如， 10^{-9} M至 10^{-13} M，例如， 10^{-10} 至 10^{-13} M，例如， 10^{-11} 至 10^{-13} M，例如， 10^{-12} 至 10^{-13} M)或更低之 K_D 結合至獼猴FcRH5。在一些情況下，抗FcRH5抗體以約1 pM至約500 nM(例如，約1 pM至200 pM、100 pM至300 pM、200 pM至400 pM、300 pM至500 pM、400 pM至600 pM、500 pM至700 pM、600 pM至800 pM、700 pM至900 pM、800 pM至1 nM、900 pM至100 nM、1 nM至200 nM、100 nM至300 nM、200 nM至400 nM或300 nM至500 nM)之 K_D 結合至獼猴FcRH5。在

一些情況下，抗FcRH5抗體以約1 pM至約1 nM(例如，約1 pM至100 pM、50 pM至150 pM、100 pM至200 pM、150 pM至250 pM、200 pM至300 pM、250 pM至350 pM、300 pM至400 pM、350 pM至450 pM、400 pM至500 pM、450 pM至550 pM、500 pM至600 pM、550 pM至650 pM、600 pM至700 pM、650 pM至750 pM、700 pM至800 pM、750 pM至850 pM、800 pM至900 pM、850 pM至950 pM或900 pM至1 nM)之 K_D 結合至獼猴FcRH5。在一些情況下，抗FcRH5抗體以約100 pM至約500 pM(例如，約100 pM、125 pM、150 pM、175 pM、200 pM、225 pM、250 pM、275 pM、300 pM、325 pM、350 pM、375 pM、400 pM、425 pM、450 pM、475 pM或500 pM)之 K_D 結合至獼猴FcRH5。在一些情況下，抗FcRH5抗體以約100 pM至約160 pM(例如，約100 pM、105 pM、110 pM、115 pM、120 pM、125 pM、130 pM、135 pM、140 pM、145 pM、150 pM、155 pM或160 pM)之 K_D 結合至獼猴FcRH5。在一些情況下，抗FcRH5抗體以約1 nM至約150 nM(例如，約1 nM、2 nM、3 nM、4 nM、5 nM、6 nM、7 nM、8 nM、9 nM、10 nM、11 nM、12 nM、13 nM、14 nM、15 nM、16 nM、17 nM、18 nM、19 nM、20 nM、21 nM、22 nM、23 nM、24 nM、25 nM、26 nM、27 nM、28 nM、29 nM、30 nM、31 nM、32 nM、33 nM、34 nM、35 nM、36 nM、37 nM、38 nM、39 nM、40 nM、41 nM、42 nM、43 nM、44 nM、45 nM、46 nM、47 nM、48 nM、49 nM、50 nM、55 nM、60 nM、65 nM、70 nM、75 nM、80 nM、85 nM、90 nM、95 nM、100 nM、105 nM、110 nM、115 nM、120 nM、125 nM、130 nM、135 nM、140 nM、145 nM或150 nM)之 K_D 結合至獼猴

FcRH5。

【0266】 在一實施例中， K_D 藉由放射性抗原結合分析(RIA)來量測。在一實施例中，RIA以Fab型式之相關抗體及其抗原來執行。舉例而言，Fab對抗原之溶液結合親和力係藉由在一滴定系列之未標記抗原存在下，使Fab與最小濃度之(^{125}I)標記抗原平衡，接著用抗Fab抗體塗佈之盤捕捉所結合抗原來量測(參見例如Chen 等人*J. Mol. Biol.* 293:865-881, 1999)。為建立分析條件，將MICROTITER[®]多孔盤(Thermo Scientific)用含5 $\mu\text{g/ml}$ 捕捉抗Fab抗體(Cappel Labs)之50 mM碳酸鈉(pH 9.6)塗佈隔夜，且隨後在室溫(約23 $^{\circ}\text{C}$)下用含2%(w/v)牛血清白蛋白之PBS阻斷2-5小時。在非吸附盤(Nunc #269620)中，將100 pM或26 pM [^{125}I]-抗原與相關Fab之連續稀釋液混合(例如與Presta等人*Cancer Res.* 57:4593-4599, 1997中對抗VEGF抗體Fab-12之評估一致)。接著將相關Fab培育隔夜；然而，培育可持續較長時期(例如約65小時)以確保達到平衡。此後，將混合物轉移至捕捉盤中且在室溫下培育(例如1小時)。接著移除溶液且用含0.1%聚山梨醇酯20(TWEEN-20[®])之PBS將盤洗滌八次。當盤已乾燥時，每孔添加150 μl 閃爍體(MICROSCINT-20[™]; Packard)，且在TOPCOUNT[™] γ 計數器(Packard)上對盤持續10分鐘計數。選擇各Fab之達成小於或等於最大結合之20%的濃度以用於競爭性結合分析中。

【0267】 根據另一個實施例， K_D 使用BIACORE[®]表面電漿子共振分析來量測。舉例而言，使用BIACORE[®]-2000或BIACORE[®]-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)之分析在25 $^{\circ}\text{C}$ 下使用~10反應單位(RU)之固定抗原CM5晶片來執行。在一實施例中，根據供應商說明書

用N-乙基-N'-(3-二甲基胺基丙基)-碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC)及N-羥基丁二醯亞胺(NHS)活化羧甲基化葡聚糖生物感測器晶片(CM5, BIACORE, Inc.)。用10 mM乙酸鈉(pH 4.8)將抗原稀釋至5 $\mu\text{g/ml}$ (約0.2 μM)，隨後在流速5 $\mu\text{l/min}$ 下注射以達成約10反應單位(RU)之偶合蛋白質。在注射抗原之後，注射1 M乙醇胺以阻斷未反應基團。對於動力學量測，Fab(0.78 nM至500 nM)之兩倍連續稀釋液在25 $^{\circ}\text{C}$ 下以約25 $\mu\text{l/min}$ 之流速注入0.05%聚山梨醇酯20(TWEEN-20TM)界面活性劑(PBST)之PBS中。締合速率($k_{\text{締合}}$)及解離速率($k_{\text{解離}}$)使用簡單一一對應朗繆爾結合模型(BIACORE[®]評估軟體版本3.2)藉由同時擬合締合及解離感測圖來計算。平衡解離常數(K_D)係計算為比率 $k_{\text{解離}}/k_{\text{締合}}$ 。參見例如Chen等人*J. Mol. Biol.* 293:865-881, 1999。若由以上表面電漿子共振分析獲得之締合速率超過 $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ，則可藉由使用螢光淬滅技術來測定締合速率，該技術量測在如在分光計(諸如停流配備分光光度計(Aviv Instruments)或具有攪拌比色皿之8000系列SLM-AMINCOTM分光光度計(ThermoSpectronic))中量測之遞增濃度之抗原存在下，在25 $^{\circ}\text{C}$ 下於PBS(pH 7.2)中之20 nM抗抗原抗體(Fab形式)之螢光發射強度(激發= 295 nm；發射= 340 nm，16 nm帶通)的增加或降低。

2. 抗體片段

【0268】 在某些實施例中，本文提供之抗體為抗體片段。抗體片段包括(但不限於)雙-Fab、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv及scFv片段及下述其他片段。對於某些抗體片段之評述，參見Hudson等人*Nat. Med.* 9:129-134, 2003。關於scFv片段之評述，參見，例如，Pluckthün, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 第113卷，

Rosenburg 及 Moore 編，(Springer-Verlag, New York), 第 269-315 頁，1994；亦參見 WO 93/16185；及美國專利第 5,571,894 及 5,587,458 號。對於包含結合抗原決定基殘基之補救受體且活體內半衰期增加之 Fab 及 F(ab')₂ 片段之論述，參見美國專利第 5,869,046 號。

【0269】 兩個 Fab 經由雙馬來醯亞胺連接之抗體片段在本文中稱為雙馬來醯亞胺-(硫基-Fab)₂ 或雙-Fab。

【0270】 雙功能抗體為可為二價或雙特異性之具有兩個抗原結合位點之抗體片段。參見例如 EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson 等人 *Nat. Med.* 9:129-134, 2003；及 Hollinger 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448, 1993。三功能抗體及四功能抗體亦描述於 Hudson 等人 *Nat. Med.* 9:129-134, 2003 中。

【0271】 單域抗體為包含抗體之全部或一部分重鏈可變域或全部或一部分輕鏈可變域之抗體片段。在某些實施例中，單域抗體為人類單域抗體 (Domantis, Inc., Waltham, MA；參見例如美國專利第 6,248,516 B1 號)。

【0272】 抗體片段可藉由各種技術製備，包括但不限於蛋白水解消化完整抗體以及如本文所述，藉由重組宿主細胞(例如大腸桿菌 (*E. coli*) 或噬菌體)產生。

3. 嵌合及人源化抗體

【0273】 在某些實施例中，本文提供之抗體為嵌合抗體。某些嵌合抗體例如描述於美國專利第 4,816,567 號；及 Morrison 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855, 1984 中。在一個實例中，嵌合抗體包含非人類可變區(例如源於小鼠、大鼠、倉鼠、兔或非人類靈長類

動物(諸如猴)之可變區)及人類恆定區。在另一實例中，嵌合抗體為「類別轉換」抗體，其中類別或子類已自親本抗體之類別或子類發生改變。嵌合抗體包括其抗原結合片段。

【0274】 在某些實施例中，嵌合抗體為人源化抗體。通常，非人類抗體經人源化以降低對人類之免疫原性，同時保留親本非人類抗體之特異性及親和力。一般而言，人源化抗體包含一或多個可變域，其中例如CDR之HVR(或其部分)源於非人類抗體，且FR(或其部分)源於人類抗體序列。人源化抗體視情況亦將包含至少一部分人類恆定區。在一些實施例中，人源化抗體中之一些FR殘基經來自非人類抗體(例如HVR殘基所來源之抗體)之相應殘基取代，例如以恢復或改良抗體特異性或親和力。

【0275】 人源化抗體及其製造方法評述於例如 Almagro 等人 *Front. Biosci.* 13:1619-1633, 2008 中，並且進一步描述於例如 Riechmann 等人 *Nature* 332:323-329, 1988; Queen 等人 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86:10029-10033, 1989; US 專利第 5, 821,337、7,527,791、6,982,321 及 7,087,409 號；Kashmiri 等人 *Methods* 36:25-34, 2005(描述特異性決定區(SDR)移植)；Padlan *Mol. Immunol.* 28:489-498, 1991(描述「表面再塑」)；Dall’Acqua 等人 *Methods* 36:43-60, 2005(描述「FR改組」)；及 Osbourn 等人 *Methods* 36:61-68, 2005；及 Klimka 等人 *Br. J. Cancer*, 83:252-260, 2000(描述FR改組之「引導選擇」方法)。

【0276】 可用於人源化之人類構架區包括但不限於：使用「最佳擬合」方法選擇之構架區(參見例如 Sims 等人 *J. Immunol.* 151:2296, 1993)；源於輕鏈或重鏈可變區之特定子組之人類抗體的一致序列之

構架區(參見例如Carter等人*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285, 1992 ; 及Presta等人 *J. Immunol.* 151:2623, 1993) ; 人類成熟(體細胞突變)構架區或人類生殖系構架區(參見例如Almagro等人*Front. Biosci.* 13:1619-1633, 2008) ; 及由篩檢FR文庫獲得之構架區(參見例如Baca等人*J. Biol. Chem.* 272:10678-10684, 1997及Rosok等人*J. Biol. Chem.* 271:22611-22618, 1996)。

4. 人類抗體

【0277】 在某些實施例中，本文提供之抗體為人類抗體。人抗體可使用在此項技術中已知的各種技術來產生。人類抗體一般性地描述於van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74, 2001 and Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459, 2008。

【0278】 人類抗體可藉由向已經修改以回應於抗原攻擊而產生完整人類抗體或具有人類可變區之完整抗體之轉殖基因動物投與免疫原來製備。此等動物通常含有全部或一部分人類免疫球蛋白基因座，其置換內源性免疫球蛋白基因座或存在於染色體外或隨機整合至動物之染色體中。在此等轉殖基因小鼠中，內源性免疫球蛋白基因座通常已不活化。對於自轉殖基因動物獲得人類抗體之方法之評述，參見Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125, 2005。亦參見例如描述XENOMOUSE™技術之美國專利第6,075,181號及第6,150,584號；描述HUMAB®技術之美國專利第5,770,429號；描述K-M MOUSE®技術之美國專利第7,041,870號及描述VELOCIMOUSE®技術之美國專利申請公開案第US 2007/0061900號)。來自由此等動物產生之完整抗體之人類可變區可例如藉由與不同人類恆定區組合而進一步修飾。

【0279】 人類抗體亦可藉由基於融合瘤之方法製備。用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類異源骨髓瘤細胞株已有描述(參見例如Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001, 1984; Brodeur等人*Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, 第51-63頁 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 及Boerner等人*J. Immunol.*, 147: 86, 1991)。經由人類B細胞融合瘤技術產生之人類抗體亦描述於Li等人*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562, 2006中。其他方法包括例如描述於美國專利第7,189,826號(描述自融合瘤細胞株產生單株人類IgM抗體)及Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268, 2006(描述人類-人類融合瘤)中之方法。人類融合瘤技術(三源融合瘤技術)亦描述於Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937, 2005及Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91, 2005中。

【0280】 人類抗體亦可藉由分離自人類來源噬菌體呈現文庫選擇之Fv純系可變域序列來產生。此等可變域序列可接著與所要人類恆定域組合。用於自抗體文庫選擇人類抗體之技術在以下描述。

5. 文庫來源之抗體

【0281】 本發明之抗體可藉由篩檢組合文庫中具有一或多種所要活性之抗體來分離。舉例而言，此項技術中已知多種用於產生噬菌體呈現文庫及篩檢此等文庫中具有所要結合特徵之抗體之方法。此等方法評述於例如Hoogenboom等人*Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, 2001)中並且進一步描述於例如McCafferty 等人*Nature* 348:552-554; Clackson 等人*Nature* 352:

624-628, 1991; Marks等人*J. Mol. Biol.* 222: 581-597, 1992; Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo編, Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu等人*J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310, 2004; Lee等人*J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093, 2004; Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472, 2004; 及Lee等人*J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132, 2004中。

【0282】 在某些噬菌體呈現方法中，藉由聚合酶鏈反應(PCR)分別選殖VH及VL基因之譜系且隨機重組於噬菌體文庫中，可接著篩檢該等文庫中之抗原結合噬菌體，如Winter等人*Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455, 1994中所述。噬菌體通常呈現呈單鏈Fv(scFv)片段形式或呈Fab片段形式之抗體片段。來自經免疫來源之文庫提供對免疫原具有高親和力之抗體而無需構築融合瘤。或者，可選殖(例如自人類選殖)天然譜系以提供單一來源之針對廣泛範圍之非自體抗原以及自體抗原的抗體而不進行任何免疫，如Griffiths等人*EMBO J*, 12: 725-734, 1993所述。最後，天然文庫亦可藉由以下方式合成製備：自幹細胞選殖未重排V基因區段，及使用含有隨機序列之PCR引子以編碼高度可變CDR3區及在活體外達成重排，如Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388, 1992所述。描述人抗體噬菌體文庫之專利公開案包括例如：美國專利第5,750,373號，及美國專利公開案第2005/0079574、2005/0119455、2005/0266000、2007/0117126、2007/0160598、2007/0237764、2007/0292936及2009/0002360號。自人類抗體文庫分離之抗體或抗體片段在本文中被視為人類抗體或人類抗體片段。

6. 特異性抗體，包括FcRH5 T細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體

【0283】 在以上態樣中之任一者中，本文提供之抗FcRH5抗體為多特異性抗體，例如，雙特異性抗體。多特異性抗體為對至少兩個不同位點具有結合特異性之單株抗體。在某些實施例中，雙特異性抗體可結合FcRH5之兩個不同抗原決定基。

【0284】 在某些實施例中，一個結合特異性係針對FcRH5且另一個係針對CD3(例如CD3 ϵ 或CD3 γ)。此等雙特異性抗FcRH5抗體亦被稱為FcRH5 T細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體或FcRH5 TDB。在一些情況下，第二結合域結合至CD3上之抗原決定基，包含CD3之胺基酸殘基Glu6。在一些情況下，抗原決定基進一步包含一或多個選自由以下組成之群之額外胺基酸殘基：CD3之Gln1、Asp2及Met7。在一些情況下，抗原決定基包含CD3之胺基酸殘基Gln1、Asp2及Glu6。在一些情況下，抗原決定基包含CD3之胺基酸殘基Gln1、Asp2、Glu6及Met7。在一些情況下，抗原決定基不包含CD3之胺基酸殘基Glu5。在一些情況下，抗原決定基不包含CD3之胺基酸殘基Gly3及Glu5。在一些情況下，抗原決定基由CD3之胺基酸殘基Gln1、Asp2、Glu6及Met7組成。

【0285】 在其他一些情況下，第二結合域能夠結合至人CD3多肽或獼猴CD3多肽。在一些情況下，人CD3多肽或獼猴CD3多肽分別為人CD3 ϵ 多肽或獼猴CD3 ϵ 多肽。在一些情況下，人CD3多肽或獼猴CD3多肽分別為人CD3 γ 多肽或獼猴CD3 γ 多肽。

【0286】 在具體實例中，第二結合域以 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.01 \text{ nM}$ 或 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (例如， 10^{-8} M 或更小，

例如， 10^{-8} M至 10^{-13} M，例如， 10^{-9} M至 10^{-13} M)之解離常數(K_D)結合人CD3 ϵ 多肽。舉例而言，在一些情況下，第二結合域以 ≤ 100 nM(例如， ≤ 90 nM、 ≤ 80 nM、 ≤ 70 nM、 ≤ 60 nM、 ≤ 50 nM、 ≤ 40 nM、 ≤ 30 nM、 ≤ 20 nM、 ≤ 10 nM、 ≤ 5 nM、 ≤ 1 nM、 ≤ 750 pM、 ≤ 500 pM、 ≤ 250 pM、 ≤ 100 pM、 ≤ 50 pM、 ≤ 25 pM、 ≤ 10 pM、 ≤ 5 pM或 ≤ 1 pM)或更低之 K_D 結合人CD3 ϵ 多肽。

【0287】 在一些情況下，舉例而言，本發明提供一種抗FcRH5抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 117之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 120之HVR-L3。

【0288】 在一些情況下，本發明提供一種抗FcRH5抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3。在一些情況下，本發明提供抗FcRH5抗體，其中第二結合域包括包含與SEQ ID NO: 133具有至少80%(例如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列

一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 134具有至少80%(例如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括第二結合域，該第二結合域包含分別包括序列SEQ ID NO: 125、126、127及128之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域。在一些情況下，第二結合域進一步包括分別包含序列SEQ ID NO: 129、130、131及132之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 134之VL域。在一些情況下，第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 134之VL域。因此，在一些情況下，本發明之抗FcRH5抗體之半抗體變異體可與抗CD3抗體 38E4.v1 之半抗體變異體配對以形成 FcRH5 TDB(即，抗 FcRH5/38E4.v1 TDB)。

【0289】 在一些情況下，本發明提供一種抗FcRH5抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 122之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3。在一些情況下，本發明提供抗FcRH5

抗體，其中第二結合域包括包含與SEQ ID NO: 135具有至少80%(例如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 136具有至少80%(例如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括第二結合域，該第二結合域包含分別包括序列SEQ ID NOs: 125、126、127及128之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 135之VH域。在一些情況下，第二結合域進一步包括分別包含序列SEQ ID NO: 129、130、131及132之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 136之VL域。在一些情況下，第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 135之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 136之VL域。因此，在一些情況下，本發明之抗FcRH5抗體之半抗體變異體可與抗CD3抗體 38E4.v1 之半抗體變異體配對以形成 FcRH5 TDB(即，抗 FcRH5/38E4.v1 TDB)。

【0290】 在一些情況下，本發明提供一種抗FcRH5抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ

ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 124之HVR-L3。在一些情況下，本發明提供抗FcRH5抗體，其中第二結合域包括包含與SEQ ID NO: 137具有至少80%(例如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 138具有至少80%(例如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括第二結合域，該第二結合域包含分別包括序列SEQ ID NO: 125、126、127及128之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 137之VH域。在一些情況下，第二結合域進一步包括分別包含序列SEQ ID NO: 129、130、131及132之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 138之VL域。在一些情況下，第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 137之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 138之VL域。因此，在一些情況下，本發明之抗FcRH5抗體之半抗體變異體可與抗CD3抗體38E4.v11之半抗體變異體配對以形成FcRH5 TDB(即，抗FcRH5/38E4.v11 TDB)。

【0291】 在一些情況下，本發明提供一種抗FcRH5抗體，其中

第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 139之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 140之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 141之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 142之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 143之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 144之HVR-L3。在一些情況下，本發明提供抗FcRH5抗體，其中第二結合域包括包含與SEQ ID NO: 153具有至少80%(例如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 154具有至少80%(例如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，抗FcRH5抗體包括第二結合域，該第二結合域包含分別包括序列SEQ ID NO: 145、146、147及148之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 153之VH域。在一些情況下，第二結合域進一步包括包含序列SEQ ID NO: 149、150、151及152之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 154之VL域。在一些情況下，第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 153之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 154之VL域。因此，在一些情況下，本發明之抗FcRH5抗體之半抗體變異體可與抗CD3抗

體 hu40G5c 之半抗體變異體配對以形成 FcRH5 TDB(即，抗 FcRH5/hu40G5c TDB)。

【0292】 在一些情況下，舉例而言，本發明提供一種抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 155之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 156之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 157之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 158之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 159之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 160之HVR-L3。

【0293】 在一些情況下，本發明提供一種抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 155之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 162之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 157之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 158之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 159之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 160之HVR-L3。在一些情況下，舉例而言，第二結合域包括包含與SEQ ID NO: 172具有至少80%(例如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及/或包含與SEQ ID NO: 173具有至少80%(例如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域。在一些情況下，舉例而言，

抗FcRH5抗體包括第二結合域，該第二結合域包含分別包括序列SEQ ID NO: 164、165、166及167之重鏈構架區FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 172之VH域。在一些情況下，第二結合域進一步包括包含序列SEQ ID NO: 168、169、170及171之輕鏈構架區FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4中之至少一者(例如1、2、3或4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列SEQ ID NO: 173之VL域。在一些情況下，第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 172之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 173之VL域。因此，在一些情況下，本發明之抗FcRH5抗體之半抗體變異體可與抗CD3抗體 huUCHT1.v9 之半抗體變異體配對以形成FcRH5 TDB(即，抗FcRH5/huUCHT1.v9 TDB)。

【0294】 在一些情況下，例如，本發明提供抗FcRH5抗體，其中結合FcRH5之結合域包含包括電荷區(CR₁)之VH域(VH₁)及包括電荷區(CR₂)之VL域(VL₁)，其中VH₁中之CR₁與VL₁中之CR₂形成電荷對。在一些情況下，CR₁包含鹼性胺基酸殘基並且CR₂包含酸性胺基酸殘基。在一些情況下，CR₁包含Q39K取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₁由Q39K取代突變組成。在一些情況下，CR₂包含Q38E取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₂由Q38E取代突變組成。在一些情況下，結合CD3之第二結合域包含包括電荷區(CR₃)之VH域(VH₂)及包括電荷區(CR₄)之VL域(VL₂)，其中VL₂中之CR₄與VH₂中之CR₃形成電荷對。在一些情況下，CR₄包含鹼性胺基酸殘基並且CR₃包含酸性胺基酸殘基。在一些情況下，CR₄包含Q38K取代突變(EU編號)。在一些情

況下，CR₄由Q38K取代突變組成。在一些情況下，CR₃包含Q39E取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₃由Q39E取代突變組成。在一些情況下，VL₁域連接至輕鏈恆定(CL)域(CL₁)並且VH₁連接至第一重鏈恆定(CH1)域(CH1₁)，其中CL₁包含電荷區(CR₅)並且CH1₁包含電荷區(CR₆)，並且其中CL₁中之CR₅與CH1₁中之CR₆形成電荷對。在一些情況下，CR₅包含鹼性胺基酸殘基並且CR₆包含酸性殘基。在一些情況下，CR₅包含V133K取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₅由V133K取代突變組成。在一些情況下，CR₆包含S183E取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₆由S183E取代突變組成。

【0295】 在一些情況下，本發明提供抗FcRH5抗體，其中VL₂域連接至CL域(CL₂)並且VH₂連接至CH1域(CH1₂)，其中CL₂包含電荷區(CR₇)並且CH1₂包含電荷區(CR₈)，並且其中CH1₂中之CR₈與CL₂中之CR₇形成電荷對。在一些情況下，CR₈包含鹼性胺基酸殘基並且CR₇包含酸性胺基酸殘基。在一些情況下，CR₈包含S183K取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₈由S183K取代突變組成。在一些情況下，CR₇包含V133E取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₇由V133E取代突變組成。

【0296】 在一些情況下，舉例而言，本發明提供抗FcRH5抗體，其中VL₂域連接至CL域(CL₂)並且VH₂連接至CH1域(CH1₂)，其中CL₂包含胺基酸殘基F116、L135、S174、S176及/或T178(EU編號)處之一或多個突變並且CH1₂包含胺基酸殘基A141、F170、S181、S183及/或V185(EU編號)處之一或多個突變。在一些情況下，CL₂包含一個或多個以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F及/或T178V。

在一些情況下，CL₂包含以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F及T178V。在一些情況下，CH₁₂包含一個或多個以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A及/或V185A。在一些情況下，CH₁₂包含以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A及V185A。

【0297】 在一些情況下，本發明提供抗FcRH5抗體，其中結合FcRH5之結合域包含包括電荷區(CR₁)之VH域(VH₁)及包括電荷區(CR₂)之VL域(VL₁)，其中VL₁中之CR₂與VH₁中之CR₁形成電荷對。在一些情況下，CR₂包含鹼性胺基酸殘基並且CR₁包含酸性胺基酸殘基。在一些情況下，CR₂包含Q38K取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₂由Q38K取代突變組成。在一些情況下，CR₁包含Q39E取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₁由Q39E取代突變組成。在一些情況下，結合CD3之第二結合域包含包括電荷區(CR₃)之VH域(VH₂)及包括電荷區(CR₄)之VL域(VL₂)，其中VH₂中之CR₃與VL₂中之CR₄形成電荷對。在一些情況下，CR₃包含鹼性胺基酸殘基並且CR₄包含酸性胺基酸殘基。在一些情況下，CR₃包含Q39K取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₃由Q39K取代突變組成。在一些情況下，CR₄包含Q38E取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₄由Q38E取代突變組成。在一些情況下，VL₁域連接至輕鏈恆定(CL)域(CL₁)並且VH₁連接至第一重鏈恆定(CH1)域(CH1₁)，其中CL₁包含電荷區(CR₅)並且CH1₁包含電荷區(CR₆)，及其中CH1₁中之CR₆與CL₁中之CR₅形成電荷對。在一些情況下，CR₆包含鹼性胺基酸殘基並且CR₅包含酸性胺基酸殘基。在一些情況下，CR₆包含S183K取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₆由S183K取代突變組成。在一些情況下，CR₅包含V133E取代突變(EU編號)。

號)。在一些情況下，CR₅由V133E取代突變組成。

【0298】 在一些情況下，舉例而言，本發明提供抗FcRH5抗體，其中VL₂域連接至CL域(CL₂)並且VH₂連接至CH1域(CH1₂)，其中CL₂包含電荷區(CR₇)並且CH1₂包含電荷區(CR₈)，並且其中CL₂中之CR₇與CH1₂中之CR₈形成電荷對。在一些情況下，CR₇包含鹼性胺基酸殘基並且CR₈包含酸性殘基。在一些情況下，CR₇包含V133K取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₇由V133K取代突變組成。在一些情況下，CR₈包含S183E取代突變(EU編號)。在一些情況下，CR₈由S183E取代突變組成。

【0299】 在一些情況下，舉例而言，本發明提供抗FcRH5抗體，其中VL₂域連接至CL域(CL₂)並且VH₂連接至CH1域(CH1₂)，其中CL₂包含胺基酸殘基F116、L135、S174、S176及/或T178(EU編號)處之一或多個突變並且CH1₂包含胺基酸殘基A141、F170、S181、S183及/或V185(EU編號)處之一或多個突變。在一些情況下，CL₂包含一個或多個以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F及/或T178V。在一些情況下，CL₂包含以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F及T178V。在一些情況下，CH1₂包含一個或多個以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A及/或V185A。在一些情況下，CH1₂包含以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A及V185A。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含一或多個重鏈恆定域，其中一或多個重鏈恆定域選自第一CH2域(CH2₁)、第一CH3域(CH3₁)，第二CH2域(CH2₂)及第二CH3域(CH3₂)。在一些情況下，一或多個重鏈恆定域中之至少一者與另一個重鏈恆定域配對。在一些情況下，CH3₁及

CH3₂各自包含隆凸(P₁)或空腔(C₁)，並且CH3₁中之P₁或C₁可定位於CH3₂中之相應C₁或P₁中。在一些情況下，CH3₁與CH3₂在P₁與C₁之間界面處相接。在一些情況下，CH2₁及CH2₂各自包含(P₂)或空腔(C₂)，並且P₂或C₂ CH2₁可定位於CH2₂之相應C₂或P₂中。在一些情況下，CH2₁與CH2₂在P₂與C₂之間界面處相接。

【0300】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3；及抗CD3臂，該抗CD3臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂及抗CD3臂各自包含N297G取代突變(EU編號)；並且其中抗FcRH5臂包含T366W取代突變並且抗CD3臂包含T366S、L368A及Y407V取代突變。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-

H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3；及抗CD3臂，該抗CD3臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂及抗CD3臂各自包含N297G取代突變(EU編號)；並且其中抗FcRH5臂包含T366W取代突變並且抗CD3臂包含T366S、L368A及Y407V取代突變。

【0301】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3；及抗CD3臂，該抗CD3臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO:

121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變之重鏈，並且其中抗CD3臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3；及抗CD3臂，該抗CD3臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變之重鏈，並且其中抗CD3臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

【0302】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含：(a)抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含與SEQ ID NO: 104具有至少

90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及包含與SEQ ID NO: 105具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域，其中抗FcRH5臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變之重鏈，及(b)抗CD3臂，該抗CD3臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含與SEQ ID NO: 133具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及包含與SEQ ID NO: 134具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域，其中抗CD3臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。在一些情況下，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含：(a)抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 104之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 105之VL域，其中抗FcRH5臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變之重鏈，及(b)抗CD3臂，該抗CD3臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 134之VL域，其中抗CD3臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

【0303】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗

FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區 (HVR) 之第一結合域：(a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及 (f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區 (HVR) 之第二結合域：(a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及 (f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變 (EU 編號) 之重鏈。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個高變區 (HVR) 之第一結合域：(a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及 (f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個高變區 (HVR) 之第二結合域：(a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-

H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變之重鏈，並且其中抗CD3臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

【0304】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含：(a)抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含與SEQ ID NO: 104具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及包含與SEQ ID NO: 105具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域，其中抗FcRH5臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變之重鏈，及(b)抗CD3臂，該抗CD3臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 134之VL域，其中抗CD3臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。在一些情況下，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含：(a)抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 104之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 105之VL域，其中抗FcRH5臂

包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變之重鏈，及(b)抗CD3臂，該抗CD3臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 104之VL域，其中抗CD3臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

【0305】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3；及抗CD3臂，該抗CD3臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變之重鏈，並且其中抗CD3臂包含包括Q38K、F116A、L135V、S174A、S176F及T178V取代突變之輕鏈及包括Q39E、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。在一些情況下，

抗FcRH5抗體包含抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3；及抗CD3臂，該抗CD3臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變之重鏈，並且其中抗CD3臂包含包括Q38K、F116A、L135V、S174A、S176F及T178V取代突變之輕鏈及包括Q39E、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

【0306】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含：(a)抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含與SEQ ID NO: 104具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及包含與SEQ ID NO: 105具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域，其中抗

CD3臂包含包括Q38K、F116A、L135V、S174A、S176F及T178V取代突變之輕鏈及包括Q39E、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。在一些情況下，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含：(a)抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 104之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 105之VL域，其中抗FcRH5臂包含包括Q38E及V133K取代突變之輕鏈及包括Q39K、S183E及N297G取代突變之重鏈，及(b)抗CD3臂，該抗CD3臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 134之VL域，其中抗CD3臂包含包括Q38K、F116A、L135V、S174A、S176F及T178V取代突變之輕鏈及包括Q39E、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

【0307】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3；及抗CD3臂，該抗CD3臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基

酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變之重鏈，並且其中抗CD3臂包含包括Q38E、F116A、L135V、S174A、S176F及T178V取代突變之輕鏈及包括Q39K、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。在一些情況下，抗FcRH5抗體包含抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HVR-L3；及抗CD3臂，該抗CD3臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 116之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 121之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 118之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 119之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 123之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變之重鏈，並且其中抗CD3臂包含包括Q38E、F116A、L135V、S174A、S176F及T178V取代突變之輕鏈及包括Q39K、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A及N297G取代突變(EU編號)

之重鏈。

【0308】 在另一態樣中，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含：(a)抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含與SEQ ID NO: 104具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VH域及包含與SEQ ID NO: 105具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域，其中抗FcRH5臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變之重鏈，及(b)抗CD3臂，該抗CD3臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 134之VL域，其中抗CD3臂包含包括Q38E、F116A、L135V、S174A、S176F及T178V取代突變之輕鏈及包括Q39K、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。在一些情況下，本發明提供結合至FcRH5及CD3之抗FcRH5抗體，其中抗FcRH5抗體包含：(a)抗FcRH5臂，該抗FcRH5臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 104之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 105之VL域，其中抗FcRH5臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K及N297G取代突變之重鏈，及(b)抗CD3臂，該抗CD3臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列SEQ ID NO: 133之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 134之VL域，其中抗CD3臂包含包括Q38E、F116A、L135V、S174A、S176F及T178V取代突變之輕鏈及包括

Q39K、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A及N297G取代突變(EU編號)之重鏈。

7. 抗體變異體

【0309】 在某些實施例中，設想本發明抗FcRH5抗體(例如，結合至FcRH5及第二生物分子例如CD3之本發明雙特異性抗FcRH5抗體，諸如本發明FcRH5 TDB抗體或其變異體)之胺基酸序列變異體。舉例而言，可能需要改良抗體之結合親和力及/或其他生物性質。抗體之胺基酸序列變異體可藉由將適當修飾引入編碼抗體之核苷酸序列中或藉由肽合成來製備。此等修飾包括例如抗體之胺基酸序列內之殘基的缺失及/或插入及/或取代。可對缺失、插入及取代進行任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為最終構築體具有所要特徵，例如抗原結合性。

a. 取代、插入及缺失變異體

【0310】 在某些實施例中，提供具有一或多個胺基酸取代之抗體變異體。用於取代性突變誘發之相關位點包括HVR及FR。保守性取代展示於表1中之標題「較佳取代」下。更實質性變化提供於表1中之標題「示範性取代」下，且如以下關於胺基酸側鏈類別進一步所述。胺基酸取代可引入相關抗體中且篩檢具有所要活性(例如維持/改良之抗原結合性、降低之免疫原性或改良之ADCC或CDC)之產物。

表1. 示例性及較佳胺基酸取代

原始殘基	示例性取代	較佳取代
Ala (A)	Val ; Leu ; Ile	Val
Arg (R)	Lys ; Gln ; Asn	Lys
Asn (N)	Gln ; His ; Asp ; Lys ; Arg	Gln
Asp (D)	Glu ; Asn	Glu

原始殘基	示例性取代	較佳取代
Cys (C)	Ser ; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn ; Glu	Asn
Glu (E)	Asp ; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn ; Gln ; Lys ; Arg	Arg
Ile (I)	Leu ; Val ; Met ; Ala ; Phe ; 正白胺酸	Leu
Leu (L)	正白胺酸 ; Ile ; Val ; Met ; Ala ; Phe	Ile
Lys (K)	Arg ; Gln ; Asn	Arg
Met (M)	Leu ; Phe ; Ile	Leu
Phe (F)	Trp ; Leu ; Val ; Ile ; Ala ; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val ; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr ; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp ; Phe ; Thr ; Ser	Phe
Val (V)	Ile ; Leu ; Met ; Phe ; Ala ; 正白胺酸	Leu

【0311】 可根據共同側鏈性質對胺基酸分組：

- (1) 疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 鹼性：His、Lys、Arg；
- (5) 影響鏈定向之殘基：Gly、Pro；
- (6) 芳族：Trp、Tyr、Phe。

【0312】 非保守性取代將需要將此等類別之一之成員更換成另一類別。

【0313】 一種類型之取代變異體涉及取代親本抗體(例如人源化或人類抗體)之一或多個高變區殘基。一般而言，選用於進一步研究

之所得變異體相對於親本抗體將在某些生物性質方面具有改變(例如改良)(例如親和力增加、免疫原性降低)及/或將實質上保留親本抗體之某些生物性質。一示範性取代變異體為親和力成熟抗體，其可例如使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術(諸如本文所述者)便利地產生。簡言之，使一或多個HVR殘基突變且使變異型抗體呈現在噬菌體上並針對特定生物活性(例如結合親和力)加以篩檢。

【0314】 可在HVR中進行改變(例如取代)例如以改良抗體親和力。可在HVR「熱點」(亦即由在體細胞成熟過程期間以高頻率經受突變之密碼子編碼之殘基)(參見例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196, 2008)及/或接觸抗原之殘基中進行此等改變，且測試所得變異型VH或VL之結合親和力。已經描述藉由從二級文庫構建並重選來進行親和力成熟，例如，在Hoogenboom等人 *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, (2001).)中。在親和力成熟之一些實施例中，藉由多種方法(例如易出錯PCR、鏈改組或寡核苷酸定向突變誘發)中之任一者將多樣性引入選用於成熟之可變基因中。接著產生二級文庫。接著篩檢文庫以識別具有所要親和力之任何抗體變異體。引入多樣性之另一方法涉及HVR定向方法，其中使若干HVR殘基(例如一次4-6個殘基)隨機化。可例如使用丙胺酸掃描突變誘發或模型化來特異性識別抗原結合中涉及之HVR殘基。特定言之，通常以CDR-H3及CDR-L3為標靶。

【0315】 在某些實施例中，取代、插入或缺失可發生在一或多個HVR內，只要此等改變不實質上降低抗體結合抗原之能力即可。舉例而言，可在HVR中進行不實質上降低結合親和力之保守性改變(例

如如本文提供之保守性取代)。此等改變可例如在HVR中之抗原接觸殘基外部。在以上提供之變異型VH及VL序列之某些實施例中，各HVR未改變或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

【0316】 一種適用於識別抗體之可作為突變誘發標靶之殘基或區域的方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」，如Cunningham及Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085所述。在此方法中，識別某一殘基或一組靶殘基(例如帶電荷殘基，諸如arg、asp、his、lys及glu)且置換為中性或帶負電荷胺基酸(例如丙胺酸或聚丙胺酸)以確定抗體與抗原之相互作用是否受到影響。可在對初始取代顯示功能敏感性之胺基酸位置上引入進一步取代。或者或另外，使用抗原-抗體複合物之晶體結構來識別抗體與抗原之間的接觸點。此等接觸殘基及相鄰殘基可作為取代候選物而靶向或消除。可篩檢變異體以確定其是否含有所要性質。

【0317】 胺基酸序列插入包括長度在一個殘基至含有一百個或一百個以上殘基之多肽之範圍內的胺基末端及/或羧基末端融合、以及具有單一或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N端甲硫胺醯基殘基之抗體。抗體分子之其他插入變異體包括抗體之N端或C端與增加抗體之血清半衰期之酶(例如用於ADEPT)或多肽的融合。

b. 糖基化變異體

【0318】 在某些實施例中，本發明抗FcRH5抗體可改變以增加或減小抗體糖基化之程度。對本發明之抗FcRH5抗體添加糖基化位點或使抗體缺失糖基化位點可藉由改變胺基酸序列以使得產生或移除一或多個糖基化位點來便利地達成。添加或移除糖基化位點可改變抗體

諸如抗FcRH5抗體(例如，FcRH5 TDB)之效應功能。在一些實施例中，抗FcRH5抗體(例如，FcRH5 TDB)可含有非糖基化位點突變。在一些實施例中，非糖基化位點突變為取代突變。在一些實施例中，非糖基化位點突變減少抗FcRH5抗體之效應功能至少1%或更多(例如，2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%或更多)。在一些實施例中，取代突變在胺基酸殘基N297、L234、L235、D265及/或P329(EU編號)處。在一些實施例中，取代突變選自由以下組成之群：N297G、N297A、L234A、L235A、D265A及P329G。在一些實施例中，取代突變為N297G突變。

【0319】 當抗體包含Fc區時，可改變與其連接之碳水化合物。由哺乳動物細胞產生之天然抗體通常包含通常藉由N-鍵聯連接於Fc區之CH2域之Asn297的分支雙觸角寡醣。參見例如Wright等人*TIBTECH* 15:26-32, 1997。寡醣可包括各種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙酰基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖及唾液酸、以及連接於雙觸角寡醣結構之「主幹」中之GlcNAc的海藻糖。在一些實施例中，可對本發明之抗體中之寡醣進行修飾以產生具有某些改良性質之抗體變異體。

【0320】 在一個實施例中，提供具有缺乏(直接或間接)連接於Fc區之海藻糖之碳水化合物結構的抗FcRH5抗體變異體。舉例而言，海藻糖在此抗體中之量可為1%至80%、1%至65%、5%至65%或20%至40%。如藉由MALDI-TOF質譜法所量測，藉由相對於連接於Asn297之所有糖結構(例如複合、雜合及高甘露糖結構)之總和計算Asn297上之糖鏈內海藻糖的平均量來測定海藻糖之量，如例如WO 2008/077546

中所述。Asn297係指位於Fc區中約位置297(Fc區殘基之EU編號)上之天冬醯胺殘基；然而，Asn297亦可由於抗體中之微小序列變化而位於位置297之上游或下游約 ± 3 個胺基酸處，亦即在位置294與300之間。此等海藻糖基化變異體可具有改良之ADCC功能。參見例如美國專利公開案第US 2003/0157108號(Presta, L.)、第US 2004/0093621號(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。與「去海藻糖基化」或「海藻糖缺乏」抗體變異體相關之公開案之實例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki等人*J. Mol. Biol.* 336:1239-1249, 2004；Yamane-Ohnuki等人*Biotech. Bioeng.* 87: 614, 2004。能夠產生去海藻糖基化抗體之細胞株之實例包括蛋白質海藻糖基化不足的Lec13 CHO細胞(Ripka等人*Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545, 1986；美國專利申請第US 2003/0157108 A1號, Presta, L；WO 2004/056312 A1, Adams等人尤其實例11)，及敲除細胞株，諸如 α -1,6-海藻糖基轉移酶基因FUT8敲除CHO細胞(參見，例如，Yamane-Ohnuki等人*Biotech. Bioeng.* 87:614, 2004；Kanda, Y. 等人*Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688, 2006；及WO2003/085107)。

【0321】 進一步提供具有二等分寡醣之抗FcRH5抗體變異體，例如其中連接於抗體之Fc區之雙觸角寡醣係由GlcNAc二等分。此等抗體變異體可具有降低之海藻糖基化及/或改良之ADCC功能。此等抗

體變異體之實例例如描述於WO 2003/011878(Jean-Mairet等人)；美國專利第6,602,684號(Umana等人)；及US 2005/0123546(Umana等人)中。亦提供在連接於Fc區之寡醣中具有至少一個半乳糖殘基之抗體變異體。此等抗體變異體可具有改良之CDC功能。此等抗體變異體例如描述於WO 1997/30087(Patel等人)；WO 1998/58964(Raju, S.)；及WO 1999/22764(Raju, S.)中。

c. VH、VL、CH1及CL域變異體

【0322】 在某些實施例中，一或多個胺基酸修飾可引入本發明抗FcRH5抗體(例如，結合至FcRH5及第二生物分子之本發明雙特異性抗FcRH5抗體，例如，本發明之FcRH5 TDB抗體或其變異體)之重鏈可變(VH，例如，VH₁及/或VH₂)域，輕鏈可變(VL，例如，VL₁及/或VL₂)域，重鏈恆定(CH1，例如，CH1₁及/或CH1₂)域，及/或輕鏈恆定(CL，例如，CL₁及/或CL₂)域。VH、VL、CH1及/或CL域可在一或多個(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)胺基酸位置處具有胺基酸修飾(例如，取代)。在具體實施方案中，胺基酸取代包含酸性及/或鹼性胺基酸殘基。胺基酸修飾可在VH、VL、CH1及/或CL域中形成電荷區域(例如，包含酸性及/或鹼性胺基酸殘基之區域)。VH、VL、CH1及/或CL域中之電荷區域可與相反總電荷之第二電荷區域相互作用以形成電荷對。舉例而言，胺基酸修飾可介導存在於TDB之FcRH5臂之VL₁與VH₁域中之電荷區域之間之電荷對之形成。在一些情況下，胺基酸修飾可介導存在於TDB之FcRH5臂之CL₁與CH1₁域中之電荷區域之間之電荷對之形成。在一些情況下，胺基酸修飾可介導存在於TDB之第二臂(例如，TDB之CD3臂)之VL₂及VH₂域中之電荷區域之

間之電荷對之形成。在一些情況下，胺基酸修飾可介導存在於TDB之第二臂(例如，TDB之CD3臂)之CL₂及CH₁₂域中之電荷區域之間之電荷對之形成。含有VH、VL、CH1及/或CL域變異體之FcRH5 TDB之示例性組態提供於圖1A-1D中。

【0323】 在某些實施例中，抗FcRH5抗體(例如，結合至FcRH5及第二生物分子例如CD3之本發明雙特異性抗FcRH5抗體，諸如本發明之FcRH5 TDB抗體)包含VH、VL、CH1及/或CL區域中之一或多個不對稱修飾以促進正確重鏈/輕鏈配對。在其他實施例中，抗FcRH5抗體進一步包含Fc區域中之一或多個修飾以促進抗FcRH5抗體(例如，FcRH5 TDB)之兩個臂(例如，抗FcRH5臂及抗CD3臂)之異源二聚化。

【0324】 在一些實施例中，CH₁₁域包含S183(EU編號)處之胺基酸取代並且CL₁域包含V133(EU編號)處之胺基酸取代。在其他實施例中，抗FcRH5抗體之第一臂(例如，FcRH5結合臂)之輕鏈為κ鏈。在一些實施例中，抗FcRH5抗體之第二臂(例如，抗CD3結合臂)之輕鏈為κ鏈。在某些實施例中，抗FcRH5抗體之兩個臂(例如，FcRH5結合臂及CD3結合臂)之輕鏈為κ鏈。

【0325】 在一些實施例中，CH₁₁域包含S183E突變並且CL₁域包含V133K突變。在其他實施例中，CH₁₁域包含S183K突變並且CL₁域包含V133E突變。

【0326】 在一些實施例中，CH₁₁域包含S183K突變，CL₁域包含V133E突變，CH₁₂域包含S183E突變，並且CL₂域包含V133K突變。

【0327】 在一些實施例中，抗FcRH5抗體進一步包含VH₁域中之

Q39E突變，VL₁域中之Q38K突變，VH₂域中之Q39K突變，及VL₂域中之Q38E突變。

【0328】 在一些實施例中，抗FcRH5抗體進一步包含CH3₁域中之結(例如，隆凸)突變及CH3₂域中之孔(例如，空腔)突變。在某些實施例中，結突變包含T366W突變(EU編號)。在某些實施例中，孔突變包含T366S、L368A及Y407V突變(EU編號)中之至少一者、至少兩者或所有三者。在某些實施例中，抗FcRH5抗體進一步包含第一重鏈中之T366W突變及第二重鏈中之T366S、L368A及Y407V突變。

【0329】 在一些實施例中，CH1₁域包含A141I、F170S、S181M、S183A及V185A突變並且CL₁域包含F116A、L135V、S174A、S176F及T178V突變。在某些其他實施例中，CH1₁域包含A141I、F170S、S181M、S183A及V185A突變；CL₁域包含F116A、L135V、S174A、S176F及T178V突變；CH1₂域包含S183E突變；並且CL₂域包含V133K突變。

d. Fc區域變異體

【0330】 在某些實施例中，一或多個胺基酸修飾可引入Fc區域。本發明之抗FcRH5抗體(例如，結合至FcRH5及第二生物分子例如CD3之本發明雙特異性抗FcRH5抗體，諸如本發明TDB抗體或其變異體)，從而產生Fc區域變異體(參見例如，美國公開案第2012/0251531號，其全部以引用方式併入本文)。在某些其他實施例中，抗FcRH5抗體包含Fc區域中之一或多個修飾以促進抗FcRH5抗體(例如，FcRH5 TDB)之兩個臂(例如，抗FcRH5臂及抗CD3臂)之異源二聚化。在某些實施例中，具有一或多個Fc修飾之抗FcRH5抗體(例如，FcRH5 TDB)

亦可具有VH、VL、CH1及/或CL域中之一或多個修飾，如上所述。在一些實施例中，含有Fc、VH、VL、CH1及/或CL修飾之FcRH5抗體(例如，FcRH5 TDB)可藉由如本文描述之單細胞抗體產生方法來產生。Fc區變異體可包含在一或多個胺基酸位置上包含胺基酸修飾(例如取代)之人類Fc區序列(例如人類IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc區)。

【0331】 在某些實施例中，本發明涵蓋具有一些而非所有效應功能之抗FcRH5抗體變異體，該等效應功能使該抗體變異體成為抗體之活體內半衰期較為重要但某些效應功能(諸如補體及ADCC)不必要或有害之應用所需要的候選物。可進行活體外及/或活體內細胞毒性分析以確認CDC及/或ADCC活性之降低/去除。舉例而言，可進行Fc受體(FcR)結合分析以確保抗體缺乏FcγR結合性(因此可能缺乏ADCC活性)，但保留FcRn結合能力。用於介導ADCC之初級細胞NK細胞僅表現Fc(RIII，而單核細胞表現Fc(RI、Fc(RII及Fc(RIII。FcR在造血細胞上之表現概述於Ravetch等人*Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492, 1991第464頁上之表3中。評估相關分子之ADCC活性之活體外分析的非限制性實例描述於美國專利第5,500,362號(參見例如Hellstrom等人*Proc. Natl Acad. Sci. USA* 83:7059-7063, 1986)及Hellstrom等人*Proc. Natl Acad. Sci. USA* 82:1499-1502, 1985; 5,821,337 (參見 Bruggemann等人*J. Exp. Med.* 166:1351-1361, 1987))中。或者，可採用非放射性分析方法，(參見例如用於流動式細胞測量術之ACTI™非放射性細胞毒性分析(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA)；及CYTOTOX 96®非放射性細胞毒性分析(Promega, Madison, WI)。適用於此等分析之效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及自然殺手(NK)細胞。或者或另外，

相關分子之ADCC活性可例如在動物模型，諸如Clynes等人*Proc. Natl Acad. Sci. USA* 95:652-656, 1998中揭露之動物模型中進行活體內評估。亦可進行C1q結合分析以確認抗體不能結合C1q且因此缺乏CDC活性。參見例如WO 2006/029879及WO 2005/100402中之C1q及C3c結合ELISA。為評估補體活化，可進行CDC分析(參見例如Gazzano-Santoro等人*J. Immunol. Methods* 202:163, 1996; Cragg, M.S. 等人*Blood*. 101:1045-1052, 2003; 及Cragg, M.S. and M.J. Glennie *Blood*. 103:2738-2743, 2004)。亦可使用此項技術中已知之方法對FcRn結合及活體內清除率/半衰期進行測定(參見例如Petkova, S.B. 等人*Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769, 2006)。

【0332】 效應功能降低之抗體包括Fc區殘基238、265、269、270、297、327及329中之一或多者經取代之抗體(美國專利第6,737,056及8,219,149號)。此等Fc突變體包括在胺基酸位置265、269、270、297及327中之兩者或兩者以上處具有取代之Fc突變體，包括殘基265及297取代成丙胺酸之所謂「DANA」Fc突變體(美國專利第7,332,581及8,219,149號)。

【0333】 在某些實施例中，抗體中之野生型人Fc區域之位置329處之脯胺酸替換成甘胺酸或精胺酸或胺基酸殘基，該胺基酸殘基足夠大以破壞在Fc之脯胺酸329與FcγRIII之色胺酸殘基Trp87及Trp110之間形成的Fc/Fcγ受體界面內的脯胺酸夾層(Sondermann等人*Nature*. 406:267-273, 2000)。在某些實施例中，抗體包含至少另一胺基酸取代。在一實施例中，另一胺基酸取代為S228P、E233P、L234A、L235A、L235E、N297A、N297D或P331S，並且仍然在另一實施例中

至少另一胺基酸取代為人IgG1 Fc區域之L234A及L235A或人IgG4 Fc區域之S228P及L235E(參見例如美國2012/0251531)，並且仍然在另一實施例中至少另一胺基酸取代為人IgG1 Fc區域之L234A及L235A及P329G。

【0334】 具有FcR之改良或削弱結合之某些抗體變異體已描述(參見，例如，美國專利第6,737,056號；WO 2004/056312，及Shields等人*J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604, 2001)。

【0335】 在某些實施例中，抗體變異體包含具有一或多個改良ADCC之胺基酸取代(例如在Fc區之位置298、333及/或334(EU殘基編號)處之取代)之Fc區。

【0336】 在一些實施例中，在Fc區中進行導致C1q結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)改變(亦即改良或削弱)之改變，例如如美國專利第6,194,551號、WO 99/51642及Idusogie等人*J. Immunol.* 164:4178-4184, 2000中所述。

【0337】 半衰期增加且與負責將母體IgG轉移至胎兒之新生兒Fc受體(FcRn)(Guyer等人*J. Immunol.* 117:587, 1976; Kim等人*J. Immunol.* 24:249, 1994)之結合改良的抗體描述於US2005/0014934A1(Hinton等人)中。彼等抗體包含其中具有改良Fc區域與FcRn之結合的一或多個取代的Fc區域。此等Fc變異體包括在以下一或多個Fc區殘基處具有取代之變異體：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434，例如Fc區殘基434之取代(美國專利第7,371,826號)。

【0338】 關於Fc區域變異體之其他實例，亦參見Duncan等人

Nature 322:738-40, 1988 ; 美國專利第 5,648,260 號 ; 美國專利第 5,624,821 號 ; 及 WO 94/29351 。

【0339】 在某些實施例中，抗FcRH5抗體包含非糖基化位點突變。非糖基化位點突變可為取代突變。如與未突變型式相比，非糖基化位點突變可減少抗FcRH5抗體之效應功能至少1%(例如，2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%)或更多。在一些情況下，取代突變在胺基酸殘基N297、L234、L235、D265及/或P329(EU編號)處。另外，取代突變可選自由以下組成之群：N297G、N297A、L234A、L235A、D265A及P329G。在具體實例中，取代突變為N297G突變。

e. 結及孔變異體

【0340】 亦可產生結及孔變異體抗體，其中一或多個(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)胺基酸殘基之胺基酸修飾(例如，取代)產生隆凸(結)或空腔(孔)。在一些情況下，位於抗體之一個多肽上之隆凸可定位於位於抗體之第二多肽上之空腔內以使得抗體之兩個組成多肽可在隆凸與空腔之間之界面處相接。結可一或多個胺基酸殘基替換成較大尺寸之一或多個胺基酸殘基來形成。空腔可一或多個胺基酸殘基替換成較小尺寸之一或多個胺基酸殘基來形成。隆凸或空腔可引入抗FcRH5抗體之臂中(例如，FcRH5 TDB(例如，抗FcRH5臂或抗CD3臂))。結及孔修飾(例如，Fc域之修飾)尤其適用於增加雙特異性抗體(例如，TDB)之總產率、均勻性及穩定性。在一些情況下(例如，在隆凸-空腔對定位於LC/HC界面(例如，VH及VL或CL及CH1)上時)，引入結及孔修飾之胺基酸修飾可減少輕鏈交換。在一些實施例

中，隆凸藉由將 T366W 突變引入抗 FcRH5 抗體之一個臂(例如，抗 FcRH5 臂或抗 CD3 臂)來形成。在一些實施例中，T366W 突變在抗 FcRH5 臂中。在一些實施例中，T366W 突變在抗 CD3 臂中。在一些實施例中，空腔藉由將 T366W、L368A 及/或 Y407V 突變引入抗 FcRH5 抗體之一個臂(例如，抗 FcRH5 臂或抗 CD3 臂)中來形成。在一些實施例中，T366W、L368A 及/或 Y407V 突變在抗 FcRH5 臂中。在一些實施例中，T366W、L368A 及/或 Y407V 突變在抗 CD3 臂中。

【0341】 製備多特異性抗體之技術包括(但不限於)重組共表現具有不同特異性之兩對免疫球蛋白重鏈-輕鏈(參見 Milstein 及 Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)), WO 93/08829 及 Traunecker 等人 *EMBO J.* 10: 3655 (1991)) 及「孔中結(knob-in-hole)」工程改造(參見例如美國專利第 5,731,168 號)。多特異性抗體之「孔中結」工程改造可用於產生含有結之第一臂及含有第一臂之結可結合至其中之孔的第二臂。舉例而言，本發明 TDB 抗體可含有定位於其抗 CD3 臂中之結及定位於其腫瘤靶向臂中之孔。或者，本發明 TDB 抗體可含有定位於其腫瘤靶向臂中之結及定位於其抗 CD3 臂中之孔。特異性抗體亦可使用免疫球蛋白調換(也稱為 Fab 域交換或 CrossMab 格式)技術來工程改造(參見例如 WO2009/080253; Schaefer 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108:11187-11192 (2011))。特異性抗體亦可藉由以下方法來製成：將用於製造抗體 Fc- 異源二聚體分子之靜電轉向作用加以工程改造(WO 2009/089004A1)；將兩個或兩個以上抗體或片段交聯(參見，例如，美國專利第 4,676,980 號，及 Brennan 等人 *Science*, 229: 81 (1985))；使用白胺酸拉鍊來產生雙特異性抗體(參見，例如，Kostelny

等人*J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992))；使用製造雙特異性抗體片段之「雙功能抗體」技術(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如例如Tutt等人*J. Immunol.* 147: 60 (1991)中所描述。

f. 半胱胺酸工程改造抗體變異體

【0342】 在某些實施例中，可能需要產生半胱胺酸工程改造抗體，例如「硫基單抗(thioMAb)」，其中抗體之一或多個殘基經半胱胺酸殘基取代。在特定實施例中，經取代殘基存在於抗體之可及位點處。藉由用半胱胺酸取代彼等殘基，反應性硫醇基藉此定位在抗體之可及位點處且可用於使抗體結合於其他部分(諸如藥物部分或連接子-藥物部分)以產生免疫結合物，如本文進一步所述。在某些實施例中，任一或多個以下殘基可經半胱胺酸取代：輕鏈之V205(Kabat編號)；重鏈之A118(EU編號)；及重鏈Fc區之S400(EU編號)。半胱胺酸工程改造抗體可如例如美國專利第7,521,541號所描述來產生，其全部以引用方式併入本文。

g. 其他抗體衍生物

【0343】 在某些實施例中，本文提供之本發明之抗FcRH5抗體(例如，結合至FcRH5及第二生物分子例如CD3之本發明雙特異性抗FcRH5抗體，諸如本發明TDB抗體或其變異體)可進一步修飾以含有本領域中已知並且易於得到之額外非蛋白質部分。適於使抗體衍生化之部分包括但不限於水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括但不限於聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇之共聚物、羧甲基纖維

素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啉酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或無規共聚物)、及葡聚糖或聚(n-乙基吡咯啉酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚環氧丙烷/環氧乙烷共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛由於其在水中之穩定性而可具有製造優勢。聚合物可具有任何分子量，且可分支或未分支。連接於抗體之聚合物之數目可變化，且若連接一個以上聚合物，則其可為相同或不同分子。一般而言，用於衍生化之聚合物之數目及/或類型可基於包括但不限於欲改良之抗體之特定性質或功能、抗體衍生物是否將在確定條件下用於療法中等考慮因素加以確定。

【0344】 在另一實施例中，提供抗體與可藉由曝露於輻射而選擇性加熱之非蛋白質部分的結合物。在一個實施例中，非蛋白質部分為碳奈米管(Kam等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:11600-11605, 2005)。輻射可具有任何波長，且包括但不限於不損害普通細胞但會將非蛋白質部分加熱至鄰近於抗體-非蛋白質部分之細胞被殺死之溫度的波長。

B. 重組方法及組合物

【0345】 本發明抗FcRH5抗體(例如，結合至FcRH5及第二生物分子例如CD3之本發明雙特異性抗FcRH5抗體，諸如本發明TDB抗體或其變異體)可使用重組方法及組合物來產生，例如，如美國專利第4,816,567號所描述。在一個實施例中，提供編碼本文所述之抗FcRH5抗體之經分離核酸。在一實施例中，宿主細胞為真核細胞，例如，中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。在一實施例中，宿主細胞為原核細胞，例

如，大腸桿菌細胞。在一個實施例中，提供一種製備抗FcRH5抗體之方法，其中該方法包含在適於表現該抗體之條件下培養如以上提供之包含編碼該抗體之核酸的宿主細胞，及視情況自該宿主細胞(或宿主細胞培養基)回收該抗體。在另一實施例中，該方法進一步包含培養第二宿主細胞，該第二宿主細胞包含第二核酸，該第二核酸編碼包含結合CD3之結合域的抗CD3抗體。在一些實施例中，將宿主細胞共培養。進一步實施例包含將雙特異性抗FcRH5抗體從宿主細胞或培養基回收。在一些實施例中，抗FcRH5及抗CD3抗體在同一宿主細胞中產生(例如，單細胞方法)。在一些實施例中，抗FcRH5及抗CD3抗體在分離宿主細胞中產生(例如，雙細胞方法)。

【0346】 在單細胞及雙細胞方法中，將編碼FcRH5 TDB(例如，FcRH5半抗體及CD3半抗體)之一或多個質體引入用於培養並表現TDB之一或多個宿主細胞中。在一個實例中，單一質體可編碼FcRH5半抗體及CD3半抗體。或者，半抗體可藉由分離質體來編碼。在另一個實例中，每個半抗體之重鏈在第一質體中編碼，而每個半抗體之輕鏈在第二質體中編碼。在單細胞方法中，FcRH5 TDB在單一宿主中產生。在雙細胞方法中，FcRH5 TDB藉由將半抗體在分離宿主(例如，相同宿主細胞之分離培養物，或不同宿主細胞之分離培養物)中表現來產生。在雙細胞方法中，兩個宿主可在同一容器或不同容器中培養。兩個宿主培養物可在溶解並純化FcRH5 TDB之前組合或兩個半抗體可個別地純化。

【0347】 在一些實施例中，已經修飾以包括不對稱修飾(例如，如上所述之VH、VL、CH1、CL及/或Fc域之突變)的本發明之抗

FcRH5抗體(例如，結合至FcRH5及第二生物分子例如CD3之本發明雙特異性抗FcRH5抗體，諸如本發明之FcRH5 TDB抗體)使用單細胞方法來產生，從而導致如與未加以修飾以包括不對稱修飾之抗FcRH5抗體相比，正確重鏈/輕鏈配對得以改良及/或抗FcRH5抗體之產率得以改良。

【0348】 適於選殖或表現抗體編碼性載體之宿主細胞包括本文所述之原核或真核細胞。舉例而言，抗體可在細菌中產生，特定言之當不需要糖基化及Fc效應功能時。對於抗體片段及多肽在細菌中之表現，參見例如美國專利第5,648,237號、第5,789,199號及第5,840,523號(參見例如Charlton, *Methods in Molecular Biology*, 第248卷 (B.K.C. Lo等人Humana Press, Totowa, NJ, 2003), 第245-254頁，其描述抗體片段在大腸桿菌中之表現)。在表現之後，抗體可自細菌細胞糊狀物分離於可溶性部分中且可進一步純化。

【0349】 除原核生物之外，諸如絲狀真菌或酵母之真核微生物亦為適於抗體編碼性載體之選殖或表現宿主，包括糖基化路徑已經「人源化」，從而產生具有部分或完全人類糖基化型態之抗體之真菌及酵母菌株。參見Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414, 2004，及Li等人*Nat. Biotech.* 24:210-215, 2006。

【0350】 適於表現糖基化抗體之宿主細胞亦源於多細胞生物體(無脊椎動物及脊椎動物)。無脊椎動物細胞之實例包括植物及昆蟲細胞。已識別眾多可連同昆蟲細胞一起使用之桿狀病毒株，尤其用於轉染草地黏蟲(*Spodoptera frugiperda*)細胞。

【0351】 植物細胞培養物亦可用作宿主。參見，例如，美國專

利第5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978及6,417,429號(描述用於在轉殖基因植物中產生抗體之PLANTIBODIES™技術)。

【0352】脊椎動物細胞亦可用作宿主。舉例而言，適合於懸浮生長之哺乳動物細胞株可為適用的。適用哺乳動物宿主細胞株之其他實例為藉由SV40(COS-7)轉型之猴腎CV1細胞株；人胚胎腎細胞株(293或293細胞，如例如Graham等人*J. Gen Virol.* 36:59, 1977所描述)；幼倉鼠腎細胞(BHK)；小鼠塞爾托利細胞(TM4細胞，如例如Mather *Biol. Reprod.* 23:243-251, 1980所描述)；猴腎細胞(CV1)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76)；人宮頸癌細胞(HELA)；犬腎細胞(MDCK；布法羅大鼠肝臟細胞(BRL3A)；人肺細胞(W138)；人肝細胞(HepG2)；小鼠乳腺腫瘤(MMT 060562)；TRI細胞，如例如Mather等人*Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68, 1982所描述；MRC-5細胞；及FS4細胞。其他適用哺乳動物宿主細胞株包括中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，包括DHFR-CHO細胞(Urlaub等人*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216, 1980)；及骨髓瘤細胞株，諸如Y0、NS0及Sp2/0。關於適合於抗體產生之某些哺乳動物宿主細胞株之評述，參見，例如，Yazaki等人*Methods in Molecular Biology*, 248:255-268, 2003。

C. 分析

【0353】本文提供之本發明抗FcRH5抗體(例如，結合至FcRH5及第二生物分子例如CD3之本發明雙特異性抗FcRH5抗體，諸如本發明TDB抗體或其變異體)可藉由在此項技術中已知之各種分析針對其物理/化學性質及/或生物活性來識別、篩檢或表徵。

1. 結合分析及其他分析

【0354】 在一態樣中，本發明之抗FcRH5抗體例如藉由已知方法諸如ELISA、蛋白質印跡等針對其抗原結合活性來測試。

【0355】 在另一態樣中，競爭分析可用於識別與本發明之抗FcRH5抗體競爭結合FcRH5之抗體。

【0356】 在一示範性競爭分析中，在包含結合FcRH5之第一經標記抗體及測試其與該第一抗體競爭結合FcRH5之能力之第二未標記抗體的溶液中培育經固定FcRH5。第二抗體可存在於融合瘤上清液中。作為對照，在包含第一經標記抗體而無第二未標記抗體之溶液中培育經固定FcRH5。在容許第一抗體結合FcRH5之條件下培育之後，移除過量未結合抗體，且量測與經固定FcRH5締合之標記之量。若相對於對照樣品，與經固定FcRH5締合之標記之量在測試樣品中實質上降低，則指示第二抗體與第一抗體競爭結合FcRH5。參見例如Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*. Ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

2. 活性分析

【0357】 在一態樣中，提供用於識別其具有生物活性之抗FcRH5抗體的分析。生物活性可包括例如在體內、體外或離體結合至FcRH5或肽其片段。在本發明之多特異性(例如，雙特異性)抗FcRH5抗體(例如，具有一個抗FcRH5臂及識別第二生物分子例如CD3之一個臂的TDB抗體)，生物活性亦可包括例如效應細胞活化(例如，T細胞(例如，CD8+及/或CD4+ T細胞)活化)，效應細胞群體擴增(即，T細胞計數增加)，靶細胞群體減少(即，在其細胞表面上表現第二生物分子之細胞群體)減少，及/或靶細胞殺傷。提供在體內及/或體外具有此生

物活性之抗體。在某些實施例中，本發明抗體針對此生物活性來測試，如本文以下實例中詳細描述。

【0358】 在一些實施例中，抗FcRH5抗體(例如，FcRH5 TDB)活性包含支援B細胞殺傷及/或活化細胞毒性T細胞之能力。在某些實施例中，本發明之FcRH5 TDB抗體藉由在本文中，尤其實例中描述的任何方法針對此B細胞殺傷及/或活化T細胞生物活性之細胞毒性作用來加以測試。在任何此等活性分析之一些實施例中，PBMC可藉由Ficoll分離從健康供體之全血中分離。具體而言，人血液可收集於肝素注射器中，並且PBMC使用Leucosep及Ficoll Paque Plus來分離。若需要，CD4+T及CD8+T細胞可使用Miltenyi套組根據製造商之說明書來分離。

【0359】 此外，細胞可在補充有GlutaMax、青黴素及鏈黴素的含有10%FBS之RPMI培養基中洗滌並且將~0.2百萬懸浮細胞添加至96孔U底板。細胞可在37°C下在補充有10% FBS之RPMI1640中在加濕標準細胞培養恆溫箱中培養。對於BJAB細胞殺傷分析，在不同濃度之TDB抗體存在下，20,000個BJAB細胞可與作為huPBMC或純化T細胞之效應細胞一起在每個分析之指示比率下培育24小時。對於內源性B細胞殺傷分析，200,000個huPBMC可與不同濃度之TDB抗體一起培育24小時。

【0360】 在培養之後，細胞可用FACS緩衝液(PBS中之0.5%BSA、0.05%疊氮化鈉)洗滌。然後，細胞可在FACS緩衝液中染色，用FACS緩衝液洗滌並且懸浮於含有1µg/ml碘化丙啶之100µl之FACS緩衝液中。資料可收集於FACSCalibur流式細胞儀上並且使用

FlowJo 來分析。活B細胞可藉由FACS作為PI陰性CD19⁺或PI陰性CD20⁺ B細胞來閘控，並且絕對細胞計數可使用作為內部計數對照添加至反應混合物之FITC珠粒來獲得。細胞殺傷百分比(%)可基於非TDB治療對照來計算。活化T細胞可藉由使用抗CD69-FITC及抗CD25-PE之CD69及CD25表面表現來偵測。

D. 免疫結合物

【0361】 本發明亦提供包含結合於一或多種細胞毒性劑之抗FcRH5抗體，例如抗FcRH5多特異性抗體，例如本文所述FcRH5 TDB之免疫結合物，該等細胞毒性劑為諸如化學治療劑或藥物、生長抑制劑、毒素(例如蛋白質毒素；細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素；或其片段)或放射性同位素。

【0362】 在一實施例中，免疫結合物為抗體-藥物結合物(ADC)，其中抗體結合至一或多種藥物，包括但不限於美登醇(參見美國專利第5,208,020號、第5,416,064號及歐洲專利EP 0 425 235 B1)；奧里斯他汀諸如單甲基奧里斯他汀藥物部分DE及DF(MMAE及MMAF)(參見美國專利第5,635,483號及第5,780,588號，及第7,498,298號)；多拉司他汀；卡奇黴素或其衍生物(參見美國專利第5,712,374、5,714,586、5,739,116、5,767,285、5,770,701、5,770,710、5,773,001及5,877,296號；Hinman等人*Cancer Res.* 53:3336-3342, 1993；及Lode等人*Cancer Res.* 58:2925-2928, 1998)；蒽環黴素諸如柔紅黴素或多柔比星(參見Kratz等人*Current Med. Chem.* 13:477-523, 2006; Jeffrey等人*Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362, 2006; Torgov等人*Bioconj. Chem.* 16:717-721, 2005; Nagy等人*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-

834, 2000; Dubowchik等人*Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532, 2002; King等人*J. Med. Chem.* 45:4336-4343, 2002; 及美國專利第6,630,579號); 甲胺蝶呤; 長春地辛; 紫杉烷諸如多西紫杉醇, 紫杉醇, 拉洛他賽, 替司他賽, 及歐塔紫杉醇; 單端孢黴烯; 及CC1065。

【0363】 在另一實施例中, 免疫結合物包含結合於酶活性毒素或其片段的本文所述抗FcRH5抗體(例如, 抗FcRH5多特異性抗體, 例如FcRH5 TDB), 該毒素或其片段包括但不限於白喉A鏈, 白喉毒素之非結合活性片段, 外毒素A鏈(來自綠膿假單胞菌), 蓖麻毒素A鏈, 相思豆毒素A鏈, 葫蘆根毒素A鏈, α -帚麴菌素, 油桐蛋白質, 石竹素蛋白質, 美洲商陸蛋白質(PAPI、PAPII及PAP-S), 苦瓜抑制劑, 麻風樹毒蛋白, 巴豆毒素, 肥皂草抑制劑, 白樹毒素, 絲林黴素, 局限麴菌素, 酚黴素, 依諾黴素, 及單端孢黴烯族化合物。

【0364】 在另一實施例中, 免疫結合物包含結合於放射性原子以形成放射性結合物的本文所述抗FcRH5抗體(例如, 抗FcRH5多特異性抗體, 例如FcRH5 TDB)。多種放射性同位素可用於產生放射性結合物。實例包括At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹²及Lu之放射性同位素。當免疫結合物用於偵測時, 其可包含用於閃爍攝影研究之放射性原子, 例如tc99m或I123; 或用於核磁共振(NMR)成像(亦稱為磁共振成像mri)之自旋標記, 諸如碘-123、碘-131、銥-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、釷、錳或鐵。

【0365】 抗體與細胞毒性劑之免疫結合物可使用多種雙功能蛋白偶聯劑, 諸如N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫醇)丙酸酯

(SPDP)、琥珀醯亞胺基-4-(N-馬來醯亞胺甲基)環己烷-1-羧酸酯(SMCC)、亞胺基硫烷(IT)、亞胺酸酯之雙功能衍生物(諸如二亞胺代己二酸二甲酯HCl)、活性酯(諸如辛二酸二琥珀醯亞胺基酯)、醛(諸如戊二醛)、雙-疊氮基化合物(諸如雙(對疊氮基苯甲醯基)己二胺)、雙-重氮衍生物(諸如雙-(對重氮苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙-活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)來製備。舉例而言，蓖麻毒素免疫毒素可如Vitetta等人*Science* 238:1098, 1987所描述來製備。碳-14-標記之1-異硫氰酸酯基苯甲基-3-甲基二仲乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)為一種用於使放射性核苷酸結合於抗體之示範性螯合劑。參見WO94/11026。連接子可為促進細胞毒素藥物在細胞中之釋放的「可裂解連接子」。舉例而言，可使用酸不穩定的連接子、肽酶敏感性連接子、對光不穩定連接子、二甲基連接子或含有二硫化物之連接子(Chari等人*Cancer Res.* 52:127-131, 1992；美國專利第5,208,020號)。

【0366】 本文中之免疫結合物或ADC明確包括但是不限於與交聯試劑一起製備的此等結合物，該等交聯試劑包括但不限於可購得之BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、sulfo-EMCS、sulfo-GMBS、sulfo-KMUS、sulfo-MBS、sulfo-SIAB、sulfo-SMCC及sulfo-SMPB及SVSB(琥珀醯亞胺基-(4-乙烯基)苯甲酸酯)(例如，來自Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A)。

E. 醫藥調配物

【0367】 本發明之抗FcRH5抗體(例如，結合至FcRH5及第二生

物分子例如CD3之本發明雙特異性抗FcRH5抗體，例如，FcRH5 TDB)的醫藥調配物藉由將具有所需純度之此抗體與一或多種任擇醫藥學上可接受之載劑、緩衝劑、穩定劑及/或防腐劑(*Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))混合成凍乾調配物或水溶液形式來製備。醫藥學上可接受之載劑通常在所用劑量及濃度下對接受者無毒，且包括但不限於：緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如氯化十八烷基二甲基苯甲基銨；氯化六羥季銨；氯化苯甲脛銨；苜索氯銨；苯酚、丁醇或苯甲醇；對羥基苯甲酸脛酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚(catechol)；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(少於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、二醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽相對離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子界面活性劑，諸如聚乙二醇(PEG)。本文之示範性醫藥學上可接受之載劑進一步包括間質藥物分散劑，諸如可溶性中性活性玻尿酸酶醣蛋白(sHASEGP)，例如人類可溶性PH-20玻尿酸酶醣蛋白，諸如rHuPH20(HYLENEX[®], Baxter International, Inc.)。某些示例性sHASEGP及使用包括rHuPH20之方法描述於美國專利公開案第2005/0260186及2006/0104968號中。在一個態樣中，sHASEGP與一或多種其他葡糖胺聚糖酶，諸如軟骨素酶(chondroitinase)組合。

【0368】 示範性凍乾抗體調配物描述於美國專利第6,267,958號中。水性抗體調配物包括美國專利第6,171,586號及WO2006/044908中所述者，後述調配物包括組胺酸-乙酸鹽緩衝劑。

【0369】 本文之調配物亦可含有一種以上如為所治療之特定適應症所必需之活性成分，較佳為具有不會對彼此產生不利影響之補充活性的活性成分。舉例而言，可能需要進一步提供額外治療劑(例如，化學治療劑、細胞毒性劑、生長抑制劑，及/或抗激素劑，諸如本文在以上列舉之彼等)。此等活性成分適當地以對預期之目的有效之量組合存在。

【0370】 可例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合將活性成分截留於所製備之微膠囊中，例如分別於膠狀藥物傳遞系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)中或於巨乳液中之羥甲基纖維素或明膠-微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊。此等技術揭示於 *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)中。

【0371】 在一些情況下，組合物可包括PD-1軸結合拮抗劑及/或額外治療劑。舉例而言，PD-1軸結合拮抗劑可選自由以下組成之群：MPDL3280A(阿特立單抗)、YW243.55.S70、MDX-1105、MEDI473(德瓦魯單抗)、及MSB0010718C(納武單抗)、MDX1106(妮威祿單抗)、MK-3475(帕姆利珠單抗)、CT-011(皮地利珠單抗)、MEDI-0680 (AMP-514)、PDR001、REGN2810及BGB-108。另外，包含本發明之抗FcRH5抗體(例如，FcRH5 TDB)之組合物可包括類固醇、免疫調節劑(IMiD)、蛋白體抑制劑(PI)或其組合。

【0372】 可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之適合實例包括含有抗體之固體疏水性聚合物之半透性基質，該等基質呈成形物件例如膜或微膠囊之形式。

【0373】 欲用於活體內投藥之調配物通常無菌。可易於例如藉由經無菌過濾膜過濾來達成無菌。

F. 治療方法及組合物

【0374】 本發明之任何抗FcRH5抗體(例如，結合至FcRH5及第二生物分子例如CD3之本發明雙特異性抗FcRH5抗體，例如，FcRH5 TDB)可在治療方法中使用。

【0375】 在一態樣中，提供用作藥物之抗FcRH5抗體。在其他態樣中，提供用於治療或延遲個體之細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5陽性癌症，例如，多發性骨髓瘤(MM))之進程及/或增強免疫功能之抗FcRH5抗體。在某些實施例中，提供一種用於在治療方法中使用之抗FcRH5抗體。在某些實施例中，本發明提供在治療患有細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5陽性癌症，例如，MM))之個體之方法中使用的抗FcRH5抗體，該方法包含向個體投與有效量之抗FcRH5抗體。在一個此實施例中，該方法進一步包括向該個體投與有效量之至少一種如下所述之其他治療劑。

【0376】 在其他實施例中，本發明提供用於在患有細胞增殖病症，諸如FcRH5陽性癌症(例如，MM)之個體中增強免疫功能的抗FcRH5抗體。在某些實施例中，本發明提供在增強患有細胞增殖病症之個體之免疫功能之方法中使用的抗FcRH5抗體，該方法包含向個體投與有效抗FcRH5抗體以活化效應細胞(例如，T細胞，例如，CD8+

及/或CD4+T細胞)，該等效應細胞能夠對於個體之靶細胞(例如，表現由本發明之抗FcRH5抗體，諸如本發明之FcRH5 TDB抗體識別之第二生物分子的細胞)施加細胞毒性及/或凋亡作用。抗FcRH5抗體可結合至定位於靶細胞上之FcRH5分子及定位於免疫效應細胞上之CD3分子。靶細胞可為漿細胞，諸如長或短壽命漿細胞。另外，靶細胞可為骨髓瘤細胞。根據任何以上實施例之「個體」可為人類。

【0377】 在另一態樣中，本發明提供抗FcRH5抗體用於製造或製備藥物之用途。在一實施例中，藥物用於治療細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5陽性癌症，例如，MM))。在另一實施例中，藥物用於在治療細胞增殖病症之方法中使用，該方法包含向患有細胞增殖病症之個體投與有效量之藥物。在一個此實施例中，該方法進一步包括向該個體投與有效量之至少一種如下所述之其他治療劑。

【0378】 在另一實施例中，藥物用於活化效應細胞(例如，T細胞，例如，CD8+及/或CD4+T細胞)，該等效應細胞能夠對於個體之靶細胞(例如，表現由本發明之抗FcRH5抗體，諸如本發明之FcRH5 TDB抗體識別之第二生物分子的細胞)施加細胞毒性及/或凋亡作用。在另一實施例中，藥物用於在增強患有細胞增殖病症之個體之免疫功能之方法中使用，該方法包含向個體投與有效量之藥物以活化效應細胞(例如，T細胞，例如，CD8+及/或CD4+T細胞)，擴增(增加)效應細胞群體，減少靶細胞(例如，表現由本發明之抗FcRH5抗體，諸如本發明之FcRH5 TDB抗體識別之第二生物分子的細胞)群體，且/或殺傷靶細胞(例如，靶腫瘤細胞)。根據任何以上實施例之「個體」可為人類。

【0379】 在另一態樣中，本發明提供治療細胞增殖病症(例如，癌症)之方法。FcRH5陽性癌症可為B細胞癌症。在一些情況下，B-細胞癌症可為多發性骨髓瘤 (MM)、慢性淋巴性白血病(CLL)、套膜細胞淋巴瘤 (MCL)、彌散性大B-細胞淋巴瘤 (DLBCL)/或濾泡性淋巴瘤 (FL)。在具體實例中，B細胞癌症為MM。在其他情況下，FcRH5陽性癌症為B細胞癌症。在一實施例中，該方法包含向患有此細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5陽性癌症，例如，多發性骨髓瘤(MM))之個體投與有效量之抗FcRH5抗體。在一個此實施例中，該方法進一步包括向該個體投與有效量之至少一種如下所述之其他治療劑。根據任何以上實施例之「個體」可為人類。

【0380】 本發明之抗體可單獨或與其他藥劑組合用於療法中。舉例而言，本發明之抗體可與至少一種其他治療劑共投與。在某些實施例中，額外治療劑為PD-1軸結合拮抗劑諸如MPDL3280A(阿特立單抗)、YW243.55.S70、MDX-1105、MEDI473(德瓦魯單抗)及MSB0010718C(納武單抗)、MDX1106(妮威祿單抗)、MK-3475(帕姆利珠單抗)、CT-011(皮地利珠單抗)、MEDI-0680(AMP-514)、PDR001、REGN2810及/或BGB-108。另外，類固醇、免疫調節劑(IMiD)、蛋白體抑制劑(PI)或其組合亦可投與受試者。在一實施例中，糖皮質激素為地塞米松。在一些實施例中，IMiD為來那度胺。在一些實施例中，PI為硼替佐米。

【0381】 以上指示之此等組合療法涵蓋組合投藥(其中兩種或兩種以上治療劑包括在同一或各別調配物中)、及分開投藥，在該情況下，投與本發明之抗體可在投與一或多種其他治療劑之前、同時及/

或之後進行。在一實施例中，抗FcRH5抗體之投藥及額外治療劑之投藥發生在彼此之約一個月內、或約一週、兩週或三週內、或約一天、兩天、三天、四天、五天或六天內。

【0382】 本發明抗體(及/或任何額外治療劑)可藉由任何合適手段，包括靜脈內、皮下、肌肉內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、植入、吸入、鞘內、心室內或鼻內投與。給藥可藉由任何適合途徑進行，例如藉由注射，諸如靜脈內或皮下注射，部分地視投藥為暫時的抑或長期的而定。本文涵蓋各種給藥時程，包括但不限於單次投藥或歷經各個時間點多次投藥、快速注射投藥及脈衝輸注。

【0383】 本發明之抗體將以符合優良醫學規範之方式調配、給藥及投與。在此情形下考慮之因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床病狀、病症之病因、藥劑傳遞部位、投藥方法、投藥時程及醫學從業者已知之其他因素。抗體無需但視情況與一或多種當前用於預防或治療所述病症之藥劑一起調配。此等其他藥劑之有效量取決於調配物中存在之抗體之量、病症或治療之類型、及以上論述之其他因素。此等藥劑係通常以與本文所述相同之劑量及用如本文所述之投藥途徑，或以本文所述劑量之約1%至99%，或以憑經驗/臨床上確定為適當之任何劑量且藉由憑經驗/臨床上確定為適當之任何途徑加以使用。

【0384】 對於預防或治療疾病(例如增殖細胞病症，例如癌症，例如FcRH5陽性癌症，例如MM)，本發明之抗體(當單獨或與一或多種其他額外治療劑組合使用時)之適當劑量將取決於欲治療疾病之類型、抗體之類型、疾病之嚴重性及病程、投與抗體係出於預防目的抑

或治療目的、先前療法、患者之臨床病史及對抗體之反應、及主治醫師之判斷。抗體適合一次性或歷經一系列治療投與患者。

【0385】 作為一般建議，投與人之抗FcRH5抗體之治療有效量在約0.01至約100 mg/kg患者體重範圍內，不論投與一次或多次。在一些實施例中，所使用抗體為例如每日投與約0.01至約0.01至約55 mg/kg、50 mg/kg、0.01約45 mg/kg、約0.01約40 mg/kg、約0.01約35 mg/kg、約0.01約30 mg/kg、約0.01約25 mg/kg、約0.01約20 mg/kg、約0.01約15 mg/kg、約0.01約10 mg/kg、約0.01約5 mg/kg、或約0.01約1 mg/kg。在一實施例中，本文所述抗FcRH5抗體在21天週期之第1天以約100 mg、約200 mg、約300 mg、約400 mg、約500 mg、約600 mg、約700 mg、約800 mg、約900 mg、約1000 mg、約1100 mg、約1200 mg、約1300 mg或約1400 mg之劑量投與人。劑量可作為單次劑量或作為多次劑量(例如，2或3次劑量)，諸如輸注投與。對於歷經數天或更長時間之重複投藥，視病狀而定，治療將通常持續直至對疾病症狀產生所需抑制作用為止。抗體之一個示例性劑量將在約0.05 mg/kg至約10 mg/kg範圍內。因此，約0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg或10 mg/kg(或其任何組合)一或多個劑量可投與患者。在一些實施例中，抗FcRH5抗體以約0.01 mg/kg/wk至約10 mg/kg/wk之劑量投與。在其他實施例中，抗FcRH5抗體以0.1 mg/kg/wk至約10 mg/kg/wk之劑量投與。在其他實施例中，抗FcRH5抗體以約1 mg/kg/wk之劑量投與。

【0386】 此等劑量可間歇投與，例如每週或每三週(例如以使患者接受約兩劑至約二十劑，或例如約六劑抗FcRH5抗體)。最初可投

與較高之起始劑量，接著可投與一或多種較低劑量。此療法之進展易於藉由習知技術及分析加以監測。

【0387】 在一些實施例中，該等方法可進一步包含額外療法。額外療法可為輻射療法、手術、化療、基因療法、DNA療法、病毒療法、RNA療法、免疫療法、骨髓移植術、奈米療法、單株抗體療法或前述之組合。額外療法可呈輔助或新輔助療法形式。在一些實施例中，額外療法為投與小分子酶抑制劑或抗轉移藥劑。在一些實施例中，額外療法為投與副作用限制劑(例如，旨在減輕治療副作用之發生及/或嚴重性之藥劑，諸如抗噁心劑等)。在一些實施例中，額外療法為輻射療法。在一些實施例中，額外療法為手術。在一些實施例中，額外療法為輻射療法與手術之組合。在一些實施例中，額外療法為伽馬輻照。在一些實施例中，額外療法可為分離投與如上所述治療劑中之一或多者。

G. 用於診斷及偵測之方法及組合物

【0388】 在某些實施例中，本發明之任何抗FcRH5抗體皆適用於偵測生物樣品中FcRH5之存在。如本文所用之術語「偵測」涵蓋定量或定性偵測。在某些實施例中，生物樣品包含細胞或組織。

【0389】 在一個實施例中，提供一種用於診斷或偵測方法中之抗FcRH5抗體。在另一態樣中，提供一種偵測天然發生之FcRH5在生物樣品中之存在之方法。在某些實施例中，方法包含使生物樣品與如本文所述之抗FcRH5抗體在容許該抗FcRH5抗體結合天然存在之FcRH5之條件下接觸，及偵測在該抗FcRH5抗體與天然存在之FcRH5之間是否形成複合物。此方法可為活體外或活體內方法。在一些實施

例中，生物樣品為血液樣品。在一些實施例中，受試者為人類。

【0390】 在某些實施例中，提供經標記抗FcRH5抗體。標記包括但不限於可直接偵測之標記或部分(諸如螢光標記、發色標記、電子密集標記、化學發光標記及放射性標記)以及例如經由酶促反應或分子相互作用間接偵測之部分，諸如酶或配位體。示範性標記包括(但不限於)放射性同位素 ^{32}P 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^3H 及 ^{131}I 、螢光團(諸如稀土螯合物或螢光素及其衍生物)、若丹明(rhodamine)及其衍生物、丹醯基、傘形酮(umbelliferone)、螢光素酶(例如螢火蟲螢光素酶及細菌螢光素酶(美國專利第4,737,456號))、螢光素(luciferin)、2,3-二氫吡嗪二酮、辣根過氧化酶(HRP)、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、葡糖澱粉酶、溶菌酶、醣氧化酶(例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶及葡萄糖-6-磷酸去氫酶)、與採用過氧化氫以氧化染料前驅體之酶(諸如HRP、乳過氧化酶(lactoperoxidase)或微過氧化酶(microperoxidase))偶合之雜環氧化酶(諸如尿酸酶(uricase)及黃嘌呤氧化酶)、生物素/抗生蛋白、自旋標記、噬菌體標記、穩定自由基及其類似標記。

H. 製品

【0391】 在另一態樣中，本發明提供含有適用於治療、預防及/或診斷受試者(例如，人)之增殖細胞病症(例如，癌症，例如，FcRH5陽性癌症，例如，多發性骨髓瘤(MM))之物質的製品。該製品包含容器及在該容器上或與該容器相伴之標籤或藥品說明書。合適容器包括例如瓶、小瓶、注射器、IV溶液袋等。容器可由各種材料諸如玻璃或塑膠形成。容器容納單獨或與有效治療、預防及/或診斷病症之另一組合物組合之組合物且可具有無菌存取口(例如容器可為具有可由皮

下注射針刺穿之塞的靜脈內溶液袋或小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為本發明之抗體。標籤或藥品說明書指示組合物用於治療所選病狀。此外，製品可包含(a)其中含有組合物之第一容器，其中該組合物包含本發明之抗體；及(b)其中含有組合物之第二容器，其中該組合物包含另一細胞毒性劑或另外的治療劑。本發明之此實施例中之製品可進一步包含指示組合物可用於治療特定病狀之包裝插頁。或者或另外，製品可進一步包含第二(或第三)容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝液，諸如注射用抑菌水(BWFI)、磷酸鹽緩衝生理食鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)或右旋糖溶液。其可進一步包括自商業及使用者觀點看來合乎需要之其他物質，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。在一些情況下，套組包括藥品說明書，該藥品說明書包含使用抗體來治療或延遲受試者之FcRH5陽性癌症(例如，MM)進程之指示。在其他情況下，套組包括藥品說明書，包含使用抗體來增強患有FcRH5陽性癌症(例如，MM)之受試者之免疫功能的指示。

III. 實例

【0392】 以下為本發明之方法及組合物之實例。應瞭解鑒於以上提供之一般性描述，可實施各種其他實施例。

實例1. 產生抗FcRH5抗體

預防接種及篩檢

【0393】 BALB/c小鼠(Charles River, Hollister, CA)以每只小鼠2 μg 、10 μg 或100 μg /注射劑來免疫接種。抗原懸浮於單磷醯脂質A(MPL)/海藻糖二黴菌酸酯(TDM)(Ribi)佐劑或弗氏佐劑中並且注入每

個免疫接種動物之足墊、腹膜或尾部基底。小鼠接受總共9至18個劑量並且在融合之前2至4天經由足墊、腹腔內(IP)及/或跗關節途徑接受單獨PBS中之1至2次融合前補強。美國公開案第2015/0098900號所描述之免疫接種計畫A產生親本抗FcRH5抗體1G7，其在本文中經優化並進一步表徵。

A. 免疫接種計畫B

【0394】為了產生FcRH5之膜近側Ig域之同功異型物特異性抗體，小鼠用在CHO細胞中表現的具有N末端His表現標籤之E11蛋白質(SEQ ID NO: 114之胺基酸745-850)來免疫接種。五隻小鼠用Ribi佐劑中之10 µg之His標記E11蛋白質經由IP途徑來免疫接種。小鼠接受18個劑量，隨後在融合之前七及四天經由IP途徑接受單獨PBS中之兩次融合前補強。在重組E11蛋白質之18個劑量之後，針對FcRH5結合抗體使用FACS並且藉由ELISA中之滴定使用E11作為抗原來分析血清。偵測到與表現人類全長FcRH5、食蟹獼猴全長FcRH5或E11蛋白質之SVT2細胞而非載體轉染之SVT2細胞的顯著反應性，指示FcRH5結合抗體存在於所有5只經免疫小鼠之血清中。在20劑之後，使來自經免疫小鼠之淋巴細胞與P3X63Ag8U.1.22小鼠骨髓瘤細胞電融合。

【0395】針對與重組人及獼猴E11蛋白質之結合藉由ELISA來測試純系。在ELISA中可與人及獼猴FcRH5交叉反應之八個純系針對與表現全長人FcRH5、全長獼猴FcRH5或E11蛋白質之SVT2細胞之結合藉由FACS來進行測試。所有八個純系結合表現人E11域、跨膜域及細胞質域之SVT2細胞。

【0396】為了測試與內源性表達FcRH5或用FcRH5轉染之癌細胞

之結合，細胞使用EDTA/PBS來提升，並且將 1×10^5 細胞懸浮於100 μ l中並且與初級抗體(1體積之非IgG定量亞純系上清液、4 μ g/ml IgG定量亞純系上清液或2 μ g/ μ l純化單株抗體)一起培育。細胞用FACS緩衝液(PBS, 1%BSA, 2 mM EDTA)洗滌兩次且與1:1000稀釋之用PE標記之山羊抗小鼠二級抗體或1:100稀釋之山羊抗小鼠APC一起培育。細胞用FACS緩衝液洗滌兩次且在FACSCalibur上進行流動式細胞測量分析。當指示時，根據製造商方案(Invitrogen)對抗體進行直接氬標記。然而，僅三個純系結合至表現全長人FcRH5之細胞並且沒有一個結合至表現全長獼猴FcRH5之細胞(表2)。

表2. 在FACS中，來自免疫接種計畫B之mAb結合至過度表現人FcRH1、2、3、4及5、人E11域及食蟹猴FcRH5之細胞

mAb	在FACS中結合至表現以下之SVT2細胞：						
	人FcRH1	人FcRH2	人FcRH3	人FcRH4	人FcRH5	人E11-TM-ICD*	食蟹猴FcRH5
1E6	-	-	-	-	+	+	-
3D8	-	-	-	-	-	+	-
8G8	-	-	-	-	-	+	-
11A11	-	-	-	-	-	+	-
10D9	-	-	-	-	+	+	-
11H6	-	-	-	-	-	+	-
13D2	-	-	-	-	+	+	-
14E9	-	-	-	-	-	+	-

*人FcRH5之E11域、跨膜域及細胞質域

B. 免疫接種及mAb描述計畫C

【0397】 對於免疫接種計畫C，在CHO細胞中產生N末端His標記E11蛋白質。小鼠藉由最初在尾部基底處注射完全弗氏佐劑中之100 µg之E11蛋白質來免疫接種。小鼠接受總共17個劑量，隨後在融合之前兩天經由IP及跗關節途徑接受單獨PBS中之一次融合前補強(表3)。

表3. 免疫接種計畫C之免疫接種排程

注射編號	佐劑	途徑	每個位點之體積	每只動物之體積	蛋白質之量	抗原
1	CFA	尾部基底	100 µl	100 µl	100 µg	人E11
2	IFA	腹腔內	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
	IFA	跗關節	50 µl	100 µl	50 µg	人E11
3	IFA	尾部基底	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
	IFA	皮下	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
	IFA	腹腔內	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
4	IFA	跗關節	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
	IFA	腹腔內	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
5	IFA	腹腔內	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
	IFA	皮下	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
	IFA	尾部基底	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
6	IFA	腹腔內	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
	IFA	跗關節	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
7	IFA	尾部基底	100 µl	100 µl	50 µg	人E11

注射編號	佐劑	途徑	每個位點之體積	每只動物之體積	蛋白質之量	抗原
	IFA	皮下	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
	IFA	腹腔內	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
8	無菌PBS	腹腔內	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
9	無菌PBS	腹腔內	100 µl	100 µl	50 µg	人E11
10	Ribi	腹腔內	100 µl	100 µl	10 µg	人E11
11	Ribi	腹腔內	100 µl	100 µl	10 µg	人E11
12	Ribi	腹腔內	100 µl	100 µl	10 µg	食蟹猴E11及人E11
13	Ribi	腹腔內	100 µl	100 µl	10 µg	食蟹猴E11及人E11
14	Ribi	腹腔內	100 µl	100 µl	3.3 µg	食蟹猴E11及人E11
	Ribi	跗關節	100 µl	100 µl	3.3 µg	食蟹猴E11及人E11
15	Ribi	尾部基底	100 µl	100 µl	3.3 µg	食蟹猴E11及人E11
	Ribi	皮下	100 µl	100 µl	3.3 µg	食蟹猴E11及人E11
	Ribi	腹腔內	100 µl	100 µl	3.3 µg	食蟹猴E11及人E11
16	Ribi	腹腔內	100 µl	100 µl	3.3 µg	食蟹猴E11及人E11
	Ribi	跗關節	100 µl	200 µl	6.6 µg	食蟹猴E11及人E11
17	Ribi	尾部基底	100 µl	100 µl	3.3 µg	食蟹猴E11及人E11
	Ribi	皮下	100 µl	100 µl	3.3 µg	食蟹猴E11及人E11
	Ribi	腹腔內	100 µl	100 µl	3.3 µg	食蟹猴E11及人E11
融合前補強	無菌PBS	腹腔內	100 µl	100 µl	3.3 µg	食蟹猴E11及人E11
	無菌PBS	跗關節	100 µl	200 µl	6.6 µg	食蟹猴E11及人E11

【0398】 在重組E11蛋白質之15個劑量，隨後共注射重組人及獼猴E11蛋白質之後，針對FcRH5結合抗體使用FACS並且藉由ELISA中之滴定使用E11蛋白質作為抗原來分析血清。偵測到與表現人類全長FcRH5、食蟹獼猴全長FcRH5或人類E11域、跨膜域及細胞質域之SVT2細胞而非載體轉染之SVT2細胞的顯著反應性，指示FcRH5結合抗體存在於所有5只經免疫小鼠之血清中。在PBS中之最終補強之後，來自免疫接種小鼠之淋巴細胞與P3X63Ag8U.1.22小鼠骨髓瘤細胞進行電融合。

【0399】 藉由FACS針對與重組人及獼猴E11蛋白質的結合以及與表現全長人FcRH5；全長獼猴FcRH5；全長人FcRH1，FcRH2，FcRH3，或FcRH4；或FcRH5之人E11域、跨膜域及細胞質域的SVT2

細胞的結合來測試純系。在ELISA中，存在44個人E11蛋白質陽性純系及32個獼猴E11蛋白質陽性純系。其中，識別結合至表現人FcRH5之細胞及表現獼猴FcRH5之細胞，但是不結合至表現FcRH1、FcRH2、FcRH3或FcRH4之細胞的總共16個純系，指示特異性FcRH5跨物種反應性(表4)。

表4. 從免疫接種計畫C獲得之單株抗體之結合性質

mAb	在FACS中結合至表現人/猴SVT2細胞							MOLP-2 FACS結合	KD人E11試紙	KD食蟹猴E11試紙
	人FcRH1	人FcRH2	人FcRH3	人FcRH4	人FcRH5	人L11-1M-1C0*	食蟹猴FcRH5			
15G8	-	-	-	-	+	+	+/	+/	0.5 nM	9.1 nM
24H5	-	-	-	-	+	+	+	+	3.2 nM	255 nM
16H10	-	-	-	-	+	+	+	+	4.6 nM	338 nM
10A7	-	-	-	-	+	+	+	+	4.9 nM	229 nM
3C5	-	-	-	-	+	+	+	+	4.9 nM	81 nM
17B1	-	-	-	-	+	+	+	+	68 nM	27 nM
23E2	-	-	-	-	+	+	+	+	未進行	未進行
9B3	-	-	-	-	+	+	+	-	未進行	未進行
23B8	-	-	-	-	+	+	+	-	未進行	未進行
23G8	-	-	-	-	+	+	+	-	未進行	未進行
24F5	-	-	-	-	+	+	+	-	未進行	未進行
24G6	-	-	-	-	+	+	+	-	未進行	未進行
24C4	-	-	-	-	+/	-	+/	-	未進行	未進行
3C2	-	-	-	-	+	+	+/	-	未進行	未進行
6H3	-	-	-	-	+/	+	+/	-	未進行	未進行
10D10	-	-	+	-	+	+	+	未進行	未進行	未進行
12B6	+	+	+	-	+	+	+	未進行	未進行	未進行
16A6	+	+	+	-	+	+	+	未進行	未進行	未進行
11C9	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
11H10	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
12C10	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
16B5	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
16H1	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
17A6	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
2A10	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
2F9	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
3E3	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
5G9	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
6G4	-	-	-	-	+	-	-	未進行	未進行	未進行
7E2	-	-	-	-	+/	+	-	未進行	未進行	未進行
8E2	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
9A6	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
13C8	-	-	-	-	-	+	-	未進行	未進行	未進行
16F5	-	-	-	-	-	+	-	未進行	未進行	未進行
22C9	-	-	-	-	-	+	-	未進行	未進行	未進行
23B9	-	-	-	-	-	+	-	未進行	未進行	未進行
4H3	-	-	-	-	-	+	-	未進行	未進行	未進行
5B1	-	-	-	-	-	+	-	未進行	未進行	未進行
1B9	-	-	-	-	-	+/	-	未進行	未進行	未進行
2C3	-	-	-	-	-	+/	-	未進行	未進行	未進行
3G2	-	-	-	-	-	+/	-	未進行	未進行	未進行
2G4	-	-	-	-	-	-	-	未進行	未進行	未進行

*人FcRH5由Dr. J. H. J. van der Kleij 提供，猴FcRH5由Dr. J. H. J. van der Kleij 提供。
在FACS中結合至表現人/猴SVT2細胞的純系，在ELISA中結合至表現人/猴FcRH5的純系，在ELISA中結合至表現人/猴FcRH5的純系，在ELISA中結合至表現人/猴FcRH5的純系。
在ELISA中結合至表現人/猴FcRH5的純系，在ELISA中結合至表現人/猴FcRH5的純系，在ELISA中結合至表現人/猴FcRH5的純系，在ELISA中結合至表現人/猴FcRH5的純系。

【0400】 來自16個選定單株抗體(mAb)純系之純化IgG針對與內源性表現人FcRH5之細胞(MOLP-2細胞)的結合來進一步表徵。證明總共八個mAb純系結合MOLP-2骨髓瘤細胞。基於序列分析，發現此等八個mAb純系中之兩個為冗餘的並且一個純系未分子選殖。六個分子

選殖MOLP-2陽性mAb純系重組表現為鼠科IgG2a並且藉由表面電漿子共振在BIACORE®T200設備中以IgG捕獲格式來測試親和力。

【0401】簡言之，測試抗體捕獲於蛋白質 A Series S CM5 晶片 (GE Life Sciences, Piscataway, NJ) 上之流槽 2、3 或 4 中，其中流槽 1 作為參考。FcRH5 蛋白質片段用作分析物，流速為 30 μ l/分鐘。在注射之間，捕獲表面藉由在 10 μ l/分鐘之流速下 30 秒注射 10 mM 甘胺酸，pH 1.5 來再生。在 25°C 下在 10mM HEPES pH 7.4，150mM NaCl，0.05% 吐溫 20 (HBSP) 中評估相互作用。在動力學分析之前，減去來自參考流槽以及來自注射單獨緩衝液之參考資料。動力學資訊藉由將資料擬合至 1:1 結合模型來計算。參考值減去及資料擬合使用 BIAevaluation 軟體 (GE Life Sciences, Piscataway, NJ) 來執行。

【0402】此等抗體對於人 E11 域之單價親和力在 0.5 nM 至 68 nM 範圍內，而對於食蟹猴 E11 域之親和力在 9.1 nM 至 338 nM 範圍內 (表 4)。僅一個純系具有針對人 E11 域的高於抗體 1G7，mAb 15G8 的親和力。然而，人與食蟹猴 E11 域之間之 K_D 差異為約 20 倍，使得此純系不適合於進一步臨床研發。另外，儘管此抗體純系對於分離人域 E11 之親和力較高，此抗體純系與 MOLP-2 細胞之結合很微弱；其弱於具有針對分離人 E11 域之較低親和力的純系，指示此純系不能與天然人 FcRH5 蛋白質較好地結合。

實例 2. 產生並表徵來自免疫接種計畫 A 及 C 之抗 FcRH5 抗體變異體

A. 免疫接種計畫 A 之抗 FcRH5 單株抗體之人源化

【0403】美國公開案第 2015/0098900 號所描述的來自免疫接種

計畫A之抗FcRH5抗體1G7藉由如前所述之HVR移植方法(Presta等人 *Cancer Res.* 57:4593-4599,1997)來人源化，除了一致VH4及V κ 1構架(Dennis, *Current Trends in Monoclonal Ant. Develop. and Manufac.* 9-28, 2010)用作接受體構架以外。為了正確的HVR呈現及VH/VL域接觸，重鏈移植物亦在構架Kabat位置37、48、67、71、73、78、93及94處包括鼠科殘基，並且輕鏈移植物亦在構架位置36及43處包括鼠科殘基。殘基編號根據Kabat等人(Sequences of proteins of immunological interest, 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991)。本文被稱為hu1G7.v1或1G7.v1之人源化1G7之序列在圖2及3中示出。

B. hu1G7.v1變異體之親和力成熟及表徵

【0404】為了增強效力，人源化抗體hu1G7.v1使用噬菌體展示來親和力成熟。簡言之，將M13噬菌體表面上之Fab抗體片段之隨機化文庫展示並且與生物素化FcRH5蛋白質片段之結合者來進行淘選。有利突變藉由個別純系之DNA測序來識別。假設此等有利突變可產生具有改良親和力之變異體(Li等人 *MAbs.* 6:437-445, 2014)。具有選定突變之抗體純系藉由表面電漿子共振來測試親和力(表5A及5B)。

【0405】簡言之，人IgG捕獲表面使用胺偶合及人IgG捕獲套組(GE Life Sciences, Piscataway, NJ)在Series S CM5晶片上產生。然後，測試抗體捕獲於流槽2、3或4上，其中流槽1用作參考。FcRH5蛋白質片段用作分析物，流速為>30 μ l/分鐘。在注射之間，捕獲表面藉由30秒注射3M氯化鎂或10 mM甘胺酸，pH 1.5來再生。在25 $^{\circ}$ C下在10mM HEPES pH 7.4，150mM NaCl，0.05%吐溫20(HBSP)中評估相互作用。

在動力學分析之前，減去來自參考流槽以及來自注射單獨緩衝液之參考資料。動力學資訊藉由將資料擬合至1:1結合模型來計算。參考值減去及資料擬合使用 BIAevaluation 軟體 (GE Life Sciences, Piscataway, NJ)來執行。

【0406】對於初始親和力篩選實驗，直接從在瞬態轉染 Expi293 細胞(Invitrogen)之後收集的澄清培養基捕獲抗體(表5A-5B)。每個抗體結合FcRH5蛋白質片段之能力在100 nM及500 nM(實驗1，表5A-5B)或0 nM，20 nM，100 nM，及500 nM(實驗2，表5A-5B)下評估。締合及解離在30 μ l/min之流速下分別監測180 s及600 s。存在於表5A中之所有序列揭示於SEQ ID NO: 4-6中(即，FcRH5 L1、L2、L3廣泛一致)。存在於表5B中之所有序列揭示於SEQ ID NO: 1-3中(即，FcRH5 H1、H2、H3廣泛一致)。觀察到高達5.2倍之親和力改良(表5A)。因為每個個別突變不提供所尋求之改良，所以決定將各種突變組合，集中於VL突變S30R、I32L、A51G、S52Y、Y53N、T56S、H91Q、Y92F、S93Q及S94P及VH突變S28K、L29T及S56T。

表5A. 選定抗體之親和力篩檢

實驗	純系	篩檢 K _D (nM)	與hulG7.v1對照 相比，篩檢K _D 之改良倍數	HVR-L1										HVR-L2										HVR-L3									
				24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	50	51	52	53	54	55	56	80	90	91	92	93	94	95	96	97			
				K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
1	LC.01	5	5.2	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	A	S	Y	R	Y	S	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T			
1	LC.02	5	5.0	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	Q	S	P	Y	T			
2	LC.03	6	4.3	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T			
2	LC.04	6	4.2	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	Q	S	P	Y	T			
1	LC.05	6	4.0	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T			
1	LC.06	7	3.6	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T			
1	LC.07	8	3.1	K	A	S	H	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	Q	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.08	8	3.0	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	Y	Y	R	Y	T	Q	Q	Q	F	S	S	P	Y	T			
1	LC.09	9	2.9	K	A	S	Q	D	V	R	N	I	V	V	S	A	S	N	R	Y	T	Q	Q	Q	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.10	10	2.5	K	A	S	Q	D	V	R	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	Q	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.11	10	2.5	K	A	S	Q	D	V	R	N	I	V	V	S	A	S	N	R	Y	T	Q	Q	Q	Y	S	S	P	Y	T			
1	LC.12	10	2.4	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	R	S	P	Y	T			
2	LC.13	11	2.3	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	S	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.14	11	2.3	K	A	S	Q	D	V	K	N	I	V	V	S	A	S	D	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T			
1	LC.15	11	2.3	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	S	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.16	11	2.2	K	A	S	Q	D	V	R	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	Q	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.17	12	2.0	K	A	S	Q	D	V	K	N	I	V	V	S	A	S	D	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T			
2	LC.18	12	2.0	K	A	S	Q	R	V	S	N	I	V	V	S	S	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.19	12	2.0	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	Q	Y	S	S	P	Y	T			
1	LC.20	13	1.9	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T			
2	LC.21	13	1.8	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	Y	Y	R	Y	S	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
1	LC.22	14	1.8	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.23	14	1.7	K	A	S	Q	D	V	K	N	I	V	V	S	A	A	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
1	LC.24	14	1.7	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	A	S	Y	R	Y	H	Q	Q	H	Y	A	S	P	Y	T			
2	LC.25	15	1.7	K	A	S	R	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	F	T			
1	LC.26	15	1.7	K	A	S	Q	S	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
1	LC.27	15	1.6	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	A	S	P	Y	T			
2	LC.28	15	1.6	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	N	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.29	17	1.4	K	A	S	Q	D	V	R	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.30	17	1.4	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	A	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
1	LC.31	19	1.3	K	A	S	Q	N	V	S	N	I	V	V	S	S	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.32	20	1.2	K	A	S	Q	E	V	S	N	I	V	V	S	A	S	F	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.33	20	1.2	K	A	S	Q	D	V	S	R	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	S	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.34	20	1.2	K	A	S	K	D	V	S	N	I	V	V	S	A	R	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.35	21	1.2	K	A	S	Q	E	V	R	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.36	21	1.2	K	A	S	K	D	V	S	N	I	V	V	S	A	T	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
1	LC.37	22	1.1	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	R	S	P	Y	T			
1	LC.38	24	1.1	K	A	S	Q	N	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			
2	LC.39	43	0.6	K	A	S	H	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	D	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T			

表5B. 選定抗體之親和力篩檢

實驗	參考 編號	篩檢 K _D (nM)	與hulG7.v1對照 相比，篩檢K _D 之改良倍數	HVR-H1HVR-H2HVR-H3		
				SLTRFGVHVIWRGGS	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
1	HC.01	15	1.7	KL	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
1	HC.02	17	1.5	ST	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
1	HC.03	20	1.3	ST	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
2	HC.04	20	1.2	KL	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
2	HC.05	22	1.1	SL	TDYNAAFMS	QDYALDN
1	HC.06	23	1.1	SI	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
1	HC.07	23	1.1	SI	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
2	HC.08	25	1.0	SL	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
1	HC.09	26	1.0	SL	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
2	HC.10	26	0.9	SL	TDYNAAFMS	QDYALDN
1	HC.11	26	0.9	ST	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
2	HC.12	28	0.9	SL	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
1	HC.13	30	0.8	SV	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
2	HC.14	30	0.8	SL	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
1	HC.15	32	0.8	SI	TDYNAAFMS	TDYALDN
2	HC.16	33	0.7	SL	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
1	HC.17	45	0.6	SL	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
2	HC.18	46	0.5	KL	TDYNAAFMS	QDYALDN
2	HC.19	48	0.5	SL	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
2	HC.20	50	0.5	SL	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN
1	HC.21	67	0.4	SL	TDYNAAFMS	HYYGSSDYALDN

【0407】 抗體噬菌體展示文庫使用硬及軟定點誘變來設計。文庫L188及L189用於軟誘變來使VL殘基27-34、50-56、91-94及96(L188)或VH殘基28-35、50-58及95-100d(L189)突變。在誘變位置，軟誘變寡核苷酸利用91%之親本編碼核苷酸及3%之每一種其他核苷酸。文庫L190及L191用於硬誘變(NNK密碼子)來使VL殘基27-34、50-56、及89-96(L190)或VH殘基28-35、50-58及95-100d(L191)突變，每次一個密碼子，並且高達三個HVR同時突變(Li等人*MAbs*. 6:437-445, 2014)。

【0408】 執行結合至FcRH5蛋白質片段的高達四個選擇循環。選擇在固相(直接吸附至微孔板上之靶蛋白質)及溶解狀態中執行。對於溶液選擇，生物素化靶蛋白質用於實現噬菌體-抗體-靶複合物之捕

獲。具有選定突變之純系表現於 Expi293 細胞 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) 中，並且上清液藉由表面電漿子共振來篩檢。

【0409】抗體噬菌體展示文庫藉由 Kunkel 誘變 (Kunkel 等人 Methods in Enzymology, 154:367-382, 1987) 使用在 CJ236 細菌中產生之單鏈 DNA 作為模板來產生並且使用 Qiagen QIAprep Spin M13 Kit (QIAGEN, Inc., Valencia, CA) 來純化。初始親和力成熟文庫之模板 DNA 在選擇用於誘變之彼等 HVR 中包含終止密碼子；用於隨後於下文描述之「聚焦」噬菌體文庫之模板 DNA 未利用模板 HVR 終止密碼子。除非另外說明，否則抗體可變區中之殘基根據 Kabat 系統來編號。酶購自 New England Biolabs (Ipswich, MA)。Kunkel 誘變反應使用 QIAprep 微型吸附柱 (QIAGEN, Inc., Valencia, CA) 來清理並且藉由電穿孔來轉型至 XLI Blue 大腸桿菌 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) 中。在 37°C 下在 SOC 培養基中回收之後，培養物用輔助噬菌體感染並且在 37°C 下再培育 0.5-2 小時，然後添加抗生素羧苄青黴素及卡那黴素。然後，培養物在 37°C 下再培育 4-5 小時隨後進一步在 30°C 下培育隔夜。噬菌體藉由用大約 1/6 體積之沉澱試劑 (20% PEG，2.5M 氯化鈉) 沉澱來從澄清培養基純化。沉澱噬菌體藉由離心來球團化並且溶解於磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS) 中。溶液進一步藉由在 14,000g 下離心來澄清。純化噬菌體在 -20°C 冷凍器中儲存於 50% 甘油中並且在使用之前重新溶解於 PBS 中。

【0410】在合理設計方法中，從噬菌體實驗識別之六個 VL 突變 (S30R、I32L、A51G、T56S、H91Q 及 S94P) 與額外 VL 人源化突變

S43A組合並且成雙地評估以便評估相容性(表6)。對於選定VL突變之相容性評估(表6)，從在瞬態轉染Expi293細胞之後收集的澄清培養基直接捕獲抗體。FcRH5蛋白質片段之結合以6 nM、19 nM、56 nM、167 nM及500 nM在30 µl/min流速下評估。締合及解離分別監測300 s及600 s。表6中揭示之序列為個別胺基酸(即，管柱頂部之數目來抗體序列內之胺基酸數目)。結果指示VL突變I32L及H91Q，雖然個別地改良親和力，在組合時並非有益於親和力。然而，與hu1G7.v1對照相比，所測試的其他序列給出高達四倍之漸增親和力改良。基於此等結果，設計抗體hu1G7.v1.1、hu1G7.v1.2、hu1G7.v1.3及hu1G7.v1.4(圖2及3)。抗體hu1G7.v1.1被設計成併入六個VL突變S30R、I32L、A51G、T56S、H91Q及S94P。抗體hu1G7.v1.2被設計成併入十個VL突變S30R、I32L、A51G、S52Y、Y53N、T56S、H91Q、Y92F、S93Q及S94P。抗體hu1G7.v1.3及hu1G7.v1.4基於hu1G7.v1.1並且被設計成省略I32L(hu1G7.v1.3)或H91Q(hu1G7.v1.4)。

表6. 經由抗體噬菌體展示識別之突變之組合分析

樣品名稱	KD對照* /KD樣品	HVR-L1			HVR-L2		HVR-L3	
		* 平均值，n=2						
		#30	#32	#43	#51	#56	#91	#94
LC.H91Q.S94P	4.1	S	I	A	A	T	Q	P
LC.A51G.S94P	3.6	S	I	A	G	T	H	P
LC.I32L.A51G	2.8	S	L	A	G	T	H	S
LC.I32L.S94P	2.7	S	L	A	A	T	H	P
LC.S30R.I32L	2.2	R	L	A	A	T	H	S
LC.T56S.S94P	2.1	S	I	A	A	S	H	P
LC.S30R.S94P	2.1	R	I	A	A	T	H	P
LC.A51G.H91Q	2.1	S	I	A	G	T	Q	S
LC.S30R.H91Q	1.7	R	I	A	A	T	Q	S
LC.S30R.A51G	1.6	R	I	A	G	T	H	S
LC.A51G.T56S	1.5	S	I	A	G	S	H	S

LC.T56S.H91Q	1.3	S	I	A	A	S	Q	S
LC.I32L.T56S	1.3	S	L	A	A	S	H	S
hu1G7.v1 (對照)	1.0	S	I	S	A	T	H	S
hu1G7.v1 (對照)	1.0	S	I	S	A	T	H	S
LC.I32L.H91Q	0.7	S	L	A	A	T	Q	S

【0411】 亦設計研究許多不同組合的相關突變(VL突變S30R、I32L、A51G、S52Y、Y53N、T56S、H91Q、Y92F、S93Q、S94P；VH突變S28K、L29T、S56T)的聚焦噬菌體文庫。為了試圖進一步增加與人抗體序列之相似性，聚焦噬菌體文庫亦允許如下構架位置處之有限變化：LC中之S43A，HC中之L48I，及/或HC中之N73T。獲得大約10⁸個轉型體。選擇使用FcRH5蛋白質片段作為「誘餌」來執行。選擇最初使用固相固定靶蛋白質來執行，並且溶液相選擇用於後來循環。抗體hu1G7.v1.5、hu1G7.v1.7、hu1G7.v1.13及hu1G7.v1.13.1(圖2及3)來源於此文庫。

【0412】 來自具有聚焦噬菌體文庫之實驗的測序資料亦支援I32L與H91QVL突變之間之負相互作用的概念(表5A-5B)。在對於噬菌體之五個選擇循環及隨後分析163VL序列之後，與在Leu32(5/93純系)存在下相比，在Ile32(49/70純系)存在下，發現VL位置91處之麩氨胺酸之頻率高得多。在未經選擇的文庫中未觀察到此作用，其中在位置32處包含白胺酸之所分析純系的50%(9/18)中觀察到Gln91。此等結果表明包含同時I32L及H91Q之純系之陰性選擇，儘管在其他情形下此等突變中之每一者之陽性富集。

【0413】 對於氧化之易感性藉由將抗體與1mM 2,2'-偶氮雙(2-甲基丙脒)二鹽酸鹽(AAPH)一起培育16小時，隨後用胰蛋白酶消化以建置可使用液相層析(LC)-質譜法(MS)分析來分析之肽來進行研究。對

於樣品中之每個肽，在MS中獲得來自LC之保留時間，及高解析度、精確質量及肽離子分裂資訊(胺基酸序列資訊)。從資料集在 ± 10 ppm之窗口下獲取相關肽(天然及修飾肽離子)之萃取離子層析圖(XIC)，並且將峰整合以確定面積。每個樣品之修飾之相對百分比如下計算： $(\text{修飾肽之面積})/(\text{修飾肽之面積} + \text{天然肽之面積}) \times 100$ 。此等相對百分比然後在對照與AAPH處理樣品之間進行比較。

【0414】 在40℃下在1 mM AAPH存在下培育16小時之後，觀察到HVR-H2 Trp52及Met64之氧化增加(分別44.5%及52.7%)。另外，在光應力之後，Trp52氧化從2%增加至62%，並且Trp-52_{HC}之突變導致1G7.v1.4變異體親和力損失，如藉由BIACORE® 量測(圖4)。在來自抗體hu1G7.v1、hu1G7.v1.3、hu1G7.v1.4、hu1G7.v1.5、hu1G7.v1.6及hu1G7.v1.7之輕鏈的情形下研究將Trp52替換成苯丙胺酸、酪胺酸、白胺酸或組胺酸及Met64替換成苯丙胺酸、異白胺酸、纈胺酸或白胺酸(圖2及3)。具體而言，W52突變至F、Y、L或H分別產生119 nM、131 nM、92 nM及60.4 nM之 K_D 值。而在1G7.v85中M64突變至V產生2.5 nM之 K_D 。對於HVR-H2 Trp52及Met64變異體之親和力篩檢(表7)，抗體藉由瞬態轉染Expi293細胞來表現並且使用以親和力樹脂MabSelect SuRe(Glygen Corp., Columbia, MD & GE Life Sciences, Piscataway, NJ)來定製填充之尖頭管柱來純化。對照抗體hu1G7.v1及hu1G7.v1.5藉由瞬態轉染293T細胞來表現並且使用MabSelect SuRe來純化。在100 nM及500 nM下監測FcRH5蛋白質片段結合至捕獲抗體。締合及解離在40 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之流速下分別監測180 s及300 s。表7示出之結果證明HVR-H2 Met64可突變至纈胺酸同時保持對於FcRH5之較高親

和力。

【0415】 抗體 hu1G7.v1.4 基於超過其他 FcRH 家族成員的對於 FcRH5 之親和力及選擇性來選擇。為了改良此抗體對於氧化之抗性，將表 7 所描述之 M64V 突變亦併入 VH 區域。所得抗體 hu1G7.v1.4.M64V 稱為 hu1G7.v85 (圖 5A-5B) 並且以二價 IgG 及 T 細胞依賴性雙特異性抗體 (TDB) 形式來產生。hu1G7.v85 之序列呈現於圖 6A-6B 及圖 5A-5B 中。hu1G7.v85 之動力學分析在表 8 中示出。示出 hu1G7.v1.4 之分析以便比較。在 hu1G7.v1.4 之 K_D 方面所觀察到的差異 (表 7 及 8) 在此等分子預期實驗變化範圍內。

【0416】 亦產生非親和力成熟型式之 hu1G7.v.1，hu1G7.v87，其在如上所述之人源化構架中具有小鼠 1G7 HVR，其中具有改良抗氧化能力之 M64V 突變。

表 7. hu1G7.v1 之 HVR-H2 位置 52 及 54 變異體之親和力篩檢

篩檢 K_D (M)		來自以下抗體之輕鏈：					
		hu1G7.v1	hu1G7.v1.3	hu1G7.v1.4	hu1G7.v1.5	hu1G7.v1.6	hu1G7.v1.7
重鏈突變	無	2.7×10^{-8}	-	-	2.0×10^{-9}	-	-
	W52F	2.5×10^{-7}	1.8×10^{-7}	1.2×10^{-7}	4.8×10^{-8}	8.1×10^{-8}	7.7×10^{-8}
	W52Y	1.5×10^{-7}	6.4×10^{-7}	1.3×10^{-7}	1.8×10^{-7}	5.3×10^{-7}	1.4×10^{-7}
	W52L	1.0×10^{-7}	2.4×10^{-7}	9.2×10^{-8}	1.3×10^{-7}	2.5×10^{-7}	1.3×10^{-7}
	W52H	1.2×10^{-7}	6.6×10^{-8}	6.0×10^{-8}	6.7×10^{-8}	1.1×10^{-7}	9.0×10^{-8}
	M64I	3.0×10^{-8}	2.1×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.7×10^{-9}	2.7×10^{-9}	2.6×10^{-9}
	M64V	2.7×10^{-8}	2.5×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.7×10^{-9}	2.5×10^{-9}
	M64L	2.7×10^{-8}	2.4×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.3×10^{-9}	2.6×10^{-9}	2.0×10^{-9}
	M64F	2.6×10^{-8}	2.2×10^{-9}	2.5×10^{-9}	1.4×10^{-9}	2.6×10^{-9}	2.4×10^{-9}

表 8. 呈 hIgG1 及 TDB 格式之 hu1G7.v1.4 及 hu1G7.v85 之動力學分

析

抗體	格式	人FcRH5			獼猴FcRH5		
		K _D (nM)	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D (nM)	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)
1G7.v1.4	hIgG1	2.6	7 x 10 ⁵	2 x 10 ⁻³	7.7	1 x 10 ⁵	1 x 10 ⁻³
	TDB	2.4	5 x 10 ⁵	1 x 10 ⁻³	6.3	1 x 10 ⁵	8 x 10 ⁻⁴
1G7.v85	hIgG1	2.5	6 x 10 ⁵	2 x 10 ⁻³	7.2	1 x 10 ⁵	1 x 10 ⁻³
	TDB	2.4	4 x 10 ⁵	1 x 10 ⁻³	6.8	1 x 10 ⁵	8 x 10 ⁻⁴

【0417】 額外親和力成熟方法利用桑格測序使重鏈HVR位置隨機化；然而，未藉由此方法來識別合意突變。因此，將針對變異體來測試之位置之數目及使用下一代測序(Illumina測序)來篩檢之深度加以擴大。設計出一種文庫，其中重鏈可變區中之選定位置使用NNK密碼子來隨機化，該密碼子編碼任何胺基酸或琥珀終止密碼子。該設計在每個純系之抗體可變區中僅允許一個胺基酸變化。該等位置選自HVR以及與HVR直接接觸或近端之構架位置。將1、2、24至40、43、45至78、80至83、85、86、91及93至102之Kabat位置隨機化。文庫藉由DNA合成(GeneWiz)來建置，產生75個獨立線性DNA片段，其中每個片段中之一個位置使用NNK密碼子來隨機化。將線性DNA片段彙集並選殖至單價Fab片段噬菌體展示載體(Lee等人J. Immunol. Methods 284:119-132, 2004)中，該載體含有不具有親和力成熟突變之輕鏈可變區。將連接產物電穿孔至大腸桿菌XL-1中，該大腸桿菌XL-1以M13KO7輔助噬菌體(New England Biolabs)重疊感染並且如所描述來生長。在並行運作的使用人或食蟹猴FcRH5之三個分選循環中，選擇結合者。對於此等選擇，用中性親和素(Pierce)塗佈之ELISA板用於捕獲PBS中之50 ng/ml下之生物素化人或食蟹猴FcRH5域8。噬菌體(1 OD₂₆₈/ml)在室溫下與固定FcRH5一起培育兩小時並且未結合噬菌體藉由用PBS洗滌10次來移除。文庫及選定噬菌體用於感染大腸桿菌XL-

1，將質體DNA提取並且插入物藉由使用PhusionDNA聚合酶(New England Biolabs)之15循環PCR擴增來擴增，隨後進行擴增子之瓊脂糖凝膠純化。將來自原始文庫(2 OD₂₆₈)之噬菌體之DNA用M13 DNA純化套組(Qiagen)提取並且使用如上述相同條件，將200 ng之DNA用作擴增插入物之模板。擴增子藉由Illumina測序來測序，如前所述(Koenig等人J. Biol. Chem. 290:21773–21786, 2015)。將序列過濾並且如前所述(Koenig等人J. Biol. Chem. 290:21773–21786, 2015)來分析，移除在可變區中具有一個以上突變之所有序列，具有不符合NNK簡並密碼子用法之突變的序列及具有終止密碼子之序列。富集藉由將分選樣品中之給定位置處之給定突變之頻率除以未分選的(初始文庫)樣品中之完全相同突變之頻率來計算，如先前描述(Fowler等人Nat. Methods 7:741–746, 2010)，使用以下式： $Ev = \log_2((Rv,s/\sum Rx,s)/(Rv,i/\sum Rx,i))$ ，其中 Ev 為突變體之富集， Rv,s 為在分選群體中之位置 s 處具有突變 v 之讀取之數目， Rx,s 為分選群體中的在與變異體 Rv,s 相同位置處具有突變之讀取之數目， Rv,i 為輸入、未分選群體中的與 Rv,s 相同突變體之讀取之數目並且 Rx,i 為輸入、未分選群體中的在與變異體 Rv,i 相同位置處具有突變之所有變異體之總和。使用人及獼猴FcRH5之選擇的 Ev 評分分別在表9及10中示出，並且灰色框代表在選定樣品中或在文庫中未識別之突變。

【0418】表11示出在使用人FcRH5之選擇中具有至少0.5之評分並且在使用食蟹猴FcRH5之選擇中具有至少0之評分的突變。在表11中，選擇用於進一步分析之突變(即，至少適度有利於結合至人FcRH5並且中性較好用於食蟹猴FcRH5結合之突變)以黑色或灰色標

示，並且藉由桑格測序識別之L29T突變以灰色標示。總共11個位置具有滿足此等標準之突變，在一些位置處具有多個變異體。一個位置具有引入糖基化位點(G54N)並且未選擇用於進一步表徵之突變。另一種變異體，L29T，已經藉由用桑格測序篩檢來識別但是僅在具有S56T突變之純系中識別。該變異體顯示僅1.2倍之親和力之平均改良。S56T突變體具有-2.1之強負性富集評分(表9)，表明L29T突變可具有藉由雙重突變體中之第二S56T突變之存在掩蔽的有利作用。在其他九個位置中，除了位置1及65以外，選擇具有最高評分之突變，其中選擇兩個突變。此等變異體藉由DNA合成(GenWiz)製成並且在1 ml培養物之Expi293細胞中，與hu1G7.v1(沒有親和力成熟突變)之輕鏈組合來表現為人IgG1。人IgG1變異體藉由蛋白質A層析純化並且在BIAcore®中測試親和力。在所測試的兩個突變中，僅兩者，L29T及S100P，在BIAcore®中以可溶性人FcRH5測試時對於親和力具有顯著影響。單獨L29T突變在此情形下改良親和力2.2倍，而S100P突變改良親和力3倍。此等突變孤立地以及在親和力成熟輕鏈之情形下與存在於hu1G7.v86中之I32L、A51G、T56S及S94P突變組合來測試。重鏈L29T改良hu1G7.v86之親和力約2倍，類似於在沒有突變之輕鏈之情形下的作用。相比之下，在沒有突變之輕鏈之情形下改良親和力3倍的S100P改良hu1G7.v86之親和力1.5倍。組合L29T及S100P突變改良hu1G7.v86之親和力2.5倍。因此，即使使用藉由下一代測序之深度挖掘及針對重鏈中之有利突變來測試除了CDR位置以外之許多構架位置，僅可達成親和力之2.5倍改良。結果指示在個別地測試時顯著促進親和力之突變在已經具有其他突變之分子中具有更少影響。重鏈中

之S100P突變尤其如此，該突變個別地改良hu1G7.v1之親和力約3倍但是在具有輕鏈突變I32L、A51G、T56S及S94P及重鏈突變L29T之分子之情形下對於親和力具有極少額外影響(表12，比較hu1G7.v91及hu1G7.v93；hu1G7.v93序列提供於圖7A-7B中)。因此，雖然顯著親和力改良可藉由將多個突變添加至輕鏈來達成，但是相對極少改良可藉由將突變引入重鏈中來達成。

表9. 以人FcRH5選擇之hu1G7.v1中之突變之富集評分

區域	位置	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y	
FW1	E1	0.0	-1.4	-1.3		1.1	-0.5	1.0	0.8	-0.7	0.6	0.1	0.8	-2.1	-0.1	0.3	1.0	0.7	-0.7	0.1	0.7	
	V2	-2.8	-6.0	-3.5	-6.2	-5.2	-4.8	-6.4	-1.1		-4.7	-9.0	-6.7	-5.4	-5.6	-6.8	-5.0	-5.2		-7.8	-4.9	
	V24	-3.1	-6.9	-7.8	-4.1	-6.5	-2.0	-6.0	-2.4	-6.9	-4.5	-3.6	-7.3	-6.9	-5.4	-6.5	-6.7	-6.2		-5.2	-7.7	
	S25	-2.6	-3.7	-2.5	-1.1	-3.1	-3.8	-3.4	-4.1	-2.1	-3.2	-3.3	-2.0	-4.1	-2.0	-1.4		-1.9	-4.4	-2.9	-1.0	
CDR 1	G26	-5.1	-3.2	-5.3	-5.1	-8.6		-7.3	-6.7	-6.9	-6.1	-5.8	-7.1	-7.5	-6.1	-3.9	-4.3	-5.8	-2.4	-5.4	-5.3	
	F27	-6.7	-6.5	-9.2	-7.1		-6.9	-6.6	-6.5	-6.1	-5.2	-6.1	-6.1	-8.5	-6.9	-6.5	-6.5	-6.4	-6.1	-6.2	-6.6	
	S28	-0.5	-4.5	-3.4	-1.2	-2.1	-3.8	-1.9	-4.1	-0.1	-0.1	-2.3	-0.8	0.5	-0.9	-1.0		-3.1	-3.7	-0.7	-1.6	
	L29	-5.7	-6.3	-6.8	-6.6	-6.0	-6.3	-5.9	0.5	-6.7		-2.6	-6.6	-3.2	-3.6	-3.7	-6.4	1.3	0.4	-6.7	-7.9	
	T30	-2.2	-6.1	-1.8	-2.6	-5.4	-1.2	-2.7	-5.0	-0.1	-3.3	-3.6	-0.2	-5.7	-1.5	-0.7	-0.9		-6.5	-3.4	-3.5	
	R31	-8.7	-6.2	-8.2	-5.7	-8.2	-5.7	-7.3	-7.3	-8.1	-6.8	-7.9	-6.8	-7.1	-5.9		-6.4	-6.4	-6.5	-5.5	-6.3	
	F32	-6.9	-7.5	-6.7	-6.4		-7.5	-6.3	-5.4	-7.2	-5.8	-6.8	-7.0	-7.9	-7.6	-7.2	-6.8	-7.4	-5.7	-8.1	-6.4	
	G33	-5.9	-6.7	-7.9	-6.9	-8.2		-6.0	-7.4	-6.8	-7.8		-8.1	-7.2	-5.7	-6.0	-7.5	-6.9	-6.3	-7.0	-6.6	
	V34	-4.0	-6.9	-6.6	-4.2	-7.0	-3.2	-6.1	-1.8	-5.9	-2.9	-3.2	-5.8	-7.9	-7.0	-5.1	-6.1	-6.1		-5.0	-6.3	
	H35	-7.9	-7.0	-7.7	-8.5	-7.9	-6.1		-7.1	-6.6	-6.2	-6.5	-9.8	-5.3	-4.2	-6.0	-5.9	-7.0	-6.0	-7.1	-6.5	
FW2	V37	-0.6	-4.6	-2.2	-1.7	-4.0	-1.5	-2.4	-4.7	-4.5	-2.7	-3.2	-1.4	-5.5	-2.8	-6.1	-0.2	0.1		-3.3	1.4	
	R38	-8.2	-6.9	-7.0	-5.9	-5.6	-5.6	-6.8	-8.6	-4.0	-5.7	-6.3	-6.8	-5.8	-4.9		-5.4	-6.5	-6.1	-4.7	-5.7	
	Q39	-0.3	-6.0	-0.7	-1.3	-5.0	-4.1	-2.4	-4.1	-1.4	-2.6	-3.7	-4.4	-1.5		-2.0	-0.3	-3.3	-4.2	-1.5	-3.4	
	P40	-1.5	-5.1	-5.5	-1.7	-3.8	-3.0	-2.3	-2.4	-0.9	-2.3	-3.0	-3.8		-1.0	-0.2	-1.0	-2.9	-1.3	-1.0	-2.9	
	K43	-4.3	-6.1	-4.9	-2.3	-4.2	-1.8	-4.6	-5.2		-5.0	-3.2	-3.9	-5.1	-1.3	-2.2	-2.8	-1.6	-5.1	-4.3	-4.4	
	L45	-6.0	-6.4	-5.4	-6.3	-6.3	-5.2	-5.9	-4.5	-6.0		-2.8	-6.7	-2.6	-4.0	-1.9	-6.7	-5.9	-3.2	-5.1	-6.0	
	F46	-5.7	-6.9	-3.5			-5.6	-6.9		-7.4	-6.7		-6.2	-6.7	-2.2	-6.6	-3.9	-6.0			-5.2	
	W47	-5.1	-2.5	-5.5	-5.2	-5.6	-1.6	-6.4	-5.1	-7.2	-2.7	-6.2	-6.8	-6.5	-5.9	-3.1	-5.1	-5.8	-4.7		-5.6	
	L48	-5.5	-5.1	-8.6	-7.6	-6.0	-6.0	-6.2	-4.2	-6.7		-2.0	-5.4	-3.4	-3.3	-2.6	-7.1	-6.7	-2.7	-5.7	-5.5	
	G49	-4.8	-6.0	-6.9	-4.6			-7.2	-5.1	-6.7	-8.6		-6.3	-7.0	-5.5	-5.6	-5.8	-6.9	-5.1	-4.7	-6.7	
CDR 2	V50	-3.2	-6.9	-5.8	-3.5	-6.6	-1.3		-6.2	-7.6	-2.9	-3.1	-6.8			-7.8	-5.8	-7.2	-6.7		-3.8	-6.6
	I51	-4.9	-5.3	-5.9	-4.8	-3.8	-5.3	-6.1		-5.7	-2.0	-1.9	-5.3	-6.3	-6.2	-4.7	-1.9	-3.1	-2.5	-4.7	-5.5	
	W52	-7.6	-2.3	-7.4	-6.5	-5.8	-2.5	-6.8	-6.8	-5.6	-3.2	-5.8	-6.7	-6.1	-6.5	-3.5	-5.2	-7.5	-5.6		-6.3	
	R53	-6.6	-4.4	-7.0	-6.7	-7.0	-5.8	-6.5	-6.4	-5.9	-6.9	-6.1	-6.5	-7.4	-6.3		-5.9	-6.2	-6.4	-5.7	-6.3	
	G54	-3.1	-1.8	0.1	-1.7	-3.5		-2.8	-5.4	-4.1	-5.2	-5.7	0.6	-4.9	-4.2	-3.4	-1.7	-2.8	-3.2	-1.4	-1.2	
	G55	-5.2	-5.9	-5.6	-5.3	-7.8		-5.8	-7.0	-5.6	-6.1	-6.2	-5.0	-6.0	-5.6	-5.4	-5.3	-6.0	-5.8	-4.6	-6.1	
	S56	-1.3	-4.3	-3.5	-2.2	-3.7	-2.8	-0.8	-3.2	-1.9	-2.6	-2.5	-2.1	-3.9	-0.4	-1.4		-2.1	-3.3	-1.5	-2.9	
	T57	-2.2	-5.7	-4.7	-3.7	-4.1	-4.9	-2.9	-2.0	-3.1	-4.8	-3.7	-3.4	-1.8	-2.3	-3.1	-2.6		-0.9	-3.9	-2.3	
	D58	-1.4	-5.9		-1.5	-2.6	-2.8	-3.4	-2.9	-4.9	-4.1	-2.9	-1.9	-5.7	-3.3	-4.7	-1.4	-3.9	-2.7	-2.2	-1.5	
	Y59	-4.8	-3.9	-1.5	-3.8	-3.4	-5.1	-2.9	-1.4	-3.4	-2.2	-1.7	-4.4	-6.0	-4.3	-4.4	-2.5	-2.2	-1.4	-5.0		
	N60	-4.0	-6.8	-3.5	-4.8	-5.9	-4.0	-3.6	-6.5	-3.5	-5.7	-5.7		-5.0	-5.9	-6.1	-3.3	-5.7	-5.4	-6.0	-5.2	
	A61		-6.0	-0.6	-0.2	-3.9	-1.3	-2.5	-4.7	-0.6	-3.3	-3.1	-1.0	1.3	-2.2	-1.0	-1.0	-1.2	-3.5	-4.9	-3.4	
	A62		-5.8	-0.3	-0.5	-3.9	-3.2	-2.9	-4.2	-1.0	-3.1	-2.9	-1.3	-4.0	-2.0	-2.2	-0.7	-3.0	-4.6	-2.3	-2.0	
	F63	-4.2	-1.5	-3.9	-1.0		-4.5	-2.3	-2.1	-4.4	-0.8	-1.3	-3.4	-5.5	-2.4	-5.5	-2.4	-3.8	-1.3	-3.3	-0.8	
	M64	-0.2	-4.7	0.0	-0.7	-3.1	0.8	-1.4	-2.1	-0.3	-1.2		-0.3	-2.1	-0.4	-0.7	-0.5	-1.8	-2.1	-1.7	-2.5	
	S65	-3.3	-3.1	0.7	-0.6	-6.8	-0.1	-0.4	-7.2	0.0	-4.1	-4.8	0.3	0.6	-1.5	-0.5		-2.6	-5.5	-0.3	-1.9	
R66	-6.0	-6.0	-6.2	-5.7	-5.8	-5.5	-6.2	-6.4	-5.5	-6.3	-5.6	-5.7	-5.6	-5.2		-5.9	-6.2	-5.7	-5.5	-6.2		
FW3	L67	-2.3	-6.1	-4.5	-5.0	-5.4	-6.4	-5.8	-2.3	-4.8		-1.8	-4.5	-2.6	-2.7	-2.3	-4.8	-3.4	-3.6		-5.2	
	T68	-1.2	-4.4	-2.4	-1.5	-2.8	-2.6	-0.6	-1.4	-1.1	-2.1	-2.6	-1.1	-2.8	-0.7	-1.5	-1.1		-2.9	-3.0	-1.3	
	I69	-5.7	-7.2	-7.8		-5.4	-7.7			-7.2	-3.2	-2.7	-6.1	-7.4	-5.5	-6.0	-7.1	-8.2	-5.1	-5.1	-7.3	
	S70	-1.7	-2.7	-1.2	-1.0	-2.2	-2.8	-1.8	-2.6	-1.1	-2.6	-2.7	-1.4	-6.1	-1.6	-1.8		-1.1	-3.2	-1.2	-1.7	
	K71	-7.2	-8.0	-6.2	-5.5	-6.2	-8.7	-5.8	-8.8		-6.0	-5.8	-4.4	-7.4	-8.1	-5.8	-7.0	-6.6	-6.8	-6.5	-6.6	
	D72	-2.9	-5.1		-1.3	-5.4	-4.1	-3.3	-4.0	-5.1	-4.8	-5.7	-1.6	-6.0	-4.6	-6.0	-3.9	-4.7	-3.1	-3.6	-1.7	
	N73	-3.5	-5.1	-3.4	-3.9	-3.7	-4.6	-4.4	-1.3	-3.6	-1.8	-3.2		-3.5	-3.5	-4.4	-4.1	-3.3	-2.3	-5.7	-1.9	
	S74	-1.0	-5.7	-1.8	-1.1	-1.5	-2.0	-1.3	-1.0	-0.4	-1.9	-1.3	-1.0	-1.4	-1.1	-1.2		-0.4	-2.0	-2.1	-0.8	
	K75	-3.0	-5.1	-5.1	-2.6	-5.6	-6.6	-4.1	-3.5		-2.6	-3.2	-3.0	-5.7	-3.2	-2.4	-3.1	-2.5	-2.9	-5.5	-4.9	
	N76	-3.7	-5.2	-4.2	-1.5	-5.2	-3.6	-2.8	-5.8	-1.3	-5.3	-5.1		-5.4	-0.2	-2.4	-1.8	-3.6		-2.8	-3.9	
	Q77	-4.1	-4.8	-5.1	-1.9	-5.8	-6.2	-2.2	-3.2	-2.0	-2.7	-3.8	-3.0	-3.1		-3.3	-3.0	-2.5	-3.0	-3.6	-4.3	
	V78	-2.4	-5.6	-5.0	-3.2	-4.8	-1.5	-5.9	-6.4	-6.4	-3.1	-2.8	-6.0	-5.3	-5.9	-5.5	-2.8	-3.0		-3.7	-5.7	
	L80	-3.5	-7.3	-6.9	-5.6	-1.6	-7.1	-5.9	-4.3	-7.1		-1.1	-7.6	-6.4	-5.8	-6.9	-6.0	-7.1	-4.6		-5.3	
	K81	-2.0	-5.2	-2.8	-2.8	-3.5	-3.7	-0.5	-3.2		-3.2	0.5	-1.8	-6.3	-1.7	-1.7	-2.4	-2.9	-3.1	-3.9	-2.4	
	S82a	-2.6	-4.0	-1.9	-3.9	-4.4	-1.9	-1.6	-4.8	-1.0	-2.1	-4.0	-1.3	-4.8	-1.7	-0.9		-2.6	-4.2	-3.9	-3.0	
	S82b	-1.9	-4.0	0.9	0.4	-5.5	-0.8	-0.4	-6.1	-0.1	-3.2	-4.9	0.3	-0.8	-1.0	-0.6		-3.3	-3.7	0.0	-1.9	
T83	-3.7	-6.4	-2.7	-1.7	-5.0	-4.7	-3.9	-4.9	-3.2	-4.1	-3.4	-2.7	-5.1	-3.3	-3.9	-2.3		-4.3	-3.5	-4.2		
CDR 3	A85		-5.0	-0.2	-0.4	-4.2	-1.5	-2.2	-5.3	-1.8	-3.0	-3.7	-1.0	-4.1	-1.7	-2.3	-1.3	-3.6	-4.3	-1.2	-2.0	
	D86				-2.9			-6.7		-7.9	-6.7		-6.6	-6.1	-5.8		-6.4	-6.4	-6.2	-4.2	-6.6	
	Y91	-5.9	-3.6	-2.9	-5.4	-2.3	-5.9	-3.5	-6.0	-7.6	-5.3	-4.9	-4.6	-5.9	-5.2	-4.2	-4.7	-4.7	-5.0	-2.6		
	S93	-6.9	-6.5	-7.7		-5.6	-6.4		-7.0	-6.9	-7.2	-7.4	-6.3	-6.8	-8.1	-4.4		-5.8	-6.8	-5.9	-7.5	
	N94	-5.2	-5.5	-3.2	-4.9			-3.2	-4.3	-3.7	-5.0	-5.4		-5.8	-0.7	-6.1	-3.8	-4.0	-6.6	-5.2	-2.7	
	H95	-6.4	-5.2	-4.6	-7.5	-6.6	-6.4			-6.2	-4.9	-6.4	-4.5	-3.9	-1.9	-4.1	-6.8	-6.4	-6.2	-5.6	-3.6	
	Y96	-7.2	-2.1	-1.5	-4.6	-3.8	-5.8	-3.3	-6.8	-6.0	-6.4	-8.1	-5.1	-6.9	-5.1		-4.9	-6.2	-6.4	-5.2		
	Y97	-6.2	-3.3	-2.9	-8.0	-4.3	-5.2	-4.4	-7.1	-8.0	-6.6	-9.2	-5.7	-6.8	-6.4	-8.2	-4.4	-6.5	-7.3	-7.1		
	G98	-5.2	-2.1	-3.2	-6.3																	

表10. 以食蟹猴FcRH5選擇之hu1G7.v1中之突變之富集評分

區域	位置	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
FW1	E1	1.8	-1.4	-0.1		2.5	0.9	2.1	2.4	1.0	2.1	1.7	2.5	0.4	1.4	2.1	2.6	2.3	1.0	0.9	2.1
	V2	-2.0		-2.8	-4.5	-4.5	-4.6	-6.4	0.0	-4.4	-4.9	-6.0	-6.7	-5.1	-4.6		-5.8	-4.3		-5.8	-5.2
	V24	-2.4	-5.9	-6.2	-3.3	-7.1	-1.5	-5.8	-1.5	-5.6	-3.9	-3.0	-5.7	-6.9	-7.4	-6.4	-5.8	-7.2		-5.8	-7.8
	S25	-2.1	-3.1	-0.4	-0.8	-2.7	-3.0	-2.6	-4.9	-0.7	-3.8	-4.6	-0.8	-3.6	-2.0	-0.3		-1.3	-5.6	-4.4	-1.1
CDR 1	G26	-5.1	-3.0	-4.7	-4.7	-6.6		-6.3	-6.7	-6.5	-7.0	-7.1	-6.6	-6.5		-3.9	-4.4	-7.0	-2.4	-4.5	-5.0
	F27	-6.7	-7.3	-6.3	-7.4		-5.9	-7.2	-4.5	-7.5	-4.5	-5.3	-8.1	-6.3	-7.5	-7.5	6.5	-6.9	-7.4	-7.5	-6.0
	S28	-0.1	-5.3	-1.9	-0.4	-2.9	-3.6	-1.5	-5.0	-0.7	-0.4	-2.3	0.3	2.1	-1.1	-1.9		-3.0	-4.7	-0.9	-2.5
	L29	-5.5	-7.4	-5.6	-6.4	-5.6	-6.5	-6.7	0.1	-6.3		-2.3	-6.3	-2.6	4.0	-3.5	-6.7	0.8	0.2	-5.7	-7.9
	T30	-1.1	-7.1	0.5	-1.0	-5.0	0.4	-1.0	-5.4	1.0	-2.5	-2.5	1.7	-5.1	0.0	0.1	0.6		-6.1	-4.9	-3.0
	R31	-6.4	-7.5	-5.4	-5.9	-7.8	-7.3	-6.3	-6.9	-6.3	-6.2	-6.9	-7.1	-5.5	-6.1		-6.5	-6.0	-6.8	-4.1	-6.7
	F32	-6.2	-7.5	-6.3	-5.9		-7.9	-5.8	-6.4	-6.0	-5.2	-6.1	-7.1	-6.3	-7.0	-6.9	-6.8	-7.1	-5.9		-5.3
	G33	-6.3	-5.3	-6.9	-5.3	-7.2		-6.2	-7.4		-6.2		-7.7	-6.7	-7.0	-7.8	-6.9	-7.5	-6.9	-6.0	
	V34	-3.4	-6.4	-6.0	+4.3	+6.2	-2.7	-6.7	-0.7	-5.4	-2.4	+2.8	-5.6	-6.3	+6.5	+0.7	+5.0	+5.1		+3.8	-7.1
	H35	-6.9	-5.7	-6.8	-6.5	-6.9	-6.7		-6.5	-6.6	-6.8	-5.0	-6.0	-5.1	-3.5	-5.5	-6.7	-6.8	-5.5		-6.2
	V37	-0.9	-3.9	-0.6	-1.7	-2.5	-1.3	-2.3	-3.5	-5.8	-2.4	-3.0	-4.5	-6.5	-4.7	-6.1	-1.1	-1.4		-4.5	3.1
	R38	-5.3	-6.0	-7.0		-5.1	-5.7	-5.8	-6.6	-4.1	-6.0	-5.9		-4.8	-4.9		-6.7	-6.8	-6.7	-3.7	-7.0
	Q39	-2.5	-6.0	-2.4	-2.0	-6.0	-5.3	-1.9	-5.1	-0.7	-2.5	-3.1	-5.8	-1.1		-1.8	-1.6	-3.3	-4.6	-3.7	-4.4
	P40	0.6	+4.9	+7.5	-2.2	-3.2	-2.9	-2.2	-0.7	1.1	-0.7	-2.0	-3.8		-0.1	1.9	-1.6	-1.7	0.6	-2.4	-2.7
FW2	K43	-5.0	-5.0	-5.7	-2.4	-6.6	0.2	-4.2	-6.6		-5.3	-3.2	-3.6	-4.4	-0.8	-1.6	-3.4	-1.4	-6.4	-7.2	-5.8
	L45	-7.2	-5.7	-6.7	-7.7	-6.5	-5.8	-5.5	-6.2	-6.1		-2.4	-7.2	-2.5	-3.5	-1.5	-6.5	-7.1	-3.2	-4.8	-5.9
	E46	-4.1	-5.9	-2.8			-4.6	-5.9	-4.5		-4.9	-5.6	-6.1	-6.4	-2.0	-5.6	-6.3	-6.6		-7.4	
	W47	-7.3	-2.3		+4.3	-6.8	-1.2	-5.7	-6.4	-5.3	-2.2	-7.8	-6.5	-6.3	-7.5	-2.8	-4.5		-4.2		-8.2
	L48	-7.2	-4.7	-6.0	-6.7	-5.6	-7.6	-6.5	-3.7	-6.7		-1.7	-8.0	-2.9	-2.4	-2.0	-7.9	-7.0	-2.8	-4.5	-5.8
	G49	-5.4	-6.6	-6.0	+4.3						-6.0		-6.9		+5.1	+5.4			-4.6	-5.0	-7.3
CDR 2	V50	-3.3	-5.5	-5.8	-3.8	-6.8	-1.2	-7.2	-6.1	-5.8	-2.5	-2.8	-6.2	-6.5	-5.8	-5.3	-5.8	-7.0		-3.7	-5.8
	I51	-6.4	-5.8	-6.4	-4.8	-3.6	-5.9	-6.9		-5.4	-1.6	-1.3	-5.5	-6.0	-6.8	-4.3	-1.5	-3.6	-1.8	-4.1	-5.4
	W52	-5.9	-2.1	-7.2	-7.7	-7.5	-2.0	-7.3	-5.8	-5.7	-2.5	-6.4	-7.0	-5.6	-6.9	-3.3	-4.6	-7.5	-4.3		-6.5
	R53	-5.9	-5.0	-6.2	-6.9	-5.0	-5.5	-6.3	-6.5	-2.9	-5.5	-5.7	-6.0	-6.7	-6.5		-6.2	-5.7		-5.7	-5.3
	G54	-1.9	-1.7	1.1	-2.6	-5.0		-1.8	-5.8	-4.5	-6.3	-5.1	2.3	4.6	-3.2	-3.4	-0.5	-1.1	2.4	-1.9	-1.8
	G55	-5.6	-6.1	-5.5	-5.1	-5.5		-6.2	-7.6	-6.1	-6.3	-6.8	-5.2	-5.8	-5.9	-6.2	-5.6	-6.1	-5.6	-5.3	-5.5
	S56	-0.3	-4.0	-2.9	-0.8	-3.5	1.3	0.4	-2.8	0.2	-2.0	-1.4	-0.1	-4.6	1.1	0.1		-0.8	-2.9	-0.7	-2.4
	T57	-1.9	-5.9	-5.2	-4.2	-5.3	-6.4	-3.3	-2.3	-3.5	-5.7	-4.1	-3.2	1.6	4.7	-3.9	-2.9		-0.2	-7.3	-4.3
	D58	-0.9	-6.5		-1.1	-3.9	-2.8	-3.2	-2.6	-4.4	-3.5	-2.3	-1.2	-5.4	-1.6	-4.5	-0.8	-2.3	-2.4	-3.4	-1.5
	Y59	-4.9	-3.6	-1.3	-4.2	-3.2	-5.4	-2.8	0.0	-2.6	-1.5	-2.4	-4.1	-5.2	-4.8	-5.2	-2.2	-1.5	0.1	4.8	
	N60	-3.1	-5.8	+4.1	-5.7	-5.9	-5.1	-5.9	-5.9	-3.4	-5.8	-7.5		-4.9	-3.4	-5.6	-3.5	-5.6	-5.3	-7.6	-5.4
	A61		-5.0	0.6	0.6	-4.1	0.0	-0.8	-5.3	0.9	-3.0	-3.4	0.4	2.7	-0.7	-0.4	0.7	-0.1	-4.0	-5.7	-3.2
	A62		-6.4	0.8	0.5	-2.9	-3.0	-1.9	-4.0	-0.3	-3.0	-2.9	0.1	-2.5	-1.2	-1.7	-0.9	-2.1	-4.3	-3.1	-3.6
	F63	-4.0	-1.2	-4.9	-2.0		-5.3	-0.8	-2.0	-6.0	0.1	-0.3	-3.7	-5.5	-2.4	-4.6	-3.0	-3.9	-1.1	-3.4	-0.2
	M64	2.0	-4.3	1.9	0.8	-2.5	2.8	0.2	-1.3	1.8	-0.4		1.3	-1.4	1.6	1.3	1.3	-0.2	-0.7	-1.3	-1.5
	S65	-2.1	-2.3	3.2	1.1	-5.8	1.4	0.9	-4.6	1.1	-3.7	-4.3	2.0	2.6	-0.5	0.1		-1.5	-3.7	-0.7	-2.1
	R66	+6.5	+7.6		+6.5		+5.8	-6.3	-8.4	-6.0	+5.5	+6.1	-6.2	-6.0	+5.5		+5.9	+6.2	-6.5	+5.9	+6.6
	L67	-0.4	-7.1	-4.7		-6.8	-5.4	-6.8	-1.2	-4.6		-1.3	-4.8	-2.0	-2.3	-1.6	-6.0	-3.2	-2.7	-6.1	-5.4
	T68	-1.0	-6.9	-1.6	-0.5	-2.0	-2.2	-0.1	-0.9	-0.2	-2.2	-1.5	-0.1	-2.2	0.1	-1.2	-0.5		-2.3	-2.7	-1.1
	I69	-6.3		-6.8	-4.9	-5.7	-5.7			-6.2	-2.3	-2.8	-7.1	-8.5	-6.5	-7.4	-6.4	-6.3	-4.3		-4.8
	S70	-0.4	-3.4	-0.4	-0.5	-2.7	-3.6	-1.6	-2.5	-0.9	-1.8	-2.0	-0.5	-4.5	-0.6	-1.5		0.3	-3.3	-0.6	-1.6
	K71	-6.2		-6.3	-5.8	-8.2	-7.8	-5.5	-5.8		-8.2	-8.1	-4.3	-5.8	-5.5	-5.8	-7.4	-5.9	-5.8	-6.5	-5.9
	D72	-2.5	-6.3		-1.2	-5.6	-3.5	-3.1	-3.2	-5.9	-4.3	-4.6	-2.0	-5.8	-4.2	-5.4	-4.1	-5.7	-3.3	-6.0	-1.4
	N73	-2.8	-6.7	-1.5	-2.7	-3.3	-5.8	-4.0	-0.7	-3.6	-0.3	-2.9		-2.5	-2.7	-5.1	-2.9	-2.3	-1.2	-6.5	-1.9
	S74	-0.1	-4.7	0.5	0.2	-1.8	-1.6	0.0	-0.9	-0.3	-0.9	0.1	-0.2	-1.4	0.3	-1.2		0.7	-1.3	-4.2	-1.6
	K75	-2.4	-6.4	-4.4	-2.5	-4.6	-4.6	-3.8	-3.0		-1.2	-3.3	-2.4	-5.9	-1.8	-2.0	-1.3	-1.3	-3.4	-5.8	-4.8
	N76	-2.0	-4.3	-3.8	-4.0	-5.3	-1.0	-2.1	-3.3	-2.0	-6.9	-5.4		-0.1	-4.0	-1.9	-4.4				
FW3	Q77	-4.4	-4.5	-3.9	-0.8	-6.4	-6.8	-1.6	-2.6	-1.4	-2.1	-2.9	-2.2	-2.9		-2.8	-2.7	-1.0	-2.8	-4.9	-4.4
	V78	-2.2		-6.4	-2.7	-4.7	-1.4	-7.0	-5.0	-6.7	-2.6	-2.4	-6.9	-7.3	-5.2	-5.9	-2.5	-3.5		-2.7	-6.0
	L80	-4.4	-5.6		-5.4	-0.8	-7.7		-4.2	-6.7		0.2	-5.4	-6.4	-6.1	-4.9	-6.8	-6.5	-5.4	-6.3	-4.6
	K81	-1.6	-5.8	-1.7	-2.4	-4.5	-3.9	-0.6	-1.6		-2.6	2.5	-0.3	-6.6	-0.8	-0.5	-1.8	-1.3	-2.1	-5.3	-3.0
	S82a	-1.2	-6.8	-1.3	-3.1	-4.7	-1.0	-0.4	-5.8	0.1	-3.5	-3.8	-0.2	-4.5	-1.4	-0.3		-1.5	-4.3	-3.4	-3.8
	S82b	-0.1	-3.6	2.9	1.3		0.5	1.1	-5.5	1.2	-4.0	-3.7	2.3	0.3	0.2	0.3		-2.7	-5.3	-0.1	-1.4
	T83	-3.8	-5.4	-1.6	-1.8	-5.9	-4.6	-4.6	-8.4	-3.8	-6.2	-4.8	-2.1	-5.9	-3.7	-4.5	-1.4		-6.7		-5.4
	A85		-5.6	1.5	0.5	-6.7	-0.9	-1.9	-6.7	-0.8	-3.7	-4.7	-0.1	-3.7	-0.7	-2.2	-0.6	-2.7	-6.5	-3.0	-2.2
	D86	-5.3			-2.4			-5.7		-6.9	-7.3	-4.6	-5.9			-3.8					
	Y91	-5.4	-3.5	-2.3	-7.4	-2.1	-6.3	-3.7	-5.0	-7.0	-5.9	-7.0	-5.4	-5.9	-5.6	-5.4	-4.4	-5.1	-5.9	-2.6	
	S93	-6.0	-5.5		-6.4	-6.6		-5.7	-5.6	-5.5	-6.8	-5.5	-6.9	-6.0	-7.1	-3.6		-5.2	-6.5	-4.4	-5.5
	N94	-4.7	-3.7	-2.6	-4.3		-5.7	-3.0	-3.7	-3.3	-4.5	-5.0		-5.6	-0.4	-6.2	-3.5	-4.3	-6.6		-1.7
	H95	-5.7	-7.2	-4.4	-7.5	-4.3	-5.4		-6.2	-5.3	-4.6	-6.7	-4.3	-3.8	-1.5	-3.5	-6.0	-6.4	-5.9	-6.7	-3.1
	Y96	-6.3	-2.3	-1.1	-4.6	-3.3	-6.4	-2.6	-5.0	-5.5		-6.1	-4.6		-5.1		-3.9	-7.6			
	Y97	-6.1	-2.3	-2.9		-3.7		-3.9	-5.9	-6.5	-7.1	-8.2	-5.1	-6.3	-5.8	-6.7	-4.0	-6.1	-6.0	-7.1	
	G98	-3.5	-1.8	-3.0		-6.4		-7.7	-6.5	-6.1	-5.7		-7.2	-5.5	-4.8	-4.8	-3.6	-5.7	-2.1	-6.0	-5.8
S99	-6.7		-4.9	-5.4		-4															

表11. 在以人FcRH5之選擇中具有至少0.5之富集評分(表9)及在以食蟹猴FcRH5之選擇中具有至少0之富集評分(表10)的突變

區域	位置	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y	
FW1	E1					1.1		1.0	0.8		0.6		0.8				1.0	0.7			0.7	
	V2																					
	V24																					
	S25																					
CDR 1	G26																					
	F27																					
	S28													0.5								
	L29								0.5									1.3				
	T30																					
	R31																					
	F32																					
	G33																					
	V34																					
H35																						
FW2	V37																				1.4	
	R38																					
	Q39																					
	P40																					
	K43																					
	L45																					
	E46																					
	W47																					
L48																						
G49																						
CDR 2	V50																					
	I51																					
	W52																					
	R53																					
	G54												0.6									
	G55																					
	S56																					
	T57																					
	D58																					
	Y59																					
	N60																					
	A61													1.3								
A62																						
F63																						
M64						0.8																
S65			0.7											0.6								
FW3	R66																					
	L67																					
	T68																					
	I69																					
	S70																					
	K71																					
	D72																					
	N73																					
	S74																					
	K75																					
	N76																					
	Q77																					
	V78																					
	L80																					
	K81												0.5									
	S82a																					
S82b			0.9																			
T83																						
A85																						
D86																						
Y91																						
S93																						
N94																						
CDR 3	H95																					
	Y96																					
	Y97																					
	G98																					
	S99																					
	S100														0.5							
	D100a																					
	Y100b																					
A100c																						
L100d																						
D101																						
N102																						

表12. 具有藉由以FcRH5來選擇之噬菌體展示文庫之深度測序來識別之突變的hu1G7變異體之親和力

變異體	突變(Kabat位置)		K _D (nM)	超過以下之改良倍數	
	重鏈	輕鏈		hu1G7.v1	hu1G7.v86
hu1G7.v1	-	-	14.6	-	
A	E1S	-	14.6	1.0	
B	E1F	-	19.1	0.8	
C	S28P	-	13.3	1.1	
D	L29T	-	6.7	2.2	
E	V37Y	-	11.0	1.3	
F	A61P	-	11.7	1.2	
G	M64G	-	14.4	1.0	
H	S65D	-	15.0	1.0	
I	S65P	-	16.2	0.9	
J	K81M	-	15.3	1.0	
K	S82bD	-	15.0	1.0	
L	S100P	-	4.8	3.0	
hu1G7.v85	M64V	S30R, I32L, A51G, T56S, S94P	0.8	17.0	
hu1G7.v86	M64V	I32L, A51G, T56S, S94P	1.4	10.3	
hu1G7.v91	M64V, L29T	I32L, A51G, T56S, S94P	0.7	20.9	2.0
hu1G7.v92	M64V, S100P	I32L, A51G, T56S, S94P	0.9	15.9	1.5
hu1G7.v93	M64V, L29T, S100P	I32L, A51G, T56S, S94P	0.6	25.3	2.5

實例3. 示例性FcRH5 TDB之產生及體外表徵

【0419】 本文描述之抗FcRH5抗體用於產生T細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體，包含結合決定子抗人FcRH5一個臂及抗人CD3ε其他臂。FcRH5結合決定子包括人源化及親和力成熟單株抗體純系1G7、1G7.v85及1G7.v87。抗CD3ε之人源化結合決定子包括高親和力抗體純系38E4.v1、高親和力純系38E4.v11及低親和力純系40G5(相應地，

hCD3 ϵ 之EC50=1.0 nM、50 pM及13 nM)。抗CD3純系38E4.v1、38E4.v11及40G5c結合人CD3 ϵ 多肽(由胺基酸1-26或1-27(SEQ ID NO: 174)組成之人CD3 ϵ 多肽之片段)並且CD3 ϵ 之胺基酸殘基Glu5並非結合所必需的(亦參見PCT公開案第WO 2015/095392號及美國公開案第2015-0166661號，其中之每一者全部以引用方式併入本文)。

【0420】將示例性FcRH5 TDB表徵以評估其治療潛力。發現人源化全長FcRH5 TDB分子殺傷在極低(pM)劑量下人漿細胞及患者衍生原代骨髓瘤腫瘤細胞並且觸發T細胞之穩健增殖。FcRH5 TDB在體內有效抑制骨髓瘤異種移植物之生長並且在靈長類中在預期使靶飽和之良好耐受劑量水準下導致B細胞及漿細胞之完全耗盡。完全漿細胞耗盡提供在骨髓微環境中之功效的令人信服之證據。FcRH5 TDB之活性與靶表現(例如，FcRH5表現)水準相關，表明具有染色體1q複本增益之高風險骨髓瘤患者可能對於此免疫療法特別敏感。

材料及方法

A. 抗體

a. 產生TDB

1. 合理設計方法

【0421】為了優化TDB之表現並增加產率，在抗FcRH5抗體(例如，FcRH5 TDB)之Fc、VH、VL、CH1及CL域中工程設計突變以驅動合適抗體單體形成。具體而言，在VH、VL、CH1及/或CL域中引入電荷區之胺基酸修飾提供減少重鏈及輕鏈錯配之機制。具有相反總電荷之同源電荷區驅動到一起並且輔助合適重鏈及輕鏈配對，從而增加抗FcRH5抗體(例如，FcRH5 TDB)之總產率。示例性合理設計組態，包

括Fc、VH、VL、CH1及CL域之胺基酸修飾，提供於圖1A-1B中。

2. 羅塞塔設計方法

【0422】 附加於或替代優化TDB之表現並增加產率，在抗FcRH5抗體(例如，FcRH5 TDB)之Fc、VH、VL、CH1及CL域中工程設計突變以驅動合適抗體單體形成。除了電荷區突變以外，羅塞塔設計方法以CH1及CL域中之結及孔突變之形式來提供驅動合適重鏈及輕鏈配對之額外機制。示例性羅塞塔設計組態，包括Fc、VH、VL、CH1及CL域之胺基酸修飾，提供於圖1C-1F中。

3. 用於產生FcRH5 TDB之單細胞方法

【0423】 在一種方法中，FcRH5 TDB可藉由培養用兩個質體共轉染之宿主細胞來產生，每個質體編碼FcRH5 TDB之兩個臂之一者(例如，第一質體編碼抗FcRH5半抗體並且第二質體編碼抗CD3半抗體)。宿主細胞(例如，細菌、哺乳動物或昆蟲細胞)之轉染以96孔板格式來執行。為了篩檢FcRH5 TDB產生，大約2,000至3,000個純系可採集並藉由ELISA來評估並且針對其結合靶抗原FcRH5之能力來執行完整IgG均勻時間解析螢光(HTRF)。產生能夠結合至FcRH5或其片段之FcRH5 TDB之純系選擇用於擴增及進一步篩檢(例如，結合CD3)。然後，前列純系可基於所產生的雙特異性抗體(bsAb)百分比、效價及性能合格性(PQ)來選擇用於進一步分析。

【0424】 可用於產生本發明FcRH5 TDB之示例性單細胞方法描述於國際專利申請案第PCT/US16/28850號中，其全部以引用方式併入本文。

4. 用於產生FcRH5 TDB之雙細胞方法

【0425】 或者，FcRH5 TDB可藉由使用高細胞密度發酵個別地(即，在兩個不同細胞株中)培養抗體半體(例如，半抗體)，然後獨立地藉由蛋白質A層析分離每個半抗體來產生。接著在1:1莫耳比下組合純化半抗體且在2 mM DTT存在下在50 mM Tris(pH 8.5)中培育4小時以允許黏接及鉸鏈區中之二硫化物還原。相對於無DTT之相同緩衝液透析24-48小時導致形成鏈間二硫鍵。

【0426】 TDB可替代地藉由將兩個質體轉染至分開宿主細胞中來產生，每個質體編碼TDB之不同臂。宿主細胞可個別地共培養或培養。宿主細胞之轉染可以96孔板格式來執行。為了篩檢TDB產生，將2,000至3,000個純系採集並藉由ELISA來評估並且針對其結合選定抗原(例如FcRH5)之能力來執行完整IgG均勻時間解析螢光(HTRF)。選擇產生能夠結合至FcRH5或其片段之TDB的純系用於擴增及進一步篩檢。基於所產生的雙特異性抗體(bsAb)百分比、效價及PQ來選擇前列純系用於進一步分析。

5. 示例性產生方法

【0427】 在一個實例中，使用此策略，FcRH5 TDB藉由共培養策略來產生，該策略使用表現一個半抗體(孔)之大腸桿菌細胞及表現第二半抗體(結)之大腸桿菌細胞在搖瓶中以預定比率在一起生長以使得其產生類似量之每個半抗體(參見，Spiess等人*Nat. Biotechnol.* 31(8):753-8, 2013；PCT公開案第WO 2011/069104號，其全部以引用方式併入本文)。接著收集共培養之細菌肉湯，在微射流機中破碎細胞且藉由蛋白質A親和力純化抗體。已觀測到在微射流及蛋白質A捕捉期間，兩臂黏接且形成鉸鏈間二硫橋鍵。

【0428】 在另一個實例中，全長雙特異性抗體如前所述來產生 (Junttila等人 *Cancer Res.* 74:5561-5571, 2014; Sun等人 *Science Trans. Med.* 7:287ra270, 2015)。簡言之，在其CH3域中含有「結」或「孔」突變之兩個半抗體(例如，抗FcRH5(例如，1G7之優化變異體)及抗CD3(例如，38E4.v1))藉由CHO細胞之瞬態轉染來表現，然後以蛋白質A來進行親和力純化。相等量之兩個半抗體在32℃下與pH 8.5下之200莫耳過量之還原型谷胱甘肽一起培育隔夜以驅動結-孔二硫鍵之形成。組裝雙特異性抗體(例如，FcRH5 TDB)經由疏水性相互作用層析來純化以除去污染物。純化FcRH5 TDB藉由質譜法、尺寸排阻層析(SEC)及凝膠電泳來針對純度進行表徵。

b. 純化FcRH5 TDB

【0429】 FcRH5 TDB藉由疏水性相互作用層析(HIC)來純化以除去污染物。使用Endosafe便攜式測試系統分析所得物質之內毒素含量，且必要時，藉由用0.1%曲通(Triton)X-114洗滌蛋白質來降低內毒素含量。藉由如之前所述 (Jackman等人 *The Journal of Biological Chemistry.* 285:20850-9, 2010)之質譜分析法(LC-ESI/TCF)來分析TDB之分子量。亦藉由使用Agilent 1:100 HPLC系統，在Zenix SEC-300管柱(Sepax Technologies USA)中進行分析型尺寸排阻層析來分析FcRH5 TDB。藉由使用2100生物分析儀及蛋白質230晶片進行電泳來對殘餘抗體片段之存在定量。

c. 加標記之抗體

【0430】 除了另外提及以外，用於流式細胞術之所有直接標記抗體購自BD Bioscience。抗人PD-1購自Affymetrix。山羊抗人IgG及

山羊抗小鼠IgG購自Jackson ImmunoResearch。抗PC-FITC(純系Vs38c)購自DAKO。用於蛋白質印跡之SLP-76抗體購自Cell Signaling Technology。p-SLP76(Ser376)在Genentech, Inc處產生。

【0431】為了藉由FACS來偵測來自多發性骨髓瘤(MM)樣品及健康供體血漿及B細胞之FcRH5，抗FcRH5抗體1G7使用Southern Biotec之PE來標記。對於顯微術，TDB使用合適蛋白質標記套組(ThermoFisher)根據製造商之說明書用Alexa Fluor 647標記。在標記之前，TDB滲析至PBS，pH 7.2中並且常規達成~4之染料/蛋白質比率。

B. 分子穩定性分析

【0432】為了評估FcRH5 TDB之分子穩定性，熱應力測試在30℃至40℃下在四週內進行。FcRH5 TDB在20 mM組胺酸乙酸鹽、240 mM蔗糖，pH 5.5中以1 mg/mL培育，並且在2週之後評估。在2週時，針對N脫胺基作用/D異構化作用之<5%變化來評估TDB，藉由SEC來評估單體損失之<2.5%變化，並且藉由IEC來評估<16%主峰損失。所使用之SEC緩衝液為0.25M KCl, 0.2M K₃PO₄, pH6.3。LC-MS在還原條件下使用TCEP在60℃下進行10分鐘。LC-MS/MS分析藉由RCM胰蛋白酶肽作圖經由DTT還原、IAA加蓋及pH 8.2消化來進行。

【0433】進行AAPH氧化分析以評估<35% Trp氧化及<1.1 Met Ox/Met₂₅₆。FcRH5 TDB在1.0 mg/mL濃度下培育並且在1 mM AAPH下加應力16小時。亦進行光氧化分析以評估>0.5之TrpOX/TrpOX_ApoMabW53。對於光氧化分析，TDB在1.0 mg/mL濃度下培育48小時並且曝露於光歷時2.4百萬勒克司小時。氧化藉由LC-MS/MS分析以RCM胰蛋白酶肽作圖，經由DTT還原、IAA戴帽及pH

8.2消化來評估。

C. 細胞培養及穩定細胞株產生

【0434】 表現1G4 TCR複合物及關鍵TCR信號傳導組分之HEK-293T及HEK-T細胞(James等人*Nature* 487:64-69, 2012)在DMEM(Sigma Aldrich)中培養。所有其他細胞株在RPMI中培養。所有培養基補充10%熱滅活FBS(Life Technologies)、1mMHEPES(Lonza)、2mM麩醯胺酸、100 U/ml青黴素及100 µg/ml鏈黴素(Sigma Aldrich)。

【0435】 為了評估免疫突觸形成，SVT2細胞用編碼具有N末端gD標籤之全長FcRH5之逆轉錄病毒或編碼具有N末端gD標籤之截斷FcRH5(即，包括胺基酸1-744缺失之FcRH5)之病毒來感染。為了評估FcRH5 TDB殺傷之靶依賴性，FOX-NY細胞用編碼全長FcRH5之慢病毒感染。然後，具有差異表現水準之FcRH5的單一細胞衍生純系使用2 µg/ml嘌呤黴素來選擇。

【0436】 為了評估PD-1/PD-L1信號傳導對於FcRH5 TDB活性之作用，293細胞用編碼FcRH5之慢病毒感染，隨後使用脂質體(Invitrogen)來轉染編碼人PD-L1之質體。

D. 放射配位體細胞結合分析

【0437】 抗FcRH5 1G7.v85抗體使用Iodogen方法碘化至20 µCi/µg之比活性。含有固定濃度之碘化抗體及降低濃度之連續稀釋、未標記抗體的競爭反應混合物安置於96孔板中。表現內源性人FcRH5之細胞株(例如，MOLP-2、R1-1、KARPAS 620及KMS21-BM)用由杜爾貝科氏改良伊格爾氏培養基(DMEM)與2%胎牛血清(FBS)、50 mM HEPES(pH 7.2)及0.1%疊氮化鈉組成之結合緩衝液洗滌，然後添加至

96孔板。對於每個濃度之未標記抗體，使用細胞之競爭反應重複三次進行分析並且在室溫下培育兩小時。在培育2小時之後，將競爭反應物轉移至Millipore多重篩檢過濾培養盤(Billerica, MA)中且用結合緩衝液洗滌4次以使遊離抗體與結合之碘化抗體分離。風乾過濾器在Wallac Wizard 2470 γ 計數器(PerkinElmer Life and Analytical Sciences Inc.; Wellesley, MA)上計數並且結合資料使用NewLigand軟體(Genentech)來評估，該軟體使用Munson及Robard之擬合演算法來確定抗體之結合親和力(Munson等人*Anal. Biochem.* 107:22-39, 1980)。

E. 載體及用於顯微術之瞬態轉染

【0438】將具有N末端gD標籤之FcRH5融合至螢光蛋白質mRuby2，方法是首先將FcRH5插入pHR-SIN慢病毒載體，然後將mRuby2 DNA序列連接至此載體中，從而建置pHR-FcRH5-mRuby2。此載體中之SFFV啟動子隨後置換成mHSP啟動子，從而建置pHRI-FcRH5-mRuby2，後者利用比pHR較弱之啟動子，使得更多生理表現水準之FcRH5-Ruby。表現LCK、ZAP70、CSK/CBP及CD45之載體先前已經描述(James等人*Nature.* 487:64-69, 2012)。所使用之CD45構築體為RO同功異型物或構築體，其含有CD45之細胞質域以及已知模擬CD45功能之CD43之跨膜及細胞外域。在轉染構築體之前，HEK細胞在6孔板中接種至約60%匯合。然後遵循製造商之說明書，載體在合適比率下使用GeneJuice(Novagen)來瞬態轉染。在轉染之後24-48小時，細胞用於實驗中。

F. 顯微術成像及分析

【0439】為了將細胞結合物成像，將要成像之每個細胞類型之

3×10^5 細胞從培養物收穫並且再懸浮於100 μ l之含有20nM TDB的RPMI-1640(沒有酚紅)中。在20-30 min培育以允許細胞結合之後，細胞用PBS洗滌，再懸浮於DMEM^{gfp2}成像培養基(Evrogen)中並且添加至35mm成像培養皿(Mattek)。Andor旋轉盤共焦顯微鏡系統用於在37°C下將細胞成像。將所有影像分析並且所有呈現影像以相等方式使用ImageJ來操縱。將所呈現影像背景減去，然後裁剪以聚焦於成對細胞上並且將對比度優化。蛋白質群集及分離之程度使用質膜中之螢光標記蛋白質之強度來判定。質膜藉由手動劃線來選擇並且細胞-細胞界面內之質膜之平均螢光強度除以細胞-細胞界面外之質膜之平均螢光強度以計算群集或分離程度。為了從z-堆疊產生藉由TDB結合之一對細胞之界面之影像，影像堆疊首先去卷積，然後使用Huygens軟體來裁剪以突出界面區。

G. 體外細胞毒性及T細胞活化分析

【0440】 根據製造商方案(Life Technology, #C34554)用羧基螢光素丁二醯亞胺基酯(CFSE)標記靶細胞。CFSE標記靶細胞及純化CD8⁺細胞以3:1效應細胞與靶細胞(E:T)比率混合並且與TDB一起培育48小時。在培育結束時，細胞藉由流式細胞術在FACSCalibur上以自動格式來分析。藉由對CFSE+/PI陰性細胞進行閘控來對活靶細胞之數目進行計數。如下計算細胞毒性之百分比：細胞毒性%=(無TDB之活靶細胞數目-有TDB之活靶細胞數目)/(無TDB之活靶細胞數目) $\times$ 100。

a. 體外細胞毒性分析細胞株

【0441】 進行周邊血單核細胞(PBMC)及CD8⁺分離、Cell Titer Glo(Promega)及基於流式細胞術之生存力分析(48h)，如前所述Junttila

等人 *Cancer Res.* 74:5561-5571, 2014。CD8⁺細胞用作3:1效應物:靶比率中之效應物。

b. 人漿細胞及原代多發性骨髓瘤樣品

【0442】健康供體(ALLCELLS)之人骨髓吸出物在PBS中稀釋並且骨髓單核細胞(BMMC)藉由習知梯度分離(Lymphoprep, STEMCELL)來分離。流式細胞術生存力分析用於測試72h FcRH5 TDB治療對於BMMC漿細胞之作用。來自MM患者之冷凍人BMMC購自Conversant Bio。骨髓瘤BMMC與新鮮分離之健康供體CD8⁺T細胞混合並且共培養物用FcRH5 TDB治療72h。PI陰性CD38⁺CD138⁺細胞藉由流式細胞術來計數。

H. T細胞活化及增殖分析

【0443】T細胞活化分析先前已經描述於Junttila等人 *Cancer Res.* 74:5561-5571, 2014中。新鮮分離CD8⁺T細胞用CFSE標記並且與靶細胞(例如, MOLP-2細胞)以1:1比率混合並且與1 µg/ml TDB一起共培養48小時或五天。細胞用抗CD8-APC(BD Bioscience, #555634)、抗CD69-PE(BD Bioscience, #555531)及/或抗CD25-APC(BD Bioscience, #555434)染色並且CFSE之螢光強度之稀釋藉由流式細胞術來分析。

I. 獼猴漿細胞之流式細胞術分析

【0444】將獼猴骨髓吸出物在ACK溶解緩衝液(Life Technology, #A1 0492)中稀釋(1:10)兩次。獼猴骨髓細胞用抗CD45、抗CD20及抗CD38染色。洗滌之後, 將細胞固定並且使用IntraStain套組(DAKO)來透化。然後, 細胞用抗PC(純系Vs38c)染色。獼猴漿細胞藉由流式細胞術分類以形式CD45-CD20-CD38+PC⁺。

J. 獼猴IgG水準之ELISA分析

【0445】 總獼猴血清IgG使用基於標準比色之夾心ELISA來定量。山羊抗猴IgG(Bethyl A140-202A)及辣根過氧化物酶(HRP)結合山羊抗猴IgG(Bethyl A140-202P)分別用作捕獲及偵測抗體。獼猴IgG(Cell Sciences CSI20163A)用作蛋白質定量標準。

K. 蛋白質印跡分析

【0446】 新鮮分離之人CD8⁺T細胞及293T-FcRH5細胞(2:1比率)用 1 µg/ml 之 1G7.v85/38E4.v1(「1G7.v85 TDB」)、10A8/38E4.v1(「10A8 TDB」)或抗gD/38E4.v1(「抗gD TDB」)TDB治療並且在4℃下在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中洗滌並且用RIPA溶解緩衝液(Cell Signaling Technology)裂解。pSLP76(Ser376)及SLP76使用標準蛋白質印跡方法及抗體來偵測。

結果

A. FcRH5 TDB之結合親和力

【0447】 在所產生的FcRH5 TDB之中者為以下分子，該分子包含作為FcRH5-結合域之純系1G7及選擇作為CD3-結合域之純系，包括38E4.v1、40G5c及38.E4.v11。抗體hu1G7.v1.1(「1G7.v1.1 TDB」)、hu1G7.v1.2(「1G7.v1.2 TDB」)、hu1G7.v1.3(1G7.v1.3 TDB)、hu1G7.v1.4(「1G7.v1.4 TDB」)、hu1G7.v1.5(「1G7.v1.5 TDB」)、hu1G7.v1.7(「1G7.v1.7 TDB」)、hu1G7.v1.13(「1G7.v1.13 TDB」)及hu1G7.v1.13.1(「1G7.v1.13.1 TDB」)產生為具有抗CD3 38E4.v1臂之FcRH5 TDB並且藉由總體上如本文描述之BIAcore®判定為具有對於可溶性FcRH5蛋白質片段之較高親和力(表13)。包括「結」突變體

之半抗體格式之1G7.v85及1G7.v87之表現測試給出高於災難條之效價(圖8)。

表13. TDB格式之八個選定親和力成熟變異體之親和力評估

可變區種類	抗體	K _D
親本(鼠科可變區)	1G7 TDB (平均值, n=3)	5.4 nM
1G7.v1之定點誘變	1G7.v1.1 TDB	2.7 nM
	1G7.v1.2 TDB	2.6 nM
	1G7.v1.3 TDB	1.5 nM
	1G7.v1.4 TDB	1.4 nM
	1G7.v1.5 TDB	1.1 nM
聚焦噬菌體抗體文庫(文庫模板 = 1G7.v1)	1G7.v1.7 TDB	0.6 nM
	1G7.v1.13 TDB	1.2 nM
	1G7.v1.13.1 TDB	0.9 nM

B. FcRH5 TDB之結合及交叉反應性

【0448】 人FcRH5、獼猴FcRH5、人FcRH1、FcRH2、FcRH3及FcRH4轉染小鼠SVT2細胞用於測試FcRH5 TDB之結合及交叉反應性。該方法執行如下。培養SVT2細胞使用非酶細胞解離緩衝液(Sigma, #C5914)來提升。1x10⁵細胞懸浮於100 µL中並且與3 µg/ml之FcRH5 TDB一起培育。然後，細胞用FACS緩衝液(PBS, 1% BSA, 2 mM EDTA)洗滌並且以1:100稀釋與山羊-抗人FcPE(Jackson ImmunoResearch, #109-116-170)一起培育。細胞用FACS緩衝液洗滌兩次且在FACSCalibur上進行流動式細胞測量分析。

【0449】 在鼠科1G7之人源化及親和力成熟之後，產生TDB格式之八個親和力成熟變異體。產生「孔中結」格式之優化1G7 TDB，其中38E4.v1為抗CD3臂。藉由BIACORE®，在TDB格式下，所有八個變異體顯示超過鼠科1G7 TDB之5至15倍增加之親和力(表13)。所有變異體證明陰性結合至FcRH1或FcRH4，以及不同程度陽性結合至FcRH2或FcRH3。1G7.v1.4 TDB顯示與FcRH2及FcRH3之最小交叉反

應性(表14)。亦藉由FACS來評估含有不同抗FcRH5臂之FcRH5 TDB(即，1G7、1G7.v85或1G7.v1.4)與FcRH3之結合(圖9A)。

表14. FcRH5 TDB結合及交叉反應性

TDB	SVT2-FcRH1	SVT2-FcRH2	SVT2-FcRH3	SVT2-FcRH4	SVT2-FcRH5	SVT2-Cyno-FcRH5
1G7	-	-	-	-	+	+
1G7.v1.1	-	+	+	-	++	++
1G7.v1.2	-	+/-	+	-	++	++
1G7.v1.3	-	+	+	-	++	++
1G7.v1.4	-	+/-	+/-	-	++	++
1G7.v1.5	-	+	+	-	++	++
1G7.v1.13	-	+	+	-	++	++
1G7.v1.7	-	+	+	-	++	++
1G7.v1.13.1	-	+/-	+	-	++	++

【0450】 1G7.v1.4 、 1G7.v85 及 1G7 TDB 結合 huFcRH5 及 huFcRH3之能力藉由BIACORE®分析來評估(圖10A-10D)。1G7.v85 TDB及1G7.v1.4 TDB之親和力為可比較的。1G7.v1.4 TDB分別以2.4 nM及~80 nM之K_D結合至人FcRH5及人FcRH3，並且1G7.v85 TDB分別以2.4 nM及~90 nM之K_D結合至人FcRH5及人FcRH3(圖10A-10D)。額外抗FcRH5變異體hu7D8.L1H2、17B1-VH66、17B1及15G8(提供於圖11A-13B中之)序列亦以具有抗CD3臂38E4.v1之TDB格式來產生。hu7D8.L1H2、17B1及15G8 TDB針對結合至人及獼猴FcRH5來進行測試。結果提供於圖14及表4中。

【0451】 1G7.v85 TDB 及 1G7.v93 TDB 結合至人FcRH5及獼猴FcRH5之比較藉由BIACORE®分析來進行(圖15)。1G7.v85 TDB展示結合至人FcRH5之2.1 nM之K_D及結合至獼猴FcRH5之7.8 nm之K_D。

1G7.v93 TDB展示對於人FcRH5之1.1 nM及獼猴對於FcRH5之8.1 nM的 K_D 。

【0452】 執行動力學表徵實驗(參見表8)。在此等實驗中，可溶性FcRH5蛋白質片段結合至人TDB抗體格式之純化抗體在六個不同非零濃度下進行分析(1:3稀釋系列，一種濃度注射兩次作為平行測定)。流速設定為40 μ l/min並且監測締合及解離600 s。使用hIgG捕獲格式及1:1結合模型之單價1G7.v85 TDB親和力之動力學分析產生針對人FcRH5及獼猴FcRH5分別為2.4 nM及6.8 nM之 K_D (圖16A-16B)。1G7.v85 TDB中的易氧化Met-64_{HC}突變至Val不影響結合親和力。

C. 活體外細胞毒性分析

【0453】 為了評估人源化FcRH5 TDB變異體之功能，測試對於內源性表達FcRH5之FcRH5 MOLP-2細胞之細胞毒性。所有變異體顯示類似靶細胞殺傷活性但是與鼠科1G7相比，顯著增加之活性(圖17A-17B)。在變異體1G7.v1.4 TDB的情況下，相對於鼠科1G7 TDB，EC50改良5至13倍(n=10)。

【0454】 基於其較高細胞毒性活性及與其他家族成員之低交叉反應性，選擇1G7.v1.4 TDB用於進一步分析。為了增加TDB分子之穩定性，1G7.v1.4臂在潛在氧化位點突變，從而產生精煉型式，1G7.v85。兩種型式，1G7.v1.4及1G7.v85，以TDB格式在各種分析中評估，包括T細胞活化、MOLP-2靶細胞殺傷活性、獼猴B細胞體外耗盡及獼猴漿細胞耗盡(圖18A-18D)。在所有測試分析中，1G7.v85 TDB與1G7.v1.4 TDB無差別地起作用。

【0455】 人源化及精煉1G7.v87 TDB亦與1G7.v85 TDB比較。與

其更低親和力一致，相對於1G7.v85 TDB，1G7.v87 TDB展示與人FcRH5之減少結合，如流式細胞術分析所指示(圖19A)。1G7.v87亦顯示與FcRH3之陰性交叉反應性。

【0456】 1G7.v87 TDB及1G7.v85 TDB之靶細胞毒性對於MOLP-2 CD8⁺細胞(圖19B)及來自四個健康供體之PBMC(圖19C)進行評估。在所有供體中，1G7.v87 TDB對於人B細胞殺傷呈陰性，而the1G7.v85 TDB顯示某種程度之陽性殺傷活性。亦測試來自四個健康供體之獼猴PBMC(圖19D)。三種型式1G7 TDB之EC50之分級在所有三個供體中為一致的。1G7.v87 TDB與鼠科1G7 TDB為可比較的但是與1G7.v85 TDB相比，具有顯著更小活性。與1G7.v85 TDB相比，1G7.v87 TDB顯示在體外對於獼猴B細胞之顯著較弱殺傷活性。亦評估1G7.v85 TDB對於人NK細胞之活性並且發現在 $\leq 20 \mu\text{g/mL}$ 下沒有殺傷活性(圖9B)。1G7.v85 TDB之EC50比1G7.v87 TDB好5至8倍。

D. FcRH5 TDB之穩定性之分子評估

【0457】 親和力成熟之前之hu1G7.v1之化學穩定性指示氧化易感性在於Met-64_{HC}及Trp-52_{HC}。1G7.v85 TDB樣品經由AAPH及光應力測試來加應力並且藉由BIACORE®來評估FcRH5結合。如與無應力的對照相比，1G7.v85 TDB在AAPH及光應力測試之後展示與FcRH5之減少結合(圖20A-20D)。在低pH緩衝液(組胺酸乙酸鹽，pH 5.5)中加應力2週之後，1G7.v85 TDB之單體穩定性及電荷非均勻性分別藉由尺寸排阻層析(SEC)及成像毛細管等電聚焦(icIEF)來評估(圖21A-21B)。單體峰損失之可觀察到變化對於單體穩定性(0.1%)及電荷非均勻性(7.7%)而言均為較小的(圖21A-21B)。此外，在兩週低pH應力之後，1G7.v85

TDB之輕鏈或重鏈之質量沒有可觀察到之變化(圖22A-22B)。在30℃下熱應力2週之後，單體峰損失藉由SEC為0.1%並且藉由icIEF為8%。

E. 膜近側抗原決定基為有效TCR信號傳導及FcRH5 TDB之殺傷活性所需要

【0458】 為了表徵在藉由FcRH5 TDB刺激後導致觸發T細胞受體(TCR)之分子事件，利用一種重構系統(James等人 *Nature*. 487:64-69, 2012)，其允許以受控方式研究導致受體活化之初始事件。使用健康供體CD8細胞，1G7/UCHT1.v9 TDB導致很穩健SLP76磷酸化，指示TCR信號傳導，並且介導靶細胞之有效殺傷(圖23A-23B；EC50=0.5 nM)。相比之下，靶向膜遠側抗原決定基之抗gD TDB不產生可偵測TCR信號傳導並且不能介導T細胞殺傷(圖23A-23B)。亦證實TDB活性由抗原決定基之位置及細胞外域之大小來決定，該決定過程受到靶向表現保持1G7及gD表位之重度截斷靶的細胞所支配(圖23C)。近端1G7/UCHT1.v9 TDB之活性增加25倍(圖23D；EC50=20 pM)，並且當由ECD造成之干擾得以移除時，gD TDB能夠有效地介導細胞之殺傷(EC50 = 0.19 nM)。藉由FACS分析來排除導致細胞株之間之活性差異的差異靶表現水準之可能性(圖24A)。

【0459】 為了證明殺傷活性之差異與抗原決定基而非與具體抗體純系之性質相關，測試全部五種呈TDB格式的靶向FcRH5之膜近側域之獨特抗體純系並且證明與10A8相比，每個純系之活性高~20倍(圖23E)。FcRH5在多發性骨髓瘤中之內源性表現水準較低(例如，~100至~2000複本/細胞)並且與MOLP-2骨髓瘤細胞株為可比較的(例如，~2200複本/細胞)。當將T細胞重新定向以殺傷MOLP-2細胞時，僅膜

近側TDB誘導MOLP-2細胞之殺傷。使用10A8 TDB來靶向FcRH5之中間區域不導致殺傷骨髓瘤細胞所需要的足夠高TCR觸發(圖24B)。

F. FcRH5 TDB誘導靶依賴性細胞殺傷及T細胞增殖

【0460】在圖18A中，發現1G7.v1.4 TDB及1G7.v85 TDB具有不能辨別的T細胞活化能力。評估1G7.v85 TDB之1G7抗原決定基特異性及獼猴交叉反應性(圖25A-25C)。1G7/38E4.v1TDB(「1G7 TDB」)結合至MOLP-2細胞、健康供體B細胞、骨髓漿細胞及原代骨髓瘤腫瘤細胞，如預期(圖26A-26D)。1G7 TDB活性之臨床前分析藉由使用健康供體CD8細胞來表徵作用機制來開始。靶表現細胞之1G7 TDB治療導致劑量依賴性T細胞活化(圖27A)。1G7 TDB之細胞毒性活性為靶陽性細胞專用並且與FcRH5表現水準相關(圖27B)。藉由用1G7 TDB及靶細胞刺激來活化T細胞導致T細胞之穩健增殖。在五天中，95%之CD8細胞經歷多達六次細胞分裂，如螢光染料CFSE之稀釋所證明(圖27C-27E)。進一步評估抗CD3臂及Fc域對於TDB之細胞毒性活性之貢獻，並且發現為了達成細胞毒性活性，高親和力抗CD3臂為必需的，而Fc域並非必需的(圖27F-27G)。

G. FcRH5 TDB介導正常漿細胞及患者衍生原代骨髓瘤細胞之有效殺傷

【0461】FcRH5在CD138+CD38+多發性骨髓瘤細胞及正常骨髓漿細胞中之表現使用1G7.v85 TDB及FACS來研究。在所有樣品中，所有患者衍生腫瘤細胞及所有正常漿細胞表現FcRH5，表明在骨髓瘤中之100%發生率(圖28A)。在骨髓瘤中偵測到表現水準之相當大患者之間變化性。總體上，與正常漿細胞相比，腫瘤細胞中之表現水準未顯

著升高，表明開發腫瘤細胞特異性、正常漿細胞保護性FcRH5 TDB可能不可行。與正常漿細胞及多發性骨髓瘤腫瘤細胞相比，正常B細胞中之表現水準始終並且顯著更低。

【0462】 FcRH5 基因定位於 1q21 中之染色體斷裂點 (Hatzivassiliou等人*Immunity*. 14:277-289, 2001)。~20個原代多發性骨髓瘤生檢之分析證明FcRH5 RNA表現與1q21增益之間之顯著關聯(圖28E)，證明染色體易位可導致高風險骨髓瘤患者中之FcRH5過度表現。

【0463】 1G7.v85 TDB殺傷漿細胞之能力藉由靶向從健康供體之骨髓吸出物分離之骨髓單核細胞(BMMC)來分析(圖28B)。1G7.v85 TDB誘導漿細胞之劑量依賴性、高度有效及有效力的($EC_{50}=85-180$ pM)殺傷。在來自多發性骨髓瘤患者之BMMC經受1G7.v85 TDB治療時，偵測到類似穩健活性(圖28C)。偵測到在較高效力($EC_{50}=60-1200$ pM)下的骨髓瘤細胞之接近100%殺傷，不論在一生中之治療歷史為何。

【0464】 因為 FcRH5 表現在骨髓瘤中可變化(圖28A)並且 1G7.v85 TDB相關與表現水準活性(圖28D)，亦研究是否可預測表現譜低端範圍內之患者對於FcRH5 TDB作出響應。MOLP-2骨髓瘤細胞株識別為基準細胞株，其具有與漿細胞及原代MM細胞中之平均表現相似的FcRH5之表現水準(圖28A)。我們亦識別表達極低水準靶之若干癌細胞株並且使用Scatchard分析來判定每個細胞之FcRH5數目。此等細胞株中之FcRH5結合位點之範圍從2200變化至低至160/細胞。儘管靶複本數目很低，1G7.v85 TDB誘導所有測試細胞株之穩健殺傷

(EC₅₀=2-230 pM)。佔用計算指示僅僅~50個TDB分子(在MOLP-2下，2%佔用；EC₅₀=58 pM)足以誘導T細胞活化及靶細胞凋亡。

【0465】 總之，FcRH5表現於所有骨髓瘤患者中。FcRH5 TDB可在pM劑量下殺傷人漿細胞及患者衍生原代骨髓瘤腫瘤細胞。因為需要很少的TDB來重定向T細胞活性，所以在靶之表現很低的情況下，該分子有效地殺傷細胞。結果表明FcRH5 TDB具有在骨髓瘤患者中廣泛起作用之潛力並且不支援基於FcRH5表現水準將阻止患者接受治療。

H. 食蟹猴(獼猴)為FcRH5 TDB之合適安全性及功效模型

【0466】 周邊B細胞及骨髓漿細胞之FACS分析證實與人相似，FcRH5在獼猴中之整個B細胞譜系中表現(圖29A-29B；Polson等人*Int. Immunol.* 18:1363-1373, 2006)。人及獼猴FcRH5之胺基酸序列89%相同，並且1G7.v85 TDB以可比較的親和力結合至獼猴FcRH5及CD3。體外治療表現獼猴FcRH5之靶細胞或表現人FcRH5之MOLP-2細胞導致使用來自人或獼猴之周邊T細胞以可比較的效率來實現穩健殺傷(圖29C-29D)。將1G7.v85 TDB添加至來自獼猴之PBMC/BMMC樣品導致獼猴B細胞(圖29E)及骨髓漿細胞(圖29F)之劑量依賴性及穩健殺傷。在圖18C中，發現1G7.v1.4 TDB與1G7.v85 TDB具有不能辨別的獼猴漿細胞殺傷能力。此等結果證實獼猴為抗FcRH5/CD3之合適安全性及功效模型。

實例4. 示例性FcRH5 TDB之體內表徵

材料及方法

A. 鼠科模型中之體內功效研究

a. huNSG/MOLP-2小鼠異種移植模型

【0467】 雌 性 人 源 化 NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ(NOD/scid gamma; NSG)小鼠從Jackson Laboratory獲得。在細胞接種日，五個動物在皮下右腰窩中接種HBSS/基質膠中之100百萬細胞/毫升濃度之0.2 mL之MOLP-2腫瘤細胞。一旦腫瘤體積達到100-250 mm³之體積範圍，動物隨機分組成兩個組，媒劑及治療組，並且在當時(第0天)投與第一治療。所有治療藉由靜脈內(i.v.)尾靜脈注射每週一次投與總共四個劑量。媒劑組用0.1 ml之20mM組胺酸乙酸酯，pH 5.5，240mM蔗糖，0.02% TW-20緩衝液治療。治療組用0.5 mg/kg濃度之0.1 ml之1G7.v85 TDB治療。腫瘤在研究持續時間內每週1-2次用卡尺量測，並且每週至少一次獲得動物體重。在此研究之持續時間內，臨床觀察每週兩次執行以監測動物之健康狀況。

B. 食蟹猴中之毒理學研究

【0468】 抗FcRH5 TDB之耐受性、毒性概況、藥代動力學(PK)及藥效學(PD)在雛期、雄性食蟹猴(獼猴)中在Charles River Laboratories(CRL)評估。獼猴用單一劑量、靜脈內輸注(1h)之媒劑，1、2或4 mg/kg 1G7.v85 TDB治療並且在治療之後七天剖檢。在前五個小時期間及在處死時，針對詳細臨床觀察結果、呼吸速率及體溫，對動物進行嚴密監測。每日收集籠側臨床觀察結果及體重。在研究前及整個研究中之選定時間點，經由股靜脈藉由靜脈穿刺來收集血液樣品以便分析血液學、血清化學、凝血及PK總抗體水準)及PD端點。PD由細胞因子(IL-1 β 、IL-1RA、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-12/23、IL-13、IL-17、G-CSF、GM-CSF、IFN- γ ,TNF- α 及MCP-1)之量測，T-淋

巴細胞、B-淋巴細胞、NK細胞、活化T-淋巴細胞、PD-1及循環獼猴IgG之流式細胞術組成。在研究前以及在剖檢之前第8天，在麻醉動物中藉由從肱骨抽吸來收集骨髓以藉由流式細胞術評估B-淋巴細胞及漿細胞。在剖檢時，量測器官重量並且選擇器官及組織藉由肉眼及顯微鏡檢查來充分地檢查。脾、腸系膜及下頷淋巴節針對T-淋巴細胞、B-淋巴細胞及NK細胞來進行評估。所有程序依從動物福祉法案、實驗室動物保健及使用指導及實驗室動物福祉局來執行。

C. 食蟹猴及小鼠中之PKPD研究

【0469】 血清中之FcRH5 TDB之濃度藉由通用ELISA來判定。羊抗人IgG抗體用作捕獲試劑，並且結合至辣根過氧化物酶(HRP)之綿羊抗-人IgG用作偵測試劑。來自可獲得樣品的隨著時間之血清濃度之分析藉由非隔室靜脈推注輸入模型(Phoenix™ WinNonlin®, Version 6.3; Pharsight Corporation; Mountain View, CA)來分析。在資料分析中使用標稱試樣收集時間及標稱劑量濃度。所有TK分析基於個別動物資料。

結果

A. *FcRH5 TDB* 抑制經重構具有人免疫細胞之小鼠中之確立MOLP-2腫瘤的生長。

【0470】 將小鼠中之FcRH5 TDB之抗骨髓瘤活性建模為挑戰性的，因為抗CD3抗體不與小鼠CD3交叉反應並且FcRH5同源基因不存在於小鼠中。因此，具有重構人免疫系統之小鼠模型藉由將CD34+選擇人造血幹細胞移植至照射小鼠(huNSG小鼠)中來建立。從huNSG小鼠之脾收穫之人CD8+細胞能夠在體外以與來自健康供體之人周邊

CD8+細胞可比較的效率殺傷MOLP2細胞(圖30A)。移植後20週，將huNSG小鼠皮下接種五百萬MOLP-2細胞。患有既定100-200 mm³腫瘤之小鼠用單一IV劑量之媒劑或0.5 mg/kg之FcRH5 TDB來治療。FcRH5 TDB治療在所有動物中導致腫瘤消退(圖30B)，指示FcRH5 TDB治療在體內抑制腫瘤生長。

B. FcRH5 TDB具有長血清半衰期

【0471】 單一劑量研究被設計成評估1G7.v85 TDB在非人靈長類中之安全性、功效、藥代動力學(PK)及藥效(PD)性質。獼猴用單一緩慢輸注靜脈內劑量之媒劑或1-4 mg/kg 1G7.v85 TDB來治療。動物針對不良作用來嚴密監測。血液樣品在0、2、6及24h收集用於細胞因子分析、臨床病理學分析及PK/PD響應。研究在投與治療之後七天終止。FcRH5 TDB展示在1-4 mg/kg之間的與劑量成比例之暴露(C最大及AUC)並且在所有群組中清除29-33 ml/天/kg(圖31A)並且4 mg/kg劑量水準下之C最大為129 µg/ml。此劑量水準比達到人漿細胞及MOLP-2之體外殺傷EC50所需要之劑量水準高~2000倍。APK研究亦在SCID.bg小鼠中進行，此並非約束性的，並且發現1G7.v85 TDB具有與抗gD TDB可比較的清除速率(圖31B)。受體佔用計算表明在所有劑量水準之C最大下，周邊血B細胞之接近飽和FcRH5接合(圖32D)。此等結果證明1G7.v85 TDB具有長體內半衰期並且支援每週或不太頻繁給藥排程。

C. FcRH5 TDB在獼猴中耗盡B細胞及骨髓漿細胞

【0472】 周邊血之FACS分析證明所有劑量水準下之穩健藥理作用。1G7.v85 TDB治療在24小時內導致T細胞活化及瞬態淋巴球減少

症(邊集響應)(圖31C-31D)。在給藥之後七天，B細胞保持在血液中不可偵測到，表明其由1G7.v85 TDB耗盡(圖31E)。相比之下，CD4+及CD8+細胞在研究結束時回收(圖32A-32B)。所有劑量水準導致脾及骨髓中之B細胞完全耗盡(圖31F及31H)。FcRH5治療亦誘導來自淋巴節之B細胞之穩健、劑量依賴性耗盡(圖31G及32C)。

【0473】 在體內耗盡獼猴骨髓漿細胞為抗FcRH5/CD3之臨床前研發中之關鍵功效端點。漿細胞之完全耗盡在用2-4 mg/kg劑量治療之動物中偵測到(圖31I)。1G7.v85 TDB治療亦導致獼猴IgG之劑量依賴性減少，此為由漿細胞耗盡產生之預期次要結果。理論上，到第7天，漿細胞之完全耗盡應降低IgG水準~30-40%。獼猴IgG之所量測減少在2 mg/kg組中為37%並且在4 mg/kg組中為44%(圖31J)。總之，1G7.v85 TDB在獼猴中誘導穩健PD響應，與其作用機制一致。完全漿細胞耗盡提供在骨髓微環境中之功效的令人信服證據。

D. FcRH5 TDB在獼猴中良好耐受

【0474】 1G7.v85 TDB在≤4 mg/kg劑量水準下在獼猴中良好耐受。偵測到之輕度/中度不良作用在所有劑量水準下為相似的並且我們未能觀察到明確劑量響應。在給藥後四小時，臨床觀察結果限於0.4-1.6℃範圍內之體溫可逆增加。對於血液學之效應由歸因於邊集之預期急性及可逆淋巴球減少症組成。如預期，偵測到急性及可逆促炎症性狀態之跡象(增加之CRP、纖維蛋白原、凝血酶原時間及活化部分促凝血酶原激酶時間)。治療造成ALT、AST及總膽紅素之可逆增加。

【0475】 與作用機制一致，1G7.v85 TDB誘導快速、總體上輕度

/中度細胞因子釋放(圖33A-33F)。所有劑量水準誘導促炎症性響應(包括IL-6、IL-5、IFN- γ 、IL-2、IL-13、G-CSF及MCP-1)及在2-6 h達到高峰之抗衡此(IL1R)之抗炎症響應。所有細胞因子在24小時內逆轉至正常水準。未發現廣泛或延長細胞因子釋放之跡象。廣泛組織病理學分析包括詳細分析中樞神經系統(CNS)不展示顯著器官毒性。總之，在研究中未達到最大耐受劑量。1G7.v85 TDB在預期使靶飽和並且足以完整耗盡B細胞及漿細胞之劑量水準下良好耐受。在不良作用中未偵測到劑量響應。

實例5. FcRH5組合治療

【0476】 為了檢查可能FcRH5組合療法，FcRH5 TDB與兩個示例性PD-1軸結合拮抗劑中之每一者來組合進行測試。此等實驗證明，雖然PD-1/PD-L1回饋信號傳導可減少FcRH5 TDB介導之殺傷，但是PD-L1阻斷克服此抑制，導致改良治療功效。

材料及方法

A. 抗體

【0477】 除了另外提及以外，用於流式細胞術之所有標記抗體購自BD Bioscience。所使用之抗PD-1抗體為KEYTRUDA®(帕姆利珠單抗)並且抗PD-L1抗體在Genentech, Inc產生。山羊抗人IgG及山羊抗小鼠IgG購自Jackson ImmunoResearch。抗PC-FITC(純系Vs38c)購自DAKO。

B. PD-1誘導及使用抗PD-L1之細胞毒性分析

【0478】 新鮮分離人CD8⁺T細胞與MOLP-2細胞以1:1比率混合並且在1000 ng/ml之1G7.v85 TDB存在下共培養48小時。細胞用異硫

氰酸螢光素(FITC)標記抗CD8抗體(「抗CD8-FITC」)、藻紅蛋白(PE)結合抗CD69抗體(「抗CD69-PE」),及別藻藍蛋白(APC)結合抗PD-1抗體(「抗PD-1-APC」)染色,並且藉由流式細胞術分析。如總體上本文所述,在存在或不存在10 mg/ml抗PD-L1或抗PD-1抗體的情況下,建立表現FcRH5及PD-L1之HEK-293 T細胞(「293-FcRH5-PD-L1細胞」)之細胞毒性分析並且藉由流式細胞術來分析。

C. 細胞培養及穩定細胞株產生

【0479】 PD-1/PD-L1信號傳導對於1G7.v85 TDB活性之作用藉由用編碼FcRH5之慢病毒感染HEK-293 T細胞,隨後使用脂質體(Invitrogen)來轉染人PD-L1編碼質體來評估

D. 體外細胞毒性及T細胞活化分析

【0480】 根據製造商方案(Life Technology, #C34554)用羧基螢光素丁二醯亞胺基酯(CFSE)標記靶細胞。CFSE標記靶細胞及純化CD8⁺細胞以3:1效應細胞與靶細胞(E:T)比率混合並且與1G7.v85 TDB一起培育24至48小時。在培育結束時,細胞藉由流式細胞術在FACSCalibur上以自動格式來分析。藉由對CFSE⁺/PI陰性細胞進行閘控來對活靶細胞之數目進行計數。如下計算細胞毒性之百分比:細胞毒性%=(無TDB之活靶細胞數目-有TDB之活靶細胞數目)/(無TDB之活靶細胞數目)x 100。

結果

A. PD-1/PD-L1阻斷增強FcRH5 TDB之活性

【0481】 強烈TCR刺激信號可導致限制T細胞活性之免疫抑制回饋。PD-1/PD-L1途徑為此回饋之關鍵部分以及多個腫瘤適應症中之在

治療上證實之免疫逃避機制。PD-L1經常藉由骨髓瘤腫瘤細胞表現(Gorgun等人*Amer. Assoc. for Cancer Res.* 21:4607-4618, 2015)，並且其信號傳導可限制骨髓瘤患者中之T細胞活性。PD-1在靜止T細胞中缺失，在T細胞活化後誘導並且在慢性感染中限制T細胞活性(Zou等人*Science Tran. Med.* 8:328rv324, 2016)。在FcRH5表現細胞存在下，人健康供體CD8⁺細胞之1G7.v85 TDB刺激(48h)導致T細胞中之顯著PD-1誘導(圖34)。回饋信號亦在體內啟動。在獼猴T細胞中、在所有劑量水準下發現PD-1-陽性T細胞之顯著增加。在血液、脾、淋巴節及骨髓中之CD8⁺及CD4⁺細胞中偵測PD-1誘導(圖35A-35B及36A-36D)。

【0482】 1G7.v85 TDB介導的使用預敏化CD8⁺細胞之靶細胞殺傷在存在及不存在PD-1/PD-L1拮抗劑的情況下評估。1G7.v85 TDB使CD8⁺T細胞預敏化以殺傷PD-L1表現靶細胞的效率為有限的(圖37A)。使用抗PD-L1抗體來阻斷PD-1/PD-L1信號傳導顯著增加1G7.v85 TDB介導殺傷之效率(圖37A)。在特定實驗中，預敏化CD8⁺細胞與293-FcRH5-PD-L1細胞混合並且用單獨，或與抗PD-L1抗體或抗PD-1抗體(帕姆利珠單抗)組合之1G7.v85 TDB治療(圖37B)。與抗PD-L1抗體或抗PD-1抗體(帕姆利珠單抗)之組合治療顯著增強1G7.v85 TDB之功效。兩種組合治療方法之EC50為0.4ng/mL，而用單獨1G7.v85 TDB治療之EC50為0.63 ng/mL(圖37B)。

【0483】 此等結果證明1G7.v85 TDB介導的T細胞活化導致在體外及體內誘導T細胞中之PD-1。此等結果進一步證明PD-1/PD-L1信號傳導可限制FcRH5 TDB介導之殺傷並且PD-L1阻斷可克服此抑制並且產生改良之功效。此等資料支援使用與PD-1軸結合拮抗劑，諸如抗

PD-1抗體或抗PD-L1抗體組合之FcRH5 TDB。

B. 地塞米松減少第一劑量細胞因子響應而不影響FcRH5 TDB活性。

【0484】 靶細胞殺傷亦存在及不存在地塞米松(Dex)的情況下評估，其為具有抗炎症及免疫抑制劑作用的骨髓瘤治療標準組分(圖38A)。1G7.v85 TDB在緩衝液或DMSO中之IC₅₀分別為7 pM及6 pM。在0.1 μM或1 μM Dex存在下，1G7.v85 TDB之IC₅₀分別為16 pM及25 pM。Dex組合治療對於1G7.v85 TDB功效僅具有有限的作用並且顯著減少IL-2、IL-6、TNF-α及IFN-γ水準。此等結果證明地塞米松可與FcRH5 TDB療法組合使用以減輕患者中之第一劑量細胞因子響應(圖38B)。

實例6. 產生及測試FcRH5雙-Fab

A. 製備巯基-Fab及鉸鏈-cys-Fab及蛋白質產生

【0485】 為了製備具有自由巯基之抗體片段，半胱胺酸(Cys)取代藉由定點誘變在輕鏈或重鏈之可變或恆定域中之各個位置處引入抗體構築體中以建置巯基-mAb，如先前描述Junutula等人*J. Immunol Methods* 332(1-2):41-52, 2008。巯基-Fab從巯基-mAb酶促產生，方法是將巯基-mAb在25 mM Tris，pH 8.0中稀釋至1 mg/mL，隨後在酶與抗體之1:1000(wt:wt)比率下，使用Lys-C(Wako Chemicals USA, Inc., Richmond, VA)在37°C下酶消化1小時。Lys-C消化用5 μM之蛋白酶抑制劑甲苯磺醯基-L-離胺酸氯甲基酮(TLCK)(Bachem, Torrence, CA)停止並且使用50 mM乙酸鈉緩衝液及0至300 mM NaCl 10管柱容積(CV)梯度之5 mL Hi-Trap SP FF管柱(GE Healthcare, Piscataway, NJ)上之陽

離子離子交換層析來純化。藉由此方法產生之硫基-Fab有時在本文中被稱為「酶促硫基-Fab」。在另一種方法中，將編碼具有工程改造Cys殘基之Fab之DNA構築體或編碼在鉸鏈區中含有一個天然Cys殘基之重鏈片段之DNA構築體次選殖至質體表達載體中並且直接在CHO細胞中表現。藉由此方法產生之硫基-Fab有時在本文中被稱為「重組硫基-Fab」。第三種方法用於缺乏工程改造Cys殘基之抗體並且依賴於存在於鉸鏈區IgG中之天然Cys殘基。此方法用於產生「鉸鏈-cys-Fab」並且在下文進一步詳細描述。

【0486】 為了從不含有用於合成反應之工程改造半胱氨酸的天然抗體製備鉸鏈-cys-Fab，使用以下酶程序，如圖39之圖面1描述。FcRH5及CD3親本抗體藉由pH 4.5之乙酸鈉緩衝液中之胃蛋白酶(1%w/w)治療來消化。在消化1小時之後，藉由在SP-HP陽離子交換樹脂上捕捉來自消化混合物分離F(ab')₂且藉由10 CV鹽梯度之0-1 M NaCl純化。然後，F(ab')₂在含有25 mM MES，pH 5.8、2 mM EDTA及300 mM NaCl之緩衝液中還原。在用1 mM TCEP還原之後，如圖39之圖面2描繪，Fab藉由添加5 mM DHAA來氧化以重新組成重鏈與輕鏈之間之二硫化物。通常觀察到，在此等反應條件下，僅重鏈與輕鏈之間之二硫化物得以重新組成；鉸鏈區中之兩個半胱氨酸殘基保持未氧化。

【0487】 然後如圖39之圖面2描繪，鉸鏈處之兩個自由硫醇(Cys殘基)與1 M當量N-乙馬來醯亞胺(NEM)(Sigma Aldrich, St. Louis, MO)反應。然後如圖39之圖面3描繪，含有單一修飾、雙重修飾及未修改Fab之所得混合物與過量雙馬來醯亞胺交聯劑反應。

【0488】 此等反應條件產生三個產物：具有一個交聯劑及一個

NEM之Fab，具有兩個NEM之Fab，及僅含有一個交聯劑之Fab。發現僅含有一個交聯劑之Fab沒有自由半胱胺酸。因此，在此等反應條件下，單一交聯劑很有效地與兩種半胱胺酸反應，產生其中半胱胺酸藉由交聯劑環化的分子。包含以上三種反應產物之材料藉由凝膠過濾從反應混合物純化(以移除不必要的反應組分)並且如圖39之圖面4描繪，連同以與巯基-Fab類似方式製備的其他鉸鏈-cys-Fab一起聯合使用。僅如描述來製備並且含有一個交聯劑、一個自由馬來醯亞胺及一個自由巯基之鉸鏈cys-Fab或巯基-Fab能夠在以下詳細描述之雙-Fab合成反應中反應。

B. 蛋白質表現及純化

【0489】為了促進純化，Fab使用旗標-或His-標籤來表現。在CHO細胞中之表現藉由標準程序來執行。細胞培養之後之親和力純化使用抗旗標mAb樹脂或鎳珠粒樹脂來執行。純化巯基-Fab藉由SDS-PAGE及質譜法來表徵。此等表徵經常顯示275 Da及306 Da之質量增加。發現此等質量增加為未配對半胱胺酸上之二硫化物加合物，該等加合物藉由還原及氧化來移除以製備與雙馬來醯亞胺交聯之巯基-Fab。巯基-Fab之還原及氧化執行如下。首先，巯基-Fab藉由將2 mM 參(2-羧乙基)膦HCl(TCEP-HCl；亦被稱為TCEP)(Pierce [Thermo Fisher Scientific], Rockford, IL)添加於含有25 mM MES，pH 5.8，300 mL NaCl及5 mM EDTA之緩衝液中來還原24小時。還原之後，蛋白質藉由添加5 mM脫氫抗壞血酸(DHAA)(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)來氧化。分離巯基-Fab藉由SDS-PAGE及質譜法分析來確保蛋白質正確地還原及氧化。

C. 雙-Fab合成

【0490】兩種不同類型交聯劑可用來共價連接兩個Fab：雙-馬來醯亞胺及成對接頭DBCO-PEG-馬來醯亞胺溴乙醯胺-PEG-疊氮化物。

使用雙馬來醯亞胺交聯劑之結合

【0491】在雙-Fab合成之第一階段，使用具有未配對半胱胺酸之巯基-Fab或鉸鏈-cys-Fab。總體上，巯基-Fab或鉸鏈-cys-Fab在相同緩衝液中，其中在1 mg/mL之蛋白質濃度下，執行還原(圖39，圖面1)及氧化(圖39，圖面2)(MES，pH 5.8，2 mM EDTA，及300 mM NaCl)。在此階段存在兩種潛在不需要的反應產物：二硫化物二聚體及交聯二聚體。在合成之此階段具有1 mg/mL之蛋白質濃度為反應之重要特徵，因為二聚化在此蛋白質濃度下最小化。另外，藉由使用具有EDTA之低pH緩衝液來控制反應有助於最大限度地減少二聚化。

【0492】五倍過量之雙-馬來醯亞胺交聯劑(Quanta BioDesign, Powell, OH)添加至反應混合物，如圖39之圖面3描繪。此五倍過量之交聯劑亦有用於最大限度地減少不良二聚化。反應在室溫(RT)或37℃下培育四小時直到完成為止。然後，混合物濃縮至適合於凝膠過濾之體積。使用22 mL S-200 Tricom管柱(GE Healthcare, Piscataway, NJ)用於μg至mg數量合成。此第一凝膠過濾步驟允許移除未使用的交聯劑，產生結合至交聯劑之純化巯基-Fab或鉸鏈-cys-Fab。如上所述之狀況通常導致至少90%或更大之所需產物。沒有巯基-Fab或鉸鏈-cys-Fab保留為自由-硫醇，因為其全部結合至交聯劑或藉由二硫化物結合至另一個巯基-Fab或經由未配對半胱胺酸結合至鉸鏈-cys-Fab。然

後，將分離及純化硫基-Fab(或鉸鏈-cys-Fab)加上交聯劑物質添加至第二硫基-Fab(或鉸鏈-cys-Fab)並且濃縮至5 mg/mL或更大，總體上濃縮至適合於凝膠過濾之體積，如圖39之圖面4描繪。在合成之此階段期間，至少5 mg/mL之蛋白質濃度對於驅動反應完成為至關重要的。較低蛋白質濃度導致形成僅少量交聯雙-Fab二聚體。不受理論約束，假設阻礙形成交聯雙-Fab二聚體之位阻效應或黏度有關變數藉由增加反應物之濃度來克服。另外，測試高達並且包括65 mg/mL之蛋白質濃度範圍。發現蛋白質濃度與反應時間之間之相互關係以使得蛋白質濃度越高，反應達到完成越快。在室溫或37℃下2-24小時之後，反應完成，如藉由質譜法判定。總體上，一種試劑過量並且在最終混合物中保持未偶合。

使用DBCO-PEG-馬來醯亞胺/溴乙醯胺-PEG-疊氮化物之結合

【0493】 經純化並解封之Fab中之一者在50 mM HEPES pH 8中、在5莫耳過量之DBCO-PEG-馬來醯亞胺(#760676, Sigma)中反應，而另一種Fab在50 mM HEPES pH 8中、與5莫耳過量之疊氮化物-PEG-馬來醯亞胺(#21097 BroadPharm)反應。在37℃下培一小時育之後，反應藉由質譜法檢查以證實反應完成。結合Fab藉由SEC從過量交聯劑純化，並且隨後以1:1比率混合並且調整至高於5 mg/ml之濃度並且在室溫下培育隔夜。

【0494】 不論所使用交聯劑為何，完成反應再次藉由凝膠過濾純化；此時，收集二聚體峰，其包含經由自由半胱胺酸胺基酸(在硫基-Fab的情況下)或經由未配對半胱胺酸定位鉸鏈區(在未工程改造鉸鏈-cys-Fab的情況下)不可逆地交聯的100 kD雙-Fab。兩個步驟期間之

反應進程經常藉由質譜法監測，明確顯示兩種反應物之存在及雙-Fab產物之形成。第二凝膠過濾之後之所需產物之純度藉由質譜法及SDS-PAGE來判定。在還原及SDS-PAGE分析後，藉由存在表示不可還原之交聯鏈的50-kD泳帶而觀察到不可逆的交聯。使用小標度下的如上所述過程，通常達成使用微克數量起始材料之微克產率。另外，在較大標度下，通常達成來自毫克數量起始材料之毫克產率。

D. 合成靶向CD3及FcRH5之雙-Fab

【0495】產生從靶向CD3及FcRH5之兩種不同抗體獲得之雙特異性雙-Fab。所使用抗CD3親本抗體可為任何抗CD3抗體，諸如38E4.v.1、38E4.v11或40G5。在一實施例中，雙-Fab利用38E4.v1作為抗CD3組分，其具有輕鏈序列SEQ ID NO: 134及重鏈序列SEQ ID NO: 133。所使用抗FcRH5抗體親本抗體亦可為任何抗FcRH5，例如，本文描述的彼等抗體諸如hu1G7.v85及hu1G7.v87。具體而言，一個例示雙-Fab包括可變輕鏈序列SEQ ID NO: 105及可變重鏈序列SEQ ID NO:104。

【0496】對於此等抗體中之每一者，重組硫基-Fab如上所述在CHO細胞中產生。然後，使用合成基質，以大約2 mg之每一種硫基-Fab開始，從硫基-Fab以組合格式來合成雙-Fab。不同硫基-Fab組合以合成四種獨特雙-Fab分子。對於所示實例，從合成中回收約一mg之每一種雙-Fab，但是產率預期取決於不同硫基-Fab而變化。雙-Fab中之每一者賦予唯一識別符。每一種雙-Fab之純度使用在此項技術中熟知之標準方法藉由SDS-PAGE及質譜法來分析。

【0497】使用如上所述之基質重組方法，合成一系列CD3-及

FcRH5衍生之雙-Fab結構變異體。選擇四個不同硫基-連接點來合成雙-Fab；一個位置在抗CD3硫基-Fab臂之重鏈(例如，位置76(Cys76_{HC}))，一個位置在抗CD3硫基-Fab臂之輕鏈(例如，位置22(Cys22_{LC}))，一個位置在抗FcRH5硫基-Fab臂之重鏈(例如，位置114(Cys114_{HC}))，並且一個位置在抗FcRH5硫基-Fab臂之輕鏈(例如，位置149(Cys149_{LC}))。其他位置可用於插入所需半胱胺酸。含有硫基-連接點之Fab來源於三個不同來源；(1)具有半胱胺酸取代之硫基-mAb，其使用離胺酸-C消化以從抗體釋放硫基-Fab，(2)具有半胱胺酸取代之硫基-Fab，其直接表現於CHO細胞中並從CHO細胞中純化，及(3)藉由如上所述酶促方法產生之鉸鏈-cys-Fab以便在用胃蛋白酶消化之後將單一交聯劑連接至非工程改造抗體之鉸鏈區。此方法在硫基-Fab中產生不同取代點以便與其他硫基-Fab重組，由此產生結構變異體(參見表15)。

表15. 每一種Fab中之工程改造Cys之位置及對應雙-Fab編號

		FcRH5 Fab (1G7.v85)		
		HC A114C	LC A149C	鉸鏈Cys
CD3 Fab (38E4.v1)	HC S76C	雙Fab A	雙Fab C	
	LC N22C	雙Fab B	雙Fab D	
	鉸鏈Cys			F(ab') ₂ A

E. FcRH5雙-Fab之生物活性

【0498】隨後，藉由ELISA來測試雙-Fab結構變異體中之每一者結合至抗原(即，CD3及FcRH5)中之每一者之能力。藉由連接鉸鏈區中之Cys來產生之雙-Fab類似於天然抗體之架構並且充當對照。雖然所有雙-Fab構築體具有與FcRH5之類似結合能力(圖40A)，但是與參考雙-Fab相比，大多數雙-Fab顯示與CD3之減少結合(圖40B)。生物活性

在充當T細胞殺傷活性之替代的體外T細胞活化分析中評估(圖41)。此分析使用在轉錄因子NF- κ B控制下用螢光素酶報道基因穩定轉染之Jurkat細胞株(Jurkat-Dual, Invivogen)，並且使用此分析超過T細胞殺傷分析之優勢為可利用之細胞數目無限制。在PBMC細胞殺傷分析中，測試數目受到可從單一供體獲得之細胞之數目限制。分析執行如下。合適細胞株，諸如MOLP-2，選擇為靶細胞並且與Jurkat細胞一起共培養。在存在或不存在雙-Fab的情況下，每個孔添加10,000個細胞株靶細胞及50,000個效應細胞(Jurkat)(10,000靶細胞/孔，200 μ L總體積，其中靶:效應之比率=1:5)。在隔夜培育之後，不同孔之10 μ L上清液使用50 μ L之QUANTI-LUC(Invivogen)來分析螢光素酶活性，並且螢光在Envision(Perkin Elmer)光度計儀器中定量。

【0499】 引起關注地，雖然對於抗CD3或抗FcRH5產生之每一種雙-Fab變異體之HVR序列未在雙-Fab本身之產生中改變，對於每一種雙-Fab觀察到之T-細胞刺激之最大量顯示變化，在不同雙-Fab之間變化，此變化僅基於半胱胺酸工程改造交聯之位置。不受理論約束，此可具有可如何調節雙-Fab之毒性及/或效力以適應特定治療或診斷需要的啟示。另一個觀察結果為一些雙-Fab(例如，雙-Fab C)具有對於CD3之顯著減少親和力，仍具有與參考F(ab')₂ A可比較的T細胞活化活性(圖40B及41，表15)。

F. 使用內源性人B細胞之FcRH5雙-Fab之生物活性

【0500】 在周邊內源性B細胞殺傷之T細胞依賴性雙-Fab殺傷分析中，如下測試每一種雙-Fab變異體之生物功效：在使用或使用雙-Fab的情況下，每孔添加從三個健康供體中之每一者分離之200,000個

hPBMC。48 hr培育之後，細胞用靶細胞株(B細胞=CD20)之合適細胞表面抗原(5 μl/孔)及碘化丙啶染色以進行細胞生存力評估，然後藉由FACS分析。雙-Fab-依賴性殺傷活性根據以下方程來計算：殺傷%=(1-具有雙-Fab之活細胞之數目/沒有雙-Fab之活細胞之數目) x 100。作為陽性對照，使用來源於「孔中結」FcRH5 TDB抗體之F(ab')₂，其中每個Fab之抗CD3及抗FcRH5臂具有與用於所測試雙-Fab之彼等序列相同的序列(除了沒有半胱胺酸工程改造點突變以外)(參見例如，Ridgway等人*Protein Eng.*, 9:617-621, 1996)。總體上，結果證明可重現性，儘管使用不同供體細胞。

【0501】對於以上測試之每個雙-Fab，將在本文中為周邊內源性人B細胞之半最大溶解所需要之測試FcRH5雙-Fab之量，或ng/ml為單位來表現之EC50效力值加以計算。總體上，預期在內源性人B細胞分析所測試的每一種雙-Fab之效力之趨勢將依循在如上所述之ELISA分析中判定之結果(圖40A-40B)。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊[請依寄存機構、日期、號碼順序註記]

無

國外寄存資訊[請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記]

無

【序列表】

<110> 美商建南德克公司(GENENTECH, INC.)

<120> FcRH5之人源化及親和力成熟抗體及使用方法

<150> US 62/180,459

<151> 2015-06-16

<160> 215

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 1

Arg Phe Gly Val His

1 5

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> Xaa爲Ala或Pro

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> Xaa爲Met、Gly或Val

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)
<223> Xaa爲Ser、Asp或Pro

<400> 2

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Xaa Ala Phe Xaa Xaa
1 5 10 15

<210> 3
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Ser或Pro

<400> 3

His Tyr Tyr Gly Ser Xaa Asp Tyr Ala Leu Asp Asn
1 5 10

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa爲Ser或Arg

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> Xaa爲Ile或Leu

<400> 4

Lys Ala Ser Gln Asp Val Xaa Asn Xaa Val Val
1 5 10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa爲Ala或Gly

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa爲Ser或Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa爲Tyr或Asn

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa爲Thr或Ser

<400> 5

Ser Xaa Xaa Xaa Arg Tyr Xaa
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)
<223> Xaa爲His或Gln

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa爲Tyr或Phe

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa爲Gln或Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Ser或Pro

<400> 6

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Tyr Thr
1 5

<210> 7
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 7

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met Ser
1 5 10 15

<210> 8
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 8

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Val Ser
1 5 10 15

<210> 9
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 9

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

<210> 10
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 10

His Tyr Tyr Gly Ser Pro Asp Tyr Ala Leu Asp Asn
1 5 10

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

<220>
<223> 合成構築體

<400> 11

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile Val Val
1 5 10

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 12

Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Leu Val Val
1 5 10

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 13

Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Ile Val Val
1 5 10

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 14

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Leu Val Val
1 5 10

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 15

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 16

Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 17

Ser Gly Tyr Asn Arg Tyr Ser
1 5

<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 18

Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 19

Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 20

Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 21

Gln Gln Gln Tyr Ser Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 22

Gln Gln Gln Phe Gln Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 23

Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 24

Gln Gln Gln Tyr Gln Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 25

Gln Gln His Tyr Gln Pro Pro Tyr Thr
1 5

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

<220>
<223> 合成構築體

<400> 26

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

<210> 27
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 27

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

<210> 28
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 28

Ala Arg Asp Met Tyr Thr Gly Ser Ile Tyr Tyr Asp Met
1 5 10

<210> 29
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 29

Gln Ser Ser Gln Ser Val Phe Asn Asn Ala Gln Leu Ser
1 5 10

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 30

Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 31
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 31

Leu Gly Ala Tyr Thr Asp Asp Ala Asp Asn Ala
1 5 10

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

<220>
<223> 合成構築體

<400> 32

Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr Ala Met His
1 5 10

<210> 33
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 33

Met Ile Ser Ser Ser Ser Gly Asn Thr Asn Phe Asn Gln Lys Phe Met
1 5 10 15

Asp

<210> 34
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 34

Ala Arg Trp Ser Tyr Tyr Ala Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 35
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 35

Ser Ala Asp Ser Ser Val Asp Tyr Ile His
1 5 10

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 36

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 37
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 37

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 38

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

<210> 39
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 39

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

Gly

<210> 40
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 40

Ala Arg Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr
1 5 10

<210> 41

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 41

Ser Ala Ser Ser Ser Val Asp Tyr Met His
1 5 10

<210> 42

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 42

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 43

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr
1 5

<210> 44
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa爲Glu、Ser或Phe

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (28)..(28)
<223> Xaa爲Ser或Pro

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (29)..(29)
<223> Xaa爲Leu或Thr

<400> 44

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Xaa Xaa Thr
20 25 30

<210> 45
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa爲Val或Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)
<223> Xaa爲Leu或Ile

<400> 45

Trp Xaa Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Xaa Gly
1 5 10

<210> 46
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 46

Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys
1 5 10 15

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

<210> 47
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 47

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 48
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<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
20

<210> 49
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> Xaa爲Ala或Ser

<400> 49

Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Xaa Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 50
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 50

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe 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> 51
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 51

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 52

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 52

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr
20 25 30

<210> 53

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 53

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Thr Thr
20 25 30

<210> 54

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 54

Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly
1 5 10

<210> 55

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 55

Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 56

Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 57

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 57

Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 58
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 58

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser
20 25

<210> 59
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 59

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 60
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

202530

<210> 61
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 61

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1510

<210> 62
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 62

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr
20

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

<220>
<223> 合成構築體

<400> 63

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
151015

<210> 64

<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 64

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe 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> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 65

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 66
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 66

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser
20 25

<210> 67

<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 67

Trp Val Lys Gln Ser His Thr Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 68
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 68

Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr Leu Glu
1 5 10 15

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

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 69

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 70
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 70

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
20

<210> 71
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 71

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

<210> 72
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 72

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

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 73
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 73

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
1 5 10

<210> 74
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 74

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 75
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 75

Trp Met Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 76
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 76

Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

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

<210> 77
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 77

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 78
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 78

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
20

<210> 79
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 79

Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Lys Trp Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 80
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 80

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser
1 5 10 15

Leu Thr Ile Gly Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 81

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 82
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 82

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 83

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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 84
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 84

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 85
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 85

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 Ser Gln Asp Val Arg Asn Leu
20 25 30

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

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 86
<211> 120
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 86

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 87

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 87

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 Ser Gln Asp Val Arg Asn Leu	20	25	30
Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	35	40	45
Tyr Ser Gly Tyr Asn Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	65	70	75
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gln Phe Gln Pro Pro Tyr	85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	100	105	

<210> 88
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 88

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu	1	5	10	15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe	20	25	30	
Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu	35	40	45	

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met

50					55					60					
Ser	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
65					70					75					80
Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ser
				85					90					95	
Asn	His	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Ser	Asp	Tyr	Ala	Leu	Asp	Asn	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
		115					120								
<210> 89															
<211> 107															
<212> PRT															
<213> 人工序列															
<220>															
<223> 合成構築體															
<400> 89															
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	Ser	Gln	Asp	Val	Arg	Asn	Ile
			20					25					30		
Val	Val	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
			35					40				45			
Tyr	Ser	Gly	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gln	Tyr	Ser	Pro	Pro	Tyr

859095

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100105

<210> 90
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 90

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
151015

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
202530

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
354045

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
505560

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65707580

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
859095

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100105110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115120

<210> 91

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 91

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Leu
20 25 30

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

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 92
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 92

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 93
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 94
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 94

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 95
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 95

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

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

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

Tyr Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 96
<211> 120
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 96

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Thr Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 97

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 97

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 Ser Gln Asp Val Arg Asn Leu	20	25	30
Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	35	40	45
Tyr Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	65	70	75
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Gln Pro Pro Tyr	85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	100	105	

<210> 98
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 98

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu	1	5	10	15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe	20	25	30	
Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile	35	40	45	

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met

505560

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65707580

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
859095

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100105110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115120

<210> 99
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 99

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Leu
202530

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
354045

Tyr Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65707580

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Gln Pro Pro Tyr

859095

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100105

<210> 100
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 100

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
151015

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
202530

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
354045

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
505560

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65707580

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
859095

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100105110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115120

<210> 101

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 101

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 Ser Gln Asp Val Arg Asn Leu
20 25 30

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

Tyr Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 102
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 102

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

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

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 103
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 103

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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 104
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 104

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

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

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 105
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 105

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 Ser Gln Asp Val Arg Asn Leu
20 25 30

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

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 106
<211> 120
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 106

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Thr Thr Arg Phe
20 25 30

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

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

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Pro Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 107

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 107

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

15

10

5

1

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Leu

202530

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

354045

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65707580

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr

859095

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100105

<210> 108

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 108

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

15105

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr

202530

Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

354045

Gly Thr Ile Gly Thr Gly Gly Thr Pro Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50

55

60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65707580

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala

859095

Arg Asp Met Tyr Thr Gly Ser Ile Tyr Tyr Asp Met Trp Gly Gln Gly

100105110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 109

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 109

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

151015

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Phe Asn Asn

202530

Ala Gln Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu

354045

Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

505560

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

65707580

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Ala Tyr Thr Asp

859095

Asp Ala Asp Asn Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100105110

<210> 110
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 110

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Val
151015

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr
202530

Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser His Thr Lys Ser Leu Glu Trp Ile
354045

Gly Met Ile Ser Ser Ser Ser Gly Asn Thr Asn Phe Asn Gln Lys Phe
505560

Met Asp Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
65707580

Leu Glu Leu Ala Arg Leu Thr Phe Gly Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
859095

Ala Arg Trp Ser Tyr Tyr Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100105110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 111

<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 111

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Asp Ser Ser Val Asp Tyr Ile
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Asn Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 112
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 112

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 113
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 113

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

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

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Lys Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Gly Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

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

<210> 114
<211> 977
<212> PRT
<213> 智人

<400> 114

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

Phe Ala Arg Thr Pro Arg Pro Ile Ile Phe Leu Gln Pro Pro Trp Thr
20 25 30

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

Phe Tyr Ser Pro Gln Lys Thr Lys Trp Tyr His Arg Tyr Leu Gly Lys
50 55 60

Glu Ile Leu Arg Glu Thr Pro Asp Asn Ile Leu Glu Val Gln Glu Ser
65 70 75 80

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

His Leu Asp Phe Ser Ser Ala Ser Leu Ile Leu Gln Ala Pro Leu Ser
100 105 110

Val Phe Glu Gly Asp Ser Val Val Leu Arg Cys Arg Ala Lys Ala Glu
115 120 125

Val Thr Leu Asn Asn Thr Ile Tyr Lys Asn Asp Asn Val Leu Ala Phe
130 135 140

Leu Asn Lys Arg Thr Asp Phe His Ile Pro His Ala Cys Leu Lys Asp
145 150 155 160

Asn Gly Ala Tyr Arg Cys Thr Gly Tyr Lys Glu Ser Cys Cys Pro Val
165 170 175

Ser Ser Asn Thr Val Lys Ile Gln Val Gln Glu Pro Phe Thr Arg Pro
180 185 190

Val Leu Arg Ala Ser Ser Phe Gln Pro Ile Ser Gly Asn Pro Val Thr
195 200 205

Leu Thr Cys Glu Thr Gln Leu Ser Leu Glu Arg Ser Asp Val Pro Leu
210 215 220

Arg Phe Arg Phe Phe Arg Asp Asp Gln Thr Leu Gly Leu Gly Trp Ser
225 230 235 240

Leu Ser Pro Asn Phe Gln Ile Thr Ala Met Trp Ser Lys Asp Ser Gly
245 250 255

Phe Tyr Trp Cys Lys Ala Ala Thr Met Pro Tyr Ser Val Ile Ser Asp
260 265 270

Ser Pro Arg Ser Trp Ile Gln Val Gln Ile Pro Ala Ser His Pro Val
275 280 285

Leu Thr Leu Ser Pro Glu Lys Ala Leu Asn Phe Glu Gly Thr Lys Val
290 295 300

Thr	Leu	His	Cys	Glu	Thr	Gln	Glu	Asp	Ser	Leu	Arg	Thr	Leu	Tyr	Arg
305					310					315					320
Phe	Tyr	His	Glu	Gly	Val	Pro	Leu	Arg	His	Lys	Ser	Val	Arg	Cys	Glu
			325						330					335	
Arg	Gly	Ala	Ser	Ile	Ser	Phe	Ser	Leu	Thr	Thr	Glu	Asn	Ser	Gly	Asn
			340					345						350	
Tyr	Tyr	Cys	Thr	Ala	Asp	Asn	Gly	Leu	Gly	Ala	Lys	Pro	Ser	Lys	Ala
		355					360					365			
Val	Ser	Leu	Ser	Val	Thr	Val	Pro	Val	Ser	His	Pro	Val	Leu	Asn	Leu
370					375					380					
Ser	Ser	Pro	Glu	Asp	Leu	Ile	Phe	Glu	Gly	Ala	Lys	Val	Thr	Leu	His
385					390					395					400
Cys	Glu	Ala	Gln	Arg	Gly	Ser	Leu	Pro	Ile	Leu	Tyr	Gln	Phe	His	His
			405						410					415	
Glu	Gly	Ala	Ala	Leu	Glu	Arg	Arg	Ser	Ala	Asn	Ser	Ala	Gly	Gly	Val
		420						425					430		
Ala	Ile	Ser	Phe	Ser	Leu	Thr	Ala	Glu	His	Ser	Gly	Asn	Tyr	Tyr	Cys
		435					440					445			
Thr	Ala	Asp	Asn	Gly	Phe	Gly	Pro	Gln	Arg	Ser	Lys	Ala	Val	Ser	Leu
450					455						460				
Ser	Val	Thr	Val	Pro	Val	Ser	His	Pro	Val	Leu	Thr	Leu	Ser	Ser	Ala
465					470					475					480
Glu	Ala	Leu	Thr	Phe	Glu	Gly	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	His	Cys	Glu	Val
		485						490					495		
Gln	Arg	Gly	Ser	Pro	Gln	Ile	Leu	Tyr	Gln	Phe	Tyr	His	Glu	Asp	Met
		500						505					510		

Pro Leu Trp Ser Ser Ser Thr Pro Ser Val Gly Arg Val Ser Phe Ser
515 520 525

Phe Ser Leu Thr Glu Gly His Ser Gly Asn Tyr Tyr Cys Thr Ala Asp
530 535 540

Asn Gly Phe Gly Pro Gln Arg Ser Glu Val Val Ser Leu Phe Val Thr
545 550 555 560

Val Pro Val Ser Arg Pro Ile Leu Thr Leu Arg Val Pro Arg Ala Gln
565 570 575

Ala Val Val Gly Asp Leu Leu Glu Leu His Cys Glu Ala Pro Arg Gly
580 585 590

Ser Pro Pro Ile Leu Tyr Trp Phe Tyr His Glu Asp Val Thr Leu Gly
595 600 605

Ser Ser Ser Ala Pro Ser Gly Gly Glu Ala Ser Phe Asn Leu Ser Leu
610 615 620

Thr Ala Glu His Ser Gly Asn Tyr Ser Cys Glu Ala Asn Asn Gly Leu
625 630 635 640

Val Ala Gln His Ser Asp Thr Ile Ser Leu Ser Val Ile Val Pro Val
645 650 655

Ser Arg Pro Ile Leu Thr Phe Arg Ala Pro Arg Ala Gln Ala Val Val
660 665 670

Gly Asp Leu Leu Glu Leu His Cys Glu Ala Leu Arg Gly Ser Ser Pro
675 680 685

Ile Leu Tyr Trp Phe Tyr His Glu Asp Val Thr Leu Gly Lys Ile Ser
690 695 700

Ala Pro Ser Gly Gly Gly Ala Ser Phe Asn Leu Ser Leu Thr Thr Glu
705 710 715 720

His Ser Gly Ile Tyr Ser Cys Glu Ala Asp Asn Gly Leu Glu Ala Gln
725 730 735

Arg Ser Glu Met Val Thr Leu Lys Val Ala Val Pro Val Ser Arg Pro
740 745 750

Val Leu Thr Leu Arg Ala Pro Gly Thr His Ala Ala Val Gly Asp Leu
755 760 765

Leu Glu Leu His Cys Glu Ala Leu Arg Gly Ser Pro Leu Ile Leu Tyr
770 775 780

Arg Phe Phe His Glu Asp Val Thr Leu Gly Asn Arg Ser Ser Pro Ser
785 790 795 800

Gly Gly Ala Ser Leu Asn Leu Ser Leu Thr Ala Glu His Ser Gly Asn
805 810 815

Tyr Ser Cys Glu Ala Asp Asn Gly Leu Gly Ala Gln Arg Ser Glu Thr
820 825 830

Val Thr Leu Tyr Ile Thr Gly Leu Thr Ala Asn Arg Ser Gly Pro Phe
835 840 845

Ala Thr Gly Val Ala Gly Gly Leu Leu Ser Ile Ala Gly Leu Ala Ala
850 855 860

Gly Ala Leu Leu Leu Tyr Cys Trp Leu Ser Arg Lys Ala Gly Arg Lys
865 870 875 880

Pro Ala Ser Asp Pro Ala Arg Ser Pro Ser Asp Ser Asp Ser Gln Glu
885 890 895

Pro Thr Tyr His Asn Val Pro Ala Trp Glu Glu Leu Gln Pro Val Tyr
900 905 910

Thr Asn Ala Asn Pro Arg Gly Glu Asn Val Val Tyr Ser Glu Val Arg
915 920 925

Ile Ile Gln Glu Lys Lys Lys His Ala Val Ala Ser Asp Pro Arg His
930 935 940

Leu Arg Asn Lys Gly Ser Pro Ile Ile Tyr Ser Glu Val Lys Val Ala
945 950 955 960

Ser Thr Pro Val Ser Gly Ser Leu Phe Leu Ala Ser Ser Ala Pro His
965 970 975

Arg

<210> 115
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 115

Ser Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 116
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 116

Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 117
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Tyr或Ala

<400> 117

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

<210> 118
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 118

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Arg	Thr	Arg	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Ala

<210> 119
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 119

Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser
1 5

<210> 120
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa爲Lys或Thr

<400> 120

Xaa Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

<210> 121
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 121

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

<210> 122
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 122

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

<210> 123
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 123

Lys Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

<210> 124
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 124

Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

<210> 125
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 125

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

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

<210> 126
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 126

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 127
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 127

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu 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> 128
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 128

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 129
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 129

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

<210> 130
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 130

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 131
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 131

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

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

<210> 132
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 132

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 133
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 133

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 134
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 134

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

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

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

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

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

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

<210> 135
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 135

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 136
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 136

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

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

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

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

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

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

<210> 137
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 137

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 138
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 138

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

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

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

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

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

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

<210> 139
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 139

Asn Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 140
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 140

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 141
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 141

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

<210> 142
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 142

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 143
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 143

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 144
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 144

Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

<210> 145
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 145

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

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

<210> 146

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 146

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 147

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 147

Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu 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> 148

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 148

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 149

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 149

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

<210> 150

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 150

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 151

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 151

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

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

<210> 152
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 152

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 153
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 153

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 154
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 154

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

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

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

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

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

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

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

<210> 155
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 155

Gly Tyr Thr Met Asn
1 5

<210> 156
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> Xaa爲Ser或Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)..(12)
<223> Xaa爲Asn或Ala

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> Xaa爲Gln或Asp

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> Xaa爲Lys或Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(15)
<223> Xaa爲Val或Phe

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)
<223> Xaa爲Gly或Asp

<400> 156

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

Xaa

<210> 157
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 157

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

<210> 158
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 158

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 159
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 159

Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser
1 5

<210> 160
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 160

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 161
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 161

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

Gly

<210> 162
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 162

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

Asp

<210> 163
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 163

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

Gly

<210> 164
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 164

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

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

<210> 165
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 165

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Asp Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10

<210> 166
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 166

Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

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

<210> 167
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 167

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 168
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 168

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> 169
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 169

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 170
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 170

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> 171
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 171

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
1 5 10

<210> 172
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 172

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

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

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

Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 173
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 173

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser 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 Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

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

<210> 174

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 174

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
1 5 10 15

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

<210> 175

<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 175

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Pro Ala Phe Met Ser
1 5 10 15

<210> 176
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 176

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Gly Ser
1 5 10 15

<210> 177
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 177

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met Asp
1 5 10 15

<210> 178
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 178

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met Pro
1 5 10 15

<210> 179
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 179

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr
20 25 30

<210> 180
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 180

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr
20 25 30

<210> 181
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 181

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Pro Leu Thr
20 25 30

<210> 182
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 182

Trp Tyr Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly
1 5 10

<210> 183
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 183

Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Met
1 5 10 15

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

<210> 184
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 184

Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys
1 5 10 15

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

<210> 185
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 185

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 186
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 186

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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 187
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 187

Phe Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1	5	10	15												
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Thr	Arg	Phe
	20						25					30			
Gly	Val	His	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Leu
	35						40					45			
Gly	Val	Ile	Trp	Arg	Gly	Gly	Ser	Thr	Asp	Tyr	Asn	Ala	Ala	Phe	Met
	50					55					60				
Ser	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
65					70					75					80
Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ser
				85					90					95	
Asn	His	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Ser	Asp	Tyr	Ala	Leu	Asp	Asn	Trp	Gly	Gln
		100						105					110		
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
		115					120								

<210> 188
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 188

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	Ser	Gln	Asp	Val	Ser	Asn	Ile
		20						25					30		
Val	Val	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile

354045

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65707580

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
859095

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100105

<210> 189
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 189

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
151015

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Pro Leu Thr Arg Phe
202530

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
354045

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
505560

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65707580

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser

859095

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100105110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115120

<210> 190
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 190

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
202530

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
354045

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65707580

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
859095

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100105

<210> 191

<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 191

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Thr Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 192
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 192

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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 193
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 193

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 194
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 194

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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 195
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 195

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Pro Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 196
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 196

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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 197
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 197

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

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

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 198
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 198

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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35

40

45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 199
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 199

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser

859095

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100105110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115120

<210> 200
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 200

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
202530

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
354045

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65707580

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
859095

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100105

<210> 201

<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 201

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 202
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 202

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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 203
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 203

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 204
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 204

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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 205
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 205

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 206
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 206

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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 207
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 207

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

1	5	10	15												
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Thr	Arg	Phe
	20						25					30			
Gly	Val	His	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Leu
	35						40					45			
Gly	Val	Ile	Trp	Arg	Gly	Gly	Ser	Thr	Asp	Tyr	Asn	Ala	Ala	Phe	Met
	50					55					60				
Ser	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
65					70					75					80
Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ser
				85					90					95	
Asn	His	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Pro	Asp	Tyr	Ala	Leu	Asp	Asn	Trp	Gly	Gln
		100						105					110		
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
		115					120								

<210> 208
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 208

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	Ser	Gln	Asp	Val	Ser	Asn	Ile
		20					25					30			
Val	Val	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile

35

40

45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 209
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 209

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

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

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser

859095

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100105110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115120

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

<220>
<223> 合成構築體

<400> 210

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Leu
202530

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
354045

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65707580

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
859095

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100105

<210> 211

<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 211

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Thr Thr Arg Phe
20 25 30

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

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

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

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

<220>
<223> 合成構築體

<400> 212

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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Leu
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 213
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 213

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

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

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

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

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

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Pro Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 214
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 214

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 Ser Gln Asp Val Ser Asn Leu
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 215
<211> 975
<212> PRT
<213> 食蟹猴

<400> 215

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

Phe Val Arg Thr Tyr Lys Ser His Phe Leu Gln Pro Pro Trp Thr Thr
20 25 30

Val Phe Arg Gly Glu Arg Val Asn Leu Thr Cys Lys Gly Phe Gly Phe
35 40 45

Tyr Ser Ser Gln Lys Thr Lys Trp Tyr Tyr Arg His Leu Gly Lys Glu
50 55 60

Ile Ser Arg Glu Thr Gln Lys Asn Thr Leu Glu Val Gln Glu Ser Gly
65 70 75 80

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

Leu Asp Phe Ser Ser Ala Ser Leu Ile Leu Gln Ala Pro Leu Ser Val
100 105 110

Phe Glu Gly Asp Ser Val Val Leu Arg Cys Arg Ala Lys Ala Glu Val
115 120 125

Thr Leu Lys Thr Thr Ile Tyr Lys Asn Glu Asn Val Leu Ala Phe Leu
130 135 140

Asn Lys Ser Thr Asp Phe His Ile Ser His Ala Ser Leu Lys Asp Asn
145 150 155 160

Gly Ala Tyr Arg Cys Thr Gly Tyr Lys Glu Thr Cys Cys Leu Val Ser
165 170 175

Ser Asn Thr Val Lys Ile Gln Val Gln Glu Ser Phe Thr Arg Pro Val
180 185 190

Leu Arg Val Ser Ser Phe Gln Pro Ile Ser Gly Ser Pro Val Thr Leu
195 200 205

Thr Cys Glu Thr Gln Leu Ser Leu Glu Arg Ser Asp Val Pro Leu Gln
210 215 220

Phe Cys Phe Phe Arg Asn Asp Gln Met Leu Gly Ser Gly Cys Ser Leu
225 230 235 240

Ser Pro Lys Phe Arg Ile Thr Ala Met Trp Ser Lys Asp Ser Gly Ser
245 250 255

Tyr Trp Cys Lys Ala Ala Thr Met Cys Tyr Asp Thr Thr Ser Asn Ser
260 265 270

Leu Arg Ser Trp Ile Gln Val Leu Ile Pro Ala Ser His Pro Val Leu
275 280 285

Thr Leu Ser Pro Glu Lys Ala Leu Asn Phe Glu Gly Thr Lys Val Lys
290 295 300

Leu His Cys Glu Thr Gln Glu Asp Ser Leu Arg Thr Leu Tyr Lys Phe
305 310 315 320

Tyr His Asp Gly Val Pro Leu Arg Tyr Lys Ser Val Arg Cys Glu Lys
325 330 335

Gly Ala Ser Ile Ser Phe Ser Leu Thr Thr Glu His Ser Gly Asn Tyr
340 345 350

Tyr Cys Thr Ala Asp Asn Gly His Gly Ala Lys Pro Ser Glu Ala Val
355 360 365

Ser Leu Ser Val Thr Val Pro Val Ser Arg Pro Val Leu Thr Leu Ser
370 375 380

Ser Ala Glu Asp Leu Ile Ser Glu Gly Ala Lys Leu Thr Leu His Cys
385 390 395 400

Glu Ala Gln Arg Gly Ser Leu Pro Ile Val Tyr Gln Phe His His Glu
405 410 415

Asn Ala Ser Leu Gly Asn Arg Ser Ala His Ser Ala Gly Gly Val Ala
420 425 430

Ile Ser Phe Ser Leu Thr Ala Asp His Ser Gly Asn Tyr Tyr Cys Thr
435 440 445

Ala Asn Asn Gly Phe Gly Pro Gln Arg Ser Glu Ala Val Ser Leu Ser
450 455 460

Ile Thr Val Pro Val Ser Arg Pro Val Leu Thr Leu Ser Ser Ala Glu
465 470 475 480

Ala Leu Thr Phe Glu Gly Ala Thr Val Thr Leu Tyr Cys Glu Val Gln
485 490 495

Arg Gly Ser Pro Arg Ile Leu Tyr Gln Phe Tyr His Glu Asp Val Pro
500 505 510

Leu Gly Ser Asn Ser Thr Pro Ser Val Gly Lys Val Ser Phe Ser Phe
515 520 525

Ser Leu Thr Ala Ala His Ser Gly Asn Tyr Tyr Cys Thr Ala Asp Asn
530 535 540

Gly Phe Gly Pro Gln Arg Ser Glu Ala Val Ser Leu Phe Val Thr Val
545 550 555 560

Pro Val Ser Arg Pro Ile Leu Thr Leu Arg Val Pro Arg Ala Gln Ala
565 570 575

Val Val Gly Asp Leu Leu Glu Leu Arg Cys Glu Ala Leu Arg Gly Ser
580 585 590

Pro Pro Ile Met Tyr Trp Phe Tyr His Glu Asp Val Thr Leu Gly Ser
595 600 605

Ser Ser Val Pro Ser Gly Gly Glu Ala Ser Phe Asn Leu Ser Leu Thr
610 615 620

Ala Glu His Ser Gly Asn Tyr Ser Cys Glu Ala Asn Asn Gly Leu Val
625 630 635 640

Ala Gln His Ser Asp Thr Ile Ser Leu Ser Val Ile Val Pro Val Ser
645 650 655

Arg Pro Ile Leu Thr Phe Arg Ala Pro Arg Ala Gln Ala Val Val Gly
660 665 670

Asp Leu Leu Glu Leu His Cys Glu Ala Leu Arg Gly Ser Ser Pro Ile
675 680 685

Leu Tyr Trp Phe Tyr His Glu Asp Val Thr Leu Gly Lys Ile Ser Ala
690 695 700

Pro Ser Gly Gly Gly Ala Tyr Phe Asn Leu Ser Leu Thr Thr Glu His
705 710 715 720

Ser Gly Ile Tyr Ser Cys Glu Ala Asp Asn Gly Leu Glu Ala Gln Arg
725 730 735

Ser Glu Met Val Thr Leu Lys Val Ala Val Pro Val Ser Arg Pro Val
740 745 750

Leu Thr Leu Arg Ala Pro Arg Ala Gln Val Ala Val Gly Asp Leu Leu
755 760 765

Glu Leu His Cys Glu Ala Leu Arg Gly Ser Pro Leu Ile Leu Tyr Gln
770 775 780

Phe Tyr His Glu Asp Val Thr Leu Gly Asn Ser Ser Ala Leu Ser Gly
785 790 795 800

Gly Ala Phe Phe Asn Leu Ser Leu Thr Ala Glu His Gly Asn Tyr Ser
805 810 815

Cys Glu Ala Asp Asn Gly Leu Gly Ala Gln Arg Ser Glu Thr Val Thr
820 825 830

Leu Tyr Leu Thr Gly Leu Thr Glu Asn Arg Ser Gly Pro Val Ala Thr
835 840 845

Gly Val Thr Gly Gly Leu Leu Ser Leu Ala Gly Leu Ala Ala Val Ala
850 855 860

Leu Leu Leu Tyr Cys Trp Leu Ser Arg Lys Ala Gly Arg Glu Pro Ala
865 870 875 880

Ser Asp Pro Cys Arg Ser Pro Ser Asp Leu Asp Ser Gln Glu Pro Thr
885 890 895

Tyr His Asn Val Pro Ala Trp Glu Glu Leu Gln Pro Val Tyr Ser Asn
900 905 910

Val Asn Pro Arg Gly Glu Asn Val Val Tyr Ser Glu Val Arg Ile Ile
915 920 925

Arg Glu Lys Lys Lys His Ala Val Ala Ser Asn Pro Arg His Leu Arg
930 935 940

Asn Lys Gly Ser Cys Ile Ile Tyr Ser Glu Val Lys Val Ala Ser Thr
945 950 955 960

Pro Ala Ser Arg Cys Leu Phe Leu Ala Ser Ser Ala Pro His Arg
965 970 975

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種結合抗Fc受體樣5(FcRH5)及分化抗原簇3(CD3)的全長雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體包含：

(a) 抗FcRH5臂，其包含第一結合域，該第一結合域包含：包含SEQ ID NO: 104之胺基酸序列的重鏈可變(VH)域，及包含SEQ ID NO: 105之胺基酸序列的輕鏈可變(VL)域；及

(b) 抗CD3臂，其包含第二結合域，該第二結合域包含：包含SEQ ID NO: 153之胺基酸序列的VH域，及包含SEQ ID NO: 154之胺基酸序列的VL域；

其中該抗FcRH5臂及該抗CD3臂各自包含N297G突變(EU編號)。

【請求項2】

一種結合抗Fc受體樣5(FcRH5)及分化抗原簇3(CD3)的全長雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體包含：

(a) 抗FcRH5臂，其包含第一結合域，該第一結合域包含：包含SEQ ID NO: 104之胺基酸序列的VH域，及包含SEQ ID NO: 105之胺基酸序列的VL域；及

(b) 抗CD3臂，其包含第二結合域，該第二結合域包含：包含SEQ ID NO: 153之胺基酸序列的VH域，及包含SEQ ID NO: 154之胺基酸序列的VL域；

其中該抗FcRH5臂包含N297G突變及T366W突變，且該抗CD3臂包含N297G突變、T366S突變、L368A突變及Y407V突變(EU編號)。

【請求項3】

如請求項1之全長雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體之該抗FcRH5臂結合至FcRH5之Ig樣域9中之抗原決定基。

【請求項4】

如請求項3之全長雙特異性抗體，其中該抗原決定基包含SEQ ID NO: 114之胺基酸745-850之一部分。

【請求項5】

如請求項4之全長雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體之該抗FcRH5臂結合至人FcRH5或食蟹猴(獼猴)FcRH5或兩者。

【請求項6】

如請求項5之全長雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體之該抗FcRH5臂以以下之 K_D 結合人FcRH5：

- (a) 100 nM或更低；
- (b) 10 pM與100 nM之間；
- (c) 100 pM與100 nM之間；
- (d) 1 nM與20 nM之間；及/或
- (e) 1 nM與10 nM之間。

【請求項7】

如請求項6之全長雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體之該抗FcRH5臂以以下之 K_D 結合獼猴FcRH5：

- (a) 100 nM或更低；
- (b) 10 pM與100 nM之間；
- (c) 100 pM與100 nM之間；及/或
- (d) 1 nM與50 nM之間。

【請求項8】

如請求項1之全長雙特異性抗體，其中該雙特異性之該抗FcRH5臂包含在胺基酸殘基L234、L235、D265及/或P329(EU編號)處之取代突變。

【請求項9】

如請求項8之全長雙特異性抗體，其中該取代突變選自由以下組成之群：L234A、L235A、D265A及P329G。

【請求項10】

如請求項1之全長雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體為單株抗體、人源化抗體或嵌合抗體。

【請求項11】

如請求項10之全長雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體為IgG抗體。

【請求項12】

如請求項1至11中任一項之全長雙特異性抗體，其中包含該第二結合域之該抗CD3臂結合至CD3上之抗原決定基，其包含CD3之胺基酸殘基Glu6。

【請求項13】

如請求項12之全長雙特異性抗體，其中該抗原決定基進一步包含一或多個選自由以下組成之群之額外胺基酸殘基：CD3之Gln1、Asp2及Met7。

【請求項14】

如請求項13之全長雙特異性抗體，其中該抗原決定基包含CD3之

胺基酸殘基Gln1、Asp2及Glu6。

【請求項15】

如請求項14之全長雙特異性抗體，其中該抗原決定基包含CD3之胺基酸殘基Gln1、Asp2、Glu6及Met7。

【請求項16】

如請求項15之全長雙特異性抗體，其中該抗原決定基不包含CD3之胺基酸殘基Glu5。

【請求項17】

如請求項16之全長雙特異性抗體，其中該抗原決定基不包含CD3之胺基酸殘基Gly3及Glu5。

【請求項18】

如請求項17之全長雙特異性抗體，其中該抗原決定基由CD3之胺基酸殘基Gln1、Asp2、Glu6及Met7組成。

【請求項19】

如請求項1至11中任一項之全長雙特異性抗體，其中包含該第二結合域之該抗CD3臂能夠結合至人CD3多肽或獼猴CD3多肽。

【請求項20】

如請求項19之全長雙特異性抗體，其中該人CD3多肽或該獼猴CD3多肽分別為人CD3 ϵ 多肽或獼猴CD3 ϵ 多肽，或分別為人CD3 γ 多肽或獼猴CD3 γ 多肽。

【請求項21】

如請求項20之全長雙特異性抗體，其中包含該第二結合域之該抗CD3臂以以下之 K_D 結合該人CD3 ϵ 多肽：

- (a) 100 nM或更低；及/或
- (b) 10 pM至100 nM之間。

【請求項22】

如請求項1至11中任一項之全長雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體具有以下之靜脈內注射後清除率：

- (a) 在小鼠中10 ml/kg/日至35 ml/kg/日；
- (b) 在小鼠中10 ml/kg/日至20 ml/kg/日；及/或
- (c) 在小鼠中12 ml/kg/日至16 ml/kg/日。

【請求項23】

如請求項22之全長雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體具有以下靜脈內注射後清除率：

- (a) 在獼猴中具有20 ml/kg/日至40 ml/kg/日；
- (b) 在獼猴中具有25 ml/kg/日至35 ml/kg/日；及/或
- (c) 在獼猴中具有30 ml/kg/日至35 ml/kg/日。

【請求項24】

一種一或多個分離核酸分子，其編碼如請求項1至23中任一項之全長雙特異性抗體。

【請求項25】

一種載體，其包含如請求項24之分離核酸分子。

【請求項26】

一種宿主細胞，其包含如請求項25之載體。

【請求項27】

如請求項26之宿主細胞，其中該宿主細胞為哺乳動物細胞或原

核細胞。

【請求項28】

如請求項27之宿主細胞，其中該哺乳動物細胞為中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，或該原核細胞為大腸桿菌細胞。

【請求項29】

一種產生如請求項1至23中任一項之全長雙特異性抗體的方法，該方法包含在培養基中培養如請求項26之宿主細胞。

【請求項30】

如請求項29之方法，其中該方法進一步包含從該宿主細胞或該培養基回收該全長雙特異性抗體。

【請求項31】

一種免疫結合物，其包含如請求項1至23中任一項之全長雙特異性抗體及細胞毒性劑。

【請求項32】

一種組合物，其包含如請求項1至23中任一項之全長雙特異性抗體。

【請求項33】

如請求項32之組合物，其中該組合物進一步包含醫藥學上可接受之賦形劑或稀釋劑。

【請求項34】

如請求項33之組合物，其中該醫藥學上可接受之賦形劑為緩衝液、載劑、穩定劑或防腐劑。

【請求項35】

如請求項34之組合物，其中該組合物為醫藥組合物。

【請求項36】

如請求項32之組合物，其中該組合物進一步包含PD-1軸結合拮抗劑或額外治療劑。

【請求項37】

如請求項1至11中任一項之全長雙特異性抗體，其作為藥物來使用。

【請求項38】

一種如請求項1至23中任一項之全長雙特異性抗體或如請求項32至36中任一項之組合物的用途，其係用於製造用於治療或延遲個體之FcRH5陽性癌症之進程之藥物。

【請求項39】

一種如請求項1至23中任一項之全長雙特異性抗體或如請求項32至36中任一項之組合物的用途，其係用於製造用於增強患有FcRH5陽性癌症之個體之免疫功能之藥物。

【請求項40】

如請求項38之用途，其中該FcRH5陽性癌症為B細胞癌症。

【請求項41】

如請求項40之用途，其中該B細胞癌症選自由以下組成之群：多發性骨髓瘤(MM)、慢性淋巴性白血病(CLL)、套膜細胞淋巴瘤(MCL)、彌散性大B-細胞淋巴瘤(DLBCL)及濾泡性淋巴瘤(FL)。

【請求項42】

如請求項41之用途，其中該B細胞癌症為MM。

【請求項43】

如請求項38之用途，其中該全長雙特異性抗體結合至(a)定位於靶細胞上之FcRH5分子及(b)定位於免疫效應細胞上之CD3分子。

【請求項44】

如請求項43之用途，其中該全長雙特異性抗體在結合至該FcRH5分子及該CD3分子之後活化該免疫效應細胞。

【請求項45】

如請求項44之用途，其中該活化免疫效應細胞能夠對於該靶細胞施加細胞毒性作用及/或凋亡作用。

【請求項46】

如請求項43之用途，其中該靶細胞為漿細胞。

【請求項47】

如請求項46之用途，其中該漿細胞為短壽命漿細胞或長壽命漿細胞。

【請求項48】

如請求項46之用途，其中該漿細胞為骨髓瘤細胞。

【請求項49】

如請求項38之用途，其中該藥物包含以下劑量之該全長雙特異性抗體：

- (a) 0.01 mg/kg/wk至50 mg/kg/wk；
- (b) 0.1 mg/kg/wk至10 mg/kg/wk；及/或
- (c) 1 mg/kg/wk。

【請求項50】

如請求項38之用途，其中該藥物係經調配用於與PD-1軸結合拮抗劑及/或額外治療劑投與。

【請求項51】

如請求項50之用途，其中該PD-1軸結合拮抗劑或額外治療劑在投與該全長雙特異性抗體之前、同時或之後投與。

【請求項52】

如請求項50之用途，其中該PD-1軸結合拮抗劑選自由以下組成之群：PD-L1結合拮抗劑、PD-1結合拮抗劑及PD-L2結合拮抗劑。

【請求項53】

如請求項52之用途，其中該PD-1軸結合拮抗劑為PD-L1結合拮抗劑。

【請求項54】

如請求項53之用途，其中該PD-L1結合拮抗劑選自由以下組成之群：MPDL3280A(atezolizumab，阿特立單抗)、MDX-1105、MEDI4736(durvalumab，德瓦魯單抗)及MSB0010718C(avelumab，納武單抗)。

【請求項55】

如請求項54之用途，其中該PD-L1結合拮抗劑為MPDL3280A(阿特立單抗)。

【請求項56】

如請求項52之用途，其中該PD-1軸結合拮抗劑為PD-1結合拮抗劑或PD-L2結合拮抗劑。

【請求項57】

如請求項56之用途，其中該PD-1結合拮抗劑選自由以下組成之群：MDX1106(nivolumab，妮威祿單抗)、MK-3475(pembrolizumab，帕姆利珠單抗)、MEDI-0680 (AMP-514)、PDR001、REGN2810及BGB-108，或該PD-L2結合拮抗劑為抗體或免疫黏附素。

【請求項58】

如請求項38之用途，其中該藥物係經調配用於與PD-1軸結合拮抗劑、類固醇、免疫調節劑(IMiD)、蛋白體抑制劑(PI)或其組合投與。

【請求項59】

如請求項58之用途，其中：

- (i) 該類固醇為糖皮質激素；
- (ii) 該IMiD為來那度胺(lenalidomide)；或
- (iii) 該PI為硼替佐米(bortezomib)。

【請求項60】

如請求項59之用途，其中該糖皮質激素為地塞米松(dexamethasone)。

【請求項61】

如請求項58之用途，其中該全長雙特異性抗體、PD-1軸結合拮抗劑、類固醇、IMiD、PI或其組合係以靜脈內、皮下、肌肉內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、藉由植入、藉由吸入、鞘內、心室內或鼻內投與。

【請求項62】

如請求項61之用途，其中該全長雙特異性抗體、PD-1軸結合拮

抗劑、類固醇、IMiD、PI或其組合係以靜脈內或皮下投與。

【請求項63】

如請求項38之用途，其中該個體為人。

【請求項64】

一種用於偵測來自個體之生物樣品中之FcRH5的方法，其中該方法包含：

(a) 使該生物樣品與如請求項1至23中任一項之全長雙特異性抗體在容許該全長雙特異性抗體結合至該生物樣品中之天然存在FcRH5的條件下接觸，並且

(b) 偵測是否在該全長雙特異性抗體與該生物樣品中之天然存在FcRH5之間形成複合物。

【請求項65】

如請求項64之方法，其中該生物樣品為血液樣品。

【請求項66】

如請求項65之方法，其中該個體為人。

【請求項67】

一種套組，其包含如請求項1至23中任一項之全長雙特異性抗體及藥品說明書(package insert)，該藥品說明書包含使用該抗體來治療或延遲個體之FcRH5陽性癌症之進程的說明。

【請求項68】

如請求項67之套組，其中該個體為人。

【請求項69】

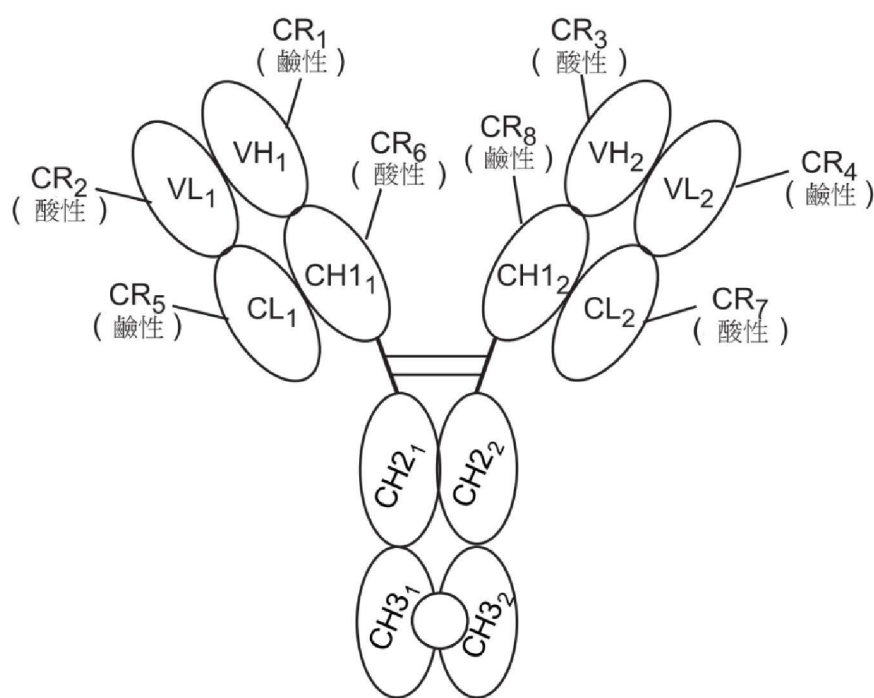
一種套組，其包含如請求項1至23中任一項之全長雙特異性抗體及藥品說明書，該藥品說明書包含使用該抗體來增強患有FcRH5陽性

癌症之個體之免疫功能的說明。

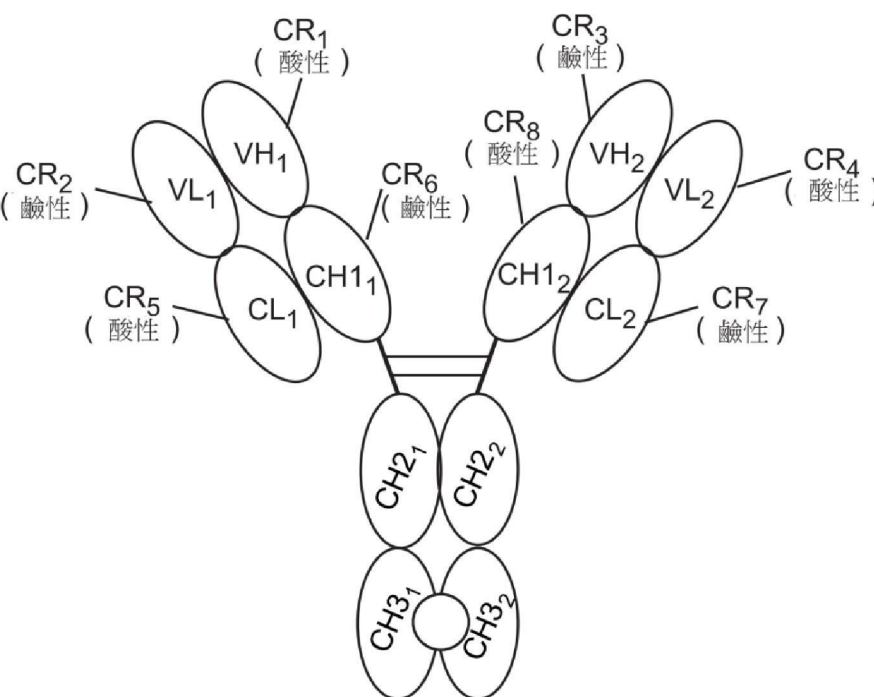
【請求項70】

如請求項69之套組，其中該個體為人。

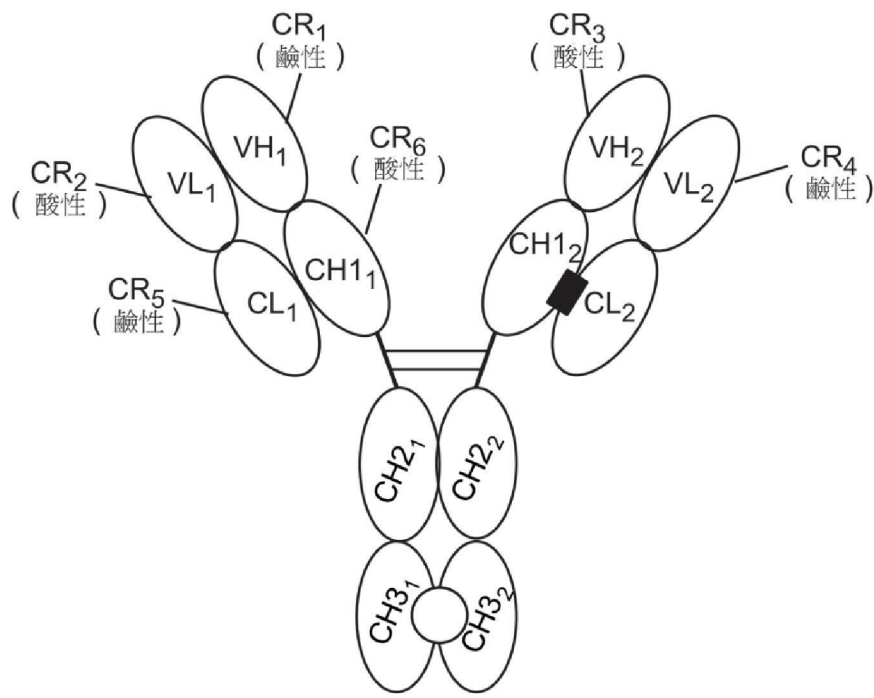
【發明圖式】



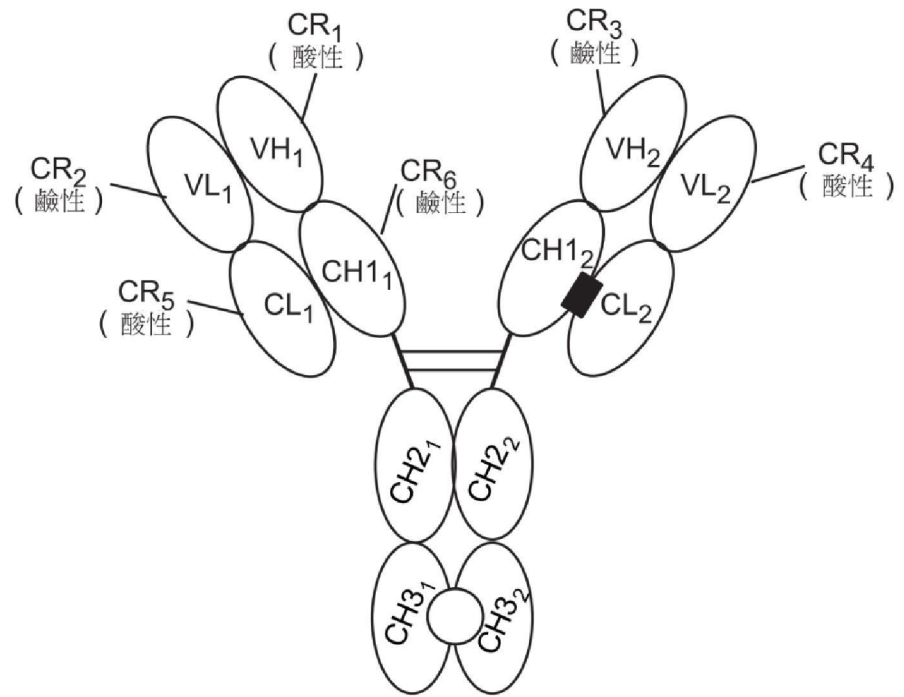
【圖1A】



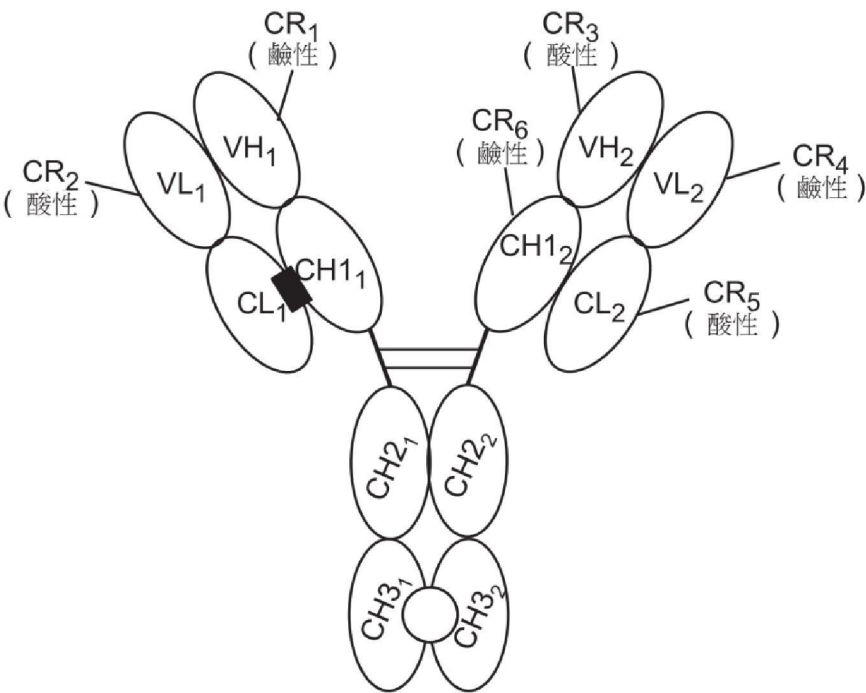
【圖1B】



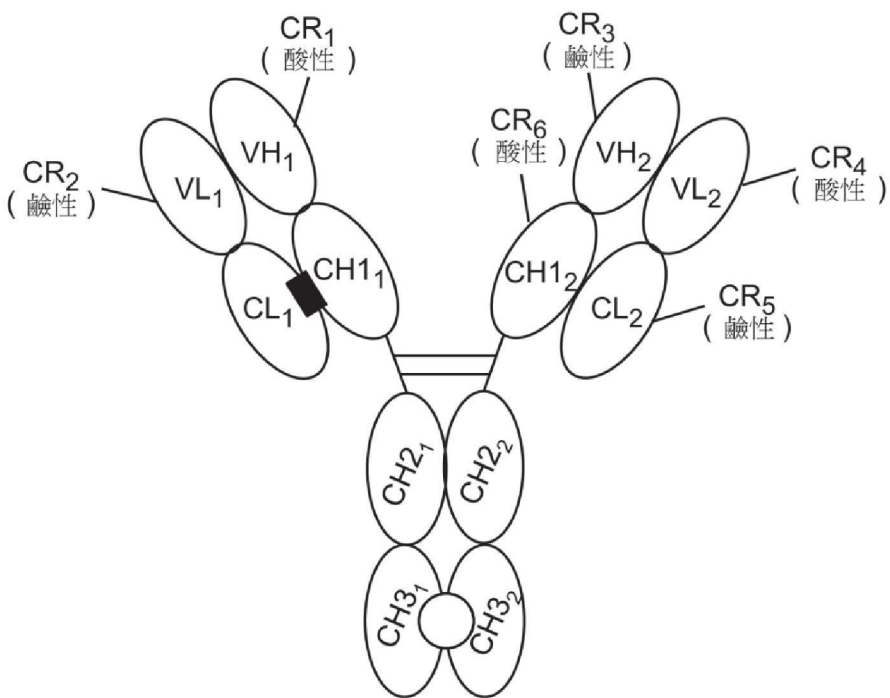
【圖1C】



【圖1D】



【圖1E】



【圖1F】

輕鏈可變域

		HVRL1 - 序號		HVRL1 - Chothia		HVRL1 - Kabat	
Kabat 編號							
hu1G7.v1		1	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.1		2	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.2		3	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.3		4	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.4		5	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.5		6	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.6		7	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.7		8	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.13		9	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.13.1		10	DI	QMT	QSP	SS	LS

		HVRL2 - 序號		HVRL2 - Chothia		HVRL2 - Kabat	
Kabat 編號							
hu1G7.v1		1	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.1		2	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.2		3	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.3		4	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.4		5	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.5		6	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.6		7	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.7		8	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.13		9	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.13.1		10	DI	QMT	QSP	SS	LS

		HVRL3 - 序號		HVRL3 - Chothia		HVRL3 - Kabat	
Kabat 編號							
hu1G7.v1		1	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.1		2	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.2		3	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.3		4	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.4		5	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.5		6	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.6		7	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.7		8	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.13		9	DI	QMT	QSP	SS	LS
hu1G7.v1.13.1		10	DI	QMT	QSP	SS	LS

【圖2】

Kabat 編號	Sequence
1	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
2	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
3	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
4	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
5	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
6	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
7	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
8	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
9	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
10	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
11	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
12	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
13	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
14	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
15	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
16	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
17	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
18	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
19	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
20	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
21	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
22	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
23	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
24	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
25	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
26	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
27	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
28	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
29	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
30	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
31	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
32	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
33	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
34	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
35	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
36	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
37	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
38	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
39	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
40	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
41	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG
42	EVQLVESGGPLVKPSETLSLTCTVSGFSLTRFGVHWVRQPPG

Kabat 編號	Sequence	Position
hu1G7.v1	KGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLTISKDN	82a
hu1G7.v1.1	KGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLTISKDN	82a
hu1G7.v1.2	KGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLTISKDN	81
hu1G7.v1.3	KGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLTISKDN	80
hu1G7.v1.4	KGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLTISKDN	79
hu1G7.v1.5	KGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLTISKDN	78
hu1G7.v1.6	KGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLTISKDN	77
hu1G7.v1.7	KGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLTISKDN	76
hu1G7.v1.13	KGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLTISKDN	75
hu1G7.v1.13.1	KGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLTISKDN	74

Kabat 編號	SEQ ID NO: 82)	SEQ ID NO: 84)	SEQ ID NO: 86)	SEQ ID NO: 88)	SEQ ID NO: 90)	SEQ ID NO: 92)	SEQ ID NO: 94)	SEQ ID NO: 96)	SEQ ID NO: 98)	SEQ ID NO: 100)
hu1G7.v1	113	112	111	110	109	108	107	106	105	104
hu1G7.v1.1	1000	999	998	997	996	995	994	993	992	991
hu1G7.v1.2	1000	999	998	997	996	995	994	993	992	991
hu1G7.v1.3	1000	999	998	997	996	995	994	993	992	991
hu1G7.v1.4	1000	999	998	997	996	995	994	993	992	991
hu1G7.v1.5	1000	999	998	997	996	995	994	993	992	991
hu1G7.v1.6	1000	999	998	997	996	995	994	993	992	991
hu1G7.v1.7	1000	999	998	997	996	995	994	993	992	991
hu1G7.v1.13	1000	999	998	997	996	995	994	993	992	991
hu1G7.v1.13.1	1000	999	998	997	996	995	994	993	992	991

【3回】

VL 變異體

	v1	v1.3	v1.4	v1.5	v1.6	v1.7
	v1			2.0		
W52 突變	W52F	177.0	119.0	47.5	81.4	76.6
	W52Y	641.0	131.0	177.0	529.0	136.0
	W52L	239.0	92.0	125.0	250.0	129.0
	W52H	65.5	60.4	67.3	109.0	89.8
M64 突變	M64I	2.1	2.5	2.7	2.7	2.6
	M64V	2.5	2.5*	2.5	2.7	2.5
	M64L	2.4	2.5	2.3	2.6	2.0
	M64F	2.2	2.5	1.4	2.6	2.4

* 1G7.v85

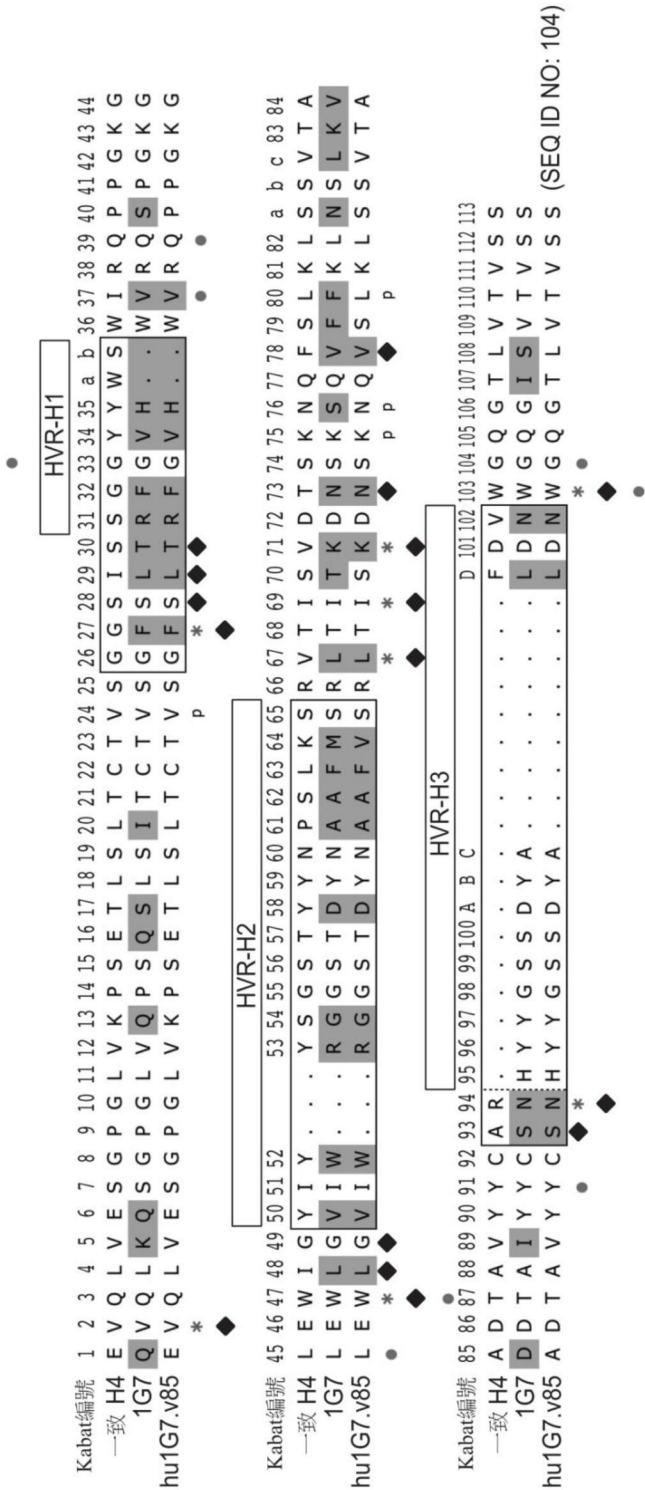
【圖4】

VH
變異體

表單編號 A0101

【圖 5A】

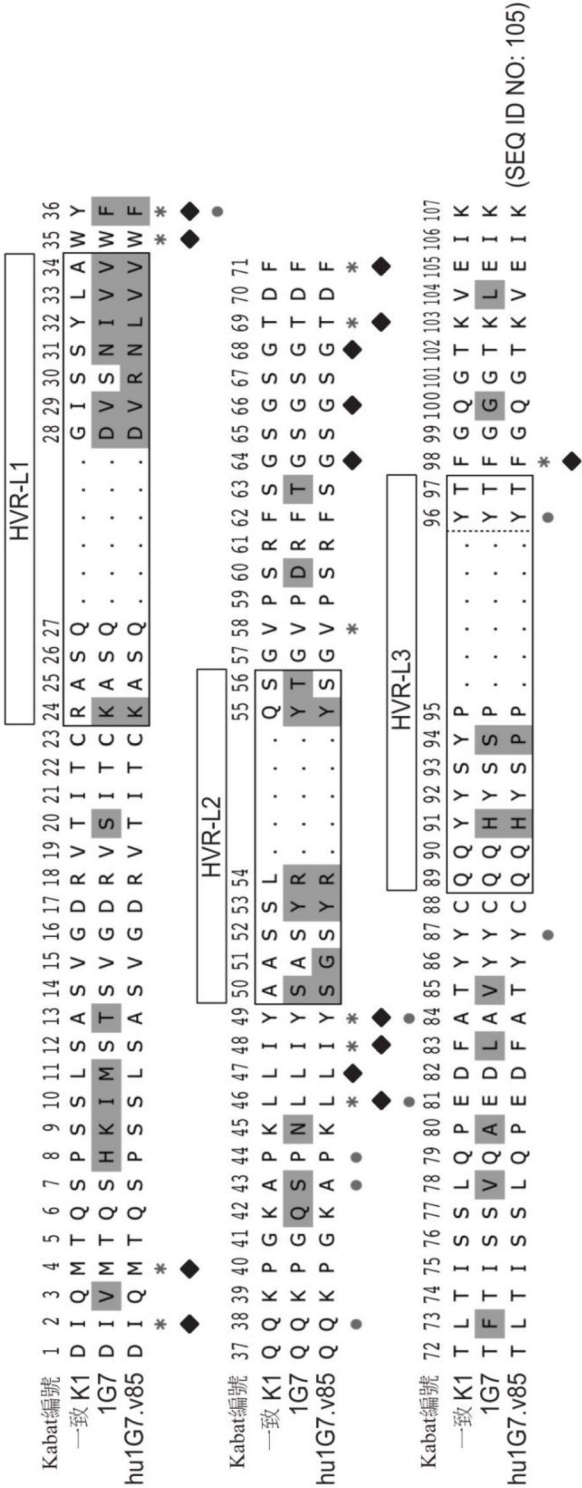
重鏈可變域



◆ Vernier位置：Foote及Winter JMB (1992) 224:487
* FW-CDR相互作用：Padlan Mol. Immunol. (1994) 31:169
● VH-VL相互作用：Padlan Mol. Immunol. (1994) 31:169

【圖6A】

輕鏈可變域



◆ Vernier位置；Foote及Winter JMB (1992) 224:487
* FW-CDR相互作用；Padlan Mol. Immunol. (1994) 31:169
● VH-VL相互作用；Padlan Mol. Immunol. (1994) 31:169

【圖6B】

重鏈可變域

Kabat編號	HVR-H1 - 接頭		HVR-H1 - Kabat	42
	HVR-H1 - Chothia			41
				40
				39
				38
				37
				36
				35
				34
				33
hu1G7.v93			32	P
			31	P
			30	P
			29	G
			28	V
			27	H
			26	W
			25	R
			24	Q
			23	P
Kabat編號	HVR-H2 - 接頭		HVR-H2 - Kabat	42b
	HVR-H2 - Chothia			82a
				82
				81
				80
				79
				78
				77
				76
				75
hu1G7.v93			74	S
			73	S
			72	K
			71	N
			70	S
			69	K
			68	D
			67	N
			66	S
			65	R
Kabat編號	HVR-H3 - 接頭		HVR-H3 - Kabat	82b
	HVR-H3 - Chothia			82a
				82
				81
				80
				79
				78
				77
				76
				75
hu1G7.v93			74	S
			73	S
			72	K
			71	N
			70	S
			69	K
			68	D
			67	N
			66	S
			65	R
Kabat編號	HVR-H3 - 接頭		HVR-H3 - Kabat	82b
	HVR-H3 - Chothia			82a
				82
				81
				80
				79
				78
				77
				76
				75
hu1G7.v93			74	S
			73	S
			72	K
			71	N
			70	S
			69	K
			68	D
			67	N
			66	S
			65	R
Kabat編號	HVR-H3 - 接頭		HVR-H3 - Kabat	82b
	HVR-H3 - Chothia			82a
				82
				81
				80
				79
				78
				77
				76
				75
hu1G7.v93			74	S
			73	S
			72	K
			71	N
			70	S
			69	K
			68	D
			67	N
			66	S
			65	R

(SEQ ID NO: 106)

【圖7A】

輕鏈可變域

Kabat編號
hu1G7.v93

HVR-L2 - 接頭

HVR-L2 - Chothia
HVR-L2 - Kabat

Kabat編號
hu1G7.v93

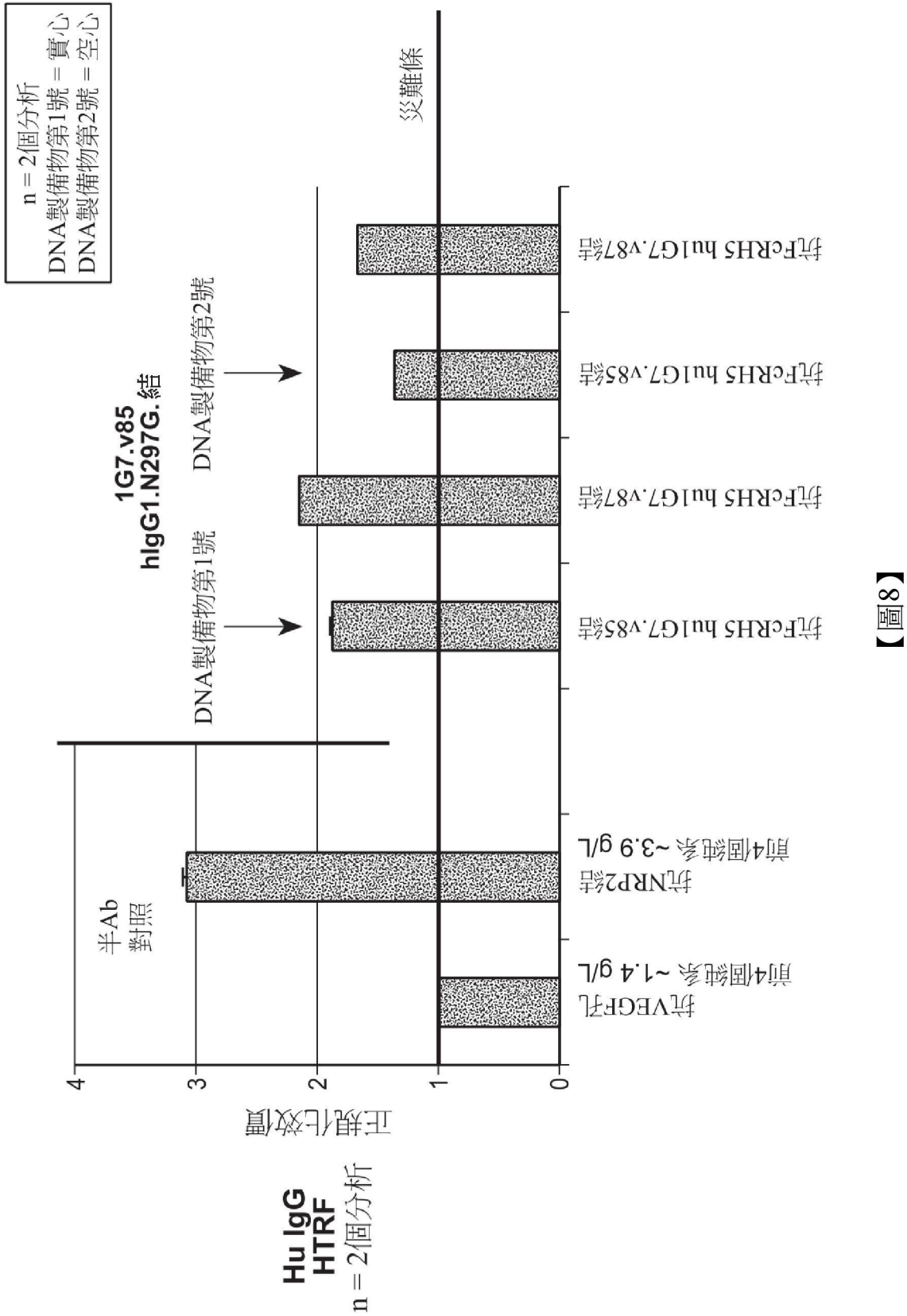
HVR-L3 - 接頭

	HVR-L3 - Chothia	HVR-L3 - Kabat
1	1	1
2	1	1
3	1	1
4	1	1
5	1	1
6	1	1
7	1	1
8	1	1
9	1	1
10	1	1
11	1	1
12	1	1
13	1	1
14	1	1
15	1	1
16	1	1
17	1	1
18	1	1
19	1	1
20	1	1
21	1	1
22	1	1
23	1	1
24	1	1
25	1	1
26	1	1
27	1	1
28	1	1
29	1	1
30	1	1
31	1	1
32	1	1
33	1	1
34	1	1
35	1	1
36	1	1
37	1	1
38	1	1
39	1	1
40	1	1
41	1	1
42	1	1
43	1	1
44	1	1
45	1	1
46	1	1
47	1	1
48	1	1
49	1	1
50	1	1
51	1	1
52	1	1
53	1	1
54	1	1
55	1	1
56	1	1
57	1	1
58	1	1
59	1	1
60	1	1
61	1	1
62	1	1
63	1	1
64	1	1
65	1	1
66	1	1
67	1	1
68	1	1
69	1	1
70	1	1
71	1	1
72	1	1
73	1	1
74	1	1
75	1	1
76	1	1
77	1	1
78	1	1
79	1	1
80	1	1
81	1	1
82	1	1
83	1	1
84	1	1
85	1	1
86	1	1
87	1	1
88	1	1
89	1	1
90	1	1
91	1	1
92	1	1
93	1	1
94	1	1
95	1	1
96	1	1
97	1	1
98	1	1
99	1	1
100	1	1

Kabat編號
hu1G7.v93

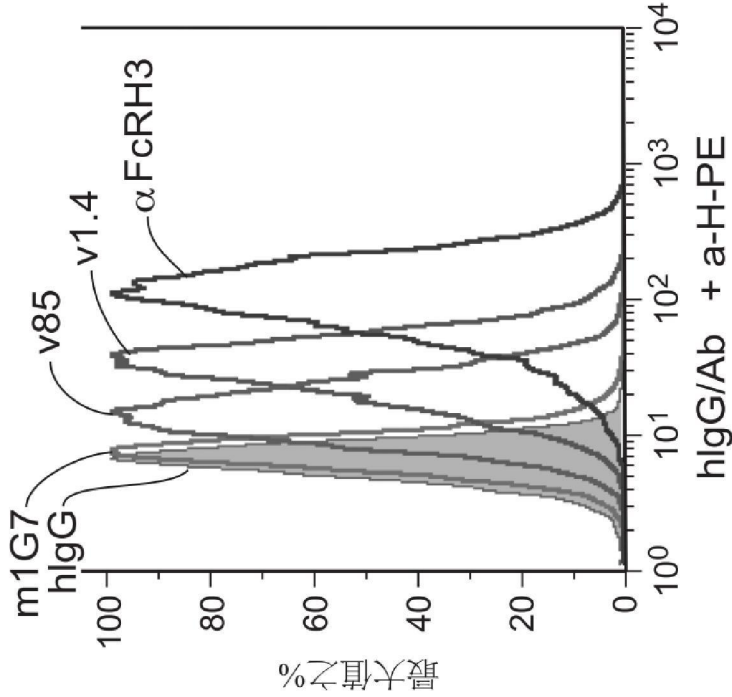
(SEQ ID NO: 107)

【圖7B】



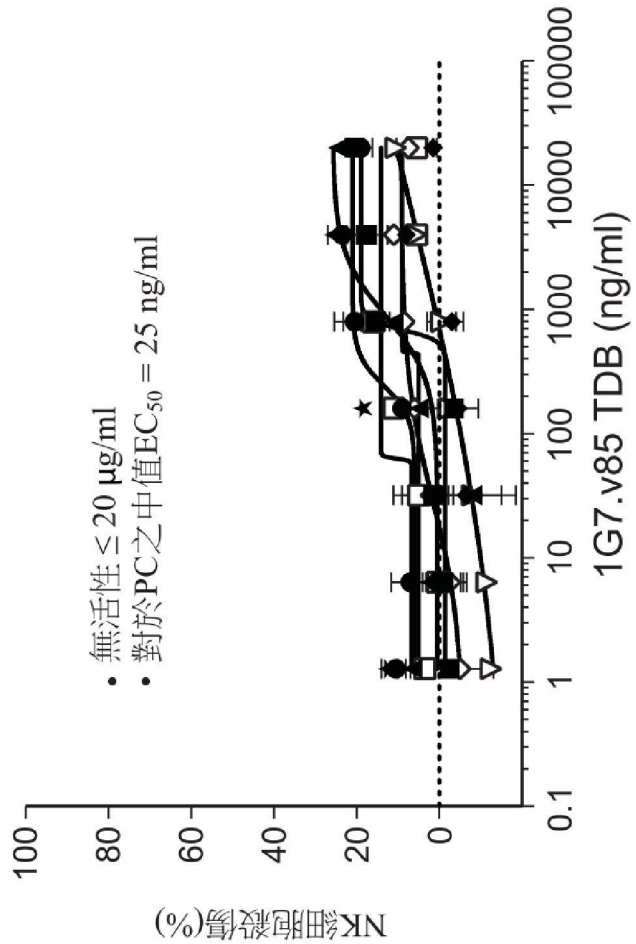
【圖8】

TDB結合至過度表現FcRH3
之細胞



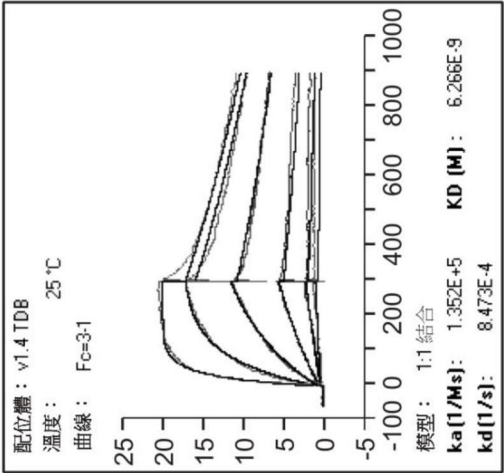
【圖9A】

人NK細胞上之1G7.v85 TDB之活性

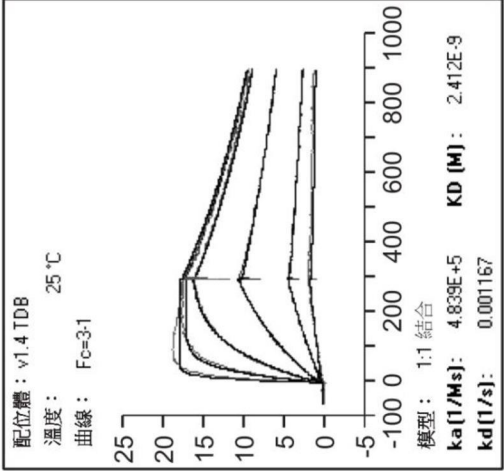


【圖9B】

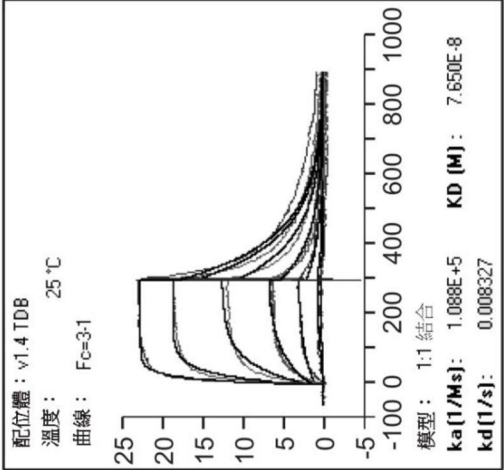
獼猴 FcRH5



Hu FcRH5

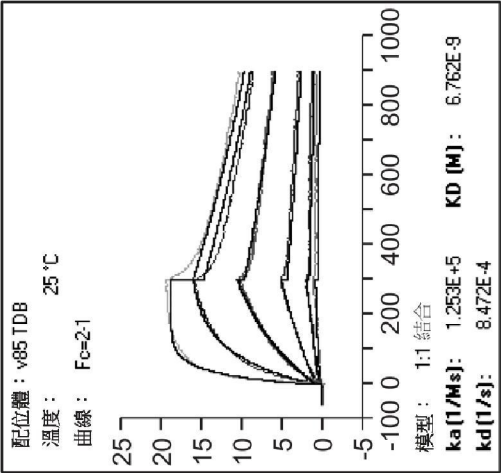


FcRH3

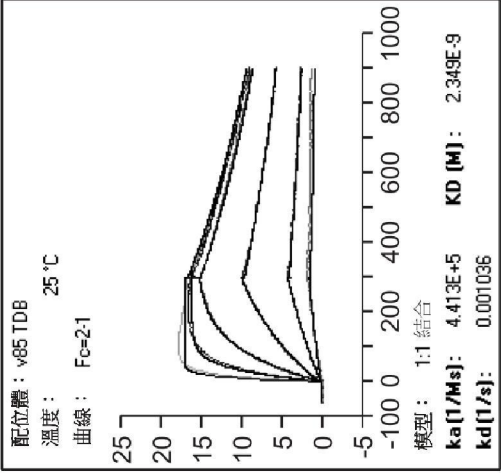


【圖10A】

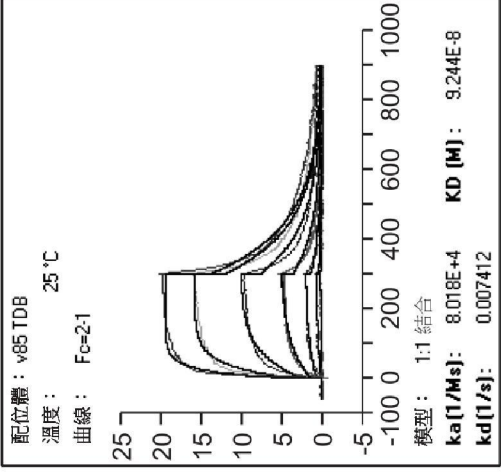
獼猴 FcRH5



Hu FcRH5

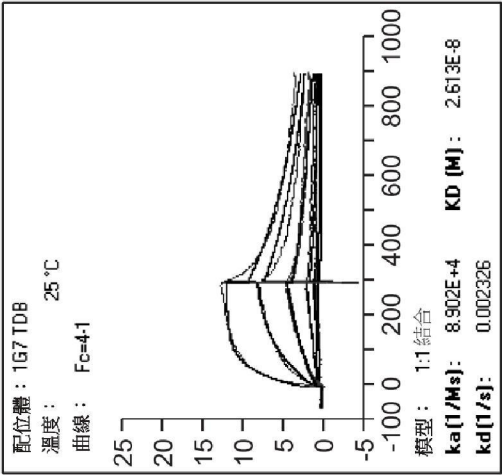


FcRH3

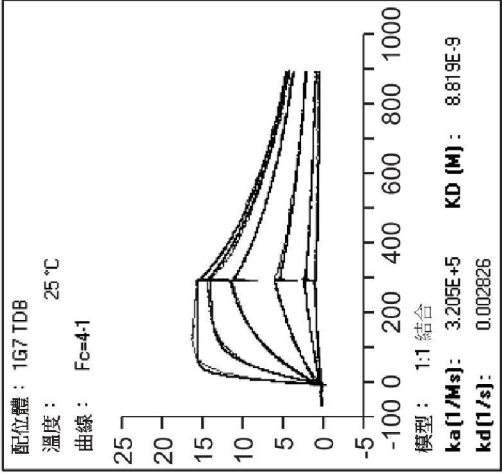


【圖10B】

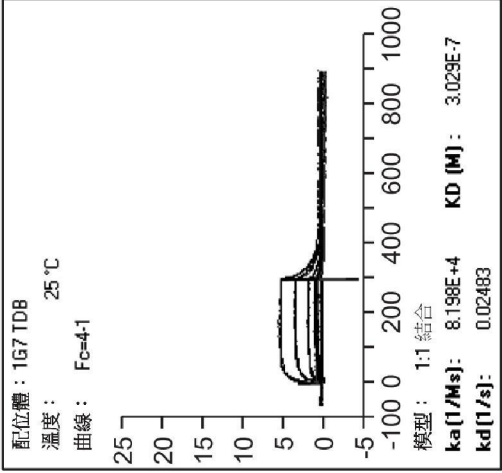
獼猴 FcRH5



Hu FcRH5

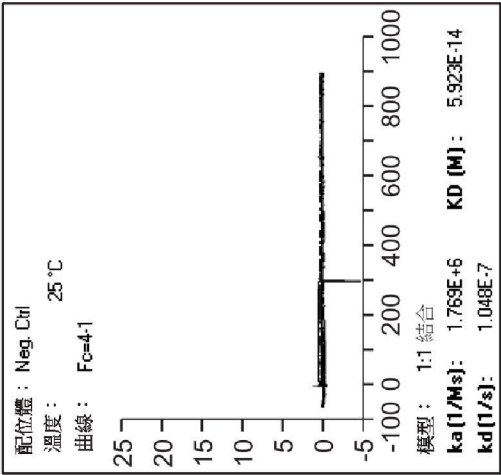


FcRH3

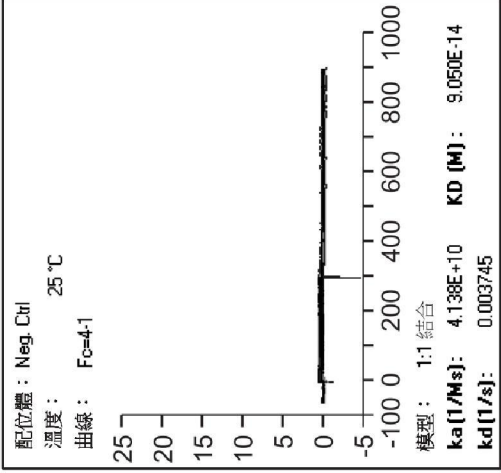


【圖10C】

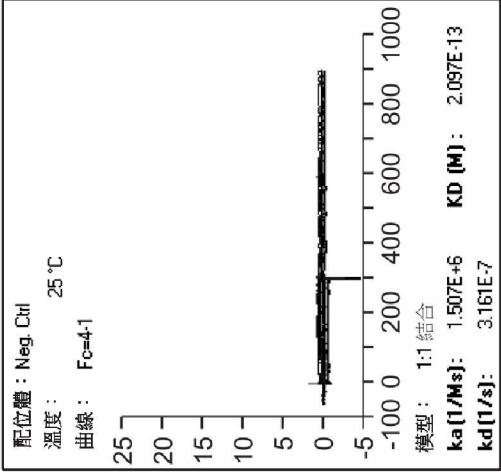
獼猴 FcRH5



Hu FcRH5

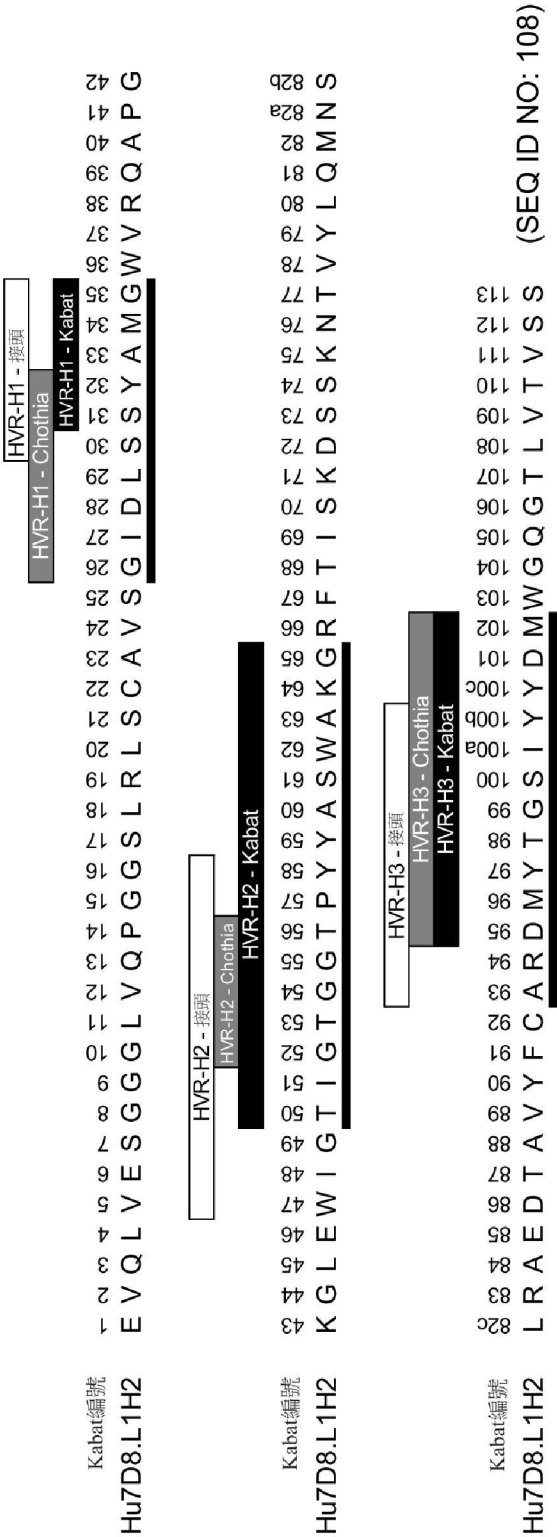


FcRH3



【圖10D】

重鏈可變域



【圖11A】

輕鏈可變域

Kabat編號

Hu7D8.L1H2

Sequence logo for HVR-L1. The y-axis represents positions 24 to 40. The x-axis represents nucleotide frequencies (A, C, G, T) and a scale from 0 to 1.0. The logo is divided into three regions: HVR-L1 - Chotnia (positions 24-27), HVR-L1 - Kabat (positions 28-33), and HVR-L1 - 按頭 (positions 34-40).

HVR-L2 - 接頭

HVR-L2 - Chothia
HVR-L2 - Kabat

Kabat編號

Hu7D8.L1H2

41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82

HVR-L3 - 接頭

HVR-L3 - Chothia
HVR-L3 - Kabat

Kabat編號

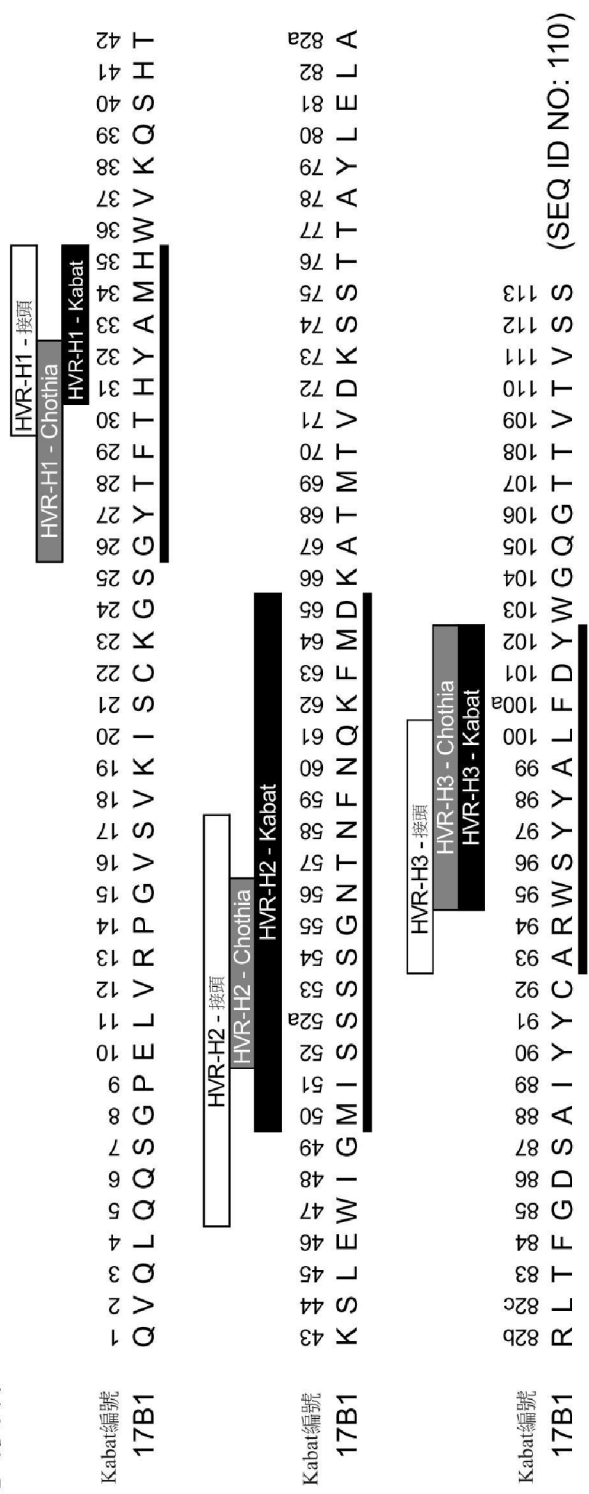
Hu7D8.L1H2

F A T Y C L G A Y T D D A D N A F G Q G T K V E I K
83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 95a 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107

(SEQ ID NO: 109)

【圖11B】

重鏈可變域



【圖 12A】

輕鏈可變域

Kabat編號	HVR-L1 - 接頭		HVR-L1 - Chothia	HVR-L1 - Kabat	43
17B1	HVR-L2 - 接頭		HVR-L2 - Chothia	HVR-L2 - Kabat	44
Kabat編號	HVR-L3 - 接頭		HVR-L3 - Chothia	HVR-L3 - Kabat	45
17B1					46

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43
E	N	V	L	T	Q	S	P	A	I	M	S	A	S	P	G	E	K	V	T	M	T	C	S	A	D	S	S	V	D	Y	I	H	W	Y	Q	Q	K	S	N	T	S	

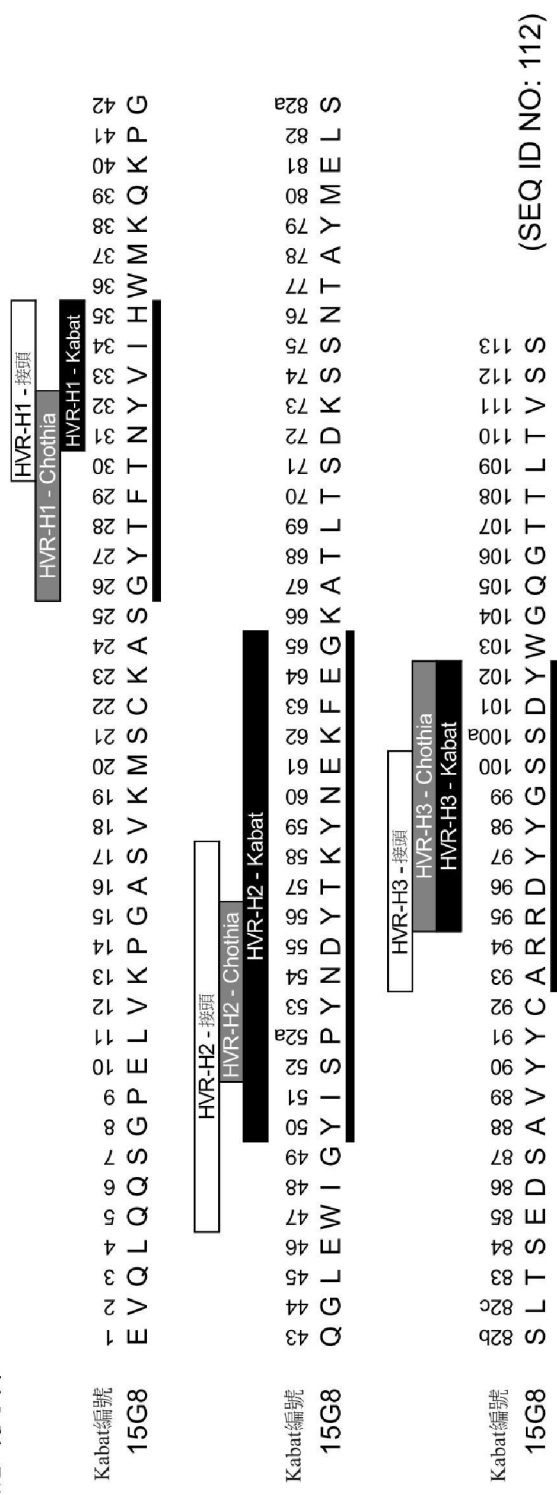
44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98
P	K	L	W	I	Y	D	T	S	K	L	A	S	G	V	P	G	R	F	S	G	S	G	S	G	S	G	N	S	Y	S	L	T	I	S	S	M	E	A	E	D	F	F	A	T										

96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150
Y	Y	C	F	Q	G	S	G	Y	P	L	T	F	G	S	G	T	K	L	E	L	K																																	

(SEQ ID NO: 111)

【圖12B】

重鍵可變域



【圖13A】

(SEQ ID NO: 112)

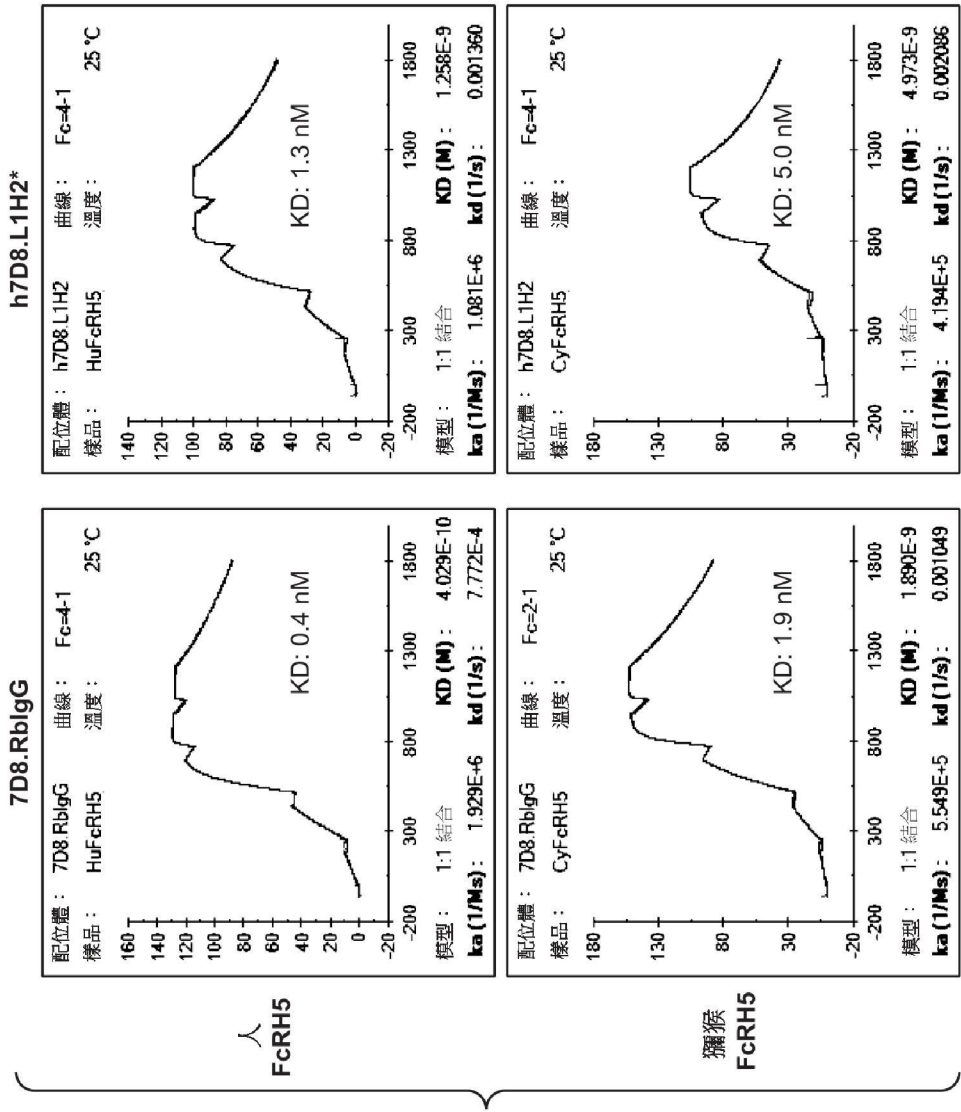
輕鏈可變域

[illegible][illegible]

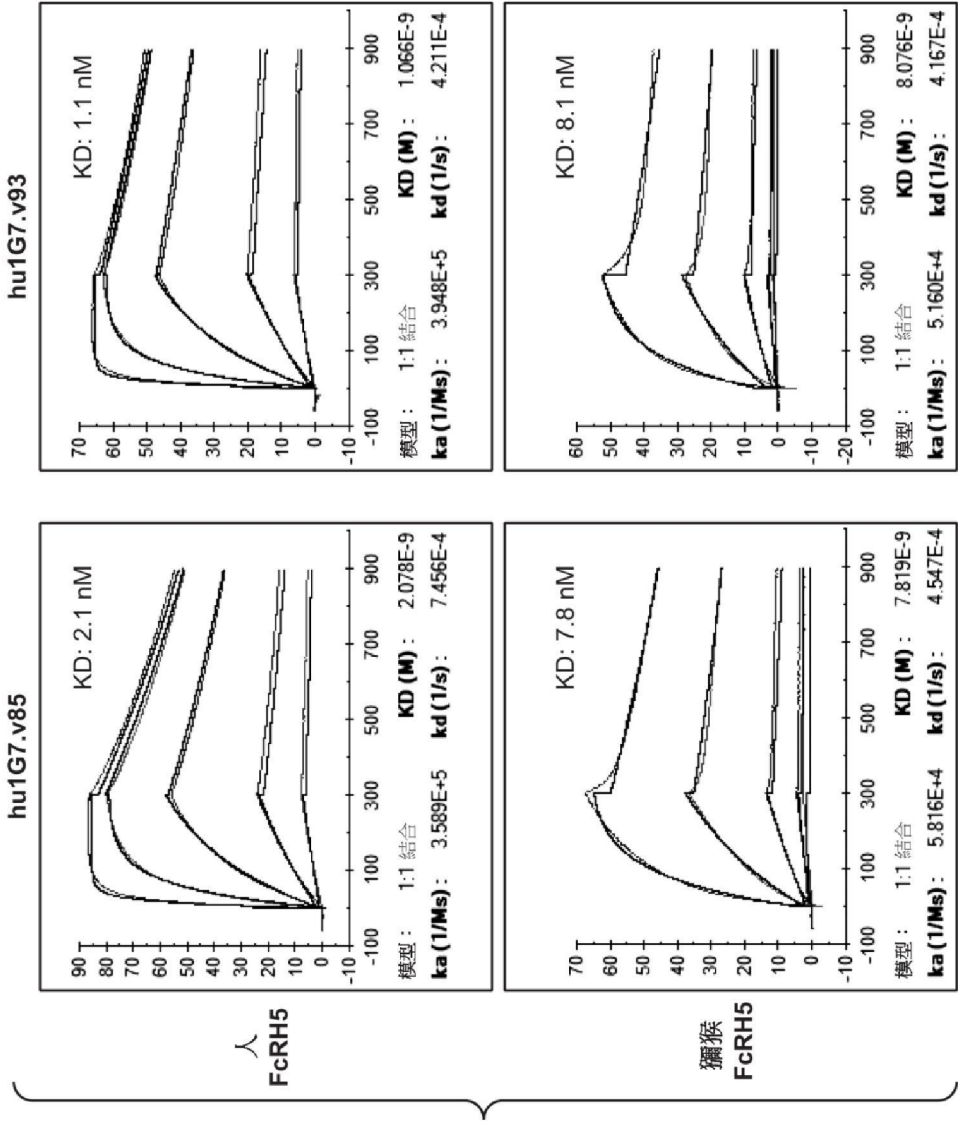
Kabat編號
 15G8
 (SEQ ID NO: 113)

	HVR-L3 - 按單	HVR-L3 - Chothia	HVR-L3 - Kabat
86	Y	Y	Y
87	C	C	C
88	Q	Q	Q
89	Q	Q	Q
90	W	W	W
91	S	S	S
92	S	S	S
93	S	S	S
94	N	N	N
95	P	P	P
96	P	P	P
97	T	T	T
98	F	F	F
99	G	G	G
100	G	G	G
101	G	G	G
102	T	T	T
103	K	K	K
104	L	L	L
105	E	E	E
106	I	I	I
107	K	K	K

【圖13B】

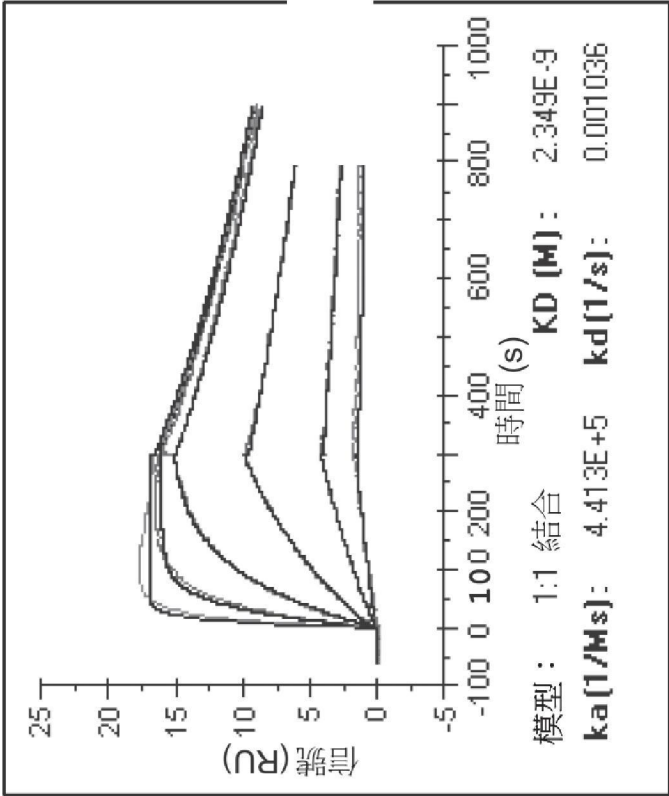


【圖14】



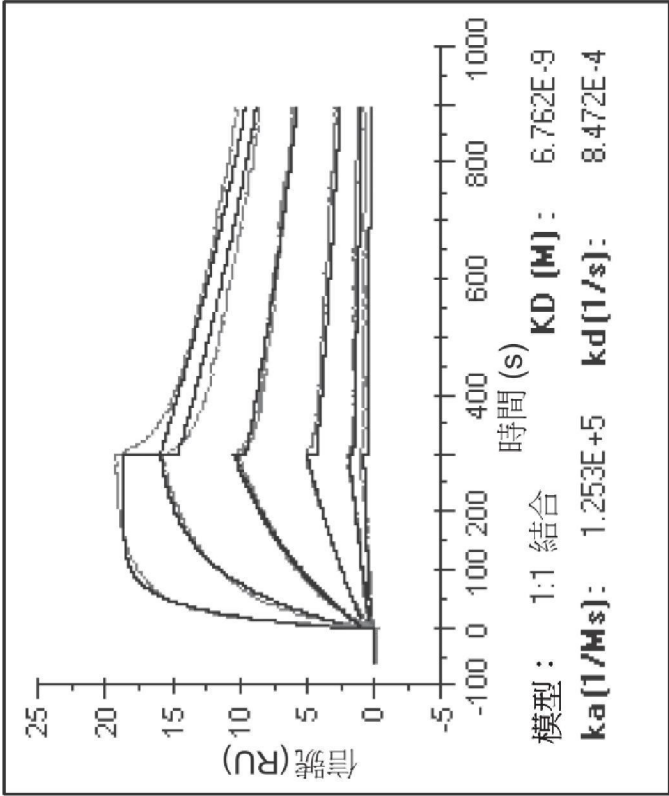
【圖15】

1G7.v85 TDB
Hu FcRH5

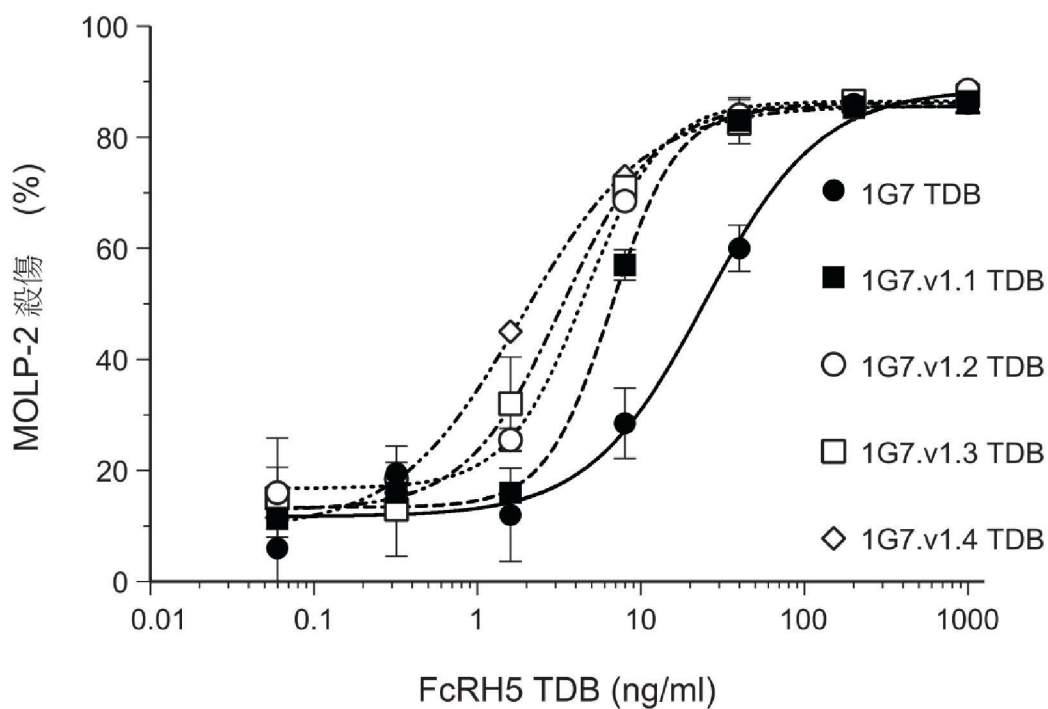


【圖16A】

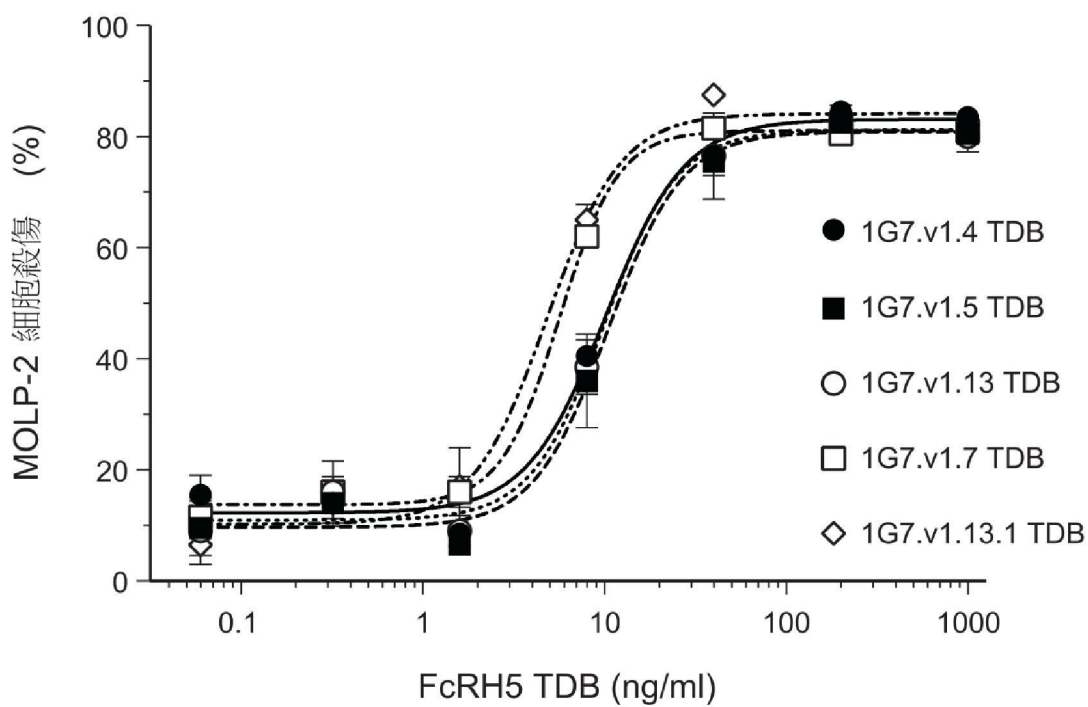
1G7.v85 TDB
獼猴 FcRH5



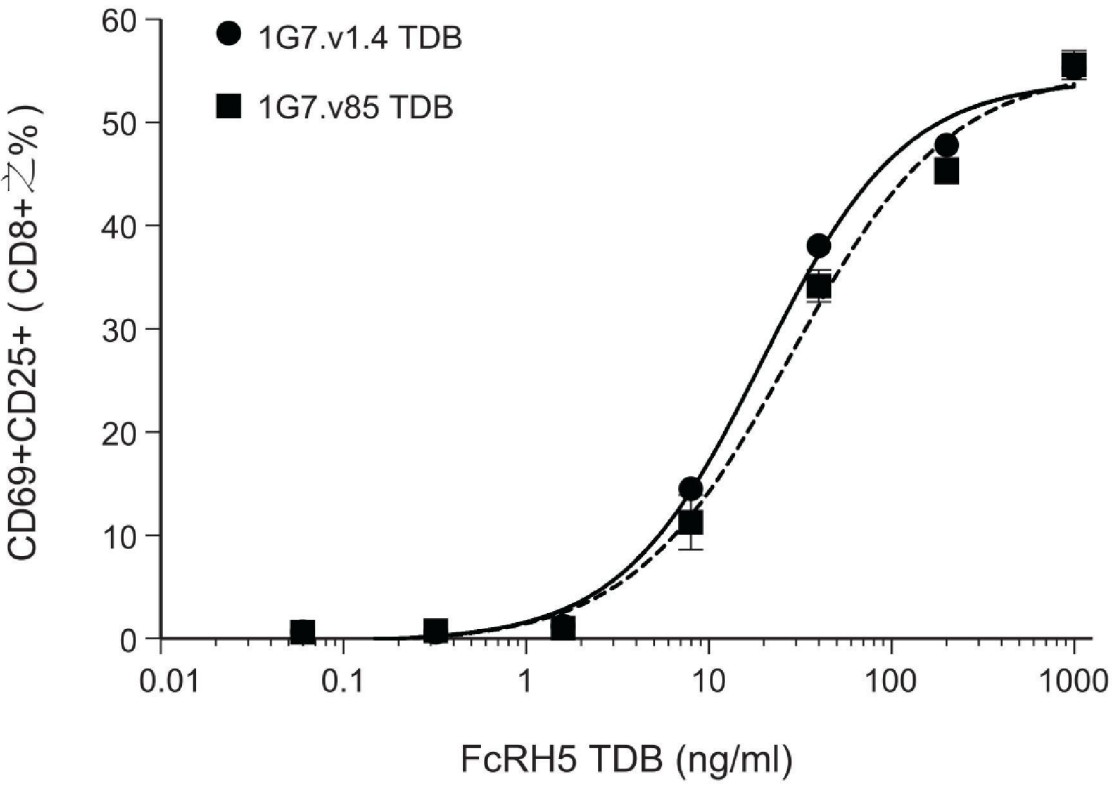
【圖16B】



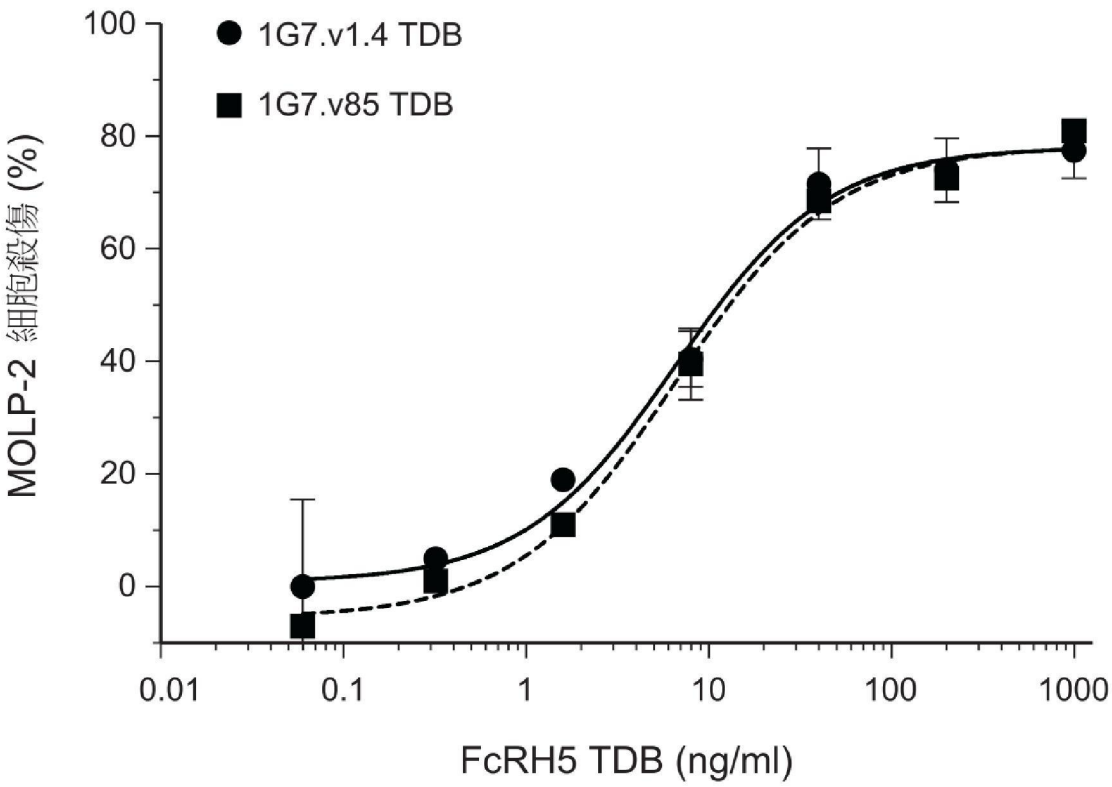
【圖17A】



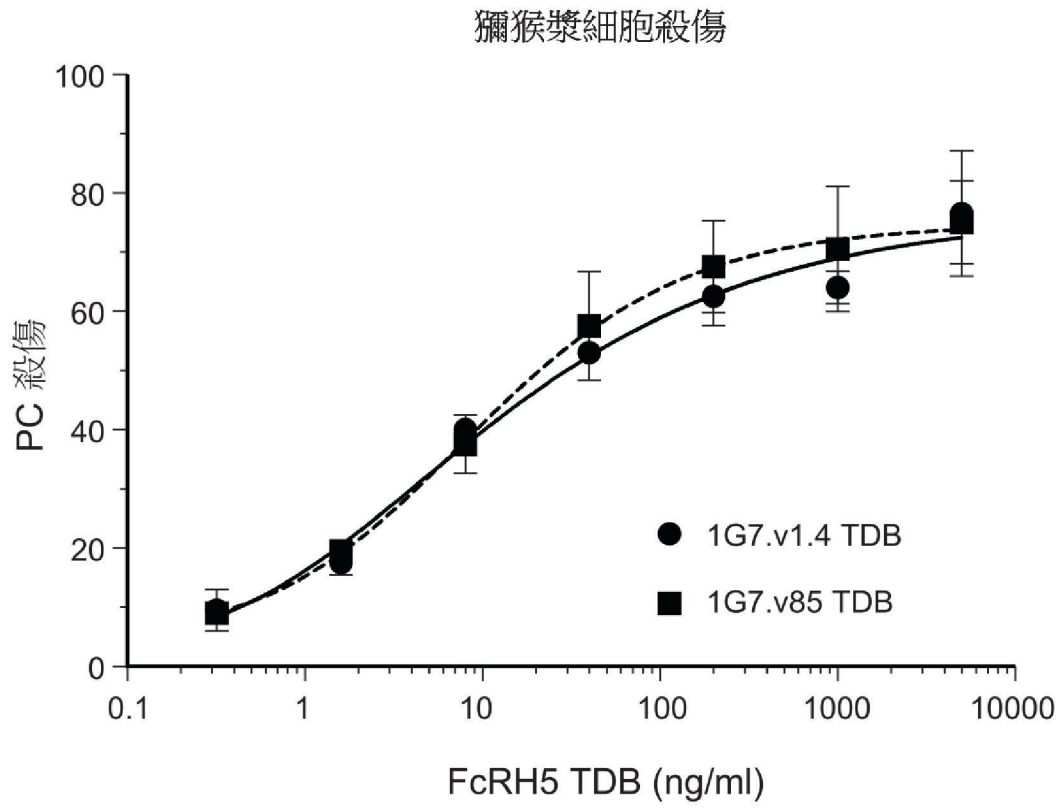
【圖17B】



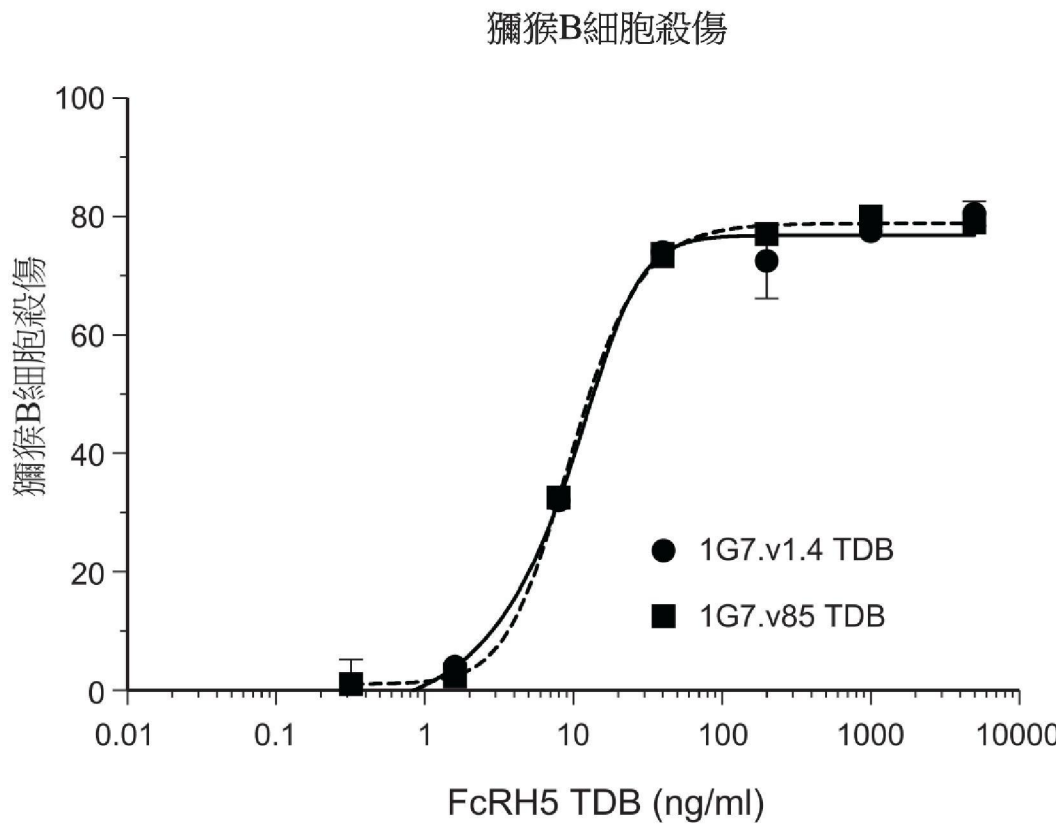
【圖18A】



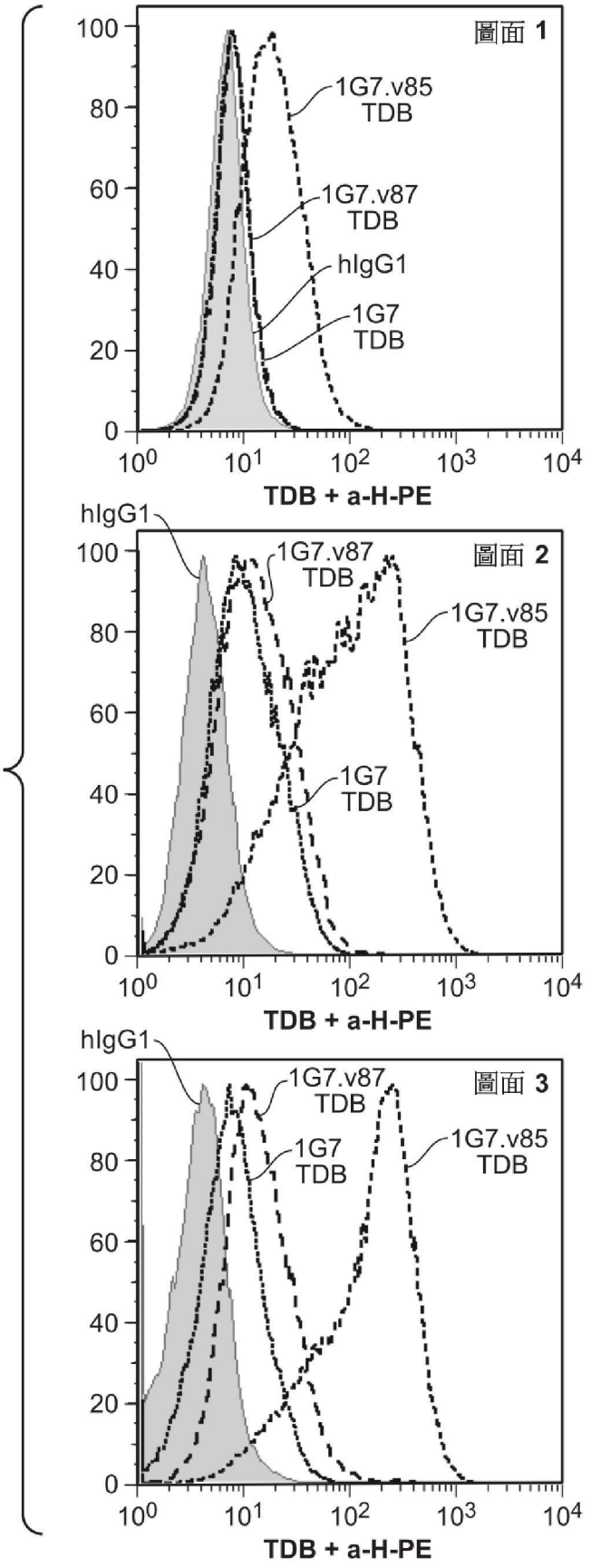
【圖18B】



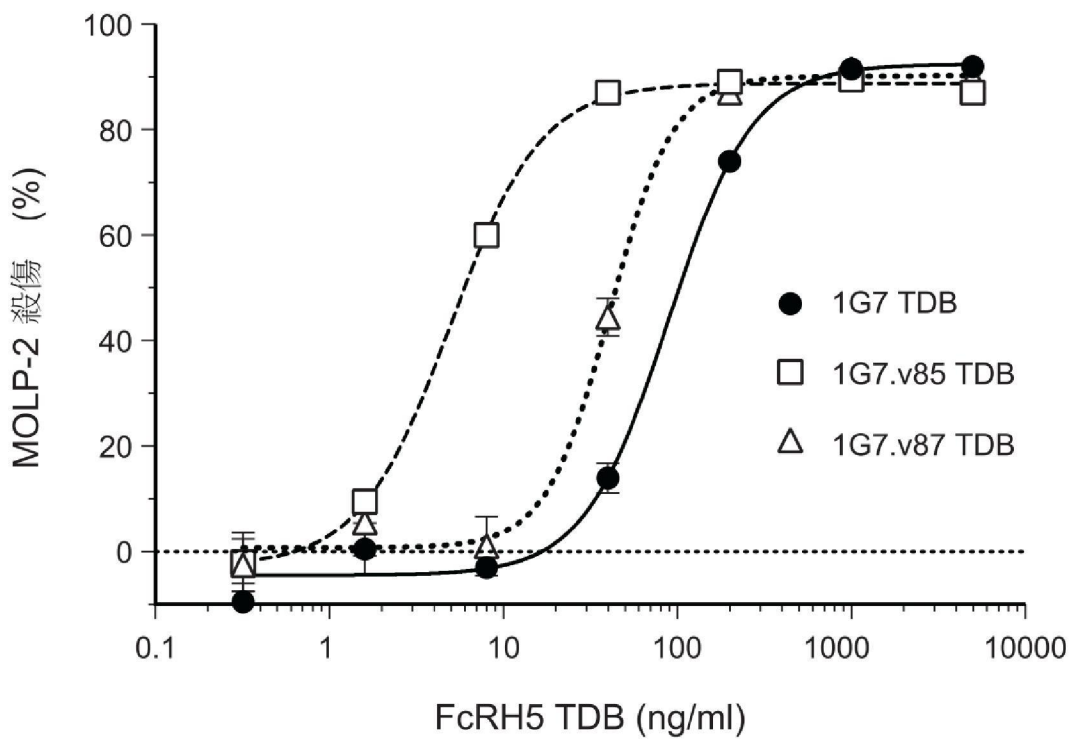
【圖18C】



【圖18D】

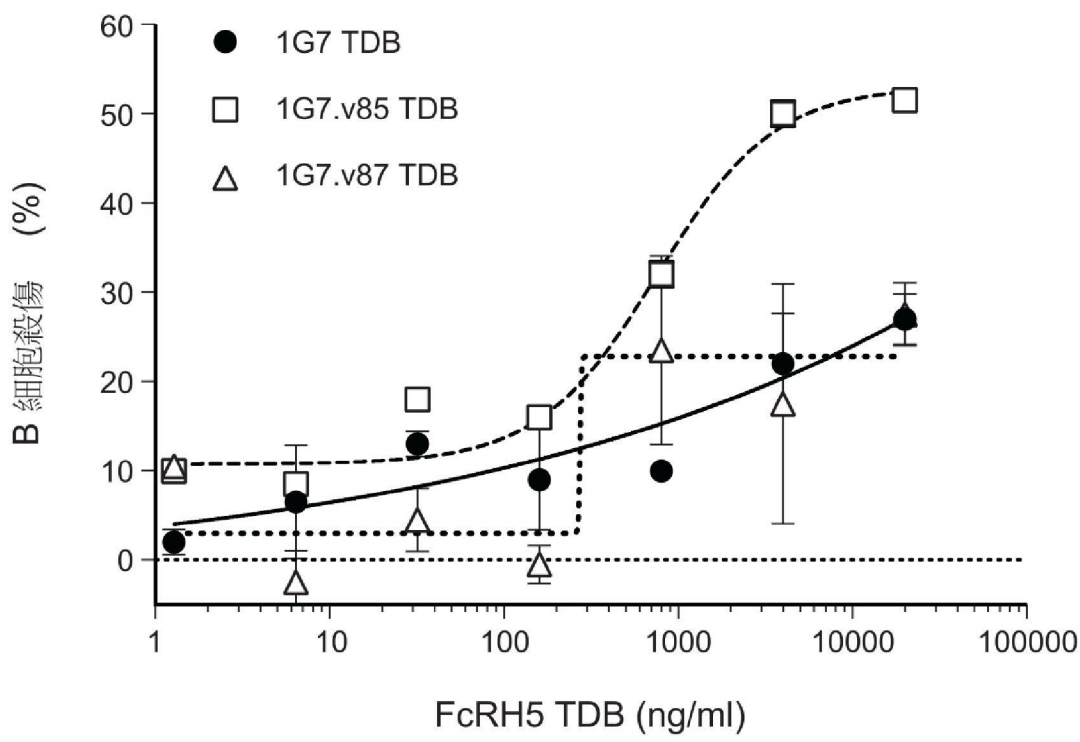


【圖19A】

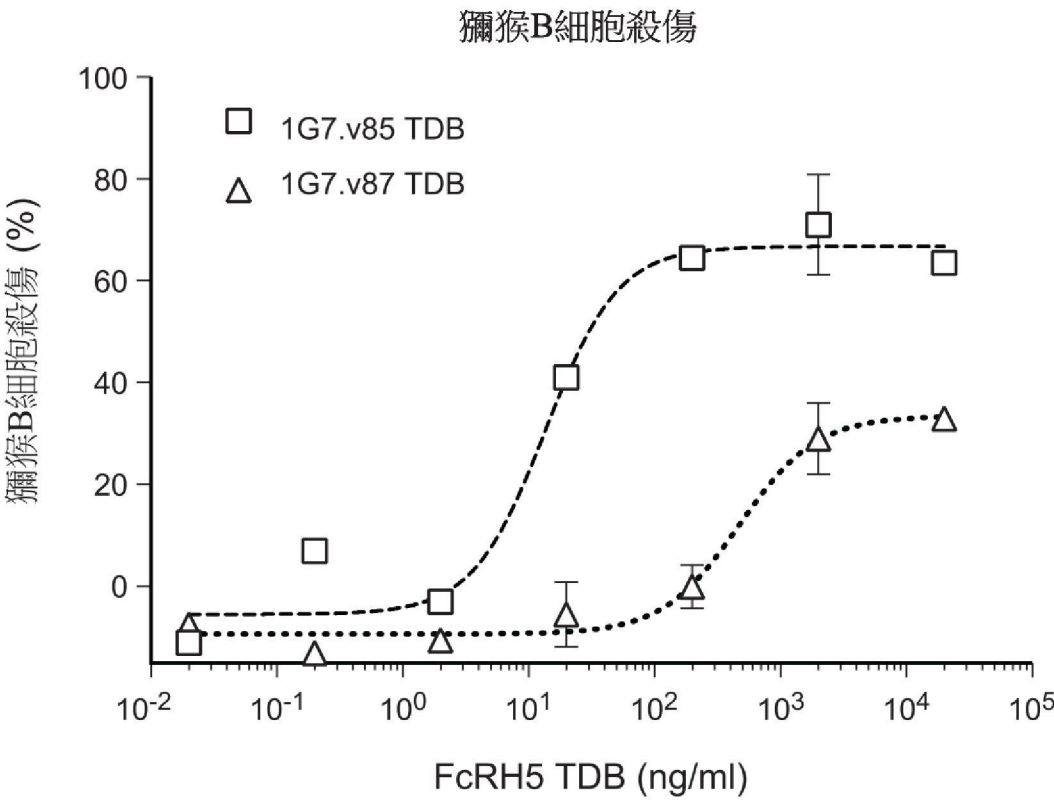


【圖19B】

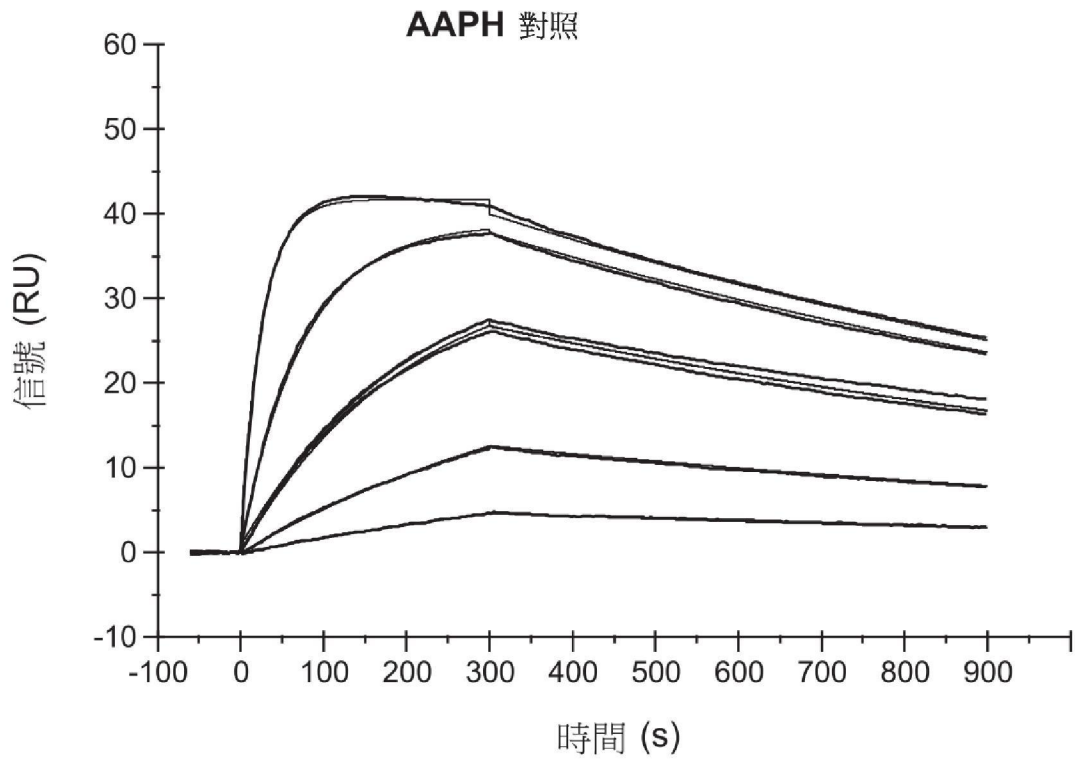
人B細胞殺傷



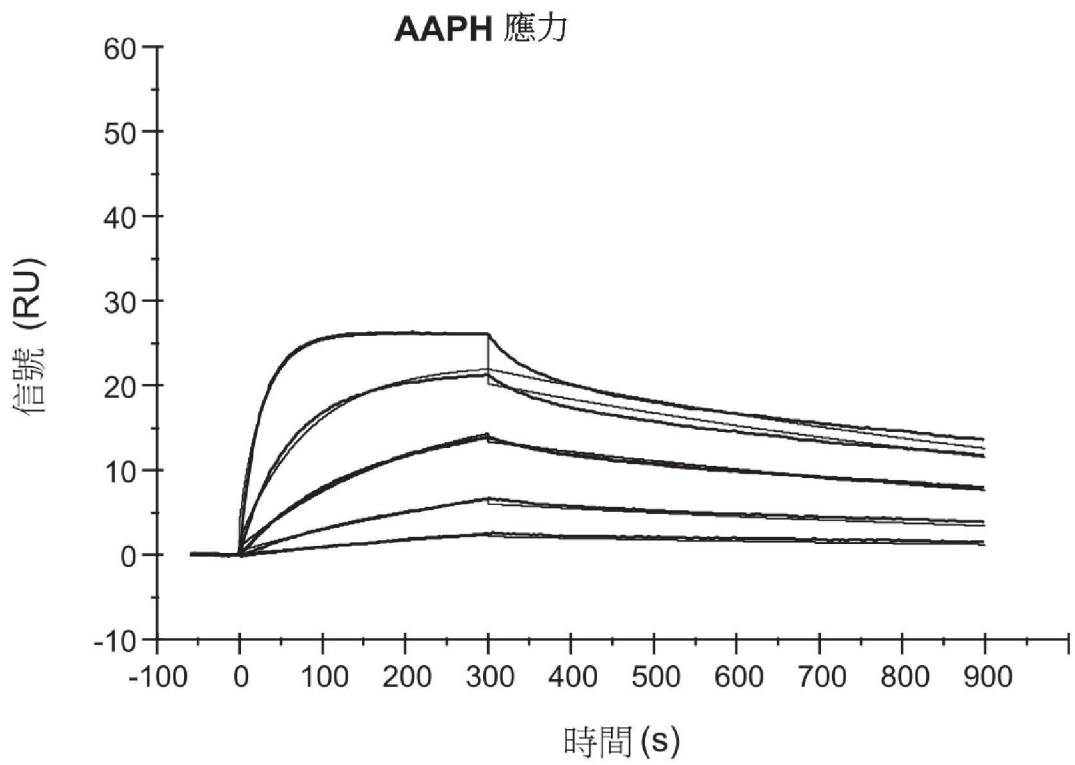
【圖19C】



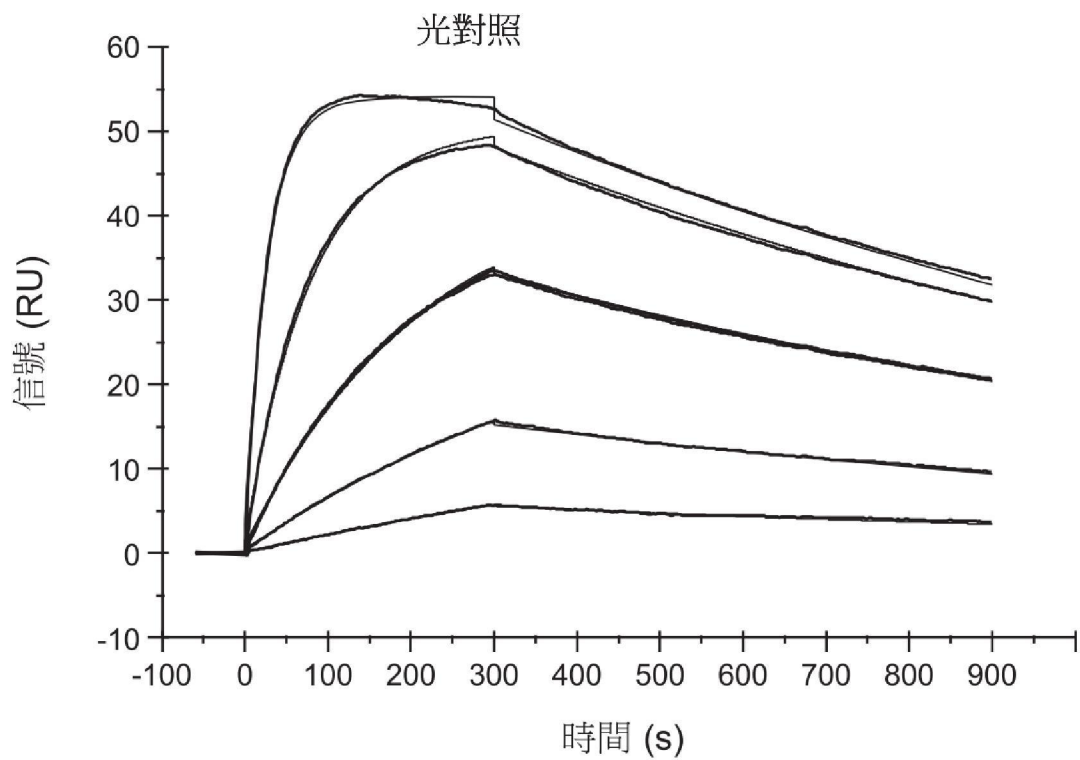
【圖19D】



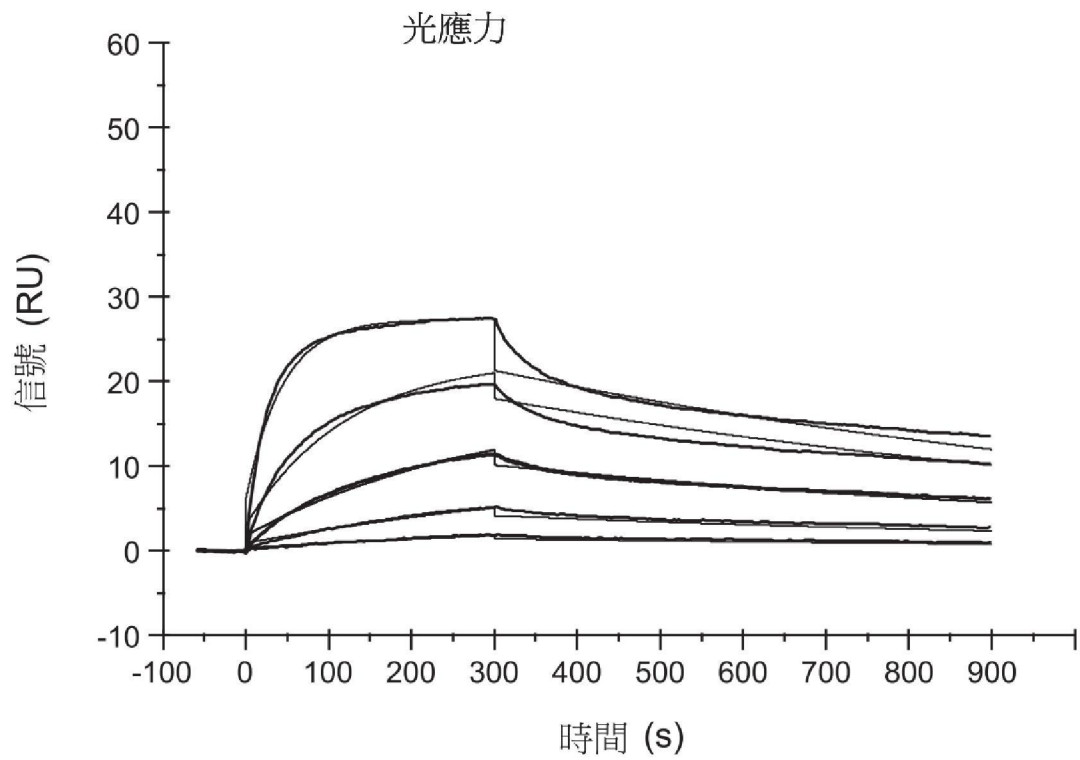
【圖20A】



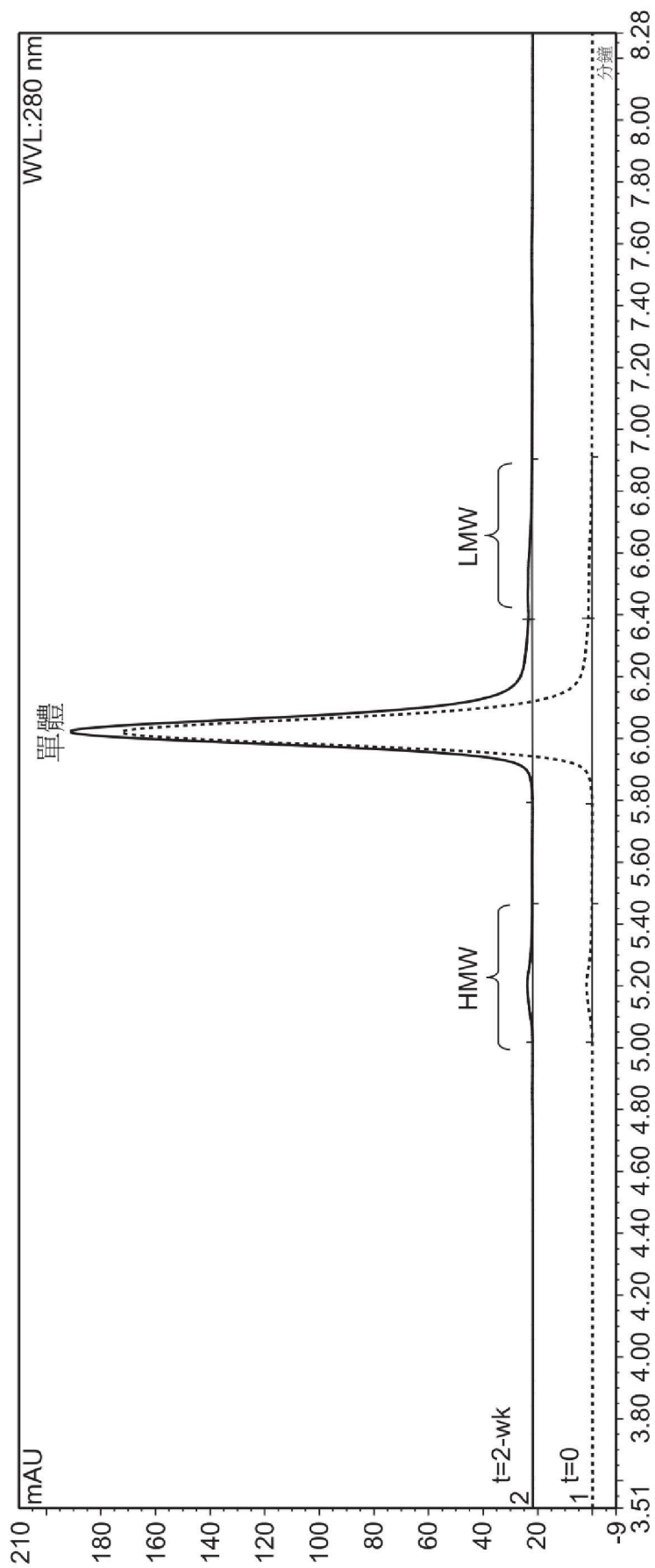
【圖20B】



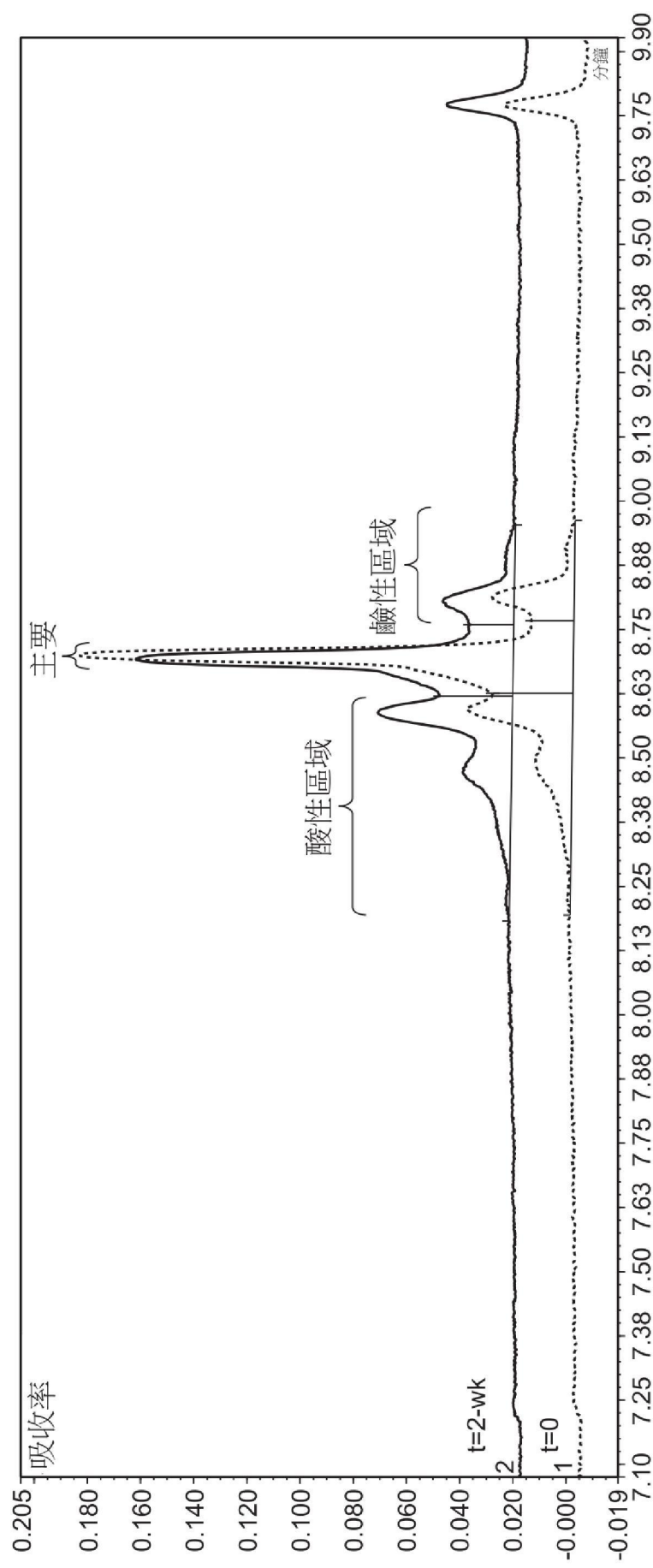
【圖20C】



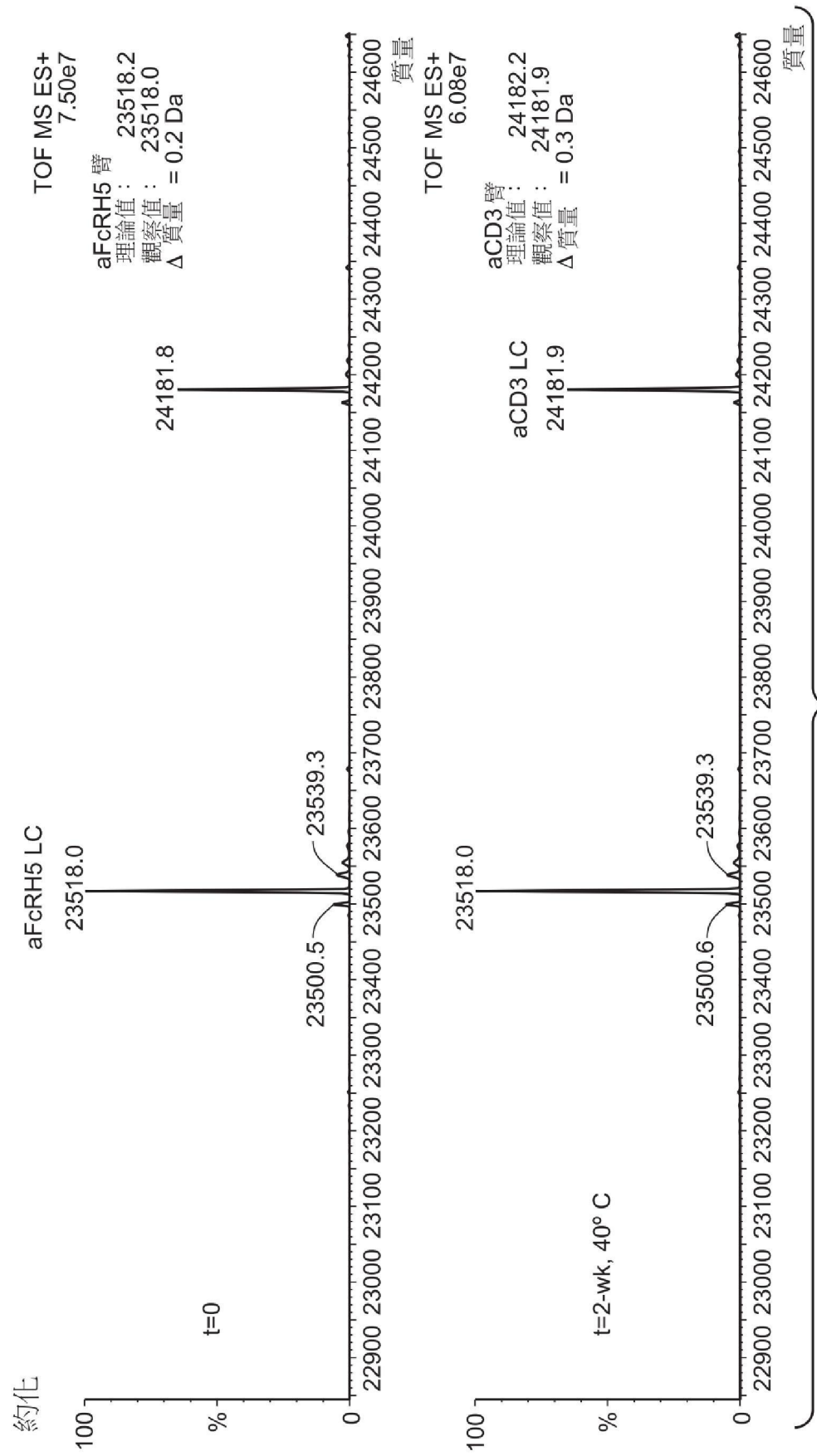
【圖20D】



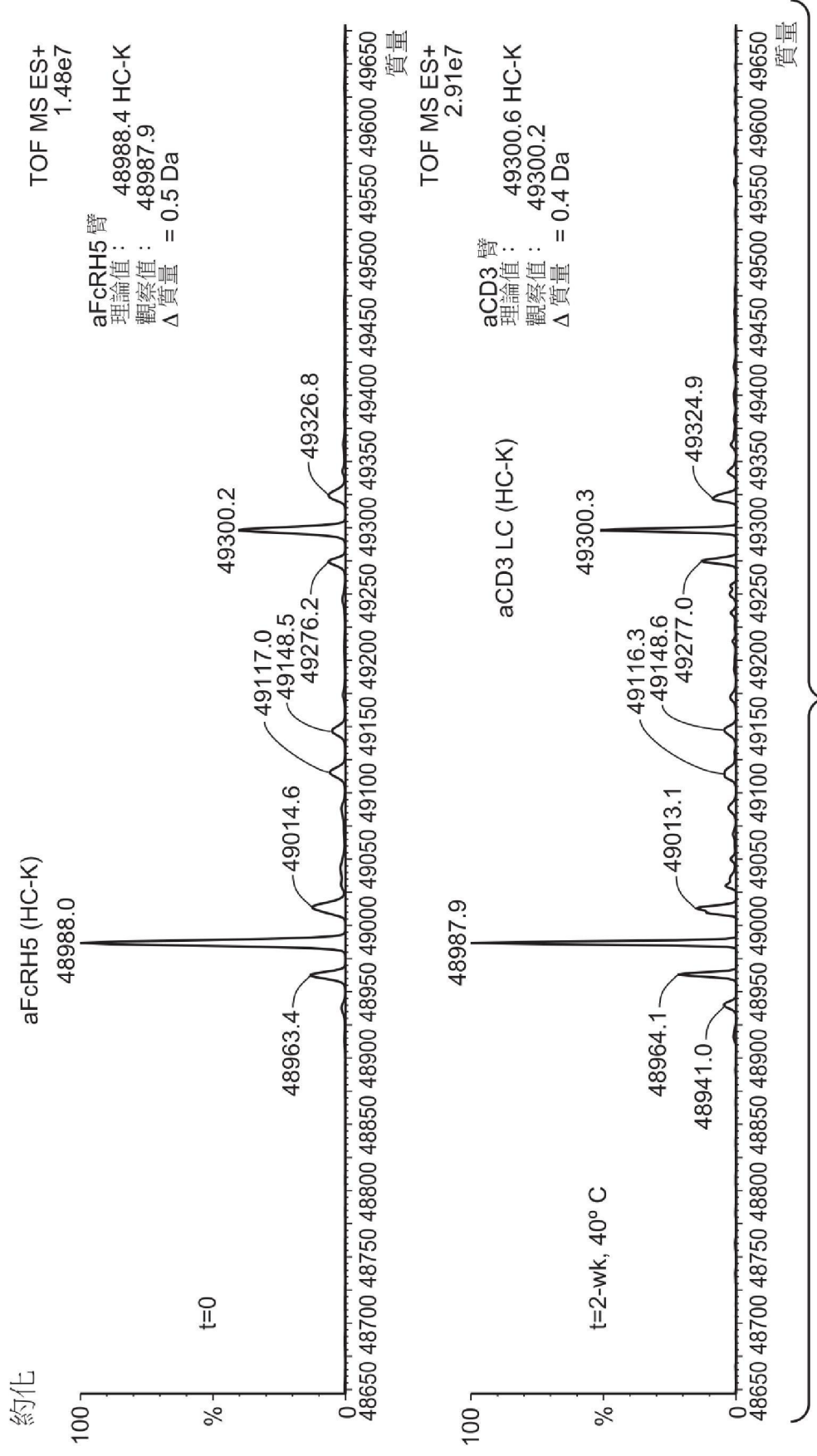
【圖21A】



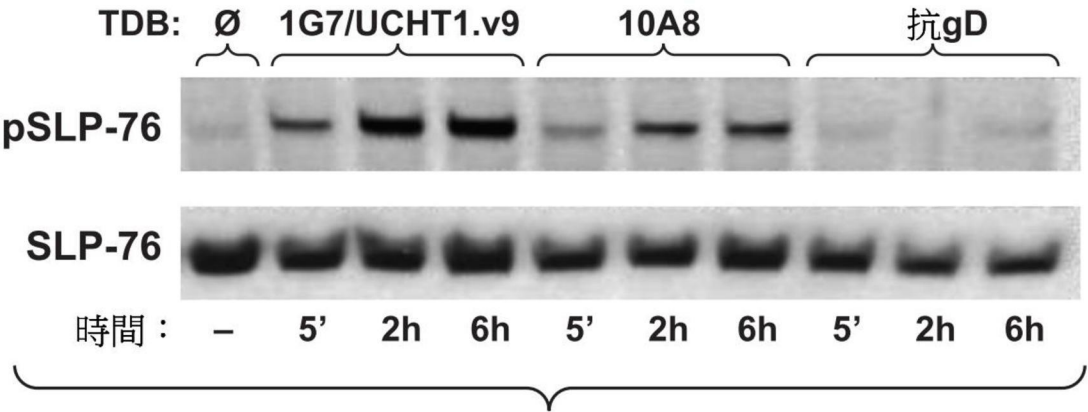
【圖21B】



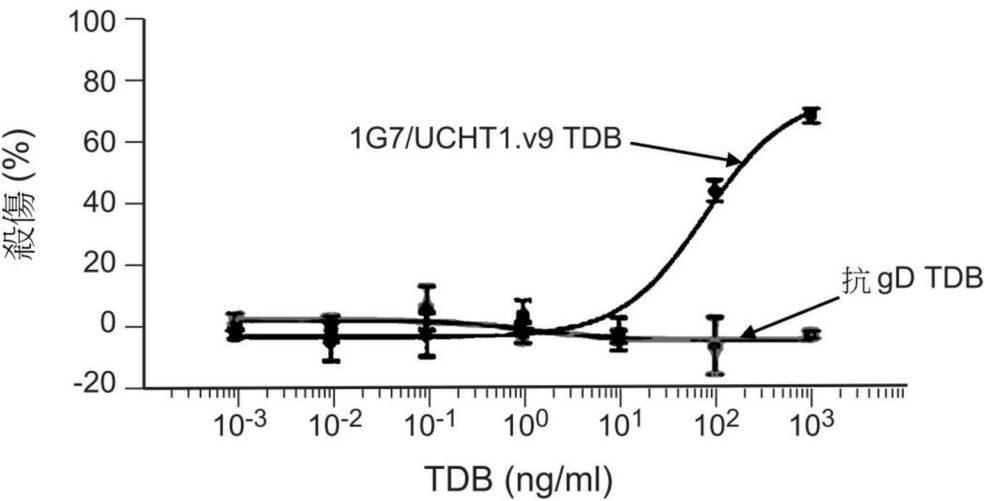
【圖22A】



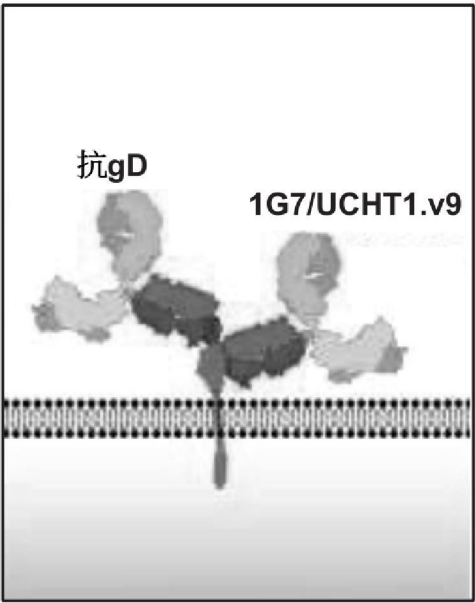
【圖22B】



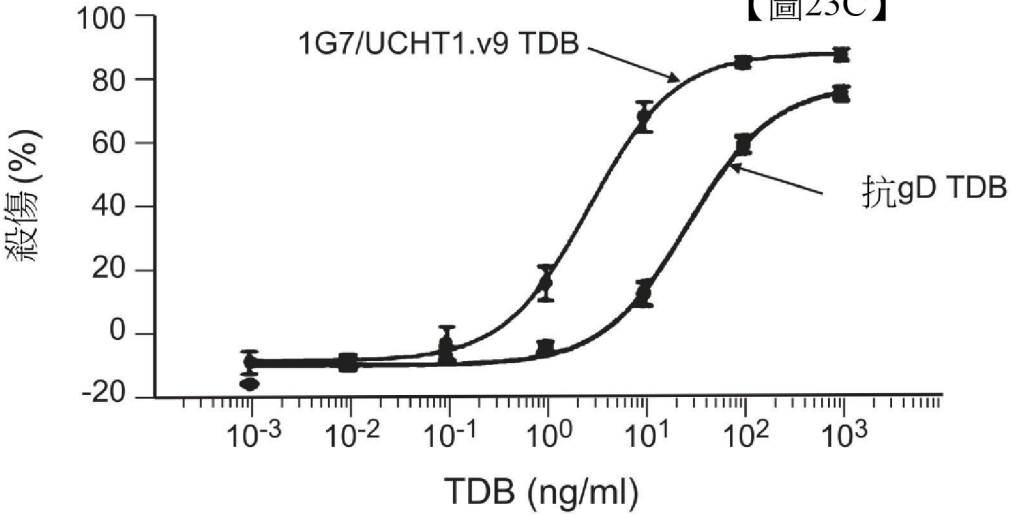
【圖23A】



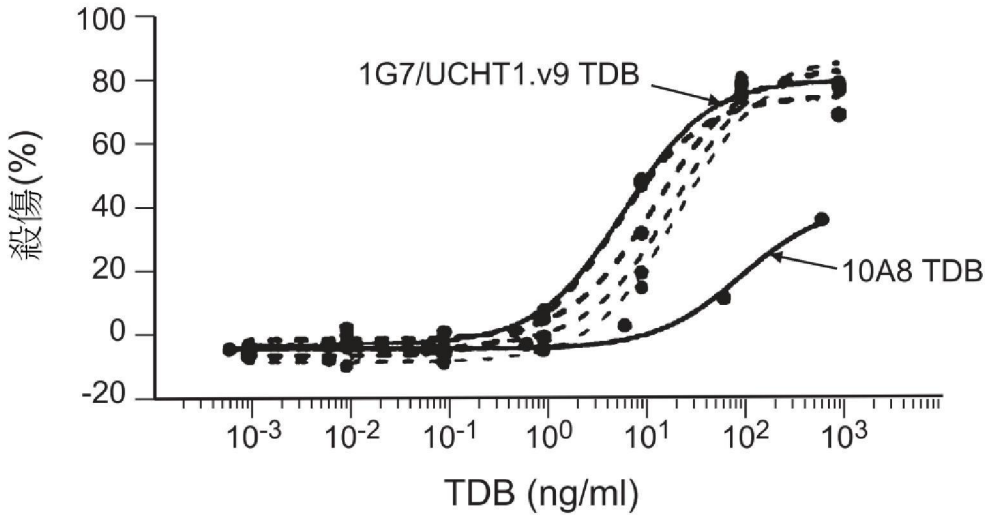
【圖23B】



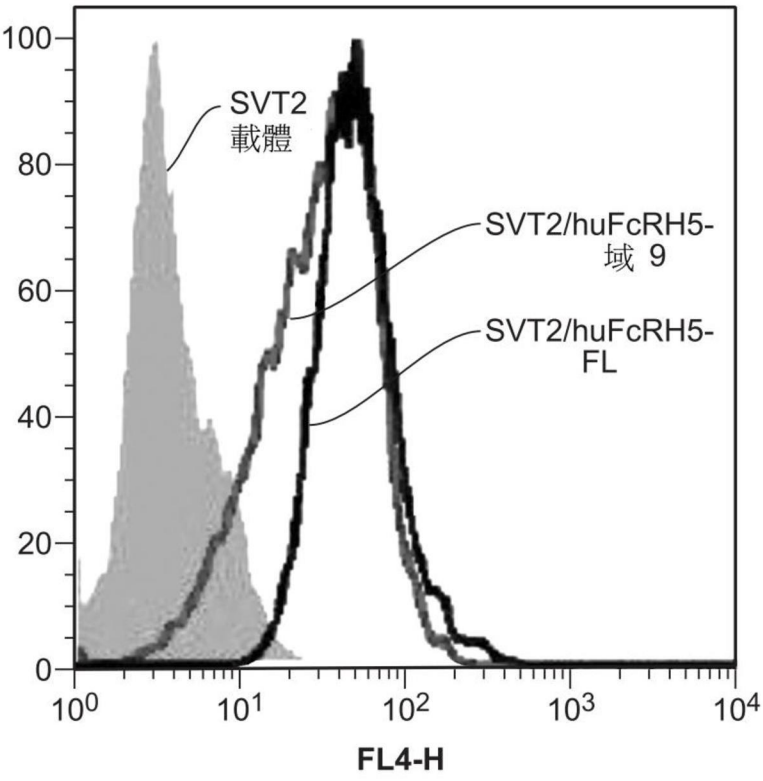
【圖23C】



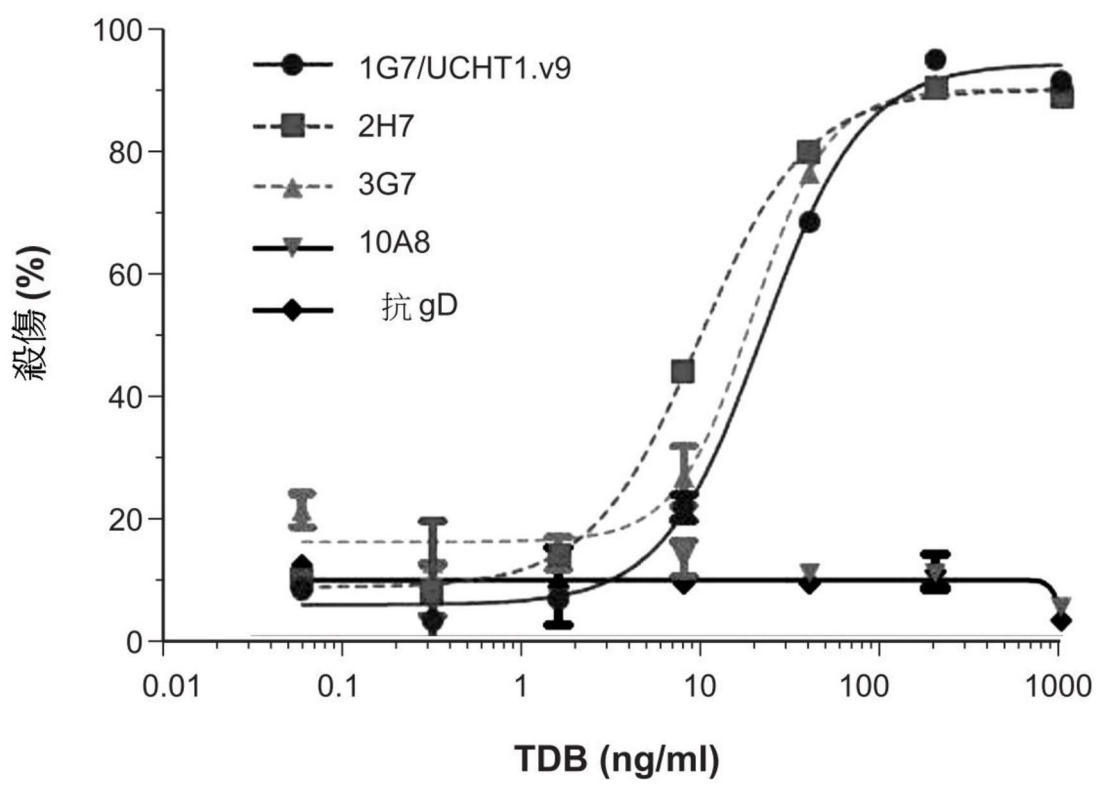
【圖23D】



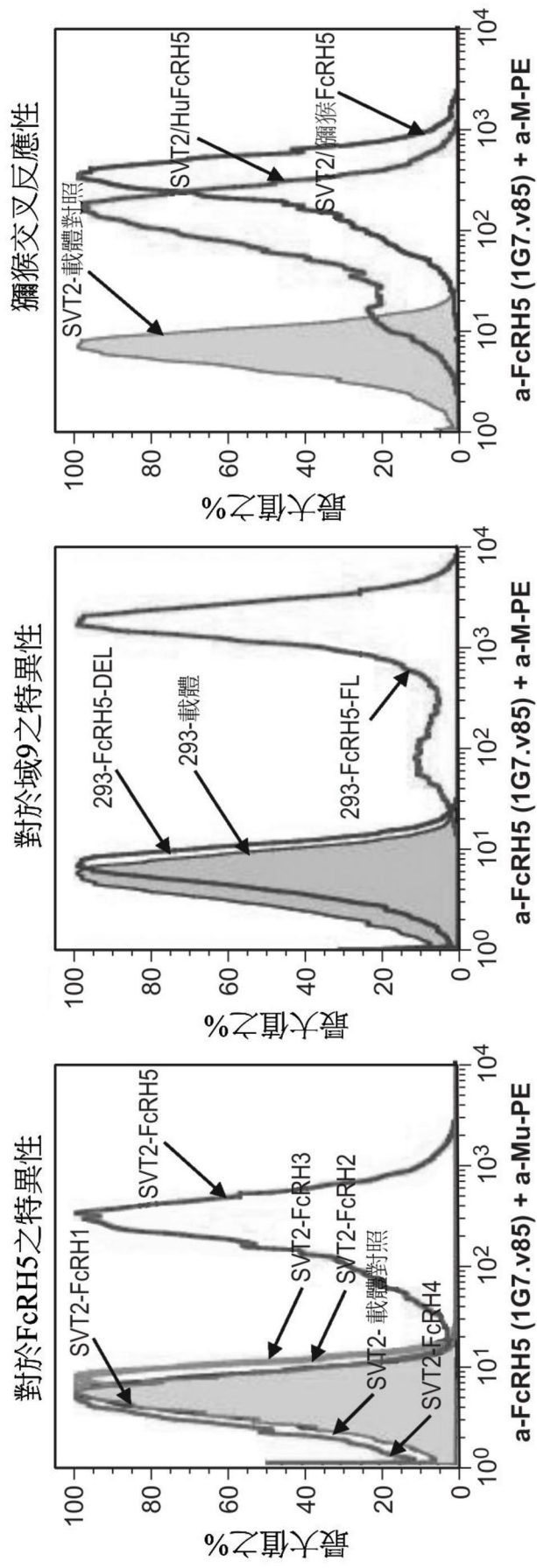
【圖23E】



【圖24A】



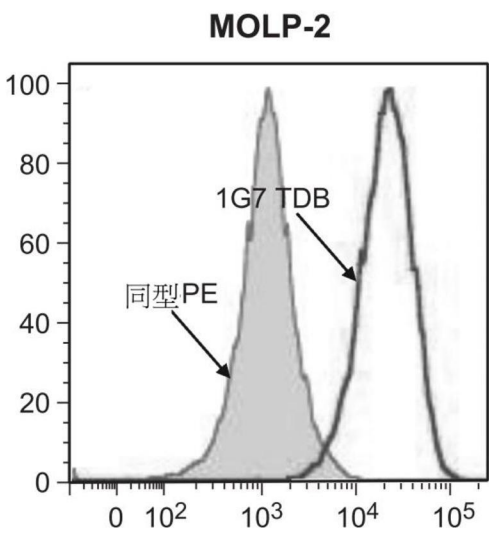
【圖24B】



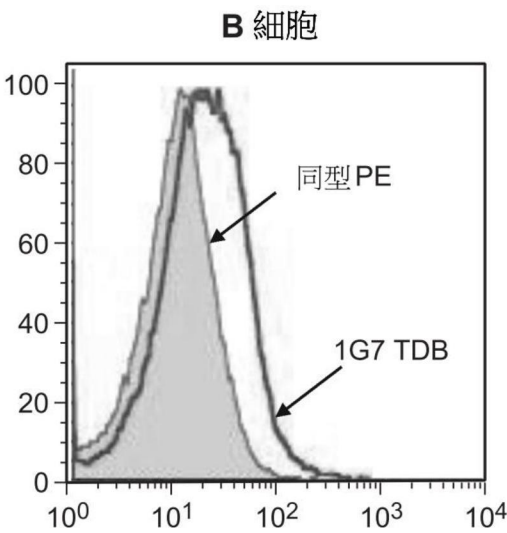
【圖25A】

【圖25B】

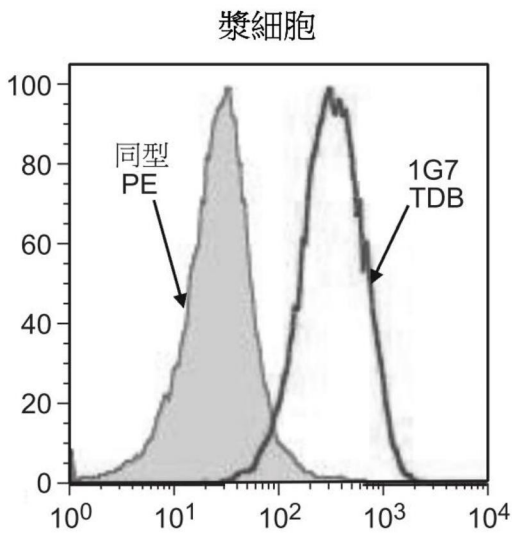
【圖25C】



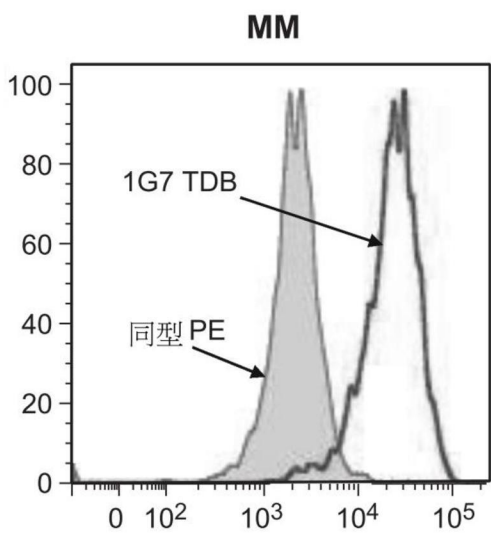
【圖26A】



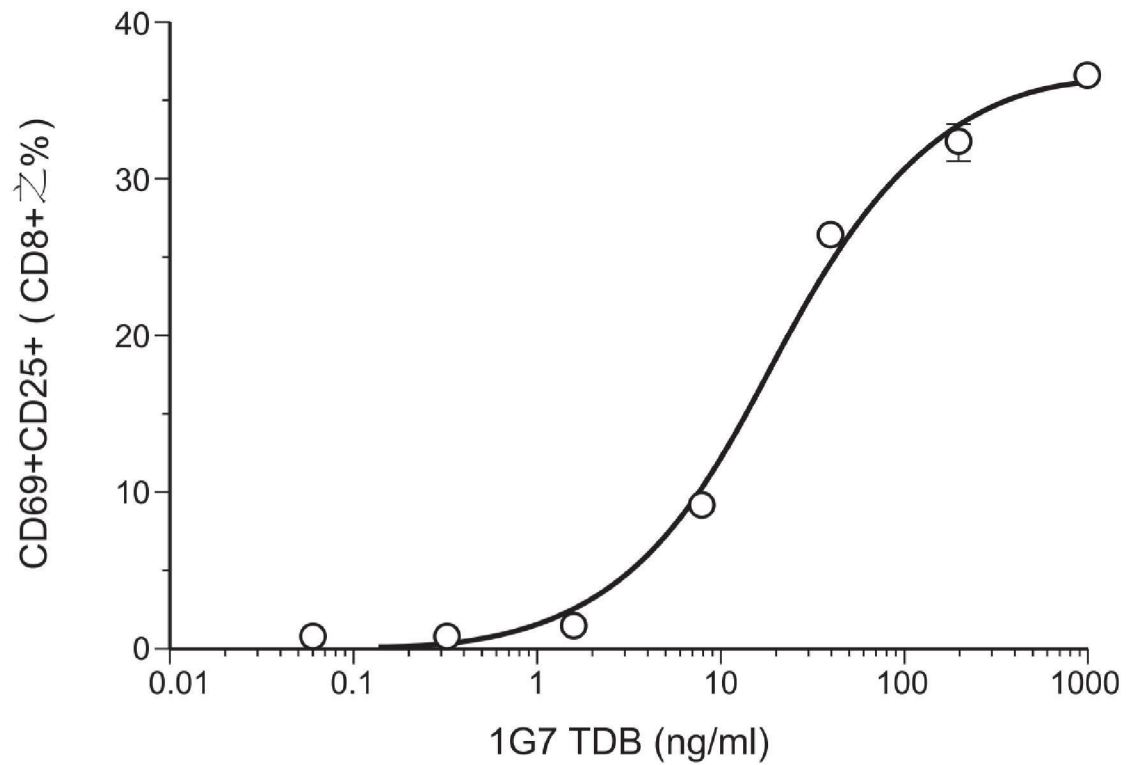
【圖26B】



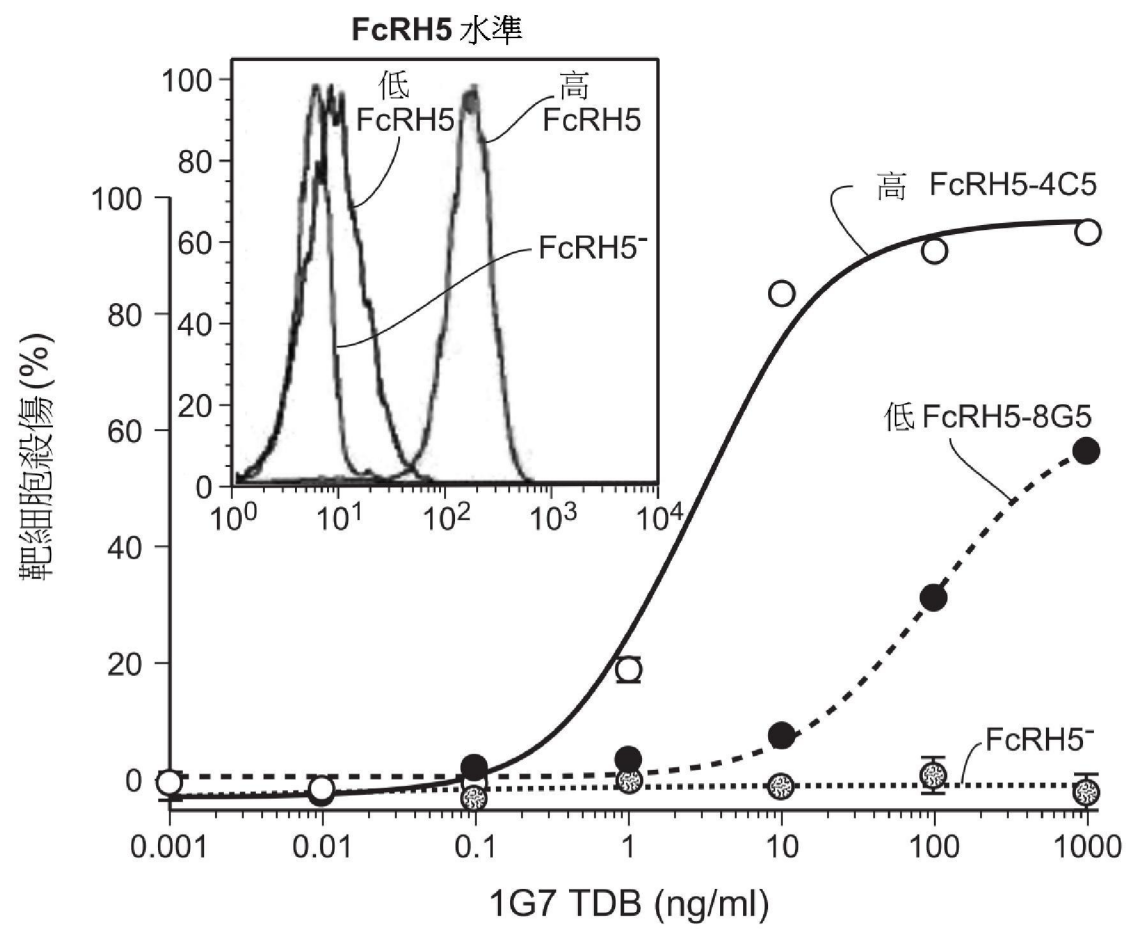
【圖26C】



【圖26D】

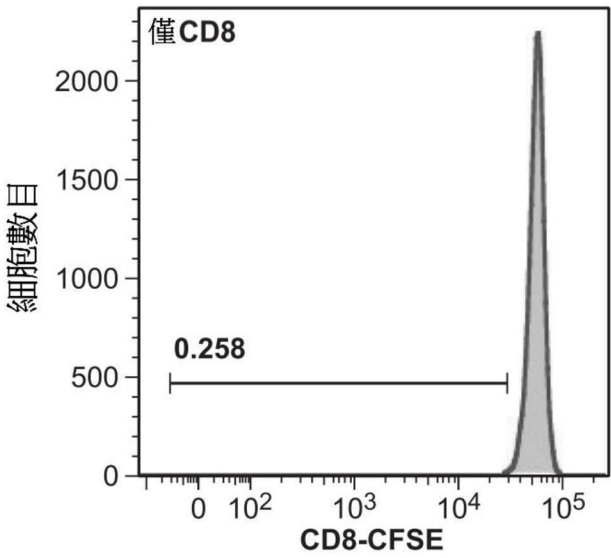


【圖27A】

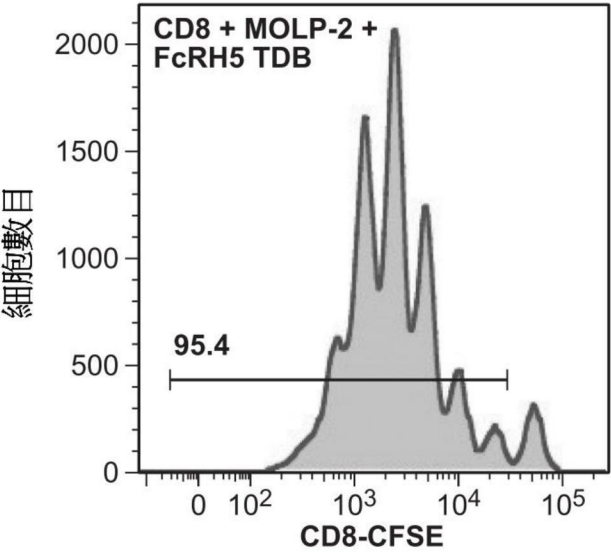
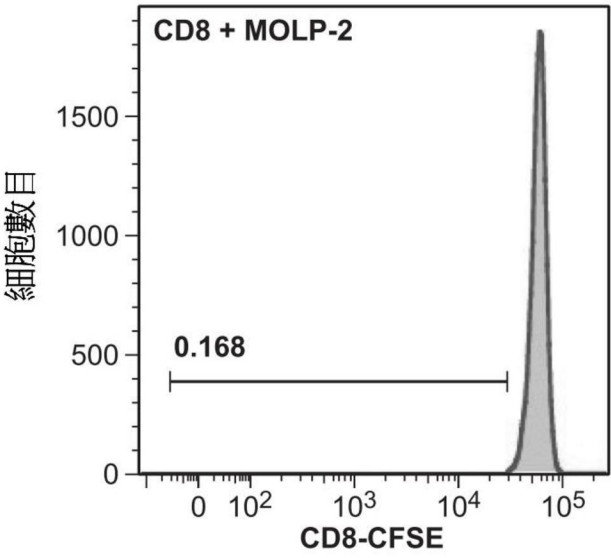


【圖27B】

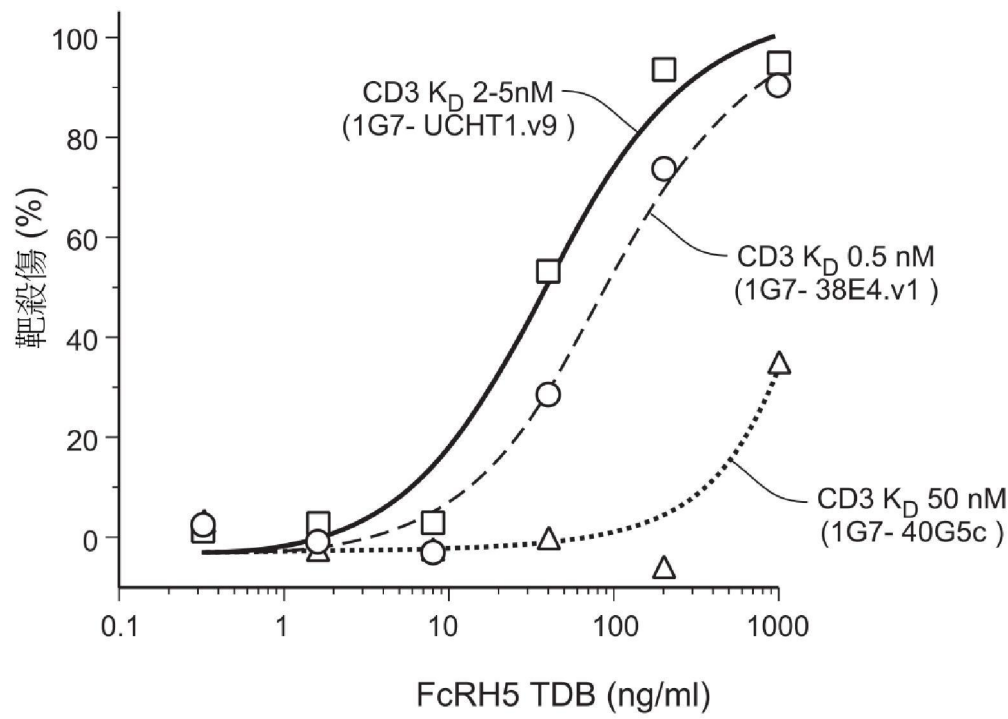
【圖27C】



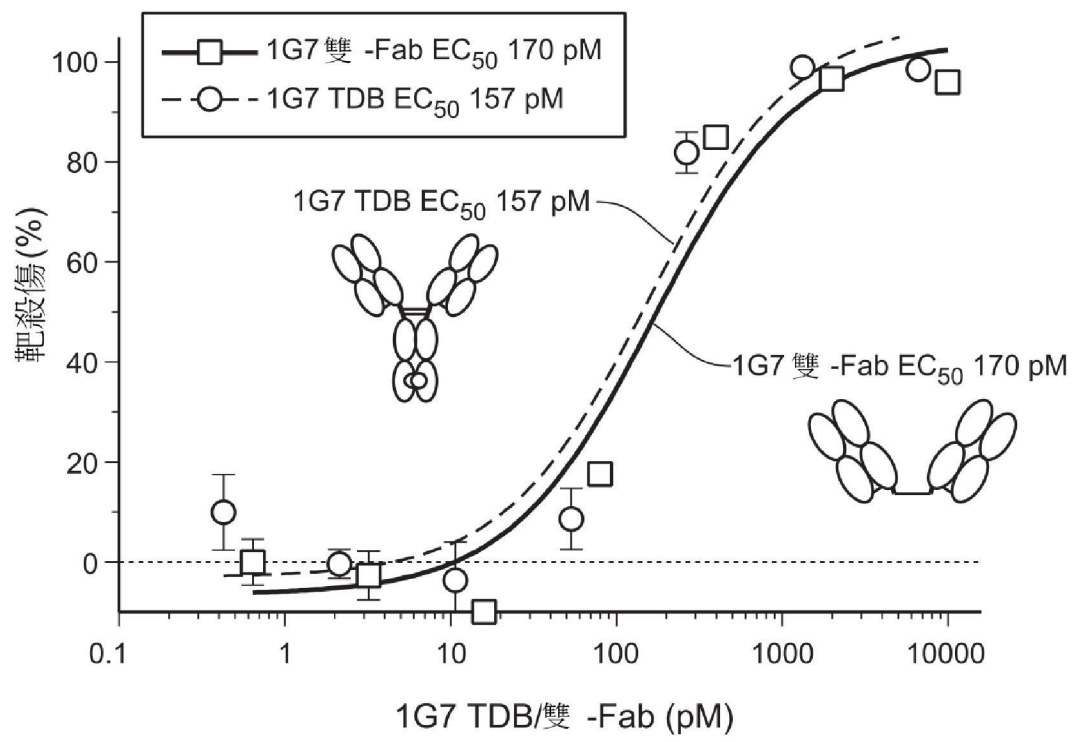
【圖27D】



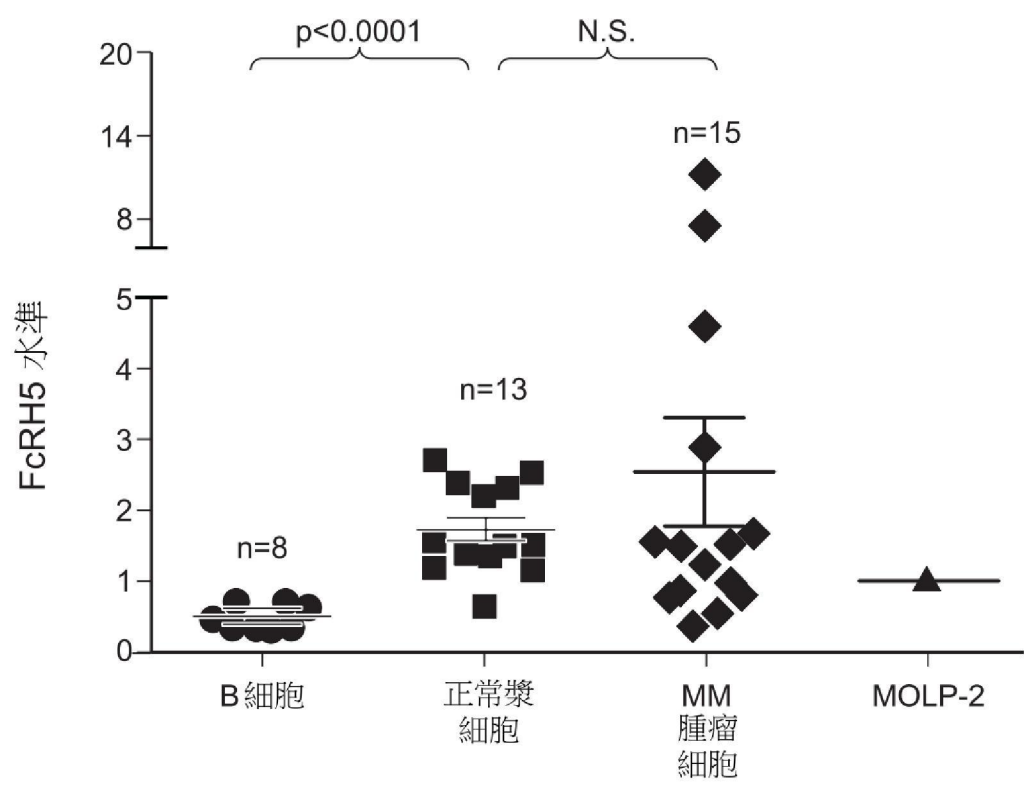
【圖27E】



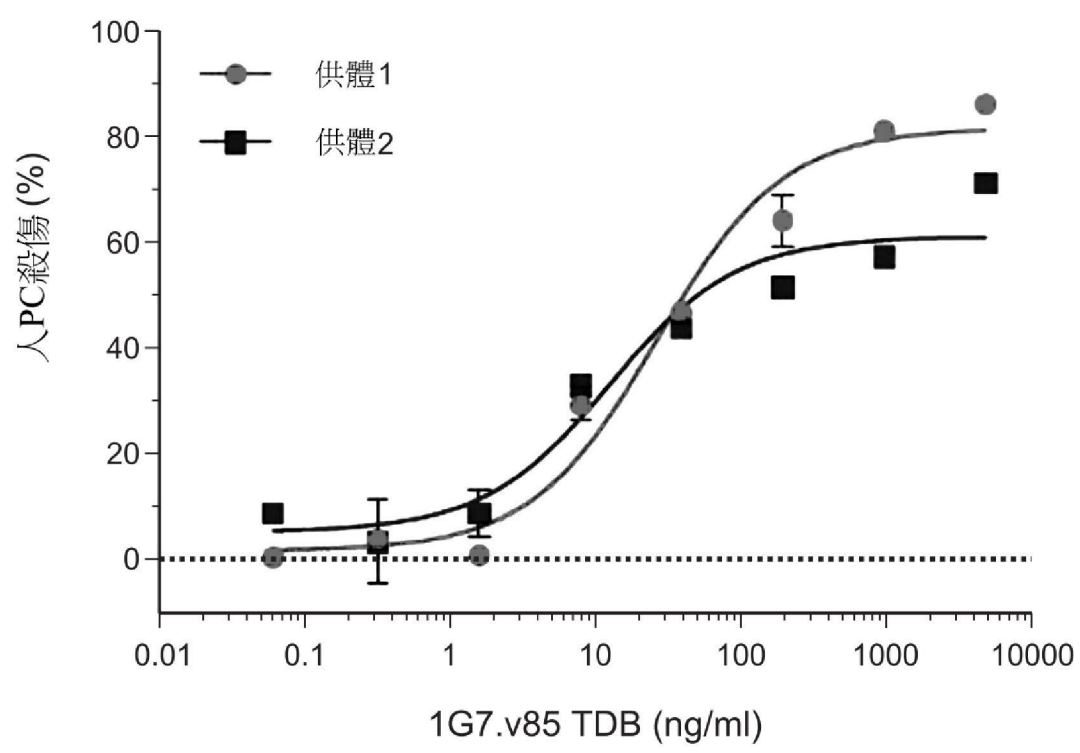
【圖27F】



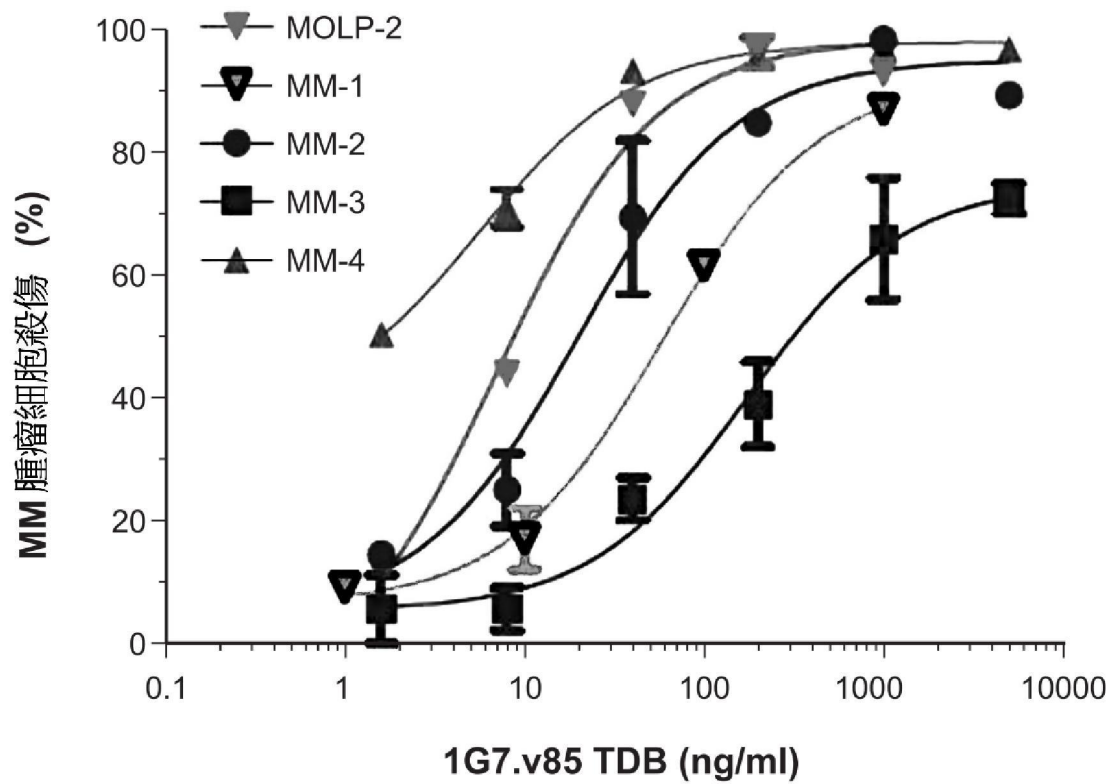
【圖27G】



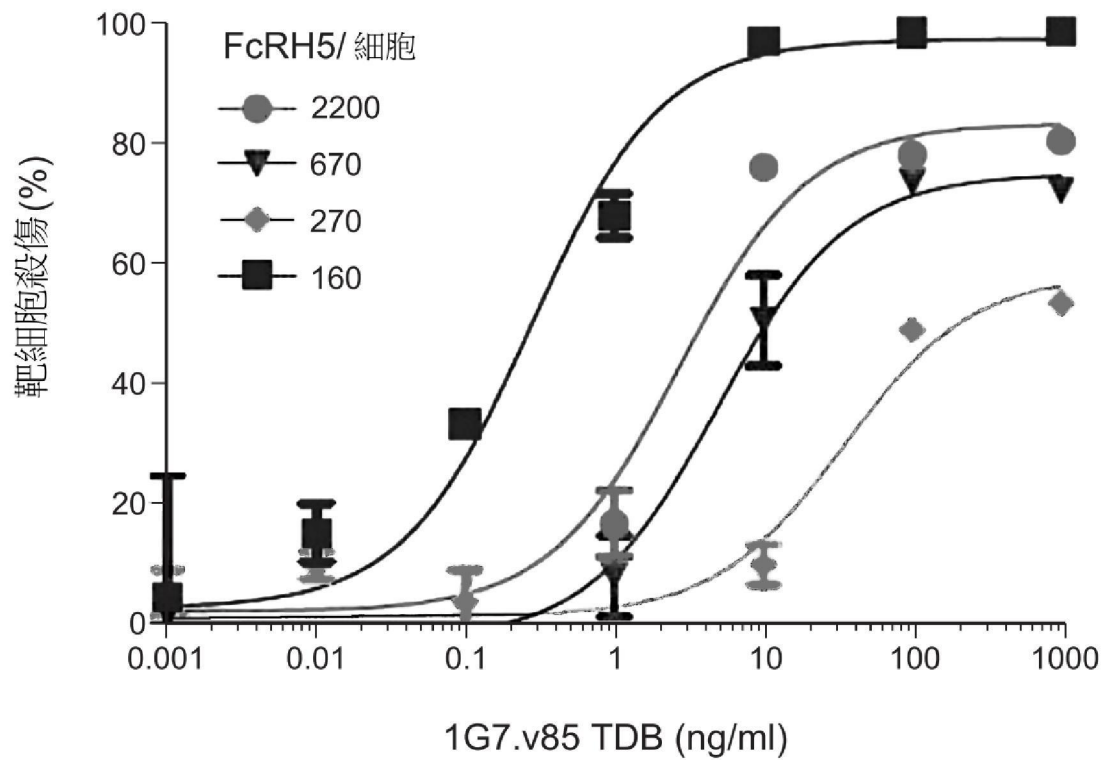
【圖28A】



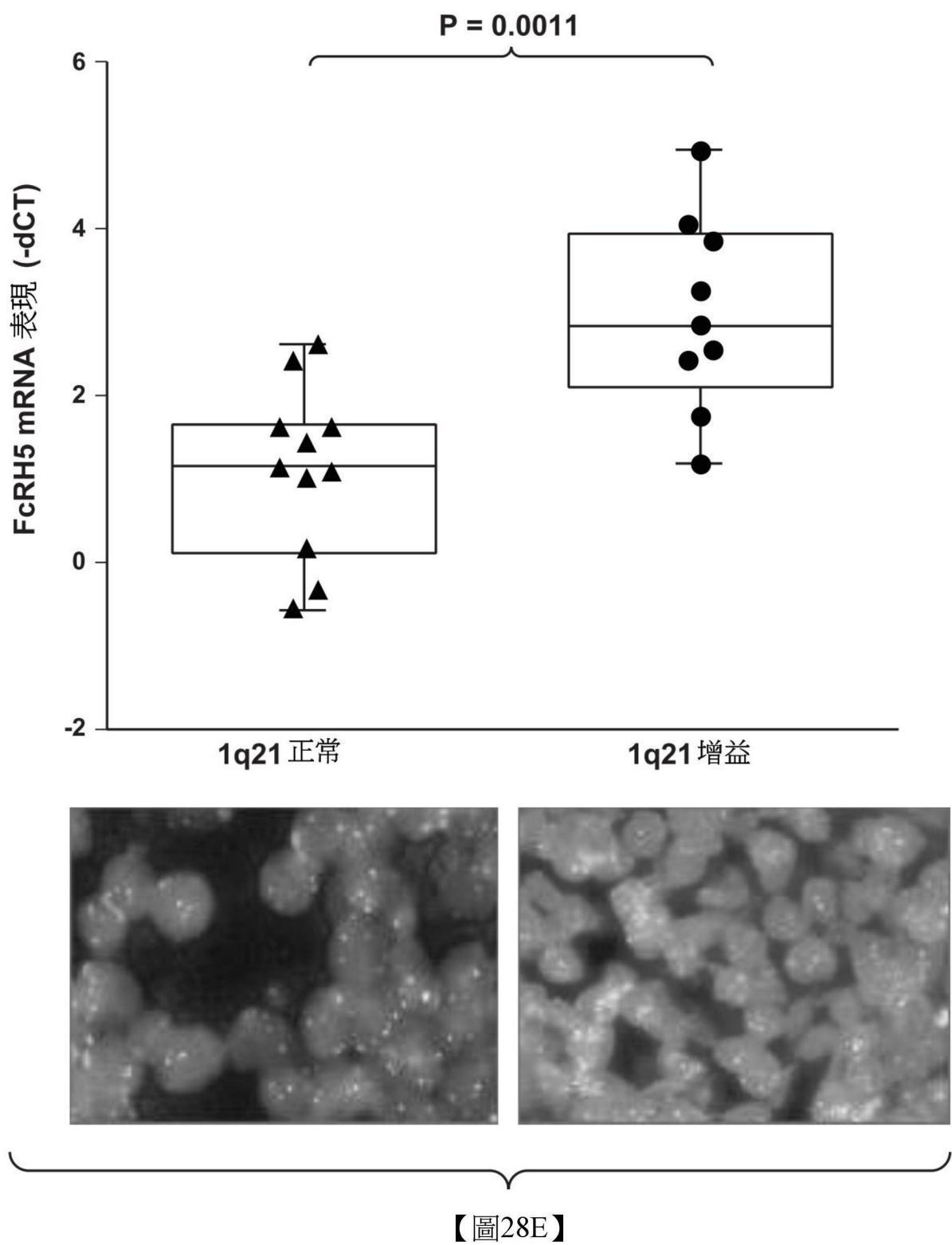
【圖28B】



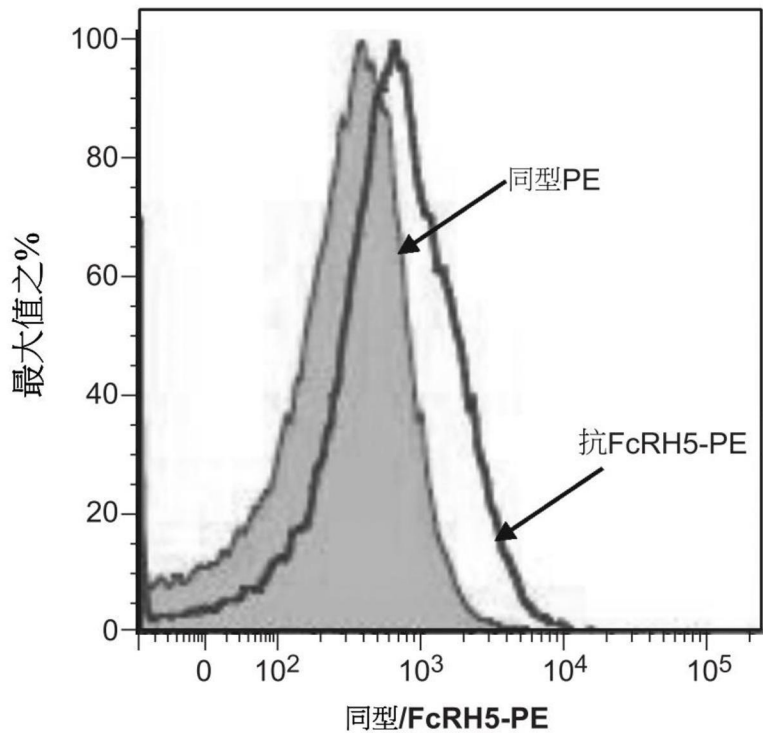
【圖28C】



【圖28D】

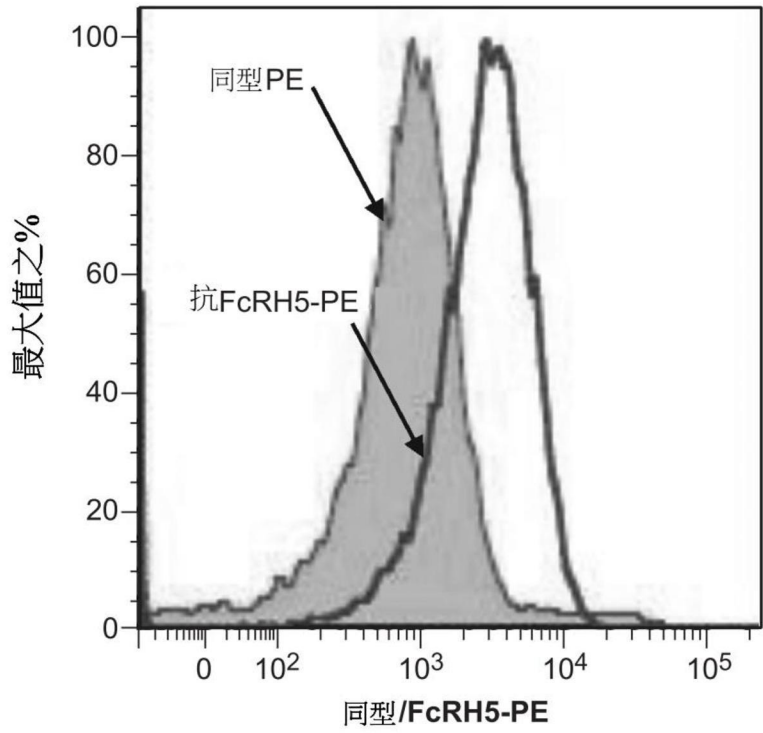


獼猴 CD20+ B 細胞

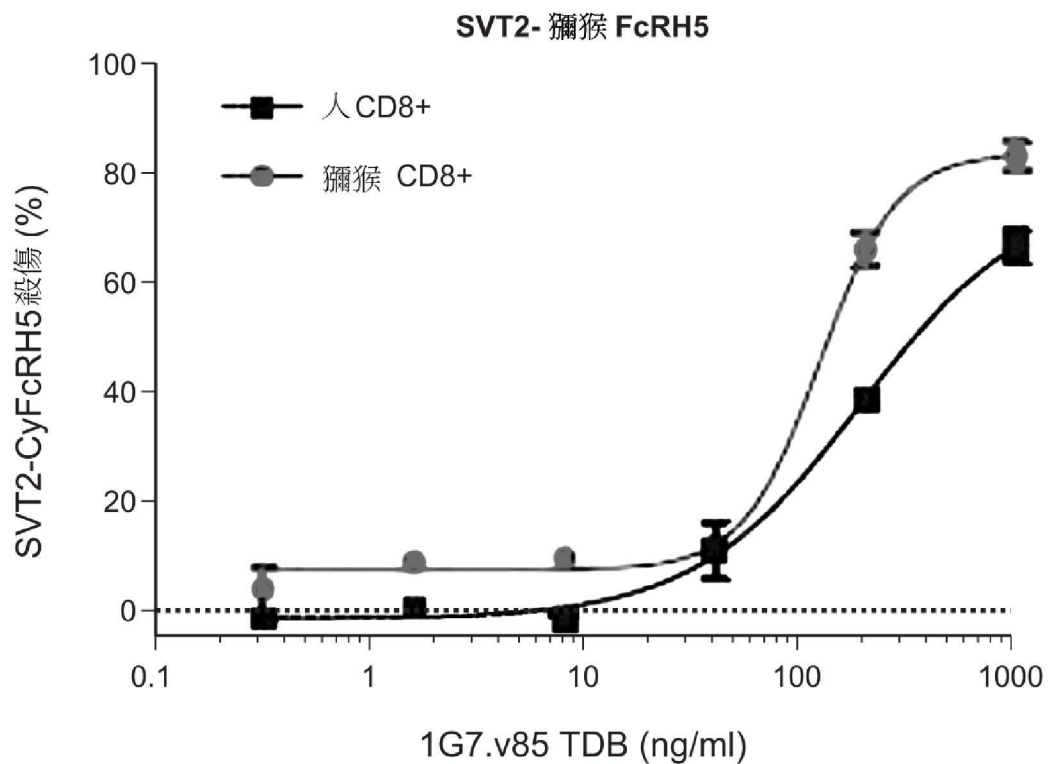


【圖29A】

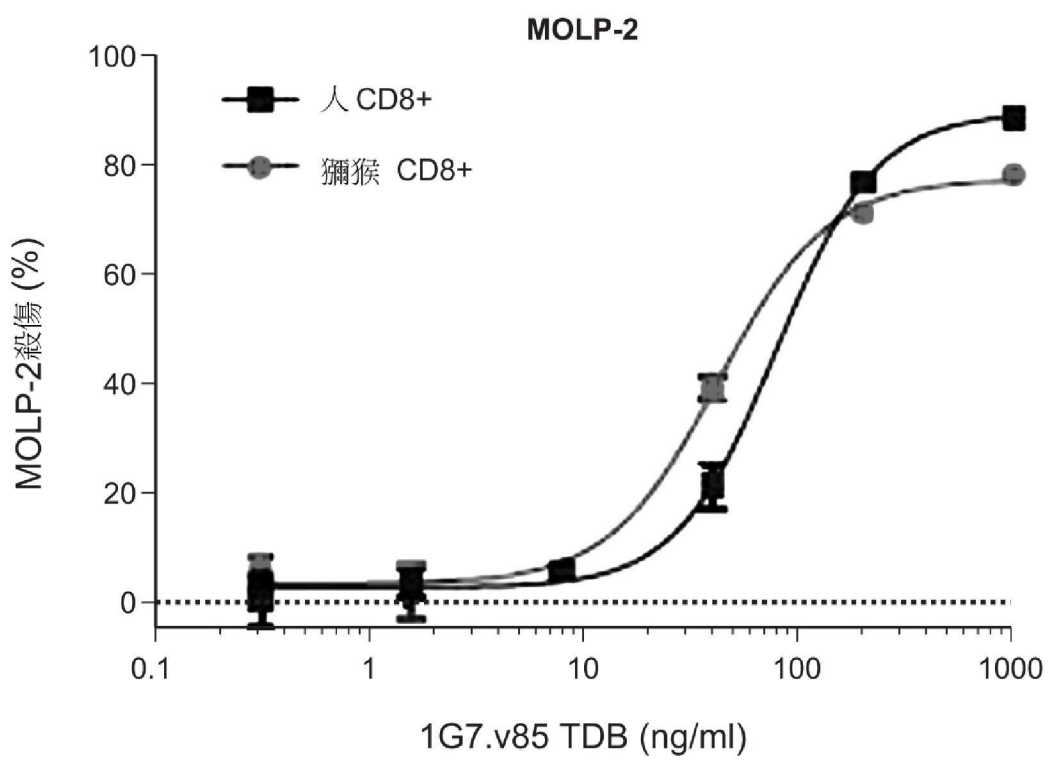
獼猴漿細胞



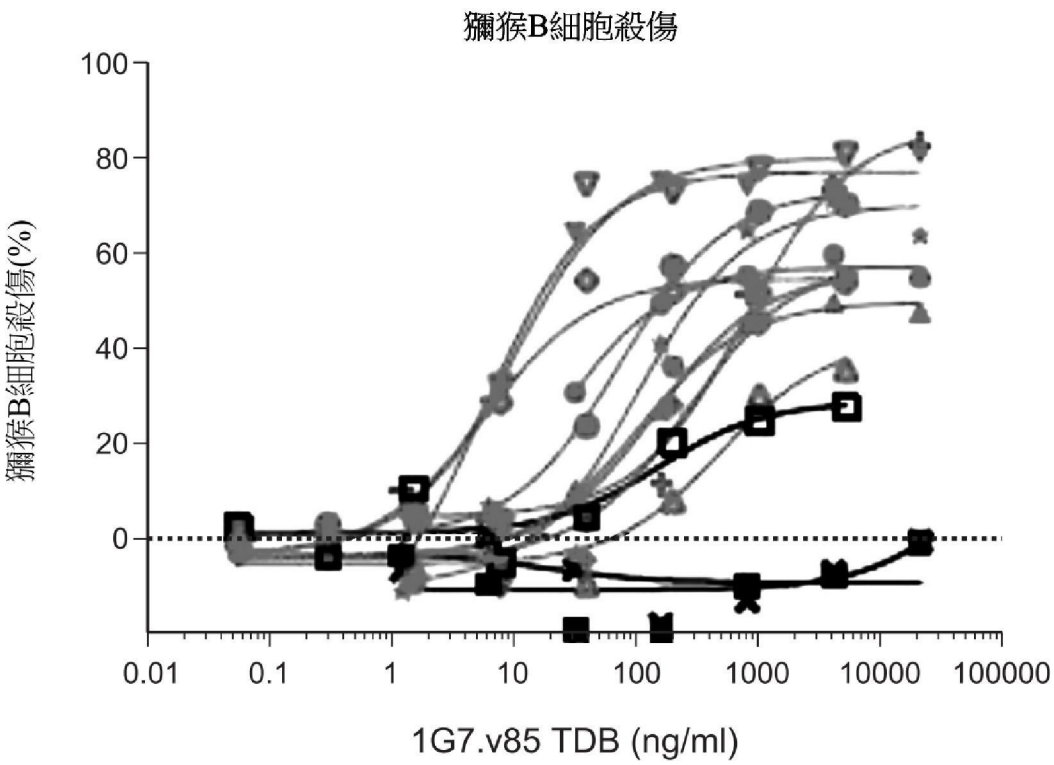
【圖29B】



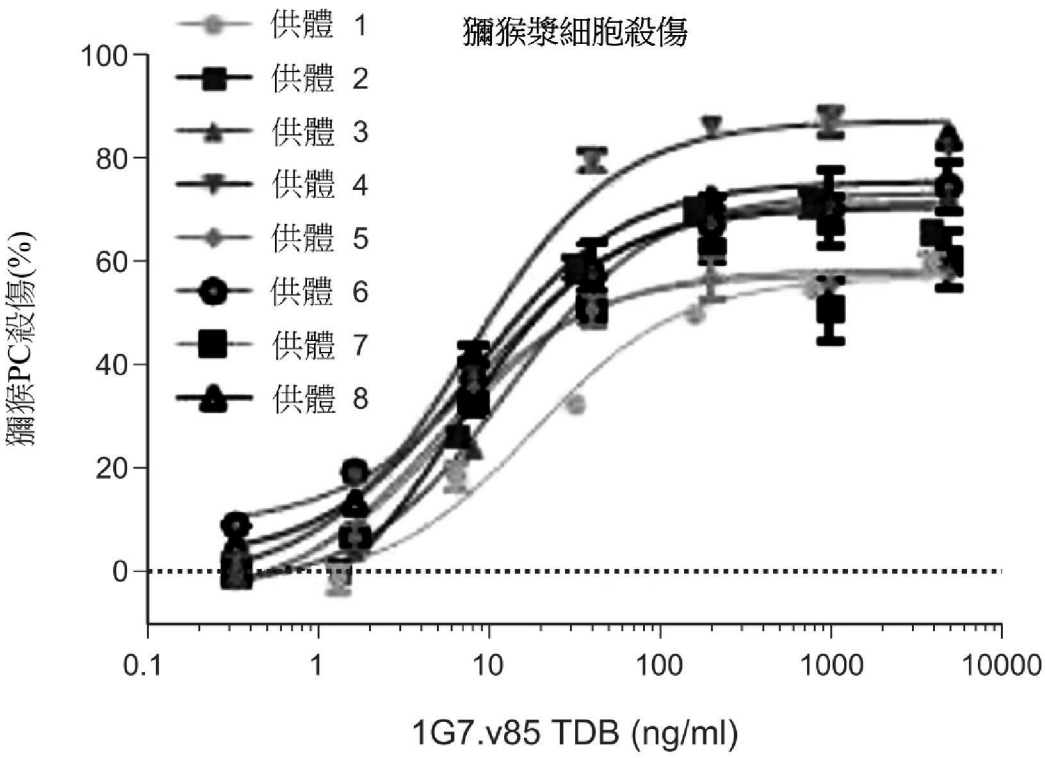
【圖29C】



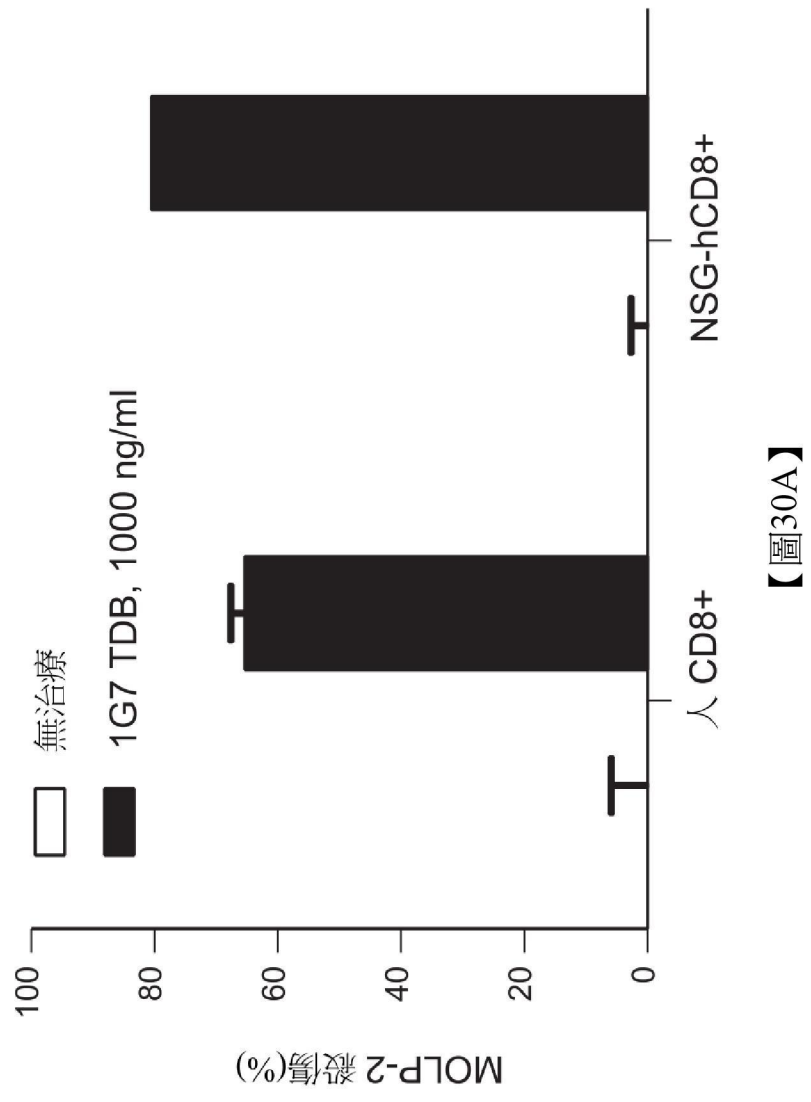
【圖29D】



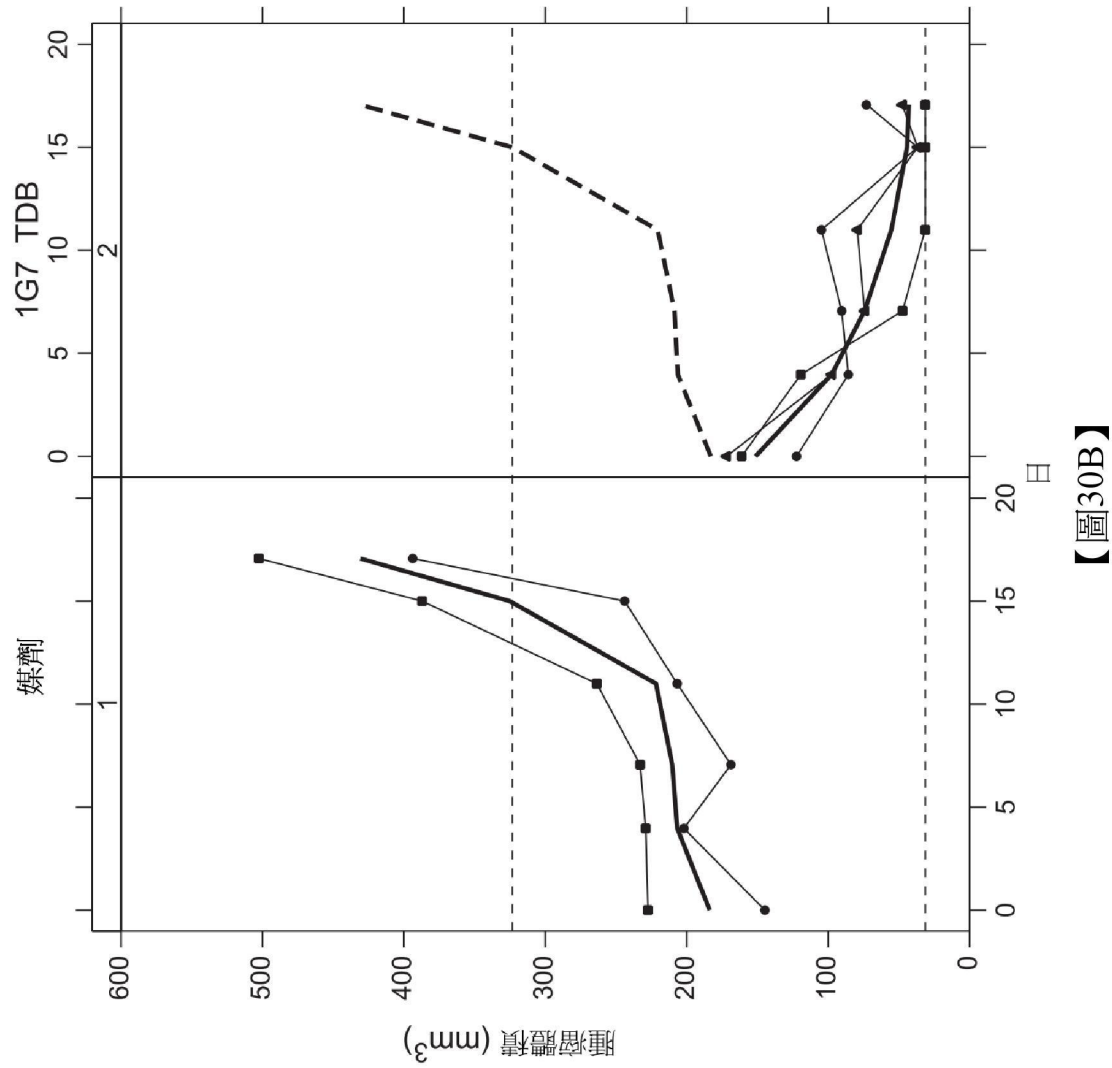
【圖29E】



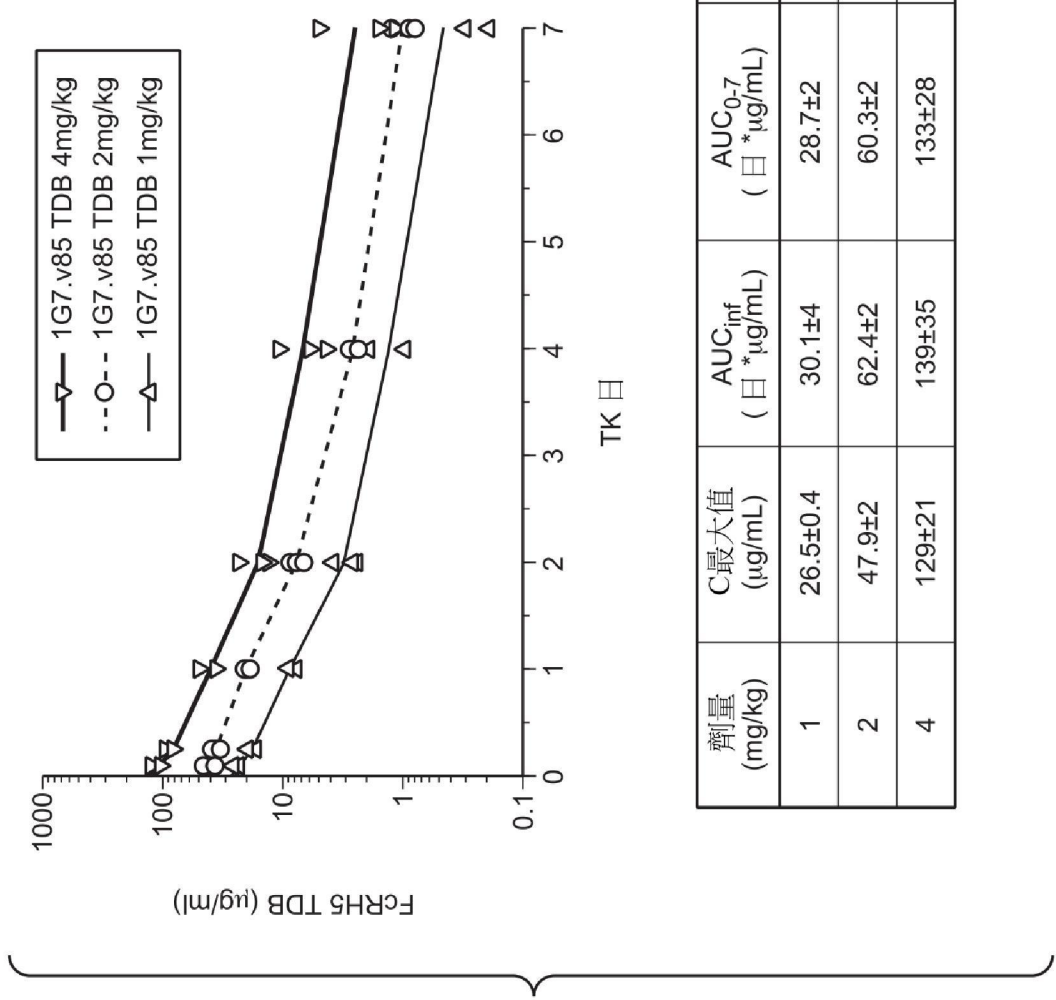
【圖29F】



【圖30A】

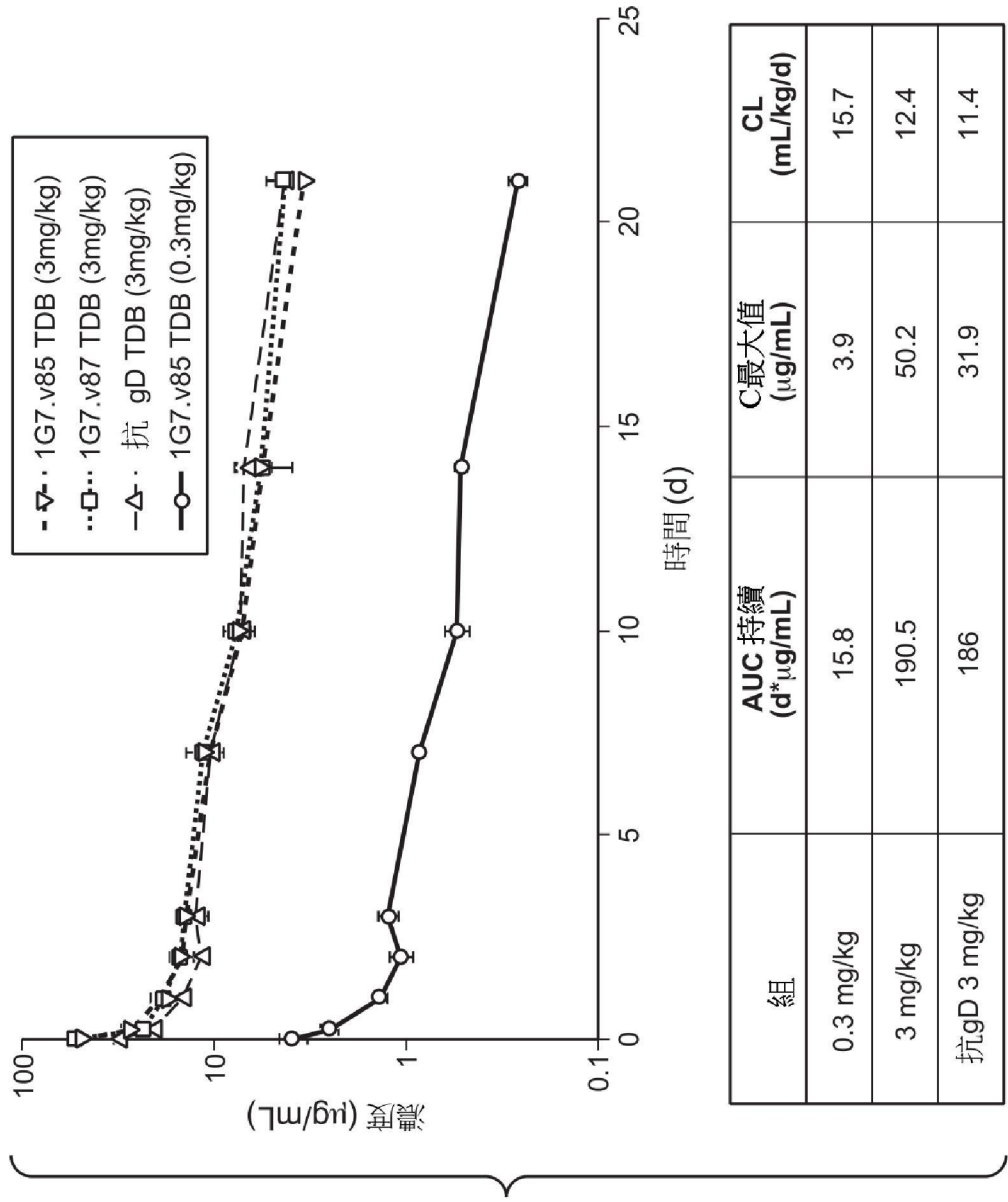


【圖30B】

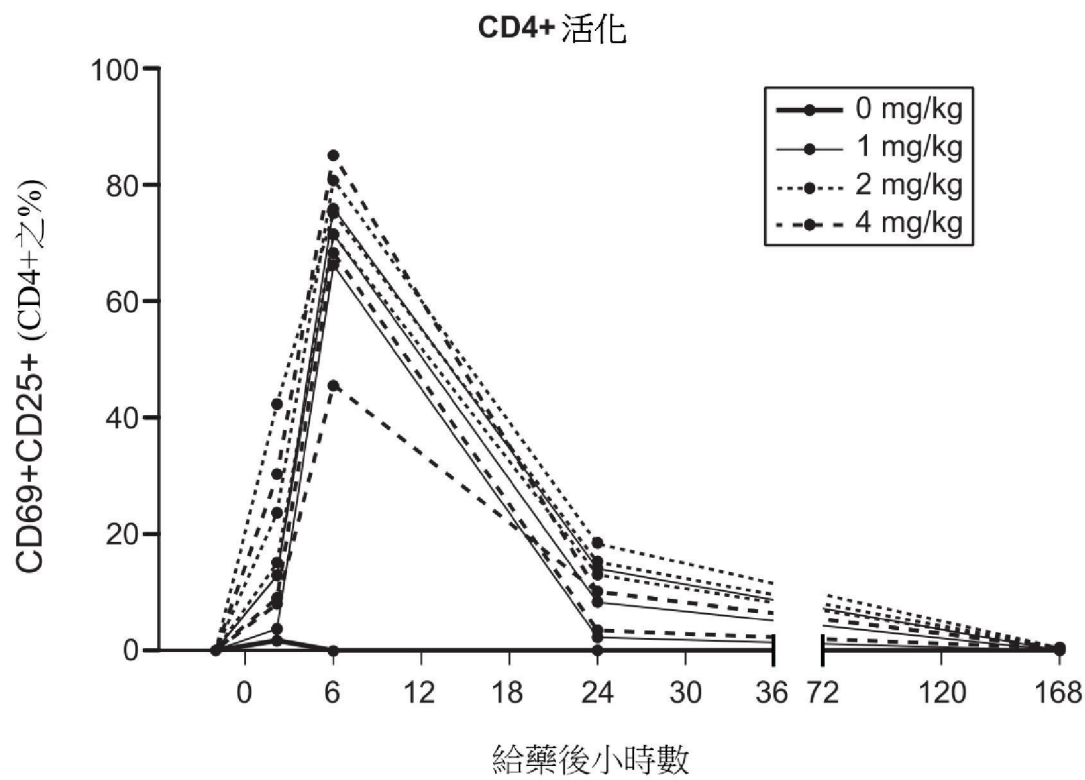


劑量 (mg/kg)	C _{最大值} (µg/mL)	AUC _{inf} (日 * µg/mL)	AUC ₀₋₇ (日 * µg/mL)	CL (mL/日 /kg)
1	26.5±0.4	30.1±4	28.7±2	33.6±4
2	47.9±2	62.4±2	60.3±2	32.0±1
4	129±21	139±35	133±28	29.8±7

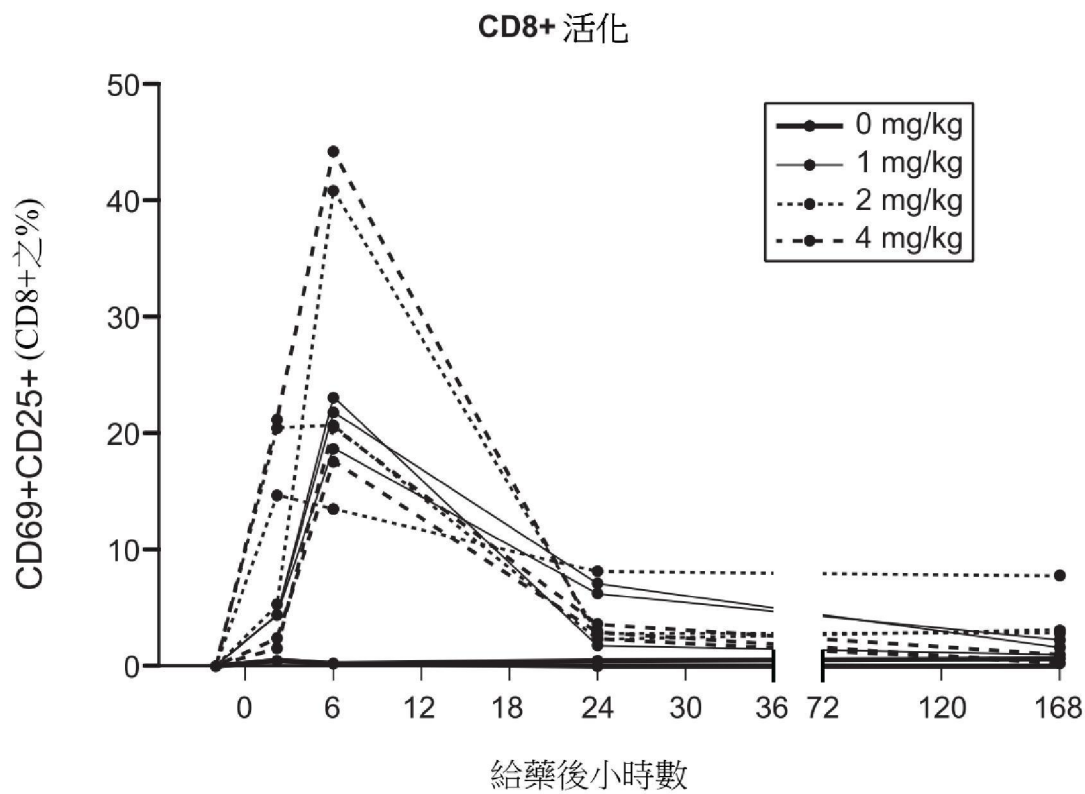
【圖31A】



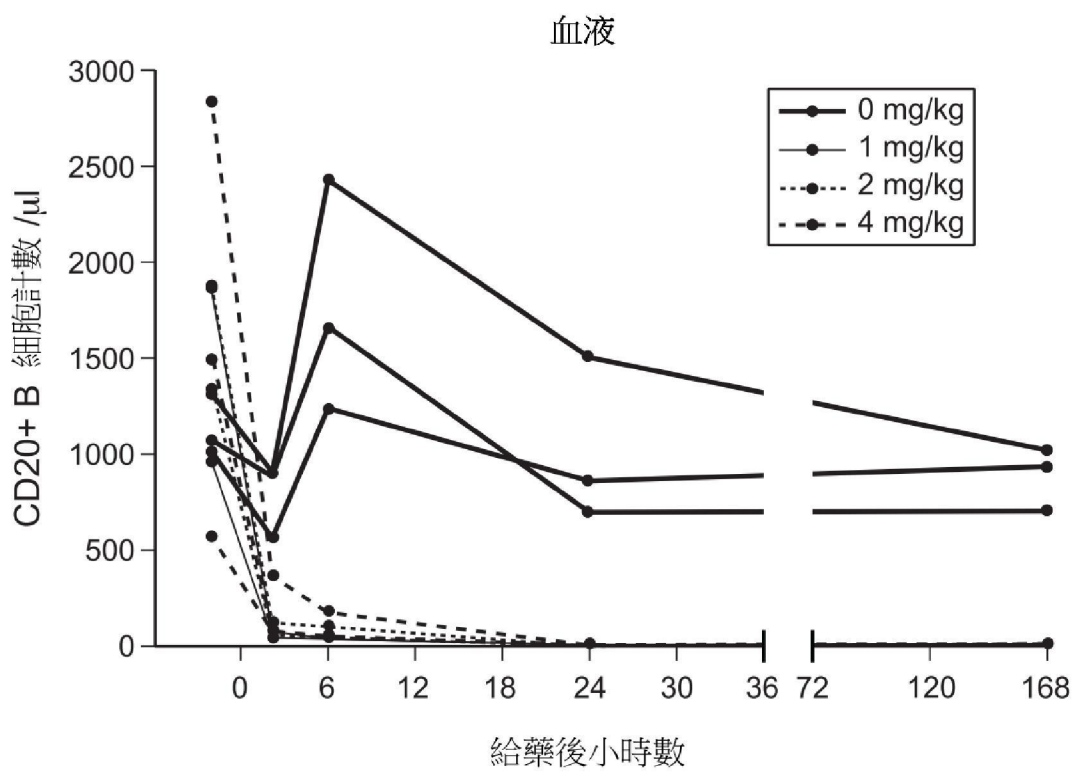
【圖31B】



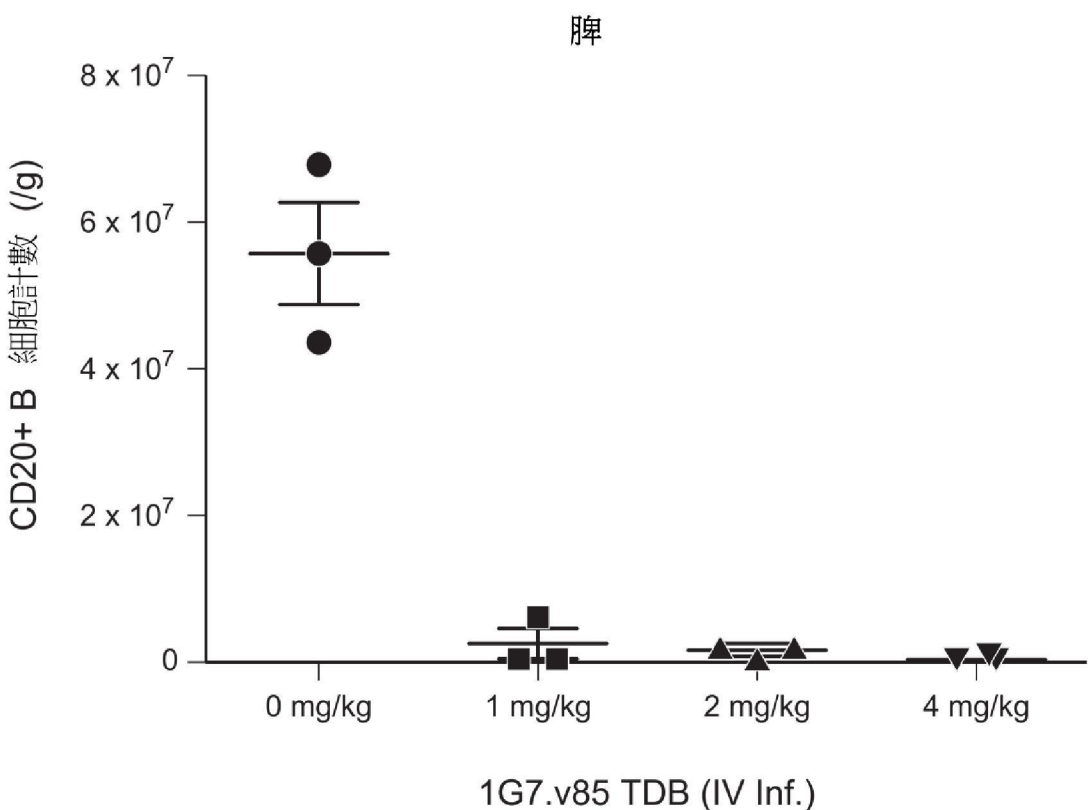
【圖31C】



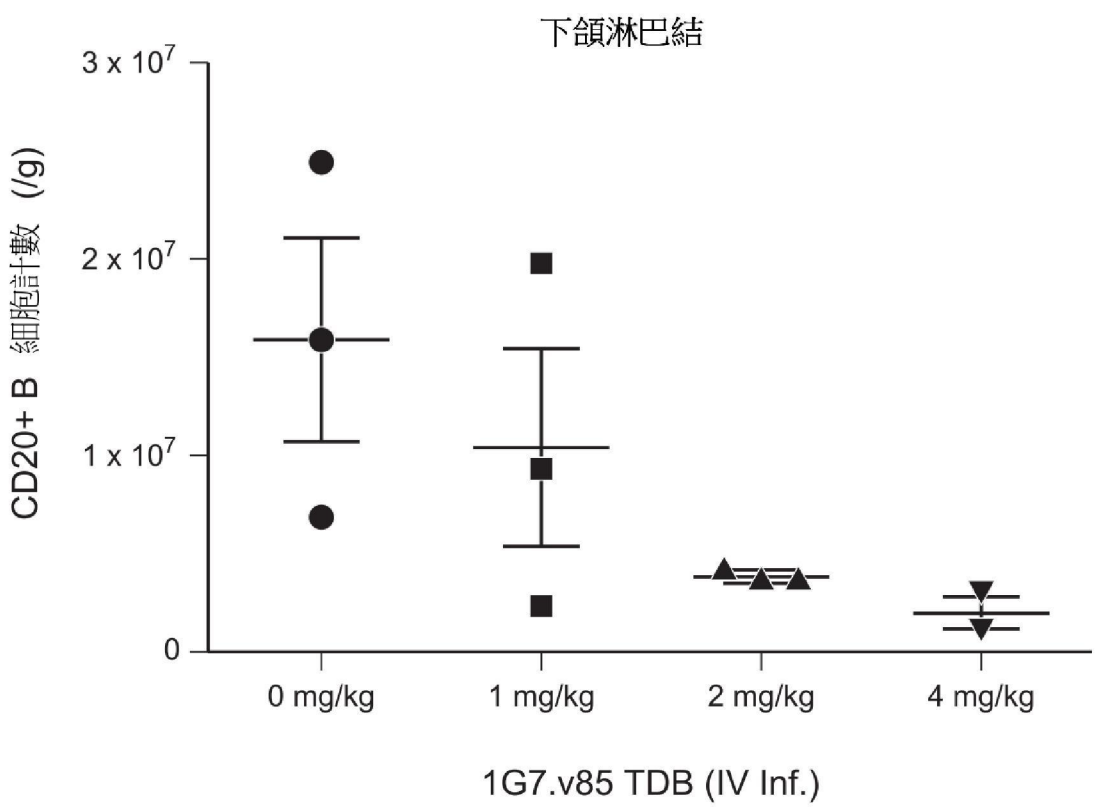
【圖31D】



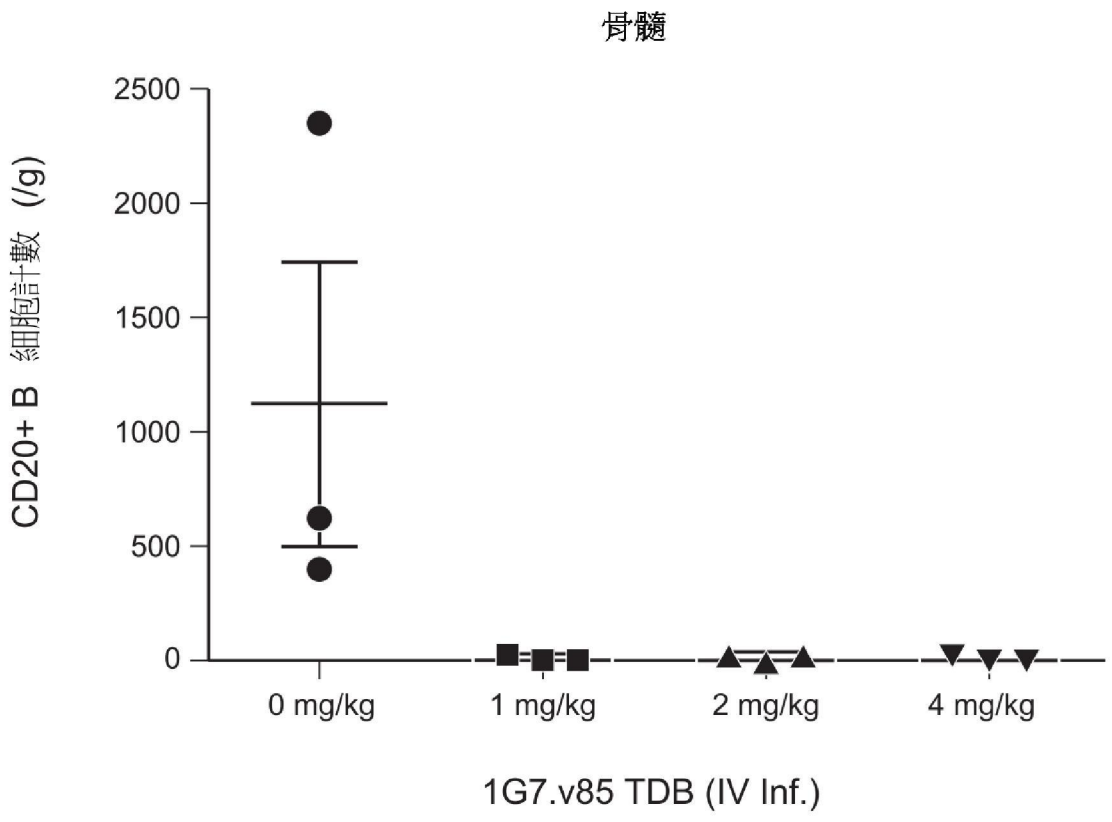
【圖31E】



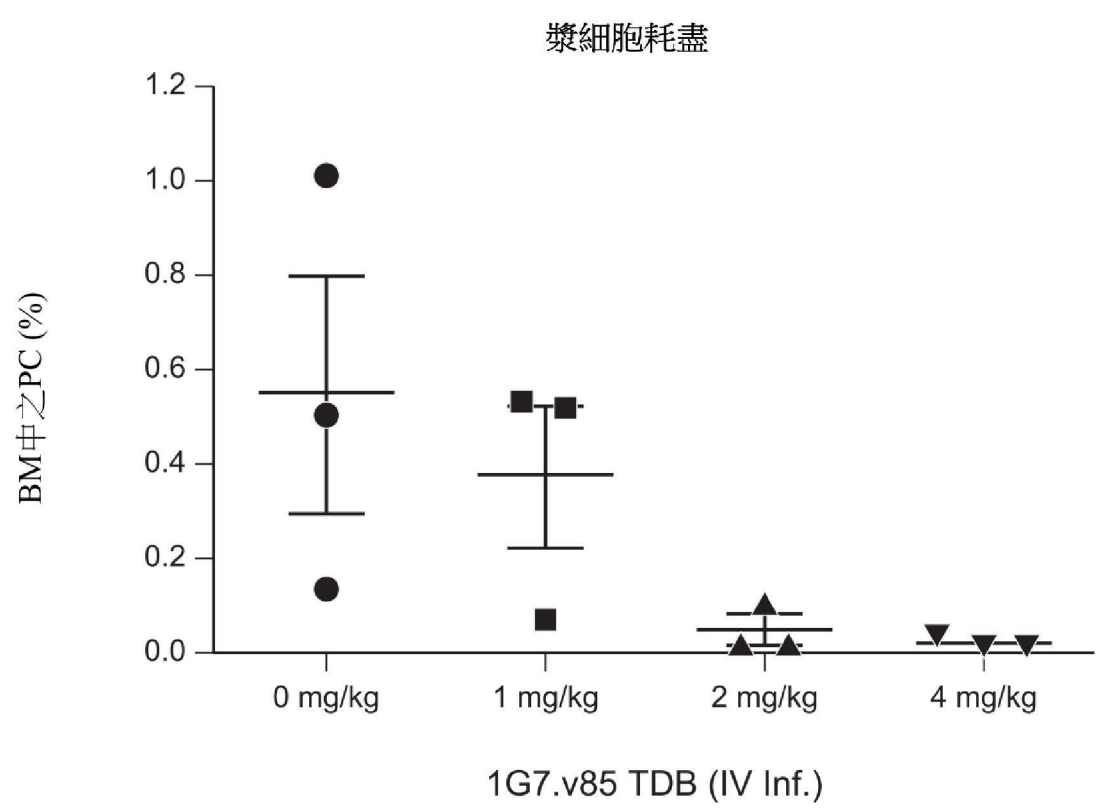
【圖31F】



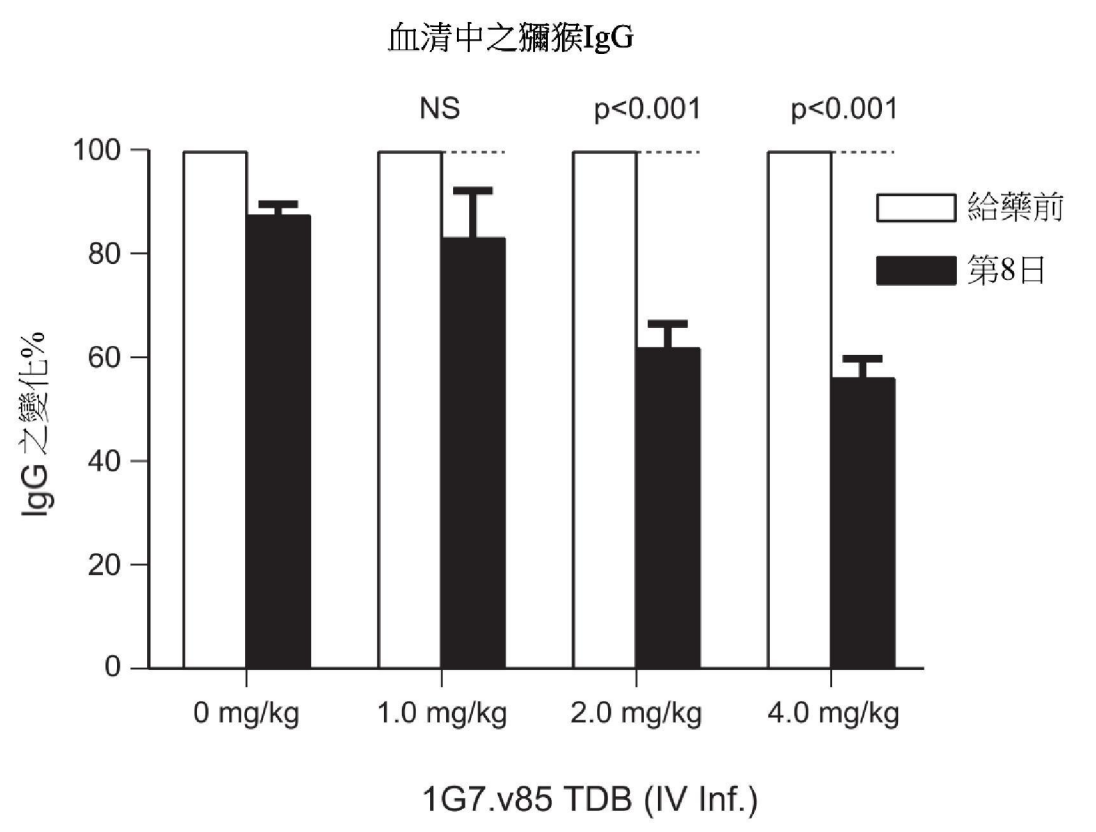
【圖31G】



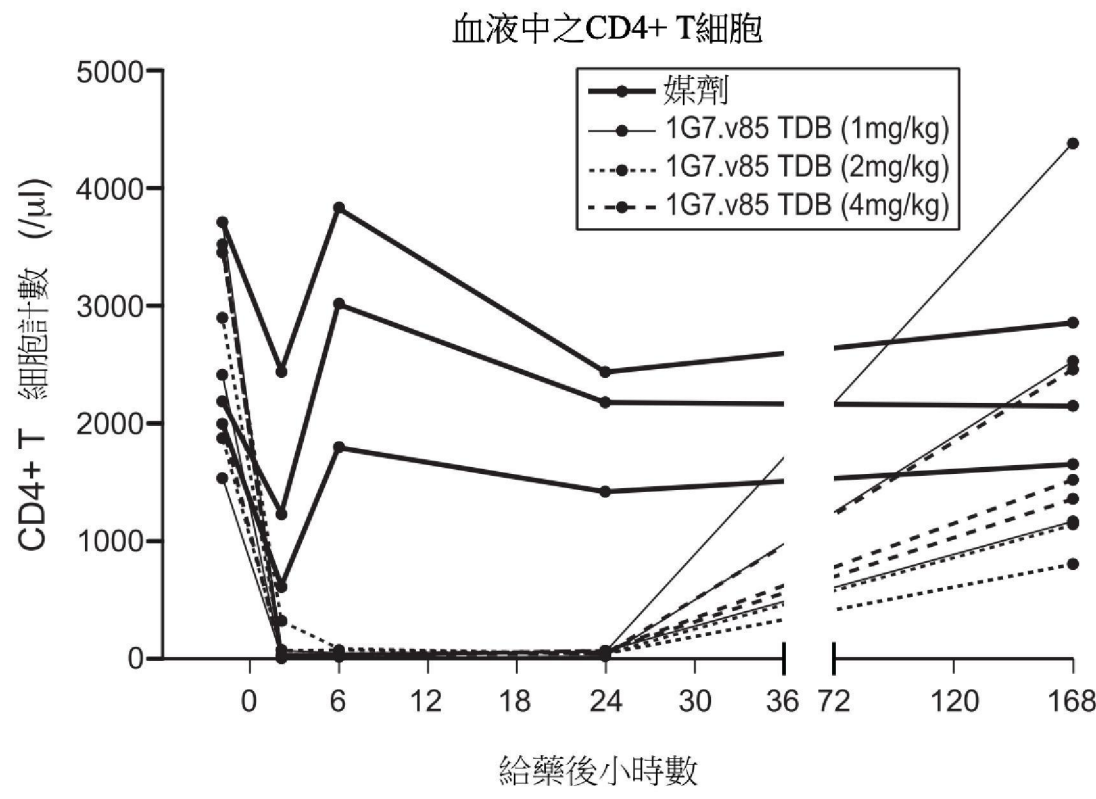
【圖31H】



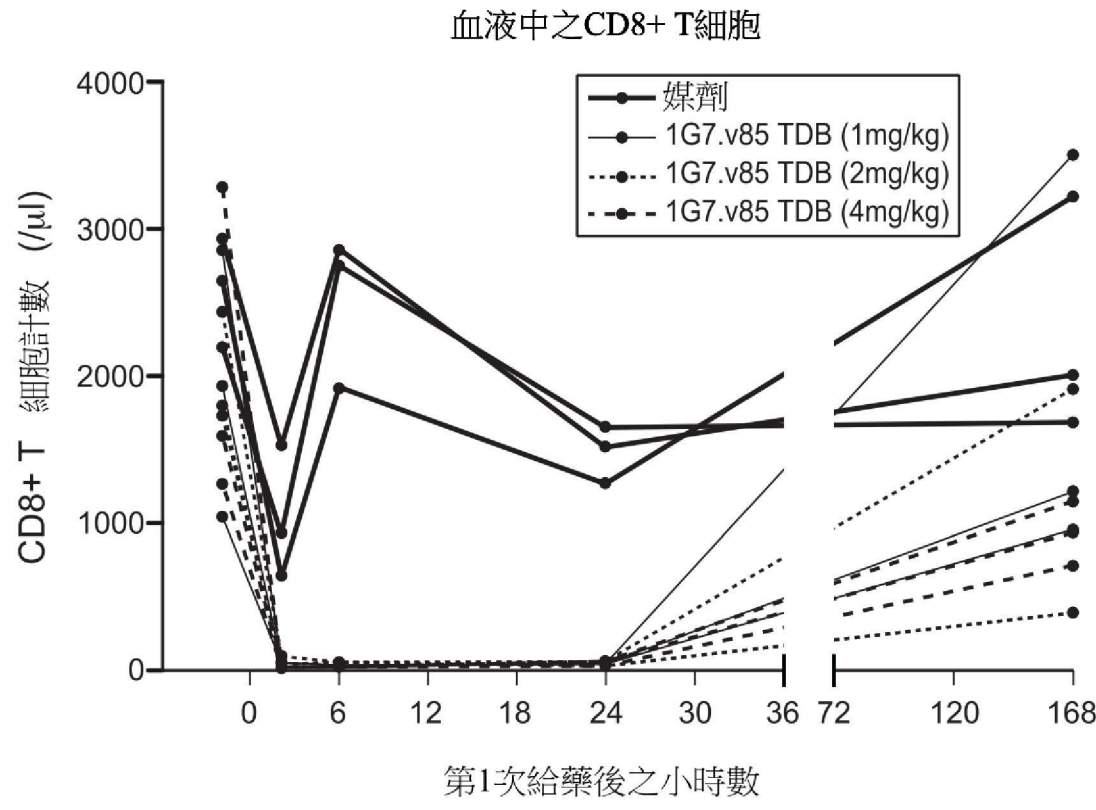
【圖31I】



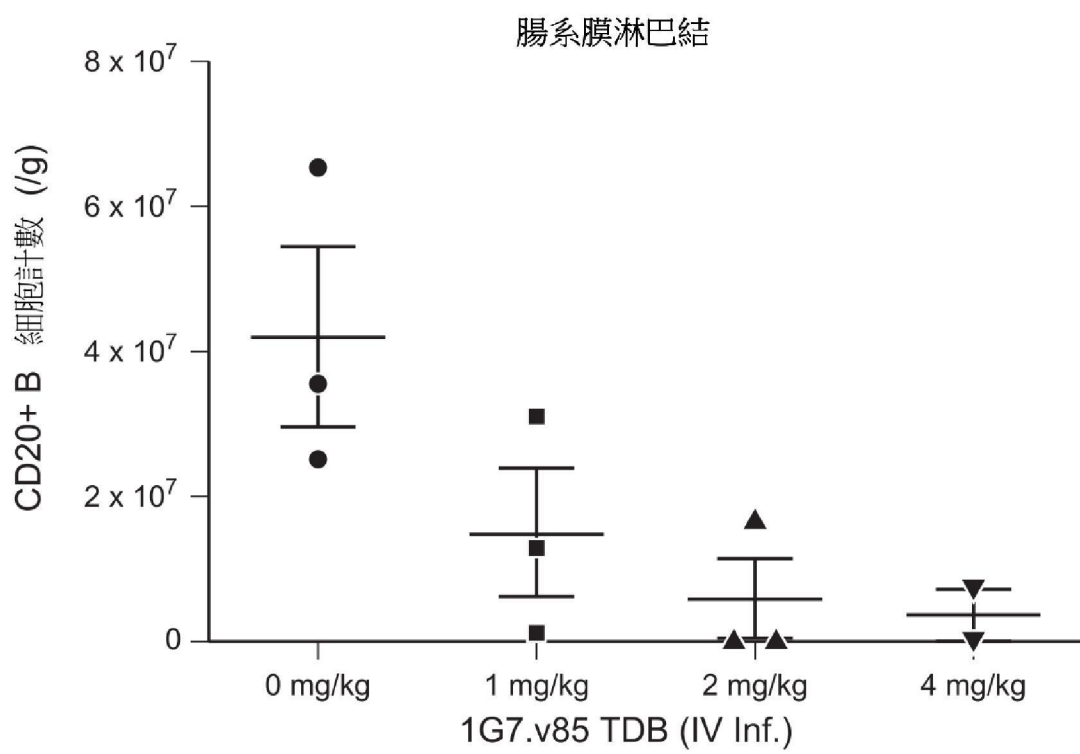
【圖31J】



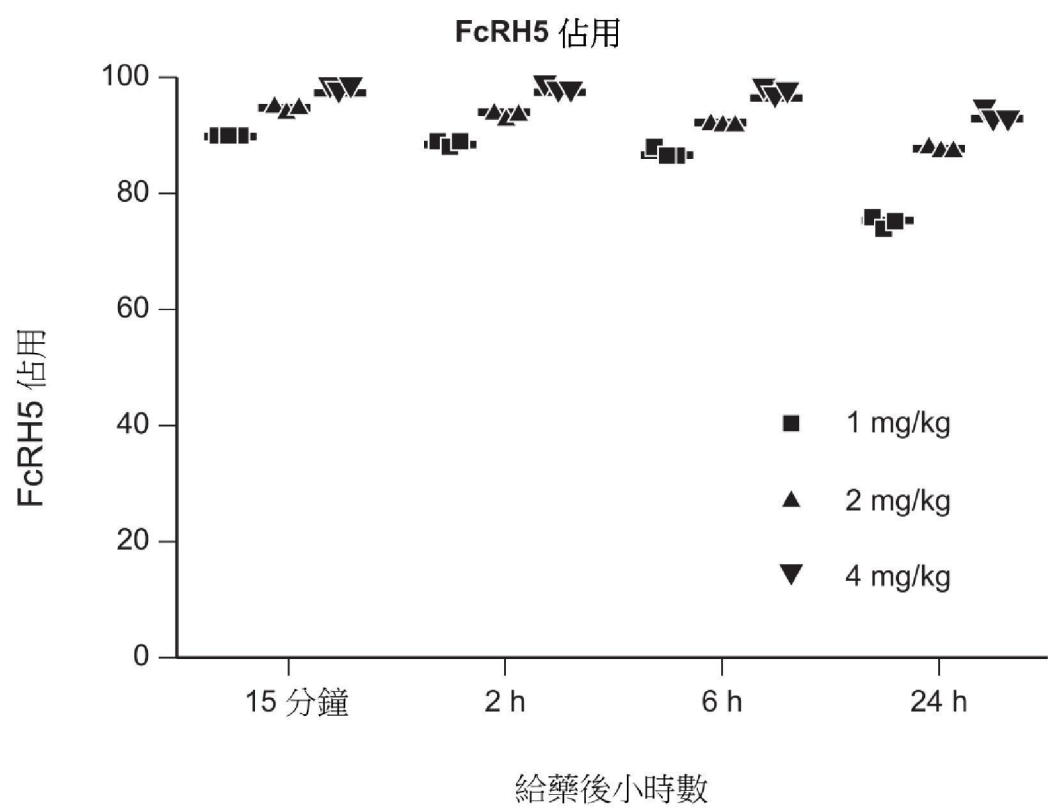
【圖32A】



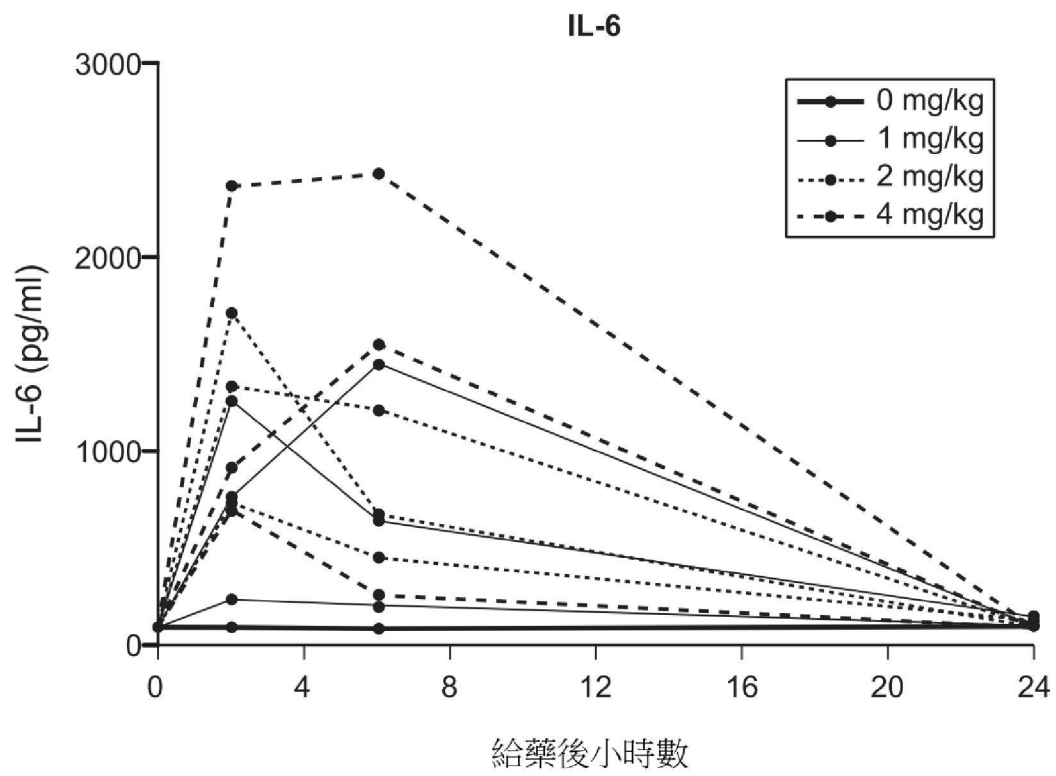
【圖32AB



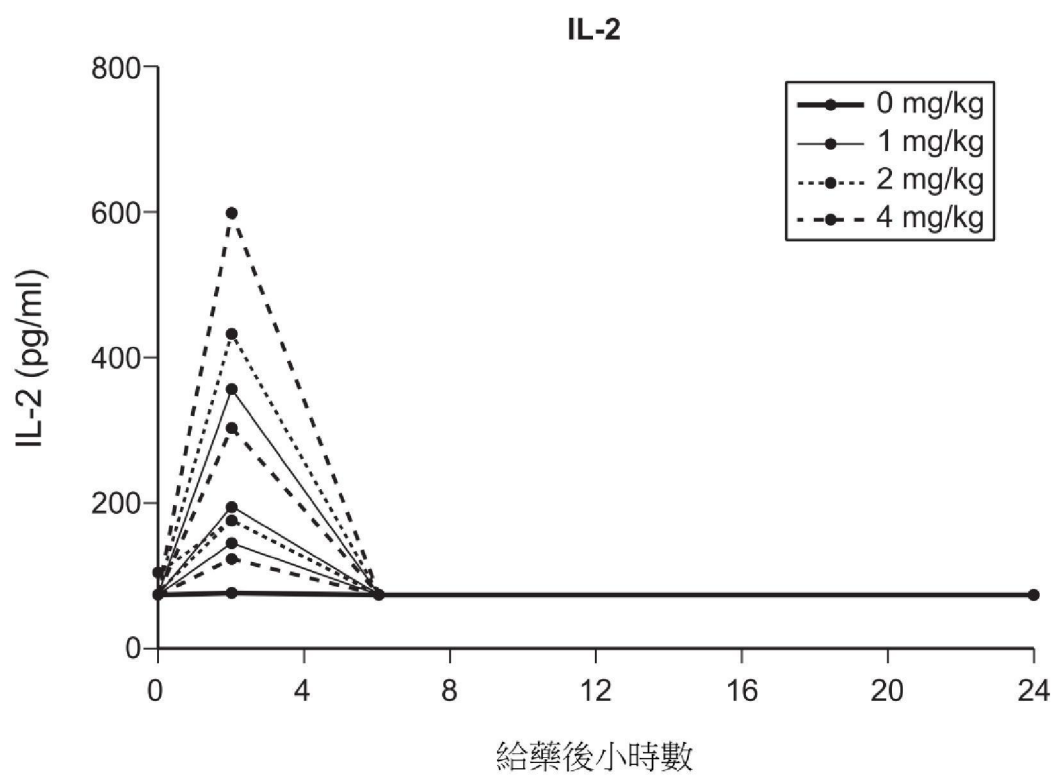
【圖32C】



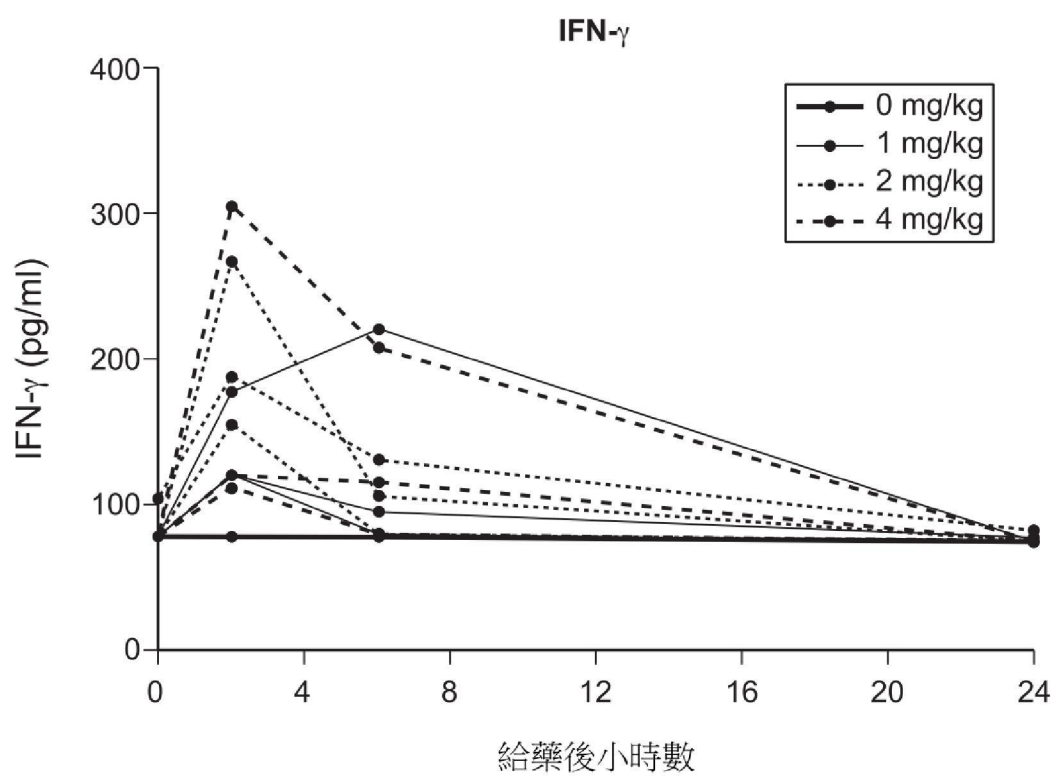
【圖32D】



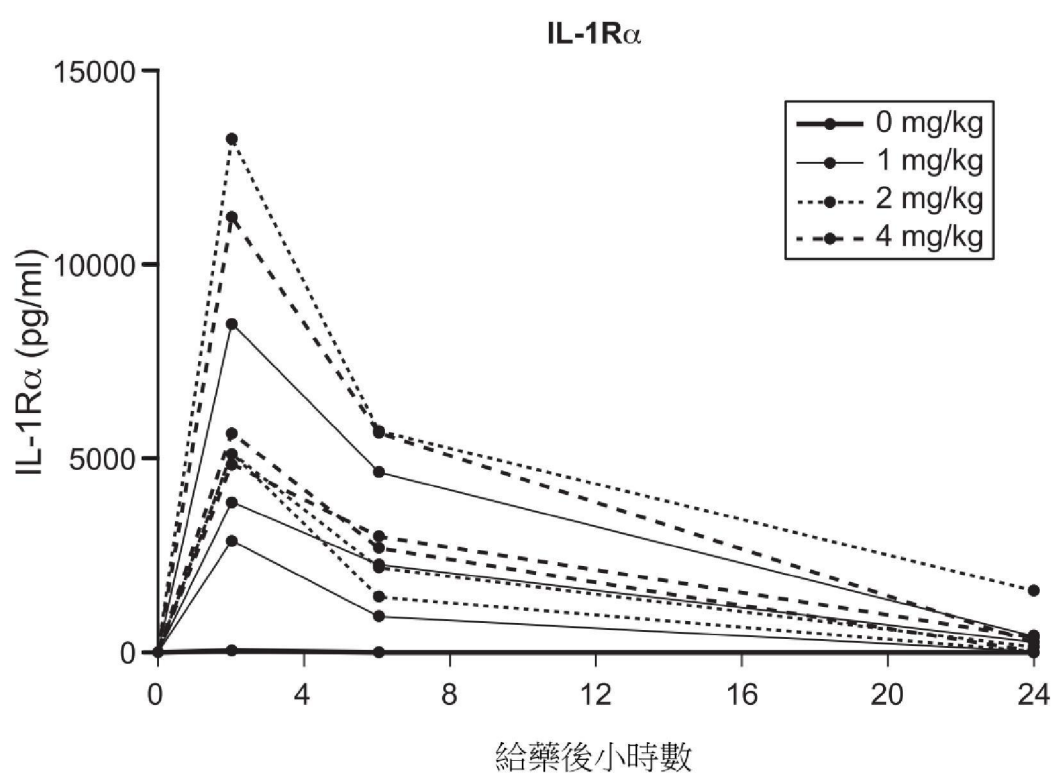
【圖33A】



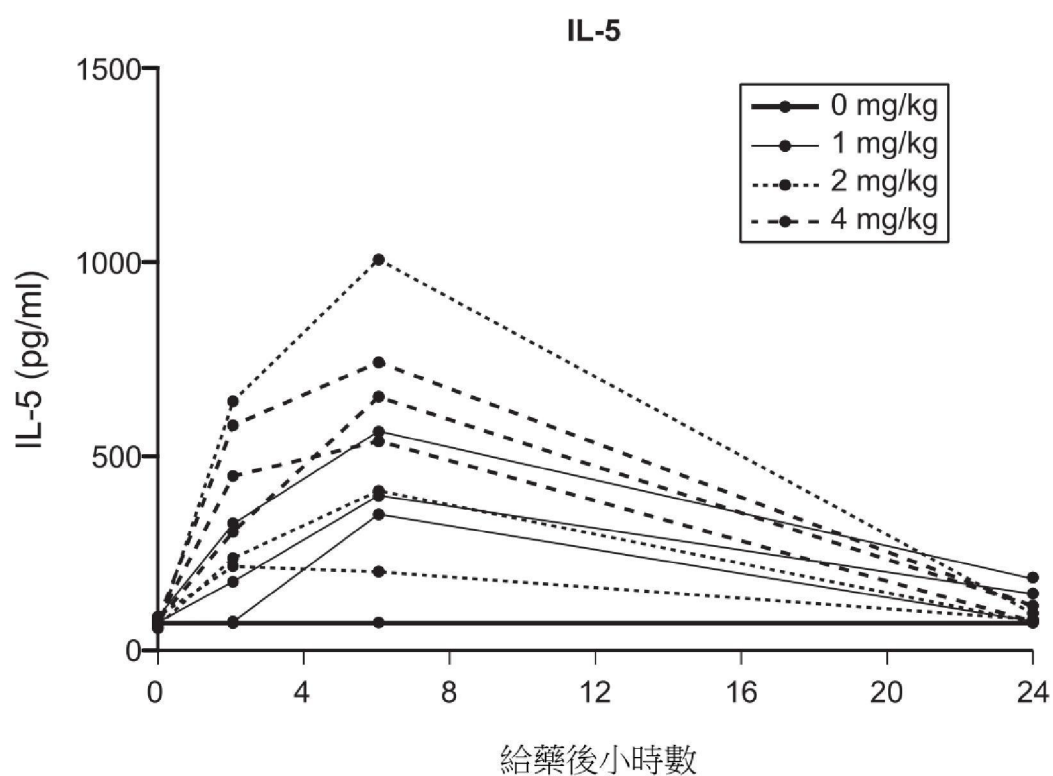
【圖33B】



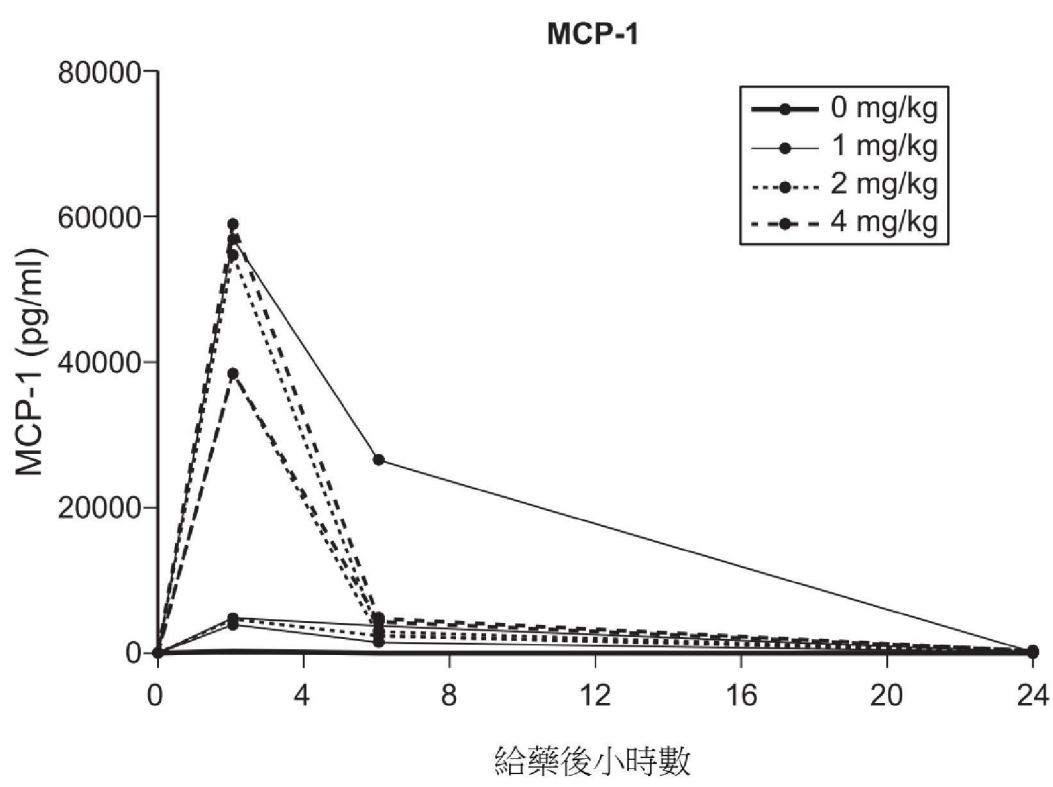
【圖33C】



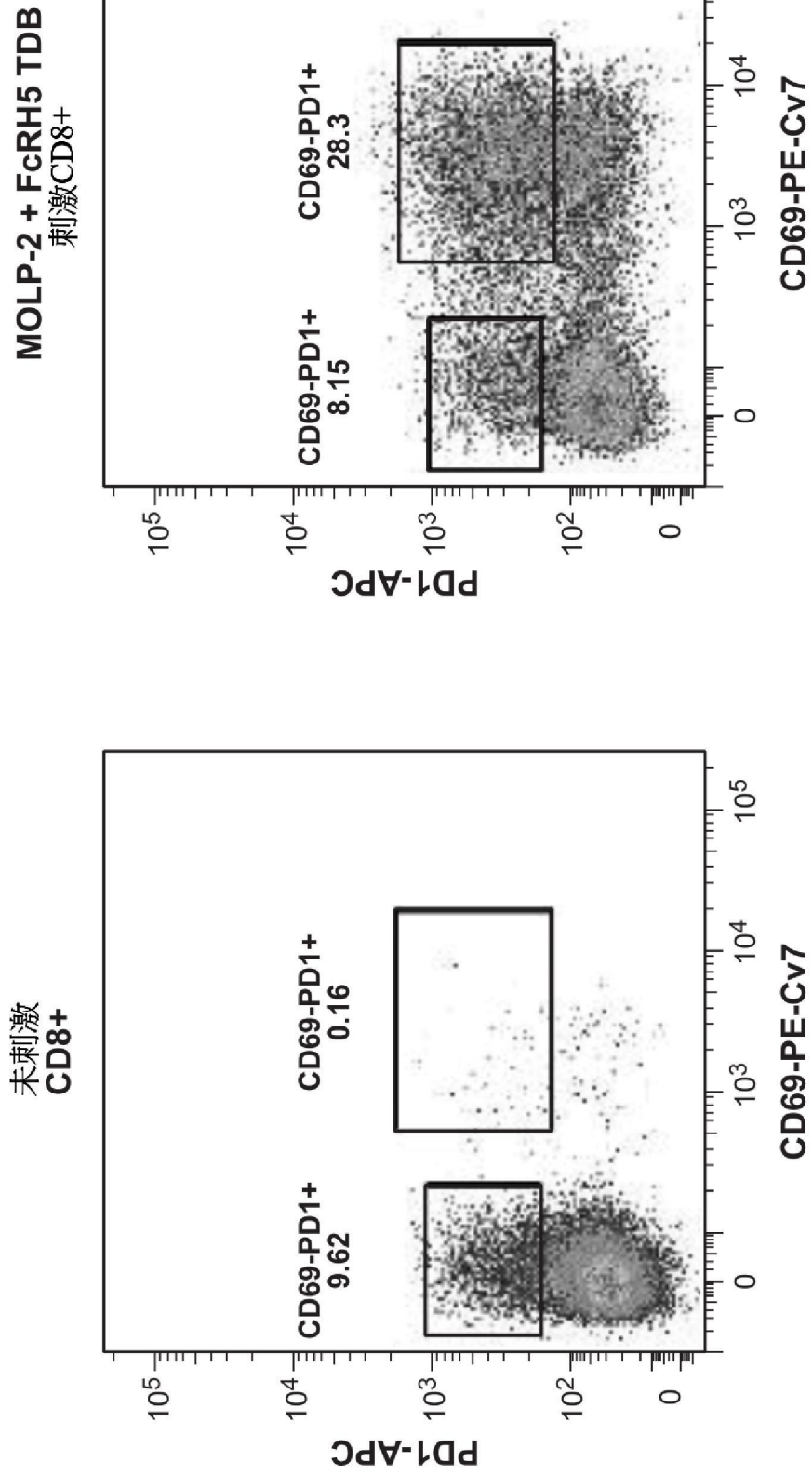
【圖33D】



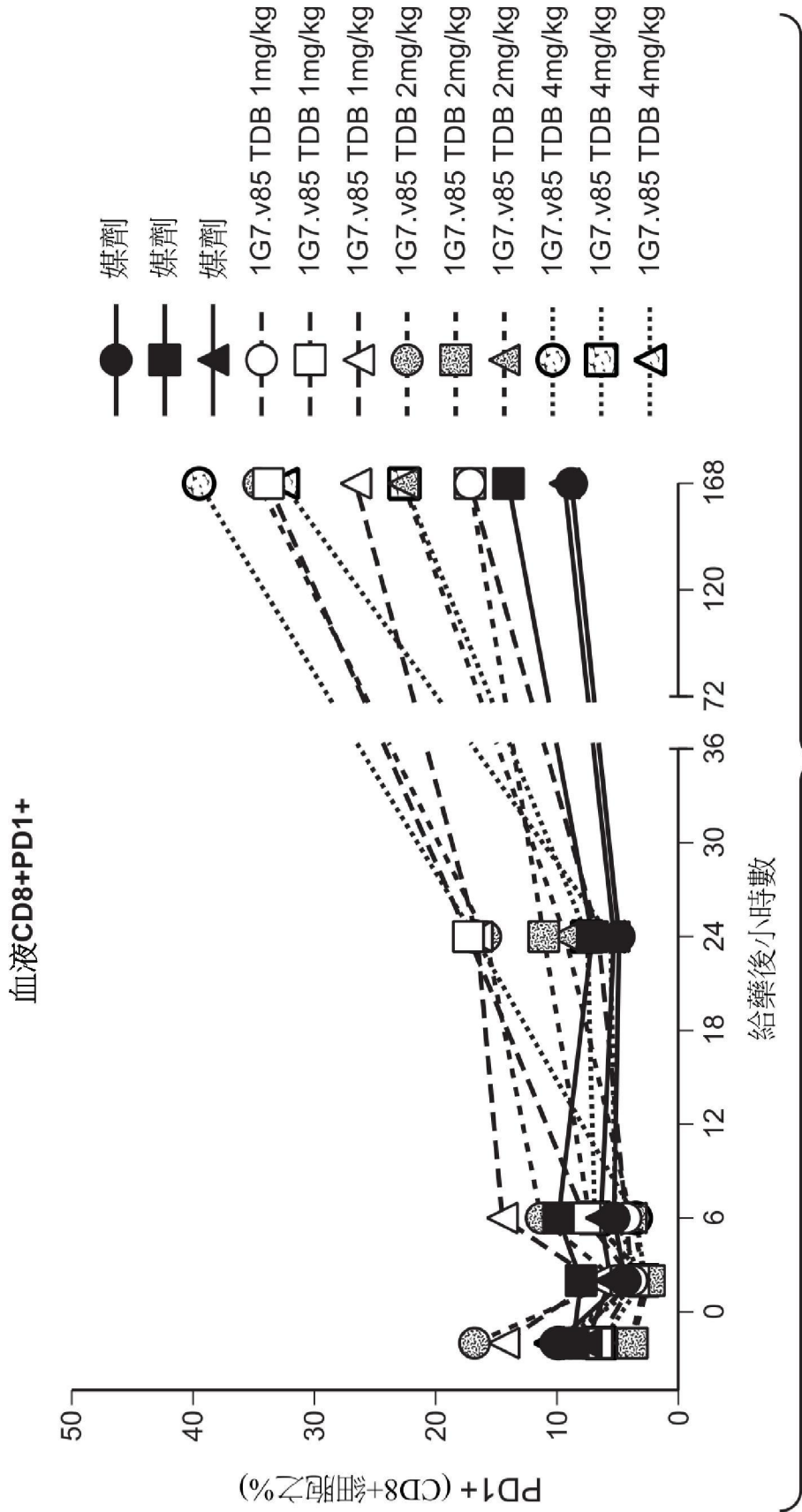
【圖33E】



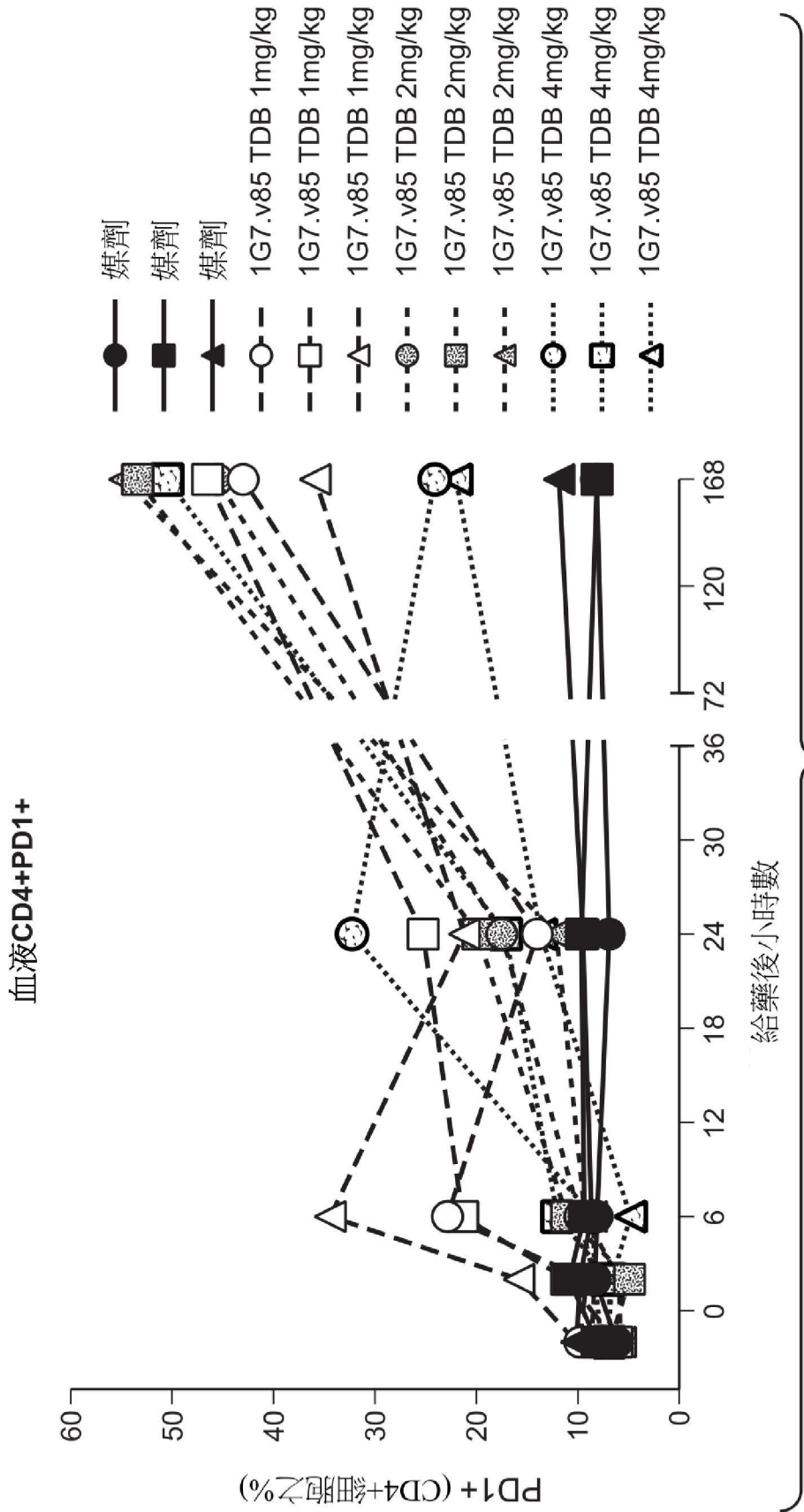
【圖33F】



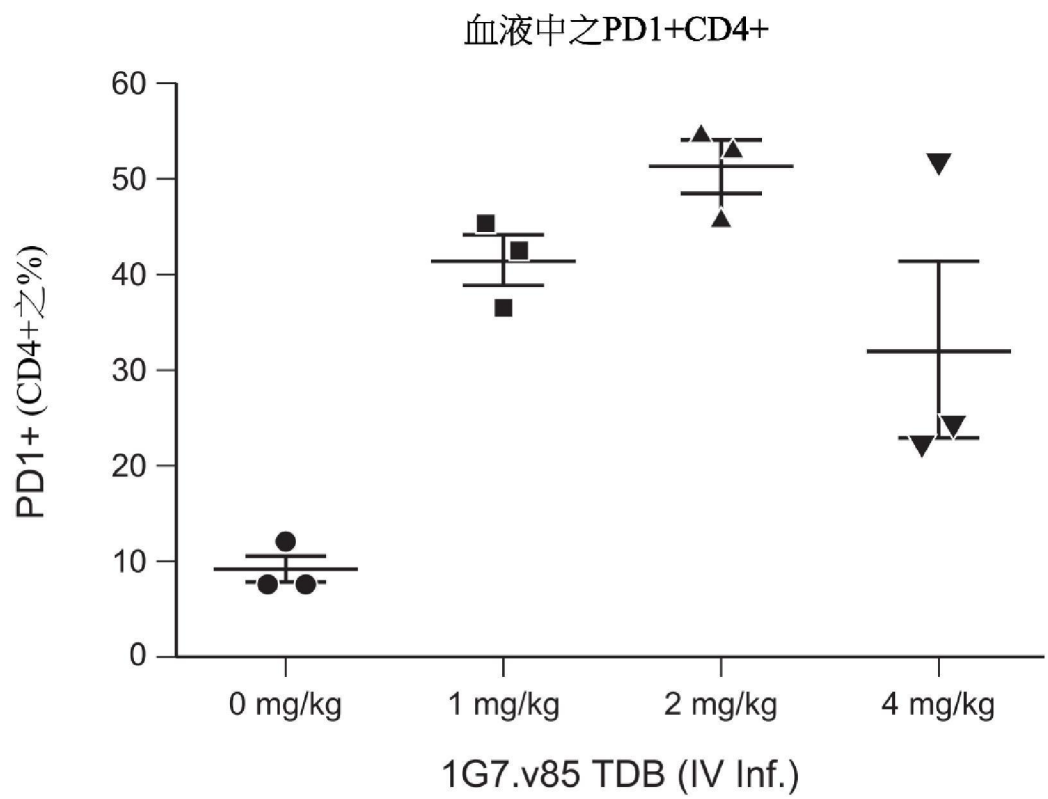
【圖34】



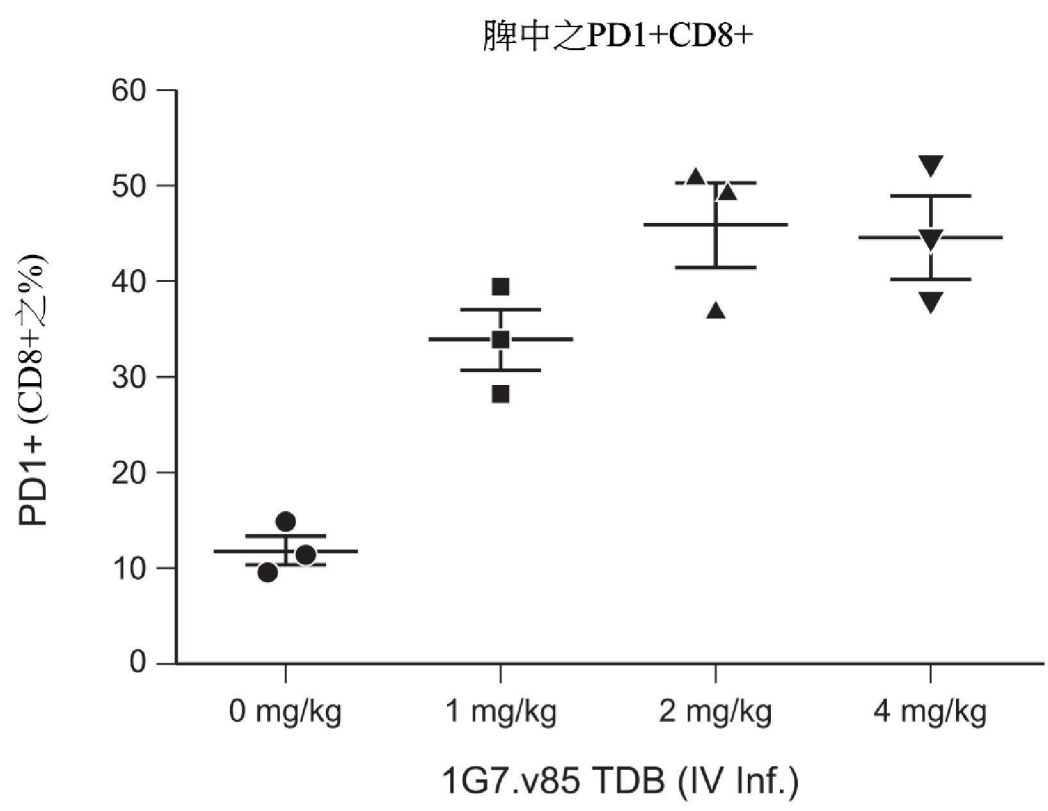
【圖35A】



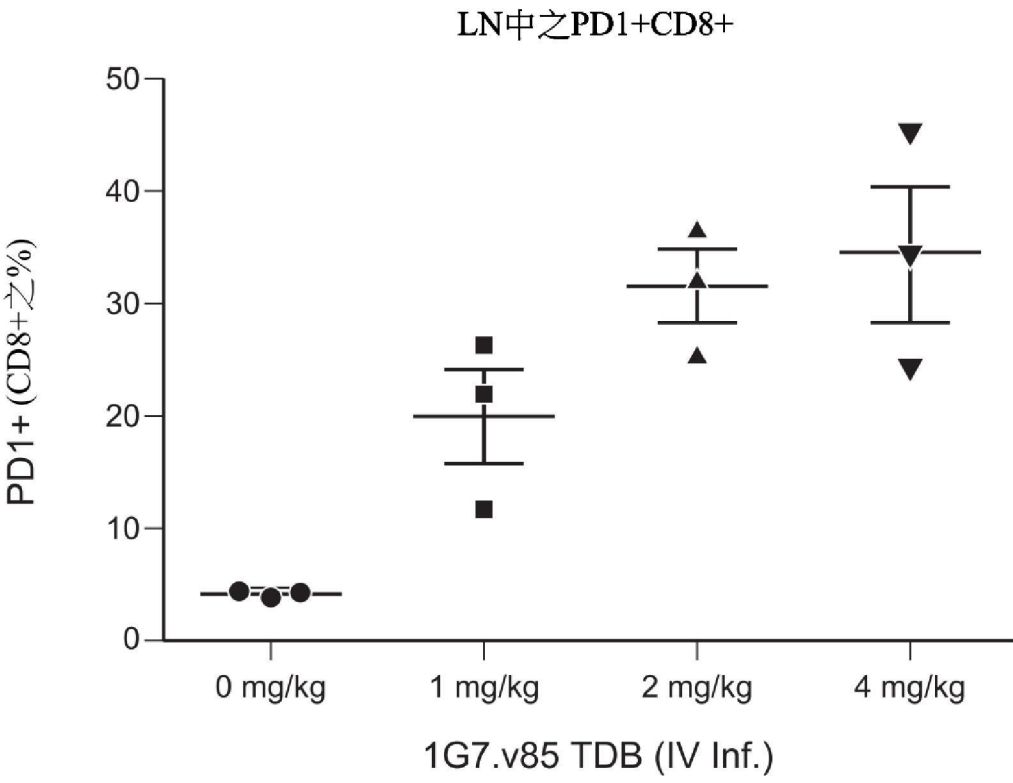
【圖35B】



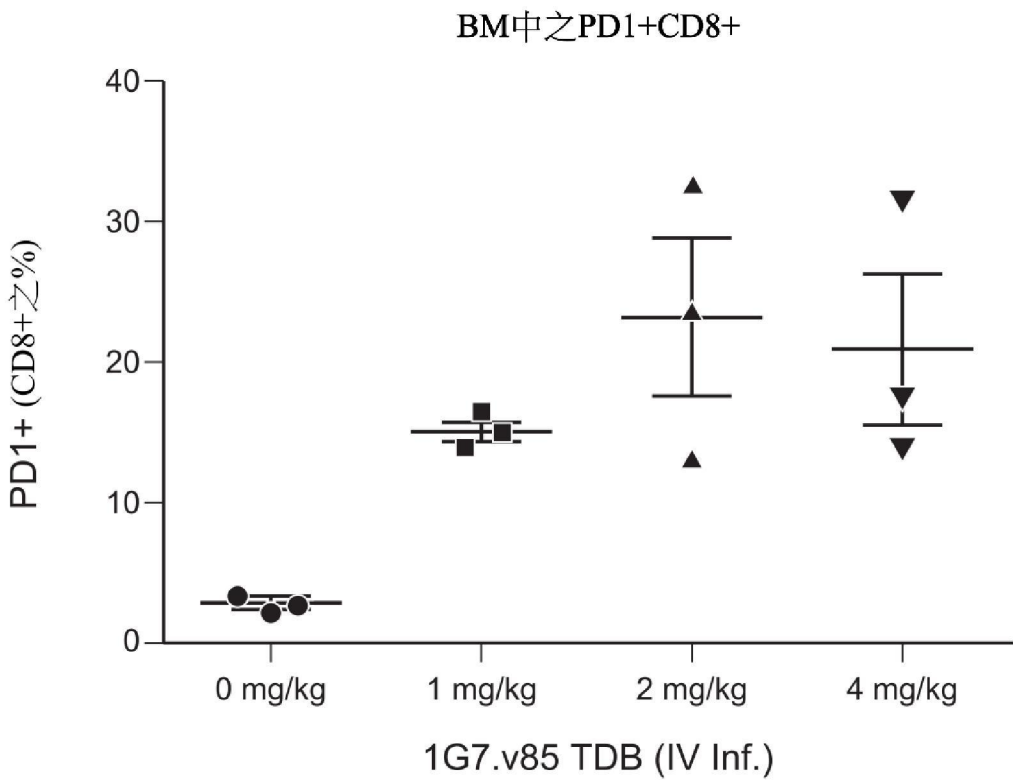
【圖36A】



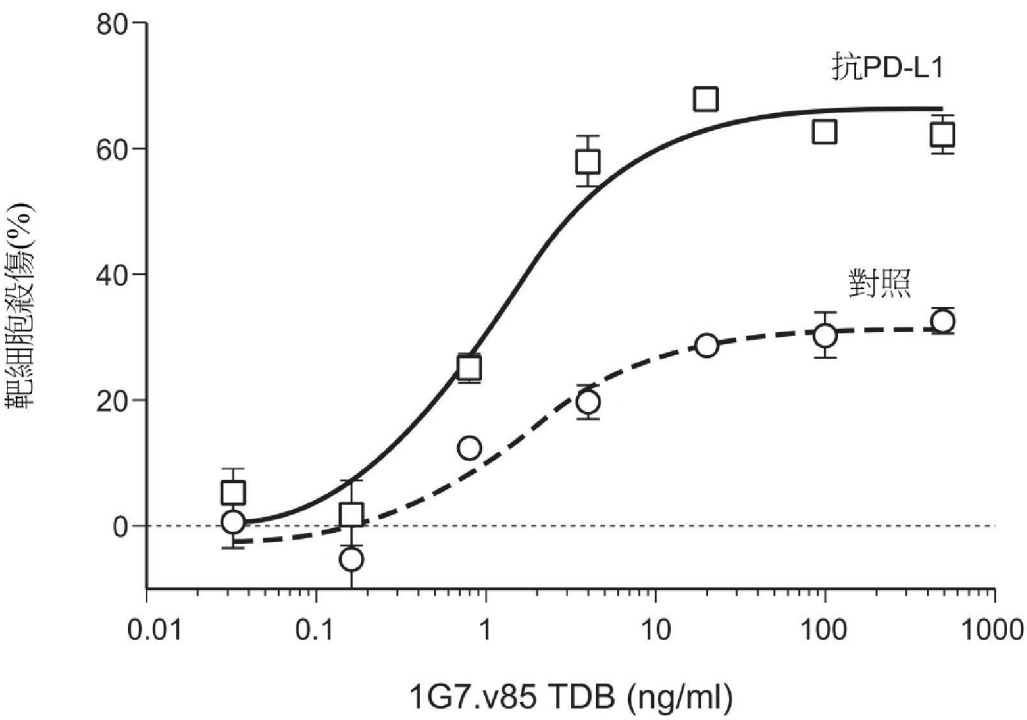
【圖36B】



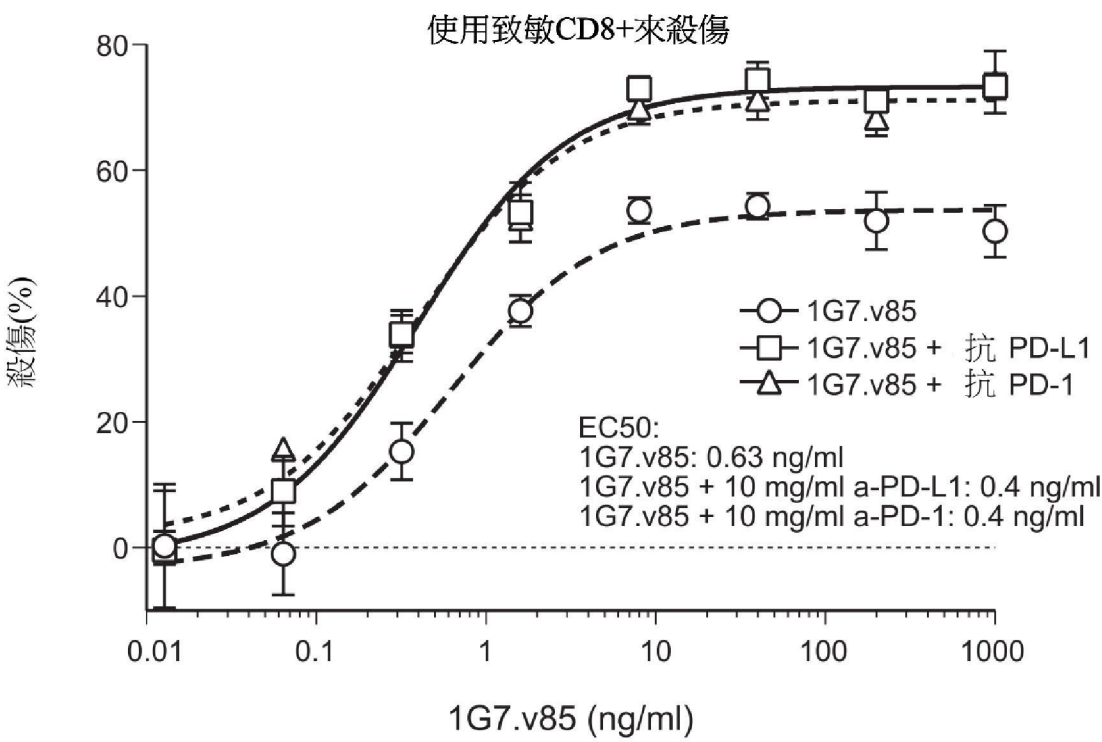
【圖36C】



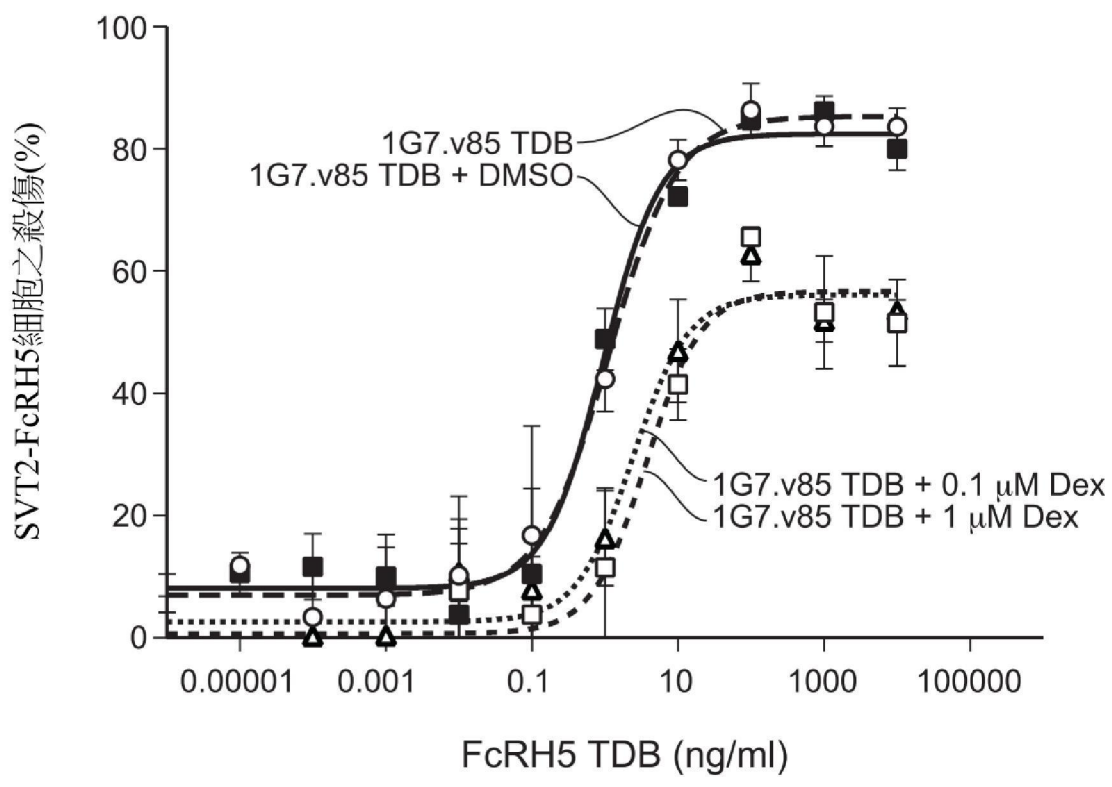
【圖36D】



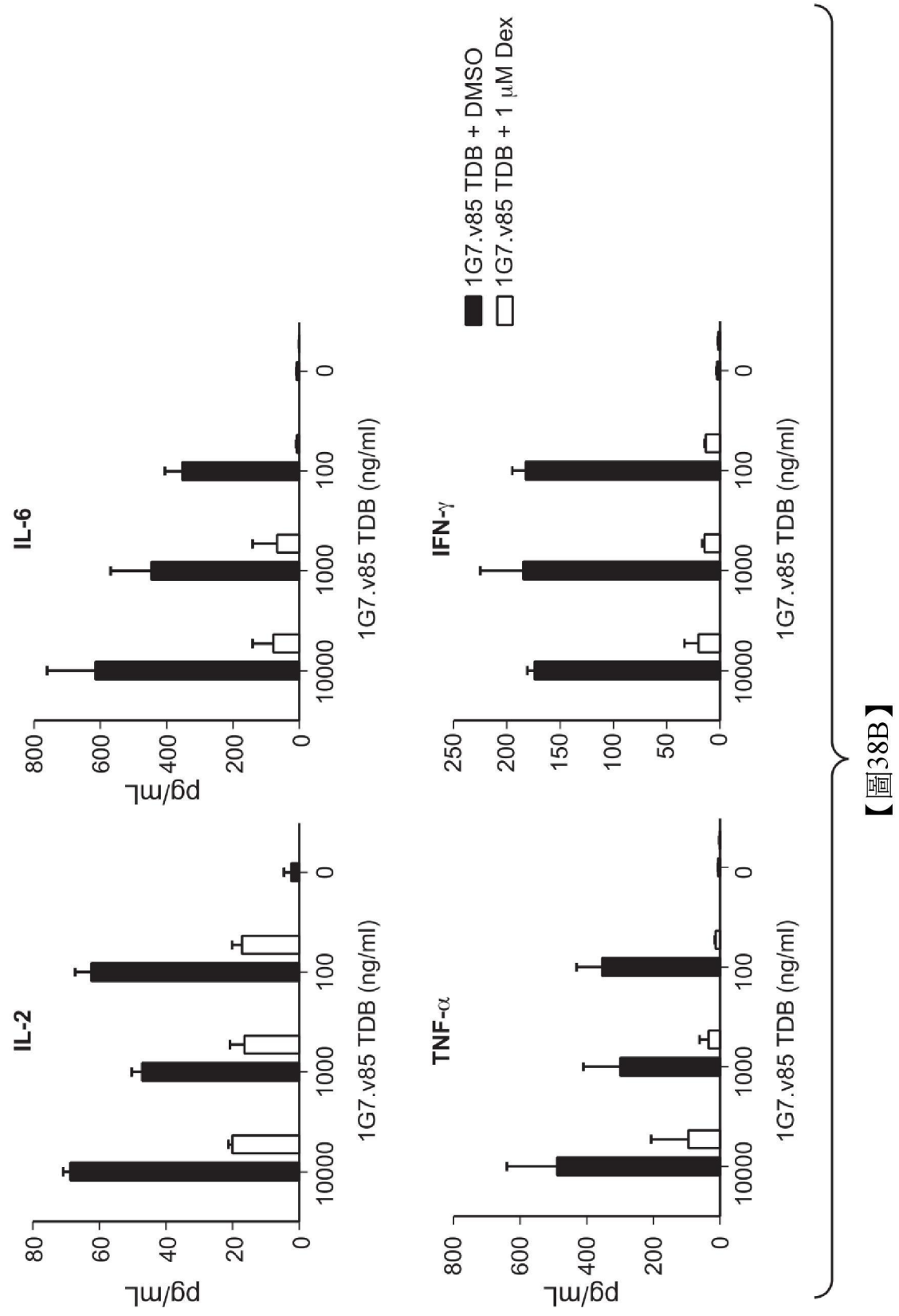
【圖37A】



【圖37B】

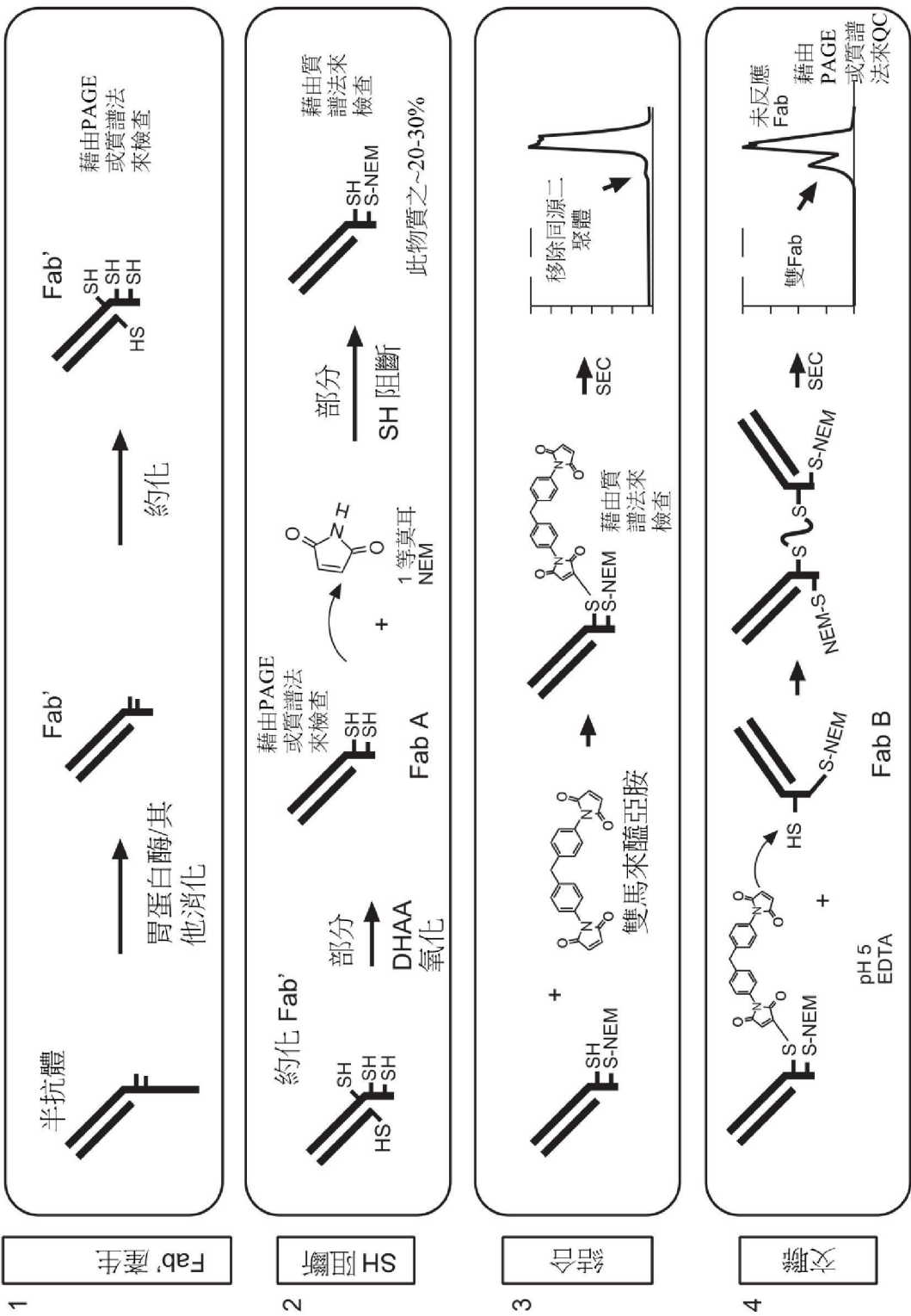


【圖38A】



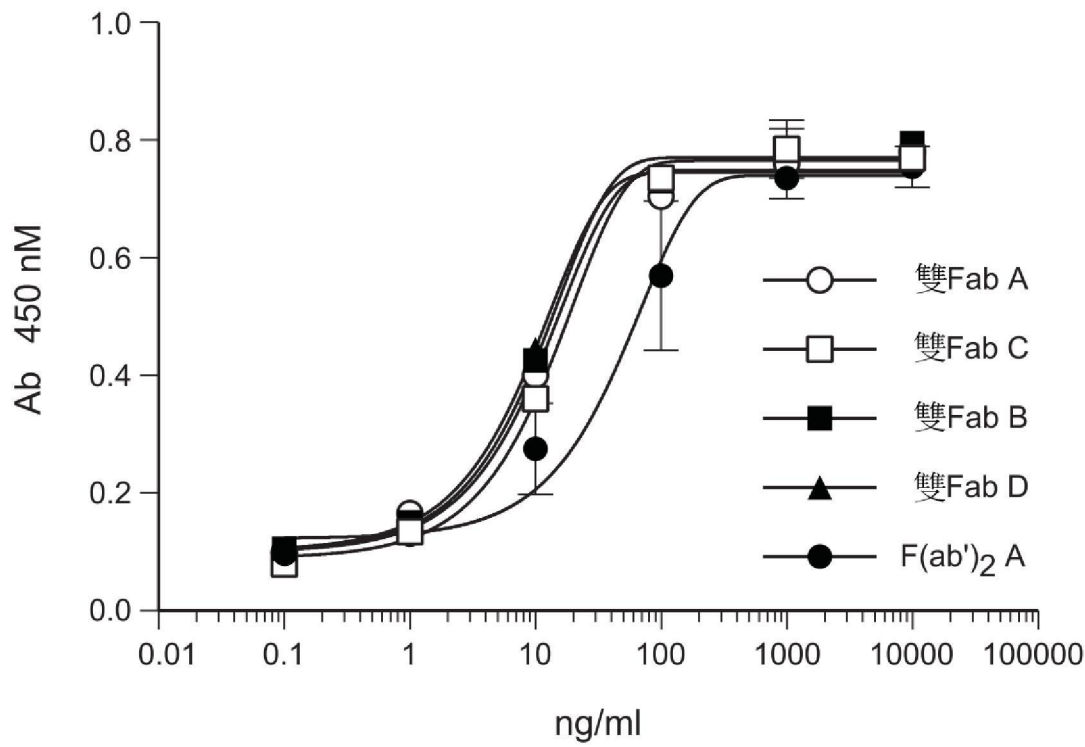
【圖38B】

來自人IgG1之雙Fab



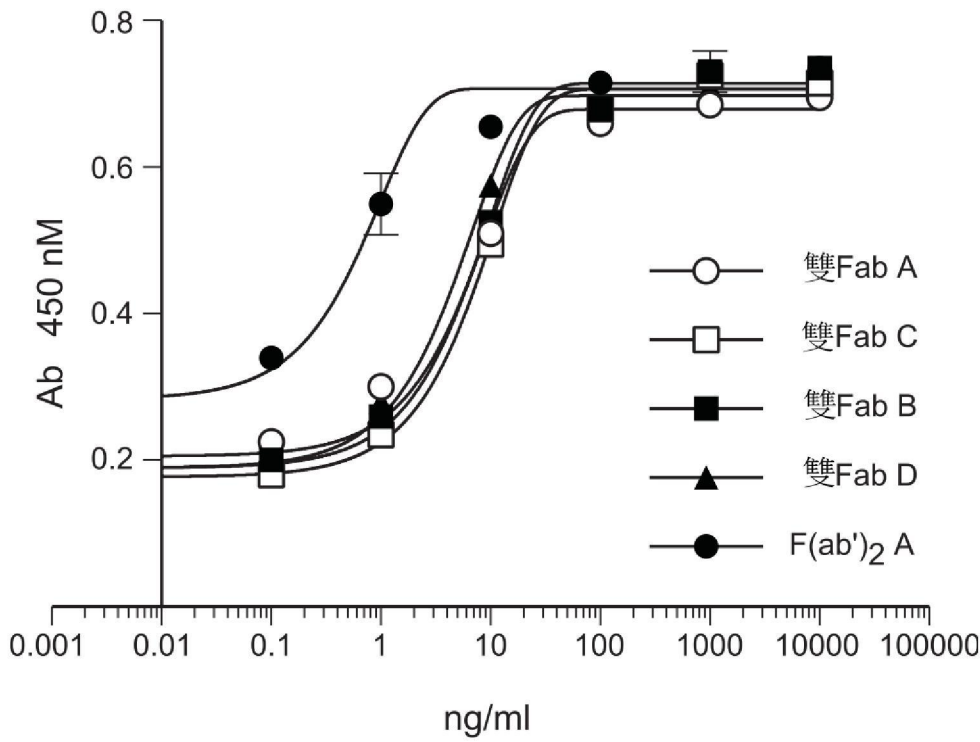
【圖39】

藉由ELISA之結合至FcRH5

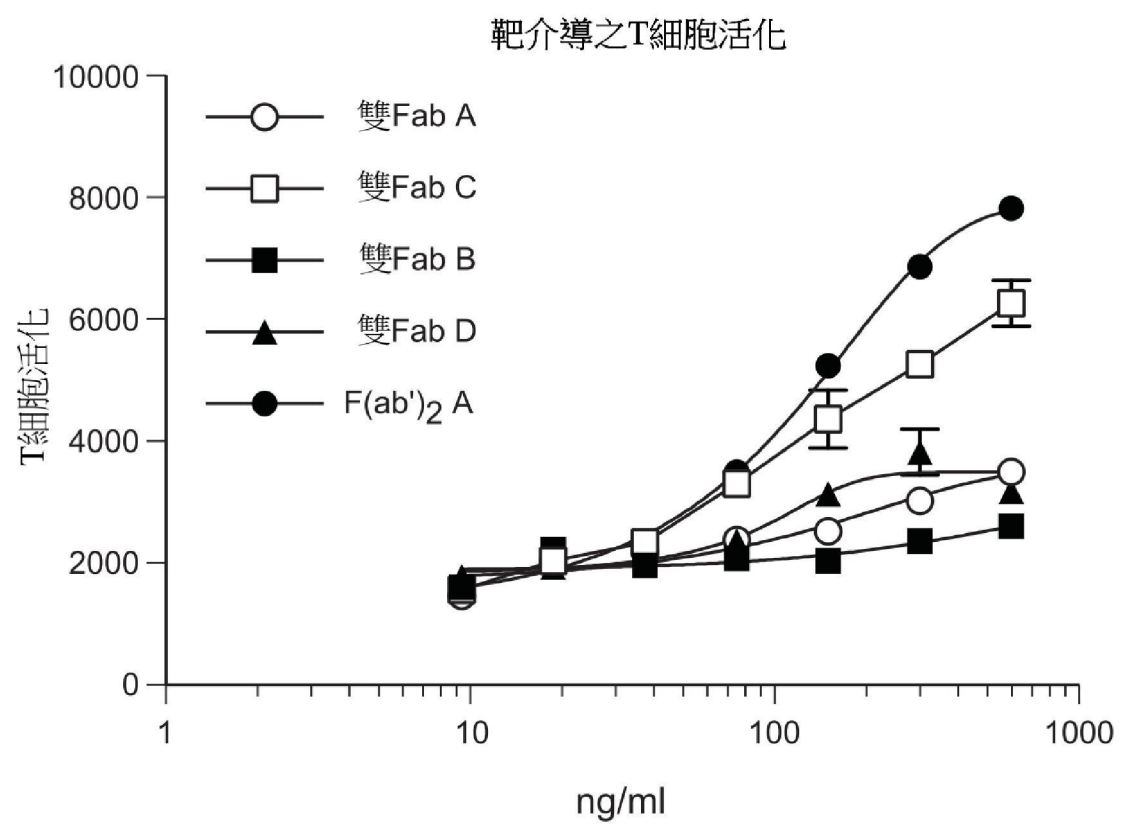


【圖40A】

藉由ELISA之結合至CD3



【圖40B】



【圖41】