



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I589588 B

(45) 公告日：中華民國 106 (2017) 年 07 月 01 日

(21) 申請案號：102115440 (22) 申請日：中華民國 102 (2013) 年 04 月 30 日

(51) Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01) A61K39/395 (2006.01)  
A61P11/00 (2006.01) A61P37/00 (2006.01)(30) 優先權：2012/04/30 美國 61/640,238  
2012/04/30 美國 61/640,407  
2013/03/13 美國 13/798,204  
2013/03/13 美國 13/798,226(71) 申請人：健生生物科技公司 (美國) JANSSEN BIOTECH, INC. (US)  
美國(72) 發明人：達菲 凱倫 DUFFY, KAREN (US)；海利 凱薩琳 HEALY, CATHERINE (US)；  
拉姆 羅伯特 LAMB, ROBERTA (US)；馬拉威亞 拉維 MALAVIYA, RAVI  
(US)；普拉特 邁克爾 PRATTA, MICHAEL (US)；富爾索夫 娜塔莉 FURSOV,  
NATALIE (RU)；羅金泉 LUO, JINQUAN (US)；納索 邁克爾 NASO, MICHAEL  
(US)；托爾內塔 馬克 TORNETTA, MARK (US)；惠勒 約翰 WHEELER, JOHN  
(US)；吳勝君 WU, SHENG-JIUN (US)；霍爾 勒羅伊 HALL, LEROY (US)

(74) 代理人：林秋琴；陳彥希；何愛文

(56) 參考文獻：

US 2003/0190311A1 WO 01/21641A1  
Lingel, A., et al., "The structure of interleukin-33 and its  
interaction with the ST2 and IL-1RAcP receptors - insight into the  
arrangement of heterotrimeric interleukin-1 signaling complexes",  
Structure, 2009, Vol.17, Issue 10, P.1398-1410.

審查人員：林佳慧

申請專利範圍項數：21 項 圖式數：20 共 243 頁

(54) 名稱

ST2L 拮抗劑及使用方法

ST2L ANTAGONISTS AND METHODS OF USE

(57) 摘要

本發明係關於 ST2L 拮抗劑、編碼該拮抗劑或其片段之多核苷酸，及製造及使用前述之物的方法。

The present invention relates to ST2L antagonists, polynucleotides encoding the antagonists or fragments thereof, and methods of making and using the foregoing.

# 發明摘要



※ 申請案號：102115440

※ 申請日：102. 4. 30

※IPC 分類：  
C07K16/58 (2006.01)  
A61K39/395 (2006.01)  
A61P11/00 (2006.01)  
A61P37/00 (2006.01)

## 【發明名稱】

ST2L拮抗劑及使用方法

ST2L ANTAGONISTS AND METHODS OF USE

## 【中文】

本發明係關於 ST2L 拮抗劑、編碼該拮抗劑或其片段之多核苷酸，及製造及使用前述之物的方法。

## 【英文】

The present invention relates to ST2L antagonists, polynucleotides encoding the antagonists or fragments thereof, and methods of making and using the foregoing.

**【代表圖】**

**【本案指定代表圖】：**無

**【本代表圖之符號簡單說明】：**無

**【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：**

無

# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】

ST2L拮抗劑及使用方法

ST2L ANTAGONISTS AND METHODS OF USE

## 【技術領域】

【0001】 本發明係關於 ST2L 拮抗劑、編碼該拮抗劑或其片段之多核苷酸，及製造及使用前述之物的方法。

## 【先前技術】

【0002】 ST2L(IL-1RL1 或 IL-33R $\alpha$ )係 Toll/IL-1 受體家族之成員，表現在多種免疫細胞之細胞表面上，包括 T 細胞、NK/NKT 細胞、嗜鹼性細胞、嗜酸性細胞、肥大細胞及新發現的非 B/非 T 第二型先天性淋巴細胞、諾細胞 (nuocytes) 及自然輔助細胞。亦可在樹突細胞 (DCs)、巨噬細胞及嗜中性白血球上誘發 ST2L 表現。ST2L 能夠調降類鐸受體 (Toll-like Receptors) TLR2、TLR4 及 TLR9 之反應性，但亦能經由被其配體 IL-33 活化及與輔助蛋白 IL-1RAcP 結合而誘發第二型細胞介素之釋放。IL-33 已被稱為「警報器 (alarmin)」，因為恆定狀態期間其以全長形式存在於表皮細胞及內皮細胞之細胞核中，但在細胞壞死過程中即可被切開及釋放。

【0003】 ST2L 訊息傳遞需要輔助蛋白 IL-1RAcP 之結合以形成 ST2L/IL-33 複合物。輔助蛋白 IL-1RAcP 係與 IL-1 $\alpha/\beta$  訊息傳遞複合物共用。ST2L、IL-33 及 IL-1RAcP 交互作用以及 IL-1R1 及 IL-1RAcP 之間交

相互作用的模型已經提出 (Lingel *et al.*, Cell 17:1398-1410, 2009; Wang *et al.*, Nat Immunol 11:905-11, 2010)。近來發現，ST2L/IL-33/IL-1RAcP 與 c-Kit (幹細胞因子 (SCF) 的受體) 在肥大細胞上形成訊息傳遞複合物。IL-33 以 SCF 依賴方式在初級肥大細胞中誘發細胞介素產生 (Drube *et al.*, Blood 115:3899-906, 2010)。

**【0004】** ST2L 之活化造成過度的第二型細胞介素反應(尤其是 IL-5 及 IL-13)、肥大細胞及嗜酸性細胞活化，及呼吸道過度反應，且亦已發現可經由誘發來自 NKT 細胞之 IFN $\gamma$  及來自肥大細胞的 IL-1 $\beta$  及 IL-6 放大 Th1 及 Th17 反應。ST2L/IL-33 訊息傳遞路徑失調已證明與多種免疫調介疾病有關，包括氣喘、風濕性關節炎、發炎性腸道疾病、異位性皮膚炎、過敏性鼻炎、鼻瘻肉及全身性硬化症 (回顧於 Palmer and Gabay, Nat Rev Rheumatol 7:321-9, 2011 and Lloyd, Curr Opin Immunol 22:800-6, 2010; Shimizu *et al.*, Hum Molec Gen 14:2919-27, 2005, Kamekura *et al.*, Clin Exp Allergy 42:218-28, 2012; Manetti *et al.*, Ann Rheum Dis 69:598-605, 2010)。

**【0005】** 因此，需要適合用於治療 ST2L 調介疾病及失調的 ST2L 拮抗劑。

### **【發明內容】**

**【0006】** 本發明提供一種單離的人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其特異性結合人類 ST2L 之域 I (SEQ ID NO: 9)。

**【0007】** 本發明亦提供特異性結合具有下列之人類 ST2L 的人類適應性抗體拮抗劑：特定輕鏈及重鏈可變區序列，或特定重鏈及輕鏈互補決定序列。

【0008】 本發明亦提供特異性結合人類 ST2L 之限定抗原決定區及/或具有本文所述之特定特徵的人類或人類適應性抗體拮抗劑。

【0009】 本發明亦提供一種單離的多核苷酸，其編碼本發明之重鏈可變區 (VH) 或輕鏈可變區 (VL)。

【0010】 本發明亦提供一種載體，其包含本發明之多核苷酸。

【0011】 本發明亦提供一種宿主細胞，其包含本發明之載體。

【0012】 本發明亦提供一種製造本發明之抗體的方法，其包含培養本發明之宿主細胞及從該細胞取得抗體。

【0013】 本發明亦提供一種醫藥組合物，其包含本發明之單離抗體及醫藥上可接受之載劑。

【0014】 本發明亦提供一種治療或預防 ST2L 調介症狀的方法，其包含在足夠治療或預防該 ST2L 調介症狀的時間長度中，將治療有效量之本發明之單離抗體施予有需要的病患

【0015】 本發明亦提供一種抑制病患體內肥大細胞反應的方法，其包含在足夠抑制該肥大細胞反應的時間長度中，將治療有效量之本發明單離抗體施予有需要的病患。

【0016】 本發明亦提供一種在個體中抑制 IL-33 及 ST2L 之交互作用的方法，其包含施予該個體足夠抑制 IL-33 及 ST2L 之交互作用量的、特異性結合 ST2L 之域 I 的抗體。

### 【圖式簡單說明】

【0017】

圖 1 顯示與同型控制組 CNTO5516 比較，在經鼻施予 IL-33 而誘發的肺部發炎模型中，藉由 ST2L 域 I 結合單株抗體 CNTO3914 抑制氣道

過度反應。隨著甲基膽鹼 (MCH) 施予劑量 (mg/ml) 逐漸提升，可測量到呼吸道阻力的峰值。CNT03914/IL-33 與 CNT05516/IL-33 對照，\*\* $p < 0.05$ ；CNT03914/IL-33 與 IL-33 處理之 PBS 組對照，\*\*\* $p < 0.001$ 。

圖 2 顯示與同型控制組 CNT05516 比較，在經鼻施予 IL-33 而誘發的肺部發炎模型中，藉由 ST2L 域 I 結合單株抗體 CNT03914 抑制支氣管肺泡灌洗 (Bronchoalveolar Lavage (BAL)) 細胞聚集。\*\*\* $p < 0.001$ 。

圖 3 顯示在經鼻施予 IL-33 而誘發的肺部發炎模型中，藉由 ST2L 域 I 結合單株抗體 CNT03914 在無細胞的 BAL 液中劑量依賴性抑制小鼠肥大細胞蛋白酶 1 (MMCP-1) 之釋放。與 IL-33 處理之 CNT05516 (同型控制組) 對照，\*\* $p < 0.01$ ，\*\*\* $p < 0.001$ 。

圖 4 顯示在體外藉由 ST2L 域 I 結合單株抗體 CNT03914，抑制小鼠骨髓衍生肥大細胞釋放 IL-33 誘發的 GM-CSF (圖 4A)、IL-5 (圖 4B) 及 TNF $\alpha$  (圖 4C)。在括號中，所使用的 CNT03914 濃度顯示為  $\mu\text{g/ml}$ ，且 IL-33 濃度顯示為  $\text{ng/ml}$ 。

圖 5 顯示在指定 IL-33 及 C2494 濃度，藉由 ST2L 域 I 結合單株抗體 C2494 (STLM62)，抑制 IL-33 所誘發的人類臍帶血衍生肥大細胞之前列腺素 D2 (PGD<sub>2</sub>) 釋放 MOX-PDG<sub>2</sub>：甲氧胺-PGD<sub>2</sub>。

圖 6 顯示在存有 1 ng/ml IL-33 之 StemPro-34 培養基及 100 ng/ml SCF (幹細胞因子) 中，藉由指定濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) 之 ST2L 域 I 結合單株抗體 C2244 及 C2494，抑制人類臍帶血衍生肥大細胞 (hCBMCs) 之 GM-CSF (圖 6A)、IL-8 (圖 6B)、IL-5 (圖 6C)、IL-13 (圖 6D) 及 IL-10 (圖 6E) 釋放。

圖 7 顯示在存有 1 ng/ml IL-33 之 StemPro-34 培養基及 100 ng/ml SCF

(幹細胞因子) 中，指定濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) 之結合 ST2L 域 III 之單株抗體 C2519 或 C2521，對人類臍帶血衍生肥大細胞之 GM-CSF(圖 7A)、IL-8 (圖 7B)、IL-5 (圖 7C)、IL-13 (圖 7D) 及 IL-10 (圖 7E) 釋放的影響。

圖 8 顯示對下列之釋放的影響：A) GM-CSF；B) IL-8；C) IL-5；D) IL-13 及 E) IL-10；條件為在存有 3 ng/ml IL-33 之 RPMI/10%FCS 培養基及 100 ng/ml SCF 中，以 ST2L 域 I 結合單株抗體 C2494 及結合 ST2L 域 III 之單株抗體 ST2M48 (M48)、ST2M49 (M49)、ST2M50 (M50) 及 ST2M51 (M51) 對人類臍帶血衍生肥大細胞 (hCBMCs) 進行試驗。

圖 9 顯示結合 ST2L 之域 I (D1) 或域 III (D3) 的抗 ST2L 抗體，在各受測抗體依指示使用 50  $\mu\text{g/ml}$  或 2  $\mu\text{g/ml}$  時，抑制人類臍帶血衍生肥大細胞受 IL-33 及 SCF 誘發釋放 GM-CSF、IL-5、IL-8、IL-10 及 IL-13 之平均百分比 (%)。負值代表活化%。

圖 10 顯示抗 ST2L 抗體之重鏈可變區 (VH) 及重鏈 CDR 序列，其係從噬菌體呈現技術基因庫得到，且後續經親和力成熟之競爭挑選。

圖 11 顯示抗 ST2L 抗體之輕鏈可變區 (VL) 及輕鏈 CDR 序列，其係從噬菌體呈現技術基因庫得到，且後續經親和力成熟之競爭挑選。

圖 12 顯示抗 ST2L 抗體 STLM208 VH ST2H257 HCDR3 變異體之 VH 及 VL 區，及重鏈 CDRs 之序列。

圖 13 顯示抗 ST2L 抗體之 A) VH 及 B) VL 序列，其係從噬菌體呈現技術基因庫得到，且後續經親和力成熟之競爭挑選。

圖 14 顯示將 C2494 VH 及 VL 抗原結合位轉換成人類框架之概略圖 (受轉換部份標記為 HFA (human framework adaptation))。Kabat



CDRs 以底線標示而 Chothia HVs 則在受轉換 HFA 區的上方以虛線代表。VH 及 VL 殘基之編號係依照 Chothia 為之。VH 中以灰色強調的殘基，在某些 HFA 變異體中未被轉換。C2494 VH : SEQ ID NO: 48 ; C2494 VH : SEQ ID NO: 52 。

圖 15 顯示衍生自 C2494 之人類框架適應性(HFA)抗體的 CDR 序列。圖 16 A) 抗 ST2L 抗體 CNTO3914 之血清值; B) 支氣管肺泡灌洗(BAL) 細胞聚集之抑制; C) 受 IL-33 刺激之全血細胞分泌 IL-6 之抑制; D) 在經鼻施予 IL-33 而誘發肺部發炎 6 小時模型中, 給藥後 24 小時藉由 CNTO3914 抑制以 IL-33 刺激之全血細胞的 MCP1 分泌。\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ; NQ = 在偵測限度以下; @ = 一個資料點在偵測限度以下。

圖 17、多種抗 ST2L 抗體間的競爭。A) 30 nM 經標記的 C2244 Fab 與指定抗體競爭結合至塗覆在微孔槽的 ST2L-ECD。C2244 會與 C2494 競爭, 但不與 C2539 競爭。B) 10 nM 經標記的 C2494 與指定抗體競爭結合至塗覆在微孔槽的 ST2L-ECD。C2494 會與 STLM208 及 STLM213 競爭, 但不與 C2539 競爭。

圖 18 顯示與 C2244 Fab 複合之人類 ST2-ECD (SEQ ID NO: 119) 的簡化 H/D 交換圖。被抗體保護的區域以不同的灰階表示。包含第 18-31 個殘基 (虛線方框內) (對應由 SEQ ID NO:1 組成之全長 ST2L 的第 35-48 個殘基) 的部分係由 Fab 保護。包含第 71-100 個殘基 (實線方框內) (對應 SEQ ID NO:1 之第 88-117 個殘基) 的部分經重度糖化, 且未被胜肽覆蓋。

圖 19 顯示 ST2L 域 I 結合抗體對圖中所示之 ST2L 變異體的動力性質及親和力常數。

圖 20 顯示抗 ST2L 抗體 STLM208 對初代人類肺部肥大細胞分泌下列所為之抑制作用：A) GM-CSF；B) IL-5；C) IL-8；D) IL-13。

### 【實施方式】

【0018】 所有在本說明中引用、包括但不限於專利及專利申請文件之發表文獻在此全部併入作為參照。

【0019】 如本文所述的術語應理解為僅係用於描述特定實施例，而非用於限制本發明。除非另有定義，否則本文使用之所有技術及科學術語，均與具有本發明有關技藝之通常知識者所一般了解之意義相同。

【0020】 雖然任何相似或相同於本文描述之方法及材料，可用於實施本發明之測試，然而本文所描述者僅為例示性材料及方法。在本發明之描述及申請專利範圍中，將使用下列術語。

【0021】 如本文所述的術語「拮抗劑」意指一種分子，其藉由任何機制部分或完全抑制 ST2L 的生物活性。例示性拮抗劑係抗體、融合蛋白質、胜肽、擬肽類 (peptidomimetics)、核酸、寡核苷酸及小分子。拮抗劑可利用下述檢測 ST2L 生物活性的分析法辨別。ST2L 拮抗劑可抑制測量到的 ST2L 生物活性至 20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100%。

【0022】 術語「ST2L」或「huST2L」或「人類 ST2L」代表具有 GenBank 登錄號 NP\_057316 中顯示之胺基酸序列的人類 ST2L 多肽。SEQ ID NO: 1 顯示全長人類 ST2L 之胺基酸序列。如本文所述的「ST2L 細胞外域」、「ST2L-ECD」或「huST2L-ECD」意指具有 SEQ ID NO: 1 之第 19-328 個胺基酸的多肽。huST2L-ECD 具有三個似 Ig C2 型域，序列範圍係 SEQ ID NO:1 之第 19-122 個殘基 (域 I, SEQ ID NO: 9)、第 123-202

個殘基（域 II，SEQ ID NO: 10）及第 209-324 個殘基（域 III，SEQ ID NO: 11）。「域 I」或「ST2L 域 I」或「huST2L 域 I」或「D1」代表人類 ST2L 上的第一個似免疫球蛋白域，其具有 SEQ ID NO: 9 所顯示之序列。「域 III」或「ST2L 域 III」代表人類 ST2L 上的第三個似免疫球蛋白域，其具有 SEQ ID NO: 11 所顯示之序列。

【0023】 如本文所述的術語「IL-33」包括全長 IL-33（GenBank 登錄號 NP\_254274 SEQ ID NO: 3）、及其變異體與活性型。IL-33 變異體包括具有 GenBank 登錄號 NP\_001186569 及 GenBank 登錄號 NP\_001186570 中所顯示之胺基酸序列的蛋白質。IL-33 活性型包括「成熟 IL-33」，其具有 SEQ ID NO: 3 之第 112-270 個殘基。額外的活性型包括 IL-33 片段，其具有 SEQ ID NO: 3 之第 11-270 個殘基、第 115-270 個殘基、第 95-270 個殘基、第 99-270 個殘基或第 109-270 個殘基（LeFrancais *et al.*, Proc Natl Acad Sci (USA) 109:1673-8, 2012）或任何單離自內源性表現 IL-33 之型式或型式之組合。「IL-33 活性型」係由 SEQ ID NO: 3 組成之 IL-33 的片段或變異體，其可誘發 ST2L 生物活性。

【0024】 如本文所述的術語「抗體」含義廣泛且包括：免疫球蛋白分子，包括多株抗體；單株抗體，包括鼠、人類、人類適應性、擬人化及嵌合單株抗體；抗體片段；由至少二完整抗體或抗體片段所形成的雙特異性抗體或多特異性抗體；雙體、四體或多體抗體；及單鏈抗體。

【0025】 依照重鏈恆定區的胺基酸序列，免疫球蛋白主要可劃分為五個種類，即 IgA、IgD、IgE、IgG 與 IgM。IgA 及 IgG 進一步次分類為 IgA<sub>1</sub>、IgA<sub>2</sub>、IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub> 及 IgG<sub>4</sub> 亞型。任何脊椎動物的抗體輕鏈皆可依據彼等之恆定區的胺基酸序列劃分到兩個清楚區分的類型之一，即  $\kappa$  (kappa) 與  $\lambda$  (lambda)。

【0026】 術語「抗體片段」代表免疫球蛋白分子的一部分，其保留重鏈及/或輕鏈抗原結合位，例如：重鏈互補決定區（HCDR）1、2 及 3，輕鏈互補決定區（LCDR）1、2 及 3，重鏈可變區（VH）或輕鏈可變區（VL）。抗體片段包括習知的 Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fd 及 Fv 片段以及由一 VH 域組成之域抗體（dAb）。VH 及 VL 域可經由合成連接子彼此連接以形成各種單鏈抗體設計，其中當 VH 及 VL 域係以不同的單鏈抗體建構物表現得到的情況下，VH/VL 域可在分子內或分子間配對，以形成一單價抗原結合位，例如單鏈 Fv（scFv）或雙功能抗體（diabody）；例如在國際專利公開號 WO98/44001、國際專利公開號 WO88/01649；國際專利公開號 WO94/13804；國際專利公開號 WO92/01047 中之描述。

【0027】 抗體可變區係由一被三「抗原結合位」中斷之「框架」區所組成。抗原結合位由多個術語定義：(i) 互補決定區（Complementarity Determining Regions (CDRs)），VH 中有三個（HCDR1、HCDR2、HCDR3），且 VL 中有三個（LCDR1、LCDR2、LCDR3），其係基於序列變異性（Wu and Kabat, *J Exp Med* 132:211-50, 1970；Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991）。(ii) 「高度可變區」、「HVR」或「HV」，VH 中有三個（H1、H2、H3）且 VL 中有三個（L1、L2、L3），參見如 Chothia 及 Lesk 定義之結構中，抗體可變域之高度變異區（Chothia and Lesk, *Mol Biol* 196:901-17, 1987）。其他術語包括「IMGT-CDRs」（Lefranc *et al.*, *Dev Comparat Immunol* 27:55-77, 2003）及「特異性決定殘基用途」（Specificity Determining Residue Usage (SDRU)）（Almagro, *Mol Recognit* 17:132-43, 2004）。國際免疫基因學（International ImMunoGeneTics, IMGT）資料庫（[http://www\\_imgt\\_org](http://www_imgt_org)）提供標準化編號及抗原結合位之界定。

CDRs、HVs 及 IMGT 輪廓之間的相似性在 Lefranc 等人的著作中 (Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003) 中已有描述。

【0028】 如本文所述的「Chothia 殘基」係指依據 Al-Lazikani 編號之抗體 VL 及 VH 殘基 (Al-Lazikani *et al.*, J Mol Biol 273:927-48, 1997)。

【0029】 「框架」或「框架序列」係指可變區中除了抗原結合位以外的剩餘序列。因為抗原結合位可由上述多種術語定義之，故框架的確切胺基酸序列應視抗原結合位的定義方式而定。

【0030】 「人類抗體」或「完全人類抗體」代表包含衍生自人類免疫球蛋白序列之可變區序列及恆定區序列的抗體。本發明之人類抗體可包括取代，因此彼等可能不會與表現出來的人類免疫球蛋白或胚源基因序列完全等同。然而，「人類抗體」的定義並不包括抗原結合位係衍生自非人類物種的抗體。

【0031】 「人類適應性」抗體或「人類框架適應性 (HFA)」抗體代表依據美國專利公開案第 US2009/0118127 號中所描述之方法適應化的抗體，且亦代表將衍生自非人類物種之抗原結合位序列移植到人類框架之抗體。

【0032】 「擬人化抗體」代表抗原結合位係衍生自非人類物種且可變區框架係衍生自人類免疫球蛋白序列之抗體。擬人化抗體的框架區可包括取代，因此該框架可能不會與表現出來的人類免疫球蛋白或胚源基因序列完全等同。

【0033】 如本文所述的術語「實質相同」意指所比較的兩個抗體可變區胺基酸序列係相同的或具有「非實質差異」。非實質差異係在抗體或抗體可變區序列中未對抗體性質造成負面影響的 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或 11 個胺基酸之取代。實質相同於本文所揭露之可變區序列的

胺基酸序列，係包含在本申請案的範圍中。在某些具體實施例中，序列同一性可為約 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高。同一性百分比可例如藉由使用 Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 之 AlignX 模組的內定值配對排列而測定。本發明之蛋白質序列可作為檢索公開資料庫或專利資料庫的查詢序列，以（例如）找出關聯序列。用於執行彼等檢索的例示性程式係使用內定值的 XBLAST 或 BLASTP 程式（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>）或 GenomeQuest(三)（GenomeQuest, Westborough, MA）組。

● **【0034】** 如本文所述的術語「抗原決定位」意指抗體特異性結合抗原的部分。抗原決定位通常由例如胺基酸或多醣側鏈之部分的化學活性（例如極性、非極性或疏水性）表面群集所組成，且可具有特殊的三維結構特徵，以及特殊的電荷特徵。抗原決定位可由形成構型上空間單元的連續及/或不連續胺基酸序列所組成。以不相鄰的抗原決定位而言，抗原線性序列不同部分的胺基酸，經由蛋白質分子的折疊，聚集到三度間中的鄰近處。例示性抗原決定位係 huST2L 之域 I，顯示於 SEQ ID NO: 9。

● **【0035】** 如本文所述的術語「互補位 (paratope)」意指抗體特異性結合抗原的部分。互補位本質上可為線性的或可為不連續的，由抗體之不相鄰胺基酸之間的空間關係所形成，而非線性串聯的胺基酸。「輕鏈互補位」及「重鏈互補位」或「輕鏈互補位胺基酸殘基」及「重鏈互補位胺基酸殘基」，分別代表與抗原接觸之抗體輕鏈及重鏈殘基。

**【0036】** 如本文所述的術語「特異性結合」代表與其他抗原或蛋白質相較，抗體以較大的親和力結合至預定的抗原。一般而言，抗體以  $1 \times 10^{-7}$  M 或更低之解離常數 ( $K_D$ ) 結合至預定的抗原，例如  $1 \times 10^{-8}$  M 或更低、 $1 \times 10^{-9}$  M 或更低、 $1 \times 10^{-10}$  M 或更低、 $1 \times 10^{-11}$  M 或更低、或  $1 \times 10^{-12}$  M 或更

低，通常該  $K_D$  至少係該抗體結合至非特異性抗原（例如：BSA、酪蛋白或任何其他特定的多肽）之  $K_D$  的至少十倍。該解離常數可利用標準程序測量。然而，特異性結合至預定抗原的抗體可能對其他相關的抗原具有交叉反應性，例如對於來自其他物種（同源）的相同預定抗原，例如人類或猴子，例如馬來猴（*Macaca fascicularis*（食蟹獼猴（*cynomolgus*）））。

【0037】 如本文所述的「雙特異性」代表結合至二個不同抗原或結合至一抗原之中二個不同抗原決定位的抗體。

【0038】 如本文所述的「單特異性」代表結合至一抗原或一抗原決定位的抗體。

【0039】 如本文所述的術語「結合使用（in combination with）」意指所描述的藥劑可一起在混合物中給予、同時以單獨藥劑給予或以任何次序依序以單獨藥劑給予動物。

【0040】 如本文所述的「發炎症狀」代表對於有害刺激的急性或慢性局部或全身性反應，例如：病原體、受損細胞、身體傷害或刺激物，其係部分由細胞介素之活性、趨化激素或發炎細胞（例如嗜中性白血球、單核細胞、淋巴細胞、巨噬細胞）調介，在多數情況下特徵為痛、紅、腫及組織功能損傷。

【0041】 如本文所述的術語「ST2L 調介發炎症狀」代表至少部分因為不適當的 ST2L 訊息傳遞路徑活化而造成的發炎症狀。例示性 ST2L 調介發炎症狀係氣喘及過敏。

【0042】 如本文所述的術語「ST2L 調介症狀」包含所有直接或間接與 ST2L 相關聯的疾病及醫療症狀，包括該疾病或症狀之引發、發展、進程、持久性或病理學。

【0043】 如本文所述的術語「ST2L 生物活性」代表任何由於 ST2L 配體 IL-33 結合至 ST2L 而發生的活性。例示性 ST2L 生物活性造成 NF- $\kappa$ B 之活化以回應 IL-33。NF- $\kappa$ B 活化可在以 IL-33 誘發 ST2L 時利用報導基因試驗檢測之 (Fursov *et al.*, *Hybridoma* 30: 153-62, 2011)。其他例示性 ST2L 生物活性造成 Th2 細胞之增生或促發炎反應細胞介素及趨化激素之分泌，例如 IL-5、GM-CSF、IL-8、IL-10 或 IL-13。釋放自細胞、組織或循環系統中的細胞介素及趨化激素可利用習知的免疫試驗測量，例如 ELISA 免疫試驗。

● 【0044】 術語「載體」意指可在生物系統中複製或可在生物系統之間移動的多核苷酸。載體多核苷酸一般包含例如複製起始點、多腺苷酸訊息或選擇標記之元件，其功能為促進彼等多核苷酸在生物系統中之重製或維持。生物系統之實例可包括細胞、病毒、動物、植物及利用生物組件重組、能夠重製載體的重組生物系統。該多核苷酸包含可為 DNA 或 RNA 分子之載體或彼等之混合體。

● 【0045】 術語「表現載體」意指可在生物系統或重組生物系統中用來引導多肽之轉譯的載體，該多肽係由存在於該表現載體中之多核苷酸序列所編碼。

【0046】 術語「多核苷酸」意指包含由糖-磷酸骨架或其他當量共價化學所鏈接之核苷酸鏈的分子。雙股及單股的 DNAs 及 RNAs 係多核苷酸之一般實例。

【0047】 術語「多肽」或「蛋白質」意指包含至少二個由肽鍵所鏈接而形成多肽之胺基酸殘基的分子。少於 50 個胺基酸之小型多肽可由「胜肽」表示。

【0048】 如本文所述的習知一字母及三字母胺基酸碼如下：



胺基酸	三字母碼	一字母碼
丙胺酸	ala	A
精胺酸	arg	R
天門冬醯胺酸	asn	n
天門冬胺酸鹽	asp	D
半胱胺酸	cys	C
麩胺酸	glu	E
麩胺醯胺酸	gln	Q
甘胺酸	Gly	G
組胺酸	his	H
異白胺酸	ile	i
白胺酸	leu	L
離胺酸	lys	k
甲硫胺酸	MET	M
苯丙胺酸	phe	F
脯胺酸	pro	P
絲胺酸	ser	S
羥丁胺酸	thr	T
色胺酸	trp	W
酪胺酸	tyr	y
異戊胺酸	val	V

## 物質之組成

【0049】 本發明提供特異性結合 ST2L 並抑制 ST2L 生物活性之抗體，及該抗體之用途。本發明做出驚人的發現：結合至人類 ST2L 之域 I (SEQ ID NO: 9) 的抗體阻斷 IL-33/ST2L 交互作用並抑制一定範圍的 ST2L 生物活性，包括 IL-33 所引發的肥大細胞反應，然而結合人類 ST2L 之域 III (SEQ ID NO: 11) 的抗體並不會阻斷 IL-33/ST2L 交互作用，雖然彼等對於一定範圍的 ST2L 生物活性具有抑制性。然而域 III 結合抗體對於某些刺激 IL-33 所引發的肥大細胞作用具有較低的抑制性或不具抑制性。

【0050】 在本文所描述的某些具體實施例中，阻斷 IL-33/ST2L 交互作用並抑制包括 IL-33 所引發的肥大細胞反應之一定範圍 ST2L 生物活性的抗體，結合人類 ST2L 域 I 之中的抗原決定位 (RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210)，及視情況結合 ST2L 胺基酸殘基 T93 及 F94 (殘基編號依據 SEQ ID NO: 1)。

【0051】 術語「肥大細胞反應」或「肥大細胞活性」代表 IL-33 所引發的細胞介素釋放，例如 GM-CSF、IL-8、IL-5、IL-13 及 IL-10，及過敏介質，例如前列腺素 D<sub>2</sub>，彼等係由肥大細胞釋放。

【0052】 本發明提供新穎的抗原結合位，其結合如本文所述之人類 ST2L 的域 I。用於攜載抗原結合位的結構通常係抗體 VH 或 VL。

【0053】 本文中所描述的本發明之抗體，可為單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其特異性結合人類 ST2L 之域 I (SEQ ID NO: 9)。例示性結合人類 ST2L 域 I (SEQ ID NO: 9) 之抗體係抗體 STLM15 (C2244)，包含分別為 SEQ ID NOs: 23、27 及 31 之 HCDR1、HCDR2 及 HCDR3 序列，及分別為 SEQ ID NOs: 35、39 及 43 之 LCDR1、LCDR2 及 LCDR3 序列，或抗體 C2494 (STLM62)，包含分別為 SEQ ID NOs: 24、28 及 32 之 HCDR1、HCDR2 及 HCDR3 序列，及分別為 SEQ ID NOs: 36、40 及 44 之 LCDR1、LCDR2 及 LCDR3 序列 (表 3)。額外的例示性結合人類 ST2L 之域 I 的抗體係表 16 及圖 13 中所顯示的抗體，例如：抗體 STLM103、STLM107、STLM108、STLM123、STLM124、STLM208、STLM209、STLM210、STLM211、STLM212 及 STLM213。例示性人類抗體拮抗劑顯示於圖 12 及圖 13 中。例示性人類適應性拮抗劑顯示於表 14 中。

【0054】 在本文所描述的某些具體實施例中，特異性結合人類 ST2L 域 I (SEQ ID NO: 9) 之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段阻斷 IL-33/ST2L 交互作用。

【0055】 抗體可藉由標準 ELISA 測試彼等阻斷 IL-33/ST2L 交互作用之能力。例如：在培養盤塗覆人類 ST2L 之細胞外域 (huST2L-ECD) 並與抗體進行培養，其後測量生物素標記 IL-33 結合至該培養盤之情況。

「阻斷 IL-33/ST2L 交互作用」或「抑制 IL-33/ST2L 交互作用」之抗體係在使用塗覆 huST2L-ECD 之培養盤的 ELISA 試驗中，減低衍生自結合到培養盤之生物素標記 IL-33 之訊息的抗體，與缺少抗體時 IL-33 之結合相較，50  $\mu\text{g/ml}$  抗體濃度減低訊息至少達 30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%。

【0056】 可藉由利用標準方法及下文所例示之方法，分析抗體對於例如由人類臍帶血衍生肥大細胞或初代人類肺部肥大細胞釋放 GM-CSF、IL-5、IL-10 或 IL-13 之抑制活性，而測試彼等對肥大細胞之抑制作用。本文中所描述之「抑制肥大細胞反應」或「抑制肥大細胞活性」之抗體，係在抗體濃度為 10  $\mu\text{g/ml}$ ，與未經抗體處理之肥大細胞相較時，減低 1-3  $\text{ng/ml}$  由 IL-33 引發之 GM-CSF、IL-5、IL-13 或 IL-10 分泌，達至少 40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%之抗體。一般的肥大細胞可藉由習知方法及如下文之例示而衍生自人類臍帶血或肺實質及小呼吸道 CD34<sup>+</sup> 先驅細胞。肥大細胞培養條件可影響抗體之抑制作用%的測量，因此培養及測試條件在 6-10 週長的分化過程中，可利用例如 StemPro-34 培養基維持標準。在細胞介素釋放試驗的 4 天前，每天以 10  $\text{ng/ml}$  IL-4、10  $\text{ng/ml}$  IL-6 及 100  $\text{ng/ml}$  SCF 刺激肥大細胞。以細胞介素釋放試驗而言，肥大細胞可

再懸浮於新鮮的 StemPro-34 培養基中，或含有 10%無抗生素之 FCS 及 100 ng/ml SCF 的 RPMI 中。適合進行試驗的細胞接種密度為 65,000 至 75,000 個細胞/0.16 mls/孔槽。如本文所描述之本發明抑制肥大細胞反應之抗體，係抗體 STLM15、STLM62 及 STLM208。抗體 CNTO3914 結合小鼠 ST2L 域 I，而無對於人類 ST2L 之交叉反應性，並在小鼠細胞中抑制肥大細胞反應。

【0057】 所屬技術領域中具有通常技藝者將領會，肥大細胞反應亦包括 IL-1 及 IL-32 之釋放，及例如 CCL1、CCL4、CCL5、CCL18 及 CCL23 之趨化激素，以及例如半胱胺醯基白三烯素、組織胺之過敏調介物，以及多種肥大細胞蛋白酶，包括中性蛋白酶、凝乳酶、羧肽酶及組織蛋白酶 G。本文中所描述之本發明之抗體，可利用標準方法測試其抑制彼等額外肥大細胞反應之能力。本文中所描述之結合 ST2L 之域 I 及阻斷 IL-33/ST2L 交互作用的本發明之抗體，當在彼等條件下、以 10  $\mu\text{g/ml}$  之最小濃度測試時，可預期抑制至少 40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之彼等額外肥大細胞反應。

【0058】 本文中所描述之本發明之抗體以下列常數結合人類 ST2L：約  $5 \times 10^{-12}$  M 至約  $7 \times 10^{-10}$  M 之間的解離常數 ( $K_D$ )，對人類 ST2L 在約  $2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  至約  $1 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  之間的結合速率常數 ( $K_{on}$ )，或對人類 ST2L 在約  $1 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$  至約  $1 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$  之間的脫附速率常數 ( $K_{off}$ ) 結合人類 ST2L。例如，本文中所描述之本發明之抗體以下列  $K_D$  結合人類 ST2L：少於約  $7 \times 10^{-10}$  M、少於約  $1 \times 10^{-10}$  M、少於約  $5 \times 10^{-11}$  M、少於約  $1 \times 10^{-11}$  M 或少於約  $5 \times 10^{-12}$  M。

【0059】 本文中所描述之本發明之抗體可與馬來猴 (*Macaca fascicularis* (cyno)) ST2L (SEQ ID NO: 2) 交叉反應，並以下列常數結

合至馬來猴 ST2L：在約  $3 \times 10^{-12}$  M 至約  $2 \times 10^{-9}$  M 之間的解離常數 ( $K_D$ )，對馬來猴 ST2L 在約  $4 \times 10^6$   $M^{-1}s^{-1}$  至約  $1 \times 10^8$   $M^{-1}s^{-1}$  之間的結合速率常數 ( $K_{on}$ )，或對馬來猴 ST2L 在約  $7 \times 10^{-5}$   $s^{-1}$  至約  $1 \times 10^{-1}$   $s^{-1}$  之間的脫附速率常數 ( $K_{off}$ )。例如，本文中所描述之本發明之抗體以下列  $K_D$  結合馬來猴 ST2L：少於約  $2 \times 10^{-9}$  M、少於約  $1 \times 10^{-9}$  M、少於約  $1 \times 10^{-10}$  M、少於約  $1 \times 10^{-11}$  M 或少於約  $3 \times 10^{-12}$  M。

**【0060】** 抗體對 ST2L 之親和力可利用任何適合之方式實驗測定。該方法可利用所屬技術領域中具有通常知識者所習知的 ProteOn XPR36、Biacore 3000 或 KinExA 測量儀器、ELISA 或競爭性結合試驗。特定抗體 /ST2L 交互作用在不同條件下（例如滲透壓、pH）所測得之親和力可能不同。因此，親和力及其他結合參數（例如： $K_D$ 、 $K_{on}$ 、 $K_{off}$ ）之測量較佳為以標準化條件及標準化緩衝液（例如本文中所描述之緩衝液）進行。所屬技術領域中具有通常知識者將領會，利用例如 Biacore 3000 或 ProteOn 進行親和力測量的內部誤差（測量為標準偏差，SD），在偵測的一般限制中，該誤差一般可在 5-33% 之內。因此術語「約」反映試驗中的一般標準偏差。例如， $1 \times 10^{-9}$  M 之  $K_D$  的一般 SD 係高達  $\pm 0.33 \times 10^{-9}$  M。

**【0061】** 具所欲親和力及視情況與馬來猴 ST2L 交互反應之人類 ST2L 結合抗體，可從變異體或片段之基因庫藉由以人類及/或馬來猴 ST2L 淘選，並視情況藉由進一步抗體親和力成熟技術篩選出來。抗體可利用任何合適的方法，依據彼等對 ST2L 生物活性之抑制作用辨別。該方法可利用報導基因試驗進行，或使用習知方法及如本申請文件所描述之方法測量細胞介素製造之試驗進行。

**【0062】** 本發明之一具體實施例係一種特異性結合人類 ST2L 之單離抗體拮抗劑，其包含：

一重鏈互補決定區(HCDR)1(HCDR1)，其序列為 SEQ ID NO: 160 ( $X_1X_2X_3MX_4$ )；其中

$X_1$  係 S、F、D、I、G 或 V；

$X_2$  係 Y 或 D；

$X_3$  係 A、D 或 S；以及

$X_4$  係 S、F 或 I；

— HCDR 2 (HCDR2)，其序列為 SEQ ID NO: 161 ( $X_5IX_6GX_7GGX_8TX_9YADSVKG$ )；其中

$X_5$  係 A、S、T、Y 或 D；

$X_6$  係 S、R、E、K、G 或 A；

$X_7$  係 S、E 或 N；

$X_8$  係 S、R、E、G、T、D 或 A；以及

$X_9$  係 Y、D、N、A 或 S；以及

— HCDR 3 (HCDR3)，其序列為 SEQ ID NO: 162 ( $X_{10}X_{11}WSTEGSFFVLDY$ )；其中

$X_{10}$  係 D、A、R、N、Q、P、E、I、H、S、T 或 Y；以及

$X_{11}$  係 P、A、H、Y、E、Q、L、S、N、T、V 或 I。

**【0063】** 本發明之另一具體實施例係一種特異性結合人類 ST2L 之單離抗體拮抗劑，其包含：

一輕鏈互補決定區(LCDR)1(LCDR1)，其序列為 SEQ ID NO: 163 ( $RASQSVDDX_{12}LA$ )；其中

$X_{12}$  係 A 或 D；

— LCDR 2 (LCDR2) , 其序列為 SEQ ID NO: 90

(DASNRAT) ; 以及

— LCDR 3 (LCDR3) , 其序列為 SEQ ID NO: 164

(QQX<sub>13</sub>X<sub>14</sub>X<sub>15</sub>X<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>T) ; 其中

X<sub>13</sub> 係 F 或 Y ;

X<sub>14</sub> 係 Y、I 或 N ;

X<sub>15</sub> 係 N、G、D 或 T ;

X<sub>16</sub> 係 W 或 A ;

X<sub>17</sub> 係 P 或不存在 ; 以及

X<sub>18</sub> 係 L 或 I。

**【0064】** 本發明之抗體包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 及 LCDR3，序列分別為 SEQ ID NOs: 160、161、162、163、90 及 164，可藉由習知突變方法利用例如 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 及 LCDR3，序列分別為 SEQ ID NOs: 78、81、84、87、90 及 92，作為模板而製造。序列分別為 SEQ ID NOs: 160、161、162、163、90 及 164 之重鏈 CDRs 及輕鏈 CDRs，可嫁接到人類框架，例如下文中所描述的框架。該抗體可利用本文中所描述之方法進行下列分析：對 ST2L 之結合力，及彼等阻斷 IL-33/ST2L 交互作用之能力，及其他特徵，例如對人類 ST2L 及/或馬來猴 ST2L 之親和力，及對肥大細胞反應之抑制作用。

**【0065】** 在一具體實施例中，如本文所描述之特異性結合人類 ST2L 之單離抗體拮抗劑包含：

HCDR1，其序列為 SEQ ID NOs: 78 或 95-108；

HCDR2，其序列為 SEQ ID NOs: 81、109-118 或 120-129；

HCDR3，其序列為 SEQ ID NOs: 84 或 165-185；

LCDR1，其序列為 SEQ ID NOs: 87 或 130；

LCDR2，其序列為 SEQ ID NO: 90；以及

LCDR3，其序列為 SEQ ID NOs: 92 或 131-134。

**【0066】** 在另一具體實施例中，特異性結合人類 ST2L 之單離抗體拮抗劑包含圖 10、圖 11 及圖 12 所示及如本文中所描述之 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 及 LCDR3 序列。

**【0067】** 在另一具體實施例中，如本文所描述之特異性結合人類 ST2L 之單離抗體拮抗劑包含：

HCDR1，其序列為 SEQ ID NOs: 23 或 24；

HCDR2，其序列為 SEQ ID NOs: 27 或 28；

HCDR3，其序列為 SEQ ID NOs: 31 或 32；

LCDR1，其序列為 SEQ ID NOs: 35 或 36；

LCDR2，其序列為 SEQ ID NOs: 39 或 40；以及

LCDR3，其序列為 SEQ ID NOs: 43 或 44。

**【0068】** 在另一具體實施例中，如本文所描述之特異性結合人類 ST2L 之單離抗體拮抗劑包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 及 LCDR3 序列：

分別為 SEQ ID NOs: 23、27、31、35、39 及 43；

分別為 SEQ ID NOs: 24、28、32、36、40 及 44；(HFA CDRs)；

分別為 SEQ ID NOs: 24、28、146、36、40 及 147；或

分別為 SEQ ID NOs: 24、28、146、36、40 及 44。

**【0069】** 本發明之另一具體實施例係一種如本文所描述之、特異性結合人類 ST2L 的單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，(SEQ ID NO: 1)其包含重鏈可變區(VH)，包含衍生自人類 IGHV3-23(SEQ ID NO:



158) 、IGHV1-24\*01 (SEQ ID NO: 148) 或 IGHV1-f\*01 (SEQ ID NO: 149) 框架序列之 VH 框架，及輕鏈可變區 (VL)，包含衍生自人類 IGKV3-11 (L6) (SEQ ID NO: 159) 、IGKV3-15\*01 (L2) (SEQ ID NO: 150) 、IGKV1-9\*01 (L8) (SEQ ID NO: 151) 、IGKV1-5\*01 (L12) (SEQ ID NO: 152) 、IGKV1-12\*01 (L5) (SEQ ID NO: 153) 、IGKV1-39\*01 (O12) (SEQ ID NO: 154) 、IGKV1-27\*01 (A20) (SEQ ID NO: 155) 或 IGKV1-33\*01 (O18) (SEQ ID NO: 156) 框架序列之 VL 框架。

**【0070】** 在另一具體實施例中，本文所描述之特異性結合人類 ST2L 域 I 的單離抗體包含 VH，其包含衍生自人類 VH 3-23 框架序列 (SEQ ID NO: 158) 之 VH 框架；及輕鏈可變區 (VL)，其包含衍生自人類 V $\kappa$ L6 框架序列 (SEQ ID NO: 159) 之 VL 框架。人類框架序列係為習知，且一般包括連接到連接 (joining (J)) 序列的人類免疫球蛋白胚源可變區序列。顯示在 SEQ ID NO: 158 中的人類 VH 3-23 框架胺基酸序列包括連接到 IGHJ4 的人類胚源 VH 3-23 序列，及顯示在 SEQ ID NO: 159 中的人類 V $\kappa$  L6 框架胺基酸序列包括連接到 IGKJ1 的人類 V $\kappa$  L6 胚源序列，如 Shi 等人在 J Mol Biol 第 397 卷：第 385-96 頁，2010 年；國際專利公開號 WO2009/085462；及美國專利公開號 US2010/0021477 中之描述。具有衍生自人類 VH 3-23 之 VH 序列及衍生自人類 V $\kappa$  L6 之 VL 序列的例示性抗體係彼等顯示於圖 12 及圖 13 者。

**【0071】** 包含「衍生自」特定框架或胚源序列之重鏈可變區或或輕鏈可變區的人類或人類適應性抗體，代表從使用人類胚源免疫球蛋白基因之系統得到的抗體，例如：從轉殖基因小鼠或從嗜菌體呈現技術基因庫，如下文中所討論者。「衍生自」特定框架或胚源序列之抗體，與其所衍生

之序列相較，由於（例如）自然發生的體細胞突變或有意的取代，可能含有胺基酸差異。

【0072】 在另一具體實施例中，如本文所描述之特異性結合人類 ST2L 之域 I (SEQ ID NO: 9) 的單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，與下列單離抗體競爭結合至人類 ST2L (SEQ ID NO: 1)：包含序列為 SEQ ID NO: 47 之重鏈可變區 (VH) 及序列為 SEQ ID NO: 51 之輕鏈可變區 (VL) 的單離抗體 (抗體 C2244)。

【0073】 在另一具體實施例中，如本文所描述之本發明之單離抗體結合序列為 SEQ ID NO: 1 之人類 ST2L 的第 35-48 個胺基酸殘基 (RCPRQGKPSYTVDW；SEQ ID NO: 210)。如本文所描述之抗體可進一步結合序列為 SEQ ID NO: 1 之人類 ST2L 的殘基 T93 及 F94。

【0074】 如本文所描述之本發明之抗體，包含某些 HCDR1、HCDR2 及 HCDR3 及 LCDR1、LCDR2 及 LCDR3 胺基酸序列，或包含某些 VH 及 VL 序列，彼等抗體之間特異性結合至人類 ST2L 之競爭作用，可利用習知之方法在體外分析。例如：MSD Sulfo-Tag™NHS 酯標記抗體在未標記抗體存在下對人類 ST2L 之結合可藉由 ELISA 分析之，或可利用 Biacore 分析法或流動式細胞測量術呈現與本發明之抗體的競爭作用。測試抗體抑制 C2244 結合至人類 ST2L 之能力證明該測試抗體可與彼等抗體競爭結合至人類 ST2L。此等例示性抗體係顯示於表 3 及圖 13 中的 C2494、STLM208 及 STLM213。

【0075】 如本文所描述之與 C2244 競爭結合至 ST2L 之域 I 的抗體，阻斷 IL-33/ST2L 交互作用並抑制多種 ST2L 生物活性，包括 IL-33 引發之肥大細胞反應。ST2L 域 I 上亦存有非中和性的（意即非抑制性）抗

原決定位，作為第二抗體競爭團（由結合 ST2L 之域 I 的抗體 C2240 呈現，不與 C2244 競爭，且不抑制 ST2L 訊息傳遞）。

**【0076】** 本文所述之本發明之結合特定 ST2L 域或抗原決定位的抗體，可藉由以編碼該抗原決定位之多肽免疫接種表現人類免疫球蛋白基因座之小鼠（Lonberg *et al.*, Nature 368:856-9, 1994；Fishwild *et al.*, Nature Biotechnology 14:845-51, 1996；Mendez *et al.*, Nature Genetics 15:146-56, 1997，美國專利號 5,770,429、7,041,870 及 5,939,598）或 Balb/c 小鼠而製造，例如具有人類 ST2L 之域 I 之胺基酸序列的多肽：  
 KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKSIPTQERNRVF  
 ASGQLLKFLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVP  
 DYLMYSTV (SEQ ID NO: 9)，或具有胺基酸序列為 RCPRQGKPSYTVDW  
 (SEQ ID NO: 210) 之多肽，並使用 Kohler 等人在 Nature，第 256 期 (1975 年)：頁 495-97 中所述之融合瘤細胞方法。所得到的抗體利用標準方法測試彼等結合至該抗原決定位之能力。例如：當二個別元件之結構係已知，可進行模擬蛋白質-蛋白質對接以辨別交互作用的相容位。可用抗原及抗體複合物進行氫-氘 (H/D) 交換，以定位該抗原上可被該抗體結合的區域。該抗原之段突變及點突變可用以定位對於抗體結合重要的胺基酸。所識別的單株抗體可進一步藉由，例如彼等揭露於 Queen 等人 (Proc Natl Acad Sci (USA) 86:10029-32, 1989) 及 Hodgson 等人 (Bio/Technology 9:421, 1991) 之著作中的技術，結合經改變的框架支撐殘基而修飾以保留結合親和力。

**【0077】** 本文所述之本發明之抗體可為人類抗體或人類適應性抗體。本文所述之本發明之抗體可為 IgA、IgD、IgE、IgG 或 IgM 型。

【0078】 抗原結合位胺基酸序列實質等同彼等顯示在圖 10、圖 11、圖 12、圖 13、圖 15、表 3、表 9 及表 12 中之抗體，係包含於本發明之範圍中。一般而言，此牽涉一或多個以具有相似電荷或疏水性或立體化學特徵的胺基酸進行之胺基酸取代，且係為了改善抗體特性，例如安定性或親和力。例如，保守性取代 (conservative substitution) 可能牽涉以外來殘基取代原生胺基酸殘基，使得對該位置之胺基酸殘基的極性或電荷產生些微影響或無影響。再者，任何多肽中的原生殘基皆可被丙胺酸取代，如已見於關於丙胺酸掃描突變法之先前描述 (MacLennan *et al.*, *Acta Physiol Scand Suppl* 643:55-67, 1998 ; Sasaki *et al.*, *Adv Biophys* 35:1-24, 1998) 。所欲之胺基酸取代 (不論是保守性或非保守性) 可由所屬技術領域中具有通常知識者在需要該取代之時決定。例如，可利用胺基酸取代識別對抗體之功能具重要性的殘基，例如影響親和力之殘基，或與如聚集之非所欲之特性有關的殘基。例示性胺基酸取代顯示於圖 12 及圖 13 中。

【0079】 相對於抗原結合位，只要對抗體之特性不會產生不良之影響，亦可在框架區內進行取代。可在例如 Vernier Zone 殘基 (美國專利第 6,649,055 號) 進行框架取代以改善抗體親和力或安定性。亦可在抗體中序列異於同源人類胚源基因序列之框架位置進行取代，以減低可能的免疫原性。彼等修飾可對例如衍生自從新抗體基因庫 (de novo antibody libraries, 例如 pIX 基因庫) 之抗體為之。

【0080】 保守性胺基酸取代亦包括外來發生的胺基酸殘基，其一般係藉由化學肽合成法而非藉由生物系統中的合成法併入。胺基酸取代可藉由例如 PCR 突變法 (美國專利第 4,683,195 號) 為之。可利用習知方法產生變異體基因庫，例如利用隨機 (NNK) 或非隨機密碼子 (例如 DVK

密碼子，其編碼 11 胺基酸（ACDEGKNRSYW）），並以所欲之特性篩選該基因庫或變異體。

【0081】 雖然實例中所示的具體實施例，包含一者來自重鏈及一者來自輕鏈的可變區之配對、全長抗體鏈之配對或 CDR1、CDR2 及 CDR3 區之配對，但所屬技術領域中具有通常知識者將認可替代性具體實施例，可包含單一重鏈可變區或單一輕鏈可變區、單一全長抗體鏈或來自一抗體鏈之重鏈或輕鏈任一者的 CDR1、CDR2 及 CDR3 區。可利用該單一可變區、全長抗體鏈或一鏈之 CDR1、CDR2 及 CDR3 區篩選另一鏈中的相對應域，該二鏈能夠形成一特異性結合 ST2L 之抗體。該篩選可利用例如揭露於 PCT 專利公開案第 WO1992/01047 號中的階層雙重組合法（hierarchical dual combinatorial approach），藉由嗜菌體呈現篩選方法實現。在此方法中，含有 H 或 L 鏈菌株的個別菌落被用來感染編碼該其他鏈（L 或 H）之菌株的完全基因庫（complete library），並依據所述之嗜菌體呈現技術篩選得到的二鏈特異性抗原結合域。

【0082】 本發明提供如本文所述之本發明抗體的單離 VH 及 VL 域，及包含特定 VH 及 VL 域之抗體。本文所述之某些本發明抗體之 VH 及 VL 可變區係顯示於圖 13 及表 12 中。

【0083】 本發明之一具體實施例係一種單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其特異性結合人類 ST2L 之域 I（SEQ ID NO: 9），包含 VH，其至少 90%相同於序列為 SEQ ID NO: 191 之 VH。

【0084】 本發明之另一具體實施例係一種單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其特異性結合人類 ST2L 之域 I（SEQ ID NO: 9），包含 VL，其至少 94%相同於序列為 SEQ ID NO: 209 之 VL。

【0085】 在本文所述之某些具體實施例中，本發明提供一種抗體，包含序列為 SEQ ID NOs: 143、144、145、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204 或 205 之 VH。

【0086】 在本文所述之某些具體實施例中，本發明提供一種抗體，包含序列為 SEQ ID NOs: 135、136、137、138、139、140、141、142、206、207、208 或 209 之 VL。

【0087】 在本文所述之某些具體實施例中，本發明提供一種抗體，包含

序列為 SEQ ID NOs: 186、187、197、198、199、200、201、202、203、204 或 205 之 VH 及序列為 SEQ ID NO: 206 之 VL；

序列為 SEQ ID NOs: 195 或 196 之 VH 及序列為 SEQ ID NO: 207 之 VL；

序列為 SEQ ID NOs: 188、189 或 190 之 VH 及序列為 SEQ ID NO: 208 之 VL；或

序列為 SEQ ID NOs: 187、191、192、193 或 194 之 VH 及序列為 SEQ ID NO: 209 之 VL。

【0088】 本發明之另一具體實施例係一種單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其特異性結合人類 ST2L 之域 I (SEQ ID NO: 9)，包含：

HCDR1，其序列為 SEQ ID NO: 97；

HCDR2，其序列為 SEQ ID NO: 114；

HCDR3，其序列為 SEQ ID NO: 84；

LCDR1，其序列為 SEQ ID NO: 130；

LCDR2，其序列為 SEQ ID NO: 90；

LCDR3，其序列為 SEQ ID NO: 134；或

VH，其序列為 SEQ ID NO: 191 及 VL，其序列為 SEQ ID NO: 209。

【0089】 缺少任何非人類序列之人類單株抗體可從嗜菌體呈現基因庫藉由例如 Knappik 等人 (J Mol Biol 296:57-86, 2000) 及 Krebs 等人 (J Immunol Meth 254:67-84 2001) 之著作中引用之技術製備及優化。在一例示性方法中，本發明之抗體係單離自表現抗體重鏈可變區及輕鏈可變區為具有噬菌體 pIX 外套蛋白質的融合蛋白質之基因庫。在該抗體基因庫篩選結合至人類 ST2L-ECD 者，並進一步測定所得之陽性株的特徵，從該株溶解物單離 Fabs，並表現為全長 IgGs。例示性抗體基因庫及篩選方法描述在 Shi 等人之著作 (J Mol Biol 397:385-96, 2010)；國際專利公開號 WO2009/085462 及美國專利申請號第 12/546850 號；美國專利第 5,223,409 號、第 5,969,108 號及第 5,885,793 號。

【0090】 由此產生的單株抗體可進一步在彼等之框架區進行修飾，以改變某些框架殘基成為存在相符之人類胚源序列者。

【0091】 可藉由所屬技術領域中具有通常知識者所習知之技術修飾 Fc 而增強或壓制本發明之抗體的免疫效應物性質。例如，Fc 效應物功能，例如 C1q 結合、補體依賴型細胞毒殺作用 (CDC)、抗體依賴型細胞調介細胞毒殺作用 (ADCC)、吞噬作用、調降細胞表面受體 (例如：B 細胞受體；BCR) 等等，可藉由修飾 Fc 中負責彼等活性之殘基而提供及/或控制之。藥物動力學性質亦可藉由突變 Fc 域中延長抗體半衰期的殘基加強之 (Strohl Curr Opin Biotechnol 20:685-91, 2009)。例示性 Fc 修飾係 IgG4 S228P/L234A/L235A、IgG2 M252Y/S254T/T256E (Dall'Acqua et al.,

J Biol Chem 281:23514–24, 2006) ; 或 IgG2 V234A/G237A/P238S、V234A/G237A/H268Q、H268A/V309L/A330S/P331 或 IgG2 上之 V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S ( 國際專利申請號 WO2011/066501 ) ( 依據 EU 編號系統編號 ) 。

【0092】 因此，本文所述之本發明之抗體可藉由下列程序進行轉譯後修飾，例如：醣化作用、異構化作用、去醣化作用或非自然發生的共價修飾作用，例如：增加聚乙二醇部分（聚乙二醇化作用）及脂化作用。該修飾作用可發生於體內或體外。例如：本文所述之本發明之抗體可共軛連結到聚乙二醇（聚乙二醇化作用）以改善彼等之藥物動力學剖繪數據。共軛作用可藉由所屬技術領域中具有通常知識者所習知的方法進行。治療性抗體與 PEG 之共軛作用已經證明可增強藥物動力學特性而不干擾其功能（Knigh et al., Platelets 15:409-18, 2004 ; Leong et al., Cytokine 16:106-19, 2001 ; Yang et al., Protein Eng 16:761-70, 2003）。

【0093】 經修飾之本文所述之本發明之抗體或其片段，以增進安定性、選擇性、交互反應性、親和力、免疫原性或其他所需之生物性質或生物物理性質者，係在本發明之範圍內。抗體之安定性受多種因素影響，包括（1）影響彼等之固有安定性之各域的核心堆積方式，（2）影響 HC 及 LC 配對之蛋白質/蛋白質界面交互作用，（3）極性及帶電殘基之埋藏，（4）極性及帶電殘基之 H 鍵網絡；及（5）表面電荷及在其他分子內及分子間力中的極性殘基分布（Worn et al., J Mol Biol 305:989-1010, 2001）。可根據抗體的晶體結構或在某些案例中藉由分子建模識別潛在的結構減穩殘基，且該殘基對於抗體安定性之影響，可藉由製造及評估在該識別殘基容有突變的變異體而測試之。增加抗體安定性的方法之一，係提升藉由微差掃描熱量法（DSC）測量的熱轉換中點溫度（Tm）。一般而言，蛋



白質 T<sub>m</sub> 與其安定性成正相關，且與其在溶液中展開 (unfolding) 及變性，及取決於蛋白質展開傾向之降解作用的容易度呈負相關 (Remmele et al., Biopharm 13:36-46, 2000)。數個研究發現藉由 DSC 測量為熱安定性之製劑物理安定性排序，與藉由其他方法所測量之物理安定性之間具有關聯性 (Gupta et al., AAPS PharmSci 5E8, 2003; Zhang et al., J Pharm Sci 93:3076-89, 2004; Maa et al., Int J Pharm 140: 155-68, 1996; Bedu-Addo et al., Pharm Res 21:1353-61, 2004; Remmele et al., Pharm Res 15:200-8, 1997)。製劑研究指出 Fab T<sub>m</sub> 與相對應製劑之長期物理安定性有關。在框架或 CDRs 中的胺基酸差異，可對 Fab 域之熱安定性具有重大影響 (Yasui Et al., FEBS Lett 353:143-6, 1994)。

**【0094】** 本文所述之特異性結合人類 ST2L 域 I 的本發明之抗體，可加工成雙特異性抗體，其亦包括在本發明之範圍中。本發明之抗體的 VL 及/或 VH 區，可利用已公開之方法加工成結構如 TandAb® designs (國際專利公開號 WO1999/57150; 美國專利公開號 US2011/0206672) 的單鏈雙特異性抗體，或加工成結構如彼等揭露於美國專利第 US5869620 號; 國際專利公開號 WO1995/15388A, 國際專利公開號 WO1997/14719 或國際專利公開號 WO2011/036460 的雙特異性 scFVs。

**【0095】** 如本文所述之本發明之抗體的 VL 及/或 VH 區，可加工成雙特異性全長抗體，其中各抗體臂 (antibody arm) 結合不同的抗原或抗原決定區。一般係藉由調整二抗體重鏈之間的 CH3 交互作用製造該雙特異性抗體，以利用如彼等描述於美國專利第 US7695936 號; 國際專利公開號 WO04/111233; 美國專利公開號 US2010/0015133; 美國專利公開號 US2007/0287170; 國際專利公開號 WO2008/119353; 美國專利公開號 US2009/0182127; 美國專利公開號 US2010/0286374; 美國專利公開號

US2011/0123532；國際專利公開號 WO2011/131746；國際專利公開號 WO2011/143545；或美國專利公開號 US2012/0149876 中之技術形成雙特異性抗體。本發明之抗體的 VL 及/或 VH 區可結合額外的雙特異性結構，例如雙可變域免疫球蛋白（Dual Variable Domain Immunoglobulins）（國際專利公開號 WO2009/134776），或包括多種二聚合域之結構以連接具有不同特異性之二抗體臂，例如白胺酸鏈區或膠原蛋白二聚合域（國際專利公開號 WO2012/022811、美國專利第 US5932448 號；美國專利第 US6833441 號）。

【0096】 本發明之另一態樣係單離多核苷酸，其編碼本發明之任何抗體重鏈可變區或抗體輕鏈可變區或其片段，或彼等之互補。某些例示性多核苷酸已揭露於本文中，然而編碼本發明之抗體拮抗劑的其他多核苷酸（提供特定表現系統之遺傳密碼簡併性或密碼偏好者），亦包括在本發明之範圍中。本發明之例示性多核苷酸係彼等顯示在 SEQ ID NOs: 211、212、213 及 214 中者。

【0097】 本發明之另一具體實施例係一種載體，其包含本發明之多核苷酸。該載體可為質體載體、病毒載體、用於桿狀病毒表現之載體、轉位子式載體或適合藉由任何方法用於引導本發明之多核苷酸進入特定生物體或基因背景之任何其他載體。

【0098】 本發明之另一具體實施例係一種宿主細胞，其包含本發明之多核苷酸。該宿主細胞可為真核細胞、細菌細胞、植物細胞或古生菌細胞。例示性真核細胞可源自哺乳動物、昆蟲、鳥類或其他動物。哺乳類真核細胞包括不朽化細胞株，例如融合瘤細胞或骨髓瘤細胞株，例如 SP2/0（American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA, CRL-1581）、NS0（European Collection of Cell Cultures (ECACC), Salisbury, Wiltshire,

UK, ECACC No. 85110503)、FO (ATCC CRL-1646) 及 Ag653 (ATCC CRL-1580) 鼠類細胞株。一例示性人類骨髓瘤細胞株係 U266 (ATCC CRL-TIB-196)。其他有用的細胞株包括彼等衍生自中國倉鼠卵巢 (CHO) 細胞者，例如 CHO-K1SV (Lonza Biologics, Walkersville, MD)、CHO-K1 (ATCC CRL-61) 或 DG44。

【0099】 本發明之另一具體實施例係一種製造特異性結合 ST2L 之域 I 的方法，包括培養本發明之宿主細胞及取得該宿主細胞所製造之抗體。製造抗體及純化抗體之方法係為所屬技術領域中所習知。

【0100】 本發明之另一具體實施例係一種在個體中抑制 ST2L 與 IL-33 交互作用的方法，包含施予該個體抑制 ST2L 與 IL-33 交互作用足夠量的特異性結合 ST2L 之域 I 的抗體。

## 治療方法

【0101】 本文所述之本發明之 ST2L 拮抗劑，例如阻斷 IL-33/ST2L 交互作用並結合 ST2L 域 I 之 ST2L 抗體拮抗劑、與包含序列為 SEQ ID NO: 47 之重鏈可變區及序列為 SEQ ID NO: 51 之輕鏈可變區的單離抗體競爭結合至人類 ST2L (SEQ ID NO:1) 的抗體、或結合序列為 SEQ ID NO: 1 (RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210) 之人類 ST2L 胺基酸殘基 35-48 的抗體，可用於調節免疫系統。本文所述之本發明之抗體，與結合 ST2L 其他域及/或區的抗體相較，可更有效的拮抗 ST2L 生物活性，例如本發明之抗體能夠更有效的減低 IL-33 引發之肥大細胞反應。本發明之任何抗體可用在本發明之方法中。可用在本發明之方法中的例示性抗體係抗體 STLM62、STLM15、STLM103、STLM107、STLM108、STLM123、STLM124、STLM206、STLM207、STLM208、STLM209、STLM210、

STLM211、STLM212、STLM213。並非希望受任何理論約束，但推論結合域 I 及阻斷 IL-33/ST2L 交互作用之抗體拮抗劑可抑制肥大細胞中 IL-1RAcP/IL-33/ST2L/cKit 複合物形成或下游的訊息傳遞，然而域 III 結合抗體，雖然能夠抑制 IL-1RAcP 聚集到 ST2L/IL-33 複合物，卻不會破壞專見於肥大細胞之大規模 IL-1RAcP/IL-33/ST2L/cKit 複合物形成。進行微陣列分析之結果支持上述推論，該結果顯示抗 ST2L 域 I 結合抗體抑制大多數由 IL-33 引發之肥大細胞信息傳遞，而抗 ST2L 域 III 結合抗體僅能抑制彼等訊息傳遞的一小部分。可能原因為 IL-33 優先於輔助蛋白 IL-1RAcP 結合至 ST2L，藉由域 I 結合抗體阻擋 IL-33 結合至 ST2L，即可避免任何其他輔助蛋白的結合，包括 cKit 或尚未辨識出來的共同受體（co-receptors）。不會干擾 IL-33 結合至 ST2L 的域 III 結合抗體，理論上可阻斷 IL-1RAcP 結合，但不會阻斷其他共同受體的結合，包括尚未辨識出來的共同受體。目前已提出多個模型解釋 IL-1RAcP 如何與 IL-1/IL-1R 或 ST2L/IL-33 複合物交互作用（Lingel *et al.*, *Structure* 17: 1398–1410, 2009；並回顧於 Thomas *et al.*, *Nat Struct & Molec Biol* 19: 455-457, 2012）。彼等模型指出，IL-1RAcP 可結合至該複合物之一側，但結合至哪一側則尚無定論。因此，該複合物的「其他側」或「閒置側」可能與不會被域 III 抗體阻斷的替代性共同受體結合，且例如增加另一共同受體聚集之脫靶效應（off-target effects），可能造成訊息傳遞增加。

**【0102】** 在本發明之方法中，可使用任何特異性結合人類 ST2L 域 I 之抗體拮抗劑、阻斷 IL-33/ST2L 交互作用並結合人類 ST2L 域 I 之抗體拮抗劑、與包含序列為 SEQ ID NO: 47 之重鏈可變區及序列為 SEQ ID NO: 51 之輕鏈可變區之單離抗體競爭結合至人類 ST2L（SEQ ID NO:1）的抗體，或結合序列為 SEQ ID NO: 1 之人類 ST2L 的第 35-48 個胺基酸殘基

(RCPRQGKPSYTVDW ; SEQ ID NO: 210) 的抗體。該抗體的額外特徵包括該抗體阻斷 IL-33/ST2L 交互作用及抑制人類肥大細胞反應的能力。

**【0103】** 因此，本發明之抗體適合用於治療多種 ST2L 調介症狀、ST2L 調介發炎症狀及所欲抑制肥大細胞反應的症狀。

**【0104】** 本發明之方法可用於治療屬於任何分類之動物病患。該動物之實例包括哺乳動物，例如：人類、嚙齒類、狗、貓及家畜。例如：本發明之抗體可用於預防及治療 ST2L 調介症狀，例如：發炎疾病，包括氣喘、呼吸道過度反應、類肉瘤病、慢性阻塞性肺臟疾病（COPD）、原發型肺纖維化病變（IPF）、囊腫纖維化、發炎性腸疾（IBD）、風濕性關節炎、嗜酸細胞性食道炎、硬皮症、異位性皮膚炎、過敏性鼻炎、大水泡性天孢瘡樣病、慢性蕁麻疹、糖尿病腎病變、間質性膀胱炎或移植物抗宿主病（GVHD）。本發明之抗體可用於預防及治療至少部分由肥大細胞調介之免疫疾病，例如：氣喘、濕疹、癢、過敏性鼻炎、過敏性結膜炎，以及自體免疫疾病，例如：風濕性關節炎、大水泡性天孢瘡樣病及多發性硬化症。

**【0105】** 本發明之方法亦可用於製備該治療之藥劑，其中該藥劑係製備用於以本文所定義之劑量施予。

**【0106】** 肥大細胞經由釋放多種調介物，而在過敏性發炎作用及氣喘中扮演核心角色（回顧於 Amin, Respir Med 106:9-14, 2012）。ST2L 在肥大細胞上大量表現，且其之活化導致多種發炎性細胞介素及其他調介物之表現。抑制 ST2L 活性被推測會干擾肥大細胞調介的發炎細胞聚集並調節慢性發炎作用。

**【0107】** 肥大細胞對於刺激會快速反應，包括過敏原、冷空氣、病原體；彼等刺激帶來的上皮細胞損傷可造成 IL-33 之釋放（回顧於 Zhao and

Hu, *Cell & Molec Immunol* 7: 260-2, 2012)。肥大細胞釋放白三烯、組織胺、前列腺素及細胞介素，以提高血管通透性及支氣管收縮，並聚集其他免疫細胞，例如嗜中性白血球、嗜酸性白血球及 T 淋巴細胞到該位置（Henderson *et al.*, *JEM* 184:1483-94, 1996; White *et al.*, *JACI* 86:599-605, 1990）。此外，彼等藉由提升黏附分子在內皮細胞上的表現，以增加免疫細胞的移動（Meng *et al.*, *J Cell Physiol* 165:40-53, 1995）。肥大細胞在呼吸道重塑中扮演重要角色；就氣喘而言，呼吸道平滑肌（ASM）細胞層中的肥大細胞數量增加，並分泌調介物促進 ASM 增生（回顧於 Okayama *et al.*, *Curr Opin Immunol* 19:687-93, 2007）。

【0108】 發炎性肺臟症狀係發炎症狀的實例。例示性發炎肺臟症狀包括感染引發的肺臟症狀，包括彼等與病毒、細菌、真菌、寄生蟲或病原性蛋白顆粒感染相關者；過敏原引發的肺臟症狀；汙染物引發的肺臟症狀，例如：石棉沉著病、矽肺病或鉍中毒症。胃吸入引發的肺臟症狀，免疫失調，例如囊腫纖維化之帶有基因因素之發炎症狀，及物理創傷引發的肺臟症狀，例如呼吸器傷害。彼等發炎症狀亦包括氣喘、肺氣腫、支氣管炎、慢性阻塞性肺臟疾病（COPD）、類肉瘤病、組織球增生症、淋巴管肌瘤增生、急性肺傷害、急性呼吸窘迫症候群、慢性肺病、肺支氣管發育不全、社區性肺炎、院內肺炎、呼吸器相關肺炎、敗血症、病毒性肺炎、流感病毒感染、副流感病毒（parainfluenza）感染、輪狀病毒感染、人類偏肺病毒（metapneumovirus）感染、呼吸道融合病毒（respiratory syncytial virus）感染及麴菌屬或其他真菌感染。例示性感染相關發炎疾病可包括病毒性或細菌性肺炎，包括重症肺炎、囊腫纖維化、支氣管炎、呼吸道惡化及急性呼吸窘迫症候群（ARDS）。該感染相關症狀可牽涉多重感染，例如初級病毒感染及次級細菌感染。失調的 ST2L 訊息傳遞可能在例如氣喘

及慢性阻塞性肺臟疾病（COPD）之肺臟疾病的病理學中有其功能（回顧於 Alcorn *et al.*, *Annu Rev Physiol* 72:495-516, 2010）。常用的氣喘及呼吸道發炎動物模式包括白蛋白刺激模式、甲基膽鹼敏化模式及以薰煙色麴菌敏化（Hessel *et al.*, *Eur J Pharmacol* 293:401-12, 1995）。抑制培養的人類支氣管上皮細胞、支氣管纖維母細胞或呼吸道平滑肌細胞製造細胞介素及趨化激素亦可作為體外模式。施予本發明之拮抗劑給任何彼等模式，可用來評估彼等拮抗劑改善症狀及改變氣喘、呼吸道發炎、COPD 等之進程的用途。

【0109】 氣喘係一種肺部的發炎疾病，其特徵為呼吸道過度反應（airway hyperresponsiveness，「AHR」）、支氣管收縮、哮喘、嗜酸性白血球性或嗜中性白血球性發炎反應、黏液過度分泌、皮下腺纖維化及 IgE 量升高。病患經歷氣喘「惡化」（症狀變差），最常見的原因係呼吸道的微生物感染（例如：鼻病毒、流感病毒、流感嗜血桿菌（*Haemophilus influenzae*）等）。氣喘發作可由環境因素引發，例如：蛔蟲、昆蟲、動物（例如：貓、狗、兔、小鼠、大鼠、倉鼠、天竺鼠及鳥類）、真菌、空氣汙染（例如：二手煙）、刺激性氣體、有害氣體、蒸汽、噴霧劑、化學品、花粉、運動或冷空氣。除了氣喘以外，許多影響肺部的慢性發炎性疾病，特徵皆為嗜中性白血球滲入呼吸道，例如：慢性阻塞性肺臟疾病（COPD）、細菌性肺炎及囊腫纖維化（Linden *et al.*, *Eur Respir J* 15:973-7, 2000；Rahman *et al.*, *Clin Immunol* 115:268-76, 2005），而例如 COPD、過敏性鼻炎及囊腫纖維化之疾病，特徵則為呼吸道過度反應（Fahy and O’Byrne, *Am J Respir Crit Care Med* 163:822-3, 2001）。氣喘及呼吸道發炎的常見動物模式包括在白蛋白敏化與刺激之後予以甲基膽鹼刺激之模式（Hessel *et al.*, *Eur J Pharmacol* 293:401-12, 1995）。抑制培養的人類支氣管上皮細胞、支

氣管纖維母細胞或呼吸道平滑肌細胞製造細胞介素及趨化激素亦可作為體外模式。施予本發明之抗體拮抗劑給任何彼等模式，可用來評估彼等拮抗劑改善症狀及改變氣喘、呼吸道發炎、COPD 等之進程的用途。

【0110】 經由在 TH2 細胞、嗜鹼性白血球、肥大細胞及新發現的先天性第 2 型淋巴細胞上的 ST2L 受體傳遞之 IL-33 訊息，造成 IL-5 及 IL-13（第 2 型細胞介素）分泌（ILCs 回顧於 Spits *et al.*, *Nature Reviews Immunology* 13:145-149, 2013）。氣喘的 IL-5 或 IL-13 標靶治療，其良益效果確認彼等訊息傳遞路徑之間的關聯性。IL-5 活化嗜酸性白血球，且以中和 IL-5 之單株抗體治療一小群帶有唾液嗜酸性白血球增生症之重症氣喘，結果為減低惡化情形（Nair *et al.* *N Engl J Med.* 2009; 360 (10):985-93）。IL-13 經報導為促成 IgE 合成、黏液分泌及纖維化。以抗 IL-13 單株抗體治療重症氣喘，結果為肺部功能改善，有部分則顯示更大幅度的改善（Corren *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 365:1088–1098, 2011）。差別性免疫路徑的其他媒介物亦牽連在氣喘致病機轉中，且除了 ST2L 以外，阻斷彼等媒介物對於治療有額外的益處。標靶多重第 2 型細胞介素或製造第 2 型細胞介素之上游路徑的治療，對多種疾病而言皆是有益的。

【0111】 本發明之 ST2L 抗體的 VH 域及 VL 域可結合到雙特异性抗體及本文所描述之分子中，其中該雙特异性抗體特异性結合 ST2L 之域 I 及一第二抗原，例如 TSLP（胸腺基質淋巴生成素（thymic stromal lymphopoietin））、IL-25、IL-17RB 或 TSLPR。

【0112】 IL-25 及 TSLP，如 IL-33 一般，透過不同的訊息傳遞複合物觸發第 2 型細胞介素釋放：IL-25（IL-17E）係 IL-17 族的一員並經由 IL-17RA/IL-17RB 傳遞訊息，而 TSLP 係 IL-7 族的一員並經由 TSLPR/IL-7R $\alpha$  異源二聚體（回顧於 Koyasu *et al.*, *Immunol* 132:475-481,



2011) 傳遞訊息。IL-33、ST2L、IL-25、IL-17RB、TSLP 或 TSLPR 有缺陷的動物在多種不同類型之氣喘小鼠模式的至少其中一種當中，呼吸道發炎作用較不嚴重；然而在多數彼等動物模式中，可能缺少呼吸道發炎作用之保護，因而提高上皮細胞暴露於多種過敏原或致病原的機會，伴隨觸發 IL-33、IL-25 及 TSLP 之釋放。Hammad 等人報導，施予家塵蟎萃取物給小鼠，造成 IL-25、TSLP 及 IL-33 (以及 IL-33 下游的 IL-5 及 IL-13) 釋放到呼吸道 (Hammad *et al.*, Nat Med 15:210-216, 2009)。此項結果顯示，阻斷 ST2L 及 TSLP 及/或 IL-25 具有好處，特別是對於嚴重的呼吸道疾病而言。

【0113】 在本發明的另一具體實施例中，該特異性結合人類 ST2L 域 I 之抗體拮抗劑可用於產生結合 ST2L 及 TSLP、ST2L 及 IL-25、ST2L 及 TSLPR、ST2L 及 IL-17RA 或 ST2L 及 IL-17RB 的雙特異性分子。

【0114】 在本發明的另一具體實施例中，該特異性結合人類 ST2L 域 I 之抗體拮抗劑係一種雙特異性抗體，其中該抗體進一步結合 TSLP、IL-25、TSLPR、IL-17RA 或 IL-17RB。

【0115】 TSLP、IL-25、TSLPR、IL-17RA 及 IL-17RB 結合抗體可利用本文所述之方法產生，例如免疫接種表現人類免疫球蛋白基因座之小鼠 (Lonberg *et al.*, Nature 368:856-9, 1994; Fishwild *et al.*, Nature Biotechnology 14:845-51, 1996; Mendez *et al.*, Nature Genetics 15:146-56, 1997, 美國專利號 5,770,429、7,041,870 及 5,939,598) 或 Balb/c 小鼠，該免疫接種係以相對應的蛋白質或該蛋白質的細胞外區域進行，或利用本文所述之嗜菌體呈現基因庫。另一方面，可使用現存的 TSLP、IL-25、TSLPR、IL-17RA 及 IL-17RB 抗體產生雙極性分子。可使用的例示性 IL-25 抗體係彼等描述於例如國際專利公開號 WO2011/123507 者。

**【0116】** 關節炎（包括骨關節炎、風濕性關節炎、受傷造成的關節炎等等）係常見的發炎症狀，其將從抗發炎蛋白質的治療性使用獲益，例如本發明之拮抗劑。ST2L 訊息傳遞的活化可使發炎關節中的發炎作用持續並進一步傷害組織。目前已知多種風濕性關節炎的動物模式。例如：在膠原蛋白引發的關節炎（CIA）模式中，小鼠發展出非常類似於人類風濕性關節炎的慢性發炎性關節炎。ST2L 缺陷（ST2KO）小鼠在此模式中所發展的疾病輕微，且在此模式中的病變係依賴於肥大細胞的 ST2L 表現（Xu *et al.*, PNAS 105:10913-8, 2008）。在此模式中，ST2KO 小鼠關節內的單核細胞及多形核細胞浸潤，以及滑膜增生減少。與膠原蛋白（CII）一起培養的 ST2KO 小鼠引流淋巴結，顯示出 IL-17、IFN $\gamma$  及 TNF $\alpha$  製造明顯減少。在誘發 CIA 前過繼性移植野生型（WT）骨髓源性肥大細胞（BMMC）的 ST2L 缺陷小鼠，與彼等移植 ST2KO BMMCs 的小鼠相較，發展出較嚴重的 CIA。因此肥大細胞的 ST2L 訊息傳遞，在類似人類風濕性關節炎的小鼠模式中，對關節炎的發展佔關鍵性地位。施予本發明之 ST2L 抗體（其抑制肥大細胞反應）給 CIA 模式小鼠，可評估彼等拮抗劑用來緩和症狀及改變病程的用途。

**【0117】** 例示性腸胃道發炎性症狀係發炎性腸疾（IBD）、潰瘍性結腸炎（UC）及克羅恩氏病（CD）、環境刺激誘發的結腸炎（例如：由下列所造成或與下列有關（例如：作為副作用）的腸胃道發炎（例如：結腸炎）：治療方案，例如施予化學治療、放射治療等）、感染性結腸炎、缺血性結腸炎、生膠性或淋巴性結腸炎、壞死性結腸炎、下列狀況中的結腸炎：例如慢性肉芽腫病或乳糜瀉、食物過敏、胃炎、感染性胃炎或腸結腸炎（例如幽門螺旋桿菌感染的慢性活動性胃炎）及由感染物所造成的其他型腸胃道發炎。有許多腸胃道發炎症狀的動物模式。一些最廣為使用的

模式係 2,4,6-三硝苯磺酸/乙醇 (TNBS) 所誘發的結腸炎模式或噁唑酮模式，其在結腸中誘發慢性發炎及潰瘍 (Neurath *et al.*, Intern Rev Immunol 19:51-62, 2000)。另一模式使用聚葡萄糖硫酸鈉 (DSS)，其誘發急性結腸炎，徵狀為出血性腹瀉、失重、結腸縮短及帶有嗜中性球之黏膜潰瘍。另一模式與過繼性移植純真 (naïve) CD45RB<sup>high</sup> CD4 T 細胞到 RAG 或 SCID 小鼠有關。在此模式中，供給體純真 T 細胞攻擊接受者腸，造成慢性腸發炎及相似於人類發炎性腸疾病的症狀 (Read and Powrie, Curr Protoc Immunol Chapter 15 unit 15.13, 2001)。施予任何彼等模式本發明之拮抗劑，可用來評估彼等拮抗劑緩和症狀及改變與腸發炎有關之病程 (例如發炎性腸疾) 的潛在功效。

【0118】 腎纖維化可發展自例如移植物缺血/再灌注 (Freese *et al.*, Nephrol Dial Transplant 16:2401-6, 2001) 之急性刺激或例如糖尿病之慢性症狀 (Ritz *et al.*, Nephrol Dial Transplant 11 Suppl 9:38-44, 1996)。致病機制一般係以初始發炎反應接續腎絲球過濾器 (glomerular filtration apparatus) 及腎小管間隙組織 (tubular interstitium) 的持續性纖維化為特徵 (Liu, Kidney Int 69:213-7, 2006)。已知腎小管間質纖維化 (Tubulointerstitial fibrosis) 在腎臟損傷到末期腎衰竭的致病機制中扮演關鍵性角色，且腎近端小管細胞 (proximal tubule cell) 已被發現為中心調介者 (Phillips and Steadman, Histol Histopathol 17:247-52, 2002; Phillips, Chang Gung Med J 30:2-6, 2007)。腎小管間質腔中的纖維化部分係由常駐纖維母細胞的活化所調介，該纖維母細胞分泌促發炎反應細胞介素，刺激腎近端小管上皮細胞分泌局部性發炎反應調介物及纖維生成調介物。此外，趨化性細胞介素係由纖維母細胞及上皮細胞分泌，並提供方向性梯度引導單核細胞/巨噬細胞及 T 細胞浸潤到腎小管間質中。發炎性浸潤製造

額外的纖維生成細胞介素及發炎性細胞介素，其進一步活化纖維母細胞及上皮細胞性細胞介素釋放，同時亦刺激上皮細胞進行表現型轉化，使該細胞沈積過量的細胞外基質組分（Simonson, *Kidney Int* 71:846-54, 2007）。

【0119】 其他的例示性纖維化症狀可包括肝纖維化（包括但不限於酒精誘發性肝硬化、病毒誘發性肝硬化、自體免疫誘發性肝炎）；肺纖維化（包括但不限於硬皮症、原發型肺纖維化病變）；腎纖維化（包括但不限於硬皮症、糖尿病性腎炎、腎絲球腎炎、狼瘡性腎炎）；真皮纖維化（包括但不限於硬皮症、肥厚性疤痕及癩瘤性疤痕、燒傷）；骨髓纖維化；多發性神經纖維瘤；纖維瘤；腸纖維化；及手術過程造成的纖維黏連（*fibrotic adhesions*）。纖維化可為器官特異性纖維化或全身性纖維化。器官特異性纖維化可與肺纖維化、肝纖維化、腎纖維化、心纖維化、血管纖維化、皮膚纖維化、眼纖維化或骨髓纖維化相關聯。肺纖維化可與原發型肺纖維化病變、藥物誘發性肺部纖維化、氣喘、類肉瘤病或慢性阻塞性肺臟疾病相關聯。肝纖維化可與肝硬化、血吸蟲病（*schistosomiasis*）或膽管炎（*cholangitis*）相關聯。肝硬化可選自酒精性肝硬化、C型肝炎後肝硬化、原發性膽汁性肝硬化（*primary biliary cirrhosis*）。膽管炎可為硬化性膽管炎。腎纖維化可與糖尿病性腎病變或狼瘡性腎絲球硬化症相關聯。心纖維化可與心肌梗塞相關聯。血管纖維化可與血管形成術後動脈再狹窄（*postangioplasty arterial restenosis*）或動脈粥狀硬化相關聯。皮膚纖維化可與燒傷疤痕、肥厚性疤痕、癩瘤性疤痕或腎因性皮膚纖維化（*nephrogenic fibrosing dermatopathy*）相關聯。眼纖維化可與眼後纖維化（*retro-orbital fibrosis*）、後天性白內障手術（*postcataract surgery*）或增殖性玻璃體視網膜病變（*proliferative vitreoretinopathy*）相關聯。骨髓纖維化可與原發性骨髓纖維化（*idiopathic myelofibrosis*）或藥物誘發性骨髓纖維變性相關聯。

全身性纖維化可為全身性硬化症 (systemic sclerosis) 或移植物對抗宿主疾病 (graft versus host disease) 。

【0120】 可藉由本發明之方法預防或治療其他發炎性症狀及神經疾病，係彼等由自體免疫疾病所造成者。彼等症狀及神經疾病包括多發性硬化症、紅斑性狼瘡及神經退化性及中樞神經系統 (CNS) 失調 (包括阿茲海默症、帕金森氏症、亨丁頓舞蹈症、躁鬱症及肌萎縮性脊髓側索硬化症 (ALS))、肝臟疾病 (包括原發性膽汁性肝硬化、原發性硬化性膽管炎、非酒精性脂肪肝病/脂肪肝炎、纖維化、C 型病毒性肝炎 (HCV) 及 B 型病毒性肝炎 (HBV)、糖尿病及胰島素抗性)、心血管失調 (包括動脈粥狀硬化、腦出血 (cerebral hemorrhage)、中風及心肌梗塞)、關節炎、風濕性關節炎、乾癬性關節炎及幼年型類風濕性關節炎 (JRA)、骨質疏鬆症、骨關節炎、胰臟炎、纖維化、腦炎、牛皮癬、巨大細胞動脈炎 (Giant cell arteritis)、僵直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis)、自體免疫性肝炎 (autoimmune hepatitis)、人類免疫缺乏病毒 (HIV)、發炎性皮膚症狀、移植、癌症、過敏、內分泌疾病、創傷修復、其他自體免疫失調、呼吸道過度反應及細胞調介、病毒調介或普恩蛋白調介的感染或失調。

【0121】 本發明之一具體實施例係治療或預防 ST2L 調介症狀之方法，包含在足夠治療或預防該 ST2L 調介症狀的時間長度中，將治療有效量之一種特異性結合人類 ST2L 域 I (SEQ ID NO: 9)、阻斷 IL-33/ST2L 交互作用、與下列抗體競爭結合到人類 ST2L (SEQ ID NO: 1)：包含序列為 SEQ ID NO: 47 之重鏈可變區 (VH) 及序列為 SEQ ID NO: 51 之輕鏈可變區 (VL) 的單離抗體，及/或結合到序列為 SEQ ID NO: 1 之人類 ST2L 的第 35-48 個胺基酸殘基 (RCPRQGKPSYTVDW；SEQ ID NO: 210) 的單離人類或人類適應性抗體拮抗劑施予有需要的病患。

**【0122】** 本發明之另一具體實施例係一種抑制病患體內肥大細胞反應的方法，包含在足夠抑制該肥大細胞反應的時間長度中，將治療有效量之一種特異性結合人類 ST2L 域 I (SEQ ID NO: 9)、阻斷 IL-33/ST2L 交互作用、與下列抗體競爭結合到人類 ST2L (SEQ ID NO: 1)：包含序列為 SEQ ID NO: 47 之重鏈可變區 (VH) 及序列為 SEQ ID NO: 51 之輕鏈可變區 (VL) 的單離抗體，及/或結合到序列為 SEQ ID NO: 1 之人類 ST2L 的第 35-48 個胺基酸殘基 (RCPRQGKPSYTVDW；SEQ ID NO: 210) 的人類或人類適應性抗體拮抗劑施予有需要的病患。

**【0123】** 本發明之另一具體實施例係一種在個體中抑制 IL-33 及 ST2L 之交互作用的方法，包含施予該個體足夠抑制 IL-33 及 ST2L 交互作用量的，特異性結合人類 ST2L 域 I (SEQ ID NO: 9)、阻斷 IL-33/ST2L 交互作用、與下列抗體競爭結合到人類 ST2L (SEQ ID NO: 1)：包含序列為 SEQ ID NO: 47 之重鏈可變區 (VH) 及序列為 SEQ ID NO: 51 之輕鏈可變區 (VL) 的單離抗體，及/或結合到序列為 SEQ ID NO: 1 之人類 ST2L 的第 35-48 個胺基酸殘基 (RCPRQGKPSYTVDW；SEQ ID NO: 210) 的人類或人類適應性抗體拮抗劑。

**【0124】** 在另一具體實施例中，該 ST2L 調介症狀係氣喘、呼吸道過度反應、類肉瘤病、慢性阻塞性肺臟疾病 (COPD)、原發型肺纖維化病變 (IPF)、囊腫纖維化、發炎性腸疾 (IBD)、嗜酸細胞性食道炎 (eosinophilic esophagitis)、硬皮症 (scleroderma)、異位性皮膚炎、過敏性鼻炎、大水泡性天孢瘡樣病、慢性蕁麻疹、糖尿病腎病變、風濕性關節炎、間質性膀胱炎或移植物抗宿主病 (GVHD)。

**【0125】** 在另一具體實施例中，該 ST2L 調介症狀係與發炎細胞聚集在肺部、杯狀細胞增生或黏液分泌增加有關。

【0126】 在另一具體實施例中，該 ST2L 調介症狀係與肥大細胞反應有關。

【0127】 在另一具體實施例中，該抑制肥大細胞反應包含以 50  $\mu\text{g/ml}$  抗體抑制由人類臍帶血衍生肥大細胞所釋放之 GM-CSF、IL-5、IL-8、IL-10 或 IL-13 之量達至少 50%。

【0128】 在另一具體實施例中，該施予有需要之病患的抗體拮抗劑係特異性結合人類 ST2L 域 I (SEQ ID NO: 9)、阻斷 IL-33/ST2L 交互作用、與下列抗體競爭結合到人類 ST2L (SEQ ID NO: 1)：包含序列為 SEQ ID NO: 47 之重鏈可變區 (VH) 及序列為 SEQ ID NO: 51 之輕鏈可變區 (VL) 的單離抗體，及/或結合到序列為 SEQ ID NO:1 之人類 ST2L 的第 35-48 個胺基酸殘基 (RCPRQGKPSYTVDW；SEQ ID NO: 210) 並進一步結合 TSLP、IL-25、TSLPR、IL-17RA 或 IL-17RB 的雙特異性抗體。

### 施予/醫藥組合物

【0129】 有效治療希望調控 ST2L 生物活性的症狀之該抗 ST2L 抗體的「治療有效量」，可藉由標準研究技術決定。例如：將能有效治療發炎症狀（例如氣喘或風濕性關節炎）之抗 ST2L 抗體的劑量，可藉由施予該抗 ST2L 抗體給相關動物模式（例如本文所述之）抗 ST2L 抗體決定。

【0130】 此外，可視情況利用體外試驗協助找出最佳劑量範圍。所屬技術領域中具有通常知識者可依據多種因素考量而決定選擇特定有效劑量（例如：透過臨床試驗）。該因素包括所欲治療或預防之疾病、所牽涉之病徵、病患之身體質量、病患之免疫狀態及其他為所屬技術領域中具有通常知識者所知的因素。用於該配方的精確劑量亦將取決於施予的途徑

以及疾病的嚴重程度，且應根據醫生的判斷與每個患者的情況來決定。有效劑量可由體外或動物模式測試系統所導出的劑量-反應曲線來推斷。

【0131】 本發明之抗體治療用途的施予模式可為任何將試劑傳遞至宿主的適當途徑。該些抗體的醫藥組合物對腸胃外施予特別有用，例如皮內、肌內、腹膜內、靜脈內、皮下或鼻內方式。

【0132】 本發明之抗體可製備成醫藥組合物，其包括一有效量的試劑於一醫藥上可接受載劑中作為有效成分。術語「載劑」係指與活性化合物一起施予的稀釋劑、佐劑、賦形劑或媒介物。此醫藥載體可為液體（如水及油），該些液體包括石油、動物、植物或合成來源（如花生油、黃豆油、礦物油、芝麻油及其類似物）。例如，可使用 0.4% 鹽水及 0.3% 甘胺酸。該些溶液係無菌且一般無顆粒物。其可利用常見、習知的滅菌技術來滅菌（例如，過濾）。該組合物可包括如模擬生理條件所需的醫藥上可接受輔助物質，如 pH 調整及緩衝試劑、穩定劑、增稠劑、潤滑劑及著色劑等等。本發明之抗體於該些醫藥配方的濃度可有很大的變化，即由約小於 0.5%，通常約 1% 或至少 1% 到至多 15 或 20% 重量百分比，且主要將根據所選的特定施予模式依所需劑量、液體體積、黏度等等來選擇。

【0133】 因此，可製備用於肌內注射的本發明之醫藥組合物以包括 1 ml 滅菌緩衝水，以及介於約 1 ng 至約 100 mg 之間（即約 50 ng 至約 30 mg，或較佳為約 5 mg 至約 25 mg）的本發明抗 ST2L 抗體。同樣地，可製備用於靜脈內注射的本發明之醫藥組合物以包括 250 ml 滅菌林格氏液，以及約 1 mg 至約 30 mg 且較佳為 5 mg 至約 25 mg 的本發明拮抗劑。製備可腸胃外施予組合物的實際方法為習知且詳細描述於，例如「Remington's Pharmaceutical Science」，第 15 版，Mack Publishing Company，Easton，PA。



【0134】 本發明之抗體可被凍乾以儲存並在使用前於適當的載劑中恢復原狀。此技術已被證明利用常見的免疫球蛋白及蛋白質製備方式是有效的，且可採用技藝習知的凍乾及復原技術。

【0135】 本發明將參照下面特定、非限制性實例說明。

## 材料與方法（一般）

### 人類及馬來猴 (*Macaca fascicularis*, *cyno*) 受體-配體結合抑制分析 (RLB 分析)

【0136】 將 96 孔盤以 50  $\mu$ l 的 4  $\mu$ g/ml 人類 ST2L-ECD (SEQ ID NO: 1 之胺基酸 19-328) 或 2  $\mu$ g/ml 馬來猴 ST2L-ECD (SEQ ID NO: 2 之胺基酸 19-321) 塗覆，於碳酸氫鹽緩衝液中在 4°C 下以 C 端 His<sub>6</sub> 標籤標記 16 小時。後續所有步驟皆在室溫下進行。以 200  $\mu$ l 阻隔緩衝液阻隔培養盤，並以 300  $\mu$ l 含 PBS+0.05% Tween 的沖洗緩衝液沖洗 3 次。將 30  $\mu$ l 之不同抗 ST2L 單株抗體稀釋加入盤孔並培養 1 小時。人類受體-配體結合分析中，加入 20  $\mu$ l 之生物素標記人類 IL-33 (SEQ ID NO: 3 之殘基 112-270) 至最終濃度為 100 ng/ml 並培養 30 分鐘。馬來猴受體-配體結合分析試驗中，加入 20  $\mu$ l 之生物素標記馬來猴 IL-33 (SEQ ID NO: 4 之殘基 112-269) 至最終濃度為 200 ng/ml 並培養 30 分鐘。將培養盤以 300  $\mu$ l 沖洗緩衝液沖洗 3 次。加入 50  $\mu$ l 之 0.2  $\mu$ g/ml 卵白素-辣根過氧化酶 (Streptavidin-HRP) (Jackson ImmunoResearch) 並培養 30 分鐘。將培養盤以 300  $\mu$ l 含 PBS+0.05% Tween 的沖洗緩衝液沖洗 3 次。將 50  $\mu$ l 之 TMB 基質 (EMD Biosciences) 加入各盤孔。加入 100  $\mu$ l 之 0.2N 硫酸終止反應。利用 Envision 培養盤分析儀 (Perkin Elmer) 測量 OD450。

### 產生嵌合 ST2L 建構

【0137】 利用標準分子生物技術設計並產生特徵為人類及小鼠 ST2L 域 I、II 及 III 置換的各種建構。該些建構列於表 1。對應於人類 ST2L (hST2L) (SEQ ID NO: 1 ; NP\_057316) 及小鼠 ST2L (mST2L) (SEQ ID NO: 5 ; NP\_001020773) 蛋白質的胺基酸編號。

表 1

建構物名稱	嵌合建構物中各個域之胺基酸殘基來源		
	域 I	域 II	域 III
HHM-ST2L	hST2L aa. 19-122	hST2L aa. 123-202	mST2L aa. 209-324
MHM-ST2L	mST2L aa. 28-128	hST2L aa. 123-202	mST2L aa. 209-324
HMH-ST2L	hST2L aa. 19-122	mST2L aa. 129-208	hST2L aa. 203-321
HH-ST2L	hST2L aa.19-122	hST2L aa. 123-205	N/A

hST2L : 人類 ST2L SEQ ID NO:1

mST2L : 小鼠 ST2L SEQ ID NO:5

### 域結合測定分析。

【0138】 與 ST2L 域 I、II 及 III 結合的抗體係利用標準捕捉 ELISA 分析使用電化學發光偵測格式 (Meso-Scale Discovery (MSD) 技術) 測定。在室溫下將 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之各抗體塗覆在 MSD HighBind 培養盤之各盤孔上 (每孔 5  $\mu\text{L}$ ) 2 小時。在室溫下將培養盤以 150  $\mu\text{L}$  之 5% MSD 阻隔緩衝液阻隔 2 小時，並以 HEPES 沖洗緩衝液沖洗 3 次，接著加入 25  $\mu\text{L}$  之磺酸基標記 (sulfo tag) 標定的 huST2L-ECD 或小鼠 ST2L-—————ECD (SEQ ID NO: 5 之 28-326) 或 HHM-ST2L (SEQ ID NO:6) 或 HMH-ST2L (SEQ ID NO: 8) 嵌合體或 HH-ST2L (SEQ ID NO: 1 之殘跡 19-205) 至培養盤，其濃度由 5 nM 增加

至 40 nM。將培養盤以鋁箔覆蓋並在室溫下輕輕搖動培養 1 小時。接著以 HEPES 沖洗緩衝液沖洗 3 次。將 MSD 讀取緩衝液 (150  $\mu$ l) 加入各盤孔，接著利用 MSD Sector Imager 6000 讀取培養盤。

【0139】 該些與人類 ST2L-ECD、HHM-ST2L 及 HMH-ST2L 結合但不與小鼠 ST2L-ECD 結合的抗體辨識人類 ST2L-ECD 之域 I。與人類 ST2L-ECD 及 HMH-ST2L 結合但不與 HHM-ST2L 及小鼠 ST2L-ECD 結合的抗體辨識人類 ST2L-ECD 之域 III。與人類及小鼠 ST2L-ECD 結合但不與 HH-ST2L 結合的抗體辨識人類及小鼠 ST2L-ECD 之域 III。

#### 抗 ST2L 單株抗體之親和力測量

【0140】 抗 ST2L 單株抗體、huST2L-ECD 及 cynoST2L-ECD 係利用標準方法表現。山羊抗人類 IgG Fc $\gamma$  片段特異性 Ab (產品編號 109-005-098) 係購自 Jackson ImmunoResearch laboratories (West Grove, PA)。GLC 感測器晶片 (Bio-Rad 產品編號 176-5011)、CM-5 感測器晶片 (GE Healthcare 產品編號 BR100014) 及製備捕捉表面的試劑係購自 Biacore (GE healthcare, Piscataway, NJ) 或購自 Bio-Rad Life Sciences (Bio-Rad, Hercules, CA)。

【0141】 抗 ST2L 抗體與 His<sub>6</sub> 標記人類 ST2L-ECD 及 His<sub>6</sub> 標記馬來猴 ST2L-ECD 的交互作用係藉由 ProteOn 利用在 25°C 下 ProteOn XPR36 來研究。生物感測器表面係利用製造商胺耦合化學的說明，將山羊抗人類 IgG Fc $\gamma$  片段特異性抗體 (Ab) 耦合至 GLC 感測器晶片的表面而製備。耦合緩衝液為 10 mM 醋酸鈉 (pH 4.5)。將山羊抗人類 IgG Fc $\gamma$  (約 4500 反應單位) 以水平方向固定。抗 ST2L 抗體係以純化或粗上清液方式提供。在任一情況下，這些抗體係稀釋於 PRB (PBS (pH 7.4)，添加 3 mM EDTA

及 0.005% Tween 20) 至濃度約 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。該些抗體係以垂直方向捕捉 (60-130 RU) 於抗人類 Fc $\gamma$  抗體修飾的 GLC 晶片。抗 ST2L 單株抗體之捕捉後接著以水平方向注射 huST2L ECD 於溶液 (0.024 至 15 nM 5 倍稀釋) 或 cynoST2L ECD 於溶液 (0.020 - 5 nM 4 倍稀釋)。在所有實驗中結合係監測 4 分鐘 (以 50  $\mu\text{L}/\text{min}$  注射 200  $\mu\text{L}$ )。解離係監測 30 分鐘。該感測器表面的再生係以 10 mM 甘胺酸 (pH 1.5) 之三次 15 秒脈衝所得。利用 ProteOn 軟體及利用具質量轉移的 1:1 結合模型適配該數據。

**【0142】** Biacore 實驗係利用 Biacore 2000 或 Biacore 3000 光學生物感測器 (Biacore AB) 進行。所有實驗皆在 25°C 下於具有或不具 0.1% BSA 的 BRB (PBS (pH 7.4), 添加 3 mM EDTA 及 0.005% Tween 20) 中操作。

**【0143】** Biacore 生物感測器表面係利用製造商胺耦合化學的說明, 將山羊抗人類 IgG Fc $\gamma$  片段特異性 Ab 利用耦合至 CM-5 晶片的羧甲基化聚葡萄糖表面而製備。耦合緩衝液為 10 mM 醋酸鈉 (pH 4.5)。將平均 6000 反應單位 (RU) 的 Ab 固定在四個流槽各個之中。將抗 ST2L 單株抗體捕捉 (約 33 RU) 於抗人類 Fc $\gamma$  抗體修飾的感測器晶片表面上。抗 ST2L 單株抗體之捕捉後接著注射 huST2L ECD 於溶液 (0.2 至 15 nM 3 倍稀釋) 或 cynoST2L ECD 於溶液 (0.2 至 15 nM 或 0.020 - 5 nM, 3 倍稀釋)。結合係監測 4 分鐘或 8 分鐘 (對 C2521 及 C2519 以 50  $\mu\text{L}/\text{min}$  或 20  $\mu\text{L}/\text{min}$  注射 200  $\mu\text{L}$ )。解離係監測 10 分鐘, 或至多 2.5 小時。該感測器表面的再生係以注射 50 mM NaOH 及/或注射 100 mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 所得。

**【0144】** 利用 Scrubber 軟體, 版本 1.1g (BioLogic Software) 處理數據。數據的雙參考減法係藉由自分析物注射的參考減去曲線減去由緩衝液注射產生的曲線以校正緩衝液對訊號與儀器雜訊的影響 (Myszka, Journal of Mol Recogn 12:279-84, 1999)。

【0145】 數據處理後，用於動力學及親和力測定所產生的數據係利用 Scrubber 軟體或 BIAevaluation 軟體，版本 4.0.1 (Biacore, AB) 分析。動力學數據係利用一簡易 1:1 結合模型，其包括用於質量轉移的術語。

### 抗小鼠 ST2L 單株抗體 (C1999/CNTO3914) 對鼠 ST2L ECD 之親和力測量

【0146】 抗 ST2L 單株抗體 (C1999/CNTO3914) 及鼠 ST2L 胞外域 (muST2L-ECD) 係利用標準方法表現及純化。抗鼠 IgG Fc $\gamma$  片段特異性 Ab 係購自 Jackson ImmunoResearch laboratories (West Grove, PA)。用於製備捕捉表面的感測器晶片及試劑係購自 Biacore (GE healthcare, Piscataway, NJ)。實驗的 Biacore 電泳緩衝液 (BRB) 包括 PBS (pH 7.4) 以及 0.005% Tween 20 與 0.1 mg/mL BSA，且在 25°C 下收集數據。

【0147】 抗 ST2L 抗體與 muST2L-ECD 的交互作用係以 Biacore2000 在 25°C 下研究。生物感測表面係利用製造商胺耦合化學的說明，將抗小鼠 Fc 特異性抗體耦合至 CM4 感測器晶片的表面而製備。C1999/CNTO3914 及 muST2L-ECD 係稀釋於 BRB。C1999 係利用抗小鼠 Fc $\gamma$  抗體 (約 85 RU) 捕捉。捕捉後接著注射 muST2L ECD (SEQ ID NO: 5 之殘基 28-326) 於溶液 (起始在 15 nM, 5 個濃度, 3 倍序列稀釋)。結合係監測 8 分鐘。解離係監測達 6000 秒。再生係利用磷酸之 1/100 稀釋進行。數據係利用 1:1 結合模型適配。

### 人類嗜鹼性球細胞株分析 (鹼性細胞細胞介素釋放分析)

【0148】 KU812 細胞 (人類嗜鹼性球細胞株; ATCC, CRL-2099) 係塗佈於無菌 96 孔 U 底組織培養盤，每孔 25,000 或 50,000 細胞，總共

40  $\mu$ l 之 RPMI 1640 生長培養基 (Invitrogen) 添加 10% FBS 與青黴素/鏈黴素。加入各種濃度 (每孔 50  $\mu$ l) 的抗人類 ST2L 單株抗體及控制組，並在 37°C 下培養。培養 1 小時後，加入重組「成熟」IL-33 (SEQ ID NO: 3 之胺基酸 111-270) 至最終濃度為 10 ng/ml 於 10  $\mu$ l 之 RPMI 生長培養基中。接著將細胞在 37°C 下培養 18-24 小時以使 IL-33 調介誘發 IL-5 及 IL-6。培養後，收取細胞並收集細胞上清液供後續檢測 IL-33 誘發的 IL-5 及 IL-6，該檢測利用 ELISA (R&D systems) 或基於微珠的多重分析 (Millipore)。

#### 人類肥大細胞細胞介素釋放分析及 PGD<sub>2</sub> 釋放分析

【0149】 肥大細胞係衍生自 CD34<sup>+</sup>人類臍帶血細胞 (Lonza)。將  $>1.0 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup>臍帶血細胞之冷凍小瓶快速解凍並轉移至 50 ml 錐形管。緩慢將數滴溫暖或室溫的 Stem-Pro 34 培養基+添加物 (總共 25 ml; Invitrogen) 加入細胞。將細胞在 1,000 rpm 離心 15 分鐘，並再懸浮於培養基中 (10 ml 之 StemPro-34, 其添加下列補充物: 30 ng/ml IL-3、100 ng/ml IL-6 及 100 ng/ml SCF。將細胞塗佈於 6 孔盤的 2 孔中，並培養 1 星期。在第 4 天，細胞係以 1:3 擴增於添加的 Stem Pro-34 培養基。在第 7 天，移除並塗佈非貼附的細胞，在  $0.5 \times 10^6$ /ml 於包括 10 ng/ml IL-6 及 100 ng/ml SCF 的 StemPro-34 培養基)。細胞每週擴增以維持細胞密度在  $0.5 \times 10^6$ /ml 直到肥大細胞在 6-10 週 (藉由 Fc $\epsilon$ R1、cKit 及中性蛋白酶之表現評估) 成熟。

【0150】 成熟肥大細胞係培養在  $0.5 \times 10^6$ /ml 於 StemPro-34，且每天於 IL-4 (10 ng/ml; Peprotech)、IL-6 (10 ng/ml; R&D systems) 及 SCF (100 ng/ml; Invitrogen) 中刺激，持續 4 天。分析前收取細胞，在 1,000

RPM 下離心 10 分鐘並重新懸浮於新鮮 StemPro-34 培養基或 RPMI 含 10% FCS 中，不含抗生素，含 100 ng/ml 人類重組 SCF。將細胞以 65,000 至 75,000 細胞/0.16 毫升/孔之密度塗覆在平坦底部的組織培養處理的 96 孔盤。在加入 IL-33 之前 30 分鐘將抗 ST2L 單株抗體加入培養盤至最終濃度為 50、10、2、0.4、0.08、0.016、0.0032  $\mu\text{g/ml}$ 。同時製備重組人類「成熟」IL-33 (SEQ ID NO: 3 之殘基 111-270) 成 10X (10 或 30 ng/ml) 於培養基+ 100 ng/ml SCF。將 20  $\mu\text{l}$  之 10X IL-33 加入盤孔至最終濃度為 1 (圖 6 及 7A-7E) 或 3 ng/ml (圖 8A-8E)，且將培養盤在 37°C，5% CO<sub>2</sub> 下培養隔夜。於刺激後 18-24 小時收取培養上清液。將培養盤以 1,000 RPM 離心 10 分鐘。將上清液移出並置入 U 底 96 孔盤，進行分析前儲存在 -20°C。將購自 Millipore 的人類細胞介素套組用於使用 Luminex™ 技術分析細胞介素值。PGD<sub>2</sub> 之值係根據製造商說明，使用購自 Cayman 化學公司之前列腺素 D<sub>2</sub>-MOX EIA 套組測量。為了加強 ELISA 之靈敏度，將肥大細胞培養上清液中的 PGD<sub>2</sub> 以甲氧胺鹽酸鹽 (MOX-HCl) 處理，轉換成不可降解的 MOX-PGD<sub>2</sub> (甲氧胺-PGD<sub>2</sub>)。

### 小鼠受體-配體結合抑制分析 (小鼠 RLB 分析)

**【0151】** 將 96 孔乾淨培養盤 (VWR) 以 50  $\mu\text{l}$  之 2  $\mu\text{g/ml}$  山羊抗人類 IgG、Fc $\gamma$  片段特異性 (Jackson Immunoresearch) 抗體 4°C 塗覆約 16 小時。其餘步驟則在室溫下完成。將盤孔以阻隔緩衝液培養、沖洗，並加入 50  $\mu\text{l}$  之 2  $\mu\text{g/ml}$  與人類 Fc 融合的小鼠 ST2L-ECD，持續 1 小時。沖洗培養盤並加入 1  $\mu\text{g/ml}$  之具有或不具抗 mST2L 抗體的生物素標記 mIL-33。沖洗培養盤並以卵白素-HRP (Jackson Immune Research) 完成偵測，且依

據製造商的說明以 TMB 基質 (RDI Division of Fitzgerald Industries) 顯影訊號。

### 小鼠及人類報導基因分析 (人類或小鼠 RGA 分析)

【0152】 將 HEK293 細胞以每孔 50,000 細胞塗佈於白色乾淨底部組織培養處理的 96 孔盤 (NUNC) 中的 DMEM、10%FBS 中，並在 37°C、5% CO<sub>2</sub> 的加濕培養箱中培養 24 小時。利用 Lipofectamine™ 2000 於 Opti-MEM 培養基 (Invitrogen) 以標準實驗方式，將細胞以編碼人類或小鼠 ST2L-ECD cDNA、NF-κB-螢光素酶載體 (Stratagene, Agilent Technologies, Santa Clara, CA) 共轉染。在 37°C、5% CO<sub>2</sub> 下培養 24 小時後，將轉染的細胞以具有或不具抗 ST2L 抗體的小鼠 (R&D systems, SEQ ID NO: 5 之殘基 109-266) 或人類 IL-33 (SEQ ID NO: 3 之殘基 112-270) 在 37°C、5% CO<sub>2</sub> 下處理 16 小時。使用 Steady-Glo® 試劑 (Promega) 根據製造商說明測量螢光素酶活性。

### 小鼠 T 細胞增生分析

【0153】 將小鼠 Th2 細胞 (D10.G4.1, ATCC) 培養於完整生長培養基：將具有 2 mM L-穀醯胺的 RPMI 1640 培養基調整以包括 1.5 g/L 碳酸氫鈉、4.5 g/L 葡萄糖、10 mM HEPES 及 1.0 mM 丙酮酸鈉，並添加：0.05 mM 2-巰基乙醇、10 pg/ml IL-1α (R&D systems)、10%胎牛血清、具有 Con A (購自 Becton Dickinson 之大鼠 IL-2 培養添加物) 之 10%大鼠 T-STIM 因子。將細胞以分析培養基 (RPMI、10%FBS、無 IL-1、無 T-STIM) 沖洗、以每毫升  $1.25 \times 10^5$  細胞再懸浮並塗佈在 80 μl 之培養基於白色乾淨底部組織培養處理的 96 孔盤中 (NUNC, Rochester, NY)。將各種量的小



鼠 IL-33 (SEQ ID NO: 5 之殘基 109-266) 加入細胞使最終分析體積為 100  $\mu$ l。當測試抗體中和時，將控制組抗體（加入使用的融合瘤培養基）或融合瘤上清液加入細胞並在加入 20  $\mu$ g/ml mIL-33 後培養 1 小時。培養盤在 37°C、5% CO<sub>2</sub> 下於加濕培養箱中培養 24 小時。以 CellTiter-Glo® 試劑（Promega, Madison, WI）定量活細胞；實驗方式係根據製造商說明進行。

### 小鼠骨髓衍生肥大細胞分析

【0154】 小鼠肥大細胞係衍生自 Balb/c 小鼠（6 週）的骨髓。細胞以 300,000 細胞/盤孔塗佈於 RPMI 培養基（無內毒素）、10% FBS、10% WEHI 細胞株調整的培養基、10  $\mu$ g/ml IL-3（PeproTech）、0.1 mM 必須胺基酸、1% 青黴素/鏈黴素（Invitrogen）。將抗 ST2L 單株抗體（100、10、1、0.1 或 0.01  $\mu$ g/ml）在加入重組小鼠「成熟」IL-33（SEQ ID NO: 215 之殘基 109-266）（10  $\mu$ g/ml；R&D systems）前與細胞培養 1 小時大約 24 小時之後，收取上清液並冷凍直到分析，該分析係根據製造商說明利用用於 Luminex™ 的 Millipore 小鼠 22-plex 套組。

### 馬來猴內皮細胞分析

【0155】 將食蟹獼猴主動脈內皮細胞培養於 EGM®-2 內皮細胞生長培養基-2（Lonza）以每孔 10,000 或 20,000 細胞塗佈於 96 孔組織培養盤。將 50  $\mu$ l 之抗 ST2L 抗體加入細胞，開始以 100  $\mu$ g/ml 而後續 4 或 5 倍稀釋，並於加入重組馬來猴「成熟」IL-33（SEQ ID NO: 4）之前在 37°C 培養 1 小時。接著將五十微升之 20  $\mu$ g/ml 食蟹獼猴 IL-33 加入細胞並在 37°C 培養 24 小時。為了評估 IL-33 誘發的細胞介素反應，收取上清液並根

據製造商說明以用於 Luminex™ 的非人靈長類 IL-8 套組 (Millipore) 評估細胞介素值。

### 小鼠腹膜灌洗分析

【0156】 以總共 3 ml PBS 來沖洗 6 Balb/c 小鼠的腹膜以收集腹膜細胞。可發現大部分的細胞為淋巴細胞和巨噬細胞，如以 B220 及 F4/80 表現 (FACS 分析) 所測定。大約 1% 為 cKit<sup>+</sup> (CD117<sup>+</sup>) 肥大細胞。將細胞離心，再懸浮沉澱物至  $1 \times 10^6$  細胞/ml 於 Alpha MEM 培養基 + 10% FBS + 100 U/ml 青黴素 + 100  $\mu$ g/ml 鏈黴素 (Invitrogen)。將細胞以每孔 200  $\mu$ l 塗佈於 96 孔盤並在 37°C 放置 2 小時。將抗 ST2L 單株抗體在加入 10 ng/ml 小鼠「成熟」IL-33 (R&D systems; SEQ ID NO: 215 之殘基 109-266) 前加入細胞 30 分鐘。IL-33 加入後收集上清液 24 小時，儲存在 -20°C 直到進行分析，並根據製造商說明使用用於 Luminex™ 的 Millipore 小鼠 22-plex 套組分析。

### 實例 1、產生大鼠抗小鼠 ST2L 抗體

【0157】 以小鼠 ST2-Fc (R&D systems (SEQ ID NO: 5 之 Ser27-Ser342)) 經腹腔內使大鼠免疫，並評估特異性 IgG 力價。一旦得到足夠的力價，分離脾細胞並與 FO 細胞融合。將生成的融合瘤塗佈於 96 孔盤或甲基纖維素並培養 10 天。利用標準捕捉 ELISA 鑑別與 mST2-Fc 結合的抗原特異性選殖株，並單獨對 Fc 蛋白質交叉篩選。鼠 ST2 特異性融合瘤係進一步於 ELISA 測試抑制 IL-33 結合至 ST2，以及測試抑制 IL-33 誘發的 D10.G4.1 小鼠 Th2 細胞增生。融合瘤在抗體-配體結合與基於細胞的增生分析兩者中呈現中和係藉由限制稀釋選殖株性選擇。定序融合瘤 V

區並選殖入小鼠 IgG1 背景。ST2L-ECD 域特異性係藉由標準免疫吸附分析以電化學發光偵測利用各種人類-小鼠域交換建構物來處理。

【0158】 由融合瘤 C1999 分泌的抗體係選殖入小鼠 IgG1 背景並命名為 CNT03914。CNT03914 可變區與 CDRs 的序列係顯示於表 2。CNT03914 不會與人類 ST2L 交叉反應及與小鼠 ST2L-ECD 之域 I 結合。

表 2

單株抗體名稱	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:
C1999/ CNT03914	HYGMA	13	SIITDGTS TYYRDS VKG	14	QSDDYFDY	15

單株抗體名稱	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:
C1999/ CNT03914	KSSQSLEY SDGDSYLE	16	GVSNRFS	17	FQATHDPFT	18

單株抗體名稱	VH 序列	SEQ ID NO:
C1999/ CNT03914	EVQLVESGGGLLQPGRSLKLSCTASGFIFSHYGM MAWVRQAPTKGLEWVSSIITDGTSTYYRDSVK GRFTISRDNKNTQYLMDSLRSEDTATYYCA RQSDDYFDYWGQGMVTVSS	19
	VL 序列	SEQ ID NO:

DVVLTQTPVSLSVTLGDQASISCKSSQSLEYSD GDSYLEWYLQKPGQSPQLLIYGVSNRFGVDP RFIGSGSGTDFTLKISRVEPEDLGVYYCFQATH DPFTFGSGTKLEIK	20
---	----

## 實例 2、產生小鼠抗人類 ST2L 抗體

【0159】 以兩種不同的免疫法來產生小鼠抗人類 ST2 單株抗體。

【0160】 以 ST2-Fc (R&D systems, SEQ ID NO: 157) 經腹腔內使 BALB/c 免疫，並評估特異性 IgG 力價。一旦得到足夠的力價，分離脾細胞並與 FO 細胞融合。將生成的融合瘤塗佈於 96 孔盤並培養 10 天。利用標準捕捉 ELISA 鑑別與 C 端 His<sub>6</sub> 標記的 huST2L-ECD 結合以及對 His<sub>6</sub> 標記的馬來猴 ST2L-ECD 交叉反應的抗原特異性選殖株。與馬來猴 ST2L 交叉反應的人類 ST2L 特異性融合瘤係進一步於 ELISA 分析測試抑制 IL-33 結合至 huST2L，以及於報導基因分析中測試抑制 NF- $\kappa$ B 活化。選出於報導基因分析中或是於 ELISA 及報導基因分析兩者中抑制的選殖株供進一步研究。

【0161】 來自融合瘤 C2494、C2519A 及 C2521A 的抗體被選出供進一步分析。C2519A 及 C2521A 與人類 ST2L 結合在域 III，且 C2494 與人類 ST2L 結合在域 I。抗體 C2494 被選殖入人類 IgG2 背景，且該全長抗體被命名為 STLM62。

【0162】 抗人類 ST2L 單株抗體係在 Genovac GmbH 藉由專屬 DNA 免疫作用技術，利用全長 ST2L 建構物並以被轉染以表現人類 ST2L-ECD 的細胞補強 (boosting) 來產生。藉由流動式細胞測量術篩選與人類 ST2L-ECD 結合的融合瘤。確認在此分析中呈現結合的選殖株與 hST2L-ECD 結合，並進一步藉由標準捕捉 ELISA 分析進行與馬來猴 ST2L-ECD 結合的特性分析。選擇的選殖株係以受體-配體結合抑制 ELISA

及報導基因分析進行特性分析。選出於報導基因分析中或是於 ELISA 及報導基因分析兩者中抑制的選殖株供進一步研究。

【0163】 選擇來自 Genovac 融合瘤 C2244 的抗體供進一步分析，並選殖入人類 IgG2 背景。全長的抗體係命名為 STLM15。STLM15 與人類 ST2L 結合在域 I。

【0164】 小鼠抗人類抗體之 VH、VL 及 CDR 域的序列係顯示於表 3。

表 3

單株抗體 名稱	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:
C2519A	DYNMN	21	NINPYYGST TYNQKFKG	25	EGDTYLAW FAY	29
C2521A	TYWMN	22	QIFPASGST YYNEMFKD	26	SENIYYINF QYYFAY	30
C2244/ STLM15	SDYAWN	23	FISYSGDTS FNPSLKS	27	YDGYSFDY	31
C2494/ STLM62	DDYMH	24	RIDPAIGNT EYAPKFQD	28	GDFYAMDY	32

單株抗體 名稱	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:
C2519A	RSSQSIVYS NGNTYLE	33	KVSNRFS	37	FQGSHVPPT	41
C2521A	RASQNIGT RMH	34	YASESIS	38	QQSNTWPPT	42
C2244/ STLM15	RASKSVST SGSSYMF	35	LASNLES	39	QHSREIPYT	43
C2494/ STLM62	ITNTDIDD VIH	36	EGNTLRP	40	LQSDNMLT	44

mAb	VH 序列	SEQ ID
-----	-------	--------

		NO:
C2519A	EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDYNMNWV KQSHGKSLEWIGNINPYYGSTTYNQKFKGKATLTVDKS SNTAYMHLNSLTSEDSAVYYCA REGDTYLAWFAYWGQGLTVTVSA	45
C2521A	QIQLQQSGPELVRPGTSVKISCKASGYTFLTYWMNWW KQRPGQGLEWIGQIFPASGSTYYNEMFKDKATLTVDT SSTAYMQLSSLTSEDTAVYFCAR SEN 1YYIN FQYYFAYWGQGTTLTVSS	46
C2244/ STLM15	EVQLQESGPELVKPSQSLSLTCTVTGFSITSDYAWN WIRQFPGSKLEWMGFISYSGDTSFNPSLKSRI SVTRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCASYD GYSFDYWGQGTTLTVSS	47
C2494/ STLM62	EVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTASAFNIKDDY MHWVKQRPEQGLEWIGRIDPAIGNTEYAPKFQ DKATMTADTS SNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCA LGDFYAMDYWGQGTSTVTVSS	48

mAb	VL 序列	SEQ ID NO:
C2519A	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVYSNGNTYLE WYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDF TLTKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEIK	49
C2521A	ILLTQSPAILSVPGERVSFSCRASQNIGTRMHWYQQR TNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLTI SSVESEDIADYYCQQSNTWPFTFGSGTKLEIK	50
C2244/ STLM15	DIVLTQSPASLAISLQQRATISCRASKSVSTSGSSY MFWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSG SGTDFTLNIHPVEEEDAAAYYCQHSREIPYTFGG GTKLEIK	51
C2494/ STLM62	ETTVTQSPASLSVATGEKVTIRCITNTDIDDVIHWY QQKPGEPKLLISEGNTLRPGVPSRFSSSGYGTDFV FTIENTLSEDVADYYCLQSDNMLTFGAGTKLEIK	52

### 實例 3、產生完全人類 ST2L 抗體

【0165】 人類 ST2L 結合 Fabs 係選自從新 pIX 噬菌體呈現技術基因庫，如 Shi *et al.*, J Mol Biol 397:385-96, 2010；國際專利公開號 WO2009/085462；美國專利公開號 US2010/0021477) 所述。簡言之，藉由多樣化人類骨架產生基因庫，其中 VH 胚源基因 IGHV1-69\*01、

IGHV3-23\*01 及 IGHV5-51\*01 係與人類 IGHJ-4 袖珍基因透過 H3 環重組，且人類 VLkappa 胚源基因 O12(IGKV1-39\*01)、L6(IGKV3-11\*01)、A27(IGKV3-20\*01) 及 B3(IGKV4-1\*01) 係與 IGKJ-1 袖珍基因重組以組合完整 VH 及 VL 域。選擇 H1、H2、L1、L2 及 L3 環附近的重鏈及輕鏈可變區中位置裡對應於確認為與蛋白質及胜肽抗原頻繁接觸的位置用以多樣化。選擇的位置之序列多樣性係限制於發生在 IGHV 或 IGLV 基因個別之 IGHV 或 IGLV 胚源基因家族中各個位置的殘基。利用長度為 7-14 個胺基酸之短到中尺寸的合成環產生在 H3 環的多樣性。設計在 H3 的胺基酸取代以模擬人類抗體中觀察到的胺基酸變異。基因庫設計詳細說明於 Shi *et al.*, J Mol Biol 397:385-96, 2010。用來產生基因庫的骨架係根據其人類 VH 及 VL 胚源基因來源命名。將三個重鏈基因庫與四個胚源輕鏈或胚源輕鏈基因庫合併以產生 24 個獨特的 VH:VL 組合用以篩選。24 個 VH:VL 基因庫組合皆用於對 huST2L-ECD-Fc 的噬菌體淘選實驗。

**【0166】** 利用 huST2L-ECD (SEQ ID NO: 1 之殘基 19-328) 的 Fc 融合淘選基因庫。以 2 種不同形式：溶液中抗原 (Ag) 以及呈現的 Ag 完成淘選。對於溶液中 Ag，塗覆卵白素的磁珠係以含 3%脫脂奶粉的 PBS 阻隔。將具有 10x 較高濃度的人類 Fc 蛋白質之生物素標記 (Bt) 抗原 huST2L-ECD 人類 Fc 融合 (Bt-huST2L-ECD-Fc) 作為競爭者與 Fab-pIX 噬菌體基因庫混合。將結合至 Bt-huST2L-ECD-Fc 之 Fab-pIX 噬菌體捕捉於經阻隔的卵白素 (SA) 塗覆的磁珠上。進行三輪噬菌體選擇，其中 huST2L-ECD-Fc 濃度從第 1 輪至第 3 輪分別改變為 100 nM、10 nM、10 nM。對於 Ag 呈現，將 Bt-huST2L-ECD-Fc 塗覆於經 SA 塗覆的磁珠上。同時加入 Fab-pIX 噬菌體基因庫加上 10x 過量的人類 Fc 蛋白質至 Bt-huST2L-ECD-Fc 呈現的 SA 磁珠。第 1 輪至第 3 輪所使用的 Bt-Ag 濃

度分別為 100 nM、10 nM、10 nM。兩種淘選形式皆藉由 ELISA 使 Fab 結合至 huST2L-ECD-Fc 蛋白質來完成篩選。由這些選擇分離出總共 79 個結合至 hST2L-Fc 的 Fabs。藉由排序 ELISA (ranking ELISA) 測定具有整體最佳結合活性的 Fab HuT2SU-39。

【0167】 a.總共 32 個 Fabs 顯示抑制 IL-33 結合至 huST2L-ECD-Fc。自 pIX 從新競爭選擇 46 個 Fabs 用於親和力成熟。

#### 實例 4、完全人類 ST2L 抗體之親和力成熟

【0168】 選擇抗體係利用於 Shi *et al.*, J Mol Biol 397:385-96, 2010 及 WO09085462A1 中描述的「沿線 (in-line)」成熟過程以親和力成熟。此技術中，將於第一選擇所得到的 Fab 選殖株的 VH 區與對應的 VL 骨架之基因庫合併。將來自實例 3 所確認的 46 個 Fabs 的所有 VH 基因選殖入適當的 VL 成熟基因庫作為根據其 VL 基因家族的庫。使用的 VL 骨架基因庫及其多樣化方案係顯示於表 4。人類 VL 骨架如下所示：IGKV1-39\*01 (O12)、IGKV3-11 (L6)、IGKV3-20 (A27)、IGKV4-1\*01 (B3)，且係描述於美國專利公開號 US2012/0108795 的實例。對於親和力成熟淘選，先將噬菌體基因庫加入 Bt-huST2-ECD-Fc。培養後，將成熟基因庫噬菌體/Bt-hST2L-ECD-Fc 複合物加入 SA 塗覆的磁珠。Bt-huST2-Fc 濃度自 R1 至 R3 分別改變為 10 nM、1 nM 及 0.1 nM。在 10 nM 未標定的 huST2L-ECD-Fc 存在下，於室溫下將第 3 輪的最後沖洗進行隔夜以進一步驅動親和力改善。

表 4

		不同骨架的 VL 資料庫多樣化方案
--	--	-------------------



環	位置 (Kabat)	A27	B3	L6	012
L1	30	SRNTD	RNDGHSY	SRNAD	SRNAD
	30a	SNR	RNDGHWY	-	
	30e		RNDGHSY	-	
	31	SNRADH	RNDGHWY	NSKD	SNKDG
	32	YFHQSEK	YNWR	YWDFHSAN	YHNDWFSAV
L2	50	ADGS	YWNK	ADKGYFTN	FYTNKADG
L3	91	YSHA	SYWH	RYSGF	SAYHPD
	92	YNDSHIFKG	SYGN	RHNSL	FIYHNDKGRE
	93	SNTDGHR	STER	NDKR	STHNDRG
	94	TYLVFAS	WYSH	WA	TYLVFSRGP
	96	WYFUR	YRWH	WYFUR	LWRFYIN

【0169】 由成熟淘選得到總共 161 個序列獨特的 Fabs。將顯示與 huST2L-ECD 最高結合的 Fabs 轉換成 IgG 供進一步特性分析。

【0170】 選擇單株抗體 ST2M48、ST2M49、ST2M50 及 ST2M51 供進一步特徵分析，且其 VH、VL 及 CDR 序列係顯示於表 5。單株抗體 ST2M48、ST2M49、ST2M50 及 ST2M51 與人類 ST2L 結合在域 III，且與小鼠 ST2L 交叉反應。

表 5

單株抗體編號	HC ID	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
		序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:
ST2M48	STLH125	TSYWIG	53	GIIYPGDS YTRYSPSF QG	55	LSGRFDY	57
ST2M49	STLH149	TSYWIG	53	GIIYPGDS YTRYSPSF QG	55	IGGMFDY	58

ST2M50	STLH125	TSYWIG	53	GIIYPGDS YTRYSPSF QG	55	LSGRFDY	57
ST2M51	STLH130	SSYAIS	54	GIPIFGTA NYAQKFQ G	56	DTPQLDY	59

單株抗 體編號	LC ID	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
		序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:
ST2M48	STLL232	RASQSV RDALA	60	FASNRAT	64	QQFNTW PIT	67
ST2M49	STLL216	RASQSV ANALA	61	KASNRAT	65	QQYYGW PIT	68
ST2M50	STLL228	RASQSV SNALA	62	FASNRAT	64	QQFFNW PIT	69
ST2M51	TC1L3	RASQSI SSYLN	63	YASSLQS	66	QQSYSTP LT	70

單株抗 體名稱	VH 序列	SEQ ID NO:
ST2M48	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQ MPGKGLEWMGIIYPGDSYTRYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARLSGRFDYWGQGTLVTVSS	71
ST2M49	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQ MPGKGLEWMGIIYPGDSYTRYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARIGGMFDYWGQGTLVTVSS	72
ST2M50	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDVAVYYCARYNFFFDYWGQGTLVTVSS	71
ST2M51	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDVAVYYCARDTPQLDYWGQGTLVTVSS	73

單株抗 體名稱	VL 序列	SEQ ID NO:
ST2M48	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRDALAWYQQKP GQAPRLLIYFASNRATGIPARFSGSGSDFTLTISSELEPE DFAVYYCQQFNTWPITFGQGT KVEIK	74
ST2M49	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVANALAWYQQKP GQAPRLLIYKASNRATGIPARFSGSGSDFTLTISSELEPE	75

	DFAVYYCQQYYGWPITFGQGTKVEIK	
ST2M50	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDWLAWYQQK PGQAPRLLIYKASNRATGIPARFSGSGSGTDFLT ISSLEPEDFAVYYCQQYNRAPWTFGQGTKVEIK	76
ST2M51	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQK PKAPKLLIYYASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLT ISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK	77

### 實例 5、抗 ST2L 抗體之特性分析。

【0171】 衍生自上述各種競爭的抗體係進一步對於其阻斷 IL-33/ST2L 交互作用的能力、其抑制如 NF- $\kappa$ B 報導基因分析所測量的 IL-33 誘發的訊息傳遞、抗體抑制肥大細胞反應的能力、其對人類及馬來猴 ST2L 的親和力以及與小鼠 ST2L 的交叉反應進行特性分析。利用如材料與方法所述的人類/小鼠 ST2L 域交換嵌合建構物完成抗原決定區圖譜比對。實驗的結果係顯示於表 6、7 及 8。表 7 及 8 中，「+」表示抗體阻斷 IL-33/ST2L 交互作用，而「-」表示其未阻斷 IL-33/ST2L 交互作用。由於缺乏對人類的交互作用，CNT03914 的實驗係利用小鼠細胞及試劑完成。其他所有抗體的分析中則使用人類細胞及人類試劑。

【0172】 經特性分析的抗體係分組為阻斷 IL-33/ST2L 交互作用(單株抗體 STLM15、STLM62 及 CNT03914)以及未阻斷 IL-33/ST2L 交互作用(單株抗體 C2519、C2521、ST2M48、ST2M49、ST2M50 及 ST2M51)。該些阻斷 IL-33/ST2L 交互作用的抗體與 ST2L 域 I 結合，而該些非阻斷抗體與 ST2L 域 III 結合。該些測試的抗體抑制 ST2L 下游訊息傳遞，其係如 NF- $\kappa$ B 報導基因分析以及由 KU812 人類嗜鹼性球細胞株所釋放的 IL-33 誘發的細胞介素所評估，或者在 CNT03914 的情況下，由小鼠 Th2 細胞增生所評估。如細胞介素與趨化激素分泌所評估，當與結合 ST2L 域 III 的抗 ST2L 抗體比較，結合至 ST2L 域 I 的抗體在較高濃度抑制人類肥大

細胞反應。CNT03914，其結合小鼠 ST2L 域 I 且不與人類交叉反應，亦能抑制 IL-33 誘發的小鼠肥大細胞反應。

表 6

mAb	對應的融合瘤	對人類 ST2L 的親和力			對馬來猴 ST2L 的親和力		
		$k_{on} (M^{-1}s^{-1})$	$K_{off} (s^{-1})$	$K_D (pM)$	$k_{on} (M^{-1}s^{-1})$	$K_{off} (s^{-1})$	$K_D (pM)$
STLM15	C2244	1.02E+06	4.25E-05	42	4.81E+06	5.30E-05	11
STLM62	C2494	4.26E+06	1.19E-04	28	4.51E+07	5.39E-04	12
na	C2519	4.83E+05	8.70E-05	180	7.14E+04	3.20E-03	44800
na	C2521	6.18E+05	4.90E-05	79	4.47E+05	1.66E-03	3710
ST2M48	na	1.32E+06	7.33E-05	56	1.03E+07	2.65E-03	257
ST2M49	na	1.59E+06	1.61E-04	101	4.66E+07	1.24E-02	266
ST2M50	na	1.15E+06	5.10E-05	45	2.01E+07	2.49E-03	124
ST2M51	na	1.29E+06	4.87E-05	38	4.42E+07	3.36E-03	76

表 7

mAb	對應的融合瘤	RLB*	RGA#	嗜鹼性球細胞介素釋放	肥大細胞細胞介素釋放	ST2L 抗原決定區
STLM1	C2244	+	+	+	+	hD1
STLM6	C2494	+	+	+	+	hD1
	C2519	-	+	+	-	hD3
	C2521	-	+	+	-	hD3
ST2M4	NA	-	+	nt	-	h/mD3
ST2M4	NA	-	+	nt	-	h/mD3
ST2M5	NA	-	+	nt	-	h/mD3
ST2M5	NA	-	+	nt	-	h/mD3

\*受體-配體結合抑制

#報導基因分析

hD1 = 人類 ST2L D1 域

mD1 = 小鼠 ST2L D1 域

hD3 = 人類 ST2L D3 域

h/mD3 = 人類及小鼠 ST2L D1 及 D3 域

nt=未試驗

表 8

mAb	對應的融合瘤	RLB*	RGA#	T 細胞增生	腹膜細胞灌洗	肥大細胞細胞介素釋放**	ST2L 抗原決定區
CNT03914	C1999	+	+	+	+	+	mDl

\*受體-配體結合抑制

#報導基因分析

\*\*骨髓衍生

實例 7、ST2L 域 I 結合抗體 CNT03914 抑制鼻內 IL-33 誘發的呼吸道過度反應 (AHR)、呼吸道發炎及小鼠肥大細胞反應。

【0173】 連續四天施予雌 BALB/c 小鼠鼻內劑量為 2 µg/小鼠「成熟」IL-33 (R&D systems) (SEQ ID NO:215 之殘基 109-266)。在初次 IL-33 經鼻施予前 24 小時，抗小鼠 ST2L 抗體 CNT03914 係以 20 mg/kg (或 2 mg/kg 或 0.2 mg/kg) 經皮下注射預防性給藥。控制組小鼠則在第一次經鼻施予 IL-33 前 24 小時接受同型控制組 CNT05516 或 PBS。對增加甲基膽鹼劑量的呼吸道過度反應 (AHR) 係利用強制策略與 Flexivent 系統 (Scireq, Montreal, Quebec, Canada) 測量。對於呼吸道過度反應 (AHR) 的測量，將小鼠以 100 mg/kg 戊巴比妥與 13 mg/kg 苯妥英 (phenytoin) 麻醉並在連接至 FlexiVent 前切開氣管。小鼠係以鹽水噴霧作為基線讀值，接著以兩種劑量 (10 及 20 mg/mL) 之甲基膽鹼噴霧。對於鹽水及各個甲基膽鹼之劑量，利用「快照 (snapshot)」微擾收集阻抗(R)值約 2 分鐘。僅利用該些 COD (決定係數) 0.9 以上的值計算阻抗峰值。

【0174】 處理一獨立組的小鼠並分析肺中細胞反應。最後 mL-33 同型或 PBS 施予二十四小時後，藉由過量的 Sleepaway® I.P.犧牲小鼠。將小鼠的肺以 0.7 mls 的冷 PBS 與 0.1% BSA 灌洗。產生的支氣管肺泡 (BAL) 液體係以 1200 rpm 離心 10 分鐘，並將無細胞上清液儲存在-80

°C直到分析細胞介素/趨化激素。BAL 樣本係使用血球計用於總計數。對於分類 BAL 計數，以瑞氏吉姆薩 (wright giemsa) 染色後在光學顯微鏡下自細胞離心塗片 (cytospin smear) 計算~200 個細胞。

【0175】 收集無細胞上清液並儲存在-80°C直到用於 Luminex 蛋白質分析。移除肺組織，接著利用 5 mls 冷的無菌 PBS 經右心室灌注直到適當的灌注量。接著將肺葉置於一含 1 ml 之 PBS +蛋白酶抑制劑的 Fast Prep®試管，且冷凍並儲存在-80°C供細胞介素/趨化激素分析。細胞介素/趨化激素複合分析係依據 Murine Millipore 22-plex 的製造商的實驗指南進行。BAL 液中的小鼠肥大細胞蛋白酶-1 (mMCP-1) 係藉由 ELISA (Moredun Scientific) 分析。

### 呼吸道過度反應

【0176】 在經鼻施予 IL-33 所誘發的肺發炎模式中，CNTO3914 顯著地抑制呼吸道過度反應 (圖 1)。在四天連續經鼻施予 2 µg/小鼠 mIL-33 的 24 小時前，經皮下注射施予 CNTO3914。如 Flexivent 所測定的呼吸道阻抗峰值在 20 mg/kg 之 CNTO3914 劑量顯著降低。各長條代表每組三 (CNTO5516, 同型控制組抗體) 至六隻小鼠的平均值± SEM。該些結果已被重複於在兩個獨立的研究中。利用雙向 ANOVA 與 Bonferroni 後測試測定顯著性，CNTO3914/IL-33 \*\*p<0.05 與 CNTO5516/IL-33 對照；及 \*\*\*p<0.001，與 PBS 與 IL-33 處理組對照。

### 呼吸道發炎

【0177】 在使用的模式中，CNTO3914 顯著地抑制支氣管肺泡灌洗 (BAL) 細胞聚集 (圖 2)。在四天連續經鼻施予 2 mg/小鼠 mIL-33 的 24

小時前，經皮下施予 CNTO3914。BAL 白血球係隨 IL-33 施予而顯著增加，且顯著地被 20 mg/kg 之 CNTO3914 抑制。各長條代表每組三（CNTO5516，同型控制組抗體）至六隻小鼠的平均值± SEM。該些結果已被重複於兩個獨立的研究中。利用雙向 ANOVA 與 Bonferroni 後測試測定顯著性，\*\*\* $p < 0.001$ 。

### 肥大細胞體內反應

**【0178】** 肥大細胞會儲存包括中性蛋白酶與凝乳酶的蛋白酶於其顆粒中，該些顆粒在肥大細胞活化後快速釋放。小鼠肥大細胞蛋白酶 1（mMCP-1）為一種由活化的肥大細胞所釋放的  $\beta$  凝乳酶，且已知對寄生蟲感染的控制很重要（Knight *et al.*, *J Exp Med* 192:1849-56, 2000；Huntley *et al.*, *Parasite Immunol* 12:85-95, 1990）。mMCP-1 之測量可被用作肥大細胞活化的標記，且已被證明可在呼吸道發炎的肥大細胞依賴性模式中被誘發：塵蟎（Yu and Chen, *J Immunol* 171:3808-15, 2003）。如 ELISA（Moredun Scientific）所測定的 mMCP-1 係於來自 IL-33 施予的小鼠之 BAL 液中顯著增加，且被 CNTO3914 劑量依賴性抑制（圖 3）。利用單向 ANOVA 與 Tukey 後測試決定顯著性，\*\* $p < 0.01$ ，\*\*\* $p < 0.001$ ，與 IL-33 處理對照。

### 實例 8 抗 ST2L 域 I 結合抗體體外抑制肥大細胞反應。

**【0179】** 肥大細胞反應係藉由小鼠及人類肥大細胞釋放的趨化激素及細胞介素以及人類肥大細胞中的前列腺素  $D_2$  評估。

**【0180】** 抗 ST2L 域 I 結合抗體 CNTO3914 抑制由小鼠骨髓衍生的肥大細胞釋放之 IL-33 誘發的細胞介素，包括 GM-CSF（圖 4A）、IL-5（圖 4B）及  $TNF\alpha$ （圖 4C）。

【0181】 抗人類 ST2L 域 I 結合單株抗體 C2494 (STLM62) 抑制在抗體濃度為 2、10 及 50  $\mu\text{g/ml}$  下，由 3  $\text{ng/ml}$  IL-33 誘發的人類臍帶血衍生的肥大細胞所釋放之 IL-33 誘發的  $\text{PGD}_2$  (圖 5)。

【0182】 抗 ST2L 域 I 結合抗體 C2494 及 C2244 抑制在抗體濃度為 50  $\mu\text{g/ml}$ 、10  $\mu\text{g/ml}$  及 2  $\mu\text{g/ml}$  下，由人類臍帶血衍生的肥大細胞所釋放之 IL-33 誘發的 GM-CSF、IL-5、IL-8、IL-13 及 IL-10 (圖 6 及 8A-8E)。抑制的程度取決於所測量的細胞介素/趨化激素、所測試的抗體及抗體濃度及所使用的培養基。所有在抗體濃度為 2  $\mu\text{g/ml}$  進行的分析所計算的平均抑制百分比 (%) 介於 50.6-100%，而在抗體濃度為 50  $\mu\text{g/ml}$  的抑制百分比介於 62-100% (圖 9)。

【0183】 抗 ST2L 域 III 結合抗體 C2521、C2519、ST2M48、ST2M49、ST2M50 及 ST2M51 在抗體濃度為 50  $\mu\text{g/ml}$  及 10  $\mu\text{g/ml}$  下顯示對由肥大細胞釋放之 IL-33 誘發的細胞介素不太抑制或無抑制，或是不太刺激或無刺激由肥大細胞釋放之 IL-33 誘發的細胞介素 (圖 7A-7E 及 8A-8E)。抑制的程度取決於所測量的細胞介素/趨化激素、所測試的抗體及所使用的培養基。所有在抗體濃度為 2  $\mu\text{g/ml}$  進行的分析所計算的平均抑制百分比 (%) 介於 -594.4 – 31.9%，而在抗體濃度為 50  $\mu\text{g/ml}$  的抑制百分比介於 -481.5 – 36% (圖 9)。在一些分析中，抗體 ST2M50 在抗體濃度為 10  $\mu\text{g/ml}$  抑制 GM-CSF、IL-5、IL-10 及 IL-13 分泌 (圖 8A-8E)。

【0184】 平均抑制%係使用下式計算： $(1 - (\text{單株抗體存在下所釋放之細胞介素的濃度}) / (\text{單株抗體不存在下回應 IL-33 所釋放之相同細胞介素的濃度})) \times 100$ 。細胞介素濃度以  $\text{pg/ml}$  表示。在一些情況中，抑制%為負值，表示單株抗體存在下細胞介素釋放確實高於單株抗體不存在所釋放。單株抗體的效力可能依據誘發肥大細胞中細胞介素釋放所用的 IL-33 濃度而有



細微變化。同樣地，單株抗體的活性可能依據所用的分析培養基（StemPro-34 與 RPMI / 10% FCS）而有細微變化。所有測試的 ST2L 域 I 結合抗體在抗體濃度為 2  $\mu\text{g/ml}$ 、10  $\mu\text{g/ml}$  或 50  $\mu\text{g/ml}$  抑制所有測量的細胞介素與趨化激素至少 50%，如平均抑制%所測量。

#### 實例 9 ST2L 域 I 結合抗體抑制鼻內 IL-33 誘發呼吸道重塑。

【0185】 C57BL/6 小鼠係以 1  $\mu\text{g}$ /小鼠「成熟」IL-33(或 PBS)(SEQ ID NO: 215 之殘基 109-266) 在天數 D1、D3、D5、D7 及 D9 經鼻內施予，且在第 10 天或 20 天分析肺臟。抗小鼠 ST2L 抗體 CNTO3914 或同型控制組 (CNTO5516) 係在首次 IL-33 經鼻施予的 6 小時前以 2 mg/kg 經皮下施予。控制組小鼠則在初次 IL-33 經鼻施予前 6 小時接受同型控制組 CNTO5516 或 PBS。充氣的肺臟係以 10% 經緩衝的福馬林固定供組織學分析；用於分析的染色法包括 H&E、馬生三色 (Masson Trichrome) 及 PAS。

【0186】 IL-33 處理誘發中度至明顯的小支氣管上皮肥大及增生，其具有杯狀細胞增生及主要與嗜酸性球混合的周圍小支氣管滲出液。小支氣管上皮肥大及增生在接受 CNTO3914 的動物中不明顯。馬生三色 (Masson Trichome) 染色法係用來測定呈現的膠原蛋白的量；此染色法呈現 IL-33 處理的動物中之杯狀細胞肥大。在以 CNTO3914 處理的動物中，肺泡及周圍小支氣管區域滲出液不存在。

#### 實例 10 產生完全人類 ST2L 抗體

【0187】 其他人類 ST2L 結合 Fabs 係選自從新 pIX 噬菌體呈現技術基因庫，其基本上如實例 3 所述，惟該基因庫係利用嵌合 HHM-ST2L 建構物 (SEQ ID NO: 6, 表 1) 與捕捉於卵白素塗覆的磁珠之生物素標記抗

原淘選。該噬菌體基因庫係以含 3%脫脂奶粉的 PBS-T 阻隔。將競爭者蛋白質 MHM-ST2L 嵌合物 (SEQ ID NO: 7, 表 1) 加入阻隔溶液以驅動噬菌體選擇朝向會特異性結合至人類 ST2L 域 I 胺基酸序列的 Fabs。進行三輪噬菌體選擇, 接著藉由 ELISA 篩選出結合至 hST2L-Fc 蛋白質的 Fab。

【0188】 十九個結合至 hST2L-Fc 的 Fabs 係分離自該些選擇, 且進一步篩選出結合至嵌合 ST2L 建構物(表 1)以及至小鼠 ST2L 與人類 ST2L 蛋白質以圖譜比對特異性的域, 並分析其阻斷 IL-33/hST2L 交互作用的能力之特性。Fabs ST2F1、ST2F4 及 ST2F6 阻斷 hIL-33/ST2L 交互作用並結合 ST2L 之域 I, 且前移至親和力成熟。

表 9

Fab ID	VH ID	框架	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
			序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:
ST2F6	ST2H41	VH3-23	SYAMS	78	AISGSG GSTYYA DSVKG	81	DPWST EGSFF VLDY	84
ST2F4	ST2H39	VH3-23	SYWMH	79	GISSGG GSTYYA DSVKG	82	DGWG TVYFP FDY	85
ST2F1	ST2H35	VH5-51	SYWIG	80	IIYPGDS DTRYSP SFQG	83	DTADF RRWD FDY	86

Fab ID	VL ID	框架	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
			序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:
ST2F6	ST2L24	Vk-L6	RASQSV DDALA	87	DASNRAT	90	QQFYN WPLT	92
ST2F4	ST2L23	Vk-L6	RASQSV RDDLA	88	DASNRAT	90	QQYIH APLT	93

ST2F1	ST2L20	Vk-B3	KSSQSV LYSSNN KNYLA	89	WASTRES	91	QQSNT YPFT	94
-------	--------	-------	---------------------------	----	---------	----	---------------	----

### 實例 11 人類 ST2L 結合 Fabs 之親和力成熟

【0189】 ST2F1、ST2F4 及 ST2F6 係利用於 Shi *et al.*, *J Mol Biol* 397:385-396, 2010 及國際專利公開號 WO2009/085462 及實例 4 中描述的「沿線 (in-line)」成熟過程進行親和力成熟。ST2F1、ST2F4 及 ST2F6 的親和力成熟基因庫係藉由多樣化對應的輕鏈基因庫，分別為 B3、L6 及 L6，並將該些基因庫與 Fab VH 區合併而製成。用於 L6 及 B3 親和力成熟基因庫的輕鏈殘基的多樣化方案係顯示於表 10。位置編號係根據 Kabat。對於親和力成熟淘選，在濃度為第 1 輪 10 nM、第 2 輪 1 nM 及第 3 輪 0.1 nM 時，生物素標記的 huST2-ECD-Fc 係捕捉於卵白素 (SA) 塗覆的磁珠。第 3 輪的最後沖洗係在 10 nM 未標定的 huST2L-ECD-Fc 存在下於室溫進行隔夜。

表 10

環	位置	骨架	
		L6	B3
L1	30	SRNAD	RNDGHSY
	30a	-	RNDGHWY
	30e	-	RNDGHSY
	31	NSKD	RNDGHWY
	32	YWDFHSAN	YNWR
L2	50	ADKGYFTN	YWNK
L3	91	RYSGF	SYWH
	92	RHNSL	SYGN
	93	NDKR	STER
	94	WA	WYSH
	96	WYFLIR	YRWH

【0190】 ST2F6 輕鏈成熟基因庫選擇產出改善的結合物 (ST2F14、ST2F17、ST2F31 及 ST2F41) (圖 10 及圖 11)。該些係如 Fabs 利用 ProteOn 檢驗並表現適當的親和力改善由 2 nM 至 400 pM。

【0191】 為了進一步改善 ST2F14、ST2F17、ST2F31 及 ST2F41 的親和力，ST2F14、ST2F17、ST2F31 及 ST2F41 中常見的重鏈 ST2H41 係利用表 11 所示的多樣化方案在 HCDR1 及 HCDR2 Kabat 位置 31、32、33、35、50、52、53、56 及 58 隨機化。產生的重鏈基因庫係與四個親和力改善的輕鏈 ST2L32、ST2L35、ST2L49 及 ST2L59 配對，且此基因庫係如輕鏈成熟基因庫所述淘選與篩選。分離出相對於 ST2F14 具有改善結合的 Fabs 並轉換成 IgG 供進一步特性分析。產生的抗體 (STLM103、STLM107、STLM108、STLM123、STLM124、STLM206、STLM207、STLM208、STLM209、STLM210、STLM211、STLM212、STLM213、STLM214、STLM215、STLM216、STLM217、STLM218、STLM219、STLM220、STLM221、STLM222) (圖 10 及圖 11) 具有衍生自 VH3-23 或 V<sub>k</sub>-L6 的框架。所有抗體結合 ST2L 域 I 並阻斷 IL-33/ST2L 交互作用。

表 11

位置	胺基酸
31	SDNTAY
32	SDAY
33	SDAY
35	SN
50	SDNTAY
52	SANTKDEGR
53	SANEY
56	SANTKDEGR
58	SDNTAY

【0192】 設計並表現 STLM208 VH ST2L257 的其他變異體以在 HCDR3 的起始取代 DP 模體 (motif) 。變異體的序列係顯示於圖 12 。

### 實例 11 C2494 之人類框架適應 (HFA)

【0193】 框架適應過程係如基本上描述於美國專利公開號 US2009/0118127 及 Fransson *et al.*, J Mol Biol 398:214-231, 2010 的方式完成。簡言之，重鏈及輕鏈序列係與人類胚源序列 (僅如 2007 年 10 月 1 日之「01」等位基因) 比較，該比較利用對 IMGT 資料庫 (Kaas, *et al.*, Nucl. Acids. Res. 32, D208-D210, 2004 ; Lefranc *et al.*, Nucl. Acid Res., 33, D593-D597, 2005) BLAST 搜尋。由此組人類胚源基因中移除冗餘基因 (在胺基酸層次 100%相同) 及該些具有未配對半胱胺酸殘基的基因。在框架及 CDR 區兩者中選擇其餘最接近符合人類胚源基因作為受體人類框架。根據整體序列同源性與 CDR 長度以及 CDR 相似性選擇總共 9 個 VL 及 7 個 VH 胚源人類框架。FR-4 係根據 IGHJ/IGJK 胚源基因之序列相似性選擇，JK2 用於 VL 鏈且 JH1 用於 VH 鏈 (Kaas, *et al.*, Nucl. Acid Res. 32, D208-D210, 2004 ; Lefranc M.-P *et al.*, Nucl. Acid Res., 33, D593-D597, 2005) 具有 C2494 序列)。然後，將 C2494 之 CDRs (圖 14 中底線處) 轉移至該選擇的受體人類框架以產生 HFA 變異體，除了在對應於 V<sub>H</sub> 之 CDR-H1 的區之外。對於該區，將 CDR 及 HV 的組合，或一較短的 HCDR2 (稱為 Kabat-7，見美國專利公開號 US2009/0118127) 由非人類抗體轉移至人類 FRs，因為圖 14 中灰底標示的 HCDR2 殘基尚未被發現與已知結構的抗原-抗體複合物接觸 (Almagro, J Mol Recognit. 17, 132, 2004) 。

【0194】 C2494 之成熟蛋白質序列 (VL: SEQ ID NO:52; VH: SEQ ID NO: 48) 係顯示於圖 14。在該圖中，CDR 殘基 (Kabat) 係以底線表示，Chothia HV 環表示下方 CDRs，且將殘基轉移至 HVs (HFA) 之下表示之選擇的人類框架。所有變異體中皆未轉移灰底標示的 HCDR2 殘基。

【0195】 利用 MOE (CCG, Montreal) 之抗體模式化模組建構一種 C2494 之 Fv 片段的 3D 同源模式。該模式用於評估可發展性傾向 (developability liabilities)，如暴露的甲硫胺酸及色胺酸殘基、可能的 N-糖化作用及脫醯胺作用模體。在 LCDR3 中，根據 Fv 結構模式，有一可能暴露的 Met (M94) 殘基。為了將其移除，產生一具有 M94L 突變的變異體 (STLL280, O12b) 並進行特性分析。對於重鏈，僅在 HCDR3 前的 CAR 模體 (Chothia 殘基 92-94，圖 14) 中的 R 殘基可能對一帶負電荷殘基的群集 (Chothia 殘基 D31、D32、D96 及 D101a，圖 14) (該些帶負電荷殘基可能對結合很重要) 造成負面影響。產生一在 Chothia 殘基 94 (CAR → CAL) 具有精胺酸取代亮胺酸的 VH 並進行特性分析。

【0196】 結合設計的重鏈及輕鏈的單株抗體與 C2494 母體一起被表現並分析其結合至人類 ST2L 的能力。由產生的 HFA 單株抗體中，具有帶有 IGHV1-24\*01 (SEQ ID NO: 148) 的 VH 鏈及 IGHV1-f\*01 (SEQ ID NO: 149) 重鏈框架 (STLH195 及 STLH194) 的單株抗體表現抗體較佳，且當與各種具有 IGKV3-15\*01 (L2) (SEQ ID NO: 150)、IGKV1-9\*01 (L8) (SEQ ID NO: 151)、IGKV1-5\*01 (L12) (SEQ ID NO: 152)、IGKV1-12\*01 (L5) (SEQ ID NO: 153)、IGKV1-39\*01 (O12) (SEQ ID NO: 154)、IGKV1-27\*01 (A20) (SEQ ID NO: 155) 或 IGKV1-33\*01 (O18) (SEQ ID NO: 156) 框架 (STLL280、STLL278、STLL277、STLL276、STLL275、STLL274、STLL273、STLL272) 的 HFA 輕鏈結合時結合 ST2L。

【0197】 HFA VH 及 VL 變異體之序列係顯示於表 12。轉移的殘基係以底線表示，且上述其他的取代以灰底標示。表 13 顯示 SEQ ID NOs: 以及各個 HFA VH 及 VL 獨特的 pDR (質體) 與 CBIS ID。被選擇供進一步特性分析之所產生的單株抗體之重鏈及輕鏈組合係顯示於表 14。

【0198】 表 15 顯示用於轉移 C2494 CDRs 的人類框架(結合 V 及 J 區)。

表 12

框架適應性 VL 鏈 (耦合至 JK2 序列)。

CDRs 以底線表示。

>VL2494 (母體) (SEQ ID NO: 52)

ETTVTQSPASLSVATGEKVTIRCITNTDIDDVIHWYQQKPGEPKLLISE

GNTLRP

GVPSRFSSSGYGTDFTVFTIENTLSEVDADYYCLQSDNMLTFGAGTKLE

LK

>VL2494-IGKV1-33\*01 O18 (SEQ ID NO: 135)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIY

EGNTLRP

GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-27\*01 A20 (SEQ ID NO: 136)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKVPKLLIY  
EGNTPRP

GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEI  
K

>VL2494-IGKV1-39\*01012 (SEQ ID NO: 137)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIY  
EGNTPRP

GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEI  
K

>VL2494-IGKV1-12\*01 L5 (SEQ ID NO: 138)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIY  
EGNTPRP

GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEI  
K

>VL2494-IGKV1-5\*01 L12 (SEQ ID NO: 139)

DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIY  
EGNTPRP

GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEI  
K

>VL2494-IGKV1-9\*01 L8 (SEQ ID NO: 140)



DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIYE  
GNTLRP

GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQSDNMLTFGQGGTKLEIK

>VL2494-IGKV3-15\*01 L2 (SEQ ID NO: 141)

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCITNTDIDDVIHWYQQKPGQAPRLLIY  
EGNTLRP

GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCLQSDNMLTFGQGGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-39\*01 O12b (SEQ ID NO: 142)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC ITNTDIDDVIH WYQQKPGKAPKLLIY  
EGNTLRP

GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC LQSDNLLT  
 FGQG

框架適應性 VH 鏈耦合至 JH1。

>VH2494 (母體) (SEQ ID NO: 48)

EVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTASAFNIKDDYMHVWVKQRPEQGLE  
WIGRIDPAIGNTEYAPKFQD

KATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDVAVYYCALGDFYAMDYWGQGTS  
 VTVSS

>VH2494-IGHV1-f\*01 (SEQ ID NO: 143)

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSAFNIKDDYMHVWVQQAPGKGLE  
 WMGRIDPAIGNTEYAEKFQG  
 RVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDYAVYYCATGDFYAMDYWGQGLV  
 TVSS

>VH2494-IGHV1-24\*01 (SEQ ID NO: 144)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSAFNIKDDYMHVWRQAPGKGLE  
 WMGRIDPAIGNTEYAPKFQD  
 RVTMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDYAVYYCATGDFYAMDYWGQGLV  
 VTVSS

表 13

	HFA-變異株	pDR#	CBIS ID	SEQ ID NO:
VH HFA 鏈	>VH2494-IGHV1-24*01	9870	STLH195	144
	>VH2494-IGHV1-f*01	9871	STLH194	143
VL HFA 鏈	>VL2494-IGKV1-39*01 012b	9865	STLL280	142
	>VL2494-IGKV3-15*01 L2	9873	STLL278	141
	>VL2494-IGKV1-9*01 L8	9874	STLL277	140
	>VL2494-IGKV1-5*01 L12	9875	STLL276	139
	>VL2494-IGKV1-12*01 L5	9876	STLL275	138
	>VL2494-IGKV1-39*01 012	9877	STLL274	137
	>VL2494-IGKV1-27*01 A20	9878	STLL273	136
	>VL2494-IGKV1-33*01 018	9879	STLL272	135

表 14

	VH 鏈		
	母體*	>VH2494-IGHV1-24*01	>VH2494-IGHV1-P01

VL 鏈	pRD#	pDR4211	pDR9870	pDR9871
母體*	pDR4212	STLM126	STLM186	STLM196
>VL2494-IGKV1-39*01 O12b	pDR9865	STLM127	STLM187	STLM197
>VL2494-IGKV3-15*01 L2	pDR9873	STLM129	STLM189	STLM199
>VL2494-IGKV1-9*01 L8	pDR9874	STLM130	STLM190	STLM200
>VL2494-IGKV1-5*01 L12	pDR9875	STLM131	STLM191	STLM201
>VL2494-IGKV1-12*01 L5	pDR9876	STLM132	STLM192	STLM202
>VL2494-IGKV1-39*01 O12	pDR9877	STLM133	STLM193	STLM203
>VL2494-IGKV1-27*01 A20	pDR9878	STLM134	STLM194	STLM204
>VL2494-IGKV1-33*01 O18	pDR9879	STLM135	STLM195	STLM205

\*母體 = C2494 VH 及 VL

表 15

用於人類的框架 框架適應 (HFA)		序列	SEQ ID NO:
框架 V 區來源	框架 J 區來源		
IGHV1-24*01	JH1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK VSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLE WMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVT MTEDTSTDYAYMELSSLRSEDYAV YYCATWGGQGLVTVSS	148
IGHV1-P01	JH1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCK VSGYTFDYYMHWVQQAPGKGL EWMGLVDPEDGETIYAQKFQGRV TITADTSTDYAYMELSSLRSEDYAV YYCATWGGQGLVTVSS	149
IGKV3-15*01 L2	JK2	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLI YGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQYNNWPTF GQGKLEIK	150
IGKV1-9*01 L8	JK2	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITICRA SQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIY AASLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLT ISSLQPEDFATYYCQQLNSYPTFG QGKLEIK	151
IGKV1-5*01 L12	JK2	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITICR ASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLI	152

		YDASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPDDFATYYCQQYNSYSTF GQGKLEIK	
IGKV1-12*01 L5	JK2	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICR ASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQANSFPTF GQGKLEIK	153
IGKV1-39*01 O12	JK2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPTF GQGKLEIK	154
IGKV1-27*01 A20	JK2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQGISNYLAWYQQKPGKVPKLLI YAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDVATYYCQKYNAPT FGQGKLEIK	155
IGKV1-33*01 O18	JK2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICQ ASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDATYYCQQYDNLPTF GQGKLEIK	156

### 實例 12 抗體決定位 (paratope) 掃描之丙胺酸及人類胚源突變體之設計

【0199】 進行定點突變 (Site-directed mutagenesis) 以評估個別 CDR 殘基對結合的貢獻以及一些對其他抗體特性具有潛在影響的殘基。根據上述 C2494 Fv 之分子模型，一溶劑暴露的 CDR 殘基之子集被預測為涉及結合抗原。這些殘基被突變成丙胺酸及/或對應的「類人類」殘基，其為最接近符合的胚源基因中對應的殘基。C2494 VH 中之 D101aA (Chothia 殘基) (SEQ ID NO: 48 中的 D104A) 取代降低  $k_{off}$  約 4 倍，由  $1.43 \times 10^{-4}$  至  $3.2 \times 10^{-5}$ 。

【0200】 當 D101aA 取代降低 C2494 Fab 結合至 ST2L 之  $k_{off}$  時，可預期相同突變亦可改善 C2494 HFA 突變體中的脫附速率。因此，D101aA

(Chothia 編號) 被併入 STLH194 之 VH (>VH2494-IGHV1-f\*01, SEQ ID NO: 143) 以產生一 VH STLH201 (SEQ ID NO: 145)。STLH201 係與 7 個輕鏈 STLL280、STLL277、STLL276、STLL275、STLL274、STLL273 及 STLL272 (表 13 及表 14) 配對以產生單株抗體 STLM226、STLM227、STLM228、STLM229、STLM230、STLM231 及 STLM232，其係進一步特性分析。相較於母體 C2494 抗體及一不同的 HCDR3 (SEQ ID NO:146, GDFYAMAY)，單株抗體 STLM226、STLM227、STLM228、STLM229、STLM230、STLM231 及 STLM232 因此具有相同 LCDR1、LCDR2、LCDR3、HCDR1 及 HCDR2 序列。此外，抗體 STLM266 VL STLM280 具有一獨特的 LCDR3：LQSDNLLT (SEQ ID NO: 147)

STLH201 (SEQ ID NO: 145)：

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSAFNIKDDYMHVWVQQAPGKGLE  
 WMGRIDPAIGNTEYAEKFQG  
 RVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDYAVYYCATGDFYAMAYWGQGTLV  
 TVSS

HCDR3 併入 D101aA (Chothia 編號) 取代：

SEQ ID NO: 146：GDFYAMAY

抗體 STLM266 VL STLM280 具有一獨特的 LCDR3：LQSDNLLT (SEQ ID NO: 147)

實例 13 抗 ST2L 抗體之特性分析

【0201】 由噬菌體呈現技術、融合瘤及人類框架適應競爭獲得的抗體係於各種分析中進行特性分析，該些分析包括結合至 huST2L-ECD、cynoST2L-ECD、親和力測量、結合至人類/小鼠嵌合物以測定域結合、受體-配體抑制分析、報導基因分析及肥大細胞反應分析。

【0202】 由噬菌體呈現技術衍生的抗體對人類與馬來猴 ST2L 的親和力以及其對人類 ST2L 的結合特異性係顯示於表 16。表 16 中所有抗體結合人類 ST2L 之域 I。

表 16

	人類 ST2L 親和力			馬來猴 ST2L 親和力			ST2L-EC D 域結合
	$k_{on} (M^{-1}s^{-1})$	$K_{off}(s^{-1})$	KD (pM)	$k_{on} (M^{-1}s^{-1})$	$K_{off}(s^{-1})$	KD (pM)	
STLM103	3.97E+06	1.63E-04	41	6.42E+06	2.02E-04	31	D1
STLM107	2.90E+07	3.41E-04	12	1.00E+08	6.50E-04	7	D1
STLM108	2.29E+06	2.22E-04	97	2.05E+07	5.98E-04	29	D1
STLM123	1.37E+07	2.08E-04	15	1.00E+08	5.19E-04	5	D1
STLM124	1.65E+07	7.56E-04	46	8.71E+07	2.57E-03	30	D1
STLM206	6.39E+06	1.60E-04	25	9.40E+07	5.83E-04	6	D1
STLM207	8.33E+06	3.95E-04	48	1.00E+08	2.07E-03	21	D1
STLM208	5.97E+06	6.76E-05	11	1.39E+07	7.02E-05	5	D1
STLM209	6.59E+06	1.70E-04	26	3.39E+07	3.11E-04	9	D1
STLM210	1.21E+07	2.27E-04	19	5.70E+07	5.28E-04	9	D1
STLM211	1.70E+07	4.83E-04	29	1.00E+08	1.39E-03	14	D1
STLM212	1.24E+07	3.98E-04	32	1.43E+07	3.46E-04	24	D1
STLM213	7.54E+06	1.08E-04	14	1.64E+07	1.24E-04	8	D1
STLM214	9.16E+06	2.99E-04	33	7.20E+06	2.64E-04	37	D1
STLM215	6.91E+06	1.72E-04	25	3.54E+07	3.69E-04	10	D1
STLM216	9.63E+06	1.58E-04	16	7.89E+07	2.64E-04	3	D1
STLM217	7.27E+06	1.26E-04	17	3.81E+07	1.38E-04	4	D1
STLM218	9.89E+06	2.24E-04	23	1.45E+07	2.65E-04	18	D1

STLM219	7.54E+06	2.01E-04	27	1.07E+07	2.30E-04	22	D1
STLM220	5.80E+06	9.53E-05	16	1.60E+07	1.40E-04	9	D1
STLM221	2.73E+06	9.61E-05	35	6.04E+06	1.30E-04	22	D1
STLM222	8.22E+06	3.01E-04	37	1.18E+07	3.45E-04	29	D1
STLM226	2.16E+07	1.93E-03	90	1.00E+08	3.01E-02	301	D1
STLM227	2.66E+07	1.70E-03	64	1.00E+08	2.94E-02	294	D1
STLM228	2.01E+07	1.04E-03	52	1.00E+08	1.55E-02	155	D1
STLM229	1.29E+07	4.45E-04	35	1.00E+08	8.50E-03	85	D1
STLM230	1.11E+07	4.26E-04	38	5.06E+07	7.30E-03	144	D1
STLM231	1.97E+07	9.13E-04	46	8.27E+07	1.43E-02	172	D1
STLM232	1.78E+07	4.49E-04	25	1.00E+08	7.97E-03	80	D1

【0203】 由與母體 (STLM62、C2494) 有關的 HFA 競爭衍生的抗 ST2L 抗體之親和力係顯示於表 17。親和力係藉由 ProteOn 分析。實驗係在 25°C 下進行, 利用 ProteOn 的 PBS-T-E 緩衝液 (PBS, 0.005% P20 及 3 mM EDTA) 作為電泳緩衝液。為了進行實驗, 藉由共價固定山羊抗人類 Fc (~5800 RUs) 製備 GLC 感測器晶片, 122 - 146 反應單位 (RU) 的單株抗體被捕捉。單株抗體捕捉後接著由濃度 0.024-15 nM (5 倍稀釋) 注射 ST2L-ECD 4 分鐘 (200  $\mu$ L 以 50  $\mu$ L/min)。於所有反應監測解離 30 分鐘。再生係利用兩個 10 mM 甘胺酸 (pH1.5) 之 15 秒脈衝進行。數據係適配於 1:1 具有基準線的漂移模式。

【0204】 樣本的結合速率為快, 具有質量轉移模式的朗繆爾 (langmuir) 係用於曲線適插法及預測親和力。所有樣本具有比母體選植株及控制組單株抗體更快的脫附速率。與母體抗體比較時, 脫附速率的差異為 HFA 變異體之較低親和力的主要原因。

表 17

樣本	人類 ST2L 親和力			馬來猴 ST2L 親和力		
	$k_{on} (M^{-1}s^{-1})$	$K_{off}(s^{-1})$	$K_D (pM)$	$k_{on} (M^{-1}s^{-1})$	$K_{off}(s^{-1})$	$K_D (pM)$
STLM62*	1.84E+07	1.59E-04	8.67	3.84E+07	4.57E-04	12.35
STLM187	3.37E+07	1.59E-02	473.00	1.00E+08	1.10E-01	1100.00
STLM190	1.00E+08	5.34E-02	534.00	1.00E+08	1.02E-01	1020.00
STLM191	8.46E+07	2.47E-02	292.00	1.00E+08	6.66E-02	666.00
STLM192	2.11E+07	8.85E-03	420.00	1.00E+08	9.99E-02	999.00
STLM193	4.77E+07	1.27E-02	267.00	1.00E+08	9.32E-02	932.00
STLM194	1.00E+08	7.03E-02	703.00	1.00E+08	1.90E-01	1900.00
STLM195	2.49E+07	6.73E-03	271.00	1.00E+08	7.19E-02	719.00
STLM197	1.83E+07	1.62E-03	88.50	2.97E+07	6.88E-03	232.00
STLM199	2.17E+07	8.97E-04	41.40	7.78E+07	6.57E-03	84.50
STLM200	2.35E+07	1.43E-03	60.80	8.23E+07	1.10E-02	134.00
STLM201	1.76E+07	8.52E-04	48.40	3.55E+07	4.10E-03	116.00
STLM202	2.24E+07	1.19E-03	52.90	7.75E+07	1.04E-02	134.00
STLM203	2.04E+07	9.67E-04	47.30	5.88E+07	6.56E-03	111.00
STLM204	2.97E+07	2.41E-03	81.30	1.00E+08	2.05E-02	205.00
STLM205	1.73E+07	6.95E-04	40.10	4.04E+07	4.04E-03	100.00

\* STLM62 = C2494, 母體抗體

表 18

來源	mAb	RLB IC50, ng/ml	RGA IC50, ng/ml	馬來猴內 皮分析	嗜鹼性球細胞 介素釋放
噬菌體呈 現技術	STLM103	0.47	1.92	NT	+
	STLM107	0.44	1.10	NT	++
	STLM108	0.23	2.34	++	++
	STLM116	0.29	6.71	NT	+
	STLM123	0.28	1.25	NT	++
	STLM124	0.35	0.87	++	++
	STLM206	0.40	0.67	++	++
	STLM207	0.36	2.30	NT	++
	STLM208	0.47	0.61	++	++
	STLM209	0.32	0.97	++	++



	STLM210	0.30	2.10	NT	++
	STLM211	0.28	2.52	NT	++
	STLM212	0.33	4.32	NT	+
	STLM213	0.34	0.49	++	++
	STLM214	0.28	2.52	NT	++
	STLM215	0.29	1.30	NT	++
	STLM216	0.30	1.86	NT	++
	STLM217	0.49	1.69	NT	++
	STLM218	0.42	1.33	NT	++
	STLM219	0.29	3.16	NT	++
	STLM220	0.39	0.60	NT	++
	STLM221	0.39	2.79	NT	+
	STLM222	0.25	1.88	NT	++
	STLM226	0.26	0.25	++	++
	STLM227	0.17	0.23	++	++
	STLM228	0.20	0.28	++	++
HFA	STLM229	0.29	0.32	++	++
	STLM230	0.28	0.15	++	++
	STLM231	0.26	1.10	+	+
	STLM232	0.31	0.15	++	++
融合瘤 C2494	STLM62*	0.70	0.11	++	++

++ 強抑制

+ 部份抑制

- 無抑制

NT 未測試

\* 以融合瘤測試

RLB =受體-配體結合抑制

RGA =報導基因分析

【0205】 測試選擇的抗體之肥大細胞反應，測量自人類臍帶血衍生的肥大細胞釋放之 3 ng/ml IL-33 誘發 IL-5、IL-13 及 IL-8 之抑制，如所述利用 100 µg/ml、10 µg/ml、1 µg/ml、0.1 µg/ml 或 0.01 µg/ml 抗體於 RPMI

+ 10% FCS。在該些分析條件中，與以 IL-33 誘發的控制組樣本比較時，在抗體濃度 100  $\mu\text{g/ml}$  下，所有測試的抗體抑制 IL-33 誘發的 IL-5、IL-13 及 IL-8 細胞介素釋放約 40%-100%。

#### 實例 14 抗 ST2L 抗體抑制人類嗜鹼性球中下游訊息傳遞路徑

【0206】 測試抗 ST2L 抗體其抑制人類嗜鹼性球中 p38 MAPK 訊息傳遞的能力。

【0207】 將全血收集於肝素處理的試管中，並在分析起始之前移至室溫 (RT)。1 mL 之血液係等分至 50 mL 錐形管，且加入稀釋於 PBS 的抗 ST2L 抗體 (STLB252) 或同型控制組 (CNT0 8937) 使最終濃度為 2、20 或 200  $\mu\text{g/mL}$ 。輕輕渦漩試管以混合並置於培養箱在  $37^\circ\text{C} \times 30$  分鐘，在 15 分鐘後輕輕渦漩。接著將血液以螢光染料標記抗體對細胞表面抗原染色 (CD123-FITC、CRTH2-PCP-CY5.5 及 CD45-APC-C7)，並將試管在  $37^\circ\text{C}$  培養 15 分鐘。在加入稀釋於溫培養基的 IL-33 之前，將 1 mL 之溫的培養基 (RPMI-1640/10% FBS/1% 青黴素-鏈黴素) 加入各個試管使最終濃度為 10 ng/mL。在將 20 mL 之預溫的 BD Phosflow 溶解/固定緩衝液加入各個試管之前，將樣本培養在  $37^\circ\text{C} \times 10$  分鐘，以同時溶解紅血球細胞並固定該樣本。藉由翻轉 10 次將試管均勻混合，並培養在  $37^\circ\text{C} \times 10$  分鐘。樣本以 20 mLs 無菌 RT PBS 沖洗，再懸浮於 2 mLs 之 1x RT BD Perm/Wash 緩衝液，並培養在 RT  $\times 30$  分鐘。樣本以 2 mLs BD Perm/Wash 緩衝液清洗一次，接著再懸浮於 400  $\mu\text{L}$  BD Perm/Wash 緩衝液。加入對細胞內 p38-MAPK (vCell Signaling, Cat. 6908S) 之 PE-標定抗體，且將樣本在 RT 培養 30 分鐘，避光處理。再懸浮於 100  $\mu\text{L}$  FACS 緩衝液之前，將樣本以 5 mLs Perm/Wash 緩衝液沖洗一次，並轉移至 96 孔圓底培養盤。使用

BD LSRII 流式細胞儀利用高通量系統 (HTS) 對各樣本儘可能地收集更多的事件來分析樣本。使用 FloJo 軟體分析數據。嗜鹼性球係如 CD45<sup>+</sup>CRTH2<sup>+</sup>CD123<sup>+</sup> 確認，且評估各條件下 p38 MAPK 陽性嗜鹼性球之百分比。以抗 ST2L 單株抗體 (STLB252) 預培養全血造成 IL-33 誘發的 p38-MAPK 磷酸化之劑量依賴性抑制，而以同型控制組 (CNTO 8937) 培養則未見效果。抗人類 ST2L 抗體特異性地阻斷藉由全血中重組人類 IL-33 引起之嗜鹼性球活化。結果顯示抗 ST2L 抗體抑制劑藉由體內內生性 IL-33 的訊息傳遞。

表 19

IL-33 (10 ng/ml)	STLB252 (Mg/mL)	同型控制組 (Mg/mL)	p38 MAPK 磷酸化 %
-	0	0	2.2
+	0	0	80.6
+	2	0	44.4
+	20	0	15.7
+	200	0	1.2
+	0	2	76.7
+	0	20	79
+	0	200	77

### 實例 15 體內抗 ST2L 抗體與目標作用

#### BAL 細胞聚集之鼻內 mIL-33 6 小時體內模式

【0208】 施予單劑 1.2 μg/小鼠 mIL-33 (R&D systems #3626-ML/CF) 或 PBS 至雄 Balb/c 小鼠 (6-8 週齡, Taconic)。在首次 mIL-33 經鼻施予的 24 小時前, 大鼠抗小鼠 ST2L 抗體 CNTO 3914 或為 2、0.2、0.06 或 0.02

mg/kg。同型控制組 (ITC) 單株抗體 CNTO 5516 係以 2 mg/kg 經皮下施予。mIL-33 (或 PBS) 施予六小時後，將小鼠犧牲並收集血液供血清分析。藉由注射兩次體積為 0.7 mL 之 PBS/0.1% BSA 至肺臟並擷取流出物進行支氣管肺泡灌洗 (BAL)。將 BALs 離心 (1200 rpm, 10 分鐘) 且將細胞沉澱物再懸浮於總共 200  $\mu$ l PBS 使用血球計 (以瑞氏吉姆薩 (Wright's - Giemsa) 染色細胞離心製備) 進行總細胞計數或分類細胞計數。

### 小鼠血清中 CNTO 3914 測量

【0209】 將 MSD SA-STD 培養盤以每孔 50  $\mu$ L 之分析緩衝液阻隔 5 分鐘。將培養盤倒置以移除分析緩衝液，並於紙巾上輕敲。每孔加入 50  $\mu$ l 之分析緩衝液中的 1.4  $\mu$ g/mL 生物素標記重組小鼠 ST2L/IL1R4/Fc 嵌合物 (R&D System) 並在冷藏室中培養隔夜。加入 150  $\mu$ L 之分析緩衝液至每個預塗覆培養盤的盤孔而不移除該塗覆試劑，並培養 30 分鐘。將培養盤以沖洗緩衝液於培養盤沖洗器上沖洗三次。於紙巾上輕輕敲培養盤以移除殘留的沖洗緩衝液。每孔加入 50  $\mu$ L 之 CNTO 3914 樣本至該培養盤每一盤孔。將培養盤在環境溫度下緩緩震盪培養一小時。將培養盤以沖洗緩衝液於培養盤沖洗器上沖洗三次。每孔加入 50  $\mu$ L 之釘標定的小鼠抗小鼠 IgG1b (BD Biosciences) 之滴定至該培養盤每一盤孔。將培養盤在環境溫度下緩緩震盪培養一小時。將培養盤以沖洗緩衝液於培養盤沖洗器上沖洗三次。加入 150  $\mu$ L 之讀取緩衝液至該培養盤每一盤孔。立刻將培養盤於 MSD sector imager 6000 分析儀上讀取發光值。

### 全血分析

【0210】 血液 1:4 稀釋於 DMEM 培養基+ 1%青黴素+鏈黴素溶液+/- 10 ng/ml 小鼠 IL-33 於 Sarstedt 過濾試管中。將該試管在 37°C 培養隔夜，接著使用 Millipore Milliplex 小鼠細胞介素/趨化激素套組根據製造商說明測量上清液的細胞介素及趨化激素值。

## 結果

【0211】 施予 0.2 或 2 mg/kg CNTO 3914 的 24 小時後，小鼠血清中可檢測到抗 ST2L 抗體（圖 16A）。

【0212】 經鼻施予 IL-33 在 6 小時誘發細胞聚集至呼吸道（圖 17B）。施予抗 ST2L 單株抗體降低 BAL 細胞聚集；0.2 mg/kg 為觀察到顯著抑制 BAL 細胞聚集所需的最小劑量（圖 16B）。使用單向 ANOVA 計算統計顯著性。

【0213】 以小鼠 IL-33 刺激全血顯示在 24 小時後，細胞介素及趨化激素的值增加，包括 IL-6（圖 16C）及 MCP-1（圖 17D）。在施予 20 mg/kg 或 2 mg/kg 抗 ST2L 單株抗體 CNTO 3914 的小鼠中，IL-6 及 MCP-1 值相較於 CNTO5516（同型控制抗小鼠 IgG1）係降低，表示與目標作用。與全血分析中抑制相關的最小劑量 2 mg/kg，亦抑制 BAL 細胞聚集（圖 16B）。

【0214】 綜上所述，此數據確認抗 ST2L 單株抗體到達作用位置並達成預期的藥理作用（表示與目標作用）。

## 實例 16 抗 ST2L 抗體之抗原決定區

【0215】 進行抗原決定區圖譜比對及競爭研究以選擇抗 ST2L 抗體。

## 競爭結合分析

【0216】 進行競爭結合分析以評估抗 ST2L 單株抗體的不同結合抗原決定區群。將每孔 5  $\mu$ l (10  $\mu$ g/ml) 之 ST2L-ECD 蛋白質塗覆於 MSD HighBind 培養盤 (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD) 在室溫持續 2 小時。將一百五十毫升之 5% MSD Blocker A 緩衝液 (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD) 加入每一盤孔並在室溫培養 2 小時。以 0.1 M HEPES 緩衝液 (pH 7.4) 沖洗培養盤三次，接著加入 MSD 螢光染劑 (磺酸基標記, NHS 酯) 標定的個別抗 ST2L 抗體與不同競爭者的混合物。將 10 或 30 nM 標定的抗體與濃度遞增的競爭者抗體 (從 1 nM 至 2 或 5  $\mu$ M) 一起培養，接著將 25  $\mu$ L 混合物加入指定的盤孔。在室溫緩緩搖晃培養 2 小時後，以 0.1 M HEPES 緩衝液 (pH 7.4) 沖洗培養盤 3 次。MSD 讀取緩衝液 T 係以蒸餾水稀釋 (4 倍) 並以 150  $\mu$ L/孔之體積分配，並利用 SECTOR Imager 6000 進行分析。

【0217】 以下抗體係用於競爭分析中：ST2L 域 I 結合中和抗體 STLM208、STLM213、C2244 (STLM15) 及 C2494 (STLM62)、ST2L 域 III 結合抗體 C2539 及一人類 ST2L 之非中和抗 ST2L 抗體 C2240 結合域 I。圖 17A 及 18B 顯示該些競爭實驗。根據該實驗，確認的抗原決定區組別 (bins) 為：BinA：單株抗體 C2244、C2494、STLM208 或 STLM213；BinB：單株抗體 C2240，BinC：C2539。阻斷 IL33/ST2L 交互作用及抑制肥大細胞反應的抗體被發現在相同的抗原決定區組別 (bin) 且與彼此交叉競爭。競爭數據的概要係顯示於表 20。

表 20

競爭者	經標記的抗體
-----	--------

	C2240	C2539	C2244	C2494
C2240	+	-	-	-
C2539	-	+	-	-
C2244	-	-	+	+
C2494	-	-	+	+
STLM208	-	-	+	+
STLM213	-	-	+	+

### 抗原決定區圖譜比對：H/D 交換分析

【0218】 對於 H/D 交換，用於分析抗體微擾的步驟係以與前述類似（Hamuro, Y., *et al.*, *Journal of Biomolecular Techniques*, 14:171-182, 2003；Horn, J. R., *et al.*, *Biochemistry*, 45: 8488-8498, 2006）的步驟稍作修改。將重組 ST2-ECD（由具有 C 端 His 標記的 HEK293E 所表現）（SEQ ID NO: 157 之殘基 18-328）培養於含氘的水溶液持續預定的時間，造成在可交換的氫原子併入氘。該含氘的 ST2-ECD 被捕捉於包括固定抗 ST2L C2244 Fab 分子的管柱，接著以緩衝水溶液沖洗。自管柱中沖提出反向交換的（back-exchanged）ST2-ECD 蛋白質，而含氘片段的定位係由蛋白酶分解及質譜分析測定。

【0219】 圖 18 顯示與 C2244 Fab 複和之人類 ST2-ECD（可溶性 ST2）的簡化 H/D 交換圖。SEQ ID NO: 119 之 ST2-ECD 之殘基 18-31（胺基酸殘基 RCPRQGKPSYTVDW；SEQ ID NO: 210）係由 Fab（對應於 SEQ ID NO: 1 之全長 ST2L 之殘基 35-48）保護。該數據表示 C2244 結合至抗原決定區 RCPRQGKPSYTVDW；SEQ ID NO: 210），以及與 C2244（C2494、STLM208 或 STLM213）競爭的抗體傾向結合相同或重疊的抗原決定區。

### 以突變誘發進行抗原決定區圖譜比對

【0220】 產生數個在 ST2L 域 I 具有對應的小鼠殘基取代的 ST2L 突變體。所測試的抗體不會與小鼠 ST2L 交叉反應，因此可預期結合能力被破壞或降低的 ST2L 變異體表示抗原決定區殘基在 ST2L 上的取代位置。使用標準方法將變異體製入具有 SEQ ID NO: 1 之全長 ST2L 之殘基 19-205 的 HH-ST2L 建構物。利用 ELISA 或 Proteon 測試抗體結合至 ST2L 變異體。

### 表面電漿共振

【0221】 使用 ProteOn XPR36 蛋白質交互作用陣列系統 (Bio-Rad) (Bravman T, et al. Anal Biochem 358:281-288, 2006) 進行結合研究。抗人類 / 抗小鼠 Fc 混合物 (Jackson ImmunoResearch, Cat#, 109-005-098/115-005-071) 係藉由胺耦合化學方式固定於 GLC 感測器晶片上。接著藉由流動於含 0.5% Nonidet P-40 及 0.5% 去氧膽酸鈉 (Na-deoxycholate) 之 PBS 中製備的抗體溶液 (1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 捕捉個別抗 ST2L 單株抗體。表面中的訊號在抗 Fc 塗覆表面中達到 ~250 共振單位 (RU, 1 RU = 1  $\text{pg}$  蛋白質/ $\text{mm}^2$ )，確認該些抗體特異性捕捉抗 ST2L 單株抗體。在液體系統旋轉 90° 後，將 ST2L-D1D2 之野生型或變異體蛋白質 (0.5  $\text{mg}/\text{mL}$  於含 0.5% Nonidet P-40 及 0.5% 去氧膽酸鈉 (Na-deoxycholate) 之 PBS) 注射於平行的流道中。所有該些分析皆在 25°C 進行。在該表面上之 ST2L-D1D2 依賴性訊號係藉由雙重參引、減去單獨於固定抗體的表面上所觀察到的反應以及單獨注射媒介物所觀察到的訊號而獲得 (其容許校正結合獨立性反應)。產生的傳感圖係以最簡單的 1:1 交互作用模式 (ProteOn 分析軟體) 適配以獲得對應的結合及解離速率常數 ( $k_a$  及  $k_d$ )。



【0222】 圖 19 顯示被製造的 ST2L 變異體以及 ST2B206 與 ST2B252 抗 ST2L 抗體對該些變異體之親和力。變異體 93NL94 (93TF94-> 93NL94 取代)降低 STLM208 與 STL252 兩者的結合親和力約 5 倍,從約  $10.8 \times 10^{-12}$  M 至約  $49.5 \times 10^{-12}$  M。缺乏結合親和力顯著降低代表在抗體與 ST2L-D1D2 之間的交互作用的結合能為由 H/D 交換分析確認的抗原決定區 (RCPRQGKPSYTVDW ; SEQ ID NO: 210) 與來自此 93NL94 位置額外之貢獻的總和。殘基編號係根據 SEQ ID NO: 1 之全長人類 ST2L。

### 實例 17 ST2L 域 I 結合抗體抑制體外初代人類肺肥大細胞反應

【0223】 ST2L 域 I 結合抗體抑制肺肥大細胞反應的能力係藉由初代人類肺部肥大細胞中的趨化激素及細胞介素的釋放來評估。

### 分離初代人類肺部肥大細胞

【0224】 初代人類肺部肥大細胞係分離自國際醫藥促進機構 (International Institute for the Advancement of Medicine) 取得的正常非吸煙者組織。藉由在 37°C 於膠原蛋白酶及玻尿酸酶酵素中切碎、沖洗及分解薄壁組織過夜使細胞自肺實質及小呼吸道分散。收集細胞、沖洗,並經富集步驟,使用來自 MACS Miletnyi Biotec 的 CD117 MicroBead Kit (人類) 由該族群中積極選擇肥大細胞。進行實驗之前,將肥大細胞於 StemPro-34 + 200 ng/ml 幹細胞因子中培養 6 週。分離兩週後,使用流動式細胞測量術分析細胞表型特徵以測定肥大細胞純度百分比。用於後續分析的細胞係對 CD117 (C-kit 或幹細胞因子受體) 及 Fc $\epsilon$ RI (高親和力 IgE 受體) 89% 雙陽性。此外,其對 ST2L 為 94.2% 陽性;因而確認其肥大細胞表型。

### 來自初代人類肺部肥大細胞之細胞介素釋放分析

**【0225】** 收集已培養於 StemPro-34 + 200 ng/ml 幹細胞因子持續 6 週的初代人類肺部肥大細胞，並藉由於 RPMI (10%熱失活的 FCS) 中離心來沖洗。細胞進行計數並以 65,000 個細胞的密度塗佈於 96 孔盤中的 RPMI / 10% FCS 培養基。將抗 ST2L 域 I 結合單株抗體加入初代肺部肥大細胞，並在以 IL-33 刺激之前使其在 37°C 結合 30 分鐘。以 3 ng/ml IL-33 刺激細胞 24 小時以引發各種媒介物累積於培養上清液中。收取培養上清液並冷凍儲存直到於慣用 Milliplex 9-plex 套組進行分析。

**【0226】** 在抗體濃度為 100 µg/ml、10 µg/ml 及 1 µg/ml 下，抗 ST2L 域 I 結合抗體 (STLM208) 抑制初代人類肺部肥大細胞中 IL-33 誘發的 GM-CSF (圖 20A)、IL-5 (圖 20B)、IL-8 (圖 20C) 及 IL-13 (圖 20D) 釋放。使用臍帶血衍生的肥大細胞得到相似的結果 (數據未呈現)。

**【符號說明】** 無

**【生物材料寄存】** 無

國內寄存資訊 **【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】**

國外寄存資訊 **【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】**

**【序列表】** (請換頁單獨記載)

## 序列表

&lt;110&gt; 健生生物科技公司

&lt;120&gt; ST2L拮抗劑及使用方法

&lt;130&gt; JBI5003WOPCT

&lt;150&gt; US 61/640,407

&lt;151&gt; 2012-04-30

&lt;150&gt; US 61/640,238

&lt;151&gt; 2012-04-30

&lt;150&gt; US 13/798,204

&lt;151&gt; 2013-03-13

&lt;150&gt; US 13/798,226

&lt;151&gt; 2013-03-13

&lt;160&gt; 215

&lt;170&gt; PatentIn version 3.5

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 556

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人類

&lt;400&gt; 1

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

Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu  
 20 25 30

Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp  
 35 40 45

Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg  
 50 55 60

Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala  
 65 70 75 80

Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg  
 85 90 95

Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn  
 100 105 110

Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn  
115 120 125

Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro  
130 135 140

Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg  
145 150 155 160

Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala  
165 170 175

Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr  
180 185 190

Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe  
195 200 205

Ser Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu  
210 215 220

Val Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly  
225 230 235 240

Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr  
245 250 255

Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln  
260 265 270

Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg  
275 280 285

Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu  
290 295 300

Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg  
305 310 315 320

Lys Asn Pro Ile Asp His His Ser Ile Tyr Cys Ile Ile Ala Val Cys  
325 330 335

Ser Val Phe Leu Met Leu Ile Asn Val Leu Val Ile Ile Leu Lys Met  
 340 345 350

Phe Trp Ile Glu Ala Thr Leu Leu Trp Arg Asp Ile Ala Lys Pro Tyr  
 355 360 365

Lys Thr Arg Asn Asp Gly Lys Leu Tyr Asp Ala Tyr Val Val Tyr Pro  
 370 375 380

Arg Asn Tyr Lys Ser Ser Thr Asp Gly Ala Ser Arg Val Glu His Phe  
 385 390 395 400

Val His Gln Ile Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Cys Gly Tyr Thr  
 405 410 415

Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Met Leu Pro Gly Glu Asp Val Val Thr  
 420 425 430

Ala Val Glu Thr Asn Ile Arg Lys Ser Arg Arg His Ile Phe Ile Leu  
 435 440 445

Thr Pro Gln Ile Thr His Asn Lys Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val  
 450 455 460

Ala Leu His Cys Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ala Lys Val Ile Leu Ile  
 465 470 475 480

Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu  
 485 490 495

Gln Asp Ser Leu Gln His Leu Met Lys Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp  
 500 505 510

Arg Glu Asp His Ile Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp  
 515 520 525

Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Ile Pro Arg Lys  
 530 535 540

Ala Ser Ser Leu Thr Pro Leu Ala Ala Gln Lys Gln  
 545 550 555

<210> 2  
 <211> 556  
 <212> PRT  
 <213> 馬來猴

<400> 2

Met Gly Leu Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Val Tyr Ser Thr  
 1 5 10 15

Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu  
 20 25 30

Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Ser Ser Tyr Ile Val Asp Trp  
 35 40 45

Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg  
 50 55 60

Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Glu Val Ala  
 65 70 75 80

Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg  
 85 90 95

Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Pro Asp Cys Asn  
 100 105 110

Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn  
 115 120 125

Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro  
 130 135 140

Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Lys  
 145 150 155 160

Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Asp Asp Ala  
 165 170 175

Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr  
 180 185 190

Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe  
 195 200 205

Ser Leu Phe Pro Val Ile Arg Ala Pro Ala His Asn Glu Thr Lys Glu  
 210 215 220

Val Glu Ile Gly Glu Asn Thr Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly  
 225 230 235 240

Lys Gly Ala Gln Phe Leu Ala Thr Val Gln Trp Gln Leu Asn Gly Asn  
 245 250 255

Lys Ile Thr Asp Phe Ser Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln  
 260 265 270

Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Val Asn Thr Val Leu Arg  
 275 280 285

Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Arg Tyr Asp Cys Leu  
 290 295 300

Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Ile Arg Leu Ser Arg  
 305 310 315 320

Lys Asn Pro Ile Asp His Gln Ser Thr Tyr Cys Ile Ile Ala Val Cys  
 325 330 335

Ser Val Leu Leu Met Leu Ile Asn Val Leu Val Ile Ile Leu Lys Thr  
 340 345 350

Phe Trp Ile Glu Ala Thr Leu Leu Trp Arg Asp Ile Ala Lys Pro Tyr  
 355 360 365

Lys Thr Arg Asn Asp Gly Lys Leu Tyr Asp Ala Tyr Val Ile Tyr Pro  
 370 375 380

Arg Asn Tyr Thr Ser Ser Thr Asp Gly Ala Ser Arg Val Glu Tyr Phe  
 385 390 395 400

Val His Gln Ile Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Cys Gly Tyr Thr  
 405 410 415

Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Met Leu Pro Gly Glu Asp Val Val Thr  
 420 425 430

Ala Val Glu Thr Asn Ile Arg Lys Ser Arg Arg His Ile Phe Ile Leu  
 435 440 445

Thr Pro Gln Ile Thr His Asn Glu Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val  
 450 455 460

Ala Leu His Ser Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ser Lys Val Ile Leu Ile  
 465 470 475 480

Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu  
 485 490 495

Gln Asp Ser Leu Arg His Leu Met Glu Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp  
 500 505 510

Arg Glu Asp His Val Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp  
 515 520 525

Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Met Pro Arg Lys  
 530 535 540

Ala Ser Ser Leu Thr Ser Leu Ala Ala Gln Lys Gln  
 545 550 555

<210> 3  
 <211> 270  
 <212> PRT  
 <213> 人類

<400> 3

Met Lys Pro Lys Met Lys Tyr Ser Thr Asn Lys Ile Ser Thr Ala Lys  
 1 5 10 15

Trp Lys Asn Thr Ala Ser Lys Ala Leu Cys Phe Lys Leu Gly Lys Ser  
 20 25 30

Gln Gln Lys Ala Lys Glu Val Cys Pro Met Tyr Phe Met Lys Leu Arg  
 35 40 45

Ser Gly Leu Met Ile Lys Lys Glu Ala Cys Tyr Phe Arg Arg Glu Thr  
 50 55 60

Thr Lys Arg Pro Ser Leu Lys Thr Gly Arg Lys His Lys Arg His Leu  
 第 6 頁





Met Lys Pro Lys Met Lys Tyr Ser Thr Asn Lys Ile Ser Thr Ala Lys  
 1 5 10 15

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

Gln Gln Lys Ala Lys Glu Val Cys His Val Tyr Phe Met Lys Leu Arg  
 35 40 45

Ser Gly Leu Met Ile Lys Lys Glu Ala Cys Tyr Phe Arg Arg Glu Thr  
 50 55 60

Thr Lys Arg Pro Ser Leu Lys Thr Gly Gly Lys His Lys Gly His Leu  
 65 70 75 80

Val Leu Ala Ala Cys Gln Gln Gln Ser Thr Val Glu Cys Phe Ala Phe  
 85 90 95

Gly Ile Ser Gly Val Pro Lys Tyr Thr Arg Ala Leu His Asp Ser Ser  
 100 105 110

Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Ser Leu Ala Ser Leu Ser Thr  
 115 120 125

Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu  
 130 135 140

Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Lys Lys Lys Asp Lys Val Leu  
 145 150 155 160

Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Ser Glu Ser Gly Asp Gly  
 165 170 175

Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp Phe  
 180 185 190

Trp Leu Gln Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys Cys  
 195 200 205

Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Arg Ser  
 210 215 220

Phe Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe Ile  
 225 230 235 240

Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Tyr Ser Glu  
 245 250 255

Asn Leu Gly Ser Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu  
 260 265

<210> 5  
 <211> 567  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠  
 <400> 5

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

Leu Pro Met Tyr Leu Thr Val Thr Glu Gly Ser Lys Ser Ser Trp Gly  
 20 25 30

Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val Arg Cys Pro Gln Arg Gly Arg Ser  
 35 40 45

Thr Tyr Pro Val Glu Trp Tyr Tyr Ser Asp Thr Asn Glu Ser Ile Pro  
 50 55 60

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

● Leu Pro Ala Arg Val Glu Asp Ser Gly Ile Tyr Ala Cys Val Ile Arg  
 85 90 95

Ser Pro Asn Leu Asn Lys Thr Gly Tyr Leu Asn Val Thr Ile His Lys  
 100 105 110

Lys Pro Pro Ser Cys Asn Ile Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val  
 115 120 125

Arg Gly Ser Asp Lys Asn Phe Lys Ile Thr Cys Pro Thr Ile Asp Leu  
 130 135 140

Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Val Gln Trp Phe Lys Asn Cys Lys Ala Leu  
 145 150 155 160

Gln Glu Pro Arg Phe Arg Ala His Arg Ser Tyr Leu Phe Ile Asp Asn  
 165 170 175

Val Thr His Asp Asp Glu Gly Asp Tyr Thr Cys Gln Phe Thr His Ala  
 180 185 190

Glu Asn Gly Thr Asn Tyr Ile Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val  
 195 200 205

Glu Glu Lys Gly Phe Ser Met Phe Pro Val Ile Thr Asn Pro Pro Tyr  
 210 215 220

Asn His Thr Met Glu Val Glu Ile Gly Lys Pro Ala Ser Ile Ala Cys  
 225 230 235 240

Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly Ser His Phe Leu Ala Asp Val Leu Trp  
 245 250 255

Gln Ile Asn Lys Thr Val Val Gly Asn Phe Gly Glu Ala Arg Ile Gln  
 260 265 270

Glu Glu Glu Gly Arg Asn Glu Ser Ser Ser Asn Asp Met Asp Cys Leu  
 275 280 285

Thr Ser Val Leu Arg Ile Thr Gly Val Thr Glu Lys Asp Leu Ser Leu  
 290 295 300

Glu Tyr Asp Cys Leu Ala Leu Asn Leu His Gly Met Ile Arg His Thr  
 305 310 315 320

Ile Arg Leu Arg Arg Lys Gln Pro Ile Asp His Arg Ser Ile Tyr Tyr  
 325 330 335

Ile Val Ala Gly Cys Ser Leu Leu Leu Met Phe Ile Asn Val Leu Val  
 340 345 350

Ile Val Leu Lys Val Phe Trp Ile Glu Val Ala Leu Phe Trp Arg Asp  
 355 360 365

Ile Val Thr Pro Tyr Lys Thr Arg Asn Asp Gly Lys Leu Tyr Asp Ala  
 370 375 380

Tyr Ile Ile Tyr Pro Arg Val Phe Arg Gly Ser Ala Ala Gly Thr His  
385 390 395 400

Ser Val Glu Tyr Phe Val His His Thr Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn  
405 410 415

Lys Cys Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Leu Leu Pro Gly  
420 425 430

Gln Asp Ala Ala Thr Val Val Glu Ser Ser Ile Gln Asn Ser Arg Arg  
435 440 445

Gln Val Phe Val Leu Ala Pro His Met Met His Ser Lys Glu Phe Ala  
450 455 460

Tyr Glu Gln Glu Ile Ala Leu His Ser Ala Leu Ile Gln Asn Asn Ser  
465 470 475 480

Lys Val Ile Leu Ile Glu Met Glu Pro Leu Gly Glu Ala Ser Arg Leu  
485 490 495

Gln Val Gly Asp Leu Gln Asp Ser Leu Gln His Leu Val Lys Ile Gln  
500 505 510

Gly Thr Ile Lys Trp Arg Glu Asp His Val Ala Asp Lys Gln Ser Leu  
515 520 525

Ser Ser Lys Phe Trp Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Glu  
530 535 540

Arg Ala Ser Lys Thr Ala Ser Val Ala Ala Pro Leu Ser Gly Lys Ala  
545 550 555 560

Cys Leu Asp Leu Lys His Phe  
565

<210> 6  
<211> 300  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> ST2L 人類老鼠嵌合 HHM

&lt;400&gt; 6

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val  
 1 5 10 15

Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr  
 20 25 30

Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe  
 35 40 45

Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser  
 50 55 60

Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly  
 65 70 75 80

Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro  
 85 90 95

Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys  
 100 105 110

Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu  
 115 120 125

Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His  
 130 135 140

Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp  
 145 150 155 160

Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val  
 165 170 175

Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Glu Glu Lys Gly Phe Ser Met Phe  
 180 185 190

Pro Val Ile Thr Asn Pro Pro Tyr Asn His Thr Met Glu Val Glu Ile  
 195 200 205

Gly Lys Pro Ala Ser Ile Ala Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly Ser  
 210 215 220

His Phe Leu Ala Asp Val Leu Trp Gln Ile Asn Lys Thr Val Val Gly  
 225 230 235 240

Asn Phe Gly Glu Ala Arg Ile Gln Glu Glu Gly Arg Asn Glu Ser  
 245 250 255

Ser Ser Asn Asp Met Asp Cys Leu Thr Ser Val Leu Arg Ile Thr Gly  
 260 265 270

Val Thr Glu Lys Asp Leu Ser Leu Glu Tyr Asp Cys Leu Ala Leu Asn  
 275 280 285

Leu His Gly Met Ile Arg His Thr Ile Arg Leu Arg  
 290 295 300

<210> 7  
 <211> 297  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2L 人類-老鼠嵌合 MHM

<400> 7

Lys Ser Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val Arg Cys Pro  
 1 5 10 15

Gln Arg Gly Arg Ser Thr Tyr Pro Val Glu Trp Tyr Tyr Ser Asp Thr  
 20 25 30

Asn Glu Ser Ile Pro Thr Gln Lys Arg Asn Arg Ile Phe Val Ser Arg  
 35 40 45

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

Ala Cys Val Ile Arg Ser Pro Asn Leu Asn Lys Thr Gly Tyr Leu Asn  
 65 70 75 80

Val Thr Ile His Lys Lys Pro Pro Ser Cys Asn Ile Pro Asp Tyr Leu  
 85 90 95

Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys Ile Tyr Cys  
 100 105 110

Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu Trp Phe Lys  
 115 120 125

Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His Lys Ser Phe  
 130 135 140

Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp Tyr Thr Cys  
 145 150 155 160

Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val Thr Ala Thr  
 165 170 175

Arg Ser Phe Thr Val Glu Glu Lys Gly Phe Ser Met Phe Pro Val Ile  
 180 185 190

Thr Asn Pro Pro Tyr Asn His Thr Met Glu Val Glu Ile Gly Lys Pro  
 195 200 205

Ala Ser Ile Ala Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly Ser His Phe Leu  
 210 215 220

Ala Asp Val Leu Trp Gln Ile Asn Lys Thr Val Val Gly Asn Phe Gly  
 225 230 235 240

Glu Ala Arg Ile Gln Glu Glu Glu Gly Arg Asn Glu Ser Ser Ser Asn  
 245 250 255

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

Lys Asp Leu Ser Leu Glu Tyr Asp Cys Leu Ala Leu Asn Leu His Gly  
 275 280 285

Met Ile Arg His Thr Ile Arg Leu Arg  
 290 295

<210> 8  
 <211> 303  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>



&lt;223&gt; ST2L 人類-老鼠嵌合 HMH

&lt;400&gt; 8

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val  
 1 5 10 15

Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr  
 20 25 30

Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe  
 35 40 45

Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser  
 50 55 60

Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly  
 65 70 75 80

Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro  
 85 90 95

Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Arg Gly Ser Asp Lys Asn Phe Lys  
 100 105 110

Ile Thr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Val Gln  
 115 120 125

Trp Phe Lys Asn Cys Lys Ala Leu Gln Glu Pro Arg Phe Arg Ala His  
 130 135 140

Arg Ser Tyr Leu Phe Ile Asp Asn Val Thr His Asp Asp Glu Gly Asp  
 145 150 155 160

Tyr Thr Cys Gln Phe Thr His Ala Glu Asn Gly Thr Asn Tyr Ile Val  
 165 170 175

Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser Leu  
 180 185 190

Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val Glu  
 195 200 205

Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly  
 第 15 頁

210

215

220

Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys Ile  
 225 230 235 240

Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn Gln  
 245 250 255

Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile Ala  
 260 265 270

Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala Leu  
 275 280 285

Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys  
 290 295 300

<210> 9  
 <211> 104  
 <212> PRT  
 <213> 人類

<400> 9

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val  
 1 5 10 15

Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr  
 20 25 30

Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe  
 35 40 45

Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser  
 50 55 60

Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly  
 65 70 75 80

Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro  
 85 90 95

Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val  
 100

<210> 10  
 <211> 80  
 <212> PRT  
 <213> 人類

<400> 10

Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu  
 1 5 10 15

Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu  
 20 25 30

Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn  
 35 40 45

Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn  
 50 55 60

Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val  
 65 70 75 80

<210> 11  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> 人類

<400> 11

Ser Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu  
 1 5 10 15

Val Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly  
 20 25 30

Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr  
 35 40 45

Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln  
 50 55 60

Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg  
 65 70 75 80

Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu  
 85 90 95

Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg  
 100 105 110

Lys Asn Pro Ile  
 115

<210> 12  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 <213> 人類

<400> 12

Lys Ser Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val Arg Cys Pro  
 1 5 10 15

Gln Arg Gly Arg Ser Thr Tyr Pro Val Glu Trp Tyr Tyr Ser Asp Thr  
 20 25 30

Asn Glu Ser Ile Pro Thr Gln Lys Arg Asn Arg Ile Phe Val Ser Arg  
 35 40 45

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

Ala Cys Val Ile Arg Ser Pro Asn Leu Asn Lys Thr Gly Tyr Leu Asn  
 65 70 75 80

Val Thr Ile His Lys Lys Pro Pro Ser Cys Asn Ile Pro Asp Tyr Leu  
 85 90 95

Met Tyr Ser Thr Val  
 100

<210> 13  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 13

His Tyr Gly Met Ala  
 1 5

<210> 14

<211> 17  
<212> PRT  
<213> 小鼠

<400> 14

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

Gly

<210> 15  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 小鼠

● <400> 15

Gln Ser Asp Asp Tyr Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 16  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> 小鼠

<400> 16

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Tyr Ser Asp Gly Asp Ser Tyr Leu Glu  
1 5 10 15

● <210> 17  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 小鼠

<400> 17

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser  
1 5

<210> 18  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 小鼠

<400> 18

Phe Gln Ala Thr His Asp Pro Phe Thr  
1 5

<210> 19  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 19

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser His Tyr  
 20 25 30

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

Ser Ser Ile Ile Thr Asp Gly Thr Ser Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gln Ser Asp Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 20  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 20

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Tyr Ser  
 20 25 30

Asp Gly Asp Ser Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Pro Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ala  
 85 90 95

Thr His Asp Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 21  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 21

Asp Tyr Asn Met Asn  
 1 5

<210> 22  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 22

Thr Tyr Trp Met Asn  
 1 5

<210> 23  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 23

Ser Asp Tyr Ala Trp Asn  
 1 5

<210> 24  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 24

Asp Asp Tyr Met His  
1 5

<210> 25  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 小鼠

<400> 25

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

Gly

<210> 26  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 小鼠

<400> 26

Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Met Phe Lys  
1 5 10 15

Asp

<210> 27  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> 小鼠

<400> 27

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

<210> 28  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 小鼠

<400> 28

Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe Gln  
1 5 10 15



Asp

<210> 29  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 29

Glu Gly Asp Thr Tyr Leu Ala Trp Phe Ala Tyr  
 1 5 10

<210> 30  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 30

Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Ile Asn Phe Gln Tyr Tyr Phe Ala Tyr  
 1 5 10 15

<210> 31  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 31

Tyr Asp Gly Tyr Ser Phe Asp Tyr  
 1 5

<210> 32  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 32

Gly Asp Phe Tyr Ala Met Asp Tyr  
 1 5

<210> 33  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 33

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Tyr Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu  
 1 5 10 15

<210> 34  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 34

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Arg Met His  
 1 5 10

<210> 35  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 35

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Ser Ser Tyr Met Phe  
 1 5 10 15

<210> 36  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 36

Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val Ile His  
 1 5 10

<210> 37  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 37

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser  
 1 5

<210> 38  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 38

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser  
 1 5

<210> 39  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 39

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser  
 1 5

<210> 40  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 40

Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro  
 1 5

<210> 41  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 41

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr  
 1 5

<210> 42  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 42

Gln Gln Ser Asn Thr Trp Pro Phe Thr  
 1 5

<210> 43  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 43

Gln His Ser Arg Glu Ile Pro Tyr Thr  
 1 5

<210> 44  
 <211> 8

<212> PRT  
<213> 小鼠

<400> 44

Leu Gln Ser Asp Asn Met Leu Thr  
1 5

<210> 45  
<211> 120  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> C2519A VH

<400> 45

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Asn Ile Asn Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Asp Thr Tyr Leu Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln  
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala  
115 120

<210> 46  
<211> 124  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

&lt;223&gt; C2521A VH

&lt;400&gt; 46

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Thr Tyr  
 20 25 30

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

Gly Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Met Phe  
 50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Ile Asn Phe Gln Tyr Tyr Phe Ala  
 100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
 115 120

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; C2244/ STLM15 VH

&lt;400&gt; 47

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

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

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Ser Lys Leu Glu Trp  
 35 40 45

Met Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Asp Thr Ser Phe Asn Pro Ser Leu  
 50 55 60

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

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

Ala Ser Tyr Asp Gly Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 48  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> C2494A/ STLM62 VH

<400> 48

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

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Ala Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe  
 50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Leu Gly Asp Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 49  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> C2519A VL

<400> 49

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Tyr Ser  
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
85 90 95

Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 50  
<211> 106  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> C2521A VL

<400> 50

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

Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Arg Met  
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys  
35 40 45

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ser Glu  
65 70 75 80

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

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 51  
<211> 111  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> C2244/ STLM15 VL

<400> 51

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser  
20 25 30

Gly Ser Ser Tyr Met Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro  
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala  
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His  
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
85 90 95



Glu Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 52  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> C2494A/ STLM62 VL

<400> 52

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

Glu Lys Val Thr Ile Arg Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val  
 20 25 30

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

Ser Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ser  
 50 55 60

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

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

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
 100 105

<210> 53  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> STLM48, STLM49, STLM50 HCDR1

<400> 53

Thr Ser Tyr Trp Ile Gly  
 1 5

<210> 54  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> STLM51 HCDR1

<400> 54

Ser Ser Tyr Ala Ile Ser  
 1 5

<210> 55  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> STLM48, STLM49, STLM50 HCDR2

<400> 55

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe  
 1 5 10 15

Gln Gly

<210> 56  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> STLM51 HCDR2

<400> 56

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
 1 5 10 15

Gly

<210> 57  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>

<223> STLM48, STLM50 HCDR3

<400> 57

Leu Ser Gly Arg Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 58

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> STLM49 HCDR3

<400> 58

Ile Gly Gly Met Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> STLM51 HCDR3

<400> 59

Asp Thr Pro Gln Leu Asp Tyr  
1 5

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> STLM48 LCDR1

<400> 60

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

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> STLM49 LCDR1

<400> 61

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

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> STLM50 LCDR1

<400> 62

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

<210> 63

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> STLM51 LCDR1

<400> 63

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn  
1 5 10

<210> 64

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> STLM48, STLM50 LCDR2

<400> 64

Phe Ala Ser Asn Arg Ala Thr  
1 5

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> STLM49 LCDR2

&lt;400&gt; 65

Lys Ala Ser Asn Arg Ala Thr  
1 5

&lt;210&gt; 66

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; STLM51 LCDR2

&lt;400&gt; 66

Tyr Ala Ser Ser Leu Gln Ser  
1 5

&lt;210&gt; 67

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; STLM48 LCDR3

&lt;400&gt; 67

Gln Gln Phe Asn Thr Trp Pro Ile Thr  
1 5

&lt;210&gt; 68

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; STLM49 LCDR3

&lt;400&gt; 68

Gln Gln Tyr Tyr Gly Trp Pro Ile Thr  
1 5

&lt;210&gt; 69

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; STLM50 LCDR3

&lt;400&gt; 69

Gln Gln Phe Phe Asn Trp Pro Ile Thr  
1 5

<210> 70  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> STLM51 LCDR3

<400> 70

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr  
1 5

<210> 71  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> STLM48, STLM50 VH

<400> 71

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe  
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

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

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 72  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> STLM49 VH

<400> 72

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe  
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Ile Gly Gly Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 73  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> STLM51 VH

<400> 73

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
第 37 頁

1                    5                    10                    15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
                   20                    25                    30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                   35                    40                    45  
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
                   50                    55                    60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
                   65                    70                    75                    80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95  
 Ala Arg Asp Thr Pro Gln Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
                   100                    105                    110  
 Thr Val Ser Ser  
                   115  
 <210> 74  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> STLM48 VL  
 <400> 74  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
  1                    5                    10                    15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Asp Ala  
                   20                    25                    30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
                   35                    40                    45  
 Tyr Phe Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
                   50                    55                    60



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

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

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

<210> 75  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> STLM49 VL

<400> 75

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Asn Ala  
20 25 30

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

Tyr Lys Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Gly Trp Pro Ile  
85 90 95

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

<210> 76  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> STLM50 VL

&lt;400&gt; 76

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

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

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

Tyr Lys Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Ala Pro Trp  
 85 90 95

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

&lt;210&gt; 77

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; STL51 VL

&lt;400&gt; 77

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

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

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

Tyr Tyr 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 Ser Tyr Ser Thr Pro Leu  
 85 90 95

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

<210> 78  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2F6 HCDR1

<400> 78

Ser Tyr Ala Met Ser  
 1 5

<210> 79  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2F4 HCDR1

<400> 79

Ser Tyr Trp Met His  
 1 5

<210> 80  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2F1 HCDR1

<400> 80

Ser Tyr Trp Ile Gly  
 1 5

<210> 81  
 <211> 17  
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2F6 HCDR2

<400> 81

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 82

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2F4 HCDR2

<400> 82

Gly Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 83

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2F1 HCDR2

<400> 83

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln  
1 5 10 15

Gly

<210> 84

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2F6 HCDR3

<400> 84

Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 85

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2F4 HCDR3

<400> 85

Asp Gly Trp Gly Thr Val Tyr Phe Pro Phe Asp Tyr  
1 5 10

<210> 86

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2F1 HCDR3

<400> 86

Asp Thr Ala Asp Phe Arg Arg Trp Asp Phe Asp Tyr  
1 5 10

<210> 87

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2F6 LCDR1

<400> 87

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

<210> 88

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2F4 LCDR1

<400> 88

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

<210> 89

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2F1 LCDR1

<400> 89

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu  
1 5 10 15

Ala

<210> 90

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2F6, ST2F4 LCDR2

<400> 90

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr  
1 5

<210> 91

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2F1 LCDR2

<400> 91

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
1 5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2F6 LCDR3

<400> 92

Gln Gln Phe Tyr Asn Trp Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 93  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2F4 LCDR3

<400> 93

Gln Gln Tyr Ile His Ala Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 94  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2F1 LCDR3

<400> 94

Gln Gln Ser Asn Thr Tyr Pro Phe Thr  
 1 5

<210> 95  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H112, ST2H137 HCDR1

<400> 95

Phe Tyr Asp Met Phe  
 1 5

<210> 96  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
<223> ST2H52 HCDR1

<400> 96

Asp Tyr Ala Met Phe  
1 5

<210> 97  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> ST2H50, ST2H232, ST2H257, ST2H231 HCDR1

<400> 97

Ile Tyr Asp Met Ile  
1 5

<210> 98  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> ST2H228 HCDR1

<400> 98

Ser Tyr Asp Met Ile  
1 5

<210> 99  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> ST2H318 HCDR1

<400> 99

Asp Asp Ala Met Ile  
1 5

<210> 100  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>



<223> ST2H316 HCDR1

<400> 100

Gly Tyr Ala Met Ile  
1 5

<210> 101

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2H314 HCDR1

<400> 101

Val Tyr Asp Met Ile  
1 5

<210> 102

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2H202 HCDR1

<400> 102

Phe Tyr Asp Met Ile  
1 5

<210> 103

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2H179, ST2H172, ST2H173 HCDR1

<400> 103

Ser Tyr Asp Met Phe  
1 5

<210> 104

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2H163 HCDR1

<400> 104

Val Tyr Asp Met Phe  
1 5

<210> 105

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2H162 HCDR1

<400> 105

Val Asp Ser Met Phe  
1 5

<210> 106

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2H139 HCDR1

<400> 106

Gly Tyr Asp Met Phe  
1 5

<210> 107

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2H136 HCDR1

<400> 107

Ile Tyr Asp Met Phe  
1 5

<210> 108

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2H129 HCDR1

<400> 108

Ile Tyr Ser Met Phe  
1 5

<210> 109

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2H112 HCDR3

<400> 109

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

● Gly

<210> 110

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2H52 HCDR3

<400> 110

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

● Gly

<210> 111

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2H50 HCDR3

<400> 111

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

Gly

<210> 112  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H232 HCDR3

<400> 112

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

Gly

<210> 113  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H228 HCDR3

<400> 113

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

Gly

<210> 114  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H257 HCDR3

<400> 114

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

Gly

<210> 115  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> ST2H231 HCDR3

<400> 115 .

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

Gly

<210> 116  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> ST2H318 HCDR3

<400> 116

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

Gly

<210> 117  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> ST2H316 HCDR3

<400> 117

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

Gly

<210> 118  
<211> 17  
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ST2H314 HCDR3

<400> 118

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

Gly

<210> 119

<211> 311

<212> PRT

<213> 人類

<400> 119

Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile  
1 5 10 15

Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr  
20 25 30

Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val  
35 40 45

Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Glu Val Ala Asp  
50 55 60

Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr  
65 70 75 80

Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val  
85 90 95

Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser  
100 105 110

Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu  
115 120 125

Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala  
130 135 140

His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly  
 145 150 155 160

Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser  
 165 170 175

Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser  
 180 185 190

Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val  
 195 200 205

Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys  
 210 215 220

Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys  
 225 230 235 240

Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn  
 245 250 255

Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile  
 260 265 270

Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala  
 275 280 285

Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys  
 290 295 300

Asn Pro Ser Lys Glu Cys Phe  
 305 310

<210> 120  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H202 HCDR3

<400> 120

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

Gly

<210> 121  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H179 HCDR3

&lt;400&gt; 121

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

Gly

<210> 122  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H172 HCDR3

&lt;400&gt; 122

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

Gly

<210> 123  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H173 HCDR3

&lt;400&gt; 123

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

Gly



<210> 124  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H163 HCDR3

<400> 124

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

Gly

<210> 125  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H162 HCDR3

<400> 125

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

Gly

<210> 126  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H139 HCDR3

<400> 126

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

Gly

<210> 127  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H137 HCDR3

<400> 127

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

Gly

<210> 128  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H136 HCDR3

<400> 128

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

Gly

<210> 129  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> ST2H129 HCDR3

<400> 129

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

Gly

<210> 130  
 <211> 11  
 <212> PRT



&lt;220&gt;

&lt;223&gt; ST2L59 LCDR3

&lt;400&gt; 134

Gln Gln Tyr Ile Thr Ala Pro Leu Thr  
 1 5

&lt;210&gt; 135

&lt;211&gt; 106

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; VL2494-IGKV1-33\*01 018

&lt;400&gt; 135

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 Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val  
 20 25 30

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

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

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

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

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

&lt;210&gt; 136

&lt;211&gt; 106

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; VL2494-IGKV1-27\*01 A20

&lt;400&gt; 136

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 Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val  
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 137

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL2494-IGKV1-39\*01012

<400> 137

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 Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val  
 20 25 30

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

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro 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 Leu Gln Ser Asp Asn Met Leu Thr  
 85 90 95

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

<210> 138  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL2494-IGKV1-12\*01 L5

<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 Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val  
 20 25 30

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

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro 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 Leu Gln Ser Asp Asn Met Leu Thr  
 85 90 95

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

<210> 139  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL2494-IGKV1-5\*01 L12

<400> 139

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val  
 20 25 30

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

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

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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Asp Asn Met Leu Thr  
 85 90 95

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

<210> 140  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL2494-IGKV1-9\*01 L8

<400> 140

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val  
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 141  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL2494-IGKV3-15\*01 L2

<400> 141

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

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

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

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

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

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

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

<210> 142  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL2494-IGKV1-39\*01 012b

<400> 142



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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val  
 20 25 30

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

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro 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 Leu Gln Ser Asp Asn Leu Leu Thr  
 85 90 95

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

<210> 143  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH2494-IGHV1-f\*01

<400> 143

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Ala Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Glu Lys Phe  
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Gly Asp Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 144  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> VH2494-IGHV1-24\*01

<400> 144

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Ala Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe  
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Gly Asp Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 145

<211> 117  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH STLH201

<400> 145

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Ala Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Glu Lys Phe  
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Gly Asp Phe Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 146  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> HCDR3 of STLM226-STLM232

<400> 146

Gly Asp Phe Tyr Ala Met Ala Tyr  
 1 5

<210> 147  
 <211> 8

<212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> STLM266 VL

<400> 147

Leu Gln Ser Asp Asn Leu Leu Thr  
 1 5

<210> 148  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> IGHV1-24\*01 框架

<400> 148

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu  
 20 25 30

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

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 100 105

<210> 149  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> IGHV1-f\*01 框架

&lt;400&gt; 149

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 100 105

&lt;210&gt; 150

&lt;211&gt; 106

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; IGKV3-15\*01 L2 框架

&lt;400&gt; 150

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn  
 20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

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

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

<210> 151  
<211> 106  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> IGKV1-9\*01 L8 框架

<400> 151

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

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

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

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

<210> 152  
<211> 106  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> IGKV1-5\*01 L12

&lt;400&gt; 152

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser 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 Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Thr  
 85 90 95

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

&lt;210&gt; 153

&lt;211&gt; 106

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; IGKV1-12\*01 L5

&lt;400&gt; 153

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 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 Ala Asn Ser Phe Pro Thr  
85 90 95

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

<210> 154  
<211> 106  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> IGKV1-39\*01 O12

<400> 154

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

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

Leu Asn 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 Ser Tyr Ser Thr Pro Thr  
85 90 95

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

<210> 155  
<211> 106  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> IGKV1-27\*01 A20



&lt;400&gt; 155

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

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

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

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Thr  
 85 90 95

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

&lt;210&gt; 156

&lt;211&gt; 106

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; IGKV1-33\*01 018

&lt;400&gt; 156

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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 157  
<211> 328  
<212> PRT  
<213> 人類

<400> 157

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

Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu  
20 25 30

Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp  
35 40 45

Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg  
50 55 60

Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Glu Val Ala  
65 70 75 80

Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg  
85 90 95

Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn  
100 105 110

Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn  
115 120 125

Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro  
130 135 140

Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg  
145 150 155 160

Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala  
 165 170 175

Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr  
 180 185 190

Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe  
 195 200 205

Ser Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu  
 210 215 220

Val Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly  
 225 230 235 240

Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr  
 245 250 255

Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln  
 260 265 270

Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg  
 275 280 285

Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu  
 290 295 300

Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg  
 305 310 315 320

Lys Asn Pro Ser Lys Glu Cys Phe  
 325

<210> 158  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> VH 3-23 框架

<400> 158

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 第 73 頁

1                    5                    10                    15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
                   20                    25                    30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                    40                    45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
                   50                    55                    60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
                   65                    70                    75                    80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95  
 Ala Lys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                   100                    105

<210> 159  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> Vk L6 框架 (IGKV3-11 )

<400> 159

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1                    5                    10  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
                   20                    25                    30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
                   35                    40                    45  
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
                   50                    55                    60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
                   65                    70                    75                    80

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

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

<210> 160  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> HCDR1 保守性

<220>  
 <221> Xaa1  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa1 is S, F, D, I, G or V

<220>  
 <221> Xaa2  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa2 is Y or D

<220>  
 <221> Xaa3  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa3 is A, D or S

<220>  
 <221> Xaa4  
 <222> (5)..(5)  
 <223> Xaa4 is S, F or I

<400> 160

Xaa Xaa Xaa Met Xaa  
 1 5

<210> 161  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> HCDR2 保守性

<220>  
 <221> Xaa1  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa1 is A, S, T, Y or D

<220>  
 <221> Xaa2  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa2 is S, R, E, K, G or A

<220>  
 <221> Xaa3  
 <222> (5)..(5)  
 <223> Xaa3 is S, E or N

<220>  
 <221> Xaa4  
 <222> (8)..(8)  
 <223> Xaa4 is S, R, E, G, T, D or A

<220>  
 <221> Xaa5  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Xaa5 is Y, D, N, A or S

<400> 161

Xaa Ile Xaa Gly Xaa Gly Gly Xaa Thr Xaa Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15

Gly

<210> 162  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> HCDR3 保守性

<220>  
 <221> Xaa1  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa1 is D, A, R, N, Q, P, E, I, H, S, T or Y

<220>  
 <221> Xaa2  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa2 is P, A, H, Y, E, Q, L, S, N, T, V or I

<400> 162

Xaa Xaa Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 163  
 <211> 11

<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> LCDR1 保守性

<220>  
<221> Xaa1  
<222> (9)..(9)  
<223> Xaa1 is A or D

<400> 163

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asp Xaa Leu Ala  
1 5 10

<210> 164

<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> LCDR3 保守性

<220>  
<221> Xaa1  
<222> (3)..(3)  
<223> Xaa1 is F or Y

<220>  
<221> Xaa2  
<222> (4)..(4)  
<223> Xaa2 is Y, I or N

<220>  
<221> Xaa3  
<222> (5)..(5)  
<223> Xaa3 is N, G, D or T

<220>  
<221> Xaa4  
<222> (6)..(6)  
<223> Xaa4 is W or A

<220>  
<221> Xaa5  
<222> (7)..(7)  
<223> Xaa5 為 P 或 刪除

<220>  
<221> Xaa6  
<222> (8)..(8)  
<223> Xaa6 為 L 或 I

<400> 164

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr  
1 5

<210> 165  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> STLH255 HCDR3

<400> 165

Ala Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 166  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> STLH256 HCDR3

<400> 166

Arg Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 167  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> STLH257 HCDR3

<400> 167

Asn Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 168  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> STLH258 HCDR3



<400> 168

Gln Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 169

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> STLH259 HCDR3

<400> 169

Glu Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 170

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> STLH260 HCDR3

<400> 170

Ile Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 171

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> STLH261 HCDR3

<400> 171

His Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 172

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> STLH262 HCDR3

<400> 172



Ser Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 173  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> STLH263 HCDR3

<400> 173

Thr Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 174  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> STLH264 HCDR3

<400> 174

Tyr Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 175  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> STLH265 HCDR3

<400> 175

Asp Ala Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 176  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> STLH266 HCDR3

<400> 176

Asp His Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 177  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> STLH267 HCDR3

<400> 177

Asp Tyr Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 178  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> STLH268 HCDR3

<400> 178

Asp Glu Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 179  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> STLH269 HCDR3

<400> 179

Asp Gln Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 180  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> STLH270 HCDR3

<400> 180

Asp Leu Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
第 81 頁





<210> 185  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> STLH275 HCDR3

<400> 185

Asp Ile Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 186  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2H52

<400> 186

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

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

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 189  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2H316

<400> 189

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 190  
<211> 123  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> ST2H314

<400> 190

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Val Tyr  
20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 191  
<211> 123

<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> ST2H257

<400> 191

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr  
20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 192  
<211> 123  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> ST2H232

<400> 192

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr  
20 25 30



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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 193  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2H231

<400> 193

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 194  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2H228

<400> 194

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 195  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; ST2H202

&lt;400&gt; 195

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Phe Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

&lt;210&gt; 196

&lt;211&gt; 123

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; ST2H179

&lt;400&gt; 196

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 197  
<211> 123  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> ST2H173

<400> 197

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
第 91 頁

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 198  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2H172

<400> 198

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 199  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2H163

&lt;400&gt; 199

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Val Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

&lt;210&gt; 200

&lt;211&gt; 123

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; ST2H162

&lt;400&gt; 200

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Val Asp  
 20 25 30

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

Ser Ser Ile Glu Gly Asn Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 第 93 頁

50

55

60

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 201  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2H139

<400> 201

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 202  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2H137

<400> 202

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Phe Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 203  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2H136

<400> 203

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 第 95 頁



1                    5                    10                    15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr  
                   20                    25                    30  
 Asp Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                    40                    45  
 Ser Tyr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val  
                   50                    55                    60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
                   65                    70                    75                    80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95  
 Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
                   100                    105                    110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                   115                    120  
 <210> 204  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工  
 <220>  
 <223> ST2H129  
 <400> 204  
 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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr  
                   20                    25                    30  
 Ser Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                    40                    45  
 Ser Asp Ile Gly Gly Glu Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val  
                   50                    55                    60

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 205

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> ST2H112

<400> 205

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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Phe Tyr  
20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 206  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2L32

<400> 206

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

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

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ile Gly Ala Pro Ile  
 85 90 95

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

<210> 207  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2L35

<400> 207

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

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

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

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

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

<210> 208  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2L49

<400> 208

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

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

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

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

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

<210> 209  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2L59

<400> 209

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

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

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

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

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

<210> 210  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> ST2L epitope

<400> 210

Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp  
 1 5 10

<210> 211  
 <211> 369  
 <212> DNA  
 <213> 人工

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; VH cDNA for STLM208

&lt;400&gt; 211

gaggtgcagc tgctggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgcgcctg 60  
agctgcgccg ccagcggcctt caccttcagc atctacgaca tgatctgggt gcgccaggcc 120  
cccggcaagg gcctggagtg ggtcagcagc atccgcggcg agggcggcgg cacctactac 180  
gccgacagcg tgaagggccg cttcaccatc agccgcgaca acagcaagaa caccctgtac 240  
ctgcagatga acagcctgcg cgccgaggac accgccgtgt actactgcgc ccgcgacccc 300  
tggagcaccg agggcagctt cttcgtgctg gactactggg gccagggcac cctggtgacc 360  
gtgagcagc 369

&lt;210&gt; 212

&lt;211&gt; 321

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; VL cDNA for STLM208

&lt;400&gt; 212

gagatcgtgc tgaccagag ccccgccacc ctgagcctga gcccggcga gcgcgccacc 60  
ctgagctgcc gcgccagcca gagcgtggac gacgacctgg cctggtacca gcagaagccc 120  
ggccaggccc ccgcctgct gatctacgac gccagcaacc gcgccaccgg catccccgcc 180  
cgcttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctggagccc 240  
gaggacttcg ccgtgtacta ctgccagcag tacatcaccc cccccctgac cttcggccag 300  
ggcaccaagg tggagatcaa g 321

&lt;210&gt; 213

&lt;211&gt; 351

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; VH cDNA for c2244

&lt;400&gt; 213

gaggtgcagc ttcaggagtc aggacctggc ctggtgaaac cttctcagtc tctgtccctc 60  
acctgcactg tcaactggctt ctcaatcacc agtgattatg cctggaactg gatccggcag 120  
tttccaggaa gcaagctaga gtggatgggc ttcataagct acagtgggtga cactagcttc 180

aacctatctc tcaaaagtcg aatctctgtc actcgagaca catccaagaa ccagttcttc 240  
 ctgcagttga attctgtgac tactgaggac acagccacat attactgtgc aagttatgat 300  
 ggttactcat ttgactactg gggccaaggc actactctca cagtctcctc a 351

<210> 214  
 <211> 333  
 <212> DNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> VL cDNA for c2244

<400> 214  
 gacattgtgc tgaccaatc tccagcttcc ttagctatat ctctggggca gagggccacc 60  
 atctcatgca gggccagcaa aagtgtcagt acatctggct ctagttatat gttctggtac 120  
 caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatc ttgcatccaa cctagaatct 180  
 ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatacat 240  
 cctgtggagg aggaggatgc tgcagcctat tactgtcaac acagtaggga gattccgtac 300  
 acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaa 333

<210> 215  
 <211> 266  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠

<400> 215

Met Arg Pro Arg Met Lys Tyr Ser Asn Ser Lys Ile Ser Pro Ala Lys  
 1 5 10 15

Phe Ser Ser Thr Ala Gly Glu Ala Leu Val Pro Pro Cys Lys Ile Arg  
 20 25 30

Arg Ser Gln Gln Lys Thr Lys Glu Phe Cys His Val Tyr Cys Met Arg  
 35 40 45

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

Glu Pro Thr Lys Arg Tyr Ser Leu Lys Ser Gly Thr Lys His Glu Glu  
 65 70 75 80

Asn Phe Ser Ala Tyr Pro Arg Asp Ser Arg Lys Arg Ser Leu Leu Gly  
 第 102 頁

85

90

95

Ser Ile Gln Ala Phe Ala Ala Ser Val Asp Thr Leu Ser Ile Gln Gly  
 100 105 110

Thr Ser Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Thr Tyr Asn Asp  
 115 120 125

Gln Ser Val Ser Phe Val Leu Glu Asn Gly Cys Tyr Val Ile Asn Val  
 130 135 140

Asp Asp Ser Gly Lys Asp Gln Glu Gln Asp Gln Val Leu Leu Arg Tyr  
 145 150 155 160

Tyr Glu Ser Pro Cys Pro Ala Ser Gln Ser Gly Asp Gly Val Asp Gly  
 165 170 175

Lys Lys Leu Met Val Asn Met Ser Pro Ile Lys Asp Thr Asp Ile Trp  
 180 185 190

Leu His Ala Asn Asp Lys Asp Tyr Ser Val Glu Leu Gln Arg Gly Asp  
 195 200 205

Val Ser Pro Pro Glu Gln Ala Phe Phe Val Leu His Lys Lys Ser Ser  
 210 215 220

Asp Phe Val Ser Phe Glu Cys Lys Asn Leu Pro Gly Thr Tyr Ile Gly  
 225 230 235 240

Val Lys Asp Asn Gln Leu Ala Leu Val Glu Glu Lys Asp Glu Ser Cys  
 245 250 255

Asn Asn Ile Met Phe Lys Leu Ser Lys Ile  
 260 265



## 申請專利範圍

1. 一種單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其特異性地結合人類介白素-1 類受體 1 (interleukin-1 receptor like 1 ; ST2L)之域 I (SEQ ID NO: 9)，其包含重鏈互補決定區 (HCDR) 1 (HCDR1)、HCDR 2 (HCDR2)、HCDR 3 (HCDR3)、輕鏈互補決定區 (LCDR) 1 (LCDR1)、LCDR 2 (LCDR2) 及 LCDR 3 (LCDR3)，其中：
  - (a) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 97；
  - (b) HCDR2 包含 SEQ ID NO: 114；
  - (c) HCDR3 包含 SEQ ID NO: 84；
  - (d) LCDR1 包含 SEQ ID NO: 130；
  - (e) LCDR2 包含 SEQ ID NO: 90；以及
  - (f) LCDR3 包含 SEQ ID NO: 134。
2. 如申請專利範圍第 1 項之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其包含一重鏈可變區 (VH) 及一輕鏈可變區 (VL)，其中
  - (a) 該 VH 包含衍生自人類 IGHV3-23 (SEQ ID NO: 158)、IGHV1-24\*01 (SEQ ID NO: 148) 或 IGHV1-f\*01 (SEQ ID NO: 149) 框架序列之 VH 框架；及
  - (b) 該 VL 包含衍生自人類 IGKV3-11 (L6) (SEQ ID NO: 159)、IGKV3-15\*01 (L2) (SEQ ID NO: 150)、IGKV1-9\*01 (L8) (SEQ ID NO: 151)、IGKV1-5\*01 (L12) (SEQ ID NO: 152)、IGKV1-12\*01 (L5) (SEQ ID NO: 153)、IGKV1-39\*01 (O12) (SEQ ID NO: 154)、

IGKV1-27\*01 (A20) (SEQ ID NO: 155) 或 IGKV1-33\*01 (O18) (SEQ ID NO: 156) 框架序列之 VL 框架。

3. 如申請專利範圍第 2 項之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其中
  - (a) 該 VH 框架衍生自人類 IGHV3-23 (SEQ ID NO: 158) 框架序列；及
  - (b) 該 VL 框架衍生自人類 IGKV3-11 (L6) (SEQ ID NO: 159) 框架序列。
4. 如申請專利範圍第 2 項之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其中
  - (a) 該 VH 包含 SEQ ID NO: 191；且
  - (b) 該 VL 包含 SEQ ID NO: 209。
5. 如申請專利範圍第 1-4 項中任一項之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其中該抗體拮抗劑係 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 同型。
6. 如申請專利範圍第 5 項之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其中該抗體拮抗劑之 Fc 區包含殘基取代。
7. 如申請專利範圍第 6 項之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其中該殘基取代包含 M252Y/S254T/T256E、V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S 或 S228P/L234A/L235A，其中殘基編號係依據 EU 編號系統 (EU numbering)。

8. 如申請專利範圍第 1-4 項中任一項之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其中該抗體拮抗劑具有對人類 ST2L 之  $5 \times 10^{-12}$  M 至  $7 \times 10^{-10}$  M 之間的解離常數( $K_D$ )、對人類 ST2L 之  $2 \times 10^6$   $M^{-1}s^{-1}$  至  $1 \times 10^8$   $M^{-1}s^{-1}$  之間的結合速率常數( $K_{on}$ )或對人類 ST2L 之  $1 \times 10^{-6}$   $s^{-1}$  至  $1 \times 10^{-2}$   $s^{-1}$  之間的脫附結速率常數 ( $K_{off}$ )。
9. 如申請專利範圍第 1-4 項中任一項之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段，其中該抗體拮抗劑具有對馬來猴 (*Macaca fascicularis* (cyno)) ST2L (SEQ ID NO: 2) 之  $3 \times 10^{-12}$  M 至  $2 \times 10^{-9}$  M 之間的解離常數 (KD)、對馬來猴 ST2L 之  $4 \times 10^6$   $M^{-1}s^{-1}$  至  $1 \times 10^8$   $M^{-1}s^{-1}$  之間的結合速率常數 ( $K_{on}$ )或對馬來猴 ST2L 之  $7 \times 10^{-5}$   $s^{-1}$  至  $1 \times 10^{-1}$   $s^{-1}$  之間的脫附速率常數 ( $K_{off}$ )。
10. 一種單離多核苷酸，其編碼如申請專利範圍第 1-4 項中任一項之單離抗體拮抗劑。
11. 一種載體，包含如申請專利範圍第 10 項的單離多核苷酸。
12. 一種宿主細胞，包含如申請專利範圍第 11 項的載體。
13. 一種製造抗體拮抗劑的方法，包含培養如申請專利範圍第 12 項之宿主細胞及從該宿主細胞取得抗體拮抗劑。
14. 一種醫藥組合物，包含如申請專利範圍第 1-4 項中任一項之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段及醫藥上可接受之載劑。
15. 一種如申請專利範圍第 1-4 項中任一項之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段於製備用於治療或預防 ST2L 調介症狀之醫藥品的用途。

16. 如申請專利範圍第 15 項之用途，其中該 ST2L 調介症狀係氣喘、呼吸道過度反應、類肉瘤病、慢性阻塞性肺臟疾病（COPD）、原發型肺纖維化病變（IPF）、囊腫纖維化、發炎性腸道疾（IBD）、嗜酸細胞性食道炎（eosinophilic esophagitis）、硬皮症、異位性皮膚炎、過敏性鼻炎、大水疱性天孢瘡樣病、慢性蕁麻疹、糖尿病腎病變、風濕性關節炎、間質性膀胱炎或移植物抗宿主病（GVHD），或與發炎細胞聚集在肺部、杯狀細胞增生、黏液分泌增加或肥大細胞反應增加有關的症狀。
17. 一種如申請專利範圍第 1-4 項中任一項之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段於製備用於抑制病患體內肥大細胞反應之醫藥品的用途。
18. 如申請專利範圍第 17 項之用途，其中該抑制肥大細胞反應包含以 50  $\mu\text{g/ml}$  抗體抑制由人類臍帶血衍生肥大細胞所釋放之 GM-CSF、IL-5、IL-8、IL-10 或 IL-13 之量達至少 50%。
19. 一種如申請專利範圍第 1-4 項中任一項之單離人類或人類適應性抗體拮抗劑或其片段於製備用於在個體中抑制 IL-33 及 ST2L 之交互作用之醫藥品的用途。
20. 如申請專利範圍第 19 項之用途，其中該個體具有由 ST2L 調介之症狀。
21. 如申請專利範圍第 20 項之用途，其中該由 ST2L 調介之症狀係氣喘、呼吸道過度反應、類肉瘤病、慢性阻塞性肺臟疾病（COPD）、原發型肺纖維化病變（IPF）、囊腫纖維化、發炎性腸疾（IBD）、嗜酸細胞性食道炎、硬皮症、異位性皮膚炎、過敏性鼻炎、大水疱性天孢瘡樣

病、慢性蕁麻疹、糖尿病腎病變、風濕性關節炎、間質性膀胱炎或移植植物抗宿主病（GVHD），或與發炎細胞聚集在肺部、杯狀細胞增生、黏液分泌增加或肥大細胞反應增加有關的症狀。

圖式

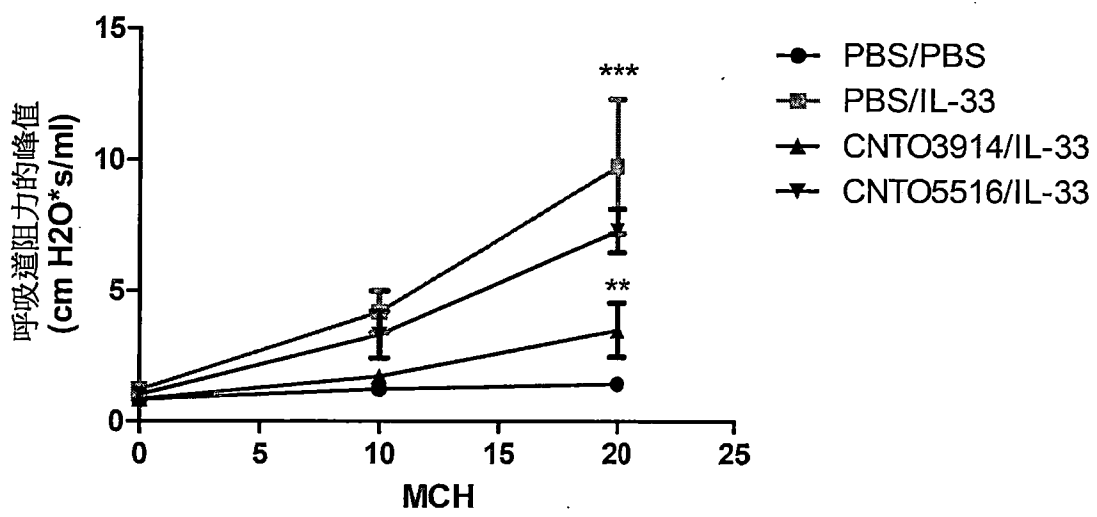


圖1

ANOVA的總BAL

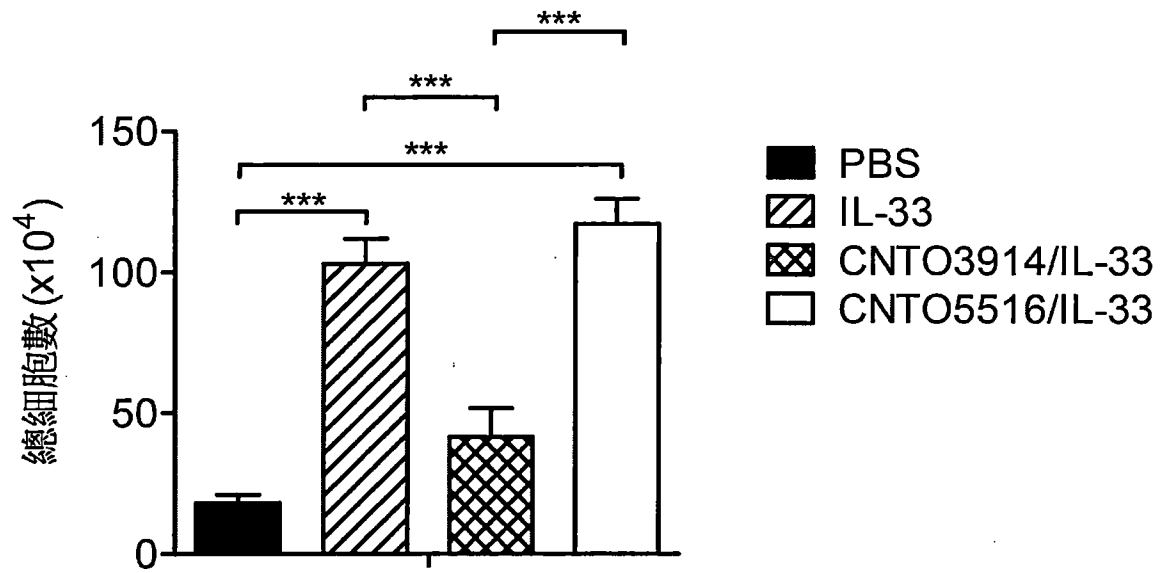


圖2

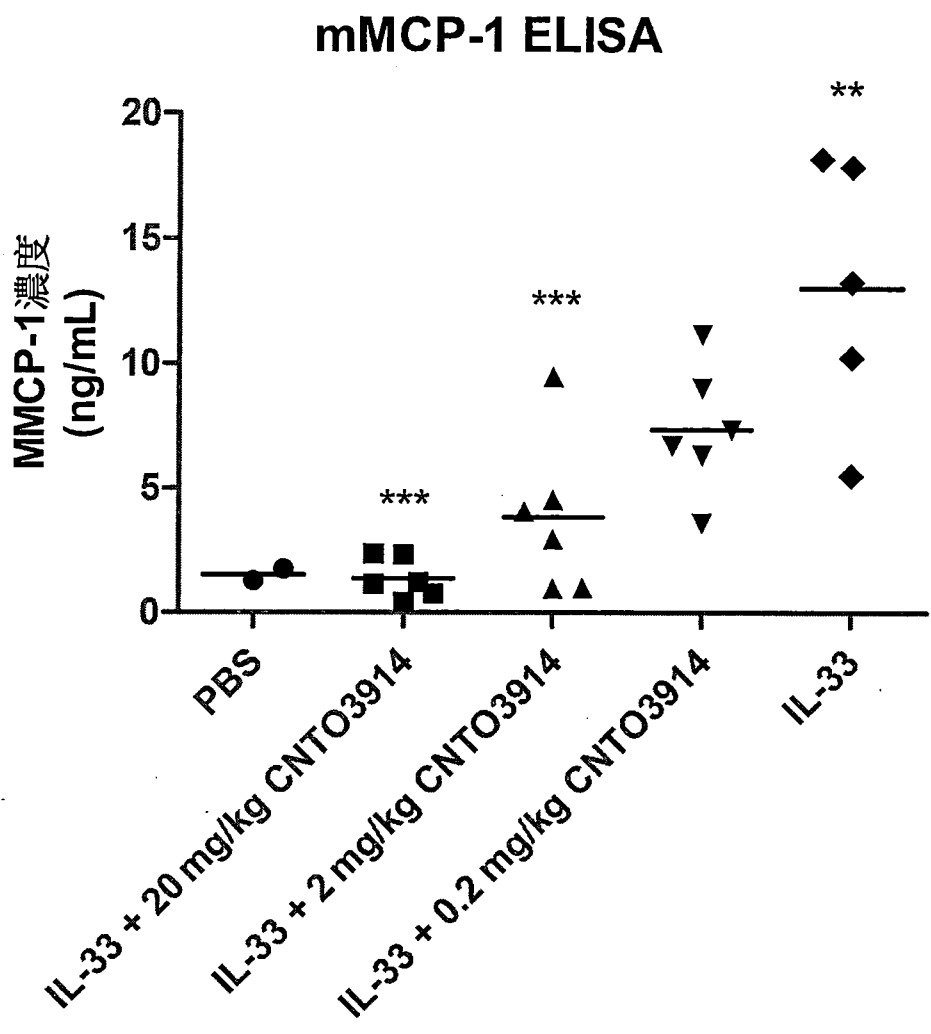


圖3



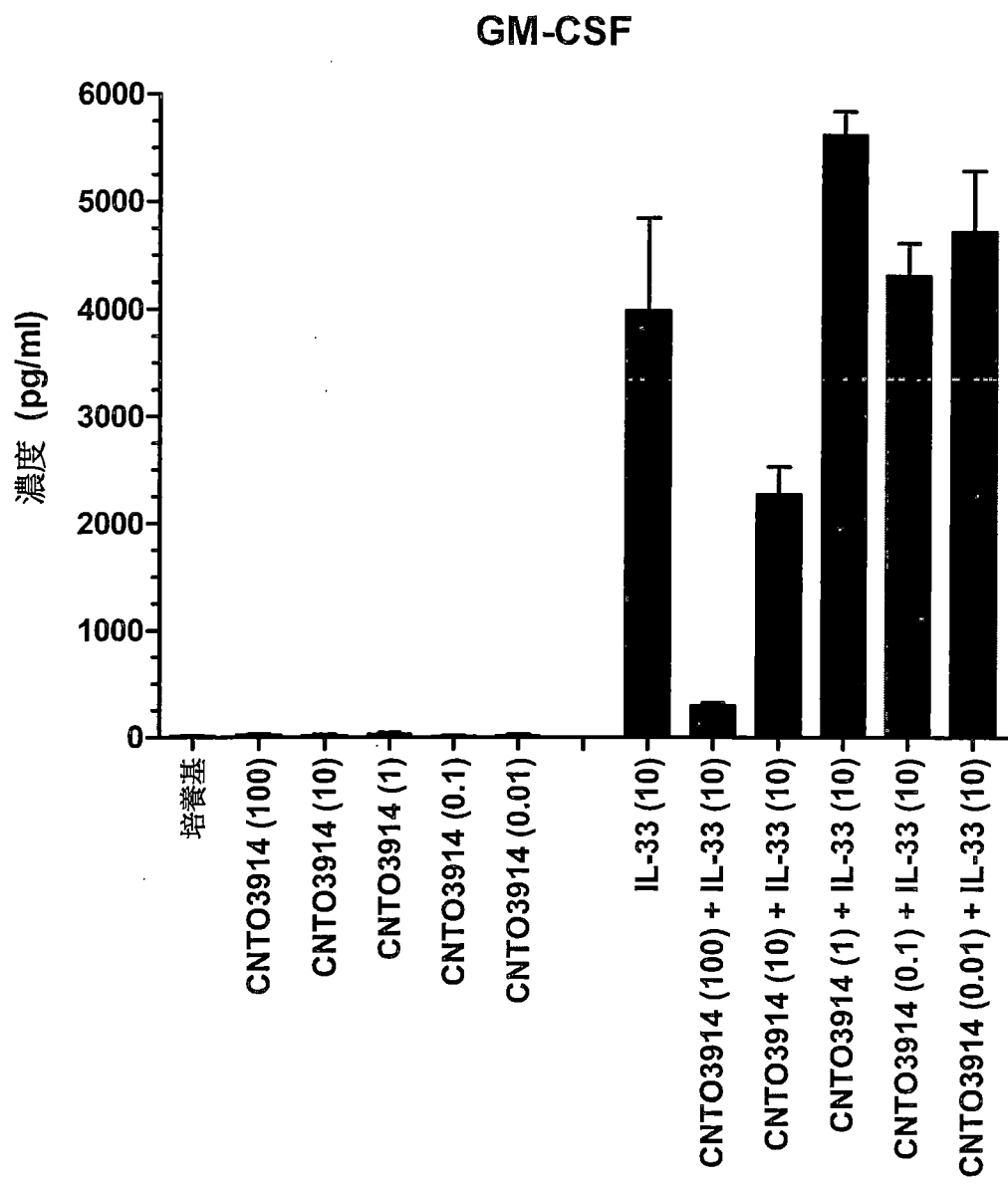


圖4A

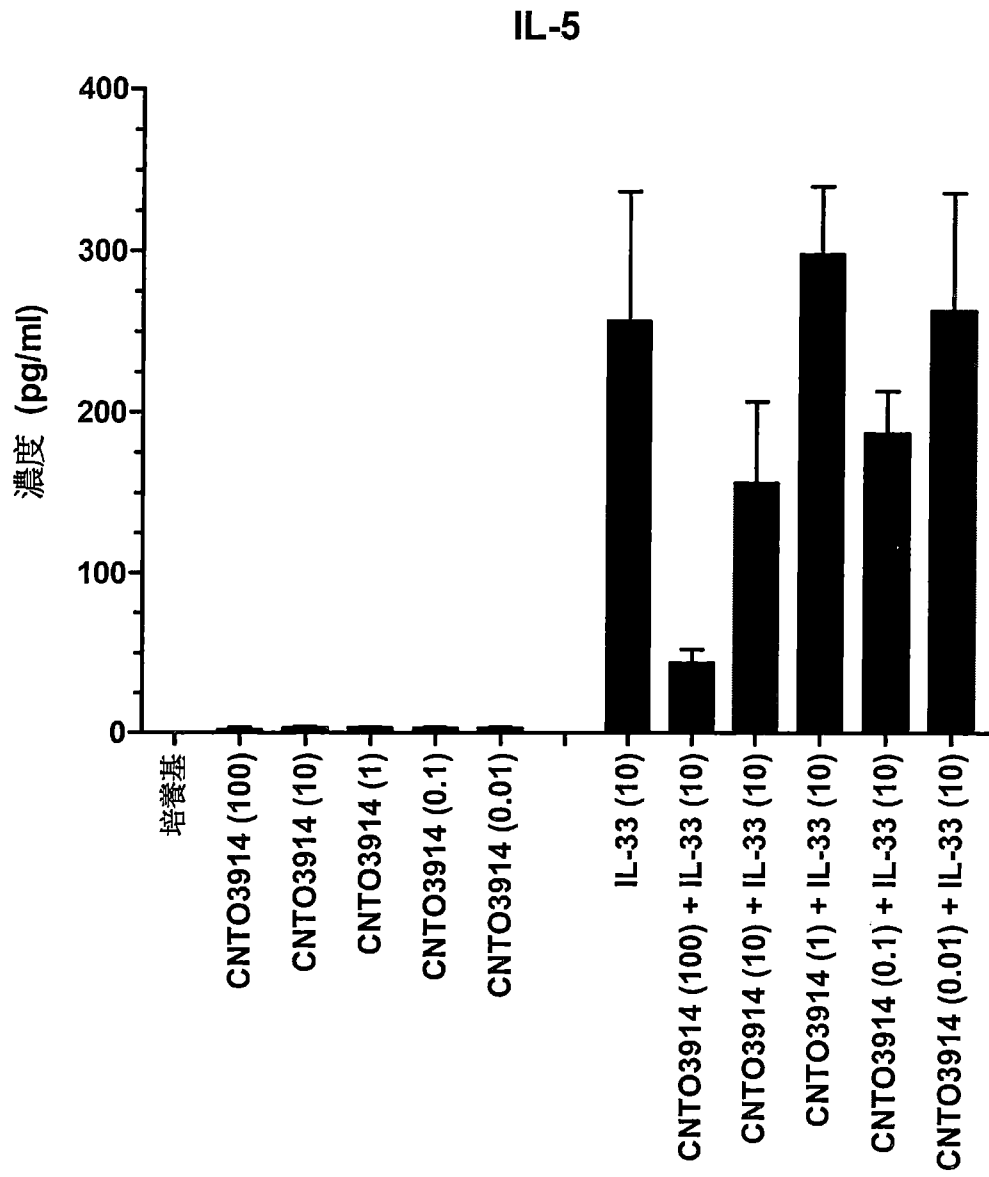


圖4B

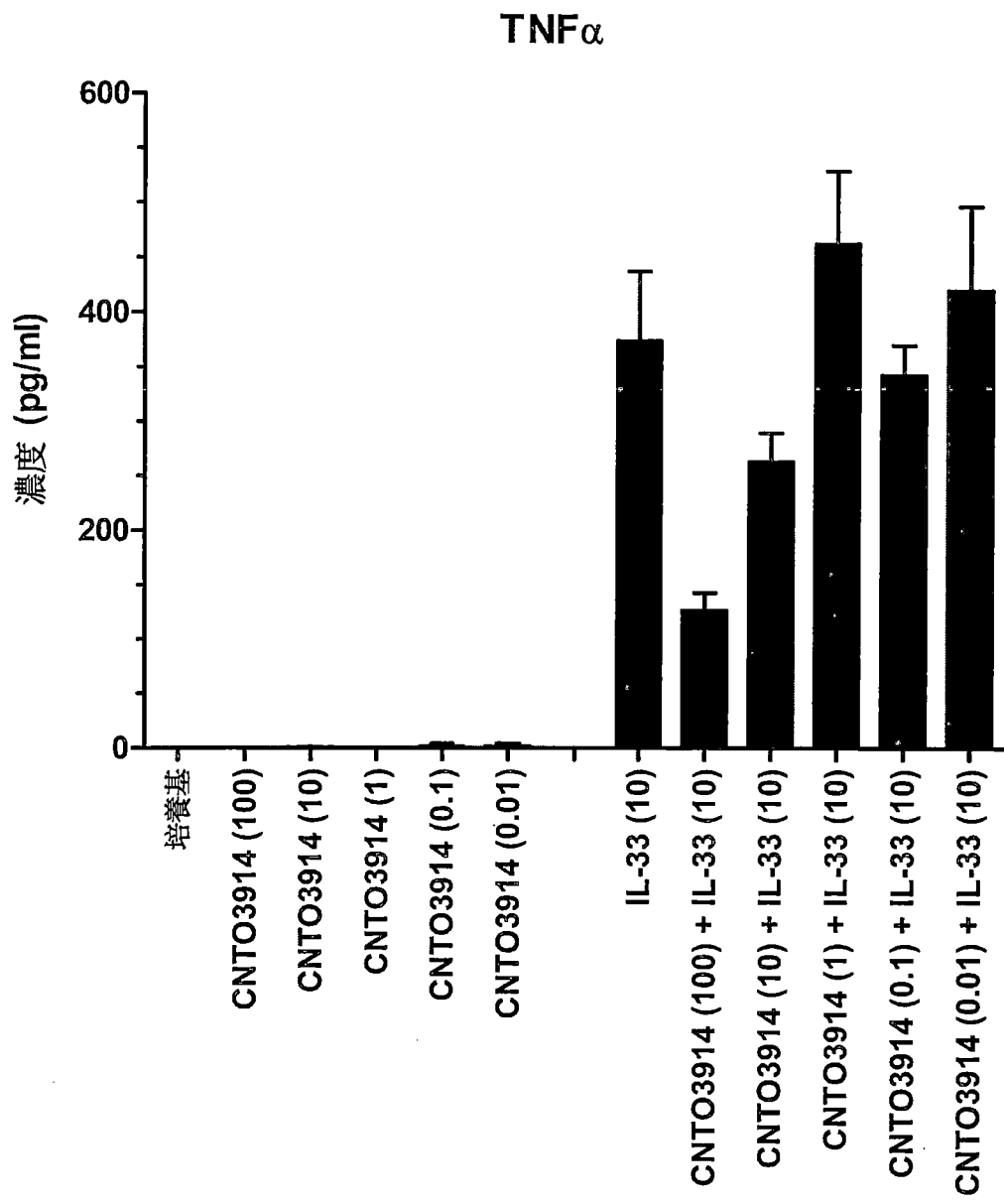


圖4C

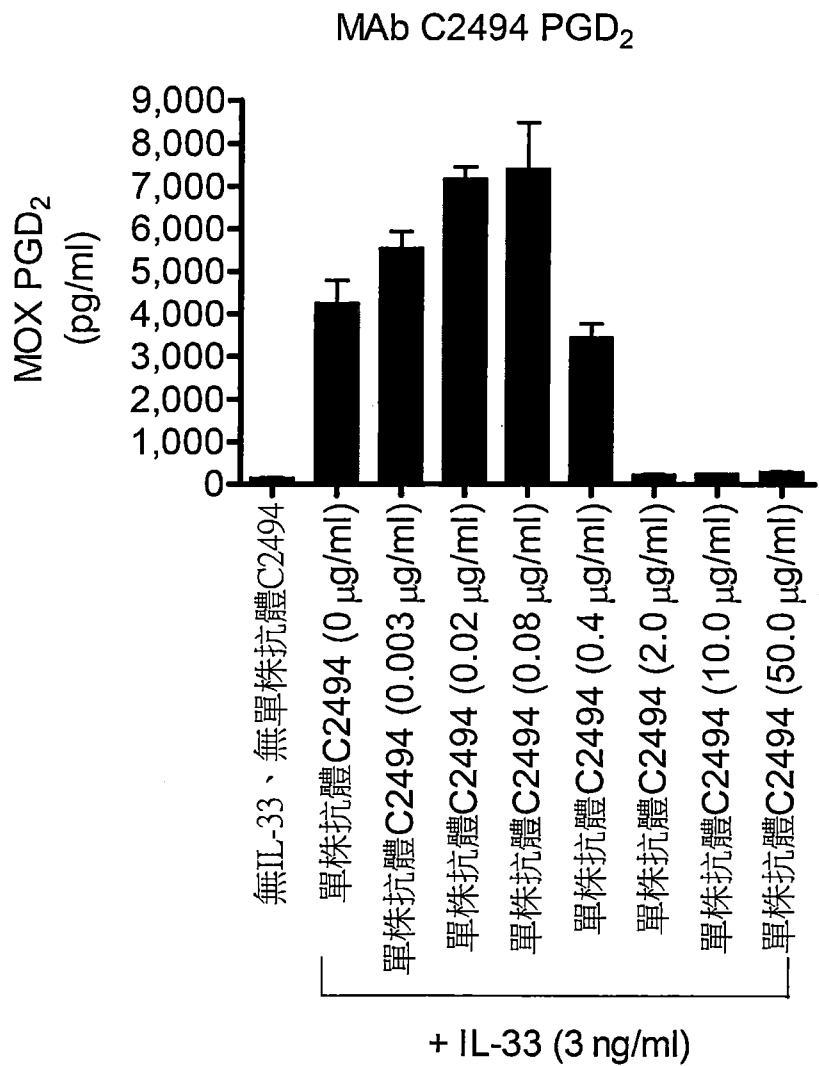


圖5

圖6A-6E

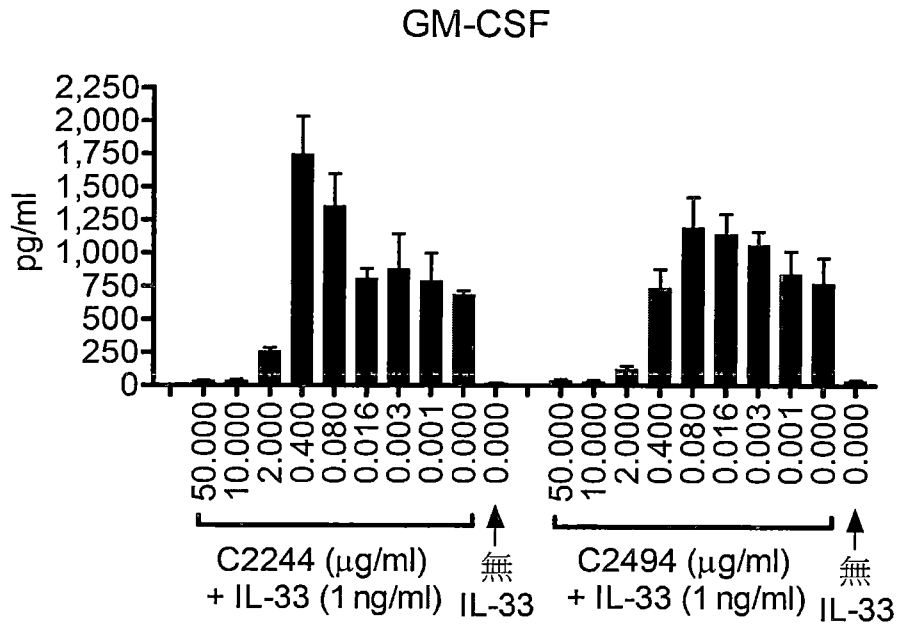


圖6A

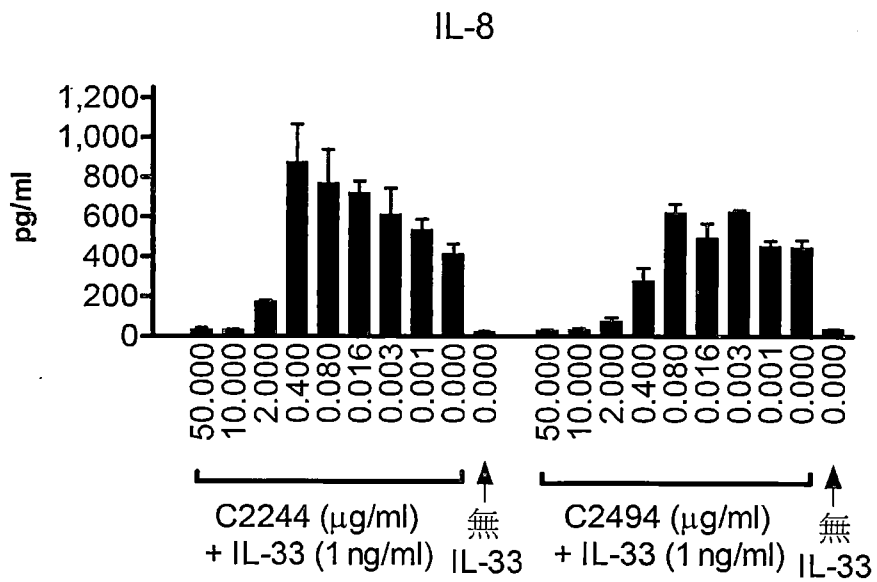


圖6B

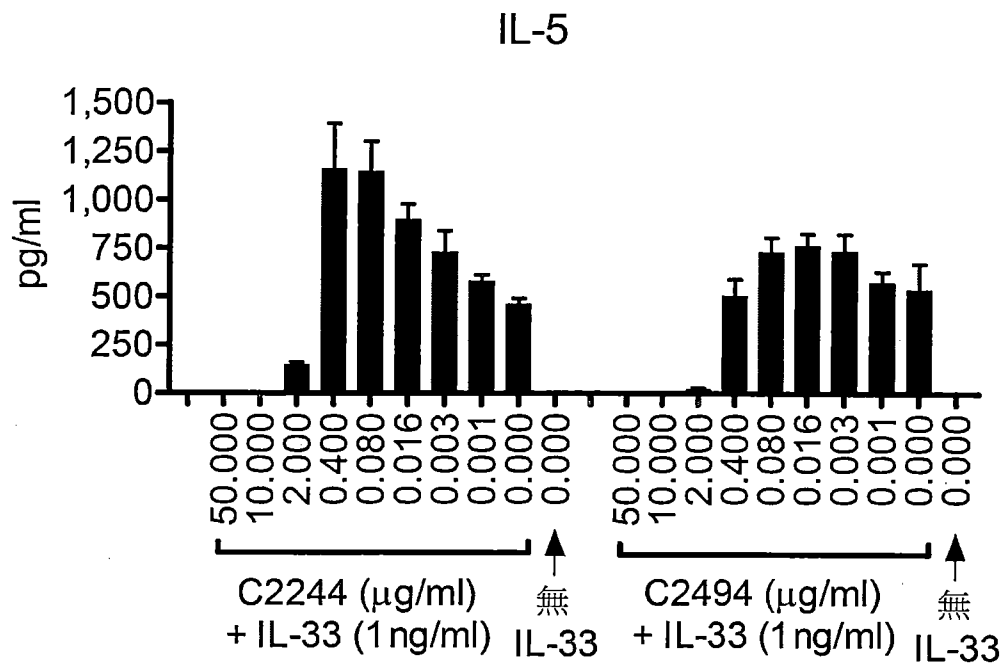


圖6C

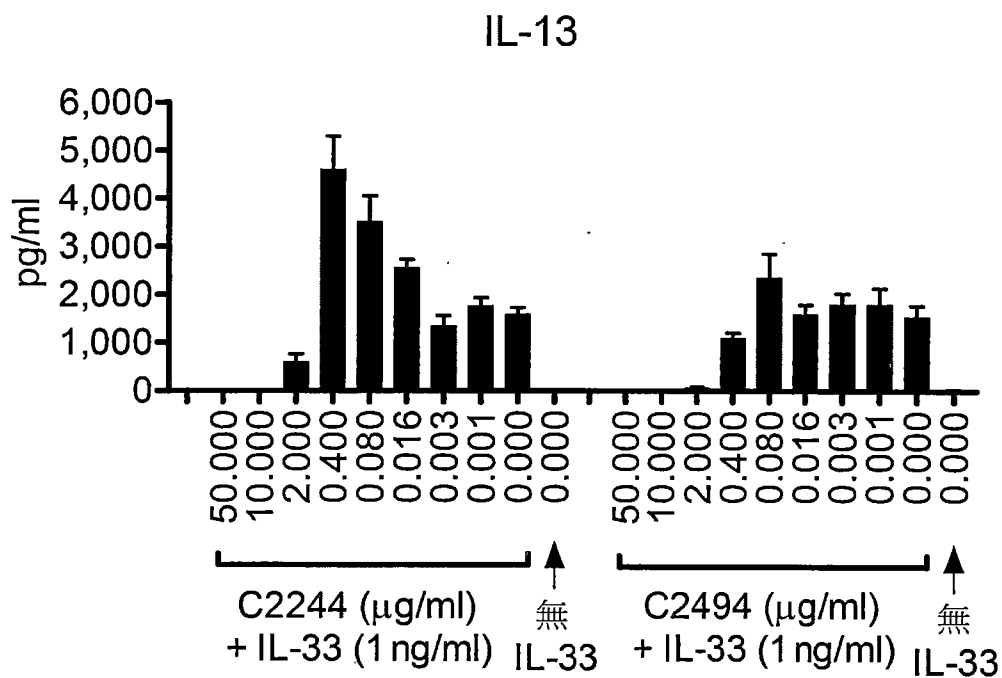


圖6D

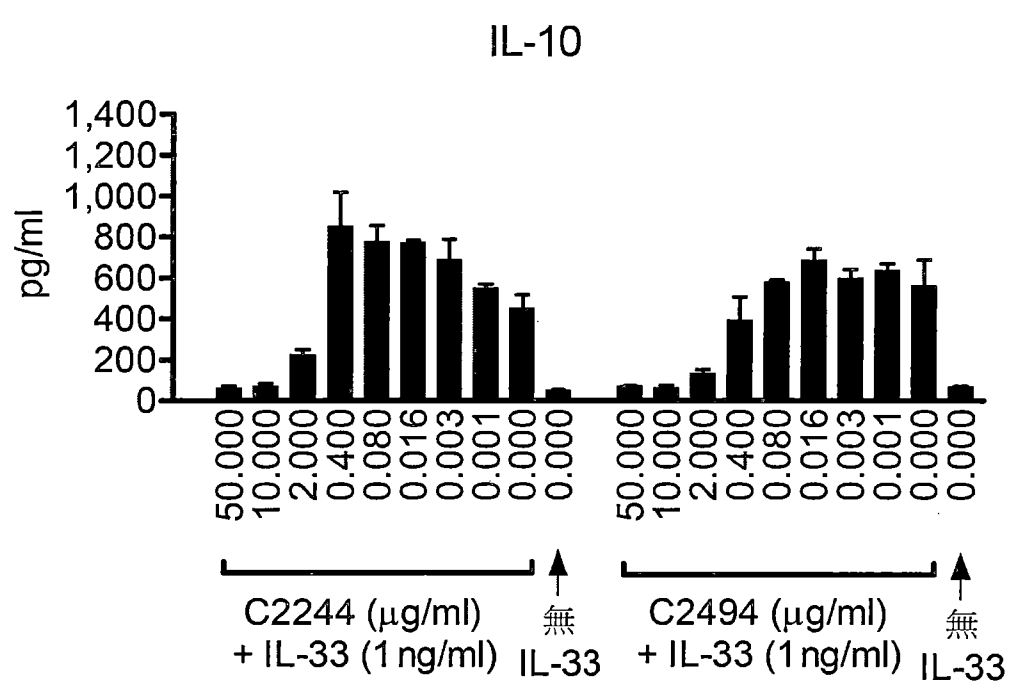


圖6E



圖7A-7E

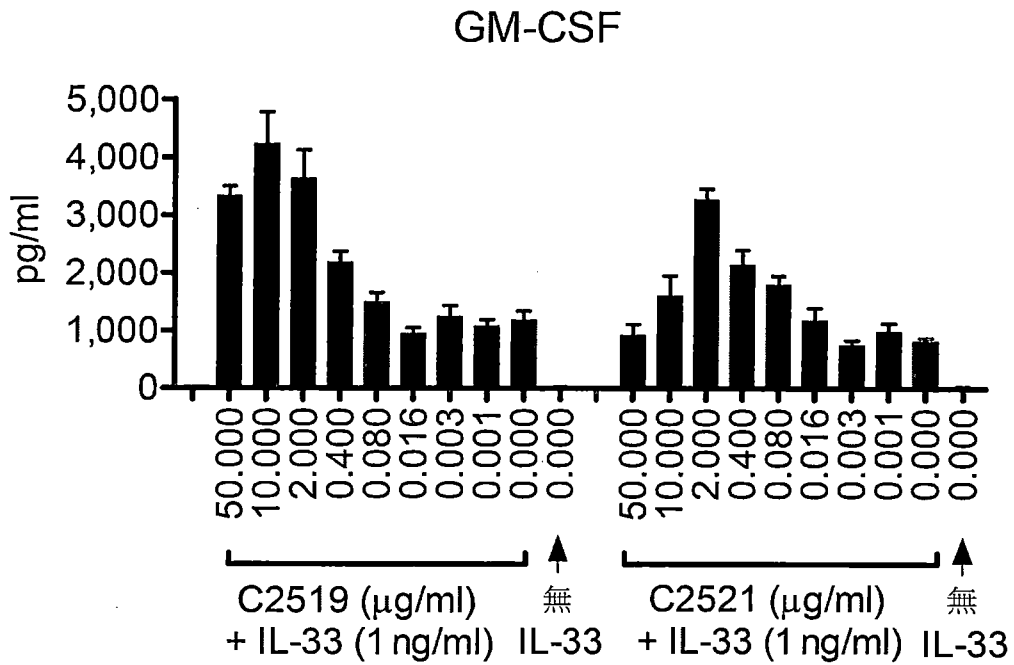


圖7A

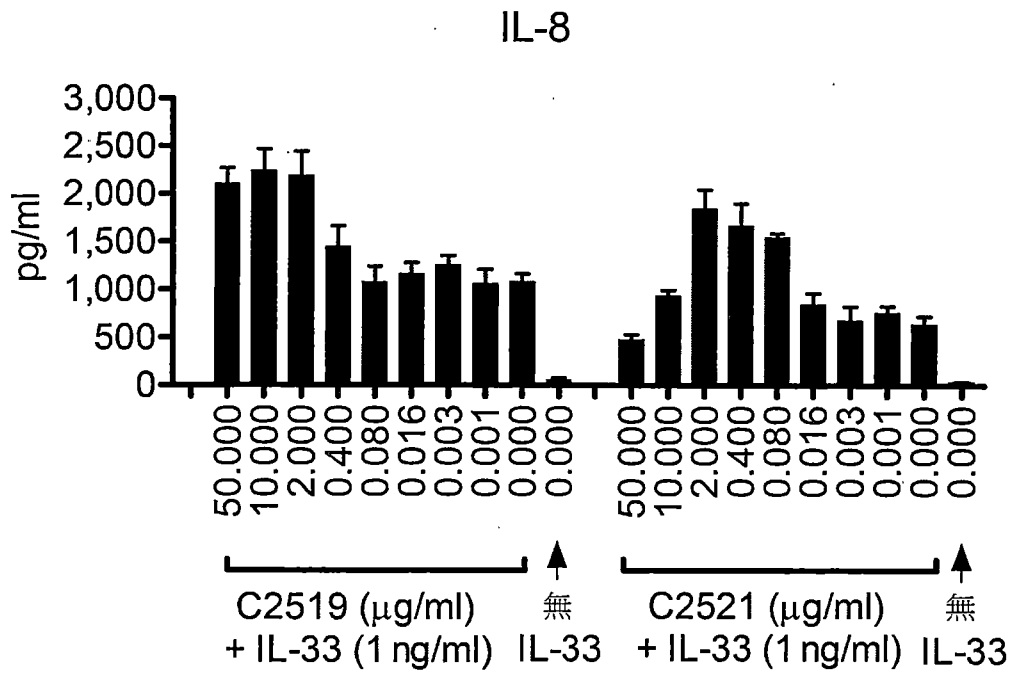


圖7B



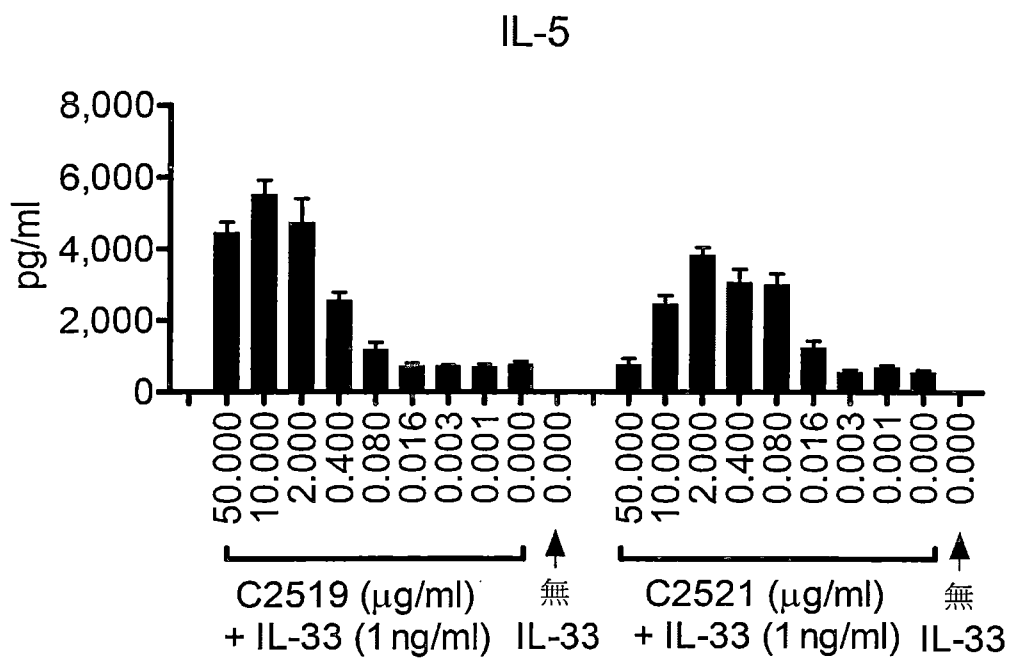


圖7C

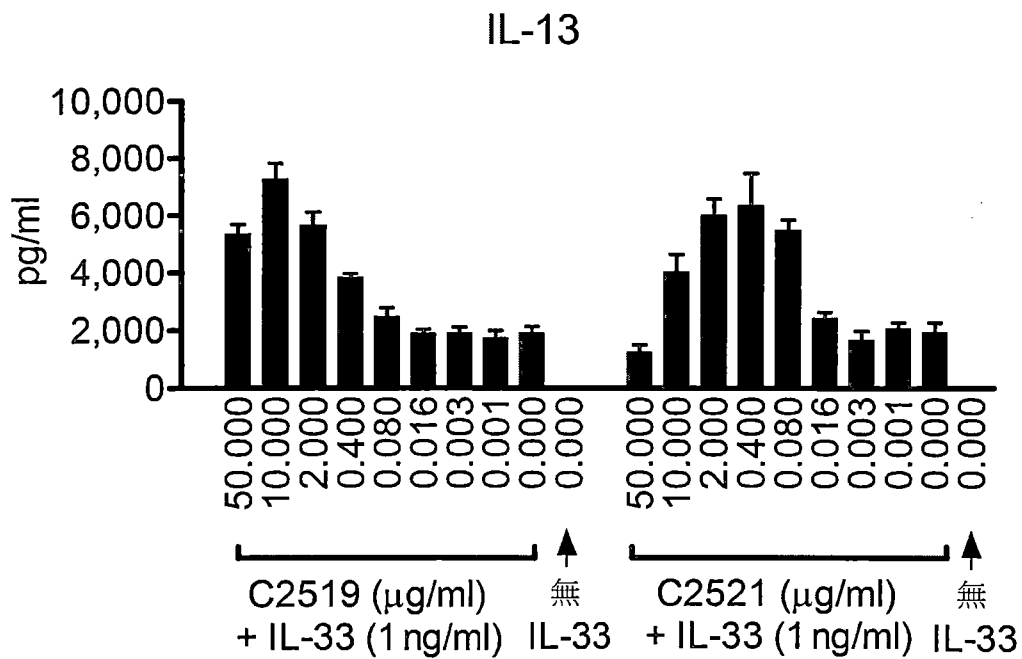


圖7D

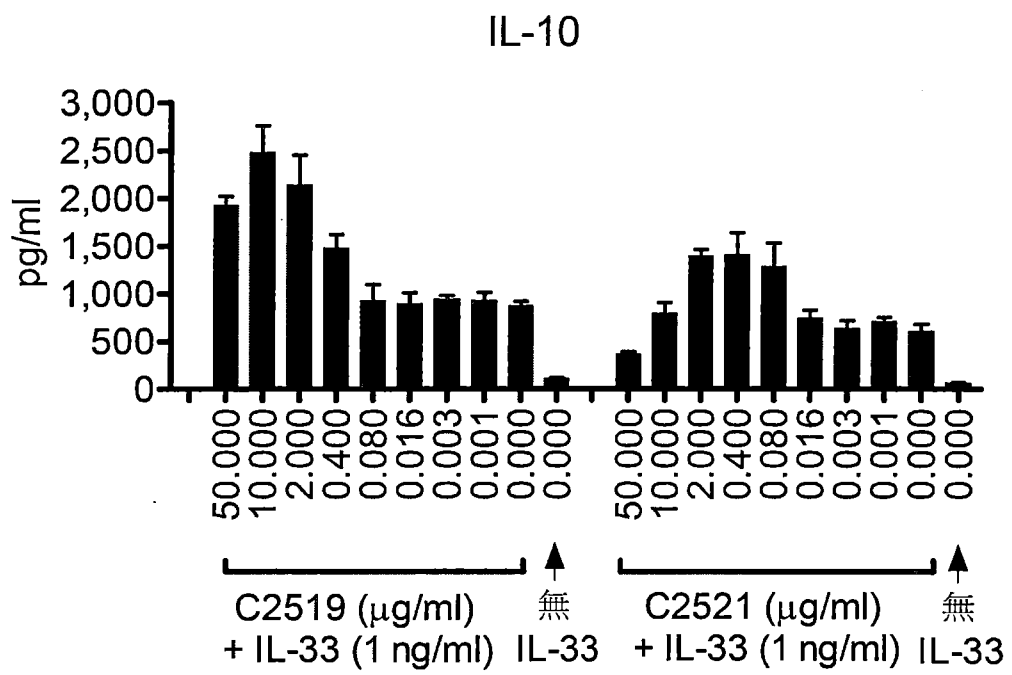


圖7E

GM-CSF

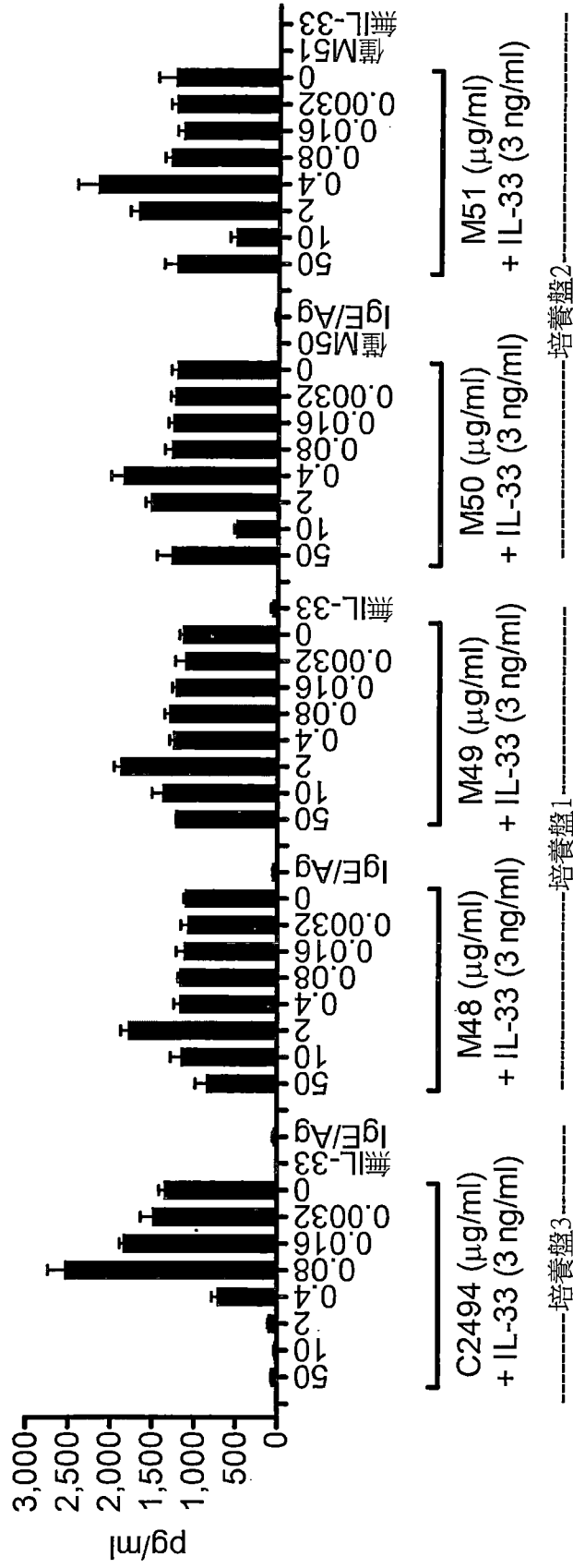


圖8A

IL-8

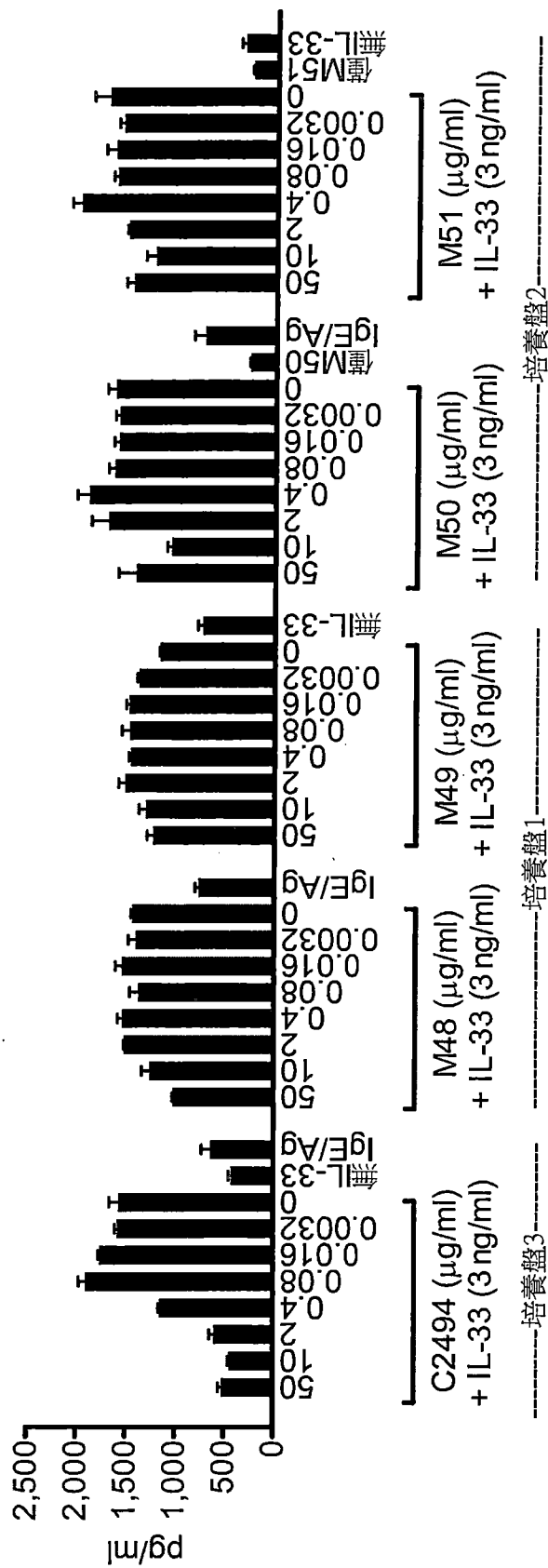


圖8B

IL-5

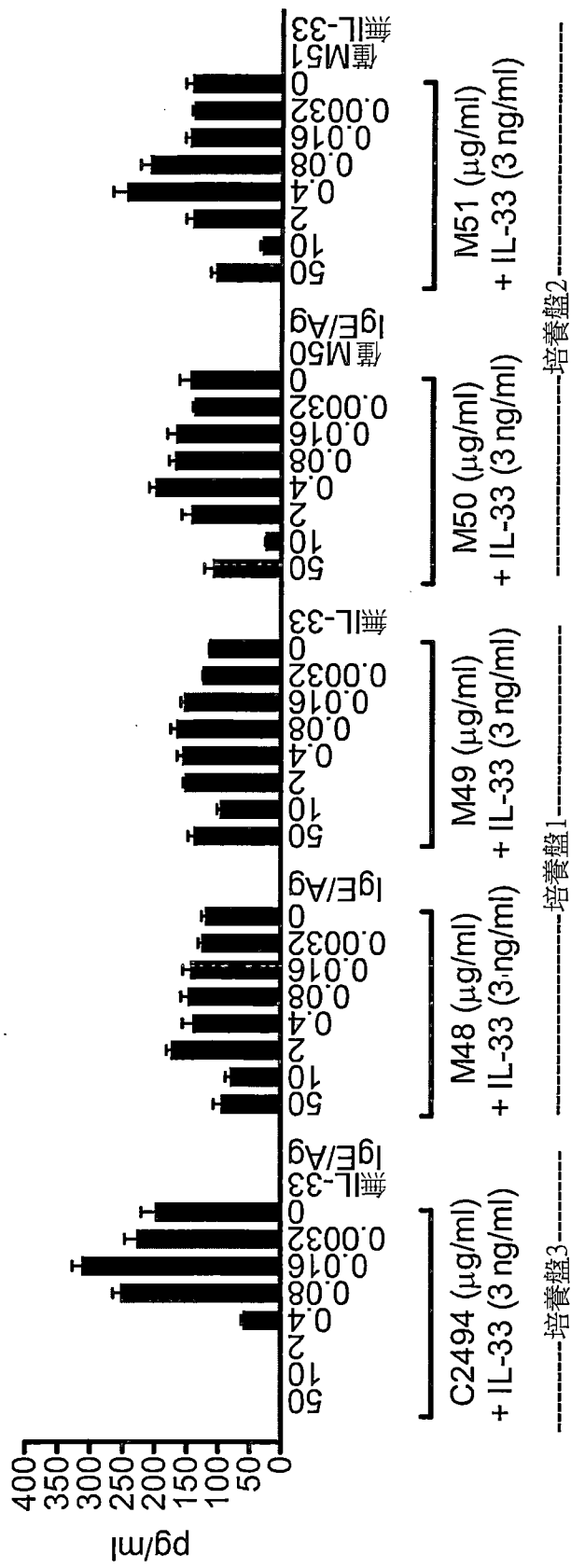


圖8C

IL-13

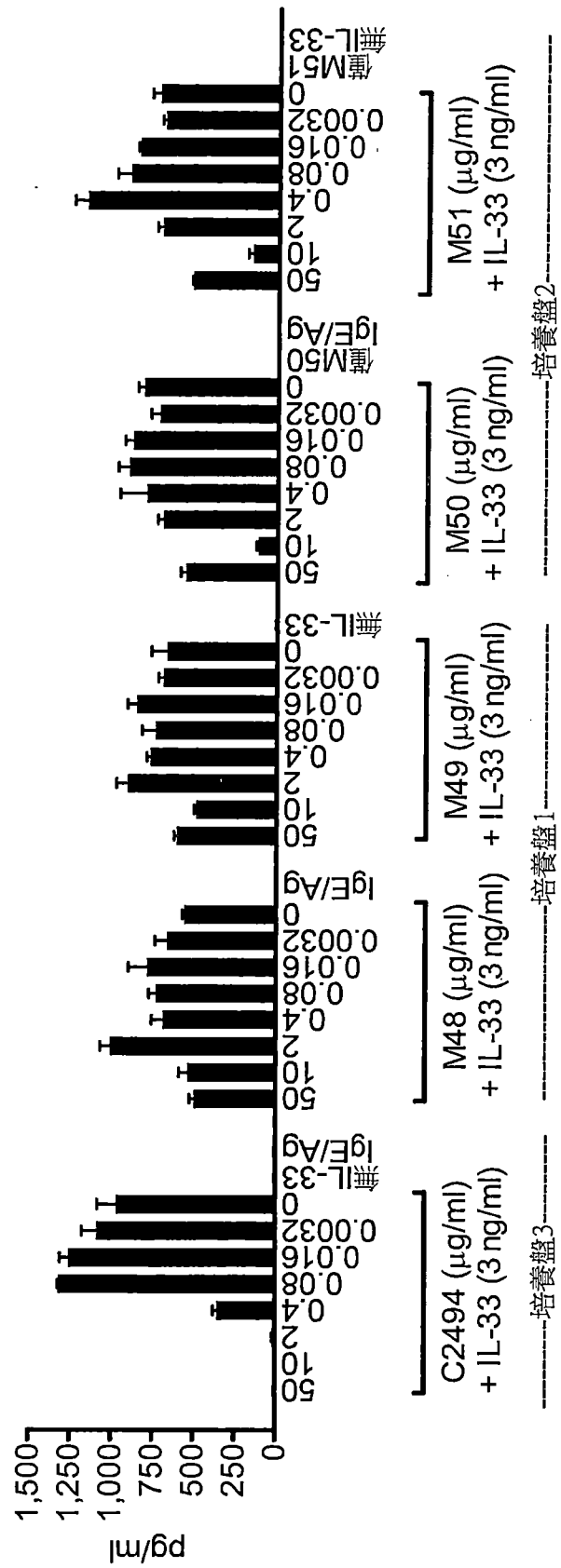


圖8D

IL-10

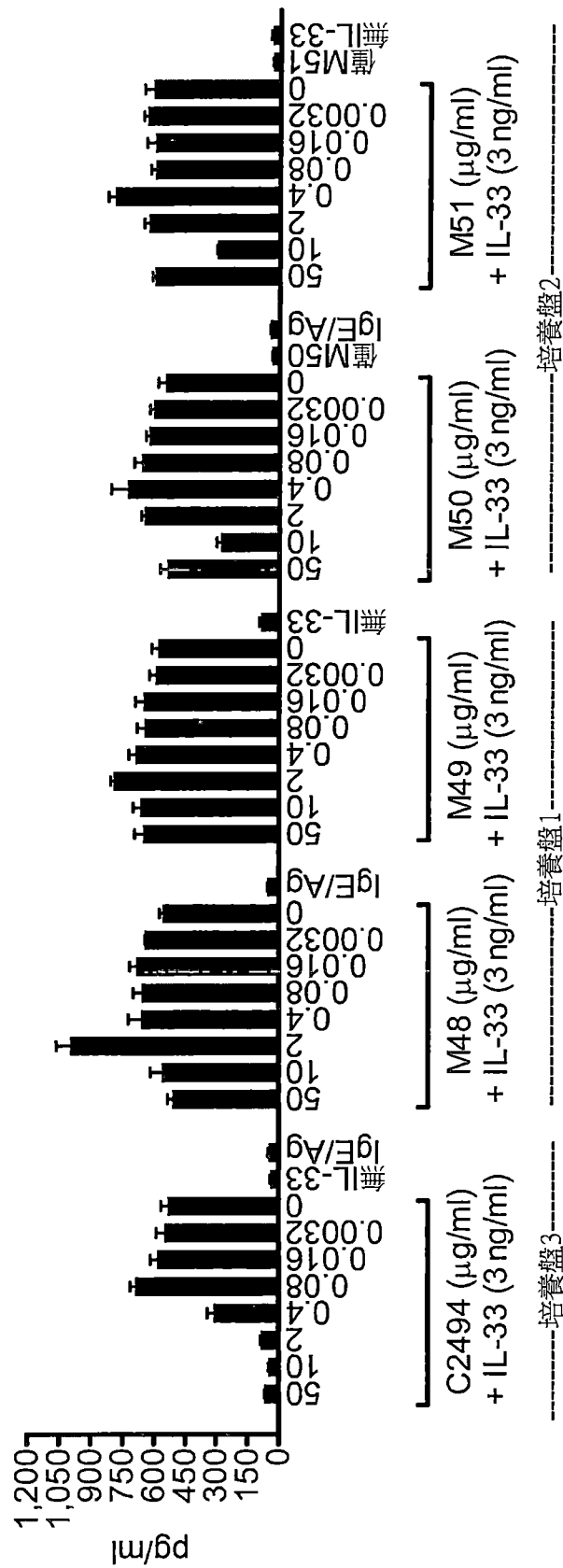


圖8E

以1 ng/mL IL-33於StemPro-34培養基+ 100 ng /mL SCF刺激

ST2L 域*	單株抗體	平均抑制%50 µg/mL單株抗體					平均抑制%2 µg/mL單株抗體				
		GM-CSF	IL-5	IL-8	IL-10	IL-13	GM-CSF	IL-5	IL-8	IL-10	IL-13
D1	C2244	95.3	99.4	91.6	86.3	100.0	62.1	68.3	57.1	50.6	62.5
D1	C2494	95.3	99.4	93.5	87.3	100.0	84.1	96.2	83.0	76.1	95.8
D3	C2519	-179.9	-481.5	-95.5	-120.6	-180.0	-205.3	-516.3	-103.3	-144.5	-195.6
D3	C2521	-12.2	-39.4	25.5	38.8	36.0	-295.3	-594.4	-190.0	-130.6	-207.8

平均抑制%以3 ng/mL IL-33於RPMI/10% FCS + 100 ng/mL SCF刺激

ST2L 域*	單株抗體	平均抑制%50 µg/mL單株抗體					平均抑制%2 µg/mL單株抗體				
		GM-CSF	IL-5	IL-8	IL-10	IL-13	GM-CSF	IL-5	IL-8	IL-10	IL-13
D1	C2494	95.0	99.4	67.0	87.8	99.3	92.9	99.6	62.2	84.7	98.8
D3	ST2M48	23.2	20.7	28.7	8.3	11.0	-61.6	-46.1	-5.8	-79.1	-80.8
D3	ST2M49	-7.0	-20.9	-5.7	-12.4	9.3	-65.4	-33.1	-30.0	-36.8	-35.7
D3	ST2M50	-5.7	25.7	13.2	2.0	31.9	-26.0	1.6	-4.4	-18.7	14.9
D3	ST2M51	1.9	27.3	15.0	1.3	28.6	-35.3	1.2	11.8	-3.6	3.0

\*與ST2L域抗體結合

圖9



單株抗體/ Fab名稱	VH名稱	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
		序列	SEQ.ID NO:	序列	SEQ.ID NO:	序列	SEQ.ID NO:
ST2F6	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGSTYYADSVKGG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F14	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGSTYYADSVKGG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F17	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGSTYYADSVKGG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F31	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGSTYYADSVKGG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F41	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGSTYYADSVKGG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM103	ST2H112	FYDMF	95	SIRGEGGRTDYADSVKGG	109	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM107	ST2H52	DYAMF	96	AIEGEGGETNYADSVKGG	110	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM108	ST2H50	IYDMI	97	TIKGEGGTYYADSVKGG	111	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM123	ST2H52	DYAMF	96	AIEGEGGETNYADSVKGG	110	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM124	ST2H50	IYDMI	97	TIKGEGGTYYADSVKGG	111	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM206	ST2H232	IYDMI	97	TIRGEGGSTYYADSVKGG	112	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM207	ST2H228	SYDMI	98	TIRGEGGTAYADSVKGG	113	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM208	ST2H257	IYDMI	97	SIRGEGGTYADSVKGG	114	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM209	ST2H231	IYDMI	97	TIRGEGGTYADSVKGG	115	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM210	ST2H318	DDAMI	99	YIGNGGTTYADSVKGG	116	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM211	ST2H316	GYAMI	100	YIEGEGGETYADSVKGG	117	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM212	ST2H314	VYDMI	101	TIRGEGGTYADSVKGG	118	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM213	ST2H202	FYDMI	102	TIRGEGGDTNYADSVKGG	120	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM214	ST2H179	SYDMF	103	DIKGEGGRTAYADSVKGG	121	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM215	ST2H172	SYDMF	103	AIAGEGGRTYYADSVKGG	122	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM216	ST2H173	SYDMF	103	DIKGEGGATNYADSVKGG	123	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM217	ST2H163	VYDMF	104	DIKGEGETSYADSVKGG	124	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM218	ST2H162	VDSMF	105	SIEGNGGATYYADSVKGG	125	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM219	ST2H139	GYDMF	106	DIGGEGGTYADSVKGG	126	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM220	ST2H137	FYDMF	95	DIRGEGGTAYADSVKGG	127	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM221	ST2H136	IYDMF	107	YIRGEGGDTNYADSVKGG	128	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM222	ST2H129	IYSMF	108	DIGGEGGTYADSVKGG	129	DPWSTEGSFFVLDY	84

圖10

單株抗體/ Fab名稱	VL名稱	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
		序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:
ST2F6	ST2L24	RASQSVDDALA	87	DASNRAT	90	QQFYNWPLT	92
ST2F14	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
ST2F17	ST2L35	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIDAPLT	132
ST2F31	ST2L49	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYNDAIT	133
ST2F41	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM103	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM107	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM108	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM123	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM124	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM206	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM207	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM208	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM209	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM210	ST2L49	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYNDAIT	133
STLM211	ST2L49	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYNDAIT	133
STLM212	ST2L49	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYNDAIT	133
STLM213	ST2L35	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIDAPLT	132
STLM214	ST2L35	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIDAPLT	132
STLM215	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM216	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM217	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM218	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM219	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM220	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM221	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM222	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131

圖11

單株抗體名稱	VH名稱	VL名稱	H-CDR1		H-CDR2		H-CDR3	
			序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:
STLM208	STLH257	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM352	STLH255	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	APWSTEGSFFVLDY	165
STLM351	STLH256	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	RPWSTEGSFFVLDY	166
STLM350	STLH257	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	NPWSTEGSFFVLDY	167
STLM349	STLH258	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	QPWSTEGSFFVLDY	168
STLM348	STLH259	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	EPWSTEGSFFVLDY	169
STLM347	STLH260	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	IPWSTEGSFFVLDY	170
STLM346	STLH261	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	HPWSTEGSFFVLDY	171
STLM345	STLH262	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	SPWSTEGSFFVLDY	172
STLM344	STLH263	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	TPWSTEGSFFVLDY	173
STLM343	STLH264	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	YPWSTEGSFFVLDY	174
STLM342	STLH265	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	DAWSTEGSFFVLDY	175
STLM341	STLH266	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	DHWSTEGSFFVLDY	176
STLM340	STLH267	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	DYWSTEGSFFVLDY	177
STLM339	STLH268	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	DEWSTEGSFFVLDY	178
STLM338	STLH269	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	DQWSTEGSFFVLDY	179
STLM337	STLH270	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	DLWSTEGSFFVLDY	180
STLM336	STLH271	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	DSWSTEGSFFVLDY	181
STLM335	STLH272	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	DNWSTEGSFFVLDY	182
STLM334	STLH273	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	DTWSTEGSFFVLDY	183
STLM333	STLH274	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	DVWSTEGSFFVLDY	184
STLM332	STLH275	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKVG	114	DIWSTEGSFFVLDY	185

圖12

mAb	VH ID	序列	SEQ ID NO:
STLM103	ST2H112	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSFYDMFVVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGR TDYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	205
STLM107	ST2H52	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSDYAMFVVRQAPGKGLEWVSAIEGEGGETNYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	186
STLM108	ST2H50	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSIYDMIWVRQAPGKGLEWVSTIKGEGGGTYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	187
STLM123	ST2H52	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSDYAMFVVRQAPGKGLEWVSAIEGEGGETNYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	186
STLM124	ST2H50	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSIYDMIWVRQAPGKGLEWVSTIKGEGGGTYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	187
STLM206	ST2H232	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSIYDMIWVRQAPGKGLEWVSTIRGEGGGTYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	192
STLM207	ST2H228	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSYDMIWVRQAPGKGLEWVSTIRGEGGGTAYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	194
STLM208	ST2H257	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSIYDMIWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	191
STLM209	ST2H231	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSIYDMIWVRQAPGKGLEWVSTIRGEGGGTSYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	193
STLM210	ST2H318	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSDDAMIWVRQAPGKGLEWVSYIGNGGTTYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	188
STLM211	ST2H316	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSGYAMIWVRQAPGKGLEWVSYIEGEGGETYYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	189
STLM212	ST2H314	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSVYDMIWVRQAPGKGLEWVSTIRGEGGGTYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	190
STLM213	ST2H202	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSFYDMIWVRQAPGKGLEWVSTIRGEGGDTNYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	195
STLM214	ST2H179	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSYDMFVVRQAPGKGLEWVSDIKGEGGRTAYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	196
STLM215	ST2H172	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSYDMFVVRQAPGKGLEWVSAIAGEGGRTYYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	198
STLM216	ST2H173	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSYDMFVVRQAPGKGLEWVSDIKGEGGATNYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	197
STLM217	ST2H163	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSVYDMFVVRQAPGKGLEWVSDIKGEGGETSYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	199
STLM218	ST2H162	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSVDSMFVVRQAPGKGLEWVSSIEGNGGATYYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	200
STLM219	ST2H139	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSGYDMFVVRQAPGKGLEWVSDIGEGGGSTNYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	201
STLM220	ST2H137	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSFYDMFVVRQAPGKGLEWVSDIRGEGGGTAYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	202
STLM221	ST2H136	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSIYDMFVVRQAPGKGLEWVSYIRGEGGDTNYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	203
STLM222	ST2H129	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSIYSMFVVRQAPGKGLEWVSDIGEGGGTSYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGLTVTVSS	204

圖13A

mAb	VH ID	序列	SEQ ID NO:
STLM103	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM107	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM108	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM123	ST2L59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYITAPLTFGQGTKVEIK	209
STLM124	ST2L59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYITAPLTFGQGTKVEIK	209
STLM206	ST2L59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYITAPLTFGQGTKVEIK	209
STLM207	ST2L59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYITAPLTFGQGTKVEIK	209
STLM208	ST2L59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYITAPLTFGQGTKVEIK	209
STLM209	ST2L59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYITAPLTFGQGTKVEIK	209
STLM210	ST2L49	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYINDAITFGQGTKVEIK	208
STLM211	ST2L49	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYINDAITFGQGTKVEIK	208
STLM212	ST2L49	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYINDAITFGQGTKVEIK	208
STLM213	ST2L35	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIDAPLTFGQGTKVEIK	207
STLM214	ST2L35	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIDAPLTFGQGTKVEIK	207
STLM215	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM216	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM217	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM218	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM219	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM220	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM221	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM222	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQYIGAPITFGQGTKVEIK	206

圖13B



mAb	VL ID	VH ID	VL SEQ ID NO:	VH SEQ ID NO:	H-CDR1		H-CDR2		H-CDR3	
					序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:
STLM226	STLL280	STLH201	142	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146
STLM227	STLL277	STLH201	140	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146
STLM228	STLL276	STLH201	139	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146
STLM229	STLL275	STLH201	138	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146
STLM230	STLL274	STLH201	137	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146
STLM231	STLL273	STLH201	136	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146
STLM232	STLL272	STLH201	135	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146

mAb	VL ID	VH ID	VL SEQ ID NO:	VH SEQ ID NO:	L-CDR1		L-CDR2		L-CDR3	
					序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:	序列	SEQ ID NO:
STLM226	STLL280	STLH201	142	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTRP	40	LOSDNLLT	147
STLM227	STLL277	STLH201	140	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTRP	40	LOSDNMLT	44
STLM228	STLL276	STLH201	139	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTRP	40	LOSDNMLT	44
STLM229	STLL275	STLH201	138	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTRP	40	LOSDNMLT	44
STLM230	STLL274	STLH201	137	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTRP	40	LOSDNMLT	44
STLM231	STLL273	STLH201	136	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTRP	40	LOSDNMLT	44
STLM232	STLL272	STLH201	135	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTRP	40	LOSDNMLT	44

圖15

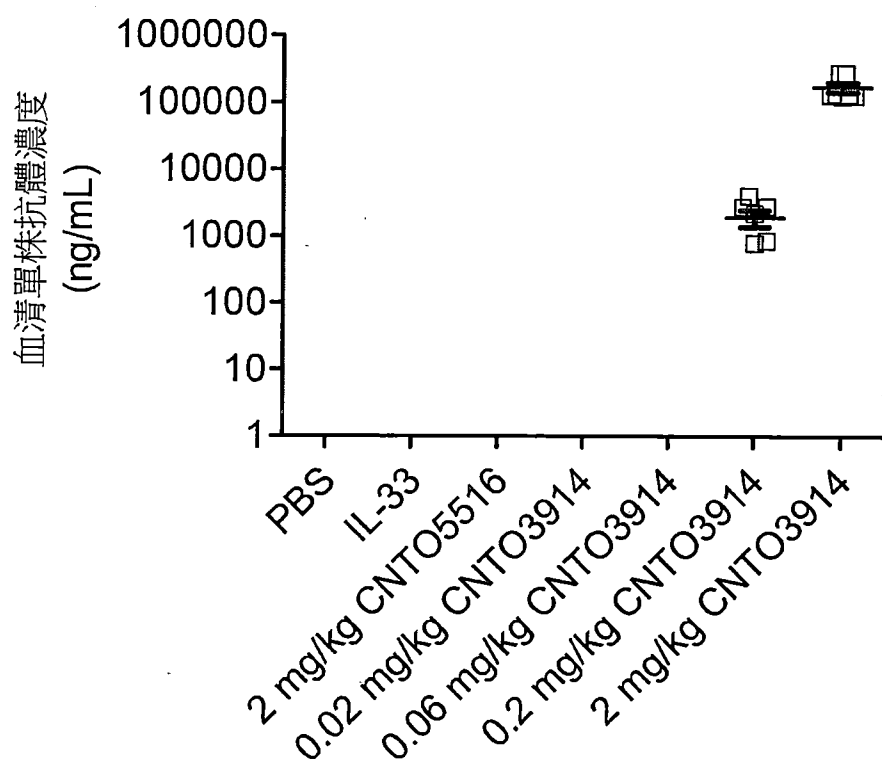


圖16A



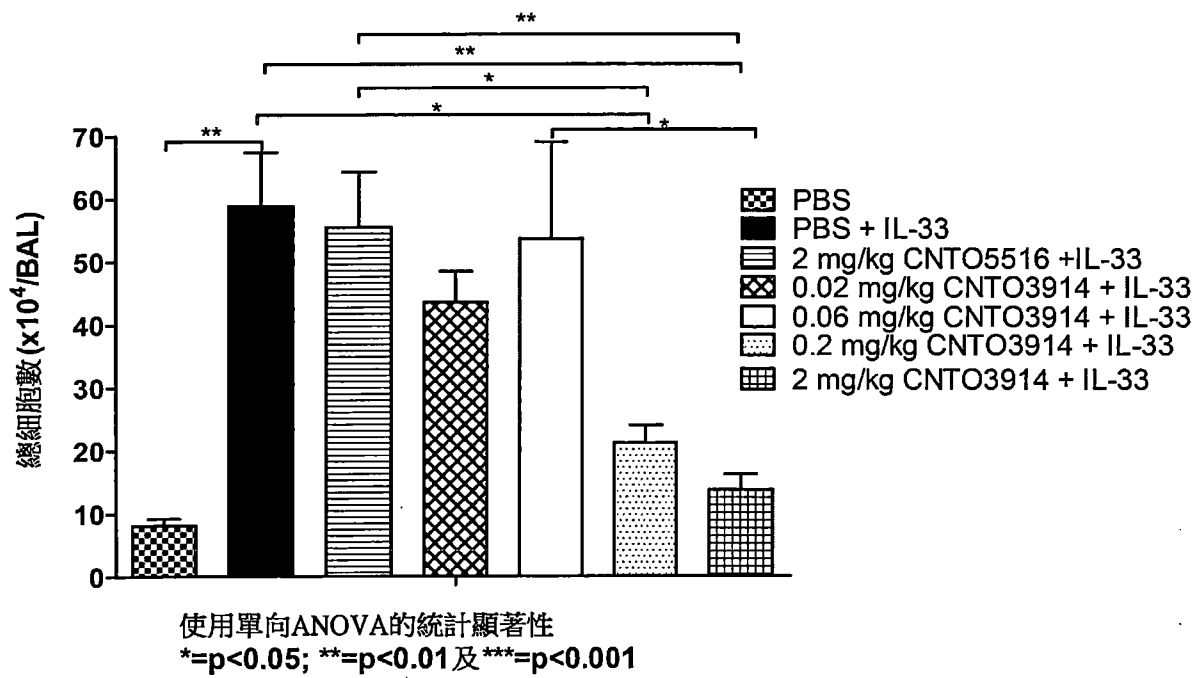
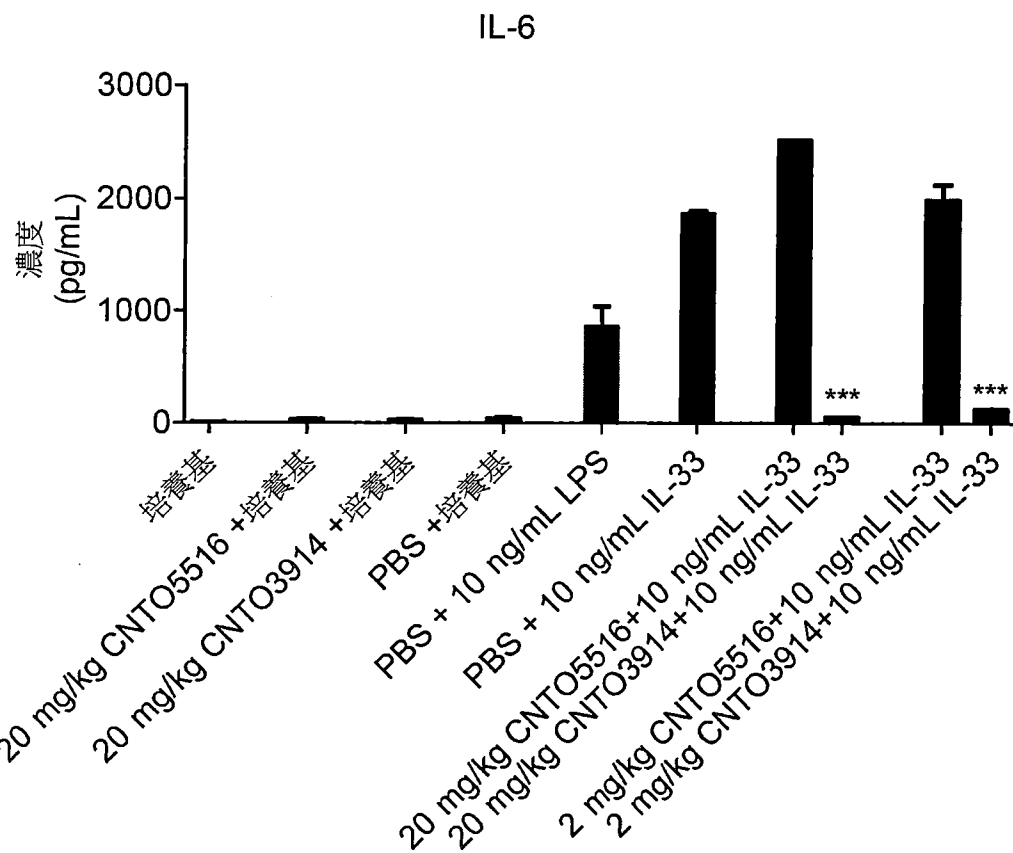
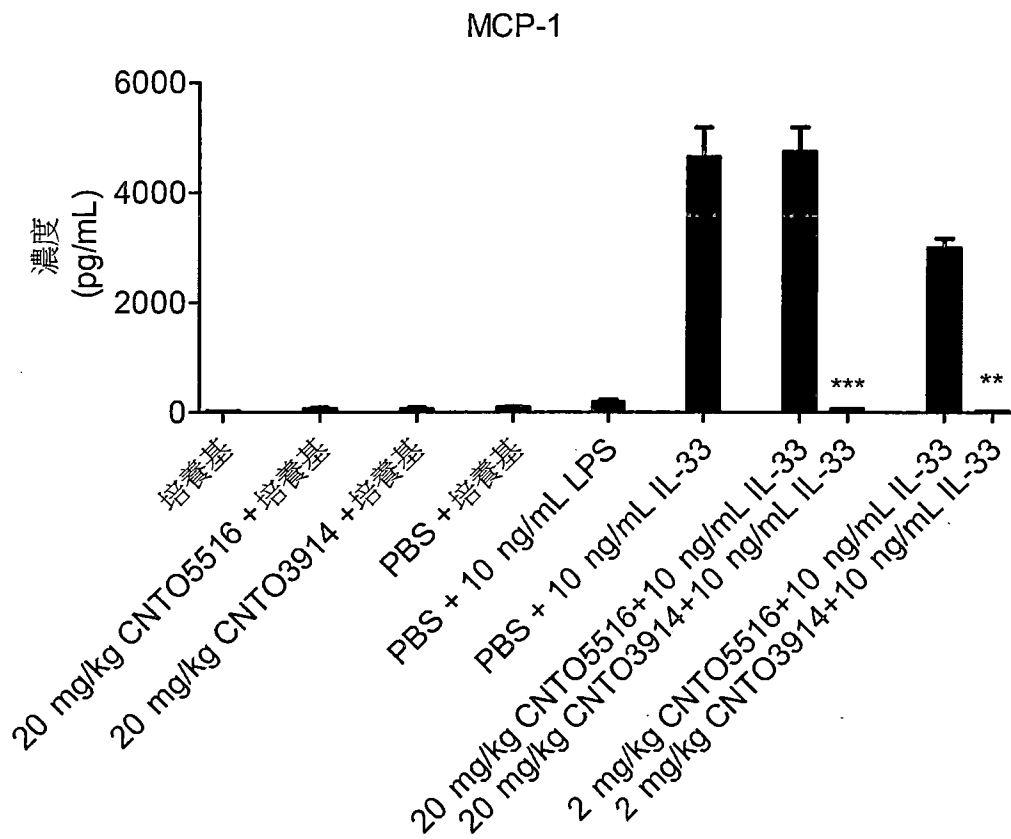


圖16B



在相同濃度與同型控制組比較單株抗體顯著性

圖16C



在相同濃度與同型控制組比較單株抗體顯著性

圖16D

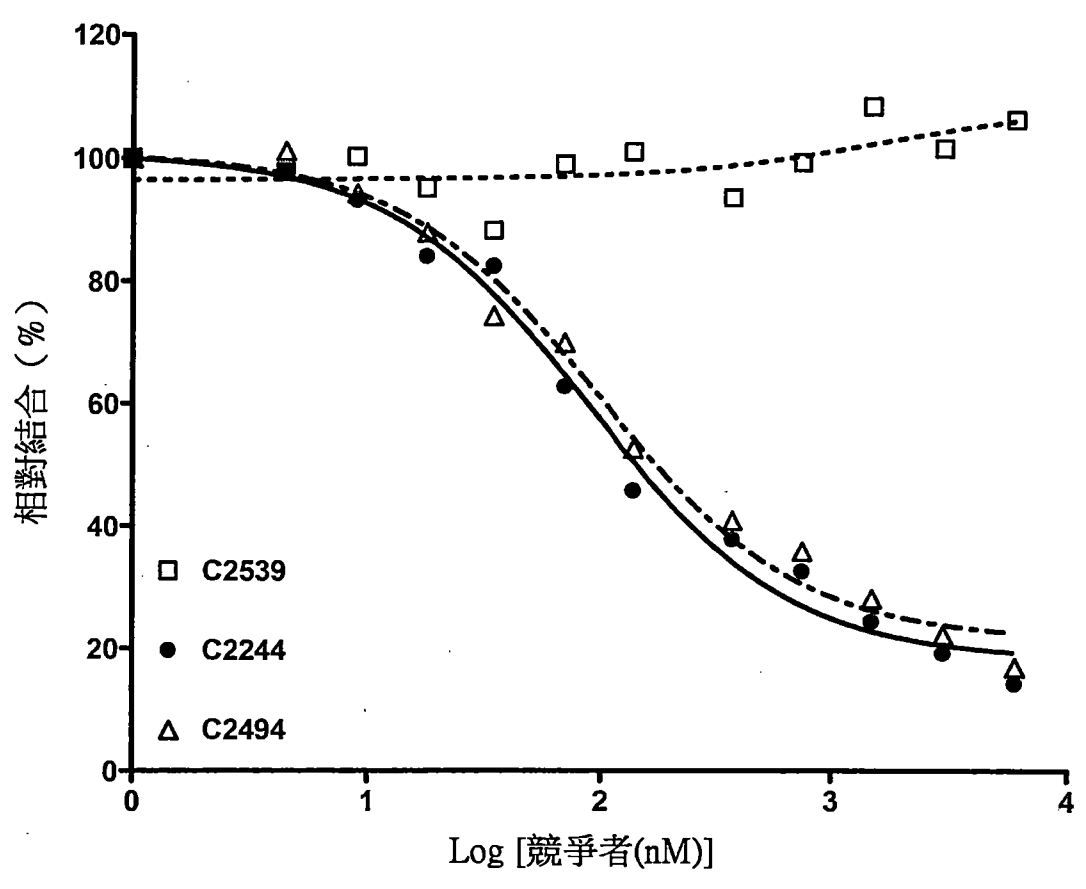


圖17A

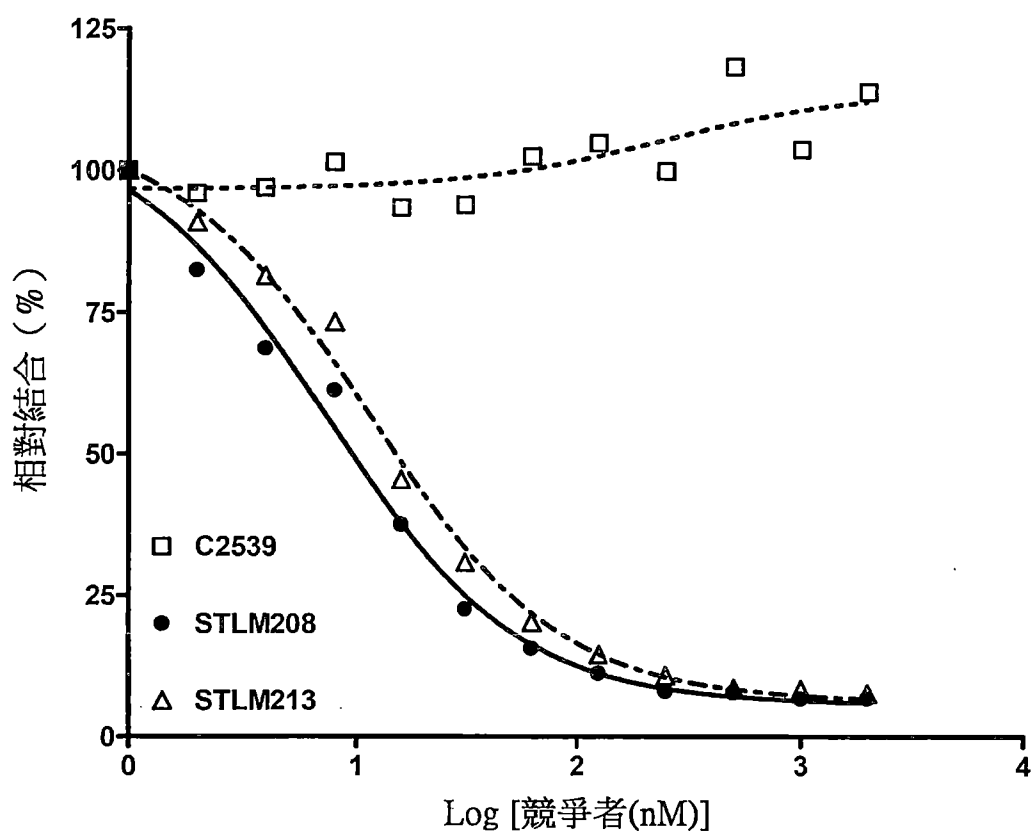
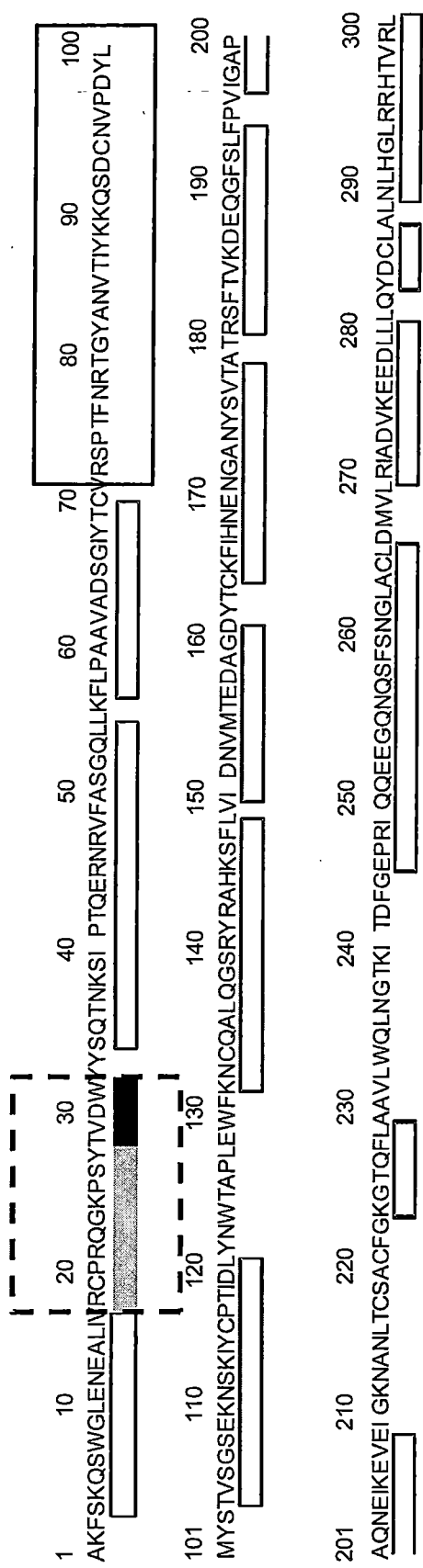


圖17B



 被抗體保護的強H/D交換  
 被抗體保護的弱H/D交換  
 未保護

圖18

ST2L變異株	抗體									
	STLB206 (STLM208)					STLB252				
	ka	kd	K <sub>d</sub>	1/Ms	pM	ka	kd	1/s	1/Ms	pM
野生型	1.14E+07	1.22E-04	10.8	8.85E+06	13.8	1.26E-04	1.22E-04	1.22E-04	8.85E+06	13.8
<sub>18</sub> AKF <sub>20</sub> -->TEG	1.30E+07	2.29E-04	19.3	8.34E+06	23.2	1.26E-04	1.93E-04	1.93E-04	8.34E+06	23.2
K <sub>55</sub> E	1.26E+07	1.29E-04	10	1.07E+07	11.8	1.26E-04	1.26E-04	1.26E-04	1.07E+07	11.8
E <sub>61</sub> K	1.55E+07	1.26E-04	8.1	1.56E+07	7.8	1.26E-04	1.21E-04	1.21E-04	1.56E+07	7.8
<sub>69</sub> GQL <sub>71</sub> -->RDR	1.02E+07	9.27E-05	9.6	8.06E+06	11.6	1.26E-04	9.36E-05	9.36E-05	8.06E+06	11.6
A <sub>78</sub> R	1.24E+07	1.30E-04	10.4	1.08E+07	11.4	1.30E-04	1.23E-04	1.23E-04	1.08E+07	11.4
A <sub>80</sub> E	1.15E+07	1.27E-04	11	1.13E+07	12.4	1.27E-04	1.39E-04	1.39E-04	1.13E+07	12.4
<sub>93</sub> TF <sub>94</sub> -->NL	1.27E+07	6.25E-04	49.5	1.07E+07	48.9	6.25E-04	5.22E-04	5.22E-04	1.07E+07	48.9
<sub>108</sub> QSD <sub>110</sub> -->PPS	1.28E+07	1.19E-04	10	8.99E+06	13	1.19E-04	1.17E-04	1.17E-04	8.99E+06	13

圖19



初代人類肺部肥大細胞  
GM-CSF

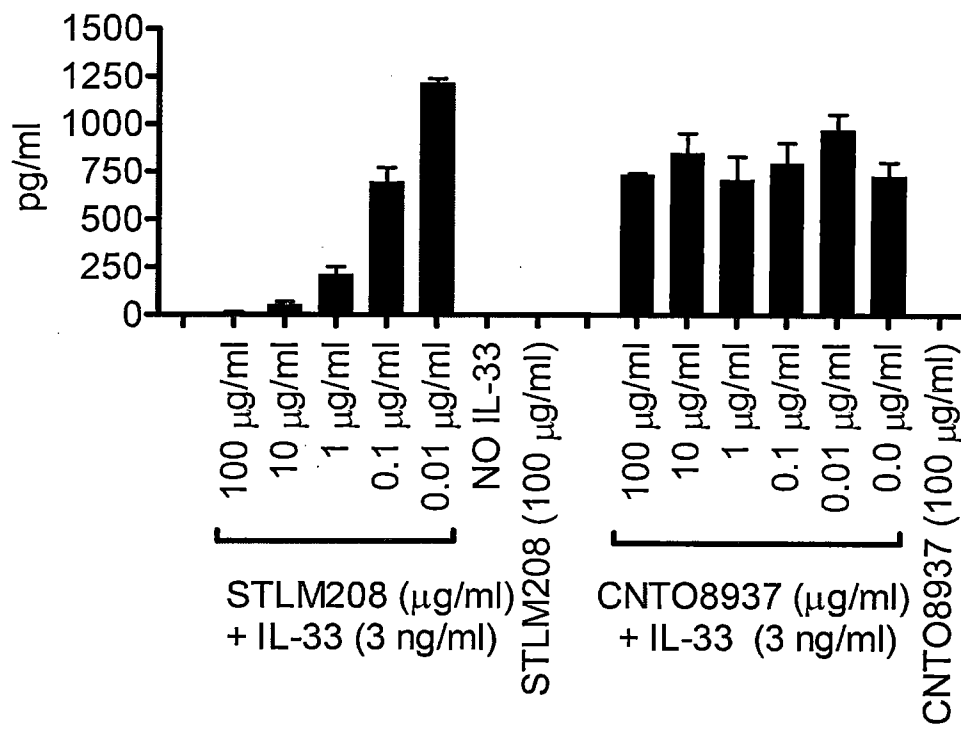


圖20A



初代人類肺部肥大細胞  
IL-5

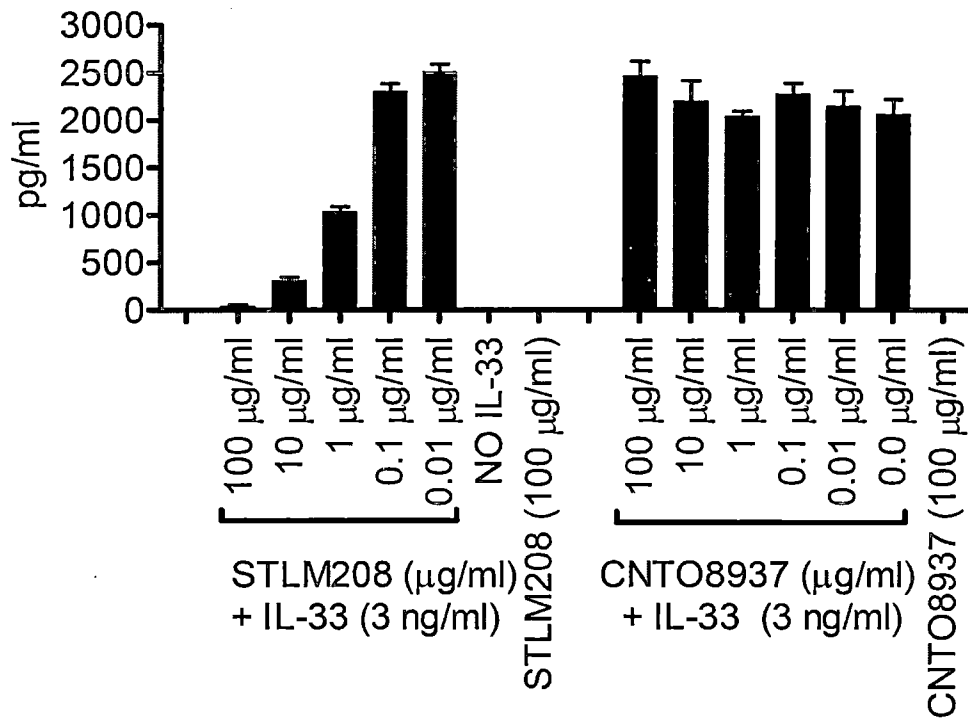


圖20B

初代人類肺部肥大細胞  
IL-8

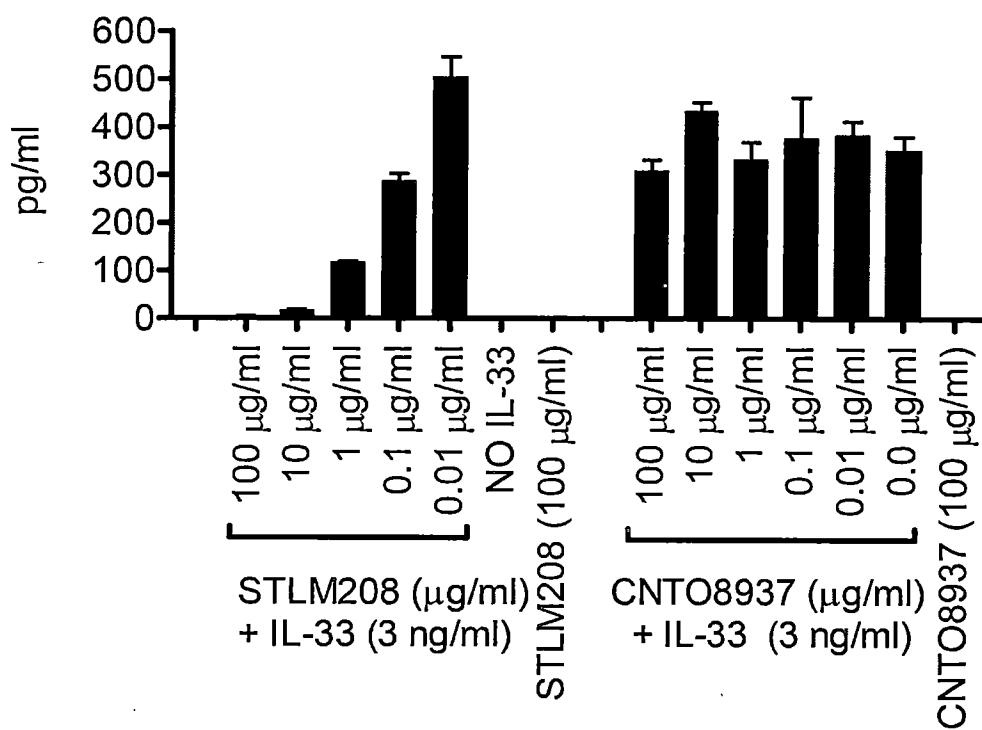


圖20C

初代人類肺部肥大細胞  
IL-13

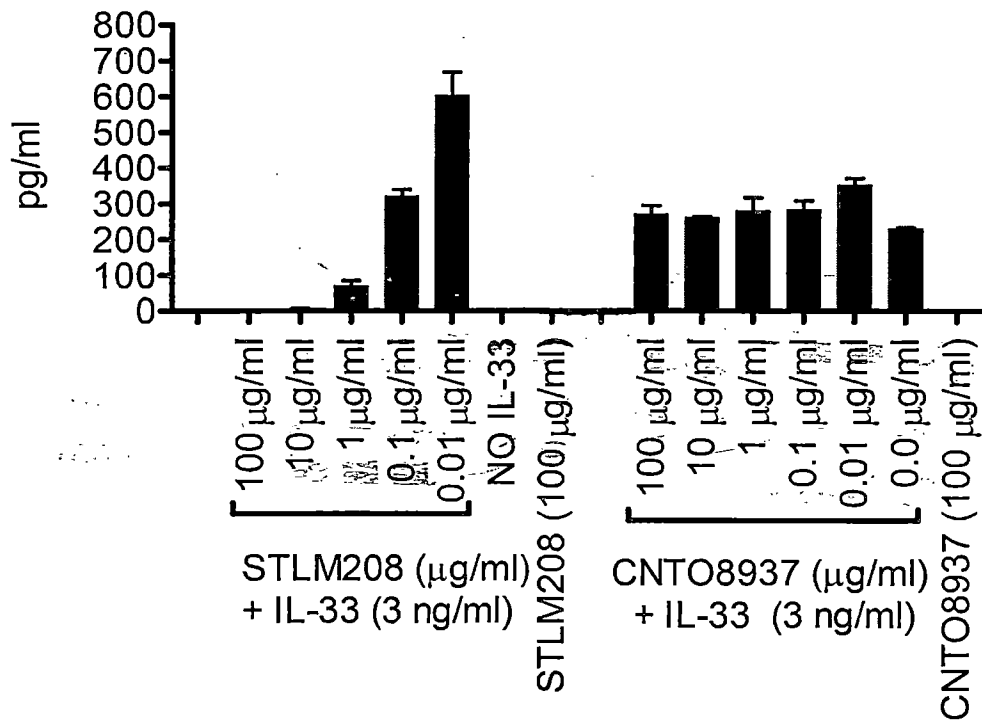


圖20D