



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202229340 A

(43) 公開日：中華民國 111 (2022) 年 08 月 01 日

(21) 申請案號：110145573

(22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 12 月 07 日

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

C07K14/54 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P37/00 (2006.01)

(30) 優先權：2020/12/07 歐洲專利局

20212128.1

(71) 申請人：比利時商 U C B 生物製藥公司 (比利時) UCB BIOPHARMA SRL (BE)
比利時(72) 發明人：瑞絲翠克 喬瑟夫麥克戴維 RASTRICK, JOSEPH MICHAEL DAVID (GB)；西法
約翰 保羅 SILVA, JOHN PAUL (GB)；萊特伍 丹尼爾 約翰 LIGHTWOOD,
DANIEL JOHN (GB)；艾當斯 羅夫 ADAMS, RALPH (GB)；帕法曼 羅傑 湯
瑪士 PALFRAMAN, ROGER THOMAS (GB)；泰森 凱芮 路易斯 TYSON,
KERRY LOUISE (GB)；埃利奧特 彼得 查理斯 ELLIOTT, PETER CHARLES
(GB)；馬雅客 席馬 MAYANK, SEEMA (GB)；克羅斯比 安德烈雅 朱莉
CROSBY, ANDREA JULIE (GB)；芭莉 艾米莉 瑪麗 凱莉斯坦 BARRY, EMILY
MARY CAIRISTINE (GB)；萊森 塞普 弗蘭斯 羅曼 LEYSEN, SEPPE FRANS
ROMAN (BE)；阿達斯 贊那巴 AHDASH, ZAINAB (GB)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：92 項 圖式數：18 共 350 頁

(54) 名稱

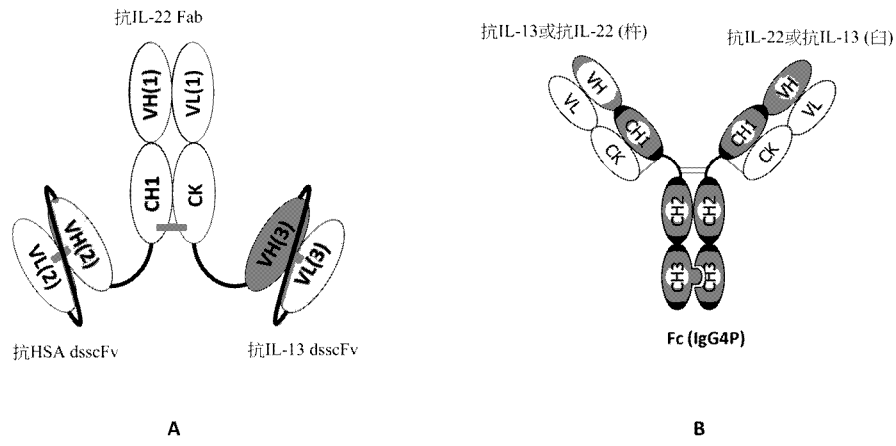
多特異性抗體及抗體組合

(57) 摘要

本發明係關於結合於 IL13 及 IL22 之抗體。本發明提供結合於 IL13 及 IL22 之新穎的多特異性抗體，以及包含結合於 IL13 之抗體及結合於 IL22 之抗體之組合物。本發明亦係關於抗 IL13 抗體與抗 IL22 抗體之組合以及結合於 IL13 及 IL22 之多特異性抗體之治療用途。

The present invention relates to antibodies binding to IL13 and IL22. The invention provides novel multi-specific antibodies that bind to both IL13 and IL22 and compositions comprising an antibody that binds to IL13 and an antibody that binds to IL22. The invention further relates to therapeutic uses of the combination of anti-IL13 and anti-IL22 antibodies and multi-specific antibodies that bind to both IL13 and IL22.

指定代表圖：



【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】

多特異性抗體及抗體組合

【英文發明名稱】

MULTI-SPECIFIC ANTIBODIES AND ANTIBODY
COMBINATIONS

【中文】

本發明係關於結合於IL13及IL22之抗體。本發明提供結合於IL13及IL22之新穎的多特異性抗體，以及包含結合於IL13之抗體及結合於IL22之抗體之組合物。本發明亦係關於抗IL13抗體與抗IL22抗體之組合以及結合於IL13及IL22之多特異性抗體之治療用途。

【英文】

The present invention relates to antibodies binding to IL13 and IL22. The invention provides novel multi-specific antibodies that bind to both IL13 and IL22 and compositions comprising an antibody that binds to IL13 and an antibody that binds to IL22. The invention further relates to therapeutic uses of the combination of anti-IL13 and anti-IL22 antibodies and multi-specific antibodies that bind to both IL13 and IL22.

【指定代表圖】

圖1A、圖1B

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

多特異性抗體及抗體組合

【英文發明名稱】

MULTI-SPECIFIC ANTIBODIES AND ANTIBODY
COMBINATIONS

【技術領域】

【0001】 本發明係關於結合於IL13及IL22之抗體。本文中所提供之此類抗體適用於治療發炎性病狀，特定言之，皮膚發炎。

【先前技術】

【0002】 異位性皮炎(AD)，亦稱為異位性濕疹，為一種發炎性病狀，其引起表皮功能障礙及增厚、濕疹病灶及搔癢症。該病狀在所有年齡及種族之人群中流行且具有藉由傷殘調整生命年(disability-adjusted life years)所量測之所有皮膚病中之最大疾病負擔(Laughter等人, Br. J. Dermatol. 2020; 刊載之前的電子版)。AD為一種複雜的病狀且其病理生理學受許多因素影響，諸如遺傳、環境及免疫因素。儘管2型免疫機制在異位性皮炎之病理學中具有重要地位，但越來越多的證據支持若干免疫路徑之作用。

【0003】 用於AD之治療包括全身性免疫抑制劑，諸如環孢素(cyclosporin)、甲胺喋呤(methotrexate)、黴酚酸嗎啉乙酯(mycophenolate mofetil)及硫唑嘌呤(azathioprine)。抗抑鬱劑及納曲酮(naltrexone)可用於控制搔癢症。在2016年，克里博羅(crisaborole)，一種局部磷酸二酯酶-4抑制劑，被批准用於輕度至中度濕疹，且在2017年，

度匹魯單抗(dupilumab),一種IL-4R α 之單株抗體拮抗劑，被批准用於治療中度至重度濕疹。然而，當前治療選擇方案僅提供暫時的、不完全的症狀緩解。

【0004】 IL22為IL10細胞介素家族之成員，其取決於環境情況而在各種發炎性及組織反應中具有多種功能。IL22主要由淋巴細胞(諸如T輔助1 (Th1)細胞、Th17細胞及Th22細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、自然殺手(NK)細胞及先天性淋巴細胞(ILC) 3)以及非淋巴細胞(諸如纖維母細胞、嗜中性球、巨噬細胞及肥大細胞)產生(關於概述，參見：Lanfranca M P等人, J. Mol. Med. (Berl) (2016) 94(5):523-534)。IL22借助於由IL22受體1 (IL22R1，亦稱為IL22RA1或介白素-22受體子單元子 α -1)及IL10受體2 (IL10R2)構成之雜二聚跨膜受體複合物進行信號傳導，而IL10藉助於IL10R1及IL10R2進行信號傳導。與IL-10家族之其他成員類似，IL22經由IL22R1/IL10R2複合物及後續的JAK信號轉導子及轉錄活化因子(STAT)信號傳導路徑(包括Jak1、Tyk2及STAT3)介導其作用。與IL10不同，亦報告IL22經由多種MAPK路徑(諸如ERK1/2、JNK及p38)進行信號傳導。在皮膚中，IL22經由與表現於角質細胞上之IL22R1結合來作用於此等細胞。

【0005】 與IL10細胞介素家族中之其他成員不同，IL22具有可溶性分泌受體，稱為IL22結合蛋白質(IL22BP，亦稱為IL22RA2或介白素-22受體子單元 α 2)。儘管IL22BP與IL22R1鏈共有最高的結構同源性，但IL22BP與IL22R1相比呈現明顯更高的針對IL22之親和力且因此阻止IL22與IL22R1之結合。

【0006】 已證實，對IL22具有特異性之IL22BP阻斷IL22之活性。

IL22之整體抑制已在嚴重異位性皮炎患者或高基線IL22表現患者中展示有效信號(Guttman-Yassky E等人, J Am Acad Dermatol. 2018; 78(5): 872-881及Brunner PM等人, J Allergy Clin Immunol. 2019; 143(1): 142-154)。亦提出將IL22R1之抑制作為用於抑制IL22之潛在治療選擇方案，其亦將部分阻斷IL-20及IL-24之作用。迄今為止，不存在經設計以特異性靶向未與IL22BP結合，因此對IL22BP之正常生物功能無影響之生物活性IL22之治療選擇方案。

【0007】 Th22細胞介素IL22之表現增加為異位性皮炎(AD)之特徵性發現結果。然而，尚未完全理解活體內IL22在AD之發病機制中之特定作用。尚未特定地研究IL22在AD之發展及維持中之作用，但已假設IL22藉由損害皮膚障壁功能、免疫失調及搔癢症而在AD之發展中發揮重要作用。

【0008】 US8906375及US7901684揭示結合IL22之抗體及此類抗體在治療AD中之有效性。US7737259揭示適用於治療牛皮癬之特異性抗IL22抗體。

【0009】 IL13為與IL4共有25%序列一致性之短鏈細胞介素。其包含約132個胺基酸，形成具有跨越殘基10-21 (螺旋A)、43-52 (螺旋B)、61-69 (螺旋C)及92-110 (螺旋D)之四個螺旋以及跨越殘基33-36及87-90之兩個β股之二級結構。已解析IL13之溶液結構，顯示所預測的上-上-下-下型四螺旋束構形，亦在IL4中觀測到此構形。

【0010】 人類IL13為17 kDa醣蛋白且係由經活化之Th2譜系之T細胞產生，但Th0及Th1 CD4+ T細胞、CD8+ T細胞以及若干非T細胞群體(諸如肥大細胞)亦產生IL13。IL13之功能包括人類B細胞中之免疫球蛋白

同型轉換成IgE以及在人類及小鼠中抑制發炎性細胞介素產生。已證實IL13在表皮增厚中起作用。

【0011】 IL13 與其細胞表面受體 IL13R- α 1 及 IL13R- α 2 結合。IL13R- α 1以低親和力(KD為約10 nM)與IL13相互作用，接著進行IL4R- α 之募集以形成高親和力(KD為約0.4 nM)雜二聚受體信號傳導複合物。

【0012】 IL4R/IL13R α 1在許多細胞類型上表現，諸如B細胞、單核球/巨噬細胞、樹突狀細胞、嗜酸性球、嗜鹼性球、纖維母細胞、內皮細胞、呼吸道上皮細胞及呼吸道平滑肌細胞。IL13R- α /IL4R受體複合物之接合引起多種信號轉導路徑之活化，包括信號轉導子及轉錄活化因子6 (STAT6)以及胰島素受體受質2 (IRS2)路徑。

【0013】 單獨的IL13R- α 2鏈對IL13具有高親和力(KD為約0.25-0.4 nM)。其充當負調節IL13結合之誘餌受體，及經由巨噬細胞及可能的其他細胞類型中之AP-1路徑誘導TGF- β 合成及纖維化之信號傳導受體。

【發明內容】

【0014】 本發明藉由提供結合IL13及IL22之抗體來解決對發炎性病狀，諸如發炎性皮膚病狀，特定言之，異位性皮炎之新型治療之需求。本發明首次證明抑制IL13及IL22可恢復正常皮膚表現型。

【0015】 本發明提供包含至少兩個抗原結合域之多特異性抗體，其中一個抗原結合域結合於IL13且第二抗原結合域結合於IL22。

【0016】 本發明亦提供一種醫藥組合物，其包含結合於IL13之抗體及結合於IL22之抗體。

【0017】 本發明亦提供結合於且中和IL13之抗體與結合於且中和IL22之抗體之組合，其係用於治療發炎性皮膚病狀。

【圖式簡單說明】

【0018】 下文中藉由參考以下圖式來描述本發明，其中：

【0019】 圖1展示根據本發明之多特異性抗體之兩個實例之示意圖：(A)具有IL13結合域、IL22結合域及白蛋白結合域之TrYbe分子；(B)具有IL13結合域及IL22結合域之杵-臼分子(以2種可能的定向)。

【0020】 圖2展示Ab650人類化比對。(A)輕鏈移植物；(B)重鏈移植物。

【0021】 圖3展示抗體11041輕鏈之人類化。亦展示所產生之該鏈之不同變異體。CDR序列加有下劃線。

【0022】 圖4展示抗體11041重鏈之人類化。亦展示所產生之該鏈之不同變異體。CDR序列加有下劃線。

【0023】 圖5展示抗體11070輕鏈(A)及重鏈(B)之人類化。亦展示所產生之該鏈之不同變異體。CDR序列加有下劃線。

【0024】 圖6展示HDX-MS實驗之IL22肽覆蓋圖。

【0025】 圖7展示11041gL13gH14 Fab之HDX-MS分析之結果。(A)列舉在抗體結合後展示顯著降低之氘併入之肽。在存在及不存在抗體之情況下展示類似轉換模式之肽不具有顯著的氘併入且以淺灰色顯示。(B)將所測定之11041gL13gH14 Fab抗原決定基投影至IL22 3D結構上且以黑色突出顯示。顯示來自X射線資料之與IL22結合之相關11041gL13gH14 Fab以用於參考。

【0026】 圖8展示11070gL7gH16 Fab之HDX-MS分析之結果。(A)列舉在抗體結合後展示顯著降低之氘併入之肽。在存在及不存在抗體之情況下展示類似轉換模式之肽不具有顯著的氘併入且以淺灰色顯示。(B)將

所測定之11070gL7gH16 Fab抗原決定基投影至IL22 3D結構上且以黑色突出顯示。

【0027】 圖9展示與IL22結合之11041gL13gH14 Fab之X射線分析之結果。(A)與IL-22結合之11041gL13gH14 Fab之草圖。(B) IL-22與11041gL13gH14 Fab之間的相互作用界面之詳細視圖。

【0028】 圖10展示11041gL13gH14 Fab分子阻止IL22與IL22R1受體之相互作用。(A) IL22 (表面圖)與其受體IL22R1 (PDB: 3DLQ)之複合物。(B) 11041gL13gH14 Fab輕鏈阻斷IL22與IL22R1之間的相互作用位點。

【0029】 圖 11 展示 (A) 呈 Fab 型式之 IL22 與非紫奴單抗 (Fezakinumab) 及 11070gL7gH16 Fab (VR11070) 之複合物之冷凍電鏡 (Cryo-EM) 結構；及 (B) IL22 與非紫奴單抗及 11041gL13gH14 Fab (VR11041) 之複合物之模型。藉由在小圖(A)中之冷凍電鏡結構上疊加 IL22/11041gL13gH14 Fab 晶體結構來產生該模型。此揭示 11070gL7gH16 Fab及11041gL13gH14 Fab在IL22上具有類似的抗原決定基。

【0030】 圖12展示(A)在IL-22與11070gL7gH16 Fab及非紫奴單抗 Fab之複合物之冷凍電鏡結構上，結合於IL22之IL22R1之晶體結構之疊加；及(B)已知促進與IL-10R2之相互作用的IL-22殘基之側鏈以棒狀物形式展示。此位點由非紫奴單抗Fab分子佔據。

【0031】 圖 13 展示在還原(泳道1)或非還原(泳道2)條件下，IL13/IL22 TrYbe之SDS-PAGE結果。使用Mark 12蛋白質標記物(Life Technologies)作為標準物(M)。以千道爾頓(kDa)為單位量測分子量

(MW)。

【0032】 圖14展示活體外人類初生角質細胞分析法中之IL13/IL22 TrYbe (TRYBE)活性。(A)分析法中之伊紅趨素-3(eotaxin-3)反應之實例。幾何平均值 $n=4-6$ ；刺激：IL-13及IL-22，100 ng/ml；雷布瑞奇單抗 (Lebrikizumab；Leb)及非紮奴單抗 (Fez)，100 nM；以及IL13/IL22 TrYbe (TRYBE)，25 nM。(B)分析法中之S100A7反應之實例。幾何平均值 $n=5-6$ ；刺激：IL-13及IL-22，100 ng/ml；雷布瑞奇單抗 (Leb)及非紮奴單抗 (Fez)，100 nM；以及IL13/IL22 TrYbe (TRYBE)，25 nM。

【0033】 圖15展示活體外人類初生角質細胞分析法中之IL13/IL22 TrYbe及IL13/IL22 KiH分子活性。(A)分析法中之由IL13/IL22 TrYbe進行之伊紅趨素-3及S100A7之抑制百分比。平均值 \pm SD， $n=3$ 個供體，統計資料：log(抑制劑)對比反應(三個參數)，刺激：IL-13及IL-22，100 ng/ml。(B)分析法中之由呈KiH格式之雙特異性IL13/IL22 (IL13 K/IL 22 H及IL13 H/IL 22 K)進行之伊紅趨素-3及S100A7之抑制百分比。平均值 \pm SD， $n=2$ 個供體，統計資料：log(抑制劑)對比反應(三個參數)，刺激：IL-13及IL-22，100 ng/ml。

【0034】 圖16展示在7天培養(每隔一天處理一次)之後，IL-13、IL-22或其組合(各100 ng/ml)對重組人類表皮(來自MatTek之EpiDerm FT)之作用。

【0035】 圖17展示在EpiDermFT模型中用100 ng/ml之IL-13與IL-22之組合進行的66 nM至0.2 nM之IL13/IL22 TrYbe (TRYBE)之滴定，或用單獨的IL-13或IL-22進行的66 nM IL13/IL22 TrYbe (TRYBE)之滴定。

【0036】 圖18展示在EpiDermFT模型中，莫耳當量之雷布瑞奇單

抗、非紮奴單抗(單獨或呈組合形式)及IL13/IL22 TrYbe對100 ng/ml之IL-13及IL-22之組合之作用。

【實施方式】

縮寫

【0037】 表1. 在整個本說明書中使用之縮寫

ADCC	抗體依賴性細胞毒性
CDC	補體依賴性細胞毒性
CDR	互補決定區
CH1、CH2、CH3	重鏈恆定域
CL	輕鏈恆定域
dsscFv	二硫鍵穩定之scFv
Fab	抗原結合片段
Fc	可結晶片段
FR1、FR2、FR3、FR4	構架區
Fv	可變域
HVR	高變區
KD	解離常數
mAb	單株抗體
scFv	單鏈可變片段
VH	重鏈可變區
VHH	單域抗體
VL	輕鏈可變區
VNAR	IgNAR之可變域

【0038】 表2. 胺基酸縮寫

縮寫	1個字母之縮寫	胺基酸名稱
Ala	A	丙胺酸
Arg	R	精胺酸
Asn	N	天冬醯胺
Asp	D	天冬胺酸
Cys	C	半胱胺酸
Gln	Q	麩醯胺酸
Glu	E	麩胺酸
Gly	G	甘胺酸
His	H	組胺酸
Ile	I	異白胺酸
Leu	L	白胺酸
Lys	K	離胺酸
Met	M	甲硫胺酸
Phe	F	苯丙胺酸
Pro	P	脯胺酸
Pyl	O	吡咯離胺酸
Ser	S	絲胺酸

Sec	U	硒半胱氨酸
Thr	T	蘇胺酸
Trp	W	色胺酸
Tyr	Y	酪胺酸
Val	V	纈胺酸

定義

【0039】 在整個本說明書中使用以下術語。

【0040】 如本文中所使用之術語「受體人類構架」為來源於人類免疫球蛋白構架或人類共同構架的包含輕鏈可變域(VL)構架或重鏈可變域(VH)構架之胺基酸序列之構架。來源於人類免疫球蛋白構架或人類共同構架之受體人類構架可包含與人類免疫球蛋白構架或人類共同構架相同的胺基酸序列，或其可含有胺基酸序列變化。

【0041】 術語「親和力」係指抗體與其目標蛋白質之間的所有非共價相互作用之強度。如本文中所使用，除非另外指明，否則術語「結合親和力」係指固有結合親和力，其反映結合對中之成員(例如，抗體及抗原)之間的1:1相互作用。分子針對其結合搭配物之親和力通常可由解離常數(KD)表示。可藉由此項技術中已知之常用方法(包括本文中所描述之方法)來量測親和力。

【0042】 在抗體之情形下，術語「親和力成熟」係指與不具有高變區中之一或多種變化之親本抗體相比，在高變區中具有一或多種此類變化之抗體，其中此類變化引起抗體針對抗原之親和力之改良。

【0043】 在本文中，術語「抗體」係以最廣泛含義使用且涵蓋各種抗體結構，包括(但不限於)單株抗體、多株抗體及多特異性抗體，只要其呈現所需抗原結合活性即可。如本文中所使用，術語抗體係指完全(全長)抗體(亦即，包含兩條重鏈及兩條輕鏈之元件)及其功能活性片段(亦即，含有特異性結合於抗原之抗原結合域之分子，亦稱為抗體片段或抗原結合

片段)。除非上下文另外規定，否則本文中關於抗體所描述之特徵亦適用於抗體片段。抗體可包含連接至兩個scFv或dsscFv之Fab，各scFv或dsscFv結合相同或不同的目標(例如，一個scFv或dsscFv結合治療目標且一個scFv或dsscFv藉由結合於例如白蛋白來延長半衰期)。此類抗體描述於WO2015/197772中。術語「抗體」涵蓋單價抗體，亦即，僅包含一個抗原結合域之抗體(例如，包含互連的全長重鏈及全長輕鏈之單臂抗體，亦稱為「半抗體」)，及多價抗體，亦即，包含超過一個抗原結合域之抗體，例如，二價抗體。

【0044】 術語「與參考抗體結合於相同抗原決定基之抗體」係指滿足以下條件之抗體：在競爭分析法中阻斷參考抗體與其抗原之結合達50%或更多，且相反，在競爭分析法中參考抗體阻斷該抗體與其抗原之結合達50%或更多。

【0045】 術語「抗體依賴性細胞毒性」或「ADCC」為誘導細胞死亡之機制，其依賴於經抗體塗佈之目標細胞與具有裂解活性之效應細胞(諸如自然殺手細胞、單核球、巨噬細胞及嗜中性球)經由表現於效應細胞上之Fc γ 受體(Fc γ R)進行之相互作用。

【0046】 如本文中所使用之術語「抗原結合域」係指抗體中之與目標抗原特異性相互作用之部分，其包含一或多個可變域之一部分或全部，例如一對可變域VH及VL之一部分或全部。在本發明之情形下，該術語係與三種不同抗原結合使用：IL13、IL22及白蛋白。因此，將此類抗原結合域稱為「IL13結合域」、「IL22結合域」及「白蛋白結合域」。結合域可包含單域抗體。各結合域可為單價的。各結合域可包含不超過一個VH及一個VL。抗原結合域可包含以下或由以下組成：抗體或抗體之抗原

結合片段。抗原結合域之實例為包含重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)之VH/VL單元。

【0047】 如本文中所使用，術語「抗原結合片段」係指功能活性抗體結合片段，包括(但不限於)Fab、經修飾之Fab、Fab'、經修飾之Fab'、F(ab')₂、Fv、單域抗體、scFv、Fv、二價抗體、三價抗體或四價抗體、雙scFv、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體及以上中之任一者之抗原決定基結合片段(參見例如Holliger及Hudson, 2005, Nature Biotech. 23(9): 1126-1136 ; Adair及Lawson, 2005, Drug Design Reviews - Online 2(3), 209-217)。如本文中所使用，「結合片段」係指滿足以下條件之片段：能夠以足以將該片段表徵為對肽或抗原具有特異性的親和力結合於目標肽或抗原。

【0048】 術語「抗體變異體」係指多肽，舉例而言，具有本文中所描述之所需特徵且包含與參考抗體之VH及/或VL具有至少約80%胺基酸序列一致性之VH及/或VL之抗體。此類抗體變異體包括例如其中一或多個胺基酸殘基添加至VH及/或VL域中或自VH及/或VL域缺失之抗體。通常，抗體變異體將與本文中所描述之抗體具有至少約80%胺基酸序列一致性，或者至少約85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性中之任一者。視情況地，變異型抗體與本文中所提供之抗體序列相比將具有不超過一個保守性胺基酸取代，或者與本文中所提供之抗體序列相比不超過約2、3、4、5、6、7、8、9或10個保守性胺基酸取代中之任一者。

【0049】 如本文中所使用，術語「雙特異性」或「雙特異性抗體」係指具有兩種抗原特異性之抗體。

【0050】術語「互補決定區」或「CDR」通常係指包含六個CDR之抗體：三個在VH中(H1、H2、H3)且三個在VL中(L1、L2、L3)。根據Kabat編號系統，重鏈可變域之CDR位於殘基31-35 (CDR-H1)、殘基50-65 (CDR-H2)及殘基95-102 (CDR-H3)。然而，根據Chothia (Chothia, C. 及Lesk, A.M. J. Mol. Biol., 196, 901-917 (1987))，等效於CDR-H1之環自殘基26延伸至殘基32。因此，除非另外指明，否則如Kabat編號系統與Chothia拓樸環定義之組合所描述，如本文中所使用之「CDR-H1」意欲指殘基26至35。根據Kabat編號系統，輕鏈可變域之CDR位於殘基24-34 (CDR-L1)、殘基50-56 (CDR-L2)及殘基89-97 (CDR-L3)。除非另外指明，否則本文中之可變域中之CDR殘基及其他殘基(例如，FR殘基)係根據Kabat編號。

【0051】術語「嵌合」抗體係指滿足以下條件之抗體：重鏈及/或輕鏈之可變域(或其至少一部分)係來源於特定來源或物種，而重鏈及/或輕鏈之其餘部分(亦即，恆定域)係來源於不同來源或物種(Morrison; PNAS 81, 6851 (1984))。舉例而言，嵌合抗體可包含非人類可變域及人類恆定域。通常使用重組DNA方法製備嵌合抗體。「嵌合抗體」之子類別為「人類化抗體」。

【0052】抗體之「類別」係指其重鏈所具有之恆定域或恆定區的類型。存在五種主要類別之抗體：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且此等抗體中之若干者可進一步分成子類(同型)，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2。對應於不同類別之免疫球蛋白之重鏈恆定域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。

【0053】在多重抗體之情形下，術語「組合」或「抗體組合」係指

未以物理方式混合(作為組合物之一部分)，而以單獨的抗體或各自呈與其他成分之組合物之形式提供之多個(2個或更多個)抗體。

【0054】 術語「補體依賴性細胞毒性」或「CDC」係指誘導細胞死亡之機制，其中與目標結合的抗體之Fc效應子域結合於且活化補體組分C1q，其又活化補體級聯，引起目標細胞死亡。

【0055】 如本文中所使用，術語「恆定域」或「恆定區」可互換地用於指抗體之位於可變區外部之域。恆定域在相同同型之所有抗體中一致，但在同型之間係不同的。通常，重鏈恆定區自N端至C端由包含三個或四個恆定域之CH1-鉸鏈-CH2-CH3-視情況存在之CH4形成。

【0056】 術語「競爭抗體」或「交叉競爭抗體」應解釋為意謂所主張之抗體結合於(i)抗原上之與由參考抗體所結合之位置相同的位置，或(ii)抗原上之抗體在空間上阻礙參考抗體與抗原結合之位置。

【0057】 如本文中所使用，術語「衍生物」意欲包括反應性衍生物，例如硫醇選擇性反應性基團，諸如順丁烯二醯亞胺及其類似物。反應性基團可直接或經由連接子區段連接至聚合物。應瞭解，此類基團之殘基在一些情況下將作為抗體片段與聚合物之間的連接基團而形成產物之一部分。

【0058】 在產生可變序列之情形下，術語「來源於」係指以下事實：所使用之序列或與所使用之序列極類似之序列係自原始遺傳物質(諸如抗體之輕鏈或重鏈)獲得。

【0059】 如本文中所使用，術語「雙功能抗體」係指兩個Fv對，第一VH/VL對及另一個VH/VL對，其具有兩個Fv間連接子，使得第一Fv之VH連接至第二Fv之VL且第一Fv之VL連接至第二Fv之VH。

【0060】如本文中所使用，術語「DiFab」係指經由重鏈之C端連接之兩個Fab分子。

【0061】如本文中所使用，術語「DiFab'」係指經由鉸鏈區中之一或多個二硫鍵連接之兩個Fab'分子。

【0062】如本文中所使用，術語「dsFab」係指具有可變區內二硫鍵之Fab。

【0063】如本文中所使用，術語「dsscFv」或「二硫鍵穩定之單鏈可變片段」係指藉由VH與VL可變域之間的肽連接子而穩定化且亦包括VH與VL之間的域間二硫鍵之單鏈可變片段(參見例如Weatherill等人, *Protein Engineering, Design & Selection*, 25 (321-329), 2012, WO2007109254)。

【0064】術語「DVD-Ig」(亦稱為雙重V域IgG)係指具有4個額外可變域(每條重鏈及每條輕鏈之N端上具有一個)之全長抗體。

【0065】術語「效應功能」係指可歸因於抗體之Fc區之生物活性，其隨抗體同型而變化。抗體效應功能之實例包括：Clq結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)、Fc受體結合、抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)、吞噬作用、細胞表面受體(例如，B細胞受體)之下調及B細胞活化。

【0066】如本文中所使用，術語「效應分子」包括例如抗腫瘤劑、藥物、毒素、生物活性蛋白質(例如，酶)、其他抗體或抗體片段、合成或天然存在之聚合物、核酸及其片段(例如，DNA、RNA及其片段)、放射性核種(尤其放射性碘)、放射性同位素、螯合金屬、奈米粒子及報導基團，諸如螢光化合物或可藉由NMR或ESR光譜法偵測的化合物。

【0067】 在抗體之情形下，術語「抗原決定基」或「結合位點」係指抗原上之由抗體之互補位結合或識別之位點(或部分)。抗原決定基可由相鄰胺基酸形成(亦通常稱為「線形抗原決定基」)或由蛋白質之三級摺疊形成之非相鄰胺基酸形成(通常稱為「構形抗原決定基」)。由相鄰胺基酸形成的抗原決定基通常在暴露於變性溶劑後保留，而藉由摺疊形成的抗原決定基通常在變性溶劑處理後消失。抗原決定基通常在獨特空間構形中包括至少3個，且更通常至少5-10個胺基酸。抗原決定基通常由分子之化學活性表面基團(諸如胺基酸、糖側鏈)組成且通常具有特定3D結構及電荷特徵。

【0068】 「EU索引」或「如Kabat中之EU索引」或「EU編號方案」係指EU抗體之編號(Edelman等人, 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85)。此類編號通常在參考抗體重鏈恆定區中之殘基時使用(例如，Kabat等人中所報導)。除非另外陳述，否則EU編號方案係用於指本文中所描述之抗體重鏈恆定區中之殘基。

【0069】 如本文中所使用，術語「Fab」係指包含有包含VL (可變輕鏈)域及輕鏈之恆定域(CL)的輕鏈片段以及VH (可變重鏈)域及重鏈之第一恆定域(CH1)的抗體片段。根據本發明之Fab'之二聚體產生F(ab')₂，其中例如二聚作用可經由鉸鏈進行。

【0070】 如本文中所使用，術語「Fab'-Fv」與FabFv類似，其中Fab部分由Fab'置換。該型式可以其聚乙二醇化版本形式提供。

【0071】 如本文中所使用，術語「Fab'-scFv」為具有在輕鏈或重鏈之C端上附接之scFv之Fab'分子。

【0072】 如本文中所使用，術語「Fab-dsFv」係指其中Fv內二硫鍵

使附接之C端可變區穩定之FabFv。該型式可以其聚乙二醇化版本形式提供。

【0073】如本文中所使用，術語「Fab-Fv」係指具有附接以下中之每一者之C端的可變區之Fab片段：重鏈之CH1及輕鏈之CL。該型式可以其聚乙二醇化版本形式提供。

【0074】如本文中所使用，術語「Fab-scFv」為具有在輕鏈或重鏈之C端上附接之scFv之Fab分子。

【0075】術語「Fc」、「Fc片段」及「Fc區」可互換地用於指抗體之包含除第一恆定區免疫球蛋白域以外的抗體之恆定區之C端區域。因此，Fc係指IgA、IgD及IgG之最後兩個恆定域CH2及CH3，或IgE及IgM之最後三個恆定域，及此等域之N端之可撓性鉸鏈。人類IgG1重鏈Fc區在本文中定義為包含殘基C226至其羧基端，其中編號係根據EU索引。在人類IgG1之情形下，根據EU索引，下部鉸鏈係指位置226-236，CH2域係指位置237-340且CH3域係指位置341-447。其他免疫球蛋白之相應Fc區可藉由序列比對來鑑別。

【0076】術語「構架」或「FR」係指除高變區殘基以外的可變域殘基。可變域之FR通常由四個FR域組成：FR1、FR2、FR3及FR4。因此，在VH（或VL）中，HVR及FR序列通常按以下序列呈現：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0077】術語「全長抗體」在本文中用於指具有與原生抗體結構實質上類似之結構或具有含有如本文中所定義之Fc區之重鏈之抗體。各輕鏈包含輕鏈可變區(本文中縮寫為VL)及輕鏈恆定區(CL)。視Ig類別而定，各重鏈包含重鏈可變區(本文中縮寫為VH)及由三個恆定域CH1、CH2及CH3

或四個恆定域CH1、CH2、CH3及CH4構成之重鏈恆定區(CH)。抗體之恆定區可介導免疫球蛋白與宿主組織或因子之結合，包括免疫系統之多種細胞(例如，效應細胞)及經典補體系統之第一組分(C1q)。

【0078】術語「Fv」係指全長抗體之兩個可變域，例如共同操作性可變域，諸如同源對或親和力成熟可變域，亦即，VH及VL對。

【0079】如在胺基酸序列之情形下所使用，術語「極類似」意指在全長範圍內達到95%類似或更高，諸如96%、97%、98%或99%類似之胺基酸序列。

【0080】術語「人類抗體」係指滿足以下條件之抗體：具有對應於由人類或人類細胞產生或來源於非人類來源之抗體的胺基酸序列之胺基酸序列，該非人類來源利用人類抗體譜系或其他人類抗體編碼序列。人類抗體之此定義尤其排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。

【0081】術語「人類共同構架」係指表示一系列人類免疫球蛋白VL或VH構架序列中最常出現之胺基酸殘基的構架。通常，人類免疫球蛋白VL或VH序列係選自可變域序列之子組。通常，序列之子組為如Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, NIH公開案91-3242, Bethesda MD (1991), 第1-3卷中之子組。在一些實施例中，對於VL，子組為如Kabat等人，見上文中之子組κI。在一些實施例中，對於VH，子組為如Kabat等人中之子組I、III或IV。

【0082】術語「人類化」抗體係指包含來自非人類HVR之胺基酸殘基及來自人類FR之胺基酸殘基之抗體。通常，重鏈及/或輕鏈含有來自供體抗體(例如，非人類抗體，諸如小鼠或兔單株抗體)之一或多個CDR (視需要包括一或多個經修飾之CDR)且移植至受體抗體(人類抗體)之可變區

構架之重鏈及/或輕鏈中(參見例如Vaughan等人, *Nature Biotechnology*, 16, 535-539, 1998)。此類人類化抗體之優點係降低針對人類之免疫原性, 同時保留親本非人類抗體之特異性及親和力。可僅將來自上文所描述之任一CDR之一或多個特異性決定殘基轉移至人類抗體構架中, 而非轉移整個CDR (參見例如Kashmiri等人, 2005, *Methods*, 36, 25-34)。「人類化」抗體係指包含來自非人類HVR之胺基酸殘基及來自人類FR之胺基酸殘基之嵌合抗體。抗體, 例如非人類抗體之「人類化形式」係指經歷人類化之抗體。

【0083】 如本文中所使用, 術語「高變區」或「HVR」係指抗體可變域中之滿足以下條件之各區域: 在序列方面具有高變性(「互補決定區」或「CDR」), 及/或形成結構上定義之環(「高變環」), 及/或含有抗原接觸殘基(「抗原接觸件」)。

【0084】 如本文中所使用, 術語「IC50」係指半最大抑制濃度, 其為物質(諸如抗體)抑制特定生物或生物化學功能之有效性之量度。IC50係定量量度, 其指示抑制既定生物過程達50%所需之特定物質之量。

【0085】 序列中之胺基酸之間的「一致性」指示在所比對之序列中之任何特定位置, 序列之間的胺基酸殘基係一致的。

【0086】 如本文中所使用, 術語「IgG-scFv」為具有各重鏈或各輕鏈之C端上之scFv之全長抗體。

【0087】 如本文中所使用, 術語「IgG-V」為具有各重鏈或各輕鏈之C端上的可變域之全長抗體。

【0088】 在本說明書通篇中, 術語「經分離」意謂視具體情況而定, 抗體或多核苷酸存在於與其在自然界中所存在於之物理環境不同的物

理環境中。術語「經分離」之核酸係指已自其天然環境分離或以合成方式產生之核酸分子。經分離之核酸可包含合成DNA(例如，藉由化學處理產生)、cDNA、基因體DNA或其任何組合。

【0089】 術語「Kabat殘基名稱」或「Kabat」係指通常用於抗體之殘基編號方案。此類編號並非始終與胺基酸殘基之線形編號直接對應。對應於基本可變域結構之結構組分之縮短或插入(無論構架或互補決定區(CDR))，與嚴格Kabat編號相比，實際線形胺基酸序列可含有較少或額外的胺基酸。對於既定抗體，可藉由將抗體序列中之具有同源性之殘基與「標準」Kabat編號序列進行比對來確定殘基之正確Kabat編號。關於詳細說明，參見Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)。除非另外指明，否則在整個本說明書中使用Kabat編號。

【0090】 如本文中所使用，術語「KD」係指解離常數，其係由Kd與Ka之比率(亦即， Kd/Ka)獲得且以莫耳濃度(M)表示。Kd及Ka分別係指特定抗原-抗體相互作用之解離速率及締合速率。可使用此項技術中公認的方法測定抗體之KD值。

【0091】 術語「單株抗體」(或「mAb」)係指自實質上均質的抗體群體獲得之抗體，亦即，除可能少量存在之可能的突變(例如，天然存在之突變)以外，各個單株抗體製劑係一致的。然而，存在於組合物中之各種不同的抗體分子之間可存在與轉譯後修飾(例如，重鏈C端離胺酸之裂解、天冬醯胺殘基之去醯胺化及/或天冬胺酸殘基之異構化)有關的蛋白質序列之某些差異。與多株抗體製劑不同，單株抗體製劑中之各單株抗體係針對抗原上之單一決定子。

【0092】如本文中所使用，術語「多互補位抗體」係指包含兩個或更多個不同互補位之如本文中所描述之抗體，該等互補位與來自相同抗原或兩種不同抗原之不同抗原決定基相互作用。本文中所描述之多互補位抗體可為雙互補位、三互補位、四互補位。

【0093】如本文中所使用之術語「多特異性」或「多特異性抗體」係指具有至少兩個結合域(亦即，兩個或更多個結合域，例如兩個或三個結合域)之如本文中所描述之抗體，其中該至少兩個結合域獨立地結合兩種不同抗原或相同抗原上之兩種不同抗原決定基。多特異性抗體對於各特異性(抗原)而言通常為單價的。本文中所描述之多特異性抗體涵蓋單價及多價，例如二價、三價、四價多特異性抗體。

【0094】在抗體及抗原結合域之情形下，術語「中和(neutralizing/neutralize)」描述能夠抑制或減弱其目標(目標蛋白質)之生物信號傳導活性之抗體(或抗原結合域)。

【0095】術語「互補位」係指抗體中之識別且結合於抗原之區域。

【0096】術語相對於多肽及抗體序列之「序列一致性(或類似性)百分比(%)」定義為在比對序列且視需要引入空位以實現最大序列一致性百分比且不將任何保守性取代視為序列一致性之一部分之後，候選序列中之與所比較之多肽中之胺基酸殘基一致(或類似)的胺基酸殘基之百分比。

【0097】「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥調配物中之除活性成分以外的成分，其對受試者無毒性。醫藥學上可接受之載劑包括(但不限於)緩衝液、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

【0098】術語「多株抗體」係指與抗原之超過一種抗原決定基結合(或以其他方式相互作用)之不同抗體分子之混合物。

【0099】在抗體之情形下，術語「預防」在本文中可與術語「抑制」互換地使用且指示根據本發明之抗體對特定生物過程或分子相互作用之作用。

【0100】術語「sc雙功能抗體」係指包含Fv內連接子之雙功能抗體，使得分子包含三個連接子且形成VH及VL端各自連接至另一對Fv之一個可變區之正常scFv。

【0101】如本文中所使用之術語「sc雙功能抗體-CH3」係指各自例如經由鉸鏈連接至CH3域之兩個sc雙功能抗體分子。

【0102】如本文中所使用，術語「sc雙功能抗體-Fc」為兩個sc雙功能抗體，其中各sc雙功能抗體例如經由鉸鏈附接至恆定區片段-CH2CH3之CH2域之N端。

【0103】如本文中所使用，術語「單鏈可變片段」或「scFv」係指由VH與VL可變域之間的肽連接子穩定化之單鏈可變片段。

【0104】如本文中所使用，術語「ScFv-Fc-scFv」係指四個scFv，其中各scFv附接至-CH2CH3片段之兩條重鏈之N端及C端。

【0105】如本文中所使用之術語「scFv-IgG」為具有各重鏈或各輕鏈之N端上之scFv之全長抗體。

【0106】如本文中所使用，術語「類似性」指示在所比對之序列中之任何特定位置，序列之間的胺基酸殘基具有類似的類型。舉例而言，白胺酸可取代異白胺酸或纈胺酸。其他通常可彼此取代之胺基酸包括(但不限於)：

- 苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸(具有芳族側鏈之胺基酸)；
- 離胺酸、精胺酸及組胺酸(具有鹼性側鏈之胺基酸)；

- 天冬胺酸及麩胺酸(具有酸性側鏈之胺基酸)；
- 天冬醯胺及麩醯胺酸(具有醯胺側鏈之胺基酸)；以及
- 半胱胺酸及甲硫胺酸(具有含硫側鏈之胺基酸)。

【0107】 如本文中所使用，術語「單域抗體」係指由單一單體可變域組成之抗體片段。單域抗體之實例包括VH或VL或VHH或V-NAR。

【0108】 在抗體之情形下，如本文所使用之術語「特異性」意指僅識別特異性抗原之抗體，或相比於與非特異性抗原之結合，對特異性抗原具有明顯更高的結合親和力(例如，至少5、6、7、8、9、10倍更高的結合親和力)之抗體。

【0109】 如本文中所使用，術語「空間上阻斷」或「空間上阻止」意指藉由結合於第一蛋白質之第三蛋白質來阻斷第一蛋白質與第二蛋白質之間的相互作用之方法。歸因於第二蛋白質與第三蛋白質之間的不適當的凡得瓦爾力(van der Waals)或靜電相互作用，第一蛋白質與第三蛋白質之間的結合阻止第二蛋白質結合於第一蛋白質。

【0110】 在治療及診斷之情形下，術語「受試者」或「個體」通常係指哺乳動物。哺乳動物包括(但不限於)家養動物(例如牛、羊、貓、狗及馬)、靈長類動物(例如人類及非人類靈長類動物，諸如猴)、兔及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠)。更特定言之，個體或受試者為人類。

【0111】 如本文中所使用之術語「串聯scFv」係指經由單一連接子連接，使得存在單一Fv間連接子之至少兩個scFv。

【0112】 如本文中所使用，術語「串聯scFv-Fc」係指至少兩個串聯scFv，其中各scFv例如經由鉸鏈附接至恆定區片段-CH₂CH₃之CH₂域之N端。

【0113】如本文中所使用，術語「目標」或「抗體目標」係指抗體結合之目標抗原。

【0114】如本文中所使用，術語「四功能抗體」係指包含四個Fv及四個Fv間連接子之與雙功能抗體類似的型式。

【0115】術語「治療有效量」係指當向受試者投與以用於治療疾病時，足以實現此類疾病之治療的抗體之量。治療有效量將視抗體、所治療之受試者之疾病及其嚴重程度以及年齡、體重等而變化。

【0116】如本文中所使用之術語「三功能抗體」(亦稱為Fab(scFv)₂)係指具有附接至輕鏈之C端之第一scFv及附接至重鏈之C端之第二scFv的Fab片段。

【0117】如本文中所使用，術語「三特異性或三特異性抗體」係指具有三種抗原結合特異性之抗體。舉例而言，抗體為具有三個抗原結合域(三價)之抗體，該三個抗原結合域獨立地結合三個不同抗原或相同抗原上之三個不同抗原決定基，亦即，各結合域針對各抗原為單價的。三特異性抗體型式之一個實例為TrYbe。

【0118】術語「預防(prevent/preventing)」及其類似術語係指實現完全或部分預防疾病或其症狀方面之防治性作用。因此，預防涵蓋在可能易患疾病，但尚未診斷為罹患疾病之受試者中停止疾病之發生。

【0119】術語「治療(treatment/treating)」及其類似術語係指實現所需藥理學及/或生理學作用。該作用就部分或完成治癒疾病及/或由疾病引起之不良作用而言可為治療性的。因此，治療涵蓋(a)抑制疾病，亦即，遏制其發展；及(b)緩解疾病，亦即，引起疾病消退。

【0120】如本文中所使用，術語「TrYbe」係指包含兩個dsscFv之

三功能抗體(Fab(dsscFv)₂)。如本文中所使用，術語「IL13/IL22 TrYbe」係指包含IL13結合域及IL22結合域以及白蛋白結合域之TrYbe。

【0121】 術語「可變區」或「可變域」係指抗體重鏈或輕鏈中之涉及抗體與抗原之結合之域。全長重鏈(VH)及輕鏈(VL)之可變域通常具有類似結構，其中各域包含四個保守性構架區(FR)及三個CDR (參見例如 Kindt等人, Kuby Immunology, 第6版, W.H. Freeman and Co., 第91頁 (2007))。單一VH或VL域可足以賦予抗原結合特異性。各VH及VL係由自胺基端至羧基端按以下順序排列的三個CDR及四個FR構成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。CDR及FR共同形成可變區。按照慣例，抗體之重鏈可變區中之CDR稱為CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3且輕鏈可變區中之CDR稱為CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3。其在自各鏈之N端至C端之方向上依序編號。習知地根據由Kabat設計之系統來將CDR編號。

【0122】 如本文中所使用之術語「載體」係指能夠傳播至其所連接之另一個核酸的核酸分子。該術語包括呈自我複製核酸結構形式之載體以及併入已引入其之宿主細胞之基因體中的載體。某些載體能夠引導與其可操作地連接之核酸之表現。此類載體在本文中稱為「表現載體」。術語「載體」包括「表現載體」。

【0123】 術語「VH」係指重鏈之可變域(或序列)。

【0124】 如本文中所使用，術語「V-IgG」為具有各重鏈或各輕鏈之N端上的可變域之全長抗體。

【0125】 術語「VL」係指輕鏈之可變域(或序列)。

介白素22 (IL22)

【0126】 術語「介白素-22」或「IL22」係指能夠結合於IL22R1 (亦稱為IL22RA1、IL22受體1或介白素-22受體子單元 α -1)及/或IL22R1與IL10RA2之受體複合物(亦稱為IL22BP、IL22結合蛋白質或介白素-22受體子單元 α 2)之II類細胞介素。IL22亦稱為介白素-10相關T細胞衍生之可誘導因子(IL-TIF)。該術語係指天然存在或內源性哺乳動物IL22蛋白質，以及具有與天然存在或內源性相應哺乳動物IL22蛋白質之胺基酸序列相同的胺基酸序列之蛋白質(例如，重組蛋白質、合成蛋白質)。因此，如本文中所定義，該術語包括成熟IL22蛋白質、多態或對偶基因變異體及IL22之其他同功異型物(例如，由替代性剪接或其他細胞過程產生)，以及前述各者之經修飾或未經修飾之形式(例如，脂化、醯基化)。天然存在或內源性IL22包括野生型蛋白質，諸如成熟IL22、多態或對偶基因變異體以及天然存在於哺乳動物(例如，人類、非人類靈長類動物)中之其他同功異型物及突變形式。此等蛋白質及與天然存在或內源性相應IL22具有相同胺基酸序列之蛋白質係由相應哺乳動物之名稱提及。

【0127】 成熟人類IL22之胺基酸序列對應於SEQ ID NO:1之胺基酸34-179。重組人類IL22之分析揭示許多結構域(Nagem等人，(2002) Structure, 10:1051-62; US2002/0187512)。

介白素13 (IL13)

【0128】 「介白素-13」或「IL13」係指天然存在或內源性哺乳動物IL13蛋白質，以及具有與天然存在或內源性相應哺乳動物IL13蛋白質之胺基酸序列相同的胺基酸序列之蛋白質(例如，重組蛋白質、合成蛋白質)。因此，如本文中所定義，該術語包括成熟IL13蛋白質、多態或對偶基因變異體及IL13之其他同功異型物(例如，由替代性剪接或其他細胞過

程產生)，以及前述各者之經修飾或未經修飾之形式(例如，脂化、醯基化)。天然存在或內源性IL13包括野生型蛋白質，諸如成熟IL13、多態或對偶基因變異體以及天然存在於哺乳動物(例如，人類、非人類靈長類動物)中之其他同功異型物及突變形式。此等蛋白質及與天然存在或內源性相應IL13具有相同胺基酸序列之蛋白質係由相應哺乳動物之名稱提及。舉例而言，當相應哺乳動物為人類時，蛋白質稱為人類IL13。此項技術中已知若干突變型IL13蛋白質，諸如WO 03/035847中所揭示之蛋白質。

【0129】 如本文中所使用，術語「人類IL13」包括人類IL13細胞介素。該術語包括13 kDa多肽之單體蛋白質。人類IL13之結構進一步描述於例如Moy, Diblasio等人, 2001 J Mol Biol 310 219-30中。術語人類IL13意欲包括重組人類IL13 (其可由標準重組表現方法製備)。成熟人類IL13之胺基酸序列對應於SEQ ID NO:5之胺基酸25-146。

結合於IL22及IL13之抗體及抗原結合域

【0130】 本發明提供一種抗體(多特異性抗體)，其包含結合於IL13之抗原結合域(「IL13結合域」)及結合於IL22之抗原結合域(「IL22結合域」)。

【0131】 或者，IL13及IL22抗原結合域亦可存在於不同抗體上。因此，在一些實施例中，本發明使用包含IL22結合域之抗體及包含IL13結合域之抗體。此類抗體可為組合物之一部分。或者，其可個別地提供，或各自呈組合物形式。抗體可為全長抗體或全長抗體之片段。

【0132】 抗體可為(或來源於)多株、單株、完全人類、人類化或嵌合。

【0133】 僅出於參考及實例之目的而進一步描述抗體且不限制本發

明之範疇。

【0134】 根據本發明使用之抗體可為單株抗體或多株抗體，且較佳為單株抗體。根據本發明使用之抗體可為嵌合抗體、CDR移植抗體、奈米抗體、人類或人類化抗體。對於單株及多株抗體之產生，用於產生此類抗體之動物通常為非人類哺乳動物，諸如山羊、兔、大鼠或鼠，但亦可在其他物種中產生抗體。

【0135】 可藉由常規方法產生多株抗體，諸如用相關抗原對適合的動物進行免疫接種。接著，可自此類動物移出血液且將所產生之抗體純化。

【0136】 可藉由多種技術製備單株抗體，包括(但不限於)融合瘤方法、重組DNA方法、噬菌體呈現方法及使用含有全部或一部分人類免疫球蛋白基因座之轉基因動物之方法。本文中描述用於製備單株抗體之一些例示性方法。

【0137】 舉例而言，可使用融合瘤技術(Kohler及Milstein, 1975, Nature, 256:495-497)、三源融合瘤技術、人類B細胞融合瘤技術(Kozbor等人, 1983, Immunology Today, 4:72)及EBV融合瘤技術(Cole等人, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, 第77-96頁, Alan R Liss, Inc., 1985)製備單株抗體。

【0138】 亦可藉由例如 WO9202551、WO2004051268 及 WO2004106377中所描述之方法，使用單一淋巴細胞抗體方法，藉由選殖及表現由經選擇以用於製備特異性抗體之單一淋巴細胞所產生之免疫球蛋白可變區cDNA來產生單株抗體。

【0139】 在需要對動物進行免疫接種之情況下，可使用熟知及常規

的方案，藉由向動物，較佳非人類動物投與多肽來獲得針對目標多肽所產生的抗體，參見例如Handbook of Experimental Immunology, D. M. Weir (編)，第4卷，Blackwell Scientific Publishers, Oxford, England, 1986。可對許多動物進行免疫接種，諸如兔、小鼠、大鼠、羊、牛、駱駝或豬。然而，通常使用小鼠、兔、豬及大鼠。

【0140】單株抗體亦可使用此項技術中已知之各種噬菌體呈現方法產生且包括由Brinkman等人(J. Immunol. Methods, 1995, 182: 41-50)、Ames等人(J. Immunol. Methods, 1995, 184:177-186)、Kettleborough等人(Eur. J. Immunol. 1994, 24:952-958)、Persic等人(Gene, 1997 187 9-18)、Burton等人(Advances in Immunology, 1994, 57:191-280)所揭示之方法。在某些噬菌體呈現方法中，VH及VL基因之譜系分別藉由聚合酶鏈反應(PCR)選殖且在噬菌體庫中隨機重組，其接著可針對抗原結合噬菌體進行篩檢，如Winter等人, Ann. Rev. Immunol. 12:433-455 (1994)中所描述。噬菌體通常以單鏈Fv (scFv)片段或Fab片段形式呈現抗體片段。來自經免疫接種之來源之庫提供針對免疫原之高親和力抗體而無需構築融合瘤。或者，可選殖(例如，自人類)原生譜系以提供針對廣泛範圍之非自體抗原以及自體抗原之單一抗體來源而無需任何免疫接種，如Griffiths等人, EMBO J, 12: 725-734 (1993)所描述。最終，天然庫亦可以合成方式藉由自幹細胞選殖未經重排之V基因區段，且使用含有隨機序列以編碼高度可變CDR3區及實現活體外重排之PCR引子來製得，如由Hoogenboom及Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)所描述。描述人類抗體噬菌體庫之專利公開案包括例如：US 5,750,373及US 2005/0079574、US2005/0119455、US2005/0266000、US2007/0117126、US2007/0160598、

US2007/0237764、US2007/0292936及US2009/0002360。

【0141】 可使用用於量測與目標多肽之結合之分析法及/或用於量測抗體阻斷特定相互作用之能力之分析法進行抗體篩檢。結合分析法之實例為ELISA，舉例而言，使用固定在盤上之目標多肽之融合蛋白質且使用經結合之二級抗體以偵測抗體與目標之結合。阻斷分析法之實例為基於流式細胞測量術之分析法，其量測與目標多肽結合之配位體蛋白質之阻斷。使用經螢光標記之二級抗體偵測結合於目標多肽之此類配位體蛋白質之量。

【0142】 可藉由針對具有一或多種所需活性之抗體篩檢組合庫來分離抗體。舉例而言，此項技術中已知多種用於產生噬菌體呈現庫及針對具有所需結合特徵之抗體篩檢此類庫的方法。

【0143】 自人類抗體庫分離之抗體或抗體片段視為人類抗體或人類抗體片段。

【0144】 抗體可為全長抗體。更特定言之，抗體可具有IgG同型。更特定言之，抗體可為IgG1或IgG4。

【0145】 可視所提出的抗體分子之功能且特定言之，可能需要的效應功能來選擇抗體之恆定區域(若存在)。舉例而言，恆定區域可為人類IgA、IgD、IgE、IgG或IgM域。特定言之，當抗體分子意欲用於治療用途且需要抗體效應功能時，可使用人類IgG恆定區域，尤其IgG1及IgG3同型。或者，當抗體分子意欲用於治療目的且不需要抗體效應功能時，可使用IgG2及IgG4同型。應瞭解，亦可使用此等恆定區域之序列變異體。熟習此項技術者亦已知抗體可經歷各種轉譯後修飾。此等修飾之類型及程度通常視用於表現抗體的宿主細胞株以及細胞培養條件而定。此類修飾可包括糖基化變化、甲硫胺酸氧化、二酮哌啶形成、天冬胺酸異構化及天冬醯

胺去醯胺化。常見修飾為由於羧基胺酶作用而損失羧基端鹼性殘基(諸如離胺酸或精胺酸)(如Harris, R.J. *Journal of Chromatography* 705:129-134, 1995中所描述)。因此，可不存在抗體重鏈之C端離胺酸。

【0146】 或者，抗體為抗原結合片段。

【0147】 關於某些抗原結合片段之評述，參見Hudson等人，*Nat. Med.* 9: 129-134 (2003)。關於scFv片段之評述，參見例如Plückthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 第113卷, Rosenberg及Moore編, (Springer- Verlag, New York), 第269-315頁 (1994)；亦參見WO 93/16185；及US 5,571,894及US 5,587,458。包含救助受體結合抗原決定基殘基且具有延長之活體內半衰期之Fab及F(ab')₂片段揭示於US 5,869,046中。

【0148】 抗原結合片段及其製備方法為此項技術中熟知的，參見例如Verma等人, 1998, *Journal of Immunological Methods*, 216, 165-181；Adair及Lawson, 2005. *Therapeutic antibodies. Drug Design Reviews-Online* 2(3):209-217。Fab-Fv型式首先揭示於WO2009/040562中且其二硫鍵穩定之版本，即Fab-dsFv，首先揭示於WO2010/035012中，且TrYbe型式揭示於WO2015/197772中。

【0149】 已研發出多種用於產生抗體片段之技術。此類片段可經由完整抗體之蛋白水解消化產生(參見例如Morimoto等人, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24: 107-117 (1992)及Brennan等人, *Science* 229:81 (1985))。然而，亦可藉由重組宿主細胞直接產生抗體片段。舉例而言，可自上文所論述之抗體噬菌體庫分離抗體片段。或者，可直接自大腸桿菌(*E. coli*)回收Fab'-SH片段且以化學方式偶合以形成

F(ab')₂片段(Carter等人, Bio/Technology 10: 163-167 (1992))。

【0150】可直接自重組宿主細胞培養物分離F(ab')₂片段。抗體可為單鏈Fv片段(scFv)。此類片段描述於WO 93/16185；US 5,571,894；及US 5,587,458中。抗體片段亦可為「線抗體」，例如US 5,641,870中所描述。此類線抗體片段可為單特異性或雙特異性。

【0151】抗體可為Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、dsFv、scFv或dsscFv。抗體可為單域抗體或奈米抗體，例如VH或VL或VHH或VNAR。抗體可為WO2011/117648、WO2005/003169、WO2005/003170及WO2005/003171中所描述之Fab或Fab'片段。

【0152】抗體可為二硫鍵穩定之單鏈可變片段(dsscFv)。

【0153】可變域VH與VL之間之二硫鍵可位於兩個以下列舉之殘基之間：

- V_H37 + V_L95，參見例如Protein Science 6, 781-788 Zhu等人(1997)；

- V_H44 + V_L100，參見例如Weatherill等人, Protein Engineering, Design & Selection, 25 (321-329), 2012；

- V_H44 + V_L105，參見例如J Biochem. 118, 825-831 Luo等人(1995)；

- V_H45 + V_L87，參見例如Protein Science 6, 781-788 Zhu等人(1997)；

- V_H55 + V_L101，參見例如FEBS Letters 377 135-139 Young等人(1995)；

- V_H100 + V_L50，參見例如Biochemistry 29 1362-1367

Glockshuber等人 (1990)；

- V_H100b + V_L49，參見例如 Biochemistry 29 1362-1367

Glockshuber等人 (1990)；

• V_H98 + V_L 46，參見例如 Protein Science 6, 781-788 Zhu等人 (1997)；

• V_H101 + V_L46，參見例如 Protein Science 6, 781-788 Zhu等人 (1997)；

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

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

及與其相應的位於分子中之可變區對中之一或多個位置。

【0154】 可在位置VH44與VL100之間形成二硫鍵。

【0155】 熟習此項技術者應瞭解，本文中所描述之抗原結合片段亦可表徵為單株、嵌合、人類化、完全人類、多特異性、雙特異性等，且此等術語之論述亦係關於此類片段。

結合於IL22及IL13之多特異性抗體

【0156】 本發明提供包含至少兩個抗原結合域之多特異性抗體，其中至少一個抗原結合域結合於IL13（「IL13結合域」）且至少一個抗原結合域結合於IL22（「IL22結合域」）。特定言之，此類抗原結合域特異性結合於其相應目標。

【0157】 亦預期在本發明之情形下使用之多特異性抗體之實例包括

二價抗體、三價抗體或四價抗體、雙scFv、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、雙體(bibody)及三體(tribody)(參見例如Holliger及Hudson, 2005, Nature Biotech 23(9): 1126-1136 ; Schoonjans 等人, 2001, Biomolecular Engineering, 17(6), 193-202)。

【0158】 在一個實施例中，多特異性抗體為雙特異性抗體。在一個實施例中，抗體包含兩個抗原結合域，其中一個結合域結合於IL13且另一個結合域結合於IL22，亦即，各結合域對於各抗原為單價的。在一個實施例中，抗體為四價雙特異性抗體，亦即，抗體包含四個抗原結合域，其中例如兩個結合域結合於IL13且另外兩個結合域結合於IL22。在一個實施例中，抗體為三價雙特異性抗體。

【0159】 在一個實施例中，多特異性抗體為三特異性抗體。

【0160】 本發明之多特異性抗體可為多互補位抗體。

【0161】 在一個實施例中，各結合域為單價的。較佳各結合域包含兩個抗體可變域。更佳各結合域包含不超過一個VH及一個VL。

【0162】 更特定言之，結合於IL13之結合域及結合於IL22之結合域係獨立地選自Fab、scFv、Fv、dsFv及dsscFv。

【0163】 各種不同多特異性抗體型式係此項技術中已知的。已提出不同分類，但多特異性IgG抗體型式大體上包括雙特異性IgG、附接IgG、多特異性(例如，雙特異性)抗體片段、多特異性(例如，雙特異性)融合蛋白質及多特異性(例如，雙特異性)抗體結合物，如例如Spiess等人, Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies. Mol Immunol. 67(2015):95-106中所描述。

【0164】 用於製備雙特異性抗體之技術包括(但不限於)CrossMab技

術 (Klein 等人, Engineering therapeutic bispecific antibodies using CrossMab technology, Methods 154 (2019) 21-31)、杵臼工程改造 (Knobs-in-holes engineering)(例如, WO1996027011、WO1998050431)、DuoBody技術(例如, WO2011131746)、Azymetric技術(例如, WO2012058768)。其他用於製備雙特異性抗體之技術已描述於例如Godar等人, 2018, Therapeutic bispecific antibody formats: a patent applications review (1994-2017), Expert Opinion on Therapeutic Patents, 28:3, 251-276中。特定言之, 雙特異性抗體包括CrossMab抗體、DAF (二合一)、DAF (四合一)、DutaMab、DT-IgG、杵臼常用LC、杵臼總成、電荷對、Fab臂交換、SEEDbody、Triomab、LUZ-Y、Fcab、 $\kappa\lambda$ 體及正交Fab。

【0165】 附接IgG通常包含藉由將額外的抗原結合片段附加至IgG之重鏈及/或輕鏈之N端及/或C端而工程改造之全長IgG。此類額外抗原結合片段之實例包括sdAb抗體(例如, VH或VL)、Fv、scFv、dsscFv、Fab、scFab。特定言之, 附接IgG抗體型式包括DVD-IgG、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L,H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgC(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-Ig、Zybody及DVI-IgG (四合一), 例如Spiess等人, Mol Immunol. 67(2015):95-106中所描述。

【0166】 多特異性抗體包括奈米抗體、奈米抗體-HSA、BiTE、雙功能抗體、DART、TandAb、sc雙功能抗體、sc-雙功能抗體-CH3、雙功能抗體-CH3、三體、微型抗體、微型體(Minibody)、三重雙微型體、scFv-CH3 KIH、Fab-scFv、scFv-CH-CL-scFv、F(ab')₂、F(ab')₂-

scFv₂、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、四價HCAb、sc雙功能抗體-Fc、雙功能抗體-Fc、串聯scFv-Fc；及胞內抗體，如例如 Spiess 等人，Mol Immunol. 67(2015):95-106所描述。

【0167】多特異性融合蛋白質包括鎖鑰結構(Dock and Lock)、ImmTAC、HSAbody、sc雙功能抗體-HSA及串聯scFv-毒素。

【0168】多特異性抗體結合物包括IgG-IgG；Cov-X體；及scFv1-PEG-scFv₂。

【0169】其他多特異性抗體型式已描述於例如 Brinkmann 及 Kontermann, mAbs, 9:2, 182-212 (2017)中，例如串聯scFv、三體、Fab-VHH、taFv-Fc、scFv4-Ig、scFv₂-Fcab、scFv4-IgG。雙功能抗體、三功能抗體及其產生方法揭示於例如WO99/37791中。

【0170】用於本發明之較佳多特異性抗體包含連接至兩個scFv或dsscFv之Fab，各scFv或dsscFv結合相同或不同目標(例如，一個scFv或dsscFv結合治療目標且一個scFv或dsscFv藉由結合例如白蛋白來延長半衰期)。此類多特異性抗體描述於WO2015/197772中。在較佳實施例中，多特異性抗體包含Fab，該Fab結合於連接至兩個scFv或dsscFv之人類IL22，其中一個scFv或dsscFv結合於IL13且一個scFv或dsscFv結合於白蛋白。用於本發明片段之另一較佳抗體包含僅連接至一個scFv或dsscFv之Fab，如例如WO2013/068571及Dave等人，Mabs, 8(7) 1319-1335 (2016)中所描述。

【0171】用於本發明之另一種較佳多特異性抗體為杵-臼抗體(「KiH」)。通常，此類技術涉及在第一多肽之界面(諸如第一抗體重鏈中之第一CH3域)中引入突起(「杵」)且在第二多肽之界面(諸如第二抗體重

鏈中之第二CH3域)中引入相應的凹穴(「白」),使得突起可位於凹穴中以幫助形成雙特異性抗體。藉由用較大的側鏈(例如,精胺酸、苯丙胺酸、酪胺酸或色胺酸)置換來自第一多肽之界面(諸如第一抗體重鏈中之第一CH3域)之小型胺基酸側鏈來構築突起。藉由用較小的胺基酸側鏈(例如,丙胺酸、絲胺酸、纈胺酸或蘇胺酸)置換大型胺基酸側鏈來在第二多肽之界面(諸如第二抗體重鏈中之第二CH3域)中產生具有與突起相同或類似的尺寸之補償性凹穴。突起及凹穴可藉由改變編碼多肽之核酸產生,例如藉由定點突變誘發或藉由肽合成。其他關於「杵-白」技術之詳細說明描述於例如US5731168; US7695936; WO2009/089004; US2009/0182127; Marvin md Z u, Acta Pharmacologica Sincia (2005) 26(6):649-658; Kontermann Acta Pharmacologica Sincia (2005) 26: 1-9; Ridgway等人, Prot Eng 9, 617-621 (1996); 及 Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001)中。

結合於白蛋白之抗體

【0172】 抗體之高特異性及親和力使其成為理想的診斷及治療劑,尤其用於調節蛋白質:蛋白質相互作用。然而,抗體可能具有增加之自血清之清除率,尤其當其不具有可賦予長活體內使用壽命之Fc域時(Medasan等人, 1997, J. Immunol. 158:2211-2217)。

【0173】 用於改良抗體之半衰期之方法係已知的。一個方法為使片段與聚合物分子結合。因此,已藉由與聚乙二醇(PEG; 參見例如WO98/25791、WO99/64460及WO98/37200)之結合來改良動物中之Fab'、F(ab')₂片段之短循環半衰期。另一種方法為藉由與試劑結合來修飾抗體片段,該試劑與FcRn受體相互作用(參見例如WO97/34631)。另一種

延長半衰期之方法為使用結合血清白蛋白之多肽(參見例如Smith等人, 2001, Bioconjugate Chem. 12:750-756 ; EP0486525 ; US6267964 ; WO04/001064 ; WO02/076489 ; 及WO01/45746)。

【0174】 血清白蛋白為大量存在於血管及血管外隔室中之蛋白質，其在男性中之半衰期為約19天(Peters, 1985, Adv Protein Chem. 37:161-245)。此與IgG1之半衰期(約21天)類似(Waldeman及 Strober, 1969, Progr. Allergy, 13:1-110)。

【0175】 已描述抗血清白蛋白結合單一可變域以及其作為用於延長藥物(包括NCE (化學實體)藥物)、蛋白質及肽之半衰期的結合物之用途，參見例如Holt等人, Protein Engineering, Design & Selection, 第21卷, 5, 第 283-288 頁 ; WO04003019 ; WO2008/096158 ; WO05118642 ; WO2006/0591056及WO2011/006915。其他抗血清白蛋白抗體及其在多特異性抗體型式中之用途已描述於WO2009/040562、WO2010/035012及WO2011/086091中。特定言之，本發明人先前已在WO2013/068571中描述具有改良之人類化之抗白蛋白抗體。

【0176】 在一些實施例中，本發明之多特異性抗體已經工程改造以結合於人類血清白蛋白(例如，含有白蛋白結合域)，以延長其活體內血清半衰期，產生改良之藥物動力學概況。

人類化、人類及嵌合抗體及其製備方法

【0177】 本發明之抗體可為(但不限於)人類化、完全人類或嵌合抗體。

【0178】 在一個實施例中，抗體經人類化。更特定言之，抗體為嵌合、人類或人類化抗體。

【0179】 在某些實施例中，本文中所提供之抗體為嵌合抗體。嵌合抗體之實例描述於例如US 4,816,567；及Morrison等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81 :6851-6855 (1984))中。在一個實例中，嵌合抗體包含非人類可變區(例如，來源於小鼠、大鼠、倉鼠、兔或非人類靈長類動物(諸如猴)之可變區)及人類恆定區。在另一實例中，嵌合抗體為「類別轉換」抗體，其中類別或子類別已自親本抗體之類別或子類別改變。嵌合抗體包括其抗原結合片段。

【0180】 在一個實施例中，抗體為人類化抗體。

【0181】 人類化抗體可視情況進一步包含一或多個來源於衍生CDR之非人類物種的構架殘基。應瞭解，可能僅需要轉移CDR之特異性決定殘基而非整個CDR (參見例如Kashmiri等人, 2005, Methods, 36, 25-34)。

【0182】 適當地，根據本發明之人類化抗體具有可變域，其包含人類受體構架區以及一或多個CDR且視情況進一步包括一或多個供體構架殘基。

【0183】 因此，在一個實施例中提供人類化抗體，其中可變域包含人類受體構架區及非人類供體CDR。

【0184】 當移植CDR或特異性決定殘基時，根據衍生CDR之供體抗體之類別/類型，可使用任何適當的受體可變區構架序列，包括小鼠、靈長類動物及人類構架區。

【0185】 可用於本發明中之人類構架之實例為KOL、NEWM、REI、EU、TUR、TEI、LAY及POM (Kabat等人)。舉例而言，KOL及NEWM可用於重鏈，REI可用於輕鏈且EU、LAY及POM可用於重鏈及輕鏈。或者，可使用人類生殖系序列；此等序列可在www.imgt.org獲得。

在實施例中，受體架構為IGHV1-69人類生殖系、IGKV1D-13人類生殖系、IGHV3-66人類生殖系、IGKV1-12人類生殖系、IGKV1-39人類生殖系及/或IGHV4-31人類生殖系。在實施例中，人類構架含有1-5、1-4、1-3或1-2個供體抗體胺基酸殘基。

【0186】 在本發明之人類化抗體中，受體重鏈及輕鏈無需來源於相同抗體且可視需要包含具有來源於不同鏈之構架區之複合鏈。

【0187】 在某些實施例中，本文中所提供之抗體為人類抗體。可使用此項技術中已知的各種技術來產生人類抗體。

【0188】 若抗體之可變區或全長鏈係自使用人類生殖系免疫球蛋白基因之系統獲得，則人類抗體包含作為特定生殖系序列之「產物」或「來源於」特定生殖系序列之重鏈或輕鏈可變區或全長重鏈或輕鏈。此類系統包括用感興趣的抗原對攜帶人類免疫球蛋白基因之轉基因小鼠進行免疫接種或用感興趣的抗原篩檢呈現在噬菌體上之人類免疫球蛋白基因庫。因此，作為人類生殖系免疫球蛋白序列之「產物」或「來源於」人類生殖系免疫球蛋白序列之人類抗體或其片段可藉由將人類抗體之胺基酸序列與人類生殖系免疫球蛋白之胺基酸序列進行比較且選擇在序列方面最類似於人類抗體序列(亦即，最大一致性百分比)之人類生殖系免疫球蛋白序列來鑑別。作為特定人類生殖系免疫球蛋白序列之「產物」或「來源於」特定人類生殖系免疫球蛋白序列的人類抗體可含有與生殖系序列相比因例如天然存在之體細胞突變或有意引入之定點突變所致的胺基酸差異。然而，所選擇的人類抗體通常在胺基酸序列方面與由人類生殖系免疫球蛋白基因編碼之胺基酸序列至少90%一致，且含有當與其他物種之生殖系免疫球蛋白胺基酸序列(例如，小鼠生殖系序列)相比時鑑別人類抗體為人類的胺基酸殘

基。在某些情況下，人類抗體在胺基酸序列方面可與由生殖系免疫球蛋白基因編碼之胺基酸序列至少60%、70%、80%、90%，或至少95%，或甚至至少96%、97%、98%，或99%一致。通常，來源於特定人類生殖系序列之人類抗體與由人類生殖系免疫球蛋白基因編碼之胺基酸序列相比將顯示不超過10個胺基酸差異。在某些情況下，人類抗體與由生殖系免疫球蛋白基因編碼之胺基酸序列相比可能顯示不超過5個，或甚至不超過4個、3個、2個或1個胺基酸差異。

抗原結合域及其序列

【0189】 抗原結合域將通常包含6個CDR，三個來自重鏈且三個來自輕鏈。在一個實施例中，CDR在構架中且共同形成可變區。因此，在一個實施例中，對抗原具有特異性之結合域包含輕鏈可變區及重鏈可變區。

【0190】 在本發明之抗體之情形下，抗原結合域之樹型稱為：IL22結合域、IL13結合域及白蛋白結合域。

【0191】 表3. IL22及IL13抗原結合域(b.d.)之序列之概述

	IL22 b.d. (11041) SEQ IDs	IL22 b.d (11070) SEQ IDs	IL13 b.d. SEQ IDs
CDR-L1	8	70	22
CDR-L2	9	71	23
CDR-L3	10	72	24
CDR-H1	11	73	25
CDR-H2	12	74	26
CDR-H3	13	75	27
Fab之VL	14	76	-
Fab之VH	16	78	-
scFv之VL	-	-	28
scFv之VH	-	-	29
dsscFv之VL	-	-	32
dsscFv之VH	-	-	33
LC Fab	18	80	-
HC Fab	20	82	-
scFv (VH/VL)	-	-	36
dsscFv (VH/VL)	-	-	38

【0192】 在一個實施例中，多特異性抗體包含結合於IL22之抗原結

合域，該抗原結合域包含

輕鏈可變區，其包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:8，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:9，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:10；

及重鏈可變區，其包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:11，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:12，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:13。

【0193】 在另一實施例中，多特異性抗體包含結合於IL22之抗原結合域，該抗原結合域包含

輕鏈可變區，其包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:70，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:71，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:72；

及重鏈可變區，其包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:73，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:74，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:75。

【0194】 在一個實施例中，多特異性抗體包含結合於IL13之抗原結合域，該抗原結合域包含

輕鏈可變區，其包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:22，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:23，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:24；

及重鏈可變區，其包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:25，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:26，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:27。

【0195】 在一個實施例中，結合於IL22之抗原結合域包含有包含SEQ ID NO:14中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:16中所提供之序列之重鏈可變區。

【0196】 或者，結合於IL22之抗原結合域包含有包含SEQ ID NO:76中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:78中所提供之序列之重鏈可變區。

【0197】 在一個實施例中，結合於IL13之抗原結合域包含有包含SEQ ID NO:28中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:29中所提供之序列之重鏈可變區。

【0198】 在替代性實施例中，結合於IL13之抗原結合域包含有包含SEQ ID NO:32中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:33中所提供之序列之重鏈可變區。

【0199】 在一個實施例中，結合於IL13之抗原結合域為包含SEQ ID NO:36中所提供之序列之scFv或包含SEQ ID NO:38中所提供之序列之dsscFv。

【0200】 在一個實施例中，結合於IL22之抗原結合域為Fab，該Fab包含有包含SEQ ID NO:18中所提供之序列之輕鏈及包含SEQ ID NO:20中

所提供之序列之重鏈。

【0201】 或者，在一個實施例中，結合於IL22之替代性抗原結合域為Fab，該Fab包含有包含SEQ ID NO:80中所提供之序列之輕鏈及包含SEQ ID NO:82中所提供之序列之重鏈。

【0202】 在一個實施例中，本發明提供多特異性抗體，其包含結合於IL22之抗原結合域，該抗原結合域包含

輕鏈可變區，其包含以下中之一或多者：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:8，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:9，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:10；

及重鏈可變區，其包含以下中之一或多者：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:11，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:12，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:13；

及結合於IL13之抗原結合域，該抗原結合域包含

輕鏈可變區，其包含以下中之一或多者：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:22，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:23，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:24；

及重鏈可變區，其包含以下中之一或多者：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:25，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:26，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:27。

【0203】較佳地，兩個抗原結合域皆至少包含CDR-H3，其包含上文所提供之序列。

【0204】在一個實施例中，本發明提供多特異性抗體，其包含結合於IL22之抗原結合域，該抗原結合域包含

輕鏈可變區，其包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:8，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:9，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:10；

及重鏈可變區，其包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:11，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:12，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:13；

及結合於IL13之抗原結合域，該抗原結合域包含

輕鏈可變區，其包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:22，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:23，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:24；

及重鏈可變區，其包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:25，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:26，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:27。

【0205】或者，本發明提供多特異性抗體，其包含結合於IL22之抗原結合域，該抗原結合域包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:70，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:71，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:72；

及重鏈可變區，該重鏈可變區包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:73，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:74，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:75；

及結合於IL13之抗原結合域，該抗原結合域包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:22，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:23，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:24；

及重鏈可變區，該重鏈可變區包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:25，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:26，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:27。

【0206】 在一個實施例中，本發明提供多特異性抗體，其包含結合於IL22之抗原結合域，該抗原結合域包含

輕鏈可變區，其包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:70，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:71，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:72；

及重鏈可變區，其包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:11或SEQ ID NO:73，
CDR-H2，其包含SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:74，及
CDR-H3，其包含SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:75；
及結合於IL13之抗原結合域，該抗原結合域包含
輕鏈可變區，其包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:22，
CDR-L2，其包含SEQ ID NO:23，及
CDR-L3，其包含SEQ ID NO:24；
及重鏈可變區，其包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:25，
CDR-H2，其包含SEQ ID NO:26，及
CDR-H3，其包含SEQ ID NO:27。

【0207】 在一個實施例中，本發明提供多特異性抗體，其包含：

- (i) 結合於IL22之抗原結合域，該抗原結合域包含
包含SEQ ID NO:14中所提供之序列之輕鏈可變區，及
包含SEQ ID NO:16中所提供之序列之重鏈可變區；及
- (ii) 結合於IL13之抗原結合域，該抗原結合域包含
包含SEQ ID NO:28或32中所提供之序列之輕鏈可變區，及
包含SEQ ID NO:29或33中所提供之序列之重鏈可變區。

【0208】 在特定實施例中，本發明提供多特異性抗體，其包含：

- (i) 結合於IL22之抗原結合域，其中該抗原結合域為包含以下之

Fab：

包含SEQ ID NO:18中所提供之序列之輕鏈，及

包含SEQ ID NO:20中所提供之序列之重鏈；及
(ii) 結合於IL13之抗原結合域，其中該抗原結合域為
包含SEQ ID NO:36中所提供之序列之scFv，或
包含SEQ ID NO:38所提供之序列之dsscFv。

多特異性抗體型式

【0209】 本發明亦提供結合於IL13及IL22之多特異性抗體，其包含以下或由以下組成：

a) 式(I)之多肽鏈：

$V_H-CH_1-(CH_2)_s-(CH_3)_t-X-(V_1)_p$ ；及

b) 式(II)之多肽鏈：

$(V_3)_r-Z-V_L-C_L-Y-(V_2)_q$ ；

其中：

V_H 表示重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區之域1；

CH_2 表示重鏈恆定區之域2；

CH_3 表示重鏈恆定區之域3；

X 表示一鍵或連接子；

V_1 表示dsscFv、dsFv、scFv、 V_H 、 V_L 或VHH；

V_3 表示dsscFv、dsFv、scFv、 V_H 、 V_L 或VHH；

Z 表示一鍵或連接子；

V_L 表示輕鏈可變域；

C_L 表示來自輕鏈恆定區之域，諸如 C_k ；

Y 表示一鍵或連接子；

V_2 表示dsscFv、dsFv、scFv、VH、VL或VHH；

p 表示0或1；

q 表示0或1；

r 表示0或1；

s 表示0或1；

t 表示0或1；

其中當p為0時，X不存在且當q為0時，Y不存在且當r為0時，Z不存在；且其中當q為0時，r為1且當r為0時，q為1；及

其中當q及r皆為1且 V_2 及 V_3 中之一者為 V_L 時， V_2 或 V_3 中僅一者為 V_L 。

【0210】 在一個實施例中，式(I)之多肽鏈包含蛋白質A結合域，其式(II)之多肽鏈不與蛋白質A結合。

【0211】 在一個實施例中，當s為0且t為0時，根據本發明之多特異性抗體係以式(I)之重鏈及式(II)之輕鏈之二聚體形式提供，其中 V_H-CH_1 部分與 V_L-C_L 部分共同形成功能性Fab或Fab'片段。

【0212】 在一個實施例中，當s為1且t為1時，根據本發明之多特異性抗體係以兩條式(I)之重鏈及兩條式(II)之輕鏈之二聚體形式提供，其中兩條重鏈由鏈間相互作用連接，尤其在 CH_2-CH_3 之程度上，且其中各重鏈之 V_H-CH_1 部分與各輕鏈之 V_L-C_L 部分共同形成功能性Fab或Fab'片段。在此類實施例中，兩個 $V_H-CH_1-CH_2-CH_3$ 部分與兩個 V_L-C_L 部分共同形成功能性全長抗體。在此類實施例中，全長抗體可包含功能性Fc區。

【0213】 V_H 表示重鏈可變域。在一個實施例中， V_H 係經人類化的。在一個實施例中， V_H 為完全人類的。

【0214】 V_L 表示輕鏈可變域。在一個實施例中， V_L 係經人類化的。在一個實施例中， V_L 為完全人類的。

【0215】 通常， V_H 及 V_L 共同形成抗原結合域。在一個實施例中， V_H 及 V_L 形成同源對。在一個實施例中，同源對與抗原共同可操作地結合。

【0216】 用於本發明之可變區通常將來源於抗體，該抗體可由此項技術中已知之任何方法產生。

【0217】 如上文關於 V_H 及 V_L 所描述，用於本發明之可變區可來自任何適合的來源且可例如為完全人類或人類化的。

【0218】 在一個實施例中，由 V_H 及 V_L 形成之結合域對第一抗原具有特異性。

【0219】 在一個實施例中， V_1 之結合域對第二抗原具有特異性。

【0220】 在一個實施例中， V_2 之結合域對第二或第三抗原具有特異性。

【0221】 在一個實施例中， V_3 之結合域對第三或第四抗原具有特異性。

【0222】 在一個實施例中，如所呈現， V_H - V_L 、 V_1 、 V_2 及 V_3 中之每一者分別結合於其相應抗原。

【0223】 在一個實施例中， CH_1 域為來自抗體重鏈或其衍生物之天然存在之域1。在一個實施例中， CH_2 域為來自抗體重鏈或其衍生物之天然存在之域2。在一個實施例中， CH_3 域為來自抗體重鏈或其衍生物之天然存在之域3。

【0224】 在一個實施例中，輕鏈中之 C_L 片段為恆定 κ 序列或其衍生物。在一個實施例中，輕鏈中之 C_L 片段為恆定 λ 序列或其衍生物。

【0225】如本文所使用之天然存在之域之衍生物意欲指其中天然存在之序列中之至少一個胺基酸已經置換或缺失，例如以最佳化域之特性，諸如藉由消除不合需要的特性，但其中保留域之特徵。在一個實施例中，天然存在之域之衍生物與天然存在之序列相比包含兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個、十一個或十二個胺基酸取代或缺失。

【0226】在一個實施例中，功能性Fab或Fab'片段中存在一或多個天然或經工程改造之鏈間(亦即，輕鏈及重鏈間)二硫鍵。

【0227】在一個實施例中，在式(I)及(II)之多肽鏈中的 CH_1 與 C_L 之間存在「天然」二硫鍵。

【0228】當 C_L 域來源於 κ 或 λ 時，形成半胱胺酸之鍵的天然位置為人類 $c\kappa$ 及 $c\lambda$ 中之214 (Kabat編號，第4版本，1987)。

【0229】 CH_1 中之形成半胱胺酸的二硫鍵之精確位置取決於實際使用之特定域。因此，舉例而言，在人類 γ -1中，二硫鍵之天然位置位於位置233 (Kabat編號)。對於其他人類同型，諸如 γ 2、3、4、IgM及IgD，形成半胱胺酸之鍵之位置係已知的，例如對於人類IgM、IgE、IgG2、IgG3、IgG4為位置127，且對於人類IgD及IgA2B之重鏈為位置128。

【0230】視情況地，式I及II之多肽之 V_H 與 V_L 之間可存在二硫鍵。

【0231】在一個實施例中，本發明之多特異性抗體在等效於或對應於 CH_1 與 C_L 之間的天然存在之位置的位置處具有二硫鍵。

【0232】在一個實施例中，包含 CH_1 之恆定區及諸如 C_L 之恆定區具有位於非天然存在之位置處之二硫鍵。此二硫鍵可藉由在所需位置處將半胱胺酸引入胺基酸鏈來工程改造至分子中。此非天然二硫鍵為除存在於

CH₁與C_L之間的天然二硫鍵以外之鍵或作為其替代物。天然位置中之半胱胺酸可由不能形成二硫橋鍵之胺基酸(諸如絲胺酸)置換。

【0233】 可使用此項技術中已知之任何方法進行經工程改造之半胱胺酸之引入。此等方法包括(但不限於)PCR擴展重疊突變誘發、定點突變誘發或卡匣突變誘發(通常參見Sambrook等人, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, NY, 1989 ; Ausubel等人, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing & Wiley-Interscience, NY, 1993)。定點突變誘發套組係可商購的, 例如QuikChange®定點突變誘發套組(Stratagene, La Jolla, CA)。可基於Wells等人, 1985, *Gene*, 34:315-323來進行卡匣突變誘發。或者, 可藉由藉助於黏接、接合及PCR擴增以及選殖重疊寡核苷酸進行之總基因合成來製備突變體。

【0234】 在一個實施例中, 完全不存在CH₁與C_L之間之二硫鍵, 諸如鏈間半胱胺酸可由另一胺基酸(諸如絲胺酸)置換。因此, 在一個實施例中, 分子之功能性Fab片段中不存在鏈間二硫鍵。諸如WO2005/003170之以引用之方式併入本文中的揭示內容描述如何提供不具有鏈間二硫鍵之Fab片段。

【0235】 用於本發明之較佳抗體型式包括附接IgG及附接Fab, 其中完全IgG或Fab片段分別藉由附接至少一個其他抗原結合域(例如, 一、二、三或四個其他抗原結合域)而經工程改造, 例如單域抗體(諸如VH或VL, 或VHH)、scFv、dsscFv、dsFv附接至該IgG或Fab之輕鏈之N端及/或C端, 且視情況附接至該IgG或Fab之重鏈, 例如WO2009/040562、WO2010035012、WO2011/030107、WO2011/061492、WO2011/061246

及WO2011/086091中所描述，其皆以引用之方式併入本文中。特定言之，Fab-Fv型式首先揭示於WO2009/040562中且其二硫鍵穩定化版本，即Fab-dsFv，首先揭示於WO2010/035012中。單一連接子Fab-dsFv首先揭示於WO2014/096390 (以引用之方式併入本文中)中，其中dsFv經由Fv之VL或VH域與Fab之LC之C端之間的單一連接子連接至Fab。藉由將dsFv附接至IgG之輕鏈之C端(且視情況附接至重鏈)而經工程改造之包含全長IgG之附接IgG首先揭示於WO2015/197789中，其以引用之方式併入本文中。

【0236】 用於本發明之另一種較佳抗體型式包含連接至兩個scFv或dsscFv之Fab，各scFv或dsscFv結合相同或不同目標(例如，一個scFv或dsscFv結合治療目標且一個scFv或dsscFv藉由結合例如白蛋白來延長半衰期)。此類抗體片段描述於WO2015/197772中。用於本發明之片段之另一較佳抗體包含僅連接至一個scFv或dsscFv之Fab，如例如以引用之方式併入本文中的WO2013/068571及Dave等人, 2016, Mabs, 8(7) 1319-1335中所描述。

【0237】 當存在時， V_1 表示dsscFv、dsFv、scFv、VH、VL或VHH，例如dsscFv、dsFv或scFv。

【0238】 當存在時， V_2 表示dsscFv、dsFv、scFv、VH、VL或VHH，例如dsscFv、dsFv或scFv。

【0239】 當存在時， V_3 表示dsscFv、dsFv、scFv、VH、VL或VHH，例如dsscFv、dsFv或scFv。

【0240】 當 V_2 及 V_3 皆存在時， V_2 及 V_3 中僅一者可表示VL。

【0241】 在一個實施例中，當 V_1 及/或 V_2 及/或 V_3 為dsFv或dsscFv

時， V_1 及/或 V_2 及/或 V_3 之可變域VH與VL之間之二硫鍵在以下列舉之兩個殘基之間(除非上下文指示，否則在以下清單中使用Kabat編號)。當參考Kabat編號時，相關參考文獻為Kabat等人, 1991 (第5版, Bethesda, Md.), Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human Services, NIH, USA。

【0242】 在一個實施例中，二硫鍵位於選自包含以下之群之位置中：

- $V_{H37} + V_{L95}$ ，參見例如Protein Science 6, 781-788 Zhu等人(1997)；

- $V_{H44} + V_{L100}$ ，參見例如Weatherill等人, Protein Engineering, Design & Selection, 25 (321-329), 2012)；

- $V_{H44} + V_{L105}$ ，參見例如J Biochem. 118, 825-831 Luo等人(1995)；

- $V_{H45} + V_{L87}$ ，參見例如Protein Science 6, 781-788 Zhu等人(1997)；

- $V_{H55} + V_{L101}$ ，參見例如FEBS Letters 377 135-139 Young等人(1995)；

- $V_{H100} + V_{L50}$ ，參見例如 Biochemistry 29 1362-1367 Glockshuber等人(1990)；

- $V_{H100b} + V_{L49}$ ，參見例如 Biochemistry 29 1362-1367 Glockshuber等人(1990)；

- $V_{H98} + V_{L46}$ ，參見例如Protein Science 6, 781-788 Zhu等人(1997)；

- V_H101 + V_L46，參見例如Protein Science 6, 781-788 Zhu等人 (1997)；
- V_H105 + V_L43，參見例如Proc. Natl. Acad. Sci. USA 第90卷, 第7538-7542頁, Brinkmann等人(1993)；或Proteins 19, 35-47 Jung等人(1994)；
- V_H106 + V_L57，參見例如FEBS Letters 377 135-139 Young等人(1995)

及位於分子中之可變區對中的與其相應的位置。

【0243】 在一個實施例中，在位置V_H44與V_L100之間形成二硫鍵。

【0244】 上文所列之胺基酸對位於有利於由半胱胺酸置換，從而可形成二硫鍵的位置。可藉由已知技術將半胱胺酸工程改造至此等所需位置中。因此，在一個實施例中，根據本發明之經工程改造之半胱胺酸係指既定胺基酸位置處之天然存在之殘基已由半胱胺酸殘基置換。

【0245】 可使用此項技術中已知之任何方法進行經工程改造之半胱胺酸之引入。此等方法包括(但不限於)PCR擴展重疊突變誘發、定點突變誘發或卡匣突變誘發(通常參見Sambrook等人, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, NY, 1989；Ausubel等人, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing & Wiley-Interscience, NY, 1993)。定點突變誘發套組係可商購的，例如QuikChange®定點突變誘發套組(Stratagen, La Jolla, CA)。可基於Wells等人, 1985, Gene, 34:315-323來進行卡匣突變誘發。或者，可藉由藉助於黏接、接合及PCR擴增以及選殖重疊寡核苷酸進行之總基因合成來製備突變體。

【0246】 因此，在一個實施例中，當 V_1 及/或 V_2 及/或 V_3 為dsFv或dsscFv時， V_1 之可變域VH及VL以及/或 V_2 之可變域VH及VL以及/或 V_3 之可變域VH及VL可藉由兩個半胱胺酸殘基之間的二硫鍵連接，其中該對半胱胺酸殘基之位置係選自由以下組成之群：VH37及VL95、VH44及VL100、VH44及VL105、VH45及VL87、VH100及VL50、VH100b及VL49、VH98及VL46、VH101及VL46、VH105及VL43以及VH106及VL57。

【0247】 在一個實施例中，當 V_1 及/或 V_2 及/或 V_3 為dsFv或dsscFv時， V_1 之可變域VH及VL以及/或 V_2 之可變域VH及VL以及/或 V_3 之可變域VH及VL可藉由位於CDR外部的兩個半胱胺酸殘基(一個在VH中且一個在VL中)之間的二硫鍵連接，其中該對半胱胺酸殘基之位置係選自由以下組成之群：VH37及VL95、VH44及VL100、VH44及VL105、VH45及VL87、VH100及VL50、VH98及VL46、VH105及VL43以及VH106及VL57。

【0248】 在一個實施例中，當 V_1 為dsFv或dsscFv時， V_1 之可變域VH及VL藉由兩個經工程改造之半胱胺酸殘基(一個位於位置VH44且另一個位於VL100)之間的二硫鍵連接。在一個實施例中，當 V_2 為dsFv或dsscFv時， V_2 之可變域VH及VL藉由兩個經工程改造之半胱胺酸殘基(一個位於位置VH44且另一個位於VL100)之間的二硫鍵連接。在一個實施例中，當 V_3 為dsFv或dsscFv時， V_3 之可變域VH及VL藉由兩個經工程改造之半胱胺酸殘基(一個位於位置VH44且另一個位於VL100)之間的二硫鍵連接。

【0249】 在一個實施例中，當 V_1 為dsscFv、dsFv或scFv時， V_1 之

VH域連接至X。

【0250】 在一個實施例中，當 V_1 為dsscFv、dsFv或scFv時， V_1 之VL域連接至X。

【0251】 在一個實施例中，當 V_2 為dsscFv、dsFv或scFv時， V_2 之VH域連接至Y。

【0252】 在一個實施例中，當 V_2 為dsscFv、dsFv或scFv時， V_2 之VL域連接至Y。

【0253】 在一個實施例中，當 V_3 為dsscFv、dsFv或scFv時， V_3 之VH域連接至Z。

【0254】 在一個實施例中，當 V_3 為dsscFv、dsFv或scFv時， V_3 之VL域連接至Z。

【0255】 熟習此項技術者將瞭解，當 V_1 及/或 V_2 及/或 V_3 表示dsFv時，多特異性抗體將包含編碼未連接至X或Y或Z的相應游離VH或VL域之第三多肽。當 V_1 及 V_2 、 V_2 及 V_3 或 V_1 及 V_2 及 V_3 為dsFv時，則「游離可變域」(亦即，經由二硫鍵連接至多肽之其餘部分之域)將為兩條鏈所共有的。因此，儘管各多肽鏈中之經由X或Y或Z融合或連接至多肽之實際可變域可不同，由此配對之游離可變域將通常彼此一致。

【0256】 在一些實施例中，p為1。在一些實施例中，p為0。在一些實施例中，q為1。在一些實施例中，q為0且r為1。在一些實施例中，r為1。在一些實施例中，q為1且r為0。在一些實施例中，q為1且r為1。在一些實施例中，s為1。在一些實施例中，s為0。在一些實施例中，t為1。在一些實施例中，t為0。在一些實施例中，s為1且t為1。在一些實施例中，s為0且t為0。

【0257】 在一個實施例中， p 為1， q 為1， r 為0， s 為0且 t 為0，且 V_1 及 V_2 皆表示dsscFv。

【0258】 因此，在一個態樣中，提供一種結合於IL22及IL13之多特异性抗體，其包含以下或由以下組成：

a) 式(Ia)之多肽鏈：

V_H - CH_1 - X - V_1 ；及

b) 式(IIa)之多肽鏈：

V_L - CL - Y - V_2 ；

其中：

V_H 表示重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區之域1；

X 表示一鍵或連接子；

Y 表示一鍵或連接子；

V_1 表示scFv、dsscFv或dsFv；

V_L 表示輕鏈可變域；

CL 表示來自輕鏈恆定區之域，諸如 C_k ；

V_2 表示scFv、dsscFv或dsFv；

其中 V_1 或 V_2 中之至少一者為dsscFv或dsFv。

【0259】 在一個實施例中，式(Ia)之多肽鏈包含蛋白質A結合域，且式(IIa)之多肽鏈不與蛋白質A結合。

【0260】 在此類實施例中， V_2 不與蛋白質A結合，亦即， V_2 之scFv、dsscFv或dsFv不包含蛋白質A結合域。在一個實施例中， V_2 ，亦即 V_2 之scFv、dsscFv或dsFv，包含 $VH1$ 域。在另一實施例中， V_2 ，亦即 V_2

之scFv、dsscFv或dsFv，包含不與蛋白質A結合之VH3域。在一個實施例中，V₂，亦即V₂之scFv、dsscFv或dsFv，包含VH2域。在一個實施例中，V₂，亦即V₂之scFv、dsscFv或dsFv，包含VH4域。在一個實施例中，V₂，亦即V₂之scFv、dsscFv或dsFv，包含VH5域。在一個實施例中，V₂，亦即V₂之scFv、dsscFv或dsFv，包含VH6域。在一個實施例中，式(Ia)之多肽鏈僅包含存在於V_H或V₁中之一個蛋白質A結合域。在一個實施例中，式(Ia)之多肽鏈僅包含存在於V₁中之一個蛋白質A結合域。在另一實施例中，式(Ia)之多肽鏈包含分別存在於V_H及V₁中之兩個蛋白質A結合域。

【0261】在另一實施例中，p為0，q為1，r為0，s為1，t為1且V₂為dsscFv。因此，在一個態樣中，提供一種結合於IL22及IL13之多特異性抗體，其包含以下或由以下組成：

a)式(Ib)之多肽鏈：

V_H-CH₁-CH₂-CH₃；及

b)式(IIb)之多肽鏈：

V_L-C_L-Y-V₂；

其中：

V_H 表示重鏈可變域；

CH₁ 表示重鏈恆定區之域1；

CH₂ 表示重鏈恆定區之域2；

CH₃ 表示重鏈恆定區之域3；

Y 表示一鍵或連接子；

V_L 表示輕鏈可變域；

C_L 表示來自輕鏈恆定區之域，諸如 C_{κ} ；

V_2 表示 $dsscFv$ 。

【0262】 在一個實施例中，式(Ib)之多肽鏈包含蛋白質A結合域，且式(IIb)之多肽鏈不與蛋白質A結合。

【0263】 在此類實施例中， V_2 不與蛋白質A結合，亦即， V_2 之 $dsscFv$ 不包含蛋白質A結合域。在一個實施例中， V_2 ，亦即 V_2 之 $dsscFv$ ，包含 V_H1 域。在另一實施例中， V_2 ，亦即 V_2 之 $dsscFv$ ，包含不與蛋白質A結合之 V_H3 域。在一個實施例中，式(Ib)之多肽鏈僅包含存在於 V_H 或 CH_2-CH_3 中之一個蛋白質A結合域。在另一實施例中，式(Ib)之多肽鏈包含分別存在於 V_H 及 CH_2-CH_3 中之兩個蛋白質A結合域。

【0264】 在另一實施例中， p 為0， q 為1， r 為0， s 為1， t 為1且 V_2 為 $dsFv$ 。因此，在一個態樣中，提供一種結合於IL22及IL13之多特異性抗體，其包含以下或由以下組成：

a)式(Ic)之多肽鏈：

$V_H-CH_1-CH_2-CH_3$ ；及

b)式(IIc)之多肽鏈：

$V_L-C_L-Y-V_2$ ；

其中：

V_H 表示重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區之域1；

CH_2 表示重鏈恆定區之域2；

CH_3 表示重鏈恆定區之域3；

Y 表示一鍵或連接子；

V_L 表示輕鏈可變域；

C_L 表示來自輕鏈恆定區之域，諸如 C_{κ} ；

V_2 表示dsFv。

【0265】 在一個實施例中，式(Ic)之多肽鏈包含蛋白質A結合域，且式(IIc)之多肽鏈不與蛋白質A結合。

【0266】 在此類實施例中， V_2 ，亦即 V_2 之dsFv，不與蛋白質A結合。在一個實施例中，式(Ic)之多肽鏈僅包含存在於 V_H 或 CH_2-CH_3 中之一個蛋白質A結合域。在另一實施例中，式(Ic)之多肽鏈包含分別存在於 V_H 及 CH_2-CH_3 中之兩個蛋白質A結合域。

【0267】 在另一實施例中，p為0，q為0，r為1，s為1，t為1且 V_3 為dsscFv。

【0268】 因此，在一個態樣中，提供一種結合於IL22及IL13之多特異性抗體，其包含以下或由以下組成：

a)式(Id)之多肽鏈：

$V_H-CH_1-CH_2-CH_3$ ；及

b)式(IIId)之多肽鏈：

$V_3-Z-V_L-C_L$ ；

其中：

V_H 表示重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區之域1；

CH_2 表示重鏈恆定區之域2；

CH_3 表示重鏈恆定區之域3；

Z 表示一鍵或連接子；

V_L 表示輕鏈可變域；

C_L 表示來自輕鏈恆定區之域，諸如C_κ；

V₃ 表示dsscFv。

【0269】 在一個實施例中，式(Id)之多肽鏈包含蛋白質A結合域，且式(IId)之多肽鏈不與蛋白質A結合。

【0270】 在此類實施例中，V₃，亦即V₃之dsscFv，不與蛋白質A結合。在一個實施例中，式(Id)之多肽鏈僅包含存在於V_H或CH₂-CH₃中之一個蛋白質A結合域。在另一實施例中，式(Id)之多肽鏈包含分別存在於V_H及CH₂-CH₃中之兩個蛋白質A結合域。

【0271】 在本發明之多特異性抗體之一個實施例中，V_L及V_H包含結合於IL22之抗原結合域，及V₂包含結合於IL13之抗原結合域。

【0272】 在本發明之多特異性抗體之另一實施例中，V_L及V_H包含結合於IL22之抗原結合域，V₁包含結合於血清白蛋白之抗原結合域，及V₂包含結合於IL13之抗原結合域。

【0273】 表4. IL22、IL13及白蛋白抗原結合域之序列之概述

	V _L 及V _H SEQ ID NO	V ₁ SEQ ID NO	V ₂ SEQ ID NO
CDR-L1	8	40	22
CDR-L2	9	41	23
CDR-L3	10	42	24
CDR-H1	11	43	25
CDR-H2	12	44	26
CDR-H3	13	45	27
VL Fab	14	-	-
VH Fab	16	-	-
VL scFv	-	46	28
VH scFv	-	47	29
VL dsscFv	-	50	32
VH dsscFv	-	51	33
LC Fab	18	-	-
HC Fab	20	-	-
scFv (VH/VL)	-	54	36
dsscFv (VH/VL)	-	56	38

【0274】 在一個實施例中， V_L 包含
CDR-L1，其包含SEQ ID NO:8，
CDR-L2，其包含SEQ ID NO:9，及
CDR-L3，其包含SEQ ID NO:10；
且 V_H 包含
CDR-H1，其包含SEQ ID NO:11，
CDR-H2，其包含SEQ ID NO:12，及
CDR-H3，其包含SEQ ID NO:13。

【0275】 在一個實施例中， V_1 包含
輕鏈可變區，其包含：
CDR-L1，其包含SEQ ID NO:40，
CDR-L2，其包含SEQ ID NO:41，及
CDR-L3，其包含SEQ ID NO:42；
及重鏈可變區，其包含：
CDR-H1，其包含SEQ ID NO:43，
CDR-H2，其包含SEQ ID NO:44，及
CDR-H3，其包含SEQ ID NO:45。

【0276】 在一個實施例中， V_2 包含
輕鏈可變區，其包含：
CDR-L1，其包含SEQ ID NO:22，
CDR-L2，其包含SEQ ID NO:23，及
CDR-L3，其包含SEQ ID NO:24；
及重鏈可變區，其包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:25，
CDR-H2，其包含SEQ ID NO:26，及
CDR-H3，其包含SEQ ID NO:27。

【0277】 在一個實施例中， V_L 包含SEQ ID NO:14中所提供之序列且 V_H 包含SEQ ID NO:16中所提供之序列。

【0278】 在一個實施例中， V_1 包含有包含SEQ ID NO:46中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:47中所提供之序列之重鏈可變區。

【0279】 在替代性實施例中， V_1 包含有包含SEQ ID NO:50中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:51中所提供之序列之重鏈可變區。

【0280】 在一個實施例中， V_1 之輕鏈可變區及重鏈可變區係由連接子連接，該連接子包含SEQ ID NO:69中所提供之序列。

【0281】 在一個實施例中， V_1 為包含SEQ ID NO:54中所提供之序列之scFv或包含SEQ ID NO:56中所提供之序列之dsscFv。

【0282】 在一個實施例中， V_2 包含有包含SEQ ID NO:28中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:29中所提供之序列之重鏈可變區。

【0283】 在替代性實施例中， V_2 包含有包含SEQ ID NO:28或32中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:29或33中所提供之序列之重鏈可變區。

【0284】 在一個實施例中， V_2 之輕鏈可變區及重鏈可變區係由連接子連接，該連接子包含SEQ ID NO:67中所提供之序列。

【0285】 在一個實施例中， V_2 為包含SEQ ID NO:36中所提供之序列之scFv或包含SEQ ID NO:38中所提供之序列之dsscFv。

【0286】 在一個實施例中，X為包含SEQ ID NO:68中所提供之序列之連接子。

【0287】 在一個實施例中，Y為包含SEQ ID NO:66中所提供之序列之連接子。

【0288】 在一個實施例中，式(Ia)之多肽鏈包含SEQ ID NO:58或SEQ ID NO:60中所提供之序列。

【0289】 在一個實施例中，式(IIa)之多肽鏈包含SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:64中所提供之序列。

【0290】 在一個實施例中，式(Ia)之多肽鏈包含SEQ ID NO:60中所提供之序列且式(IIa)之多肽鏈包含SEQ ID NO:64中所提供之序列。

杵臼雙特異性型式

【0291】 在一個態樣中，本發明提供藉由杵臼技術經工程改造之結合於IL22及IL13之多特異性抗體，其包含至少兩個多肽，各多肽包含CH3域(「CH3多肽」)。

【0292】 杵臼技術依賴於兩個CH3多肽(例如，抗體之兩條重鏈)之兩個CH3域之間的界面之修飾。將大型殘基引入一個CH3多肽之CH3域且形成突起(「杵」)且在第二CH3多肽中形成能夠容納此大型殘基之凹穴(或「臼」)。因此，兩個CH3多肽之界面處的杵及臼突變之工程改造促進第一與第二CH3多肽之間的相互作用。

【0293】 藉由用較大側鏈(例如，酪胺酸或色胺酸)置換來自第一CH3多肽之界面之小型胺基酸側鏈來構築「突起」。視情況在第二CH3多

肽之界面上藉由用較小胺基酸側鏈(例如，丙胺酸或蘇胺酸)置換大型胺基酸側鏈來產生具有與突起相同或類似之尺寸之互補「凹穴」。當第一或第二CH₃多肽之界面處存在適當安置及設定尺寸之突起或凹穴時，僅需要分別工程改造相鄰界面處之相應凹穴或突起。

【0294】 可藉由引入/形成人工二硫鍵橋來進一步使所得雜二聚Fc區穩定。藉由用游離含硫醇殘基(諸如半胱胺酸)置換第一CH₃多肽上之天然存在之胺基酸，使得游離硫醇與第二CH₃多肽上之另一游離含硫醇殘基相互作用，從而在第一與第二CH₃多肽之間形成二硫鍵來構築非天然存在之二硫鍵。

【0295】 已發現以下產生用於形成子類別IgG1之IgG抗體之Fc區之個別重鏈中的新鏈內二硫鍵的適當間隔之半胱胺酸殘基的取代可增加雜二聚體形成：一條鏈中之Y349C及另一條鏈中之S354C；一條鏈中之Y349C及另一條鏈中之E356C；一條鏈中之Y349C及另一條鏈中之E357C；一條鏈中之L351C及另一條鏈中之S354C；一條鏈中之T394C及另一條鏈中之E397C；或一條鏈中之D399C及另一條鏈中之K392C(殘基之編號係根據Kabat EU索引編號系統)。

【0296】 在一個實施例中，CH₃多肽為抗體之重鏈。在一個實施例中，多特異性抗體為包含兩條重鏈之雙特異性全長免疫球蛋白(Ig)，例如IgG，其中兩條重鏈中之至少一者之CH₃域藉由杵臼技術經工程改造，且其中各重鏈與輕鏈配對以形成抗原結合域。在此類實施例中，由一對重鏈及輕鏈形成之各抗原結合域結合於相同或不同抗原上之單獨的抗原決定基。經工程改造以引入杵之重鏈可稱為「杵鏈」。經工程改造以引入互補臼之重鏈可稱為「臼鏈」。

【0297】 在一個態樣中，本發明之多特異性抗體包含如表5中所描述之杵及臼突變(取代)之組合中之一者(殘基之編號係根據EU索引編號系統)。或者，可將杵及臼突變引入一條重鏈中且可在第二重鏈中引入互補杵及臼突變。

【0298】 表5. 例示性杵及臼突變(取代)。編號係根據EU。

杵	臼
T366W	T366S、L368A、Y407V
T366W、S354C	T366S、L368A、Y407V、Y349C
T366W、Y349C	T366S、L368A、Y407V、E356C
T366Y	Y407T
T366W	Y407A
T394W	F405A
F405W	T394S
T366Y	Y407T

【0299】 在一個實施例中，用於本發明之抗體包含重鏈(亦即，杵鏈)中之杵取代T366W及Y349C以及第二重鏈(亦即，臼鏈)中之臼取代T366S、L368A、Y407V及E356C。

【0300】 可藉由此項技術中熟知之方法，例如藉由定點突變誘發將突變引入重鏈或輕鏈之恆定域。

【0301】 在一個實施例中，多特異性抗體之輕鏈彼此一致，且第一重鏈及第一輕鏈形成結合於第一抗原之結合域，且第二重鏈及第二輕鏈形成結合於不同抗原之結合域。在此類實施例中，可用一或多種包含核酸之載體共轉染宿主細胞，該等核酸編碼臼重鏈、杵重鏈及共同輕鏈。用於製備包含兩條共同輕鏈之雙特異性抗體之方法已描述於例如US9409989中。

【0302】 在另一實施例中，藉由杵臼技術經工程改造之多特異性抗體包含兩條不同的輕鏈。

【0303】 用於製備藉由杵臼技術經工程改造之包含兩條抗體重鏈及兩條不同輕鏈(各重鏈與輕鏈配對以形成不同的抗原結合域)的雙特異性抗

體之方法已描述於例如 WO11133886、WO2013/055958 及 WO2015/171822中。

【0304】更特定言之，本發明提供結合於IL22及IL13之多特異性抗體，其包含以下或由以下組成：

a) 式(III)之多肽鏈：

VH₁-CH₁-CH₂-CH₃；

b) 式(IV)之多肽鏈：

VL₁-C_L；

c) 式(V)之多肽鏈：

VH₂-CH₁-CH₂-CH₃；及

d) 式(VI)之多肽鏈：

VL₂-C_L；

其中：

VH₁及VH₂ 表示重鏈可變域；

CH₁ 表示重鏈恆定區之域1；

CH₂ 表示重鏈恆定區之域2；

CH₃ 表示重鏈恆定區之域3；

VL₁及VL₁ 表示輕鏈可變域；

C_L 表示來自輕鏈恆定區之域，諸如C_κ；

且其中VH₁及VL₁包含IL22結合域，且VH₂及VL₂包含IL13結合域，且其中式III及V之多肽之CH₃域包含一或多個表5中所列舉之取代。

【0305】在一個實施例中，本發明之抗體包含重鏈(亦即，式III或V之多肽)中之杵取代T366W以及第二重鏈(亦即，分別為式V或III之多肽)

中之白取代T366S、L368A、Y407V。

【0306】 在一個實施例中，VL₁包含
CDR-L1，其包含SEQ ID NO:8，
CDR-L2，其包含SEQ ID NO:9，及
CDR-L3，其包含SEQ ID NO:10；
且包含VH₁
CDR-H1，其包含SEQ ID NO:11，
CDR-H2，其包含SEQ ID NO:12，及
CDR-H3，其包含SEQ ID NO:13。

【0307】 在一個實施例中，VL₂包含
CDR-L1，其包含SEQ ID NO:22，
CDR-L2，其包含SEQ ID NO:23，及
CDR-L3，其包含SEQ ID NO:24；
且VH₂包含
CDR-H1，其包含SEQ ID NO:25，
CDR-H2，其包含SEQ ID NO:26，及
CDR-H3，其包含SEQ ID NO:27。

【0308】 在一個實施例中，式(III)之多肽鏈包含SEQ ID NO:144中所提供之序列，式(IV)之多肽鏈包含SEQ ID NO:142中所提供之序列，式(V)之多肽鏈包含SEQ ID NO:152中所提供之序列，式(VI)之多肽鏈包含SEQ ID NO:148中所提供之序列。

【0309】 在一個實施例中，式(III)之多肽鏈包含SEQ ID NO:146中所提供之序列，式(IV)之多肽鏈包含SEQ ID NO:142中所提供之序列，式

(V)之多肽鏈包含SEQ ID NO:150中所提供之序列，式(VI)之多肽鏈包含SEQ ID NO:148中所提供之序列。

抗體之功能特性

【0310】 根據本發明之多特異性抗體包含至少兩個抗原結合域，其中一個抗原結合域結合於IL13且第二抗原結合域結合於IL22。更特定言之，此類多特異性抗體能夠結合於人類及食蟹獼猴IL22及IL13。

【0311】 根據本發明之組合物包含有包含結合於IL22之抗原結合域之抗體及包含結合於IL13之抗原結合域之抗體。更特定言之，結合於IL22之抗原結合域能夠結合人類及食蟹獼猴IL22且結合於IL13之抗原結合域能夠結合人類及食蟹獼猴IL13。

【0312】 IL13結合域可：

- i. 結合於IL13且阻止IL13R α 1之結合，且因此亦阻斷與IL4R之後續相互作用；或
- ii. 以允許與IL13R α 1結合但阻止IL4R募集至複合物中之方式結合於IL13。

【0313】 IL22結合域可：

- i. 結合於IL22且阻止IL22與IL22R1結合；或
- ii. 結合於IL22，但允許IL22R1與IL22結合。

【0314】 較佳抗體對其抗原具有特異性。

【0315】 本文中關於抗原結合域所描述之特性亦適用於含有此等域之抗體，包括多特異性抗體。

【0316】 本發明之抗體為中和抗體。

【0317】 較佳地，IL22結合域中和一或多種IL22活性。特定言之，

IL22結合域能夠中和結合於IL22受體1 (IL22R1)之IL22。IL22結合域結合於IL22且抑制IL22與IL22結合蛋白質(IL22RA2或IL22BP)之結合。較佳地，IL22結合域能夠中和結合於IL22受體1 (IL22R1)及IL22結合蛋白質(L22RA2)之IL22。

【0318】 IL22結合域結合於IL22上之與IL22R1相同之區域。在IL22結合域之一個特定實施例中，本發明提供結合於IL22上之區域，使得該結合在空間上阻斷IL22與IL22R1之間的相互作用之IL22結合域。

【0319】 在一個實施例中，根據本發明之IL22結合域結合於未與IL22結合蛋白質結合之IL22(「游離IL22」)。在另一實施例中，IL22結合域結合於IL22且阻止IL22與IL22結合蛋白質之結合。

【0320】 較佳地，IL13結合域中和一或多種IL13活性。IL13結合域亦抑制與IL13R- α 1及IL13R- α 2之IL13相互作用。IL13結合域結合於IL13且阻止IL13R α 1之結合，且因此亦阻斷IL-4R之結合。在一個實例中，IL13結合域結合於IL13且阻斷IL13與IL13R- α 1及/或IL13R- α 2之相互作用。抑制IL13與IL13R- α 1之結合可阻止IL13/IL13R- α 1/IL4R- α 受體複合物之形成。在一個實例中，IL13結合域允許IL13與IL13R- α 1之結合，但阻斷IL4R- α 之結合，由此阻止受體複合物之形成。

【0321】 在一個實施例中，與IL22R1相比，IL22結合域具有更強的針對IL22之結合親和力。此由針對IL22之解離常數(KD)比IL22R1或IL22BP高至少10倍表徵。特定言之，使用BIACore技術量測此解離常數。

【0322】 IL22結合域以足夠的親和力及特異性結合於IL22。在某些實施例中，IL22結合域以約1 μ M、100 nM、50 nM、40 nM、30 nM、20

nM、10 nM、5 nM、1 nM、0.5 nM、0.1 nM、0.05 nM或0.001 nM (例如， 10^{-8} M或更低，例如 10^{-8} M至 10^{-13} M，例如， 10^{-9} M至 10^{-13} M)(包括此等值之間的任何範圍)中之任一者之KD結合於人類IL22。在一個實施例中，根據本發明之IL22結合域以小於100 pM之KD結合於人類IL22。

【0323】 在某些實施例中，IL22結合域以約1 μ M、100 nM、50 nM、40 nM、30 nM、20 nM、10 nM、5 nM、1 nM、0.5 nM、0.1 nM、0.05 nM或0.001 nM (例如， 10^{-8} M或更低，例如， 10^{-8} M至 10^{-13} M，例如， 10^{-9} M至 10^{-13} M)(包括此等值之間的任何範圍)中之任一者之KD結合於食蟹獼猴IL22。在一個實施例中，IL22結合域以小於100 pM之KD結合於食蟹獼猴IL22。

【0324】 在某些實施例中，IL13結合域以約1 μ M、100 nM、50 nM、40 nM、30 nM、20 nM、10 nM、5 nM、1 nM、0.5 nM、0.1 nM、0.05 nM或0.001 nM (例如， 10^{-8} M或更低，例如， 10^{-8} M至 10^{-13} M，例如， 10^{-9} M至 10^{-13} M)(包括此等值之間的任何範圍)之KD結合於人類IL13。在一個實施例中，根據本發明之IL13結合域以小於100 pM之KD結合於人類IL13。

【0325】 在某些實施例中，IL13結合域以約1 μ M、100 nM、50 nM、40 nM、30 nM、20 nM、10 nM、5 nM、1 nM、0.5 nM、0.1 nM、0.05 nM或0.001 nM (例如， 10^{-8} M或更低，例如， 10^{-8} M至 10^{-13} M，例如， 10^{-9} M至 10^{-13} M)(包括此等值之間的任何範圍)之KD結合於食蟹獼猴IL13。在一個實施例中，IL13結合域以小於250 pM之KD結合於食蟹獼猴IL13。

【0326】 熟習此項技術者應瞭解，KD值可視抗體之型式及整體結

構而不同。舉例而言，抗原結合域之KD可在多特異性抗體之情形中不同。

【0327】 本發明之多特異性抗體及組合物亦能夠抑制細胞中之IL10釋放。

【0328】 如由實例證明，IL22結合域能夠抑制IL22介導之角質細胞增殖及分化。

【0329】 本發明之多特異性抗體展示IL13生物標記物(伊紅趨素-3)及IL22依賴性生物標記物(S100A7)之劑量依賴性抑制。

【0330】 本發明之多特異性抗體能夠同時結合於人類或食蟹獼猴IL22及IL13。在一個實施例中，多特異性抗體包含額外的抗原結合域，其結合於白蛋白且能夠同時結合人類或食蟹獼猴IL22、IL13及白蛋白。

【0331】 因此，本發明之多特異性抗體以與包含結合於IL13之抗體及結合於IL22之抗體的組合物類似之方式起作用。

【0332】 熟習此項技術者可使用習知技術(例如Scatchard等人(Ann. KY. Acad. Sci. 51:660-672 (1949)描述之技術)或使用諸如BIAcore之系統藉由表面電漿子共振(SPR)來測定抗體之親和力及抗體抑制結合之程度。對於表面電漿子共振，目標分子係固定於固相上且在沿流槽延伸之行動相中暴露於配位體。若發生配位體與固定目標之結合，則局部折射率改變，引起SPR角之變化，其可藉由偵測反射光強度之變化而進行即時監測。可分析SPR信號之變化速率以針對結合反應之締合及解離相產生表觀速率常數。此等值之比提供表觀平衡常數(親和力)(參見例如Wolff等人, Cancer Res. 53:2560-65 (1993))。

抗原決定基及結合於相同抗原決定基之抗體

【0333】 在輕鏈、重鏈、輕鏈可變區(LCVR)、重鏈可變區(HCVR)或CDR序列方面，抗體可與如上文所定義之抗體競爭結合於IL22及/或IL13或結合於相同抗原決定基。

【0334】 抗體可與多特異性抗體競爭結合於IL22或結合於相同抗原決定基，該多特異性抗體包含SEQ ID NO:8/9/10/11/12/13之CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列組合。

【0335】 抗體可與多特異性抗體競爭結合於IL13或結合於相同抗原決定基，該多特異性抗體包含SEQ ID NO:22/23/24/25/26/27之CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列組合。

【0336】 抗體可與多特異性抗體競爭結合於血清白蛋白或結合於相同抗原決定基，該多特異性抗體包含SEQ ID NO:40/41/42/43/44/45之CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列組合。

【0337】 抗體可與多特異性抗體競爭結合於IL22或結合於相同抗原決定基，該多特異性抗體包含SEQ ID NO:14/16或76/78之LCVR及HCVR序列對。抗體可與Fab競爭結合於IL22或結合於相同抗原決定基，該Fab包含有包含SEQ ID NO:18中所提供之序列之輕鏈及包含SEQ ID NO:20中所提供之序列之重鏈。

【0338】 因此，在一個實施例中，IL22結合域結合於IL22上之抗原決定基，該抗原決定基包含對應於由SEQ ID NO:1定義之IL22之胺基酸序列之殘基72-85的多肽VRLIGEKLFHGVSM (SEQ ID NO:155)之一或多個殘基。更特定言之，抗體結合於選自由SEQ ID NO:1定義之IL22之胺基酸序列之殘基72-85的至少1個、至少2個、至少3個、至少5個、至少8個、至少10個或所有殘基。更特定言之，IL22結合域結合於對應於由SEQ

ID NO:1 定義之 IL22 之胺基酸序列之殘基 72-85 的多肽 VRLIGEKLFGVSM (SEQ ID NO:155)。

【0339】 在一個實施例中，IL22結合域結合於IL22上之抗原決定基，該抗原決定基包含選自由以下組成之清單的至少1個、至少2個、至少3個、至少5個、至少8個、至少10個或所有殘基：人類IL22 (SEQ ID NO:1) 之 Gln48、Glu77、Phe80、His81、Gly82、Val83、Ser84、Met85、Arg88、Leu169、Met172、Ser173、Arg175、Asn176 及 Ile179，如在小於4 Å接觸距離處測定。更特定言之，IL22結合域結合於IL22上之抗原決定基，該抗原決定基包含選自由以下組成之清單的至少1個、至少2個、至少3個、至少5個、至少8個、至少10個或所有殘基：人類IL22 (SEQ ID NO:1) 之 Lys44、Phe47、Gln48、Ile75、Gly76、Glu77、Phe80、His81、Gly82、Val83、Ser84、Met85、Ser86、Arg88、Leu169、Met172、Ser173、Arg175、Asn176及Ile179，如以抗體與IL22之間小於5Å接觸距離之距離測定。

【0340】 特定言之，抗體可與包含以下表6或7中所列舉之重鏈及輕鏈之殘基的抗體競爭結合於IL22或結合於相同抗原決定基。更特定言之抗體包含有包含表7中所定義之殘基之CDR-H3序列且較佳結合於如上文所定義之IL22上之抗原決定基。更特定言之，本發明之抗體包含如表6或7中所定義之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3殘基且結合於如上文所定義之IL22上之抗原決定基。

【0341】 表6. 涉及與IL22之相互作用的本發明之IL22結合域之輕鏈及重鏈之胺基酸(11041)，其具有抗體與IL22之間的 ≤ 4 Å接觸距離。殘基之位置對應於輕鏈之SEQ ID NO:14及重鏈之SEQ ID NO:16 (依序編

號)。

輕鏈	重鏈
Tyr30 (CDR1)	Ser31 (CDR1)
Thr31 (CDR1)	Tyr32 (CDR1)
Asn32 (CDR1)	Ala33 (CDR1)
Trp50 (CDR2)	Asp52 (CDR2)
Tyr93 (CDR3)	Ile53 (CDR2)
	Arg99 (CDR3)
	Phe100 (CDR3)
	Val101 (CDR3)
	Gly102 (CDR3)
	Val103 (CDR3)
	Asp104 (CDR3)

【0342】表7. 涉及與IL22之相互作用之本發明之IL22結合域之輕鏈及重鏈之胺基酸(11041)，其具有抗體與IL22之間的 $\leq 5 \text{ \AA}$ 接觸距離。殘基之位置對應於輕鏈之SEQ ID NO:14及重鏈之SEQ ID NO:16 (依序編號)。

輕鏈	重鏈
Tyr30 (CDR1)	Ser30 (CDR1)
Thr31 (CDR1)	Ser31 (CDR1)
Asn32 (CDR1)	Tyr32 (CDR1)
Trp50 (CDR2)	Ala33 (CDR1)
Tyr93 (CDR3)	Ile50 (CDR2)
Gly94 (CDR3)	Asp52 (CDR2)
Tyr101 (CDR3)	Ile53 (CDR2)
	Glu54 (CDR2)
	Tyr58 (CDR2)
	Arg97 (CDR3)
	Asp98 (CDR3)
	Arg99 (CDR3)
	Phe100 (CDR3)
	Val101 (CDR3)
	Gly102 (CDR3)
	Val103 (CDR3)
	Asp104 (CDR3)

【0343】更特定言之，本發明之多特異性抗體結合於如上文所定義之人類IL22上之抗原決定基，且其中該抗體阻止IL22與IL22R1及IL22RA2之結合。更特定言之，抗體之輕鏈在空間上阻止IL22R1與IL22之結合。

【0344】可藉由此項技術中已知之任何適合之結合位點定位方法與

由本發明所提供之抗體中之任一者之組合鑑別抗原決定基。此類方法之實例包括針對與本發明之抗體之結合來篩檢來源於全長目標蛋白質之具有不同長度之肽，及鑑別可特異性結合於含有由抗體識別之抗原決定基之序列的抗體之片段。可以合成方式製備目標肽。可藉由例如質譜分析來鑑別結合抗體之肽。在另一實例中，可使用NMR光譜法或X射線結晶學鑑別本發明之抗體所結合之抗原決定基。通常，在藉由X射線結晶學進行抗原決定基測定時，在與CDR相距4 Å內之抗原的胺基酸殘基視為抗原決定基之胺基酸殘基部分。在鑑別後，抗原決定基可用於製備結合本發明之抗體之片段且視需要用作免疫原以獲得結合相同抗原決定基之額外抗體。

【0345】 在一個實施例中，藉由X射線結晶學測定抗體之抗原決定基。

【0346】 藉由使用此項技術中已知之常規方法，可容易地測定抗體是否與參考抗體結合於相同抗原決定基或競爭結合。舉例而言，為測定測試抗體是否與本發明之參考抗體結合於相同抗原決定基，使參考抗體在飽和條件下與蛋白質或肽結合。接著，評估測試抗體結合於蛋白質或肽之能力。若在飽和結合參考抗體之後測試抗體能夠結合於蛋白質或肽，則可得出以下結論：測試抗體與參考抗體結合於不同抗原決定基。另一方面，若在飽和結合參考抗體之後測試抗體不能結合於蛋白質或肽，則測試抗體可結合於與由本發明之參考抗體所結合之抗原決定基相同的抗原決定基或參考抗體引起抗原之構形變化且因此阻止測試抗體之結合。

【0347】 為測定抗體是否與參考抗體競爭結合，以兩種不同實驗設置來進行上述結合方法論。在第一設置中，使參考抗體在飽和條件下結合於抗原，接著評估測試抗體與抗原之結合。在第二設置中，使測試抗體在

飽和條件下結合於抗原，接著評估參考抗體與蛋白質/肽之結合。在兩種實驗性設置中，若僅第一(飽和)抗體能夠結合於蛋白質/肽，則得出以下結論：測試抗體及參考抗體競爭結合於抗原。如熟習此項技術者將瞭解，與參考抗體競爭結合之抗體可能未必與參考抗體結合於相同抗原決定基，但可藉由結合重疊或相鄰抗原決定基而在空間上阻斷參考抗體之結合或引起構形變化，該構形變化引起結合不足。

【0348】 若兩種抗體中之一者競爭性地抑制(阻斷)另一者與抗原之結合，則該兩種抗體結合於相同或重疊抗原決定基。若減少或消除一種抗體之結合之一些胺基酸突變減少或消除另一種抗體之結合，則該兩種抗體具有重疊抗原決定基。

【0349】 或者，若抗原中之減少或消除一種抗體之結合的基本上所有胺基酸突變減少或消除另一種抗體之結合，則該兩種抗體具有相同抗原決定基。

【0350】 接著，可進行其他常規實驗(例如，肽突變及結合分析)以確認所觀測到的測試抗體之結合不足確實係歸因於與參考抗體相同之抗原部分之結合或空間阻斷(或另一種現象)是否引起所觀測到的結合不足。此類實驗可使用ELISA、RIA、表面電漿子共振、流式細胞測量術或此項技術中可用的任何其他定量或定性抗體結合分析法來進行。

抗體變異體

【0351】 在某些實施例中，提供具有一或多個胺基酸取代、插入及/或缺失之抗體變異體。用於取代型突變誘發之感興趣的位點包括CDR及FR。可將胺基酸取代引入感興趣的抗體且針對所需活性(例如，保留/經改良之抗原結合、降低之免疫原性或經改良之ADCC或CDC)篩檢產物。

【0352】 在某些實施例中，涵蓋本文中所描述之抗體之胺基酸序列變異體。舉例而言，可能需要改良抗體之結合親和力及/或其他生物特性。抗體之胺基酸序列變異體可藉由將適當修飾引入編碼蛋白質之核苷酸序列或藉由肽合成來製備。此類修飾包括例如抗體之胺基酸序列內(諸如一或多個CDR及/或構架序列中或VH及/或VL域中)之殘基之缺失及/或插入及/或取代。可進行缺失、插入及取代之任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為最終構築體具有所需特徵。

【0353】 在本文中所提供之變異型VH及VL序列之某些實施例中，各HVR未改變或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

IL22結合域變異體

【0354】 將瞭解，可對由本發明提供之IL22結合域之CDR進行一或多個胺基酸取代、添加及/或缺失而不顯著改變抗體結合於IL22及降低IL22活性之能力。熟習此項技術者可容易地測試任何胺基酸取代、添加及/或缺失之作用，例如藉由使用本文中所描述的方法，尤其實例中說明之方法，以測定IL22結合及IL22與其受體IL22R1及IL22結合蛋白質之相互作用之抑制。

【0355】 因此，在IL22結合域之變異型VH及VL序列之某些實施例中，各CDR含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代，其中此類胺基酸取代為保守性的，且其中IL22結合域保持其與IL22之結合特性且阻斷IL22與IL22R1及IL22結合蛋白質之結合。

【0356】 因此，在一個實施例中，IL22結合域包含如由SEQ ID NO:8/9/10/11/12/13中所提供之序列定義之CDR，其中一或多個CDR中之一或多個胺基酸已經另一胺基酸(例如，如下文中所定義之類似胺基酸)取

代。

【0357】 在一個實施例中，IL22結合域包含輕鏈可變域，該輕鏈可變域包含與SEQ ID NO:14中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列，及重鏈可變域，該重鏈可變域包含與SEQ ID NO:16中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列。

【0358】 在實施例中，一或多個CDR中之一或多個胺基酸取代置換游離半胱胺酸殘基或調節潛在天冬醯胺去醯胺化位點。在實施例中，一或多個CDR中之一或多個胺基酸取代調節潛在天冬胺酸異構化位點。在實施例中，一或多個CDR中之一或多個胺基酸取代移除潛在DP水解位點。在IL22結合域之實施例中，一或多個CDR中之一或多個胺基酸取代置換游離半胱胺酸殘基或調節潛在天冬醯胺去醯胺化位點。在實施例中，一或多個CDR中之一或多個胺基酸取代調節潛在天冬胺酸異構化位點。在IL22結合域之實施例中，一或多個CDR中之一或多個胺基酸取代移除潛在DP水解位點。

【0359】 在實施例中，參考CDR-L3 (SEQ ID NO:10)，取代為C91S或C91V；N95D；S96A；或其組合；參考CDR-H2 (SEQ ID NO:12)，取代為D54E、G55A或其組合；參考CDR-H3 (SEQ ID NO:13)，取代為D107E或前述取代之組合，其中輕鏈內之位置係根據SEQ ID NO:14且重鏈內之位置係根據SEQ ID NO:16。

【0360】 在一個實施例中，本發明之抗體包含輕鏈可變區及重鏈可變區，其中輕鏈可變區包含SEQ ID NO:14中所提供之序列，其中位置91、95及/或96處之一或多個殘基經另一胺基酸取代；且重鏈可變區包含

SEQ ID NO:16中所提供之序列，其中位置54、55及/或107處之一或多個經另一胺基酸取代。

【0361】 在一些實施例中，IL22結合域為Fab，該Fab包含輕鏈及/或重鏈，該輕鏈包含與SEQ ID NO:18中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列且該重鏈包含與SEQ ID NO:20中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列。

【0362】 在一些實施例中，IL22結合域包含有分別包含SEQ ID NO:8/9/10/11/12/13 之 CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列，且輕鏈及重鏈可變區之其餘部分分別與SEQ ID NO:14及16具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性。

IL13結合域變異體

【0363】 亦應理解，可對由本發明提供之IL13結合域之CDR進行一或多個胺基酸取代、添加及/或缺失而不顯著改變抗體結合於IL13及中和IL13活性之能力。熟習此項技術者可容易地測試任何胺基酸取代、添加及/或缺失之作用以測定IL13與IL13R- α 1及IL13R- α 2之結合。

【0364】 因此，在IL13結合域之變異型VH及VL序列之某些實施例中，各CDR含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代，其中此類胺基酸取代為保守性的，且其中IL13結合域保持與IL13之結合特性且阻斷IL13與IL13R- α 1及IL13R- α 2之結合，且阻止IL13R α 1之結合及阻斷IL-4R之結合。

【0365】 因此，在一個實施例中，IL13結合域包含如由SEQ ID NO:22/23/24/25/26/27中所提供之序列定義之CDR，其中一或多個CDR中之一或多個胺基酸經另一胺基酸(例如，如下文中所定義之類似胺基酸)取代。

【0366】 在一些實施例中，IL13結合域包含輕鏈可變區及/或重鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO:28中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列且該重鏈可變區包含與SEQ ID NO:29中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列。

【0367】 在一些實施例中，IL13結合域包含輕鏈可變區及/或重鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO:32中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列且該重鏈可變區包含與SEQ ID NO:33中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列。

【0368】 在一些實施例中，IL13結合域為包含與SEQ ID NO:36中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列之scFv，或包含與SEQ ID NO:38中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列之dsscFv。

【0369】 在一些實施例中，IL13結合域包含有分別包含SEQ ID

NO:22/23/24/25/26/27 之 CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列，且輕鏈及重鏈可變區之其餘部分分別與SEQ ID NO:28及29具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性。

【0370】 在一些實施例中，IL13結合域包含有分別包含SEQ ID NO:22/23/24/25/26/27 之 CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列，且輕鏈及重鏈可變區之其餘部分分別與SEQ ID NO:32及33具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性。

白蛋白結合域變異體

【0371】 在一個實施例中，白蛋白結合域包含如由SEQ ID NO:40/41/42/43/44/45中所提供之序列定義之CDR，其中一或多個CDR中之一或多個胺基酸經另一胺基酸(例如，如下文中所定義之類似胺基酸)取代。

【0372】 在一些實施例中，白蛋白結合域包含輕鏈可變區及/或重鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO:46中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列且該重鏈可變區包含與SEQ ID NO:47中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列。

【0373】 在一些實施例中，白蛋白結合域包含輕鏈可變區及/或重鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO:50中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或

99%一致性或類似性之序列且該重鏈可變區包含與SEQ ID NO:51中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列。

【0374】 在一些實施例中，抗白蛋白結合域為包含與SEQ ID NO:54中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列之scFv，或包含與SEQ ID NO:56中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列之dsscFv。

在一些實施例中，白蛋白結合域包含有分別包含SEQ ID NO:40/41/42/43/44/45 之 CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列，且輕鏈及重鏈可變區之其餘部分分別與SEQ ID NO:46及47具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性。

在一些實施例中，白蛋白結合域包含有分別包含SEQ ID NO:40/41/42/43/44/45 之 CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列，且輕鏈及重鏈可變區之其餘部分分別與SEQ ID NO:50及51具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性。

多特異性抗體變異體

【0375】 在某些實施例中，一或多個CDR內可存在取代、插入或缺失，只要此類變化不實質上降低抗體結合於IL22及IL13之能力即可。舉例而言，可在CDR中進行不實質上降低結合親和力之保守性變化。此類變

化可在CDR外部。在變異型VH及VL序列之某些實施例中，各CDR未改變或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

【0376】 因此，本發明提供多特異性抗體，其包含如由SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、22、23、24、25、26、27中所提供之序列定義之CDR，其中一或多個CDR中之一或多個胺基酸經另一胺基酸(例如，如下文中所定義之類似胺基酸)取代。

【0377】 此外，本發明提供多特異性抗體，其包含如由SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、22、23、24、25、26、27、40、41、42、43、44、45中所提供之序列定義之CDR，其中一或多個CDR中之一或多個胺基酸經另一胺基酸(例如，如下文中所定義之類似胺基酸)取代。

【0378】 在一個實施例中，多特異性抗體之CDR包含與SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、22、23、24、25、26、27中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列，同時保持結合於IL13及IL22之能力。

【0379】 在一個實施例中，V_L包含與SEQ ID NO:14中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列，且V_H包含與SEQ ID NO:16中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列。

【0380】 在一個實施例中，V₁包含輕鏈可變區及/或重鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO:46中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列且該重鏈可變區包含與SEQ ID NO:47中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一

致性或類似性之序列。

【0381】 在一個實施例中， V_1 包含輕鏈可變區及/或重鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO:50中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列且該重鏈可變區包含與SEQ ID NO:51中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列。

【0382】 在一個實施例中，式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)中之 V_1 之輕鏈可變區及重鏈可變區由連接子連接，該連接子包含與SEQ ID NO:69中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列。

【0383】 在一個實施例中， V_1 為包含與SEQ ID NO:54中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列之scFv，或包含與SEQ ID NO:56中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列之dsscFv。

【0384】 在一個實施例中， V_2 包含輕鏈可變區及/或重鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO:28中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列且該重鏈可變區包含與SEQ ID NO:29中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列。

【0385】 在一個實施例中， V_2 包含輕鏈可變區及/或重鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO:32中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列且該重鏈可變區包含與SEQ ID NO:33中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一

致性或類似性之序列。

【0386】 在一個實施例中， V_2 之輕鏈可變區及重鏈可變區由連接子連接，該連接子包含與SEQ ID NO:67中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列。

【0387】 在一個實施例中， V_2 為包含與SEQ ID NO:36中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列之scFv，或包含與SEQ ID NO:38中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列之dsscFv。

【0388】 在一個實施例中，式I、Ia、Ib、Ic或Id中之X為連接子，其包含與SEQ ID NO:68中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列。

【0389】 在一個實施例中，Y為連接子，其包含與SEQ ID NO:66中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列。

【0390】 在一個實施例中，式(Ia)之多肽鏈包含與SEQ ID NO:58或SEQ ID NO:58或60中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列。

【0391】 在一個實施例中，式(IIa)之多肽鏈包含與SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:64中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、95%或98%一致性或類似性之序列。

【0392】 在一個實施例中，式(Ia)之多肽鏈包含與SEQ ID NO:58中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列，且式(IIa)之多肽鏈包含與SEQ ID NO:62中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列。

【0393】 在一個實施例中，式(Ia)之多肽鏈包含與SEQ ID NO:60中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列，且式(IIa)之多肽鏈包含與SEQ ID NO:64中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性之序列。

【0394】 在一些實施例中，多特異性抗體包含如由SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、22、23、24、25、26、27、40、41、42、43、44、45中所提供之序列定義之CDR，如由本文中所提供之序列定義之相應重鏈及輕鏈可變區，且可變區外部的式(Ia)及(IIa)之多肽鏈之其餘部分與如本文中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或類似性。

【0395】 在一些實施例中，多特異性抗體包含如由SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、22、23、24、25、26、27中所提供之序列定義之CDR，如由本文中所提供之序列定義之相應重鏈及輕鏈可變區，且可變區外部的式(III)、(IV)、(V)及(VI)之多肽鏈之其餘部分與如本文中所提供之序列具有至少70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、

96%、97%、98%或99%一致性或類似性。

序列一致性及類似性

【0396】 可容易地計算序列之間的一致性與類似性之程度。「序列一致性百分比」(或「序列類似性百分比」)係藉由以下計算：(1)在比較窗口(例如，較長序列之長度、較短序列之長度、指定窗口等)內比較兩個最佳比對之序列，(2)測定含有一致(或類似)胺基酸(例如，兩個序列中存在之一致胺基酸、兩個序列中存在之類似胺基酸)之位置數，得到匹配位置數，(3)將匹配位置數除以比較窗口(例如，較長序列之長度、較短序列之長度、指定窗口)中之總位置數，及(4)將結果乘以100，得到序列一致性百分比或序列類似性百分比。

【0397】 用於比較之序列比對方法在此項技術中已熟知。可進行用於比較之序列之最佳比對，例如藉由Smith及Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482 (1981)之局部同源性演算法、Needleman及Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443 (1970)之同源性比對演算法、Pearson及Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444 (1988)之類似性檢索方法、此等演算法之電腦化實施方案(Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.中之GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA)或人工比對及目視檢查(參見例如Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel等人編, 1995增刊)。

【0398】 適用於測定序列一致性及序列類似性百分比之演算法之較佳實例包括BLAST及BLAST 2.0演算法，其描述於Altschul等人, *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402 (1977)及Altschul等人, *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990)中。亦可使用FASTA，使用預設或建議參數比較多肽序列。

FASTA(例如FASTA2及FASTA3)提供查詢及檢索序列之間的最佳重疊區域的比對及序列一致性百分比。

【0399】 在某些實施例中，一或多個CDR內可存在取代、插入或缺失，只要此類變化不實質上降低抗體結合目標之能力即可。

【0400】 舉例而言，可在CDR中進行不實質上降低結合親和力之保守性變化。可在CDR中之抗原接觸殘基之外部進行此類變化。

【0401】 保守性取代及更多的實質性「例示性取代」展示於表8中。

【0402】 表8. 胺基酸取代之實例

原始殘基	例示性取代	保守性取代
Ala (A)	Val ; Leu ; Ile	Val
Arg (R)	Lys ; Gln ; Asn	Lys
Asn (N)	Gln ; His ; Asp, Lys ; Arg	Gln
Asp (D)	Glu ; Asn	Glu
Cys(C)	Ser ; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn ; Glu	Asn
Glu (E)	Asp ; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn ; Gln ; Lys ; Arg	Arg
Ile (I)	Leu ; Val ; Met ; Ala ; Phe	Leu
Leu (L)	Ile ; Val ; Met ; Ala ; Phe	Ile
Lys (K)	Arg ; Gln ; Asn	Arg
Met (M)	Leu ; Phe ; Ile	Leu
Phe (F)	Trp ; Leu ; Val ; Ile ; Ala ; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val ; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr ; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp ; Phe ; Thr ; Ser	Phe
Val (V)	Ile ; Leu ; Met ; Phe ; Ala ;	Leu

【0403】 可藉由選擇在保持取代區域中之多肽主鏈之結構、目標位點處的分子之電荷或疏水性或側鏈之主體之作用方面顯著不同的取代來實現抗體變異體之生物特性之實質性修飾。可根據胺基酸側鏈之特性之類似性將胺基酸分組(A. L. Lehninger, Biochemistry 第二版, 第73-75頁,

Worth Publishers, New York (1975))。

【0404】 一種取代型變異體涉及取代親本抗體(人類化或人類抗體)之一或多個CDR區殘基。通常，選擇用於進一步研究之所得變異體與親本抗體相比將具有某些生物特性之變化(例如，增加之親和力、降低之免疫原性)及/或將實質上保留親本抗體之某些生物特性。例示性取代型變異體為親和力成熟抗體，其可例如使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術便利地產生。簡言之，使一或多個CDR殘基發生突變，且在噬菌體上呈現變異型抗體且針對特定生物活性(例如，結合親和力)進行篩檢。

【0405】 可在CDR中進行變化(例如，取代)以例如改良抗體親和力。此類變化可在HVR「熱點」中進行，亦即，由在體細胞成熟過程期間經歷高頻突變之密碼子編碼之殘基(參見例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008))，及/或使抗原與測試結合親和力之所得變異型VH或VL接觸之殘基。藉由構築二級庫及自二級庫再選擇來達成親和力成熟已描述於Hoogenboom等人, *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, (2001))中。在親和力成熟之一些實施例中，藉由各種方法(例如，易錯PCR、鏈改組或寡核苷酸導引之突變誘發)中之任一者將多樣性引入選擇用於成熟之可變基因中。隨後產生二級庫。隨後篩檢該庫以鑑別具有所需親和力之任何抗體變異體。

【0406】 一種可用於鑑別可作為突變誘發之目標的抗體之殘基或區域之方法為丙胺酸掃描突變誘發(Cunningham及Wells (1989) *Science*, 244: 1081-1085)。在此方法中，鑑別殘基或多個目標殘基且用丙胺酸置換以測定抗體與抗原之相互作用是否受影響。或者或另外，可使用抗原-抗體複合物之X射線結構鑑別抗體與其抗原之間的接觸點。可篩檢變異體

以測定其是否含有所需特性。

恆定區變異體

【0407】 在某些實施例中，可將一或多個胺基酸修飾引入本文中所提供之抗體的Fc區中，藉此產生Fc區變異體。Fc區變異體可包含在一或多個胺基酸位置包含胺基酸修飾(例如，取代)之人類Fc區序列(例如，人類IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc區)。

【0408】 描述與FcR之結合改良或減弱之某些抗體變異體(參見例如U.S. 6,737,056；WO 2004/056312，及Shields等人, J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001))。

【0409】 具有延長之半衰期及改良之與新生兒Fc受體(FcRn)之結合之抗體描述於US2005/0014934中。此等抗體包含具有一或多個取代之Fc區，在其中Fc區與FcRn之結合得到改良。

【0410】 在某些實施例中，抗體變異體包含具有可改良ADCC之一或多個胺基酸取代的Fc區，例如Fc區之位置298、333及/或334 (殘基之EU編號)處之取代。

【0411】 效應功能降低之抗體包括具有Fc區殘基234、235、237、238、265、269、270、297、327及329中之一或多者之取代的抗體(參見例如U.S. 6,737,056)。此類Fc突變體包括具有胺基酸位置265、269、270、297及327中之兩者或更多者處的取代之Fc突變體，其中胺基酸殘基係根據EU編號系統編號。

【0412】 可進行活體外及/或活體內細胞毒性分析法以確認CDC及/或ADCC活性之降低/損耗。舉例而言，可進行Fc受體(FcR)結合分析法以確保抗體不具有FcγR結合(因此可能不具有ADCC活性)，但保留FcRn結

合能力。用於介導ADCC之初生細胞，即NK細胞僅表現Fc γ RIII，而單核球表現FcRI、Fc γ RII及Fc γ RIII。造血細胞上之FcR表現概述於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)中。用於評估感興趣的分子之ADCC活性之活體外分析法的非限制性實例描述於US5,500,362、US5,821,337中。或者或另外，可活體內評估感興趣的分子之ADCC活性，例如在如揭示於Clynes等人 *Proc. Proc. Nat l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)中之動物模型中。亦可進行Clq結合分析法以證實抗體不能結合Clq且因此不具有CDC活性。參見例如WO 2006/029879及WO 2005/100402中之Clq及C3c結合ELISA。為評估補體活化，可進行CDC分析法(參見例如Gazzano-Santoro等人, *J. Immunol. Methods* 202: 163 (1996); Cragg, M.S.等人, *Blood* 101: 1045-1052 (2003); 及Cragg, M.S.及M.I Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。亦可使用此項技術中已知之方法進行FcRn結合及活體內清除率/半衰期測定(參見例如Petkova, S.B.等人, *Int l. Immunol.* 18(12): 1759-1769 (2006))。

【0413】 本發明之抗體分子之恆定區域(若存在)可根據抗體分子之建議功能且尤其可能需要的效應功能來選擇。舉例而言，恆定區域可為人類IgA、IgD、IgE、IgG或IgM域。特定言之，當抗體分子意欲用於治療用途且需要抗體效應功能時，可使用人類IgG恆定區域，尤其IgG1及IgG3同型。或者，當抗體分子意欲用於治療目的且不需要抗體效應功能時，可使用IgG2及IgG4同型。應瞭解，亦可使用此等恆定區域之序列變異體。

醣基化變異體

【0414】 在某些實施例中，對本文中所提供之抗體進行改變以增加或降低抗體醣基化之程度。抗體中之醣基化位點之添加或缺失可藉由改變

胺基酸序列以便產生或移除一或多個醣基化位點來便利地實現。

效應分子

【0415】 視需要，抗體可與一或多個效應分子結合。在一個實施例中，抗體不與效應分子連接。

【0416】 應瞭解，效應分子可包含單一效應分子或兩個或更多個連接以形成單一部分之此類分子，該單一部分可連接至本發明之多特異性抗體。在需要獲得連接至效應分子之抗體的情況下，此可藉由其中抗體片段直接或經由偶合劑連接至效應分子的標準化學或重組DNA程序來製備。用於使此類效應分子與抗體結合的技術為此項技術中熟知的(參見Hellstrom等人，Controlled Drug Delivery，第2版，Robinson等人編，1987，第623-53頁；Thorpe等人，1982，Immunol. Rev.，62:119-58及Dubowchik等人，1999，Pharmacology and Therapeutics，83，67-123)。特定化學程序包括例如WO 93/06231、WO 92/22583、WO 89/00195、WO 89/01476及WO 03/031581中所描述之程序。或者，在效應分子為蛋白質或多肽之情況下，鍵聯可使用重組DNA程序，例如WO 86/01533及EP0392745中所描述來實現。

【0417】 效應分子之實例可包括細胞毒素或細胞毒性劑，包括任何對細胞有害的(例如，殺傷)試劑。實例包括康普瑞汀(combrestatin)、海兔毒素(dolastatin)、埃博黴素(epothilone)、星形孢菌素(staurosporin)、類美登素(maytansinoid)、海綿素(spongistatin)、根瘤菌素(rhizoxin)、軟海綿素(halichondrin)、桿孢菌素(roridin)、海米斯林(hemiasterlin)、紫杉醇(taxol)、細胞遲緩素B (cytochalasin B)、短桿菌素D (gramicidin D)、溴化乙錠(ethidium bromide)、吐根素(emetine)、絲裂黴素

(mitomycin)、依託泊苷(etoposide)、特諾波賽(tenoposide)、長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、秋水仙鹼(colchicin)、小紅莓(doxorubicin)、道諾黴素(daunorubicin)、二羥基炭疽菌素二酮(dihydroxy anthracin dione)、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神黴素(mithramycin)、放線菌素D (actinomycin D)、1-去氫睪固酮、糖皮質激素、普魯卡因(procaine)、四卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛爾(propranolol)及嘌呤黴素(puromycin)以及其類似物或同源物。

【0418】 效應分子亦包括(但不限於)抗代謝物(例如，甲胺喋呤(methotrexate)、6-巯基嘌呤、6-硫代鳥嘌呤、阿糖胞苷(cytarabine)、5-氟尿嘧啶、達卡巴嗪(decarbazine)、烷基化劑(例如，甲氮芥(mechlorethamine)、噻替派苯丁酸氮芥(thioepa chlorambucil)、美法侖(melphalan)、卡莫司汀(carmustine；BSNU)及洛莫司汀(lomustine；CCNU)、環硫磷醯胺(cyclophosphamide)、白消安(busulfan)、二溴甘露醇(dibromomannitol)、鏈佐黴素(streptozotocin)、絲裂黴素C及順-二氯二胺鉑(II)(DDP)、順鉑(cisplatin)、蒽環黴素(anthracycline)(例如，道諾黴素(先前為柔紅黴素(daunomycin))及小紅莓(doxorubicin))、抗生素(例如，放線菌素D (先前為放射菌素)、博萊黴素(bleomycin)、光神黴素、安麴黴素(anthramycin；AMC)、卡奇黴素(calicheamicin)或倍癌黴素(duocarmycin))及抗有絲分裂劑(例如，長春新鹼(vincristine)及長春鹼(vinblastine))。

【0419】 其他效應分子可包括螯合型放射核種，諸如¹¹¹In及⁹⁰Y、^{Lu}177、^{Bi}213、^{Po}252、^{Ac}192及^{Pb}188/^{Bi}188；或藥物，諸如(但不限於)烷基磷酸膽鹼、拓樸異構酶I抑制劑、類紫杉醇(taxoid)及蘇拉明

(suramin)。

【0420】 其他效應分子包括蛋白質、肽及酶。感興趣的酶包括(但不限於)蛋白水解酶、水解酶、裂解酶、異構酶、轉移酶。感興趣的蛋白質、多肽及肽包括(但不限於)免疫球蛋白、毒素(諸如相思子毒素、蓖麻毒素A、假單胞菌外毒素(*pseudomonas exotoxin*)或白喉毒素)、蛋白質(諸如胰島素、腫瘤壞死因子、 α -干擾素、 β -干擾素、神經生長因子、血小板衍生生長因子或組織纖維蛋白溶酶原活化因子)、血栓劑或抗血管生成劑(例如血管生長抑素或內皮生長抑素)或生物反應調節劑(諸如淋巴介質、介白素-1 (IL-1)、介白素-2 (IL-2)、顆粒球巨噬細胞群落刺激因子(GM-CSF)、粒細胞群落刺激因子(G-CSF)、神經生長因子(NGF)或其他生長因子及免疫球蛋白。

【0421】 其他效應分子可包括適用於例如診斷之可偵測物質。可偵測物質之實例包括各種酶、輔基、螢光物質、發光物質、生物發光物質、放射性核種、正電子發射金屬(用於正電子發射斷層攝影術)及非放射性順磁性金屬離子。關於可結合於抗體以用於診斷學之金屬離子，通常參見US4,741,900。適合的酶包括辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、 β 半乳糖苷酶或乙醯膽鹼酯酶；適合的輔基包括鏈黴抗生物素蛋白、抗生素蛋白及生物素；適合的螢光物質包括傘酮、螢光素、異硫氰酸螢光素、若丹明(rhodamine)、二氯三吡基胺螢光素、丹磺醯氯及藻紅素；適合的發光物質包括魯米諾(luminol)；適合的生物發光物質包括螢光素酶、螢光素及水母素(aequorin)；且適合的放射性核素包括 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{111}In 及 ^{99}Tc 。

【0422】 在另一實例中，效應分子可延長抗體的活體內半衰期，及/或降低抗體之免疫原性及/或增強抗體跨越上皮障壁遞送至免疫系統。此

類型之適合的效應分子之實例包括聚合物、白蛋白、白蛋白結合蛋白質或白蛋白結合化合物，諸如WO2005/117984中所描述之化合物。

【0423】 在效應分子係聚合物之情況下，其通常可以為合成或天然存在之聚合物，例如視情況經取代之直鏈或分支鏈聚伸烷基、聚伸烯基或聚氧化烯聚合物，或分支或未分支多醣，例如同多醣或雜多醣。

【0424】 可存在於上文所提及之合成聚合物上的視情況存在之特定取代基包括一或多個羥基、甲基或甲氧基。

【0425】 合成聚合物之特定實例包括視情況經取代之直鏈或分支鏈聚(乙二醇)、聚(丙二醇)、聚(乙烯醇)或其衍生物，尤其視情況經取代之聚(乙二醇)，諸如甲氧基聚(乙二醇)或其衍生物。

【0426】 天然存在之特定聚合物包括乳糖、直鏈澱粉、聚葡萄糖、肝醣或其衍生物。

【0427】 在一個實施例中，聚合物為白蛋白或其片段，諸如人類血清白蛋白或其片段。

【0428】 聚合物尺寸可視需要而變化，但平均分子量通常在500 Da至50000 Da之範圍內，例如5000 Da至40000 Da，諸如20000 Da至40000 Da。聚合物尺寸可尤其基於產物之預期用途，例如定位至某些組織，諸如腫瘤或延長循環半衰期之能力而選擇(關於評述，參見Chapman, 2002, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 531-545)。因此，舉例而言，在產物意欲離開循環且滲透組織，例如用於治療腫瘤之情況下，宜使用例如分子量為約5000 Da之小分子量聚合物。對於產物留存在循環中之應用，宜使用較高分子量聚合物，例如分子量在20000 Da至40000 Da範圍內

【0429】 適合的聚合物包括聚伸烷基聚合物，諸如聚(乙二醇)或尤

其為甲氧基聚(乙二醇)或其衍生物，且尤其分子量在約15000 Da至約40000 Da範圍內的聚合物。

【0430】 在一個實例中，抗體連接至聚(乙二醇)(PEG)部分。在一個特定實施例中，根據本發明之抗原結合片段及PEG分子可經由定位於抗體片段中之任何可用胺基酸側鏈或末端胺基酸官能基(例如，任何游離胺基、亞胺基、巰基、羥基或羧基)連接。此類胺基酸可天然存在於抗體片段中或可使用重組DNA方法工程改造至片段中(參見例如US 5,219,996；US 5,667,425；WO98/25971、WO2008/038024)。在一個實例中，本發明之抗體分子為經修飾之Fab片段，其中該修飾為一或多個胺基酸添加至其重鏈之C端以允許效應分子之連接。適當地，其他胺基酸形成含有一或多個可與效應分子連接之半胱胺酸殘基的經修飾之鉸鏈區。可使用多個位點連接兩個或更多個PEG分子。

【0431】 PEG分子宜經由位於抗體片段中的至少一個半胱胺酸殘基之硫醇基共價連接。連接至經修飾之抗體片段的各聚合物分子可共價連接至位於片段中之半胱胺酸殘基之硫原子。共價鍵將通常為二硫鍵或尤其硫-碳鍵。在硫醇基用作連接點之情況下，可使用經適當活化之效應分子，例如硫醇選擇性衍生物，諸如順丁烯二醯亞胺及半胱胺酸衍生物。經活化之聚合物可用作用於製備如上文所描述之經聚合物修飾之抗體片段之起始物質。經活化之聚合物可為含有硫醇反應性基團之任何聚合物，諸如 α -鹵基羧酸或酯，例如碘乙醯胺、醯亞胺(例如，順丁烯二醯亞胺)、乙烯基砜或二硫化物。此類起始物質可商購(例如，購自Nektar，先前為Shearwater Polymers Inc., Huntsville, AL, USA)或可使用習知化學程序由市售起始物質製備。特定PEG分子包括20K甲氧基-PEG-胺(可獲自

Nektar，先前為Shearwater；Rapp Polymere；以及SunBio)及M-PEG-SPA (可獲自Nektar，先前為Shearwater)。

【0432】 在一個實施例中，抗體包含聚乙二醇化的經修飾之Fab片段、Fab'片段或diFab，亦即，具有與其共價連接之PEG (聚(乙二醇))，例如根據揭示於EP0948544或EP1090037中之方法[亦參見「Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications」, 1992, J. Milton Harris (編), Plenum Press, New York, 「Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications」, 1997, J. Milton Harris及S. Zalipsky (編), American Chemical Society, Washington DC及「Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences」, 1998, M. Aslam及A. Dent, Grove Publishers, New York；Chapman, A. 2002, Advanced Drug Delivery Reviews 2002, 54:531-545]。在一個實例中，PEG連接至鉸鏈區中之半胱胺酸。在一個實例中，經PEG修飾之Fab片段具有共價連接至經修飾之鉸鏈區中之單一硫醇基的順丁烯二醯亞胺基團。離胺酸殘基可共價連接至順丁烯二醯亞胺基團且離胺酸殘基上之各胺基可連接分子量為約20,000 Da的甲氧基聚(乙二醇)聚合物。因此，連接至Fab片段之PEG的總分子量可為約40,000 Da。

【0433】 在一個實施例中，本發明提供抗體分子，其包含經修飾之Fab'片段，該經修飾之Fab'片段在其重鏈之C端具有經修飾之鉸鏈區，該經修飾之鉸鏈區含有至少一個與效應分子連接之半胱胺酸殘基。適合地，效應分子為PEG且使用WO 98/25971及WO 2004072116或WO 2007/003898中所描述之方法連接。可使用國際專利申請案WO

2005/003169、WO 2005/003170及WO 2005/003171中所描述之方法將效應分子連接至抗體片段。

【0434】 在一個實施例中，抗體不與效應分子連接。

多核苷酸及載體

【0435】 本發明亦提供編碼根據本發明之抗體或其組分之經分離之多核苷酸。根據本發明之經分離之多核苷酸可包含合成DNA，例如藉由化學處理、cDNA、基因體DNA或其任何組合製備。

【0436】 表9. 本發明之抗體之胺基酸序列及其相應核酸序列

抗體序列	胺基酸SEQ ID NO	核酸 SEQ ID NO
IL22		
11041輕鏈V區	14	15
11041重鏈V區	16	17
11041輕鏈Fab	18	19
11041重鏈Fab	20	21
11070輕鏈V區	76	77
11070重鏈V區	78	79
11070輕鏈Fab	80	81
11070重鏈Fab	82	83
IL13		
650輕鏈V區(未突變)	28	30
650重鏈V區(未突變)	29	31
650輕鏈V區(突變)	32	34
650重鏈V區(突變)	33	35
650 scFv (VH/VL) gH9gL8 (未突變)	36	37
650 dsscFv (VH/VL) gH9gL8 (突變)	38	39
白蛋白		
645輕鏈V區(未突變)	46	48
645重鏈V區(未突變)	47	49
645輕鏈V區(突變)	50	52
645重鏈V區(突變)	51	53
645 scFv (VH/VL) (未突變)	54	55
645 dsscFv (VH/VL) (突變)	56	57
IL13/IL22 TrYbe		
11041gH14 HC- 645 (VH/VL) scFv (未突變)	58	59
11041gH14 HC- 645 (VH/VL) dsscFv (突變)	60	61
11041gL13 LC- 650 scFv (未突變)	62	63
11041gL13 LC- 650 dsscFv (突變)	64	65
IL13/IL22 KiH		
11041杵輕鏈	142	143

11041杵重鏈	144	145
11041白輕鏈	142	143
11041白重鏈	146	147
650杵輕鏈	148	149
650杵重鏈	150	151
650白輕鏈	148	149
650白重鏈	152	153

【0437】 本文中提供適合的序列之實例。因此，在一個實施例中，本發明提供編碼抗體、抗原結合域或其部分之經分離之多核苷酸，其包含 SEQ ID NO:15、17、19、21、30、31、34、35、37、39、48、49、52、53、55、57、59、61、63、65、143、145、147、149、151、153、77、79、81、83中所提供之一或多個序列。

【0438】 在一個實施例中，本發明提供編碼本發明之多特異性抗體之經分離之多核苷酸，其包含 SEQ ID NO:59、61、63、65中所提供之序列。

【0439】 在一個實施例中，本發明提供編碼本發明之多特異性抗體之經分離之多核苷酸，其包含 SEQ ID NO:143、145、147、149、151、153中所提供之序列。

【0440】 本發明亦提供選殖或表現載體，其包含一或多個本文中所描述之多核苷酸。在一個實例中，根據本發明之選殖或表現載體包含一或多個經分離之多核苷酸，該一或多個經分離之多核苷酸包含選自 SEQ ID NO:15、17、19、21、30、31、34、35、37、39、48、49、52、53、55、57、59、61、63、65、143、145、147、149、151、153、77、79、81、83之序列。

【0441】 分子生物學之標準技術可用於製備編碼本發明之抗體或其抗原結合片段之DNA序列。所需DNA序列可使用寡核苷酸合成技術完全或部分合成。可視需要使用定點突變誘發及聚合酶鏈反應(PCR)技術。

【0442】 可用於構築載體之一般方法、轉染方法及培養方法為熟習此項技術者熟知的。在此方面，參考「*Current Protocols in Molecular Biology*」，1999, F. M. Ausubel (編), Wiley Interscience, New York及由Cold Spring Harbor Publishing出版的*Maniatis Manual*。

用於產生多特異性抗體之宿主細胞

【0443】 亦提供宿主細胞，其包含一或多個根據本發明之經分離之多核苷酸序列或一或多個選殖或表現載體，該一或多個選殖或表現載體包含一或多個編碼本發明之抗體或其抗原結合片段之經分離之多核苷酸序列。任何適合的宿主細胞/載體系統皆可用於表現編碼本發明之抗體或其抗原結合片段之多核苷酸序列。可使用細菌，例如大腸桿菌及其他微生物系統，或亦可使用真核(例如哺乳動物)宿主細胞表現系統。適合的哺乳動物宿主細胞包括CHO、骨髓瘤或融合瘤細胞。

【0444】 在另一實施例中，提供包含此類核酸或載體之宿主細胞。在一個此類實施例中，宿主細胞包含(例如，已經以下轉型)：(1)載體，其包含編碼包含抗IL13抗體之VL之胺基酸序列及包含抗IL13抗體之VH之胺基酸序列之核酸，或(2)包含編碼包含抗IL22抗體之VL之胺基酸序列的核酸之第一載體及包含編碼包含抗IL22抗體之VH之胺基酸序列的核酸之第二載體。在一個實施例中，宿主細胞為真核細胞，例如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或淋巴細胞(例如，Y0、NS0、Sp20細胞)。在一個實施例中，宿主細胞為原核細胞，例如大腸桿菌細胞。在一個實施例中，提供用於製備抗X抗體之方法，其中該方法包含在適於表現抗體之條件下培養如上文所提供之包含編碼抗體之核酸之宿主細胞，及視情況自宿主細胞(或宿主細胞培養基)回收抗體。

【0445】適用於選殖或表現編碼抗體之載體或其成分之宿主細胞包括本文中所描述之原核或真核細胞。舉例而言，抗體可在細菌中產生，尤其在不需糖基化及Fc效應功能時。關於抗體片段及多肽於細菌中之表現，參見例如US 5,648,237、5,789,199及5,840,523(參見例如Charlton, *Methods in Molecular Biology*, 第248卷, B.K.C. Lo編, Humana Press, Totowa, NJ, 2003, 第245-254頁)。在表現之後，可分離抗體且可經進一步純化。

【0446】諸如真菌或酵母之真核微生物為適合的編碼抗體之載體之選殖及/或表現宿主，包括糖基化路徑已經「人類化」，從而產生具有部分或完全人類糖基化模式的抗體之真菌及酵母品系(Gerngross, *Nat. Biotech.* 22: 1409-1414 (2004)，及Li等人, *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006))。

【0447】用於本發明之中國倉鼠卵巢(CHO細胞)的適合類型可包括CHO及CHO-K1細胞，包括dhfr-CHO細胞，諸如可與DHFR可選標記物一起使用之CHO-DG44細胞及CHO-DXB11細胞，或可與麩醯胺酸合成酶可選標記物一起使用之CHOK1-SV細胞。用於表現抗體之其他細胞類型包括淋巴球性細胞株，例如NS0骨髓瘤細胞及SP2細胞、COS細胞。宿主細胞可用根據本發明之經分離之多核苷酸序列或表現載體穩定轉型或轉染。

蛋白質A

【0448】蛋白質A為最初在細菌金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)之細胞壁中發現的42 kDa表面蛋白質。蛋白質A已廣泛用於偵測、定量及純化免疫球蛋白。已報導蛋白質A可結合來源於VH3家族抗體之Fab部分，及IgG之恆定區部分中之Fc γ 區域(CH2與CH3域之間)。由蛋

白質A及Fab形成之複合物之晶體結構已描述於例如Graille等人, 2000, PNAS, 97(10): 5399-5404中。在本發明之上下文中, 就蛋白質A變異體或衍生物維持其結合VH3域及/或Fc γ 域之能力而言, 蛋白質A涵蓋天然蛋白質A及其任何變異體或衍生物。

【0449】 本發明之式(I)之多肽鏈包含蛋白質A結合域。在一個實施例中, 式(I)之多肽鏈包含一個、兩個或三個蛋白質A結合域。

【0450】 蛋白質A結合域可指結合於蛋白質A之VH3域或VH3域之一部分, 亦即, 其包含蛋白質A結合界面。VH3域中之結合於蛋白質A之部分不包含VH3域之CDR, 亦即, VH3之蛋白質A結合界面與CDR無關; 因此, 應理解, 蛋白質A結合域不與如本申請案中所揭示之抗原結合域競爭。

【0451】 在一個實施例中, 式(I)之多肽鏈包含存在於V_H及/或CH₂-CH₃及/或V₁中之蛋白質A結合域。在一個實施例中, 式(I)之多肽鏈包含一個、兩個或三個蛋白質A結合域, 其存在於V_H及/或CH₂-CH₃及/或V₁中。在一個實施例中, 式(I)之多肽鏈僅包含存在於V_H或V₁中之一個蛋白質A結合域。在一個實施例中, s為0, t為0且式(I)之多肽鏈僅包含存在於V_H或V₁中之一個蛋白質A結合域。在一個實施例中, 式(I)之多肽鏈僅包含存在於V_H中之一個蛋白質A結合域。在一個實施例中, s為0, t為0, p為0且式(I)之多肽鏈僅包含存在於V_H中之一個蛋白質A結合域。在一個實施例中, 式(I)之多肽鏈僅包含存在於V₁中之一個蛋白質A結合域。在一個實施例中, s為0, t為0, p為1且式(I)之多肽鏈僅包含存在於V₁中之一個蛋白質A結合域。

【0452】 在一個實施例中, 式(I)之多肽鏈包含兩個蛋白質A結合

域。在一個實施例中，式(I)之多肽鏈包含分別存在於V_H及CH₂-CH₃中之兩個蛋白質A結合域。在另一實施例中，式(I)之多肽鏈包含分別存在於V_H及V₁中之兩個蛋白質A結合域。在另一實施例中，式(I)之多肽鏈包含分別存在於CH₂-CH₃及V₁中之兩個蛋白質A結合域。

【0453】 在一個實施例中，式(I)之多肽鏈包含三個蛋白質A結合域，其中V_H、CH₂-CH₃及V₁中各存在一個。

【0454】 天然蛋白質A可尤其與IgG之恆定區部分中之Fc γ 區域相互作用。更特定言之蛋白質A可與CH₂與CH₃之間的結合域相互作用。在一個實施例中，當s為1，t為1時，CH₂及CH₃皆為IgG類別之天然存在之域。

【0455】 在一些實施例中，蛋白質A結合域包含結合於蛋白質A之VH₃域或其變異體或由其組成。在一些實施例中，蛋白質A結合域包含天然存在之VH₃域或由其組成。在一些實施例中，結合於蛋白質A之VH₃域之變異體為天然存在之VH₃域之變異體，該天然存在之VH₃域不能與蛋白質A結合。

【0456】 本發明之式(II)之多肽鏈不與蛋白質A結合。在一個實施例中，V₂之結合域不與蛋白質A結合。在一個實施例中，V₃之結合域不與蛋白質A結合。在一個實施例中，V₂及V₃皆不與蛋白質A結合。

【0457】 在一些實施例中，V₂及/或V₃包含VH₁及/或VH₂及/或VH₄及/或VH₅及/或VH₆或由其組成，且不包含VH₃域。在一些實施例中，V₂及/或V₃包含不與蛋白質A結合之VH₃域或其變異體或由其組成。在一些實施例中，V₂及/或V₃包含不能與蛋白質A結合之天然存在之VH₃域或由其組成。在一些實施例中，不與蛋白質A結合之VH₃域之變異體為天然存

在之VH3之變異體，該天然存在之VH3域能夠與蛋白質A結合。

【0458】 已良好表徵人類VH3生殖系基因及VH3域(或構架)。許多天然存在之VH3域具有與蛋白質A結合之能力，但某些天然存在之VH3域不具有與蛋白質A結合之能力(參見 Roben 等人，1995, J Immunol.;154(12):6437-6445)。

【0459】 可藉由若干方法獲得用於本發明之VH3域。在一個實施例中，用於本發明之VH3域為天然存在之VH3域，取決於其在本發明之多肽(I)及/或(II)內之位置，針對其能夠或不能與蛋白質A結合而選擇。舉例而言，可藉由非人類動物之免疫接種，接著進行人類化來產生針對相關抗原之一組抗體，且可基於人類化抗體能夠或不能經由人類化VH3域結合於蛋白質A來進行篩檢及選擇，例如針對蛋白質A親和管柱。或者，呈現技術(例如，噬菌體呈現、酵母呈現、核糖體呈現、細菌呈現、哺乳動物細胞表面呈現、mRNA呈現、DNA呈現)可用於篩檢抗體庫及選擇包含結合(尤其經由與CDR無關之蛋白質A結合界面)或不結合於蛋白質A之VH3域之抗體。

【0460】 或者，用於本發明之VH3域為天然存在之VH3之變異體。在一個實施例中，VH3變異體包含能夠結合蛋白質A之天然存在之VH3之序列，且進一步包含破壞其與蛋白質A之結合能力之至少一個胺基酸突變。在一個實施例中，結合於蛋白質A之VH3變異體包含不能與蛋白質A結合之天然存在之VH3之序列，且進一步包含至少一個胺基酸突變。在此類實施例中，一或多個突變負責使VH3域獲得與蛋白質A之結合能力，亦即，一或多個突變促進非天然存在之蛋白質A結合域之產生。

【0461】 在一個實施例中，VH3變異體包含1、2、3、4、5、6、

7、8、9、10、11或12個胺基酸突變。在一個實施例中，VH3變異體包含VH3上之位置15、17、19、57、59、64、65、66、68、70、81或82處之突變，根據Kabat及例如Graille等人，2000, PNAS, 97(10): 5399-5404中所描述編號。突變可為取代、缺失或插入。在一個實施例中，VH3變異體包含VH3上之位置15、17、19、57、59、64、65、66、68、70、81或82處之取代，根據Kabat編號。

【0462】 天然存在之VH1、VH2、VH4、VH5及VH6不與蛋白質A結合。在一個實施例中，不與蛋白質A結合之VH域為VH1。在一個實施例中，不與蛋白質A結合之VH域為VH2。在一個實施例中，不與蛋白質A結合之VH域為VH4。在一個實施例中，不與蛋白質A結合之VH域為VH5。在一個實施例中，不與蛋白質A結合之VH域為VH6。

多特異性抗體之製備

【0463】 存在多種用於產生多特異性，尤其雙特異性抗體之方法。Morrison等人(Coloma及Morrison 1997, Nat Biotechnol. 15, 159-163)描述單鏈可變片段(scFv)與完全抗體，例如IgG之融合。Schoonjans等人，2000, Journal of Immunology, 165, 7050-7057描述scFv與抗體Fab片段之融合。WO2015/197772描述二硫鍵穩定之scFv (dsscFv)與Fab片段之融合。

【0464】 先前技術中描述之標準方法包含至少兩個多肽之宿主細胞中之表現，各多肽編碼完全抗體或抗體片段(例如，Fab)之重鏈(HC)或輕鏈(LC)，其中另一抗體之抗原結合片段可與重鏈及/或輕鏈之N端及/或C端位置融合。當嘗試藉由表現兩個(一條輕鏈及一條重鏈以形成附接Fab)或四個多肽(兩條輕鏈及兩條重鏈以形成附接IgG)以重組方式產生此類多

特異性抗體時，通常需要與重鏈相比過量地表現輕鏈，以確保重鏈在與其相應輕鏈組裝在一起時的適當摺疊。特定言之，藉由BIP蛋白質防止CH1(重鏈恆定區之域1)在其自身上摺疊，該等BIP蛋白質可由相應LC置換；因此，CH1/HC之正確摺疊取決於其相應LC之可用性(Lee等人，1999, *Molecular Biology of the Cell*, 第10卷, 2209-2219)。

【0465】 表現多特異性抗體之方法可引起與重鏈相比過量地產生輕鏈，其留存於宿主細胞收集物中，且過量的輕鏈傾向於形成二聚複合物(或「LC二聚體」)，其作為製造過程之副產物與所需多特異性抗體(尤其單體)一起存在且因此需要進行純化以將其移除。

【0466】 重要的是，迄今為止尚未鑑別與輕鏈之二聚體之形成(當在N端及/或C端上與其他抗原結合片段融合時)相關之技術問題，且常用的分析方法不能偵測及定量製造過程之異源產物中之附接LC二聚體。此在使用標準分析方法估計產物之量時可引起顯著偏差。

【0467】 因此，需要改良多特異性抗體及其製備方法，其允許在製造過程之最早步驟中容易地且有效地分離及移除附接LC二聚體，且因此改良用於療法之感興趣之蛋白質(其為多特異性抗體，尤其其單體形式)之產量。

【0468】 本發明之多特異性抗體已經工程改造以提供具有等效功能性及穩定性之經改良之多特異性抗體，同時提高在純化之後，尤其在包含蛋白質A親和層析之單步驟純化之後獲得的「多特異性抗體」物質，尤其單體之產量。

【0469】 有利的是，可藉由與先前技術中之常用的方法相比經改良之純化方法更有效地純化本發明之多特異性抗體，尤其該經改良之方法包

含較少步驟，其在工業規模上係成本及時間有效的。特定言之，本發明之多特異性抗體最大化在包含蛋白質A親和層析之單步驟純化方法之後獲得的感興趣的蛋白質(亦即，正確的多特異性抗體型式)之量，藉此同時進行感興趣的多特異性抗體之純化及附接LC二聚體之移除。有利的是，本發明之多特異性抗體之製備及純化之方法無需額外純化步驟即可捕獲過量的游離、未結合之輕鏈，尤其附接LC二聚體。

【0470】 本發明提供用於產生根據本發明之多特異性抗體或抗原結合域之方法，其包含在適於產生根據本發明之多特異性抗體或抗原結合域之條件下培養根據本發明之宿主細胞及分離多特異性抗體或抗原結合域。

【0471】 多特異性抗體或抗原結合域可僅包含重鏈或輕鏈多肽，在此情況下，僅需使用重鏈或輕鏈多肽編碼序列即可轉染宿主細胞。關於包含重鏈及輕鏈之抗體或抗原結合域之產生，可用兩種載體轉染細胞株，即編碼輕鏈多肽之第一載體及編碼重鏈多肽之第二載體。或者，可使用單一載體，該載體包括編碼輕鏈及重鏈多肽之序列。

【0472】 因此，提供用於以下目的之方法：培養宿主細胞且表現多特異性抗體或抗原結合域，分離多特異性抗體或抗原結合域且視情況純化多特異性抗體或抗原結合域以得到經分離之多特異性抗體或抗原結合域。在一個實施例中，該方法進一步包含使效應分子與經分離之抗體或片段結合之步驟。

【0473】 本發明亦提供用於產生根據本發明之抗體分子之方法，其包含在適於引起自編碼本發明之抗體分子之DNA表現蛋白質的條件下培養含有本發明之載體之宿主細胞，及分離抗體分子。

【0474】 抗體分子可僅包含重鏈或輕鏈多肽，在此情況下，僅需使

用重鏈或輕鏈多肽編碼序列即可轉染宿主細胞。關於產生包含重鏈及輕鏈之產物，可由兩種載體轉染細胞株，即編碼輕鏈多肽之第一載體及編碼重鏈多肽之第二載體。或者，可使用單一載體，該載體包括編碼輕鏈及重鏈多肽之序列。

【0475】 根據本發明之抗體及抗原結合片段係以良好的量自宿主細胞表現。因此，抗體及/或片段之特性似乎最佳化且有利於商業處理。

經純化之抗體

【0476】 在一個實施例中，提供經純化之抗體，例如人類化抗體，尤其本發明之抗體，其實質上經純化以移除，尤其不含或實質上不含內毒素及/或宿主細胞蛋白質或DNA。

【0477】 實質上不含內毒素通常意指每毫克抗體產物之內毒素含量為1 EU或更低，諸如每毫克產物為0.5或0.1 EU。

【0478】 實質上不含宿主細胞蛋白質或DNA通常意指每毫克抗體產物之宿主細胞蛋白質及/或DNA含量為400 μg 或更低，視需要諸如每毫克為100 μg 或更低，特定言之，每毫克為20 μg 。

多特異性抗體之活體外及離體用途

【0479】 本發明亦提供活體外或離體抑制IL22誘導之STAT3磷酸化之方法，該方法包含用本發明之多特異性抗體接觸及培育角質細胞。可使用任何角質細胞及其衍生物，包括例如HaCaT細胞。

【0480】 本發明亦提供活體外或離體抑制IL22誘導之IL-10釋放之方法，該方法包含由根據本發明之包含IL22結合域之抗體接觸及培育上皮細胞。更特定言之，可使用COLO205細胞。

【0481】 亦提供活體外或離體抑制IL22誘導之S100A7釋放之方

法，該方法包含用根據本發明之包含IL22結合域之抗體接觸及培育角質細胞。

【0482】 亦提供活體外或離體抑制與異常角質細胞分化及角化不全相關之IL22誘導之表皮增厚之方法，該方法包含用根據本發明之抗體接觸及培育由角質細胞及真皮纖維母細胞組成之重構上皮。特定言之，抑制由IL22誘導之由表皮增厚及角化不全證明之異常角質細胞增殖及分化。

【0483】 通常將細胞培育足以允許抗體或其抗原結合片段結合於目標且引起生物作用之時間。

【0484】 涉及多特異性抗體之方法可用於實現如本文中之實例中所描述之生物作用。

多特異性抗體之治療用途

【0485】 可投與本發明之多特異性抗體、其調配物或醫藥組合物以用於預防性及/或治療性治療。

【0486】 本發明提供用作藥劑之本發明之多特異性抗體或其醫藥組合物。

【0487】 在預防性應用中，向具有發展如本文中所描述之病症或病狀之風險受試者投與足以阻止或降低病狀或其一或多種症狀之後續作用的量之多特異性抗體、調配物或組合物。

【0488】 在治療性應用中，向已罹患如本文中所描述之病症或病狀之受試者投與足以治癒、緩解或部分抑制病狀或其一或多種症狀的量之多特異性抗體。此類治療性治療可引起疾病症狀之嚴重程度降低，或無症狀週期之頻率或持續時間增加。

【0489】 所治療之受試者可為動物。較佳地，根據本發明之醫藥組

合物經調適以用於向人類受試者投與。

【0490】 本發明提供用於治療有需要之受試者中之如本文中所描述之病症或病狀之方法，該方法包含向受試者投與根據本發明之多特異性抗體。以治療有效量投與多特異性抗體。

【0491】 本發明亦提供本發明之多特異性抗體，其係用於治療如本文中所描述之病症或病狀。

結合於IL22及IL13之抗體之組合之治療用途

【0492】 本發明亦提供結合於IL13之抗體及結合於IL22之抗體之組合之治療用途。此類組合可呈包含結合於IL13之抗體的組合物及包含結合於IL22之抗體的組合物之形式，或呈兩種單獨的抗體之形式。

【0493】 可投與抗體組合、組合物、其調配物或其醫藥組合物以用於預防性及/或治療性治療。

【0494】 在預防性應用中，向具有發展如本文中所描述之病症或病狀之風險之受試者投與足以阻止或降低病狀或其一或多種症狀之後續作用的量之抗體組合、其調配物或組合物。

【0495】 在治療性應用中，向已罹患如本文中所描述之病症或病狀之受試者投與足以治癒、緩解或部分抑制病狀或其一或多種症狀的量之抗體。此類治療性治療可引起疾病症狀之嚴重程度降低，或無症狀週期之頻率或持續時間增加。

【0496】 所治療之受試者可為動物。較佳地，包含抗體組合之醫藥組合物經調適以用於向人類受試者投與。

【0497】 本發明提供用於治療有需要之受試者中之如本文中所描述之病症或病狀之方法，該方法包含向受試者投與結合於IL13之抗體及結合

於IL22之抗體之組合。以治療有效量投與此類抗體。

【0498】 本發明提供用於治療有需要之受試者中之如本文中所描述之病症或病狀之方法，該方法包含向受試者投與包含結合於IL13之抗體及結合於IL22之抗體之組合物。以治療有效量投與此類抗體。

【0499】 該組合減弱皮膚之障壁功能受損及/或角化不全及/或抗微生物肽之釋放。

【0500】 在組合之情形下，抗IL13抗體及抗IL22抗體可同時或依序投與。

【0501】 本發明亦提供結合於IL13之抗體及結合於IL22之抗體之組合，其係用於治療如本文中所描述之病症或病狀。

【0502】 本發明亦提供包含結合於IL13之抗體及結合於IL22之抗體之組合物，其係用於治療如本文中所描述之病症或病狀。

【0503】 組合或組合物中之各抗體可獨立地選自如上文所描述之全長抗體、Fab、scFv、Fv、dsFv及dsscFv。

【0504】 組合中之各抗體可獨立地選自單株型、人類化型、人類型及嵌合型。

治療適應症

【0505】 本發明之多特異性抗體、抗體組合及組合物可用於治療、預防或改善與IL22、IL22R1、IL13或IL13RA1活性相關之發炎性皮膚病狀；舉例而言，完全或部分由經由IL22R1、IL13RA1、IL-13R2及/或IL-22BP進行之信號傳導引起之任何病狀。

【0506】 IL22主要由淋巴細胞(諸如T輔助1 (Th1)細胞、Th17細胞及Th22細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、自然殺手(NK)細胞及先天性淋巴細胞(ILC) 3)及

非淋巴細胞(諸如纖維母細胞、嗜中性球、巨噬細胞及肥大細胞)產生。已在人類牛皮癬斑塊中發現大量IL22 (Boniface等人, Clin Exp Immunol. 150: 407-415 (2007))且已在皮膚發炎之小鼠模型中證明此細胞介素涉及牛皮癬之發病機制(Van Belle等人, J Immunol. 1月1日; 188(1):462-9 (2012))。經由IL22R1進行信號傳導之配位體(諸如IL22)與多種疾病有關且因為IL22R1表現於皮膚及上皮細胞上,重要疾病為影響皮膚及上皮細胞之疾病。IL13為與免疫反應病狀(諸如特異反應、哮喘、過敏性及發炎性反應)相關之多效性細胞介素。IL13在免疫反應中之作用由其對細胞信號傳導路徑之作用促進。已證實IL13在表皮增厚中起作用。

【0507】 本發明之抗體及組合物可用於治療發炎性皮膚病狀。在某些實施例中,發炎性皮膚病狀係選自牛皮癬、牛皮癬性關節炎、接觸性皮炎、慢性手部濕疹或異位性皮炎。更特定言之,皮膚發炎性疾病為異位性皮炎。

【0508】 特定言之,如由實例證明,本發明之抗體及組合物抑制經診斷患有發炎性皮膚病狀之受試者中的與異常角質細胞分化及角化不全相關之表皮增厚。

【0509】 因此,本發明提供用於減弱經診斷患有皮膚發炎性疾病之受試者中的皮膚障壁功能受損及/或角化不全以及/或細胞介素及/或抗微生物肽(諸如S100A7)之釋放之方法,該方法包含向受試者投與如本發明中所提供之抗體。

【0510】 在另一實施例中,本發明提供本發明之抗體,其係用於減弱經診斷患有發炎性皮膚疾病之受試者中的表皮增厚、皮膚障壁功能受損及/或角化不全,以及/或細胞介素及/或抗微生物肽(諸如S100A7)之釋放

及/或伊紅趨素-3釋放。

【0511】 在另一實施例中，本發明提供本發明之抗體之用途，其係用於製造用以減弱經診斷患有皮膚發炎性疾病之受試者中的表皮增厚、皮膚障壁功能受損及/或角化不全以及/或細胞介素及/或抗微生物肽(諸如S100A7)之釋放之藥劑。

【0512】 特定言之，此類皮膚障壁功能受損之減弱係藉由降低異常IL22介導之角質細胞增殖及分化來達成。

抗體之診斷用途

【0513】 本發明亦包括抗體作為診斷性活性劑或在診斷性分析法中之用途，例如用於診斷發炎性皮膚疾病。

【0514】 較佳可對生物樣品進行診斷。「生物樣品」涵蓋來自個體之多種樣品類型且可用於診斷或監測分析法。該定義涵蓋腦脊髓液，諸如血漿及血清之血液，及生物來源之其他液體樣品，諸如尿液及唾液，固體組織樣品，諸如活檢樣本或自其及其子代衍生之組織培養物或細胞。定義亦包括在獲取之後已以任何方式操控的樣品，諸如藉由試劑處理、增溶，或富集某些組分，諸如多核苷酸。

【0515】 診斷測試較佳可對不與人類或動物身體接觸的生物樣品進行。此類診斷測試亦稱為活體外測試。活體外診斷測試可依賴於活體外偵測已自個體獲得之生物樣品中的標記物之方法。

醫藥學及診斷組合物

【0516】 抗體或抗體之組合物可以醫藥組合物形式提供。醫藥組合物將通常為無菌的且將通常包括醫藥學上可接受之載劑及/或佐劑。本發明之醫藥組合物可額外包含醫藥學上可接受之佐劑及/或載劑。

【0517】 由於本發明之抗體適用於治療、診斷及/或防治如本文中所述之病症或病狀，因此本發明亦提供醫藥學或診斷組合物，其包含根據本發明之抗體或其抗原結合片段與醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑中之一或多者之組合。

【0518】 特定言之，以包含醫藥學上可接受之賦形劑、稀釋劑或載劑中之一或多者之醫藥組合物形式提供抗體或其抗原結合片段。

【0519】 除治療活性成分以外，此等組合物可包含醫藥學上可接受之賦形劑、載劑、稀釋劑、緩衝液、穩定劑或熟習此項技術者熟知的其他材料。此類材料應為無毒的且不應干擾活性成分之功效。

【0520】 亦提供組合物，其包括醫藥調配物，該等醫藥調配物包含本發明之抗體或包含編碼此類抗體之序列之多核苷酸。在某些實施例中，組合物包含一或多種結合於IL13及IL22之抗體，或一或多種包含編碼結合於IL13及IL22之一或多種抗體之序列之多核苷酸。此等組合物可進一步包含此項技術中熟知的適合的載劑，諸如醫藥學上可接受之賦形劑及/或佐劑，包括緩衝液。

【0521】 如本文中所描述之抗體之醫藥組合物係藉由將具有所需純度之此類抗體與一或多種視情況選用之醫藥學上可接受之載劑以凍乾調配物或水性溶液之形式混合來製備。

【0522】 上文所提及之技術及方案之實例可見於 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第20版, 2000, Lippincott 出版, Williams & Wilkins 中。

【0523】 醫藥學上可接受之載劑通常在所使用之劑量及濃度下對受體無毒性，且包括(但不限於)：緩衝液，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有

機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如十八烷基二甲基苯甲基氯化銨；氯化六羥季銨；苯紮氯銨；苜索氯銨；酚、丁醇或苯甲醇；對羥基苯甲酸烷基酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啉酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；成鹽相對離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如，Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子性界面活性劑，諸如聚乙二醇(PEG)。本文中之例示性醫藥學上可接受之載劑進一步包括間質藥物分散劑，諸如可溶性中性活性玻尿酸酶醣蛋白(sHASEGP)，例如人類可溶性PH-20玻尿酸酶醣蛋白，諸如 rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.)。某些示例性 sHASEGP 及使用方法(包括 rHuPH20)描述於 US 2005/0260186 及 2006/0104968 中。在一個態樣中，sHASEGP 與一或多種其他葡萄糖胺聚糖酶(諸如軟骨素酶)組合。

【0524】 例示性凍乾抗體調配物描述於 US 6,267,958 中。水性抗體調配物包括 US 6,171,586 及 WO 2006/044908 中所描述之調配物，後者中之調配物包括組胺酸-乙酸鹽緩衝液。

【0525】 活性成分可包覆於例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合所製備之微膠囊中，例如分別為羥基甲基纖維素或明膠微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊；包覆於膠態藥物遞送系統(例如，脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)中或巨乳液中。此類技術揭示於

Remington's Pharmaceutical Sciences 第16版, Osol, A.編 (1980)中。

【0526】 可製備持續釋放型製劑。持續釋放型製劑之適合的實例包括含有抗體之固體疏水性聚合物之半滲透基質，該等基質呈成形物品形式，例如膜或微膠囊。

【0527】 用於活體內投藥之調配物通常為無菌的。無菌性可藉由例如經由無菌過濾膜過濾來容易地實現。

【0528】 例示性凍乾抗體調配物描述於US 6,267,958中。水性抗體調配物包括US 6,171,586及WO2006/044908中所描述之調配物。

【0529】 本發明之醫藥組合物可包括一或多種醫藥學上可接受之鹽。

【0530】 醫藥學上可接受之載劑包含水性載劑或稀釋劑。可用於本發明之醫藥組合物之適合的水性載劑之實例包括水、緩衝水及生理鹽水。其他載劑之實例包括乙醇、多元醇(諸如甘油、丙二醇、聚乙二醇及其類似物)及其適合的混合物、植物油(諸如橄欖油)及可注射之有機酯(諸如油酸乙酯)。在許多情況下，組合物中需要包括等張劑(例如糖)、多元醇(諸如甘露醇、山梨醇)及氯化鈉。

【0531】 醫藥組合物通常必須在製造及儲存條件下為無菌及穩定的。組合物可調配為溶液、微乳液、脂質體或其他適合於高藥物濃度之有序結構。

【0532】 在一個實施例中，根據本發明之抗體或其抗原結合片段係單一活性成分。在另一實施例中，根據本發明之抗體或其抗原結合片段係與一或多種額外活性成分組合。或者，醫藥組合物包含根據本發明之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段係單一活性成分且其可與其

他藥劑、藥物或激素一起(例如同時、依序或分開)單獨地向患者投與。

【0533】 載劑或其他材料之確切性質可視投藥途徑而定，例如經口、靜脈內、皮膚或皮下、經鼻、肌肉內及腹膜內途徑。舉例而言，固體口服形式可含有活性物質以及稀釋劑，例如乳糖、右旋糖、蔗糖、纖維素、玉米澱粉或馬鈴薯澱粉；潤滑劑，例如二氧化矽、滑石、硬脂酸、硬脂酸鎂或硬脂酸鈣及/或聚乙二醇；結合劑，例如澱粉、阿拉伯膠、明膠、甲基纖維素、羧基甲基纖維素或聚乙烯吡咯啉酮；崩解劑，例如澱粉、褐藻酸、海藻酸鹽或羥基乙酸澱粉鈉；發泡混合物；染料；甜味劑；濕潤劑，諸如卵磷脂、聚山梨醇酯、十二烷磺酸酯；及通常用於醫藥調配物中之無毒且藥理學上非活性物質。可以已知方式，例如藉由混合、粒化、製錠、糖包覆或膜包覆過程來製造此類醫藥製劑。

【0534】 口服調配物包括常用賦形劑，例如醫藥級甘露醇、乳糖、澱粉、硬脂酸鎂、糖精鈉、纖維素、碳酸鎂及其類似物。此等組合物呈溶液、懸浮液、錠劑、丸劑、膠囊、持續釋放調配物或散劑形式且含有10%至95%，較佳25%至70%之活性成分。當將醫藥組合物凍乾時，可在投藥之前將凍乾材料復原，例如懸浮液。較佳在緩衝液中進行復原。

【0535】 用於靜脈內投藥或輸注之溶液可含有例如無菌水作為載劑或較佳其可呈無菌水性、等張生理鹽水溶液形式。

【0536】 較佳地，醫藥或診斷組合物包含根據本發明之人類化抗體。

治療有效量及劑量

【0537】 可適當地向患者投與抗體及醫藥組合物以鑑別所需治療有效量。對於任何抗體，治療有效量可最初在細胞培養分析法中或在動物模

型中，通常在嚙齒動物、兔、犬、豬或靈長類動物中評估。動物模型亦可用於確定適當濃度範圍及投藥途徑。此類資訊可隨後用於判定適用於在人類中之投藥之劑量及途徑。

【0538】 用於人類受試者之精確治療有效量將取決於疾病狀態之嚴重程度、受試者之一般健康狀況、受試者之年齡、體重及性別、飲食、投藥時間及頻率、藥物組合、反應敏感性及對療法之耐受性/反應。組合物宜以每劑量含有預定量之本發明之活性劑的單位劑型存在。本文所描述之任何實施例之劑量範圍及方案包括(但不限於)在1 mg-1000 mg單位劑量範圍內之劑量。

【0539】 本發明之抗體/調節劑或醫藥組合物之適合的劑量可由熟練的醫學從業者確定。本發明之醫藥組合物中的活性成分之實際劑量水準可變化，以獲得在對患者無毒性之情況下有效實現特定患者、組合物及投藥模式之所需治療反應的活性成分之量。所選劑量水準將視各種藥物動力學因素而定，該等因素包括所使用之本發明之特定組合物的活性、投藥途徑、投藥時間、所使用之特定化合物之排泄速率、治療持續時間、與所使用之特定組合物組合使用的其他藥物、化合物及/或物質、所治療之患者之年齡、性別、體重、病狀、一般健康狀況及先前病史，及醫學技術中熟知之類似因素。

【0540】 適合的劑量可例如在所治療之患者之每公斤體重約0.01 μg 至約1000 mg，通常每公斤體重約0.1 μg 至約100 mg範圍內。

【0541】 可調節劑量方案以得到最佳所需反應(例如，治療反應)。舉例而言，可投與單次劑量、可隨時間推移而投與若干多次劑量，或可如治療情況之緊急需要所指示而按比例減少或增加劑量。如本文中所使用之

單位劑型係指適合作為單個劑量以用於所治療之受試者的物理離散單元；各單元含有與所需醫藥載劑結合、經計算以產生所需治療作用的預定量之活性化合物。

醫藥組合物或調配物之投藥

【0542】 可投與抗體或其調配物或組合物以用於預防性及/或治療性治療。

【0543】 可使用此項技術中已知的各種方法中之一或多者，經由一或多種投藥途徑投與抗體或醫藥組合物。如熟習此項技術者將瞭解，投藥途徑及/或模式將視所需結果而變化。本發明之化合物或醫藥組合物之投藥途徑的實例包括靜脈內、肌肉內、皮內、眼內、腹膜內、皮下、脊椎或其他腸胃外投藥途徑，例如藉由注射或輸注。或者，本發明之抗體/調節劑或醫藥組合物可經由非腸胃外途徑投與，諸如局部、表皮或黏膜投藥途徑。本發明之抗體/調節劑或醫藥組合物可用於經口投藥。

【0544】 適合的投藥形式包括適用於腸胃外投藥之形式，例如藉由注射或輸注，例如藉由推注注射或連續輸注、靜脈內、可吸入或皮下形式。在產品用於注射或輸注的情況下，其可呈於油性或水性媒劑中之懸浮液、溶液或乳液的形式且其可含有其他試劑，諸如懸浮劑、防腐劑、穩定劑及/或分散劑。或者，根據本發明之抗體或其抗原結合片段可呈無水形式，以在使用之前用適合的無菌液體復原。亦可製備適合於在注射前溶解或懸浮於液體媒劑中之固體形式。

【0545】 在調配之後，可將本發明之組合物直接投與受試者。因此，本文中提供根據本發明之抗體或其抗原結合片段之用途，其係用於製造藥劑。

製品及套組

【0546】 本發明亦提供套組，其包含本發明之抗體及使用說明書。套組可進一步含有一或多種其他試劑，諸如上文所論述之其他治療劑或預防劑。

【0547】 本發明提供根據本發明之多特異性抗體或其醫藥組合物之用途，其係用於製造藥劑。

【0548】 本發明亦提供本發明之多特異性抗體之用途，其係用於製造用以治療如本文中所描述之病症或病狀之藥劑。

【0549】 本發明亦提供結合於IL22之抗體與結合於IL13之抗體之組合或其醫藥組合物之用途，其係用於製造用以治療如本文中所描述之病症或病狀之藥劑。

【0550】 本發明亦提供包含結合於IL22之抗體及結合於IL13之抗體之組合物或其醫藥組合物之用途，其係用於製造用以治療如本文中所描述之病症或病狀之藥劑。

【0551】 在某些實施例中，製品或套組包含含有一或多種本發明之抗體或本文中所描述之組合物的容器。在某些實施例中，製品或套組包含含有編碼一種(或多種)本文中所描述之抗體或組合物之核酸之容器。在一些實施例中，套組包括產生如本文中所描述之抗體之細胞或細胞株。

【0552】 在某些實施例中，製品或套組包含容器及容器上或容器隨附之標籤或藥品說明書。適合的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、IV溶液袋等。容器可由各種材料形成，諸如玻璃或塑膠。容器收納單獨的組合物或其與可有效用於治療、預防及/或診斷之另一種組合物之組合且可具有無菌接取口。組合物中之至少一種藥劑為本發明之抗體。標籤或藥品說

明書指示組合物係用於治療皮膚發炎性病狀，更特定言之，異位性皮炎。

【0553】 應注意，上文所提及之實施例說明而非限制本發明，且熟習此項技術者將能夠在不偏離申請專利範圍之範疇的情況下設計許多替代性實施例。

【0554】 本發明中所包括的序列展示於表10-17中。

【0555】 表10. IL22、IL13及白蛋白相關蛋白質之序列

名稱	序列	SEQ ID NO
IL22	MAALQKSVSSFLMGTLATSCLLLLLALLVQGGAAAPISSHCRLDKSNFQ QPYITNRTFMLAKEASLADNNTDVRLIGEKLFGVSMSERCYLMKQVL NFTLEEVLFPPQSDRFQPYMQEVVPPFLARLSNRLSTCHIEGDDLHIQRN VQKLKDTVKKLGESGEIKAIGELDLLFMSLRNACI	1
IL22 (34-179) 不具有信號肽	APISSHCRLDKSNFQQPYITNRTFMLAKEASLADNNTDVRLIGEKLFGH GVSMSERCYLMKQVLNFTLEEVLFPPQSDRFQPYMQEVVPPFLARLSNRL STCHIEGDDLHIQRNVQKLKDTVKKLGESGEIKAIGELDLLFMSLRNACI	2
經His標記之IL22	MGSSHHHHHHSSGENLYFQGSQGGAAAPISSHCRLDKSNFQQPYITNR TFMLAKEASLADNNTDVRLIGEKLFGVSMSERCYLMKQVLNFTLEEV LFPPQSDRFQPYMQEVVPPFLARLSNRLSTCHIEGDDLHIQRNVQKLKDT VKKLGESGEIKAIGELDLLFMSLRNACI	3
裂解之IL22	GSQGGAAAPISSHCRLDKSNFQQPYITNRTFMLAKEASLADNNTDVRL IGEKLFGVSMSERCYLMKQVLNFTLEEVLFPPQSDRFQPYMQEVVPPFL ARLSNRLSTCHIEGDDLHIQRNVQKLKDTVKKLGESGEIKAIGELDLL FMSLRNACI	4
IL13	MHPLLNPLLLALGLMALLTTVIALTCLGGFASPGPVPPSTALRELIE ELVNITQNQKAPLCNGSMVWSINLTAGMYCAALESLINVSGCSAIEKT QRMLSGFCPHKVSAGQFSSLHVRDTKIEVAQFVKDLLLHLLKLFREGR FN	5
成熟IL13	LTCLGGFASPGPVPPSTALRELIEELVNITQNQKAPLCNGSMVWSINL TAGMYCAALESLINVSGCSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQFSSLHVRD TKIEVAQFVKDLLLHLLKLFREGRFN	6
人類白蛋白	MKWVTFISLLFLFSSAYSRGVFRDRAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVL IAFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCCKSLHTLFGD KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEV DVMCTAFHDNEETFLLKLYEYIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTFC CQAADKAACLPLKLDLDEGRKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAV ARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLCADDRADLAKYI CENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVES KDVCKNYAEAKDVFGLMFLYEYARRHPDYSVLLLRLLAKTYETTLEKC CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQYKFNALL VRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVV LNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFA AFVEKCKKADDKETCFEAEEGKKLVAASQAALGL	7

【0556】 表11. IL13結合域、IL22結合域及白蛋白結合域以及

IL13/IL22 TrYbe序列之CDR

名稱	序列	SEQ
----	----	-----

		ID NO
11041 CDRL1	QASEDIYTNLA	8
11041 CDRL2	WASTLAS	9
11041 CDRL3	QASVYGNAADSRYT	10
11041 CDRH1	GFSLSYAMI	11
11041 CDRH2	IIDIEGSTYYASWAKG	12
11041 CDRH3	DRFVGVDIFDP	13
11041gL13 V區	AVQLTQSPSSLSASVGDVRTITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQASVYGNA ADSRYTFGGGKVEIK	14
11041gL13 V區	gccgtccaactgactcagtccccgagctcactttccgcgagcgtggga gatcgcgtgaccattacgtgccaggcctcggaggacatctacaccaac ctcgcctggtatcaacagaagcctggcaaagctcccaagctggtgatc tactggcctccactctggcctcggagtgcttccgcggttctccggt tctggatcaggcaccgacttcaccctgacaatcagcagcctccagccg gaagatgttgcacttactactgccaagcatccgtctacgggaacgca gaggactccagatataccttccggcgggggaaccaaagtgagattaag cgtacg	15
11041gH14 V區	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI GIIDIEGSTYYASWAKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDIFDPWGQGLVTVSS	16
11041gH14 V區	gaggtgcagctcgtggaaagcggaggaggactggtgcagccaggaggg tccttgcggcttagctgtgccgtgtccggcttctccctgtcctcctac gcatgatctgggtccgccaagctcctgggaagggcctcgaatggatt ggtattatcgacatcgagggatcaacctactacgcctcgtgggccaag ggacggttcaccatctcgcgggacaactccaagaacactgtgtatctg cagatgaacagcctgagggcagaagataccgcccgtgtactactgcgcg agagatcgcttccgtgggctggacatctttgaccctgggggtcaaggc acctggtcactgtctcgac	17
輕鏈(VL-CL) 11041gL13	AVQLTQSPSSLSASVGDVRTITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQASVYGNA ADSRYTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	18
輕鏈(VL-CL) 11041gL13	gccgtccaactgactcagtccccgagctcactttccgcgagcgtggga gatcgcgtgaccattacgtgccaggcctcggaggacatctacaccaac ctcgcctggtatcaacagaagcctggcaaagctcccaagctggtgatc tactggcctccactctggcctcggagtgcttccgcggttctccggt tctggatcaggcaccgacttcaccctgacaatcagcagcctccagccg gaagatgttgcacttactactgccaagcatccgtctacgggaacgca gaggactccagatataccttccggcgggggaaccaaagtgagattaag cgtacgggtggcgcctccctccgtgttcatcttcccaccctccgacgag cagctgaagtcggcaccgcctccgtcgtgtgctgetgaacaacttc tcccccgcgaggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgcctcag tccggcaactcccaggaatccgtcaccgagcaggactccaaggacagc acctactcctgtcctccaccctgacctgtccaaggccgactacgag aagcacaaggtgtacgcctgcgaagtgaccaccaggccctgtccagc cccgtgaccaagtccttcaaccggggcagtgctc	19
重 鏈 (VH-CH1) 11041gH14	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI GIIDIEGSTYYASWAKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDIFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	20
重 鏈 (VH-CH1) 11041gH14	gaggtgcagctcgtggaaagcggaggaggactggtgcagccaggaggg tccttgcggcttagctgtgccgtgtccggcttctccctgtcctcctac gcatgatctgggtccgccaagctcctgggaagggcctcgaatggatt ggtattatcgacatcgagggatcaacctactacgcctcgtgggccaag ggacggttcaccatctcgcgggacaactccaagaacactgtgtatctg cagatgaacagcctgagggcagaagataccgcccgtgtactactgcgcg agagatcgcttccgtgggctggacatctttgaccctgggggtcaaggc	21

	accctggctcactgtctcgagcgcgtccacaaagggcccacatcggtcttc cccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggacacagcgccctg ggctgcctggtaaggactacttccccgaaccagtgaacgggtgctggtg aactcaggtgccctgaccagcggcgttcacaccttcccggctgctcta cagtcttcaggactctactccctgagcagcgtggtgaccgtgccctcc agcagcttgggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccc agcaacaccaaggtcgataagaaagttgagcccaaatcttgt	
650 CDRL1	KASQNINENLD	22
650 CDRL2	YTDILQT	23
650 CDRL3	YQYYSGYT	24
650 CDRH1	GYSFTSYYIH	25
650 CDRH2	RIGPGSGDINYNKFKG	26
650 CDRH3	FHYDGAD	27
650 gL8 V區(未突變*)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNINENLDWYQQKPKAPKLLI YYTDILQTGIPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCYQYYSGYT FGQGTKLEIK	28
650 gH9 V區(未突變*)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYSFTSYYIHWVRQAPGQGLEWM GRIGPGSGDINYNKFKGRATFTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC ARFHYDGADWGQGLTVTVSS	29
650 gL8 V區(未突變*)	gacatccagatgaccagtcctccctcctcctgctccgctccgtgggc gacagggtgaccatcacctgcaaggcctcccagaacatcaacgagaac ctggactggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgac tactacaccgacatcctgcagaccggcatccccctccaggttctccggc tccggctccggcaccgactacacctgaccatctcctcctgagccc gaggacttcggcacctactactgctaccagttactactccggctacacc tccggccagggcaccagctggagatcaag	30
650 gH9 V區(未突變*)	gaggtgcagctgggtgcagtcgggcgcccgggtgaagaagcccggctcc tccgtgaaggtgtcctgcaaggcctccggctactccttcacctcctac tacctccactgggtgaggcaggcccccgccaggcctggagtggatg ggcaggatcgccccggctccggcgacatcaactacaacgagaagttc aagggcagggccaccttcaccgtggacaagtccacctccaccgctac atggagctgtcctcctgaggtccgaggacaccgcccgtgtactactgc gccaggttccactacgacggcgccgactggggccagggcaccctggtg accgtgtcctcc	31
650 gL8 V區(突變**)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNINENLDWYQQKPKAPKLLI YYTDILQTGIPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCYQYYSGYT FGCGTKLEIK	32
650 gH9 V區(突變**)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYSFTSYYIHWVRQAPGQGLEWM GRIGPGSGDINYNKFKGRATFTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC ARFHYDGADWGQGLTVTVSS	33
650 gL8 V區(突變**)	gacatccagatgaccagtcctccctcctcctgctccgctccgtgggc gacagggtgaccatcacctgcaaggcctcccagaacatcaacgagaac ctggactggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgac tactacaccgacatcctgcagaccggcatccccctccaggttctccggc tccggctccggcaccgactacacctgaccatctcctcctgagccc gaggacttcggcacctactactgctaccagttactactccggctacacc tccggctcgggcaccagctggagatcaag	34
650 gH9 V區(突變**)	gaggtgcagctgggtgcagtcgggcgcccgggtgaagaagcccggctcc tccgtgaaggtgtcctgcaaggcctccggctactccttcacctcctac tacctccactgggtgaggcaggcccccgccagtgccctggagtggatg ggcaggatcgccccggctccggcgacatcaactacaacgagaagttc aagggcagggccaccttcaccgtggacaagtccacctccaccgctac atggagctgtcctcctgaggtccgaggacaccgcccgtgtactactgc gccaggttccactacgacggcgccgactggggccagggcaccctggtg accgtgtcctcc	35
650 scFv (VH/VL) gH9gL8 (未突變*)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYSFTSYYIHWVRQAPGQGLEWM GRIGPGSGDINYNKFKGRATFTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC ARFHYDGADWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSP SSLSASVGRVTITCKASQNINENLDWYQQKPKAPKLLIYYTDILQT GIPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCYQYYSGYTFGQGTKLE IK	36

650 scFv (VH/VL) gH9gL8 (未突變*)	gaggtgcagctggtgcagtcggcgccgaggtgaagaagccccggctcc tccgtgaaggtgtcctgcaaggcctccggctactccttcacctcctac tacatccactgggtgaggcaggcccccgccaggcctggagtggatg ggcaggatcgccccggctccggcgacatcaactacaacgagaagttc aagggcagggccaccttcaccgtggacaagtccacctccaccgctac atggagctgtcctcctgaggtccgaggacaccgcccgtgtactactgc gccaggttccactacgacggcgccgactggggccaggccacctggtg accgtgtcctccggaggtggcggttctggcggtggcggttccggtggc ggtggatcgggaggtggcggttctgacatccagatgaccagtccccc tcctccctgtccgctcctggtggcgacagggtgacctcacctgcaag gcctcccagaacatcaacgagaacctggactggtaccagcagaagccc ggcaaggcccccaagctgctgatctactacaccgacatcctgcagacc ggcatccccctccaggttctccggctccggctccggcaccgactacacc ctgacctctcctcctgcagcccaggacttcgccacctactactgc taccagtactactccggctacaccttcggccaggccaccaagctggag atcaag	37
650 dsscFv (VH/VL) gH9gL8 (突變**)	EVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGYSFTSYIHWVRQAPGQCLEWM GRIGPGSGDINYNKFKGRATFTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC ARFHYDGADWQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSP SSLSASVGDRTITCKASQININENLDWYQQKPKAPKLLIYYTDILQT GIPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCYQYYSGYTFGCGTKLE IK	38
650 dsscFv (VH/VL) gH9gL8 (突變**)	gaggtgcagctggtgcagtcggcgccgaggtgaagaagccccggctcc tccgtgaaggtgtcctgcaaggcctccggctactccttcacctcctac tacatccactgggtgaggcaggcccccgccagtgctggagtggatg ggcaggatcgccccggctccggcgacatcaactacaacgagaagttc aagggcagggccaccttcaccgtggacaagtccacctccaccgctac atggagctgtcctcctgaggtccgaggacaccgcccgtgtactactgc gccaggttccactacgacggcgccgactggggccaggccacctggtg accgtgtcctccggaggtggcggttctggcggtggcggttccggtggc ggtggatcgggaggtggcggttctgacatccagatgaccagtccccc tcctccctgtccgctcctggtggcgacagggtgacctcacctgcaag gcctcccagaacatcaacgagaacctggactggtaccagcagaagccc ggcaaggcccccaagctgctgatctactacaccgacatcctgcagacc ggcatccccctccaggttctccggctccggctccggcaccgactacacc ctgacctctcctcctgcagcccaggacttcgccacctactactgc taccagtactactccggctacaccttcggctgcggcaccaccaagctggag atcaag	39
645 CDRL1	QSSPSVWSNFLS	40
645 CDRL2	EASKLTS	41
645 CDRL3	GGGYSSISDIT	42
645 CDRH1	GIDLSNYAIN	43
645 CDRH2	IIWASGTTYATWAKG	44
645 CDRH3	TVPGYSTAPYFDL	45
645 VL區(未突變*)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPKAPKLL IYEASKLTSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSI SDTTFGGGTKVEIK	46
645 VH區(未突變*)	EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWI GIIWASGTTYATWAKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCA RTVPGYSTAPYFDLWQGTLVTVSS	47
645 VL區(未突變*)	gacatacaaatgactcagtcctcctcatcggtatccgcgtccggtggc gatagggtgactattacatgtcaaagctctcctagcgtctggagcaat tttctatcctggatcaacagaaaccggggaaggctccaaaactctg atztatgaagcctcgaaactcaccagtgaggtccgtcaagattcagt ggctctggatcagggacagacttcacgttgacaatcagttcgctgcaa ccagaggactttgcgacctactattgtggtggaggttacagtagcata agtgatacgacatttggggcggtactaagggtggaaatcaaa	48
645 VH區(未突變*)	gaggttcaactgcttgagtctggaggaggcctagtcagcctggaggg agcctgcgtctctctgtgcagtaagcggcatcgacctgagcaattac gccatcaactgggtgagacaagctccggggaagggttagaatggatc ggtataatatgggcccagtgggacgaccttttatgctacatgggcgaaa	49

	ggaaggtttacaatttagccgggacaatagcaaaaaacaccgtgtatctc caaatgaactccttgcgagcagaggacacggcggtgtaactattgtgct cgcactgtcccagggttatagcactgcaccctacttccgatctgtgggga caagggaccctggtgactggttcaagt	
645 VL區(突變**)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPKAPKLL IYEASKLTSQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCGGGYSSI SDTTFGCGTKVEIK	50
645 VH區(突變**)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKCLEWI GI IWASGTTFYATWAKGRFTISRDNKNTVYVYLMNSLRAEDTAVYYCA RTVPGYSTAPYFDLWGQGLVTVSS	51
645 VL區(突變**)	gacatacaaatgactcagtccttcatcggtatccgcgctcgggtggc gatagggtgactattacatgtcaaagctctcctagcgtctggagcaat tttctatcctggtatcaacagaaaccggggaaggctccaaaacttctg atztatgaagcctcgaaactcaccagtggagttccgtcaagattcagt ggctctggatcagggacagacttcacggtgacaatcagttcgtgcaa ccagaggactttgcgacctactattgtggtggaggttacagtagcata agtgatacgacatttgggtgcggtactaagggtggaatcaaa	52
645 VH區(突變**)	gaggttcaactgcttgagtcctggaggaggcctagtcacgcctggaggg agcctgcgtctctcttgtgacagtaagcggcatcgacctgagcaattac gcatcaactgggtgagacaagctccggggaagtgttagaatggatc ggtataatatgggccagtgaggacgaccttttatgctacatgggcgaaa ggaaggtttacaatttagccgggacaatagcaaaaaacaccgtgtatctc caaatgaactccttgcgagcagaggacacggcggtgtaactattgtgct cgcactgtcccagggttatagcactgcaccctacttccgatctgtgggga caagggaccctggtgactggttcaagt	53
645 scFv (VH/VL) (未突變*)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKCLEWI GI IWASGTTFYATWAKGRFTISRDNKNTVYVYLMNSLRAEDTAVYYCA RTVPGYSTAPYFDLWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQ MTQSPSSVSASVGDRTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPKAPKLLIYE ASKLTSQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCGGGYSSISDT TFGGGTKVEIK	54
645 scFv (VH/VL) (未突變*)	gaggttcaactgcttgagtcctggaggaggcctagtcacgcctggaggg agcctgcgtctctcttgtgacagtaagcggcatcgacctgagcaattac gcatcaactgggtgagacaagctccggggaagggttagaatggatc ggtataatatgggccagtgaggacgaccttttatgctacatgggcgaaa ggaaggtttacaatttagccgggacaatagcaaaaaacaccgtgtatctc caaatgaactccttgcgagcagaggacacggcggtgtaactattgtgct cgcactgtcccagggttatagcactgcaccctacttccgatctgtgggga caagggaccctggtgactggttcaagtggaggtggcggttctggcggt ggcggttccgggtggcggtggatcgggaggtggcggttctgacatacaa atgactcagtccttcatcggtatccgcgctccgttggcgatagggtg actattacatgtcaaagctctcctagcgtctggagcaattttctatcc tggatcaacagaaaccggggaaggctccaaaacttctgatttatgaa gcctcgaaactcaccagtggagttccgtcaagattcagtggtctgga tcagggacagacttcacggtgacaatcagttcgtgcaaccagaggac tttgcgacctactattgtggtggaggttacagtagcataagtgatagc acatttggggcggtactaagggtggaatcaaa	55
645 dsscFv (VH/VL) (突變**)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKCLEWI GI IWASGTTFYATWAKGRFTISRDNKNTVYVYLMNSLRAEDTAVYYCA RTVPGYSTAPYFDLWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQ MTQSPSSVSASVGDRTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPKAPKLLIYE ASKLTSQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCGGGYSSISDT TFGCGTKVEIK	56
645 dsscFv (VH/VL) (突變**)	gaggttcaactgcttgagtcctggaggaggcctagtcacgcctggaggg agcctgcgtctctcttgtgacagtaagcggcatcgacctgagcaattac gcatcaactgggtgagacaagctccggggaagtgttagaatggatc ggtataatatgggccagtgaggacgaccttttatgctacatgggcgaaa ggaaggtttacaatttagccgggacaatagcaaaaaacaccgtgtatctc caaatgaactccttgcgagcagaggacacggcggtgtaactattgtgct cgcactgtcccagggttatagcactgcaccctacttccgatctgtgggga caagggaccctggtgactggttcaagtggaggtggcggttctggcggt ggcggttccgggtggcggtggatcgggaggtggcggttctgacatacaa atgactcagtccttcatcggtatccgcgctccgttggcgatagggtg actattacatgtcaaagctctcctagcgtctggagcaattttctatcc tggatcaacagaaaccggggaaggctccaaaacttctgatttatgaa gcctcgaaactcaccagtggagttccgtcaagattcagtggtctgga tcagggacagacttcacggtgacaatcagttcgtgcaaccagaggac tttgcgacctactattgtggtggaggttacagtagcataagtgatagc acatttggggcggtactaagggtggaatcaaa	57

	<p>atgactcagtcctccttcatcggatcccgctccggtggcgataggggtg actattacatgtcaaagctctcctagcgtctggagcaatcttctatcc tggatcaacagaaaccggggaaggctccaaaacttctgatttatgaa gcctcgaaactcaccagtgaggtccgctcaagattcagtggtctgga tcaggacagacttcacgttgacaatcagttcgtgcaaccagaggac tttgcgacctactattgtgggtggaggttacagtagcataagtgatacg acatttgggtgcggtactaagggtggaatcaaa</p>	
<p>11041gH14 HC- 645 (VH/VL) scFv (未突變*)</p>	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI GIIDIEGSTYYASWAKGRFTISRDN SKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCSGGGSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKLEWIGI IWASG TTFYATWAKGRFTISRDN SKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYS TAPYFDLWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSS VSASVGRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPKGKAPKLLIYEASKLTS VPSRFGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGGGTK VEIKRT</p>	<p>58</p>
<p>11041gH14 HC- 645 (VH/VL) scFv (未突變*)</p>	<p>gaggtgcagctcgtggaaagcggaggaggactggtgcagccaggaggg tccttgcggcttagctgtgcccgtgtccggcttctccctgtcctcctac gcatgatctgggtccgccaagctcctgggaagggcctcgaatggatt ggtattatcgacatcgaggatcaacctactacgcctcgtgggccaag ggacggttcaccatctcgcgggacaactccaagaactcgtgtatctg cagatgaacagcctgagggcagaagataaccgcccgtgactactgcgcg agagatcgtctcgtgggctggacatctttgacccgctggggctcaaggc accctggctcactgtctcgagcgcgtccaaaagggcccactcggctctc cccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggacacagcggcctg ggctgcctggtcaaggactactccccgaaccagtgacggtgctcgtgg aactcaggtgccctgaccagcggcgttcacaccttcccggctgtccta cagcttccaggactctactcctgagcagcgtggtgaccgtgccctcc agcagcttgggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccc agcaacaccaaggtcgataagaaagttgagcccaaatcttgtagcgggt ggcgggtggctccggagggtggcgggttcagagggtcaactgcttgagtct ggaggaggcctagctcagcctggaggggagcctgctctctcttctgca gtaagcggcatcgacctgagcaattacgccatcaactgggtgagacaa gctccggggaagggtttagaatggatcgggtataatagggccagtggg acgaccttttatgctacatgggcgaaaggaaggtttacaattagccgg gacaatagcaaaaacacgctgtatctccaaatgaactccttgcgagca gaggacacggcgggtgactattgtgctcgcactgtcccagggttatagc actgcaccctacttcgatctgtggggacaagggaccctgggtgactggt tcaagtggagggtggcgggttctggcgggtggcgggttccgggtggcgggtgga tcgggagggtggcgggttctgacatacaaatgactcagctccttcatcg gtatccgcgtccgttggcgataggggtgactattacatgtcaaacgctct cctagcgtctggagcaatcttctatcctgggtatcaacagaaaccgggg aaggctccaaaacttctgatttatgaagcctcgaaactcaccagtgga gttccgtcaagattcagtggtctctggatcagggacagacttcacggttg acaatcagttcgtgcaaccagaggactttgcgacctactattgtggt ggaggttacagtagcataagtgatacgacatttgggggcggtactaag gtggaatcaaacgtacc</p>	<p>59</p>
<p>11041gH14 HC- 645 (VH/VL) dsscFv (突變**)</p>	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI GIIDIEGSTYYASWAKGRFTISRDN SKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCSGGGSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKLEWIGI IWASG TTFYATWAKGRFTISRDN SKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYS TAPYFDLWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSS VSASVGRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPKGKAPKLLIYEASKLTS VPSRFGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGGGTK VEIKRT</p>	<p>60</p>
<p>11041gH14 HC- 645 (VH/VL) dsscFv (突變**)</p>	<p>gaggtgcagctcgtggaaagcggaggaggactggtgcagccaggaggg tccttgcggcttagctgtgcccgtgtccggcttctccctgtcctcctac</p>	<p>61</p>

	<p>gcatgatctgggtccgccaaagctcctgggaagggcctcgaatggatt ggtattatcgacatcgaggatcaacctactacgcctcgtgggccaag ggacggttcaccatctcgcgggacaactccaagaactcgtgtatctg cagatgaacagcctgagggcagaagataccgcctgtaactactgcgcg agagatcgcttcgtgggctggacatctttgacccgtggggcgaaggc acctgggtcactgtctcgagcgcgtccacaaagggcccacgtctctc cccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggacagcggccctg ggctgcctgggtcaaggactacttccccgaaccagtgacgggtgctgg aactcaggtgccctgaccagcggcgttcacaccttcccggctgctcta cagtcttcaggactctactccctgagcagcgtggtgaccgtgccctcc agcagcttgggcaccagacctaactctgcaacgtgaatcacaagccc agcaacaccaaggtcgataagaaagttgagcccaatctttagcgggt ggcggtggctccggaggtggcggttcagaggttcaactgcttgagtct ggaggaggcctagtccagcctggagggagcctgctctctcttgca gtaagcggcatcgacctgagcaattacgccatcaactgggtgagacaa gctccggggaagtgtttagaatggatcgggtataatatgggcccagtg acgaccttttatgctacatgggcgaaaggaaggtttacaattagccgg gacaatagcaaaaacaccgtgtatctccaatgaactccttgcgagca gaggacacggcgggtgactattgtgctcgcactgtcccaggttatagc actgcaccctacttcgatctgtggggacaagggaccctgggtgactgtt tcaagtggaggtggcggttctggcggtggcggttccgggtggcggtgga tcgggaggtggcggttctgacatacaaatgactcagctctccttcatcg gtatccgcgtccgttggcgataggggtgactattacatgtcaaagctct cctagcgtctggagcaattttctatcctgggtatcaacagaaaccgggg aaggctccaaaacttctgatttatgaagcctcgaactcaccagtgga gttccgtcaagattcagtggtctctggatcagggacagactcagcttg acaatcagttcgtgcaaccagaggactttgagcactactattgtggt ggaggttacagtagcataagtgatacgacatttgggtgcggtactaag gtggaaatcaaactgacc</p>	
<p>11041gL13 LC- 650 scFv (未突變*)</p>	<p>AVQLTQSPSSLSASVGRVITITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQASVYGN ADSRYTFFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECSSGGGSGGGGSEVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKASGYSFTSYIHWVRQAPGQGLEWMGRIGPGSGDI NYNEKFKGRATFTVDKSTSTAYMELSSLRSEDYVYYCARFHYDGDW GQGLTIVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGRV VTITCKASQNINENLDWYQQKPGKAPKLLIYYTDLQTLGIPSRFSGS SGTDTYTLTISLQPEDFATYYCYQYYSGYTFGGTKLEIKRT</p>	<p>62</p>
<p>11041gL13 LC- 650 scFv (未突變*)</p>	<p>gccgtccaactgactcagtcctcccgagctcactttccgcgagcgtggga gatcgcgtgaccattacgtgccaggcctcggaggacatctacaccaac ctgcctgggtatcaacagaagcctggcaaagctcccaagctgttgatc tactgggctcactctggcctccggagtgcttccgcgggtctctccggt tctggatcaggcaccgacttaccctgacaatcagcagcctccagccg gaagattttgccacttactactgccaagcatccgtctcagggaacgca gcgactccagatataccttccggcgggggaaccaaagtggagattaag cgtacgggtggcgcctcctccgtgttcatcttcccaccctccgacgag cagctgaagtccggcaccgcctccgtcgtgtgctgctgaacaacttc tcccccgagggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgcctcagcag tccggcaactcccaggaatccgtcaccgagcaggactccaaggacagc acctactcctgtcctccaccctgacctgtccaaggccgactacgag aagcacaaggtgtacgcctgcgaagtgaccaccaggccctgtccagc cccgtgaccaagtccttcaaccggggcgagtgacgggtggcggtggc tccggaggtggcggttcagaggtgcagctggtgcagtcgggcgag gtgaagaagccggctcctccgtgaaggtgtcctgcaaggcctccggc tactccttccactcactacatccactgggtgagggagggccccggc cagggctggagtgatgggcaggatcggccccggctccggcgacatc aactacaacgagaagttcaagggcagggccaccttaccgtggacaag tccacctccaccgctacatggagctgtcctcctgaggtccgaggac accgctgtactactgcgccaggttccactacgacggcgccgactgg ggccagggcaccctgggtgaccgtgtcctccggaggtggcggttctggc ggtggcggttccgggtggcggtgagtcgggaggtggcggttctgacatc cagatgaccagtcctcctcctcctgctccgctccgtgggcgacagg</p>	<p>63</p>

	gtgaccatcacctgcaaggcctcccagaacatcaacgagaacctggac tggtagcagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatctactac accgacatcctgcagaccggcatccccctccaggttctccggctccggc tccggcaccgactacaccctgaccatctcctccctgcagcccaggac ttcgccacctactactgctaccagtactactccggctacaccttcggc cagggcaccaagctggagatcaagcgtacc	
11041gL13 LC- 650 dsscFv (突變**)	AVQLTQSPSSLSASVGDRTITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFRSGSGSDTDFTLTISSLQPEDFATYYCQASVYGNA ADSRYTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECSSGGGSGGGGSEVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKASGYSFTSYIHWVRQAPGQCLEWMGRIGPGSDI NYNEKFKGRATFTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARFHYDGADW GQGLTIVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD VTITCKASQNINENLDWYQQKPGKAPKLLIYYTDLIQTGIPIPSRFSGS SGTDYTLTISSLQPEDFATYYCYQYYSGYTFGCGTKLEIKRT	64
11041gL13 LC- 650 dsscFv (突變**)	gccgtccaactgactcagtcctcccgagctcactttccgcgagcgtggga gatcgcgtgaccattacgtgccaggcctcggaggacatctacaccaac ctcgcctggtatcaacagaagcctggcaaagctcccaagctggtgatc tactggcctccactctggcctccggagtgcttccgcggttctccggt tctggatcaggcaccgacttaccctgacaatcagcagcctccagccg gaagattttgccacttactactgccaagcatccgtctacgggaacgca gccgactccagatataccttcggcgggggaaccaaagtggagattaag cgtacggtggccgctccctccgtgttcatcttcccaccctccgacgag cagctgaagtcggcaccgctccgtcgtgtgctgctgaacaacttc tcccccgagggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgcctgcag tccggcaactcccaggaatccgtcaccgagcaggactccaaggacgc acctactccctgtcctccaccctgacctgtccaaggccgactacgag aagcacaaggtgtacgcctgcgaagtgaccaccaggccctgtccagc cccgtgaccaagtccttcaaccggggcgagtgcagcgggtggcggtggc tccggaggtggcggttcagaggtgcagctggtgcagtcggcgccgag gtgaagaagcccggctcctccgtgaaggtgtcctgcaaggcctccggc tactccttcaactcctactacatccactgggtgaggcaggccccggc cagtgcttgagtggtgggaggatcggccccggctccggcgacatc aactacaacgagaagttcaagggcaggggccaccttaccctggacaag tccacctccaccgctacatggagctgtcctccctgaggtccgaggac accgcccgtgtactactgcgccaggttccactacgacggcgccgactgg ggccagggcaccctggtgacctgtcctccggaggtggcggttctggc ggtggcggttccggtggcggtggatcgggaggtggcggttctgacatc cagatgaccagtcctccctcctcctgtccgcctccgtggcgacagg gtgaccatcacctgcaaggcctcccagaacatcaacgagaacctggac tggtagcagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatctactac accgacatcctgcagaccggcatccccctccaggttctccggctccggc tccggcaccgactacacctgacctctcctccctgcagcccaggac ttcgccacctactactgctaccagtactactccggctacaccttcggc tgccgaccaagctggagatcaagcgtacc	65
scFv/dsscFv 之 κ 恆定區與 650 VH 之間的輕鏈連接子 (Y)	SGGGGSGGGGS	66
650 scFv/dsscFv VH 與 VL 之間的輕鏈連接子	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	67
scFv/dsscFv 之 CH1 恆定區與 645 VH 之間的重鏈連接子 (X)	SGGGGSGGGGS	68
645 scFv/dsscFv 之 VH 與 VL 之間的重鏈連接子	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	69

* 亦即，不存在針對二硫鍵而經工程改造之半胱胺酸

** 亦即，存在針對二硫鍵而經工程改造之半胱胺酸

【0557】 表12. 11070 IL22結合域序列

名稱	序列	SEQ ID NO
11070 CDRL1	KASKTISKYLA	70
11070 CDRL2	SGSTLQS	71
11070 CDRL3	QQHNEYPLT	72
11070 CDRH1	GFSLTSYSVH	73
11070 CDRH2	RMWSDGDTSYNTAFTS	74
11070 CDRH3	SLDFYYDTTLAF	75
11070gL7 V區	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASKTISKYLAWYQQKPGKANKLLI YSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHNEYPL TFGQGTKLEIK	76
11070gL7 V區	gacattcagatgactcagtcgccttcgctccgtgagcgcagcgcgagcgcgga gacagagtgacaatcacctgtaaagcgtccaagaccatctccaagtac ctggcttggtatcagcagaaaccggggaaggccaacaagttgcttacc tactccggttctactctccaatcgggagtgccaagccggttttccggg tccggatcaggcaccgacttcaccctcaccatctcatccctgcaaccg gaggatttcgccacgtactactgccagcagcacaacgaatacccctg accttcggccaaggaactaagctggaaattaag	77
11070gH16 V區	EVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGFSLTSYSVHWVRQHPGKLEWI GRMWSGDGDTSYNTAFTSRLTISRDTSKNQVSLKLSVTAADTAVYYCA RSLDFYYDTTLAFWGQGTITVTVSS	78
11070gH16 V區	gaggtgcagctgcaagaatccggctcctggcctcgtgaagccgctcgcag accttgagcctgacctgtactgtgtccggattcagcctcacatcctac tcgggtgactgggtcagacagcatcccggaaaaggcctggaatggatt gggaggatgtggtctgatggagacacctcctacaacacggcgttcacc agccggctgaccatctcccgcgacacctccaagaaccaagtgctcgtt aagctgtcctcagtcactgccgccgataaccgcagtgattactgcgct cggctactggacttttactacgacaccacctggccttctggggacag gggactactgtgactgtctcgcagc	79
11070gL7輕鏈	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASKTISKYLAWYQQKPGKANKLLI YSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHNEYPL TFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	80
11070gL7輕鏈	gacattcagatgactcagtcgccttcgctccgtgagcgcagcgcgagcgcgga gacagagtgacaatcacctgtaaagcgtccaagaccatctccaagtac ctggcttggtatcagcagaaaccggggaaggccaacaagttgcttacc tactccggttctactctccaatcgggagtgccaagccggttttccggg tccggatcaggcaccgacttcaccctcaccatctcatccctgcaaccg gaggatttcgccacgtactactgccagcagcacaacgaatacccctg accttcggccaaggaactaagctggaaattaagcgtacgggtggccgct ccctccgtgttcatcttcccacctccgacgagcagctgaagtcgggc accgctccgtcgtgtgctgctgaacaacttctacccccgcgaggcc aaggtgcagtggaaggtggacaacgcctgcagtcgggaactcccag gaatccgtcaccgagcaggactccaaggacagcacctactccctgtcc tccaccctgacctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtac gcctgcgaagtgaccaccaggccctgtccagccccgtgaccaagtcc ttcaaccggggcgagtgctc	81
11070gH16 Fab重鏈	EVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGFSLTSYSVHWVRQHPGKLEWI GRMWSGDGDTSYNTAFTSRLTISRDTSKNQVSLKLSVTAADTAVYYCA RSLDFYYDTTLAFWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVKVEPKSC	82
11070gH16 Fab重鏈	gaggtgcagctgcaagaatccggctcctggcctcgtgaagccgctcgcag accttgagcctgacctgtactgtgtccggattcagcctcacatcctac	83

	tcggtgactgggtcagacagcatcccggaaaaggcctggaatggatt gggaggatgtggtctgatggagacacctcctacaacacggcgttcacc agccggctgaccatctcccgcgacacctccaagaaccaagtgtcgctt aagctgtcctcagtcactgccgataaccgcagtgattactgctgct cggctactggacttttactacgacaccacctggccttctggggacag gggactactgtgactgtctcgagcgcgtccacaaagggcccacggctc ttcccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggacagcggcc ctgggctgcctggtaaggactacttcccgaaccagtgacgggtgctg tggactcaggtgccctgaccagcggcgttcacacctcccggctgctc ctacagtcttcaggactctactcctgagcagcgtggtagcctgccc tccagcagctgggacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaag cccagcaacaccaaggctcgataagaaagttgagcccaatcttgt	
--	---	--

【0558】表13. 其他11041序列(IL22結合域)

名稱	序列	SEQ ID NO
11041 CDRL1	與SEQ ID NO 8相同	8
11041 CDRL2	與SEQ ID NO 9相同	9
11041 CDRL3 (未突變)	QACVYGNSADSRYT	84
11041 CDRL3 C91S	QASVYGNSADSRYT	85
11041 CDRL3 C91V	QAVVYGNSADSRYT	86
11041 CDRL3 S96A	QACVYGNAADSRYT	87
11041 CDRL3 C91S S96A	與SEQ ID NO 10相同	10
11041 CDRL3 C91V S96A	QAVVYGNAADSRYT	88
11041 CDRL3 N95D	QACVYGDSADSRYT	89
11041 CDRL3 C91S N95D	QASVYGDSADSRYT	90
11041 CDRL3 C91V N95D	QAVVYGDSADSRYT	91
11041 CDRH1	與SEQ ID NO 11相同	11
11041 CDRH2 (未突變)	IIDIDGSTYYASWAKG	92
11041 CDRH2 G55A	IIDIDASTYYASWAKG	93
11041 CDRH2 D54E	與SEQ ID NO 12相同	12
11041 CDRH3	與SEQ ID NO 13相同	13
11041 CDRH3 D107E	DRFVGVDIFEP	94
兔11041 VL區	AVVLTQTASPVSAAPVGGTVTIKCQASEDIYTNLAWYQQKPGQPPKLLI YWASTLASGVPSRFKSGSGTEFTLTISDLECAADAATYYCQACVYGNS ADSRYTFGGGTEVVVK	95
兔11041 VL區	gccgtcgtgctgaccagactgcatccccctgctgacactgtggga ggcacagtcaccatcaagtgccaggccagtgaggacatttacaccaat ttagcctggatcaacagaaaccaggacagcctcccagctcctgac tactgggcatccactctggcatctgggggtcccacgcggttcaaaggc agtggatctgggacagagttcactctcaccatcagcgcacctggagtgt gccgatgctgccacttactactgtcaagcctgtgtttatggcaatagt gctgatagtcggtatactttcggcggaggaccgaggtggtggtcaaa	96
兔11041 VH區	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYAMIWVRQAPGEGLEWIG IIDIDGSTYYASWAKGRFTISRSTTVDLKITSPTTGDATATYFCARDR FVGVDIFDPWGPGLTIVSS	97
兔11041 VH區	cagtcggtggaggagtcggggggtcgccctggtcacgcctgggacacc ctgacactcactgcaccgtctctggattctccctcagtagctatgca atgatctgggtccgccaggctccaggggaggggctggaatggatcgga atcattgatattgatgggagcacatactacgcgagctgggcgaaaggc cgattcaccatctccagaacctcgaccacgggtgatctgaaaatcacc	98

	agtccgacaaccggggacacggccacctatctgtgcccagagatcgt tttgttgggtgttgatatttttgatccctggggcccaggcaccctggtc accgtctcgcgac	
11041gL1 V區	AVVLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQACVYGNS ADSRYTFGGGKVEIK	99
11041 gL1 C91S V區 (gL2)	AVVLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQASVYGNS ADSRYTFGGGKVEIK	100
11041 gL1 C91V V區 (gL3)	AVVLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQAVVYGNS ADSRYTFGGGKVEIK	101
11041gL6 V區	AVQLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQACVYGNS ADSRYTFGGGKVEIK	102
11041gL7 V區	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQACVYGNS ADSRYTFGGGKVEIK	103
11041 gL1 N95D V區 (gL8)	AVVLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQACVYGDS ADSRYTFGGGKVEIK	104
11041 gL1 S96A V區 (gL9)	AVVLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQACVYGNA ADSRYTFGGGKVEIK	105
11041 gL1 C91S S96A V區(gL10)	AVVLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQASVYGNA ADSRYTFGGGKVEIK	106
11041 gL6 C91S V區 (gL11)	AVQLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQASVYGNS ADSRYTFGGGKVEIK	107
11041 gL7 C91S V區 (gL12)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQASVYGNS ADSRYTFGGGKVEIK	108
11041 gL7 C91S S96A V區(gL14)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASEDIYTNLAWYQQKPGKAPKLLI YWASTLASGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQASVYGNA ADSRYTFGGGKVEIK	109
11041gH1 V區	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI GIIDIDGSTYYASWAKGRFTISRDSKNTVYLYQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDFDPWGQGTLLTVSS	110
11041 gH1 G55A V區 (gH2)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI GIIDIDASTYYASWAKGRFTISRDSKNTVYLYQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDFDPWGQGTLLTVSS	111
11041 gH1 D54E V區 (gH3)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI GIIDIEGSTYYASWAKGRFTISRDSKNTVYLYQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDFDPWGQGTLLTVSS	112
11041 gH1 D107E V區 (gH4)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI GIIDIDGSTYYASWAKGRFTISRDSKNTVYLYQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDFEPWGQGTLLTVSS	113
11041gH5 V區	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI GIIDIDGSTYYASWAKGRFTISRDNSKNTVYLYQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDFDPWGQGTLLTVSS	114
11041gH8 V區	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI GIIDIDGSTYYASWAKGRFTISRDSKNTLYLYQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDFDPWGQGTLLTVSS	115
11041gH9 V區	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI GIIDIDGSTYYASWAKGRFTISRDSKNTVYLYQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDFDPWGQGTLLTVSS	116
11041gH11 V區	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI GIIDIDGSTYYASWAKGRFTISRDNSKNTLYLYQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDFDPWGQGTLLTVSS	117
11041gH12 V區	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWI SIIDIDGSTYYASWAKGRFTISRDNSKNTLYLYQMNSLRAEDTAVYYCA	118

	RDRFVGVDIFDPWGQGTTLTVSS	
11041 gH8 D54E V區 (gH15)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWIGIIDIEGSTYYASWAKGRFTISRDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRFVGVDIFDPWGQGTTLTVSS	119
11041 gH11 D54E V區 (gH17)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWIGIIDIEGSTYYASWAKGRFTISRDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRFVGVDIFDPWGQGTTLTVSS	120
11041 gH12 D54E V區 (gH18)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWIGIIDIEGSTYYASWAKGRFTISRDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRFVGVDIFDPWGQGTTLTVSS	121
11041 gL6 C91S S96A (gL13)輕鍵	與SEQ ID NO 18相同	18
11041 gH5 D54E (gH14)重鍵	與SEQ ID NO 20相同	20

【0559】表14. 其他11070序列(IL22結合域)

名稱	序列	SEQ ID NO
11070 CDRH2 (未突變)	RMWSDGDTSYNSAFTS	122
11070 CDRH2 S61T	與SEQ ID NO 74相同	74
大鼠Ab 11070 VL區	DIVMTQTPSNLAASPGESVSINCKASKTISKYLAWYQQKPGKANKLLIYSGSTLQSGTPSRFSGSGSSTDFTLTIRNLEPEDFGLYYCQQHNEYPLTFGSGTKLEIK	123
大鼠Ab 11070 VL區	gatattgtgatgacacagactccatctaattcttgctgcctctcctgga gaaagtgttccatcaattgcaaggcaagtaagaccattagcaagtat ttagcctggtatcaacagaaacctgggaaagcaataagcttcttctc tattctgggtcaactttgcaatctggaactccatcgaggttcagtggc agtggatctagtagacttctactctcaccatcagaaacctggagcct gaagatthttgactctattactgtcaacagcataatgaatacccgcctc acgttcggttctgggaccaagttggaataaaa	124
大鼠Ab 11070 VH區	EVQLQESGPGPLVQPSQTLSPTCTVSGFSLTYSVHWVRQHSKGKLEWMGRMWSGDTSYNSAFTSRLSITRDTSKSQVFLKMNLSLQTEDTGTYYCARSLDFYYDTTLAFWGPQTTVTVSS	125
大鼠Ab 11070 VH區	gaggtgcagctgcaggagtcaggacctgggctggtgcagccctcacag accctgtccccacctgcactgtctctgggttctcactaactagttac agtgtacactgggttcgcccagcattcaggaagagctggaatggatg ggaagaatgtggagtgatggagacacatcatataattcagcgttcaca tcccgattgagcatcactagggacacctccaagagccaagtttctta aaaatgaacagtctgcaaaactgaagacacaggcacttactactgtgcc agaagtctcgatthttactatgatactactcttgccttctggggcca ggaaccacggtcaccgtctcgagt	126
11070gL1 V區	DIVMTQSPSSVSASVGDRTITCKASKTISKYLAWYQQKPGKANKLLIYSGSTLQSGTPSRFSGSGSSTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHNEYPLTFGQGTKEIK	127
11070gH1 V區	EVQLQESGPGPLVKPSQTLSLTCTVSGFSLTYSVHWVRQHSKGKLEWMGRMWSGDTSYNSAFTSRLTISRDTSKSQVSLKLSVTAADTAVYYCARSLDFYYDTTLAFWGPQTTVTVSS	128
11070gH13 V區(gH1 S61T)	EVQLQESGPGPLVKPSQTLSLTCTVSGFSLTYSVHWVRQHSKGKLEWMGRMWSGDTSYNTAFTSRLTISRDTSKSQVSLKLSVTAADTAVYYCARSLDFYYDTTLAFWGPQTTVTVSS	129

【0560】表15. 其他IL13結合域序列

名稱	序列	SEQ ID NO
大鼠Ab 650 (1539) VL區	DIQMTQSPPVLSASVGDRTLSCKASQINENLDWYHQKHGEAPKLLIYYTDILQGTGIPSRFSGSGSDYTLTISLQPEDVATYYCYQYSGYT	130

	FGPGTKLEIK	
大鼠Ab 650 (1539) VL 區	gacatccagatgaccagctctcctccagtcctgtctgcatctgtggga gacagagtcactctcagttgcaaagcaagtcagaatattaatgagaac ttagactggtatcatcaaaagcatggcgaagctccaaaactcctgata tattatacagacatTTTTGCAAACGGGCATCCCATCAAGGTTCAAGTGGC AGTGGATCTGGTACAGATTACACACTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT GAAGATGTTGCCACATATACTGCTATCAGTATTACAGTGGGTACAG TTGGACCTGGGACCAAGCTGGAATAAAA	131
大鼠Ab 650 (1539) VH 區	QVQLQQSGAELVKPGSSVKMSCKASGYSFTSYIHWIKQRPQGLEWI GRIGPGSGDINYNKFKGKATFTVDKYFSTAYMQLSSLSPEDTAVFYC ARFHYDGADWGQGLTLTVSS	132
大鼠Ab 650 (1539) VH 區	caggtacaactgcagcagctctggagctgagttggtgaagcctgggtct tcagtgaagatgtcctgcaaggcttctggctacagtttaccagctac tacatacactggataaagcagaggcctggacagggccttgagtgatt gggcgtattggtcctggaagtggagatattaattacaatgagaagttc aagggaaggccacatttactgtggacaaatatttcagcacagcctac atgcaactcagcagcctgtcacctgaggacactgcggtcttttactgt gcaagatttactatgatggggctgactggggccaaggcactctggtc acagtctcgagc	133

【0561】表16 用於IL22結合域之人類受體構架

名稱	序列	SEQ ID NO
人類IGKV1D-13 IGKJ4構架	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLI YDASSLESQVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQFNSYPL TFGGGTKVEIK	134
人類IGKV1D-13 IGKJ4構架	gccatccagttgaccagctctccatcctcctgtctgcatctgttagga gacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagggcattagcagtgct ttagcctggtatcagcagaaaccagggaaagctcctaagctcctgac tatgatgcctccagtttgaaagtgggtcccatcaaggttcagcggc agtggatctgggacagatttactctcaccatcagcagcctgcagcct gaagattttgcaacttattactgtcaacagtttaatagttaccctctc actttcggcggagggaaccaagtgagatcaaa	135
人類IGHV3-66 IGHJ4 構架	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKLEWV SVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RYFDYWGQGLTLTVSS	136
人類IGHV3-66 IGHJ4 構架	gaggtgcagctggtggagctctgggggaggcttgggtccagcctggggg tccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccgtcagtagcaac tacatgagctgggtccgccaggctccagggaaagggctggagtggtc tcagttatttatagcgggtgtagcacatactacgcagactccgtgaag ggcagattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctt caaatgaacagcctgagagccgaggacagggctgtgtattactgtgcg agatactttgactactggggccaaggaaccctgggtcaccgtctcctca	137
人類IGKV1-12 IGKJ2 構架	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQANSFPY TFGQGTKLEIK	138
人類IGKV1-12 IGKJ2 構架	gacatccagatgaccagctctccatcctcctgtctgcatctgttagga gacagagtcaccatcacttgctgggagtcagggatttagcagctgg ttagcctggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaagctcctgac tatgctgcatccagtttgcaaagtgggtcccatcaaggttcagcggc agtggatctgggacagatttactctcaccatcagcagcctgcagcct gaagattttgcaacttactattgtcaacaggtaacagtttcccttac acttttggccaggggaccaagctggagatcaaa	139
人類IGHV4-31 IGHJ6 構架	QVQLQESGPGLVKPSQTLTSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLE WIGYIYYSGSTYYNPSLKRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYY CARYYYYYGMDVWGQGTITVTVSS	140
人類IGHV4-31 IGHJ6 構架	caggtgcagctgcaggagtcggggccaggactggtgaagccttcacag accctgtccctcacctgcactgtctctggtggctccatcagcagtggt ggttactactggagctggatccgccagcaccagggaaagggcctggag tggattgggtacatctattacagtgggagcacctactacaaccctgctc	141

	aaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatggg cagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgac ggctccttcttctctacagcaggctaaccgtggacaagagcagggtg caggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcac aaccactacacacagaagagcctctccctgtctctgggtaaa	
IL22白輕鏈	與SEQ ID NO 142相同	142
IL22白輕鏈	與SEQ ID NO 143相同	143
IL22白重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMIVWRQAPGKLEWI GIIDIEGSTYYASWAKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCA RDRFVGVDFDPWQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSRSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSV LFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK	146
IL22白重鏈	gaagtgcagctcgtggagtcggggggaggactggtgcagcccgagggt tccctgcgcttgagctgtgcagtgctcaggcttttccctgtcctcctac gcatgatctgggtccgccaagctcctggaaagggctggaatggatc ggaatcatcgacatcgaggctccacctaactacgcctcatgggccaag ggccggttcaccatttccgggataacagcaagaactgtgtacctc cagatgaactcgctgaggccgaggacactgccgtgtattactgcgcg cgggacagattcgtcggggtggacattttcgaccctgggggtcaaggc acccttgtgaccgtctcgagcgttctacaaagggcccatccgtcttc cccctggcgcctgctccaggagcacctccgagagcacagccgcctg ggctgctgtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgctcgtgg aactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggtgctccta cagtcctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgcccctc agcagcttgggcacgaagacctaactgcaacgtagatcacaagccc agcaacaccaaggtggacaagagagttgagtcctaatatggtccccc tgcccacatgcccagcactgagttcctggggggaccatcagtcctc ctgttcccccaaaaaccaaggacactctcatgatctcccggaccct gaggtcacgtgctggtgggtggacgtgagccaggaagaccccagggtc cagttcaactggtacgtggatggcgtggagggtgcataatgccaagaca aagccgaggaggagcagttcaacagcagcgtaccgtggtgctcagcgtc ctaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtaacagtg aaggtatccaacaaagcctcccgtcctccatcgagaaaaccatctcc aaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacacctgccccca tcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgagctgcgcggtc aaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatggg cagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgac ggctccttcttctcgtcagcaggctaaccgtggacaagagcagggtg caggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcac aaccactacacacagaagagcctctccctgtctctgggtaaa	147
IL13杆輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQININENLDWYQQKPKGKAPKLLI YYTDILQGTGIPSRFSGSGSDTYTLTISSLQPEDFATYYCYQYYSGYT FGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	148
IL13杆輕鏈	gacatccagatgacccagtcctcctcctcctgtecgcctccgtgggc gacagggtgaccatcacctgcaaggcctcccagaacatcaacgagaac ctggactggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatc tactacaccgacatcctgcagaccggcatcccctccaggttctccggc tccggctccggcaccgactacaccctgaccatctcctcctcctgacccc gaggacttcgccactactactgctaccagtaactactccggctacacc ttcggccagggcaccgaactgagatcaagcgtacggtagcggccccca tctgtcttcatcttcccggcatctgatgagcagttgaaatctggaact gcctctgttgtgtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaa gtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggag agtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagc accctgacgctgagcaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcc	149

	tgcgaaagtcaacctcagggcctgagctcgcccgtcacaagagcttc aacaggggagagtggt	
IL13杵重鍵	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYSFTSYIHWVRQAPGQGLEWM GRIGPGSGDINYNKFKGRATFTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARFHYDGADWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSLGK	150
IL13杵重鍵	gaggtgcagctgggtgcagtcggcgccgaggtgaagaagcccggctcc tccgtgaaggtgtcctgcaaggcctccggctactcctcactcctac tacatccactgggtgaggcaggccccggccaggcctggagtgatg ggcaggatcggccccggctccggcgacatcaactacaacgagaagttc aagggcaggccaccttcacgtggacaagtccacctccaccgctac atggagctgtcctccctgaggtccgaggacaccgcccgtgactactgc gccaggttccactacgacggcgccgactggggccaggccaccctgggtg accgtctcgagcgttctacaaaggcccacccctcctccccctggcg ccctgctccaggagcacctccgagagcacagccgcccctgggtgctg gtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgtggaactcaggc gccctgaccagcggcgtgcacaccttccccggctgtcctacagtcctca ggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagcttg ggcagcaagacctaaccctgcaacgtagatcacaagcccagcaacacc aaggtggacaagagagttgagtcctcctgagtcctcctcctcccccc tgcccagcacctgagttcctggggggaccatcagtcctcctcccccc ccaaaaccgaaggacactctcatgatctcccgaccctgaggtcacg tgctgtgggtggacgtgagccaggaagaccgaggtccagttcaac tggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcg gaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtc ctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgaaggtatcc aacaaggcctcccgtcctccatcgagaaaaccatctccaaagccaaa ggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgcccccatcccaggag gagatgaccaagaaccaggtcagcctgtgggtgctggtgcaaggttc taccagcagacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggag aacaactacaagaccacgctcccgtgctggactccgacggctccttc ttcctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggagggg aatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctctgcacaaccactac acacagaagagcctctccctgtctctgggtaaa	151
IL13白輕鍵	與SEQ ID NO 148相同	148
IL13白輕鍵	與SEQ ID NO 149相同	149
IL13白重鍵	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYSFTSYIHWVRQAPGQGLEWM GRIGPGSGDINYNKFKGRATFTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARFHYDGADWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLCAVKGFPYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLVSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSLGK	152
IL13白重鍵	gaggtgcagctgggtgcagtcggcgccgaggtgaagaagcccggctcc tccgtgaaggtgtcctgcaaggcctccggctactcctcactcctac tacatccactgggtgaggcaggccccggccaggcctggagtgatg ggcaggatcggccccggctccggcgacatcaactacaacgagaagttc aagggcaggccaccttcacgtggacaagtccacctccaccgctac atggagctgtcctccctgaggtccgaggacaccgcccgtgactactgc gccaggttccactacgacggcgccgactggggccaggccaccctgggtg accgtctcgagcgttctacaaaggcccacccctcctccccctggcg ccctgctccaggagcacctccgagagcacagccgcccctgggtgctg gtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgtggaactcaggc	153

	<pre> gccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctca ggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttg ggcacgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacacc aaggtggacaagagagttgagtccaaatatggteccccatgcccacca tgcccagcacctgagttcctggggggaccatcagttcttctgttcccc ccaaaacccaaggacactctcatgatctcccggaccctgaggtcacg tgctgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccaggtccagttcaac tggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaaagcaaaagccggg gaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtc ctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtatcc aaciaaggcctcccgtcctccatcgagaaaaccatctccaaagccaaa gggcagccccgagagccacaggtgtacacctgccccatcccaggag gagatgaccaagaaccaggtcagcctgagctgcgcggtcaaaggcttc taccagcagcatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggag aacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttc ttcctcgtcagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggagggg aatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactac acacagaagagcctctccctgtctctgggtaa </pre>	
--	--	--

實例

實例1. 治療性抗IL13抗體CA650之產生及選擇

【0563】 用經純化之人類IL13 (Peprtech)或表現人類IL13 (在培養物上清液中以約1 µg/ml表現)之大鼠纖維母細胞或在一些情況下，上述兩者之組合對大鼠進行免疫接種。在3至6次注射之後，將動物處死且收集PBMC、脾臟、骨髓及淋巴結。在ELISA中針對與人類IL13之結合且亦在HEK-293 IL13R-STAT-6 報導子細胞分析法 (HEK-Blue 分析法，Invivogen)中針對中和hIL13之能力監測血清。

【0564】 設置B細胞培養物且在Applied Biosystems FMAT分析法中，在基於珠粒之分析法中首先針對結合hIL13之能力篩檢上清液。此為均質分析法，其使用塗佈於鏈黴抗生物素蛋白珠粒上之生物素化人類IL13及作為揭示劑之山羊抗大鼠Fc-Cy5結合物。接著，使用來自此分析法之陽性物質進行HEK-293 IL13R-STAT-6報導子細胞分析法(HEK-Blue分析法，Invivogen)以鑑別中和劑。接著，在Biacore中分析中和上清液以評估解離速率及表徵中和之作用模式。將中和作用分類為第1組或第2組。第1組表示結合於人類IL13且阻止IL13R α 1之結合且因此亦阻斷IL-4R之結合之抗體。第2組表示以允許結合於IL13R α 1但阻止IL-4R募集至複合物中之

方式結合人類IL13之抗體。選擇第1組抗體。

【0565】 由總共27個100盤SLAM實驗，在初始FMAT篩檢中鑑別約7500份IL13特異性陽性物質。800個孔在HEK-blue分析法中顯示中和作用。170個孔具有理想的Biacore概況，亦即，第1組抗體之解離速率 $<5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 。嘗試由此170個孔進行可變區選殖且160個孔成功地產生螢光焦點。100個孔在反轉錄(RT)-PCR之後產生重鏈及輕鏈可變區基因對。選殖此等V區基因作為小鼠IgG1全長抗體且在HEK-293短暫表現系統中再表現。序列分析表明，存在27個獨特的抗人類IL13抗體家族。接著，在基於細胞之分析法中再測試此等重組抗體阻斷重組hIL13 (大腸桿菌衍生及哺乳動物衍生)、重組變異體hIL13 (R130Q)(大腸桿菌衍生)、天然野生型及變異型hIL13 (人類供體衍生)及食蟹獼猴IL13 (哺乳動物衍生)之能力。亦在Biacore中測試重組抗體結合變異型IL13 (R130Q)及食蟹獼猴IL13之能力。在此表徵之後，5個抗體家族滿足吾人之標準，亦即，具有最小的針對所有人類及食蟹獼猴IL13製劑之效能及親和力之降低之次100 pM抗體。

【0566】 基於中和效能、親和力及人類化移植物中之供體內含物(參見下文)，選擇人類化CA650進行進一步研究。

實例2. 抗體CA650人類化

【0567】 藉由將來自大鼠V區之CDR移植至人類生殖系抗體V區構架上來對抗體650進行人類化。為了恢復抗體活性，來自大鼠V區之許多構架殘基亦保留於人類化序列中。使用Adair等人(1991) (Humanised antibodies. WO91/09967)概述之方案選擇此等殘基。大鼠抗體(供體) V區序列與人類生殖系(受體) V區序列之比對以及所設計之人類化序列展示於

圖2中(圖2(A)輕鏈移植物650且圖2(B)重鏈移植物650)。除在CDR-H1中使用組合型 Chothia/Kabat 定義(參見 Adair 等人, 1991 Humanized antibodies. WO91/09967)以外, 自供體移植至受體序列之CDR係如Kabat (Kabat等人, 1987)所定義。

【0568】 由Entelechon GmbH藉由自動合成方法設計及構築編碼初始V區序列之基因, 且藉由寡核苷酸引導之突變誘發經修飾以產生經移植之版本gL8及gH9。將gL8序列次選殖至UCB Celltech人類輕鏈表現載體pVhCK中, 該表現載體含有編碼人類C- κ 恆定區(Km3異型)之DNA。將gH9序列次選殖至含有編碼人類重鏈 γ -1 CH1恆定區之DNA之pVhg1Fab中。

【0569】 選擇人類V區IGKV1-39加JK2 J區(International Immunogenetics Information System® IMGT, <http://www.imgt.org>)作為抗體650輕鏈CDR之受體。除其中分別保留供體殘基異白胺酸(I58)及酪胺酸(Y71)之殘基58及71(根據Kabat編號)以外, 移植物gL8中之輕鏈構架殘基皆來自人類生殖系基因。保留殘基I58及Y71對於人類化抗體之完全效能而言係必需的。

【0570】 選擇人類V區IGHV1-69加JH4 J區(IMGT, <http://www.imgt.org>)作為抗體650之重鏈CDR之受體。除其中分別保留供體殘基丙胺酸(A67)、苯丙胺酸(F69)及纈胺酸(V71)之殘基67、69、71(根據Kabat編號, 參考SEQ ID NO:29之殘基68、70及72)以外, 移植物gH9中之重鏈構架殘基皆來自人類生殖系基因。保留殘基A67、F69及V71對於人類化抗體之完全效能而言係必需的。人類構架之位置1處之麩醯胺酸殘基由麩胺酸(E1)置換, 實現均質產物之表現及純化; 廣泛報導在抗體

及抗體片段之N端處麩醯胺酸轉化成焦麩胺酸。最終選擇的可變移植物序列gL8及gH9分別展示於圖2(A)及圖2(B)中(1539gL8gH9)。

【0571】 抗體650之編碼CDR之胺基酸及DNA序列、重鏈及輕鏈可變區、scFv及dsscFV型式展示於圖2中。

實例3. 產生抗人類白蛋白抗體645

【0572】 抗人類白蛋白抗體645之製備先前已描述於WO2013/068571中。抗體645之編碼CDR之胺基酸及DNA序列、重鏈及輕鏈可變區、scFv及dsscFV型式列舉於表11中。

實例4. 治療性抗IL22抗體11041及11070之產生及選擇

【0573】 用經純化之自製或市售人類IL22 (R&D systems)對跨越不同物種之多種動物(包括小鼠、大鼠及兔)進行免疫接種。在3-5次注射之後，將動物處死且收集PBMC、脾臟、骨髓及淋巴結。在ELISA中針對與人類及食蟹獼猴IL22之結合來監測血清。

【0574】 在11041之情況下，設置記憶性B細胞培養物且用TTP Labtech Mirrorball系統，在基於珠粒之分析法中首先針對結合人類及食蟹獼猴IL22之能力篩檢上清液。此為均質多重分析法，其使用塗佈於Sol-R鏈黴抗生物素蛋白珠粒(TTP Labtech)上之生物素化人類IL22及生物素化食蟹獼猴IL22以及作為揭示劑之山羊抗兔Fc-FITC結合物。

【0575】 由總共12個(164-400)盤B培養物實驗，在初始Mirrorball篩檢中鑑別約4500個IL22特異性陽性命中。接著，藉由以下步驟對來自此分析法之陽性上清液進行進一步表徵：

- ELISA，以確認與人類及食蟹獼猴IL-22之結合，
- 進行IL22依賴性HACAT磷酸STAT-3 HTRF細胞分析法(CisBio)以

鑑別中和劑，及

- 在BIAcore中進行分析以評估解離速率及表徵中和之作用模式。

【0576】 將中和作用分類為第1組或第2組。第1組表示結合於人類IL22且阻止IL22R1之結合之抗體。第2組表示結合人類IL22但允許IL22R1結合之抗體。選擇第1組抗體。使用螢光焦點方法對在磷酸STAT-3 HTRF分析法中顯示中和作用之孔及/或具有合乎需要的BIAcore概況之孔進行V區回收。

【0577】 亦使用螢光焦點方法針對結合人類IL22之能力來直接篩檢來自骨髓之漿細胞(與11070相關)。本文中，使用山羊抗大鼠Fc-FITC結合物揭示劑，在固定於鏈黴抗生物素蛋白珠粒上之生物素化人類IL22上收集分泌IL22特異性抗體之B細胞。收集約300個直接焦點。

【0578】 在對所收集之細胞進行反轉錄(RT)及PCR之後，產生編碼抗體之V區之『轉錄活性PCR』(TAP)產物且用於短暫轉染HEK-293細胞。測試含有重組抗體之所得TAP上清液之以下能力：結合人類及食蟹獼猴IL22、在BIAcore中阻斷IL22R1結合及在HACAT磷酸STAT-3 HTRF細胞分析法中中和IL22。

【0579】 接著，以兔或小鼠Fab抗體形式選殖來自感興趣的TAP產物之重鏈及輕鏈可變區基因對且在HEK-293短暫表現系統中再表現。對總共131個V區進行選殖及定序。接著，再測試重組選殖抗體之以下能力：結合人類及食蟹獼猴IL22、在BIAcore中阻斷IL22R1結合及在基於COLO205 IL-10 HTRF細胞之分析法(CisBio)中中和IL22依賴性IL-10釋放。在此表徵之後，2種抗體滿足標準，亦即，兔衍生之11041及大鼠衍生之11070。

【0580】 基於中和效能、針對人類及食蟹獼猴IL22之親和力、人類化移植物中之供體內含物(參見下文)及表現資料，選擇兔衍生之11041進行進一步研究。

實例5. 兔11041 Fab與人類、食蟹獼猴及小鼠IL22之結合

【0581】 使用Biacore T200儀器(GE Healthcare)，藉由將兔11041 Fab捕獲至經固定之抗兔IgG F(ab')₂，接著滴定來自各物種之IL22來評估經純化之11041兔Fab對人類、食蟹獼猴及小鼠IL22之親和力。經由胺偶合化學方法將特異性親和純化山羊抗兔 IgG-F(ab')₂ 片段 (Jackson ImmunoResearch) 固定在CM5感測器晶片上達到約5000個反應單位(RU)之捕獲水準。使用HBS-EP+ 緩衝液(10 mM HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.05%界面活性劑P20，GE Healthcare)作為操作緩衝液，其流動速率為10 μL/min。以0.5 μg/mL使用10 μL 11041 Fab注射劑進行由經固定之山羊抗兔Fab進行之捕獲。以30 μL/min之流動速率在經捕獲之11041 Fab (PB0006661)上滴定人類IL22、食蟹獼猴IL22及小鼠IL22 (在0 nM、0.6 nM、1.8 nM、5.5 nM、16.6 nM及50 nM下)。藉由注射100 nM IL-22 (歷時180秒，30 μL/min)，接著注射人類IL22R1 (50 nM，歷時180秒)來評估人類IL22R1之阻斷。

【0582】 藉由以10 μL/min進行50 mM HCl之2×10 μL注射，其間穿插5 mM NaOH之10 μL注射來產生表面。使用Biacore T200評估軟體根據標準程序分析減去背景之結合曲線。由擬合演算法測定動力學參數。結合於人類、食蟹獼猴及小鼠IL22之經純化之11041之動力學參數展示於表18中。

【0583】 表18. 結合於人類、食蟹獼猴及小鼠IL22之兔11041之動

力學參數

人類IL22			食蟹獼猴IL22			小鼠IL22		
ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
8.70E+05	2.90E-04	3.40E-10	2.60E+05	2.80E-04	1.10E-09	3.70E+07	1.10E-01	3.00E-09

實例6. 11041之人類化

【0584】藉由將來自兔V區之CDR移植至人類生殖系抗體V區構架上來對抗體11041進行人類化。為了恢復抗體活性，來自兔V區域之許多構架殘基亦保留於人類化序列中。使用Adair等人(1991) (WO91/09967) 概述之方案選擇此等殘基。兔抗體(供體) V區序列與人類生殖系(受體) V區序列之比對以及所設計之人類化序列展示於圖4及圖5中。除在CDR-H1中使用組合型Chothia/Kabat定義(參見Adair等人, WO91/09967)以外，自供體移植至受體序列之CDR係如Kabat (Kabat等人, 1987)所定義。

【0585】選擇人類V區IGKV1D-13加IGKJ4 J區(IMG T, <http://www.imgt.org/>)作為抗體11041輕鏈CDR之受體。除其中分別保留供體殘基纈胺酸(V2)及纈胺酸(V3)之來自包含殘基2及3(參考SEQ ID NO:99 gL1)之群的零個、一個或兩個殘基以外，人類化移植物變異體中之輕鏈構架殘基皆來自人類生殖系基因。在一些人類化移植物變異體中，藉由突變成纈胺酸(C91V)或絲胺酸(C91S)來移除CDRL3中之位置91處之不成對/游離半胱胺酸殘基，游離半胱胺酸殘基可經歷轉譯後修飾，諸如半胱胺酸化，且可有助於共價聚集及不良穩定性。此殘基之突變意外地分別引起結合親和力增加15至50倍，如藉由表面電漿子共振所量測(表19，gL1gH1 (642 pM)與gL1 (C91V)gH1 (41.9 pM)或gL1(C91S)gH1 (12.4 pM)相比較)。在一些人類化移植物變異體中，藉由用天冬胺酸置換位置95處之天冬醯胺殘基(N95D)或用丙胺酸置換位置96處之絲胺酸殘基

(S96A)來修飾CDRL3中之潛在天冬醯胺去醯胺化位點。藉由S96A突變進行之去醯胺化位點之修飾顯著降低去醯胺化之基礎水準。

【0586】選擇人類V區IGHV3-66加IGHJ4 J區(IMG T, <http://www.imgt.org/>)作為抗體11041之重鏈CDR之受體。與許多兔抗體相同，抗體11041之VH基因比所選擇的人類受體短。當與人類受體序列比對時，抗體11041之VH區之構架1不具有保留在人類化抗體中之N端殘基(圖4)。11041兔VH區域之構架3亦不具有 β 摺疊股D與E之間的環中的兩個殘基(75及76，參考SEQ ID NO:110 gH1)，在人類化移植物變異體中，空位由來自所選擇的人類受體序列之相應殘基(離胺酸75，K75；天冬醯胺76，N76)填充(圖1)。除其中分別保留供體殘基纈胺酸(V24)、異白胺酸(I48)、甘胺酸(G49)、絲胺酸(S73)及纈胺酸(V78)之殘基24、48、49、73及78(參考SEQ ID NO:110 gH1)以外，人類化移植物變異體中之重鏈構架殘基皆來自人類生殖系基因。保留供體殘基V24、I48、G49及V78對於人類IL22之最高結合親和力而言係必需的，如藉由表面電漿子共振所量測。在一些人類化移植物變異體中，藉由用麩胺酸置換位置54處之天冬胺酸殘基(D54E)或用丙胺酸置換位置55處之甘胺酸殘基(G55A)來修飾CDRH2中之潛在天冬胺酸異構化位點。在一些人類化移植物變異體中，藉由用麩胺酸置換位置107處之天冬胺酸殘基(D107E)來修飾CDRH3中之潛在水解位點。

【0587】表19. 所產生之不同的變異體之結合親和力

抗體變異體	輕鏈供體殘基	輕鏈突變	重鏈供體殘基	重鏈突變	親和力 (KD), pM
11041 (親本)	-		-		569
11041gL1gH1	V2、 V3		V24、I48、G49、 S73、V78		642
11041gL1 C91S gH1	V2、 V3	C91S	V24、I48、G49、 S73、V78		12.4

11041gL1 C91V gH1	V2、 V3	C91V	V24、I48、G49、 S73、V78		41.9
11041gL1 N95D gH1	V2、 V3	N95D	V24、I48、G49、 S73、V78		128.6
11041gL1 S96A gH1	V2、 V3	S96A	V24、I48、G49、 S73、V78		200
11041gL6gH1	V2		V24、I48、G49、 S73、V78		369
11041gL7gH1	-		V24、I48、G49、 S73、V78		446
11041gL1gH1 G55A	V2、 V3		V24、I48、G49、 S73、V78	G55A	627
11041gL1gH1 D54E	V2、 V3		V24、I48、G49、 S73、V78	D54E	166
11041gL1gH1 D107E	V2、 V3		V24、I48、G49、 S73、V78	D107E	657
11041gL1gH5	V2、 V3		V24、I48、G49、 V78		378
11041gL1gH8	V2、 V3		V24、I48、G49、 S73		274
11041gL1 C91S gH1 D54E	V2、 V3	C91S	V24、I48、G49、 S73、V78	D54E	28.1
11041gL1 S96A gH1 D54E	V2、 V3		V24、I48、G49、 S73、V78	D54E	88.8
11041gL1 C91S gH9	V2、 V3	C91S	I48、G49、S73、 V78		11.4
11041gL1 C91S S96A gH5 D54E	V2、 V3	C91S、 S96A	V24、I48、G49、 V78	D54E	23.3
11041gL1 C91S S96AgH15	V2、 V3	C91S、 S96A	V24、I48、G49、 S73	D54E	79
11041gL1 C91S S96AgH17	V2、 V3	C91S、 S96A	V24、G49	D54E	39.8
11041gL1 C91S S96AgH18	V2、 V3	C91S、 S96A	V24、I48	D54E	45.4
11041gL6 C91S gH5 D54E	V2	C91S	V24、I48、G49、 V78	D54E	16.1
11041gL6 C91S gH8 D54E	V2	C91S	V24、I48、G49、 S73	D54E	105.8
11041gL6 C91S gH11 D54E	V2	C91S	V24、G49	D54E	51.6
11041gL6 C91S gH12 D54E	V2	C91S	V24、I48	D54E	44.4
11041gL7 C91S gH5 D54E	-	C91S	V24、I48、G49、 V78	D54E	29.3
11041gL7 C91S gH8 D54E	-	C91S	V24、I48、G49、 S73	D54E	114.6
11041gL7 C91S gH11 D54E	-	C91S	V24、G49	D54E	66.6
11041gL7 C91S gH12 D54E	-	C91S	V24、I48	D54E	73.9
11041gL6 C91S S96A gH5 D54E	V2	C91S、 S96A	V24、I48、G49、 V78	D54E	12.5
11041gL6 C91S S96A gH8 D54E	V2	C91S、 S96A	V24、I48、G49、 S73	D54E	84.9

11041gL6 C91S S96A gH11 D54E	V2	C91S、S96A	V24、G49	D54E	52.4
11041gL6 C91S S96A gH12 D54E	V2	C91S、S96A	V24、I48	D54E	51.7
11041gL7 C91S S96A gH5 D54E	-	C91S、S96A	V24、I48、G49、V78	D54E	26.6
11041gL7 C91S S96A gH8 D54E	-	C91S、S96A	V24、I48、G49、S73	D54E	103.8
11041gL7 C91S S96A gH11 D54E	-	C91S、S96A	V24、G49	D54E	61.7
11041gL7 C91S S96A gH12 D54E	-	C91S、S96A	V24、I48	D54E	67.6

實例7. 11070之人類化

【0588】藉由將來自大鼠V區之CDR移植至人類生殖系抗體V區構架上來對抗體11070進行人類化。為了恢復抗體活性，來自大鼠V區之許多構架殘基亦保留於人類化序列中。使用 Adair 等人 (1991) (WO91/09967)概述之方案選擇此等殘基。大鼠抗體(供體) V區序列與人類生殖系(受體) V區序列之比對以及所設計之人類化序列展示於圖5A及圖5B中。除在CDR-H1中使用組合型Chothia/Kabat定義(參見Adair等人, WO91/09967)以外，自供體移植至受體序列之CDR係如Kabat (Kabat等人, 1987)所定義。

【0589】選擇人類V區IGKV1-12加IGKJ2 J區(IMG T, <http://www.imgt.org/>)作為抗體11070輕鏈CDR之受體。除其中分別保留供體殘基纈胺酸(V3)、天冬醯胺(N44)、蘇胺酸(T58)及絲胺酸(S68)之一或多個來自包含殘基3、44、58及68(參考SEQ ID NO:127, gL1)之群之殘基以外，人類化移植物變異體中之輕鏈構架殘基皆來自人類生殖系基因。保留供體殘基N44對於人類IL22之最高結合親和力而言係必需的，如藉由表面電漿子共振所量測(表20)。

【0590】選擇人類V區IGHV4-31加IGHJ6 J區(IMG T, <http://www.imgt.org/>)作為抗體11070之重鏈CDR之受體。除其中分別保

留供體殘基纈胺酸(V37)、絲胺酸(S41)、甲硫胺酸(M48)、白胺酸(L67)、精胺酸(R71)、絲胺酸(S76)及纈胺酸(V78)之一或多個來自包含殘基37、41、48、67、71、76及78(參考SEQ ID NO:128, gH1)之群之殘基以外，人類化移植物變異體中之重鏈構架殘基皆來自人類生殖系基因。用麩胺酸(E1)置換人類構架之位置1處的麩醯胺酸殘基，實現均質產物之表現及純化，廣泛報導抗體及抗體片段之N端處的麩醯胺酸轉化成焦麩胺酸。保留供體殘基V37、L67、R71及V78對於人類IL-22之最高結合親和力而言係必需的，如藉由表面電漿子共振所量測(表20)。在一些人類化移植物變異體中，藉由用蘇胺酸置換位置61處之絲胺酸殘基(S61T)來修飾CDRH2中之潛在天冬醯胺去醯胺化位點。

【0591】 表20. 所產生之不同的11070抗體之變異體之結合親和力

抗體11070變異體	輕鏈供體殘基	重鏈供體殘基	重鏈突變	親和力(KD), pM
11070	-	-	-	49
11070gL1gH1	V3、N44、 T58、S68	E1、V37、S41、M48、 L67、R71、S76、V78	-	36.8
11070gL1gH13	V3、N44、 T58、S68	E1、V37、S41、M48、 L67、R71、S76、V78	S61T	31.7
11070gL7gH16	N44	E1、V37、L67、R71、V78	S61T	25.7

實例8. 變異體之選殖及製備

【0592】 由ATUM (Newark, CA)，藉由自動合成方法來設計及構築編碼重鏈及輕鏈V區序列之不同變異體之基因。藉由寡核苷酸引導之突變誘發(在一些情況下包括CDR內之突變)修飾VH及VK基因來產生重鏈及輕鏈V區之其他變異體。為了在哺乳動物細胞中短暫表現，將人類化輕鏈V區基因選殖至UCB輕鏈表現載體pMhCK中，該表現載體含有編碼人類κ鏈恆定區的DNA (Km3異型)。將人類化重鏈V區基因選殖至UCB人類γ-1 Fab重鏈表現載體pMhFabnh中，該表現載體含有編碼人類γ-1 CH1鉸鏈域

之DNA。將所得重鏈及輕鏈載體共同轉染至Expi293™懸浮液細胞中，產生呈人類Fab型式之人類化重組抗體之表現。評估變異型人類化Fab抗體對人類IL22之結合親和力(與親本抗體相比)、其在活體外分析法中之效能、其生理特性及在後續處理中之適用性。

實例9. 人類化11041 Fab抗體之結合特性

【0593】藉由在經固定之抗人類IgG-F(ab')₂上捕獲樣品，接著在捕獲表面上滴定人類IL22來測試11041抗體之人類化樣品。用Biacore 8K儀器(GE Healthcare)進行分析法且使用Biacore 8000評估軟體進行BIA (生物分子相互作用分析(Biomolecular Interaction Analysis))。經由胺偶合化學方法將特異性親和純化山羊抗人類 IgG-F(ab')₂片段 (Jackson ImmunoResearch)固定在CM5感測器晶片上達到約5000個反應單位(RU)之捕獲水準。使用HBS-EP+緩衝液(10 mM HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.05%界面活性劑P20，GE Healthcare)作為操作緩衝液，其流動速率為10 μL/min。以0.5 μg/mL使用10 μL 11041抗體之人類化樣品注射劑進行由經固定之山羊抗人類Fab IgG進行之捕獲。在30 μL/min之流動速率下，在所捕獲之11041抗體上滴定人類IL22 (50 nM、16.7 nM、5.6 nM、1.9 nM及617 pM)。

【0594】藉由以10 μL/min之流動速率進行50 mM HCl之2×10 μL注射，其間穿插5 mM NaOH之5 μL注射來產生表面。使用Insight評估軟體根據標準程序分析減去背景之結合曲線。由擬合演算法測定動力學參數。由單一實驗測定之IL22親和力展示於表21中且證實小於100 pM。

【0595】表21. 人類化11041 Fab與IL22之間的結合親和力

樣品	ka	kd	KD (M)	KD (pM)
11041gL13gH14 Fab	1.01E+06	1.26E-05	1.25E-11	12.48
由單一實驗測定之值				

實例10. 由人類化11041抗體進行之IL22上的IL22BP結合位點之阻斷之評估

【0596】 使用表面電漿子共振(Biacore T200)評估11041gL13gH14 Fab (作為雙特異性抗體之一部分)或非紮奴單抗(Fezakinumab)是否能夠阻斷IL22之IL22BP結合位點。

【0597】 經由胺偶合化學方法將山羊抗人類IgG Fab特異性抗體 (Jackson ImmunoResearch)固定在CM5感測器晶片上達到約6000 RU之水準。

【0598】 各分析週期係由以下組成：將11041gL13gH14 Fab或非紮奴單抗分子捕獲至抗Fab表面，注射20 nM IL22(自製)，接著注射100 nM IL22BP，其中各次注射係以30 μ l/min進行180秒。在各週期結束時，以10 μ L/min之流動速率，使用50 mM HCl之60秒注射，接著5 mM NaOH之30秒注射及最終50 mM HCl之60秒注射使表面再生。使用由緩衝液捕獲或緩衝液分析物注射組成之對照週期減去背景結合及偏移。

【0599】 表22. IL22及IL22BP結合反應

樣品	捕獲(RU)	20 nM下之IL22結合 (RU)	100 nM下之IL22BP結合 (RU)
11041gL13gH14 Fab	280	40	0
非紮奴單抗	202	37	59

【0600】 當IL22結合於表面捕獲之11041gL13gH14 Fab時，IL22BP不能與IL22結合。當IL22結合於表面捕獲之非紮奴單抗時，IL22BP仍能夠與IL22結合。總之，11041gL13gH14 Fab (作為雙特異性抗體之一部分)阻斷IL22之IL22BP結合位點，而非紮奴單抗並未如此。

實例11. IL22之純化

【0601】 如 Nagem 等人 [Nagem 等人， Structure. 2002 年 8

月;10(8):1051-62.]所描述來基本上純化DL22之經his標記之版本。用編碼經his標記之DL22之表現構築體，藉由熱休克使BL21(DE3)大腸桿菌品系轉型。

[(0602)] 經編碼之蛋白質序列為：

MGSSIIIIIIIISSGIENLYIQGSQGGAAAFISSIICRIIDKSNIQQPYTINRITMILAKIASIADNN
TIDVRIIGIEKLIITIGVSMSERCYIMKQVINIITIGVITIPQSDRIQPYMQIVVPIIARI.SNRI.ST
CIIIIGIDDIITIQRNVQKIKDITVKKLGIISGIGKAIIGIADIIITMSI.RNACI (SEQ ID NO: 3)

[(0603)] TEV裂解之後的DL22蛋白質序列(參見下文)：

GSQGGAAAFISSIICRIIDKSNIQQPYTINRITMILAKIASIADNN TIDVRIIGIEKLIITIGVSMSERC
YIMKQVINIITIGVITIPQSDRIQPYMQIVVPIIARI.SNRI.STCIIIIGIDDIITIQRNVQKIKDIT
VKKLGIISGIGKAIIGIADIIITMSI.RNACI (SEQ ID NO: 4)

[(0604)] 細胞在存在100 µg/ml之安比西林(ampicillin)之情況下生長，且當細胞之光學密度(在600 nm下量測)達到1時，藉由添加IPTG達到1 mM之濃度來誘導蛋白質表現。在4小時之後，藉由離心來收集細胞。在用高壓細胞均質器進行細胞溶解之後，藉由高速離心來收集含有DL22之包涵體。包涵體用50 mM Tris-HCl、100 mM NaCl、1 mM EDTA、1 mM DTT及0.5% (w/v) DOC (pH 8)洗滌，且接著用不含清潔劑之相同緩衝液再次洗滌。將經洗滌之包涵體在4°C下，在含有50 mM MBS、10 mM EDTA、1 mM DTT及8 M尿素之緩衝液中溶解隔夜。藉由離心來分離不可溶物質，且藉由在100 mM Tris-HCl、2 mM EDTA、0.5 M精胺酸、1 mM還原巯基甘氨酸及0.1 mM氧化巯基甘氨酸中稀釋至0.1 mg/ml來使可溶部分中之DL22再摺疊，其中最終pH值為8.0。在4°C下培育12小時之後，將蛋白質濃縮，且在用25 mM MBS pH 5.4及150 mM NaCl平衡的HiLoad 26/600 Superdex 75 µg管柱上藉由尺寸排阻層析來純化。接著，蛋白質在-80°C下冷凍直至再次使用。

[(0605)] 藉由將DL22蛋白質與TEV蛋白酶一起在4°C下培育隔夜來移除his標籤。在含有25 mM咪唑之PBS中稀釋蛋白質之後，經裂解之蛋

第 151 頁(發明說明書)

白質通過5 ml HisTrap™高效管柱(GE Healthcare)且在流通時收集。

實例12. 在存在11041gL13gH14 Fab及11070gL7gH16 Fab之情況下的IL22之HDX-MS

【0606】 使用氫氙交換質譜(HDX-MS)進行針對11041gL13gH14 Fab及11070gL7gH16 Fab之IL22之抗原決定基定位。

樣品製備及資料收集

【0607】 對於HDX-MS分析，製備30 μ M IL22 (如實例11中所描述製備)及30 μ M IL22與90 μ M 11041gL13gH14 Fab或11070gL7gH16 Fab之複合物且在4°C下培育1小時。在25°C下，在57 μ L含10 mM磷酸之H₂O (pH 7.0) 或含10 mM磷酸之D₂O (pD 7.0) 中稀釋4 μ l IL22、IL22/11041gL13gH14 Fab或IL22/11070gL7gH16 Fab複合物。接著，將經氙化之樣品在25°C下培育0.5、2、15及60分鐘。在反應之後，在1°C下藉由以1:1與淬滅緩衝液(4 M鹽酸胍、250 mM鹽酸參(2-羧基乙基)膦(TCEP)、100 mM磷酸)混合來淬滅所有樣品。混合溶液之最終pH值為2.5。將混合物立即注射至nanoAcquity HDX模組(Waters Corp.)中以進行胃蛋白酶消化。接著，使用酶線上消化管柱(Waters)，在含0.2%甲酸之水中，在20°C下且在100 μ L/min之流動速率下線上進行肽消化。一式三份地進行所有氙化時間點及非氙化對照，且在各資料點之間進行空白對照。

【0608】 接著，使用Acquity BEH C18 1.7 μ M VANGUARD冷凍型前管柱捕集肽片段歷時3分鐘。接著，使用以下梯度將肽溶離至經冷凍之Acquity UPLC BEH C18 1.7 μ M 1.0 \times 100中：0分鐘，5% B；6分鐘，35% B；7分鐘，40% B；8分鐘，95% B；11分鐘，5% B；12分鐘，95% B；13分鐘，5% B；14分鐘，95% B；15分鐘，5% B (A：含0.2%

HCOOH之H₂O，B：含0.2% HCOOH之乙腈)。藉由正電噴霧至Synapt G2-Si質譜儀(Waters)中來將肽片段離子化。使用MSe方法，在50-2000 Th之m/z範圍內，在僅ToF模式下進行資料收集(低碰撞能量，4 V；高碰撞能量：自18 V上升至40 V)。使用Glu-1-纖維蛋白肽B肽進行內部鎖定質量校正。

HDX-MS資料處理

【0609】 用Waters Protein Lynx Global Server 2.5.1 (PLGS)，使用來自IL22、IL22/11041gL13gH14 Fab或IL22/11070gL7gH16 Fab複合物之非氘化對照樣品之MSE資料進行序列鑑別。針對僅IL22序列之資料庫進行肽檢索，其中前驅體強度臨限值為500個計數且需要3個匹配之產物離子以進行分配。將3個對照樣品之離子核算檔案合併至輸入Dynamx v3.0軟體之肽清單中。

【0610】 肽在DynamX中經歷進一步過濾。所使用之過濾參數為：最小及最大肽序列長度分別為4及25，最小強度為1000，最小MS/MS產物為2，以每個胺基酸計之最小產物為0.2，及最大MH⁺誤差臨限值為10 ppm。使用DynamX v3.0定量在各時間點時，各肽之由氘攝取產生之同位素包膜。此外，檢驗且目視檢查所有譜圖以確保m/z峰之正確分配，且僅使用具有高訊號對雜訊比之肽進行HDX-MS分析。

【0611】 在Dynamx中人工過濾之後，使用Deuteros (<https://academic.oup.com/bioinformatics/article/35/17/3171/5288775>)進行統計分析及過濾，其使用由Houde等人，2011 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21491437>)公開之統計分析。Deuteros產生森林圖(woods plot)，其顯示肽長度、起始及末端殘基、整

體覆蓋率及y軸量度(其為絕對攝取)(道爾頓(Dalton))。其為存在配位體(結合)之情況與無輔基形式的攝取差異。森林圖首先對各時間點時的所有肽進行信賴度過濾。位於所選擇的信賴界限之外的具有不同氘化之肽為非顯著的且以淺灰色展示。顯著肽以深灰色及黑色展示。使用自製演算法過濾結果及鑑別抗原決定基。在0.5分鐘氘化培育之後呈現資料。

IL22之覆蓋圖

【0612】 在單一實驗中用11041gL13gH14 Fab及11070gL7gH16 Fab進行IL22之HDX分析。對於HDX-MS實驗，由47種肽獲得總共91.3%覆蓋率。過濾及分析之後的肽冗餘為3.48。

在存在11041gL13gH14 Fab之情況下的IL22之HDX-MS

【0613】 觀測到七種在抗體結合時展示統計顯著降低之氘併入之肽(亦即，潛在抗原決定基)，其中六種與分析一致(在圖7A中之森林圖中以黑色突出顯示)：72VRLIGEKLFGHVS84、72VRLIGEKLFGHVS85、75IGEKLFGHVS84、75IGEKLFGHVS85、76GEKLFGHVS84及80FHGVSM85。在三種肽中觀測到氘攝取之增加(亦即，潛在構形變化)：101EEVLFPQSDRF111、103VLFPQSDRFQPYM115及103VLFPQSDRFQPYMQE117。將11041gL13gH14 Fab抗原決定基投影至IL22之結構上(圖7B)。由於構形變化而在抗體結合時受保護或去保護之其他區域以深灰色突出顯示。

【0614】 總之，表示11041gL13gH14 Fab之抗原決定基區域的受保護區域為殘基72-85 (VRLIGEKLFGHVS85)。

在存在11070gL7gH16 Fab之情況下的IL22之HDX-MS

【0615】 觀測到四種在抗體結合時展示統計顯著降低之氘併入之肽

(亦即，潛在抗原決定基)，其中三種與SPEED分析一致(在圖8A中之森林圖中以黑色突出顯示)：72VRLIGEKLFHGVSM85、75IGEKLFHGVSM85及80FHGVSM85。在兩種肽中觀測到氬攝取之增加(亦即，潛在構形的變化)：43DKSNFQQPYITNRTFM58及105FPQSDRFQPYMQE117。將11070gL7gH16 Fab抗原決定基投影至IL22之結構上(圖8B)。由於構形變化而在抗體結合時受保護或去保護之其他區域以深灰色突出顯示。

【0616】總之，表示11070gL7gH16 Fab之抗原決定基區域的受保護區域為殘基72-85 (VRLIGEKLFHGVSM)。

表23. 藉由HDX-MS量測之在抗體結合時展示顯著變化的肽之清單

在存在11041gL13gH14 Fab之情況下的IL22之HDX-MS				
起始	末端	肽序列	SEQ ID NO	氬攝取
72	84	VRLIGEKLFHGV	154	受保護/抗原決定基
72	85	VRLIGEKLFHGVSM	155	受保護/抗原決定基
75	84	IGEKLFHGV	156	受保護/抗原決定基
75	85	IGEKLFHGVSM	157	受保護/抗原決定基
76	84	GEKLFHGV	158	受保護/抗原決定基
80	85	FHGVSM	159	受保護/抗原決定基
126	139	SNRLSTCHIEGDDL	160	受保護
101	111	EEVLPQSDRF	161	去保護
103	115	VLFPQSDRFQPYM	162	去保護
103	117	VLFPQSDRFQPYMQE	163	去保護
在存在11070gL7gH16 Fab之情況下的IL22之HDX-MS				
起始	末端	肽序列	SEQ ID NO	氬攝取
72	85	VRLIGEKLFHGVSM	155	受保護/抗原決定基
75	85	IGEKLFHGVSM	157	受保護/抗原決定基
80	85	FHGVSM	159	受保護/抗原決定基
126	139	SNRLSTCHIEGDDL	160	受保護
43	58	DKSNFQQPYITNRTFM	164	去保護
105	117	FPQSDRFQPYMQE	165	去保護

實例13. IL22/11041gL13gH14複合物之純化及結構分析

【0617】如實例11中所描述來純化IL22。

【0618】將裂解之IL22與11041gL13gH14 Fab混合且在用10 mM Tris pH 7.4及150 mM NaCl平衡的HiLoad® 26/600 Superdex® 75 pg管

柱(GE Healthcare)上藉由尺寸排阻層析來純化。

【0619】 將IL22/11041gH13gH14 Fab複合物濃縮至10.1 mg/ml。使用若干市售結晶篩檢器來鑑別複合物之結晶條件。此等鑑別係使用Swissci 96孔2滴MRC結晶盤(來源於Molecular Dimensions, 目錄號MD11-00-100)以沉滴形式進行。首先, 使用Microlab STAR液體處理系統(Hamilton), 向儲集器中填充篩檢器中之75 μ L各結晶條件。接著, 使用Mosquito液體處理器(TTP LabTech), 將300 nL IL22/Fab複合物及300 nL儲集器溶液分配於結晶盤之孔中。在Nextal Tubes JCSG+篩檢器(Qiagen目錄號: 130720)之條件59 (含有0.16 M六水合乙酸鈣、0.08 M二甲胂酸鈉pH 6.5、14.4% PEG8000及20%甘油)中鑑別初始結晶條件。此條件亦將稱為JCSG+59。藉由向來源於Molecular Dimensions (目錄號MDSR-37-E11)之JCSG+59中以0.01 M添加六水合氯化釷(III)(其包括於Additive Screen (Hampton Research目錄號HR2-138)中)來獲得最佳晶體。使用250 μ L儲集器體積以及一滴由2 μ L儲集器溶液與2 μ L IL22/Fab複合物之混合物組成之物質, 最佳晶體在MRC Maxi 48孔結晶盤(Swissci)中生長。將晶體轉移至4 μ L低溫保護溶液液滴中, 隨後在液氮中急驟冷凍。此溶液係藉由混合40 μ L最佳化儲集器溶液與CryoProtX™套組(Molecular Dimensions MD1-61)中所包括之10 μ L CryoMixes™ 7溶液來製備。CryoMixes™ 7含有12.5% v/v之二乙二醇、12.5% v/v之乙二醇、25% v/v之1,2-丙二醇、12.5% v/v之二甲亞砷及12.5% v/v之甘油。

【0620】 在射束線I04 (Diamond Light Source, UK)處收集繞射資料。使用XDS [Kabsch, W. Acta Cryst. D66, 125-132 (2010)]將資料編索引及整合, 接著使用AIMLESS [Evans等人, Acta Crystallogr D Biol

Crystallogr. 2013;69(Pt 7):1204-1214] 進行縮放。使用 Phenix 軟體套 [Adams 等人, Methods. 2011;55(1):94-106] 中之移相器 [McCoy 等人, J. Appl. Cryst. (2007). 40, 658-674]，藉由分子置換來解析 IL22/Fab 結構。在此程序中，使用 IL22 結構 1YKB [Xu 等人, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 2005年7月;61(Pt 7):942-50] 及 Fab 結構 5BVJ [Rondeau 等人, MAbs. 2015;7(6):1151-60] 作為分子置換模板。在後續人工模型完成及優化週期中使用 Coot [P. Emsley 等人, (2010). Acta Crystallographica. D66: 486-501] 及 phenix.refine [P.V. Afonine 等人, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 68, 352-67 (2012)]。使用 MolProbity [Williams 等人, (2018) Protein Science 27: 293-315] 分析最終模型之品質。

【0621】 在晶體不對稱單元中觀測到三種 IL22/11041gL13gH14 Fab 複合物。

【0622】 圖9A 展示 11041gL13gH14 Fab 與 IL22 之相互作用，以及相互作用界面之詳細視圖(圖9B)。使用 CCP4 軟體套 [Winn MD 等人, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 2011年4月;67(Pt 4):235-42] 中之 NCONT 測定由 Fab 分子識別之 IL22 上之抗原決定基。IL22 胺基酸編號係基於 UnitProtKB 項目 Q9GZX6。

【0623】 在與 Fab 分子之接觸距離 $< 4 \text{ \AA}$ 時，IL22 抗原決定基由以下殘基構成：Gln48、Glu77、Phe80、His81、Gly82、Val83、Ser84、Met85、Arg88、Leu169、Met172、Ser173、Arg175、Asn176 及 Ile179。

【0624】 在與 Fab 分子之接觸距離 $< 5 \text{ \AA}$ 時，IL22 抗原決定基係由以下殘基構成：Lys44、Phe47、Gln48、Ile75、Gly76、Glu77、Phe80、

His81、Gly82、Val83、Ser84、Met85、Ser86、Arg88、Leu169、Met172、Ser173、Arg175、Asn176及Ile179。

【0625】表24. 11041gL13gH14 Fab之輕鏈及其在IL22上之相應接觸件之胺基酸。以粗體表示之殘基涉及4與5 Å之間的接觸件。其他殘基具有抗體與IL22之間的 ≤ 4 Å接觸距離。使用依序編號。

輕鏈	IL22殘基
Tyr30 (CDR1)	Gln48
	Arg175
	Lys44
	Phe47
	Gln48
	Ile179
Thr31 (CDR1)	Met172
	Arg175
Asn32 (CDR1)	Arg175
	Asn176
Trp50 (CDR2)	Leu169
	Met172
	Arg175
	Asn176
	Ser173
Tyr93 (CDR3)	Asn176
	Ile179
	Arg88
Gly94 (CDR3)	Ile179
Tyr101 (CDR3)	Met85

【0626】表25. 11041gL13gH14 Fab之重鏈及其在IL22上之相應接觸件之胺基酸。以粗體表示之殘基涉及4與5 Å之間的接觸件。其他殘基具有抗體與IL22之間的 ≤ 4 Å接觸距離。使用依序編號。

重鏈	IL22殘基
Ser30 (CDR1)	Gly82
Ser31 (CDR1)	Gly82
	Phe80
	His81
Tyr32 (CDR1)	Glu77
	His81
	Glu77
Ala33 (CDR1)	Met85
Ile50 (CDR2)	Met85
Asp52 (CDR2)	Ser84
	Met85
	Val83
	Ser86

Ile53 (CDR2)	Gly82
	Val83
	Ser84
Glu54 (CDR2)	Ser84
Tyr58 (CDR2)	Met85
Arg97 (CDR3)	Glu77
Asp98 (CDR3)	Met85
	Arg88
Arg99 (CDR3)	Glu77
Phe100 (CDR3)	Glu77
	Phe80
	Arg88
	Gly76
	Glu77
Val101 (CDR3)	Glu77
	Ile75
	Gly76
	Glu77
	Phe80
	Ser173
Gly102 (CDR3)	Phe80
	Met172
	Ser173
	Asn176
Val103 (CDR3)	Asn176
Asp104 (CDR3)	Arg88
	Met85

【0627】 11041gL13gH14 Fab分子阻止IL22與IL22R1受體之相互作用，因為Fab輕鏈結合於IL22上之相同抗原決定基(圖10)。

實例14. 藉由冷凍電鏡進行之IL-22與非紮奴單抗及11070gL7gH16 Fab之複合物之結構測定

【0628】 使用Expi293細胞與N端人類Fc標籤之融合物表現IL-22。在藉由離心來清潔細胞之後，將上清液裝載至5 ml HiTrap蛋白質A管柱(Cytiva)上。在pH 2.0下，用PBS至0.1 M檸檬酸鈉之緩衝液梯度溶離蛋白質。使用TEV蛋白酶使hFc標籤裂解且藉由藉助於重力流再次通過4 ml經填充之蛋白質A樹脂來自經裂解之標籤分離IL-22。在自樹脂溶離之後，在於PBS中平衡的HiLoad 26/600 Superdex75 pg管柱(Cytiva)上進一步純化IL-22。

【0629】 將70微升11070gL7gH16 Fab (12.1 mg/ml)、153微升非紮
第 159 頁(發明說明書)

奴單抗Fab (11.5 mg/ml)及153微升IL-22 (1.36 mg/ml)混合。將55微升注射至在10 mM Hepes pH 7.4及150 mM NaCl中平衡之Superdex200 5/150管柱上。收集含有1.7 mg/ml之IL-22+11070+非紮奴單抗複合物之部分且用於製備冷凍電鏡柵格。

【0630】 在即將使用之前，將Quantifoil® R 1.2/1.3多孔碳柵格(SPT Labtech)在Pelco easyGlow™中在22 mA下輝光放電45秒。在凝膠過濾之後，在100%濕度及4°C下，在腔室中將IL22與11070gL7gH16 Fab及非紮奴單抗 Fab 一起施用於 Vitrobot Mark IV (Thermo Fisher Scientific)中之新近輝光放電之柵格歷時2秒。接著，在新的濾紙上在第7級力度下對柵格進行墨點法歷時4秒且插入液態乙烷中。在配備有Falcon 3照相機且在200 keV下操作之內部Glacios中首先針對冰厚度及粒子分佈來篩檢柵格。接著，用配備有Falcon 4且在300 keV加速電壓下操作之劍橋聯盟(Cambridge consortium)之Krios2收集資料。對於遍及42個部分分佈之 $49.36 \text{ e}^-/\text{\AA}^2$ 之最終電子通量，使用EPU軟體，在 0.67 \AA 之像素尺寸及12.2秒暴露下，在-1至-2.5 μm 之散焦範圍內，以計數模式自動收集5700個影片。用Cryosparc，2.15版本(Structura Biotechnology Inc)進行所有後續資料分析。使用Patch Motion比對影片，使用Patch CTF評估對比傳送功能參數(CTF)，且用斑點收集器初步收集粒子且產生總共5.5 M個粒子。對所收集之粒子進行2次分組達到300個像素之框尺寸且經歷第一輪2D分類，其引起選擇具有不同特徵之488,000個粒子。產生五個全始演算法模型，其中2個在IL22之醣基化位點方面彼此不同。將此兩種類別(總共240,000個粒子)合併在一起且使用黃金標準FSC 0.143準則之非均勻精化產生之解析估計值為 3.4 \AA 。

【0631】 使用UCSF嵌合體針對冷凍電鏡密度擬合兩個Fab分子及IL-22 結構 [Pettersen 等人, J. Comput. Chem. 25(13):1605-1612 (2004).]。在使用Coot [Emsley 等人, (2010) Acta Crystallographica. D66: 486-501.]進行進一步人工模型構建之後，使用Phenix [Liebschner 等人, Acta Cryst. D75, 861-877 (2019)]中之Autosharpen [Terwilliger, (2018). Acta Cryst. D74, 545-559.]進行圖之銳化，且使用Phenix中之真實空間精化[Afonine等人, Acta Cryst. D74, 531-544 (2018)]來進一步精化模型。

【0632】 使用CCP4軟體套[Winn等人, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 2011年4月;67(Pt 4):235-42]中之NCONT測定由11070及非紮奴單抗Fab分子識別之IL22上之抗原決定基。以下IL-22胺基酸編號係基於UnitProtKB項目Q9GZX6。

【0633】 在與11070gL7gH16 Fab分子之接觸距離 $<4 \text{ \AA}$ 時，IL-22抗原決定基係由以下殘基構成：Glu77、Lys78、His81、Ser84、Met85、Ser86、Arg88、Asn176、Ala177。

【0634】 在與11070gL7gH16 Fab分子之接觸距離 $<5 \text{ \AA}$ 時，IL-22抗原決定基係由以下殘基構成：Ile75、Gly76、Glu77、Lys78、Phe80、His81、Ser84、Met85、Ser86、Arg88、Leu169、Met172、Ser173、Asn176、Ala177。

【0635】 在與非紮奴單抗Fab分子之接觸距離 $<4 \text{ \AA}$ 時，IL-22抗原決定基係由以下殘基構成：Gln49、Tyr51、Phe105、Ser108、Asp109、Gln112、Pro113、Tyr114、Gln116、Glu117、Pro120、Ala123、Arg124。

【0636】 在與非紮奴單抗Fab分子之接觸距離 $<5 \text{ \AA}$ 時，IL-22抗原決定基係由以下殘基構成：Gln49、Pro50、Tyr51、Ile52、Arg55、Phe105、Pro106、Ser108、Asp109、Gln112、Pro113、Tyr114、Gln116、Glu117、Val119、Pro120、Phe121、Ala123、Arg124。

【0637】 結構分析表明，11070gL7gH16 Fab與非紮奴單抗在IL-22上具有不同的抗原決定基。又，11070gL7gH16 Fab與11041gL13gH14 Fab在IL-22上具有類似的抗原決定基(圖11A及圖1B)。與11041gL13gH14 Fab相同，11070gL7gH16 Fab藉由阻止與IL22R1受體之相互作用來阻斷IL-22信號傳導(圖12A)。相比之下，非紮奴單抗藉由阻止IL22與IL-10R2之相互作用來阻斷IL-22信號傳導(圖12B)。

實例15. 多特異性抗體-短暫質體之構築及細胞中之表現

【0638】 設計具有固定在Fab位置之抗IL22 V區(11041gL13gH14)之IL13/IL22 TrYbe抗體；將抗白蛋白V區(645gL4gH5)及IL13(1539gL8gH9)以HL定向(dsHL)重組至二硫鍵連接之scFv中且經由11胺基酸型富含甘胺酸-絲胺酸之連接子連接至相應重鏈及輕鏈恆定區之C端。

【0639】 在hCMV啟動子之控制下，將輕鏈及重鏈基因獨立地選殖至用於短暫表現之專用哺乳動物表現載體中。使用以下輕鏈及重鏈序列：

輕鏈：

g c g g t g c a g c t g a c t c a g t c a c c g t c c t c g c t t t c c g c t c c g t g g g a g a c a g a g t g a c c a t c a c c t g
t c a a g c c t c c c g a a g a t a t c t a c a c c a a c c t c g c c t g g t a c c a g c a g a a g c c c c g g a a a g g c c c c a a a g c
t g t t g a t c t a c t g g g c g t c t a c c c t c g c c t c c g g g g t g c c g t c g e g t t t l a g c g g t t c g g g a t c e g g c
a c c g a c t t c a c c c t g a c t a t t a g c a g c c t g c a g c c t g a g g a c t t c g c c a c t t a t t a c t g c c a a g c a t c
c g t c t a c g g g a a c g c c g c c g a t t c a c g g t a c a c c t t c g g c g g c g g a a c g a a a g t c g a g a t t a a g c g t a
c g g t a g c g g c c c c a t c t g t c t c a t c t t c c c g c c a t c t g a t g a g c a g t t g a a a t c t g g a a c t g c c t c t
g t t g t g t g c c t g c t g a a t a a c t t c t a t c c c a g a g a g g c c a a a g t a c a g t g g a a g g t g g a t a a c g c c t
c c a a t c g g g t a a c t c c c a g g a g a g t g t c a c a g a g c a g g a c a g c a a g g a c a g c a c c t a c a g c c t g a g c a
g c a c c c t g a c g c t g t c t a a a g c a g a c t a c g a g a a a c a a a a g t g t a c g c c t g c g a a g t c a c c c a t c a g
g g c c t g a g c t c a c c a g t a a c a a a a a g t t t t a a t a g a g g g g a g t g t a g c g g t g g c g g t g g c t c c g g t g g
t g g c g g t t c a g a g g t g c a g c t g g t g c a g t c c g g c g c c g a g g t g a a g a a g c c c g g c t c c t c c g t g a a g g
t g t c c t g c a a g g c c t c c g g t a c t c c t t c a c c t c c t a c t a c a t c c a c t g g g t g a g g c a g g c c c c c g g c
c a g t g c c t g g a g t g g a t g g g c a g g a t c g g c c c c g g c t c c g g c g a c a t c a a c t a c a a c g a g a a g t t c a a
g g g c a g g g c c a c c t t c a c c g t g g a c a a g t c c a c c t c c a c e g c c t a c a t g g a g c t g t c c t c c c t g a g g t
c c g a g g a c a c c g c c g t g t a c t a c t g c g c c a g g t t c c a c t a c g a c g g c g c c g a c t g g g g c c a g g g c a c c
c t g g t g a c c g t g t c c t c c g g a g g t g g c g g t t c t g g c g g t g g c g g t c c g g t g g c g g t g g a t c g g g a g g
t g g c g g t t c t g a c a t c c a g a t g a c c c a g t c c c c c t c c t c c c t g t c c g c t c c g t g g g c g a c a g g g t g a
c c a t c a c c t g c a a g g c c t c c c a g a a c a t c a a c g a g a a c c t g g a c t g g t a c c a g c a g a a g c c c g g c a a g
g c c c c a a g c t g c t g a t c t a c t a c a c c g a c a t c c t g c a g a c e g g c a t c c c c t c c a g g t t c t c c g g c t c
c g g t c c g g c a c c g a c t a c a c c c t g a c c a t c t c c t c c c t g c a g c c c g a g g a c t t c g c c a c c t a c t a c t
g c t a c c a g t a c t a c t c c g g t a c a c c t t c g g c t g c g g c a c c a a g c t g g a g a t c a a g c g t a c c (S/MQ
ID NO: 166)

取 錄：

g a g g t g c a g c t c g t g g a a t c c g g c g g c g g a c t g g t g c a g c c g g g c g g a t c c c t g c g g c t g t c c t g c g c
c g t g t c g g g t t t t t c c c t g t c c t c a t a c g c c a t g a t c t g g g t c a g a c a g g c a c c t g g g a a g g g t c t g g
a g t g g a t t g g c a t c a t e g a c a t e g a a g g g t e g a c c t a c t a c e g c g a g c t g g g c c a a g g g a a g g t t c a c c
a t t a g c c g g g a c a a c a g c a a g a a c a c c g t g t a c c t t c a a a t g a a c t c c c t c c g g g c c g a a g a t a c c g c
c g t g t a t t a c t g t g c t e g c g a c c e g t t c g t g g g a g t g g a c a t c t t c g a t c c c t g g g g a c a g g g a a c t t
t g g t c a c t g t e t e g a g e g c g t c c a c a a a g g g c c c a t c g g t c t t c c c c t g g c a c c c t c c t c c a a g a g c
a c c t c t g g g g g c a c a g c g g c c c t g g g c t g c c t g g t c a a g g a c t a c t t c c c c g a a c c a g t g a c g g t g t c
g t g g a a c t c a g g t g c c c t g a c c a g e g g c g t t c a c a c c t t c c c g g c t g t c c t a c a g t c t t c a g g a c t c t
a c t c c c t g a g c a g c g t g g t g a c c g t g c c c t c c a g c a g c t t g g g c a c c c a g a c c t a c a t c t g c a a c g t g
a a t c a c a a g c c c a g c a a c a c c a a g g t c g a t a a g a a a g t t g a g c c c a a a t c t t g t a g c g g t g g c g g t g g
c t c c g g t g g t g g c g g t t c a g a a g t g c a g t t g c t g g a g t c a g g t g g a g g g c t g g t g c a g c c c g g a g g a t
c g t g c g g t t g t c a t g c g c g g t g t c c g g t a t t g a t t t g t c c a a t t a c g c c a t c a a t t g g g t a c g c c a a
g c g c c a g g g a a g t g c c t t g a g t g g a t t g g c a t c a t c t g g g c g t c g g g g a c g a c c t t t t a t g c t a c t t g
g g c c a a a g g a a g a t t c a c a a t c t c c c g a g a c a a c t c g a a g a a c a c c g t g t a t c t t c a a a t g a a c t c g c
t a g g g c c g a g g a c a c g g c g g t t a c t a c t g t g c a c g g a c a g t g c c c g g g t t a t t c a a c g g c a c c t t a c
t t t g a t c t t t g g g g c c a g g g a c c c t c g t g a c t g t c t c a a g t g g a g g t g g c g g t t c t g g c g g t g g c g g
t t c c g g t g g c g g t g g a t c g g g a g g t g g c g g t t c t g a t a t t c a g a t g a c g c a a t c a c c t t c g a g c g t a t
c c g c c t c g g t g g g a g a c a g g g t g a c a a t c a c t t g t c a g t c a t c c c c c t c a g t c t g g a g c a a c t t t t t g
t c a t g g t a t c a g c a g a a g c c c g g a a a g g c t c c g a a a t t g c t g a t c t a c g a g g c a t c g a a g t t g a c g a g
c g g t g t a c c a a g c a g a t t c t c c g g t t c g g g g t c g g g a a c t g a c t t c a c c c t t a c g a t c t c a t e g c t g c
a g c c g g a g g a t t t t g c g a c c t a c t a c t g t g g g g g t g g g t a t t e g t e g a t t t c c g a c a c a a c a t t c g g g
t g c g g c a c g a a a g t g g a a a t c a a g c g t a c c (S/MQ ID NO: 167)

(0640) 使用市售ExpiCHO expifectamine短暫表現套組(Thermo Scientific)將相同比率之兩種質體轉染至CHO-S X13細胞株(UCB)中。在具有通氣帽之Corning滾瓶中，在37°C、8.0% CO2、190 rpm下培育培養

第 163 頁(發明說明書)

物。在18-22小時之後，向培養物中添加適當體積之CHO強化子及用於HiTiter方法之進料(如由製造商提供)。將培養物在32°C、8.0% CO₂、190 rpm下再培育10至12天。藉由在4°C下，在4000 rpm下離心1小時來收集上清液，接著相繼經由0.45 μm及0.2 μm過濾器進行過濾器滅菌。使用1 ml GE HiTrap Protein G管柱(GE Healthcare)及自製Fab標準物，藉由Protein G HPLC對表現效價進行定量。

實例16. 哺乳動物細胞株研究

【0641】 為了證明IL13/IL22 TrYbe之穩定表現，產生穩定表現型哺乳動物細胞株。用含有11041gL13gH14 Fab (IL22結合域)、650gH9gL8 dsscFv (IL13結合域)、645gH5gL4 dsscFv (白蛋白結合域)及可選標記物之載體轉染CHO細胞株。用於產生細胞株之載體中包括SEQ ID 61及65之序列。將細胞株選殖且評估對適合的製造方法之適用度。為了評估蛋白質之品質及數量以及確保選擇最佳細胞株，在製造分批進料生物反應器之小規模模型中評估細胞株。選擇表現足夠量的IL13/IL22 TrYbe之CHO細胞株。

實例17. IL13/IL22 TrYbe多特異性抗體之純化

【0642】 藉由原生蛋白質A捕獲步驟，接著進行製備型尺寸排阻研磨步驟來純化TrYbe蛋白質。將來自標準短暫CHO表現之澄清上清液裝載至MabSelect (GE Healthcare)管柱上，實現12分鐘接觸時間，且用結合緩衝液(200 mM甘胺酸，pH 7.4)洗滌。用0.1 M檸檬酸鈉，pH 3.2步進式溶離來溶離經結合之物質且用2 M Tris/HCl，pH 8.5中和，且藉由280 nm下之吸光度進行定量。

【0643】 使用尺寸排阻層析(SE-UPLC)測定經溶離之產物之純度狀

態。將抗體(約3 μg)裝載至BEH200, 200 \AA , 1.7 μm , 4.6 mm ID \times 300 mm管柱(Waters ACQUITY)上且用0.2 M磷酸, pH 7之等度梯度在0.35 mL/min下進行研究。藉由在280 nm下之吸光度及多通道螢光(FLR)偵測器(Waters)進行連續偵測。發現經溶離之TrYbe抗體為65%單體。

【0644】 使用Amicon Ultra-15濃縮器(10 kDa分子量截止膜)濃縮經中和之樣品且在旋出式旋轉器中在4000xg下離心。將經濃縮之樣品施用於在PBS, pH 7.4中平衡之XK26/60 Superdex200管柱(GE Healthcare)且用PBS, pH 7.4之等度梯度在2.5 ml/min下進行研究。收集各部分且用BEH200, 200 \AA , 1.7 μm , 4.6 mm ID \times 300 mm管柱(Aquity)藉由尺寸排阻層析進行分析, 且用0.2 M磷酸, pH 7之等度梯度在0.35 mL/min下進行研究, 且藉由在280 nm下之吸光度及多通道螢光(FLR)偵測器(Waters)進行偵測。將所選單體部分合併, 進行0.22 μm 無菌過濾且用Cary UV分光光度計藉由A280掃描分析最終樣品之濃度。內毒素含量小於1.0 EU/mg, 如藉由Charles River之EndoSafe[®]攜帶型測試系統及蠶變形細胞溶菌液(Limulus Amebocyte Lysate; LAL)測試筒評估。

【0645】 用BEH200, 200 \AA , 1.7 μm , 4.6 mm ID \times 300 mm管柱(Aquity)藉由尺寸排阻層析測定最終TrYbe之單體狀態, 且用0.2 M磷酸, pH 7之等度梯度在0.35 mL/min下進行研究, 且藉由在280 nm下之吸光度及多通道螢光(FLR)偵測器(Waters)進行偵測。發現最終TrYbe抗體具有小於1% HMW物質。

【0646】 對於藉由十二烷基硫酸鈉-聚丙烯醯胺凝膠電泳(SDS-PAGE)進行之分析, 藉由向約3 μg 經純化之蛋白質中添加4 \times Novex NuPAGE LDS樣品緩衝液(Life Technologies)及10 \times NuPAGE樣品還原劑

(Life Technologies)或100 mM N-乙基順丁烯二醯亞胺(Sigma-Aldrich)且加熱至100°C 保持3分鐘來製備樣品。將樣品裝載至15孔Novex 4-20% Tris-甘胺酸，1.0 mm SDS-聚丙烯醯胺凝膠(Life Technologies)上，且在Tris-甘胺酸SDS操作緩衝液(Life Technologies)中在225 V之恆定電壓下分離40分鐘。使用Novex Mark12寬範圍蛋白質(Life Technologies)作為標準。將凝膠用考馬斯快速染色劑(Coomassie Quick Stain, Generon)染色且在蒸餾水中脫色。

【0647】 對於非還原型SDS-PAGE，理論分子量(MW)為約100 kDa之TrYbe遷移約120 kDa (圖13)。當TrYbe蛋白質還原時，兩條鏈以類似於其相應理論MW，即約50 kDa之遷移率遷移。非還原性凝膠上之約45-50 kDa處之其他譜帶係歸因於一部分分子中之CH1與CK之間的天然鏈間二硫鍵(ds)結合之形成不完全，該等分子未遷移至與泳道2中之LC及HC相同的位置，因為其未完全還原。

實例18. 結合人類IL13及IL22之KiH抗體之製備及純化

【0648】 藉由標準層析方法來表現及純化含有T366W (杵突變)或L366S L368A及Y407V (白突變)之親本單株抗體(mAb)，該等方法包括蛋白質A捕獲步驟及隨後的製備型尺寸排阻層析(SEC)為了產生雙特異性，在存在50 mM β -巰基乙胺之情況下，在室溫下將親本mAb以1:1之比率混合18小時。移出高分子量物質或親本mAb，接著使用在PBS pH 7.4中平衡之S200 16/60管柱進行第二輪製備型尺寸排阻。藉由分析型HIC層析測定雙特異性百分比且藉由分析型SEC及SDS-PAGE測定純度百分比。測定所有物質之內毒素含量且視需要使用高容量內毒素移除旋轉管柱(Pierce)移除，達到<1 EU/mg之最終水準。

實例19. 質譜-IL13/IL22 TrYbe分子之序列一致性

【0649】藉由液相層析-質譜法(LC-MS)確認IL13/IL22 TrYbe之序列質量。在37°C下，用含5 mM參(2-羧基乙基)膦(TCEP)之150 mM乙酸銨將IL13/IL22 TrYbe之等分試樣(0.25 mg/mL)還原40分鐘，接著進行離心及分析。使用藉由MassLynx™操作之經連接至Waters Xevo G2 Q-ToF質譜儀之Waters ACQUITY UPLC系統獲取資料且使用OpenLynx™套裝軟體進行處理。LC條件如下：BioResolveT RP mAb聚苯，450 Å，2.7 μm管柱，保持在80°C下，流動速率為0.6毫升/分鐘。移動相緩衝液為：水/0.02%三氟乙酸(TFA)/0.08%甲酸(溶劑A)及95%乙腈/5%水/0.02%TFA/0.08%甲酸(溶劑B)。經8.80分鐘自5%至50%溶劑B來操作逆相梯度，且進行95%溶劑B洗滌及再平衡。在280 nm下獲取UV資料。MS條件如下：離子模式：ESI陽離子，解析模式，質量範圍：400-5000 m/z及用NaI進行外部校準。發現所觀測之降低之質量與各鏈之理論質量一致，亦即，輕鏈為50,427.8 Da (理論值為50,422.6 Da)且重鏈為50,627.8 Da (理論值為50,623.5 Da)。

實例20. IL13/IL22 TrYbe之熱穩定性

【0650】進行熱穩定性研究以評估調配前之儲存緩衝液，PBS pH 7.4及常用的調配緩衝液，pH 5.5中之經純化之樣品之構形穩定性。藉由基於螢光之方法(thermofluor)量測熱穩定性。

【0651】反應混合物含有5 μL 30×SYPRO™橙色蛋白質凝膠染色劑(Thermofisher scientific)，其係用測試緩衝液自5000倍濃縮物稀釋。將任一種緩衝液中之45 μL IL13/IL22 TrYbe (0.2 mg/mL)添加至染料中且混合，將10 μL此溶液一式四份地分配至384 PCR光學孔板中且用

QuantStudio即時PCR系統(Thermofisher)進行處理。將PCR系統加熱裝置設定為20°C且以1.1°C/min之速率上升至99°C。電荷耦合裝置監測各孔中之螢光變化。標繪螢光強度之增加，使用斜率之反曲點產生表觀中點溫度(T_m)。

【0652】 IL13/IL22 TrYbe在PBS pH 7.4中呈現分別歸因於dsscFv 1539 gL8gH9 (CA650 抗IL13)、dsscFv 645 gL4gH5 (抗HSA)及Fab 11041 gL13gH14 (抗IL22)之三個去摺疊轉化，即58.3°C (T_{m1})、73.7°C (T_{m2})及81.4°C (T_{m3})。(ii) 亦在調配物緩衝液，pH 5.5中發現三個轉化，即65.2°C (T_{m1})、73.2°C (T_{m2})及81.3°C (T_{m3})，且dsscFv 1539 gL8gH9 (CA650抗IL13)之熱穩定性自58.3°C上升至65.2°C，如表26中所概述。

【0653】 表26. 來自兩種不同緩衝液之中的Thermofluor分析法之熱穩定性資料

緩衝液	T _{m1} (°C)	T _{m2} (°C)	T _{m3} (°C)
PBS, pH7.4	58.3	73.7	81.4
調配緩衝液, pH 5.5	65.2	73.2	81.3

【0654】 在PBS pH 7.4中，IL13/IL22 TrYbe呈現比IgG4分子(約65°C；Ref 1)略微更低的第一去摺疊過渡，然而，與IgG4分子不同，此過渡在酸性較高之緩衝液中穩定。

實例21. IL13/IL22 TrYbe分子之實驗pI (等電點)

【0655】 使用完全毛細管成像之cIEF ICE3系統(ProteinSimple)獲得IL13/IL22 TrYbe之實驗pI (等電點)。藉由混合30 µl樣品(來自於HPLC級水中之1 mg/ml儲備液)、35 µl 1%甲基纖維素溶液(Protein Simple)、4 µl pH 3-10之兩性電解質(Pharmalyte)、0.5 µl 4.65及0.5 µl 9.77 合成pI標記物(ProteinSimple)、12.5 µl 8 M尿素溶液(Sigma-Aldrich)來製備樣

品。使用HPLC級水將最終體積補足至100 μ l。將混合物簡單渦旋以確保完全混合且在分析之前以10,000 rpm離心3分鐘以移除氣泡。將樣品在1.5 kV下聚焦1 min，隨後在3 kV下5 min，且使用ProteinSimple軟體獲取毛細管之A280影像。經校準的電泳圖隨後使用Empower軟體(Waters)整合。

【0656】 觀測到兩個峰；酸性峰pI 8.77及主要物質pI 8.96。此與理論值為8.9 (非還原性)一致。高pI可實現良好可製造性以及在常用調配緩衝液(pH 5-6)中之低聚集傾向。

【0657】 表27. 藉由cIEF測定pI

峰	pI	%
1- 酸性	8.77	32.8
2- 主要物質	8.96	67.2

實例22. IL13/IL22 TrYbe分子之疏水性相互作用層析(HIC)

【0658】 使用連接至Agilent HP1260 HPLC及線上螢光偵測器之Dionex ProPac HIC-10管柱100 mm \times 4.6 mm (ThermoFisher scientific)量測表觀疏水性。移動相為0.8 M硫酸銨、50 mM磷酸pH 7.4 (緩衝液A)及50 mM磷酸pH 7.4 (緩衝液B)。將IL13/IL22 TrYbe (10 μ g (10 μ L))注射至管柱上；接著在0% B下保持5分鐘，在0.8毫升/分鐘之流動速率下，使用經45分鐘自0至100% B之線性梯度溶離蛋白質。使用280 nm下之激勵及340 nm下之發射，藉由內源螢光監測分離。

【0659】 表28. IL13/IL22 TrYbe之HIC資料

	滯留時間(min)	主要峰AUC (%)
IL13/IL22 TrYbe	9.6	100

【0660】 如藉由此分析法測定，IL13/IL22 TrYbe呈現低表觀疏水性；亦即，滯留時間<10分鐘。

實例23. 聚乙二醇(PEG)沈澱分析法

【0661】 進行PEG沈澱分析法以評估在PBS pH 7.4及常用調配緩衝液pH 5.5中之高濃度溶解性。藉由提高PEG之濃度(w/v)且量測在溶液中剩餘之蛋白質量，使用PEG以數量上可定義之方式降低蛋白質溶解度。此分析法用於在不使用習知濃度方法之情況下模擬高濃度之效果。

【0662】 在PBS pH 7.4或調配緩衝液pH 5.5中製備40% PEG 3350儲備溶液(W/V)。藉由Viaflo輔助加液體搬運機器人(Integra)進行連續滴定，產生40%至15.4% PEG 3350之PEG 3350範圍。為了將非平衡沈澱降至最少，樣品製劑由以1:1體積比混合之蛋白質及PEG溶液組成。藉由液體搬運機器人將35 μ L PEG 3350儲備溶液添加至96孔v形底部PCR盤(A1至H1)中。將35 μ L 2 mg/mL之樣品溶液(除非另有說明)添加至PEG儲備溶液中，產生1 mg/mL之測試濃度。藉由自動緩慢重複移液來混合此溶液。在混合之後，將樣品盤密封且在37°C下培育0.5小時，以再溶解任何非平衡聚集體。接著，在20°C下培育樣品24小時。接著，將樣品盤在20°C下以4000 \times g離心1小時。將50 μ L上清液分配至UV-Star®，半區域，96孔， μ Clear®微板中。使用FLUOstar Omega®多重偵測微板讀取器(BMG LABTECH)，在280 nm下藉由UV分光光度法測定蛋白質濃度。使用Graphpad prism針對PEG百分比標繪所得值，且自S形劑量反應(可變斜率)擬合之中點衍生PEG中點(PEGmdpnt)評分。

【0663】 IL13/IL22 TrYbe在PBS pH 7.4中呈現高PEGmdpnt且因此預期展示低聚集傾向。與在PBS pH 7.4中測試之樣品相比，IL13/IL22 TrYbe在調配緩衝液pH 5.5中呈現明顯增加之PEGmdpnt，且因此預期將在典型調配緩衝液中展示高濃度穩定性。

【0664】 表29. PBS及調配緩衝液pH 5.5中之樣品之PEG中點資料

緩衝液	PEG中點(%)
PBS pH 7.4	12.4
調配緩衝液，pH 5.5	17.6*

第 170 頁(發明說明書)

*樣品在PEG 3350之最高測試濃度下未達到基線。所產生之PEG_{mdpnt}不準確，但反映此樣品在調配緩衝液，pH 5.5中之低聚集傾向。

實例24. IL13/IL22 TrYbe上之空氣-液體界面處之應力之作用(攪拌分析法)

【0665】 蛋白質在暴露於空氣-液體界面時傾向於去摺疊，其中向疏水性環境(空氣)呈現疏水性表面且向親水性環境(水)呈現親水性表面。攪拌蛋白質溶液可實現可驅動聚集之大型空氣-液體界面。此分析法用於模擬分子將在製造(例如，超濾)及可能的運輸期間經歷之應力。

【0666】 使用Eppendorf Thermomixer Comfort™藉由渦旋對PBS pH 7.4 (典型儲存緩衝液)及調配緩衝液pH 5.5±Tween80 (典型調配緩衝液)中之IL13/IL22 TrYbe樣品施加應力。使用7 mL Zeba™脫鹽管柱(ThermoFisher)將樣品之緩衝液更換成相應緩衝液，且使用適當的消光係數(1.72 Ab 280 nm，1 mg/mL，1 cm路徑長度)將濃度調節至1 mg/mL。使用Varian Cary® 50-Bio分光光度計獲得在280 nm及595 nm下之吸光度以建立時間零讀數。將各緩衝液中之樣品次等分至1.5 mL錐形Eppendorf®型加蓋試管(4×250 µL)中且在25°C下，在1400 rpm下經歷渦旋。使用Varian Cary® 50-Bio分光光度計，藉由樣品在24小時在595 nm下之量測值來監測時間依賴性聚集(渾濁度)。計算一式三份讀數之平均值及SD且概述於表30中。

【0667】 表30. PBS，pH 7.4及調配緩衝液，pH 5.5+/-0.03% Tween 80中之IL13/IL22 TrYbe之平均渾濁度量測值

緩衝液	595 nm下之OD
PBS pH 7.4	0.66±0.19
調配緩衝液，pH 5.5	0.0085±0
調配緩衝液，pH 5.5 + 0.03% Tween80	0.0007±0

【0668】 在PBS，pH 7.4中獲得最高聚集傾向。當樣品在調配緩衝液，pH 5.5±Tween 80中經歷渦旋時，觀測到極少的聚集(如由595 nm下之OD判定)。預期典型調配緩衝液中之樣品將在長期儲存及運輸期間保持穩定，該典型調配緩衝液為調配緩衝液，pH 5.5+/-0.03% Tween 80。

實例25. 去醯胺化及Asp異構化應力研究

【0669】 設置應力研究以測定兩種所鑑別之序列可靠性之去醯胺化/Asp異構化傾向：Asn (95) Ala (去醯胺化)及Asp (98) Ser，其皆位於IL13/IL22 TrYbe之抗IL22域之輕鏈CDR3中。無法預測去醯胺化/Asp異構化之傾向/速率，因為其取決於線形序列及3D結構以及溶液特性。

【0670】 亦獲得基礎去醯胺化/Asp異構化水準，低水準指示低敏感性，但可由於不同製造批次/條件而變化。

【0671】 將IL13/IL22 TrYbe之緩衝液更換成滿足以下條件之緩衝液：(i)已知促進Asn(N)殘基之去醯胺化(Tris，pH 8)，及(ii)已知促進Asp(D)異構化(乙酸酯，pH 5)。將最終濃度調節至約5 mg/mL且接著拆分成兩個等分試樣，其中一份在4°C下且一份在37°C下儲存至多4週。立即(T0，無應力對照物)且在第2週及第4週移出等分試樣且在-20°C下儲存。

質譜/肽定位

【0672】 以如下方式，藉由液相層析質譜(LCMS)/肽定位針對化學修飾來分析第2週樣品。將應力樣品及無應力樣品(16 µL，5 mg/mL)與2 µL二硫蘇糖醇(DTT；500 mM)及60 µl 8 M鹽酸胍一起在37°C下培育40分鐘，且接著在室溫下再用6 µL碘乙醯胺(IAM；500 mM)封端歷時30分鐘。接著，將樣品之緩衝液更換成消化緩衝液(7.5 mM Tris鹽酸鹽/1.5 mM氯化鈣，pH 7.9)且立即添加至胰蛋白酶中且在37°C下培育3小時。使用5 µL體積之1% TFA (三氟乙酸)淬滅消化物，接著藉由LCMS進行分

析。此係使用Waters C18 BEH 2.1 mm×150 mm，1.7 μm管柱在Thermo Q Exactive Orbitrap上進行。移動相A為含0.1%甲酸之水，移動相B為含0.1%甲酸之乙腈。

【0673】質譜及肽定位之結果表明，輕鏈CDR3中之Asn(95)之基礎去醯胺化為約10%，且在pH 8及37°C下保持2週之後增加至>40% (40-60%，來源於不同資料分析方法)。

【0674】在任何緩衝液條件下皆不存在無應力(基礎)或應力樣品中之D(98)Ser處的Asp之化學修飾之證據。

【0675】天冬胺酸之異構化通常引起經修飾之肽比相應的未經修飾之序列更早地溶離。未觀測到含有Asp(98)Ser模體之胰蛋白酶肽(跨越輕鏈之62-100之殘基)之溶離概況之變化，表明未形成isoAsp或其與未經修飾之肽共同溶離且因此未在此位點偵測到。

【0676】證實輕鏈CDR上之去醯胺化模體Asn(95)Ala之化學修飾之傾向較高，但可藉由小心監測以及避免長期暴露於高pH值及在低pH值緩衝液(<pH 5-6)中調配來控制。未觀測到輕鏈CDR上之Asp(98)Ser模體處之Asp異構化。

表面電漿子共振(SPR)分析

【0677】評估輕鏈CDR3中之Asn(95)Ala模體之化學修飾(去醯胺化)對針對IL22之親和力之作用。IL13/IL22 TrYbe之結合動力學及親和力未變化。因此，化學修飾對此分子之功效無影響。

【0678】表31. T0及第2週樣品，pH 8.0 (2週/37°C)之結合動力學； $KD=kd/ka$

條件	ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (pM)
T0	1.20E+06	3.10E-05	26
2週/37°C	1.10E+06	3.20E-05	30

第 173 頁(發明說明書)

實例26. 藉由IL13/IL22 TrYbe進行之IL22R1交叉阻斷實驗

【0679】 用Biacore T200 (GE Healthcare)進行交叉阻斷分析法以測定IL13/IL22 TrYbe與IL-22之結合是否阻止IL-22R1之結合。

【0680】 藉由用EDC/NHS之混合物(GE Healthcare)之7分鐘注射(10 μ L/min)，接著人類-Fab 特異性山羊 Fab'2 (Jackson Immuno Research)之7分鐘注射(50 μ g/ml，於乙酸酯緩衝液，pH 5.0 (GE Healthcare)中)進行活化，達到約5500 RU之固定水準來製備CM5感測器晶片。最終，進行1 M乙醇胺鹽酸鹽-NaOH，pH 8.5之7分鐘注射(10 μ L/min)以將表面去活化。如上文所述來製備參考表面，省略人類-Fc特異性捕獲抗體。

【0681】 在HBS-EP+緩衝液(GE Healthcare)中，在25 $^{\circ}$ C下進行交叉阻斷。各分析循環涉及在晶片表面上捕獲IL13/IL22 TrYbe，接著以50 nM濃度歷時300秒注射人類IL-22且最終以50 nM歷時300秒注射IL-22R1。在減去緩衝液空白及未進行捕獲之對照樣品之後計算結合反應。IL-22R1之陽性反應將指示IL13/IL22 TrYbe在與IL-22R1不同之抗原決定基上結合於IL-22。不存在針對IL-22R1之反應將指示IL-22上之IL13/IL22 TrYbe之結合位點與IL-22R1結合位點重疊。在各循環之後，藉由以下注射來再生表面：60秒50 mM HCl，60秒5 mM NaOH及60秒HCl，皆為10 μ L/min。

【0682】 如下表中所示，當在所捕獲之IL13/IL22 TrYbe上注射人類IL-22時觀測到明顯的結合反應，但在IL-22R1注射時未發現反應。此表明IL13/IL22 TrYbe及IL-22R1具有重疊的結合位點。

【0683】 表32. 在不存在及存在IL13/IL22 TrYbe抗體之情況下，

IL22及IL22R1之結合反應

捕獲物	捕獲水準(RU)	人類IL-22濃度	人類IL-22結合(RU)	人類IL-22R1濃度	人類IL-22R1結合(RU)
緩衝液	0.0	50 nM	1.9	50 nM	-0.1
IL13/IL22 TrYbe	301.1	0 nM	1.3	0 nM	0.6
IL13/IL22 TrYbe	298.1	50 nM	54.0	0 nM	0.2
IL13/IL22 TrYbe	297.2	0 nM	1.2	50 nM	0.5
IL13/IL22 TrYbe	296.4	50 nM	53.5	50 nM	0.2

實例27. IL13/IL22 TrYbe之抗原目標之Biacore親和力及同時結合

【0684】 根據下文所描述的方法測試IL13/IL22 TrYbe針對人類、食蟹獼猴及小鼠IL22、IL13及白蛋白之親和力：

【0685】 分析法形式為藉由經固定之抗人類IgG-F(ab')₂捕獲IL13/IL22 TrYbe，接著在所捕獲之表面上滴定人類IL22、IL13及白蛋白。使用T200 (GE Healthcare)進行BIA (生物分子相互作用分析)。經由胺偶合化學方法將特異性親和純化IgG-F(ab')₂片段，即山羊抗人類IgG-F(ab')₂片段(Jackson ImmunoResearch)固定在CM5感測器晶片上達到約5000個反應單位(RU)之捕獲水準。使用HBS-EP+緩衝液(10 mM HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.05% 界面活性劑P20，GE Healthcare)作為操作緩衝液，其流動速率為10 μL/min。使用10 μL IL13/IL22 TrYbe之注射劑(0.5 μg/mL)進行由經固定之抗人類IgG-F(ab')₂進行之捕獲。在30 μL/min之流動速率下，在所捕獲之IL13/IL22 TrYbe上在各種濃度下(對於IL22、IL13及白蛋白分別為10 nM至0.3125 nM、10 nM至0.3125 nM及100 nM至3 nM)滴定人類、食蟹獼猴或小鼠IL22、IL13及白蛋白。

【0686】 藉由以10 μL/min之流動速率進行50 mM HCl之2×10 μL注射，其間穿插5 mM NaOH之10 μL注射來產生表面。使用T200評估軟體(3.0版)根據標準程序分析減去背景之結合曲線。由擬合演算法測定動力

學參數。結果展示於表33中。結合於人類IL-22之具有11070 gL7gH16 IL22域之TrYbe分子之親和力結果概述於表34中。

【0687】 表33. IL13/IL22 TrYbe分子對IL13、IL22及白蛋白之結合親和力

樣品	平均KD
人類IL-22	小於100 pM
人類IL-13	小於100 pM
人類白蛋白	1至3 nM
食蟹獼猴IL-22	小於100 pM
食蟹獼猴IL-13	小於250 pM
食蟹獼猴白蛋白	1至3 nM
小鼠IL-22	14至25 nM
小鼠IL-13	未結合
小鼠白蛋白	5至6 nM

【0688】 表34. 結合於人類IL22之具有11070 gL7gH16 IL22域之TrYbe分子之結合親和力

樣品	平均KD
人類IL-22	小於100 pM

【0689】 使用Biacore T200 (GE Healthcare)藉由SPR評估IL22、IL13及白蛋白與IL13/IL22 TrYbe之同時結合。藉由經固定之抗人類IgG-F(ab')₂將IL13/IL22 TrYbe構築體捕獲至感測器晶片，接著在所捕獲之IL13/IL22 TrYbe上注射單獨的人類或食蟹獼猴IL22 (10 nM)、IL13 (10 nM)及白蛋白(100 nM)或最終濃度為10 nM IL22、10 nM IL13及100 nM白蛋白之混合溶液。

【0690】 對於人類及食蟹獼猴分析物，經組合之IL22、IL13及白蛋白溶液之結合反應等效於單獨注射劑之反應之總和，如表35及表36中所示。此證實IL13/IL22 TrYbe能夠同時結合於人類或食蟹獼猴IL22、IL13及白蛋白。

【0691】 表35. IL13/IL22 TrYbe與人類IL22、IL13及白蛋白之同

時結合(實驗I)

分析物	結合，n=1 (RU)	結合，n=2 (RU)	結合，n=3 (RU)	平均值(%)
人類IL13	10.0	10.3	10.7	
人類IL22	20.1	16.5	18.8	
人類白蛋白	45.0	33.8	47.7	
IL13 + IL22 + 白蛋白混合物	74.9	61.5	81.4	
個別結合反應之總和	75.1	60.6	77.2	
呈個別結合反應之百分比形式之 混合物之結合(%)	99.7	101.5	105.4	102.2

【0692】表36. IL13/IL22 TrYbe與食蟹獼猴IL22、IL13及白蛋白

之同時結合(實驗II)

分析物	結合，n=1 (RU)	結合，n=2 (RU)	結合，n=3 (RU)	平均值(%)
人類IL13	15.0	14.9	16.1	
人類IL22	14.5	15.7	18.5	
人類白蛋白	37.2	38.4	41.9	
IL13 + IL22 + 白蛋白混合物	65.0	65.8	72.3	
個別結合反應之總和	66.7	69.0	76.5	
呈個別結合反應之百分比形 式之混合物之結合(%)	97.5	95.4	94.5	95.8

實例28. 初生人類角質細胞分析法中之IL13/IL22 TrYbe及IL13/IL22 KiH分子

【0693】在活體外細胞分析法中針對人類IL13 (R&D Systems，目錄號213-ILB-025)及IL22 (自製蛋白質)之活性測試IL13/IL22 TrYbe多特異性抗體及雙特異性IL13/IL22 柁-白(KiH)。合乎道德地自供體獲得來自包皮之初生人類新生兒表皮角質細胞(NHEK)(Promocell，目錄號C-12001)，在培養物中擴增且用於分析法中。NHEK細胞藉由分泌可在細胞上清液中偵測之可溶性分子來對IL13刺激及IL22刺激起反應。IL13刺激引起伊紅趨素-3增加(CCL-26，圖14A)且IL22刺激引起S100A7增加(牛皮癬素，圖14B)。在分析法中使用此等生物標記物以評估IL13/IL22 TrYbe活性。

【0694】在預塗有細胞外基質(TheromoFisher，目錄號R011K)之

第 177 頁(發明說明書)

48孔盤(Corning, 經Costar® Clear TC處理之盤, 目錄號3548)中, 將來自三個供體之第2代或第3代NHEK細胞以 1×10^4 個細胞/孔塗佈於含有角質細胞生長套組(LGC, 目錄號ATCC-PCS-200-040)之真皮基礎培養基(LGC, 目錄號ATCC-PCS-200-030)中。在標準條件(37°C , 5% CO_2 , 100%濕度)下培養角質細胞直至其達到匯合。在第3天, 自所有孔抽吸出生長培養基且用200 μl 基礎真皮培養基洗滌細胞以移除任何死細胞及生長因子。將IL13/IL22 TrYbe以100至0.01 nM (10000-1 ng/ml, 批號PB7916及PB8056)之濃度與100 ng/ml之IL13及IL22一起在真皮基礎培養基中, 在 37°C 下預培育30分鐘。將呈KiH型式之IL13/IL22雙特異性分子, 即IL13/22 (IL13 H/IL 22 K)及IL22/IL13 (IL13 K/IL 22 H)以100至0.01 nM (15000-1.5 ng/ml)之濃度與100 ng/ml之IL13及IL22一起在真皮基礎培養基中, 在 37°C 下預培育30分鐘。亦將100 nM(15000 ng/ml)非紮奴單抗(抗IL22抗體, 自製, 批號BSN.9787.hIgG4.801)及雷布瑞奇單抗(Lebrikizumab)(抗IL13抗體, 自製, 批號BSN.9874.hIgG4.983)與100 ng/ml之IL13及IL22一起在真皮基礎培養基中, 在 37°C 下預培育30分鐘。在預培育之後, 將抗體/細胞介素溶液轉移至細胞中。在刺激48小時之後, 收集上清液且使用MSD (Meso Scale Diagnostics, 目錄號K15067L-2)量測伊紅趨素-3之水準且使用ELISA (LSBio, 目錄號LS-F50031)量測S100A7之水準。

【0695】 在IL13及IL13/IL22刺激後量測到伊紅趨素-3之增加(圖14A)。單獨的IL-22刺激未誘導伊紅趨素-3分泌。單獨的100 nM雷布瑞奇單抗展示由IL13/IL22刺激誘導之伊紅趨素-3分泌之完全抑制, 而單獨的100 nM非紮奴單抗未完全抑制伊紅趨素-3水準(圖14A)。此證實此分析法

中之伊紅趨素-3分泌僅依賴於IL-13刺激。25 nM IL13/IL22 TrYbe抗體展示伊紅趨素-3之完全抑制(圖14A)。IL13/IL22 TrYbe亦展示伊紅趨素-3之濃度依賴性抑制，表明IL13/IL22 TrYbe之抗IL13臂中和IL13活性(圖15A)。呈IL13/22及IL22/IL13型式之KiH分子亦展示伊紅趨素-3之濃度依賴性抑制(圖15B)，其功效與IL13/IL22 TrYbe類似。

【0696】 在IL22及IL13/22刺激後量測到S100A7之增加(圖14B)。單獨的IL-13刺激未誘導S100A7分泌。單獨的100 nM非紮奴單抗完全抑制由IL13/IL22誘導之S100A7分泌。單獨的100 nM雷布瑞奇單抗未抑制S100A7 (圖14B)。25 nM IL13/IL22 TrYbe展示IL13/IL22誘導之S100A7分泌之成功抑制(圖14B)。IL13/IL22 TrYbe展示S100A7之濃度依賴性抑制，表明IL13/IL22 TrYbe之抗IL22臂中和IL22活性(圖15A)。呈IL13K/22H及IL22K/IL13H型式之IL13/IL22雙特異性KiH展示S100A7之濃度依賴性抑制(圖15B)，其功效等效於IL13/IL22 TrYbe。

【0697】 總之，在人類初生角質細胞分析法中測試之IL13/IL22 TrYbe及IL13/IL22 KiH雙特異性型式皆展示IL13及IL22活性之同時及濃度依賴性抑制。結果概述於圖14及圖15中。

實例29. IL13/IL22 TrYbe之COLO205 IL-10釋放分析法

【0698】 在活體外細胞分析法中測試抗體針對人類IL22之活性。COLO205細胞株為人類大腸直腸癌上皮細胞株。IL22結合於細胞表面上之IL22R1及IL-10R2以誘導STAT3磷酸化及下游細胞介素釋放(例如，IL-10)。在此分析法中，在存在或不存在抗IL22抗體之情況下用IL22刺激COLO205細胞。接著，使用均質時差式FRET (HTRF)套組(Cisbio)在細胞培養物上清液中量測所得IL-10反應。

【0699】 在經組織培養物處理之平底96孔盤中以25000個細胞/孔接種COLO205細胞。將人類IL22 (最終分析法濃度30 pM)與抗體(最終分析法濃度3 nM-1.4 pM)一起在37°C下預培育一小時。接著，將抗體/細胞介素複合物轉移至COLO205細胞中且在37°C，5% CO₂下培育48小時。接著，收集不含細胞之細胞培養物上清液且在-80°C下儲存。將細胞培養物上清液在冰上解凍且藉由HTRF測定IL-10之含量。在每次重複進行分析法時一式兩份地操作所有樣品。

【0700】 結果證實在COLO205 IL-10釋放分析法中，IL13/IL22 TrYbe 抑制IL22誘導之COLO205細胞之IL-10反應。測試IL13/IL22 TrYbe之兩種純化物：PB8056及PB7916。PB8056之IC₅₀為36.6 pM且PB7916之IC₅₀為34.0 pM，如藉由4次分析法之幾何平均值所測定(表37)。認為此等量測結果係可靠的，因為在各情況下，發現在每次重複進行分析法時所量測之IC₅₀之範圍之變化小於三倍。

【0701】 表37. COLO205 IL-10釋放分析法中之IL13/IL22 TrYbe

	IC ₅₀ (M)		最大抑制百分比		希爾斜率(Hill Slope)	
	幾何平均值	範圍	算術平均值	範圍	幾何平均值	範圍
IL13/IL22 TrYbe PB8056 (N=4)	3.66e-11	3.42e-11 4.15e-11	100.4	99.2 101.2	1.270	1.184 1.409
IL13/IL22 TrYbe PB7916 (N=4)	3.40e-11	2.44e-11 4.60e-11	100.0	99.4 100.6	1.377	1.294 1.504

實例30. 雙特異性KiH之COLO205 IL-10釋放分析法

【0702】 在活體外細胞分析法中測試杵-白型雙特異性抗體針對人類IL22之活性。COLO205細胞株為人類大腸直腸癌上皮細胞株。IL22結合於細胞表面上之IL22R1及IL-10R2以誘導STAT3磷酸化及下游細胞介素釋放(例如，IL-10)。在此分析法中，在存在或不存在抗IL22抗體之情況下用IL22刺激COLO205細胞。接著，使用均質時差式FRET (HTRF)套組

(Cisbio)在細胞培養物上清液中量測所得IL-10反應。

【0703】 在經組織培養物處理之平底96孔盤中以25000個細胞/孔接種COLO205細胞。將人類IL22 (最終分析法濃度30 pM)與抗體(最終分析法濃度3 nM-1.4 pM)一起在37°C下預培育一小時。接著，將抗體/細胞介素複合物轉移至COLO205細胞中且在37°C，5% CO₂下培育48小時。接著，收集不含細胞之細胞培養物上清液且在-80°C下儲存。將細胞培養物上清液在冰上解凍且藉由HTRF測定IL-10之含量。一式兩份地操作樣品。

【0704】 針對各KiH分子測試2批純化物：IL13K/IL22H (PB8920及PB8841)及IL13H/IL22K (PB8842及PB8919)。

雙特異性杵-白型PB8919結果

【0705】 杵-白型雙特異性PB8919在杵臂上具有抗IL22且在白臂上具有抗IL13。結果證實在COLO205 IL-10釋放分析法中，PB8919抑制IL22誘導之COLO205細胞之IL-10反應。PB8919之IC₅₀為57.3 pM，如藉由2次分析法之幾何平均值所測定(表38)。認為此等量測結果係可靠的，因為在各情況下，發現在每次重複進行分析法時所量測之IC₅₀之範圍之變化小於三倍。

【0706】 表38. COLO205 IL-10釋放分析法中之PB8919

	IC ₅₀ (M)		最大抑制百分比		希爾斜率	
	幾何平均值	範圍	算術平均值	範圍	幾何平均值	範圍
PB8919 (N=2)	5.73E-11	5.35E-11 6.14E-11	101.0	98.2 103.8	1.509	1.199 1.900

雙特異性杵-白型PB8920結果

【0707】 雙特異性杵-白型PB8920在杵臂上具有抗IL13且在白臂上具有抗IL22。結果證實在COLO205 IL-10釋放分析法中，PB8920抑制IL22誘導之COLO205細胞之IL-10反應。PB8920之IC₅₀為63.8 pM，如藉

由2次分析法之幾何平均值所測定(表39)。認為此等量測結果係可靠的，因為在各情況下，發現在每次重複進行分析法時所量測之IC50之範圍之變化小於三倍。

【0708】 表39. COLO205 IL-10釋放分析法中之PB8920

	IC ₅₀ (M)		最大抑制百分比		希爾斜率	
	幾何平均值	範圍	算術平均值	範圍	幾何平均值	範圍
PB8920 (N=2)	6.38E-11	5.85E-11 6.95E-11	101.8	100.9 102.6	1.330	1.321 1.339

雙特異性杵-白型PB8841結果

【0709】 雙特異性杵-白型PB8841在杵臂上具有抗IL13且在白臂上具有抗IL22。結果證實在COLO205 IL-10釋放分析法中，PB8841抑制IL22誘導之COLO205細胞之IL-10反應。PB8841之IC50為65.9 pM，如藉由2次分析法之幾何平均值所測定(表40)。認為此等量測結果係可靠的，因為在各情況下，發現在每次重複進行分析法時所量測之IC50之範圍之變化小於三倍。

【0710】 表40. COLO205 IL-10釋放分析法中之PB8841

	IC ₅₀ (M)		最大抑制百分比		希爾斜率	
	幾何平均值	範圍	算術平均值	範圍	幾何平均值	範圍
PB8841 (N=2)	6.59E-11	6.40E-11 6.79E-11	99.8	97.4 102.2	1.593	1.371 1.851

雙特異性杵-白型PB8842結果

【0711】 杵-白型雙特異性PB8842在杵臂上具有抗IL22且在白臂上具有抗IL13。結果證實在COLO205 IL-10釋放分析法中，PB8842抑制IL22誘導之COLO205細胞之IL-10反應。PB8842之IC50為71.3 pM，如藉由2次分析法之幾何平均值所測定(表41)。認為此等量測結果係可靠的，因為在各情況下，發現在每次重複進行分析法時所量測之IC50之範圍之變化小於三倍。

【0712】 表41. COLO205 IL-10釋放分析法中之PB8842

	IC ₅₀ (M)		最大抑制百分比		希爾斜率	
	幾何平均值	範圍	算術平均值	範圍	幾何平均值	範圍
PB8842 (N=2)	7.13E-11	6.89E-11 7.37E-11	96.6	93.7 99.5	1.859	1.734 1.994

實例30. STAT-6報導子分析法

【0713】 在活體外細胞分析法中測試雙特異性柁-白型抗體 IL13K/IL22H及IL13H/IL22K (各2批蛋白質純化物)針對人類IL13反應之活性，該反應係藉由用自外部添加之人類IL13刺激HEK-Blue™ IL-4/IL13細胞來產生。

【0714】 HEK-Blue™ IL-4/IL13細胞允許藉由監測由IL-4/IL13誘導之STAT-6路徑之活化來偵測生物活性IL-4/IL13。此等細胞係藉由用人類STAT6基因及STAT6可誘導之SEAP (分泌型胚胎鹼性磷酸酶)報導基因穩定轉染HEK293細胞而產生。使用QUANTI-Blue™ (InvivoGen)偵測培養基量測所分泌之SEAP。

【0715】 在經組織培養物處理之平底96孔盤中，以5.0E+05個細胞/孔之細胞密度接種HEK-Blue™ IL-4/IL13細胞且在37°C，5% CO₂下培育24小時。

【0716】 將人類IL13 (最終分析法濃度20 pM)與抗體(最終分析法濃度1 nM-0.05 pM)一起在37°C下預培育一小時。接著，將抗體/細胞介素複合物轉移至HEK-Blue™ IL-4/IL13細胞中且在37°C，5% CO₂下再培育24小時。接著，在經組織培養物處理之平底96孔盤中收集不含細胞之細胞培養物上清液且添加QUANTI-Blue™ (InvivoGen)，且使用BioTek® Synergy™讀取器及Gen5™軟體藉由讀取在630 nm吸光度設置下之光學密度來測定SEAP釋放水準。

【0717】 針對各KiH分子測試2批經純化之蛋白質：IL13K/IL22H

(PB8920及PB8841)及IL13H/IL22K (PB8842及PB8919)。

雙特異性PB8920 IL13K/IL22H結果

【0718】 結果證實在STAT-6報導子分析法中，在杵臂上具有抗IL13且在臼臂上具有抗IL22之雙特異性杵-臼型IL13K/IL22H型式抑制HEK-Blue™ IL-4/IL13細胞之IL13反應，所產生之IC50為2.9 pM，如藉由2次分析法之幾何平均值所測定(表42)。認為此等量測結果係可靠的，因為在各情況下，發現在每次重複進行分析法時所量測之IC50之範圍之變化小於三倍。

【0719】 表 42. STAT-6 報導子分析法中之雙特異性 PB8920

IL13K/IL22H

	IC ₅₀ (pM) N=2		最大抑制百分比		希爾斜率	
	幾何平均值	串聯IC ₅₀ 值	算術平均值	範圍	幾何平均值	範圍
雙特異性 KiH	2.9	2.1-4.0	107.6	106.3- 109.0	1.8	1.6-2.1

雙特異性PB8841 IL13K/IL22H結果

【0720】 結果證實在STAT-6報導子分析法中，在杵臂上具有抗IL13且在臼臂上具有抗IL22之雙特異性杵-臼型IL13K/IL22H型式抑制HEK-Blue™ IL-4/IL13細胞之IL13反應，所產生之IC50為3.4 pM，如藉由2次分析法之幾何平均值所測定(表48)。認為此等量測結果係可靠的，因為在各情況下，發現在每次重複進行分析法時所量測之IC50之範圍之變化小於三倍。

【0721】 表 43. STAT-6 報導子分析法中之雙特異性 PB8841

IL13K/IL22H

	IC ₅₀ (pM) N=2		最大抑制百分比		希爾斜率	
	幾何平均值	串聯IC ₅₀ 值	算術平均值	範圍	幾何平均值	範圍
雙特異性 KiH	3.4	1.9-6.1	107.9	106.4- 109.4	1.6	1.5-1.8

雙特異性PB8842 IL13H/IL22K結果

第 184 頁(發明說明書)

【0722】 雙特異性IL13H/IL22K在杵臂具有抗IL22且在臼臂上具有抗IL13。結果證實在STAT-6報導子分析法中，IL13H/IL22K抑制HEK-Blue™ IL-4/IL13細胞之IL13反應，所產生之IC50為4.9 pM，如藉由2次分析法之幾何平均值所測定(表44)。認為此等量測結果係可靠的，因為在各情況下，發現在每次重複進行分析法時所量測之IC50之範圍之變化小於三倍。

【0723】 表 44. STAT-6 報導子分析法中之雙特異性 PB8842

IL13H/IL22K

	IC ₅₀ (pM) N=2		最大抑制百分比		希爾斜率	
	幾何平均值	串聯IC50值	算術平均值	範圍	幾何平均值	範圍
雙特異性 KiH	4.9	4.6-5.2	106.4	104.5-108.3	2.8	1.7-4.7

雙特異性PB8919 IL13H/IL22K結果

【0724】 雙特異性IL13H/IL22K在杵臂具有抗IL22且在臼臂上具有抗IL13。結果證實在STAT-6報導子分析法中，IL13H/IL22K抑制HEK-Blue™ IL-4/IL13細胞之IL13反應，所產生之IC50為2.3 pM，如藉由2次分析法之幾何平均值所測定(表45)。認為此等量測結果係可靠的，因為在各情況下，發現在每次重複進行分析法時所量測之IC50之範圍之變化小於三倍。

【0725】 表 45. STAT-6 報導子分析法中之雙特異性 PB8919

IL13H/IL22K之資料表

	IC ₅₀ (pM) N=2		最大抑制百分比		希爾斜率	
	幾何平均值	串聯IC50值	算術平均值	範圍	幾何平均值	範圍
雙特異性 KiH	2.3	2-2.7	109.3	106-112.8	1.2	0.9-1.6

實例31. 全層重組皮膚組織模型中之抗IL13及抗IL22抗體之組合以及IL13/IL22 TrYbe之作用

【0726】 為了評估IL13/IL22 TrYbe介導之IL13及IL22誘導之表皮

第 185 頁(發明說明書)

厚度及異常角質細胞分化之雙重阻斷之作用，使用全層皮膚組織模型。

【0727】 EpiDermFT™ (MatTek Corporation)全層重組皮膚組織在細胞培養物培育箱中，在EFT-400-ASY分析法培養基(MatTek Corporation)中在37°C，5% CO₂下平衡隔夜。

【0728】 在第0天，自各孔移除培養基且將相應孔中更換成2.5 ml以下條件且在37°C，5% CO₂下培育各盤：

- 單獨的培養基，IL13 (R&D systems)或IL22 (自製)或IL13/IL22組合，於EFT-400ASY培養基中之最終濃度為100 ng/ml(圖16)。

- 單獨的培養基或IL13/IL22組合，於EFT-400ASY培養基中之最終濃度為100 ng/ml，將IL13/IL22 TrYbe自66 nM滴定至0.2 nM。具有/不具有66 nM IL13/IL22 TrYbe之單獨的IL13或IL22(圖17)。

- 單獨的培養基、IL13或IL22或IL13/IL22組合，於EFT-400ASY培養基中之最終濃度為100 ng/ml。IL13/IL22與66 nM雷布瑞奇單抗(抗IL13抗體)或非紮奴單抗(抗IL22抗體)之組合，或雷布瑞奇單抗/非紮奴單抗組合，或單獨的IL13/IL22 TrYbe (圖18)。

【0729】 每2天(0、2、4、6)一次再新條件且在第7天停止實驗。

【0730】 自跨孔(transwell)移出組織，在無菌皮氏培養皿(petri dish)上使用刮刀等分且置放於10%中性緩衝福爾馬林(Neutral Buffered Formalin)(Sigma)中，在4 μm切片上進行蘇木精(Haematoxylin)及伊紅(Eosin)染色以準備用於組織學分析。

【0731】 結果表明IL13及IL22個別地增加表皮厚度(圖16)。亦在IL22處理後觀測到異常角質細胞分化，由角化不全增加及角質層(表皮之最上層)增厚說明。IL13與IL22之組合作用大於任一種單獨的細胞介素，

表明IL13與IL22之間的累加或協同作用(圖16)。

【0732】 結果表明IL13/IL22 TrYbe抑制IL13及IL22誘導之變化且使得能夠維持正常皮膚表現型(圖17)。作為組合IL13/IL22刺激之結果，IL13/IL22 TrYbe亦成功地以濃度依賴性方式抑制表皮增厚及異常角質細胞分化(圖17)。

【0733】 結果亦表明需要抑制IL13及IL22兩者(由抗IL13及抗IL22抗體之組合或IL13/IL22多特異性抗體)以改善IL13/IL22誘導之表皮增厚及異常角質細胞分化(圖18)，當與對照物(單獨的培養基)相比時，單獨地抑制任一種細胞介素不能維持正常皮膚表現型。資料證實IL13/IL22 TrYbe能夠完全抑制IL13/IL22誘導之表皮增厚及異常角質細胞分化，表明IL13及IL22之雙重阻斷。

實例32. IL22磷酸STAT3方法

【0734】 在100 μ l DMEM+10% FBS+2 mM L-麩醯胺酸/孔中，將Hacat細胞以150,000個細胞/孔添加96孔平底組織培養盤中且在37°C及5% CO₂下培育隔夜。在模擬上清液培養基中稀釋抗IL22抗體達到18.75 nM之最終分析法濃度，且將60 μ l添加至96孔聚丙烯V形底部盤之管柱1及12中作為最小信號對照物。向96孔聚丙烯V形底部盤之管柱2及11中添加60 μ l模擬上清液培養基作為最大信號對照物。將樣品以1:3滴定至模擬上清液培養基中，使96孔聚丙烯V形底部盤之管柱3-10中之最終體積為60 μ l。向所有孔中添加30 μ l IL22溶液，達到30 ng/ml之FAC之最終分析法濃度。將盤在37°C下預培育1小時。75 μ l培養基來自細胞培養盤，在盤中保留25 μ l。將75 μ l樣品滴定物/對照物+il22轉移至細胞盤中。將此等盤在37°C下培育30分鐘。移除上清液。使用Cisbio STAT3 Phospho Y705套組溶解剩

餘細胞且自各孔之溶解物產生HTRF信號。將盤密封且在振盪器上，在室溫下歷時18小時培育隔夜。用Synergy Neo 2盤讀取器，使用HTRF方案量測孔信號。11041及11070抗體皆顯示IL22誘導之STAT3磷酸化之明顯抑制。

【0735】 本文中所引用之所有參考文獻(包括專利案、專利申請案、論文、教科書及其類似物)及其中引用的參考文獻(就尚未引用而言)以全文引用之方式併入本文中。

【序列表】

<110> 美商阿法羅醫療股份有限公司(UCB Biopharma SRL)

<120> 多特異性抗體及抗體組合

<130> PF0252-WO-PCT

<160> 167

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 179

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

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

Ala Thr Ser Cys Leu Leu Leu Leu Ala Leu Leu Val Gln Gly Gly Ala
 20 25 30

Ala Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln
 35 40 45

Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser
 50 55 60

Leu Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe
65 70 75 80

His Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu
 85 90 95

Asn Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln
 100 105 110

Pro Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn Arg
 115 120 125

Leu Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn
 130 135 140

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

Ile Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn
 165 170 175

Ala Cys Ile

<210> 2

<211> 146

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
 1 5 10 15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
 20 25 30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
 35 40 45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
 50 55 60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
 65 70 75 80

Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn Arg Leu
 85 90 95

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val

100

105

110

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

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
 130 135 140

Cys Ile
 145

<210> 3

<211> 172

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有His標籤之IL22

<400> 3

Met Gly Ser Ser His His His His His His Ser Ser Gly Glu Asn Leu
 1 5 10 15

Tyr Phe Gln Gly Ser Gln Gly Gly Ala Ala Ala Pro Ile Ser Ser His
 20 25 30

Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Arg
 35 40 45

Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu Ala Asp Asn Asn Thr Asp
 50 55 60

Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His Gly Val Ser Met Ser Glu
 65 70 75 80

Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn Phe Thr Leu Glu Glu Val
 85 90 95

Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro Tyr Met Gln Glu Val Val

100

105

110

Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn Arg Leu Ser Thr Cys His Ile Glu
 115 120 125

Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val Gln Lys Leu Lys Asp Thr
 130 135 140

Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile Lys Ala Ile Gly Glu Leu
 145 150 155 160

Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala Cys Ile
 165 170

<210> 4
 <211> 153
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 裂解之IL22

<400> 4

Gly Ser Gln Gly Gly Ala Ala Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu
 1 5 10 15

Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met
 20 25 30

Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu
 35 40 45

Ile Gly Glu Lys Leu Phe His Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr
 50 55 60

Leu Met Lys Gln Val Leu Asn Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro
 65 70 75 80

Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu

85

90

95

Ala Arg Leu Ser Asn Arg Leu Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp
 100 105 110

Leu His Ile Gln Arg Asn Val Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys
 115 120 125

Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu
 130 135 140

Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala Cys Ile
 145 150

<210> 5
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 5

Met His Pro Leu Leu Asn Pro Leu Leu Leu Ala Leu Gly Leu Met Ala
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Thr Thr Val Ile Ala Leu Thr Cys Leu Gly Gly Phe Ala
 20 25 30

Ser Pro Gly Pro Val Pro Pro Ser Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu
 35 40 45

Glu Leu Val Asn Ile Thr Gln Asn Gln Lys Ala Pro Leu Cys Asn Gly
 50 55 60

Ser Met Val Trp Ser Ile Asn Leu Thr Ala Gly Met Tyr Cys Ala Ala
 65 70 75 80

Leu Glu Ser Leu Ile Asn Val Ser Gly Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr
 85 90 95

Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala Gly Gln
 100 105 110

Phe Ser Ser Leu His Val Arg Asp Thr Lys Ile Glu Val Ala Gln Phe
 115 120 125

Val Lys Asp Leu Leu Leu His Leu Lys Lys Leu Phe Arg Glu Gly Arg
 130 135 140

Phe Asn
 145

<210> 6
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 6

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

Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu Glu Leu Val Asn Ile Thr Gln Asn
 20 25 30

Gln Lys Ala Pro Leu Cys Asn Gly Ser Met Val Trp Ser Ile Asn Leu
 35 40 45

Thr Ala Gly Met Tyr Cys Ala Ala Leu Glu Ser Leu Ile Asn Val Ser
 50 55 60

Gly Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys
 65 70 75 80

Pro His Lys Val Ser Ala Gly Gln Phe Ser Ser Leu His Val Arg Asp
 85 90 95

Thr Lys Ile Glu Val Ala Gln Phe Val Lys Asp Leu Leu Leu His Leu
 100 105 110

Lys Lys Leu Phe Arg Glu Gly Arg Phe Asn
 115 120

<210> 7
 <211> 609
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 7

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
 1 5 10 15

Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
 20 25 30

His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu
 35 40 45

Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val
 50 55 60

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
 65 70 75 80

Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
 85 90 95

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
 100 105 110

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
 115 120 125

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
 130 135 140

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
 145 150 155 160

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
 165 170 175

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys
 180 185 190

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
 195 200 205

Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
 210 215 220

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
 225 230 235 240

Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser
 245 250 255

Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly
 260 265 270

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
 275 280 285

Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
 290 295 300

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
 305 310 315 320

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
 325 330 335

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
 340 345 350

Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
 355 360 365

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
 370 375 380

Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
 385 390 395 400

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
 405 410 415

Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
 420 425 430

Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
 435 440 445

Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
 450 455 460

Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
 465 470 475 480

Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
 485 490 495

Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
 500 505 510

Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala
 515 520 525

Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
 530 535 540

Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
 545 550 555 560

Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
 565 570 575

Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
 580 585 590

Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
 595 600 605

Leu

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 CDRL1

<400> 8

Gln Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Thr Asn Leu Ala
 1 5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 CDRL2

<400> 9

Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5

<210> 10

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 CDRL3

<400> 10

Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asn Ala Ala Asp Ser Arg Tyr Thr

1 5 10

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 CDRH1

<400> 11

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ala Met Ile

1 5 10

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 CDRH2

<400> 12

Ile Ile Asp Ile Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 CDRH3

<400> 13

Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 14
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 11041gL13 V區

<400> 14

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asn Ala
85 90 95

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

<210> 15
<211> 342
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 11041gL13 V區

<400> 15

gccgtccaac tgactcagtc cccgagctca ctttccgcga gcgtgggaga tcgcgtgacc 60

attacgtgcc aggcctcgga ggacatctac accaacctcg cctggtatca acagaagcct 120
 ggcaaagctc ccaagctggt gatctactgg gcctccactc tggcctccgg agtgccttcg 180
 cggttctccg gttctggatc aggcaccgac ttcacctga caatcagcag cctccagccg 240
 gaagattttg ccacttacta ctgccaagca tccgtctacg ggaacgcagc ggactccaga 300
 tataccttcg gcgggggaac caaagtggag attaagcgta cg 342

<210> 16
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11041gH14 V區

<400> 16

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Ile Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
 50 55 60

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 17

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gH14 V區

<400> 17

gaggatgcagc tcgtggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cttgcggctt 60

agctgtgccg tgtccggctt ctcctgtcc tctacgcca tgatctgggt ccgccaagct 120

cctgggaagg gcctcgaatg gattggfatt atcgacatcg agggatcaac ctactacgcc 180

tcgtgggcca agggacgggt caccatctcg cgggacaact ccaagaacac tgtgtatctg 240

cagatgaaca gcctgagggc agaagatacc gccgtgtact actgcgcgag agatcgcttc 300

gtgggcgtgg acatctttga cccgtggggt caaggcacc tggtcactgt ctcgagc 357

<210> 18

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈(VL-CL) 11041gL13

<400> 18

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Thr Asn

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asn Ala
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 19

<211> 657

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈(VL-CL) 11041gL13

<400> 19
 gccgtccaac tgactcagtc cccgagctca ctttccgcga gcgtgggaga tcgctgacc 60
 attacgtgcc aggcctcggg ggacatctac accaacctcg cctggatca acagaagcct 120
 ggcaaagctc ccaagctggt gatctactgg gcctccactc tggcctccgg agtgccttcg 180
 cggttctccg gttctggatc aggcaccgac ttcacctga caatcagcag cctccagccg 240
 gaagattttg ccacttacta ctgccaagca tccgtctacg ggaacgcagc ggactccaga 300
 tataccttcg gcgggggaac caaagtggag attaagcgta cggtggccgc tccctccgtg 360
 ttcattcttc caccctccga cgagcagctg aagtccggca ccgcctccgt cgtgtgcctg 420
 ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgcctgcag 480
 tccggcaact cccaggaatc cgtcaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg 540
 tcctccacc tgacctgtc caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa 600
 gtgaccacc agggcctgtc cagccccgtg accaagtctt tcaaccgggg cgagtgc 657

<210> 20
 <211> 222
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 重鏈(VH-CH1) 11041gH14

<400> 20

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Ile Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
 50 55 60

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

<210> 21

<211> 666

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 重鏈(VH-CH1) 11041gH14

<400> 21

gaggtgcagc tcgtggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cttgcggctt

60

agctgtgccg tgtccggctt ctccctgtcc tcttacgcca tgatctgggt ccgccaagct 120
 cctgggaagg gcctcgaatg gattggfatt atcgacatcg agggatcaac ctactacgcc 180
 tcgtgggcca agggacgggt caccatctcg cgggacaact ccaagaacac tgtgtatctg 240
 cagatgaaca gcctgagggc agaagatacc gccgtgtact actgcgcgag agatcgcttc 300
 gtgggcgtgg acatctttga cccgtggggg caaggcaccc tggtcactgt ctcgagcgcg 360
 tccacaaagg gcccatcggg cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctggggggc 420
 acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccagtgcg ggtgtcgtgg 480
 aactcaggtg ccctgaccag cggcggtcac accttccccg ctgtcctaca gtcttcagga 540
 ctctactccc tgagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca gcttgggcac ccagacctac 600
 atctgcaacg tgaatcaca gccccagcaac accaaggctc ataagaaagt tgagcccaaa 660
 tcttgt 666

<210> 22
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 650 CDRL1

<400> 22

Lys Ala Ser Gln Asn Ile Asn Glu Asn Leu Asp
 1 5 10

<210> 23
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 650 CDRL2

<400> 23

Tyr Thr Asp Ile Leu Gln Thr
 1 5

<210> 24
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 650 CDRL3

<400> 24

Tyr Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
1 5

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

<220>
<223> 650 CDRH1

<400> 25

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 26
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 650 CDRH2

<400> 26

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

Gly

<210> 27
<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 650 CDRH3

<400> 27

Phe His Tyr Asp Gly Ala Asp

1 5

<210> 28

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 650 gL8 V區(未突變*)

<400> 28

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Asn Glu Asn

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Tyr Thr Asp Ile Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 29
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 650 gH9 V區(未突變*)

<400> 29

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Phe His Tyr Asp Gly Ala Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 30
 <211> 318
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 650 gL8 V區(未突變*)

<400> 30
gacatccaga tgaccagtc cccctctcc ctgtccgct ccgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca aggcctccca gaacatcaac gagaacctgg actggtacca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctactac accgacatcc tgcagaccgg catccctcc 180
aggttctccg gctccggctc cggcaccgac tacacctga ccatctctc cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgctaccag tactactccg gctacacctt cggccagggc 300
accaagctgg agatcaag 318

<210> 31
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 650 gH9 V區(未突變*)

<400> 31
gagggtgcagc tgggtgcagtc cggcgcgag gigaagaagc ccggctctc cgtgaagggtg 60
tcctgcaagg cctccggcta ctcttcacc tctactaca tccactgggt gaggcaggcc 120
cccggccagg gcctggagtg gatgggcagg atcggccccg gctccggcga catcaactac 180
aacgagaagt tcaagggcag ggccacctc accgtggaca agtccacctc caccgctac 240
atggagctgt cctccctgag gtccgaggac accgcegtgt actactgcgc caggttccac 300
tacgacggcg ccgactgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgtctctc 348

<210> 32
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 650 gL8 V區(突變**)

<400> 32

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

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

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

Tyr Tyr Thr Asp Ile Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

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

<210> 33

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 650 gH9 V區(突變**)

<400> 33

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Phe His Tyr Asp Gly Ala Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 34
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 650 gL8 V區(突變**)

<400> 34
gacatccaga tgaccagtc cccctcctcc ctgtccgct ccgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca aggcctccca gaacatcaac gagaacctgg actggtacca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctactac accgacatcc tgcagaccgg catcccctcc 180
aggttctccg gctccggctc cggcaccgac tacacctga ccatctctc cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgctaccag tactactccg gctacacctt cggtgcggc 300
accaagctgg agatcaag 318

<210> 35
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 650 gH9 V區(突變**)

<400> 35
gagggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gigaagaagc ccggctctc cgtgaagggtg 60
tctgcaagg cctccggcta ctcttcacc tctactaca tccactgggt gaggcagccc 120

cccggccagt gcctggagtg gatgggcagg atcggccccg gctccggcga catcaactac 180
 aacgagaagt tcaagggcag ggccaccttc accgtggaca agtccacctc caccgcctac 240
 atggagctgt cctccctgag gtccgaggac accgcccgtg actactgcgc caggttccac 300
 tacgacggcg ccgactgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgcctcc 348

<210> 36

<211> 242

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 650 scFv (VH/VL) gH9gL8 (未突變*)

<400> 36

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Phe His Tyr Asp Gly Ala Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

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

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

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
 145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Ile Asn Glu Asn Leu Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
 165 170 175

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

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

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

Tyr Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
 225 230 235 240

Ile Lys

<210> 37

<211> 726

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 650 scFv (VH/VL) gH9gL8 (未突變*)

<400> 37

gaggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ccggctcctc cgtgaagggtg 60

tcttgcaagg cctccggcta ctcttcacc tctactaca tccactgggt gaggcaggec 120

cccggccagg gcctggagtg gatgggcagg atcggccccg gctccggcga cateaactac 180

aacgagaagt tcaagggcag ggccacctic accgtggaca agtccacctc caccgcctac 240

atggagctgt cctccctgag gtccgaggac accgccgtgt actactgcgc caggttccac 300
 tacgacggcg ccgactgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgcctccgg aggtggcgg 360
 tctggcggtg gcggttccgg tggcggfcca tcgggaggfg gcggttctga catccagatg 420
 acccagtcce cctcctccct gtccgcctcc gtgggcgaca gggfgaccat cacctgcaag 480
 gcctcccaga acatcaacga gaacctggac tggfaccagc agaagcccgg caaggcccc 540
 aagctgctga tctactacac cgacatcctg cagaccggca tcccctccag gttctccggc 600
 tccggctccg gcaccgacta caccctgacc atctcctccc tgcagcccga ggacttcgcc 660
 acctactact gctaccagta ctactccggc tacaccttcg gccagggcac caagctggag 720
 atcaag 726

<210> 38

<211> 242

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 650 dsscFv (VH/VL) gH9gL8 (突變**)

<400> 38

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Phe His Tyr Asp Gly Ala Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

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

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Ile Asn Glu Asn Leu Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

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

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

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

Tyr Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu
225 230 235 240

Ile Lys

<210> 39

<211> 726

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 650 dsscFv (VH/VL) gH9gL8 (突變**)

<400> 39

gaggatgcagc tggatgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ccggctctc cgtgaagggtg 60

tcttgcaagg cctccggcta ctcttcacc tctactaca tccactgggt gaggcaggcc 120

cccggccagt gcctggagtg gatgggcagg atcggccccg gctccggcga catcaactac 180

aacgagaagt tcaagggcag ggccacctc accgtggaca agtccacctc caccgcctac 240

atggagctgt cctccctgag gtccgaggac accgccgtgt actactgcgc caggttccac 300

tacgacggcg ccgactgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgtcctccgg aggtggcgggt 360

tctggcgggt gcggttccgg tggcggfsga tcgggaggtg gcggttctga catccagatg 420

accagtccc cctcctcct gtccgcctcc gtgggcgaca gggtgacct cacctgcaag 480

gcctcccaga acatcaacga gaacctggac tggtagcagc agaagcccgg caaggcccc 540

aagctgctga tctactacac cgacatcctg cagaccggca tcccctccag gttctccggc 600

tccggctccg gcaccgacta caccctgacc atctcctccc tgcagcccga ggacttcgcc 660

acctactact gctaccagta ctactccggc tacaccttcg gctgcggcac caagctggag 720

atcaag 726

<210> 40

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 645 CDRL1

<400> 40

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

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 645 CDRL2

<400> 41

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
1 5

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 645 CDRL3

<400> 42

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

<210> 43

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 645 CDRH1

<400> 43

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

<210> 44

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 645 CDRH2

<400> 44

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

<210> 45
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 645 CDRH3

<400> 45

Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 46
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 645 VL區(未突變*)

<400> 46

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

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

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

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

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

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

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

<210> 47
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 645 VH區(未突變*)

<400> 47

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

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

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

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

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

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 48
 <211> 330
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 645 VL區(未突變*)

<400> 48

gacatacaaa tgactcagtc tccttcacg gtatccgcgt ccgttggcga tagggtgact 60
 attacatgtc aaagctctcc tagcgtctgg agcaatttcc tatcctggta tcaacagaaa 120
 ccggggaagg ctccaaaact tctgatttat gaagcctcga aactcaccag tggagttccg 180
 tcaagattca gtggctctgg atcagggaca gacttcacgt tgacaatcag ttcgctgcaa 240
 ccagaggact ttgcgaccta ctattgtggt ggaggftaca gtagcataag tgatacgaca 300
 tttgggggcg gtactaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 49

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 645 VH區(未突變*)

<400> 49

gaggttcaac tgcttgagtc tggaggaggc ctagtccagc ctggaggagg cctgcgtctc 60
 tcttgtgcag taagcggcat cgacctgagc aattacgcca tcaactgggt gagacaagct 120
 ccggggaagg gtttagaatg gatcggfata atatgggcca gtgggacgac cttttatgct 180
 acatgggcga aaggaaggtt tacaattagc cgggacaata gcaaaaacac cgtgtatctc 240
 caaatgaact ccttgcgagc agaggacacg gcggtgtact attgtgctcg cactgtccca 300
 ggttatagca ctgcacccta cttcgatctg tggggacaag ggaccctggt gactgtttca 360
 agt 363

<210> 50

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 645 VL區(突變**)

<400> 50

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

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

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

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

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

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

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

<210> 51
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 645 VH區(突變**)

<400> 51

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

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

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

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

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

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 52

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 645 VL區(突變**)

<400> 52

gacatacaaa tgactcagtc tccttcacg gtatccgcgt ccgttggcga tagggtgact 60

attacatgtc aaagctctcc tagcgtctgg agcaattttc tatcctggta tcaacagaaa 120

ccggggaagg ctccaaaact tctgatttat gaagcctcga aactcaccag tggagtccg 180

tcaagattca gtggctctgg atcagggaca gacttcacgt tgacaatcag ttcgctgcaa 240

ccagaggact ttgcgaccta ctattgtggt ggaggttaca gtagcataag tgatacgaca 300

tttgggtgcg gtactaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 53

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 645 VH區(突變**)

<400> 53
gaggttcaac tgcttgagtc tggaggagc ctagtccagc ctggaggag cctgcgtctc 60
tcttgtgcag taagcggcat cgacctgagc aattacgcca tcaactgggt gagacaagct 120
ccggggaagt gtttagaatg gatcggfata atatgggcca gtgggacgac cttttatgct 180
acatgggcga aaggaagggt tacaattagc cgggacaata gcaaaaacac cgtgtatctc 240
caaatgaact ccttgcgagc agaggacacg gcggtgtact attgtgctcg cactgtccca 300
ggttatagca ctgcacccta cttcgatctg tggggacaag ggaccctggt gactgtttca 360
agt 363

<210> 54
<211> 251
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 645 scFv (VH/VL) (未突變*)

<400> 54

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu
 180 185 190

Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
 210 215 220

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr
 225 230 235 240

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245 250

<210> 55
 <211> 753
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 645 scFv (VH/VL) (未突變*)

<400> 55

gaggttcaac tgcttgagtc tggaggaggc ctagtcacgc ctggaggag cctgcgtctc

60

tcttgtgcag taagcggcat cgacctgagc aattacgcca tcaactgggt gagacaagct 120
 ccggggaagg gtttagaatg gatcggfata atatgggcca gtgggacgac cttttatgct 180
 acatgggcga aaggaagggt tacaattagc cgggacaata gcaaaaacac cgtgtatctc 240
 caaatgaact ccttgcgagc agaggacacg gcggtgtact attgtgctcg cactgtccca 300
 ggttatagca ctgcacccta cttcgatctg tggggacaag ggaccctggg gactgtttca 360
 agtggagggt gcggttctgg cgggtggcggg tccggtggcg gtggatcggg aggtggcggg 420
 tctgacatac aatgactca gtctcctca tcggtatccg cgtccgttgg cgatagggtg 480
 actattacat gtcaaagctc tcctagcgtc tggagcaatt ttctatcctg gtatcaacag 540
 aaaccgggga aggcicccaaa acttctgatt tatgaagcct cgaaactcac cagtggagtt 600
 ccgtcaagat tcagtggtc tggatcaggg acagactica cgttgacaat cagttcgtc 660
 caaccagagg acttgcgac ctactattgt ggtggagggt acagtagcat aagtgatacg 720
 acatttgggg gcggtactaa ggtggaaatc aaa 753

<210> 56

<211> 251

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 645 dsscFv (VH/VL) (突變**)

<400> 56

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu
180 185 190

Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr
225 230 235 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245 250

<210> 57
 <211> 753
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 645 dsscFv (VH/VL) (突變**)

<400> 57
 gaggttcaac tgcttgagtc tggaggaggc ctagtccagc ctggaggag cctgcgtctc 60
 tcttgtgcag taagcggcat cgacctgagc aattacgcca tcaactgggt gagacaagct 120
 ccggggaagt gtttagaatg gatcggfata atatgggcca gtgggacgac cttttatgct 180
 acatgggcga aaggaagggt tacaattagc cgggacaata gcaaaaacac cgtgtatctc 240
 caaatgaact ccttgcgagc agaggacacg gcggtgtact attgtgctcg cactgtccca 300
 ggttatagca ctgcacccta cttcgtctg tggggacaag ggaccctggt gactgtttca 360
 agtggagggt gcggttctgg cgggtggcgg tccggtggcg gtggatcggg aggtggcgggt 420
 tctgacatac aaatgactca gtctccttca tcggtatccg cgtccgttgg cgatagggtg 480
 actattacat gtcaaagctc tcctagcgtc tggagcaatt ttctatcctg gtatcaacag 540
 aaaccgggga aggcctccaaa acttctgatt tatgaagcct cgaaactcac cagtggagtt 600
 ccgtcaagat tcagtggtc tggatcaggg acagacttca cgttgacaat cagttcgctg 660
 caaccagagg actttgcgac ctactattgt ggtggaggtt acagtagcat aagtatac 720
 acatttgggt gcggtactaa ggtggaaatc aaa 753

<210> 58
 <211> 486
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11041gH14 HC- 645 (VH/VL) scFv (未突變*)

<400> 58

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Ile Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
 50 55 60

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ser Gly
 210 215 220

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser
225 230 235 240

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
245 250 255

Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln
260 265 270

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly
275 280 285

Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
290 295 300

Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
305 310 315 320

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Val Pro Gly Tyr Ser
325 330 335

Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
340 345 350

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
370 375 380

Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser
385 390 395 400

Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
405 410 415

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly
 420 425 430

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 435 440 445

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly
 450 455 460

Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 465 470 475 480

Val Glu Ile Lys Arg Thr
 485

<210> 59

<211> 1458

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gH14 HC- 645 (VH/VL) scFv (未突變*)

<400> 59

gagggtgcagc tcgtggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cttgcggctt 60
 agctgtgccg tgtccggctt ctcctgtcc tctacgcca tgatctgggt ccgccaagct 120
 cctgggaagg gcctcgaatg gattgttatt atcgacatcg agggatcaac ctactacgcc 180
 tcgtgggcca agggacggtt caccatctcg cgggacaact ccaagaacac tgtgtatctg 240
 cagatgaaca gcctgagggc agaagatacc gccgtgtact actgcgcgag agatcgcttc 300
 gtgggcgtgg acatctttga cccgtggggt caaggcacc cggtcactgt ctcgagcgcg 360
 tccacaaagg gcccatcggc ctccccctg gcacctcct ccaagagcac ctctgggggc 420
 acagcggccc tgggtgcct ggtcaaggac tacttcccc aaccagtac ggtgtcgtgg 480
 aactcaggtg ccctgaccag cggcgttcac accttcccgg ctgtcctaca gtcttcagga 540
 ctctactccc tgagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca gcttgggcac ccagacctac 600
 atctgcaacg tgaatcacia gccagcaac accaaggctc ataagaaagt tgagcccaaa 660

tctttagcgc gtggcgggtgg ctccggagggt ggcggttcag aggttcaact gcttgagtct 720
 ggaggaggcc tagtccagcc tggagggagc ctgcgtctct cttgtgcagt aagcggcatc 780
 gacctgagca attacccat caactgggtg agacaagctc cggggaaggg tttagaatgg 840
 atcggtataa tatgggccag tgggacgacc ttttatgcta catgggcgaa aggaaggttt 900
 acaattagcc gggacaatag caaaaacacc gtgtatctcc aatgaactc cttgcgagca 960
 gaggacacgg cgggtlacta ttgtgctcgc actgtcccag gttatagcac tgcaccctac 1020
 ttcgatctgt ggggacaagg gaccctggtg actgtttcaa gtggagggtg cggttctggc 1080
 ggtggcggtt ccggtggcgg tggatcggga ggtggcggtt ctgacataca aatgactcag 1140
 tctccttcat cggtatccgc gtccgttggc gatagggtga ctattacatg tcaaagctct 1200
 cctagcgtct ggagcaatft tctatcctgg tatcaacaga aaccggggaa ggctccaaaa 1260
 cttctgattt atgaagctc gaaactcacc agtggagttc cgtcaagatt cagtggctct 1320
 ggatcaggga cagacttcac gttgacaatc agttcgtcgc aaccagagga ctttgcgacc 1380
 tactattgtg gtggagggtta cagtagcata agtgatacga catttggggg cgggtactaag 1440
 gtggaaatca aacgtacc 1458

<210> 60

<211> 486

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gH14 HC- 645 (VH/VL) dsscFv (突變**)

<400> 60

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Ile Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ser Gly
210 215 220

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser
225 230 235 240

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
 245 250 255

Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln
 260 265 270

Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly
 275 280 285

Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 290 295 300

Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
 305 310 315 320

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Val Pro Gly Tyr Ser
 325 330 335

Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 340 345 350

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 370 375 380

Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser
 385 390 395 400

Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
 405 410 415

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly
 420 425 430

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 435 440 445

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly
 450 455 460

Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys
 465 470 475 480

Val Glu Ile Lys Arg Thr
 485

<210> 61

<211> 1458

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gH14 HC- 645 (VH/VL) dsscFv (突變**)

<400> 61

gagggtgcagc tcgtggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cttgcggctt 60
 agctgtgccg tgtccggctt ctccctgtcc tcttacgcca tgatctgggt ccgccaagct 120
 cctgggaagg gcctcgaatg gattggfatt atcgacatcg agggatcaac ctactacgcc 180
 tcgtgggcca agggacggtt caccatctcg cgggacaact ccaagaacac tgtgtatctg 240
 cagatgaaca gcctgagggc agaagatacc gccgtgtact actgcgcgag agatcgcttc 300
 gtgggcgtgg acatctttga cccgtggggt caaggcacc tggtcactgt ctcgagcgcg 360
 tccacaaagg gcccacggt ctccccctg gcaccctct ccaagagcac ctctgggggc 420
 acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccagtgc ggtgtcgtgg 480
 aactcaggtg ccctgaccag cggcggtcac accttcccgg ctgtcctaca gtcttcagga 540
 ctctactccc tgagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca gcttgggcac ccagacctac 600
 atctgcaacg tgaatcacia gccacgaac accaaggctc ataagaaagt tgagcccaaa 660
 tctttagcgc gtggcggtgg ctccggagggt ggcggttcag aggttcaact gctttagtct 720
 ggaggaggcc tagtccagcc tggaggagc ctgcgtctct cttgtgcagt aagcggcatc 780
 gacctgagca attacccat caactgggtg agacaagctc cggggaagtg tttagaatgg 840

atcggataa tatgggccag tgggacgacc ttttatgcta catgggcaa aggaaggttt 900
 acaattagcc gggacaatag caaaaacacc gtgtatctcc aatgaactc cttgcgagca 960
 gaggacacgg cgggtlacta ttgtgctcgc actgtcccag gttatagcac tgcaccctac 1020
 ttcgatctgt ggggacaagg gaccctggcg actgtttcaa gtggagggtg cggttctggc 1080
 ggtggcggtt ccggtggcgg tggatcggga ggtggcggtt ctgacataca aatgactcag 1140
 tctccttcat cggtatccgc gtccgttggc gatagggtga ctattacatg tcaaagctct 1200
 cctagcgtct ggagcaatft tctatcctgg tatcaacaga aaccggggaa ggctccaaaa 1260
 cttctgattt atgaagcctc gaaactcacc agtggagttc cgtcaagatt cagtggctct 1320
 ggatcagga cagacttcac gttgacaatc agttcgtgc aaccagagga ctttgcgacc 1380
 tactattgtg gtggaggtta cagtagcata agtgatacga catttgggtg cggtactaag 1440
 gtggaaatca aacgtacc 1458

<210> 62
 <211> 474
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11041gL13 LC- 650 scFv (未突變*)

<400> 62

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asn Ala
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Gly Gly
210 215 220

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
225 230 235 240

Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
245 250 255

Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
260 265 270

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Gly Pro Gly Ser Gly Asp Ile
 275 280 285

Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Phe Thr Val Asp Lys
 290 295 300

Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
 305 310 315 320

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe His Tyr Asp Gly Ala Asp Trp
 325 330 335

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 340 345 350

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
 355 360 365

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg
 370 375 380

Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Asn Glu Asn Leu Asp
 385 390 395 400

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr
 405 410 415

Thr Asp Ile Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 420 425 430

Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
 435 440 445

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr Phe Gly
 450 455 460

Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
 465 470

<210> 63

<211> 1422

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gL13 LC- 650 scFv (未突變*)

<400> 63

gccgtccaac tgactcagtc cccgagctca ctttccgcga gcgtgggaga tcgctgacc 60
 attacgtgcc aggcctcggg ggacatctac accaacctcg cctggtatca acagaagcct 120
 ggcaaagctc ccaagctggt gatctactgg gcctccactc tggcctccgg agtgccttcg 180
 cggttctccg gttctggatc aggcaccgac ttaccctga caatcagcag cctccagccg 240
 gaagattttg ccacttacta ctgccaagca tccgtctacg ggaacgcagc ggactccaga 300
 tataccttcg gcgggggaac caaagtggag attaagcgta cggtggccgc tccctccgtg 360
 ttcatcttcc caccctccga cgagcagctg aagtccggca ccgcctccgt cgtgtgcctg 420
 ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgcctgcag 480
 tccggcaact cccaggaatc cgtcaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg 540
 tctccacc ccgacctgtc caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa 600
 gtgaccacc agggcctgtc cagccccgtg accaagtcc tcaaccgggg cgagtgcagc 660
 ggtggcggtg gctccggagg tggcggitca gaggtgcagc tggcgcagtc cggcgcagc 720
 gtgaagaagc ccggtcctc cgtgaagggt tctgcaagg cctccggcta ctcttcacc 780
 tctactaca tccactgggt gaggcaggcc cccggccagg gcctggagtg gatgggcagg 840
 atcggccccg gctccggcga catcaactac aacgagaagt tcaagggcag ggccacctc 900
 accgtggaca agtccacctc caccgctac atggagctgt cctccctgag gtccgaggac 960
 accgccgtgt actactgcgc caggttccac tacgacggcg ccgactgggg ccagggcacc 1020
 ctggtgaccg tgtcctccgg aggtggcgggt tctggcggtg gcggttccgg tggcgggtgga 1080
 tcgggaggtg gcggttctga catccagatg acccagtccc cctcctccct gtccgcctcc 1140

gtgggcgaca gggtgacat cacctgcaag gcctcccaga acatcaacga gaacctggac 1200
 tggfaccagc agaagcccgg caaggccccc aagctgctga tctactacac cgacatctg 1260
 cagaccggca tcccctccag gttctccggc tccggctccg gcaccgacta cacctgacc 1320
 atctctccc tgcagcccga ggacttcgcc acctactact gctaccagta ctactccggc 1380
 tacaccttcg gccagggcac caagctggag atcaagcgta cc 1422

<210> 64

<211> 474

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gL13 LC- 650 dsscFv (突變**)

<400> 64

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asn Ala
 85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Gly Gly
 210 215 220

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
 225 230 235 240

Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 245 250 255

Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 260 265 270

Gln Cys Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Gly Pro Gly Ser Gly Asp Ile
 275 280 285

Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Phe Thr Val Asp Lys
 290 295 300

Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
 305 310 315 320

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe His Tyr Asp Gly Ala Asp Trp
 325 330 335

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 340 345 350

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
 355 360 365

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg
 370 375 380

Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Asn Glu Asn Leu Asp
 385 390 395 400

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr
 405 410 415

Thr Asp Ile Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 420 425 430

Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
 435 440 445

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr Phe Gly
 450 455 460

Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
 465 470

<210> 65

<211> 1422

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gL13 LC- 650 dsscFv (突變**)

<400> 65

gccgtccaac tgactcagtc cccgagctca ctttccgcga gcgtgggaga tcgctgacc 60
attacgtgcc aggcctcggg ggacatctac accaacctcg cctggatca acagaagcct 120
ggcaaagctc ccaagctggt gatctactgg gcctccactc tggcctccgg agtgccttcg 180
cggttctccg gttctggatc aggcaccgac ttaccctga caatcagcag cctccagccg 240
gaagattttg ccacttacta ctgccaagca tccgtctacg ggaacgcagc ggactccaga 300
tataccttcg gcgggggaac caaagtggag attaagcgtc cggtggccgc tccctccgtg 360
ttcatcttcc caccctccga cgagcagctg aagtccggca ccgcctccgt cgtgtgcctg 420
ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggaca cgcctgcag 480
tccggcaact cccaggaatc cgtcaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg 540
tcctccacc tgacctgtc caaggccgac tacgagaagc acaagggtga cgcctgcgaa 600
gtgaccacc agggcctgtc cagccccgtg accaagtctt tcaaccgggg cgagtgcagc 660
ggtggcgggt gctccggagg tggcggttca gaggtgcagc tgggtgcagtc cggcggccgag 720
gtgaagaagc ccggtcctc cgtgaagggt tctgcaagg cctccggcta ctcttcacc 780
tcctactaca tccactgggt gaggcaggcc cccggccagt gcctggagtg gatgggcagg 840
atcgccccg gctccggcga catcaactac aacgagaagt tcaagggcag ggccaccttc 900
accgtggaca agtccacctc caccgctac atggagctgt cctccctgag gtccgaggac 960
accgccgtgt actactgcgc caggttccac tacgacggcg ccgactgggg ccagggcacc 1020
ctggtgaccg tgtcctccgg aggtggcgggt tctggcgggt gcggttccgg tggcgggtgga 1080
tcgggaggtg gcggttctga catccagatg acccagtccc cctcctccct gtccgcctcc 1140
gtgggcgaca gggtgaccat cacctgcaag gcctcccaga acatcaacga gaacctggac 1200
tggfaccagc agaagccccg caaggcccc aagctgctga tctactaac cgacatcctg 1260
cagaccgga tccccccag gttctccggc tccggtccg gcaccgacta caccctgacc 1320
atctcctccc tgcagcccga ggacttcgcc acctactact gctaccagta ctactccggc 1380
tacaccttcg gctgcggcac caagctggag atcaagcgtc cc 1422

<210> 66
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> scFv/dssFv之 κ 恆定區與650 VH之間的輕鏈連接子(Y)

<400> 66

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

<210> 67
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 650 scFv/dsscFv之VH與VL之間的輕鏈連接子

<400> 67

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

Gly Gly Gly Ser
 20

<210> 68
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> scFv/dssFv之CH1恆定區與645 VH之間的重鏈連接子(X)

<400> 68

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

<210> 69
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 645 scFv/dsscFv之VH與VL之間的重鏈連接子

<400> 69

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

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 70

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070 CDRL1

<400> 70

Lys Ala Ser Lys Thr Ile Ser Lys Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 71

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070 CDRL2

<400> 71

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070 CDRL3

<400> 72

Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 73

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070 CDRH1

<400> 73

Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Ser Val His
1 5 10

<210> 74

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070 CDRH2

<400> 74

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

<210> 75

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070 CDRH3

<400> 75

Ser Leu Asp Phe Tyr Tyr Asp Thr Thr Leu Ala Phe
1 5 10

<210> 76

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070gL7 V區

<400> 76

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

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

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

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

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

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

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

<210> 77

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070gL7 V區

<400> 77

gacattcaga tgactcagtc gcccttcgtcc gtgagcgcca gcgtcggaga cagagtgaca 60

atcacctgta aagcgtccaa gaccatctcc aagtacctgg cttggtatca gcagaaaccg 120

gggaaggcca acaagttgct tatctactcc ggttctactc tccaatcggg agtgccaagc 180

cggttttccg ggtccggatc aggcaccgac ttcacctca ccatctcacc cctgcaaccg 240
 gaggatttcg ccacgtacta ctgccagcag cacaacgaat acccctgac cttcggccaa 300
 ggaactaagc tggaaattaa g 321

<210> 78
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11070gH16 V區

<400> 78

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

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

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

Gly Arg Met Trp Ser Asp Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Thr Ala Phe Thr
 50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 79
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11070gH16 V區

<400> 79
 gaggtgcagc tgcaagaatc cggctctggc ctctgaagc cgtcgcagac cttgagcctg 60
 acctgtactg tgtccggatt cagcctcaca tctactcgg tgcactgggt cagacagcat 120
 cccggaaaag gcctggaatg gattgggagg atgtggtctg atggagacac ctcctacaac 180
 acggcgttca ccagccggct gaccatctcc cgcgacacct ccaagaacca agtgtcgctt 240
 aagctgtcct cagtactgc cgccgatacc gcagtgtatt actgcgctcg gtcactggac 300
 ttttactacg acaccacct ggccttctgg ggacagggga ctactgtgac tgtctcgagc 360

<210> 80
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11070gL7輕鏈

<400> 80

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 81

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070gL7輕鏈

<400> 81

gacattcaga tgactcagtc gccttcgtcc gtgagcgcca gcgicggaga cagagtgaca 60

atcacctgta aagcgtccaa gaccatctcc aagtacctgg cttggtatca gcagaaaccg 120

gggaaaggcca acaagttgct tatctactcc ggttctactc tccaatcggg agtgccaagc 180
 cggttttccg ggtccggatc aggcaccgac ttcacctca ccattctatc cctgcaaccg 240
 gaggatttcg ccacgtacta ctgccagcag cacaacgaat acccctgac ctteggccaa 300
 ggaactaagc tggaaattaa gcgtacggtg gccgctccct ccgtgttcat ctteccacce 360
 tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac 420
 ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg caactcccag 480
 gaatccgtca ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcttc caccctgacc 540
 ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc 600
 ctgtccagcc ccgtgaccaa gtccttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 82

<211> 223

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070gH16 Fab重鏈

<400> 82

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

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

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

Gly Arg Met Trp Ser Asp Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Thr Ala Phe Thr
 50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

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

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

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

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

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

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

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

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

<210> 83

<211> 669

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070gH16 Fab重鏈

<400> 83

gaggtgcagc tgcaagaatc cggctctggc ctctggaagc cgtcgcagac cttgacctg 60

acctgtactg tgtccggatt cagcctcaca tctactcgg tgcactgggt cagacagcat 120

cccggaaaag gcctggaatg gattgggagg atgtggtctg atggagacac ctctacaac 180

acggcgttca ccagccggct gaccatctcc cgcgacacct ccaagaacca agtgtcgctt 240
 aagctgtcct cagtcaactgc cgccgafacc gcagtgattt actgcgctcg gtcactggac 300
 ttttactacg acaccaccct ggcttctgg ggacagggga ctactgtgac tgtctcgagc 360
 gcgtccaaa agggcccatc ggtcttcccc ctggcacctt cctccaagag cacctctggg 420
 ggcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccagt gacgggtgctg 480
 tggaaactcag gtgccctgac cagcggcggtt cacaccttcc cggctgtcct acagtcttca 540
 ggactctact ccctgagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 600
 tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tcgataagaa agttgagccc 660
 aaatcttgt 669

<210> 84
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11041 CDRL3 (未突變)

<400> 84

Gln Ala Cys Val Tyr Gly Asn Ser Ala Asp Ser Arg Tyr Thr
 1 5 10

<210> 85
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11041 CDRL3 C91S

<400> 85

Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asn Ser Ala Asp Ser Arg Tyr Thr
 1 5 10

<210> 86
 <211> 14

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 11041 CDRL3 C91V

<400> 86

Gln Ala Val Val Tyr Gly Asn Ser Ala Asp Ser Arg Tyr Thr
1 5 10

<210> 87
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 11041 CDRL3 S96A

<400> 87

Gln Ala Cys Val Tyr Gly Asn Ala Ala Asp Ser Arg Tyr Thr
1 5 10

<210> 88
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 11041 CDRL3 C91V S96A

<400> 88

Gln Ala Val Val Tyr Gly Asn Ala Ala Asp Ser Arg Tyr Thr
1 5 10

<210> 89
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 11041 CDRL3 N95D

<400> 89

Gln Ala Cys Val Tyr Gly Asp Ser Ala Asp Ser Arg Tyr Thr
1 5 10

<210> 90
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 11041 CDRL3 C91S N95D

<400> 90

Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asp Ser Ala Asp Ser Arg Tyr Thr
1 5 10

<210> 91
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 11041 CDRL3 C91V N95D

<400> 91

Gln Ala Val Val Tyr Gly Asp Ser Ala Asp Ser Arg Tyr Thr
1 5 10

<210> 92
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 11041 CDRH2 (未突變)

<400> 92

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

<210> 93
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 CDRH2 G55A

<400> 93

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

<210> 94

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 CDRH3 D107E

<400> 94

Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Glu Pro
 1 5 10

<210> 95

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 兔11041 VL區

<400> 95

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

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Thr Asn
 20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Cys Val Tyr Gly Asn Ser
85 90 95

Ala Asp Ser Arg Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 96

<211> 336

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 兔11041 VL區

<400> 96

gccgctcgtgc tgaccagac tgcattcccc gtgtctgcac ctgtgggagg cacagtcacc 60

atcaagtgcc aggccagtga ggacatttac accaatttag cctggtatca acagaaacca 120

ggacagcctc ccaagctcct gatctactgg gcatccactc tggcatctgg ggtcccatcg 180

cggttcaaag gcagtggatc tgggacagag ttactctca ccatcagcga cctggagtgt 240

gccgatgctg ccacttacta ctgtcaagcc tgtgtttatg gcaatagtgc tgatagtcgg 300

tatactttcg gcggagggac cgaggtggtg gtcaaa 336

<210> 97

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 兔11041 VH區

<400> 97

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

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

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

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

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

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

Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 98

<211> 348

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 兔11041 VH區

<400> 98

cagtcggtgg aggagtcgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacaccct gacactcacc 60

tgcaccgtct ctggattctc cctcagtagc tatgcaatga tctgggtccg ccaggctcca 120

ggggaggggc tggaatggat cggaatcatt gatattgat ggagcacata ctacgcgagc 180

tggcgaaag gccgattcac catctccaga acctcgacca cggtggtatc gaaaatcacc 240

agtcggacaa ccggggacac ggccacctat tctctgtcca gagatcgttt tgttggtgtt 300

gatatttttg atccctgggg cccaggcacc ctggtcaccg tctcgagc 348

<210> 99

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gL1 V區

<400> 99

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Cys Val Tyr Gly Asn Ser
 85 90 95

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

<210> 100

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 gL1 C91S V區(gL2)

<400> 100

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asn Ser
 85 90 95

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

<210> 101

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 gL1 C91V V區(gL3)

<400> 101

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Val Val Tyr Gly Asn Ser
85 90 95

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

<210> 102

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gL6 V區

<400> 102

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Cys Val Tyr Gly Asn Ser
85 90 95

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

<210> 103
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11041gL7 V區

<400> 103

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Cys Val Tyr Gly Asn Ser
 85 90 95

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

<210> 104
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11041 gL1 N95D V區(gL8)

<400> 104

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Cys Val Tyr Gly Asp Ser
 85 90 95

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

<210> 105

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 gL1 S96A V區(gL9)

<400> 105

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

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

<210> 106

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 gL1 C91S S96A V區(gL10)

<400> 106

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asn Ala
85 90 95

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

<210> 107

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 gL6 C91S V區(gL11)

<400> 107

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asn Ser
 85 90 95

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

<210> 108

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 gL7 C91S V區(gL12)

<400> 108

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asn Ser
 85 90 95

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

<210> 109

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 gL7 C91S S96A V區(gL14)

<400> 109

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asn Ala
 85 90 95

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

<210> 110

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gH1 V區

<400> 110

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 111

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 gH1 G55A V區(gH2)

<400> 111

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 112
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11041 gH1 D54E V區(gH3)

<400> 112

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Ile Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
 50 55 60

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 113
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11041 gH1 D107E V區(gH4)

<400> 113

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Glu Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 114

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gH5 V區

<400> 114

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 115

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gH8 V區

<400> 115

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 116

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gH9 V區

<400> 116

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

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

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

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

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 117

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041gH11 V區

<400> 117

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 118
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 11041gH12 V區

<400> 118

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

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

<220>

<223> 11041 gH8 D54E V區(gH15)

<400> 119

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Ile Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
 50 55 60

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 120

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 gH11 D54E V區(gH17)

<400> 120

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Ile Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
 50 55 60

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 121

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11041 gH12 D54E V區(gH18)

<400> 121

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Ser Ile Ile Asp Ile Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
 50 55 60

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 122

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070 CDRH2 (未突變)

<400> 122

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

<210> 123

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 大鼠Ab 11070 VL區

<400> 123

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

Glu Ser Val Ser Ile Asn Cys Lys Ala Ser Lys Thr Ile Ser Lys Tyr
 20 25 30

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

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Gly Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 124

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 大鼠Ab 11070 VL區

<400> 124

gatattgtga tgacacagac tccatctaataa ctgctgcct ctctggaga aagtgtttcc 60

atcaattgca aggcaagtaa gaccattagc aagtatttag cctggtatca acagaaacct 120

gggaaagcaa ataagcttct tatctattct gggccaactt tgcaatctgg aactccatcg 180

aggttcagtg gcagtgatc tagtacagat ttcactctca ccatcagaaa cctggagcct 240

gaagattttg gactctatta ctgtcaacag cataatgaat acccgctcac gttcggttct 300

gggaccaagt tggaaataaa a 321

<210> 125

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 大鼠Ab 11070 VH區

<400> 125

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

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

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

Gly Arg Met Trp Ser Asp Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Phe Thr
 50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80

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

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 126

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 大鼠Ab 11070 VH區

<400> 126

gaggtgcagc tgcaggagtc aggacctggg ctggtgcagc cctcacagac cctgtccccc 60

acctgcactg tctctgggtt ctcactaact agttacagtg tacactgggt tcgccagcat 120

tcaggaaaga gtctggaatg gatgggaaga atgtggagtg atggagacac atcatataat 180

tcagcgttca catcccgatt gagcatcact agggacacct ccaagagcca agttttetta 240
 aaaatgaaca gtctgcaaac tgaagacaca ggcacttact actgtgccag aagtctcgat 300
 ttttactatg atactactct tgccttctgg ggcccaggaa ccacggtcac cgtctcgagt 360

<210> 127

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070gL1 V區

<400> 127

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

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

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

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

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

<210> 128

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070gH1 V區

<400> 128

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

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

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

Gly Arg Met Trp Ser Asp Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Phe Thr
 50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 129

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 11070gH13 V區(gH1 S61T)

<400> 129

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

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

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

Gly Arg Met Trp Ser Asp Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Thr Ala Phe Thr
 50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 130

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 大鼠Ab 650 (1539) VL區

<400> 130

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

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

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

Tyr Tyr Thr Asp Ile Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 131

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 大鼠Ab 650 (1539) VL區

<400> 131

gacatccaga tgaccagtc tectccagtc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcact 60

ctcagttgca aagcaagtca gaatattaat gagaacttag actggtatca tcaaaagcat 120

ggcgaagctc caaaactcct gatataattat acagacattt tgcaaacggg catcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtagatg tacacactca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagatgttg ccacatatta ctgctatcag tattacagtg ggtacacgtt tggacctggg 300

accaagctgg aaataaaa 318

<210> 132

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 大鼠Ab 650 (1539) VH區

<400> 132

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

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

Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Val Asp Lys Tyr Phe Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Phe His Tyr Asp Gly Ala Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 133

<211> 348

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 大鼠Ab 650 (1539) VH區

<400> 133

caggtagaac tgcagcagtc tggagctgag ttggatgaagc ctgggtcttc agtgaagatg 60

tcttgcaagg cttctggcta cagtttcacc agctactaca tacactggat aaagcagagg 120

cctggacagg gccttgagtg gattgggcgt attggtcctg gaagtggaga tattaattac 180

aatgagaagt tcaagggcaa ggccacattt actgtggaca aatatttcag cacagcctac 240

atgcaactca gcagcctgtc acctgaggac actgcccgtct tttactgtgc aagatttcac 300

tatgatgggg ctgactgggg ccaaggcact ctggtcacag tctcgagc

348

<210> 134

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類IGKV1D-13 IGKJ4受體構架

<400> 134

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

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

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

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

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

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

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

<210> 135

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類IGKV1D-13 IGKJ4受體構架

<400> 135
 gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttggc gggcaagtca gggcattagc agtgcctttag cctggatca gcagaaacca 120
 gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt accctctcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 136

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類IGHV3-66 IGHJ4受體構架

<400> 136

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

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

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

Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

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

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

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

<210> 137
 <211> 336
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人類IGHV3-66 IGHJ4受體構架

<400> 137
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt agcaactaca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagtt atttatagcg gtggtagcac atactacgca 180
 gactccgtga agggcagatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctt 240
 caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag atactttgac 300
 tactggggcc aaggaaccct ggtcacctgc tcctca 336

<210> 138
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人類IGKV1-12 IGKJ2受體構架

<400> 138

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 139

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類IGKV1-12 IGKJ2受體構架

<400> 139

gacatccaga tgaccagtc tccatcttc ggtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc agctggtag cctggatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtccatca 180

aggttcagcg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccttacac ttttgccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 140

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類IGHV4-31 IGHJ6受體構架

<400> 140

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 141

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類IGHV4-31 IGHJ6受體構架

<400> 141

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtgggtggtt actactggag ctggatccgc 120

cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt ggtacatct attacagtgg gagcacctac 180

tacaacctgt ccccaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240

tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgiattactg tgcgagatac 300

tactactact acggtatgga cgtctggggg caagggacca cggcacctgt ctctca 357

<210> 142

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22杆輕鏈

<400> 142

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Ser Val Tyr Gly Asn Ala
 85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 143

<211> 657

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22杆輕鏈

<400> 143

gcagtgcagc tgactcagtc cccgtcctcc ctgtcggcct cagtgggaga tcgctgacc 60
 attacctgtc aagccagcga agatatctac accaacctcg cctggtacca gcagaaaccc 120
 gggaaaggctc cgaagctgct catctattgg gccagcacct tggcgtctgg cgtgccatcc 180
 cggttttccg gttcgggaag cggaaccgac ttcacgcita ccatttctc cctgcaacct 240
 gaggacttcg ccacttacta ctgccaagcc tccgtctacg ggaacgccgc ggactcaaga 300
 tacactttcg gcgvcggaac caaggtcgaa atcaagcgta cggtagcggc cccatctgtc 360
 ttcattcttc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 480
 tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540
 agcagcacc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgccctcgaa 600
 gtcaccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt 657

<210> 144

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22杵重鏈

<400> 144

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Ile Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
 50 55 60

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

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

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
 355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 145

<211> 1338

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22杆重鏈

<400> 145

gaagtgcagc tcgtggagtc ggggggagga ctggtgcagc ccggaggttc cctgcgcttg 60
agctgtgcag tgtcaggctt ttcctgtcc tctacgcca tgatctgggt ccgccaagct 120
cctggaaagg ggctggaatg gatcggaatc atcgacatcg agggctccac ctactacgcc 180
tcatgggcca agggccggtt caccatttcc cgggataaca gcaagaacac tgtgtacctc 240
cagatgaact cgctgagggc cgaggacact gccgtgtatt actgcgcgcg ggacagattc 300
gtcggggtgg acattttcga cccgtggggt caaggcacc ttgtgaccgt ctcgagcgt 360
tctacaaagg gcccattcgt ctccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc 420
acagccgcc tgggtgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480
aactcaggcg cctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtctcagga 540
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca gcttgggcac gaagacctac 600
acctgcaacg tagatcacia gccagcaac accaagggtgg acaagagagt tgagtccaaa 660
tatggteccc catgcccacc atgcccagca cctgagttcc tggggggacc atcagtcttc 720

ctgttcccc caaaacccaa ggacactctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc 780
 gtgggtgggtgg acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc 840
 gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt 900
 gtggtcagcg tctcaccgt cctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 960
 aaggatatcca acaaaggcct cccgtcctcc atcgagaaaa ccatctcaa agccaaaggg 1020
 cagccccgag agccacaggt gtacaccctg ccccatccc aggaggagat gaccaagaac 1080
 caggtcagcc tgtggtagcct ggtcaaaggc ttctacceca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140
 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1200
 ggctccttct tctctacag caggctaacc gtggacaaga gcaggtggca ggagggggaat 1260
 gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc 1320
 tcctgtctc tgggtaaa 1338

<210> 146

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22白重鏈

<400> 146

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Ile Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
 50 55 60

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

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

Arg Asp Arg Phe Val Gly Val Asp Ile Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

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

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
 355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 147

<211> 1338

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22白重鏈

<400> 147

gaagtgcagc tcgtggagtc ggggggagga ctggtgcagc ccggaggttc cctgcgcttg	60
agctgtgcag tgtcaggctt ttcctgtcc tctacgcca tgatctgggt ccgccaagct	120
cctggaaagg ggctggaatg gatcggaatc atcgacatcg agggctccac ctactacgcc	180
tcatgggcca agggccggtt caccatttcc cgggataaca gcaagaacac tgtgtacctc	240
cagatgaact cgctgagggc cgaggacact gccgtgtatt actgcgcgcg ggacagattc	300
gtcggggtgg acattttcga cccgtggggt caaggcaccc ttgtgaccgt ctcgagcgt	360
tctacaaagg gcccatccgt cttccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc	420
acagccgccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg	480
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtccctcagga	540
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca gcttgggcac gaagacctac	600
acctgcaacg tagatcacia gccagcaac accaaggtag acaagagagt tgagtccaaa	660
tatggtcccc catgcccacc atgcccagca cctgagttcc tggggggacc atcagttctc	720
ctgttcccc caaaaccaa ggacactctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc	780
gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc	840
gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt	900
gtggtcagcg tctcaccgt cctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc	960
aaggtatcca acaaaggcct cccgtctctc atcgagaaaa ccacttcaa agccaaaggg	1020
cagccccgag agccacaggt gtacaccctg ccccatccc aggaggagat gaccaagaac	1080
caggtcagcc tgagctgcgc ggtcaaaggc ttctacceca gcgacatcgc cgtggagtgg	1140
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac	1200
ggctccttct tctctgtcag caggctaacc gtggacaaga gcaggtggca ggaggggaat	1260
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc	1320
tcctgtctc tgggtaaa	1338

<210> 148

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL13杵輕鏈

<400> 148

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

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

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

Tyr Tyr Thr Asp Ile Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 149

<211> 639

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL13杆輕鏈

<400> 149

gacatccaga tgaccagtc cccctctcc ctgtccgct ccgtgggcga cagggtgacc	60
atcacctgca aggcctccca gaacatcaac gagaacctgg actggtacca gcagaagccc	120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctactac accgacatcc tgcagaccgg cateccctcc	180
aggttctccg gctccggctc cggcaccgac tacacctga ccatctctc cctgcagccc	240
gaggactteg ccacctacta ctgctaccag tactactccg gctacacctt cggccagggc	300
accaagctgg agatcaagcg tacggtagcg gcccacatcg tcttcatctt cccgcatct	360
gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgcagaataa cttctatecc	420
agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag	480
agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg	540
agcaaagcag actacagaaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcacca tcagggcctg	600
agctcggccc tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgt	639

<210> 150
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> IL13杵重鏈

<400> 150

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Phe His Tyr Asp Gly Ala Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

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

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 180 185 190

Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
 210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
 260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
 340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
 355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
 405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440

<210> 151

<211> 1329

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL13杆重鏈

<400> 151

gagggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ccggctcctc cgtgaaggtg 60

tcttgcaagg cctccggcta ctcttcacc tctactaca tccactgggt gaggcaggcc 120

cccggccagg gcctggagtg gatgggcagg atcggccccg gctccggcga cateaactac 180

aacgagaagt tcaagggcag ggccacctic accgtggaca agtccacctic caccgcctac 240

atggagctgt cctccctgag gtccgaggac accgcccgtgt actactgcgc caggttccac 300

tacgacggcg ccgactgggg ccagggcacc ctggtgaccg tctcgagcgc ttctacaaag 360

ggcccatecg tcttccccct ggcgcccctgc tccaggagca cctccgagag cacagccgcc 420

ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggatga cggtgtcgtg gaactcaggc 480

gcctgacca gcgcgctgca caccttcccc getgtectac agtctcagg actctactec 540

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cgaagacctc cacctgcaac 600

gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagtccaa atatggtccc 660
 ccatgcccac catgcccagc acctgagttc ctggggggac catcagtctt cctgttcccc 720
 ccaaaaccca aggacactct catgatctcc cggaccctg aggtcacgtg cgtggtggtg 780
 gacgtgagcc aggaagacc caggtccag ttcaactggt acgtggatgg cgtggaggtg 840
 cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc 900
 gtctcaccg tctgcacca ggactggctg aacggcaagg agtacaagtg caaggatcc 960
 aacaaaggcc tcccgtctc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga 1020
 gagccacagg tgtacacct gcccccacc caggaggaga tgaccaaga ccaggtcagc 1080
 ctgtgggtgc tggtaaaagg cttctacccc agcgacatcg cctggagtg ggagagcaat 1140
 gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga cggtccttc 1200
 ttctctaca gcagctaac cgtggacaag agcaggtggc aggaggggaa tgtcttctca 1260
 tgtctcgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacac agaagagcct ctccctgtct 1320
 ctgggtaaa 1329

<210> 152

<211> 443

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL13白重鏈

<400> 152

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Phe His Tyr Asp Gly Ala Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

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

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 180 185 190

Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
 210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
 260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
 340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe
 355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 385 390 395 400

Phe Leu Val Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
 405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440

<210> 153
 <211> 1329
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> IL13白重鏈

<400> 153
 gaggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ccggctcctc cgtgaagggtg 60
 tcttgcaagg cctccggcta ctcttcacc tctactaca tccactgggt gaggcaggcc 120
 cccggccagg gcctggagtg gatgggcagg atcggccccg gctccggcga catcaactac 180
 aacgagaagt tcaagggcag ggccaccttc accgtggaca agtccacctc caccgcctac 240
 atggagctgt cctccctgag gtccgaggac accgcccgtg actactgcgc caggttccac 300
 tacgacggcg ccgactgggg ccagggcacc ctggtgaccg tctcgagcgc ttctacaag 360
 ggcccatccg tcttccccct ggcgccctgc tccaggagca cctccgagag cacagccgcc 420
 ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggatga cgggtgctgt gaactcaggc 480
 gcctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540
 ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cgaagacctc cacctgcaac 600
 gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagtcaa atatggtccc 660
 ccatgcccac catgcccagc acctgagttc ctggggggac catcagtctt cctgttcccc 720
 ccaaaacceca aggacactct catgatctcc cggacccctg aggtcacgtg cgtggtgggtg 780
 gacgtgagcc aggaagacc caggtccag tccaactggt acgtggatgg cgtggaggtg 840
 cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc 900
 gtctcaccg tctgcacca ggactggctg aacggcaagg agtacaagt caaggtatcc 960
 aaaaaggcc tcccgtctc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga 1020
 gagccacagg tgtacacct gccccatcc caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc 1080
 ctgagctgcg cgggtcaaagg ctcttcccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1140
 gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga cggctccttc 1200
 ttctctgtea gcaggctaac cgtggacaag agcaggtggc aggaggggaa tgtcttctca 1260

tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacac agaagagcct ctccctgtct 1320

ctgggtaaa 1329

<210> 154

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22肽72-84

<400> 154

Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His Gly Val Ser

1 5 10

<210> 155

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22肽72-85

<400> 155

Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His Gly Val Ser Met

1 5 10

<210> 156

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22肽75-84

<400> 156

Ile Gly Glu Lys Leu Phe His Gly Val Ser

1 5 10

<210> 157

<211> 11

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL22肽75-85

<400> 157

Ile Gly Glu Lys Leu Phe His Gly Val Ser Met
1 5 10

<210> 158
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL22肽76-84

<400> 158

Gly Glu Lys Leu Phe His Gly Val Ser
1 5

<210> 159
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL22肽80-85

<400> 159

Phe His Gly Val Ser Met
1 5

<210> 160
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL22肽126-139

<400> 160

Ser Asn Arg Leu Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu
1 5 10

<210> 161

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22肽101-111

<400> 161

Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe
1 5 10

<210> 162

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22肽103-115

<400> 162

Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro Tyr Met
1 5 10

<210> 163

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22肽103-117

<400> 163

Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro Tyr Met Gln Glu
1 5 10 15

<210> 164

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22肽43-58

<400> 164

Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met
 1 5 10 15

<210> 165

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL22肽105-117

<400> 165

Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro Tyr Met Gln Glu
 1 5 10

<210> 166

<211> 1422

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 用於短暫表現之輕鏈

<400> 166

gcggtgcagc tgactcagtc accgtcctcg ctttccgctt ccgtgggaga cagagtgacc 60

atcacctgtc aagcctccga agatatctac accaacctcg cctggtacca gcagaagccc 120

ggaaaggccc caaagctggt gatctactgg gcgtctacc tcgcctccgg ggtgccgctc 180

cgctttagcg gttcgggatc cggcaccgac ttcacctga ctattagcag cctgcagcct 240

gaggacttcg ccacttatta ctgccaagca tccgtctacg ggaacgccgc cgattcacgg 300

tacaccttcg gcggcggaac gaaagtcgag attaaagcgt cggtagcggc cccatctgtc 360

ttcattctcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420

ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgcctccaa 480

tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg 540

agcagcacc tgacgctgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgtc cgccctgcgaa 600
 gtcacccatc agggcctgag ctcaccagta acaaaaagtt ttaatagagg ggagtgtagc 660
 ggtggcggtg gctccgggtg tggcggttca gaggtgcagc tgggtgcagtc cggcgcggag 720
 gtgaagaagc ccggctcttc cgtgaagggtg tcttgcaagg cctccggcta ctcttcacc 780
 tcctactaca tccactgggt gaggcaggcc cccggccagt gcctggagtg gatgggcagg 840
 atcggccccg gctccggcga catcaactac aacgagaagt tcaagggcag ggccaccttc 900
 accgtggaca agtccacctc caccgcctac atggagctgt cctccctgag gtccgaggac 960
 accgccgtgt actactgctc caggttccac tacgacggcg ccgactgggg ccagggcacc 1020
 ctggtgaccg tgtctccgg aggtggcgggt tctggcggtg gcggttccgg tggcgggtgga 1080
 tcgggagggtg gcggttctga catccagatg acccagtccc cctcctcct gtccgcctcc 1140
 gtgggcgaca ggggtgacat cacctgcaag gcctcccaga acatcaacga gaacctggac 1200
 tggfaccagc agaagcccgg caaggccccc aagctgctga tctactacac cgacatctg 1260
 cagaccggca tccctccag gttctccggc tccggtccg gcaccgacta caccctgacc 1320
 atctctccc tgcagcccga ggacttcgcc acctactact gctaccagta ctactccggc 1380
 tacaccttcg gctgcggcac caagctggag atcaagcgtc cc 1422

<210> 167

<211> 1458

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 用於短暫表現之重鏈

<400> 167

gaggtgcagc tcgtggaatc cggcgcggga ctggtgcagc cggcgggatc cctgcggctg 60
 tctgcgccg tgtcgggttt ticcctgtcc tcatacgcca tgatctgggt cagacaggca 120
 cctgggaagg gtctggagtg gattggcadc atcgacatcg aagggtcgac ctactacgcg 180
 agctgggcca aggggaaggtt caccattagc cgggacaaca gcaagaacac cgtgtacctt 240
 caaatgaact cctccgggc cgaagatacc gccgtgtatt actgtgctcg cgaccgcttc 300

gtgggagtgg acatcttcga tcctgggga cagggaactt tggtcactgt ctcgagcgcg 360
tccacaaagg gcccatcggg cttccccctg gcacctcct ccaagagcac ctctgggggc 420
acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccagtac ggtgtcgtgg 480
aactcaggtg ccctgaccag cggcggtcac accttcccgg ctgtcctaca gtcttcagga 540
ctctactccc tgagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca gcttgggcac ccagacctac 600
atctgcaacg tgaatcacia gccagcaac accaaggctc ataagaaagt tgagcccaaa 660
tctttagcgt gtggcgggtg ctcgggtggg ggcggttcag aagtgagtt gctggagtca 720
ggtggagggc tgggtcagcc cggaggatcg ctgcggttgt catgcgcggt gtccggtatt 780
gatttgtcca attacccat caattgggta cgccaagcgc cagggaagt ccttgagtgg 840
attggcatca tctgggcgtc ggggacgacc ttttatgcta cttgggcaa aggaagattc 900
acaatctccc gagacaactc gaagaacacc gigtatctc aaatgaactc gctcagggcc 960
gaggacacgg cggctacta ctgtgcacgg acagtgccgg gttattcaac ggcaccttac 1020
tttgatcttt ggggccaggg gacctcgtg actgtctcaa gtggaggtgg cggttctggc 1080
ggtggcgggt ccggtggcgg tggatcggga ggtggcgggt ctgatattca gatgacgcaa 1140
tcaccttcga gcgtatccgc ctcggtggga gacagggtga caatcacttg tcagtcatec 1200
ccctcagtct ggagcaactt tttgtcatgg taccagcaga agccccgaaa ggctccgaaa 1260
ttgtgatct acgaggcatc gaagttgac agcgggtgac caagcagatt ctccggttcg 1320
gggtcgggaa ctgacttcac cttacgac tcatecgtgc agccggagga ttttgcgacc 1380
tactactgtg ggggtgggta ttcgtcgatt tccgacaaa cattcgggtg cggcacgaaa 1440
gtgaaatca agcgtacc 1458

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種多特異性抗體，其包含至少兩個抗原結合域，其中一個抗原結合域結合於IL13 (IL13結合域)且第二抗原結合域結合於IL22 (IL22結合域)。

【請求項2】

如請求項1之多特異性抗體，其中IL13為人類及/或食蟹獼猴IL13，且IL22為人類及/或食蟹獼猴IL22。

【請求項3】

如請求項1或2之多特異性抗體，其中各抗原結合域包含兩個抗體可變域。

【請求項4】

如請求項3之多特異性抗體，其中該兩個抗體可變域為VH/VL對。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之多特異性抗體，其中該IL13結合域及該IL22結合域係獨立地選自Fab、scF、Fv、dsFv及dsscFv。

【請求項6】

如請求項1至5中任一項之多特異性抗體，其中該多特異性抗體中和一或多種IL13及/或IL22活性。

【請求項7】

如請求項6之多特異性抗體，其中該抗體能夠抑制或減弱IL22與IL22受體1 (IL22R1)之結合。

【請求項8】

如請求項6之多特異性抗體，其中該抗體結合於IL22上之一個區域，使得該結合在空間上阻斷IL22與IL22R1之間的相互作用。

【請求項9】

如請求項6之多特異性抗體，其中該抗體能夠抑制或減弱IL22與IL22結合蛋白質(IL22RA2)之結合。

【請求項10】

如請求項6至9中任一項之多特異性抗體，其中該抗體能夠抑制或減弱IL13與IL13R α 1之結合。

【請求項11】

如請求項1至10中任一項之多特異性抗體，其中該結合於IL22之抗原結合域針對人類IL22之解離平衡常數(KD)小於100 pM。

【請求項12】

如請求項1至10中任一項之多特異性抗體，其中該結合於IL13之抗原結合域針對人類IL13之解離平衡常數(KD)小於100 pM。

【請求項13】

如請求項1至12中任一項之多特異性抗體，其中該IL22結合域結合於IL22上之抗原決定基，該抗原決定基包含對應於由SEQ ID NO:1定義之IL22之胺基酸序列之殘基72-85的多肽VRLIGEKLFHGVSM (SEQ ID NO:155)內之5個或更多個殘基。

【請求項14】

如請求項1至12中任一項之多特異性抗體，其中該IL22結合域特異性結合於該多肽VRLIGEKLFHGVSM (SEQ ID NO:155)。

【請求項15】

如請求項1至12中任一項之多特異性抗體，其中該IL22結合域結合於人類IL22之抗原決定基，該抗原決定基包含選自以下之5個或更多個殘基：人類IL22(SEQ ID NO:1)之Lys44、Phe47、Gln48、Ile75、Gly76、Glu77、Phe80、His81、Gly82、Val83、Ser84、Met85、Ser86、Arg88、Leu169、Met172、Ser173、Arg175、Asn176及Ile179，如以該抗體與IL22之間小於5 Å接觸距離之距離測定。

【請求項16】

如請求項1至15中任一項之多特異性抗體，其額外包含結合於血清白蛋白之第三抗原結合域(白蛋白結合域)。

【請求項17】

如請求項16之多特異性抗體，其包含

a) 式(Ia)之多肽鏈：

$V_H-CH_1-X-V_1$ ；及

b) 式(IIa)之多肽鏈：

$V_L-CL-Y-V_2$ ；

其中：

V_H 表示重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區之域1；

X表示一鍵或連接子；

Y表示一鍵或連接子；

V_1 表示scFv、dsscFv或dsFv；

V_L 表示輕鏈可變域；

CL 表示來自輕鏈恆定區之域，諸如 $C\kappa$ ；

V_2 表示scFv、dsscFv或dsFv；

其中V1或V2中之至少一者為dsscFv或dsFv。

【請求項18】

如請求項17之多特異性抗體，其中：

V_L 及 V_H 包含結合於IL22之抗原結合域，

V_2 包含結合於IL13之抗原結合域，及

V_1 包含結合於血清白蛋白之抗原結合域。

【請求項19】

如請求項1至15中任一項之多特異性抗體，其包含：

a) 式(III)之多肽鏈：

$VH_1-CH_1-CH_2-CH_3$ ；

b) 式(IV)之多肽鏈：

VL_1-C_L ；

c) 式(V)之多肽鏈：

$VH_2-CH_1-CH_2-CH_3$ ；及

d) 式(VI)之多肽鏈：

VL_2-C_L ；

其中：

VH_1 及 VH_2 表示重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區之域1；

CH_2 表示重鏈恆定區之域2；

CH_3 表示重鏈恆定區之域3；

VL_1 及 VL_2 表示輕鏈可變域；

C_L 表示來自輕鏈恆定區之域，諸如 C_{κ} ；

且其中 VH_1 及 VL_1 包含IL22結合域，且 VH_2 及 VL_2 包含IL13結合域，且其中式III及V之多肽為一對重鏈多肽，其中一個多肽包含 CH_3 域中之杵取代T366W且另一個多肽包含 CH_3 域中之白取代T366S、L368A及Y407V，其中編號係根據如Kabat中之EU。

【請求項20】

如請求項1至19中任一項之多特異性抗體，其中該IL22結合域包含輕鏈可變區，其包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:8，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:9，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:10；

及重鏈可變區，其包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:11，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:12，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:13。

【請求項21】

如請求項1至20中任一項之多特異性抗體，其中該IL13結合域包含輕鏈可變區，其包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:22，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:23，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:24；

及重鏈可變區，其包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:25，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:26，及
CDR-H3，其包含SEQ ID NO:27。

【請求項22】

如請求項16至18中任一項之多特異性抗體，其中該白蛋白結合域包含輕鏈可變區，其包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:40，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:41，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:42；

及重鏈可變區，其包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:43，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:44，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:45。

【請求項23】

如請求項20至22中任一項之多特異性抗體，其中各CDR含有至多三個胺基酸取代，其中此類胺基酸取代為保守性的。

【請求項24】

如請求項1至19中任一項之多特異性抗體，其中該IL22結合域包含有包含SEQ ID NO:14中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:16中所提供之序列之重鏈可變區。

【請求項25】

如請求項1至19中任一項之多特異性抗體，其中該IL22結合域包含有分別包含SEQ ID NO:8/9/10/11/12/13之CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列，且該輕鏈可變區及該重鏈可變區之其餘部分

分別與SEQ ID NO:14及16具有至少90%一致性或類似性。

【請求項26】

如請求項1至19中任一項之多特異性抗體，其中該IL22結合域為Fab，該Fab包含有包含SEQ ID NO:18中所提供之序列之輕鏈及包含SEQ ID NO:20中所提供之序列之重鏈。

【請求項27】

如請求項1至19中任一項之多特異性抗體，其中該IL13結合域包含有包含SEQ ID NO:28中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:29中所提供之序列之重鏈可變區。

【請求項28】

如請求項1至19中任一項之多特異性抗體，其中該IL13結合域包含有分別包含SEQ ID NO:22/23/24/25/26/27之CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列，且該輕鏈可變區及該重鏈可變區之其餘部分分別與SEQ ID NO:28及29具有至少90%一致性或類似性。

【請求項29】

如請求項1至19中任一項之多特異性抗體，其中該IL13結合域包含有包含SEQ ID NO:32中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:33中所提供之序列之重鏈可變區。

【請求項30】

如請求項1至19中任一項之多特異性抗體，其中該IL13結合域包含有分別包含SEQ ID NO:22/23/24/25/26/27之CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列，且該輕鏈可變區及該重鏈可變區之其餘部分分別與SEQ ID NO:32及33具有至少90%一致性或類似性。

【請求項31】

如請求項1至19中任一項之多特異性抗體，其中該IL13結合域之輕鏈可變區及重鏈可變區係由連接子連接，該連接子包含SEQ ID NO:67中所提供之序列。

【請求項32】

如請求項1至19中任一項之多特異性抗體，其中該IL13結合域為包含SEQ ID NO:36中所提供之序列之scFv或包含SEQ ID NO:38中所提供之序列之dsscFv。

【請求項33】

如請求項1至19中任一項之多特異性抗體，其中
該IL22結合域包含

包含SEQ ID NO:14中所提供之序列之輕鏈可變區，及
包含SEQ ID NO:16中所提供之序列之重鏈可變區；及

該IL13結合域包含

包含SEQ ID NO:28或32中所提供之序列之輕鏈可變區，及
包含SEQ ID NO:29或33中所提供之序列之重鏈可變區。

【請求項34】

如請求項1至19中任一項之多特異性抗體，其中

(i) 該IL22結合域為Fab，該Fab包含有包含SEQ ID NO:18中所提供之序列之輕鏈及包含SEQ ID NO:20中所提供之序列之重鏈；及

(ii) 該IL13結合域為包含SEQ ID NO:36中所提供之序列之scFv或包含SEQ ID NO:38中所提供之序列之dsscFv。

【請求項35】

如請求項16至18中任一項之多特異性抗體，其中該白蛋白結合域包含有包含SEQ ID NO:46中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:47中所提供之序列之重鏈可變區。

【請求項36】

如請求項16至18中任一項之多特異性抗體，其中該白蛋白結合域包含有包含SEQ ID NO:50中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:51中所提供之序列之重鏈可變區。

【請求項37】

如請求項16至18中任一項之多特異性抗體，其中該白蛋白結合域之輕鏈可變區及重鏈可變區係由連接子連接，該連接子包含SEQ ID NO:69中所提供之序列。

【請求項38】

如請求項16至18中任一項之多特異性抗體，其中該白蛋白結合域為包含SEQ ID NO:54中所提供之序列之scFv或包含SEQ ID NO:56中所提供之序列之dsscFv。

【請求項39】

如請求項17或18之多特異性抗體，其中Y為包含SEQ ID NO:66中所提供之序列之連接子。

【請求項40】

如請求項17或18之多特異性抗體，其中X為包含SEQ ID NO:68中所提供之序列之連接子。

【請求項41】

如請求項17或18之多特異性抗體，其包含SEQ ID NO:58或SEQ ID

NO:60中所提供之序列。

【請求項42】

如請求項17或18之多特異性抗體，其包含SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:64中所提供之序列。

【請求項43】

如請求項17或18之多特異性抗體，其包含SEQ ID NO:60中所提供之序列且包含SEQ ID NO:64中所提供之序列。

【請求項44】

一種經分離之多核苷酸，其編碼如請求項1至43中任一項之多特異性抗體或其多肽鏈。

【請求項45】

一種表現載體，其攜帶如請求項44之多核苷酸。

【請求項46】

一種宿主細胞，其包含如請求項45之載體。

【請求項47】

一種用於製備如請求項1至43中任一項之多特異性抗體之方法，其包含在允許製備該抗體之條件下培養如請求項46之宿主細胞，及回收所製備之抗體。

【請求項48】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至43中任一項之多特異性抗體及醫藥學上可接受之佐劑及/或載劑。

【請求項49】

如請求項1至43中任一項之多特異性抗體或如請求項48之醫藥組合

物，其係用於藉由療法來治療人類或動物身體之方法中。

【請求項50】

如請求項1至43中任一項之多特異性抗體或如請求項48之醫藥組合物，其係用作藥劑。

【請求項51】

一種如請求項1至43中任一項之多特異性抗體或如請求項48之醫藥組合物之用途，其係用於製造藥劑。

【請求項52】

如請求項1至43中任一項之多特異性抗體或如請求項48之醫藥組合物，其係用於治療或預防發炎性皮膚病狀。

【請求項53】

一種用於治療或預防發炎性皮膚病狀之方法，其包含向有需要之患者投與治療有效量之如請求項1至43中任一項之多特異性抗體或如請求項48之醫藥組合物。

【請求項54】

一種如請求項1至43中任一項之多特異性抗體或如請求項48之醫藥組合物之用途，其係用於製造用以治療發炎性皮膚病狀之藥劑。

【請求項55】

如請求項52之多特異性抗體或醫藥組合物、如請求項53之方法或如請求項54之用途，其中該發炎性皮膚病狀為牛皮癬、牛皮癬性關節炎、接觸性皮炎、慢性手部濕疹或異位性皮炎。

【請求項56】

一種醫藥組合物，其包含結合於IL13之抗體及結合於IL22之抗體。

【請求項57】

如請求項56之醫藥組合物，其中該結合於IL13之抗體中和IL13，且該結合於IL22之抗體中和IL22。

【請求項58】

如請求項56之醫藥組合物，其中各抗體包含兩個抗體可變域。

【請求項59】

如請求項58之醫藥組合物，其中該兩個抗體可變域為VH/VL對。

【請求項60】

如請求項56至59中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL13之抗體及該結合於IL22之抗體係獨立地選自全長抗體、Fab、scFv、Fv、dsFv及dsscFv。

【請求項61】

如請求項56至60中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL22之抗體能夠抑制或減弱IL22與IL22受體1 (IL22R1)之結合。

【請求項62】

如請求項56至61中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL22之抗體結合於IL22上之一個區域，使得該結合在空間上阻斷IL22與IL22R1之間的相互作用。

【請求項63】

如請求項56至60中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL22之抗體能夠抑制或減弱IL22與IL22結合蛋白質(L22RA2)之結合。

【請求項64】

如請求項56至60中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL13之抗體

能夠抑制或減弱IL13與IL13R α 1之結合。

【請求項65】

如請求項56至60中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL22之抗體針對IL22之解離平衡常數(KD)小於100 pM。

【請求項66】

如請求項56至60中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL13之抗體針對IL13之解離平衡常數(KD)小於100 pM。

【請求項67】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL22之抗體包含

輕鏈可變區，其包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:8，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:9，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:10；

及重鏈可變區，其包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:11，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:12，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:13。

【請求項68】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL13之抗體包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:22，

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:23，及

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:24；

及重鏈可變區，該重鏈可變區包含：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:25，

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:26，及

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:27。

【請求項69】

如請求項67或68之醫藥組合物，其中各CDR含有至多三個胺基酸取代，其中此類胺基酸取代為保守性的。

【請求項70】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL22之抗體包含有包含SEQ ID NO:14中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:16中所提供之序列之重鏈可變區。

【請求項71】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL22之抗體包含有分別包含SEQ ID NO:8/9/10/11/12/13之CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列，且該輕鏈可變區及該重鏈可變區之其餘部分分別與SEQ ID NO:14及16具有至少90%一致性或類似性。

【請求項72】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL22之抗體為Fab，該Fab包含有包含SEQ ID NO:18中所提供之序列之輕鏈及包含SEQ ID NO:20中所提供之序列之重鏈。

【請求項73】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL13之抗體

包含有包含SEQ ID NO:28中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:29中所提供之序列之重鏈可變區。

【請求項74】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL13之抗體包含有分別包含SEQ ID NO:22/23/24/25/26/27之CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列，且該輕鏈可變區及該重鏈可變區之其餘部分分別與SEQ ID NO:28及29具有至少90%一致性或類似性。

【請求項75】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL13之抗體包含有包含SEQ ID NO:32中所提供之序列之輕鏈可變區及包含SEQ ID NO:33中所提供之序列之重鏈可變區。

【請求項76】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL13之抗體包含有分別包含SEQ ID NO:22/23/24/25/26/27之CDR-L1/CDR-L2/CDR-L3/CDR-H1/CDR-H2/CDR-H3序列，且該輕鏈可變區及該重鏈可變區之其餘部分分別與SEQ ID NO:32及33具有至少90%一致性或類似性。

【請求項77】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL13之抗體之輕鏈可變區及重鏈可變區係由連接子連接，該連接子包含SEQ ID NO:67中所提供之序列。

【請求項78】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中該結合於IL13之抗體為包含SEQ ID NO:36中所提供之序列之scFv或包含SEQ ID NO:38中所

提供之序列之dsscFv。

【請求項79】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中

該結合於IL22之抗體包含

包含SEQ ID NO:14中所提供之序列之輕鏈可變區，及

包含SEQ ID NO:16中所提供之序列之重鏈可變區；及

該結合於IL13之抗體包含

包含SEQ ID NO:28或32中所提供之序列之輕鏈可變區，及

包含SEQ ID NO:29或33中所提供之序列之重鏈可變區。

【請求項80】

如請求項56至66中任一項之醫藥組合物，其中

(i) 該結合於IL22之抗體為Fab，該Fab包含有包含SEQ ID NO:18中所提供之序列之輕鏈及包含SEQ ID NO:20中所提供之序列之重鏈；及

(ii) 該結合於IL13之抗體為包含SEQ ID NO:36中所提供之序列之scFv或包含SEQ ID NO:38中所提供之序列之dsscFv。

【請求項81】

如請求項56至80中任一項之醫藥組合物，其係用作藥劑。

【請求項82】

如請求項56至80中任一項之醫藥組合物，其係用於治療或預防發炎性皮膚病狀。

【請求項83】

一種用於治療或預防發炎性皮膚病狀之方法，其包含向有需要之患者投與治療有效量之如請求項56至80中任一項之醫藥組合物。

【請求項84】

一種如請求項56至80中任一項之醫藥組合物之用途，其係用於製造藥劑。

【請求項85】

一種如請求項56至80中任一項之醫藥組合物之用途，其係用於製造用以治療發炎性皮膚病狀之藥劑。

【請求項86】

如請求項82之醫藥組合物、如請求項83之方法或如請求項85之用途，其中該發炎性皮膚病狀為牛皮癬、牛皮癬性關節炎、接觸性皮炎、慢性手部濕疹或異位性皮炎。

【請求項87】

一種用於治療有需要之受試者中之發炎性皮膚病狀之方法，該方法包含向該受試者投與治療有效量之結合於且中和IL13之抗體與結合於且中和IL22之抗體之組合。

【請求項88】

一種結合於且中和IL13之抗體與結合於且中和IL22之抗體之組合，其係用於治療發炎性皮膚病狀。

【請求項89】

一種結合於且中和IL13之抗體與結合於且中和IL22之抗體之組合之用途，其係用於製造用以治療發炎性皮膚病狀之藥劑。

【請求項90】

如請求項87之方法、如請求項88之組合或如請求項89之用途，其中該發炎性皮膚病狀為牛皮癬、牛皮癬性關節炎、接觸性皮炎、慢性手部濕

疹或異位性皮炎。

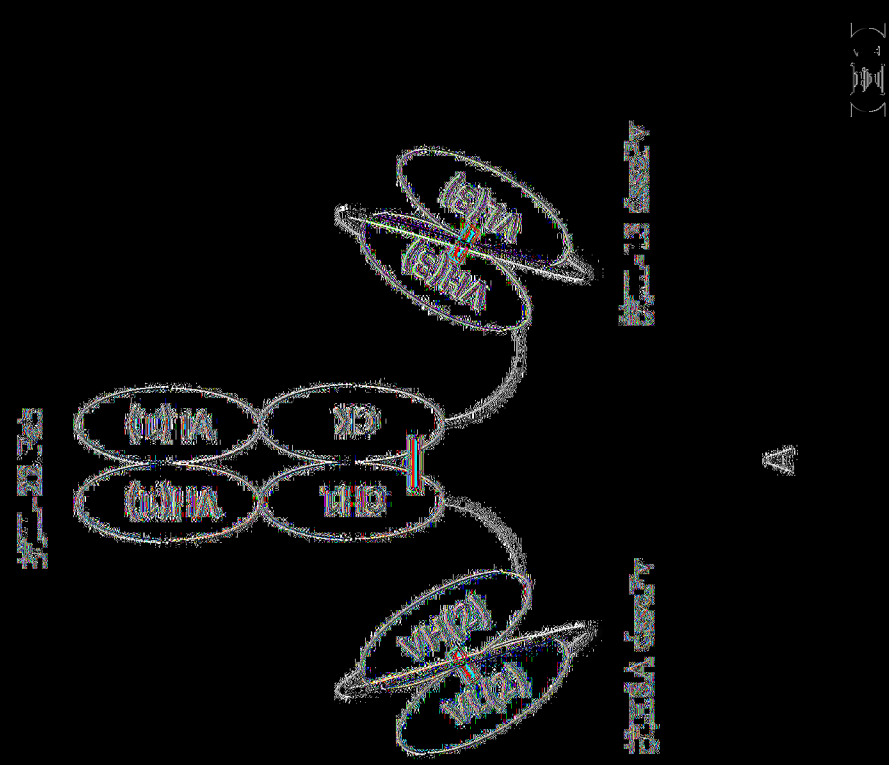
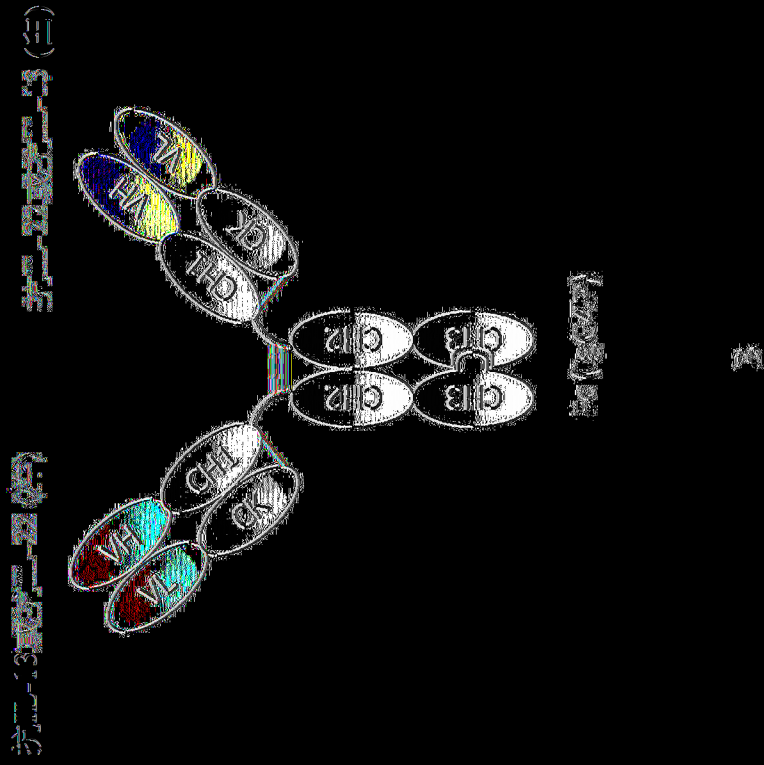
【請求項91】

如請求項87之方法、如請求項88之組合或如請求項89之用途，其中該組合中之各抗體係獨立地選自全長抗體、Fab、scFv、Fv、dsFv及dsscFv。

【請求項92】

如請求項87之方法、如請求項88之組合或如請求項89之用途，其中該組合中之各抗體係以醫藥組合物形式提供，該醫藥組合物包含醫藥學上可接受之賦形劑、稀釋劑或載劑中之一或多者。

(發明圖式)



A
輕鏈移植物650

1 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105
 CIOYIQSPFVLSASVGDVITSCKASQKXEXDWFQKCGEAKXIIIVYWDQQECPSSRFSGSGSGTDTSSIQFDVAIVVCGQVWSGWSFSGDGNLITK
 CIOYIQSPSSLSASVGDVITSCKASQSSSWAWYQKCGEAKXIIIVYASSTQSGVPSRFSGSGSGTDTSSIQFDVAIVVCGQSSWSRFSGQGNLITK
 CIOYIQSPSSLSASVGDVITSCKASQKXEXDWFQKCGEAKXIIIVYWDQQECPSSRFSGSGSGTDTSSIQFDVAIVVCGQVWSGWSFSGDGNLITK

說明

650 = 大鼠可變輕鏈序列。
650g18 = 使用CKKV1-39人類生殖系作為受體骨架之650可變輕鏈之人類移植物。

CDR以框體/下劃線表示。
突體殘基以框體/斜體表示：58及V71。

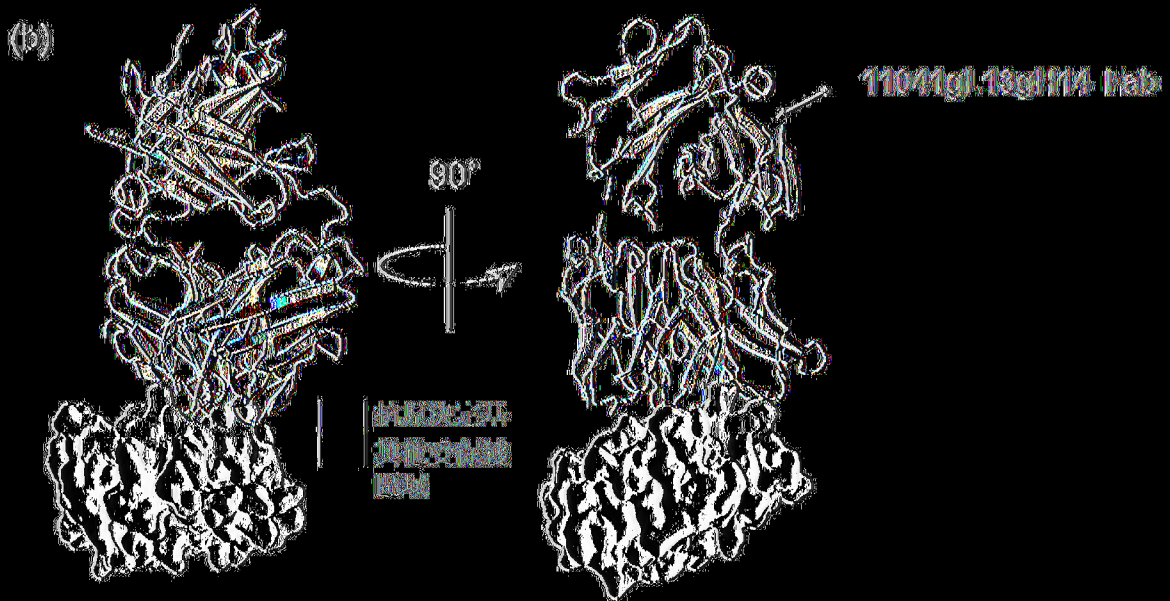
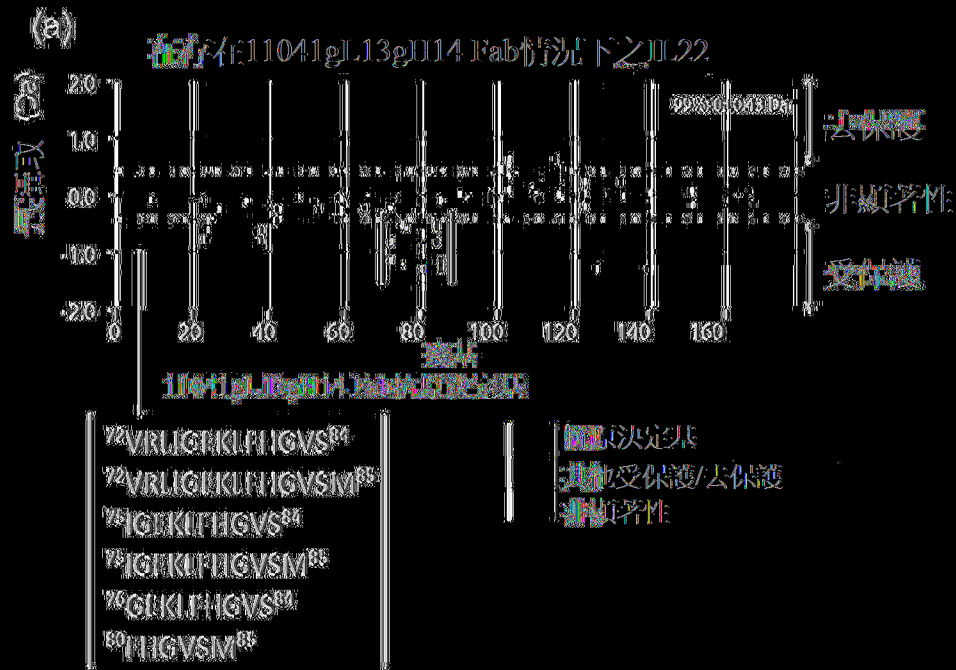
B
重鏈移植物650

1 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115
 QVQLQDSGAEVKKPGSSVYVSCKASGYSSTISWIKQRPGQELWIGKGGPGSDMANKKTKGKAFTVSKVFSAYVQSSSPEDTAVVCAKFTTQGAQWQGGTIVTVSS
 QVQLVQSGAEVKKPGSSVYVSCKASGGSTISWALSWVRQAQPGQLLWVCGSPGTFGFAVYAKKFGSRVITADKSTSTAVVTEISSRSIEDTAVVVCARWFDWVQGGTIVTVSS
 EVQLVQSGAEVKKPGSSVYVSCKASGYSSTISWIKQRPGQELWIGKGGPGSDMANKKTKGKAFTVSKVFSAYVQSSSPEDTAVVCAKFTTQGAQWQGGTIVTVSS

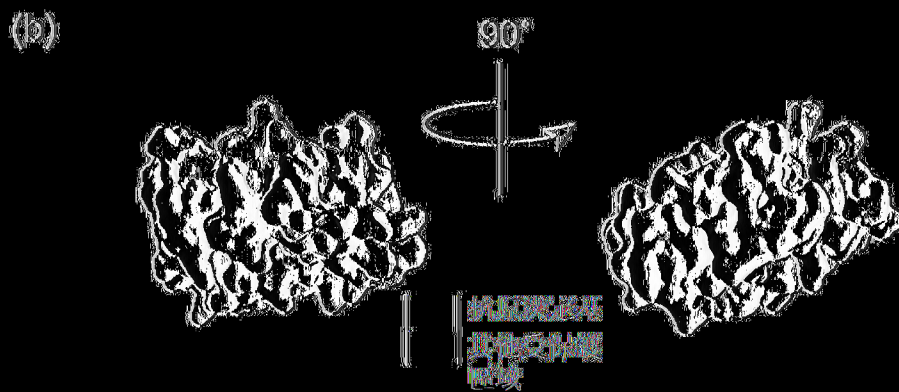
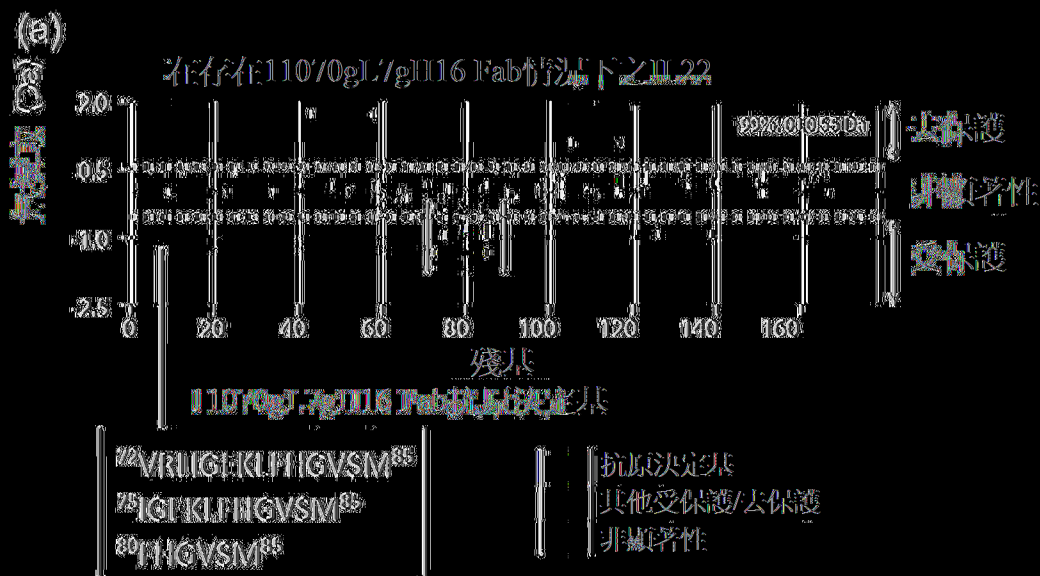
說明

650 = 大鼠可變重鏈序列。
650g19 = 使用CKKV1-69人類生殖系作為受體骨架之650可變重鏈之人類移植物。

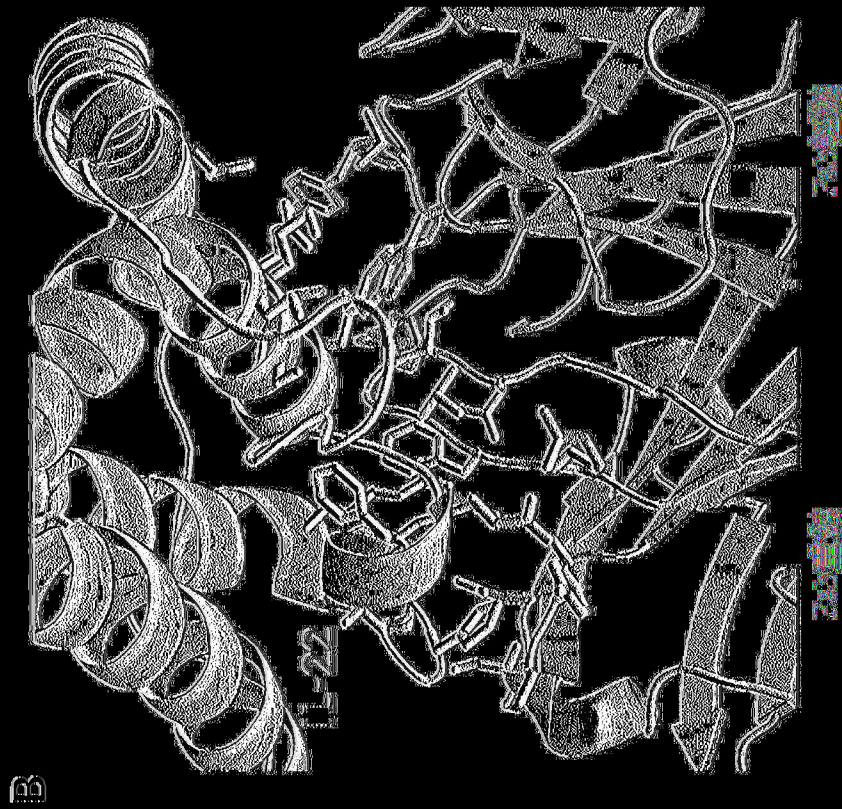
CDR以框體/下劃線表示。
突體殘基以框體/斜體表示：A67、I69及V71。



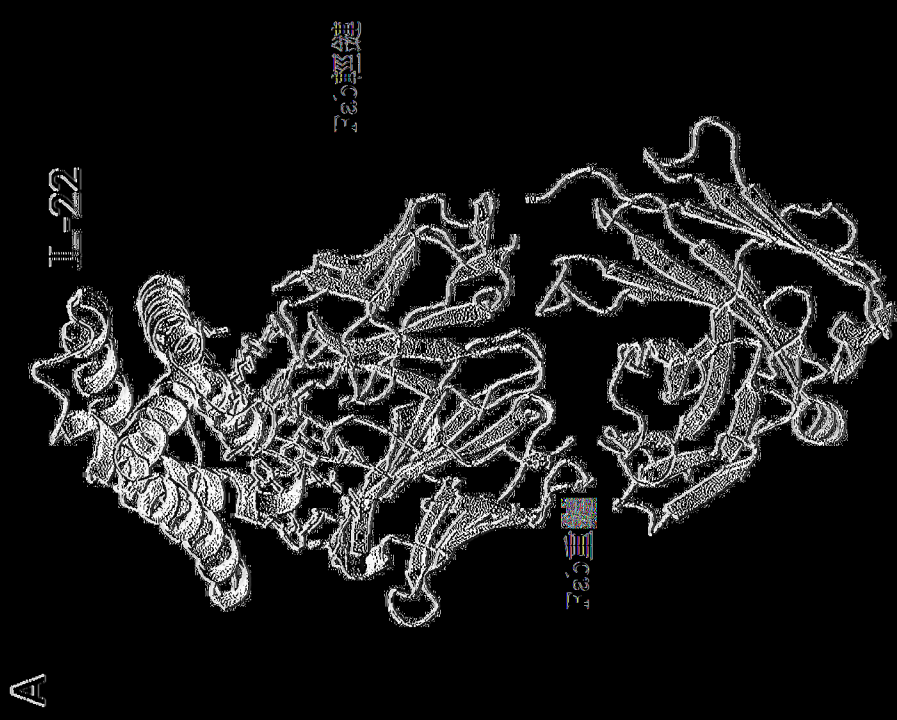
[(b)(7)]



(圖8)

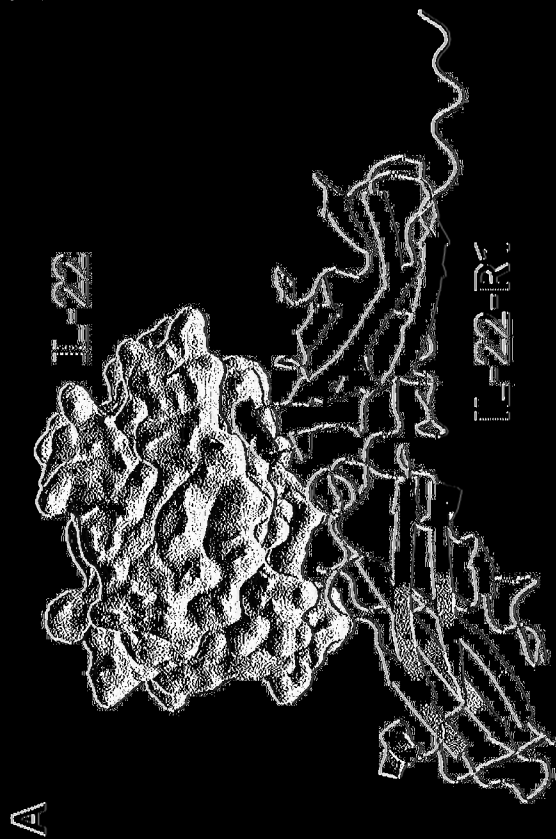
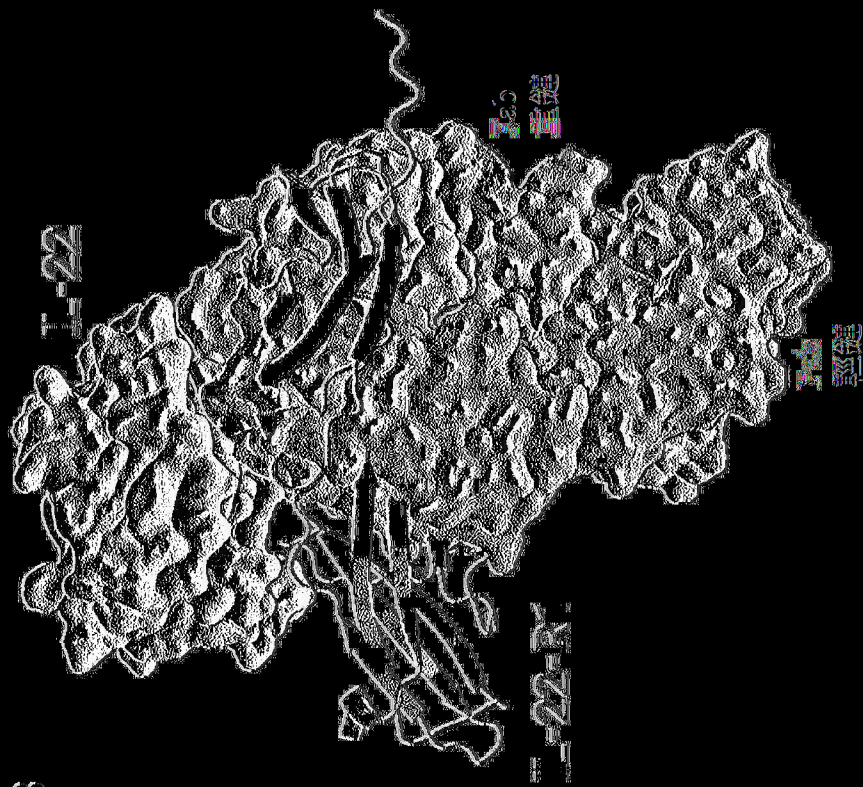


(B)

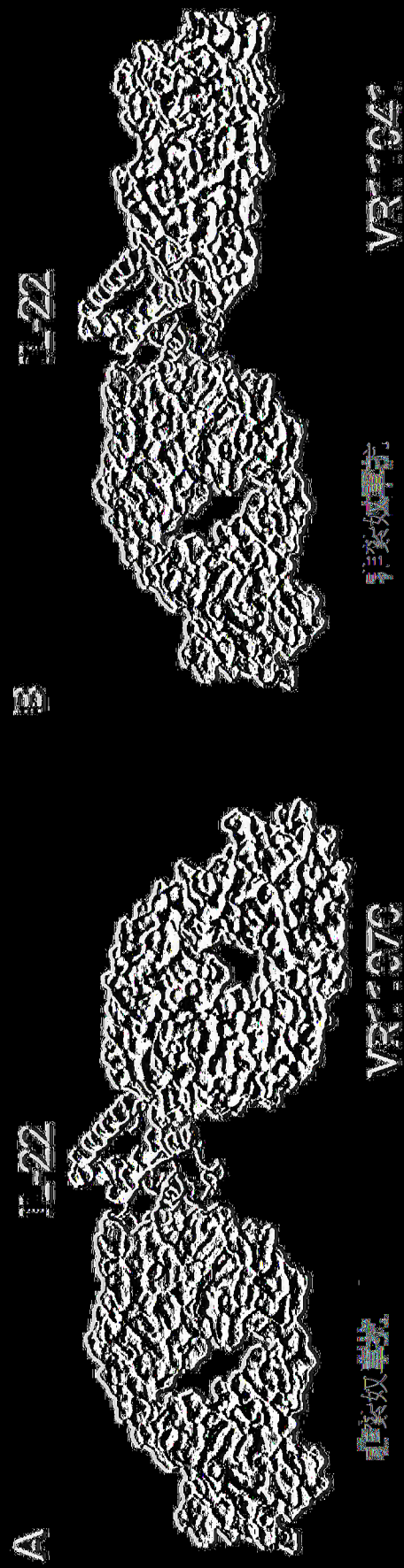


(A)

(6E)



(圖 10)



【圖1】

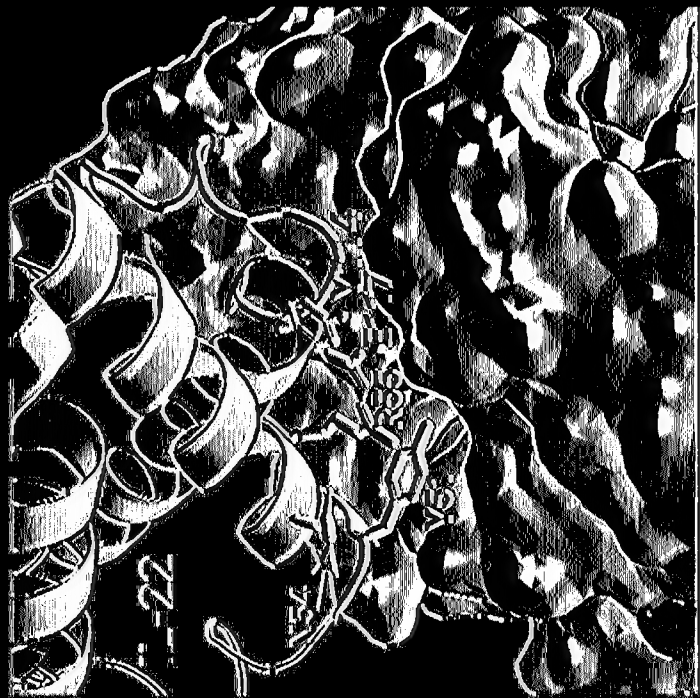
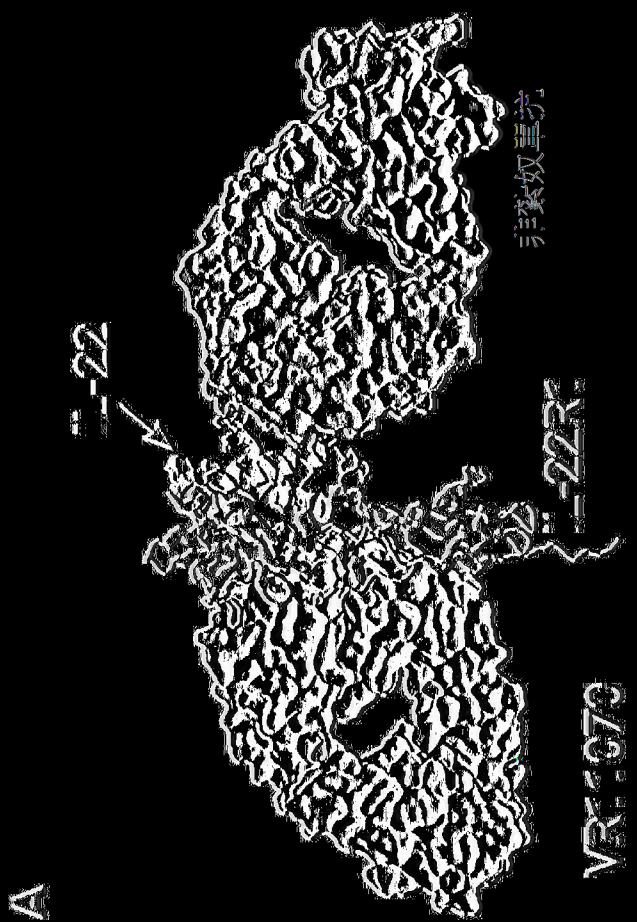
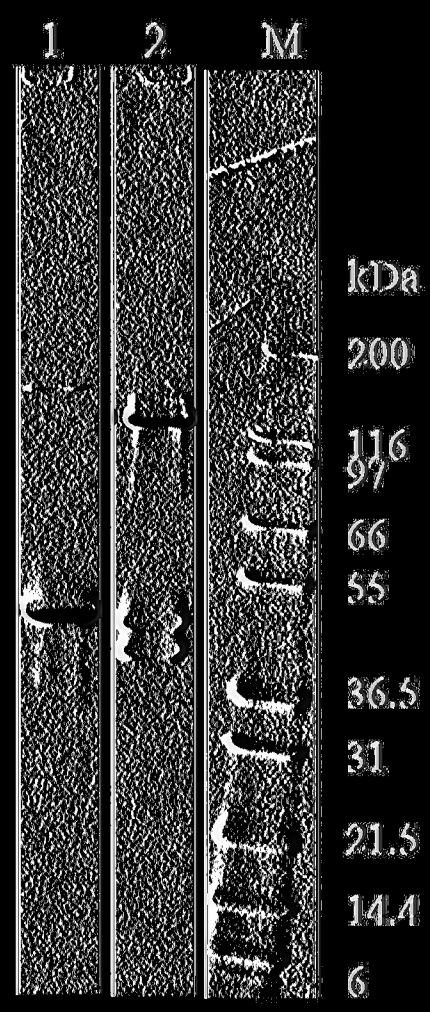


圖 2



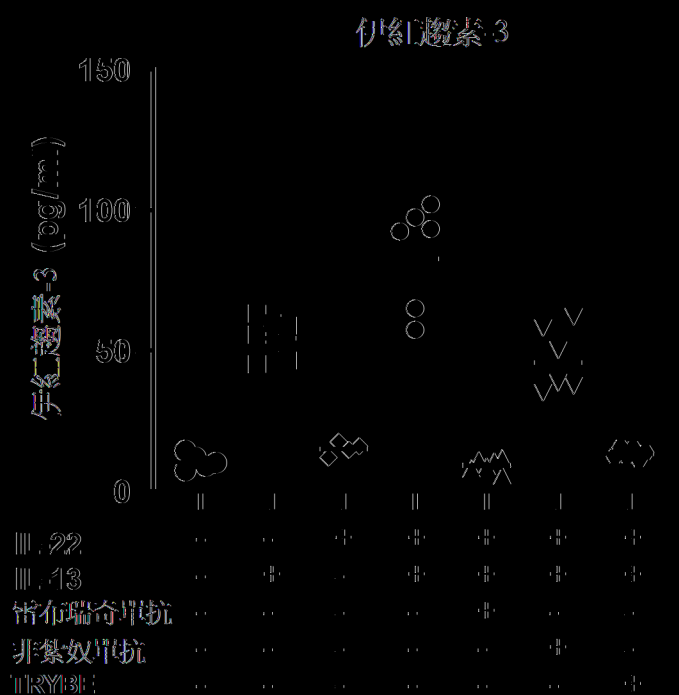
A

【圖 2】

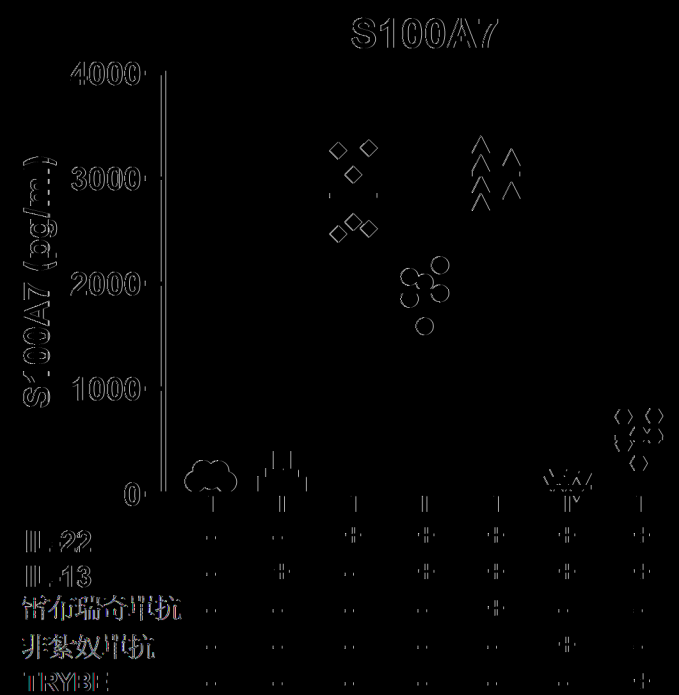


(圖13)

A



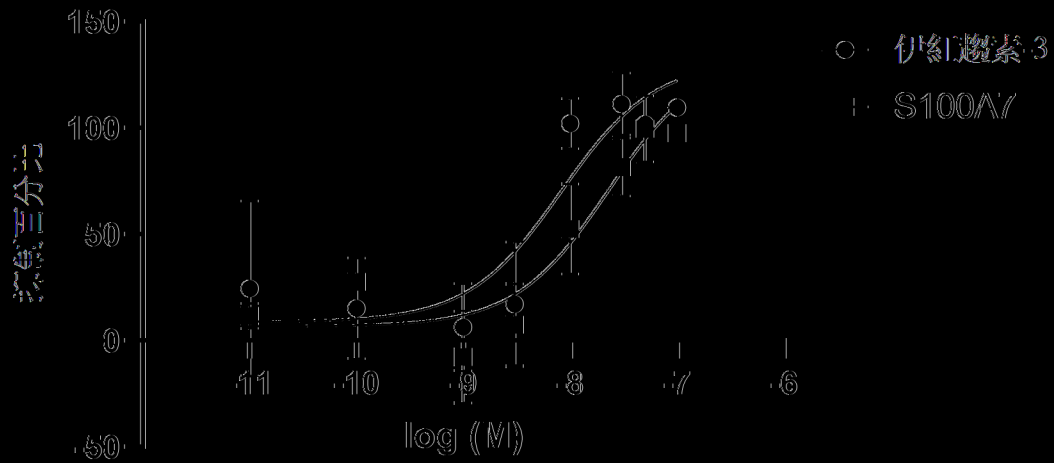
B



(圖 14)

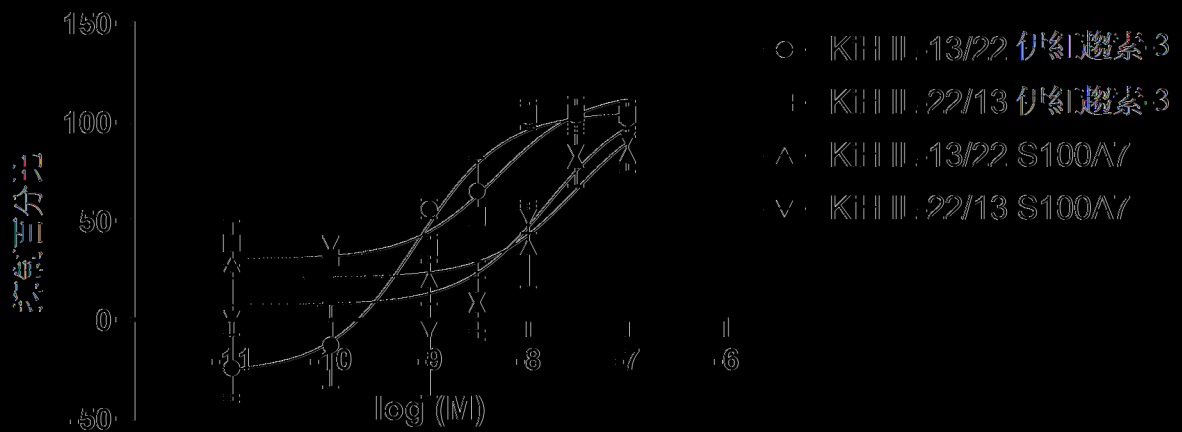
A

抑制百分比：III.13/III.22 TirYbc

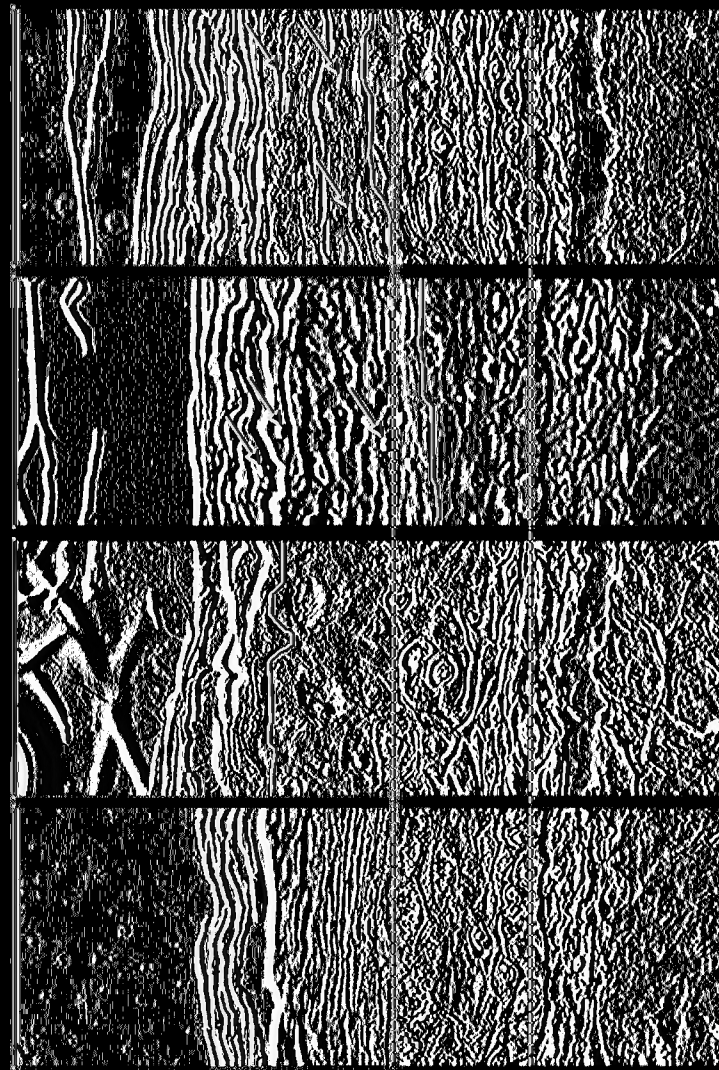


B

抑制百分比：III.13/III.22 KIII



(圖15)



1-23-1-22

1-22

1-23

1-23-1-22

(圖16)

角形不齊

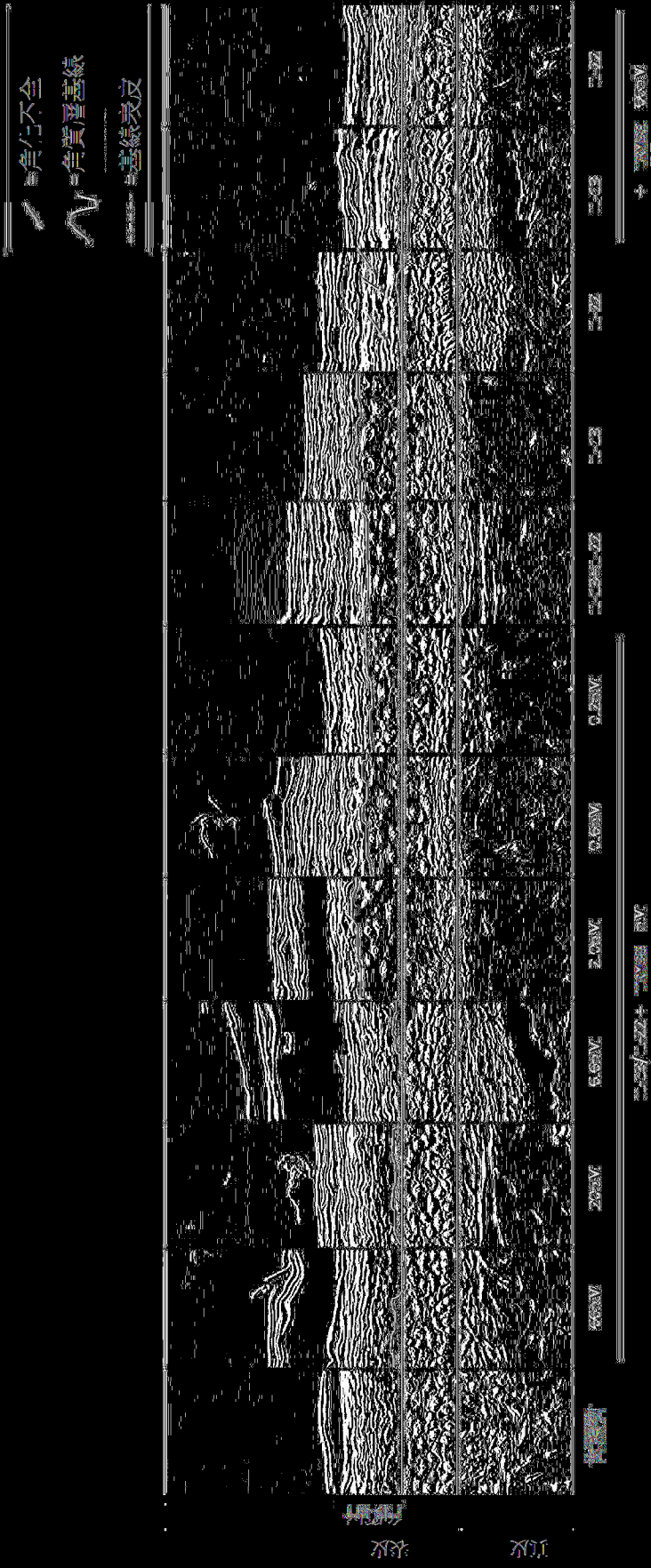
角質厚薄

連續紋皮



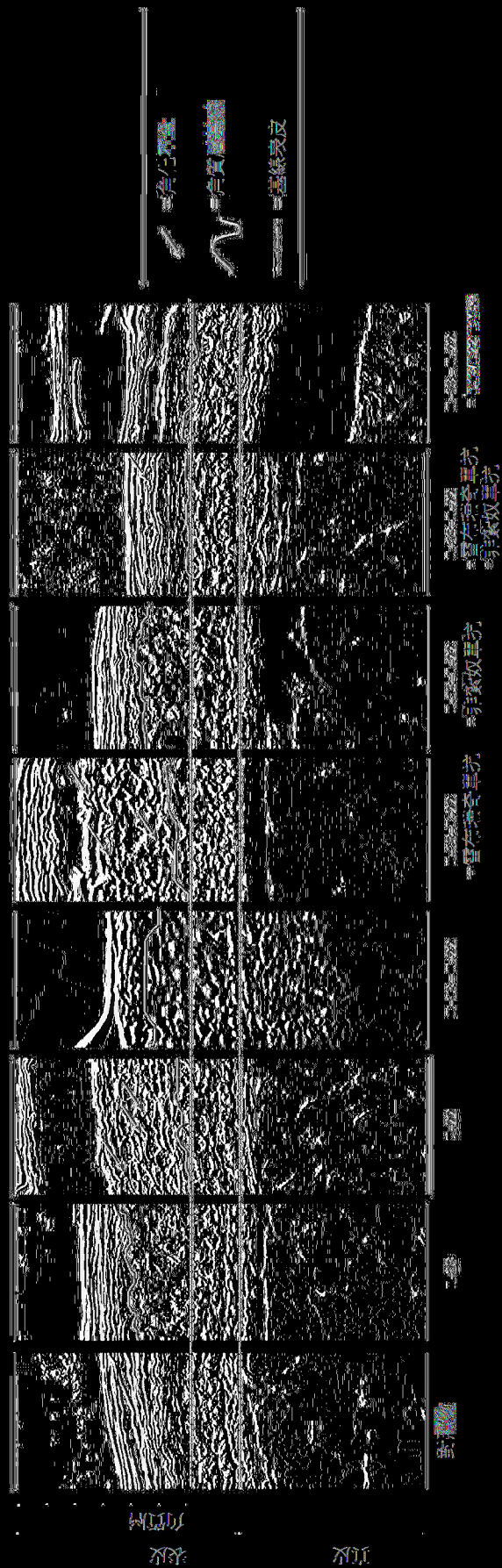
表皮
角質層

皮



美石不全
美質層層
美線表皮

【圖7】



【圖8】