I779479

(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 I779479 B**

(45)公告日： 中華民國 111 (2022) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：110104217　(22)申請日： 中華民國 106 (2017) 年 09 月 27 日

(51)Int. Cl.：　*C07K14/705 (2006.01)*　*C07K16/28 (2006.01)*

A61K39/395 (2006.01)　*G01N33/68 (2006.01)*

(30)優先權：2016/09/28　美國　62/401,007

(71)申請人：美商凱特製藥公司 (美國) KITE PHARMA, INC.　(US)

美國

(72)發明人：威希爾斯　傑德 WILTZIUS, JED (US)；西弗斯　史都華 SIEVERS, STUART (US)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

WO　2014/190273A1

審查人員：林佳慧

申請專利範圍項數：19 項　圖式數：22　共 278 頁

(54)名稱

抗原結合分子類和使用彼等之方法

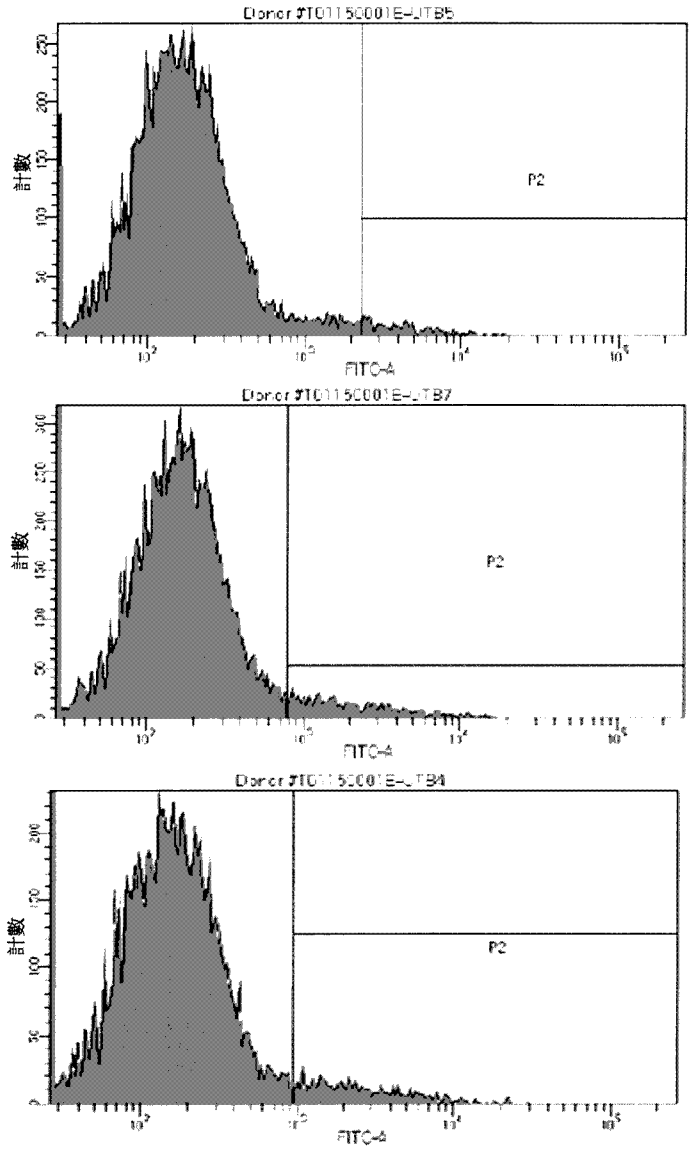
(57)摘要

本發明提供經單離之抗原結合分子，其特異性結合包含 SEQ ID NO: 1 之抗 CD19 scFv。該抗原結合分子可用於本發明所提供之方法。

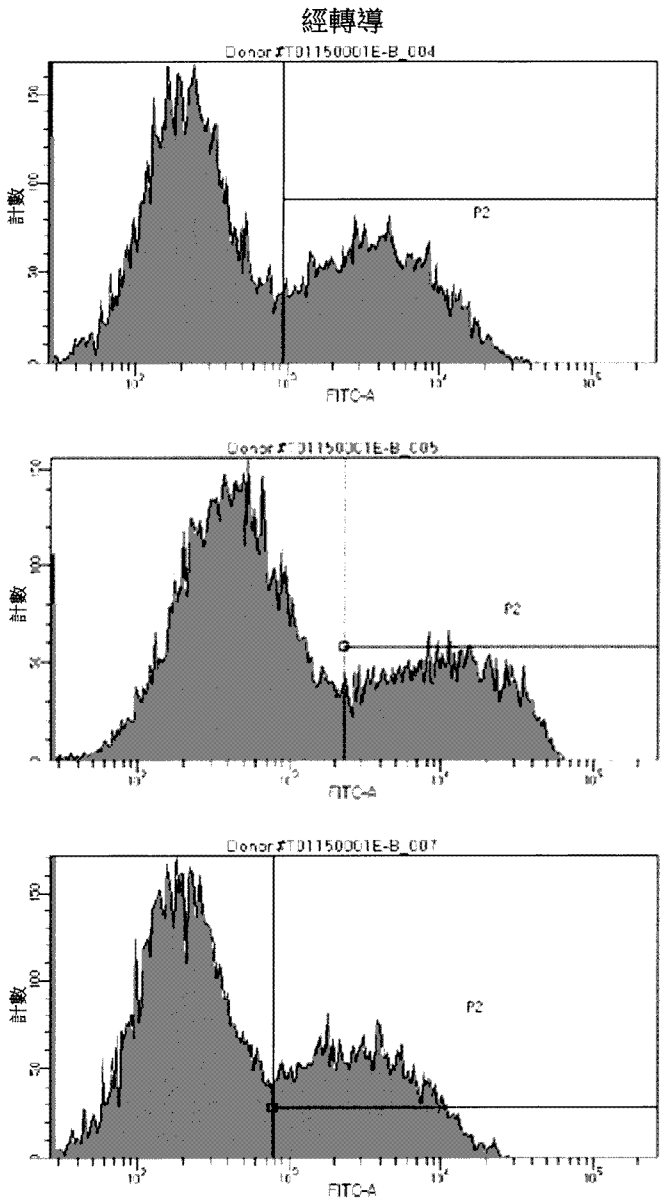
Isolated antigen binding molecules that specifically bind to an anti-CD19 scFv comprising SEQ ID NO: 1 are provided. The antigen binding molecules can be used in the methods provided herein.

指定代表圖：

未經轉導



【圖 1A】


經轉導
Donor#T01150001E-B_004
計數
P2
FITC-A
Donor#T01150001E-B_005
計數
P2
FITC-A
Donor#T01150001E-B_007
計數
P2
FITC-A

【圖 1B】

專利案號：110104217
原申請案號：109114726
分割案 公告本
I779479

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗原結合分子類和使用彼等之方法

【英文發明名稱】

ANTIGEN BINDING MOLECULES AND METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本發明提供經單離之抗原結合分子，其特異性結合包含SEQ ID NO: 1之抗CD19 scFv。該抗原結合分子可用於本發明所提供之方法。

【英文】

Isolated antigen binding molecules that specifically bind to an anti-CD19 scFv comprising SEQ ID NO: 1 are provided. The antigen binding molecules can be used in the methods provided herein.

【指定代表圖】第(1)圖。

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗原結合分子類和使用彼等之方法

【英文發明名稱】

ANTIGEN BINDING MOLECULES AND METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

【0001】本發明關於特異性結合抗CD19 scFv FMC63之抗原結合分子(諸如抗體)類、和包含這些序列之分子和呈現該等分子之細胞、編碼該等抗原結合分子類之多核苷酸和該等抗原結合分子類之人化形式；亦揭示使用該等抗原結合分子類之方法。

相關申請案的交互參照

【0002】本申請案主張於2016年9月28日提交申請之美國臨時專利申請案第62/401,007號之優先權，該申請案之全部內容以引用方式併入本文。

序列表

【0003】本申請案含有已經以ASCII格式經電子提交之序列表且其全部內容以引用方式併入本文。該創建於2017年9月26日之ASCII複本稱為K-103602_SL.txt且其大

小為387,353位元組。

【先前技術】

【0004】抗原結合分子類，包括抗體及諸如Fab、F(ab')2、scFv等等片段，係用於免疫療法及基於固相之應用(諸如生物感測器、親和力層析術及免疫分析)。這些抗體及其他抗原結合分子類由於彼等特異性結合彼等之標靶的能力而得以利用。

【0005】抗遺傳性型抗體(anti-idiotypic antibody)係抗體次集合，且係產生以針對免疫化抗體(immunizing antibody)之抗體。這些抗抗遺傳性型抗體展現針對免疫化抗體之獨特位(idiotope)(該抗體的表面上之獨特抗原決定位)之特異性結合。抗遺傳性型抗體通常可分類成三種不同群組：(1) 辨識不同於免疫化抗體上的抗原結合位(ABS)的獨特位之抗體；(2) 辨識該ABS內的表位且模擬該結構之抗體，並形成所謂的該標稱抗原之“內影像(internal image)”；及(3) 辨識該ABS內的表位而無該標稱抗原的結構相似之抗體(參見例如Pan et al., (1995) FASEB J 9:43-49)。

【0006】FMC63係IgG2a小鼠單株抗體，其辨識CD19，CD19係表現在B細胞的表面上(Zola et al., (1991) Immunol Cell Biol 69:411-22)。自FMC63所形成之單鏈變異片段(scFv)包含一些嵌合抗原受體(CAR)之靶向組分(Kochenderfer et al., (2009) J Immunother 32(7):689-

702)，且FMC63之scFv先前已用於產生抗FMC63抗體(Jena et al., (2013) PLoS ONE 8(3):e57838)。

【0007】本發明所揭示者係特異性結合該抗CD19 scFv FMC63 (SEQ ID NO: 1)之兔子抗原結合分子(包括抗體)類，和包含這些序列之分子和呈現此等分子之細胞。亦形成該所揭示之兔子抗原結合分子類之人化形式作為本發明之態樣。這些抗原結合分子類之應用及用途也予揭示。

【發明內容】

【0008】在一個態樣中，係提供經單離之抗原結合分子，其特異性結合包含SEQ ID NO: 1之分子。在一些實施態樣中，該抗原結合分子特異性結合包含一或多種選自由SEQ ID NO:74-82所組成之群組的胜肽(例如互補決定區(CDR))之分子。在一些實施態樣中，該抗原結合分子係選自由下列所組成之群組：抗體、scFv、Fab、Fab'、Fv、F(ab')2、dAb、人抗體、人化抗體、嵌合抗體、單株抗體、多株抗體、重組抗體、IgE抗體、IgD抗體、IgM抗體、IgG1抗體、在鉸鏈區(hinge region)具有至少一個突變之IgG1抗體、IgG2抗體、在鉸鏈區具有至少一個突變之IgG2抗體、IgG3抗體、在鉸鏈區具有至少一個突變之IgG3抗體、IgG4抗體、在鉸鏈區具有至少一個突變之IgG4抗體、包含至少一個非天然存在的胺基酸之抗體、及任何彼等之組合。

【0009】在一些實施態樣中，該抗原結合分子包含重鏈(HC)，且在另外實施態樣中，該HC包含選自由SEQ ID NO: 3、15、21、33、39及51所組成之群組之重鏈變異區(VH)序列。又在其他實施態樣中，該抗原結合分子之該變異區(VH)包含(a) CDR1、(b) CDR2及(c) CDR3之一或多者。在一些實施態樣中，該抗原結合分子包含選自由SEQ ID NO: 5、23、41及53所組成之群組之重鏈CDR1。在一些實施態樣中，該抗原結合分子包含選自由SEQ ID NO: 6、24、42及54所組成之群組之重鏈CDR2。在一些實施態樣中，該抗原結合分子包含選自由SEQ ID NO: 7、25、43及55所組成之群組之重鏈CDR3。在另外實施態樣中，該抗原結合分子包含重鏈，該重鏈包含重鏈CDR1、重鏈CDR2及重鏈CDR3，各CDR包含示於圖5至21之胺基酸序列。在又進一步之實施態樣中，抗原結合分子包含VH胺基酸序列，其與本發明所提供之抗原結合分子之VH至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%相同度。

【0010】在一些實施態樣中，該抗原結合分子包含輕鏈(LC)，且在另外實施態樣中，該LC包含選自由SEQ ID NO: 8、18、27、36、45及57所組成之群組之輕鏈變異區(VL)序列。在另外實施態樣中，該變異區(VL)包含(a) CDR1、(b) CDR2及(c) CDR3之一或多者。在一些實施態樣中，該抗原結合分子包含選自由SEQ ID NO: 11、29、

47及59所組成之群組之輕鏈CDR1。在一些實施態樣中，該抗原結合分子包含選自由SEQ ID NO: 12、30、48及60所組成之群組之輕鏈CDR2。在一些實施態樣中，該抗原結合分子包含選自由SEQ ID NO: 13、31、49及61所組成之群組之輕鏈CDR3。在一些實施態樣中，該輕鏈包含輕鏈CDR1、輕鏈CDR2及輕鏈CDR3，各CDR包含示於圖5至21之一者之胺基酸序列。在又進一步之實施態樣中，抗原結合分子包含VL胺基酸序列，其與本發明所提供之抗原結合分子之VL至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%相同度。

【0011】在一些實施態樣中，抗原結合分子包含(a)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之VH；及(b) 包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之VL。在一些實施態樣中，抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之VH CDR1區；(b) 包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之VH CDR2區；(c) 包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之VH CDR3區；(d) 包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之VL CDR1區；(e) 包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之VL CDR2區；及(f) 包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之VL CDR3區。

【0012】在一些實施態樣中，抗原結合分子包含(a)包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列之VH；及(b) 包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列之VL。在一些實施態樣中，抗原

結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之VH CDR1區；(b) 包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之VH CDR2區；(c) 包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之VH CDR3區；(d) 包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之VL CDR1區；(e) 包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之VL CDR2區；及(f) 包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之VL CDR3區。

【0013】在一些實施態樣中，抗原結合分子包含(a) 包含SEQ ID NO: 21之胺基酸序列之VH；及(b) 包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列之VL。在一些實施態樣中，抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列之VH CDR1區；(b) 包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列之VH CDR2區；(c) 包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列之VH CDR3區；(d) 包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列之VL CDR1區；(e) 包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之VL CDR2區；及(f) 包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列之VL CDR3區。

【0014】在一些實施態樣中，抗原結合分子包含(a) 包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列之VH；及(b) 包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之VL。在一些實施態樣中，抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列之VH CDR1區；(b) 包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列之VH CDR2區；(c) 包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列之VH CDR3區；(d) 包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列之VL

CDR1區；(e) 包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之VL CDR2區；及(f) 包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列之VL CDR3區。

【0015】在一些實施態樣中，抗原結合分子包含(a) 包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列之VH；及(b) 包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列之VL。在一些實施態樣中，抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 41之胺基酸序列之VH CDR1區；(b) 包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之VH CDR2區；(c) 包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列之VH CDR3區；(d) 包含SEQ ID NO: 47之胺基酸序列之VL CDR1區；(e) 包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列之VL CDR2區；及(f) 包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列之VL CDR3區。

【0016】在一特定實施態樣中，抗原結合分子包含(a) 包含SEQ ID NO: 51之胺基酸序列之VH；及(b) 包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列之VL。在一些實施態樣中，抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列之VH CDR1區；(b) 包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列之VH CDR2區；(c) 包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列之VH CDR3區；(d) 包含SEQ ID NO: 59之胺基酸序列之VL CDR1區；(e) 包含SEQ ID NO: 60之胺基酸序列之VL CDR2區；及(f) 包含SEQ ID NO: 61之胺基酸序列之VL CDR3區。

【0017】在各種實施態樣中，本發明所提供之抗原結

合分子另包含可偵測性標定物，且可偵測性標記物可選自由下列所組成之群組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。在各種實施態樣中，螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、別藻藍素(APC)、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、別藻藍素(APC)、mKO、TurboRFP、

tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-藻紅素(RPE)、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。

【0018】在另一態樣中，所提供者係包含本發明所揭示之抗原結合分子之組成物。亦提供的係編碼本發明所揭示之抗原結合分子的重鏈之多核苷酸，及本發明所揭示之抗原結合分子的輕鏈之多核苷酸。亦揭示包含該等多核苷酸之載體。又，所揭示的是包含此等載體之一或多者之細胞。在各種實施態樣中，該細胞包含選自由下列所組成之群組之細胞：CHO細胞、Sp2/0細胞、兔子細胞及大腸桿菌細胞。本發明提供製造本發明所揭示之抗原結合分子之方法，該方法包含在適合條件下培育本發明所揭示之細胞。

【0019】在另一態樣中，本發明提供投予個體一劑量之藥物之方法，該劑量包含預選數量之呈現包含SEQ ID NO: 1的治療性分子之細胞。在一些實施態樣中，該方法包含(a) 提供已知體積之包含有已知細胞數的族群之樣本，該等細胞係已知或疑有呈現包含SEQ ID NO: 1之分子；(b) 提供包含細胞族群之樣本之整分部分(aliquot)，該細胞呈現包含SEQ ID NO: 1之治療性分子；(c) 提供特異性結合SEQ ID NO: 1之抗原結合分子，該抗原結合分子進一步包含可偵測性標記物；(d) 在允許結合複體形成的

條件下使(b)之該整分部分接觸(c)之該抗原結合分子，該結合複體包含存在於該樣本之細胞及該抗原結合分子；(e)判定該整分部分中存在於(d)之結合複體的細胞之分額；(f) 基於(e)中所判定之細胞分額，判定該樣本中呈現包含SEQ ID NO: 1之分子的細胞之濃度；(g) 判定包含該經選擇之細胞數的樣本體積；及(h) 將在(g)中所判定的樣本體積投予該個體。

【0020】在該方法的一些實施態樣中，(a) 包含SEQ ID NO: 1之該分子係CAR；且(b) 該細胞係選自由下列所組成之群組之免疫細胞：CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。在另一實施態樣中，該CAR進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CDl-la/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand

receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。在另外的實施態樣中，該可偵測性標定物係選自由下列所組成之群組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。在進一步實施態樣中，該螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共

軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、別藻藍素(APC)、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、別藻藍素(APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-藻紅素(RPE)、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。在另外實施態樣中，該免疫細胞係T細胞，且在又進一步之實施態樣中，該T細胞係位於體外或該T細胞係位於活體內。在其他實施態樣中，該T細胞係在血液、經萃取之組織、離體(ex vivo)生長之組織及細胞培養基之一者內。在

一些實施態樣中，該T細胞係自體T細胞，且在其他實施態樣中，該T細胞係異源(allogenic)T細胞。在一實施態樣中，該劑量係該個體每公斤1.0x106個細胞。此外，在所揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含本發明所揭示之抗原結合分子及彼之人化形式。

【0021】在另一態樣中，本發明提供投予個體一劑量之藥物之方法，該劑量包含預選數量之呈現包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列的治療性分子之細胞。在一些實施態樣中，該方法包含(a) 提供已知體積之包含有已知細胞數的族群之樣本，該等細胞係已知或疑有呈現包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子；(b) 提供包含細胞族群之樣本之整分部分(aliquot)，該細胞呈現包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之治療性分子；(c) 提供特異性結合包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列的分子之抗原結合分子，該抗原結合分子進一步包含可偵測性標記物；(d) 在允許結合複體形成的條件下使(b)之該整分部分接觸(c)之該抗原結合分子，該結合複體包含存在於該樣本之細胞及該抗原結合分子；(e) 判定該整分部分中存在於(d)之結合複體的細胞之分額；(f) 基於(e)中所判定之細胞分額，判定該樣本中呈現包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子的細胞之濃度；(g) 判定包含該經選擇之細胞數的樣本體積；及(h) 將在(g)中所判定的樣本體積投予該個體。

【0022】在該方法的一些實施態樣中，(a) 包含根據

SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之該分子係CAR；且(b) 該細胞係選自由下列所組成之群組之免疫細胞：CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。在一些實施態樣中，該CAR進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CDl-la/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276(B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、

CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。在一些實施態樣中，該可偵測性標定物係選自由下列所組成之群組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。在進一步實施態樣中，該螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、別藻藍素(APC)、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白

(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、別藻藍素(APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-藻紅素(RPE)、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。在另外實施態樣中，該免疫細胞係T細胞，且在又進一步之實施態樣中，該T細胞係位於體外或該T細胞係位於活體內。在其他實施態樣中，該T細胞係在血液、經萃取之組織、離體(ex vivo)生長之組織及細胞培養基之一者內。在一些實施態樣中，該T細胞係自體T細胞，且在其他實施態樣中，該T細胞係異源(allogenic)T細胞。在一實施態樣中，該劑量係該個體每公斤1.0x106個細胞。此外，在所揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含本發明所揭示之抗原結合分子及彼之人化形式。

【0023】在另一態樣中，本發明提供判定樣本內呈現包含SEQ ID NO: 1的分子之細胞數之方法。在一實施態樣

中，該方法包含(a) 提供包含已知或疑有呈現包含SEQ ID NO: 1的分子之細胞之樣本；(b) 在允許結合複體形成的條件下使(a)之該樣本接觸特異性結合包含SEQ ID NO: 1的分子之抗原結合分子，該抗原結合分子進一步包含可偵測性標記物，該結合複體包含存在於該樣本中之細胞及該抗原結合分子；及(c) 判定樣本內存在於(b)之結合複體中的細胞數。

【0024】在所揭示之方法的一些實施態樣中，(a) 包含SEQ ID NO: 1之該分子係CAR；且(b) 該細胞係選自由下列所組成之群組之免疫細胞：CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。在一些實施態樣中，該CAR進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CDl-la/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand

receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRT AM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。在一些實施態樣中，該可偵測性標定物係選自由下列所組成之群組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。在一些實施態樣中，該螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素

(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、別藻藍素(APC)、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、別藻藍素(APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-藻紅素(RPE)、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。在另外實施態樣中，該免疫細胞係T細胞，且在又進一步之實施態樣中，該T細胞係位於體外或該T細胞係位於活體內。在其他實施態樣中，該T細胞係在血液、經萃取之組織、離體(ex vivo)生長之組織及細胞培養基之一者內。在

一些實施態樣中，該T細胞係自體T細胞，且在其他實施態樣中，該T細胞係異源(allogenic)T細胞。此外，在所揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含本發明所揭示之抗原結合分子及彼之人化形式。

【0025】在另一態樣中，本發明提供判定樣本內呈現包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子之細胞數之方法。在一些實施態樣中，該方法包含(a) 提供包含已知或疑有呈現包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子之細胞之樣本；(b) 在允許結合複體形成的條件下使(a)之該樣本接觸特異性結合包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子之抗原結合分子，該抗原結合分子進一步包含可偵測性標記物，該結合複體包含存在於該樣本中之細胞及該抗原結合分子；及(c)判定樣本內存在於(b)之結合複體中的細胞數。

【0026】在所揭示之方法的一些實施態樣中，(a) 包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之該分子係CAR；且(b) 該細胞係選自由下列所組成之群組之免疫細胞：CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。在一些實施態樣中，該CAR進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功

能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CD1-1a/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。在一些實施態樣中，該可偵測性標定物係選自由下列所組成之群

組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。在一些實施態樣中，該螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、別藻藍素(APC)、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、別藻藍素(APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、

mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-藻紅素(RPE)、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。在另外實施態樣中，該免疫細胞係T細胞，且在又進一步之實施態樣中，該T細胞係位於體外或該T細胞係位於活體內。在其他實施態樣中，該T細胞係在血液、經萃取之組織、離體(ex vivo)生長之組織及細胞培養基之一者內。在一些實施態樣中，該T細胞係自體T細胞，且在其他實施態樣中，該T細胞係異源(allogenic)T細胞。此外，在所揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含本發明所揭示之抗原結合分子及彼之人化形式。

【0027】在另一態樣中，本發明提供單離包含SEQ ID NO: 1的分子之方法。在一實施態樣中，該方法包含(a)提供已知或疑有包含有SEQ ID NO: 1的分子之樣本；(b)提供特異性結合包含SEQ ID NO: 1的分子之抗原結合分子，該抗原結合分子隨意地包含可偵測性標記物；(c) 在允許結合複體形成的條件下使該樣本接觸該抗原結合分子，該結合複體包含有SEQ ID NO: 1之該分子及該抗原結合分子；(d) 使任何不為結合複體一部分之分子與經形成之結合複體分離；及(e) 分離經形成之結合複體為：(a)包含SEQ ID NO: 1之分子，和(b) 抗原結合分子。

【0028】在所揭示之方法的實施態樣中，該包含SEQ ID NO: 1之分子係CAR。在實施態樣中，該CAR進一步包

含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CD1-1a/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRT AM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、

Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。在一些實施態樣中，該抗原結合分子係位於選自由下列所組成之群組之表面上：瓊脂糖珠粒、磁珠、塑膠孔盤、玻璃孔盤、陶瓷孔盤及細胞培養袋。在一些實施態樣中，該可偵測性標定物係選自由下列所組成之群組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。在一些實施態樣中，該螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、別藻藍素(APC)、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、

mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、別藻藍素(APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-藻紅素(RPE)、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。此外，在所揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含本發明所揭示之抗原結合分子及彼之人化形式。

【0029】在另一態樣中，本發明提供單離包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子之方法。在一實施態樣中，該方法包含(a) 提供已知或疑有包含有根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子之樣本；(b) 提供特異性結合包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列的分子之抗原結合分子，該抗原結合分子隨意地包含可偵測性標記物；(c) 在允許結合複體形成的條件下使該樣本接觸該抗原結合分子，該結合複體包含有根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之該分子及該抗原結合分子；(d) 使任何不為結合複體一部分之分子與經形成之結合複體分離；及(e) 分離經形成之結合複體為：(a)

包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子，和(b) 抗原結合分子。

【0030】在所揭示之方法的一些實施態樣中，該包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子係CAR。在實施態樣中，該CAR進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CD1-1a/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、

CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。在一些實施態樣中，該抗原結合分子係位於選自由下列所組成之群組之表面上：瓊脂糖珠粒、磁珠、塑膠孔盤、玻璃孔盤、陶瓷孔盤及細胞培養袋。在一些實施態樣中，該可偵測性標定物係選自由下列所組成之群組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。在一些實施態樣中，該螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、別藻藍素(APC)、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、

SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、別藻藍素(APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-藻紅素(RPE)、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。此外，在所揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含本發明所揭示之抗原結合分子及彼之人化形式。

【0031】在另一態樣中，本發明提供判定樣本中存在或不存在包含SEQ ID NO: 1的分子之方法。在一些實施態樣中，該方法包含(a) 提供已知或疑有包含有SEQ ID NO: 1的分子之樣本；(b) 提供包含可偵測性標記物之抗原結合分子，該抗原結合分子特異性結合包含SEQ ID NO: 1之分子；(c) 在允許結合複體形成的條件下使該樣本接觸該抗原結合分子；(d) 使任何不為結合複體一部分之分子與

經形成之結合複體分離；及(e) 偵測存有或不存有結合複體。

【0032】在一些實施態樣中，該包含SEQ ID NO: 1之分子係CAR，且在進一步實施態樣中，該CAR進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CD1-la/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、

TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。在另外實施態樣中，該抗原結合分子係位於選自由下列所組成之群組之表面上：瓊脂糖珠粒、磁珠、塑膠孔盤、玻璃孔盤、陶瓷孔盤及細胞培養袋。在進一步實施態樣中，該可偵測性標定物係選自由下列所組成之群組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。在又進一步之實施態樣中，該螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、別藻藍素(APC)、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、

EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、別藻藍素(APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-藻紅素(RPE)、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。此外，在所揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含本發明所揭示之抗原結合分子及彼之人化形式。

【0033】在另一態樣中，本發明提供判定樣本內存在或不存在包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子之方法。在一些實施態樣中，該方法包含(a) 提供已知或疑有包含有根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子之樣本；(b) 提供包含可偵測性標記物、特異性結合包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列的分子之抗原結合分子；(c) 在允許結合複體形成的條件下使該樣本接觸該抗原結合分子；(d) 使任何不為結合複體

一部分之分子與經形成之結合複體分離；及(e) 偵測存有或不存有結合複體。

【0034】在一些實施態樣中，該包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子係CAR，且在進一步實施態樣中，該CAR進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CD1-la/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、

LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRT AM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。在另外實施態樣中，該抗原結合分子係位於選自由下列所組成之群組之表面上：瓊脂糖珠粒、磁珠、塑膠孔盤、玻璃孔盤、陶瓷孔盤及細胞培養袋。在進一步實施態樣中，該可偵測性標定物係選自由下列所組成之群組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。在又進一步之實施態樣中，該螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、別藻藍素(APC)、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、

SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、別藻藍素(APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-藻紅素(RPE)、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。此外，在所揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含本發明所揭示之抗原結合分子及彼之人化形式。

【0035】在又另一態樣中，本發明提供增加呈現包含SEQ ID NO: 1的分子之細胞的濃度之方法。在一些實施態樣中，該方法包含(a) 提供包含已知或疑有呈現包含SEQ ID NO: 1的分子之細胞之樣本；(b) 提供特異性結合包含SEQ ID NO: 1的分子之抗原結合分子，該抗原結合分子隨意地包含可偵測性標記物；(c) 在允許結合複體形成的條件下使該樣本接觸該抗原結合分子，該結合複體包含有

SEQ ID NO: 1之該分子及該抗原結合分子；(d) 移除任何不為結合複體的一部分之組分；及(e) 重複步驟(a)至(d)達所欲之次數。

【0036】在一實施態樣中，(a) 包含SEQ ID NO: 1之該分子係CAR；且(b) 該細胞係選自由下列所組成之群組之免疫細胞：CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。在其他實施態樣中，該CAR進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CD1-la/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、

ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。在另外實施態樣中，該免疫細胞係T細胞，且在又進一步之實施態樣中，該T細胞係位於體外或該T細胞係位於活體內。在其他實施態樣中，該T細胞係在血液、經萃取之組織、離體(ex vivo)生長之組織及細胞培養基之一者內。在一些實施態樣中，該T細胞係自體T細胞，且在其他實施態樣中，該T細胞係異源(allogenic)T細胞。此外，在所揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含本發明所揭示之抗原結合分子及彼之人化形式。在進一步實施態樣中，該可偵測性標定物係選自由下列所組成之群組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。在實施態樣中，該螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素

(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、別藻藍素(APC)、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、別藻藍素(APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-藻紅素(RPE)、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。

【0037】在又另一態樣中，本發明提供增加呈現包含

根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列的分子之細胞的濃度之方法。在一實施態樣中，該方法包含(a) 提供包含已知或疑有呈現包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子之細胞之樣本；(b) 提供特異性結合包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列的分子之抗原結合分子，該抗原結合分子隨意地包含可偵測性標記物；(c) 在允許結合複體形成的條件下使該樣本接觸該抗原結合分子，該結合複體包含有根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之該分子及該抗原結合分子；(d) 移除任何不為結合複體的一部分之組分；及(e) 重複步驟(a)至(d)達所欲之次數。

【0038】在一實施態樣中，(a) 包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之該分子係CAR；且(b) 該細胞係選自由下列所組成之群組之免疫細胞：CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。在其他實施態樣中，該CAR進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CDl-la/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、

Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRT AM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。在另外實施態樣中，該免疫細胞係T細胞，且在又進一步之實施態樣中，該T細胞係位於體外或該T細胞係位於活體內。在其他實施態樣中，該T細胞係在血液、經萃取之組織、離體(ex vivo)生長之組織及細胞培養基之一者內。在一些實施態樣中，該T細胞係自體T細胞，

且在其他實施態樣中，該T細胞係異源(allogenic)T細胞。此外，在所揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含本發明所揭示之抗原結合分子及彼之人化形式。在進一步實施態樣中，該可偵測性標定物係選自由下列所組成之群組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。在實施態樣中，該螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、別藻藍素(APC)、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、

ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、別藻藍素(APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2(“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-藻紅素(RPE)、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate(TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。

【0039】在另一態樣中，本發明提供減除(depleting)呈現包含SEQ ID NO: 1的分子之免疫細胞族群之方法。在一些實施態樣中，該方法包含(a) 提供待減除之免疫細胞族群，其中該等免疫細胞係已知或疑有呈現包含SEQ ID NO: 1的分子；及(b) 在允許三元結合複體形成條件下使該等免疫細胞與抗原結合分子接觸，該抗原結合分子特異性結合(a) 包含SEQ ID NO: 1之該分子和(b) 活化分子，該活化分子經表現在未呈現包含SEQ ID NO: 1之分子的免疫細胞表面上，該三元結合複體包含：包含SEQ ID NO: 1之分子、該活化分子及該抗原結合分子。在進一步實施態樣中，(a) 包含SEQ ID NO: 1之該分子係CAR；且(b) 該免疫細胞選自由下列所組成之群組：CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。在又進一步之實施態樣中，該CAR進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、

CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CDl-la/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 ld、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 la、LFA-1、ITGAM、CD1 lb、ITGAX、CD1 lc、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRT AM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、

SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。在另外實施態樣中，該免疫細胞係T細胞，且在又進一步之實施態樣中，該T細胞係位於體外或該T細胞係位於活體內。在其他實施態樣中，該T細胞係在血液、經萃取之組織、離體(ex vivo)生長之組織及細胞培養基之一者內。在一些實施態樣中，該T細胞係自體T細胞，且在其他實施態樣中，該T細胞係異源(allogenic)T細胞。此外，在所揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含本發明所揭示之抗原結合分子及彼之人化形式。

【0040】在另一態樣中，本發明提供減除(depleting)呈現包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列的分子之免疫細胞族群之方法。在一些實施態樣中，該方法包含(a) 提供待減除之免疫細胞族群，其中該等免疫細胞係已知或疑有呈現包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列的分子；及(b) 在允許三元結合複體形成條件下使該等免疫細胞與抗原結合分子接觸，該抗原結合分子特異性結合(a) 包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之該分子和(b) 活化分子，該活化分子經表現在未呈現包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子的免疫細胞表面上，該三元結合複體包含：包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之分子、該活化分子及該抗原結合分子。

【0041】在進一步實施態樣中，(a) 包含根據SEQ ID No: 74-82之任一者的CDR序列之該分子係CAR；且(b) 該

免疫細胞選自由下列所組成之群組：CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。在又進一步之實施態樣中，該CAR進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CD1-1a/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、

SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRT AM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。在另外實施態樣中，該免疫細胞係T細胞，且在又進一步之實施態樣中，該T細胞係位於體外或該T細胞係位於活體內。在其他實施態樣中，該T細胞係在血液、經萃取之組織、離體(ex vivo)生長之組織及細胞培養基之一者內。在一些實施態樣中，該T細胞係自體T細胞，且在其他實施態樣中，該T細胞係異源(allogenic)T細胞。此外，在所揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含本發明所揭示之抗原結合分子及彼之人化形式。

【圖式簡單說明】

【0042】[圖1]係一系列顯示使用未經誘導之細胞(圖1A)及以編碼包含抗CD19 scFv FMC63的CAR之構築體所誘導之細胞(圖1B)並接著接觸對應三種不同親代型抗體株(抗體株14、抗體株15及抗體株17)的抗scFv抗體來進行的流動式細胞測量術實驗結果圖；該等圖證實抗體特異性結合所表現之CAR。

【0043】[圖2]係一系列顯示使用以編碼包含抗CD19 scFv FMC63的CAR之構築體所誘導之細胞並接著接觸對應

五種不同抗體株(抗體株14-1、抗體株14-7、抗體株15、抗體株17-1及抗體株17-4)的抗scFv抗體來進行的流動式細胞測量術實驗結果圖；該等圖證實抗體特異性結合所表現之CAR。

【0044】[圖3]係一系列描繪使用呈現包含抗CD19 scFv FMC63的CAR之細胞所進行的免疫組織化學(IHC)研究結果之影像；左圖證實抗體株7特異性結合該CAR，而右圖證實抗體株13特異性結合該CAR。

【0045】[圖4]係一系列描繪使用呈現包含抗CD19 scFv FMC63的CAR之細胞所進行的免疫組織化學(IHC)研究結果之相片；圖4A證實抗體株7及13特異性結合該CAR，而圖4B證實使用PBMC對照的兩者抗體之結果。

【0046】[圖5]係一系列序列，顯示抗體株7之VH區之編碼序列及胺基酸序列、針對此抗體株之全長重鏈胺基酸序列及重鏈CDR1、CDR 2及CDR 3胺基酸序列。

【0047】[圖6]係一系列序列，顯示抗體株7之VL區之編碼序列及胺基酸序列、針對此抗體株之全長輕鏈胺基酸序列及輕鏈CDR1、CDR 2及CDR 3胺基酸序列。

【0048】[圖7]係一系列序列，顯示抗體株13之VH區之編碼序列及胺基酸序列、針對此抗體株之全長重鏈胺基酸序列及重鏈CDR1、CDR 2及CDR 3胺基酸序列。

【0049】[圖8]係一系列序列，顯示抗體株13之VL區之編碼序列及胺基酸序列、針對此抗體株之全長輕鏈胺基酸序列及輕鏈CDR1、CDR 2及CDR 3胺基酸序列。

【0050】[圖9]係一系列序列，顯示抗體株14-1之VH區之編碼序列及胺基酸序列、針對此抗體株之全長重鏈胺基酸序列及重鏈CDR1、CDR 2及CDR 3胺基酸序列。

【0051】[圖10]係一系列序列，顯示抗體株14-1之VL區之編碼序列及胺基酸序列、針對此抗體株之全長輕鏈胺基酸序列及輕鏈CDR1、CDR 2及CDR 3胺基酸序列。

【0052】[圖11]係一系列序列，顯示抗體株14-7之VH區之編碼序列及胺基酸序列、針對此抗體株之全長重鏈胺基酸序列及重鏈CDR1、CDR 2及CDR 3胺基酸序列。

【0053】[圖12]係一系列序列，顯示抗體株14-7之VL區之編碼序列及胺基酸序列、針對此抗體株之全長輕鏈胺基酸序列及輕鏈CDR1、CDR 2及CDR 3胺基酸序列。

【0054】[圖13]係一系列序列，顯示抗體株15之VH區之編碼序列及胺基酸序列、針對此抗體株之全長重鏈胺基酸序列及重鏈CDR1、CDR 2及CDR 3胺基酸序列。

【0055】[圖14]係一系列序列，顯示抗體株15之VL區之編碼序列及胺基酸序列、針對此抗體株之全長輕鏈胺基酸序列及輕鏈CDR1、CDR 2及CDR 3胺基酸序列。

【0056】[圖15]係一系列序列，顯示抗體株17之VH區之編碼序列及胺基酸序列、針對此抗體株之全長重鏈胺基酸序列及重鏈CDR1、CDR 2及CDR 3胺基酸序列。

【0057】[圖16]係一系列序列，顯示抗體株17之VL區之編碼序列及胺基酸序列、針對此抗體株之全長輕鏈胺基酸序列及輕鏈CDR1、CDR 2及CDR 3胺基酸序列。

【0058】[圖17]係序列比對，顯示所鑑定之六個不同抗體的各種重鏈序列(圖17A)及顯示序列彼此關係之分枝系圖(clading diagram)(圖17B)。

【0059】[圖18]係序列比對，顯示所鑑定之六個不同抗體的各種輕鏈序列(圖18A)及顯示序列彼此關係之分枝系圖(clading diagram)(圖18B)。

【0060】[圖19]係顯示所鑑定之六個不同抗體的重鏈及輕鏈之CDR1、CDR2及CDR3序列之表，其係以Kabat編號方案示之。

【0061】[圖20]係顯示所鑑定之六個不同抗體的重鏈及輕鏈之CDR1、CDR2及CDR3序列之表，其係以Chothia編號方案示之。

【0062】[圖21]係顯示所鑑定之六個不同抗體的重鏈及輕鏈之CDR1、CDR2及CDR3序列之表，其係以IMGT編號方案示之。

【0063】[圖22]顯示流動式細胞測量圖，其用於判定抗體株14-1、15及17-4與FMC63及彼之人化變異體(SS、JS、AS、NS)之結合。

【實施方式】

發明詳述

【0064】本發明關於抗遺傳性型抗原結合分子類(包括抗體)，其特異性結合會特異性結合抗CD19 scFv FMC63之胺基酸序列之抗原結合分子類(參見Nicholson et al.,

(1997) Mol Immunol 34(16-17):1157-65)。

【0065】該抗CD19 scFv FMC63具有胺基酸序列：

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGT
VKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYF
CQQGNTLPYTFGGGTKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQ
ESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWL
GVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTA
IYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 1)

【0066】亦提供該等抗原結合分子類之人化形式、包含該抗CD19 scFv FMC63之分子及呈現包含該抗CD19 scFv FMC63的分子之細胞。此外，亦揭示編碼該等抗原結合分子類的多核苷酸，和包含該多核苷酸的載體，以及包含該多核苷酸和載體的體外細胞。

【0067】本發明提供使用所揭示之抗原結合分子類之方法。本文中所述之抗原結合分子類、多核苷酸、載體、體外細胞和方法可用於一系列應用中，例如作為試劑以偵測包含該抗CD19 scFv FMC63的部份(moiety)、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞之存在，定量包含抗CD19 scFv FMC63的部分、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞之量，篩選包含該抗CD19 scFv FMC63的部分、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，純化包含該抗CD19 scFv FMC63的部分、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，及著重於包含該抗CD19 scFv FMC63的部分、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞之生物標記研究。亦提供治療性用途，例如包含該抗

CD19 scFv FMC63的部分之生物活性(和呈現此等分子之細胞)係經調變(增強或抑制)、和有關包含該抗CD19 scFv FMC63之治療的劑量範圍研究、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞、及呈現此等分子之細胞之應用。

【0068】本發明所揭示之抗原結合分子類(抗體)係自融合瘤來產生，該融合瘤係使用兔子來源B-細胞來產生，但可容易地使用熟悉本技術領域者已知的標準方法和本文中所述者來人化。所揭示之抗原結合分子類之代表性人化形式可如本文所述者而產生。

I. 定義

【0069】為了更容易理解本發明，首先定義某些用語。如在本申請中所使用的，除非本發明另外明確地提供，否則下列用語各者將具有下列所述的意義。另外定義係在本案內容中提及。本發明所提供的標題並非本發明之各種態樣之限制，該些態樣應參照說明書整體來理解。

【0070】應理解的是，無論在何處，本文中所述之態樣帶有“包含”一詞，亦提供以“由...所組成”及/或“基本上由...所組成”所描述之其他類似態樣。

【0071】本文中所使用之單位、前綴和符號係使用其國際單位制(SI)所接受之形式提供。數字範圍包含定義該範圍之數字。

【0072】除非另外定義，否則本文中所使用之所有技術和科學用語具有與本發明相關之所屬技術領域中具有通

常知識者通常理解的相同含義。舉例而言，針對許多用於本發明中之用語，Juo, The Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, 2nd ed., (2001), CRC Press；The Dictionary of Cell & Molecular Biology, 5th ed., (2013), Academic Press；及The Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Cammack et al. eds., 2nd ed, (2006), Oxford University Press，提供所屬技術領域中具有通常知識者一般字典。

【0073】如本文中所使用，二十個習知(例如天然存在)胺基酸及它們的縮寫遵照習知用法。參見例如Immunology -A Synthesis (2nd Edition), Golub and Green, eds., Sinauer Assoc., Sunderland, Mass. (1991)，其針對任何目的以引用方式併入本文中。該二十種習知胺基酸之立體異構體(例如D-胺基酸)、非天然胺基酸，諸如α,α-二取代之胺基酸、N-烷基胺基酸、乳酸及其他非習知胺基酸亦為本發明多肽之合適組分。非習知胺基酸之實例包括：4-羥基脯胺酸、γ-羧基麩胺酸、ε-N,N,N-三甲基離胺酸、e-N-乙醯基離胺酸、O-磷酸絲胺酸、N-乙醯基絲胺酸、N-甲醯基甲硫胺酸、3-甲基組胺酸、5-羥基離胺酸、σ-N-甲基精胺酸及其他類似之胺基酸和亞胺酸(例如4-羥基脯胺酸)。本文中所使用之多肽記法中，根據標準用法和慣例，左手方向為胺基端方向，而右手方向為羧基端方向。

【0074】如本文中所使用，用語“一(a及an)”係依標準慣例而使用且意指一或多者，除非上下文另指他者。

【0075】如本文中所使用，用語“約”係指當由所屬技術領域中具有通常知識者測定時，該數值或組成係在特定之數值或組成之可接受的誤差範圍內，該可接受之誤差範圍將部分取決於該數值或組成是如何測量或測定的，即該測量系統之限制。例如，“約”或“基本上包含”可意指每次本技藝之實踐係在一個或多於一個標準偏差內。或者，“約”或“基本上包含”可意指高達10%(即，±10%)之範圍。例如，約5 mg可包括在4.5 mg至5.5 mg之間的任何數目。此外，尤其是在生物系統或過程方面，該用語可意指高達數值之一個數量級或高達5倍。當在本申請案中提供特定數值或組成時，除非另外指明，“約”或“基本上包含”之含義應被假定為係在該特定值或組成之可接受的誤差範圍內。

【0076】除非另有說明，所描述之任何濃度範圍、百分比範圍、比例範圍或整數範圍應被理解為包括在該所列舉之範圍內的任何整數，且當適當時，包括其分數(諸如該整數之十分之一及百分之一)。

【0077】如本文中所使用，用語“和/或(及/或)”應被理解為具有或不具有二個特定特定特徵或組件中的各者的特定揭露。因此，本發明，用語“和/或(及/或)”如用於諸如“A和/或B”之短語中，係意欲包括“A和B”、“A或B”、“A(單獨)”和“B(單獨)”。同樣，用語“和/或”如用於諸如“A、B和/或C”之短語中，係意欲涵蓋下列各態樣：A、B及C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A及C；A及B；B

及C；A(單獨)；B(單獨)；及C(單獨)。

【0078】如本文中所使用，擇一選項用語(例如“或”)的使用應該被理解為是指這些選項中的任一個、兩者或其任何組合。

【0079】如本文中所使用，用語用語“同種異體(allogeneic)”係指源自與其稍後被引入之個體為相同物種之另一個體的任何物質，例如同種異體T細胞移植。

【0080】如本文中所使用，用語“抗體”(Ab)包括，但不限於與抗原特異性結合之醣蛋白免疫球蛋白。一般而言，抗體可至少包含藉由雙硫鍵相互連接之二個重(HC)鏈和二個輕(LC)鏈，或其抗原結合分子。各HC鏈包含重鏈變異區(本發明縮寫為VH)及重鏈恆定區。重鏈恆定區包含三個恆定域CH1、CH2和CH3。各LC鏈包含輕鏈變異區(本發明縮寫為VL)及輕鏈恆定區。該輕鏈恆定區包含一個恆定域，CL。該VH和VL區可被進一步細分為高變異區，稱為互補決定區(CDR)，其間穿插較被保留之區，稱為骨架區(FR)。各VH和VL包含三個CDR及四個FR，從胺基端至羧基端依下列順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。該重鏈和輕鏈之變異區含有與抗原交互作用之結合域。該Ab之恆定區可介導免疫球蛋白與宿主組織或因子，包括各種免疫系統細胞(例如效應細胞)及經典補體系統之第一組分(C1q)結合。用語“抗體”亦涵蓋完整免疫球蛋白或其抗原結合部分，其與完整抗體競爭特異性結合，除非另有指明。抗原結合部分可藉由重組DNA技

術或藉由酵素或化學截切完整抗體來製造。抗原結合部分其中包括Fab、Fab'、F(ab')2、Fv、域抗體(domain antibody) (dAb)、包括互補決定區(CDR)、單鏈抗體(scFv)、嵌合抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體及含有至少一部分足以賦予特異性抗原結合該多肽的免疫球蛋白多肽之片段。

【0081】用語"抗體"包括天然存在的和非天然存在的(重組產生的)抗體、人和非人抗體、單特異性抗體、多特異性抗體(包括雙特異性抗體)、免疫球蛋白、合成抗體、包含兩個重鏈和兩個輕鏈分子之四聚體抗體、抗體輕鏈單體、抗體重鏈單體、抗體輕鏈二聚體、抗體重鏈二聚體、抗體輕鏈-抗體重鏈對、胞內抗體(intrabody)(參見例如Stocks, (2004) Drug Discovery Today 9(22):960-66)、抗體融合(該用語涵蓋抗體-藥物共軛物)並且本發明有時稱為"抗體共軛物")、異源軛合抗體、單域抗體、單價抗體、單鏈抗體或單鏈Fvs(scFv)、駱駝化抗體、親和體(affybody)、Fab片段、F(ab')2片段、二硫鍵連接之Fvs(sdFv)、抗遺傳性型(抗Id)抗體(包括，例如抗-抗-Id抗體)、微型抗體、域抗體、合成抗體(本文中有時稱為"抗體模擬物")及上述任一者之抗原結合片段。在某些實施態樣中，本文中所述之抗體係指多株抗體族群。

【0082】如本文中所揭示，就特異性結合抗CD19 scFv FMC63之抗體和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞而言，非人抗體可使用重組方法來人化以減少其在人

的致免疫性。在沒有明確說明的情況下，除非上下文另有說明，用語“抗體”還包括任何上述免疫球蛋白的抗原結合分子的抗原結合片段，並且包括單價和二價片段或部分，以及單鏈抗體(即scFv)。

【0083】在各種實施態樣中，抗體特異性結合抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞。在一些實施態樣中，該抗體特異性結合包含SEQ ID NO: 1之CAR(或其組分)和包含此序列之分子、及呈現此等分子之細胞；細胞呈現SEQ IDNO: 1可為、但不必為免疫細胞，諸如T細胞。

【0084】如本文中所使用，用語“抗原”係指任何引發免疫反應或能與抗體或抗原結合分子結合之分子。該免疫反應可涉及抗體產生或特異性免疫活性細胞之活化，或此二者。本技藝之技術熟習人士將能輕易理解任何大分子、包括幾乎所有的蛋白質或肽(包括抗CD19 scFv FMC63，SEQ ID NO: 1)和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，均可作為抗原。通常，抗原可內源性地表現，即由基因體DNA表現或可重組表現、或其可化學性合成。在一個特定實施態樣中，抗原包含所有或部分抗CD19 scFv FMC63、和包含此序列之分子，其隨意地共軛至佐劑(諸如鑰孔帽貝血藍素(KLH))或Fc以促進篩選。

【0085】如本文中所使用，用語“抗原結合分子”意指一蛋白質，其包含結合至抗原或靶向蛋白之部分，且隨意地，包含允許抗原結合部分有構形促進抗原結合分子結合

抗原之支架或骨架部分。抗原結合分子類之代表性類型實例包括scFv、人、小鼠或兔子抗體；人化抗體；嵌合抗體；重組抗體；單鏈抗體；雙功能抗體；三功能抗體；四功能抗體；Fab片段；F(ab')2片段；IgD抗體；IgE抗體；IgM抗體；IgG1抗體；IgG2抗體；IgG3抗體；或IgG4抗體及其片段。

【0086】抗原結合分子可包含例如替代蛋白質支架或人造支架，其具有接枝之互補決定區(CDR)或CDR衍生物。這樣的支架包括但不限於包含引入至例如穩定抗原結合分子的三維結構的突變的抗體衍生的支架以及包含例如生物相容性聚合物的完全合成的支架。參見例如Korndorfer et al., 2003, Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 53(1):121-129 (2003); Roque et al., Biotechnol. Prog. 20:639-654 (2004)。此外，可以使用胜肽抗體模擬物("PAM")以及基於利用各種組分(例如纖網蛋白)作為支架的抗體模擬物的支架。抗原結合分子可具有例如天然存在免疫球蛋白之結構。

【0087】抗原結合分子可具有一或多個結合位。若多於一個結合位，該結合位可為彼此相同或它們可為不同者。舉例而言，天然存在的人免疫球蛋白通常具有兩個相同的結合位點，而"雙特異性"或"雙功能"抗體具有兩個不同的結合位點，並且能夠特異性結合兩種不同的抗原(例如抗CD19 scFv FMC63和細胞表面活化分子(cell surface activator molecule))。

【0088】在各種實施態樣中，抗原結合分子是抗體或其片段，其包括一或多個本發明所揭示和圖5-21中所示的特異性結合抗CD19 scFv FMC63的互補決定區(CDR)，以及包含抗-CD19 scFv FMC63的分子和呈現此等分子之細胞。在進一步實施態樣中，該抗原結合分子結合包含抗CD19 scFv FMC63的CAR和包含抗CD19 scFv FMC63的分子，並且可以在免疫細胞例如T細胞上表現。

【0089】用語“自體”係指源自與其稍後被重新引入之個體為同一個體的任何物質。例如，本發明所描述之經工程處理之自體細胞療法 (eACT™)之方法涉及從患者收集淋巴細胞，然後將其經工程處理以表現構築體，例如CAR構築體，然後再投予回同一患者。

【0090】如本文中所使用，“結合親和力”一般係指介於分子(例如抗原結合分子，諸如抗體)之單一結合位點與其結合伴侶(例如抗原)之間的非共價交互作用之總和強度。除非另有說明，如本文所使用之“結合親和力”係指內在結合親和力，其反映結合對的成員(例如抗體和抗原)之間的1:1交互作用。分子X對其伴侶Y之親和力通常可由解離常數(KD)表示。親和力可以本技術領域中已知之多種方式測量及/或表現，包括，但不限於平衡解離常數(KD)及平衡結合常數(KA)。KD係從koff/kon之商數計算得到，而KA係從kon/koff之商數計算得到。kon係指，例如抗體與抗原之結合速率常數，而koff係指，例如抗體與抗原之解離速率常數。該kon和koff可藉由所屬技術領域中具有通

常知識者已知之標準技術(諸如BIAcore®或KinExA或表面電漿子共振)測定。

【0091】如本文中所使用，用語“互補決定區”或“CDR”意指貢獻抗原結合特異性及親和性之胺基酸序列。骨架區可以幫助維持CDR的適當確認以促進抗原結合分子與抗原之間的結合。常用之CDR的定義有多種：Kabat編號、Chothia編號、AbM編號、或接觸編號。AbM定義為Kabat及Chothia系統之折衷，且為Oxford Molecular的AbM抗體模式建立軟體所使用。表A界定使用各編號系統之CDR。接觸定義係基於對可用之複合物晶體結構之分析。

【0092】

表A

環圈	**Kabat**	**AbM**	**Chothia**	接觸
L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
H1	H31--H35B	H26--H35B	H26--H32..34	H30--H35B
H1	H31--H35	H26--H35	H26--H32	H30--H35
H2	H50--H65	H50--H58	H52--H56	H47--H58
H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

用語“Kabat編號”及類似用語為本技藝所認可且係指抗體或其抗原結合分子之重鏈和輕鏈變異區中之胺基酸殘基的編號系統。於某些態樣中，抗體之CDR可根據Kabat編號系統判定(參見例如Kabat et al. in Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., NIH

Publication 91-3242, Bethesda MD 1991)。使用Kabat編號系統，抗體重鏈分子內之CDR通常存在於胺基酸位置31至35(其在35之後可選擇性地包括一或二個額外之胺基酸，在Kabat編號方案中稱為35A和35B) (CDR1)、胺基酸位置50至65(CDR2)及胺基酸位置95至102(CDR3)。使用該Kabat編號系統，抗體輕鏈分子內之CDR通常出現在胺基酸位置24至34(CDR1)、胺基酸位置50至56(CDR2)及胺基酸位置89至97(CDR3)。在一些實施態樣中，本發明所描述之抗體的CDR可根據Kabat編號方案來描述，如圖6中所示(儘管它們可以容易地用上文表A的其他編號系統解釋)。

【0093】在某些態樣中，抗體之CDR可根據Chothia編號方案決定，其係指該免疫球蛋白結構環之位置(參見例如Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917; Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273: 927-948; Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 227: 799-817; Tramontano A et al., (1990) J Mol Biol 215(1): 175-82; and U.S. Patent No. 7,709,226)。通常，當使用Kabat編號慣例時，該Chothia CDR-H1環存在於重鏈胺基酸26至32、33或34，該Chothia CDR-H2環存在於重鏈胺基酸52至56，且該Chothia CDR-H3環存在於重鏈胺基酸95至102，而Chothia CDR-L1環存在於輕鏈胺基酸24至34，該Chothia CDR-L2環存在於輕鏈胺基酸50至56，且該Chothia CDR-L3環存在於輕鏈胺基酸89至97。當使用Kabat編號慣例編號時，該Chothia CDR-HI環之終端根據環之長度而在H32與H34之

間變化(這是因為Kabat編號方案將插入放在H35A及H35B；若35A和35B都不存在，則該環結束於32；若僅有35A存在，則該環結束於33；若35A和35B均存在，則該環結束於34)。參見表A。在一些實施態樣中，本發明所描述之抗體的CDR已根據Chothia編號方案決定，如圖20所示。

【0094】如本文所使用者，“保守性胺基酸取代”為其中該胺基酸殘基被具有類似側鏈之胺基酸殘基替代之胺基酸取代。本技藝中已定義具有側鏈之胺基酸殘基之家族。這些家族包括具有下列側鏈之胺基酸：鹼性側鏈(例如離胺酸、精胺酸、組胺酸)、酸性側鏈(例如天門冬胺酸、麩胺酸)、不帶電荷之極性側鏈(例如甘胺酸、天門冬醯胺、麩胺醯胺、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸、色胺酸)、非極性側鏈(例如丙胺酸、纈胺酸、亮胺酸、異亮胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸)、β-分支之側鏈(例如蘇胺酸、纈胺酸、異亮胺酸)及芳香族側鏈(例如酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸)。於某些實施態樣中，本發明提供之抗體或抗原結合分子(或其片段)之CDR內或在骨架區內之一或多個胺基酸殘基可被具有類似側鏈之胺基酸殘基置換。

【0095】本揭露所涵蓋之保守性胺基酸取代可包含非天然存在之胺基酸殘基，該非天然存在之胺基酸殘基通常係藉由化學肽合成併入，而非在生物系統中合成。這些包括肽模擬物及其他反轉或倒置形式之胺基酸部分。天然存在之殘基可根據共同之側鏈性質來區分類別：

疏水性的：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

中性親水性的：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

酸性的：Asp、Glu；

鹼性的：His、Lys、Arg；

影響鏈方向之殘基：Gly、Pro；及

芳香族的：Trp、Tyr、Phe。

【0096】例如，非保守性取代可能涉及將這些類別之一的成員與另一類別之成員交換。該等經取代之殘基可被引入，例如與非人抗體同源之人抗體的區域中，或引入該分子之非同源區。例示性保守性胺基酸取代闡述於下列表B中。

表 B

原本殘基	例示性取代	較佳的取代
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, 正白酸胺	Leu
Leu	正白酸胺，Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4-二胺基酪酸，Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala,Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, 正白酸胺	Leu

【0097】如本文中所使用，用語“恆定區”及“恆定域”可互換且具有本技藝中常用之含義。該恆定區為一抗體部

分，例如不直接參與抗體與抗原結合，但可表現出各種效應子功能(諸如與Fc受體交互作用)之輕鏈及/或重鏈的羧基端部分。相對於免疫球蛋白變異域，免疫球蛋白分子之恆定區通常具有較保留的胺基酸序列。

【0098】如本文中所使用，用語“交叉競爭”指的情況是，其中抗原和第一抗原結合分子或其結合片段之間的交互作用阻斷、限制、抑制或以其他方式降低參考抗原結合分子或其結合片段與抗原交互作用之能力。交叉競爭可為完全的，例如結合分子與抗原之結合完全阻斷該參考結合分子與抗原結合之能力，或者交叉競爭可為部分的，例如該結合分子與抗原之結合降低該參考結合分子與抗原結合之能力。於某些實施態樣中，與參考抗原結合分子交叉競爭之抗原結合分子係與該參考抗原結合分子結合至相同或重疊之表位。於其他實施態樣中，與參考抗原結合分子交叉競爭之抗原結合分子係與該參考抗原結合分子結合至不同之表位。多種類型之競爭性結合分析可用來測定一個抗原結合分子是否與另一分子競爭，該競爭性結合分析有，例如：固相直接或間接放射免疫分析(RIA)；固相直接或間接酶免疫分析(EIA)；夾心競爭分析(Stahli et al., 1983, Methods in Enzymology 9:242-253)；固相直接生物素-親和素EIA(Kirkland et al., 1986, J. Immunol. 137:3614-3619)；固相直接標記分析、固相直接標記夾心分析(Harlow and Lane, 1988, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press)；使用I125標記之固相直接標記

RIA (Morel et al., 1988, Molec. Immunol. 25:7-15)；固相直接生物素-親和素EIA(Cheung, et al., 1990, Virology 176:546-552)；及直接標記之RIA(Moldenhauer et al., 1990, Scand. J. Immunol. 32:77-82)。

【0099】用語“衍生物”係指包含除了插入、缺失或取代胺基酸(或核酸)之外的化學修飾之分子。於某些實施態樣中，衍生物包含共價修飾，包括，但不限於與聚合物、脂質或其他有機或無機部分化學鍵結。於某些實施態樣中，經化學修飾之抗原結合分子(衍生物)可具有較未經化學修飾之抗原結合分子更長之循環半衰期。於一些實施態樣中，衍生之抗原結合分子係經共價修飾以包含一或多個水溶性聚合物連接物，包括，但不限於聚乙二醇、聚氧乙二醇或聚丙二醇。

【0100】如本文中所使用，用語“雙功能抗體”或dAB意指包含兩條多肽鏈的二價抗體，其中每條多肽鏈包含藉由連接子連接的VH和VL域，該連接子太短而不允許在同一鏈上的兩個域之間配對，因此允許每個域與另一條多肽鏈上的互補域配對(參見例如Holliger et al., (1993) Proc Natl Acad Sci U.S.A. 90:6444-48, Poljak et al., (1994) Structure 2: 1121-23, and Perisic et al., (1994) Strucure 2(12): 1217-26)。如果雙功能抗體的兩條多肽鏈相同，則由它們配對產生的雙功能抗體將具有兩個相同的抗原結合位點。具有不同序列的多肽鏈可用於製備具有兩個不同抗原結合位點的雙功能抗體。類似地，三功能抗體和四功能

抗體是分別包含三條和四條多肽鏈並分別形成三個和四個抗原結合位點的抗體，其可以相同或不同。

【0101】如本文所使用者，本技術領域中，“表位”為用語且係指抗原之局部區域，抗體可特異性結合此區域。表位可為例如多肽之連續胺基酸 (線性或連續表位)或者表位可例如從多肽之二或更多個非連續區域(構形、非線性、不連續或非連續之表位)集合在一起。於某些實施態樣中，與抗體結合之表位可藉由例如NMR光譜法、X射線衍射結晶學研究、ELISA分析、與質譜分析(例如液相色層分析法、電噴霧質譜分析)聯用之氫/氘交換、基於陣列之寡肽掃描分析及/或誘變定位(mutagenesis mapping)(例如定點誘變定位)。對於X射線晶體學，可以使用本領域中任何已知的方法來完成結晶 (例如Giege et al., (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4): 339-350; McPherson, (1990) Eur J Biochem 189: 1-23; Chayen, (1997) Structure 5: 1269-1274; McPherson, (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303)。可以使用公知的X光繞射技術研究抗體:抗原晶體，並且可以使用諸如X-PLOR的電腦軟體進行改進(Yale University, 1992, distributed by Molecular Simulations, Inc.; see, e.g., Meth Enzymol (1985) Vols 114 & 115, eds Wyckoff et al.,), and BUSTER (Bricogne, (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(Pt 1): 37-60; Bricogne, (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, ed. Carter; Roversi et al., (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr

56(Pt 10): 1316-1323)。可以使用本領域技術人員已知的任何方法完成誘變定位研究。參見例如Champe et al., (1995) J Biol Chem 270: 1388-94 and Cunningham & Wells, (1989) Science 244: 1081-85關於誘變技術的描述，包括丙胺酸和精胺酸掃描誘變技術。

【0102】如本文中所使用，用語“Fab片段”是指具有VL、VH、CL和CH域的單價片段；“F(ab')2片段”是具有在鉸鏈區藉由二硫鍵連接的兩個Fab片段的二價片段；“Fv片段”具有抗體單臂的VH和VL域；並且“dAb片段”具有VH域、VL域或VH或VL域的抗原結合片段。

【0103】如本文所使用者，用語“免疫特異性結合”、“免疫特異性辨識”、“特異性結合”及“特異性辨識”為類似用語且在抗原結合分子類之背景下可交換使用，且意指本技藝之技術熟習人士所理解之該等結合係指偏好與抗原(例如表位或免疫複合物)結合之給定分子。例如，特異性結合一抗原之抗原結合分子可以結合至其他胜肽或多肽、但有相對較低之親和力，該親和力為藉由，例如免疫分析、BIAcore®、KinExA 3000儀器(Sapidyne Instruments, Boise, ID)或本技藝中已知之其他分析測定。在一些實施態樣中，該特異性結合一抗原之分子係以較該分子與另一抗原結合時之KA大至少2 log、2.5 log、3 log、4 log或更大之KA與該抗原結合。

【0104】在另一實施態樣中，特異性結合至抗原(例如抗CD19 scFv FMC63；SEQ ID NO: 1)之分子、和包含此

序列之分子及呈現此等分子之細胞以約1 x 10-7 M之解離常數(Kd)結合。在一些實施態樣中，當Kd係約1 x 10-9 M至約5 x 10-9 M時，該抗原結合分子以“高親和性”特異性結合抗原(例如抗CD19 scFv FMC63之分子、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞)。在一些實施態樣中，當Kd係約1 x 10-10 M至約5 x 10-10 M時，該抗原結合分子以“極高親和性”特異性結合抗原(例如抗CD19 scFv FMC63之分子、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞)。

【0105】於又再一實施態樣中，特異性結合至抗原(例如抗CD19 scFv FMC63、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞)之分子在類似結合條件下不會與其他蛋白質反應。在一些實施態樣中，特異性結合至抗原(例如抗CD19 scFv FMC63、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞)之分子在類似結合條件下不會與其他不包含抗CD19 scFv FMC63、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞之蛋白質反應。在一些實施態樣中，本發明提供抗體或其片段，其以較高於另一不相關抗原的親和性結合至抗CD19 scFv FMC63、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞。在一些實施態樣中，本文提供了與抗CD19 scFv FMC63結合的抗原結合分子(例如，抗體)或其片段，以及包含此序列之分子和呈現此等分子之細胞，以較另一、不相關抗原高20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高的親和力，其係由例如放射免疫化驗、表面電漿子共

振或動力學排阻測定所測量。在一些實施態樣中，本文中所述之抗原結合分子、抗體或其抗原結合片段特異性結合抗CD19 scFv FMC63、和包含此序列之分子和呈現此等分子之細胞的結合程度，相較於無關蛋白質(其不包含抗CD19 scFv FMC63和包含此序列之分子和呈現此等分子之細胞)，小於抗體與連接子片段蛋白質的結合的10%、15%或20%，如放射免疫化驗所測定。

【0106】如本文所使用者，當相關於抗體使用時，用語“重鏈”基於恆定域之胺基酸序列可指任一不同類型，例如α、δ、ε、γ及μ，其分別導致抗體之IgA、IgD、IgE、IgG和IgM類別，包括IgG之子類別，例如IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。

【0107】如本文中所使用，用語“免疫球蛋白”是指來自任何公知的同型的免疫分子，包括但不限於IgA、分泌型IgA、IgG和IgM。IgG次類也是本領域技術人員熟知的，包括但不限於人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。許多本文中所述之分子係免疫球蛋白。如本文中所使用，“同型”是指由重鏈恆定區基因編碼的抗體類別或次類(例如，IgM或IgG1)。

【0108】免疫球蛋白是四聚體分子，通常由兩對相同的多肽鏈組成，每對具有一個“輕”(約25kDa)和一個“重”鏈(約50-70kDa)。每條鏈的胺基末端部分包括主要負責抗原辨識的約100至130個或更多個胺基酸的變異區。每條鏈的羧基端部分定義主要負責效應子功能的恆定區。人輕鏈分

為κ和λ輕鏈。重鏈分類為μ、δ、γ、α或ε，並將抗體的同種型分別定義為IgM、IgD、IgG、IgA或IgE。在輕鏈和重鏈內，變異區和恆定區藉由約12或更多個胺基酸的“J”區連接，重鏈還包括約10個以上胺基酸的“D”區。大致上參見 Berzofsky & Berkower, Ch. 7 in Fundamental Immunology (Paul, W., ed., Lippincott Williams & Wilkins (2012)；其章冊係為所有目的以引用方式全部併入)。每個輕鏈/重鏈對的變異區形成抗體結合位點，使得完整的免疫球蛋白具有兩個主要結合位點。

【0109】天然存在的免疫球蛋白鏈展現出由三個高變異區(也稱為互補決定區或“CDR”)連接的相對保守的骨架區(FR)的相同一般結構。從N端到C端，輕鏈和重鏈都包含域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。各區間的胺基酸指派可依Kabat (參見例如Kabat et al. in Sequences of Proteins of lmmunological Interest, 5th Ed., NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991))或Chothia (本文中所使用之Chothia(參見例如Chothia & Lesk (1987), J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia et al., 1989, Nature 342:878-883 or Honegger & Pluckthun (2001), J Mol Biol 309:657-670)進行。Kabat、Chothia、IGMT和Abm(Oxford Molecular)編號系統本發明更全面地描述。

【0110】如本文中所使用，用語“體外細胞”係指任何離體培養之細胞。體外細胞可以包括人細胞例如T細胞或樹突細胞，或者其可以包括CHO、sP2/0、兔子和其他非

人細胞。

【0111】如本文所使用者，當用於指涉抗體時，用語“輕鏈”可係指基於恆定域之胺基酸序列可指任一不同類型，例如κ或λ。輕鏈胺基酸序列為本技藝所周知。在特定實施態樣中，該輕鏈為人輕鏈。

【0112】用語“中和”是指結合配體(例如，包含抗CD19 scFv FMC63的部分和包含此序列之分子和呈現此等分子之細胞)並且防止或減少該配體的生物效果的抗原結合分子、scFv、抗體或其片段。於一些實施態樣中，該抗原結合分子、scFv、抗體或其片段直接阻斷該配體上之結合位點或透過間接方式(諸如改變配體之結構或能量)改變配體之結合能力。於一些實施態樣中，該抗原結合分子、scFv、抗體或其片段防止與其結合之蛋白質執行生物功能。

【0113】如本文中所使用，用語“患者”是指正在針對異常生理狀況(例如癌症或已經正式診斷患有病症、未正式辨識到的疾病、正在接受醫療護理的患者、處於發展病症風險中等)接受治療的任何人。用語“個體”和“患者”本發明可互換使用，並且包括人和非人動物個體。

【0114】如本文中所使用，用語“胜肽”、“多肽”和“蛋白質”可互換使用且係指藉由肽鍵共價連接之胺基酸殘基所組成之化合物。蛋白質或胜肽必須含有至少二個胺基酸且蛋白質或胜肽之序列可包含之胺基酸的最大數量沒有限制。用語多肽包括任何包含二或更多個藉由肽鍵彼此連

接之胺基酸的胜肽或蛋白質。如本文所使用者，該用語係同時指短鏈(其在本技藝中亦通稱為，例如胜肽、寡肽和寡聚物)及較長之鏈(其在本技藝中通稱為蛋白質)。“多肽”包括，例如生物活性片段、基本上同源之多肽、寡肽、同二聚體、異二聚體、多肽之變體、經修飾之多肽、衍生物、類似物、融合蛋白等。用語“多肽”包括天然胜肽、重組胜肽、合成胜肽或彼等之組合。

【0115】在一些態樣中，多肽和/或蛋白質具有抗原結合分子的一或多個胺基酸的缺失、添加和/或取代。有用的多肽片段可以包括抗原結合分子的免疫學功能片段，包括但不限於一或多個CDR區、重鏈和/或輕鏈的變異域、抗體鏈其他部分的一部分等。可以取代抗原結合分子的一或多個胺基酸的部分包括例如D或L形式的胺基酸，與通常在抗原結合分子的相同位置中發現的胺基酸不同的胺基酸(相對於SEQ ID NO: 2-73)、缺失、非天然存在的胺基酸和胺基酸的化學類似物。

【0116】胜肽類似物通常在製藥工業中用作具有與模板胜肽類似性質的非肽藥物並形成本發明的一態樣。這些類型非胜肽化合物係稱為“胜肽模擬物”或“擬肽物”。參見例如Fauchere, (1986) Adv. Drug Res. (Testa, ed.) 15:29-69; Veber & Freidinger, (1985) TINS, p.392; and Evans et al., (1987) J. Med. Chem, 30:1229-39，其為任何目的係以引用方式併入本文中。

【0117】包含抗CD19 scFv FMC63之多肽、胜肽、蛋

白質及類似分子、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞係特定包括在該用語。

【0118】如本文中所使用，用語“相同度百分比(percent identity)”意指在比較之分子中胺基酸或核苷酸之間的相同殘基之百分比。為了這些計算，序列比對中的間隙(若有的話)必須藉由特定數學模式或電腦程式(即“演算法”)來處理。可用以計算排列核酸或多肽之相同度的方法包括說明在下列者：Computational Molecular Biology, (Lesk, ed.), (1988) New York: Oxford University Press; Biocomputing Informatics and Genome Projects, (Smith, ed.), 1993, New York: Academic Press; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, (Griffin and Griffin, eds.), 1994, New Jersey: Humana Press; von Heinje, (1987) Sequence Analysis in Molecular Biology, New York: Academic Press; Sequence Analysis Primer, (Gribskov and Devereux, eds.), 1991, New York: M. Stockton Press; and Carillo et al., (1988) J. Applied Math. 48:1073。

【0119】在計算相同度百分比中，被比較之序列係與序列之間給出最大匹配的方式比對。用於判定相同度百分比之電腦程式可為例如MOE (Chemical Computing Group)或DNASTAR (University of Wisconsin, Madison, WI)。該電腦演算法GAP係用於比對欲測定序列相同度百分比的二個多肽或多核苷酸。比對序列以使各別胺基酸或核苷酸有最佳匹配 (藉由該演算法測定時之“匹配跨距”)。空位開

放罰分(其被計算為平均對角線的3×，其中“平均對角線(average diagonal)”係所使用之比較矩陣的對角線之平均；“對角線(diagonal)”是藉由特定比較矩陣而指派給各完美胺基酸匹配的分數或數目)及空位延伸罰分(其通常空位開放罰分的1/10)和諸如PAM 250或BLOSUM 62之比較矩陣係與演算法合用。於某些實施態樣中，該演算法亦使用標準比較矩陣(參見，Dayhoff et al., 1978, Atlas of Protein Sequence and Structure 5:345-352 ，用於PAM 250比較矩陣；Henikoff et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:10915-10919 ，用於BLOSUM 62 比較矩陣)。

【0120】用於比對兩個胺基酸序列的某些比對方案可以導致僅匹配兩個序列的短區域，並且即使兩個全長序列之間沒有顯著關係，該小比對區域也可以具有非常高的序列相同度。因此，如果需要以產生跨越標的多肽的至少50個連續胺基酸的比對，可以調整選擇的比對方法(例如GAP程序)。

【0121】如本文中所使用，用語“單鏈抗體”和“單鏈片段變異(scFv)”可互換使用，並且意指抗原結合分子其中VL和VH區經由連接子連接以形成連續蛋白質鏈，其中該連接子是足夠長以允許蛋白質鏈自身折疊並形成單價抗原結合位點(參見例如Bird et al., (1988) Science 242:423-26 and Huston et al., (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:5879-83 (1988))。FMC 63是scFv的特定實例。

【0122】治療劑(例如包含抗CD19 scFv FMC63之部分

和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞)之“治療有效量”、“有效劑量”、“有效量”或“治療有效劑量”為當單獨使用或與另一治療劑組合使用時能保護個體防止疾病發作或促進疾病消退之任何量，疾病消退之證據為疾病症狀之嚴重性降低、無疾病症狀之頻率和期間增加或防止由於疾病折磨導致之損傷或殘疾。治療劑促進疾病消退之能力可使用技術熟習之從業人員已知之各種方法評估，諸如在臨床試驗期間在人個體中評估、在用於預測在人體中之效力的動物模型系統中評估或經由在體外分析中分析該作用劑之活性評估。

【0123】用語“轉導”和“經轉導的”係指一種過程，藉由該過程可將外源DNA經由病毒載體導入細胞中(參見Hartl and Jones (1997) “Genetics: Principles and Analysis,” 4th ed, Jones & Bartlett)。於一些實施態樣中，該載體為反轉錄病毒載體、DNA載體、RNA載體、腺病毒載體、桿狀病毒載體、埃巴病毒載體(Epstein Barr viral vector)、乳多泡病毒載體(papovaviral vector)、牛痘病毒載體、單純皰疹病毒載體、腺病毒相關載體、慢病毒載體或彼等之任何組合。

【0124】如本文中所使用，用語“變異區”或“變異域”可互換使用且係指抗體之一部分，一般而言為輕或重鏈之一部分，通常在抗體之胺基端且包含約110至130個胺基酸在重鏈及約90至115個胺基酸在輕鏈，這在抗體序列之間差異很大且係用於特定抗體與其特定抗原之結合及特異

性。該序列中之變異性集中之區域稱為互補決定區(CDR)，而在變異域中被更高度保留之區域稱為骨架區(FR)。該輕鏈和重鏈之CDR主要負責抗體與抗原之交互作用及特異性。

【0125】在某些實施態樣中，該抗原結合分子之變異區係人變異區。在進一步實施態樣中，該變異區包含嚙齒動物、人或鼠CDR及人骨架區(FR)。在進一步實施態樣中，該變異區為靈長類動物(例如非人靈長類動物)變異區。在又另外實施態樣中，該變異區為兔子變異區。在其他實施態樣中，該變異區包含人CDR及非人(例如兔子、鼠、大鼠或非人靈長類動物)骨架區域(FR)。在其他實施態樣中，該變異區包含非人(例如兔子、鼠、大鼠或非人靈長類動物)CDR及人骨架區域(FR)。

【0126】用語“VH”、“VH域”及“VH鏈”可互換使用以指抗原結合分子、抗體或其抗原結合片段之重鏈變異區。

【0127】用語“VL”、“VL域”及“VL鏈”可互換使用以指抗原結合分子、抗體或其抗原結合片段之輕鏈變異區。

【0128】本發明之各種態樣係於下列次節中進一步詳述。

II. 抗原結合分子類及編碼彼等之多核苷酸

【0129】本發明係關於抗原結合分子類(包括抗體)、其特異性結合抗CD19 scFv FMC63 (SEQ ID NO: 1)，和包含這些序列之分子和呈現此等分子之細胞，和/或與本文

中所述之一或多個抗原結合分子類(即圖5-21中所述和/或揭示於後附序列表之一或多者)交叉競爭者。亦提供編碼該等抗原結合分子類之多核苷酸，且形成本發明之態樣。

【0130】本發明之所編碼的抗體或抗原結合分子可係單鏈或雙鏈。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子係單鏈。在某些實施態樣中，該抗原結合分子係選自由下列所組成之群組：scFv、Fab、Fab'、Fv、F(ab')2、dAb及任何彼等之組合。在一個特定實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含scFv。

【0131】在某些實施態樣中，抗原結合分子例如抗體包含單鏈，其中重鏈變異區和輕鏈變異區藉由連接子(例如scFv)連接。在一些實施態樣中，VH位於連接子的N端並且VL位於連接子的C端。在其他實施態樣中，VL位於連接子的N端並且VH位於連接子的C端。在一些實施態樣中，該連接子包含至少約5個、至少約8個、至少約10個、至少約13個、至少約15個、至少約18個、至少約20個、至少約25個、至少約30個、至少約35個、至少約40個、至少約45個、至少約50個、至少約60個、至少約70個、至少約80個、至少約90個或至少約100個胺基酸。在一些實施態樣中，該連接子包含約8個胺基酸與約18個胺基酸之間(例如10個胺基酸)。

【0132】在一些實施態樣中，本發明之該等抗原結合分子類特異性結合該抗CD19 scFv FMC63、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞。在某些實施態樣中，本發

明之抗原結合分子特異性結合該抗CD19 scFv FMC63、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，Kd係少於1 x 10-6 M、少於1 x 10-7 M、少於1 x 10-8 M或少於1 x 10-9 M。在一個特定實施態樣中，特異性結合抗CD19 scFv FMC63之抗原結合分子、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，Kd係少於1 x 10-7 M。在另一實施態樣中，特異性結合抗CD19 scFv FMC63之抗原結合分子、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，Kd係少於1 x 10-8 M。在一些實施態樣中，抗原結合分子結合該抗CD19 scFv FMC63、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，KD約1 x 10-7 M、約2 x 10-7 M、約3 x 10-7 M、約4 x 10-7 M、約5 x 10-7 M、約6 x 10-7 M、約7 x 10-7 M、約8 x 10-7 M、約9 x 10-7 M、約1 x 10-8 M、約2 x 10-8 M、約3 x 10-8 M、約4 x 10-8 M、約5 x 10-8 M、約6 x 10-8 M、約7 x 10-8 M、約8 x 10-8 M、約9 x 10-8 M、約1 x 10-9 M、約2 x 10-9 M、約3 x 10-9 M、約4 x 10-9 M、約5 x 10-9 M、約6 x 10-9 M、約7 x 10-9 M、約8 x 10-9 M、約9 x 10-9 M、約1 x 10-10 M或約5 x 10-10 M。KD可使用如本文所述之標準方法來計算。

【0133】在特定實施態樣中，本發明之抗原結合分子係本發明所示之抗體株7、抗體株13、抗體株14-1、抗體株14-7、抗體株15或抗體株17，且各包含該下列重鏈及輕鏈胺基酸、編碼、變異及CDR序列，如所提供及標示者：

抗體株7 VH DNA

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGT
CCAGTGTCAGGAGCAGCTGGAGGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCT
GGAGGAACCCTGACAGTCACCTGCAAAGCCTCTGGATTCTCCTTCAGTA
ACAATGGAATTTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTG
GATCGGATGTCTTTATGTTGGTAGTAGTGATACCACTTACTACGCGAGCT
GGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAAGCTCGTCGACCACGGTGAC
TCTACAAATGACCAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTA
CGATAAATCTCGGCTTGTGGGGCCCCGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 2)

抗體株7 VH AA (CDR：畫底線者)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGDLVKPGGTLTVTCKASGFSFSN
NGICWVRQAPGKGLEWIGCLYVGSSDTTYYASWAKGRFTISKSSSTTVTLQ
MTSLTVADTATYFCTINLGLWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 3)

抗體株7 HC AA (CDR：畫底線者)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGDLVKPGGTLTVTCKASGFSFSN
NGICWVRQAPGKGLEWIGCLYVGSSDTTYYASWAKGRFTISKSSSTTVTLQ
MTSLTVADTATYFCTINLGLWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSS
TVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTS
SSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRV
VSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPP
REELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSDGSYFL
YSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID NO: 4)

抗體株7 VH CDR1 AA

GFSFSNN (SEQ ID NO: 5)

抗體株7 VH CDR2 AA

YVGSSD (SEQ ID NO: 6)

抗體株7 VH CDR3 AA

NLGL (SEQ ID NO: 7)

抗體株7 VL DNA

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCT
CCCAGGTGCCACATTTGCCATCGTGGTGACCCAGACTCCATCTTCCAAGT
CTGTCCCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGAGAG
TGTTTATAATAGCGACTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAG
CCTCCCAAGCAACTGATCTATGCTGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCC
ATCGCGCTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATC
AGCGATGTGGTGTGTGACGATGCTGCCACTTATTATTGTGCAGGATATAA
AAGTAGTAGTACTGATGGGATTGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTG
GTCAAA (SEQ ID NO: 8)

抗體株7 VL AA (CDR：畫底線者)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAIVVTQTPSSKSVPVGGTVTINCQASESVY
NSDWLAWYQQKPGQPPKQLIYAASTLASGVPSRFKGSGSGTQFTLTISDVV
CDDAATYYCAGYKSSSTDGIAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 9)

抗體株7 LC AA (CDR：畫底線者)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAIVVTQTPSSKSVPVGGTVTINCQASESVY
NSDWLAWYQQKPGQPPKQLIYAASTLASGVPSRFKGSGSGTQFTLTISDVV
CDDAATYYCAGYKSSSTDGIAFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVAT
GTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLT
LTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO: 10)

抗體株7 VL CDR1 AA

QASESVYNSDWLA (SEQ ID NO: 11)

抗體株7 VL CDR2 AA

AASTLAS (SEQ ID NO: 12)

抗體株7 VL CDR3 AA

AGYKSSSTDGIA (SEQ ID NO: 13)

抗體株13 VH DNA

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGT
CCAGTGTCAGGAGCAGCTGGAGGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCT
GGAGGAACCCTGACAGTCACCTGCAAAGCCTCTGGATTCTCCTTCAGTA
ACAATGGAATTTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTG
GATCGGATGTCTTTATGTTGGTAGTAGTGATACCACTTACTACGCGAGCT
GGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAAGCTCGTCGACCACGGTGAC
TCTACAAATGACCAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTA
CGATAAATCTCGGCTTGTGGGGCCCCGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 14)

抗體株13 VH AA (CDR：畫底線者)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGDLVKPGGTLTVTCKASGFSFSN
NGICWVRQAPGKGLEWIGCLYVGSSDTTYYASWAKGRFTISKSSSTTVTLQ
MTSLTVADTATYFCTINLGLWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 15)

抗體株13 HC AA (CDR：畫底線者)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGDLVKPGGTLTVTCKASGFSFSN
NGICWVRQAPGKGLEWIGCLYVGSSDTTYYASWAKGRFTISKSSSTTVTLQ
MTSLTVADTATYFCTINLGLWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSS
TVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTS
SSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRV
VSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPP
REELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSDGSYFL
YSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID NO: 16)

抗體株13 VH CDR1 AA

GFSFSNN (SEQ ID NO: 5)

抗體株13 VH CDR2 AA

YVGSSD (SEQ ID NO: 6)

抗體株13 VH CDR3 AA

NLGL (SEQ ID NO: 7)

抗體株13 VL DNA

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCT
CCCAGGTGCCACACTTGCCATCGTGGTGACCCAGACTCCATCTTCCAAGT
CTGTCCCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGAGAG
TGTTTATAATAGCGACTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAG
CCTCCCAAGCAACTGATCTATGCTGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCC
ATCGCGCTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATC
AGCGATGTGGTGTGTGACGATGCTGCCACTTATTATTGTGCAGGATATAA
AAGTAGTAGTACTGATGGGATTGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTG
GTCAAA (SEQ ID NO: 17)

抗體株13 VL AA (CDR：畫底線者)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATLAIVVTQTPSSKSVPVGGTVTINCQASESVY
NSDWLAWYQQKPGQPPKQLIYAASTLASGVPSRFKGSGSGTQFTLTISDVV
CDDAATYYCAGYKSSSTDGIAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 18)

抗體株13 LC AA (CDR：畫底線者)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATLAIVVTQTPSSKSVPVGGTVTINCQASESVY
NSDWLAWYQQKPGQPPKQLIYAASTLASGVPSRFKGSGSGTQFTLTISDVV
CDDAATYYCAGYKSSSTDGIAFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVAT
GTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLT
LTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO: 19)

抗體株13 VL CDR1 AA

QASESVYNSDWLA (SEQ ID NO: 11)

抗體株13 VL CDR2 AA

AASTLAS (SEQ ID NO: 12)

抗體株13 VL CDR3 AA

AGYKSSSTDGIA (SEQ ID NO: 13)

抗體株14-1 VH DNA

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGT
CCAGTGTCAGGAGCAGCTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCT
GGGGCATCCCTGACACTCACCTGCAAAGCCTCTGGATTCGACTTCAGTAT
CAACTACTACATGTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGTTGGAG
TGGATCGCATGCATTTATACTGGTGATGATGACACTTTCTACGCGAGCTG
GGCGAAAGGCCGGTTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGACT
CTACAACTGAACAGTCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTGT
GAGAGGTCTATATAGTGGTAGTATTAATAACCTGTGGGGCCCAGGCACC
CTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 20)

抗體株14-1 VH AA (CDR：畫底線者)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGGLVKPGASLTLTCKASGFDFSIN
YYMCWVRQAPGKGLEWIACIYTGDDDTFYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQL
NSLTAADTATYFCVRGLYSGSINNLWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 21)

抗體株14-1 HC AA (CDR：畫底線者)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGGLVKPGASLTLTCKASGFDFSIN
YYMCWVRQAPGKGLEWIACIYTGDDDTFYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQL
NSLTAADTATYFCVRGLYSGSINNLWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCG
DTPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSV
VSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPPLREQQF
NSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKV
YTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDS
DGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ
ID NO: 22)

抗體株14-1 VH CDR1 AA

GFDFSINY (SEQ ID NO: 23)

抗體株14-1 VH CDR2 AA

YTGDD (SEQ ID NO: 24)

抗體株14-1 VH CDR3 AA

GLYSGSINNL (SEQ ID NO: 25)

抗體株14-1 VL DNA

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCT
CCCAGATGCCAGATGTGCGCTTGTGATGACCCAGACTCCATCCCCTGTGT
CTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAGTTGCCAGGCCAGTCAGAG
TGTTTATAACAACGACTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAG
CCTCCCAAACTCCTGATCTATTATGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCTC
ATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATC
AGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCGCTTACTATTGTGCAGGCGTTA
AAGGTTATAGTAATGATAATAATGGTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGT
GGTCAAA (SEQ ID NO: 26)

抗體株14-1 VL AA (CDR：畫底線者)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPDARCALVMTQTPSPVSAAVGGTVTISCQASQSV
YNNDYLSWYQQKPGQPPKLLIYYASTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQ
CDDAAAYYCAGVKGYSNDNNGFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 27)

抗體株14-1 LC AA (CDR：畫底線者)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPDARCALVMTQTPSPVSAAVGGTVTISCQASQSV
YNNDYLSWYQQKPGQPPKLLIYYASTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQ
CDDAAAYYCAGVKGYSNDNNGFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVA
TGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTL
TLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO:28)

抗體株14-1 VL CDR1 AA

QASQSVYNNDYLS (SEQ ID NO: 29)

抗體株14-1 VL CDR2 AA

YASTLAS (SEQ ID NO: 30)

抗體株14-1 VL CDR3 AA

AGVKGYSNDNNG (SEQ ID NO: 31)

抗體株14-7 VH DNA

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGT
CCAATGTCAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGG
GCATCCCTGACACTCACCTGCAAAGCCTCTGGATTCGACTTCAGTATCAA
CTACTACATGTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGTTGGAGTGG
ATCGCATGCATTTATACTGGTGATGATGACACTTTCTACGCGAGCTGGGC
GAAAGGCCGGTTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGACTCTA
CAACTGAACAGTCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTGTGA
GAGGTCTATATAGTGGTAGTATTAATAACCTGTGGGGCCCAGGCACCCT
GGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 32)

抗體株14-7 VH AA (CDR：畫底線者)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGGLVKPGASLTLTCKASGFDFSINY
YMCWVRQAPGKGLEWIACIYTGDDDTFYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQLN
SLTAADTATYFCVRGLYSGSINNLWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 33)

抗體株14-7 HC AA (CDR：畫底線者)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGGLVKPGASLTLTCKASGFDFSINY
YMCWVRQAPGKGLEWIACIYTGDDDTFYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQLN
SLTAADTATYFCVRGLYSGSINNLWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGD
TPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVV
SVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPPLREQQFNS
TIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYT
MGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSDG
SYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID
NO: 34)

抗體株14-7 VH CDR1 AA

GFDFSINY (SEQ ID NO: 23)

抗體株14-7 VH CDR2 AA

YTGDD (SEQ ID NO: 24)

抗體株14-7 VH CDR3 AA

GLYSGSINNL (SEQ ID NO: 25)

抗體株14-7 VL DNA

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCT
CCCAGATGCCAGATGTGCGCTTGTGATGACCCAGACTCCATCCCCTGTGT
CTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAGTTGCCAGGCCAGTCAGAG
TGTTTATAACAACGACTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAG
CCTCCCAAACTCCTGATCTATTATGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCTC
ATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATC
AGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCGCTTACTATTGTGCAGGCGTTA
AAGGTTATAGTAATGATAATAATGGTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGT
GGTCAAA (SEQ ID NO: 35)

抗體株14-7 VL AA (CDR：畫底線者)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPDARCALVMTQTPSPVSAAVGGTVTISCQASQSV
YNNDYLSWYQQKPGQPPKLLIYYASTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQ
CDDAAAYYCAGVKGYSNDNNGFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 36)

抗體株14-7 LC AA (CDR：畫底線者)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPDARCALVMTQTPSPVSAAVGGTVTISCQASQSV
YNNDYLSWYQQKPGQPPKLLIYYASTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQ
CDDAAAYYCAGVKGYSNDNNGFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVA
TGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTL
TLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO: 37)

抗體株14-7 VL CDR1 AA

QASQSVYNNDYLS (SEQ ID NO: 29)

抗體株14-7 VL CDR2 AA

YASTLAS (SEQ ID NO: 30)

抗體株14-7 VL CDR3 AA

AGVKGYSNDNNG (SEQ ID NO: 31)

抗體株15 VH DNA

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGGGT
CCAGTGTCAGTCGTTGGAGGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGG
GCATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCTCCTTCACGAGCAA
CTACTACATGTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG
GTCGCGTGCATTTTTCTTGGTAGTAGTGGTAACACTGTCTACGCGAACTG
GGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGACT
CTGCAAATGACCAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTGC
GAGAGACTATGTTAATGGTTATGACTACTTTAACTTGTGGGGCCCAGGCA
CCTTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 38)

抗體株15 VH AA (CDR：畫底線者)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGDLVKPGASLTLTCTASGFSFTSNY
YMCWVRQAPGKGLEWVACIFLGSSGNTVYANWAKGRFTISKTSSTTVTLQ
MTSLTVADTATYFCARDYVNGYDYFNLWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 39)

抗體株15 HC AA (CDR：畫底線者)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGDLVKPGASLTLTCTASGFSFTSNY
YMCWVRQAPGKGLEWVACIFLGSSGNTVYANWAKGRFTISKTSSTTVTLQ
MTSLTVADTATYFCARDYVNGYDYFNLWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAP
CCGDTPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSL
SSVVSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFI
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPPLREQ
QFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPK
VYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLD
SDGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ
ID NO: 40)

抗體株15 VH CDR1 AA

GFSFTSNY (SEQ ID NO: 41)

抗體株15 VH CDR2 AA

FLGSSG (SEQ ID NO: 42)

抗體株15 VH CDR3 AA

DYVNGYDYFNL (SEQ ID NO: 43)

抗體株15 VL DNA

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCT
CCCAGGTGCCACATTTGCCCAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGT
CTGCGGCTGTTGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCAGTCCAGTCAGAG
TGTTTATAATAAGAACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCT
CCCAAAGGCCTGATCTATTCTACATCGACTCTAGATTCTGGGGTCCCATC
GCGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGC
GACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGA
TTGTAGTAGTGCTGATTGTAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTG
GTCAAA (SEQ ID NO: 44)

抗體株15 VL AA (CDR：畫底線者)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTASPVSAAVGGTVTINCQSSQSV
YNKNLAWYQQKPGQPPKGLIYSTSTLDSGVPSRFSGSGSGTQFTLTISDVQC
DDAATYYCLGSYDCSSADCNAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 45)

抗體株15 LC AA (CDR：畫底線者)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTASPVSAAVGGTVTINCQSSQSV
YNKNLAWYQQKPGQPPKGLIYSTSTLDSGVPSRFSGSGSGTQFTLTISDVQC
DDAATYYCLGSYDCSSADCNAFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVAT
GTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLT
LTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO: 46)

抗體株15 VL CDR1 AA

QSSQSVYNKNLA (SEQ ID NO: 47)

抗體株15 VL CDR2 AA

STSTLDS (SEQ ID NO: 48)

抗體株15 VL CDR3 AA

LGSYDCSSADCNA (SEQ ID NO: 49)

抗體株17 VH DNA

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGT
CCAATGTCAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGG
GCATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCTCCTTCAGTGACAG
TTGGTACTTGTGTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG
ATCGCATGCATTTATACTGGTGATGGTGACACTTATTACGCGACCTGGGC
GAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAGACCTCGTCGACCACAGTGACTCTA
CAAATGACCAGTCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCGA
GGGGTGCCCAATTTTACTTGTGGGGCCAAGGCACCCTGGTCACCGTCTCC
TCA (SEQ ID NO: 50)

抗體株17 VH AA (CDR：畫底線者)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGGLVKPGASLTLTCTASGFSFSDSW
YLCWVRQAPGKGLEWIACIYTGDGDTYYATWAKGRFTISKTSSTTVTLQMT
SLTAADTATYFCARGAQFYLWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 51)

抗體株17 HC AA (CDR：畫底線者)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGGLVKPGASLTLTCTASGFSFSDSW
YLCWVRQAPGKGLEWIACIYTGDGDTYYATWAKGRFTISKTSSTTVTLQMT
SLTAADTATYFCARGAQFYLWGQGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPS
STVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVT
SSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIR
VVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGP
PREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSDGSYF
LYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID NO:
52)

抗體株17 VH CDR1 AA

GFSFSDSW (SEQ ID NO: 53)

抗體株17 VH CDR2 AA

YTGDG (SEQ ID NO: 54)

抗體株17 VH CDR3 AA

GAQFYL (SEQ ID NO: 55)

抗體株17 VL DNA

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCT
CCCAGGTGCCACATTTGCCCAGGTGCTGACCCAGACTCCATCCTCCGTGT
CTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCAGTCCAGTCAGAG
TGTTTATGCCAACACCTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGC
CTCCCAAGCAACTGATCTATTCTGCATCCAGTCTGGCATCTGGGGTCCCA
CCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCGCTCTCACCATCA
GCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGATAT
AGTTGTGGTCTTGCTGATTGTGCTGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGT
GGTCAAA (SEQ ID NO:56)

抗體株17 VL AA (CDR：畫底線者)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTPSSVSAAVGGTVTINCQSSQSV
YANTYLSWYQQKPGQPPKQLIYSASSLASGVPPRFKGSGSGTQFALTISDVQ
CDDAATYYCLGRYSCGLADCAAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 57)

抗體株17 LC AA (CDR：畫底線者)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTPSSVSAAVGGTVTINCQSSQSV
YANTYLSWYQQKPGQPPKQLIYSASSLASGVPPRFKGSGSGTQFALTISDVQ
CDDAATYYCLGRYSCGLADCAAFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQV
ATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSS
TLTLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO: 58)

抗體株17 VL CDR1 AA

QSSQSVYANTYLS (SEQ ID NO: 59)

抗體株17 VL CDR2 AA

SASSLAS (SEQ ID NO: 60)

抗體株17 VL CDR3 AA

LGRYSCGLADCAA (SEQ ID NO: 61)

【0134】在一些實施態樣中，本揭露之抗原結合分子類係抗體及其抗原結合片段。在一些實施態樣中，本揭露之抗體包含至少一種圖5-21所示之CDR。在另一態樣中，本發明提供能夠製造本發明所揭示之抗體之融合瘤，及如本文所述及本技術領域中已知的自融合瘤製造抗體之方法。

【0135】本文中所述者係人化抗體且可藉由已知技術製備。在一些實施態樣中，人化單株抗體包含鼠或兔子抗體之變異域(或其抗原結合位的所有或部分)及衍生自人抗體之恆定域。或者，人化抗體片段可以包含鼠或兔單株抗

體的抗原結合位點和衍生自人抗體的變異域片段(缺少抗原結合位點)。製造工程化單株抗體之程序包括下列所述者：Riechmann et al., (1988) Nature 332:323, Liu et al., (1987) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 84:3439, Larrick et al., (1989) Bio/Technology 7:934, and Winter et al., (1993) TIPS 14:139。在一些實施態樣中，該嵌合抗體係CDR接枝抗體。用於人化抗體之技術係討論於例如下列者中：U.S. Pat. Nos. 5,869,619; 5,225,539; 5,821,337; 5,859,205; 6,881,557; Padlan et al., (1995) FASEB J. 9:133-39; Tamura et al., (2000) J. Immunol. 164:1432-41; Zhang et al., (2005) Mol. Immunol. 42(12):1445-1451; Hwang et al., Methods. (2005) 36(1):35-42; Dall'Acqua et al., (2005) Methods 36(1):43-60; and Clark, (2000) Immunology Today 21(8):397-402。

【0136】本發明之抗原結合分子亦可為全人單株抗體(fully human monoclonal antibody)。全人單株抗體可藉由任何種熟悉本技術者的技術來產生。這些方法包括但不限於EB病毒(EBV)轉形人外周血細胞(例如含有B淋巴細胞)、體外免疫人B細胞、融合來自免疫化轉殖基因小鼠(攜帶經插入人免疫球蛋白基因)的脾細胞、從人免疫球蛋白V區噬菌體庫中分離、或本技術領域中已知且基於本發明揭露者。

【0137】已經開發了用於在非人動物中產生人單株抗體的程序。例如，已經製備了其中一或多種內源性免疫球

蛋白基因已經藉由各種手段失活的小鼠。已將人免疫球蛋白基因引入小鼠中以取代失活的小鼠基因。在該技術中，將人重鏈及輕鏈基因座的元件引入源自胚幹細胞的小鼠品系中，其含有內源性重鏈和輕鏈基因座的靶向破壞(亦參見Bruggemann et al., (1997) Curr. Opin. Biotechnol. 8:455-58)。

【0138】製造及使用轉殖小鼠以供製造人或部分人抗體的技術的實例係說明如下列之中：U.S. Pat. Nos. 5,814,318, 5,569,825, and 5,545,806; Davis et al., Antibody Engineering: Methods and Protocols, (Lo, ed) Humana Press, NJ, 191-200 (2003); Kellermann et al., (2002) Curr Opin Biotechnol. 13:593-97; Russel et al., (2000) Infect Immun. 68:1820-26; Gallo et al., (2000) Eur J. Immun. 30:534-40; Davis et al., (1999) Cancer Metastasis Rev. 18:421-25; Green, (1999) J Immunol Methods 231:11-23; Jakobovits, (1998) Advanced Drug Delivery Reviews 31:33-42; Green et al., (1998) J Exp Med. 188:483-95; Jakobovits, (1998) Exp. Opin. Invest. Drugs. 7:607-14; Tsuda et al., (1997) Genomics, 42:413-21; Mendez et al., (1997) Nat. Genet. 15:146-56; Jakobovits, (1994) Curr Biol. 4:761-63; Arbones et al., (1994) Immunity 1:247-60; Green et al., (1994) Nat. Genet. 7:13-21; Jakobovits et al., (1993) Nature 362:255-58; Jakobovits et al., (1993) Proc Natl Acad Sci USA 90:2551-55; Chen et

al., (1993) Intl Immunol 5:647-656; Choi et al., (1993) Nature Genetics 4:117-23; Fishwild et al., (1996) Nature Biotechnology 14:845-51; Lonberg et al., (1994) Nature 368: 856-59; Lonberg, (1994) Handbook of Experimental Pharmacology 113: 49-101; Neuberger, (1996) Nature Biotech 14:826; Taylor et al., (1992) Nucleic Acids Research 20:6287-95; Taylor et al., (1994) Intl Immunol 6:579-91; Tomizuka et al., (1997) Nature Genetics 16:133-43; Tomizuka et al., (2000) Proc Nat Acad Sci USA 97:722-27; Tuaillon et al., (1993) Proc Nat Acad Sci USA 90:3720-24; Tuaillon et al., (1994) J Immunol 152:2912-20.; Lonberg et al., (1994) Nature 368:856; Taylor et al., (1994) Intl Immunol 6:579; U.S. Pat. No. 5,877,397; Bruggemann et al., (1997) Curr. Opin. Biotechnol. 8:455-58; Jakobovits et al., (1995) Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:525-35。

【0139】用於獲得本發明的抗原結合分子的另一種方法是藉由使用噬菌體展示，其已經為此目的而廣泛建立。參見例如Winter et al., (1994) Ann. Rev. Immunol. 12:433-55; Burton et al., (1994) Adv. Immunol 57:191-280。人類或鼠免疫球蛋白變異區基因組合庫(combinatorial library)可在噬菌體載體中創建，其可篩選以選擇Ig片段(Fab、Fv、sFv或其多聚體)來結合抗CD19 scFv FMC63、和包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞。參見例如U.S. Pat. No. 5,223,409; Huse et al., (1989) Science 246:1275-81;

Sastry et al., (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:5728-32; Alting-Mees et al., (1990) Strategies in Molecular Biology 3:1-9; Kang et al., (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4363-66; Hoogenboom et al., (1992) J. Mol. Biol. 227:381-388; Schlebusch et al., (1997) Hybridoma 16:47-52及其中所引用之參考文獻。例如，可以將含有編碼Ig變異區片段的多個多核苷酸序列的庫插入到絲狀噬菌體如M13或λ噬菌體的基因體中(λImmunoZapTM(H)及λImmunoZapTM(L)載體(Stratagene, La Jolla, Calif)也可用於該方法)或其變體，與編碼噬菌體外殼蛋白的序列符合讀框(in frame)。

【0140】簡而言之，從B細胞族群中單離mRNA，並用於λImmunoZapTM(H)及λImmunoZapTM(L)載體中產生重鏈及輕鏈免疫球蛋白cDNA表現庫。這些載體可以個別篩選或共表現以形成Fab片段或抗體。隨後可將陽性溶菌斑轉化為非溶裂性質體，其允許來自大腸桿菌的單株抗體片段的高量表現。

【0141】在一些實施態樣中，在雜交瘤中，使用核苷酸引子擴增表現感興趣的單株抗體的基因的變異區。這些引子可以由所屬技術領域中具有通常知識者合成，或者可以從商業來源購買，其也銷售用於小鼠和人變異區的引子，尤其包括用於VHa、VHb、VHc、VHd、CH1、VL和CL區)引子。這些引子可以用於擴增重鏈或輕鏈變異區，然後可以分別插入載體如λImmunoZapTM(H)和

ImmunoZapTM(L) (Stratagene)。然後可以將這些載體導入大腸桿菌、酵母或基於哺乳動物的系統中進行表現。可以使用這些方法產生大量含有VH和VL域的融合物的單鏈蛋白質。

【0142】一旦使用任何上述免疫和其他技術獲得了產生本文提供的抗原結合分子的細胞，則可以根據本文所述的標準程序藉由從其分離和擴增DNA或mRNA來選殖特定抗體基因。由其產生的抗體可以被定序並鑑定CDR，並且可以如前所述操作編碼CDR的DNA以產生根據本發明的其他抗體。

【0143】熟悉本領域技術者將會理解，一些蛋白質，如抗體，可以進行多種轉譯後修飾。這些修飾的類型和程度通常取決於用於表現蛋白質的宿主細胞株係以及培養條件。這種修飾可以包括醣苷化、甲硫胺酸氧化、二酮哌啶(diketopiperizine)形成、天冬胺酸異構化和天冬醯胺酸脫醯胺的變化。常見的修飾是由於羧肽酶的作用而喪失羧基末端鹼性殘基(如離胺酸或精胺酸)(如述於Harris, (1995) J Chromatog 705:129-34。

【0144】用於產生鼠單株抗體(可以從中衍生FMC63)的另一種方法是將雜交瘤細胞注射到同基因小鼠的腹腔中，例如業經處理(例如，姥鮫烷(pristane)促發)的小鼠的促進含有單株抗體的腹水形成。單株抗體可以藉由各種充分建立的技術分離和純化。這種分離技術包括用蛋白-A瓊脂糖凝膠的親和層析、粒徑篩析層析術和離子交換層析

(參見例如Baines and Thorpe, (1992) in Methods in Molecular Biology, 10:79-104 (The Humana Press)。單株抗體可以藉由使用基於抗體特定性質選擇的合適配體(例如重鏈或輕鏈同型、結合特異性等)的親和層析來純化。固定在固體支持物上的合適配體的實例包括蛋白A、蛋白G、抗恆定區(輕鏈或重鏈)抗體和抗遺傳性型抗體。

【0145】儘管所揭示的抗原結合分子是在兔子系統中產生的，但是人、部分人、或人化抗體可能適用於許多應用，特別是涉及將抗體投予於人個體的應用，其他類型的抗原結合分子將適用於某些應用。這樣的抗體可以如本文所述製備並形成本發明的一態樣。

【0146】本發明提供抗原結合分子，其特異性結合抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞。與本發明所揭示之抗原結合分子類交叉競爭的抗原結合分子類係本發明之態樣。在某些實施態樣中，該抗原結合分子交叉競爭包含選自由SEQ ID NO: 1-60所組成之群組之胺基酸序列的參考抗體。在某些實施態樣中，該抗原結合分子交叉競爭參考抗體，其中該參考抗體包含有SEQ ID NO: 5、23、41及53之胺基酸序列之VH CDR1。在某些實施態樣中，該抗原結合分子交叉競爭參考抗體，其中該參考抗體包含有SEQ ID NO: 6、24、42及54之胺基酸序列之VH CDR2。在某些實施態樣中，該抗原結合分子交叉競爭參考抗體，其中該參考抗體包含有SEQ ID NO: 7、25、43及55之胺基酸序列之VH CDR3。在

某些實施態樣中，該抗原結合分子交叉競爭參考抗體，其中該參考抗體包含有SEQ ID NO: 11、29、47及59之胺基酸序列之VL CDR1。在某些實施態樣中，該抗原結合分子交叉競爭參考抗體，其中該參考抗體包含有SEQ ID NO: 12、30、48及60之胺基酸序列之VL CDR2。在某些實施態樣中，該抗原結合分子交叉競爭參考抗體，其中該參考抗體包含有SEQ ID NO: 13、31、49及61之胺基酸序列之VL CDR3。

【0147】在一些實施態樣中，本發明之多核苷酸編碼特異性結合抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、和包含這些序列之分子和呈現此等分子之細胞，其中該抗體或抗原結合分子與本發明所揭示之參考抗體結合相同或重疊表位(例如包含圖5-21中呈現之序列)。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子與參考抗體結合相同或重疊表位。

II.A. 抗體株7

【0148】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR1，其包含胺基酸序列GFSFNN (SEQ ID NO: 5)、或由其組成或基本上由其組成。

【0149】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含

此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR2，其包含胺基酸序列YVGSSD (SEQ ID NO: 6)、或由其組成或基本上由其組成。

【0150】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR3，其包含胺基酸序列NLGL (SEQ ID NO: 7)、或由其組成或基本上由其組成。

【0151】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含重鏈VH，其包含：(a) VH CDR1，其包含GFSFNN (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(b) VH CDR2，其包含YVGSSD (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(c) VH CDR3，其包含NLGL (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成。

【0152】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3，其中該VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3包含圖5、19、20及21所呈現之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3之胺基酸序列。在一特定實施態樣中，VH CDR係圖5中所呈現者。

【0153】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含有圖5(SEQ ID NO: 3)之胺基酸序列之重鏈變異區序列。

【0154】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之VH骨架區(FR)。在特定實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含如圖5中所呈現之序列所示(或可衍生)之VH FR(例如在圖5一個序列中的FR的一、二、三或四者)。

【0155】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈序列(例如圖5中之SEQ ID NO: 4)。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含重鏈變異區，其包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列。

【0156】在各種實施態樣中，該重鏈變異區與SEQ ID NO: 3之重鏈變異區序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度。

【0157】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR1，其包含胺基酸序列QASESVYNSDWLA (SEQ ID NO: 11)、或由其組成或基本上由其組成。

【0158】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR2，其包含胺基酸序列AASTLAS (SEQ ID NO: 12)、或由其組成或基本上由其組成。

【0159】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR3，其包含胺基酸序列AGYKSSSTDGIA (SEQ ID NO: 13)、或由其組成或基本上由其組成。

【0160】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含輕鏈VL，其包含：(a) VL CDR1，其包含QASESVYNSDWLA (SEQ ID NO: 11)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(b) VL CDR2，其包含AASTLAS (SEQ ID NO: 12)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(c) VL CDR3，其包含AGYKSSSTDGIA (SEQ ID NO: 13)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成。

【0161】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3，其中該VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3包含圖6、19、20及21所呈現之VL CDR1、VL CDR2

及VL CDR3之胺基酸序列。在一特定實施態樣中，VL CDR係圖6中所呈現者。

【0162】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含有圖6(SEQ ID NO: 9)之胺基酸序列之輕鏈變異區序列。

【0163】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之VL骨架區(FR)。在特定實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含如圖6中所呈現之序列所示(或可衍生)之VL FR(例如在圖6一個序列中的FR的一、二、三或四者)。

【0164】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之輕鏈序列(例如圖6中之SEQ ID NO: 10)。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含輕鏈變異區，其包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列。

【0165】在各種實施態樣中，該輕鏈變異區與SEQ ID NO: 9之輕鏈變異區序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度。

【0166】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之

CDR序列之任一者、任二者和/或任三者。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3分別具有任何本發明所揭示之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3胺基酸序列。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含本文中所述之VL CDR序列之任一者、任二者和/或任三者。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3分別具有任何本發明所揭示之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3胺基酸序列。

【0167】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含：(a) 包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之VH CDR1區；(b) 包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之VH CDR2區；(c) 包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之VH CDR3區；(d) 包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之VL CDR1區；(e) 包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之VL CDR2區；及(f) 包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之VL CDR3區。

【0168】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含：(a) VH CDR1區；(b) VH CDR2區；(c) VH CDR3區；(d) VL CDR1區；(e) VL CDR2區；及(f) VL CDR3區，其中該VH及VL CDR係分別示於圖5、6，及圖19、20及21。

【0169】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈變異區序列(例如圖5中)及本發明所揭示之輕鏈變異區序列(例如圖6中)。

【0170】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之重鏈變異區；及(b) 包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之輕鏈變異區。編碼該重鏈變異區及該輕鏈變異區之核苷酸序列係分別提供於圖5及6中。

【0171】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈序列(例如圖5中)及本發明所揭示之輕鏈序列(例如圖6中)。

【0172】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之重鏈；及(b) 包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之輕鏈。

【0173】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 重鏈，其包含與SEQ ID NO: 4之胺基酸序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度的胺基酸序列；及(b) 輕鏈，其包含與SEQ ID NO: 10之胺基酸序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相

同度的胺基酸序列。

II.B. 抗體株13

【0174】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR1，其包含胺基酸序列GFSFNN (SEQ ID NO: 5)、或由其組成或基本上由其組成。

【0175】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR2，其包含胺基酸序列YVGSSD (SEQ ID NO: 6)、或由其組成或基本上由其組成。

【0176】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR3，其包含胺基酸序列NLGL (SEQ ID NO: 7)、或由其組成或基本上由其組成。

【0177】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含重鏈VH，其包含：(a) VH CDR1，其包含GFSFNN (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(b) VH CDR2，其包含YVGSSD (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序

列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(c) VH CDR3，其包含NLGL (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成。

【0178】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3，其中該VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3包含圖7、19、20及21所呈現之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3之胺基酸序列。在一特定實施態樣中，VH CDR係圖7中所呈現者。

【0179】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含有圖7(SEQ ID NO: 15)之胺基酸序列之重鏈變異區序列。

【0180】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之VH骨架區(FR)。在特定實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含如圖7中所呈現之序列所示(或可衍生)之VH FR(例如在圖7一個序列中的FR的一、二、三或四者)。

【0181】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈序列(例如圖7中之SEQ ID NO: 16)。在一些實施態

樣中，該抗體或抗原結合分子包含重鏈變異區，其包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列。

【0182】在各種實施態樣中，該重鏈變異區與SEQ ID NO: 15之重鏈變異區序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度。

【0183】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR1，其包含胺基酸序列QASESVYNSDWLA (SEQ ID NO: 11)、或由其組成或基本上由其組成。

【0184】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR2，其包含胺基酸序列AASTLAS (SEQ ID NO: 12)、或由其組成或基本上由其組成。

【0185】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR3，其包含胺基酸序列AGYKSSSTDGIA (SEQ ID NO: 13)、或由其組成或基本上由其組成。

【0186】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含輕鏈VL，其包含：(a) VL CDR1，其包含QASESVYNSDWLA (SEQ ID

NO: 11)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(b) VL CDR2，其包含AASTLAS (SEQ ID NO: 12)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(c) VL CDR3，其包含AGYKSSSTDGIA (SEQ ID NO: 13)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成。

【0187】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3，其中該VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3包含圖8、19、20及21所呈現之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3之胺基酸序列。在一特定實施態樣中，VL CDR係圖8中所呈現者。

【0188】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含有圖8(SEQ ID NO: 18)之胺基酸序列之輕鏈變異區序列。

【0189】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之VL骨架區(FR)。在特定實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含如圖8中所呈現之序列所示(或可衍生)之VL FR(例如在圖8一個序列中的FR的一、二、三或四者)。

【0190】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包

含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之輕鏈序列(例如圖8中之SEQ ID NO: 19)。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含輕鏈變異區，其包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列。

【0191】在各種實施態樣中，該輕鏈變異區與SEQ ID NO: 18之輕鏈變異區序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度。

【0192】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之CDR序列之任一者、任二者和/或任三者。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3分別具有任何本發明所揭示之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3胺基酸序列。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含本文中所述之VL CDR序列之任一者、任二者和/或任三者。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3分別具有任何本發明所揭示之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3胺基酸序列。

【0193】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含：(a) 包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之VH CDR1區；(b) 包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之VH CDR2區；(c) 包含SEQ ID NO:

7之胺基酸序列之VH CDR3區；(d) 包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之VL CDR1區；(e) 包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之VL CDR2區；及(f) 包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之VL CDR3區。

【0194】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含：(a) VH CDR1區；(b) VH CDR2區；(c) VH CDR3區；(d) VL CDR1區；(e) VL CDR2區；及(f) VL CDR3區，其中該VH及VL CDR係分別示於圖7、8，及圖19、20及21。

【0195】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈變異區序列(例如圖7中)及本發明所揭示之輕鏈變異區序列(例如圖8中)。

【0196】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列之重鏈變異區；及(b) 包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列之輕鏈變異區。編碼該重鏈變異區及該輕鏈變異區之核苷酸序列係分別提供於圖7及8中。

【0197】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈序列(例如圖7中)及本發明所揭示之輕鏈序列(例如圖8

中)。

【0198】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列之重鏈；及(b) 包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列之輕鏈。

【0199】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 重鏈，其包含與SEQ ID NO: 16之胺基酸序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度的胺基酸序列；及(b) 輕鏈，其包含與SEQ ID NO: 19之胺基酸序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度的胺基酸序列。

II.C. 抗體株14-1

【0200】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR1，其包含胺基酸序列GFDFSINY (SEQ ID NO: 23)、或由其組成或基本上由其組成。

【0201】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR2，其包含胺基酸序列YTGDD (SEQ ID NO: 24)、或由其組成或基本上由其組成。

【0202】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性

結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR3，其包含胺基酸序列GLYSGSINNL (SEQ ID NO: 25)、或由其組成或基本上由其組成。

【0203】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含重鏈VH，其包含：(a) VH CDR1，其包含GFDFSINY (SEQ ID NO: 23)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(b) VH CDR2，其包含YTGDD (SEQ ID NO: 24)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(c) VH CDR3，其包含GLYSGSINNL (SEQ ID NO: 25)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成。

【0204】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3，其中該VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3包含圖19、20及21所呈現之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3之胺基酸序列。在一特定實施態樣中，VH CDR係圖9中所呈現者。

【0205】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含有圖9(SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列之重鏈變異區序列。

【0206】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之VH骨架區(FR)。在特定實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含如圖9中所呈現之序列所示(或可衍生)之VH FR(例如在圖9一個序列中的FR的一、二、三或四者)。

【0207】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈序列(例如圖9中之SEQ ID NO: 22)。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含重鏈變異區，其包含SEQ ID NO: 21之胺基酸序列。

【0208】在各種實施態樣中，該重鏈變異區與SEQ ID NO: 21之重鏈變異區序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度。

【0209】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR1，其包含胺基酸序列QASQSVYNNDYLS (SEQ ID NO: 29)、或由其組成或基本上由其組成。

【0210】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR2，其包含胺基酸序列YASTLAS (SEQ ID NO: 30)、或由其組成

或基本上由其組成。

【0211】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR3，其包含胺基酸序列AGVKGYSNDNNG (SEQ ID NO: 31)、或由其組成或基本上由其組成。

【0212】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含輕鏈VL，其包含：(a) VL CDR1，其包含QASQSVYNNDYLS (SEQ ID NO: 29)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(b) VL CDR2，其包含YASTLAS (SEQ ID NO: 30)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(c) VL CDR3，其包含AGVKGYSNDNNG (SEQ ID NO: 31)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成。

【0213】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3，其中該VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3包含圖19、20及21所呈現之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3之胺基酸序列。在一特定實施態樣中，VL CDR係圖10中所呈現者。

【0214】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包

含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含有圖10(SEQ ID NO: 27)之胺基酸序列之輕鏈變異區序列。

【0215】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之VL骨架區(FR)。在特定實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含如圖10中所呈現之序列所示(或可衍生)之VL FR(例如在圖10一個序列中的FR的一、二、三或四者)。

【0216】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之輕鏈序列(例如圖10中之SEQ ID NO: 28)。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含輕鏈變異區，其包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列。

【0217】在各種實施態樣中，該輕鏈變異區與SEQ ID NO: 27之輕鏈變異區序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度。

【0218】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之CDR序列之任一者、任二者和/或任三者。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3分別具有任何本發明所揭示之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3胺基酸序列。在一些實施態樣中，該抗

體或抗原結合分子包含本文中所述之VL CDR序列之任一者、任二者和/或任三者。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3分別具有任何本發明所揭示之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3胺基酸序列。

【0219】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含：(a) 包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列之VH CDR1區；(b) 包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列之VH CDR2區；(c) 包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列之VH CDR3區；(d) 包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列之VL CDR1區；(e) 包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之VL CDR2區；及(f) 包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列之VL CDR3區。

【0220】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含：(a) VH CDR1區；(b) VH CDR2區；(c) VH CDR3區；(d) VL CDR1區；(e) VL CDR2區；及(f) VL CDR3區，其中該VH及VL CDR係分別示於圖9、10，及圖19、20及21。

【0221】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈變異區序列(例如圖9中)及本發明所揭示之輕鏈變異

區序列(例如圖10中)。

【0222】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列之重鏈變異區；及(b) 包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列之輕鏈變異區。編碼該重鏈變異區及該輕鏈變異區之核苷酸序列係分別提供於圖9及10中。

【0223】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈序列(例如圖9中)及本發明所揭示之輕鏈序列(例如圖10中)。

【0224】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列之重鏈；及(b) 包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列之輕鏈。

【0225】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 重鏈，其包含與SEQ ID NO: 22之胺基酸序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度的胺基酸序列；及(b) 輕鏈，其包含與SEQ ID NO: 28之胺基酸序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度的胺基酸序列。

II.D. 抗體株14-1

【0226】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性

結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR1，其包含胺基酸序列GFDFSINY (SEQ ID NO: 23)、或由其組成或基本上由其組成。

【0227】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR2，其包含胺基酸序列YTGDD (SEQ ID NO: 24)、或由其組成或基本上由其組成。

【0228】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR3，其包含胺基酸序列GLYSGSINNL (SEQ ID NO: 25)、或由其組成或基本上由其組成。

【0229】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含重鏈VH，其包含：(a) VH CDR1，其包含GFDFSINY (SEQ ID NO: 23)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(b) VH CDR2，其包含YTGDD (SEQ ID NO: 24)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(c) VH CDR3，其包含GLYSGSINNL (SEQ ID NO: 25)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成。

【0230】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19

scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3，其中該VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3包含圖19、20及21所呈現之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3之胺基酸序列。在一特定實施態樣中，VH CDR係圖11中所呈現者。

【0231】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含有圖11 (SEQ ID NO: 33)之胺基酸序列之重鏈變異區序列。

【0232】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之VH骨架區(FR)。在特定實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含如圖11中所呈現之序列所示(或可衍生)之VH FR(例如在圖11一個序列中的FR的一、二、三或四者)。

【0233】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈序列(例如圖11)。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含重鏈變異區，其包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列。

【0234】在各種實施態樣中，該重鏈變異區與SEQ ID NO: 33之重鏈變異區序列係80%、85%、90%、91%、

92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度。

【0235】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR1，其包含胺基酸序列QASQSVYNNDYLS (SEQ ID NO: 29)、或由其組成或基本上由其組成。

【0236】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR2，其包含胺基酸序列YASTLAS (SEQ ID NO: 30)、或由其組成或基本上由其組成。

【0237】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR3，其包含胺基酸序列AGVKGYSNDNNG (SEQ ID NO: 31)、或由其組成或基本上由其組成。

【0238】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含輕鏈VL，其包含：(a) VL CDR1，其包含QASQSVYNNDYLS (SEQ ID NO: 29)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(b) VL CDR2，其包含YASTLAS (SEQ ID NO: 30)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(c) VL CDR3，其包含AGVKGYSNDNNG (SEQ ID NO:

31)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成。

【0239】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3，其中該VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3包含圖20、21及22所呈現之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3之胺基酸序列。在一特定實施態樣中，VL CDR係圖12中所呈現者。

【0240】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含有圖12(SEQ ID NO: 36)之胺基酸序列之輕鏈變異區序列。

【0241】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之VL骨架區(FR)。在特定實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含如圖12中所呈現之序列所示(或可衍生)之VL FR(例如在圖12一個序列中的FR的一、二、三或四者)。

【0242】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之輕鏈序列(例如圖12中之SEQ ID NO: 37)。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含輕鏈變異區，其包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列。

【0243】在各種實施態樣中，該輕鏈變異區與SEQ ID NO: 36之輕鏈變異區序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度。

【0244】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之CDR序列之任一者、任二者和/或任三者。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3分別具有任何本發明所揭示之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3胺基酸序列。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含本文中所述之VL CDR序列之任一者、任二者和/或任三者。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3分別具有任何本發明所揭示之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3胺基酸序列。

【0245】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含：(a) 包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列之VH CDR1區；(b) 包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列之VH CDR2區；(c) 包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列之VH CDR3區；(d) 包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列之VL CDR1區；(e) 包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之VL CDR2區；及(f) 包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列之VL CDR3區。

【0246】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含：(a) VH CDR1區；(b) VH CDR2區；(c) VH CDR3區；(d) VL CDR1區；(e) VL CDR2區；及(f) VL CDR3區，其中該VH及VL CDR係分別示於圖11、12，及圖19、20及21。

【0247】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈變異區序列(例如圖11中)及本發明所揭示之輕鏈變異區序列(例如圖12中)。

【0248】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列之重鏈變異區；及(b) 包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之輕鏈變異區。編碼該重鏈變異區及該輕鏈變異區之核苷酸序列係分別提供於圖11及12中。

【0249】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈序列(例如圖11中)及本發明所揭示之輕鏈序列(例如圖12中)。

【0250】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列之重鏈；及(b) 包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列之輕鏈。

【0251】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 重鏈，其包含與SEQ ID NO: 34之胺基酸序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度的胺基酸序列；及(b) 輕鏈，其包含與SEQ ID NO: 37之胺基酸序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度的胺基酸序列。

II.E. 抗體株15(15-7)

【0252】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR1，其包含胺基酸序列GFSFTSNY (SEQ ID NO: 41)、或由其組成或基本上由其組成。

【0253】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR2，其包含胺基酸序列FLGSSG (SEQ ID NO: 42)、或由其組成或基本上由其組成。

【0254】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR3，其包含胺基酸序列DYVNGYDYFNL (SEQ ID NO: 43)、或由其組成或基本上由其組成。

【0255】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含重鏈VH，其包含：(a) VH CDR1，其包含GFSFTSNY (SEQ ID NO: 41)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(b) VH CDR2，其包含FLGSSG (SEQ ID NO: 42)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(c) VH CDR3，其包含DYVNGYDYFNL (SEQ ID NO: 43)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成。

【0256】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3，其中該VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3包含圖19、20及21所呈現之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3之胺基酸序列。在一特定實施態樣中，VH CDR係圖13中所呈現者。

【0257】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含有圖13 (SEQ ID NO: 39)之胺基酸序列之重鏈變異區序列。

【0258】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之VH骨架區(FR)。在特定實施態樣中，該抗體或抗原結合

分子包含如圖13中所呈現之序列所示(或可衍生)之VH FR(例如在圖13一個序列中的FR的一、二、三或四者)。

【0259】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈序列(例如圖13中之SEQ ID NO: 40)。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含重鏈變異區，其包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列。

【0260】在各種實施態樣中，該重鏈變異區與SEQ ID NO: 39之重鏈變異區序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度。

【0261】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR1，其包含胺基酸序列QSSQSVYNKNLA (SEQ ID NO: 47)、或由其組成或基本上由其組成。

【0262】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR2，其包含胺基酸序列STSTLDS (SEQ ID NO: 48)、或由其組成或基本上由其組成。

【0263】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR3，其

包含胺基酸序列LGSYDCSSADCNA (SEQ ID NO: 49)、或由其組成或基本上由其組成。

【0264】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含輕鏈VL，其包含：(a) VL CDR1，其包含QSSQSVYNKNLA (SEQ ID NO: 47)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(b) VL CDR2，其包含STSTLDS (SEQ ID NO: 48)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(c) VL CDR3，其包含LGSYDCSSADCNA (SEQ ID NO: 49)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成。

【0265】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3，其中該VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3包含圖19、20及21所呈現之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3之胺基酸序列。在一特定實施態樣中，VL CDR係圖14中所呈現者。

【0266】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含有圖14(SEQ ID NO: 45)之胺基酸序列之輕鏈變異區序列。

【0267】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包

含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之VL骨架區(FR)。在特定實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含如圖14中所呈現之序列所示(或可衍生)之VL FR(例如在圖14一個序列中的FR的一、二、三或四者)。

【0268】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之輕鏈序列(例如圖14中之SEQ ID NO: 46)。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含輕鏈變異區，其包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列。

【0269】在各種實施態樣中，該輕鏈變異區與SEQ ID NO: 45之輕鏈變異區序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度。

【0270】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之CDR序列之任一者、任二者和/或任三者。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3分別具有任何本發明所揭示之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3胺基酸序列。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含本文中所述之VL CDR序列之任一者、任二者和/或任三者。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3分別具有任何本發明所揭示之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3胺

基酸序列。

【0271】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含：(a) 包含SEQ ID NO: 41之胺基酸序列之VH CDR1區；(b) 包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之VH CDR2區；(c) 包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列之VH CDR3區；(d) 包含SEQ ID NO: 47之胺基酸序列之VL CDR1區；(e) 包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列之VL CDR2區；及(f) 包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列之VL CDR3區。

【0272】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含：(a) VH CDR1區；(b) VH CDR2區；(c) VH CDR3區；(d) VL CDR1區；(e) VL CDR2區；及(f) VL CDR3區，其中該VH及VL CDR係分別示於圖13、14，及圖19、20及21。

【0273】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈變異區序列(例如圖13中)及本發明所揭示之輕鏈變異區序列(例如圖14中)。

【0274】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列之重鏈變異區；及(b) 包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列之輕鏈變異

區。編碼該重鏈變異區及該輕鏈變異區之核苷酸序列係分別提供於圖13及14中。

【0275】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈序列(例如圖13中)及本發明所揭示之輕鏈序列(例如圖14中)。

【0276】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列之重鏈；及(b) 包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之輕鏈。

【0277】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 重鏈，其包含與SEQ ID NO: 40之胺基酸序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度的胺基酸序列；及(b) 輕鏈，其包含與SEQ ID NO: 46之胺基酸序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度的胺基酸序列。

II.F. 抗體株17

【0278】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR1，其包含胺基酸序列GFSFSDSW (SEQ ID NO: 53)、或由其組成或基本上由其組成。

【0279】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR2，其包含胺基酸序列YTGDG (SEQ ID NO: 54)、或由其組成或基本上由其組成。

【0280】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VH CDR3，其包含胺基酸序列GAQFYL (SEQ ID NO: 55)、或由其組成或基本上由其組成。

【0281】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含重鏈VH，其包含：(a) VH CDR1，其包含GFSFTSNY (SEQ ID NO: 53)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(b) VH CDR2，其包含FLGSSG (SEQ ID NO: 54)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(c) VH CDR3，其包含DYVNGYDYFNL (SEQ ID NO: 55)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成。

【0282】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3，其中該VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3包含圖19、20及21所呈現之VH CDR1、VH CDR2及

VH CDR3之胺基酸序列。在一特定實施態樣中，VH CDR係圖15中所呈現者。

【0283】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含有圖15 (SEQ ID NO: 51)之胺基酸序列之重鏈變異區序列。

【0284】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之VH骨架區(FR)。在特定實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含如圖15中所呈現之序列所示(或可衍生)之VH FR(例如在圖15一個序列中的FR的一、二、三或四者)。

【0285】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈序列(例如圖15中之SEQ ID NO: 52)。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含重鏈變異區，其包含SEQ ID NO: 51之胺基酸序列。

【0286】在各種實施態樣中，該重鏈變異區與SEQ ID NO: 51之重鏈變異區序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度。

【0287】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR1，其

包含胺基酸序列QSSQSVYANTYLS (SEQ ID NO: 59)、或由其組成或基本上由其組成。

【0288】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR2，其包含胺基酸序列SASSLAS (SEQ ID NO: 60)、或由其組成或基本上由其組成。

【0289】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含VL CDR3，其包含胺基酸序列LGRYSCGLADCAA (SEQ ID NO: 61)、或由其組成或基本上由其組成。

【0290】在一些實施態樣中，抗原結合分子或特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體、包含此序列之分子及呈現此等分子之細胞，包含輕鏈VL，其包含：(a) VL CDR1，其包含QSSQSVYANTYLS (SEQ ID NO: 59)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(b) VL CDR2，其包含SASSLAS (SEQ ID NO: 60)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成；和/或(c) VL CDR3，其包含LGRYSCGLADCAA (SEQ ID NO: 61)之胺基酸序列、或由其組成、或基本上由其組成。

【0291】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含VL CDR1、

VL CDR2及VL CDR3，其中該VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3包含圖20、21及22所呈現之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3之胺基酸序列。在一特定實施態樣中，VL CDR係圖21中所呈現者。

【0292】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含有圖16(SEQ ID NO: 57)之胺基酸序列之輕鏈變異區序列。

【0293】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之VL骨架區(FR)。在特定實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含如圖16中所呈現之序列所示(或可衍生)之VL FR(例如在圖16一個序列中的FR的一、二、三或四者)。

【0294】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之該抗原結合分子或抗體、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之輕鏈序列(例如圖16中之SEQ ID NO: 58)。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含輕鏈變異區，其包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列。

【0295】在各種實施態樣中，該輕鏈變異區與SEQ ID NO: 57之輕鏈變異區序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度。

【0296】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19

scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本文中所述之CDR序列之任一者、任二者和/或任三者。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3分別具有任何本發明所揭示之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3胺基酸序列。在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含本文中所述之VL CDR序列之任一者、任二者和/或任三者。在某些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3分別具有任何本發明所揭示之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3胺基酸序列。

【0297】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含：(a) 包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列之VH CDR1區；(b) 包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列之VH CDR2區；(c) 包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列之VH CDR3區；(d) 包含SEQ ID NO: 59之胺基酸序列之VL CDR1區；(e) 包含SEQ ID NO: 60之胺基酸序列之VL CDR2區；及(f) 包含SEQ ID NO: 61之胺基酸序列之VL CDR3區。

【0298】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含：(a) VH CDR1區；(b) VH CDR2區；(c) VH CDR3區；(d) VL CDR1區；

(e) VL CDR2區；及(f) VL CDR3區，其中該VH及VL CDR係分別示於圖15、16，及圖19、20及21。

【0299】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈變異區序列(例如圖15中)及本發明所揭示之輕鏈變異區序列(例如圖16中)。

【0300】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列之重鏈變異區；及(b) 包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列之輕鏈變異區。編碼該重鏈變異區及該輕鏈變異區之核苷酸序列係分別提供於圖15及16中。

【0301】在一些實施態樣中，特異性結合該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，包含本發明所揭示之重鏈序列(例如圖15中)及本發明所揭示之輕鏈序列(例如圖16中)。

【0302】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列之重鏈；及(b) 包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列之輕鏈。

【0303】在一些實施態樣中，該抗體或抗原結合分子包含：(a) 重鏈，其包含與SEQ ID NO: 52之胺基酸序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度的胺基酸序列；及(b) 輕

鏈，其包含與SEQ ID NO: 58之胺基酸序列係80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同度的胺基酸序列。

III. 編碼抗體及其他抗原結合分子類之多核苷酸

【0304】本發明亦係關於編碼特異性結合抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)的抗體及其他抗原結合分子類、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞之多核苷酸。

【0305】在一些實施態樣中，本發明之多核苷酸編碼抗原結合分子，其中該抗原結合分子包含重鏈變異區胺基酸序列，其與選自由SEQ ID NO: 3、15、21、33、39及51所組成之群組之重鏈變異區胺基酸序列至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%相同度。

【0306】在一些實施態樣中，本發明之多核苷酸編碼抗原結合分子，其中該抗原結合分子包含輕鏈變異區胺基酸序列，其與選自由SEQ ID NO: 8、18、27、36、45及57所組成之群組之輕鏈變異區胺基酸序列至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%相同度。

【0307】在一些實施態樣中，該多核苷酸包含重鏈編碼序列，其係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO: 2、

SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 38及SEQ ID NO: 50。在另一實施態樣中，該多核苷酸包含輕鏈編碼序列，其係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 44及SEQ ID NO: 56。

【0308】如熟悉本領域技術者將了解的，由於遺傳密碼的簡併性，所揭示的多核苷酸序列的變化是可能的。揭示的多核苷酸序列的變體因此形成本發明之一態樣。

IV. 載體、細胞及醫藥組成物

【0309】在某些態樣中，本文中本發明提供載體包含本發明所揭示之多核苷酸。在一些實施態樣中，本發明係關於載體或一組載體，其包含編碼如本文所述之特異性結合抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞的抗體或抗原結合分子之胺基酸序列之多核苷酸。

【0310】本領域已知的任何載體均可適用於表現本發明的抗體和其他抗原結合分子。在一些實施態樣中，該載體係病毒載體。於一些實施態樣中，該載體為反轉錄病毒載體、DNA載體、鼠白血病病毒載體、SFG載體、質體、RNA載體、腺病毒載體、桿狀病毒載體、埃巴病毒載體(Epstein Barr viral vector)、乳多泡病毒載體(papovaviral vector)、牛痘病毒載體、單純皰疹病毒載體、腺病毒相關載體(AAV)、慢病毒載體或彼等之任何組合。

【0311】在其他態樣，本文提供了包含本發明的多核苷酸或載體的細胞。在一些實施態樣中，本發明係關於細胞、體外細胞，包含編碼如本文所述之抗原結合分子多核苷酸。在一些實施態樣中，本發明係關於細胞(例如體外細胞)，其包含多核苷酸，其編碼如本文所述之特異性結合抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞的抗體或抗原結合分子之胺基酸序列之多核苷酸。

【0312】任何細胞都可以用作編碼本發明的抗體和其他抗原結合分子的全部或片段的多核苷酸和載體的宿主細胞。在一些實施態樣中，宿主細胞可為原核細胞、真菌細胞、酵母菌細胞、或較高等真核細胞，諸如哺乳動物細胞。適合的原核細胞包括而未限於真細菌，諸如革蘭氏陰性或革蘭氏陽性生物，例如腸桿菌科細菌如艾氏菌屬，例如大腸桿菌；腸桿菌；歐文氏菌(Erwinia)；克留氏菌屬(Klebsiella)；變形桿菌屬(Proteus)；沙門桿菌屬，例如鼠傷寒沙門氏菌；鋸桿菌，例如萎垂桿菌(Serratia marcescans)，和志賀桿菌屬；芽孢桿菌，如枯草芽孢桿菌和地衣芽孢桿菌；假單胞菌，如銅綠假單胞菌；和鏈黴菌。在一些實施態樣中，宿主細胞係人細胞。在一些實施態樣中，宿主細胞是CHO細胞，並且在其他實施態樣中，宿主細胞是sP2/0或其他鼠細胞。本發明之宿主細胞可透過本技術領域中已知來源獲得。

【0313】本發明的其他態樣係關於組成物，其包含本

文所述多核苷酸、本文所述載體、本文所述抗體和/或抗原結合分子或本文所述體外細胞。在一些實施態樣中，該組成物包含醫藥上可接受之載體、稀釋劑、溶解化劑、乳化劑、防腐劑和/或佐劑。在一些實施態樣中，該組成物包含賦形劑。在一些實施態樣中，該組成物包含多核苷酸，其編碼特異性結合抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)、包含此序列之分子和呈現此序列之細胞的抗體或抗原結合分子。在另一實施態樣中，該組成物包含由本發明之多核苷酸所編碼抗原結合分子，其中該抗原結合分子特異性結合如本文中所揭示之該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞。在另一實施態樣中，該組成物包含體外細胞，其包含編碼抗體或其抗原結合分子之本發明之多核苷酸。

【0314】在一些實施態樣中，該組成物包含一個特異性結合如本文中所揭示之該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞。在一些實施態樣中，該組成物包含多於一個特異性結合如本文中所揭示之該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗體或抗原結合分子、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞，其中該抗體或抗原結合分子類結合多於一個表位。在一些實施態樣中，該等抗體或抗原結合分子將不會彼此競爭結合表位。在一些實施態樣中，本文提供的兩或更多種抗體或抗原結合分子在醫藥組成物中組合在一起。較佳的是，這樣的組成物將適合投予

包括人的個體。

V. 例示性方法

【0315】下列章節說明各種使用本發明揭示抗原結合分子類之例示性方法。任何本發明所揭示之抗原結合分子可用於本揭示之方法。

【0316】在本揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子係選自由下列所組成之群組：抗體、scFv、Fab、Fab'、Fv、F(ab')2、dAb、人抗體、人化抗體、嵌合抗體、單株抗體、多株抗體、重組抗體、IgE抗體、IgD抗體、IgM抗體、IgG1抗體、在鉸鏈區(hinge region)具有至少一個突變之IgG1抗體、IgG2抗體、在鉸鏈區具有至少一個突變之IgG2抗體、IgG3抗體、在鉸鏈區具有至少一個突變之IgG3抗體、IgG4抗體、在鉸鏈區具有至少一個突變之IgG4抗體、包含至少一個非天然存在的胺基酸之抗體、及任何彼等之組合。

【0317】在一些所揭示之方法中，可利用T細胞。此等T細胞可來自本技術領域中已知任何來源。舉例而言，T細胞可自造血幹細胞族群在體外分化，或T細胞獲自個體。T細胞可從，例如外周血單核細胞(PBMC)、骨髓、淋巴結組織、臍帶血、胸腺組織、來自感染部位之組織、腹水、胸腔積液、脾臟組織及腫瘤取得。此外，T細胞可源自本技藝中可用之一或多個T細胞系。T細胞亦可使用本技藝之技術熟習人士已知之任何數目的技術(諸如FICOLL™

分離及/或血球分離)從個體收集之血液單位取得。分離用於T細胞療法之T細胞的額外方法揭示於美國專利公開第2013/0287748號(其全部內容以引用方式併入本文)中。

【0318】在本揭示之方法的各種實施態樣中，抗原結合分子特異性結合如本文中所揭示之該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)、包含此序列之分子及呈現此序列之細胞。在本揭示之方法的進一步實施態樣中，該抗原結合分子包含(a) 輕鏈CDR1、(b) 輕鏈CDR2、(c) 輕鏈CDR3、(d) 重鏈CDR1、(e) 重鏈CDR2及(f) 重鏈CDR3的一或多者。在本揭示之方法的另外實施態樣中，抗原結合分子包含SEQ ID NO: 7、25、43、55之一者之重鏈CDR3，或包含SEQ ID NO: 13、31、49、61之一者之輕鏈CDR3，或重鏈及輕鏈CDR3兩者。在本揭示之方法的其他實施態樣中，該抗原結合分子包含重鏈CDR1，其包含有SEQ ID NO: 5、23、41及53之一者之胺基酸序列；或重鏈CDR2，其包含SEQ ID NO: 6、24、42及54之一者之胺基酸序列；或輕鏈CDR1，其包含SEQ ID NO: 11、29、47及59之一者之胺基酸序列；或輕鏈CDR2，其包含SEQ ID NO: 12、30、48及60之一者之胺基酸序列。參照圖式，在本揭示之方法的各種實施態樣中，該抗原結合分子包含重鏈CDR1、重鏈CDR2、重鏈CDR3、輕鏈CDR1、輕鏈CDR2、輕鏈CDR3，各CDR包含示於圖5至21之胺基酸序列。

【0319】在本揭示之方法的各種實施態樣中，抗原結

合分子包含重鏈(HC)，且該HC包含重鏈變異區(VH)序列，其包含SEQ ID NO: 3、15、21、33、39及51之一者。參照圖式，在本揭示之方法的各種實施態樣中，該重鏈包含重鏈CDR1、重鏈CDR2、重鏈CDR3，各CDR包含示於圖5至21之胺基酸序列。再者，在所揭示之方法的實施態樣中，可使用抗原結合分子，其包含VH胺基酸序列與本發明中請求項所揭示之抗原結合分子的VH(例如抗原結合分子類，其包含變異區(VH)序列，其包含SEQ ID NO: 3、15、21、33、39及51之一者)至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%相同度。

【0320】在本揭示之方法的各種實施態樣中，抗原結合分子包含輕鏈(LC)，且該LC可包含輕鏈變異區(VL)序列，其包含SEQ ID NO: 9、18、27、36、44及57之一者。參照圖式，在本揭示之方法的各種實施態樣中，該輕鏈包含輕鏈CDR1、輕鏈CDR2、輕鏈CDR3，各CDR包含示於圖5至21之胺基酸序列。再者，在所揭示之方法的實施態樣中，可使用抗原結合分子，其包含VL胺基酸序列與本發明中請求項所揭示之抗原結合分子的VL(例如抗原結合分子類，其包含變異區(VL)序列，其包含SEQ ID NO: 9、18、27、36、44及57之一者)至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%相

同度。

【0321】鑑於可以在所揭示的方法中使用的抗原結合分子的上文描述，現在將更詳細地討論代表性方法。

Va. 投予個體一劑量之藥物之方法

【0322】在一個態樣中，本發明提供投予個體一劑量之藥物之方法，該劑量包含預選數量之呈現包含抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)的治療性分子之細胞。

【0323】在特定實施態樣中，該劑量包含該個體每公斤0.5 x106個細胞、該個體每公斤1.0x106個細胞、該個體每公斤2.0x106個細胞、該個體每公斤3.0x106個細胞、該個體每公斤4.0x106個細胞、或該個體每公斤5.0x106個細胞，儘管該方法可用任何劑量來利用。該個體每公斤1.0x106個細胞係較佳的劑量。

【0324】同本文中所提供的定義，在各種實施態樣中，個體是人或非人個體。當該個體係人時，該個體可係例如正在針對異常生理狀況(例如癌症或已經正式診斷患有病症、未正式辨識到的疾病、正在接受醫療護理的患者、處於發展病症風險中、業經研究病症之存在或不存在等)接受治療的任何人。

【0325】一開始，本發明提供已知體積之包含有已知細胞數的族群之樣本，該等細胞係已知或疑有呈現包含SEQ ID NO: 1之分子。在揭示的方法中，可以使用任何已知的方法來判定細胞數量。在較佳實施態樣中，使用自動

設備如細胞分選儀(例如FACS)對細胞進行計數，但是也可以使用傳統的非自動化細胞計數方法。

【0326】該方法的細胞可以包含任何細胞類型，有免疫細胞(例如B淋巴細胞、單核球、樹突細胞、蘭氏細胞(Langerhans cell)、角質細胞、內皮細胞、星狀細胞、纖維母細胞和寡樹突細胞)。T細胞(包括胞毒型T細胞、T輔助細胞及Treg細胞)係特別是較佳的。在特定實施態樣中，細胞是T細胞，其可以如本文所述和藉由本領域已知的方法獲得。該方法中可以使用任何類型的細胞，並且細胞可以是人或非人細胞(包括原核細胞和真核細胞兩者)。例示性細胞包括但不限於免疫細胞，諸如T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。該T細胞可為自體、同種異體的、或異源性。在另外實施態樣中，該細胞係T細胞呈現CAR。T細胞可係CD4+ T細胞或CD8+ T細胞。當在所揭示的方法中使用T細胞時，T細胞可以是體內T細胞或體外T細胞。此外，細胞可以置於任何能夠維持存活性形式細胞的環境中或從中分離，例如血液、組織或從個體獲得的任何其他樣本、細胞培養基、離體生長的組織等等。梯度純化、細胞培養基選擇和/或細胞分選亦可利用來獲得T細胞。

【0327】由細胞表現的治療性分子可以包含任何已知或疑有提供接受投予的個體治療性益處的分子。因此，治療性分子可任何結構或設計之胜肽或多肽。較佳的是，SEQ ID NO: 1組分至少部分地在細胞外表現或存在，即，

可被胞外交互作用伴侶(諸如本發明之抗原結合分子類)辨識的程度。

【0328】在特定實施態樣中，該治療性分子為CAR。當該治療性分子係CAR時，其可包含進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CD1-la/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、

TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。

【0329】接著，提供包含細胞族群之樣本之整分部分(aliquot)，該細胞呈現包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO: 1)之分子。可以使用任何方便的手段獲得整分部分，例如藉由細胞分選儀、藉由簡單地移液該樣本中的物質等等。

【0330】此外，提供特異性結合抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之抗原結合分子，該抗原結合分子進一步包含可偵測性標記物。抗原結合分子較佳的是本發明所揭示之抗原結合分子，例如在圖式、序列表或本揭露中所揭示者。如本文所述，可以在該方法中使用任何可偵測性標記物，並且可以使用期望的一組標準來選擇合適的標記。可偵測性標記物之類型的實例包括螢光標記物(例如Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocoumarin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、

TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、別藻藍素(APC)、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midoriishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、別藻藍素(APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-藻紅素(RPE)、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry)。適合的螢光增白染料(optical dye)包括螢光發色團，係描述於Johnson, Molecular Probes Handbook:A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Techniques, 11th Edition, Life Technologies, (2010)，該文獻在此明確以引用方式併入，放射性標記物(例如同位素標誌，諸如3H、11C、

14C、15N、18F、35S、64CU、90Y、99Tc、111In、124I、125I、131I)、光色化合物、Halo-tag、Atto染料、Tracy染料、蛋白質螢光標記物(例如蛋白質螢光標記物亦包括但不限於綠色螢光蛋白，籃蟲(Renilla)、海筆(Ptilosarcus)或管水母(Aequorea)物種的GFP (Chalfie et al., (1994) Science 263:802-805)、EGFP (Clon-tech Labs., Inc., Genbank Accession Number U55762)、藍螢光蛋白質(BFP, Quantum Biotechnologies, Inc; Stauber, (1998) Biotechniques 24:462-471; Heim et al., (1996) Curr. Biol. 6: 178-182)、增強型黃色螢光蛋白(Clontech Labs., Inc.)、螢光素酶(Ichiki et al., (1993) J. Immunol. 150:5408-5417)、磁性標記物(例如DYNABEADS)等等。蛋白質標記的策略在本領域中是已知的並且可以用於本揭示之方法中。

【0331】標記可以與抗原結合分子在分子中任何位置相聯，儘管較佳的是在一個位置(或多個位置處，如果使用多個標記)將標記與分子相聯，從而使該分子之結合性質不被修飾(除非需要這種修飾的結合活性)。可利用任何特異性結合SEQ ID NO: 1之抗原結合分子(或其片段)。本發明提供多個適合的抗原結合分子類實例，例如具有示於圖5-21之一或多個CDR。

【0332】該抗原結合分子可位於任何表面或不在表面。舉例而言，抗原結合分子可以存在於緩衝液中並且緩衝液-抗原結合分子可以與樣本接觸。或者，該抗原結合

分子可相聯於表面。適合的表面包括瓊脂糖珠粒、磁珠(諸如DYNABEADS)、塑膠孔盤、玻璃或陶瓷盤(諸如孔盤)、袋(諸如細胞培養袋)等等。該表面本身可以置於另一個結構中，例如管柱。

【0333】接著，在允許結合複體形成的條件下使該樣本整分部分接觸該抗原結合分子，該結合複體包含存在於該樣本之細胞及該抗原結合分子。因此，該方法的該步驟的結果是形成結合複體，其中與可檢測標記相聯的抗原結合分子與表現治療性分子的細胞結合，該治療分子包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO：1)。因此，該結合複體本身可偵測。允許形成結合複體的條件將取決於各種因素，然而通常在生理pH和離子強度下的水性緩衝液，例如在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中，將有利於形成結合複體，並且為本揭示之方法中較佳的。

【0334】接著，判定該整分部分中結合複體中存在的細胞之分額。該計算可以藉由比較帶有可偵測性標記物的細胞數量與不含有可偵測性標記物的細胞數量來進行，並且可以用百分比表示。在結合複體中的細胞數量可經判定。用於確定結合複體中存在的細胞數量的具體方法將取決於所選標記的性質。舉例而言，當選擇螢光標記物時可以使用FACS；當選擇同位素標記時，可以使用質譜測定法、NMR或其他技術；當選擇磁性標記物時可以採用基於磁性的細胞分選；也可以使用顯微鏡。樣本中細胞的數量從頭開始是已知的，因此可以容易地判定結合複體中存在

的細胞分額。

【0335】繼續，判定初始樣本中表現包含抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO：1)的分子的細胞濃度；該判定基於確定存在於結合複體中的細胞分額，並因此判定表現帶有可偵測性標記物的治療性蛋白質。

【0336】呈現該治療性蛋白質的細胞分額係已知，且整分部分的體積係已知；因此，簡單比較提供該整分部分的樣本中表現治療性分子的細胞數，對比較大樣本體積，提供樣本中帶有該治療性分子的細胞分額(單位為治療性分子/體積)(即，較大樣本中帶有治療性分子的細胞濃度)。

【0337】然後，基於樣品中存在的帶有治療性分子的細胞濃度，藉由外推法判定包含選定數目的細胞的樣本的體積。

【0338】最後，將包含期望數量的細胞的樣本的體積投予個體。基於存在於樣本中並由樣本中的細胞表現的治療性分子，投予可包含治療方案的一態樣。

【0339】雖然可以進行一次或多於一次投予，但是該方法的優點在於藉由投予包含預選數量的細胞的劑量(基於已知的或預期的療效判定該細胞的數量)，避免不必要地投予呈現治療性分子的細胞；即個體接受正確數量的細胞以提供期望的治療益處並且不過量接受細胞。

Vb. 判定呈現所關注分子之細胞的數目之方法

【0340】在某些情況下，可能需要確定樣本中存在的細胞數量。舉例而言，可能需要確定從個體獲得的樣品中存在的免疫細胞的數量。或者可能需要確定轉染和表現構築體的細胞的數量，其可以用作轉染效率水平的量度。所揭示的方法可以用於這些和其他應用，其中期望判定樣本中存在的細胞的數量。

【0341】因此，提供了判定樣本中呈現分子的細胞數量的方法，其中提供了包含抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO：1)的分子。

【0342】在一個實施態樣中，提供了包含已知或疑有表現包含抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO：1)的胺基酸序列的分子的細胞的樣本。

【0343】細胞可以是任何類型的，並且可以是人或非人的(例如，小鼠、大鼠、兔子、倉鼠等)。在一個較佳實施態樣中，細胞是免疫細胞。該方法的免疫細胞可為任何類型之免疫細胞(例如B淋巴細胞、單核球、樹突細胞、蘭氏細胞(Langerhans cell)、角質細胞、內皮細胞、星狀細胞、纖維母細胞和寡樹突細胞)。T細胞(包括胞毒型T細胞、T輔助細胞及Treg細胞)係特別是較佳的。在特定實施態樣中，細胞是T細胞，其可以如本文所述和藉由本領域已知的方法獲得。在本揭示之方法的此實施態樣中，該方法中可以使用任何類型的免疫細胞，並且細胞可以是人或非人細胞(包括原核細胞和真核細胞兩者)。例示性細胞包括但不限於免疫細胞，諸如T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞

(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。該T細胞可為自體、同種異體的、或異源性。在另外實施態樣中，該細胞係T細胞呈現CAR。T細胞可係CD4+ T細胞或CD8+ T細胞。當在所揭示的方法中使用T細胞時，T細胞可以是體內T細胞或體外T細胞。此外，細胞可以置於任何能夠維持存活性形式細胞的環境中或從中分離，例如血液、組織或從個體獲得的任何其他樣本、細胞培養基、離體生長的組織、適合緩衝液等等。

【0344】在特定實施態樣中，該包含抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之分子係CAR。當該分子係CAR時，其可包含進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CD1-1a/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、

KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRT AM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。

【0345】接著，該樣本在允許結合複體形成的條件下接觸特異性結合SEQ ID NO: 1且包含可偵測性標記物之抗原結合分子，該結合複體包含存在於該樣本中之細胞及該抗原結合分子。抗原結合分子較佳的是本發明所揭示之抗原結合分子(或其片段)，例如在圖式、序列表或本發明此節中所揭示者。可利用本揭示之方法中的任何特異性結合SEQ ID NO: 1之抗原結合分子。本發明提供多個適合的抗原結合分子類實例，例如具有示於圖5-21之一或多個CDR。

【0346】如本文所述，可以在該方法中使用任何可偵

測性標記物，並且可以使用期望的一組標準來選擇合適的標記。可偵測性標記物之類型的實例包括螢光標記物(例如螢光黃、玫瑰紅、四甲基玫瑰紅、伊紅、藻紅、香豆素、甲基香豆素、芘、Malachite green、芪、Lucifer Yellow、Cascade Blue、Texas Red、IAEDANS、EDANS、BODIPY FL、LC Red 640、Cy 5、Cy 5.5、LC Red 705、Oregon green、Alexa-Fluor染料(Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 647、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680)、Cascade Blue、Cas-cade Yellow及R-藻紅素(PE) (Molecular Probes)、FITC、玫瑰紅及Texas Red (Pierce)、Cy5、Cy5.5、Cy7 (Amersham Life Science)。適合的螢光增白染料(optical dye)包括螢光發色團，係描述於Johnson, Molecular Probes Handbook:A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Techniques, 11th Edition, Life Technologies, (2010)，該文獻在此明確以引用方式併入，放射性標記物(例如同位素標誌，諸如3H、11C、14C、15N、18F、35S、64CU、90Y、99Tc、111In、124I、125I、131I)、光色化合物、Halo-tag、Atto染料、Tracy染料、蛋白質螢光標記物(例如蛋白質螢光標記物亦包括但不限於綠色螢光蛋白，籃蟲(Renilla)、海筆(Ptilosarcus)或管水母(Aequorea)物種的GFP (Chalfie et al., (1994) Science 263:802-805)、EGFP (Clon-tech Labs., Inc., Genbank

Accession Number U55762)、藍螢光蛋白質(BFP, Quantum Biotechnologies, Inc; Stauber, (1998) Biotechniques 24:462-471; Heim et al., (1996) Curr. Biol. 6: 178-182)、增強型黃色螢光蛋白(Clontech Labs., Inc.)、螢光素酶(Ichiki et al., (1993) J. Immunol. 150:5408-5417)、磁性標記物(例如DYNABEADS)等等。蛋白質標記的策略在本領域中是熟知的並且可以用於本揭示之方法中。參見例如Obermaier et al., (2015) Methods Mol Biol 1295:153-65; Strack (2016) Nature Methods 13:33; Site-Specific Protein Labeling: Methods and Protocols, (Gautier and Hinner, eds.) 2015, Springer。

【0347】標記可以與抗原結合分子在分子中任何位置相聯，儘管較佳的是在一個位置(或多個位置處，如果使用多個標記)將標記與分子相聯，從而使該分子之結合性質不被修飾(除非需要這種修飾的結合活性)。可以使用特異性結合抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO：1)(或其片段)的任何抗原結合分子，例如本發明所揭示者，例如具有圖5-21所示的一或多個CDR者。

【0348】該抗原結合分子可位於任何表面或不在表面。舉例而言，抗原結合分子可以存在於緩衝液中並且緩衝液-抗原結合分子可以與樣本接觸。或者，該抗原結合分子可相聯於表面。適合的表面包括瓊脂糖珠粒、磁珠(諸如DYNABEADS)、塑膠孔盤、玻璃或陶瓷盤(諸如孔盤)、袋(諸如細胞培養袋)等等。該表面本身可以置於另一

個結構中，例如管柱。

【0349】允許形成結合複體的條件將取決於各種因素，然而通常在生理pH和離子強度下的水性緩衝液，例如在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中，將有利於形成結合複體，並且為本揭示之方法中較佳的。

【0350】接著，判定樣本中結合複體中存在的細胞的數量。用於確定結合複體中存在的細胞數量的具體方法將取決於所選標記的性質。舉例而言，當選擇螢光標記物時可以使用FACS；當選擇同位素標記時，可以使用質譜測定法、NMR或其他技術；當選擇磁性標記物時可以採用基於磁性的細胞分選；也可以使用顯微鏡。這些檢測方法的輸出可以細胞數的形式，或者輸出可以是允許根據輸出計算細胞數量的形式。

Vc. 單離分子之方法

【0351】將不同分子族群、特別是生物相關分子分離的能力具有巨大的價值。使用本文提供的抗原結合分子，可以實現這種分離並將其用於一系列生物技術、生物製藥和治療應用中。因此，在本發明的一個態樣中，提供單離包含該抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)分子之方法。

【0352】在一些實施態樣中，該方法包含提供已知或疑有包含有抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)的分子之樣本。

【0353】在特定實施態樣中，該包含抗CD19 scFv

FMC63(SEQ ID NO: 1)之分子係CAR。當該分子係CAR時，其可包含進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CD1-la/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276(B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRT AM、Ly9 (CD229)、CD160

(BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。

【0354】提供特異性結合抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO: 1)且隨意地包含可偵測性標記物之抗原結合分子。當決定利用可偵測性標記物時，如本文所述，可以在該方法中使用任何可偵測性標記物，並且可以使用期望的一組標準來選擇合適的標記。可偵測性標記物之類型的實例包括螢光標記物(例如螢光黃、玫瑰紅、四甲基玫瑰紅、伊紅、藻紅、香豆素、甲基香豆素、芘、Malachite green、苉、Lucifer Yellow、Cascade Blue、Texas Red、IAEDANS、EDANS、BODIPY FL、LC Red 640、Cy 5、Cy 5.5、LC Red 705、Oregon green、Alexa-Fluor染料(Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 647、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680)、Cascade Blue、Cas-cade Yellow及R-藻紅素(PE) (Molecular Probes)、FITC、玫瑰紅及Texas Red (Pierce)、Cy5、Cy5.5、Cy7 (Amersham Life Science))。適合的螢光增白染料(optical dye)包括螢光發色團，係描述於Johnson, Molecular Probes Handbook:A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Techniques, 11th Edition,

Life Technologies, (2010)，該文獻在此明確以引用方式併入，放射性標記物(例如同位素標誌，諸如3H、11C、14C、15N、18F、35S、64CU、90Y、99Tc、111In、124I、125I、131I)。亦可以利用光色化合物、Halo-tag、Atto染料、Tracy染料、蛋白質螢光標記物(例如蛋白質螢光標記物亦包括但不限於綠色螢光蛋白，籃蟲(Renilla)、海筆(Ptilosarcus)或管水母(Aequorea)物種的GFP (Chalfie et al., (1994) Science 263:802-805)、EGFP (Clon-tech Labs., Inc., Genbank Accession Number U55762)、藍螢光蛋白質(BFP, Quantum Biotechnologies, Inc; Stauber, (1998) Biotechniques 24:462-471; Heim et al., (1996) Curr. Biol. 6: 178-182)、增強型黃色螢光蛋白(Clontech Labs., Inc.)、螢光素酶(Ichiki et al., (1993) J. Immunol. 150: 5408-5417)、磁性標記物(例如DYNABEADS)等等。蛋白質標記的策略在本領域中是熟知的並且可以用於本揭示之方法中。參見例如Obermaier et al., (2015) Methods Mol Biol 1295:153-65; Strack (2016) Nature Methods 13:33; Site-Specific Protein Labeling: Methods and Protocols, (Gautier and Hinner, eds.) 2015, Springer。

【0355】標記可以與抗原結合分子在分子中任何位置相聯，儘管較佳的是在一個位置(或多個位置處，如果使用多個標記)將標記與分子相聯，從而使該分子之結合性質不被修飾(除非需要這種修飾的結合活性)。可以使用特異性結合抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO：1)(或其

片段)的任何抗原結合分子，例如本發明所揭示者，例如具有圖5-21所示的一或多個CDR者。

【0356】該抗原結合分子可位於任何表面或不在表面。舉例而言，抗原結合分子可以存在於緩衝液中並且緩衝液-抗原結合分子可以與樣本接觸。或者，該抗原結合分子可相聯於表面。適合的表面包括瓊脂糖珠粒、磁珠(諸如DYNABEADS)、塑膠孔盤、玻璃或陶瓷盤(諸如孔盤)、袋(諸如細胞培養袋)等等。該表面本身可以置於另一個結構中，例如管柱。

【0357】允許形成結合複體的條件將取決於各種因素，然而通常在生理pH和離子強度下的水性緩衝液，例如在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中，將有利於形成結合複體，並且為本揭示之方法中較佳的。由於結合複體的組成部分可如本文所述置於表面上，因此形成的結合複體也可置於表面上。

【0358】在此階段，可能沒有形成結合複體，或者可能形成多個結合複體(其包含一或多個結合包含SEQ ID NO: 1之分子的抗原結合分子類)(或一或多個包含SEQ ID NO: 1之分子結合抗原結合分子)。包含SEQ ID NO: 1的未結合的分子和/或未結合的抗原結合分子也可以存在於任何已形成結合複體的局部環境中。

【0359】接著，使任何不為結合複體一部分之分子與任何經形成之結合複體分離。移除的方法取決於結合複體的結構和/或局部環境。例如，如果將抗原結合分子置於

珠粒、平板或袋上，則反應混合物之未結合組分可使用讓已形成之結合複體完整之溶液來洗掉。如果結合複體係置於珠粒上，則珠粒本身可以位於管柱或其他結構中，並且可以使用相同的方法。

【0360】例如，可以使用用於誘導結合複體形成的溶液作為洗滌溶液以移除未結合的組分。也可以使用不破壞形成的結合複體的任何合適的緩衝液或溶液。通常，當執行該方法的該步驟時，較佳的是避免具有高鹽濃度、非生理pH、含有離散劑(chaotrope)或變性劑的緩衝液。

【0361】接著，分離經形成之結合複體為(a) 包含SEQ ID NO: 1之分子，和(b) 抗原結合分子。分離可以使用熟悉本技術領域者已知的標準方法來實現。例如，可將合適的pH和組合物的溶液於複體上洗滌。通常用於此目的的溶液是0.1 M甘胺酸HCl、pH2.5-3.0，並且可以使用該溶液來實現分離。可以使用的其他溶液包括100 mM檸檬酸、pH 3.0；50-100 mM三乙胺或三乙醇胺、pH 11.5；150 mM氫氧化銨、pH 10.5；0.1 M 甘胺酸·NaOH、pH 10.0；5 M氯化鋰、3.5 M氯化鎂或氯化鉀；3.0 M 氯化鉀；2.5 M 碘化鈉或碘化鉀；0.2-3.0 M硫氰酸鈉；0.1M Tris-乙酸和2.0 M NaCl、pH 7.7；2-6 M胍鹽酸鹽；2-8 M尿素；1.0 M硫氰酸銨；1%脫氧膽酸鈉；1% SDS；及10%二噁烷；50%乙二醇、pH 8-11.5。

【0362】分離後，如果包含SEQ ID NO: 1的分子是主要感興趣的，則可予以收集；或者，如果抗原結合分子是

主要感興趣的，則可予以收集。

Vd. 判定分子存在或不存在之方法

【0363】如本文中所揭示，有時期望單離本發明所提供之包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO: 1)之分子。在其他情況下，僅僅知道本發明所提供的包含SEQ ID NO: 1的分子是否存在或不存在於樣品中是即為足夠資訊。舉例而言，不管表現量如何，知道這樣的分子被表現是有益的。在其他情況下，可能需要知道是否有效地進行了設計用於去除這種分子的純化過程或步驟。因此，定性判定本發明的包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO: 1)的分子的存在或不存在可用於多種應用。有鑑於此，提供了判定樣本中包含SEQ ID NO: 1的分子的存在或不存在的方法。

【0364】在一些實施態樣中，該方法包含提供已知或疑有包含有SEQ ID NO: 1的分子之樣本。

【0365】在一些實施態樣中，該包含SEQ ID NO: 1之分子係CAR。當該分子係CAR時，其可包含進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CD1-1a/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、

CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。

【0366】提供包含可偵測性標記物之抗原結合分子，其特異性結合抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)。可以使用期望的一組標準來選擇合適的標記。可偵測性標記物

之類型的實例包括螢光標記物(例如螢光黃、玫瑰紅、四甲基玫瑰紅、伊紅、藻紅、香豆素、甲基香豆素、芘、Malachite green、苊、Lucifer Yellow、Cascade Blue、Texas Red、IAEDANS、EDANS、BODIPY FL、LC Red 640、Cy 5、Cy 5.5、LC Red 705、Oregon green、Alexa-Fluor染料(Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 647、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680)、Cascade Blue、Cas-cade Yellow及R-藻紅素(PE) (Molecular Probes)、FITC、玫瑰紅及Texas Red (Pierce)、Cy5、Cy5.5、Cy7 (Amersham Life Science)。適合的螢光增白染料(optical dye)包括螢光發色團，係描述於Johnson, Molecular Probes Handbook:A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Techniques, 11th Edition, Life Technologies, (2010)，該文獻在此明確以引用方式併入，放射性標記物(例如同位素標誌，諸如3H、11C、14C、15N、18F、35S、64CU、90Y、99Tc、111In、124I、125I、131I)、光色化合物、Halo-tag、Atto染料、Tracy染料、蛋白質螢光標記物(例如蛋白質螢光標記物亦包括但不限於綠色螢光蛋白，籃蟲(Renilla)、海筆(Ptilosarcus)或管水母(Aequorea)物種的GFP (Chalfie et al., (1994) Science 263:802-805)、EGFP (Clon-tech Labs., Inc., Genbank Accession Number U55762)、藍螢光蛋白質(BFP, Quantum Biotechnologies, Inc; Stauber, (1998)

Biotechniques 24:462-471; Heim et al., (1996) Curr. Biol. 6: 178-182)、增強型黃色螢光蛋白(Clontech Labs., Inc.)、螢光素酶(Ichiki et al., (1993) J. Immunol. 150:5408-5417)、磁性標記物(例如DYNABEADS)等等。蛋白質標記的策略在本領域中是熟知的並且可以用於本揭示之方法中。參見例如Obermaier et al., (2015) Methods Mol Biol 1295:153-65; Strack (2016) Nature Methods 13:33; Site-Specific Protein Labeling: Methods and Protocols, (Gautier and Hinner, eds.) 2015, Springer。

【0367】標記可以與抗原結合分子在分子中任何位置相聯，儘管較佳的是在一個位置(或多個位置處，如果使用多個標記)將標記與分子相聯，從而使該分子之結合性質不被修飾(除非需要這種修飾的結合活性)。可以使用特異性結合抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO：1或其片段)的任何抗原結合分子，例如本發明所揭示者，例如具有圖5-21所示的一或多個CDR者。

【0368】接著，在允許結合複體形成的條件下使該樣本接觸該抗原結合分子，該結合複體包含存在於該樣本之包含SEQ ID NO: 1的分子(其可表現在細胞上)及該抗原結合分子。該抗原結合分子可位於任何表面或不在表面。舉例而言，抗原結合分子可以存在於緩衝液中並且緩衝液-抗原結合分子可以與樣本接觸。或者，該抗原結合分子可相聯於表面。適合的表面包括瓊脂糖珠粒、磁珠(諸如DYNABEADS)、塑膠孔盤、玻璃或陶瓷盤(諸如孔盤)、袋

(諸如細胞培養袋)等等。該表面本身可以置於另一個結構中，例如管柱。

【0369】允許形成結合複體的條件將取決於各種因素，然而通常在生理pH和離子強度下的水性緩衝液，例如在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中，將有利於形成結合複體，並且為本揭示之方法中較佳的。由於結合複體的組成部分可如本文所述置於表面上，因此形成的結合複體也可置於表面上。

【0370】在此階段，可能沒有形成結合複體，或者可能形成多個結合複體(其包含一或多個結合包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO: 1)之分子的抗原結合分子類)(或一或多個包含SEQ ID NO: 1之分子結合抗原結合分子)。包含SEQ ID NO: 1的未結合的分子和/或未結合的抗原結合分子也可以存在於任何已形成結合複體的局部環境中。

【0371】接著，使任何不為結合複體一部分之分子與任何經形成之結合複體分離。移除的方法取決於結合複體的結構和/或局部環境。例如，如果將抗原結合分子置於珠粒、平板或袋上，則反應混合物之未結合組分可使用讓已形成之結合複體完整之溶液來洗掉。如果結合複體係置於珠粒上，則珠粒本身可以位於管柱或其他結構中，並且可以使用相同的方法。

【0372】例如，可以使用用於誘導結合複體形成的溶液作為洗滌溶液以移除未結合的組分。也可以使用不破壞

形成的結合複體的任何合適的緩衝液或溶液。通常，當執行該方法的該步驟時，應避免具有高鹽濃度、非生理pH、含有離散劑(chaotrope)或變性劑的緩衝液。

【0373】最後，偵測存在或不存在結合複體--其包含SEQ ID NO: 1之分子及抗原結合分子。用於偵測結合複體存在或不存在的具體方法將取決於所選標記的性質。舉例而言，當選擇螢光標記物時可以使用流動式細胞測量術或FACS；當選擇同位素標記時，可以使用質譜測定法、NMR或其他技術；當選擇磁性標記物時可以採用基於磁性的細胞分選；也可以使用顯微鏡。該方法的最終結果是定性評估包含可偵測性標記物的抗原結合分子的存在或不存在，並由此定性評估其結合伴侶之存在或不存在，該分子包含SEQ ID NO: 1。

【0374】如同所有揭示的方法，包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO：1)的分子可以置於任何環境中。在較佳實施態樣中，該包含SEQ ID NO: 1之分子係表現在細胞表面上。在此實施態樣中，細胞可以是任何類型的，並且可以是人或非人的(例如，小鼠、大鼠、兔子、倉鼠等)。在一個較佳實施態樣中，細胞是免疫細胞。該方法的免疫細胞可為任何類型之免疫細胞(例如B淋巴細胞、單核球、樹突細胞、蘭氏細胞(Langerhans cell)、角質細胞、內皮細胞、星狀細胞、纖維母細胞和寡樹突細胞)。T細胞(包括胞毒型T細胞、T輔助細胞及Treg細胞)係特別是較佳的。在特定實施態樣中，細胞是T細胞，其可以如本

文所述和藉由本領域已知的方法獲得。在本揭示之方法的此實施態樣中，該方法中可以使用任何類型的免疫細胞，並且細胞可以是人或非人細胞(包括原核細胞和真核細胞兩者)。例示性細胞包括但不限於免疫細胞，諸如T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。該T細胞可為自體、同種異體的、或異源性。在另外實施態樣中，該細胞係T細胞呈現CAR。T細胞可係CD4+ T細胞或CD8+ T細胞。當在所揭示的方法中使用T細胞時，T細胞可以是體內T細胞或體外T細胞。

【0375】在另外的實施態樣中，細胞可以置於任何能夠維持存活性形式細胞的環境中或從中分離，例如血液、組織或從個體獲得的任何其他樣本、細胞培養基、離體生長的組織、適合緩衝液等等。

Ve. 增加分子濃度之方法

【0376】很多時候樣本中的所關注分子的濃度低於預期水平。舉例而言，當細胞用外源基因轉染時，由外源基因編碼的蛋白質的基因表現水平有時低。從細胞分泌的分子也是如此；這種分子通常以低量存在，但如果分子包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO：1)，仍然可以使用本文提供的方法檢測。低表現量問題的一個解決方法是增加所關注分子的濃度，其可以在溶液中游離或表現在細胞表面上。細胞內表現的所關注分子的濃度也可以增強，然而細胞必須首先被溶裂以釋放分子。為處理此問題，本發

明提供增加呈現包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO: 1)的分子之細胞的濃度之方法。

【0377】在一些實施態樣中，該方法包含提供樣本，其包含已知或疑有呈現包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO: 1)的分子之細胞。

【0378】在特定實施態樣中，該包含序列SEQ ID NO: 1之分子係CAR。當該分子係CAR時，其可包含進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CD1-1a/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、

VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRT AM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。

【0379】提供特異性結合抗SEQ ID NO: 1且隨意地包含可偵測性標記物之抗原結合分子。當決定利用可偵測性標記物時，如本文所述，可以在該方法中使用任何可偵測性標記物，並且可以使用期望的一組標準來選擇合適的標記。可偵測性標記物之類型的實例包括螢光標記物(例如螢光黃、玫瑰紅、四甲基玫瑰紅、伊紅、藻紅、香豆素、甲基香豆素、芘、Malachite green、苉、Lucifer Yellow、Cascade Blue、Texas Red、IAEDANS、EDANS、BODIPY FL、LC Red 640、Cy 5、Cy 5.5、LC Red 705、Oregon green、Alexa-Fluor染料(Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 647、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680)、Cascade Blue、

Cas-cade Yellow及R-藻紅素(PE) (Molecular Probes)、FITC、玫瑰紅及Texas Red (Pierce)、Cy5、Cy5.5、Cy7 (Amersham Life Science)。適合的螢光增白染料(optical dye)包括螢光發色團，係描述於Johnson, Molecular Probes Handbook:A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Techniques, 11th Edition, Life Technologies, (2010)，該文獻在此明確以引用方式併入，放射性標記物(例如同位素標誌，諸如3H、11C、14C、15N、18F、35S、64CU、90Y、99Tc、111In、124I、125I、131I)、光色化合物、Halo-tag、Atto染料、Tracy染料、蛋白質螢光標記物(例如蛋白質螢光標記物亦包括但不限於綠色螢光蛋白，籃蟲(Renilla)、海筆(Ptilosarcus)或管水母(Aequorea)物種的GFP (Chalfie et al., (1994) Science 263:802-805)、EGFP (Clon-tech Labs., Inc., Genbank Accession Number U55762)、藍螢光蛋白質(BFP, Quantum Biotechnologies, Inc; Stauber, (1998) Biotechniques 24:462-471; Heim et al., (1996) Curr. Biol. 6: 178-182)、增強型黃色螢光蛋白(Clontech Labs., Inc.)、螢光素酶(Ichiki et al., (1993) J. Immunol.150:5408-5417)、磁性標記物(例如DYNABEADS)等等。蛋白質標記的策略在本領域中是熟知的並且可以用於本揭示之方法中。參見例如Obermaier et al., (2015) Methods Mol Biol 1295:153-65; Strack (2016) Nature Methods 13:33; Site-Specific Protein Labeling: Methods and Protocols, (Gautier and Hinner, eds.) 2015, Springer。

【0380】標記可以與抗原結合分子在分子中任何位置相聯，儘管較佳的是在一個位置(或多個位置處，如果使用多個標記)將標記與分子相聯，從而使該分子之結合性質不被修飾(除非需要這種修飾的結合活性)。可以使用特異性結合抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO：1)(或其片段)的任何抗原結合分子，例如本發明所揭示者，例如具有圖5-21所示的一或多個CDR者。

【0381】該抗原結合分子可位於任何表面或不在表面。舉例而言，抗原結合分子可以存在於緩衝液中並且緩衝液-抗原結合分子可以與樣本接觸。或者，該抗原結合分子可相聯於表面。適合的表面包括瓊脂糖珠粒、磁珠(諸如DYNABEADS)、塑膠孔盤、玻璃或陶瓷盤(諸如孔盤)、袋(諸如細胞培養袋)等等。該表面本身可以置於另一個結構中，例如管柱。

【0382】呈現包含SEQ ID NO: 1的分子之細胞可以是任何類型的，並且可以是人或非人的(例如，小鼠、大鼠、兔子、倉鼠等)。在一較佳實施態樣中，細胞是免疫細胞。該方法的免疫細胞可為任何類型之免疫細胞(例如B淋巴細胞、單核球、樹突細胞、蘭氏細胞(Langerhans cell)、角質細胞、內皮細胞、星狀細胞、纖維母細胞和寡樹突細胞)。T細胞(包括胞毒型T細胞、T輔助細胞及Treg細胞)係特別是較佳的。在特定實施態樣中，細胞是T細胞，其可以如本文所述和藉由本領域已知的方法獲得。在本揭示之方法的此實施態樣中，該方法中可以使用任何類

型的免疫細胞，並且細胞可以是人或非人細胞(包括原核細胞和真核細胞兩者)。例示性細胞包括但不限於免疫細胞，諸如T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。該T細胞可為自體、同種異體的、或異源性。在另外實施態樣中，該細胞係T細胞呈現CAR。T細胞可係CD4+ T細胞或CD8+ T細胞。當在所揭示的方法中使用T細胞時，T細胞可以是體內T細胞或體外T細胞。此外，細胞可以置於任何能夠維持存活性形式細胞的環境中或從中分離，例如血液、組織或從個體獲得的任何其他樣本、細胞培養基、離體生長的組織、適合緩衝液等等。

【0383】包含細胞之樣本在允許結合複體形成的條件下接觸該抗原結合分子，該結合複體包含有抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO: 1)之該分子及該抗原結合分子。允許形成結合複體的條件將取決於各種因素，然而通常在生理pH和離子強度下的水性緩衝液，例如在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中，將有利於形成結合複體，並且為本揭示之方法中較佳的。由於結合複體的組成部分可如本文所述置於表面上，因此形成的結合複體也可置於表面上。

【0384】在此階段，可能沒有形成結合複體，或者可能形成多個結合複體(其包含一或多個結合包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO: 1)之分子的抗原結合分子類)(或一或多個包含SEQ ID NO: 1之分子結合抗原結合分子)。包含SEQ ID NO: 1的未結合的分子和/或未結合的抗

原結合分子也可以存在於任何已形成結合複體的局部環境中。

【0385】接著，使任何不為結合複體一部分之分子或細胞與任何經形成之結合複體分離。移除的方法取決於結合複體的結構和/或局部環境。例如，如果將抗原結合分子置於珠粒、平板或袋上，則反應混合物之未結合組分可使用讓已形成之結合複體完整之溶液來洗掉。如果結合複體係置於珠粒上，則珠粒本身可以位於管柱或其他結構中，並且可以使用相同的方法。

【0386】例如，可以使用用於誘導結合複體形成的溶液作為洗滌溶液以移除未結合的組分。也可以使用不破壞形成的結合複體的任何合適的緩衝液或溶液。通常，當執行該方法的該步驟時，應避免具有高鹽濃度、非生理pH、含有離散劑(chaotrope)或變性劑的緩衝液。

【0387】在本方法之此階段，將存在呈現包含SEQ ID NO: 1的分子之細胞族群。如果使用可偵測性標記物，可以很容易地判定細胞濃度(與標籤的性質一致)。不表現包含SEQ ID NO: 1的分子的細胞將不存在，並且相較於之前進行該方法的量相比，呈現包含SEQ ID NO: 1的分子的細胞的群體(或濃度)將增加。

【0388】如果包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO: 1)的分子的濃度不處於所欲之量，則可以將上述步驟重複所需的次數。在該方法的步驟的情況下，如果期望的細胞濃度已經存在，則期望的次數也可以為零。

Vf. 減除免疫細胞族群之方法

【0389】當個體患有免疫細胞調介的病症時，及時控制病情以防止對個體造成傷害是非常重要的。例如，當個體患有自身免疫反應時，可能需要藉由減除免疫細胞族群來抑制免疫細胞調介的反應，以努力預防傷害。在另一個實例中，接受免疫療法的個體可能對治療反應過強，並有受傷的風險；減除投予個體的免疫細胞族群可能是減輕個體對免疫療法的反應的有效方法。鑑於需要一種控制個體免疫細胞調介的反應的方法，本發明提供減除(depleting)呈現包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO: 1)的分子之免疫細胞族群之方法。可以在該方法中使用特異性辨識SEQ ID NO: 1的抗原結合分子，例如具有圖6所示的一或多個CDR的抗原結合分子。

【0390】在一些實施態樣中，該方法包含提供待減除的免疫細胞之族群，其中該等細胞已知或疑有表現包含抗CD19 scFv FMC63序列(SEQ ID NO: 1)之分子。

【0391】在特定實施態樣中，包含SEQ ID NO: 1之分子係CAR。當該分子係CAR時，其可包含進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1(Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-

1)(LFA-1、CD1-1a/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。

【0392】表現包含抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)序列的分子之細胞可以是任何類型的，並且可以是人或

非人的(例如，小鼠、大鼠、兔子、倉鼠等)。該方法的免疫細胞可為任何類型之免疫細胞(例如B淋巴細胞、單核球、樹突細胞、蘭氏細胞(Langerhans cell)、角質細胞、內皮細胞、星狀細胞、纖維母細胞和寡樹突細胞)。T細胞(包括胞毒型T細胞、T輔助細胞及Treg細胞)係特別是較佳的。在特定實施態樣中，細胞是T細胞，其可以如本文所述和藉由本領域已知的方法獲得。在本揭示之方法的此實施態樣中，該方法中可以使用任何類型的免疫細胞，並且細胞可以是人或非人細胞(包括原核細胞和真核細胞兩者)。例示性細胞包括但不限於免疫細胞，諸如T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。該T細胞可為自體、同種異體的、或異源性。在另外實施態樣中，該細胞係T細胞呈現CAR。T細胞可係CD4+ T細胞或CD8+ T細胞。當在所揭示的方法中使用T細胞時，T細胞可以是體內T細胞或體外T細胞。此外，細胞可以置於任何能夠維持存活性形式細胞的環境中或從中分離，例如血液、組織或從個體獲得的任何其他樣本、細胞培養基、離體生長的組織、適合緩衝液等等。由於所揭示的方法可以用於治療環境中，在較佳實施態樣中，免疫細胞族群被置於個體內，並且更佳為置於人個體中。

【0393】繼續，在允許三元結合複體形成條件下使該等免疫細胞與抗原結合分子接觸，該抗原結合分子特異性結合(a) 包含SEQ ID NO: 1之該分子和(b) 活化分子，該

活化分子經表現在未表現包含SEQ ID NO: 1之分子的免疫細胞表面上，該三元結合複體包含：包含SEQ ID NO: 1之分子、該活化分子及該抗原結合分子。該抗原結合分子可位於任何表面或不在表面。舉例而言，抗原結合分子(其亦可包含待減除和/或可存在於緩衝液中之免疫細胞族群)可以存在於緩衝液中並且緩衝液-抗原結合分子可以與樣本接觸。或者，該抗原結合分子可相聯於表面。適合的表面包括瓊脂糖珠粒、磁珠(諸如DYNABEADS)、塑膠孔盤、玻璃或陶瓷盤(諸如孔盤)、袋(諸如細胞培養袋)等等。該表面本身可以置於另一個結構中，例如管柱。

【0394】在允許形成三元結合複體的條件下使免疫細胞與抗原結合分子接觸，該三元結合複體包含含有抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO：1)序列之分子、抗原結合分子和表現在免疫細胞(其不表現包含SEQ ID NO: 1的分子)表面上的活化分子。允許形成結合複體的條件將取決於各種因素，然而通常在生理pH和離子強度下的水性緩衝液，例如在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中，將有利於形成結合複體，並且為本揭示之方法中較佳的。由於結合複體的組成部分可如本文所述置於表面上，因此形成的結合複體也可置於表面上。

【0395】在較佳實施態樣中，該接觸係藉由直接投予個體該抗原結合分子來進行。在此實施態樣中，個體已經具有待減除的細胞族群，其中該細胞表現包含抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)序列的分子。因此，在將抗原

結合分子投予個體之前，這些細胞以及呈現活化分子的細胞將存在於個體內。人的血液、淋巴和組織環境將允許形成三元結合複體。抗原結合分子與包含抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)序列的分子的結合用於“標籤”呈現包含SEQ ID NO: 1的分子的細胞(即待減除的細胞)。這個結合事件可能會或可能不會導致其本身的減除。然而，當抗原結合分子結合活化分子以形成三元結合複體時，此結合事件使細胞(即，表現包含SEQ ID NO: 1的分子的細胞和表現活化分子的細胞)變得接近。結合事件的生理結果是殺除表現包含SEQ ID NO: 1的分子的細胞。因此，在整個個體中發生多次結合事件的情況下，攜帶包含SEQ ID NO: 1的分子的免疫細胞族群被減除耗盡，並且對個體造成傷害的風險降低。

序列及SEQ ID NO

本發明包含許多核酸及多肽序列。為了簡便，下列表格列出相關各序列及其適當說明及SEQ ID NO。

SEQ ID NO	說明	序列
1	抗 CD19 scFv FMC63	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPD GTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIA TYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKG EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPP RKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKM NSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS
2	抗體株7 VH	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTG CTCAAAGGTGTCCAGTGTCAGGAGCAGCTGGAGGAGTCC GGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGAGGAACCCTGACAGT CACCTGCAAAGCCTCTGGATTCTCCTTCAGTAACAATGG AATTTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGA GTGGATCGGATGTCTTTATGTTGGTAGTAGTGATACCACT TACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCC AAAAGCTCGTCGACCACGGTGACTCTACAAATGACCAGT CTGACAGTCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTACGATA AATCTCGGCTTGTGGGGCCCCGGCACCCTGGTCACCGTC TCCTCA
3	抗體株 7 VH	METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGDLVKPGGTLTV TCKASGFSFSNNGICWVRQAPGKGLEWIGCLYVGSSDTTY YASWAKGRFTISKSSSTTVTLQMTSLTVADTATYFCTINLG LWGPGTLVTVSS
4	抗體株 7 HC	METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGDLVKPGGTLTV TCKASGFSFSNNGICWVRQAPGKGLEWIGCLYVGSSDTTY YASWAKGRFTISKSSSTTVTLQMTSLTVADTATYFCTINLG LWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTLGCLV KGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVS VTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELL GGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFT WYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGK EFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELS SRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDS DGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKS ISRSPGK
5	抗體株7 VH CDR1	GFSFSNN
6	抗體株 7 VH CDR2	YVGSSD
7	抗體株 7 VH CDR3	NLGL
8	抗體株 7 VL	ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG CTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCACATTTGCCATCGTGGTGA CCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGGCA CAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGAGAGTGTTTATA ATAGCGACTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGC AGCCTCCCAAGCAACTGATCTATGCTGCATCCACTCTGG

SEQ ID NO	說明	序列
		CATCTGGGGTCCCATCGCGCTTCAAAGGCAGTGGATCTG GGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGATGTGGTGTGTG ACGATGCTGCCACTTATTATTGTGCAGGATATAAAAGTA GTAGTACTGATGGGATTGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGG TGGTGGTCAAA
9	抗體株 7 VL	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAIVVTQTPSSKSVPVGGTV TINCQASESVYNSDWLAWYQQKPGQPPKQLIYAASTLASG VPSRFKGSGSGTQFTLTISDVVCDDAATYYCAGYKSSSTDG IAFGGGTEVVVK
10	抗體株 7 LC	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAIVVTQTPSSKSVPVGGTV TINCQASESVYNSDWLAWYQQKPGQPPKQLIYAASTLASG VPSRFKGSGSGTQFTLTISDVVCDDAATYYCAGYKSSSTDG IAFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVA NKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSST LTLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC
11	抗體株 7 VL CDR1	QASESVYNSDWLA
12	抗體株 7 VL CDR2	AASTLAS
13	抗體株 7 VL CDR3	AGYKSSSTDGIA
14	抗體株 13 VH	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTG CTCAAAGGTGTCCAGTGTCAGGAGCAGCTGGAGGAGTCC GGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGAGGAACCCTGACAGT CACCTGCAAAGCCTCTGGATTCTCCTTCAGTAACAATGG AATTTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGA GTGGATCGGATGTCTTTATGTTGGTAGTAGTGATACCACT TACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCC AAAAGCTCGTCGACCACGGTGACTCTACAAATGACCAGT CTGACAGTCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTACGATA AATCTCGGCTTGTGGGGCCCCGGCACCCTGGTCACCGTC TCCTCA
15	抗體株 13 VH	METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGDLVKPGGTLTV TCKASGFSFSNNGICWVRQAPGKGLEWIGCLYVGSSDTTY YASWAKGRFTISKSSSTTVTLQMTSLTVADTATYFCTINLG LWGPGTLVTVSS
16	抗體株 13 HC	METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGDLVKPGGTLTV TCKASGFSFSNNGICWVRQAPGKGLEWIGCLYVGSSDTTY YASWAKGRFTISKSSSTTVTLQMTSLTVADTATYFCTINLG LWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTLGCLV KGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVS VTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELL GGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFT WYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGK EFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELS SRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDS DGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKS ISRSPGK
5	抗體株 13 VH CDR1	GFSFSNN
6	抗體株 13 VH CDR2	YVGSSD
7	抗體株 13 VH CDR3	NLGL
17	抗體株 13 VL	ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG CTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCACACTTGCCATCGTGGTG

SEQ ID NO	說明	序列
		ACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGGC ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGAGAGTGTTTAT AATAGCGACTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGG CAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATGCTGCATCCACTCTG GCATCTGGGGTCCCATCGCGCTTCAAAGGCAGTGGATCT GGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGATGTGGTGTGT GACGATGCTGCCACTTATTATTGTGCAGGATATAAAAGT AGTAGTACTGATGGGATTGCTTTCGGCGGAGGGACCGAG GTGGTGGTCAAA
18	抗體株13 VL	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATLAIVVTQTPSSKSVPVGGTV TINCQASESVYNSDWLAWYQQKPGQPPKQLIYAASTLASG VPSRFKGSGSGTQFTLTISDVVCDDAATYYCAGYKSSSTDG IAFGGGTEVVVK
19	抗體株13 LC	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATLAIVVTQTPSSKSVPVGGTV TINCQASESVYNSDWLAWYQQKPGQPPKQLIYAASTLASG VPSRFKGSGSGTQFTLTISDVVCDDAATYYCAGYKSSSTDG IAFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVA NKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSST LTLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC
11	抗體株13 VL CDR1	QASESVYNSDWLA
12	抗體株13 VL CDR2	AASTLAS
13	抗體株13 VL CDR3	AGYKSSSTDGIA
20	抗體株14-1 VH	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTG CTCAAAGGTGTCCAGTGTCAGGAGCAGCTGGAGGAGTCC GGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTC ACCTGCAAAGCCTCTGGATTCGACTTCAGTATCAACTAC TACATGTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGTTG GAGTGGATCGCATGCATTTATACTGGTGATGATGACACT TTCTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGGTTCACCATCTCC AAAACCTCGTCGACCACGGTGACTCTACAACTGAACAGT CTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTGTGAGA GGTCTATATAGTGGTAGTATTAATAACCTGTGGGGCCCA GGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
21	抗體株14-1VH	METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGGLVKPGASLTLT CKASGFDFSINYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYTGDDDTFY ASWAKGRFTISKTSSTTVTLQLNSLTAADTATYFCVRGLYS GSINNLWGPGTLVTVSS
22	抗體株14-1HC	METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGGLVKPGASLTLT CKASGFDFSINYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYTGDDDTFY ASWAKGRFTISKTSSTTVTLQLNSLTAADTATYFCVRGLYS GSINNLWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTL GCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLS SVVSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPP PELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEV QFTWYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWL RGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPR EELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPA VLDSDGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHY TQKSISRSPGK
23	抗體株14-1VH CDR1	GFDFSINY

SEQ ID NO	說明	序列
24	抗體株14-1VH CDR2	YTGDD
25	抗體株14-1VH CDR3	GLYSGSINNL
26	抗體株14-1VL	ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG CTGCTCTGGCTCCCAGATGCCAGATGTGCGCTTGTGATG ACCCAGACTCCATCCCCTGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGC ACAGTCACCATCAGTTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTAT AACAACGACTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGG CAGCCTCCCAAACTCCTGATCTATTATGCATCCACTCTGG CATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTG GGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTG ACGATGCTGCCGCTTACTATTGTGCAGGCGTTAAAGGTT ATAGTAATGATAATAATGGTTTCGGCGGAGGGACCGAGG TGGTGGTCAAA
27	抗體株14-1VL	MDTRAPTQLLGLLLLWLPDARCALVMTQTPSPVSAAVGGT VTISCQASQSVYNNDYLSWYQQKPGQPPKLLIYYASTLASG VSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAAAYYCAGVKGYSND NNGFGGGTEVVVK
28	抗體株14-1LC	MDTRAPTQLLGLLLLWLPDARCALVMTQTPSPVSAAVGGT VTISCQASQSVYNNDYLSWYQQKPGQPPKLLIYYASTLASG VSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAAAYYCAGVKGYSND NNGFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVC VANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNL SSTLTLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC
29	抗體株 14-1 VL CDR1	QASQSVYNNDYLS
30	抗體株14-1 VL CDR2	YASTLAS
31	抗體株 14-1 VL CDR3	AGVKGYSNDNNG
32	抗體株14-7 VH	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTG CTCAAAGGTGTCCAATGTCAGTCGCTGGAGGAGTCCGGG GGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCACC TGCAAAGCCTCTGGATTCGACTTCAGTATCAACTACTAC ATGTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGTTGGAG TGGATCGCATGCATTTATACTGGTGATGATGACACTTTCT ACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGGTTCACCATCTCCAAAA CCTCGTCGACCACGGTGACTCTACAACTGAACAGTCTGA CAGCCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTGTGAGAGGTC TATATAGTGGTAGTATTAATAACCTGTGGGGCCCAGGCA CCCTGGTCACCGTCTCCTCA
33	抗體株14-7 VH	METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGGLVKPGASLTLTC KASGFDFSINYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYTGDDDTFYA SWAKGRFTISKTSSTTVTLQLNSLTAADTATYFCVRGLYSG SINNLWGPGTLVTVSS
34	抗體株14-7 HC	METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGGLVKPGASLTLTC KASGFDFSINYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYTGDDDTFYA SWAKGRFTISKTSSTTVTLQLNSLTAADTATYFCVRGLYSG SINNLWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTLG CLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSS

SEQ ID NO	說明	序列
		VVSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPP ELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQ FTWYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLR GKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPRE ELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAV LDSDGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYT QKSISRSPGK
23	抗體株14-7 VH CDR1	GFDFSINY
24	抗體株14-7 VH CDR2	YTGDD
25	抗體株14-7 VH CDR3	GLYSGSINNL
35	抗體株14-7 VL	ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG CTGCTCTGGCTCCCAGATGCCAGATGTGCGCTTGTGATG ACCCAGACTCCATCCCCTGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGC ACAGTCACCATCAGTTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTAT AACAACGACTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGG CAGCCTCCCAAACTCCTGATCTATTATGCATCCACTCTGG CATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTG GGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTG ACGATGCTGCCGCTTACTATTGTGCAGGCGTTAAAGGTT ATAGTAATGATAATAATGGTTTCGGCGGAGGGACCGAGG TGGTGGTCAAA
36	抗體株14-7 VL	MDTRAPTQLLGLLLLWLPDARCALVMTQTPSPVSAAVGGT VTISCQASQSVYNNDYLSWYQQKPGQPPKLLIYYASTLASG VSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAAAYYCAGVKGYSND NNGFGGGTEVVVK
37	抗體株 14-7 LC	MDTRAPTQLLGLLLLWLPDARCALVMTQTPSPVSAAVGGT VTISCQASQSVYNNDYLSWYQQKPGQPPKLLIYYASTLASG VSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAAAYYCAGVKGYSND NNGFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVC VANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNL SSTLTLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC
29	抗體株14-7 VL CDR1	QASQSVYNNDYLS
30	抗體株14-7 VL CDR2	YASTLAS
31	抗體株14-7 VL CDR3	AGVKGYSNDNNG
38	抗體株15 VH	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTG CTCAAAGGGGTCCAGTGTCAGTCGTTGGAGGAGTCCGGG GGAGACCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCACC TGCACAGCCTCTGGATTCTCCTTCACGAGCAACTACTAC ATGTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGA GTGGGTCGCGTGCATTTTTCTTGGTAGTAGTGGTAACACT GTCTACGCGAACTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCC AAAACCTCGTCGACCACGGTGACTCTGCAAATGACCAGT CTGACAGTCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCGAGA GACTATGTTAATGGTTATGACTACTTTAACTTGTGGGGCC CAGGCACCTTGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO	說明	序列
39	抗體株15 VH	METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGDLVKPGASLTLTC TASGFSFTSNYYMCWVRQAPGKGLEWVACIFLGSSGNTVY ANWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTVADTATYFCARDYV NGYDYFNLWGPGTLVTVSS
40	抗體株15 HC	METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGDLVKPGASLTLTC TASGFSFTSNYYMCWVRQAPGKGLEWVACIFLGSSGNTVY ANWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTVADTATYFCARDYV NGYDYFNLWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSST VTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGL YSLSSVVSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKP TCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQD DPEVQFTWYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQ DWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTM GPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYK TTPAVLDSDGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEAL HNHYTQKSISRSPGK
41	抗體株15 VH CDR1	GFSFTSNY
42	抗體株15 VH CDR2	FLGSSG
43	抗體株15 VH CDR3	DYVNGYDYFNL
44	抗體株15 VL	ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG CTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCACATTTGCCCAAGTGCTG ACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCGGCTGTTGGAGGC ACAGTCACCATCAATTGCCAGTCCAGTCAGAGTGTTTAT AATAAGAACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCA GCCTCCCAAAGGCCTGATCTATTCTACATCGACTCTAGAT TCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGG ACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGAC GATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTA GTAGTGCTGATTGTAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGG TGGTGGTCAAA
45	抗體株15 VL	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTASPVSAAVGGT VTINCQSSQSVYNKNLAWYQQKPGQPPKGLIYSTSTLDSGV PSRFSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSSADC NAFGGGTEVVVK
46	抗體株15 LC	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTASPVSAAVGGT VTINCQSSQSVYNKNLAWYQQKPGQPPKGLIYSTSTLDSGV PSRFSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSSADC NAFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCV ANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLS STLTLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC
47	抗體株15 VL CDR1	QSSQSVYNKNLA
48	抗體株15 VL CDR2	STSTLDS
49	抗體株15 VL CDR3	LGSYDCSSADCNA
50	抗體株17 VH	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTG CTCAAAGGTGTCCAATGTCAGTCGCTGGAGGAGTCCGGG GGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCACC TGCACAGCCTCTGGATTCTCCTTCAGTGACAGTTGGTACT TGTGTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGATCGCATGCATTTATACTGGTGATGGTGACACTTATT ACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAGA CCTCGTCGACCACAGTGACTCTACAAATGACCAGTCTGA

SEQ ID NO	說明	序列
		CAGCCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCGAGGGGTG CCCAATTTTACTTGTGGGGCCAAGGCACCCTGGTCACCG TCTCCTCA
51	抗體株17 VH	METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGGLVKPGASLTLTC TASGFSFSDSWYLCWVRQAPGKGLEWIACIYTGDGDTYYA TWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGAQFY LWGQGTLVTVSS
52	抗體株17 HC	METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGGLVKPGASLTLTC TASGFSFSDSWYLCWVRQAPGKGLEWIACIYTGDGDTYYA TWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGAQFY LWGQGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTLGCLV KGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVS VTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELL GGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFT WYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGK EFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELS SRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDS DGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKS ISRSPGK
53	抗體株17 VH CDR1	GFSFSDSW
54	抗體株17 VH CDR2	YTGDG
55	抗體株17 VH CDR3	GAQFYL
56	抗體株17 VL	ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG CTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCACATTTGCCCAGGTGCTG ACCCAGACTCCATCCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGC ACAGTCACCATCAATTGCCAGTCCAGTCAGAGTGTTTAT GCCAACACCTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGG CAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTGCATCCAGTCTG GCATCTGGGGTCCCACCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCT GGGACACAGTTCGCTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGT GACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGATATAGT TGTGGTCTTGCTGATTGTGCTGCTTTCGGCGGAGGGACC GAGGTGGTGGTCAAA
57	抗體株17 VL	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTPSSVSAAVGGT VTINCQSSQSVYANTYLSWYQQKPGQPPKQLIYSASSLASG VPPRFKGSGSGTQFALTISDVQCDDAATYYCLGRYSCGLAD CAAFGGGTEVVVK
58	抗體株17 LC	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTPSSVSAAVGGT VTINCQSSQSVYANTYLSWYQQKPGQPPKQLIYSASSLASG VPPRFKGSGSGTQFALTISDVQCDDAATYYCLGRYSCGLAD CAAFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCV ANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLS STLTLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC
59	抗體株17 VL CDR1	QSSQSVYANTYLS
60	抗體株17 VL CDR2	SASSLAS
61	抗體株17 VL CDR3	LGRYSCGLADCAA
11	7 VL CDR1 Kabat	QASESVYNSDWLA
12	7 VL CDR2 Kabat	AASTLAS
13	7 VL CDR3 Kabat	AGYKSSSTDGIA
11	13 VL CDR1 Kabat	QASESVYNSDWLA

SEQ ID NO	說明	序列
12	13 VL CDR2 Kabat	AASTLAS
13	13 VL CDR3 Kabat	AGYKSSSTDGIA
29	14-1 VL CDR1 Kabat	QASQSVYNNDYLS
30	14-1 VL CDR2 Kabat	YASTLAS
31	14-1 VL CDR3 Kabat	AGVKGYSNDNNG
29	14-7 VL CDR1 Kabat	QASQSVYNNDYLS
30	14-7 VL CDR2 Kabat	YASTLAS
31	14-7 VL CDR3 Kabat	AGVKGYSNDNNG
47	15 VL CDR1 Kabat	QSSQSVYNKNLA
48	15 VL CDR2 Kabat	STSTLDS
49	15 VL CDR3 Kabat	LGSYDCSSADCNA
59	17 VL CDR1 Kabat	QSSQSVYANTYLS
60	17 VL CDR2 Kabat	SASSLAS
61	17 VL CDR3 Kabat	LGRYSCGLADCAA
62	7 VH CDR1 Kabat	NNGIC
63	7 VH CDR2 Kabat	CLYVGSSDTTYYASWAK
7	7 VH CDR3 Kabat	NLGL
62	13VH CDR1 Kabat	NNGIC
63	13 VH CDR2 Kabat	CLYVGSSDTTYYASWAK
7	13 VH CDR3 Kabat	NLGL
64	14-1 VH CDR1 Kabat	INYYMC
65	14-1 VH CDR2 Kabat	CIYTGDDDTFYASWAK
25	14-1 VH CDR3 Kabat	GLYSGSINNL
64	14-7 VH CDR1 Kabat	INYYMC
65	14-7 VH CDR2 Kabat	CIYTGDDDTFYASWAK
25	14-7 VH CDR3 Kabat	GLYSGSINNL
66	15 VH CDR1 Kabat	SNYYMC
67	15 VH CDR2 Kabat	CIFLGSSGNTVYANWAK
43	15 VH CDR3 Kabat	DYVNGYDYFNL
68	17 VH CDR1 Kabat	DSWYLC
69	17 VH CDR2 Kabat	CIYTGDGDTYYATWAK
55	17 VH CDR3 Kabat	GAQFYL
11	7 VL CDR1 Chothia	QASESVYNSDWLA
12	7 VL CDR2 Chothia	AASTLAS
13	7 VL CDR3 Chothia	AGYKSSSTDGIA
11	13 VL CDR1 Chothia	QASESVYNSDWLA
12	13 VL CDR2	AASTLAS

SEQ ID NO	說明	序列
	Chothia	
13	13 VL CDR3 Chothia	AGYKSSSTDGIA
29	14-1 VL CDR1 Chothia	QASQSVYNNDYLS
30	14-1 VL CDR2 Chothia	YASTLAS
31	14-1 VL CDR3 Chothia	AGVKGYSNDNNG
29	14-7 VL CDR1 Chothia	QASQSVYNNDYLS
30	14-7 VL CDR2 Chothia	YASTLAS
31	14-7 VL CDR3 Chothia	AGVKGYSNDNNG
47	15 VL CDR1 Chothia	QSSQSVYNKNLA
48	15 VL CDR2 Chothia	STSTLDS
49	15 VL CDR3 Chothia	LGSYDCSSADCNA
59	17 VL CDR1 Chothia	QSSQSVYANTYLS
60	17 VL CDR2 Chothia	SASSLAS
61	17 VL CDR3 Chothia	LGRYSCGLADCAA
5	7 VH CDR1 Chothia	GFSFSNN
6	7 VH CDR2 Chothia	YVGSSD
7	7 VH CDR3 Chothia	NLGL
5	13VH CDR1 Chothia	GFSFSNN
6	13 VH CDR2 Chothia	YVGSSD
7	13 VH CDR3 Chothia	NLGL
23	14-1 VH CDR1 Chothia	GFDFSINY
24	14-1 VH CDR2 Chothia	YTGDD
25	14-1 VH CDR3 Chothia	GLYSGSINNL
23	14-7 VH CDR1 Chothia	GFDFSINY
24	14-7 VH CDR2 Chothia	YTGDD
25	14-7 VH CDR3 Chothia	GLYSGSINNL
41	15 VH CDR1 Chothia	GFSFTSNY

SEQ ID NO	說明	序列
42	15 VH CDR2 Chothia	FLGSSG
43	15 VH CDR3 Chothia	DYVNGYDYFNL
53	17 VH CDR1 Chothia	GFSFSDSW
54	17 VH CDR2 Chothia	YTGDG
55	17 VH CDR3 Chothia	GAQFYL
11	7 VL CDR1 IMGT	QASESVYNSDWLA
12	7 VL CDR2 IMGT	AASTLAS
13	7 VL CDR3 IMGT	AGYKSSSTDGIA
11	13 VL CDR1 IMGT	QASESVYNSDWLA
12	13 VL CDR2 IMGT	AASTLAS
13	13 VL CDR3 IMGT	AGYKSSSTDGIA
29	14-1 VL CDR1 IMGT	QASQSVYNNDYLS
30	14-1 VL CDR2 IMGT	YASTLAS
31	14-1 VL CDR3 IMGT	AGVKGYSNDNNG
29	14-7 VL CDR1 IMGT	QASQSVYNNDYLS
30	14-7 VL CDR2 IMGT	YASTLAS
31	14-7 VL CDR3 IMGT	AGVKGYSNDNNG
47	15 VL CDR1 IMGT	QSSQSVYNKNLA
48	15 VL CDR2 IMGT	STSTLDS
49	15 VL CDR3 IMGT	LGSYDCSSADCNA
59	17 VL CDR1 IMGT	QSSQSVYANTYLS
60	17 VL CDR2 IMGT	SASSLAS
61	17 VL CDR3 IMGT	LGRYSCGLADCAA
70	7 VH CDR 1 IMGT	GFSFSNNGIC
63	7 VH CDR 2 IMGT	CLYVGSSDTTYYASWAK
7	7 VH CDR 3 IMGT	NLGL
70	13 VH CDR 1 IMGT	GFSFSNNGIC
63	13 VH CDR 2 IMGT	CLYVGSSDTTYYASWAK
7	13 VH CDR 3 IMGT	NLGL
71	14-1 VH CDR 1 IMGT	GFDFSINYYMC
65	14-1 VH CDR 2 IMGT	CIYTGDDDTFYASWAK
25	14-1 VH CDR 3 IMGT	GLYSGSINNL
71	14-7 VH CDR 1 IMGT	GFDFSINYYMC
65	14-7 VH CDR 2 IMGT	CIYTGDDDTFYASWAK

SEQ ID NO	說明	序列
25	14-7 VH CDR 3 IMGT	GLYSGSINNL
72	15 VH CDR 1 IMGT	GFSFTSNYYMC
67	15 VH CDR 2 IMGT	CIFLGSSGNTVYANWAK
43	15 VH CDR 3 IMGT	DYVNGYDYFNL
73	17 VH CDR 1 IMGT	GFSFSDSWYLC
69	17 VH CDR 2 IMGT	CIYTGDGDTYYATWAK
55	17 VH CDR 3 IMGT	GAQFYL
74	人化 FMC 63 VL CDR1	RASQDISKYLN
75	人化 FMC 63 VL CDR2	HTSRLHS
76	人化 FMC 63 VL CDR3	QQGNTLPYT
77	人化 FMC 63 VH CDR1 Clothia	GVSLPDY
78	人化 FMC 63 VH CDR2 Clothia	WGSET
79	人化 FMC 63 VH CDR3	HYYYGGSYAMDY
80	人化 FMC 63 VH CDR1 Kabat	DYGVS
81	人化 FMC 63 VH CDR2 Kabat/IMGT	VIWGSETTYYNSALKS
82	人化 FMC 63 VH CDR1 IMGT	GVSLPDYGVS

以引用方式併入

【0396】在此說明書中所提及之所有出版物、專利及專利申請案係以引用方式併入本文中，其程度如同個別出版物、專利或專利申請案各自被具體且單獨地指明以引用方式併入。然而，本發明之參考文獻的引用不應被解釋為承認該參考文獻為本發明之先前技術。任何以引用方式被併入之參考文獻中所提供之任何定義或用語與本文所提供之用語和討論不同時，以本發明之用語和定義為準。

【0397】前述發明說明被認為足以使熟悉本領域者能夠實施本發明。上述說明和下列實施例詳細描述了本發明的某些較佳實施態樣並描述了本案發明人所設想的最佳模式。然而，應該理解的是，無論本文中上述者呈現得再詳細，本發明可以用許多方式實施，並且本發明應該根據所附申請專利範圍及其任何等效物來解釋。

實施例

【0398】本發明藉由下列實施例進一步說明，其不應被解釋為進一步限制。本申請案全文中所引用之所有參考文獻的內容以引用方式明確地併入本文。

實施例1

產生及篩選抗原結合分子類

【0399】單株抗體係使用抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)(經共軛至Fc作為免疫原)透過將兔子免疫化而產生。力價係使用Fc作為篩選(Fc as a screen)、經由篩選多株血清而判定。使用CAR T細胞經由流動式細胞測量術檢定來進行二次篩選。一旦達成力價，則犧牲經免疫化之兔子，且使用標準融合瘤產生及次選殖技術衍生單株。最後融合瘤次選殖株的最後篩選係分別經由多回增殖CAR T細胞或衍生自CAR T細胞經固定之細胞片狀沉澱物的流動式細胞測量術及免疫組織化學(IHC)來達成。最後二個經選擇之次選殖株之序列係藉由標準桑格定序(Sanger

sequencing)該等融合瘤次選殖株來判定。

【0400】PBMC係自健康的捐贈者leukopak(Hemacare™)、依製造商使用說明使用Ficoll-Paque密度離心而單離。PBMC係使用在R10培養基+IL-2(300IU/ml, Proleukin®, Prometheus® Therapeutics and Diagnostics)中之OKT3 (50 ng/ml, Miltenyi BiotecTM)來刺激。刺激的二天後，呈現抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之CAR T細胞係透過病毒轉導這些經活化之初級人T細胞而產生。轉導係使用反轉錄病毒(pMSVG載體)或慢病毒(lentivirus)(pGAR載體)、取決於用於篩選的CAR來源來進行。確認CAR構築體表現及病毒轉導效率係使用經共軛至藻紅素(PE)或螢光異硫氰酸鹽(FITC)之蛋白質L來判定。結果顯示於圖1A-1B及2中。

實施例2

免疫組織化學(IHC)研究

【0401】數種本發明所揭示之抗體(抗體株7及13)係就它們的發揮作為免疫組織化學(IHC)研究之試劑的能力來評估。為創建用於IHC染色之經固定之細胞片狀沉澱物，將~2e6呈現抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)之CAR T細胞離心並以PBS洗滌。將該細胞再懸浮於含有0.45%聚甲醛(PFA)之PBS中並於震盪平台上在室溫下培育2小時。在培育後，再以PBS洗滌細胞並再懸浮於具有5% BSA之PBS中。IHC實驗結果示於圖3及4A(圖4B顯示對照

組)，且證實至少抗體株7及13可用於這些類型實驗。

實施例3

使用抗FMC63抗體以供純化巨分子及細胞

【0402】本發明所揭示之該等抗原結合分子類係抗遺傳性型抗原結合分子類，且辨識在抗CD19 scFv FMC63上之表位。本發明所揭示之抗原結合分子(例如抗體)可因此用於純化展現本發明所揭示之該等抗原結合分子類所辨識之表位之分子，諸如抗CD19 scFv FMC63、巨分子、聚合物、細胞、原料等等。

【0403】在一些實施態樣中，本發明所揭示之抗原結合分子(例如抗體株7、13、14-1、14-7、15和/或17及彼等之片段)可經接附至珠粒、接附至或相聯至樹脂，其可置於管柱或其他結構中。包含有抗CD19 scFv FMC63之所有或片段的分子之樣本可接著與已接附抗原結合分子或已相聯抗原結合分子的珠粒、樹脂等等接觸。此允許締合或結合複體(包含該抗原結合分子及包含有抗CD19 scFv FMC63之所有或片段的分子)形成。該珠粒或樹脂可接著以適合的溶液(諸如具有經選擇之pH以維持包含抗CD19 scFv FMC63之所有或片段的分子之安定性的緩衝溶液(例如PBS、HEPES、MOPS、Tris、Tricine等等))來洗滌。該洗滌可移除樣本的非所欲及未結合之組分。洗滌步驟之後，包含抗CD19 scFv FMC63之所有或片段的分子可接著使用沖提緩衝液及經選擇以擾亂任何所形成之締合或結合複體

之條件而自該等抗原結合分子類沖提。適合的沖提緩衝液的實例包括0.1M甘胺酸pH 2.5-3.0及0.1M檸檬酸pH 3.0、50-100mM三乙胺或三乙醇胺pH 11.5、3.5-4.0M氯化鎂pH 7.0於10mM Tris、2-6M胍、及2-8M尿素中。沖提步驟期間，收集包含抗CD19 scFv FMC63之所有或片段的分子的經沖提之所關注之分子、細胞及部份，且純度可之後藉由將樣本在SDS聚丙醯胺凝膠上跑電泳來檢查

【0404】在另一實施態樣中，抗原結合分子可與任何展現該表位之分子實體置於溶液中，且自經混合之分子、細胞等等族群來純化，並藉由以300-500 mM氯化鈉洗滌或降低pH和以1 M Tris(針對蛋白質)中和(或磷酸鹽緩衝液)自珠粒、樹脂或游離抗體沖提。之後，可用透析回到原料至所欲之緩衝液條件。

【0405】在一些實施態樣中，展現包含抗CD19 scFv FMC63之所有或片段的分子之細胞可用已與本發明所揭示之抗原結合分子相聯的磁珠(例如DYNABEADS)培育。較佳的是，培育係在允許形成結合複體/締合(諸如在生理條件下)條件、在存有經選擇以供此目的培養基(例如RPMI-1640)中來進行。

【0406】與珠粒(其會呈現包含抗CD19 scFv FMC63之分子)結合之細胞係接著與未展現包含抗CD19 scFv FMC63或其片段的分子之細胞分離。在一些實施態樣中，該等珠粒可用培養基(諸如補充以10% FBS之RPMI-1640)、在磁鐵存在下來洗滌。

【0407】經選擇之細胞、即呈現包含抗CD19 scFv FMC63的分子者，可接著與該等珠粒分離。首先，經選擇之細胞係於培養基中生長(grow out)。使細胞生長(grow out)48小時後，該等磁珠可與溶液中之細胞分離並丟棄，留下表現所欲之分子的細胞之純族群。

【0408】在一替代實施態樣中，珠粒不是磁性的，並且在此實施態樣中，上述步驟也可以遵循並修改以維持細胞完整性，但也允許珠粒結合細胞與非珠粒結合細胞分離。

【0409】在另一替代實施態樣中，本發明所揭示之抗原結合分子(例如抗體株7、13、14-1、14-7、15和/或17及彼等之片段)可經His標籤化(即以短的聚組胺酸序列來標示)，由此使用包含過渡金屬離子(諸如Ni2+、Co2+、Cu2+或Zn2+，其經固定在樹脂上)之樹脂來促進細胞分離。該等抗原結合分子類可接著與已知或疑有表現SEQ ID NO: 1的細胞在適用於形成包含該等細胞及該等抗原結合分子類複體的條件下來培育。在培育之後，使細胞與樹脂接觸，樹脂可以置於固體結構(諸如孔盤、管柱或其他結構)中。該等抗原結合分子-細胞複體可接著藉由以咪唑洗滌而相互分離，咪唑的濃度將高於用於形成結合複體的任何溶液中包含的任何咪唑的濃度。經沖提之細胞可接著稍微離心(spin down)、於RPMI或其他適合的培養基中洗滌，並接著再懸浮於培養基中。

實施例4

使用抗FMC63抗原結合分子活化CAR-陽性T細胞

【0410】亦提供活化CAR陽性T細胞之方法，所述CAR陽性T細胞呈現包含由特定抗原結合分子所辨識之特定獨特位之分子(例如，辨識抗CD19 scFv FMC63(SEQ ID NO: 1)的抗原結合分子，諸如本發明所揭示者：抗體株7、13、14-1、14-7、15和/或17、及彼等之片段)。此方法可針對任何辨識T細胞上所關注之含有活化域的蛋白質(諸如包含SEQ ID NO: 1之嵌合抗原受體(CAR))之抗體而修改。可使用平板結合、珠粒結合、聚合物結合或其他形式的抗體(其特異性辨識CAR或類似分子的胞外組分)來達成活化。

【0411】在一些實施態樣中，該方法可以如下進行：首先，將12孔經組織培養物處理之平板以1 mL的1.5 μg/mL本發明所揭示之抗CD19 scFv FMC63抗原結合分子溶液(其已稀釋於HBSS或其他磷酸鹽緩衝液中)來塗覆，並置於37℃的培養箱中2小時。接下來，用HBSS或具有合適的pH、離子強度等等的其他磷酸鹽緩衝液洗滌平板三次。繼續，將在OpTmizer培養基(含補充物)或RPMI-1640培養基與10% FBS中的CAR陽性T細胞將加入經組織培養物處理的平板中。接著將細胞在37℃、5% CO2下生長。

【0412】2天後，檢查細胞以判定CAR-陽性細胞百分比的任何增加。可藉由鑑定任何細胞表面和/或內部標誌(包括但不限於4-1BB、CD69、CD25、PD-1和Ki-67)的表

現的任何增加來進行該判定。

實施例5

自兔子抗體產生人化序列

【0413】Chemical Computing Group (CCG)開發的Molecular Operating Environment (MOE)軟體可用於產生兔子抗體株7、13、14-1、14-7、15和17、及各種輕鍊和重鏈(VL和VH)對之間的排列比對，分別來自二個資料庫：

(1) Abysis人資料庫：約2000筆來自IMGT-LigM DB的已知人VL/VH序列對的資料庫；及

(2) 人種系(germline)資料庫：種系序列之資料庫。

【0414】人化模式顯示具有最少間隔(gap)的最佳序列比對(對VL和VH域兩者最高一致性)。自各個人資料庫的最高100個抗體對可匯出並用kClust聚類(cluster) (Hauser, Mayer, & Soding, (2013) BMC Bioinformatics, 248)。可構築針對各抗體的VL及VH序列表(在90%及95%下聚類的分別來自二個資料庫之序列)。

實施例6

人化FMC63 CAR之流動式細胞測量術

【0415】人化FMC63 CAR構築體係經鑑定包含保守性CDR環圈(例如，包含表C和D中定義的胺基酸序列)且結合至CD19。表現FMC63及人化FMC63 CAR構築體之Jurkat

細胞係藉由用攜帶個別構築體的慢病毒(lentivirus)轉導而產生。單株抗體14-1、15及17-4係以表現CAR的Jurkat細胞來培育且以經FITC共軛之山羊抗兔子F(ab')2抗體(Thermo)來偵測。使用針對所有這些CAR構築體反應的抗體作為對照以驗證表現(圖22，最上面一行)。抗體株15結合至FMC63及所有人化構築體的CDR環圈中之通常胺基酸(common amino acid)，但針對假擬誘導Jurkat細胞未顯示反應。(圖22)。僅二級抗體及假擬誘導之對照組顯示無背景染色。

表C. 人化FMC63抗CD19的輕鏈變異(VL)區之CDR

序列 (慣例)	CDR1	SEQ ID NO	CDR2	SEQ ID NO	CDR3	SEQ ID NO
VL (Chothia)	RASQDISKYLN	74	HTSRLHS	75	QQGNTLPYT	76
VL (Kabat)	RASQDISKYLN	74	HTSRLHS	75	QQGNTLPYT	76
VL (IMGT)	RASQDISKYLN	74	HTSRLHS	75	QQGNTLPYT	76

表D. 人化FMC63抗CD19的重鏈變異(VH)區之CDR

序列 (慣例)	CDR1	SEQ ID NO	CDR2	SEQ ID NO	CDR3	SEQ ID NO
VH (Chothia)	GVSLPDY	77	WGSET	78	HYYYGGSYAMDY	79
VH (Kabat)	DYGVS	80	VIWGSETTYYNSALKS	81	HYYYGGSYAMDY	79
VH (IMGT)	GVSLPDYGVS	82	VIWGSETTYYNSALKS	81	HYYYGGSYAMDY	79

【序列表】

<110> 美商凱特製藥公司(KITE PHARMA, INC.)

<120> 抗原結合分子類和使用彼等之方法

<140>
<141> 2017-09-27

<150> US 62/401,007
<151> 2016-09-28

<160> 82

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1
<211> 267
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 1

```
Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro
1               5                  10                  15

Ala Phe Leu Leu Ile Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser
            20                  25                  30

Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser
        35                  40                  45

Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly
    50                  55                  60

Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val
65                  70                  75                  80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr
                85                  90                  95

Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln
            100                 105                 110

Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
        115                 120                 125

Thr Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser
    130                 135                 140

Thr Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala
145                 150                 155                 160

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu
                165                 170                 175
```

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

Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser
195 200 205

Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln
210 215 220

Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr
225 230 235 240

Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr
245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
260 265

<210> 2
<211> 396
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多核苷酸

<400> 2
atggagactg ggctgcgctg gcttctcctg gtcgctgtgc tcaaaggtgt ccagtgtcag 60

gagcagctgg aggagtccgg gggagacctg gtcaagcctg gaggaaccct gacagtcacc 120

tgcaaagcct ctggattctc cttcagtaac aatggaattt gctgggtccg ccaggctcca 180

gggaaggggc tggagtggat cggatgtctt tatgttggta gtagtgatac cacttactac 240

gcgagctggg cgaaaggccg attcaccatc tccaaaagct cgtcgaccac ggtgactcta 300

caaatgacca gtctgacagt cgcggacacg gccacctatt tctgtacgat aaatctcggc 360

ttgtggggcc ccggcaccct ggtcaccgtc tcctca 396

<210> 3
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 3

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Glu Gln Leu Glu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Gly Thr Leu Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe
35 40 45

Ser Asn Asn Gly Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Cys Leu Tyr Val Gly Ser Ser Asp Thr Thr Tyr Tyr
65 70 75 80

Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Ser Ser Ser Thr
85 90 95

Thr Val Thr Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Phe Cys Thr Ile Asn Leu Gly Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
115 120 125

Thr Val Ser Ser
130

<210> 4
<211> 455
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 4

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Glu Gln Leu Glu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Gly Thr Leu Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe
35 40 45

Ser Asn Asn Gly Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Cys Leu Tyr Val Gly Ser Ser Asp Thr Thr Tyr Tyr
65 70 75 80

Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Ser Ser Ser Thr
85 90 95

Thr Val Thr Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Phe Cys Thr Ile Asn Leu Gly Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
115 120 125

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

Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu
145 150 155 160

Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly
165 170 175

Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln Ser Ser
180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser Ser Gln
195 200 205

Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val Asp
210 215 220

Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Cys Pro Pro Pro
225 230 235 240

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys
245 250 255

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

Asp Val Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Thr Trp Tyr Ile Asn
275 280 285

Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu Arg Glu Gln Gln Phe
290 295 300

Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Ala His Gln Asp
305 310 315 320

Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Lys Ala Leu
325 330 335

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

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

Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380

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

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

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

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

Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 5

Gly Phe Ser Phe Ser Asn Asn
1 5

<210> 6
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 6

Tyr Val Gly Ser Ser Asp
1 5

<210> 7
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 7

Asn Leu Gly Leu
1

<210> 8
<211> 402
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多核苷酸

<400> 8
atggacacga gggcccccac tcagctgctg gggctcctgc tgctctggct cccaggtgcc 60

acatttgcca tcgtggtgac ccagactcca tcttccaagt ctgtccctgt gggaggcaca 120

gtcaccatca attgccaggc cagtgagagt gtttataata gcgactggtt agcctggtat 180

cagcagaaac cagggcagcc tcccaagcaa ctgatctatg ctgcatccac tctggcatct 240

ggggtcccat cgcgcttcaa aggcagtgga tctgggacac agttcactct caccatcagc 300

gatgtggtgt gtgacgatgc tgccacttat tattgtgcag gatataaaag tagtagtact 360

gatgggattg ctttcggcgg agggaccgag gtggtggtca aa 402

<210> 9
<211> 134
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 9

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Thr Phe Ala Ile Val Val Thr Gln Thr Pro Ser Ser
20 25 30

Lys Ser Val Pro Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser
35 40 45

Glu Ser Val Tyr Asn Ser Asp Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

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

Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr
85 90 95

Leu Thr Ile Ser Asp Val Val Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
100 105 110

Ala Gly Tyr Lys Ser Ser Ser Thr Asp Gly Ile Ala Phe Gly Gly Gly
115 120 125

Thr Glu Val Val Val Lys
130

<210> 10

<211> 238
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 10

```
Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1               5                  10                  15

Leu Pro Gly Ala Thr Phe Ala Ile Val Val Thr Gln Thr Pro Ser Ser
            20                  25                  30

Lys Ser Val Pro Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser
        35                  40                  45

Glu Ser Val Tyr Asn Ser Asp Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
    50                  55                  60

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

Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr
                85                  90                  95

Leu Thr Ile Ser Asp Val Val Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
            100                 105                 110

Ala Gly Tyr Lys Ser Ser Ser Thr Asp Gly Ile Ala Phe Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Thr Glu Val Val Val Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile
    130                 135                 140

Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val
145                 150                 155                 160

Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val
                165                 170                 175

Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln
            180                 185                 190

Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr
        195                 200                 205

Ser Thr Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln
    210                 215                 220

Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys
225                 230                 235
```

<210> 11
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 11

Gln Ala Ser Glu Ser Val Tyr Asn Ser Asp Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 12

Ala Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 13
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 13

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

<210> 14
<211> 396
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多核苷酸

<400> 14
atggagactg ggctgcgctg gcttctcctg gtcgctgtgc tcaaaggtgt ccagtgtcag 60

gagcagctgg aggagtccgg gggagacctg gtcaagcctg gaggaaccct gacagtcacc 120

tgcaaagcct ctggattctc cttcagtaac aatggaattt gctgggtccg ccaggctcca 180

gggaaggggc tggagtggat cggatgtctt tatgttggta gtagtgatac cacttactac 240

gcgagctggg cgaaaggccg attcaccatc tccaaaagct cgtcgaccac ggtgactcta 300

caaatgacca gtctgacagt cgcggacacg gccacctatt tctgtacgat aaatctcggc 360

ttgtggggcc ccggcaccct ggtcaccgtc tcctca 396

<210> 15
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 15

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Glu Gln Leu Glu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Gly Thr Leu Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe
35 40 45

Ser Asn Asn Gly Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Cys Leu Tyr Val Gly Ser Ser Asp Thr Thr Tyr Tyr
65 70 75 80

Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Ser Ser Ser Thr
85 90 95

Thr Val Thr Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Phe Cys Thr Ile Asn Leu Gly Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
115 120 125

Thr Val Ser Ser
130

<210> 16
<211> 455
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 16

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Glu Gln Leu Glu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Gly Thr Leu Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe
35 40 45

Ser Asn Asn Gly Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Cys Leu Tyr Val Gly Ser Ser Asp Thr Thr Tyr Tyr
65 70 75 80

Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Ser Ser Ser Thr
85 90 95

Thr Val Thr Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Phe Cys Thr Ile Asn Leu Gly Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
115 120 125

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

Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu
145 150 155 160

Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly
165 170 175

Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln Ser Ser
180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser Ser Gln
195 200 205

Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val Asp
210 215 220

Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Cys Pro Pro Pro
225 230 235 240

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys
245 250 255

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

Asp Val Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Thr Trp Tyr Ile Asn
275 280 285

Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu Arg Glu Gln Gln Phe
290 295 300

Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Ala His Gln Asp

305 310 315 320

Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Lys Ala Leu
325 330 335

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

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

Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380

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

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

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

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

Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 17
<211> 401
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多核苷酸

<400> 17
atggacacga gggcccccac tcagctgctg gggctcctgc tgctctggct cccaggtgcc 60

acacttgcca tcgtggtgac ccagactcca tcttccaagt ctgtccctgt gggaggcaca 120

gtcaccatca ttgccaggc cagtgagagt gtttataata gcgactggtt agcctggtat 180

cagcagaaac cagggcagcc tcccaagcaa ctgatctatg ctgcatccac tctggcatct 240

ggggtcccat cgcgcttcaa aggcagtgga tctgggacac agttcactct caccatcagc 300

gatgtggtgt gtgacgatgc tgccacttat tattgtgcag gatataaaag tagtagtact 360

gatgggattg ctttcggcgg agggaccgag gtggtggtca a 401

<210> 18
<211> 134
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 18

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Thr Leu Ala Ile Val Val Thr Gln Thr Pro Ser Ser
20 25 30

Lys Ser Val Pro Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser
35 40 45

Glu Ser Val Tyr Asn Ser Asp Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

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

Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr
85 90 95

Leu Thr Ile Ser Asp Val Val Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
100 105 110

Ala Gly Tyr Lys Ser Ser Ser Thr Asp Gly Ile Ala Phe Gly Gly Gly
115 120 125

Thr Glu Val Val Val Lys
130

<210> 19
<211> 238
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 19

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Thr Leu Ala Ile Val Val Thr Gln Thr Pro Ser Ser
20 25 30

Lys Ser Val Pro Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser
35 40 45

Glu Ser Val Tyr Asn Ser Asp Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

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

Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr
85 90 95

Leu Thr Ile Ser Asp Val Val Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
100 105 110

Ala Gly Tyr Lys Ser Ser Ser Thr Asp Gly Ile Ala Phe Gly Gly Gly
115 120 125

Thr Glu Val Val Val Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile
130 135 140

Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val
145 150 155 160

Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val
165 170 175

Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln
180 185 190

Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr
195 200 205

Ser Thr Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln
210 215 220

Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys
225 230 235

<210> 20
<211> 414
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多核苷酸

<400> 20
atggagactg ggctgcgctg gcttctcctg gtcgctgtgc tcaaaggtgt ccagtgtcag 60

gagcagctgg aggagtccgg gggaggcctg gtcaagcctg gggcatccct gacactcacc 120

tgcaaagcct ctggattcga cttcagtatc aactactaca tgtgctgggt ccgccaggct 180

ccagggaagg ggttggagtg gatcgcatgc atttatactg gtgatgatga cactttctac 240

gcgagctggg cgaaaggccg gttcaccatc tccaaaacct cgtcgaccac ggtgactcta 300

caactgaaca gtctgacagc cgcggacacg gccacctatt tctgtgtgag aggtctatat 360

agtggtagta ttaataacct gtggggccca ggcaccctgg tcaccgtctc ctca 414

<210> 21
<211> 138
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 21

```
Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1               5                  10                  15

Val Gln Cys Gln Glu Gln Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
            20                  25                  30

Pro Gly Ala Ser Leu Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asp Phe
        35                  40                  45

Ser Ile Asn Tyr Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
    50                  55                  60

Leu Glu Trp Ile Ala Cys Ile Tyr Thr Gly Asp Asp Asp Thr Phe Tyr
65                  70                  75                  80

Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr
                85                  90                  95

Thr Val Thr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr
            100                 105                 110

Tyr Phe Cys Val Arg Gly Leu Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Asn Leu Trp
        115                 120                 125

Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
    130                 135
```

<210> 22
<211> 461
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 22

```
Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1               5                  10                  15

Val Gln Cys Gln Glu Gln Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
            20                  25                  30

Pro Gly Ala Ser Leu Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asp Phe
```

35 40 45

Ser Ile Asn Tyr Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Ile Ala Cys Ile Tyr Thr Gly Asp Asp Asp Thr Phe Tyr
65 70 75 80

Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr
85 90 95

Thr Val Thr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Phe Cys Val Arg Gly Leu Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Asn Leu Trp
115 120 125

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr
145 150 155 160

Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr
165 170 175

Val Thr Trp Asn Ser Gly Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro
180 185 190

Ser Val Arg Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser
195 200 205

Val Thr Ser Ser Ser Gln Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
210 215 220

Thr Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys
225 230 235 240

Pro Thr Cys Pro Pro Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile
245 250 255

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
260 265 270

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val Gln
275 280 285

Phe Thr Trp Tyr Ile Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro Pro
290 295 300

Leu Arg Glu Gln Gln Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu
305 310 315 320

Pro Ile Ala His Gln Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys
325 330 335

Val His Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
340 345 350

Ala Arg Gly Gln Pro Leu Glu Pro Lys Val Tyr Thr Met Gly Pro Pro
355 360 365

Arg Glu Glu Leu Ser Ser Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Asn
370 375 380

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Lys Asn Gly Lys
385 390 395 400

Ala Glu Asp Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Ala Val Leu Asp Ser Asp Gly
405 410 415

Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Pro Thr Ser Glu Trp Gln
420 425 430

Arg Gly Asp Val Phe Thr Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
435 440 445

His Tyr Thr Gln Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 23
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 23

Gly Phe Asp Phe Ser Ile Asn Tyr
1 5

<210> 24
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 24

Tyr Thr Gly Asp Asp
1 5

<210> 25
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 25

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

<210> 26
<211> 402
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多核苷酸

<400> 26
atggacacga gggcccccac tcagctgctg gggctcctgc tgctctggct cccagatgcc 60

agatgtgcgc ttgtgatgac ccagactcca tcccctgtgt ctgcagctgt gggaggcaca 120

gtcaccatca gttgccaggc cagtcagagt gtttataaca acgactactt atcctggtat 180

cagcagaaac cagggcagcc tcccaaactc ctgatctatt atgcatccac tctggcatct 240

ggggtctcat cgcggttcaa aggcagtgga tctgggacac agttcactct caccatcagc 300

gacgtgcagt gtgacgatgc tgccgcttac tattgtgcag gcgttaaagg ttatagtaat 360

gataataatg gtttcggcgg agggaccgag gtggtggtca aa 402

<210> 27
<211> 134
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 27

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Pro Asp Ala Arg Cys Ala Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Pro
20 25 30

Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Ser Cys Gln Ala Ser
35 40 45

Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asp Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

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

Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr
85 90 95

Leu Thr Ile Ser Asp Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys
100 105 110

Ala Gly Val Lys Gly Tyr Ser Asn Asp Asn Asn Gly Phe Gly Gly Gly
115 120 125

Thr Glu Val Val Val Lys
130

<210> 28
<211> 238
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 28

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Pro Asp Ala Arg Cys Ala Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Pro
20 25 30

Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Ser Cys Gln Ala Ser
35 40 45

Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asp Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

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

Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr
85 90 95

Leu Thr Ile Ser Asp Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys
100 105 110

Ala Gly Val Lys Gly Tyr Ser Asn Asp Asn Asn Gly Phe Gly Gly Gly
115 120 125

Thr Glu Val Val Val Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile
130 135 140

Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val
145 150 155 160

Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val
165 170 175

Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln
180 185 190

Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr
195 200 205

Ser Thr Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln
210 215 220

Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys
225 230 235

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

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 29

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

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 30

Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 31
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 31

Ala Gly Val Lys Gly Tyr Ser Asn Asp Asn Asn Gly
1 5 10

<210> 32
<211> 411
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多核苷酸

<400> 32
atggagactg ggctgcgctg gcttctcctg gtcgctgtgc tcaaaggtgt ccaatgtcag 60

tcgctggagg agtccggggg aggcctggtc aagcctgggg catccctgac actcacctgc 120

aaagcctctg gattcgactt cagtatcaac tactacatgt gctgggtccg ccaggctcca 180

gggaaggggt tggagtggat cgcatgcatt tatactggtg atgatgacac tttctacgcg 240

agctgggcga aaggccggtt caccatctcc aaaacctcgt cgaccacggt gactctacaa 300

ctgaacagtc tgacagccgc ggacacggcc acctatttct gtgtgagagg tctatatagt 360

ggtagtatta ataacctgtg gggcccaggc accctggtca ccgtctcctc a 411

<210> 33
<211> 137
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 33

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro
20 25 30

Gly Ala Ser Leu Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser
35 40 45

Ile Asn Tyr Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Ala Cys Ile Tyr Thr Gly Asp Asp Asp Thr Phe Tyr Ala
65 70 75 80

Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr
85 90 95

Val Thr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr
100 105 110

Phe Cys Val Arg Gly Leu Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Asn Leu Trp Gly
115 120 125

Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 34

<211> 460
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 34

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro
20 25 30

Gly Ala Ser Leu Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser
35 40 45

Ile Asn Tyr Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Ala Cys Ile Tyr Thr Gly Asp Asp Asp Thr Phe Tyr Ala
65 70 75 80

Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr
85 90 95

Val Thr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr
100 105 110

Phe Cys Val Arg Gly Leu Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Asn Leu Trp Gly
115 120 125

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val
145 150 155 160

Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Thr Trp Asn Ser Gly Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser
180 185 190

Val Arg Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val
195 200 205

Thr Ser Ser Ser Gln Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro
225 230 235 240

Thr Cys Pro Pro Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe
245 250 255

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

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
275 280 285

Thr Trp Tyr Ile Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu
290 295 300

Arg Glu Gln Gln Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro
305 310 315 320

Ile Ala His Gln Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val
325 330 335

His Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
340 345 350

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

Glu Glu Leu Ser Ser Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly
370 375 380

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

Glu Asp Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Ala Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
405 410 415

Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Pro Thr Ser Glu Trp Gln Arg
420 425 430

Gly Asp Val Phe Thr Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
435 440 445

Tyr Thr Gln Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 35
<211> 402
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多核苷酸

<400> 35

atggacacga gggcccccac tcagctgctg gggctcctgc tgctctggct cccagatgcc 60

agatgtgcgc ttgtgatgac ccagactcca tcccctgtgt ctgcagctgt gggaggcaca 120

gtcaccatca gttgccaggc cagtcagagt gtttataaca acgactactt atcctggtat 180

cagcagaaac cagggcagcc tcccaaactc ctgatctatt atgcatccac tctggcatct 240

ggggtctcat cgcggttcaa aggcagtgga tctgggacac agttcactct caccatcagc 300

gacgtgcagt gtgacgatgc tgccgcttac tattgtgcag gcgttaaagg ttatagtaat 360

gataataatg gtttcggcgg agggaccgag gtggtggtca aa 402

<210> 36
<211> 134
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 36

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Pro Asp Ala Arg Cys Ala Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Pro
20 25 30

Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Ser Cys Gln Ala Ser
35 40 45

Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asp Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

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

Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr
85 90 95

Leu Thr Ile Ser Asp Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys
100 105 110

Ala Gly Val Lys Gly Tyr Ser Asn Asp Asn Asn Gly Phe Gly Gly Gly
115 120 125

Thr Glu Val Val Val Lys
130

<210> 37
<211> 238
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 37

```
Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1               5                  10                  15

Leu Pro Asp Ala Arg Cys Ala Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Pro
            20                  25                  30

Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Ser Cys Gln Ala Ser
        35                  40                  45

Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asp Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
    50                  55                  60

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

Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr
                85                  90                  95

Leu Thr Ile Ser Asp Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys
            100                 105                 110

Ala Gly Val Lys Gly Tyr Ser Asn Asp Asn Asn Gly Phe Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Thr Glu Val Val Val Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile
    130                 135                 140

Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val
145                 150                 155                 160

Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val
                165                 170                 175

Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln
            180                 185                 190

Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr
        195                 200                 205

Ser Thr Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln
    210                 215                 220

Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys
225                 230                 235
```

<210> 38
<211> 417
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多核苷酸

<400> 38
atggagactg ggctgcgctg gcttctcctg gtcgctgtgc tcaaaggggt ccagtgtcag 60

tcgttggagg agtccggggg agacctggtc aagcctgggg catccctgac actcacctgc 120

acagcctctg gattctcctt cacgagcaac tactacatgt gctgggtccg ccaggctcca 180

gggaaggggc tggagtgggt cgcgtgcatt tttcttggta gtagtggtaa cactgtctac 240

gcgaactggg cgaaaggccg attcaccatc tccaaaacct cgtcgaccac ggtgactctg 300

caaatgacca gtctgacagt cgcggacacg gccacctatt tctgtgcgag agactatgtt 360

aatggttatg actactttaa cttgtggggc ccaggcacct tggtcaccgt ctcctca 417

<210> 39
<211> 139
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 39

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro
20 25 30

Gly Ala Ser Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Phe Thr
35 40 45

Ser Asn Tyr Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Cys Ile Phe Leu Gly Ser Ser Gly Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr
85 90 95

Thr Val Thr Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Tyr Val Asn Gly Tyr Asp Tyr Phe Asn Leu
115 120 125

Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 40
<211> 462
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 40

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro
20 25 30

Gly Ala Ser Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Phe Thr
35 40 45

Ser Asn Tyr Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Cys Ile Phe Leu Gly Ser Ser Gly Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr
85 90 95

Thr Val Thr Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Tyr Val Asn Gly Tyr Asp Tyr Phe Asn Leu
115 120 125

Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gln Pro Lys Ala
130 135 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser
145 150 155 160

Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val
165 170 175

Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe
180 185 190

Pro Ser Val Arg Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
195 200 205

Ser Val Thr Ser Ser Ser Gln Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro
210 215 220

Ala Thr Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser

225 230 235 240

Lys Pro Thr Cys Pro Pro Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
245 250 255

Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
260 265 270

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val
275 280 285

Gln Phe Thr Trp Tyr Ile Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro
290 295 300

Pro Leu Arg Glu Gln Gln Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr
305 310 315 320

Leu Pro Ile Ala His Gln Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys
325 330 335

Lys Val His Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
340 345 350

Lys Ala Arg Gly Gln Pro Leu Glu Pro Lys Val Tyr Thr Met Gly Pro
355 360 365

Pro Arg Glu Glu Leu Ser Ser Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile
370 375 380

Asn Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Lys Asn Gly
385 390 395 400

Lys Ala Glu Asp Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Ala Val Leu Asp Ser Asp
405 410 415

Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Pro Thr Ser Glu Trp
420 425 430

Gln Arg Gly Asp Val Phe Thr Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
435 440 445

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 41
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 41

Gly Phe Ser Phe Thr Ser Asn Tyr
1 5

<210> 42
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 42

Phe Leu Gly Ser Ser Gly
1 5

<210> 43
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 43

Asp Tyr Val Asn Gly Tyr Asp Tyr Phe Asn Leu
1 5 10

<210> 44
<211> 402
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多核苷酸

<400> 44
atggacacga gggcccccac tcagctgctg gggctcctgc tgctctggct cccaggtgcc 60

acatttgccc aagtgctgac ccagactgca tcccccgtgt ctgcggctgt tggaggcaca 120

gtcaccatca attgccagtc cagtcagagt gtttataata agaacttagc ctggtatcag 180

cagaaaccag ggcagcctcc caaaggcctg atctattcta catcgactct agattctggg 240

gtcccatcgc ggttcagcgg cagtggatct gggacacagt tcactctcac catcagcgac 300

gtgcagtgtg acgatgctgc cacttactac tgtctaggca gttatgattg tagtagtgct 360

gattgtaatg ctttcggcgg agggaccgag gtggtggtca aa 402

<210> 45
<211> 134
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 45

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Thr Phe Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Ala Ser Pro
20 25 30

Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser
35 40 45

Gln Ser Val Tyr Asn Lys Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
50 55 60

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

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

Thr Ile Ser Asp Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu
100 105 110

Gly Ser Tyr Asp Cys Ser Ser Ala Asp Cys Asn Ala Phe Gly Gly Gly
115 120 125

Thr Glu Val Val Val Lys
130

<210> 46
<211> 238
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 46

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Thr Phe Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Ala Ser Pro
20 25 30

Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser
35 40 45

Gln Ser Val Tyr Asn Lys Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
50 55 60

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

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

Thr Ile Ser Asp Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu
100 105 110

Gly Ser Tyr Asp Cys Ser Ser Ala Asp Cys Asn Ala Phe Gly Gly Gly
115 120 125

Thr Glu Val Val Val Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile
130 135 140

Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val
145 150 155 160

Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val
165 170 175

Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln
180 185 190

Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr
195 200 205

Ser Thr Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln
210 215 220

Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys
225 230 235

<210> 47
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 47

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

<210> 48
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 48

Ser Thr Ser Thr Leu Asp Ser
1 5

<210> 49
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 49

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

<210> 50
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多核苷酸

<400> 50
atggagactg ggctgcgctg gcttctcctg gtcgctgtgc tcaaaggtgt ccaatgtcag 60

tcgctggagg agtccggggg aggcctggtc aagcctgggg catccctgac actcacctgc 120

acagcctctg gattctcctt cagtgacagt tggtacttgt gttgggtccg ccaggctcca 180

gggaaggggc tggagtggat cgcatgcatt tatactggtg atggtgacac ttattacgcg 240

acctgggcga aaggccgatt caccatctcc aagacctcgt cgaccacagt gactctacaa 300

atgaccagtc tgacagccgc ggacacggcc acctatttct gtgcgagggg tgcccaattt 360

tacttgtggg gccaaggcac cctggtcacc gtctcctca 399

<210> 51
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 51

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro
20 25 30

Gly Ala Ser Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser
35 40 45

Asp Ser Trp Tyr Leu Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Ala Cys Ile Tyr Thr Gly Asp Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Thr Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr
85 90 95

Val Thr Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr
100 105 110

Phe Cys Ala Arg Gly Ala Gln Phe Tyr Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu
115 120 125

Val Thr Val Ser Ser
130

<210> 52
<211> 456
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 52

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro
20 25 30

Gly Ala Ser Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser
35 40 45

Asp Ser Trp Tyr Leu Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Ala Cys Ile Tyr Thr Gly Asp Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Thr Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr
85 90 95

Val Thr Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr
100 105 110

Phe Cys Ala Arg Gly Ala Gln Phe Tyr Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu
115 120 125

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

Ala Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys
145 150 155 160

Leu Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser
165 170 175

Gly Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln Ser
180 185 190

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser Ser
195 200 205

Gln Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val
210 215 220

Asp Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Cys Pro Pro
225 230 235 240

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro
245 250 255

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

Val Asp Val Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Thr Trp Tyr Ile
275 280 285

Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu Arg Glu Gln Gln
290 295 300

Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Ala His Gln
305 310 315 320

Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Lys Ala
325 330 335

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

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

Ser Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380

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

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

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

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

Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 53
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 53

Gly Phe Ser Phe Ser Asp Ser Trp
1 5

<210> 54
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 54

Tyr Thr Gly Asp Gly
1 5

<210> 55
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 55

Gly Ala Gln Phe Tyr Leu
1 5

<210> 56
<211> 405
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多核苷酸

<400> 56
atggacacga gggcccccac tcagctgctg gggctcctgc tgctctggct cccaggtgcc 60

acatttgccc aggtgctgac ccagactcca tcctccgtgt ctgcagctgt gggaggcaca 120

gtcaccatca attgccagtc cagtcagagt gtttatgcca acacctactt atcctggtat 180

cagcagaaac cagggcagcc tcccaagcaa ctgatctatt ctgcatccag tctggcatct 240

ggggtcccac cgcggttcaa aggcagtgga tctgggacac agttcgctct caccatcagc 300

gacgtgcagt gtgacgatgc tgccacttac tactgtctag gcagatatag ttgtggtctt 360

gctgattgtg ctgctttcgg cggagggacc gaggtggtgg tcaaa 405

<210> 57
<211> 135
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 57

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Thr Phe Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Ser
20 25 30

Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser
35 40 45

Gln Ser Val Tyr Ala Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Gln Pro Pro Lys Gln Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Ala Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Pro Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ala
85 90 95

Leu Thr Ile Ser Asp Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
100 105 110

Leu Gly Arg Tyr Ser Cys Gly Leu Ala Asp Cys Ala Ala Phe Gly Gly
115 120 125

Gly Thr Glu Val Val Val Lys
130 135

<210> 58
<211> 239
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 58

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Thr Phe Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Ser
20 25 30

Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser
35 40 45

Gln Ser Val Tyr Ala Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Gln Pro Pro Lys Gln Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Ala Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Pro Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ala
85 90 95

Leu Thr Ile Ser Asp Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
100 105 110

Leu Gly Arg Tyr Ser Cys Gly Leu Ala Asp Cys Ala Ala Phe Gly Gly
115 120 125

Gly Thr Glu Val Val Val Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu
130 135 140

Ile Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile
145 150 155 160

Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu
165 170 175

Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro
180 185 190

Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
195 200 205

Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr
210 215 220

Gln Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys
225 230 235

<210> 59
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 59

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Ala Asn Thr Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 60

Ser Ala Ser Ser Leu Ala Ser
1 5

<210> 61
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 61

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

<210> 62
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 62

Asn Asn Gly Ile Cys
1 5

<210> 63
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 63

Cys Leu Tyr Val Gly Ser Ser Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala
1 5 10 15

Lys

<210> 64
<211> 6

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 64

Ile Asn Tyr Tyr Met Cys
1 5

<210> 65
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 65

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

<210> 66
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 66

Ser Asn Tyr Tyr Met Cys
1 5

<210> 67
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 67

Cys Ile Phe Leu Gly Ser Ser Gly Asn Thr Val Tyr Ala Asn Trp Ala
1 5 10 15

Lys

<210> 68
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 68

Asp Ser Trp Tyr Leu Cys
1 5

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

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 69

Cys Ile Tyr Thr Gly Asp Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
1 5 10 15

<210> 70
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 70

Gly Phe Ser Phe Ser Asn Asn Gly Ile Cys
1 5 10

<210> 71
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 71

Gly Phe Asp Phe Ser Ile Asn Tyr Tyr Met Cys
1 5 10

<210> 72
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 72

Gly Phe Ser Phe Thr Ser Asn Tyr Tyr Met Cys
1 5 10

<210> 73
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 73

Gly Phe Ser Phe Ser Asp Ser Trp Tyr Leu Cys
1 5 10

<210> 74
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 74

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 75
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 75

His Thr Ser Arg Leu His Ser
1 5

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 76

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 77
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 77

Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr
1 5

<210> 78
<211> 5
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 78

Trp Gly Ser Glu Thr
1 5

<210> 79
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 79

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

<210> 80
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 80

Asp Tyr Gly Val Ser
1 5

<210> 81
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 81

Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 82
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 82

Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser
1 5 10

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種經單離之抗原結合分子，其特異性結合包含SEQ ID NO: 1之分子，其中該抗原結合分子包含：

(a) 包含SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的重鏈變異區(VH)互補決定區(CDR)1；

(b) 包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的VH CDR2；

(c) 包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列的VH CDR3；

(d) 包含SEQ ID NO: 47之胺基酸序列的輕鏈變異區(VL) CDR1；

(e) 包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列的VL CDR2；及

(f) 包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列的VL CDR3。

【請求項2】如請求項1之抗原結合分子，其中該抗原結合分子係選自由下列所組成之群組：抗體、scFv、Fab、Fab'、Fv、$F(ab')_2$、兔子抗體、小鼠抗體、大鼠抗體、非人靈長類動物抗體、人抗體、人化抗體、嵌合抗體、單株抗體、多株抗體、重組抗體、IgE抗體、IgD抗體、IgM抗體、IgG1抗體、在鉸鏈區(hinge region)具有至少一個突變之IgG1抗體、IgG2抗體、在鉸鏈區具有至少一個突變之IgG2抗體、IgG3抗體、在鉸鏈區具有至少一個突變之IgG3抗體、IgG4抗體、在鉸鏈區具有至少一個突變之IgG4抗體、包含至少一個非天然存在的胺基酸之抗體、及彼等之任何組合。

【請求項3】如請求項1之抗原結合分子，其中該抗原

結合分子包含VH，該VH包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列。

【請求項4】如請求項1之抗原結合分子，其中該抗原結合分子包含VL，該VL包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列。

【請求項5】如請求項1之抗原結合分子，其中該抗原結合分子包含VH和VL，該VH包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列且該VL包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列。

【請求項6】如請求項1至5中任一項之抗原結合分子，其中該抗原結合分子另包含可偵測性標記物。

【請求項7】如請求項6之抗原結合分子，其中該可偵測性標定物係選自由下列所組成之群組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。

【請求項8】如請求項7之抗原結合分子，其中該螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、

DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。

【請求項9】一種組成物，其包含如請求項1至8中任一項之抗原結合分子。

【請求項10】一種判定樣本內呈現包含SEQ ID NO: 1的分子之細胞數之方法，該方法包含：

(a) 提供包含已知或疑有呈現包含SEQ ID NO: 1的分子之細胞之樣本；

(b) 在允許結合複體形成的條件下使(a)之該樣本接觸特異性結合包含SEQ ID NO: 1的分子之如請求項1至5中任一項之抗原結合分子，該抗原結合分子進一步包含可偵測

性標記物，該結合複體包含存在於該樣本中之細胞及該抗原結合分子；及

(c) 判定該樣本內存在於(b)之結合複體中之細胞數。

【請求項11】如請求項10之方法，其中(a)該包含SEQ ID NO: 1之分子係CAR；且(b)該細胞係選自由下列所組成之群組之免疫細胞：CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)、NK細胞、TCR-表現細胞、樹突細胞及NK-T細胞。

【請求項12】如請求項11之方法，其中該CAR進一步包含選自由下列所組成之群組之分子或彼之片段：CD28、OX-40、4-1BB/CD137、CD2、CD7、CD27、CD30、CD40、計畫性死亡-1 (Programmed Death-1)(PD-1)、可誘導性T細胞共刺激分子(inducible T cell co-stimulator)(ICOS)、淋巴球功能相關抗原-1 (lymphocyte function-associated antigen-1)(LFA-1、CDl-la/CD18)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD247、CD276 (B7-H3)、LIGHT、(TNFSF14)、NKG2C、Igα (CD79a)、DAP-10、Fcγ受體、MHC 1類分子、TNF受體蛋白質、免疫球蛋白蛋白質、細胞介素受體、整聯蛋白、傳訊淋巴球性活化分子(Signaling Lymphocytic Activation Molecule)(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、鐸配體受體(Toll ligand receptor)、ICAM-1、B7-H3、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、

NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD1 1d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1 1a、LFA-1、ITGAM、CD1 1b、ITGAX、CD1 1c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、特異性結合CD83之配體、及彼等之組合。

【請求項13】如請求項10之方法，其中該可偵測性標定物係選自由下列所組成之群組：螢光標記物、光色化合物(photochromic compound)、蛋白質螢光標記物、磁性標記物、放射性標記物及半抗原(hapten)。

【請求項14】如請求項13之方法，其中該螢光標記物係選自由下列所組成之群組：Atto染料、Alexafluor染料、量子點、羥基香豆素(Hydroxycoumarin)、胺基香豆素(Aminocouramin)、甲氧基香豆素(Methoxycourmarin)、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-藻紅素(PE)、PE-Cy5共軛物、PE-Cy7共軛物、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、螢光黃、

BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-玫瑰紅、Lissamine玫瑰紅B、Texas Red、APC-Cy7共軛物、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H突變)、GFP (Y66F突變)、EBFP、EBFP2、石青色螢光蛋白(Azurite)、GFPuv、T-Sapphire、天藍螢光蛋白(Cerulean)、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W突變)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A突變)、Midorishi Cyan、野生型GFP、GFP (S65C突變)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L突變)、Emerald、GFP (S65T突變)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed單體、DsRed2 (“RFP”)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、B-藻紅素(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、甲藻黃素-葉綠素蛋白複合體(PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及mRaspberry。

【請求項15】如請求項11之方法，其中該免疫細胞係T細胞。

【請求項16】如請求項15之方法，其中該T細胞係在血液、經萃取之組織、離體(ex vivo)生長之組織及細胞培養基之一者內。

【請求項17】如請求項15之方法，其中該T細胞係自

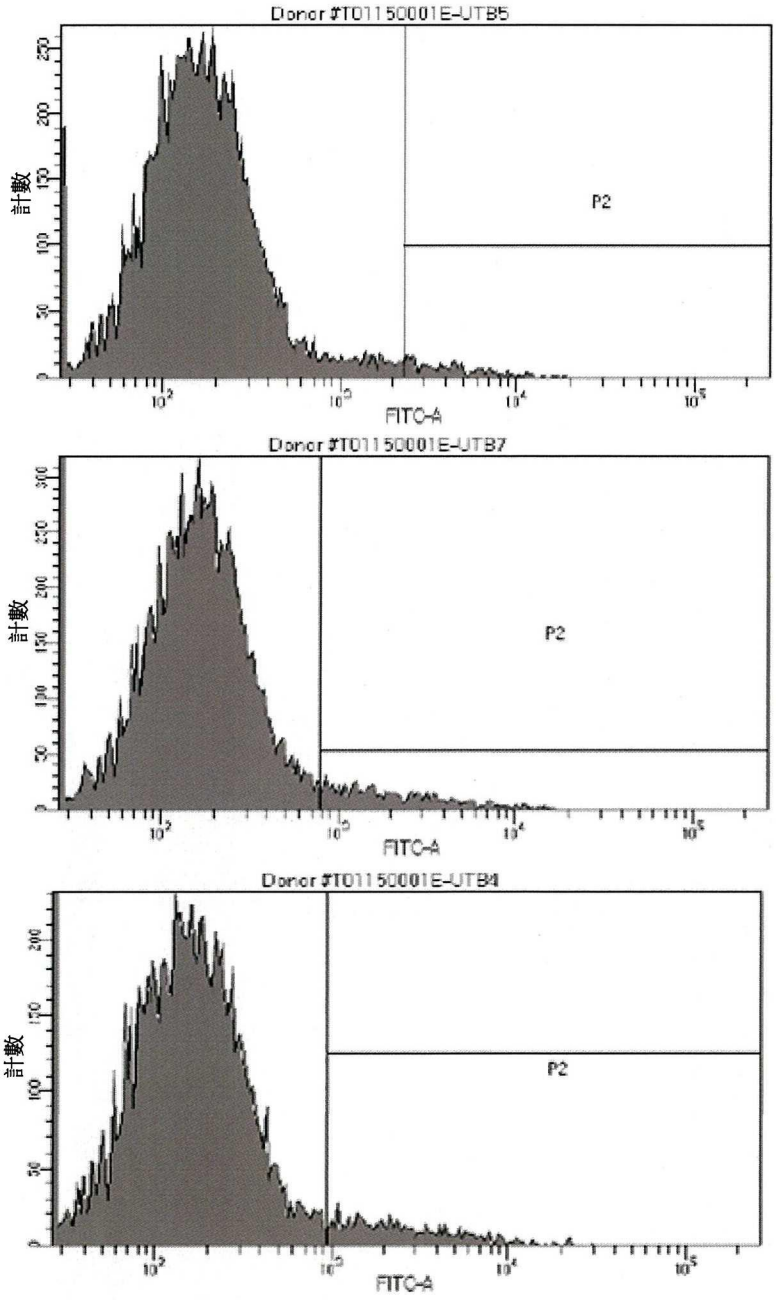
體T細胞。

【請求項18】如請求項15之方法，其中該T細胞係異源(allogenic) T細胞。

【請求項19】如請求項10之方法，其中該抗原結合分子係經人化。

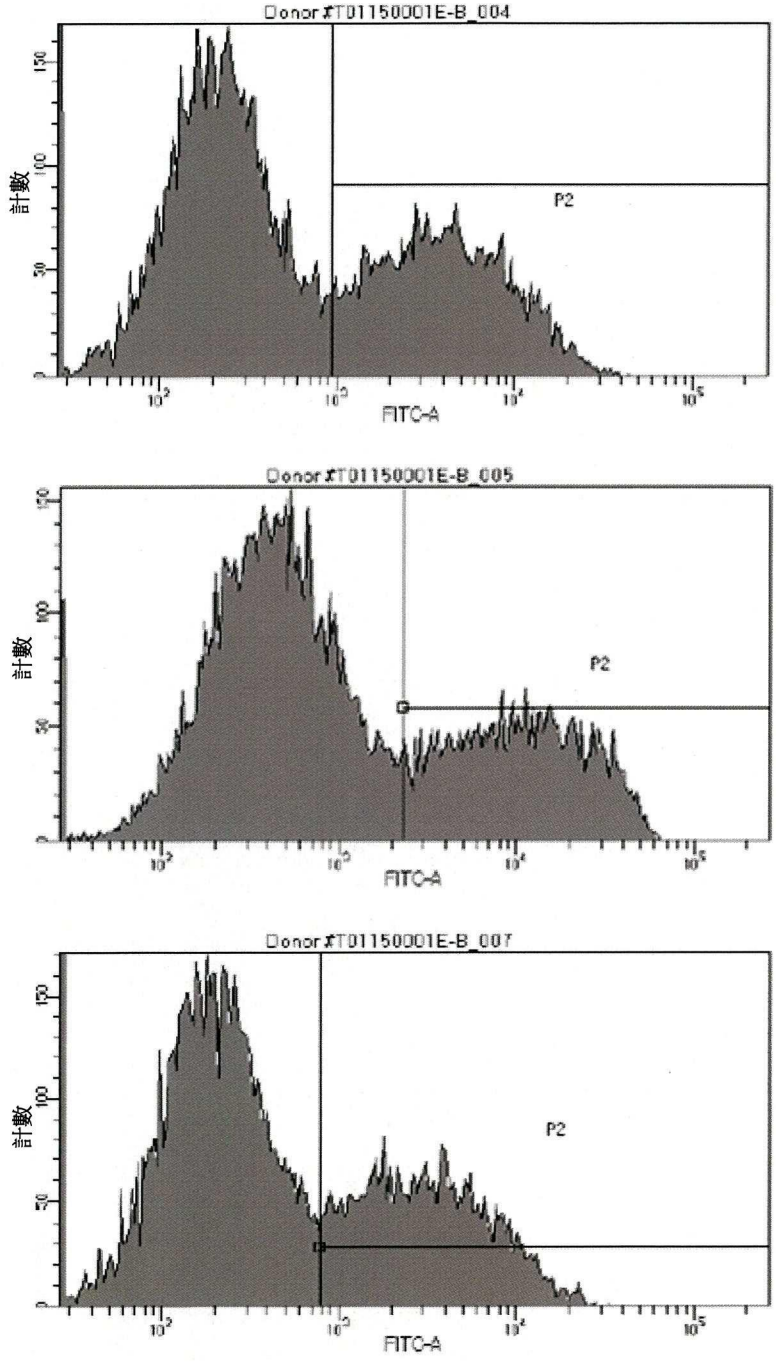
【發明圖式】

未經轉導

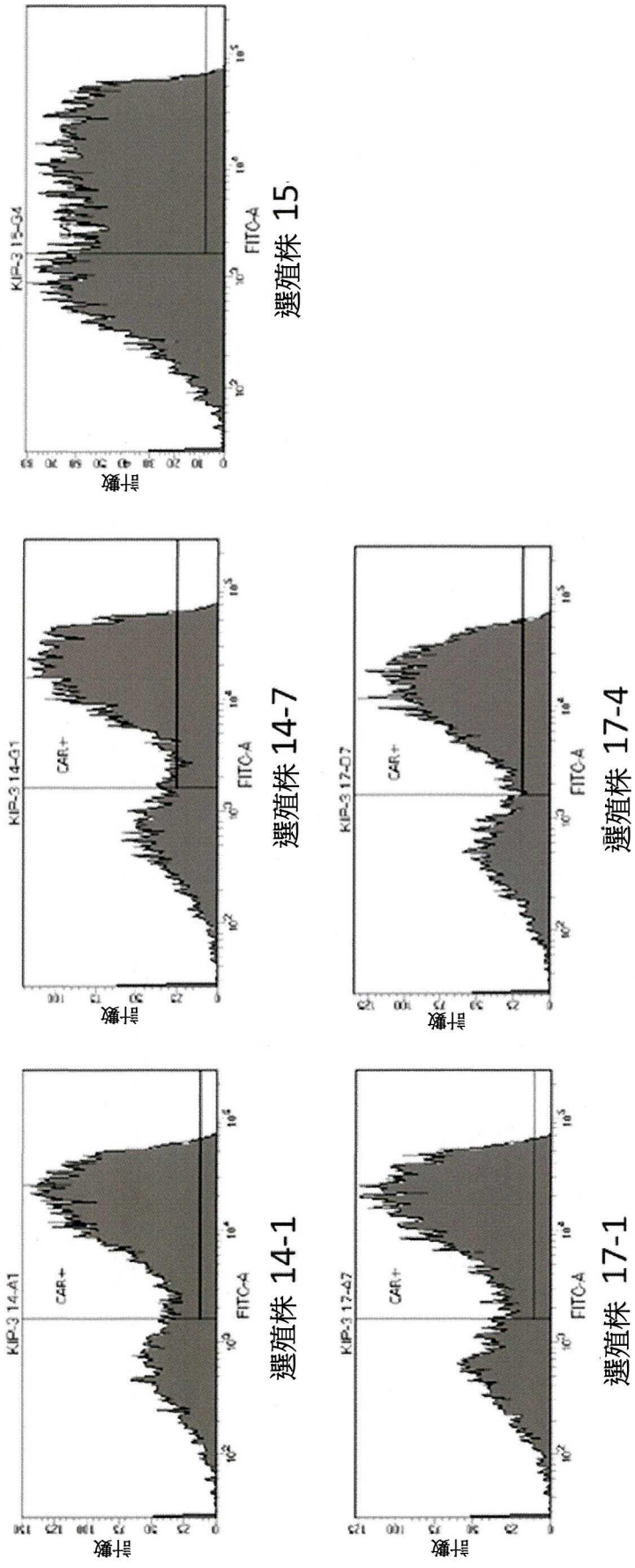


【圖 1A】

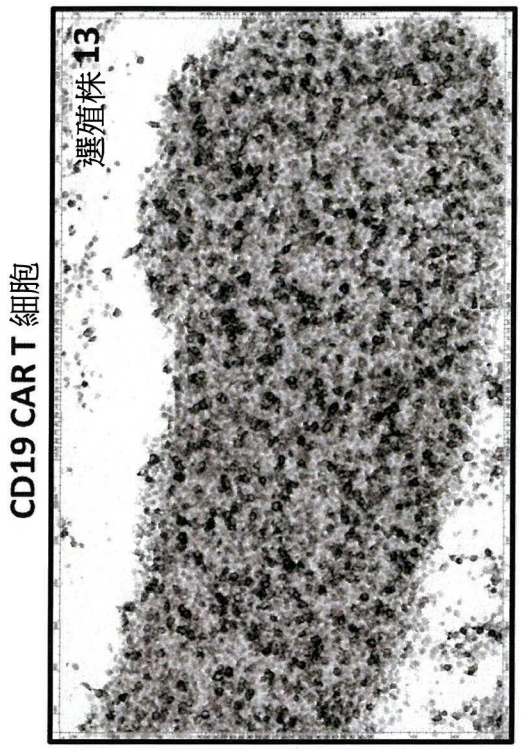
經轉導

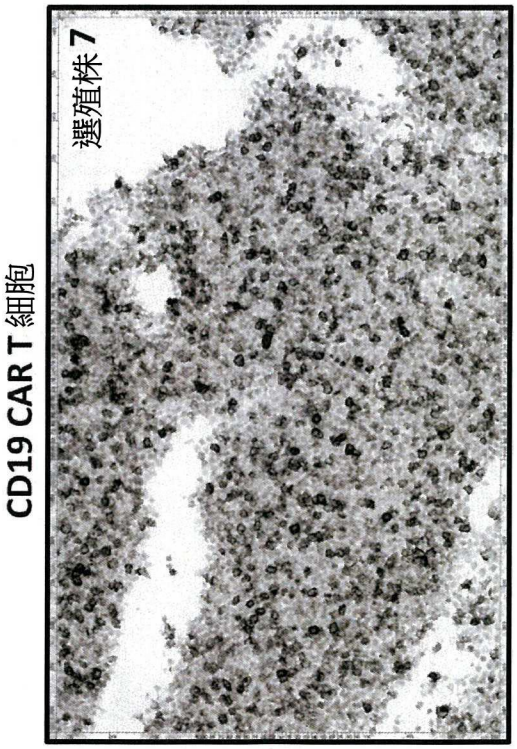

Donor#T01150001E-B_004
計數
P2
FITC-A
Donor#T01150001E-B_005
計數
P2
FITC-A
Donor#T01150001E-B_007
計數
P2
FITC-A

【圖 1B】

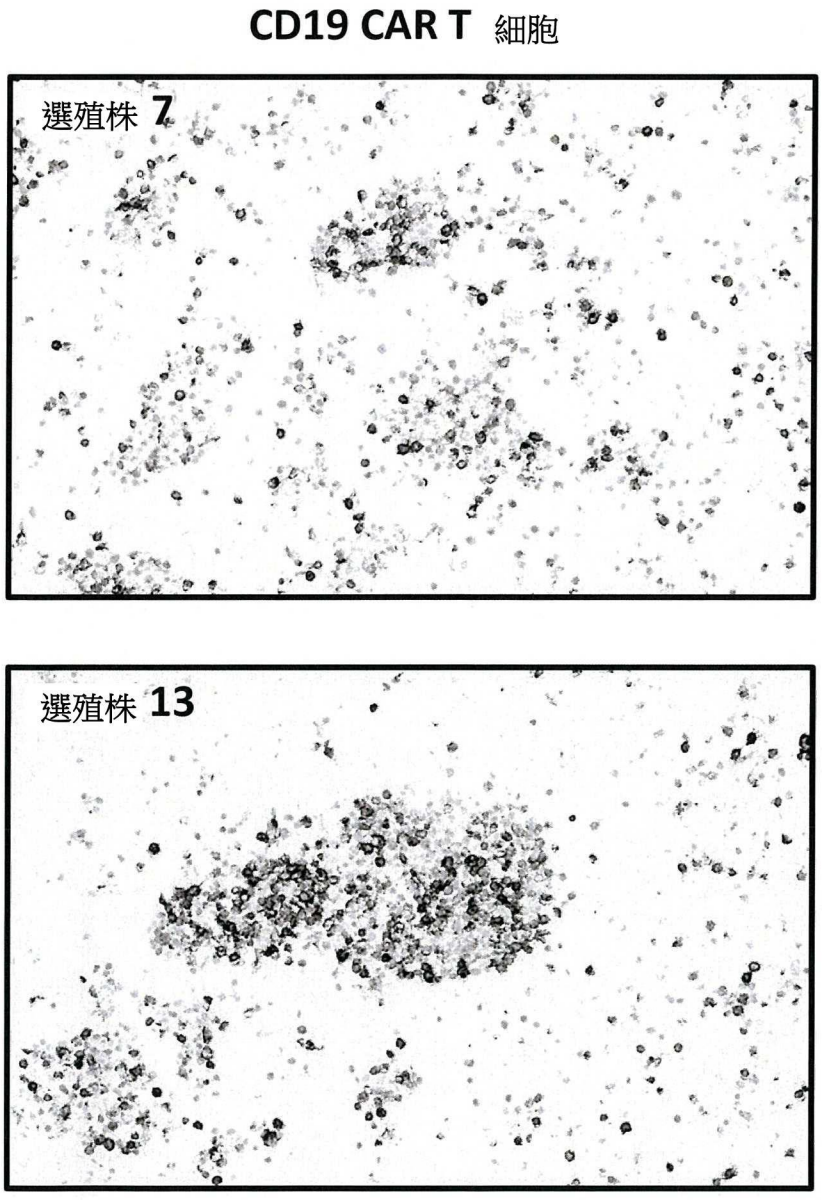

KIP-3 14-A1
CAR+
FITC-A
計數
選殖株 14-1
KIP-3 14-G1
CAR+
FITC-A
計數
選殖株 14-7
KIP-3 15-G4
FITC-A
計數
選殖株 15
KIP-3 17-A7
CAR+
FITC-A
計數
選殖株 17-1
KIP-3 17-D7
CAR+
FITC-A
計數
選殖株 17-4

【圖 2】

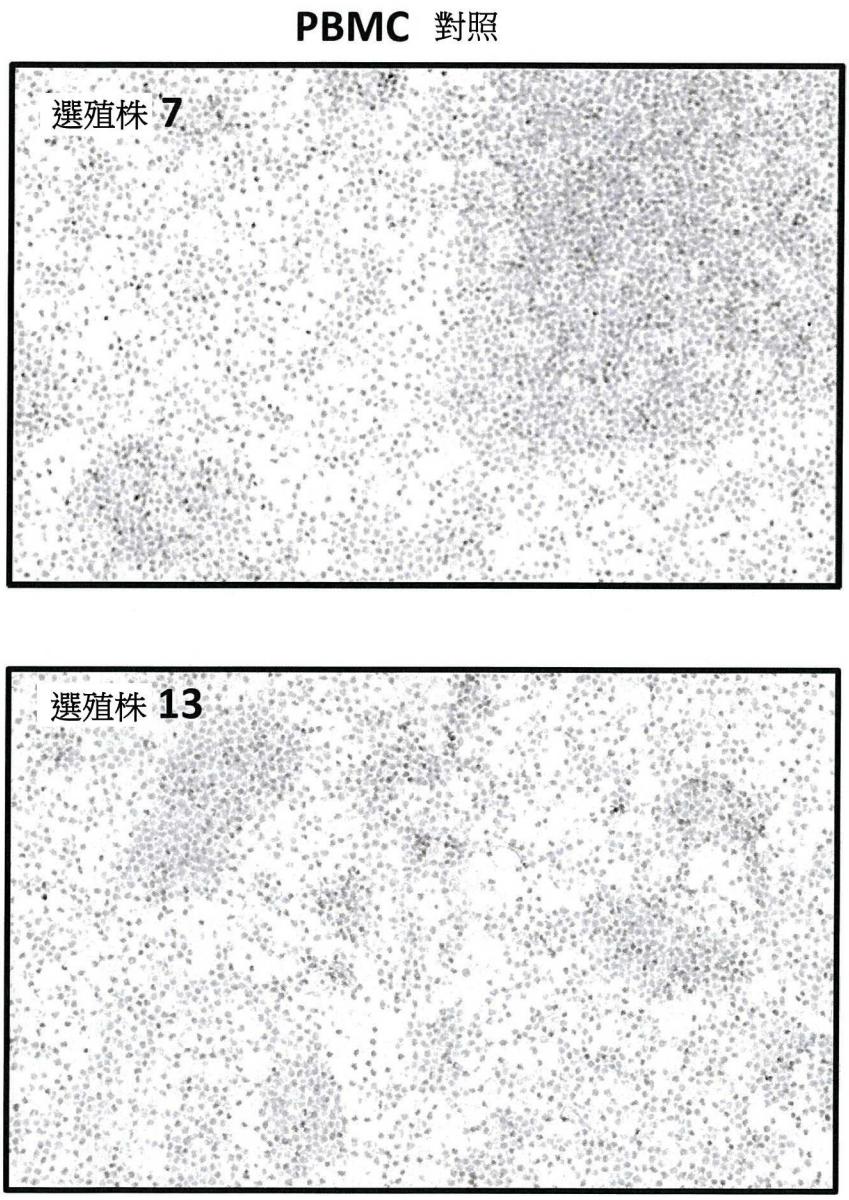




【圖 3】



【圖 4A】



【圖 4B】

抗體株7 VH DNA

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTCAGGAGCAGCT
GGAGGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGAGGAACCCTGACAGTCACCTGCAAAGCCTCTGGA
TTCTCCTTCAGTAACAATGGAATTTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGG
ATGTCTTTATGTTGGTAGTAGTGATACCACTTACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTC
CAAAAGCTCGTCGACCACGGTGACTCTACAAATGACCAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACCTATT
TCTGTACGATAAATCTCGGCTTGTGGGGCCCCGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 2)

抗體株7 VH AA (CDR：畫底線者)
METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGDLVKPGGTLTVTCKASGFSFSNNGICWVRQAPGKGLEWIGCL
YVGSSDTTYYASWAKGRFTISKSSSTTVTLQMTSLTVADTATYFCTINLGLWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO:
3)

抗體株 7 HC AA (CDR ：畫底線者)
METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGDLVKPGGTLTVTCKASGFSFSNNGICWVRQAPGKGLEWIGCL
YVGSSDTTYYASWAKGRFTISKSSSTTVTLQMTSLTVADTATYFCTINLGLWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPL
APCCGDTPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTSSSQPVTCNVA
HPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYI
NNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTM
GPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSDGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVF
TCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID NO: 4)

抗體株 7 VH CDR1 AA
GFSFSNN (SEQ ID NO: 5)

抗體株 7 VH CDR2 AA
YVGSSD (SEQ ID NO: 6)

抗體株7 VH CDR3 AA
NLGL (SEQ ID NO: 7)

【圖 5】

抗體株 7 VL DNA
ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCACATTTGCC
ATCGTGGTGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCAG
GCCAGTGAGAGTGTTTATAATAGCGACTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAA
GCAACTGATCTATGCTGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGCTTCAAAGGCAGTGGATCTGG
GACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGATGTGGTGTGTGACGATGCTGCCACTTATTATTGTGCAGGATA
TAAAAGTAGTAGTACTGATGGGATTGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA (SEQ ID NO:
8)

抗體株 7 VL AA (CDR ：畫底線者)
MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAIVVTQTPSSKSVPVGGTVTINCQASESVYNSDWLAWYQQKPGQPPKQ
LIYAASTLASGVPSRFKGSGSGTQFTLTISDVVCDDAATYYCAGYKSSSTDGIAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO:
9)

抗體株 7 LC AA (CDR ：畫底線者)
MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAIVVTQTPSSKSVPVGGTVTINCQASESVYNSDWLAWYQQKPGQPPKQ
LIYAASTLASGVPSRFKGSGSGTQFTLTISDVVCDDAATYYCAGYKSSSTDGIAFGGGTEVVVKGDPVAPTVLI
FPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYNSH
KEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO: 10)

抗體株 7 VL CDR1 AA
QASESVYNSDWLA (SEQ ID NO: 11)

抗體株 7 VL CDR2 AA
AASTLAS (SEQ ID NO: 12)

抗體株 7 VL CDR3 AA
AGYKSSSTDGIA (SEQ ID NO: 13)

【圖 6】

抗體株 13 VH DNA
ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTCAGGAGCAGCT
GGAGGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGAGGAACCCTGACAGTCACCTGCAAAGCCTCTGGA
TTCTCCTTCAGTAACAATGGAATTTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGG
ATGTCTTTATGTTGGTAGTAGTGATACCACTTACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTC
CAAAAGCTCGTCGACCACGGTGACTCTACAAATGACCAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACCTATT
TCTGTACGATAAATCTCGGCTTGTGGGGCCCCGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 14)

抗體株 13 VH AA (CDR ：畫底線者)
METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGDLVKPGGTLTVTCKASGFSFSNNGICWVRQAPGKGLEWIGCL
YVGSSDTTYYASWAKGRFTISKSSSTTVTLQMTSLTVADTATYFCTINLGLWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO:
15)

抗體株 13 HC AA (CDR ：畫底線者)
METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGDLVKPGGTLTVTCKASGFSFSNNGICWVRQAPGKGLEWIGCL
YVGSSDTTYYASWAKGRFTISKSSSTTVTLQMTSLTVADTATYFCTINLGLWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPL
APCCGDTPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTSSSQPVTCNVA
HPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYI
NNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTM
GPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSDGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVF
TCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID NO: 16)

抗體株 13 VH CDR1 AA
GFSFSNN (SEQ ID NO: 5)

抗體株 13 VH CDR2 AA
YVGSSD (SEQ ID NO: 6)

抗體株 13 VH CDR3 AA
NLGL (SEQ ID NO: 7)

【圖 7】

抗體株 13 VL DNA
ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCACACTTGC
CATCGTGGTGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCA
GGCCAGTGAGAGTGTTTATAATAGCGACTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCA
AGCAACTGATCTATGCTGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGCTTCAAAGGCAGTGGATCTG
GGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGATGTGGTGTGTGACGATGCTGCCACTTATTATTGTGCAGGAT
ATAAAAGTAGTAGTACTGATGGGATTGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA (SEQ ID
NO: 17)

抗體株 13 VL AA (CDR ：畫底線者)
MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATLAIVVTQTPSSKSVPVGGTVTINCQASESVYNSDWLAWYQQKPGQPPKQ
LIYAASTLASGVPSRFKGSGSGTQFTLTISDVVCDDAATYYCAGYKSSSTDGIAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO:
18)

抗體株 13 LC AA (CDR ：畫底線者)
MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATLAIVVTQTPSSKSVPVGGTVTINCQASESVYNSDWLAWYQQKPGQPPKQ
LIYAASTLASGVPSRFKGSGSGTQFTLTISDVVCDDAATYYCAGYKSSSTDGIAFGGGTEVVVKGDPVAPTVLI
FPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYNSH
KEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO: 19)

抗體株 13 VL CDR1 AA
QASESVYNSDWLA (SEQ ID NO: 11)

抗體株 13 VL CDR2 AA
AASTLAS (SEQ ID NO: 12)

抗體株 13 VL CDR3 AA
AGYKSSSTDGIA (SEQ ID NO: 13)

【圖 8】

抗體株 14-1 VH DNA
ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTCAGGAGCAGCT
GGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCACCTGCAAAGCCTCTGGA
TTCGACTTCAGTATCAACTACTACATGTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGTTGGAGTGGAT
CGCATGCATTTATACTGGTGATGATGACACTTTCTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGGTTCACCATCTC
CAAAACCTCGTCGACCACGGTGACTCTACAACTGAACAGTCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTT
CTGTGTGAGAGGTCTATATAGTGGTAGTATTAATAACCTGTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTC
CTCA
(SEQ ID NO: 20)

抗體株14-1 VH AA (CDR ：畫底線者)
METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGGLVKPGASLTLTCKASGFDFSINYYMCWVRQAPGKGLEWIAC
IYTGDDDTFYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQLNSLTAADTATYFCVRGLYSGSINNLWGPGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 21)

抗體株 14-1 HC AA (CDR ：畫底線者)
METGLRWLLLVAVLKGVQCQEQLEESGGGLVKPGASLTLTCKASGFDFSINYYMCWVRQAPGKGLEWIAC
IYTGDDDTFYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQLNSLTAADTATYFCVRGLYSGSINNLWGPGTLVTVSSGQPKA
PSVFPLAPCCGDTPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTSSSQPV
TCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQ
FTWYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEP
KVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSDGSYFLYSKLSVPTSEWQ
RGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID NO: 22)

抗體株 14-1 VH CDR1 AA
GFDFSINY (SEQ ID NO: 23)

抗體株 14-1 VH CDR2 AA
YTGDD (SEQ ID NO: 24)

抗體株 14-1 VH CDR3 AA
GLYSGSINNL (SEQ ID NO: 25)

【圖 9】

抗體株 14-1 VL DNA
ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAGATGCCAGATGTGC
GCTTGTGATGACCCAGACTCCATCCCCTGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAGTTGCCA
GGCCAGTCAGAGTGTTTATAACAACGACTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCA
AACTCCTGATCTATTATGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTG
GGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCGCTTACTATTGTGCAGGC
GTTAAAGGTTATAGTAATGATAATAATGGTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA (SEQ ID NO: 26)

抗體株 14-1 VL AA (CDR ：畫底線者)
MDTRAPTQLLGLLLLWLPDARCALVMTQTPSPVSAAVGGTVTISCQASQSVYNNDYLSWYQQKPGQPPK
LLIYYASTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAAAYYCAGVKGYSNDNNGFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 27)

抗體株 14-1 LC AA (CDR ：畫底線者)
MDTRAPTQLLGLLLLWLPDARCALVMTQTPSPVSAAVGGTVTISCQASQSVYNNDYLSWYQQKPGQPPK
LLIYYASTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAAAYYCAGVKGYSNDNNGFGGGTEVVVKGDPVAP
TVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQY
NSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO:28)

抗體株 14-1 VL CDR1 AA
QASQSVYNNDYLS (SEQ ID NO: 29)

抗體株 14-1 VL CDR2 AA
YASTLAS (SEQ ID NO: 30)

抗體株 14-1 VL CDR3 AA
AGVKGYSNDNNG (SEQ ID NO: 31)

【圖 10】

抗體株 14-7 VH DNA
ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAATGTCAGTCGCTGGA
GGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCACCTGCAAAGCCTCTGGATTCG
ACTTCAGTATCAACTACTACATGTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGTTGGAGTGGATCGCA
TGCATTTATACTGGTGATGATGACACTTTCTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGGTTCACCATCTCCAAA
ACCTCGTCGACCACGGTGACTCTACAACTGAACAGTCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGT
GTGAGAGGTCTATATAGTGGTAGTATTAATAACCTGTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 32)

抗體株 14-7 VH AA (CDR ：畫底線者)
METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGGLVKPGASLTLTCKASGFDFSINYYMCWVRQAPGKGLEWIACIY
TGDDDTFYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQLNSLTAADTATYFCVRGLYSGSINNLWGPGTLVTVSS (SEQ ID
NO: 33)

抗體株 14-7 HC AA (CDR ：畫底線者)
METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGGLVKPGASLTLTCKASGFDFSINYYMCWVRQAPGKGLEWIACIY
TGDDDTFYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQLNSLTAADTATYFCVRGLYSGSINNLWGPGTLVTVSSGQPKAP
SVFPLAPCCGDTPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTSSSQPVT
CNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQF
TWYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPK
VYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSDGSYFLYSKLSVPTSEWQR
GDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID NO: 34)

抗體株 14-7 VH CDR1 AA
GFDFSINY (SEQ ID NO: 23)

抗體株 14-7 VH CDR2 AA
YTGDD (SEQ ID NO: 24)

抗體株 14-7 VH CDR3 AA
GLYSGSINNL (SEQ ID NO: 25)

【圖 11】

抗體株 14-7 VL DNA
ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAGATGCCAGATGTGC
GCTTGTGATGACCCAGACTCCATCCCCTGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAGTTGCCA
GGCCAGTCAGAGTGTTTATAACAACGACTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCA
AACTCCTGATCTATTATGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTG
GGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCGCTTACTATTGTGCAGGC
GTTAAAGGTTATAGTAATGATAATAATGGTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA (SEQ ID
NO: 35)

抗體株 14-7 VL AA (CDR ：畫底線者)
MDTRAPTQLLGLLLLWLPDARCALVMTQTPSPVSAAVGGTVTISCQASQSVYNNDYLSWYQQKPGQPPK
LLIYYASTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAAAYYCAGVKGYSNDNNGFGGGTEVVVK (SEQ ID
NO: 36)

抗體株 14-7 LC AA (CDR ：畫底線者)
MDTRAPTQLLGLLLLWLPDARCALVMTQTPSPVSAAVGGTVTISCQASQSVYNNDYLSWYQQKPGQPPK
LLIYYASTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAAAYYCAGVKGYSNDNNGFGGGTEVVVKGDPVAP
TVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQY
NSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO: 37)

抗體株 14-7 VL CDR1 AA
QASQSVYNNDYLS (SEQ ID NO: 29)

抗體株 14-7 VL CDR2 AA
YASTLAS (SEQ ID NO: 30)

抗體株 14-7 VL CDR3 AA
AGVKGYSNDNNG (SEQ ID NO: 31)

【圖 12】

抗體株15 VH DNA
ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGGGTCCAGTGTCAGTCGTTGGA
GGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCT
CCTTCACGAGCAACTACTACATGTGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGC
GTGCATTTTTCTTGGTAGTAGTGGTAACACTGTCTACGCGAACTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTC
CAAAACCTCGTCGACCACGGTGACTCTGCAAATGACCAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACCTATTT
CTGTGCGAGAGACTATGTTAATGGTTATGACTACTTTAACTTGTGGGGCCCAGGCACCTTGGTCACCGT
CTCCTCA (SEQ ID NO: 38)

抗體株15 VH AA (CDR ：畫底線者)
METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGDLVKPGASLTLTCTASGFSFTSNYYMCWVRQAPGKGLEWVACI
FLGSSGNTVYANWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTVADTATYFCARDYVNGYDYFNLWGPGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 39)

抗體株15 HC AA (CDR ：畫底線者)
METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGDLVKPGASLTLTCTASGFSFTSNYYMCWVRQAPGKGLEWVACI
FLGSSGNTVYANWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTVADTATYFCARDYVNGYDYFNLWGPGTLVTVSSGQ
PKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTSSS
QPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDP
EVQFTWYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQP
LEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSDGSYFLYSKLSVPTSE
WQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID NO: 40)

抗體株 15 VH CDR1 AA
GFSFTSNY (SEQ ID NO: 41)

抗體株 15 VH CDR2 AA
FLGSSG (SEQ ID NO: 42)

抗體株 15 VH CDR3 AA
DYVNGYDYFNL (SEQ ID NO: 43)

【圖 13】

抗體株15 VL DNA
ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCACATTTGCC
CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCGGCTGTTGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCA
GTCCAGTCAGAGTGTTTATAATAAGAACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAAG
GCCTGATCTATTCTACATCGACTCTAGATTCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGA
CACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTT
ATGATTGTAGTAGTGCTGATTGTAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA (SEQ ID NO: 44)

抗體株 15 VL AA (CDR ：畫底線者)
MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTASPVSAAVGGTVTINCQSSQSVYNKNLAWYQQKPGQPPKG
LIYSTSTLDSGVPSRFSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSSADCNAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 45)

抗體株15 LC AA (CDR ：畫底線者)
MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTASPVSAAVGGTVTINCQSSQSVYNKNLAWYQQKPGQPPKG
LIYSTSTLDSGVPSRFSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSSADCNAFGGGTEVVVKGDPVAPT
VLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYN
SHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO: 46)

抗體株15 VL CDR1 AA
QSSQSVYNKNLA (SEQ ID NO: 47)

抗體株15 VL CDR2 AA
STSTLDS (SEQ ID NO: 48)

抗體株15 VL CDR3 AA
LGSYDCSSADCNA (SEQ ID NO: 49)

【圖 14】

抗體株 17 VH DNA
ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAATGTCAGTCGCTGGA
GGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCT
CCTTCAGTGACAGTTGGTACTTGTGTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGC
ATGCATTTATACTGGTGATGGTGACACTTATTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAA
GACCTCGTCGACCACAGTGACTCTACAAATGACCAGTCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTTCTG
TGCGAGGGGTGCCCAATTTTACTTGTGGGGCCAAGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 50)

抗體株 17 VH AA (CDR ：畫底線者)
METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGGLVKPGASLTLTCTASGFSFSDSWYLCWVRQAPGKGLEWIACIY
TGDGDTYYATWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGAQFYLWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 51)

抗體株17 HC AA (CDR ：畫底線者)
METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGGLVKPGASLTLTCTASGFSFSDSWYLCWVRQAPGKGLEWIACIY
TGDGDTYYATWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGAQFYLWGQGTLVTVSSGQPKAPSVF
PLAPCCGDTPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTSSSQPVTCNV
AHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYI
NNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTM
GPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSDGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVF
TCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID NO: 52)

抗體株17 VH CDR1 AA
GFSFSDSW (SEQ ID NO: 53)

抗體株17 VH CDR2 AA
YTGDG (SEQ ID NO: 54)

抗體株17 VH CDR3 AA
GAQFYL (SEQ ID NO: 55)

【圖 15】

抗體株 17 VL DNA
ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCACATTTGCC
CAGGTGCTGACCCAGACTCCATCCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCA
GTCCAGTCAGAGTGTTTATGCCAACACCTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAA
GCAACTGATCTATTCTGCATCCAGTCTGGCATCTGGGGTCCCACCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTG
GGACACAGTTCGCTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCA
GATATAGTTGTGGTCTTGCTGATTGTGCTGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA (SEQ ID
NO:56)

抗體株 17 VL AA (CDR ：畫底線者)
MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTPSSVSAAVGGTVTINCQSSQSVYANTYLSWYQQKPGQPPKQ
LIYSASSLASGVPPRFKGSGSGTQFALTISDVQCDDAATYYCLGRYSCGLADCAAFGGGTEVVVK (SEQ ID
NO: 57)

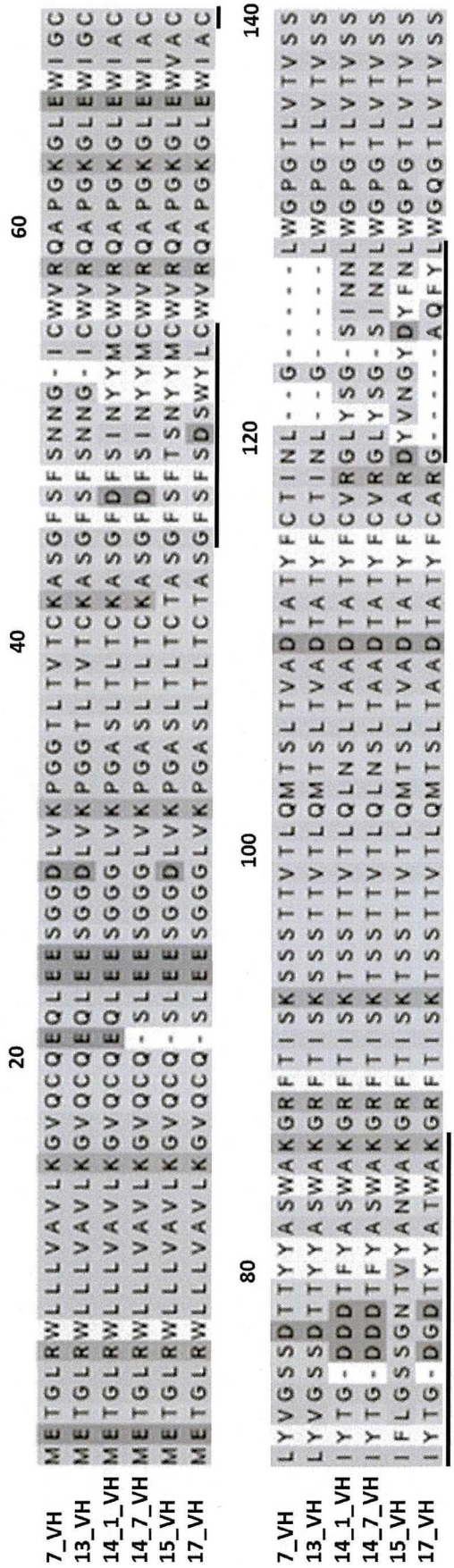
抗體株 17 LC AA (CDR ：畫底線者)
MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTPSSVSAAVGGTVTINCQSSQSVYANTYLSWYQQKPGQPPKQ
LIYSASSLASGVPPRFKGSGSGTQFALTISDVQCDDAATYYCLGRYSCGLADCAAFGGGTEVVVKGDPVAPT
VLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYN
SHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO: 58)

抗體株 17 VL CDR1 AA
QSSQSVYANTYLS (SEQ ID NO: 59)

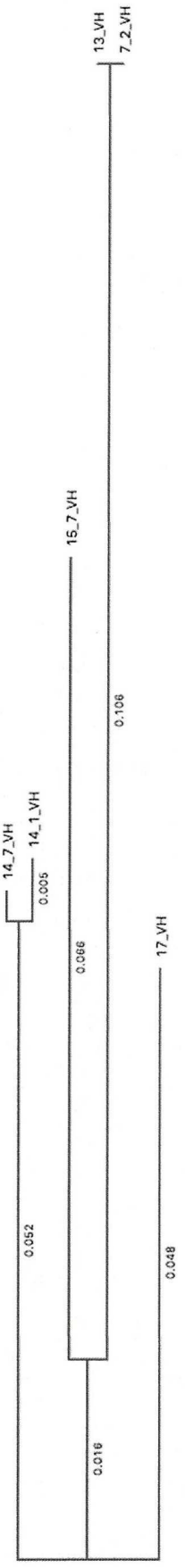
抗體株 17 VL CDR2 AA
SASSLAS (SEQ ID NO: 60)

抗體株 17 VL CDR3 AA
LGRYSCGLADCAA (SEQ ID NO: 61)

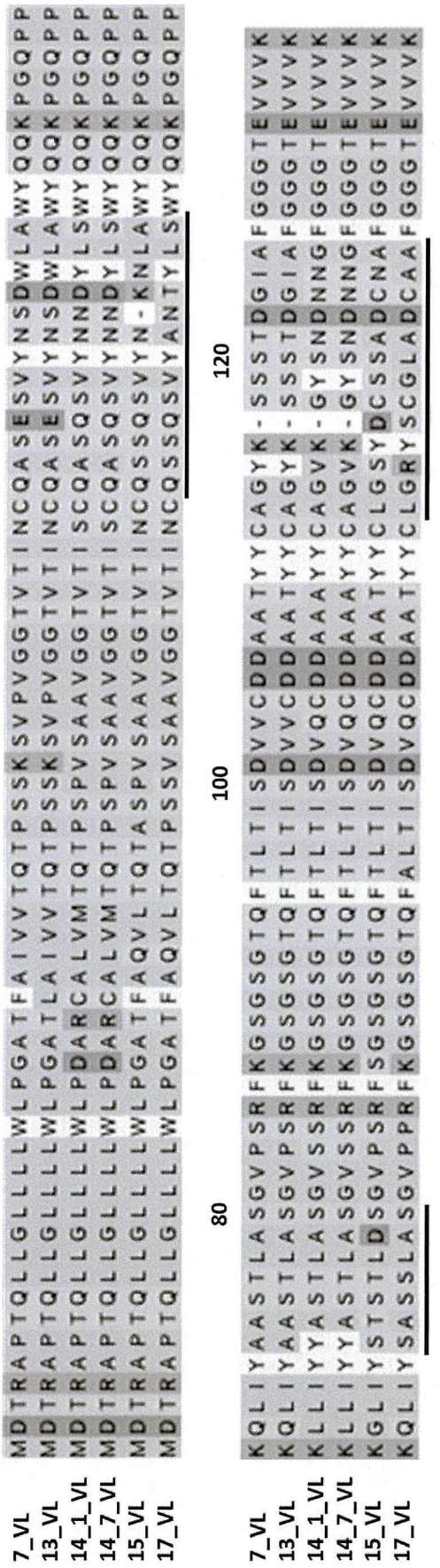
【圖 16】



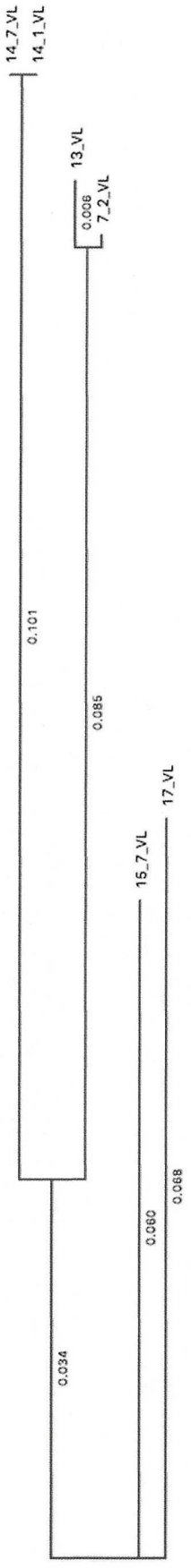
【圖 17A】


13_VH
7_2_VH
15_7_VH
0.106
14_7_VH
14_1_VH
0.005
0.066
17_VH
0.052
0.048
0.016

【圖 17B】



【圖 18A】


14_7_VL
14_1_VL
13_VL
0.006
7_2_VL
0.101
0.085
17_VL
15_7_VL
0.068
0.060
0.034

【圖 18B】

表 1. CDR 表(Kabat)

序列	CDR1	SEQ ID NO.	CDR2	SEQ ID NO.	CDR3	SEQ ID NO.
7_VL	QASESVYNSDWLA	11	AASTLAS	12	AGYKSSSTDGIA	13
13_VL	QASESVYNSDWLA	11	AASTLAS	12	AGYKSSSTDGIA	13
14-1_VL	QASQSVYNNDYLS	29	YASTLAS	30	AGVKGYSNDNNG	31
14-7_VL	QASQSVYNNDYLS	29	YASTLAS	30	AGVKGYSNDNNG	31
15_VL	QSSQSVYNKNLA	47	STSTLDS	48	LGSYDCSSADCNA	49
17_VL	QSSQSVYANTYLS	59	SASSLAS	60	LGRYSCGLADCAA	61
7_VH	NNGIC	62	CLYVGSSDTTYYASWAK	63	NLGL	7
13_VH	NNGIC	62	CLYVGSSDTTYYASWAK	63	NLGL	7
14-1_VH	INYYMC	64	CIYTGDDDTFYASWAK	65	GLYSGSINNL	25
14-7_VH	INYYMC	64	CIYTGDDDTFYASWAK	65	GLYSGSINNL	25
15_VH	SNYYMC	66	CIFLGSSGNTVYANWAK	67	DYVNGYDYFNL	43
17_VH	DSWYLC	68	CIYTGDGDTYYATWAK	69	GAQFYL	55

【圖 19】

表 2. CDR 表(Chothia)

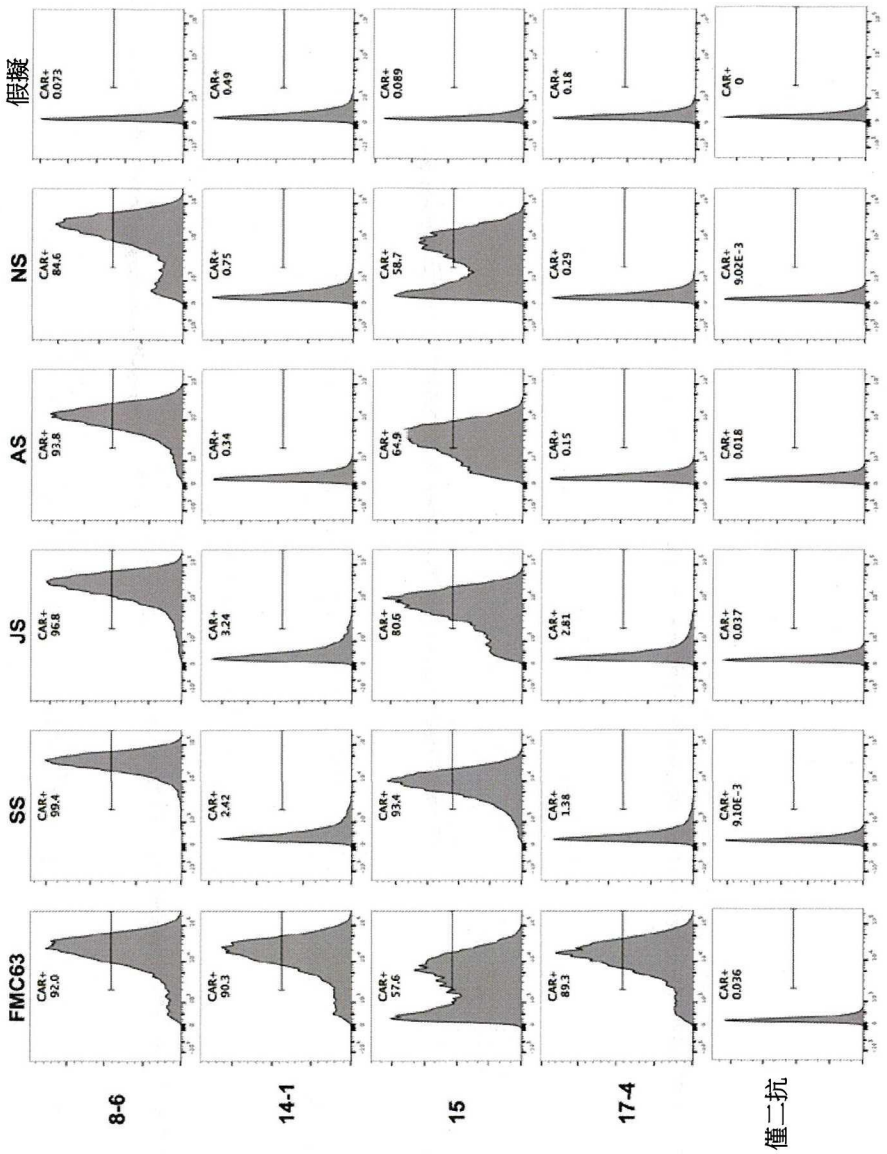
序列	CDR1	SEQ ID NO	CDR2	SEQ ID NO	CDR3	SEQ ID NO.
7_VL	QASESVYNSDWLA	11	AASTLAS	12	AGYKSSSTDGIA	13
13_VL	QASESVYNSDWLA	11	AASTLAS	12	AGYKSSSTDGIA	13
14-1_VL	QASQSVYNNDYLS	29	YASTLAS	30	AGVKGYSNDNNG	31
14-7_VL	QASQSVYNNDYLS	29	YASTLAS	30	AGVKGYSNDNNG	31
15_VL	QSSQSVYNKNLA	47	STSTLDS	48	LGSYDCSSADCNA	49
17_VL	QSSQSVYANTYLS	59	SASSLAS	60	LGRYSCGLADCAA	61
7_VH	GFSFSNN	5	YVGSSD	6	NLGL	7
13_VH	GFSFSNN	5	YVGSSD	6	NLGL	7
14-1_VH	GFDFSINY	23	YTGDD	24	GLYSGSINNL	25
14-7_VH	GFDFSINY	23	YTGDD	24	GLYSGSINNL	25
15_VH	GFSFTSNY	41	FLGSSG	42	DYVNGYDYFNL	43
17_VH	GFSFSDSW	53	YTGDG	54	GAQFYL	55

【圖 20】

表3. CDR表 (IMGT)

序列	CDR1	SEQ ID NO.	CDR2	SEQ ID NO.	CDR3	SEQ ID NO.
7_VL	QASESVYNSDWLA	11	AASTLAS	12	AGYKSSSTDGIA	13
13_VL	QASESVYNSDWLA	11	AASTLAS	12	AGYKSSSTDGIA	13
14-1_VL	QASQSVYNNDYLS	29	YASTLAS	30	AGVKGYSNDNNG	31
14-7_VL	QASQSVYNNDYLS	29	YASTLAS	30	AGVKGYSNDNNG	31
15_VL	QSSQSVYNKNLA	47	STSTLDS	48	LGSYDCSSADCNA	49
17_VL	QSSQSVYANTYLS	59	SASSLAS	60	LGRYSCGLADCAA	61
7_VH	GFSFSNNGIC	70	CLYVGSSDTTYYASWAK	63	NLGL	7
13_VH	GFSFSNNGIC	70	CLYVGSSDTTYYASWAK	63	NLGL	7
14-1_VH	GFDFSINYYMC	71	CIYTGDDDTFYASWAK	65	GLYSGSINNL	25
14-7_VH	GFDFSINYYMC	71	CIYTGDDDTFYASWAK	65	GLYSGSINNL	25
15_VH	GFSFTSNYYMC	72	CIFLGSSGNTVYANWAK	67	DYVNGYDYFNL	43
17_VH	GFSFSDSWYLC	73	CIYTGDGDTYYATWAK	69	GAQFYL	55

【圖 21】


FMC63
SS
JS
AS
NS
假擬
8-6
14-1
15
17-4
僅二抗
CAR+ 92.0
CAR+ 99.4
CAR+ 96.8
CAR+ 93.8
CAR+ 84.6
CAR+ 0.073
CAR+ 90.3
CAR+ 2.42
CAR+ 3.24
CAR+ 0.34
CAR+ 0.75
CAR+ 0.49
CAR+ 57.6
CAR+ 93.4
CAR+ 80.6
CAR+ 64.9
CAR+ 58.7
CAR+ 0.089
CAR+ 89.3
CAR+ 1.38
CAR+ 2.81
CAR+ 0.15
CAR+ 0.29
CAR+ 0.18
CAR+ 0.036
CAR+ 9.10E-3
CAR+ 0.037
CAR+ 0.018
CAR+ 9.02E-3
CAR+ 0

【圖 22】