



(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 I830711 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：107142392 (22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 11 月 28 日

(51)Int. Cl. : C07K16/24 (2006.01) C07K16/28 (2006.01)
 C12N15/13 (2006.01) C12N15/63 (2006.01)
 A61K39/395 (2006.01) A61P37/02 (2006.01)

(30)優先權：2017/12/01 美國 62/593,830
 2018/09/18 美國 62/732,985

(71)申請人：美商輝瑞大藥廠(美國) PFIZER INC. (US)
 美國
 美國加利福尼亞大學董事會(美國) THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA (US)
 美國

(72)發明人：葛羅斯 芮秋 GROTH, RACHEL (US)；史奈德 威廉 布萊恩 SNYDER, WILLIAM BRIAN (US)；曹 嫻君 CAO, XIANJUN (US)；杜恩 羅伯特 喬瑟夫 DUNN, ROBERT JOSEPH (US)；達爾 波託 喬瑟夫 DAL PORTO, JOSEPH (US)；卡林 麥可 KARIN, MICHAEL (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：
 US 2013/0243783A1 US 2017/0342156A1

審查人員：吳思嫻

申請專利範圍項數：31 項 圖式數：9 共 341 頁

(54)名稱

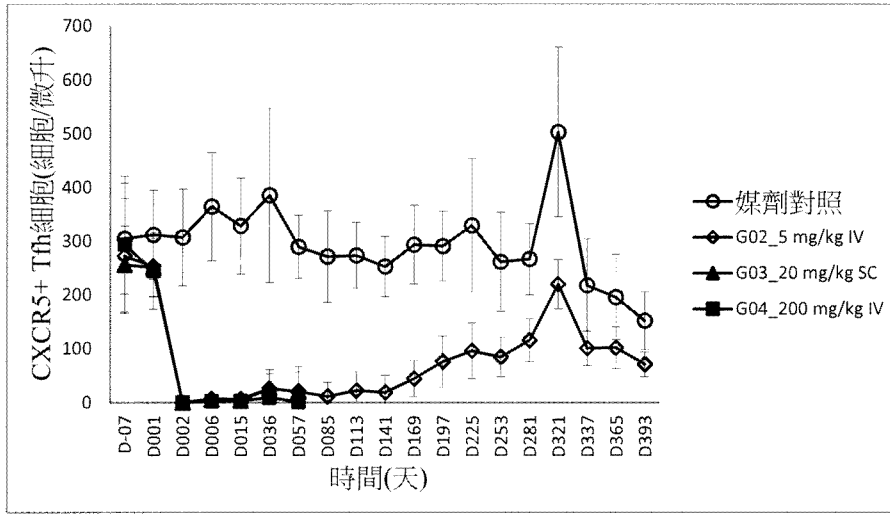
抗 CXCR5 抗體及組合物及其用途

(57)摘要

本發明提供特異性結合於 CXCR5 之抗體，及其抗原結合片段。該等抗體可為經去岩藻糖基化且與其他方面相同之岩藻糖基化抗體相比展現提高之 ADCC。本發明包括用途，及使用該等抗體之相關方法。

The invention provides antibodies, and antigen-binding fragments thereof, that specifically bind to CXCR5. The antibodies can be afucosylated and exhibit increased ADCC compared with the otherwise identical fucosylated antibodies. The invention includes uses, and associated methods of using the antibodies.

指定代表圖：



【圖9D】



I830711

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗CXCR5抗體及組合物及其用途

【英文發明名稱】

ANTI-CXCR5 ANTIBODIES AND COMPOSITIONS AND USES

THEREOF

【中文】

本發明提供特異性結合於CXCR5之抗體，及其抗原結合片段。該等抗體可為經去岩藻糖基化且與其他方面相同之岩藻糖基化抗體相比展現提高之ADCC。本發明包括用途，及使用該等抗體之相關方法。

【英文】

The invention provides antibodies, and antigen-binding fragments thereof, that specifically bind to CXCR5. The antibodies can be afucosylated and exhibit increased ADCC compared with the otherwise identical fucosylated antibodies. The invention includes uses, and associated methods of using the antibodies.

【指定代表圖】

圖9D

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗CXCR5抗體及組合物及其用途

【英文發明名稱】

ANTI-CXCR5 ANTIBODIES AND COMPOSITIONS AND USES
THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於特異性結合C-X-C趨化介素受體5型(CXCR5)之抗體及其抗原結合片段，以及其組合物、方法及用途。該等抗體經岩藻糖基化及/或去岩藻糖基化且可展現變化之效應功能。

【先前技術】

【0002】 C-X-C趨化介素受體5型(CXCR5)亦稱為CD185或伯基特淋巴瘤受體1 (BLR1)，其係天然存在之G蛋白偶聯之受體，由B細胞、真正(bona fide)濾泡性T輔助(Tfh)細胞及循環Tfh樣細胞表現(在本文中可互換地稱為「cTfh」及「Tfh樣」細胞)。CXCR5在免疫反應中起重要作用且係治療自體免疫疾病，諸如全身性紅斑性狼瘡症(SLE)之潛在目標。

【0003】 作為體液性免疫反應之關鍵組分，生髮中心(GC)係抗原活化之B細胞增殖、分化且經歷體細胞超突變及其產生之抗體之免疫球蛋白(Ig)類別轉換的部位。真正(bona fide) Tfh細胞提供指導信號以輔助此過程，其使親和力成熟之抗體之產量達到頂點。GC反應之體液性「記憶」由維持抗體濃度之長期存活之漿細胞維持，及由記憶B細胞維持，該等記憶B細胞在用抗原重新刺激後在來自記憶Tfh細胞之同源幫助下觸發二次GC反應，導致產生更多高親和力漿細胞(McHeyzer-Williams等人, 2011,

Nature Rev. Immunol. 12(1):24-34)。認為循環Tfh樣細胞(下文中稱為「Tfh樣」或「cTfh」)在重新遭遇抗原後亦分化為真正(*bona fide*) Tfh細胞以支持此等記憶反應(Crotty等人, 2011, Annu. Rev. Immunol. 29:621-663)。

【0004】 重要地，自體反應性B細胞之產生亦可由GC反應引起，伴隨非所需後果。實際上，大量慢性全身性自體免疫疾病，諸如SLE、RA、肌炎、乾燥症候群(Sjögren's syndrome)、ANCA相關血管炎及硬皮病展示自體反應性體液性反應之跡象。舉例而言，許多作為此等疾病之標誌的自體抗體具有高親和力，體細胞突變且Ig轉換，表明其由自體反應性GC反應引起(Vinuesa等人, 2009, Nature Rev. Immunol. 9(12):845-857)。另外，已在患有許多此等自體免疫疾病之患者之外周血液中偵測到循環Tfh樣細胞的頻率提高，其水準常常與自身抗體效價及/或疾病嚴重程度相關(Tangye等人, 2013, Nature Rev. Immunol. 13(6):412-426)。綜合而言，此等資料強調B細胞、真正(*bona fide*) Tfh細胞及循環Tfh樣細胞作為許多全身性自體免疫疾病之可能的治療目標。

【0005】 CXCR5係由B細胞、真正(*bona fide*) Tfh細胞及循環Tfh樣細胞表現且介導其沿著CXCR5配位體CXCL13之梯度向GC反應之遷移及參與GC反應(Vinuesa及Cyster, 2011, Immunity 35(5):671-680；Ansel等人, 1999, J. Exp. Med. 190(8):1123-1134；Ansel等人, 2000, Nature 406(6793):309-314；Cyster等人, 1999, Curr. Top. Microbiol. Immunol. 246:87-92；Hardtke等人, 2005, Blood 106(6):1924-1931；Haynes等人, 2007, J. Immunol. 179(8):5099-5108)。因此，靶向CXCR5可具有治療自體免疫疾病之治療益處。

【0006】 另外，靶向CXCR5亦可在特徵為表現CXCR5之細胞增殖之癌症(諸如胰臟癌、結腸癌、膀胱癌、T細胞白血病及B細胞白血病)中具有治療益處。

【發明內容】

【0007】 本申請案揭示特異性結合CXCR5 (C-X-C趨化介素受體5型)之分離抗體及其抗原結合片段。在某些態樣中，抗體及其抗原結合片段結合CXCR5且減少與CXCL13結合之CXCR5。在其他態樣中，抗體可經岩藻糖基化，但更佳地，其經去岩藻糖基化。在某些態樣中，抗體及其抗原結合片段展現變化之效應功能。在某些態樣中，抗體及其抗原結合片段經去岩藻糖基化且相比於其他方面相同但經岩藻糖基化之抗體及其抗原結合片段展現提高之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)。

【0008】 在某些態樣中，本發明提供特異性結合CXCR5之分離抗體及其抗原結合片段，其中該抗體及其抗原結合片段與包含根據SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號11處之白胺酸(Leu ; L) (L11)的抗原決定基結合。

【0009】 在另一態樣中，本發明提供特異性結合CXCR5之分離抗體及其抗原結合片段，其中該抗體及其抗原結合片段與包含根據SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸(Asp ; D)的抗原決定基結合。

【0010】 熟習此項技術者將認識到或能夠僅使用常規實驗即可確定本文所描述之本發明之具體實施例的許多等效物。此類等效物意欲由以下實施例(E)涵蓋。

E1. 一種特異性結合C-X-C-趨化介素受體5 (CXCR5)之分離之抗體

或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合人類CXCR5 (hCXCR5)或食蟹獼猴CXCR5 (cynoCXCR5)之N結構域內的抗原決定基。

E2. 如E1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號hCXCR5之胺基酸殘基1-50內的抗原決定基，或與根據SEQ ID NO: 33之編號cynoCXCR5之胺基酸殘基1-50內的抗原決定基結合。

E3. 如E1至E2中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合包含根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號11處之白胺酸的抗原決定基。

E4. 如E1至E3中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合包含根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸的抗原決定基。

E5. 如E1至E4中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合包含根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號11處之白胺酸及在胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸的抗原決定基。

E6. 如E1至E5中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合包含根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號11處之白胺酸，但當該殘基並非白胺酸時不結合hCXCR5。

E7. 如E1至E6中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合包含根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號11處之白胺酸，但當該殘基係蘇胺酸時不結合hCXCR5。

E8. 如E1至E7中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合包含根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸，但當該殘基並非天冬胺酸時不結合hCXCR5。

E9. 如E1至E8中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合包含根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸，但當該殘基係丙胺酸時不結合hCXCR5。

E10. 如E1至E9中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合包含根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號11處之白胺酸及在胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸，但不結合其中該白胺酸經蘇胺酸取代及/或該天冬胺酸經丙胺酸取代之該抗原決定基。

E11. 如E1至E10中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以EC50為約6.60 pM，標準偏差為約±2.33 pM之表觀親和力結合在人類B細胞上表現之hCXCR5。

E12. 如E1至E11中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以EC50為約5.89 pM，標準偏差為約±1.40 pM之表觀親和力結合在人類循環濾泡性T輔助樣(Tfh樣)細胞上表現之hCXCR5。

E13. 如E1至E12中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以EC50為約10.6 pM之表觀親和力結合在人類濾泡性T輔助樣(Tfh樣)細胞上表現之hCXCR5。

E14. 如E1至E13中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以EC50為約1.32 pM之表觀親和力結合在食蟹獼猴B細胞上表現之cynoCXCR5。

E15. 如E1至E14中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以EC50為約10.5 pM之表觀親和力結合在食蟹獼猴Tfh樣細胞上表現之cynoCXCR5。

E16. 如E1至E15中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以約961 pM之EC50拮抗cAMP報導分析中之CXCR5-CXCL13信號傳導。

E17. 如E1至E16中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段展現對表現EC50為約2.01 pM，標準偏差為約±2.28 pM之hCXCR5之人類B細胞的ADCC活性。

E18. 如E1至E17中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段展現EC50為約4.28 pM，標準偏差為約±2.88 pM之對表現hCXCR5之人類Tfh樣細胞的ADCC活性。

E19. 如E1至E18中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段展現EC50為約0.11 pM之對表現hCXCR5之人類Tfh細胞的ADCC活性。

E20. 如E1至E19中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段展現EC50為約15.3 pM，標準偏差為約±11.7 pM之對表現cynoCXCR5之食蟹獼猴B細胞的ADCC活性。

E21. 如E1至E20中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hCXCR5但不會可偵測地結合人類趨化介素受體CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、CMKLR1、CXCR3R1、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CXCR7及XCR1。

E22. 如E1至E21中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段耗竭外周血液中之B細胞。

E23. 如E22之抗體或其抗原結合片段，其中外周血液中B細胞之耗竭係可逆的。

E24. 如E1至E23中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段耗竭外周血液中之Tfh樣細胞。

E25. 如E1至E24中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段耗竭脾中之Tfh細胞。

E26. 如E1至E24中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段損害體液性免疫記憶反應。

E27. 如E26之抗體或其抗原結合片段，其中受損之體液性免疫記憶反應係針對食蟹獼猴中之破傷風類毒素。

E28. 如E1至E27中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段抑制CXCR5與CXCL13結合。

E29. 如E1至E28中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段抑制在由毛喉素以其他方式觸發之細胞中對cAMP產生之CXCL13抑制，從而與無抗體或其抗原結合片段存在下cAMP之水準相比，導致cAMP水準提高。

E30. 如E1至E29中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以約961 pM之EC50抑制對cAMP產生之CXCL13抑制。

E31. 如E30之抗體或其抗原結合片段，其中CXCL13抑制之最大抑制係至少約60%、70%或80%。

E32. 如E1至E31中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或

其抗原結合片段以EC50小於約26 pM之表觀親和力結合表現CXCR5之人類B細胞(例如CXCR5+人類B細胞)，但不結合表現CXCR5小鼠、大鼠或兔異種同源物之細胞。

E33. 如E1至E32中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段觸發人類供體及食蟹獼猴周邊血液單核細胞(PBMC)以及人類供體扁桃體單核細胞(TMC)中之CXCR5表現細胞的ADCC。

E34. 一種分離抗體，其特異性結合hCXCR5且與E1-E33中任一項之抗體或其抗原結合片段競爭。

E35. 如E1至E34中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以EC50小於約26 pM之表觀親和力結合CXCR5+人類B細胞，但不會實質上結合表現CXCR5異種同源物之細胞。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段例如基於本文中所述之任一分析，展示與表現CXCR5異種同源物之細胞不可偵測的結合；或以EC50比與hCXCR5結合之EC50大至少10,000倍之表觀親和力與表現CXCR5異種同源物之細胞結合。

E36. 如E1至E35中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之CDR-L1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之CDR-L2；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之CDR-L3；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之CDR-H1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之CDR-H2；及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之CDR-H3。

E37. 如E1至E36中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之CDR-L1；包含胺

基酸序列SEQ ID NO: 3之CDR-L2；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之CDR-L3；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之CDR-H1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之CDR-H2；及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之CDR-H3。

E38. 如E1至E37中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14之CDR-L1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之CDR-L2；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之CDR-L3；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 19之CDR-H1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之CDR-H2；及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 21之CDR-H3。

E39. 如E1至E38中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：胺基酸序列SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 48-51、SEQ ID NO: 39及SEQ ID NO: 58-62；及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：胺基酸序列SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 53-57及SEQ ID NO: 63。

E40. 如E1至E39中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：胺基酸序列SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 48-51、SEQ ID NO: 39及SEQ ID NO: 58-62；及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：胺基酸序列

SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 17、
SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 53-57
及SEQ ID NO: 63。

E41. 如E1至E40中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含由寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124324之質體之插入物編碼的胺基酸序列之VL及包含由寄存於ATCC，具有寄存編號PTA-124323之質體之插入物編碼的胺基酸序列之VH。

E42. 如E1至E35及E39至E40中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 17之VH。

E43. 如E1至E35及E38至E40中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18之VH。

E44. 如E1至E35及E38至E40中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 37之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 38之VH。

E45. 如E1至E36及E39至E41中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 35之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 36之VH。

E46. 如E1至E36及E39至E41中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之VH。

E47. 如E1至E36及E39至E41中任一項之抗體或其抗原結合片段，其

中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之VH。

E48. 如E1至E36及E39至E41中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之VH。

E49. 如E1至E36及E39至E41中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之VH。

E50. 如E1至E35、E37及E39至E41中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之VH。

E51. 如E1至E35、E37及E39至E41中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40之VH。

E52. 如E1至E35、E37及E39至E41中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 22之LC，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HC。

E53. 如E1至E35及E38至E40中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 24之LC，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 25之HC。

E54. 如E1至E35、E37及E39至E41中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 26之LC，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 27之HC。

E55. 如E1至E35、E37及E39至E41中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 28之LC，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 29之HC。

E56. 如E1至E35、E37及E39至E41中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含由核酸序列SEQ ID NO: 95編碼之VL，及由核酸序列SEQ ID NO: 96編碼之VH。

E57. 如E1至E35、E37及E39至E41中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含由核酸序列SEQ ID NO: 97編碼之LC，及由核酸序列SEQ ID NO: 98編碼之HC。

E58. 如E1至E57中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含VL構架序列及VH構架序列，且其中VL構架序列或VH構架序列中之一或兩者與其自其中衍生之人類生殖系序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致且其中VL構架序列自其中衍生之人類生殖系VL序列係選自由以下組成之群：DPK9、DPK12、DPK18、DPK24、HK102_V1、DPK1、DPK8、DPK3、DPK21、Vg_38K、DPK22、DPK15、DPL16、DPL8、V1-22、Vλ共有、Vλ1共有、Vλ3共有、Vκ共有、Vκ1共有、Vκ2共有及Vκ3，且其中VH構架序列自其中衍生之人類生殖系VH序列係選自由以下組成之群：DP54、DP47、DP50、DP31、DP46、DP71、DP75、DP10、DP7、DP49、DP51、DP38、DP79、DP78、DP73、VH3、VH5、VH1及VH4。

E59. 如E1至E58中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段經去岩藻糖基化。

E60. 如E59之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段展現增強的ADCC。

E61. 一種分離抗體或其抗原結合片段，其包含包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3序列：胺基酸序列SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57及SEQ ID NO: 63。

E62. 一種分離抗體或其抗原結合片段，其包含包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3序列：胺基酸序列SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61及SEQ ID NO: 62。

E63. 如E1至E62中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含如胺基酸序列SEQ ID NO: 6中所闡述之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3序列。

E64. 如E1至E62中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3序列。

E65. 如E1至E64中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含以下胺基酸取代中之一或多者：

CDR-L1中對人類生殖系VL序列之對應殘基的1、2、3、4、5或6個取代，

CDR-L2中對人類VL生殖系序列之對應殘基的1、2、3、4或5個取

代，

CDR L3中對人類生殖系VL序列之對應殘基的1、2、3、4、5或6個取代，

CDR-H1中對人類生殖系VH序列之對應殘基的1、2、3、4、5或6個取代，

CDR H2中對人類生殖系VH序列之對應殘基的1、2、3、4、5、6、7或8個取代，

其中人類生殖系VL序列係選自由以下組成之群：DPK9、DPK12、DPK18、DPK24、HK102_V1、DPK1、DPK8、DPK3、DPK21、Vg_38K、DPK22、DPK15、DPL16、DPL8、V1-22、Vκ1共有、Vκ2共有及Vκ3共有，且人類生殖系VH係選自由以下組成之群：DP54、DP47、DP50、DP31、DP46、DP71、DP75、DP10、DP7、DP49、DP51、DP38、DP79、DP78、DP73、VH3、VH5、VH1及VH4。

E66. 如E61至E65中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含衍生自人類生殖系VH序列之VH構架序列，該人類生殖系VH序列選自由以下組成之群：DP54、DP47、DP50、DP31、DP46、DP71、DP75、DP10、DP7、DP49、DP51、DP38、DP79、DP78、DP73、VH3、VH5、VH1及VH4。

E67. 如E61至E66中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含衍生自人類VH3生殖系序列之構架VH序列。

E68. 如E61至E67中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含衍生自選自由以下組成之群之人類生殖系VH序列的構架VH序列：DP54、DP47、DP50、DP31、DP46、DP49及DP51。

E69. 如E61至E68中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含衍生自選自由以下組成之群之人類生殖系VH序列的構架VH序列：DP54、DP47、DP50及DP31。

E70. 如E61至E69中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含衍生自人類生殖系DP54序列之VH構架序列。

E71. 如E61至E70中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含衍生自選自由以下組成之群之人類生殖系VL序列的VL構架序列：DPK9、DPK12、DPK18、DPK24、HK102_V1、DPK1、DPK8、DPK3、DPK21、Vg_38K、DPK22、DPK15、DPL16、DPL8、V1-22、Vκ共有、Vκ1共有、Vκ2共有及Vκ3共有。

E72. 如E61至E71中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含衍生自選自由以下組成之群之人類生殖系VL序列的VL構架序列：DPK9、DPK12、DPK18、DPK24、HK102_V1、DPK1、DPK8、DPK3、DPK21、Vg_38K、DPK22、DPK15、Vκ共有、Vκ1共有、Vκ2共有及Vκ3。

E73. 如E61至E72中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含衍生自人類生殖系Vκ1序列之VL構架序列。

E74. 如E61至E73中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含衍生自選自由以下組成之群之人類生殖系VL序列的VL構架序列：DPK9、HK102_V1、DPK1及DPK8。

E75. 如E61至E74中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含衍生自人類生殖系DPK9序列之VL構架序列。

E76. 如E61至E75中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含VL構

架序列及VH構架序列，且其中VL構架序列或VH構架序列中之一或兩者與其自其中衍生之人類生殖系序列至少90%一致。

E77. 如E61至E76中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含VL構架序列及VH構架序列，且其中VL構架序列或VH構架序列中之一或兩者與其自其中衍生之人類生殖系序列至少66%、76%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致。

E78. 如E61至E77中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含VL構架序列及VH構架序列，且其中VL構架序列或VH構架序列中之一或兩者與其自其中衍生之人類生殖系序列一致。

E79. 如E61至E78中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含VH，該VH包含與SEQ ID NO: 6至少90%一致之胺基酸序列。

E80. 如E61至E79中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含VH，該VH包含與SEQ ID NO: 6至少92%一致之胺基酸序列。

E81. 如E61至E80中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含VH，該VH包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6。

E82. 如E61至E81中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含VL，該VL包含與SEQ ID NO: 1至少66%一致之胺基酸序列。

E83. 如E61至E82中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含VL，該VL包含與SEQ ID NO: 1至少66%、76%、80%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。

E84. 如E61至E83中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含VL，該VL包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1。

E85. 如E1至E84中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含Fc結構

域。

E86. 如E85之抗體或其抗原結合片段，其中該Fc結構域係IgA（例如IgA1或IgA2）、IgD、IgE、IgM或IgG（例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4）之Fc結構域。

E87. 如E86之抗體或其抗原結合片段，其中該Fc結構域係IgG之Fc結構域。

E88. 如E87之抗體或其抗原結合片段，其中IgG係選自由以下組成之群：IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。

E89. 如E88之抗體或其抗原結合片段，其中IgG係IgG1。

E90. 如E1至E89中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含重鏈，該重鏈包含與SEQ ID NO: 29至少90%一致之胺基酸序列。

E91. 如E1至E89中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含重鏈，該重鏈包含與SEQ ID NO: 29至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。

E92. 如E1至E89中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含重鏈，該重鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 29。

E93. 如E1至E93中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含LC，該LC包含與SEQ ID NO: 28至少90%一致之胺基酸序列。

E94. 如E1至E93中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含LC，該LC包含與SEQ ID NO: 28至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。

E95. 如E1至E94中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含LC，該LC包含胺基酸序列SEQ ID NO: 28。

E96. 一種分離抗體或其抗原結合片段，其包含由寄存於ATCC且具有ATCC寄存編號PTA-124323之質體之插入物編碼的VH序列。

E97. 一種分離抗體或其抗原結合片段，其包含由寄存於ATCC且具有ATCC寄存編號PTA-124324之質體之插入物編碼的VL序列。

E98. 一種抗體或其抗原結合片段，其與以下中之一或多者競爭結合於人類CXCR5：小鼠11G2、嵌合11G2、h11G2 VH (XC152)/VL (XC151)、h11G2 VH (XC152)/VL (XC153)、h11G2 VH (XC152)/VL (XC154)、h11G2 VH (XC152)/VL (XC346)、h11G2 VH (XC152)/VL (XC347)、h11G2 VH (XC152)/VL (XC348)、h11G2 VH (XC152)/VL (XC349)、h11G2 VH (XC155)/VL (XC151)、h11G2 VH (XC155)/VL (XC153)、h11G2 VH (XC155)/VL (XC154)、h11G2 VH (XC155)/VL (XC346)、h11G2 VH (XC155)/VL (XC347)、h11G2 VH (XC155)/VL (XC3484)、h11G2 VH (XC155)/VL (XC349)、h11G2 VH (XC156)/VL (XC151)、h11G2 VH (XC156)/VL (XC153)、h11G2 VH (XC156)/VL (XC154)、h11G2 VH (XC156)/VL (XC346)、h11G2 VH (XC156)/VL (XC347)、h11G2 VH (XC156)/VL (XC348)、h11G2 VH (XC156)/VL (XC349)、h11G2 VH (XC157)/VL (XC151)、h11G2 VH (XC157)/VL (XC153)、h11G2 VH (XC157)/VL (XC154)、h11G2 VH (XC157)/VL (XC346)、h11G2 VH (XC157)/VL (XC347)、h11G2 VH (XC157)/VL (XC348)、h11G2 VH (XC157)/VL (XC349)、h11G2 VH (XC350)/VL (XC151)、h11G2 VH (XC350)/VL (XC153)、h11G2 VH (XC350)/VL (XC154)、h11G2 VH (XC350)/VL (XC346)、h11G2 VH (XC350)/VL (XC347)、h11G2 VH (XC350)/VL (XC348)、h11G2 VH (XC350)/VL

(XC349)、h11G2 VH (XC351)/ VL (XC151)、h11G2 VH (XC351)/ VL (XC153)、h11G2 VH (XC351)/ VL (XC154)、h11G2 VH (XC351)/ VL (XC346)、h11G2 VH (XC351)/ VL (XC347)、h11G2 VH (XC351)/ VL (XC348)、及h11G2 VH (XC351)/ VL (XC349)、h11G2 VH (XC352)/ VL (XC151)、h11G2 VH (XC352)/ VL (XC153)、h11G2 VH (XC352)/ VL (XC154)、h11G2 VH (XC352)/ VL (XC346)、h11G2 VH (XC352)/ VL (XC347)、h11G2 VH (XC352)/ VL (XC348)、h11G2 VH (XC352)/ VL (XC349)、h11G2 VH (XC353)/ VL (XC151)、h11G2 VH (XC353)/ VL (XC153)、h11G2 VH (XC353)/ VL (XC154)、h11G2 VH (XC353)/ VL (XC346)、h11G2 VH (XC353)/ VL (XC347)、h11G2 VH (XC353)/ VL (XC348)、h11G2 VH (XC353)/ VL (XC349)、h11G2 VH (XC354)/ VL (XC151)、h11G2 VH (XC354)/ VL (XC153)、h11G2 VH (XC354)/ VL (XC154)、h11G2 VH (XC354)/ VL (XC346)、h11G2 VH (XC354)/ VL (XC347)、h11G2 VH (XC354)/ VL (XC348)、h11G2 VH (XC354)/ VL (XC349)、小鼠41A10、嵌合41A10、h41A10 VH (XC147)/ VL (XC142)、h41A10 VH (XC147)/ VL (XC143)、h41A10 VH (XC147)/ VL (XC144)、h41A10 VH (XC147)/ VL (XC145)、h41A10 VH (XC147)/ VL (XC146)、h41A10 VH (XC147)/ VL (XC149)、h41A10 VH (XC148)/ VL (XC142)、h41A10 VH (XC148)/ VL (XC143)、h41A10 VH (XC148)/ VL (XC144)、h41A10 VH (XC148)/ VL (XC145)、h41A10 VH (XC148)/ VL (XC146)、h41A10 VH (XC148)/ VL (XC149)、h41A10 VH (XC150)/ VL (XC142)、h41A10 VH (XC150)/ VL (XC143)、h41A10 VH (XC150)/ VL (XC144)、h41A10

VH (XC150)/ VL (XC145)、h41A10 VH (XC150)/ VL (XC146)、h41A10 VH (XC150)/ VL (XC149)、小鼠5H7，及嵌合5H7。

E99. 一種抗體或其抗原結合片段，其與E1-E98中任一項之抗體競爭結合於人類CXCR5以及CXCL13。

E100. 如E1至E99中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段為Fc融合蛋白、單功能抗體、最大抗體、雙功能抗體、scFab、scFv、肽體。

E101. 如E1至E100之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以約等於或小於選自由以下組成之群之值結合人類CXCR5：約10nM、5nM、2nM、1nM、900pM、800pM、700pM、600pM、500pM、400pM、300pM、250pM、200pM、150pM、100pM、50pM、40pM、30pM、25pM、20pM、15pM、10pM、5pM及1pM。

E102. 如E1至E101之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以約等於或小於選自由以下組成之群之值結合食蟹獼猴CXCR5：約10nM、5nM、2nM、1nM、900pM、800pM、700pM、600pM、500pM、400pM、300pM、250pM、200pM、150pM、100pM、50pM、40pM、30pM、25pM、20pM、15pM、13pM、10pM、5pM及1pM。

E103. 如E1至E102之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段與獼猴CXCR5之結合KD在抗體或其抗原結合片段與人類CXCR5之結合KD之1個數量級內。

E104. 如E1至E103之抗體或其抗原結合片段，其中抗體或抗原結合片段與人類CXCR5之結合KD相比於與獼猴CXCR5結合之比值在5:1與

1:5之間。

E105. 如E1至E104之抗體或其抗原結合片段，其中抗體或抗原結合片段與人類CXCR5之結合KD相比於與獼猴CXCR5結合之比值在2:1與1:2之間。

E106. 如E1至E105之抗體或其抗原結合片段，其中抗體或抗原結合片段與獼猴CXCR5之結合KD相比於與人類CXCR5結合之比值在以下範圍內：其下限值係選自由以下組成之群：0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5及6.2，且其上限值係選自由以下組成之群：1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、6.2、9、9.2及10。

E107. 如E1至E106之抗體或其抗原結合片段，其中抗體或抗原結合片段與SEQ ID NO: 33之獼猴CXCR5之結合KD相比於與SEQ ID NO: 32之人類CXCR5之結合的比值在約1.0與約10.0之間。

E108. 如E1至107中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中人類中之預測半衰期在約一(1)天至二十一(21)天範圍內。

E109. 如E1至108中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中人類中之預測半衰期為約十七(17)天。

E110. 一種抗體或其抗原結合片段，其包含選自由以下組成之群之抗體或其抗原結合片段的CDR：小鼠11G2 VH、小鼠11G2 VL、嵌合11G2 VH、嵌合11G2 VL、人類化11G2 VH (XC152)、h11G2 VH

(XC155)、h11G2 VH (XC156)、h11G2 VH (XC157)、h11G2 VH (XC350)、h11G2 VH (XC351)、h11G2 VH (XC352)、h11G2 VH (XC353)、h11G2 VH (XC354)、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL (XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)、h11G2 VL (XC349)、小鼠41A10 VH、小鼠41A10 VL、嵌合41A10 VH、嵌合41A10 VL、人類化41A10 VH (XC147)、h41A10 VH (XC148)、h41A10 VH (XC150)、h41A10 VL (XC142)、h41A10 VL (XC143)、h41A10 VL (XC144)、h41A10 VL (XC145)、h41A10 VL (XC146)、h41A10 VL (XC149)、小鼠5H7 VH、小鼠5H7 VL、嵌合5H7 VH及嵌合5H7 VL。

E111. 一種抗體或其抗原結合片段，其包含選自由以下組成之群之抗體或其抗原結合片段的VL及VH：小鼠11G2 VH、小鼠11G2 VL、嵌合11G2 VH、嵌合11G2 VL、h11G2 VH (XC152)、h11G2 VH (XC155)、h11G2 VH (XC156)、h11G2 VH (XC157)、h11G2 VH (XC350)、h11G2 VH (XC351)、h11G2 VH (XC352)、h11G2 VH (XC353)、h11G2 VH (XC354)、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL (XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)、h11G2 VL (XC349)、小鼠41A10 VH、小鼠41A10 VL、嵌合41A10 VH、嵌合41A10 VL、人類化41A10 VH (XC147)、h41A10 VH (XC148)、h41A10 VH (XC150)、h41A10 VL (XC142)、h41A10 VL (XC143)、h41A10 VL (XC144)、h41A10 VL (XC145)、h41A10 VL (XC146)、h41A10 VL (XC149)、小鼠5H7 VH、小鼠5H7 VL、嵌合5H7 VH，及嵌合5H7 VL。

E112. 一種抗體或其抗原結合片段，其選自由以下組成之群：

a. 包含小鼠11G2 VH及小鼠11G2 VL之抗體；

b. 包含嵌合11G2 VH及嵌合11G2 VL之抗體；

c. 包含以下各者之抗體：人類化11G2 VH (XC152)及選自由以下組成之群之VL：小鼠11G2 VL、嵌合11G2 VL、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL (XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)及h11G2 VL (XC349)；

d. 包含以下各者之抗體：人類化11G2 VH (XC155)，及選自由以下組成之群之VL：小鼠11G2 VL、嵌合11G2 VL、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL (XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)及h11G2 VL (XC349)；

e. 包含以下各者之抗體：人類化11G2 VH (XC156)及選自由以下組成之群之VL：小鼠11G2 VL、嵌合11G2 VL、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL (XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)及h11G2 VL (XC349)；

f. 包含以下各者之抗體：人類化11G2 VH (XC157)及選自由以下組成之群之VL：小鼠11G2 VL、嵌合11G2 VL、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL (XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)及h11G2 VL (XC349)；

g. 包含以下各者之抗體：人類化11G2 VH (XC350)及選自由以下組成之群之VL：小鼠11G2 VL、嵌合11G2 VL、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL (XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)及h11G2 VL (XC349)；

h. 包含以下各者之抗體：h11G2 VH (XC351)及選自由以下組成之群之VL：小鼠11G2 VL、嵌合11G2 VL、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL (XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)及h11G2 VL (XC349)；

i. 包含以下各者之抗體：h11G2 VH (XC352)及選自由以下組成之群之VL：小鼠11G2 VL、嵌合11G2 VL、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL (XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)及h11G2 VL (XC349)；

j. 包含以下各者之抗體：h11G2 VH (XC353)及選自由以下組成之群之VL：小鼠11G2 VL、嵌合11G2 VL、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL (XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)及h11G2 VL (XC349)；

k. 包含以下各者之抗體：h11G2 VH (XC354)及選自由以下組成之群之VL：小鼠11G2 VL、嵌合11G2 VL、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL (XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)及h11G2 VL (XC349)；

l. 包含以下各者之抗體：h11G2 VL (XC151)，及選自由以下組成之群之VH：小鼠11G2 VH、嵌合11G2 VH、h11G2 VH (XC152)、h11G2 VH (XC155)、h11G2 VH (XC156)、h11G2 VH (XC157)、h11G2 VH (XC350)、h11G2 VH (XC351)、h11G2 VH (XC352)、h11G2 VH (XC353)及h11G2 VH (XC354)；

m. 包含以下各者之抗體：h11G2 VL (XC153)，及選自由以下組成之群之VH：小鼠11G2 VH、嵌合11G2 VH、h11G2 VH (XC152)、

h11G2 VH (XC155)、h11G2 VH (XC156)、h11G2 VH (XC157)、h11G2 VH (XC350)、h11G2 VH (XC351)、h11G2 VH (XC352)、h11G2 VH (XC353)及h11G2 VH (XC354)；

n. 包含以下各者之抗體：h11G2 VL (XC154)，及選自由以下組成之群之VH：小鼠11G2 VH、嵌合11G2 VH、h11G2 VH (XC152)、h11G2 VH (XC155)、h11G2 VH (XC156)、h11G2 VH (XC157)、h11G2 VH (XC350)、h11G2 VH (XC351)、h11G2 VH (XC352)、h11G2 VH (XC353)及h11G2 VH (XC354)；

o. 包含以下各者之抗體：h11G2 VL (XC346)，及選自由以下組成之群之VH：小鼠11G2 VH、嵌合11G2 VH、h11G2 VH (XC152)、h11G2 VH (XC155)、h11G2 VH (XC156)、h11G2 VH (XC157)、h11G2 VH (XC350)、h11G2 VH (XC351)、h11G2 VH (XC352)、h11G2 VH (XC353)及h11G2 VH (XC354)；

p. 包含以下各者之抗體：h11G2 VL (XC347)，及選自由以下組成之群之VH：小鼠11G2 VH、嵌合11G2 VH、h11G2 VH (XC152)、h11G2 VH (XC155)、h11G2 VH (XC156)、h11G2 VH (XC157)、h11G2 VH (XC350)、h11G2 VH (XC351)、h11G2 VH (XC352)、h11G2 VH (XC353)及h11G2 VH (XC354)；

q. 包含以下各者之抗體：h11G2 VL (XC348)，及選自由以下組成之群之VH：小鼠11G2 VH、嵌合11G2 VH、h11G2 VH (XC152)、h11G2 VH (XC155)、h11G2 VH (XC156)、h11G2 VH (XC157)、h11G2 VH (XC350)、h11G2 VH (XC351)、h11G2 VH (XC352)、h11G2 VH (XC353)及h11G2 VH (XC354)；

r. 包含以下各者之抗體：h11G2 VL (XC349)，及選自由以下組成之群之VH：小鼠11G2 VH、嵌合11G2 VH、h11G2 VH (XC152)、h11G2 VH (XC155)、h11G2 VH (XC156)、h11G2 VH (XC157)、h11G2 VH (XC350)、h11G2 VH (XC351)、h11G2 VH (XC352)、h11G2 VH (XC353)及h11G2 VH (XC354)；

s. 包含以下各者之抗體：小鼠41A10 VH，及選自由以下組成之群之VL：小鼠41A10 VL、嵌合41A10 VL、h41A10 VL (XC142)、h41A10 VL (XC143)、h41A10 VL (XC144)、h41A10 VL (XC145)、h41A10 VL (XC146)及h41A10 VL (XC149)；

t. 包含以下各者之抗體：嵌合41A10 VH，及選自由以下組成之群之VL：小鼠41A10 VL、嵌合41A10 VL、h41A10 VL (XC142)、h41A10 VL (XC143)、h41A10 VL (XC144)、h41A10 VL (XC145)、h41A10 VL (XC146)及h41A10 VL (XC149)；

u. 包含以下各者之抗體：人類化41A10 VH (XC147)，及選自由以下組成之群之VL：小鼠41A10 VL、嵌合41A10 VL、h41A10 VL (XC142)、h41A10 VL (XC143)、h41A10 VL (XC144)、h41A10 VL (XC145)、h41A10 VL (XC146)及h41A10 VL (XC149)；

v. 包含以下各者之抗體：h41A10 VH (XC148)，及選自由以下組成之群之VL：小鼠41A10 VL、嵌合41A10 VL、h41A10 VL (XC142)、h41A10 VL (XC143)、h41A10 VL (XC144)、h41A10 VL (XC145)、h41A10 VL (XC146)及h41A10 VL (XC149)；

w. h41A10 VH (XC150)，及選自由以下組成之群之VL：小鼠41A10 VL、嵌合41A10 VL、h41A10 VL (XC142)、h41A10 VL

(XC143)、h41A10 VL (XC144)、h41A10 VL (XC145)、h41A10 VL (XC146)、h41A10 VL (XC149)及h41A10 VL (XC142)；

x. 包含以下各者之抗體：小鼠41A10 VL，及選自由以下組成之群之VH：小鼠41A10 VH、嵌合41A10 VH、h41A10 VH (XC147)、h41A10 VL (XC148)及h41A10 VL (XC150)；

y. 包含以下各者之抗體：嵌合41A10 VL，及選自由以下組成之群之VH：小鼠41A10 VH、嵌合41A10 VH、h41A10 VH (XC147)、h41A10 VL (XC148)及h41A10 VL (XC150)；

z. 包含以下各者之抗體：h41A10 VL (XC143)，及選自由以下組成之群之VH：小鼠41A10 VH、嵌合41A10 VH、h41A10 VH (XC147)、h41A10 VL (XC148)及h41A10 VL (XC150)；

aa. 包含以下各者之抗體：h41A10 VL (XC144)，及選自由以下組成之群之VH：小鼠41A10 VH、嵌合41A10 VH、h41A10 VH (XC147)、h41A10 VL (XC148)及h41A10 VL (XC150)；

bb. 包含以下各者之抗體：h41A10 VL (XC145)，及選自由以下組成之群之VH：小鼠41A10 VH、嵌合41A10 VH、h41A10 VH (XC147)、h41A10 VL (XC148)及h41A10 VL (XC150)；

cc. 包含以下各者之抗體：h41A10 VL (XC146)，及選自由以下組成之群之VH：小鼠41A10 VH、嵌合41A10 VH、h41A10 VH (XC147)、h41A10 VL (XC148)及h41A10 VL (XC150)；

dd. 包含以下各者之抗體：h41A10 VL (XC149)，及選自由以下組成之群之VH：小鼠41A10 VH、嵌合41A10 VH、h41A10 VH (XC147)、h41A10 VL (XC148)及h41A10 VL (XC150)；

- ee. 包含以下各者之抗體：小鼠5H7 VH，及選自由小鼠5H7及嵌合5H7 VL組成之群的VL；
- ff. 小鼠5H7 VL，及選自由小鼠5H7 VH及嵌合5H7 VH組成之群的VH；
- gg. 包含h11G2 VH (XC152)及h11G2 VL (XC151)之抗體；
- hh. 包含h11G2 VH (XC155)及h11G2 VL (XC153)之抗體；
- ii. 包含h11G2 VH (XC155)及h11G2 VL (XC154)之抗體；
- jj. 包含h11G2 VH (XC156)及h11G2 VL (XC153)之抗體；
- kk. 包含h11G2 VH (XC157)及h11G2 (XC154)之抗體；
- ll. 包含小鼠11G2 VH及小鼠11G2 VL之抗體；
- mm. 包含嵌合11G2 HC及嵌合11G2 LC之抗體；
- nn. 包含h11G2 VH (XC152)及h11G2 VL (XC151)之抗體；
- oo. 包含h11G2 VH (XC155)及h11G2 VL (XC154)之抗體；
- pp. 包含h11G2 VH (XC156)及h11G2 VL (XC153)之抗體；
- qq. 包含h11G2 VH (XC157)及h11G2 VL (XC154)之抗體；
- rr. 包含小鼠41A10 VH及小鼠41A10 VL之抗體；
- ss. 包含嵌合41A10 HC及嵌合41A10 LC之抗體；
- tt. 包含h41A10 VH (XC147)及h41A10 VL(XC142)之抗體；
- uu. 包含h41A10 VH(XC147)及h41A10 VL(XC143)之抗體；
- vv. 包含h41A10 VH(XC147)及h41A10 VL(XC144)之抗體；
- ww. 包含h41A10 VH(XC147)及h41A10 VL(XC145)之抗體；
- xx. 包含h41A10 VH(XC148)及h41A10 VL(XC142)之抗體；
- yy. 包含h41A10 VH(XC148)及h41A10 VL(XC143)之抗體；

zz. 包含h41A10 VH(XC148)及h41A10 VL(XC144)之抗體；

aaa. 包含小鼠5H7 VH及小鼠5H7 VL之抗體；及

bbb. 包含嵌合5H7 HC及嵌合5H7 LC之抗體。

E113. 一種抗體或其抗原結合片段，其選自由以下組成之群：

(a) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 36之VH及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 35之VL；

(b) 包含以下各者之抗體：包含序列SEQ ID: 7之CDR-H1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之CDR-H2；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之CDR-H3；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之CDR-L1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之CDR-L2；及包含序列SEQ ID NO: 4之CDR-L3；

(c) 包含以下各者之抗體：包含序列SEQ ID: 7之CDR-H1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之CDR-H2；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之CDR-H3；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之CDR-L1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之CDR-L2；及包含序列SEQ ID NO: 4之CDR-L3；

(d) 包含以下各者之抗體：包含序列SEQ ID NO: 19之CDR-H1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之CDR-H2；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 21之CDR-H3；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14之CDR-L1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之CDR-L2；及包含序列SEQ ID NO: 16之CDR-L3；

(e) 包含以下各者之抗體：如胺基酸序列SEQ ID NO: 6中所闡述之CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3，及如胺基酸序列SEQ ID NO: 1中所闡述之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3；

(f) 包含以下各者之抗體：由寄存於ATCC，具有寄存編號PTA-124323之質體之插入物編碼的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3，及由寄存

於ATCC，具有寄存編號PTA-124324之質體之插入物編碼的CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3；

(g) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之VH (XC152)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51；

(h) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之VH (XC155)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51；

(i) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之VH (XC156)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51；

(j) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之VH (XC157)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51；

(k) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 53之VH (XC350)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51；

(l) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之VH

(XC351)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51；

(m) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 55之VH (XC352)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51；

(n) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 56之VH (XC353)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51；

(o) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 55之VH (XC354)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51；

(p) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之VL (XC151)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56及SEQ ID NO: 57；

(q) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之VL (XC153)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO:

52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56及SEQ ID NO: 57；

(r) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之VL (XC154)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56及SEQ ID NO: 57；

(s) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之VL (XC346)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56及SEQ ID NO: 57；

(t) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 49之VL (XC347)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56及SEQ ID NO: 57；

(u) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之VL (XC348)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56及SEQ ID NO: 57；

(v) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之VL

(XC349)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56及SEQ ID NO: 57；

(w) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 38之VL (m 41A10 VH)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61及SEQ ID NO: 62；

(x) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 17之VH (XC148)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61及SEQ ID NO: 62；

(y) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18之VH (XC147)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61及SEQ ID NO: 62；

(z) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 63之VH (XC150)及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL：SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61及SEQ ID NO: 62；

(aa) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 37之VL (小鼠h41A10 VL)，及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 38及SEQ ID NO: 63；

(bb) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13之VL (h41A10 XC142 VL)，及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 38及SEQ ID NO: 63；

(cc) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 58之VL (h41A10 XC143 VL)，及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 38及SEQ ID NO: 63；

(dd) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 59之VL (h41A10 XC144 VL)，及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 38及SEQ ID NO: 63；

(ee) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 60之VL (h41A10 XC145 VL)，及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 38及SEQ ID NO: 63；

(ff) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 61之VL (h41A10 XC1446 VL)，及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 38及SEQ ID NO: 63；

(gg) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 62之VL (h41A10 XC149 VL)，及包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH：SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 38及SEQ ID NO: 63；

(hh) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40之VH (小鼠5H7 VH)，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39之VL；

(ii) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之VH及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之VL；

(jj) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之VH及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之VL；

(kk) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之VH及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之VL；

(ll) (ii)包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之VH及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之VL；

(mm) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之VH及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之VL；及

(nn) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之VH及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之VL。

E114. 一種抗體或其抗原結合片段，其與E1至E113中任一項之抗體或其抗原結合片段競爭結合於人類CXCR5。

E115. 一種經分離核酸，其編碼如E1至E114中任一項之抗體或其抗原結合片段。

E116. 一種經分離核酸分子，其包含至少一種編碼E1至E109中任一項之抗體或其抗原結合片段的核酸序列。

E117. 一種經分離核酸分子，其包含選自由如SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97及SEQ ID NO: 98所闡述之序列組成之群的核酸序列。

E118. 一種經分離核酸分子，其包含如SEQ ID NO: 95所闡述之核酸序列。

E119. 一種經分離核酸分子，其包含如SEQ ID NO: 96所闡述之核酸序列。

E120. 一種經分離核酸分子，其包含如SEQ ID NO: 95所闡述之核酸序列，及如SEQ ID NO: 96所闡述之核酸序列。

E121. 一種經分離核酸分子，其包含如SEQ ID NO: 97所闡述之核酸序列。

E122. 一種經分離核酸分子，其包含如SEQ ID NO: 98所闡述之核酸序列。

E123. 一種經分離核酸分子，其包含如SEQ ID NO: 97所闡述之核酸序列，及如SEQ ID NO: 98所闡述之核酸序列。

E124. 一種經分離核酸分子，其包含寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124323之質體之插入物的核酸序列。

E125. 一種經分離核酸分子，其包含寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124324之質體之插入物的核酸序列。

E126. 一種經分離核酸，其編碼特異性結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段之VH、VL或兩者，其中該核酸包含：核酸序列SEQ ID NO: 95，核酸序列SEQ ID NO: 107或兩者。

E127. 一種經分離核酸，其編碼特異性結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段之重鏈、輕鏈或兩者，其中該核酸包含：核酸序列SEQ ID NO: 97，核酸序列SEQ ID NO: 98或兩者。

E128. 一種經分離核酸，其編碼特異性結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段之VH，其中該核酸包含寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124323之質體之插入物的核酸序列。

E129. 一種經分離核酸，其編碼特異性結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段之VL，其中該核酸包含寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-

124324之質體之插入物的核酸序列。

E130. 一種經分離核酸，其編碼特異性結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段之VL及VH，其中該核酸包含寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124324之質體之插入物的核酸序列，及寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124323之質體之插入物的核酸序列。

E131. 一種載體，其包含如E115至E130中任一項之核酸分子。

E132. 一種宿主細胞，其包含如E115至E130中任一項之核酸分子，或如E131之載體。

E133. 如E132之宿主細胞，其中該細胞係哺乳動物細胞。

E134. 如E133之宿主細胞，其中該宿主細胞係CHO細胞、COS細胞、HEK-293細胞、NS0細胞、PER.C6®細胞或Sp2.0細胞。

E135. 如E132至134中任一項之宿主細胞，其中該宿主細胞缺乏功能性 α -1,6-岩藻糖基轉移酶(FUT8)。

E136. 如E132至135中任一項之宿主細胞，其中該細胞不會表現功能性 α -1,6-岩藻糖基轉移酶。

E137. 如E132至136中任一項之宿主細胞，其中該細胞缺乏編碼功能性酶之FUT8基因。

E138. 如E132至137中任一項之宿主細胞，其中該細胞缺乏編碼功能性FUT8基因之基因。

E139. 如E132至139中任一項之宿主細胞，其中該細胞係Potelligent® CHOK1SV細胞或Lec13 CHO細胞。

E140. 如E139之宿主細胞，其中該細胞係Potelligent® CHOK1SV細胞。

E141. 一種製備抗體或其抗原結合片段之方法，其包含在該抗體或抗原結合片段由該宿主細胞表現之條件下培養如E1至E114中任一項之宿主細胞。

E142. 如E141之方法，其進一步包含分離該抗體或其抗原結合片段。

E143. 一種製備去岩藻糖基化抗CXCR5抗體或其抗原結合片段之方法，該方法包含培養包含如E115至E130中任一項之核酸分子或如E131之載體的宿主細胞，其中該宿主細胞缺乏功能性FUT8。

E144. 如E143之方法，其中該宿主細胞係Potelligent® CHOK1SV細胞。

E145. 一種分離抗體或其抗原結合片段，其使用如E141至E114中任一項之方法製備。

E146. 如E1至E114中任一項之分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段經去岩藻糖基化。

E147. 如E146之去岩藻糖基化抗體或其抗原結合片段，其中相比於經岩藻糖基化之其他方面相同之抗體或其抗原結合片段，該去岩藻糖基化抗體或其抗原結合片段展現增強的抗體依賴性細胞毒性(ADCC)。

E148. 如E146之去岩藻糖基化抗體或其抗原結合片段，其中該去岩藻糖基化抗體或其抗原結合片段相比於經岩藻糖基化之其他方面相同之抗體或其抗原結合片段，展現比其ADCC大約2倍、約5倍、約7倍、約10倍、約20倍、約30倍、約40倍、約50倍、約60倍、約70倍、約80倍、約90倍、約100倍、約110倍、約120倍、約130倍、約140倍、及約143倍之ADCC。

E149. 一種醫藥組合物，其包含如E1至E114及E145至E148中任一項之抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑或賦形劑。

E150. 如E149之醫藥組合物，其中該抗體或其抗原結合片段經去岩藻糖基化。

E151. 一種降低CXCR5之活性的方法，其包含向有需要之個體投與治療有效量之如E1至E114及E145至E148中任一項的抗體或其抗原結合片段，或如E149及E150中任一項的醫藥組合物。

E152. 一種治療發炎疾病之方法，其包含向有需要之個體投與治療有效量之如E1至E114及E145至E148中任一項的抗體或其抗原結合片段，或如E149至E150中任一項的醫藥組合物。

E153. 一種治療需要免疫抑止之個體的方法，其包含向有需要之個體投與治療有效量之如E1至E114及E145至E148中任一項的抗體或其抗原結合片段，或如E149及E150中任一項的醫藥組合物。

E154. 一種治療自體免疫疾病、病症或病狀的方法，其包含向有需要之個體投與治療有效量之如E1至E114及E145至E148中任一項的抗體或其抗原結合片段，或如E149及E150中任一項的醫藥組合物。

E155. 一種減少有需要之個體中表現CXCR5之細胞數目之方法，該方法包含向個體投與治療有效量之如E1至E114及E145至E148中任一項的抗體或其抗原結合片段，或如E149及E150中任一項的醫藥組合物。

E156. 如E155之方法，其中該等細胞在其表面上表現CXCR5。

E157. 如E156之方法，其中該等細胞係B細胞及Tfh樣細胞。

E158. 如E E151至E157中任一項之方法，其中該個體係人類。

E159. 如E151至E158中任一項之方法，其包含經靜脈內投與該抗

體或其抗原結合片段或醫藥組合物。

E160. 如E151至E158中任一項之方法，其包含皮下投與該抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物。

E161. 如E151至E160中任一項之方法，其中該抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物係經約一週兩次、一週一次、每兩週一次、每三週一次、每四週一次、每五週一次、每六週一次、每七週一次、每八週一次、每九週一次、每十週一次、每月兩次、每月一次、每兩月一次、每三月一次、每四月一次、每五月一次、每六月一次、每七月一次、每八月一次、每九月一次、每十月一次、每十一月一次或每十二月一次投與。

E162. 一種減少樣品中CXCR5+細胞數目之方法，該方法包含使該細胞與如E1至E114及E145至E148中任一項之抗體或其抗原結合片段，或如E149及E150中任一項之醫藥組合物接觸。

E163. 如E1至E114及E145至E148中任一項之抗體或其抗原結合片段，或如E149及E150中任一項之醫藥組合物，其用作藥劑。

E164. 如E1至E114及E145至E148中任一項之抗體或其抗原結合片段，或如E149及E150中任一項之醫藥組合物，其用於降低個體中之CXCR5活性。

E165. 如E1至E114及E145至E148中任一項之抗體或其抗原結合片段，或如E149及E150中任一項之醫藥組合物，其用於治療需要免疫抑止之個體。

E166. 如E1至E114及E145至E148中任一項之抗體或其抗原結合片段，或如E149及E150中任一項之醫藥組合物，其用於治療個體中之自體免疫疾病、病症或病狀。

E167. 一種如E1至E114及E145至E148中任一項之抗體或其抗原結合片段在製造用於治療免疫疾病、病症或病狀之藥劑之用途。

E168. 一種如E149及E150中任一項之醫藥組合物在製造用於治療免疫疾病、病症或病狀之藥劑之用途。

E169. 一種治療醫學病狀之方法，其包含向有需要之個體投與治療有效量之如E1至E114及E145至E148中任一項的抗體或其抗原結合片段，或如E149及E150中任一項的醫藥組合物。

E170. 如E169之方法，其中該病狀係選自由以下組成之群：發炎反應，諸如發炎性皮膚病，包括牛皮癬及皮膚炎(例如異位性皮膚炎)；皮肌炎；全身硬皮病及硬化症；與發炎性腸病相關之反應(諸如克羅恩氏病(Crohn's disease)及潰瘍性結腸炎)；呼吸窘迫症候群(包括成人呼吸窘迫症候群；ARDS)；皮膚炎；腦膜炎；腦炎；葡萄膜炎；結腸炎；胃炎；腎小球腎炎；過敏性體質，諸如濕疹及哮喘以及涉及T細胞浸潤及慢性發炎反應之其他病狀；動脈粥樣硬化；白血球黏著缺乏症；類風濕性關節炎；全身性紅斑性狼瘡症(SLE)；糖尿病(例如I型糖尿病或胰島素依賴性糖尿病)；多發性硬化症；雷諾氏症候群(Reynaud's syndrome)；自體免疫甲狀腺炎；過敏性腦脊髓炎；休格連氏症候群(Sjogren's syndrome)；幼年型發病型糖尿病；及通常在肺結核、類肉瘤病、多發性肌炎、肉芽腫及脈管炎中發現之與細胞介素及T淋巴球所介導之急性及遲發性過敏反應相關的免疫反應；韋格納病(Wegener's disease)；惡性貧血(艾迪森氏病(Addison's disease))；涉及白血球血球滲出之疾病；中樞神經系統(CNS)發炎病症；多器官損傷症候群；溶血性貧血(包括但不限於冷球蛋白血症或庫姆氏陽性貧血)；重症肌無力；抗原-抗體複合物介導之疾病；抗腎小

球基底膜疾病；抗磷脂症候群；過敏性神經炎；葛瑞夫茲氏病(Graves' disease)；朗伯-伊頓肌無力症候群(Lambert-Eaton myasthenic syndrome)；大皰性類天疱瘡；天疱瘡；自體免疫多內分泌病變；白斑病；萊特爾氏病(Reiter's disease)；僵人症候群；白塞氏病(Bechet disease)；巨大細胞動脈炎；免疫複合體腎炎；IgA腎病；IgM多發性神經病；免疫性血小板減少性紫癍(ITP)或自體免疫血小板減少症及自體免疫溶血性疾病；橋本氏甲狀腺炎；自體免疫肝炎；自體免疫血友病；自體免疫淋巴增生症候群(ALPS)；自體免疫葡萄膜視網膜炎；格-巴二氏症候群(Guillain-Barre syndrome)；古德巴士德氏症候群(Goodpasture's syndrome)；混合性結締組織病；自體免疫相關之不育；結節性多動脈炎；斑禿；特發性黏液水腫；移植物抗宿主疾病；肌肉萎縮症(杜興氏型、貝克爾型、肌緊張性型、肢帶型、面肩胛臂型、先天性型、眼咽型、遠端型、艾-德型)及控制表現CXCR5之癌細胞，諸如胰臟癌、結腸癌、膀胱癌、T細胞白血病及B細胞白血病之增殖。

E171. 一種使用如E1至E114及E145至E148中任一項之抗體或其抗原結合片段，或如E149及E150中任一項之醫藥組合物偵測樣品、組織或細胞中之CXCR5的方法，其包含使該樣品、組織或細胞與抗體接觸及偵測該抗體。

E172. 一種特異性結合CXCR5之分離抗體，或其抗原結合片段，其中該抗體係至少一種選自由以下組成之群的抗體：

(a) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之CDR-L1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之CDR-L2；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之CDR-L3；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之CDR-H1；包含胺基

酸序列SEQ ID NO: 8之CDR-H2；及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之CDR-H3；

(b) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之CDR-L1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之CDR-L2；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之CDR-L3；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之CDR-H1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之CDR-H2；及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之CDR-H3；

(c) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14之CDR-L1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之CDR-L2；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之CDR-L3；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 19之CDR-H1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之CDR-H2；及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 21之CDR-H3；

(d) 包含以下各者之抗體：包含由寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124324之質體之插入物編碼的胺基酸序列之VL及包含由寄存於ATCC，具有寄存編號PTA-124323之質體之插入物編碼的胺基酸序列之VH；

(e) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之VH；

(f) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18之VH；

(g) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之VH；

(h) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之VL，

及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之VH；

(i) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之VH；

(j) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 17之VH；

(k) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之VH；

(l) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 22之LC，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HC；

(m) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 24之LC，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 25之HC；

(n) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 26之LC，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 27之HC；

(o) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 28之LC，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 29之HC；

(p) 包含以下各者之抗體：由核酸序列SEQ ID NO: 95編碼之VL，及由核酸序列SEQ ID NO: 96編碼之VH；及

(q) 包含以下各者之抗體：由核酸序列SEQ ID NO: 97編碼之LC，及由核酸序列SEQ ID NO: 98編碼之HC。

E173. 一種特異性結合C-X-C-趨化介素受體5 (CXCR5)之分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段係至少一種選自由以下組成之群的抗體：

(a) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合包含根據胺基酸序列SEQ

ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號11處之白胺酸的hCXCR5抗原決定基，但不結合其中該殘基並非白胺酸之該抗原決定基；

(b) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合包含根據該胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號11處之白胺酸的hCXCR5抗原決定基，但不結合其中該殘基係蘇胺酸之該抗原決定基；

(c) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合包含根據該胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸的hCXCR5抗原決定基，但不結合其中該殘基並非天冬胺酸之該抗原決定基；

(d) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合包含根據該胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸的hCXCR5抗原決定基，但不結合其中該殘基係丙胺酸之該抗原決定基；

(e) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合包含根據該胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號11處之白胺酸及在胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸的hCXCR5抗原決定基，但不結合其中該白胺酸經蘇胺酸取代及/或該天冬胺酸經丙胺酸取代之該抗原決定基；

(f) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合包含根據該胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號11處之白胺酸的hCXCR5或其片段，但不結合其中該殘基並非白胺酸之hCXCR5或其片段；

(g) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合包含根據該胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號11處之白胺酸的hCXCR5或其片段，但不結合其中該殘基係蘇胺酸之hCXCR5或其片段；

(h) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合包含根據該胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸的hCXCR5或其

片段，但不結合其中該殘基並非天冬胺酸之hCXCR5或其片段；

(i) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合包含根據該胺基酸序列 SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸的hCXCR5或其片段，但不結合其中該殘基係丙胺酸之hCXCR5或其片段；及

(j) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合包含根據該胺基酸序列 SEQ ID NO: 32之編號在胺基酸殘基編號11處之白胺酸及在胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸的hCXCR5或其片段，但不結合其中該白胺酸經蘇胺酸取代及/或該天冬胺酸經丙胺酸取代之hCXCR5或其片段。

E174. 一種特異性結合C-X-C-趨化介素受體5 (CXCR5)之分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段係至少一種選自由以下組成之群的抗體：

(a) 以下抗體或其抗原結合片段：其以EC50為約6.60 pM，標準偏差為約±2.33 pM之表觀親和力結合在人類B細胞上表現之hCXCR5；

(b) 以下抗體或其抗原結合片段：其以EC50為約5.89 pM，標準偏差為約±1.40 pM之表觀親和力結合在人類循環濾泡T輔助樣細胞上表現之hCXCR5；

(c) 以下抗體或其抗原結合片段：其以EC50為約10.6 pM之表觀親和力結合在人類濾泡T輔助(Tfh)細胞上表現之hCXCR5；

(d) 以下抗體或其抗原結合片段：其以EC50為約1.32 pM之表觀親和力結合在食蟹獼猴B細胞上表現之cynoCXCR5；

(e) 以下抗體或其抗原結合片段：其以EC50為約10.5 pM之表觀親和力結合在食蟹獼猴Tfh樣細胞上表現之cynoCXCR5；

(f) 以下抗體或其抗原結合片段：其以約961 pM之EC50拮抗

cAMP報導分析中之CXCR5-CXCL13信號傳導；

(g) 以下抗體或其抗原結合片段：其展現EC50為約2.01 pM，標準偏差為約±2.28 pM之對表現hCXCR5之人類B細胞的ADCC活性；

(h) 以下抗體或其抗原結合片段：其展現EC50為約4.28 pM，標準偏差為約±2.88 pM之對表現hCXCR5之人類Tfh樣細胞的ADCC活性；

(i) 以下抗體或其抗原結合片段：展現EC50為約0.11 pM之對表現hCXCR5之人類Tfh細胞的ADCC活性；

(j) 以下抗體或其抗原結合片段：其展現EC50為約15.3 pM，標準偏差為約±11.7 pM之對表現cynoCXCR5之食蟹獼猴B細胞的ADCC活性；

(k) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合hCXCR5但不會可偵測地結合人類趨化介素受體CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、CMKLR1、CXCR3R1、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CXCR7及XCR1；

(l) 抑制CXCR5與CXCL13結合之抗體或其抗原結合片段；

(m) 以EC50小於約26 pM之表觀親和力結合CXCR5+人類B細胞，但不結合表現CXCR5小鼠、大鼠或兔異種同源物之細胞的抗體或其抗原結合片段；

(n) 拮抗由毛喉素觸發之對cAMP釋放之CXCL13抑制的抗體或其抗原結合片段；

(o) 觸發人類供體及食蟹獼猴PBMC及人類供體TMC中之CXCR5表現細胞之ADCC的抗體或其抗原結合片段；

(p) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合人類CXCR5但不結合人

類趨化介素受體CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、CMKLR1、CXCR3R1、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CXCR7或XCR1；

- (q) 耗竭外周血液中之B細胞的抗體或其抗原結合片段；
- (r) 耗竭外周血液中之Tfh樣細胞的抗體或其抗原結合片段；
- (s) 耗竭脾中之真正(bona fide) Tfh細胞的抗體或其抗原結合片段；及
- (t) 損害體液性免疫記憶反應之抗體或其抗原結合片段。

E175. 如E172至E174中任一項之抗體，其中該抗體或其抗原結合片段展現以下生物活性中之至少一者：

- (a) 以EC50小於約26 pM之表觀親和力結合CXCR5+人類B細胞，但不結合表現CXCR5小鼠、大鼠或兔異種同源物之細胞；
- (b) 拮抗由毛喉素觸發之對cAMP釋放之CXCL13抑制；
- (c) 觸發人類供體及食蟹獼猴PBMC及人類供體TMC中之CXCR5表現細胞之ADCC；
- (d) 結合人類CXCR5但不結合人類趨化介素受體CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、CMKLR1、CXCR3R1、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CXCR7或XCR1；
- (e) 耗竭該外周血液中之B細胞；
- (f) 耗竭該外周血液中之Tfh樣細胞；
- (g) 耗竭該脾中之真正(bona fide) Tfh細胞；或
- (h) 損害體液性免疫記憶反應。

E176. 如E172至E175中任一項之抗體，其中該抗體或其抗原結合片段經去岩藻糖基化。

E177. 一種經分離核酸，其編碼如E172至E176中任一項之抗體或其抗原結合片段。

E178. 一種經分離核酸，其編碼特異性結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段之VH、VL或兩者，其中該核酸包含：核酸序列SEQ ID NO: 95，核酸序列SEQ ID NO: 96或兩者。

E179. 一種經分離核酸，其編碼特異性結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段之重鏈、輕鏈或兩者，其中該核酸包含：核酸序列SEQ ID NO: 97，核酸序列SEQ ID NO: 98或兩者。

E180. 一種經分離核酸，其編碼特異性結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段之VH、VL或兩者，其中該核酸包含寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124323之質體之插入物的核酸序列，寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124324之質體之插入物的核酸序列，或兩者。

E181. 一種載體，其包含如E177至E180中任一項之核酸。

E182. 一種宿主細胞，其包含如E181之載體。

E183. 如E182之宿主細胞，其中該宿主細胞係選自由以下組成之群的哺乳動物細胞：CHO細胞、COS細胞、HEK-293細胞、NS0細胞、PER.C6®細胞或Sp2.0細胞。

E184. 如E183之宿主細胞，其中該細胞缺乏功能性 α -1,6-岩藻糖基轉移酶(FUT8)。

E185. 如E184之宿主細胞，其中該細胞係Potelligent® CHOK1SV細胞或Lec13 CHO細胞。

E186. 一種在抗體或其抗原結合片段由如E185之Potelligent® CHOK1SV細胞表現且係去岩藻糖基化之條件下製備抗體，或其抗原結合片段之方法，其包含該宿主細胞。

E187. 如E186之方法，其進一步包含分離該抗體或其抗原結合片段。

E188. 如E186之去岩藻糖基化抗體，或其抗原結合片段，其中該抗體與經岩藻糖基化之其他方面相同之抗體或其抗原結合片段相比時展現增強的ADCC活性。

E189. 一種醫藥組合物，其包含如E172至E176及E188中任一項之抗體或其抗原結合片段，及醫藥學上可接受之載劑或賦形劑。

E190. 如E172至E176、E188中任一項之抗體或其抗原結合片段，及E189之醫藥組合物，其用於治療免疫疾病、病症或病狀。

E191. 一種如E172至E176、E188中任一項之抗體或其抗原結合片段，或如E189之醫藥組合物之用途，其用於治療免疫疾病、病症或病狀。

E192. 一種用於治療或預防有需要之人類個體中之CXCR5介導的免疫疾病、病症或病況之方法，該方法包含向該個體投與有效量之如E189之醫藥組合物，其中該疾病、病症或病況係選自由以下組成之群：發炎反應，諸如發炎性皮膚病，包括牛皮癬及皮膚炎(例如異位性皮膚炎)；皮肌炎；全身硬皮病及硬化症；與發炎性腸病(諸如克羅恩氏病(Crohn's disease)及潰瘍性結腸炎)相關之反應；呼吸窘迫症候群(包括成人呼吸窘迫症候群；ARDS)；皮膚炎；腦膜炎；腦炎；葡萄膜炎；結腸炎；胃炎；腎小球腎炎；過敏性體質，諸如濕疹及哮喘以及涉及T細胞浸

潤及慢性發炎反應之其他病狀；動脈粥樣硬化；白血球黏著缺乏症；類風濕性關節炎(RA)；全身性紅斑性狼瘡症(SLE)；糖尿病(例如I型糖尿病或胰島素依賴性糖尿病)；多發性硬化症；雷諾氏症候群(Reynaud's syndrome)；自體免疫甲狀腺炎；過敏性腦脊髓炎；休格連氏症候群(Sjogren's syndrome)；幼年型發病型糖尿病；及通常在肺結核、類肉瘤病、多發性肌炎、肉芽腫及脈管炎中發現之與細胞介素及T淋巴球所介導之急性及遲發性過敏反應相關的免疫反應；韋格納病(Wegener's disease)；惡性貧血(艾迪森氏病(Addison's disease))；涉及白血球血球滲出之疾病；中樞神經系統(CNS)發炎病症；多器官損傷症候群；溶血性貧血(包括但不限於冷球蛋白血症或庫姆氏陽性貧血)；重症肌無力；抗原-抗體複合物介導之疾病；抗腎小球基底膜疾病；抗磷脂症候群；過敏性神經炎；葛瑞夫茲氏病(Graves' disease)；朗伯-伊頓肌無力症候群(Lambert-Eaton myasthenic syndrome)；大皰性類天疱瘡；天疱瘡；自體免疫多內分泌病變；白斑病；萊特爾氏病(Reiter's disease)；僵人症候群；白塞氏病(Bechet disease)；巨大細胞動脈炎；免疫複合體腎炎；IgA腎病；IgM多發性神經病；免疫性血小板減少性紫癍(ITP)或自體免疫血小板減少症及自體免疫溶血性疾病；橋本氏甲狀腺炎；自體免疫肝炎；自體免疫血友病；自體免疫淋巴增生症候群(ALPS)；自體免疫葡萄膜視網膜炎；格-巴二氏症候群(Guillain-Barre syndrome)；古德巴士德氏症候群(Goodpasture's syndrome)；混合性結締組織病；自體免疫相關之不育；結節性多動脈炎；斑禿；特發性黏液水腫；移植物抗宿主疾病；肌肉萎縮症(杜興氏型、貝克爾型、肌緊張性型、肢帶型、面肩胛臂型、先天性型、眼咽型、遠端型、艾-德型)及控制表現CXCR5之癌細胞，諸如胰臟

癌、結腸癌、膀胱癌、T細胞白血病及B細胞白血病之增殖。

E193. 如E192之方法，其中該疾病係SLE或類風濕性關節炎。

E194. 一種如E172至E176或E188中任一項之抗體或其抗原結合片段在製造用於治療免疫疾病、病症或病狀之藥劑中之用途。

E195. 一種使用如E172至E176中任一項之抗體或其抗原結合片段偵測樣品、組織或細胞中之CXCR5的方法，其包含使該樣品、組織或細胞與該抗體接觸及偵測該抗體。

E196. 一種降低有需要之個體中之CXCR5的生物活性之方法，該方法包含投與治療有效量之如E172至E176或E188中任一項之抗體或其抗原結合片段，或如E189之醫藥組合物。

E197. 如E196之方法，其中該抗體介導至少一種選自由以下組成之群之表現CXCR5的細胞的耗竭：脾中之Tfh細胞、外周血液中之B細胞，及外周血液中之Tfh樣細胞。

E198. 一種抑制有需要之個體中之體液性免疫反應的方法，該方法包含投與治療有效量之如E172至E176或E188中任一項之抗體或其抗原結合片段，或如E189之醫藥組合物。

E199. 如E198之方法，其中該抗體介導至少一種選自由以下組成之群之表現CXCR5的細胞的耗竭：脾中之Tfh細胞、外周血液中之B細胞，及外周血液中之Tfh樣細胞。

【圖式簡單說明】

【0011】 當結合隨附圖式閱讀時，將更好地理解本發明之前述發明內容以及以下實施方式。為了說明本發明，展示於圖示實施例中。然而，應理解本發明並不限於所示精確配置及手段。

【0012】 圖1係說明通常存在於免疫球蛋白重鏈恆定區中之典型二觸角糖型的圖式。該圖式展示根據如Kabat等人所描述之Edelman等人, 1969, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63(1):78-85, 1991之Eu編號, 在胺基酸殘基編號297處IgG恆定域上之天冬醯胺連接(N連接)之糖型(天冬醯胺297; *Asn297*)。

【0013】 圖2A-2G係描繪通常存在於免疫球蛋白重鏈恆定區中之例示性二觸角糖型的圖式。「G0」係指其中無末端唾液酸(NeuAc)或Gal存在之二觸角結構, 「G1」係指具有一個Gal且無NeuAc之二觸角結構且「G2」係指具有兩個末端Gal且無NeuAc之二觸角結構。在各糖型中, 岩藻糖通常存在於哺乳動物細胞, 例如CHO細胞中產生之抗體中。圖2A展示G2S2, 圖2B展示G2S1, 圖2C展示G2, 圖2D展示G1, 圖2E展示G0, 圖2F展示G -1, 且圖2G展示G-2。

【0014】 圖3描繪條形圖, 其展示各種單株抗體(在x軸上表示)與表現人類CXCR5 (hCXCR5 293)之HEK 293細胞(較亮條柱)及/或表現獼猴CXCR5 (cynoCXCR5 293)之HEK 293細胞(較暗條柱)的結合。

【0015】 圖4A描繪展示缺乏各種抗CXCR5抗體與表現CXCR1之細胞之可偵測結合的圖式。

【0016】 圖4B描繪展示缺乏各種抗CXCR5抗體與表現CXCR2之細胞之結合的圖式。

【0017】 圖4C描繪展示缺乏各種抗CXCR5抗體與表現CXCR3之細胞之結合的圖式。

【0018】 圖4D描繪展示各種抗CXCR5抗體與天然表現CXCR4之Jurkat細胞之結合的圖式。

【0019】圖5描繪展示抗體與CXCR5表現細胞之結合親和力之圖：去岩藻糖基化h11G2 XC154/XC155 (空心圓)、岩藻糖基化h11G2 XC154/XC155 (實心圓)、2C9 (實心三角形)、16D7 (實心方塊)及11A7 (實心橢圓形)。

【0020】圖6展示人類與小鼠CXCR5胺基酸序列之對準。該圖亦展示標記為帶下劃線之「N」、「L1」、「L2」及「L3」之CXCR5的各種胞外域。

【0021】圖7描繪條形圖，其展示某些胺基酸殘基對抗體與hCXCR5至關重要。亦即，改變D10G或將SI插入人類中定序、消除抗體2C9之結合但未影響另外三種抗體之結合。更重要地，取代L11T或D22A消除11G2之結合但未影響2C9、16D7或11A7之結合。改變在胺基酸殘基編號19處之W至K (W19K)消除抗體16D7及11A7之結合但未影響11G2及2C9之結合。此等資料證實此等四種抗體在hCXCR5上並未共用相同抗原決定基。

【0022】圖8A描繪展示雄性食蟹獼猴中之外周血液B細胞之耗竭及復原的圖。經由352天探索性毒性研究展示雄性中每微升血液之外周血液B細胞數目。B細胞定義為CD3-CD20+。展示個體動物資料。雄性猴中B細胞之歷史範圍(272-2503個細胞/微升)由短劃線表示。

【0023】圖8B描繪展示雌性食蟹獼猴中之外周血液B細胞之耗竭及復原的圖。經由352天探索性毒性研究展示雌性中每微升血液之外周血液B細胞數目。B細胞定義為CD3-CD20+。展示個體動物資料。雌性猴中B細胞之歷史範圍(233-1700個細胞/微升)由短劃線表示。

【0024】圖8C描繪展示雄性食蟹獼猴中Tfh樣(亦稱作「cTfh」或

「循環Tfh」細胞)細胞之耗竭及復原的圖。經由352天探索性毒性研究展示雄性中每微升血液之外周血液Tfh樣細胞數目。Tfh樣細胞定義為CD3+CD4+CD95+CXCR5+細胞與CD3+CD4+CD95+hIgG+細胞之總和，因為試驗件干擾用於免疫表型之CXCR5抗體。展示個體動物資料。

【0025】 圖8D描繪展示雌性食蟹獼猴中Tfh樣(亦稱作「cTfh」或「循環Tfh」細胞)細胞之耗竭及復原的圖。經由352天探索性毒性研究展示雌性中每微升血液之外周血液Tfh樣細胞數目。Tfh樣細胞定義為CD3+CD4+CD95+CXCR5+細胞與CD3+CD4+CD95+hIgG+細胞之總和，因為試驗件干擾用於免疫表型之CXCR5抗體。展示個體動物資料。

【0026】 圖9A描繪展示食蟹獼猴中之外周血液B細胞之耗竭及復原的圖。經由393天關鍵GLP毒性研究展示猴子中每微升血液之外周血液B細胞數目。B細胞定義為CD3-CD20+ HLA-DR+細胞。展示組平均值資料(雄性及雌性組合)+/-標準偏差。

【0027】 圖9B描繪展示食蟹獼猴中之外周血液CXCR5+ B細胞之耗竭及復原的圖。經由393天關鍵GLP毒性研究展示猴子中每微升血液之外周血液CXCR5+ B細胞數目。B細胞定義為CD3-CD20+ HLA-DR+細胞。展示組平均值資料(雄性及雌性組合)+/-標準偏差。

【0028】 圖9C描繪展示食蟹獼猴中外周血液循環濾泡性T輔助細胞(cTfh；本文中其他地方亦稱為「Tfh樣細胞」)之耗竭及復原的圖。經由393天關鍵GLP毒性研究展示猴子中每微升血液之外周血液cTfh細胞數目。cTfh細胞定義為CD3+CD4+CD95+細胞。展示組平均值資料(雄性及雌性組合)+/-標準偏差。

【0029】 圖9D描繪展示食蟹獼猴中具有可偵測表面CXCR5之外周

血液CXCR5+ cTfh細胞(本文中其他地方亦稱為「Tfh樣細胞」)之耗竭及復原的圖。經由393天關鍵GLP毒性研究展示猴子中每微升血液之外周血液CXCR5+ cTfh細胞數目。cTfh細胞定義為CD3+CD4+CD95+細胞。展示組平均值資料(雄性及雌性組合)+/-標準偏差。

【實施方式】

相關申請案

【0030】本申請案主張2017年12月1日申請之美國第62/593,830號和2018年9月18日申請之美國第62/732,985號之優先權，其內容以全文引用之方式併入本文中。

序列表

【0031】本說明書藉由引用進一步併入在2018年11月28日與其一起提供之序列表。依照37 C.F.R. § 1.52(e)(5)，標識為PC72320A_Seq_Listing_ST25.txt之序列表文本文件係112,891字節且創建於2018年11月15日。以電子方式與其一起申請之序列表不會延伸超出說明書之範疇且因此不含有新主題。

達成聯合研究聲明之各方

【0032】當前所主張之發明係由達成聯合研究協議之下列各方完成或以其為名義完成。聯合研究協議在所主張發明完成之日或該日期之前生效，且所主張發明係作為在聯合研究協議之範疇內進行的活動之結果而完成。達成聯合研究協議之各方係代表其SAN DIEGO CAMPUS之THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA及PFIZER INC。

【0033】本文揭示特異性結合於CXCR5之抗體及另外，拮抗CXCR5活性或其與CXCL13相互作用之抗體。提供製備CXCR5抗體之方

法，包含此等抗體之組合物，及使用此等抗體之方法。

【0034】 提供結合CXCR5之岩藻糖基化及去岩藻糖基化抗體。在一些實施例中，亦提供能夠形成結合CXCR5之抗體的去岩藻糖基化抗體重鏈及輕鏈。在一些實施例中，提供包含一或多個特定互補決定區(CDR)之去岩藻糖基化抗體重鏈及輕鏈。在一些實施例中，去岩藻糖基化抗CXCR5抗體具有變化之效應功能。在一些實施例中，本發明之抗體相對於本發明之其他方面相同之岩藻糖基化抗CXCR5抗體具有增強的ADCC活性。

【0035】 提供編碼結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段之聚核苷酸。亦提供編碼抗體重鏈或輕鏈之聚核苷酸。提供表現岩藻糖基化及/或去岩藻糖基化抗CXCR5抗體之宿主細胞。提供使用去岩藻糖基化及岩藻糖基化對CXCR5之抗體的治療方法。此類方法包括但不限於治療與CXCR5表現及/或與CXCL13結合相關或由其介導之疾病(包括但不限於發炎性疾病及免疫疾病)的方法。

【0036】 本文中所用之部分標題僅出於組織目的而不應理解為限制所述主題。

【0037】 本文所引用之所有參考文獻，包括專利申請案、專利公開案及Genbank寄存編號，均以引用之方式併入本文中，如同特定且個別地指示每一個別參考文獻以全文引用的方式併入本文中一般。

【0038】 本文所述或所引用之技術及程序普遍有充分瞭解且通常由熟習此項技術者使用習知方法採用，諸如在以下各者中所述的廣泛採用的方法：Sambrook等人, Molecular Cloning: A Laboratory Manual 第3版 (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.

CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (F. M. Ausubel 等人編, (2003)) ; METHODS IN ENZYMOLOGY 系列(Academic Press, Inc.) : PCR 2: A PRACTICAL APPROACH (M. J. MacPherson, B. D. Hames及G. R. Taylor編 (1995))、Harlow及Lane編 (1988) ANTIBODIES, A LABORATORY MANUAL及ANIMAL CELL CULTURE (R. I. Freshney編 (1987)) ; Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait編, 1984) ; Methods in Molecular Biology, Humana Press ; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis編, 1998) Academic Press ; Animal Cell Culture (R. I. Freshney編, 1987) ; Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather及P. E. Roberts, 1998) Plenum Press ; Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths及D. G. Newell編, 1993-8) J. Wiley and Sons ; Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir及C. C. Blackwell編) ; Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller及M. P. Calos編, 1987) ; PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis等人編, 1994) ; Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan等人編, 1991) ; Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999) ; Immunobiology (C. A. Janeway及P. Travers, 1997) ; Antibodies (P. Finch, 1997) ; Antibodies: A Practical Approach (D. Catty編, IRL Press, 1988-1989) ; Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd及C. Dean編, Oxford University Press, 2000) ; Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow及D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)) ; The Antibodies (M. Zanetti及J. D.

Capra編, Harwood Academic Publishers, 1995); 及Cancer: Principles and Practice of Oncology (V. T. DeVita等人編, J.B. Lippincott Company, 1993); 及其更新版本。

【0039】 岩藻糖基化或去岩藻糖基化之CXCR5抗體可用於預防、治療及/或改善由CXCR5活性引起及/或與其相關之疾病、病症或病狀。此類疾病、病症或病狀包括但不限於發炎反應，諸如全身性紅斑性狼瘡症(SLE); 慢性發炎反應; 動脈粥樣硬化; 白血球黏著缺乏症; 類風濕性關節炎; 糖尿病(例如I型糖尿病或胰島素依賴性糖尿病); 多發性硬化症; 雷諾氏症候群; 自體免疫甲狀腺炎; 過敏性腦脊髓炎; 休格連氏症候群; 幼年型發病型糖尿病; 及通常在肺結核、類肉瘤病、多發性肌炎、肉芽腫及脈管炎中發現之與細胞介素及T淋巴球所介導之急性及遲發性過敏反應相關的免疫反應; 韋格納病; 惡性貧血(艾迪森氏病); 涉及白血球血球滲出之疾病; 中樞神經系統(CNS)發炎病症; 多器官損傷症候群; 溶血性貧血(包括但不限於冷球蛋白血症或庫姆氏陽性貧血); 重症肌無力; 抗原-抗體複合物介導之疾病; 抗腎小球基底膜疾病; 抗磷脂症候群; 過敏性神經炎; 葛瑞夫茲氏病; 朗伯-伊頓肌無力症候群; 大疱性類天疱瘡; 天疱瘡; 自體免疫多內分泌病變; 白斑病; 萊特爾氏病; 僵人症候群; 白塞氏病; 巨大細胞動脈炎; 免疫複合體腎炎; IgA腎病; IgM多發性神經病; 免疫性血小板減少性紫癍(ITP)或自體免疫血小板減少症及自體免疫溶血性疾病; 橋本氏甲狀腺炎; 自體免疫肝炎; 自體免疫血友病; 自體免疫淋巴增生症候群(ALPS); 自體免疫葡萄膜視網膜炎; 格-巴二氏症候群; 古德巴士德氏症候群; 混合性結締組織病; 自體免疫相關之不育; 結節性多動脈炎; 斑禿; 特發性黏液水腫; 移植物抗宿主疾病; 肌肉萎縮症(杜興

氏型、貝克爾型、肌緊張性型、肢帶型、面肩胛臂型、先天性型、眼咽型、遠端型、艾-德型)及控制表現CXCR5之癌細胞，諸如胰臟癌、結腸癌、膀胱癌、T細胞白血病及B細胞白血病之增殖，如熟習此項技術者考慮到本文所揭示之教示內容所瞭解。

I.定義

【0040】 參考以下本發明之例示性實施例之實施方式及其中包括之實例可更易於理解本發明。

【0041】 除非另外定義，否則本文所用之所有技術及科學術語均具有與本發明所屬領域之一般熟習此項技術者通常所理解相同之含義。在有衝突之情況下，將以本說明書(包括定義)為準。

【0042】 此外，除非情景另有需要或另外明確地指出，否則單數術語應包括複數且複數術語應包括單數。

【0043】 應瞭解本文中所述之本發明之態樣及實施例包括「由態樣及實施例組成」及/或「主要由態樣及實施例組成」。除非另外規定，否則如本文中所使用，單數形式「一(a/an)」及「該(the)」包括複數個參考物。

【0044】 在本申請案中，除非明確地敘述或熟習此項技術者所瞭解，否則「或」之使用意謂「及/或」。在多重附屬項之情況下，「或」之使用重新提及超過一個前述獨立項或附屬項。

【0045】 「約」或「大約」與可量測之數字變量結合使用時係指變量之指示值及在指示值之實驗誤差內(例如平均值之95%信賴區間內)或指示值之10個百分比內(無論哪個更大)的變量之所有值。數值範圍包括界定該範圍之數字。

【0046】 儘管闡述本發明之廣泛範疇的數值範圍及參數為近似值，但特定實施例中所闡述之數值應儘可能精確地報告。然而，任何數值均固有地含有因其對應測試量測值中發現之標準差所必然引起的某些誤差。此外，本文中所揭示之所有範圍應理解為涵蓋任何及所有其中所包含之子範圍。舉例而言，「1至10」之陳述範圍應視為包括最小值1與最大值10之間(包括端值)的任何及所有子範圍；亦即，以最小值1或更大開始(例如1至6.1)且以最大值10或更小結束(例如5.5至10)之所有子範圍。

【0047】 在整個本說明書及申請專利範圍中，措詞「包含(comprise)」或諸如「包含(comprises)」或「包含(comprising)」之變體應理解為意謂著包括所述整數或整數群但不排除任何其他整數或整數群。除非上下文另外需要，否則單數術語應包括複數且複數術語應包括單數。在術語「例如(e.g.)」或「例如(for example)」之後的任何實例並不意謂窮盡性或限制性。

【0048】 應理解在本文中任何地方之實施例皆用語言「包含」描述，或亦提供用術語「由……組成」及/或「基本上由……組成」所描述之類似實施例。

【0049】 當本發明之態樣或實施例根據馬庫西群組(Markush group)或其他替代群組進行描述時，本發明不僅涵蓋整體列出之全部群組，而且涵蓋獨立群組之各成員及主群組之所有可能子組，且亦涵蓋缺乏一或多個群組成員之主群組。本發明亦設想明確排除所主張之發明中之任何群組成員中的一或多者。

【0050】 應瞭解，本文所用術語僅出於描述特定實施例之目的且不意欲為限制性的。在本說明書及隨後的申請專利範圍中，將引用多個術

語，該等術語應經定義而具有以下含義。

【0051】 術語「經分離分子」(其中分子係例如多肽、聚核苷酸或抗體或其片段)係以下分子：其藉助於其來源或衍生源(1)不與在其天然狀態下與其伴隨之天然的相關組分結合；(2)基本上不含來自同一物種之其他分子；(3)由來自不同物種之細胞表現，或(4)不在自然界中出現。因此，經化學合成或表現於與天然來源之細胞不同之細胞系統中的分子將自其天然相關組分「分離」。使用此項技術中熟知之純化技術，藉由分離亦可使分子實質上不含天然相關之組分。可藉由此項技術中熟知之多種方法分析分子純度或均勻性。舉例而言，多肽樣品之純度可使用聚丙烯醯胺凝膠電泳及凝膠染色以使用此項技術中熟知之技術使多肽顯現來分析。出於某些目的，可藉由使用HPLC或此項技術中用於純化之其他熟知方法提供更高解析度。

【0052】 如本文所用，「基本上純的」意謂對象物種係存在的主要物種(亦即，以莫耳計其在組合物中比任何其他個體物種更加豐富)，且較佳地基本上純的級分係其中對象物種(例如糖蛋白，包括抗體或受體)佔所有存在之大分子物種之至少約50% (以莫耳計)的組合物。一般而言，基本上純的組合物將包含組合物中所存在之所有大分子物種之超過約80%、更佳超過約85%、90%、95%及99%。最佳地，將對象物種純化至基本均質性(無法藉由習知偵測方法在組合物中偵測到污染物種)，其中組合物基本上由單一大分子物種組成。在某些實施例中，基本上純的物質係至少50%純(亦即，無污染物)、更佳至少90%純、更佳至少95%純、又更佳至少98%純、且最佳至少99%純。

【0053】 如此項技術中已知，術語「一致性」係指兩個或更多個多

肽分子或兩個或更多個核酸分子之序列之間的關係，如藉由比較該等序列所判定。在此項技術中，「一致性」亦意謂多肽或核酸分子序列之間的序列相關性程度，視具體情況而定，如藉由核苷酸或胺基酸序列串之間的匹配所判定。「一致性」量測間隙比對藉由電腦程式之特定數學模型(亦即「演算法」)定址之兩個或更多個序列之間的一致匹配百分比。

【0054】 術語「類似性(similarity)」為相關概念，但相比於「一致性(identity)」，其指包括一致匹配與保守取代匹配之類似性度量。由於保守取代適用於多肽而非核酸分子，故類似性僅涉及多肽序列比較。若兩個多肽序列例如20個胺基酸中10個一致，且剩餘物為所有非保守的取代，則一致性百分比及類似性兩者將均為50%。若在同一實例中，有5個更多存在保守取代的位置，則一致性百分比仍為50%，但類似性百分比將為75% (15/20)。因此，在存在保守取代之情況下，兩個多肽序列之間的類似性程度將高於此兩個多肽之間的一致性百分比。

【0055】 根據本發明之多肽或抗體「片段」或「部分」可藉由截斷製得，例如藉由自多肽之N及/或C端末端移除一或多個胺基酸製得。可以此方式自N及/或C端移除多達10、多達20、多達30、多達40或更多個胺基酸。亦可藉由一或多個內部缺失產生片段或部分。

【0056】 變異抗體可包含如上文所述之具體序列及片段的1、2、3、4、5、至多10、至多20、至多30個或更多個胺基酸取代及/或缺失及/或插入。「缺失」變異體可包含個別胺基酸之缺失；較小胺基酸基團之缺失，諸如2、3、4或5個胺基酸；或較大胺基酸區之缺失，諸如具體胺基酸域或其他特徵之缺失。「插入」變異體可包含插入個別胺基酸；插入較小胺基酸基團，諸如2、3、4或5個胺基酸；或插入較大胺基酸區，諸如

插入具體胺基酸域或其他特徵。「取代」變異體較佳涉及用相同數目之胺基酸替代一或多個胺基酸及進行保守胺基酸取代。舉例而言，胺基酸可經具有類似特性之替代胺基酸取代，例如另一鹼性胺基酸、另一酸性胺基酸、另一中性胺基酸、另一帶電荷胺基酸、另一親水性胺基酸、另一疏水性胺基酸、另一極性胺基酸、另一芳族胺基酸或另一脂族胺基酸。可用於選擇適合取代基之20種主要胺基酸之一些特性如下：

【0057】 取代變異體將抗體分子中之至少一個胺基酸殘基移除且將不同殘基插入其位置。最引人關注之取代型突變誘發之位點包括高變區，但亦涵蓋構架變化。保守取代展示於標題為「保守取代」之表1中。若該等取代致使生物活性變化，則可引入以下所示之命名為「例示性取代」或如下文關於胺基酸種類所進一步描述之更實質性的變化，且篩檢產物。

表1

胺基酸及取代

原始殘基	保守取代	例示性取代
丙胺酸Ala (A)	Val	Val ; Leu ; Ile
精胺酸Arg (R)	Lys	Lys ; Gln ; Asn
天冬醯胺Asn (N)	Gln	Gln ; His ; Asp , Lys ; Arg
天冬胺酸Asp (D)	Glu	Glu ; Asn
半胱胺酸Cys (C)	Ser	Ser ; Ala
麩醯胺Gln (Q)	Asn	Asn ; Glu
麩胺酸Glu (E)	Asp	Asp ; Gln
甘胺酸Gly (G)	Ala	Ala
組胺酸His (H)	Arg	Asn ; Gln ; Lys ; Arg
異白胺酸Ile (I)	Leu	Leu ; Val ; Met ; Ala ; Phe ; 正白胺酸
白胺酸Leu (L)	Ile	正白胺酸 ; Ile ; Val ; Met ; Ala ; Phe
離胺酸Lys (K)	Arg	Arg ; Gln ; Asn
甲硫胺酸Met (M)	Leu	Leu ; Phe ; Ile
苯丙胺酸Phe (F)	Tyr	Leu ; Val ; Ile ; Ala ; Tyr
脯胺酸Pro (P)	Ala	Ala
絲胺酸Ser (S)	Thr	Thr
蘇胺酸Thr (T)	Ser	Ser

原始殘基	保守取代	例示性取代
色胺酸Trp (W)	Tyr	Tyr ; Phe
酪胺酸Tyr (Y)	Phe	Trp ; Phe ; Thr ; Ser
纈胺酸Val (V)	Leu	Ile ; Leu ; Met ; Phe ; Ala ; 正白胺酸

【0058】 抗體生物特性之實質修飾係藉由選擇維持以下之作用顯著不同的取代來實現：(a)多肽主鏈在取代區域中的結構，例如呈β片狀或螺旋狀構形；(b)分子在靶點處之電荷或疏水性；或(c)側鏈之堆積。基於常見側鏈特性將天然存在之殘基劃分成以下組群：

- i. 非極性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- ii. 極性，無電荷：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- iii. 酸性(帶負電)：ASP、Glu；
- iv. 鹼性(帶正電)：Lys、Arg；
- v. 影響鏈定向之殘基：Gly、Pro；及
- vi. 芳族：Trp、Tyr、Phe、His。

【0059】 藉由將此等類別之一者中之一成員交換成另一類別來進行非保守取代。

【0060】 例如可進行之一種類型取代為將抗體中可化學反應之一或多個半胱胺酸改變成諸如(但不限於)丙胺酸或絲胺酸之另一殘基。舉例而言，可存在非典型半胱胺酸之取代。取代可在抗體可變域之CDR或構架區或恆定區中進行。在一些實施例中，半胱胺酸為典型的。不參與維持抗體之適當構形之任何半胱胺酸殘基一般亦可經絲胺酸取代，以提高分子之氧化穩定性且防止異常交聯。反之，尤其當抗體為諸如Fv片段之抗體片段時，可將半胱胺酸鍵添加至抗體以提高其穩定性。

【0061】 「抗體」係能夠經由至少一個位於免疫球蛋白分子之可變區之抗原識別位點特異性結合於諸如碳水化合物、聚核苷酸、脂質、多肽

等標靶之免疫球蛋白分子。如本文所用，該術語不僅涵蓋完整多株或單株抗體，而且除非另外規定，亦涵蓋其與完整抗體競爭特異性結合之任何抗原結合片段、包含抗原結合片段之融合蛋白，及包含抗原識別位點之免疫球蛋白分子之任何其他經修飾的組態。抗原結合片段包括例如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv、域抗體(dAb，例如鯊魚及駱駝抗體)、包括互補決定區(CDR)之片段、單鏈可變片段抗體(scFv)、最大抗體、微型抗體、內抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、v-NAR及雙scFv及至少含有足以使特定抗原結合於多肽的免疫球蛋白之片段的多肽。抗體包括任何類別之抗體，諸如IgG、IgA或IgM（或其亞類），且該抗體不必為任何特定類別。免疫球蛋白可視其重鏈之恆定區之抗體胺基酸序列而歸為不同類別。存在五類主要免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且此等免疫球蛋白中之若干者可以進一步劃分成亞類(同型)，例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及IgA₂。對應於不同類別之免疫球蛋白之重鏈恆定區分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。不同類別之免疫球蛋白之次單元結構及三維組態為熟知的。

【0062】 如在本文中可互換地使用之術語抗體(或僅「抗體部分」)之「抗原結合部分」或「抗原結合片段」係指保留特異性結合於抗原(例如CXCR5)之抗體之一或多個片段。已展示，抗體之抗原結合功能可由全長抗體之片段來進行。抗體之術語「抗原結合片段」內所涵蓋之結合片段的實例包括(i) Fab片段，由VL、VH、CL及CH1結構域組成之單價片段；(ii) F(ab')₂片段，包含在鉸鏈區藉由二硫橋鍵連接之兩個Fab片段之二價片段；(iii)由VH及CH1域組成之Fd片段；(iv)由抗體之單臂之VL及VH域組成的Fv片段；(v) dAb片段(Ward等人, (1989) Nature 341:544-

546)，由VH域組成；及(vi)經分離之互補決定區(CDR)、二硫鍵連接之Fv(dsFv)，及抗個體基因型(抗Id)抗體及內抗體。此外，儘管Fv片段之兩個結構域VL及VH由各別基因編碼，但其可使用重組方法藉由使其能夠以單一蛋白鏈形式製造的合成連接子接合，其中VL及VH區配對以形成單價分子(稱為單鏈Fv(scFv)；參見例如Bird等人 Science 242:423-426 (1988)及Huston等人 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988))。該等單鏈抗體亦意欲涵蓋於術語抗體之「抗原結合片段」內。亦涵蓋單鏈抗體之其他形式，諸如雙功能抗體。雙功能抗體為二價、雙特異性抗體，其中VH及VL域表現於單個多肽鏈上，但使用過短而不允許相同鏈上之兩個結構域之間配對的連接子，由此迫使該等結構域與其他鏈之互補結構域配對且產生兩個抗原結合位點(參見例如Holliger等人Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)；Poljak等人，1994，Structure 2:1121-1123)。

【0063】 抗體可來源於任何包含(但不限於)人、猴、豬、馬、兔、狗、貓、鼠等之哺乳動物或其他動物諸如鳥類(例如雞)、魚類(例如鯊魚)及駱駝(例如駱馬)。

【0064】 抗體之「可變區」係指單獨或組合形式之抗體輕鏈(VL)之可變區或抗體重鏈(VH)之可變區。如此項技術中已知，重鏈及輕鏈之可變區各自由藉由三個「互補決定區(CDR)」(亦稱為高變區(HVR)連接之四個構架區(FR)組成，且有助於抗體之抗原結合位點之形成。若需要對象可變區之變異體，尤其在取代CDR區外部(亦即構架區中)之胺基酸殘基的情況下，則合適的胺基酸取代，較佳保守性胺基酸取代可藉由比較對象可變區與其他抗體之可變區來鑑別，該等其他抗體之可變區含有處於與對象

可變區相同之典型類別中之CDR1及CDR2序列(Chothia及Lesk, *J. Mol. Biol.* 196(4): 901-917, 1987)。

【0065】 在某些實施例中，CDR之確定性描繪及包含抗體之結合位點之殘基的確認藉由求解抗體之結構及/或求解抗體-配體複合物之結構來實現。在某些實施例中，其可藉由熟習此項技術者已知之多種技術中任一者來實現，諸如X射線結晶法。在某些實施例中，可採用各種分析方法以鑑別或近似鑑別CDR區。在某些實施例中，可採用各種分析方法以鑑別或近似鑑別CDR區。該等方法之實例包括(但不限於)Kabat定義、Chothia定義、AbM定義接觸定義及構形定義。

【0066】 Kabat定義為用於編號抗體中之殘基之標準且通常用以鑑別CDR區。參見例如，Johnson及Wu, 2000, *Nucleic Acids Res.*, 28: 214-8。Chothia定義類似於Kabat定義，但Chothia定義考量某些結構迴路區之位置。參見例如Chothia等人, 1986, *J. Mol. Biol.*, 196: 901-17；Chothia等人, 1989, *Nature*, 342: 877-83。AbM定義使用藉由Oxford Molecular Group所產生之模擬抗體結構之電腦程式的整合套件。參見例如Martin等人, 1989, *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 86:9268-9272；「AbM™, A Computer Program for Modeling Variable Regions of Antibodies,」Oxford, UK; Oxford Molecular, Ltd。AbM定義使用知識資料庫與全始算法之組合模擬來自一級序列之抗體的三級結構，該等方法諸如藉由以下所描述之彼等：Samudrala等人, 1999, 「Ab Initio Protein Structure Prediction Using a Combined Hierarchical Approach,」in *PROTEINS, Structure, Function and Genetics Suppl.*, 3:194-198。

【0067】 Contact定義係基於可用複合晶體結構之分析。參見例如

MacCallum等人, 1996, *J. Mol. Biol.*, 5:732-45。在另一方法(在本文中稱為CDR之「構形定義」)中, CDR之位置可鑑別為向抗原結合貢獻焓之殘基。參見例如Makabe等人, 2008, *Journal of Biological Chemistry*, 283:1156-1166。雖然其他CDR邊界定義可不嚴格遵循以上方法中之一者, 但仍然將與KabatCDR之至少一部分重疊, 但其可根據以下預測或實驗發現而縮短或延長: 具體殘基或殘基組並不顯著影響抗原結合。如本文所用, CDR可指由此項技術中已知之任何方法, 包括方法之組合所定義之CDR。本文中所用之方法可利用根據此等方法中任一者所定義之CDR。對於任何含有超過一個CDR之既定實施例, CDR可根據Kabat定義、Chothia定義、擴展定義、AbM定義、接觸定義及/或構形定義中之任一者定義。

【0068】 如本文所用關於抗體或藉此特異性結合之抗原之「接觸殘基」係指存在於抗體/抗原上之胺基酸殘基, 其包含至少一個重原子(亦即, 非氫), 在存在於同源抗體/抗原上之胺基酸殘基之重原子的4 Å或更小內。

【0069】 「構架」(FR)殘基為除了CDR殘基之外的抗體可變域殘基。VH或VL域構架包含四個構架子區FR1、FR2、FR3及FR4, 穿插有呈以下結構之CDR: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

【0070】 如本文中先前所陳述, 可變域中之殘基通常根據Kabat編號, 該Kabat係用於抗體編譯之重鏈可變域或輕鏈可變域的編號系統。參見Kabat等人, 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版. Public Health Service, 美國國家衛生研究院(National Institutes of Health), Bethesda, MD。使用此編號系統, 實際線性胺基酸序列可含有對

應於可變域之FR或CDR之縮短或向其中之插入的較少或額外胺基酸。舉例而言，重鏈可變域可包括處於H2之殘基52之後的單胺基酸插入(根據Kabat之殘基52a)及處於重鏈FR殘基82之後的嵌入殘基(例如根據Kabat之殘基82a、82b及82c)。對於既定抗體，可藉由將抗體序列之同源區與「標準」Kabat編號序列比對來判定殘基之Kabat編號。用於指派Kabat編號之各種演算法係可用的。在Abysis之版本2.3.3(www.abysis.org)中實施之演算法可用於將Kabat編號指派為可變區CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H2及CDR-H3，且AbM定義可隨後用於CDR-H1。

【0071】 如本文所用，「單株抗體」係指自基本上均質之抗體群體獲得的抗體，亦即除可以少量形式存在之有可能天然產生之突變外，構成此群體之個別抗體為相同的。單株抗體針對單一抗原位點具高度特異性。此外，與通常包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製劑相反，各單株抗體針對抗原上之單個決定子。修飾語「單株」指示抗體之特徵為自基本上均質之抗體群體獲得，且不應理解為需要藉由任何特定方法產生該抗體。舉例而言，根據本發明所使用之單株抗體可藉由首先由Kohler及Milstein, 1975, *Nature* 256:495所描述之融合瘤方法製造，或可藉由諸如U.S. Pat. No. 4,816,567中所描述之重組DNA方法製造。舉例而言，單株抗體亦可自使用McCafferty等人，1990, *Nature* 348:552-554中所描述之技術生成的噬菌體庫中分離。如本文中所使用，「人類化」抗體係指以下非人類(例如鼠類)抗體形式：含有來源於非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段(諸如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或抗體之其他抗原結合子序列)。較佳地，人類化抗體為具有所要特異性、親和力及能力之人類免疫球蛋白(受體抗體)，其中來自受

體之CDR的殘基經來自諸如小鼠、大鼠或家兔之非人類物種(供體抗體)之CDR的殘基置換。人類化抗體可包含以下殘基：既不存在於受體抗體中亦不存在於所導入之CDR或構架序列中，但包括該等殘基以進一步改進且優化抗體效能。

【0072】 本發明之抗體或其抗原結合片段可係親和力成熟的。舉例而言，親和力成熟抗體可藉由此項技術中已知之程序產生(Marks等人，1992, *Bio/Technology*, 10:779-783；Barbas等人，1994, *Proc Nat. Acad. Sci, USA* 91:3809-3813；Schier 等人，1995, *Gene*, 169:147-155；Yelton等人，1995, *J. Immunol.*, 155:1994-2004；Jackson等人，1995, *J. Immunol.*, 154(7):3310-9；Hawkins等人，1992, *J. Mol. Biol.*, 226:889-896；及WO2004/058184)。

【0073】 「人類抗體」為擁有以下胺基酸序列者：對應於由人類所產生及/或已使用如本文所揭示之任一製造人類抗體之技術所製造的抗體胺基酸序列。人類抗體之此定義具體排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。

【0074】 術語「嵌合抗體」意欲指可變區序列來源於一個物種且恆定區序列來源於另一物種之抗體，諸如可變區序列來源於小鼠抗體且恆定區序列來源於人類抗體或反過來之抗體。術語亦涵蓋包含來自獨立於一個物種(例如第一小鼠)之一者之V區及來自獨立於相同物質(例如第二小鼠)之另一者之恆定區的抗體。

【0075】 術語「抗原(Ag)」係指用於免疫接種免疫活性的脊椎動物以產生識別Ag之抗體(Ab)或篩檢表現庫(例如噬菌體、酵母或核糖體展示庫以及其他庫)的分子實體。在本文中，Ag被較概括地命名且一般意欲包

括由Ab特異性識別之標靶分子，因此包括用於產生Ab之免疫接種製程或用於選擇Ab之文庫篩檢中所用之分子的片段或擬態。因此，對於與CXCR5結合之本發明之抗體而言，來自哺乳動物物種(例如人、猴、小鼠及大鼠CXCR5)之全長CXCR5，包括其單體及多聚體(諸如二聚體、三聚體等)以及CXCR5之截短及其他變異體，稱為抗原。

【0076】 一般而言，術語「抗原決定基」係指抗體特異性結合之抗原(例如蛋白質、核酸、碳水化合物或等)之區域或區，亦即與抗體實體接觸之區域或區。因此，術語「抗原決定基」係指能夠藉由處於抗體之抗原結合區中一或多者之抗體識別且受其束縛的分子部分。通常，在「抗體或其抗原結合片段」與其相對應之抗原之間的分子交互作用之情況下定義抗原決定基。抗原決定基常常由諸如胺基酸或糖側鏈之分子之表面分群組成，且具有特殊三維結構特性以及特殊的電荷特性。在一些實施例中，抗原決定基可為蛋白質抗原決定基。蛋白質抗原決定基可為線性的或構形的。在線性抗原決定基中，蛋白質與交互分子(諸如抗體)之間的所有交互作用點沿著蛋白質之一級胺基酸序列線性存在。「非線性抗原決定基」或「構形抗原決定基」包含在抗原蛋白內之非鄰接多肽(或胺基酸)，該抗原蛋白與對抗原決定基具有特異性之抗體結合。如本文中所使用，術語「抗原決定基」如藉由此項技術中熟知之任何方法所確定(例如藉由習知免疫分析法)，其定義為可與抗體特異性結合之抗原的一部分。可替代地，在探索過程期間，抗體之生成及特徵化可闡明關於所要抗原決定基之資訊。根據此資訊，隨後可競爭性篩選結合於相同抗原決定基之抗體。達成此之方法為執行競爭及交叉競爭研究以尋找彼此競爭或交叉競爭結合至CXCR5之抗體，例如競爭結合至抗原之抗體。

【0077】 「優先結合」或「特異性結合」(在本文中可互換使用)至抗原決定基之抗體為此項技術中已清楚理解之術語，且用以測定該等特異性或優先結合之方法亦為此項技術中所熟知。若分子與特定細胞或物質之反應或締合比其與替代性細胞或物質更頻繁、更快速，持續時間更長及/或親和力更大，則稱其展現「特異性結合」或「優先結合」。若抗體與其它物質結合相比，其與標靶結合具有更大親和性、親合力、更容易及/或具有更長持續時間，則抗體「特異性結合」或「優先結合」至標靶。此外，若抗體結合至樣本中之標靶比其結合至存在於樣本中之其他物質具有更大親和力、親合力、更容易及/或具有更長持續時間，則抗體「特異性結合」或「優先結合」至標靶。舉例而言，特異性或優先結合至CXCR5抗原決定基之抗體為結合此抗原決定基比結合至其他CXCR5抗原決定基或非CXCR5抗原決定基而言親和力/結合力更大、更容易及/或持續時間更久的抗體。經閱讀此定義亦應理解，例如特異性或優先結合至第一標靶之抗體(或部分或抗原決定基)可能或可能並非特異性或優先結合至第二標靶。由此，「特異性結合」或「優先結合」未必需要(儘管其可包括)獨佔式結合。提及結合一般但未必意謂優先結合。「特異性結合」或「優先結合」包括化合物(例如蛋白質、核酸、抗體及其類似者)識別特異性分子且與其結合，但實質上不識別或結合樣品中之其他分子。舉例而言，識別且結合至樣本中之同源配體或結合搭配物(例如結合CXCR5之抗CXCR5抗體)但實質上並不識別或結合樣本中之其他分子的抗體或肽受體，特異性結合至彼同源配位體或結合搭配物。因此，在指定分析條件下，特定結合部分(例如抗體或其抗原結合片段或受體或其配位體結合片段)優先結合至特定標靶分子且不會大量結合至測試樣品中存在之其他組分。

【0078】多種分析格式可用以選擇特異性結合相關分子之抗體或肽。舉例而言，固相ELISA免疫分析、免疫沈澱、Biacore™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ)、KinExA、螢光活化細胞分選(FACS)、Octet™ (FortéBio, Inc., Menlo Park, CA)及西方墨點分析等許多分析法可用以鑑別與抗原特異性反應之抗體或與同源配體或結合搭配物特異性結合之受體或其配體結合片段。通常，特異性或選擇性反應將為背景信號或雜訊之至少兩倍、更通常超過背景之10倍、甚至更通常超過背景之50倍、更通常超過背景之100倍、更通常超過背景之500倍、甚至更通常超過背景之1000倍及甚至更通常超過背景之10,000倍。另外，當平衡解離常數(K_D) $\leq 1 \mu\text{M}$ 、較佳 $\leq 100 \text{ nM}$ 、更佳 $\leq 10 \text{ nm}$ 、甚至更佳 $\leq 100 \text{ pM}$ 、又更佳地 $\leq 10 \text{ pM}$ 且甚至更佳 $\leq 1 \text{ pM}$ 時，稱抗體「特異性結合」抗原。在一些實施例中，當平衡解離常數(K_D) $\leq 7 \text{ nM}$ 時，稱抗體「特異性結合」抗原。

【0079】術語「結合親和力」在本文中用作兩個分子(及例如抗體或其片段與抗原)之間的非共價相互作用強度的量測手段。術語「結合親和力」用於描述單價相互作用(固有活性)。

【0080】另外，為測定CXCR5抗體與CXCR5表現細胞之結合親和力，可進行細胞結合實驗以測定表觀親和力。抗體與表現標靶之細胞的表觀親和力可計算為平衡結合滴定曲線之 EC_{50} ，其中抗原結合群體之幾何平均螢光強度(gMFI)係藉由流式細胞量測術定量。

【0081】兩個分子(例如抗體或其片段與抗原)之間經由單價相互作用結合的結合親和力可藉由測定解離常數(K_D)來定量。反之， K_D 可藉由使用例如表面電漿子共振(SPR)方法(Biacore)對複合物之形成及解離進行動力學量測來測定。對應於單價複合物之締合及解離的速率常數分別稱為

締合速率常數 k_a (或 k_{on})及解離速率常數 k_d (或 k_{off})。 K_D 經由等式 $K_D=k_d/k_a$ 與 k_a 及 k_d 相關。解離常數值可直接藉由熟知方法測定，且甚至複合混合物之解離常數值可藉由諸如例如Caceci等人(1984, *Byte* 9: 340-362)中所闡述之彼等方法計算出。舉例而言， K_D 可使用諸如由Wong及Lohman (1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 5428-5432)所揭示之雙過濾片硝化纖維過濾器結合分析來確立。用以評估配位體(諸如針對標靶抗原之抗體)之結合能力之其他標準分析為此項技術中已知的，包括例如ELISA、西方墨點法、RIA及流式細胞量測術分析及在本文中之其他地方所例示之其他分析。抗體之結合動力及結合親和力亦可藉由此項技術中已知之標準分析來評定，諸如例如藉由使用Biacore™系統或KinExA進行表面電漿子共振 (SPR)。

【0082】 可執行以下競爭性結合分析：其中將抗體結合抗原與標靶結合該標靶之另一配體(諸如以其他方式結合標靶之另一抗體或可溶性受體)相比較。出現50%抑制之濃度稱為 K_i 。在理想條件下， K_i 等於 K_D 。因為 K_i 值應永不小於 K_D ，所以可宜由提供 K_D 之上限替代量測 K_i 。

【0083】 遵循上述定義，與不同分子相互作用有關之結合親和力(例如比較不同抗體對既定抗原之結合親和力)可藉由比較個別抗體/抗原複合物之 K_D 值來比較。抗體或其他結合搭配物之 K_D 值可使用此項技術中明確之方法測定。一種測定抗體 K_D 之方法係藉由使用表面電漿子共振或使用生物感測器系統(諸如Biacore®系統)。

【0084】 類似地，相互作用之特異性可藉由測定及對比相關相互作用(例如抗體與抗原之間的特異性相互作用)之 K_D 值與非相關相互作用(例如已知並未結合CXCR5之對照抗體)之 K_D 值來評定。

【0085】 特異性結合其標靶之抗體可以高親和力結合其標靶，其如上文所論述顯示低 K_D ；且可以較低親和力結合至其他非標靶分子。舉例而言，抗體可在 K_D 為 1×10^{-6} M或更大、更佳 1×10^{-5} M或更大、更佳 1×10^{-4} M或更大、更佳 1×10^{-3} M或更大、甚至更佳 1×10^{-2} M或更大之情況下，結合至非標靶分子。本發明之抗體較佳能夠結合至其標靶，其親和力係其結合於另一非CXCR5分子之親和力的至少兩倍、10倍、50倍、100倍、200倍、500倍、1,000倍或10,000倍或更大。

【0086】 如本文所用之術語「競爭」關於抗體意謂第一抗體或其抗原結合片段以充分類似於第二抗體或其抗原結合片段之結合方式結合至抗原決定基，使得第一抗體與其同源抗原決定基之結合的結果在第二抗體存在下相比於在第二抗體不存在下之第一抗體結合可偵測地減少。替代方案可能但不必如此：在第一抗體存在下第二抗體與其抗原決定基之結合亦可偵測地減少。亦即，第一抗體可抑制第二抗體與其抗原決定基之結合，而第二抗體並不抑制第一抗體與其各別抗原決定基之結合。然而，當各抗體無論在相同、較大或較小的程度上可偵測地抑制另一抗體與其同源抗原決定基或配位體之結合時，該等抗體稱為彼此「交叉競爭」結合其各別抗原決定基。本發明涵蓋競爭及交叉競爭抗體兩者。無論該競爭或交叉競爭發生之機制(例如位阻、構形變化或結合於共同抗原決定基或其部分)如何，熟練技術人員基於本文中所提供之教示內容將瞭解，此類競爭及/或交叉競爭抗體涵蓋於且可適用於本文中所揭示之方法中。

【0087】 標準競爭分析可用於判定兩個抗體係否與彼此競爭。一種用於抗體競爭之適合分析涉及使用Biacore技術，其可使用表面電漿子共振(SPR)技術，通常使用生物感測器系統(諸如BIACORE®系統)量測相互

作用之程度。舉例而言，SPR可用於活體外競爭性結合抑制分析，以判定一個抗體抑制第二抗體之結合的能力。用於量測抗體競爭之另一分析法使用基於ELISA之方法。

【0088】 此外，基於抗體之競爭將其「分組」之高通量方法描述於國際專利申請案第WO 2003/48731號中。若一種抗體(或片段)減少另一抗體(或片段)與CXCR5之結合，則存在競爭。舉例而言，可使用依序結合競爭分析，其中不同抗體經依序添加。可添加第一抗體以達成接近飽和之結合。隨後，添加第二抗體。若相比於在無第一抗體存在下之平行分析，未偵測到第二抗體與CXCR5之結合或第二抗體與CXCR5之結合顯著減少(例如至少約10%、至少約20%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、或至少約90%減少)(其值可設定為100%)，則兩種抗體視為彼此競爭。

【0089】 另外，在實例8中提供例示性抗體抗原決定基分組分析，其使用人類與小鼠CXCR5蛋白質之間的結構域交換以評估數種抗體之間的可能抗原決定基。熟練技術人員結合本文所提供之教示內容將理解，存在以下各種此項技術中已知之分析：其可用於測定至少兩種相對於彼此與標靶之結合，且本文中包括該等分析。

【0090】 CXCR5抗體可使用此項技術中熟知之方法表徵。舉例而言，一種方法為鑑別其結合之抗原決定基或「抗原決定基定位」。存在許多用於定位及表徵蛋白質上之抗原決定基之位置的此項技術中已知之方法，其包括如例如Harlow及Lane, *Using Antibodies*之第11章，a *Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1999中描述之溶解抗體-抗原複合物之晶體結構、競爭

分析、基因片段表現分析及基於合成肽之分析。在一額外實例中，抗原決定基定位可用以測定與CXCR5抗體結合之序列。抗原決定基定位可購自各種來源，例如Pepscan Systems (Edelhertweg 15, 8219 PH Lelystad, The Netherlands) 抗原決定基可為線性抗原決定基，亦即包含於胺基酸之單個伸展中；或由胺基酸之三維交互作用形成之構形抗原決定基可能未必包含於單個伸展中。各種長度(例如至少4個-6個胺基酸長)之肽可經分離或合成(例如以重組方式)且用於利用CXCR5抗體之結合分析。

【0091】 另外，結合CXCR5抗體之抗原決定基可在系統性篩檢中藉由使用衍生自CXCR5序列之重疊肽及測定抗體結合來測定。根據基因片段表現分析，可將編碼CXCR5之開放閱讀框架隨機或藉由特異性基因構造分成片段且測定CXCR5與待測試之抗體之表現片段的反應性。基因片段可例如藉由PCR產生，且接著在放射性胺基酸存在下活體外轉錄且轉譯成蛋白質。隨後藉由免疫沈澱及凝膠電泳測定抗體與放射性標記之CXCR5片段的結合。

【0092】 某些抗原決定基亦可藉由使用呈現於噬菌體顆粒(噬菌體庫)或酵母菌(酵母展示)之表面上之隨機肽序列的大型庫來鑑別。可替代地，可在簡單結合分析中測試重疊肽片段之所定義文庫與測試抗體的結合。在一額外實例中，可進行抗原之突變誘發、域交換實驗及丙胺酸掃描突變誘發以鑑別抗原決定基結合所需、足夠及/或必需的殘基。舉例而言，可使用突變CXCR5進行丙胺酸掃描突變誘發實驗，其中CXCR5多肽之各種殘基已經由丙胺酸置換。藉由評定抗體與突變CXCR5之結合，可評定特定CXCR5殘基對抗體結合之重要性。

【0093】 可用於表徵CXCR5抗體之又一方法為使用利用已知與相同

抗原(亦即CXCR5上之各種片段)結合之其他抗體的競爭分析，以判定CXCR5抗體係否結合於與其他抗體相同之抗原決定基。競爭分析已為熟習此項技術者所熟知。

【0094】 此外，可以不同的詳細程度使用多種實驗及計算抗原決定基定位方法定義及表徵給定抗體/抗原結合對之抗原決定基。實驗方法包括突變誘發、X射線結晶、核磁共振(NMR)光譜分析、氫/氘交換質譜分析(H/D-MS)及此項技術中熟知之各種競爭結合方法。由於各方法依賴於獨特原理，故對抗原決定基之描述與用於測定其之方法密切相關。因此，視所採用之抗原決定基定位方法而定，將以不同方式定義給定抗體/抗原對之抗原決定基。

【0095】 在其最詳述之程度上，用於Ag與Ab之間交互作用之抗原決定基可藉由定義存在於Ag-Ab交互作用中之原子觸點之空間座標以及關於其對結合熱力學之相對貢獻的資訊定義。在不太詳細之程度上，抗原決定基之特徵可在於定義Ag與Ab之間原子接觸之空間座標。在更不詳細之程度上，抗原決定基之特徵可在於胺基酸殘基，其包含如藉由特定準則(例如藉由Ab及Ag中之原子(例如重原子，亦即非氫原子)之間的距離)所定義。在更不詳細之程度上，抗原決定基可由功能，例如藉由與其他Ab之競爭結合來表徵。抗原決定基亦可更一般地如所包含之胺基酸殘基來定義，對於該等胺基酸殘基而言，經另一胺基酸取代將改變Ab與Ag之間交互作用之特徵(例如使用丙胺酸掃描)。

【0096】 根據視所使用之抗原決定基定位法而定在不同詳細水準下獲得抗原決定基之描述及定義的事實，因此可類似地不同細節水準下執行對同一Ag上之不同Ab之抗原決定基的比較。

【0097】 若在胺基酸水準上所描述的例如由X射線結構確定之抗原決定基含有相同胺基酸殘基組，則將其稱為一致的。若抗原決定基共用至少一個胺基酸，則將該等抗原決定基稱為重疊的。若抗原決定基不共用胺基酸殘基，則將該等抗原決定基稱為獨立(獨特)的。

【0098】 若相對應的抗體之結合為相互獨佔的，亦即一個抗體之結合排除另一抗體之同時或連續結合，則特徵在於競爭結合之抗原決定基稱為重疊的。若抗原能夠同時容納兩個相對應的抗體之結合，則抗原決定基稱為獨立(獨特)的。

【0099】 術語「互補位」之定義來源於經逆轉視角之上文「抗原決定基」的定義。因此，術語「互補位」係指抗體上特異性結合抗原之區域或區，亦即抗體上與抗原(CXCR5)接觸(如本文中其他地方定義「接觸」)之胺基酸殘基。

【0100】 給定抗體/抗原對之抗原決定基及互補位可藉由常規方法來鑑別。舉例而言，抗原決定基之大體位置可藉由評估抗體結合於不同片段或變異型CXCR5多肽之能力來確定。與抗體進行接觸的CXCR5內之特異性胺基酸(抗原決定基)及與CXCR5進行接觸的抗體中之特異性胺基酸(互補位)亦可使用諸如實例中所描述之彼等常規方法來測定。舉例而言，可將抗體及標靶分子組合且可使抗體/抗原複合物結晶。可測定複合物之晶體結構且將其用於鑑別抗體與其靶標之間相互作用的特定位置。

【0101】 根據本發明之抗體可結合於與本文所專門揭示之本發明之抗體相同的CXCR5之抗原決定基或結構域。可出於此鑑別之目的使用之分析及檢定包括評定相關抗體與CXCR5受體之間與CXCR5之競爭結合的分析，如實例1至10所描述之生物活性分析，及抗體晶體結構之分析。

【0102】 本發明之抗體可具有與本發明之另一抗體競爭或交叉競爭結合於如本文所述之CXCR5的能力。舉例而言，本發明之抗體可與本文中所述之抗體競爭或交叉競爭結合於CXCR5，或結合於與本文所揭示之抗體結合之CXCR5的適合片段或變異體。

【0103】 亦即，若第一抗體與第二抗體競爭結合至CXCR5，但當第二抗體首先結合至CXCR5時，該第一抗體並不進行競爭，則認為其與第二抗體競爭(亦稱為單向競爭)。當抗體與另一抗體競爭時，無論哪一抗體首先結合至CXCR5，隨後該抗體均與另一抗體交叉競爭結合至CXCR5。可基於競爭或交叉競爭抗體在標準結合分析中與本發明之已知抗體競爭/交叉競爭之能力鑑別該等競爭或交叉競爭抗體。舉例而言，可使用例如藉由使用Biacore™系統之SPR、ELISA分析或流式細胞量測術表明競爭/交叉競爭。該等競爭/交叉競爭可表明兩個抗體結合至一致、重疊或類似的抗原決定基。

【0104】 本發明之抗體因此可藉由包含結合分析之方法鑑別，該結合分析評定測試抗體係否能夠與參考抗體競爭/交叉競爭靶分子上之結合位點。用於進行競爭性結合分析之方法揭示於本文中及/或為此項技術中所熟知。舉例而言，其可涉及使用以下條件使本發明之參考抗體結合於標靶分子：在該等條件下，抗體可結合至標靶分子。隨後可使抗體/標靶複合物暴露於測試/第二抗體且可評定測試抗體能夠取代來自抗體/標靶複合物之本發明之參考抗體的程度。替代方法可涉及：在允許抗體結合之條件下使測試抗體與標靶分子接觸，隨後添加能夠結合彼標靶分子之本發明之參考抗體及評定本發明之參考抗體能夠取代來自抗體/標靶複合物之測試抗體或同時結合至標靶(亦即非競爭抗體)之程度。

【0105】 測試抗體抑制本發明之參考抗體與標靶結合的能力證明，測試抗體可與本發明之參考抗體競爭結合於標靶且因此該測試抗體結合於與本發明之參考抗體相同或基本上相同之CXCR5蛋白質上的抗原決定基或區域。在此類方法中經鑑別為與本發明之參考抗體競爭之測試抗體亦係本發明之抗體。測試抗體可結合與本發明之參考抗體相同之區域中的CXCR5且可與本發明之參考抗體競爭，該事實表明測試抗體可充當與本發明之抗體相同之結合位點處的配位體且測試抗體因此可模仿參考抗體之作用及因此係本發明之抗體。此可藉由使用如本文中更加完全描述之分析，在其他方面相同之條件下比較在測試抗體存在下CXCR5之活性與在參考抗體存在下CXCR5之活性來證實。

【0106】 本發明之參考抗體可為如本文所述之抗體，諸如11G2、41A10、5H7，及其如本文所述保留結合至CXCR5之能力的任何變異體或部分。本發明之抗體可結合至與本文中所述之參考抗體相同之抗原決定基或其如本文所述保留結合至CXCR5之能力的任何變異體或部分。

【0107】 如先前在本文中其他地方所述，特異性結合可參考抗體與並非標靶分子的結合來評定。此比較可藉由比較抗體結合至標靶與結合至另一分子之能力來進行。此比較可如上文所述在對 K_D 或 K_i 之評定中進行。用於此類比較之另一分子可為非標靶分子之任何分子。較佳地，另一分子與標靶分子並不一致。較佳地，標靶分子並非標靶分子之片段。

【0108】 用以測定特異性結合之另一分子可在結構或功能方面與標靶無關。舉例而言，另一分子可為環境中之無關物質或伴隨物質。

【0109】 用以測定特異性結合之另一分子可為與標靶分子(亦即CXCR5)參與相同活體內路徑之另一分子。藉由確保本發明之抗體相比於

另一該分子對CXCR5具有特異性，可避免非所需活體內交叉反應。

【0110】 本發明之抗體可保留結合至與標靶分子相關之一些分子的能力。

【0111】 可替代地，本發明之抗體可具有對特定標靶分子之特異性。舉例而言，其可結合至如本文中所述之一個標靶分子，但可能並不結合或可能以顯著降低之親和力結合至如本文中所述之不同的標靶分子。舉例而言，全長成熟人類CXCR5可用作標靶，但結合至彼標靶之抗體可能無法結合至例如來自其他物種之其他CXCR5蛋白質(諸如其他哺乳動物CXCR5)或可以較小親和力與其結合。在一些實施例中，抗體結合至人類及小鼠CXCR5兩者。

【0112】 「Fc融合」蛋白為其中一或多個多肽可操作地連接於Fc多肽之蛋白質。Fc融合將免疫球蛋白之Fc區與融合搭配物相組合。

【0113】 「天然序列Fc區」包含與自然界中存在之Fc區之胺基酸序列一致的胺基酸序列。「變異Fc區」包含藉助於至少一個胺基酸修飾而與天然序列Fc區之胺基酸序列不同但又保留天然序列Fc區之至少一種效應功能的胺基酸序列。較佳地，變異Fc區相比於天然序列Fc區或親本多肽之Fc區具有至少一個胺基酸取代，例如天然序列Fc區中或親本多肽之Fc區中之約一個至約十個胺基酸取代，且更佳約一個至約五個胺基酸取代。在本文中，變異Fc區應較佳擁有至少約80%之與天然序列Fc區及/或與Fc區母多肽的序列一致性且最佳至少約90%之與此的序列一致性、更佳地至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%之與此的序列一致性。

【0114】 如此項技術中已知，抗體之「恆定區」係指單獨或組合形

式之抗體輕鏈之恆定區或抗體重鏈之恆定區。

【0115】 如本文可互換地所使用，術語「IgG Fc區」、「Fc區」、「Fc結構域」及「Fc」係指IgG分子之一部分，其與藉由IgG分子之木瓜蛋白酶消化獲得之可結晶片段相關。如本文所用，該等術語係關於排除第一恆定區免疫球蛋白結構域之抗體恆定區且進一步係關於彼區域之部分。因此，Fc係指IgA、IgD及IgG之最後兩個恆定區免疫球蛋白域，及IgE及IgM之最後三個恆定區免疫球蛋白域以及此等結構域之可撓性鉸鏈N端，或其部分。對於IgA及IgM，Fc可包括J鏈。對於IgG，Fc包含免疫球蛋白域C γ 2及C γ 3 (C gamma 2與C gamma 3)及C γ 1 (C gamma 1)與C γ 2 (C gamma 2)之間的鉸鏈。雖然可改變Fc區之邊界，但人類IgG重鏈Fc區通常經界定以包含相對於其羧基端之殘基C226或P230，其中編號係根據如Kabat等人，1991所描述之Edelman等人，1969, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63(1):78-85之EU索引。通常，Fc結構域包含人類IgG1恆定域之約胺基酸殘基236至約447。例示性人類野生型IgG1 Fc結構域胺基酸序列闡述於SEQ ID NO: 31中。Fc多肽可指代此獨立區域，或此在抗體之情況下的區域，或其抗原結合片段，或Fc融合蛋白。

【0116】 重鏈恆定域包含Fc區且進一步包含IgG重鏈之CH1結構域及鉸鏈以及CH2及CH3 (及視情況選用之IgA及IgE之CH4)結構域。

【0117】 「功能性Fc區」擁有至少一種天然序列Fc區之效應功能。例示性的「效應功能」包括C1q結合；補體相依性細胞毒性；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導性細胞毒性；吞噬作用；降調細胞表面受體(例如B細胞受體)等。該等效應功能一般需要待與結合域(例如抗體可變域或其抗原結合片段)組合之Fc區且可使用此項技術中已知用以評估該等抗體

效應功能之各種分析評定。

【0118】 「天然序列Fc區」包含與自然界中發現之Fc區之胺基酸序列一致的胺基酸序列。天然序列人類Fc區包括天然序列人類IgG1 Fc區(非A及A異型)；天然序列人類IgG2 Fc區；天然序列人類IgG3 Fc區；及天然序列人類IgG4 Fc區，以及其天然存在之變異體。

【0119】 「變異Fc區」包含與天然序列Fc區之胺基酸序列相差至少一個胺基酸修飾的胺基酸序列。

【0120】 「Fc受體」或「FcR」描述結合於抗體之Fc區的受體。在一些實施例中，Fc γ R係天然人類FcR。在一些實施例中，FcR係結合IgG抗體之FcR(γ 受體)且包括Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII子類之受體，包括該等受體之對偶基因變異體及交替剪接形式。Fc γ RII受體包括Fc γ RIIA (「活化受體」)及Fc γ RIIB (「抑制受體」)，兩者具有主要在其細胞質域方面不同的類似胺基酸序列。活化受體Fc γ RIIA在其細胞質域中含有基於免疫受體酪胺酸之活化基元(ITAM)。抑制受體Fc γ RIIB在其細胞質結構域中含有基於免疫受體酪胺酸之抑制基元(ITIM) (參見Daeron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997))。FcR例如在Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991)；Capel等人, *Immunomethods* 4:25-34 (1994)；及de Haas等人, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995)中有所綜述。其他FcR，包括將來鑑別之FcR，由本文中之術語「FcR」涵蓋。

【0121】 術語「Fc受體」或「FcR」亦包括新生兒受體FcRn，其負責將母體IgG轉移至胎兒(Guyer等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976)及Kim等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))且調節免疫球蛋白之穩態。與FcRn之結合之量測方法為已知的(參見例如Ghetie及Ward., *Immunol. Today*

18(12):592-598 (1997) ; Ghetie等人, *Nature Biotechnology*, 15(7):637-640 (1997) ; Hinton等人, *J. Biol. Chem.* 279(8):6213-6216 (2004) ; WO 2004/92219 (Hinton等人)。

【0122】 「效應功能」係指可歸因於抗體之Fc區之生物活性，其隨抗體同型變化。抗體效應功能之實例包括：Clq結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體)之減量下調；及B細胞活化。

【0123】 「人類效應細胞」係表現一或多個FcR且執行效應功能之白細胞。在某些實施例中，該等細胞至少表現Fc γ RIII且執行ADCC效應功能。介導ADCC之人類白血球的實例包括周邊血液單核細胞(PBMC)、自然殺傷(NK)細胞、單核細胞、巨噬細胞、細胞毒性T細胞及嗜中性白血球。效應細胞可自天然來源，例如自血液分離。

【0124】 「抗體依賴性細胞介導之細胞毒性」或「ADCC」係指細胞毒性之形式，其中結合於某些細胞毒性細胞(例如NK細胞、嗜中性白血球及巨噬細胞)上存在之Fc受體(FcR)上之分泌的Ig能夠使此等細胞毒性效應細胞特異性地結合於攜帶抗原之靶細胞且接著殺滅具有細胞毒素之靶細胞。用於介導ADCC之初級細胞NK細胞僅表現Fc γ RIII，而單核球表現Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII。FcR在造血細胞上之表現概述於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991)之第464頁之表3中。為評定相關分子之ADCC活性，可進行活體外ADCC分析，諸如美國專利第5,500,362號或第5,821,337號或美國專利第6,737,056號(Presta)中所述之活體外ADCC分析。適用於該等分析之效應細胞包括PBMC及NK細胞。可替代地或另外，可活體內評定相關分子之ADCC活性，例如在動物模型

中，諸如Clynes等人 Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:652-656 (1998)中所揭示之動物模型。具有變化之Fc區胺基酸序列及提高或減少之ADCC活性的額外抗體描述於例如美國專利第7,923,538號及美國專利第7,994,290號。

【0125】 具有「增強的ADCC活性」之抗體係指在調節活體外或活體內ADCC方面相比於親本抗體更有效之抗體，其中抗體及親本抗體不同之處在於至少一種結構態樣，且當該用於分析之抗體及親本抗體之量基本上相同時。在一些實施例中，抗體及親本抗體具有相同胺基酸序列，但抗體經去岩藻糖基化而親本抗體經岩藻糖基化。在一些實施例中，ADCC活性將使用如本文所揭示之活體外ADCC分析測定，但涵蓋用於測定ADCC活性之其他分析或方法，例如動物模型等。在一些實施例中，具有增強的ADCC活性之抗體具有對Fc γ RIIIA增強的親和力。在一些實施例中，具有增強的ADCC活性之抗體具有對Fc γ RIIIA (V158)增強的親和力。在一些實施例中，具有增強的ADCC活性之抗體具有對Fc γ RIIIA (F158)增強的親和力。

【0126】 具有「變化」的FcR結合親和力或ADCC活性之抗體係相比於親本抗體具有增強的或降低之FcR結合活性及/或ADCC活性的抗體，其中抗體及親本抗體不同之處在於至少一種結構態樣。「展示」與FcR「提高之結合」的抗體以比親本抗體更高之親和力結合至少一種FcR。「展示」與FcR「減少之結合」的抗體以比親本抗體更低之親和力結合至少一種FcR。相比於天然序列IgG Fc區，展示與FcR之結合減少的該等抗體與FcR之結合可極少或無明顯結合，例如0-20%結合至FcR。

【0127】 「對Fc γ RIIIA增強之親和力」係指抗體相比親本抗體具有對Fc γ RIIIA (在一些實例中亦稱為CD 16a)更大之親和力，其中抗體及親

本抗體不同之處在於至少一種結構態樣。在一些實施例中，抗體及親本抗體具有相同胺基酸序列，但抗體經去岩藻糖基化而親本抗體經岩藻糖基化。可使用用於測定對Fc γ RIIIA之親和力的任何適合之方法。在一些實施例中，對Fc γ RIIIA之親和力係藉由本文中所述之方法測定。在一些實施例中，具有增強的對Fc γ RIIIA之親和力之抗體具有增強的ADCC活性。在一些實施例中，具有增強的對Fc γ RIIIA之親和力之抗體具有對Fc γ RIIIA (V158)增強的親和力。在一些實施例中，具有增強的對Fc γ RIIIA之親和力之抗體具有對Fc γ RIIIA (F158)增強的親和力。

【0128】 L-岩藻糖亦稱作6-去氧-L-半乳糖，其係單醣，亦即動物中一些N連接及O連接之聚糖及糖脂組分。參見Becker及Lowe, *Glycobiology* 13:41R-51R (2003)。岩藻糖通常作為對聚糖(包括連接至血型抗原、選擇素及抗體之聚糖)之修飾添加。岩藻糖可經由特異性岩藻糖基轉移酶之 $\alpha(1,2)$ 鍵、 $\alpha(1,3)$ 鍵、 $\alpha(1,4)$ 鍵及 $\alpha(1,6)$ 鍵附著至聚糖。 $\alpha(1,2)$ -岩藻糖鍵通常與H血型抗原締合。 $\alpha(1,3)$ -岩藻糖及 $\alpha(1,4)$ -岩藻糖鍵與LewisX抗原之修飾締合。 $\alpha(1,6)$ -岩藻糖鍵與N連接之GlcNAc分子(諸如抗體上之分子)締合。

【0129】 將參考用於描述寡醣之通常使用之命名法描述本發明之碳水化合物部分。使用此命名法之碳水化合物化學之綜述見於Hubbard及Ivatt (1981) *Ann. Rev. Biochem.* 50:555-583。此命名法包括例如表示甘露糖之Man；表示2-N-乙醯基葡萄糖胺之GlcNAc；表示半乳糖之Gal；表示岩藻糖之Fuc；及表示葡萄糖之Glc。唾液酸由簡寫符號NeuNAc描述，表示5-N-乙醯基神經胺糖酸；及NeuNGc表示5-羥乙醯基神經胺糖酸(IUB-IUPAC Joint Commission on Biochemical Nomenclature, 1982, *J. Biol.*

Chem. 257: 3347-3351; (1982) J. Biol. Chem. 257: 3352)。

【0130】本發明之碳水化合物結構出現在表示為N連接之寡醣的蛋白質上。「N連接之糖基化」係指碳水化合物部分經由GlcNAc附著至多肽鏈中之天冬醯胺殘基。N連接之碳水化合物均含有共同的Man 1-6(Man1-3)Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc β -R核心結構。因此，在所描述之核心結構中，R表示所製備糖蛋白之天冬醯胺殘基。所製備之蛋白質之序列將含有天冬醯胺-X-絲胺酸、天冬醯胺-X-蘇胺酸及天冬醯胺-X-半胱胺酸，其中X係除脯胺酸(Asn-Xaa-Ser/Thr)之外的任何胺基酸。「O連接」之碳水化合物相比之下其特徵為共同的核心結構，其係附著至蘇胺酸或絲胺酸之羥基之GalNAc但不需要共同序列。在N連接之碳水化合物中，最重要的係N連接之「複合」碳水化合物，諸如本文中所述之「雙觸角」結構。

【0131】熟練技術人員將認識到，糖蛋白免疫球蛋白G (IgG)與三種類型之複合二觸角結構相關，該複合二觸角結構含有通常分別作為G0、G1及G2已知之零、一或兩種半乳糖殘基(Wormland等人, 1997, Biochemistry 36:1370-1380)。關於IgG類別之人類抗體分子，各自具有N連接之寡醣，附著在Fc區之CH2結構域之內面的 β -4轉角之Asn 297之醯胺側鏈處(Beale及Feinstein, 1976, Q. Rev. Biophys. 9:253-259; Jefferis等人, 1995, Immunol. Letts. 44:111-117)。附著在IgG CH2結構域之Asn 297處的寡醣部分屬於複合物二觸角類型，其具有識別之六醣核心結構及不同的外部糖殘基(參見Jefferis等人, 1997, supra; Wyss及Wagner, 1996, Current Opinions in Biotech. 7:409-416)。核心結構(GlcNAc₂Man₃GlcNAc)係二觸角寡醣之典型特點且在圖1中示意性地表示。

【0132】 因為各核心結構可具有二等分N-乙醯基葡萄糖胺、核心岩藻糖及半乳糖或唾液酸外部醣類，所以存在總計36種結構上獨特之寡醣，其可佔據Asn 297位點(Jefferis及Lund，見上文)。亦將認識到，在特定CH2結構域內，Asn 297處之糖基化可為不對稱的，其歸因於附著在兩種鏈Fc結構域內之任一Asn 297殘基處的寡醣鏈不同。舉例而言，儘管在分泌單一抗體之細胞內合成之重鏈在其胺基酸序列方面可為同質的，但其一般經有差異地糖基化，從而得到大量結構上獨特之Ig糖型。

【0133】 在IgG之CH2結構域中發現之複合物寡醣結構的主要類型(亦稱作「糖型」)描繪於國際專利公開案第WO 99/22764號，第7頁。

【0134】 根據本發明，G0係指二觸角結構，其中不存在末端唾液酸(NeuAcs)；G1係指具有一個Gal且不具有NeuAcs之二觸角結構且G2係指具有兩個末端Gal且不具有NeuAc之二觸角結構。參見例如圖2A-2G，其描繪G0、G1、G-1及G2之例示性結構。

【0135】 「去岩藻糖基化」抗體或「缺乏岩藻糖」之抗體係指在其恆定區糖基化中缺乏岩藻糖之IgG1或IgG3同型抗體。當核心岩藻糖基化二觸角複合物寡醣糖基化以多達2個Gal殘基封端時，在Asn297處出現人類IgG1或IgG3之糖基化。在一些實施例中，去岩藻糖基化抗體在Asn297處缺乏岩藻糖。視末端Gal殘基之量而定，此等結構稱為G0、G1 (α 1,6或 α 1,3)或G2聚糖殘基。參見例如Raju, T. S., *BioProcess Int.* 1: 44-53 (2003)。抗體Fc之CHO型糖基化描述於例如Routier, F. FL, *Glycoconjugate J.* 14: 201-207 (1997)中。各種抗體糖型示於圖2A-2G中。

【0136】 在一些實施例中，「岩藻糖基」或「去岩藻糖基化」(如在

本文中可互換地使用)抗體係指已經糖基工程改造以缺乏核心岩藻糖之抗體。在聚糖部分中具有減少之岩藻糖含量的抗體具有對FcγRIIIa (CD16)提高之親和力，且因此具有增強的活性依賴性細胞毒性(ADCC)活性。岩藻糖基抗體可使用Potelligent® CHOK1SV細胞株(Lonza Biologics)製備，該細胞株缺乏負責岩藻糖添加之基因(α 1,6-岩藻糖基轉移酶)的兩個等位基因。岩藻糖基或減少之岩藻糖抗體亦可藉由以各種方式修飾寡醣生物合成活性來產生。舉例而言，生產細胞株之高基氏器中之*N*-乙醯基葡萄糖胺-轉移酶III (GnTIII)的過度表現產生與抗體之Fc恆定區締合之二等分寡醣結構且抑制岩藻糖基化。在該等表現系統中，GnTIII表現之水準與去岩藻糖基化IgG1糖型之產生及所引起之增強的ADCC活性相關。亦可藉由使用糖類似物，諸如但不限於如WO 2012/019165中所描述之岩藻糖類似物來減少細胞培養物中之岩藻糖基化。因此，去岩藻糖基化或岩藻糖減少之抗體可使用此項技術中熟知之各種方法製備。

【0137】 在一些實施例中，去岩藻糖基化抗體具有對Fcγ RIIIA增強的親和力。在一些實施例中，去岩藻糖基化抗體具有對Fcγ RIIIA (V158)增強的親和力。在一些實施例中，去岩藻糖基化抗體具有對Fcγ RIIIA (F158)增強的親和力。

【0138】 「糖型」係指複合物寡醣結構，其包含各種碳水化合物單元之鍵。該等結構描述於例如Essentials of Glycobiology Varki等人編，Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1999)中，其亦提供標準糖生物學命名法之綜述。該等糖型包括但不限於G2、G1、G0、G -1及G -2 (參見例如國際專利公開案第WO 99/22764號)。

【0139】 「糖基化型態」定義為碳水化合物單元之型態，該等碳水

化合物單元共價附著於蛋白質(例如糖型)以及位點，在該(等)位點，糖型共價附著於蛋白質，更具體而言免疫球蛋白之肽主鏈。

【0140】 在一些實施例中，以重組方式在未經糖修飾之CHO宿主細胞中表現之一批抗體的至少85%在Asn297處經岩藻糖基化。在提及包含複數種抗體之組合物時，若組合物中少於約5%之抗體在至少一個Asn297處包含岩藻糖，則視抗體經去岩藻糖基化。甚至更佳地，去岩藻糖基化之水準為約100%，亦即，使用用於量測抗體之岩藻糖基化的標準方法未在一重鏈Asn297糖型上偵測到岩藻糖。量測岩藻糖之方法包括此項技術中已知之任何方法，包括本文所描述之方法。在一些實施例中，岩藻糖在包含複數種去岩藻糖基化抗體之組合物中係不可偵測的。在一些實施例中，去岩藻糖基化抗體具有增強的ADCC活性。

【0141】 「補體依賴性細胞毒性」或「CDC」係指在補體存在下溶解標靶細胞。經典補體路徑之活化藉由補體系統(C1q)之第一組分結合至(適當子類之)抗體起始，該等抗體結合至其同源抗原。為評定補體活化，可進行CDC分析，例如如Gazzano-Santoro等人, *J. Immunol. Methods* 202: 163 (1996)中所述。具有變化之Fc區胺基酸序列及提高或降低之C1q結合能力的抗體描述於例如美國專利第6,194,551 B 1號、美國專利第7,923,538號、美國專利第7,994,290號及WO 1999/51642。亦參見例如Idusogie等人,J。

【0142】 如本文所用，術語「野生型胺基酸」、「野生型IgG」、「野生型抗體」或「野生型mAb」係指在某一群體(例如人類、小鼠、大鼠、細胞等)內天然出現之胺基或核酸序列。

【0143】 在本文中可互換使用之「C-X-C趨化介素受體5型」或

「CXCR5」在此項技術中亦稱作「CD185」且「伯基特淋巴瘤受體1 (BLR1)」係在某些細胞上表現之G蛋白偶聯受體。術語CXCR5包括CXCR5同系物及異種同源物，包括人類、食蟹獼猴、大鼠、兔及小鼠，以及其他。如本文中所使用，「CXCR5」係指哺乳動物CXCR5，諸如人類、大鼠或小鼠以及非人類靈長類動物、牛、綿羊或豬豬CXCR5。CXCR5之非限制性例示性實例包括人類(參見例如基因銀行寄存編號P60568，SEQ ID NO: 32)、食蟹獼猴(參見例如基因銀行寄存編號Q29615，SEQ ID NO: 33)，及小鼠(SEQ ID NO: 34) CXCR5。術語「CXCR5」亦涵蓋該等CXCR5分子之片段、變異體、同功異型物及其他同源物。變異CXCR5分子之特徵一般為具有與天然存在之CXCR5相同的活性類型，諸如結合CXCR5受體之能力，誘導受體介導之活性的能力，及結合或不結合本發明之抗體或其抗原結合片段的能力。

【0144】 CXCR5可包含一或多種、兩種或多於兩種、三種或多於三種、四種或多於四種、五種或多於五種、六種或多於六種、七種或多於七種、八種或多於八種、九種或多於九種、十種或多於十種、十二種或多於十二種或十五種或多於十五種之表面可獲得的CXCR5之殘基。圖6展示野生型小鼠及人類CXCR5之胺基酸序列，其中例示性表面可接近的殘基加下劃線。當CXCR5包含均多聚體形式之CXCR5時，標靶可包含一或多於、兩個或多於兩個、三個或多於三個、四個或多於四個、五個或多於五個、六個或多於六個、七個或多於七個、八個或多於八個、九個或多於九個、十個或多於十個、十二個或多於十二個或十五個或多於十五個之表面可獲得的CXCR5之第一亞單元之殘基，及一或多於、兩個或多於兩個、三個或多於三個、四個或多於四個、五個或多於五個、六個或多於六個、

七個或多於七個、八個或多於八個、九個或多於九個、十個或多於十個、十二個或多於十二個或十五個或多於十五個之表面可獲得的CXCR5之第二亞單元之殘基。標靶分子可包含已知之來自CXCR5之抗原決定基。

【0145】 如先前所陳述，指示(藉由加下劃線)蛋白質之各種例示性胞外區(標記為「N」、「L1」、「L2」及「3」)之野生型人類CXCR5 (hCXCR5)及小鼠CXCR5 (mCXCR5)的經對準胺基酸序列展示於圖5中。

【0146】 如在本文中其他地方所概述，抗體分子之某些位置可變化。如本文中所使用，「位置」意謂蛋白質在序列中之位置。位置可依次或根據已建立之格式經編號，例如可使用EU索引及卡貝特索引(Kabat index)來編號抗體之胺基酸殘基。舉例而言，位置297為人類抗體IgG1中之位置。如以上所概述，相對應的位置一般經由與其他母序列比對來確定。

【0147】 如本文中所使用，「殘基」意謂在蛋白質及其相關胺基酸身分中之位置。舉例而言，天冬醯胺297 (亦稱為Asn297、亦稱為N297)為人類抗體IgG1中之殘基。

【0148】 如在本文中可互換使用之術語「Tfh細胞」或「Tfh」或「真正(bona fide) Tfh」或「生髮中心Tfh細胞」或「GC Tfh細胞」係指在生髮中心(GC)內發現職濾泡性輔助T細胞，其係由以下組成之結構：GC Tfh細胞、GC B細胞、濾泡性樹突狀細胞(FDC)、巨噬細胞及基質。參見Crotty, 2014, *Immunity* 41(4):529-542。Tfh細胞係由B細胞濾泡歸巢受體CXCR5之組成性表現識別。功能上，Tfh細胞向B細胞提供指導性信號以導引同型轉換、體細胞超突變及快速細胞分裂為種子生髮中心。

【0149】 在本文中可互換使用之術語「Tfh樣細胞」、「循環Tfh細

胞」及「cTfh」係指已離開生髮中心之Tfh細胞。在離開GC後，細胞獲得活化較少、極化較少之表型且稱為「循環濾泡性輔助T細胞」(cTfh)或cTfh)「Tfh樣細胞」。參見Crotty, 2014, *Immunity* 41(4):529-542。此等細胞表現CXCR5。與生髮中心Tfh細胞(亦即「真正(bona fide) Tfh細胞」或「GC Tfh細胞」或「Tfh」)相比，cTfh細胞(亦即Tfh樣細胞)表現降低含量之ICOS、Bcl -6，及諸如CD69及HLA-DR之細胞活化標記物，但維持用同源抗原再活化之後活體外B細胞中刺激Ab產生及Ig類別轉換之能力。

【0150】 如此項技術中已知，如在本文中可互換使用之「聚核苷酸」或「核酸」係指任何長度之核苷酸鏈，且包括DNA及RNA。核苷酸可為去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、修飾核苷酸或鹼及/或其類似物或任何可藉由DNA或RNA聚合酶併入鏈中之受質。聚核苷酸可包含修飾核苷酸，諸如甲基化核苷酸及其類似物。若存在，可在鏈組合之前或之後賦予對核苷酸結構之修飾。核苷酸之序列可間雜有非核苷酸組分。聚核苷酸可進一步在聚合之後諸如藉由與標記組分結合而修飾。其他類型之修飾包括例如「蓋」；用類似物取代天然存在之核苷酸中之一或多者；核苷酸間修飾，諸如彼等具有不帶電鍵(例如磷酸甲酯、磷酸三酯、胺基磷酸酯、胺基甲酸酯等)及具有帶電鍵(例如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等)之修飾，彼等含有諸如蛋白質(例如核酸酶、毒素、抗體、信號肽、聚-L-離胺酸等)之附掛部分之修飾、彼等具有嵌入劑(例如吡啶、補骨脂素等)之修飾、彼等含有螯合劑(例如金屬、放射性金屬、硼、氧化金屬等)之修飾、彼等含有烷基化劑之修飾、彼等具有修飾鍵(例如 α 變旋異構核酸等)之修飾以及聚核苷酸之未經修飾之形式。此外，一般存在於糖中之任何羥基可

例如藉由磷酸酯基、磷酸酯基置換，藉由標準保護基保護，或經活化以製備與額外核苷酸之額外鍵聯，或可結合至固體支撐物。5'及3'末端OH可經磷酸化或經1至20個碳原子之胺或有機封端基團取代。其他羥基亦可生成標準保護基。聚核苷酸亦可含有此項技術中一般已知之類似形式之核糖或去氧核糖，包含例如2'-O-甲基-、2'-O-烯丙基、2'-氟-或2'-疊氮基-核糖、碳環糖類似物、 α -或 β -變旋異構糖、差向異構糖(諸如阿拉伯糖、木糖或來蘇糖)；嘧啶糖、呋喃糖、景天庚酮糖、非環類似物及無鹼基核苷類似物(諸如甲基核糖苷)。一或多個磷酸二酯鍵可藉由替代性鍵聯基團置換。此等替代性鍵聯基團包括但不限於以下實施例：其中磷酸酯經P(O)S(「硫代酸酯」)、P(S)S(「二硫代酸酯」)、(O)NR₂(「醯胺酯」)、P(O)R、P(O)OR'、CO或CH₂(「甲縮醛」)置換，其中各R或R'獨立地係H或視情況含有醚(-O-)鍵、芳基、烯基、環烷基、環烯基或芳醛基之經取代或未經取代之烷基(1-20 C)。聚核苷酸中並非所有鍵需要一致。前述描述適用於本文所提及之所有聚核苷酸，包括RNA及DNA。

【0151】 如本文所用，「載體」意謂構築體，其能夠遞送且較佳地表現宿主細胞中相關的一或多個基因或序列。載體之實例包括(但不限於)病毒載體、裸DNA或RNA表現載體、質體、黏質體或噬菌體載體、與陽離子縮合劑結合之DNA或RNA表現載體、囊封於脂質體中之DNA或RNA表現載體，及某些真核細胞，諸如生產細胞。

【0152】 「宿主細胞」包括可為或已成為用於併入聚核苷酸插入物之載體之受體的個別細胞或細胞培養物。宿主細胞包括單個宿主細胞之後代，且後代可能歸因於自然、偶然或故意突變而不一定與原始母細胞完全一致(在形態或基因組DNA補體方面)。宿主細胞包括經本發明之聚核苷酸

在活體內轉染及/或轉型之細胞。

【0153】 宿主細胞可為原核細胞或真核細胞。例示性真核細胞包括哺乳動物細胞，諸如靈長類動物或非靈長類動物細胞；真菌細胞，諸如酵母；植物細胞；以及昆蟲細胞。

【0154】 對細胞培養物敏感及蛋白質或多肽表現敏感之任何宿主細胞均可根據本發明使用。在某些實施例中，宿主細胞係哺乳動物。可作為宿主用於表現之哺乳動物細胞株為此項技術中所熟知且包括許多可獲自美國典型培養物寄存中心(American Type Culture Collection；ATCC)之永生化細胞株。非限制性例示性哺乳動物細胞包括但不限於NS0細胞、HEK 293及中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，以及其衍生物，諸如293-6E及CHO DG44細胞，CHO DXB11，及Potelligent® CHOK1SV細胞(BioWa/Lonza, Allendale, NJ)。哺乳動物宿主細胞亦包括但不限於人類子宮頸癌細胞(HeLa，ATCC CCL 2)、嬰兒倉鼠腎(BHK，ATCC CCL 10)細胞、猴腎細胞(COS)及人類肝細胞癌細胞(例如Hep G2)。可根據本發明使用之哺乳動物細胞之其他非限制性實例包括人類視網膜母細胞(PER.C6®；CruCell, Leiden, The Netherlands)；經SV40 (COS-7，ATCC CRL 1651)轉型之猴腎CV1細胞株；經次選殖以用於在懸浮培養物中生長之人類胚胎腎細胞株293 (HEK 293)或293細胞(Graham等人, 1977, J. Gen Virol. 36:59)；小鼠塞特利氏細胞(TM4，Mather, 1980, Biol. Reprod. 23:243-251)；猴腎細胞(CV1 ATCC CCL 70)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76，ATCC CRL-1 587)；犬腎細胞(MDCK，ATCC CCL 34)；水牛鼠肝細胞(BRL 3A，ATCC CRL 1442)；人類肺細胞(W138，ATCC CCL 75)；人類肝細胞(Hep G2，HB 8065)；小鼠乳腺腫瘤細胞(MMT

060562, ATCC CCL51); TR1細胞(Mather等人, 1982, Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68); MRC 5細胞; FS4細胞; 人類肝癌細胞株(Hep G2); 及大量骨髓瘤細胞株, 包括但不限於BALB/c小鼠骨髓瘤細胞株(NS0/1, ECACC號: 85110503)、NS0細胞及Sp2/0細胞。

【0155】 另外, 任何數目之可商購獲得及不可商購獲得的表現多肽或蛋白質之細胞株均可根據本發明使用。熟習此項技術者將瞭解, 不同細胞株可具有不同營養需求及/或可需要不同培養條件以實現最佳生長及多肽或蛋白質表現, 且將能夠視需要修改條件。

【0156】 本發明包括此項技術中已知或本文所揭示之用於產生相關蛋白質之任何真核生物表現系統, 諸如昆蟲細胞系統中之表現, 酵母菌表現系統或哺乳動物細胞系統, 諸如但不限於CHO細胞。

【0157】 如本文所用, 「表現控制序列」意謂引導核酸轉錄之核酸序列。表現控制序列可為啟動子, 諸如構成性或誘導性啟動子; 或強化子。表現控制序列可操作地連接於待轉錄之核酸序列。

【0158】 如本文中所使用, 「治療」為用於獲得有益或所需臨床結果之方法。出於本發明之目的, 有益的或所要臨床結果包括(但不限於)以下中之一或多者: 存活率提高(死亡率降低)、疾病之發炎反應降低、組織纖維化量降低、疾病病變之外觀好轉、病理性病變限制於局部位點、來自疾病之損害程度降低、疾病之持續時間降低及/或與疾病相關之症狀的數量、程度或持續時間降低。術語包括投與本發明之化合物或藥劑以防止或延緩疾病之症狀、併發症或生化指標發作, 緩解該等症狀或阻滯或抑制疾病、病狀或病症進一步發展。治療可為防治性(以預防或延緩疾病發作或預防其臨床或亞臨床症狀顯現)或治療性抑止或緩解在疾病顯現後之症

狀。

【0159】「改善」意謂與未投與CXCR5抗體相比，一或多種症狀減輕或改良。「改善」亦包括縮短或降低症狀之持續時間。

【0160】如本文中所使用，藥物、化合物或醫藥組合物之「有效劑型」或「有效量」為足以影響一或多種有益或所要結果中之任何者之量。在更具體態樣中，有效量預防、緩解或改善疾病或感染之症狀及/或延長經治療之個體的存活期。對於預防性用途，有益或所要結果包括消除或降低疾病之風險、減輕疾病之嚴重程度或延緩疾病發作，其中疾病包括疾病、其併發症及在疾病發展期間所呈現之中間病理性表型之生物化學、組織及/或行為症狀。對於治療性用途，有益或所要結果包括諸如減輕CXCR5介導之疾病、病症或病狀之一或多種之症狀、降低治療疾病所需之其他藥物之劑量、增強另一藥物之效應及/或延緩患者之疾病進程的臨床結果。有效劑量可以一或多種投藥形式投與。出於本發明之目的，藥物、化合物或醫藥組合物之有效劑量為足以直接或間接實現預防性或治療性治療之量。如在臨床情形下所理解，藥物、化合物或醫藥組合物之有效劑量可或不可連同另一藥物、化合物或醫藥組合物一起達成。因此，「有效劑量」可視為處於投與一或多種治療劑的情形下，且若連同一或多種其他試劑，可達成或已達成所需結果，則單個藥劑可視為以有效量給出。

【0161】「個體(individual)」或「個體(subject)」為哺乳動物，更佳為人類。哺乳動物亦包括(但不限於)農畜(例如母牛、豬、馬、雞等)、運動型動物、寵物、靈長類動物、馬、狗、貓、小鼠及大鼠。在一些實施例中，個體視為處於疾病、病症或病狀風險下，該疾病、病症或病狀由CXCR5結合於其受體及藉此介導之信號傳導介導或與其相關。在某些實

施例中，個體具有自體免疫疾病、病症或病狀，諸如1型糖尿病。在某些實施例中，人個體需要免疫抑止療法。

【0162】 如本文所用，「醫藥學上可接受之載劑」或「醫藥可接受之賦形劑」包括在與活性成分組合時允許成分保留生物活性且不與個體之免疫系統反應之任何材料。實例包括但不限於標準醫藥上之載劑中任一者，諸如磷酸鹽緩衝鹽水溶液、水、乳液(諸如油/水乳液)及各種類型之濕潤劑。對於霧劑或非經腸投與之較佳稀釋劑為磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)或生理鹽水(0.9%)。包含該等載劑之組合物藉由熟知之習知方法調配(參見例如Remington's Pharmaceutical Sciences，第18版，A. Gennaro，編，Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990；及Remington, The Science and Practice of Pharmacy第20版，Mack Publishing, 2000)。

【0163】 本文描述例示性方法及物質，但類似或等效於本文所述之方法及物質之方法及物質亦可用於實施或測試本發明。該等材料、方法及實例僅具說明性且不意欲具有限制性。

II. 抗CXCR5抗體

【0164】 本發明係關於結合至CXCR5之抗體。較佳地，抗體特異性結合於CXCR5，亦即其結合於CXCR5但其並未可偵測地與其他分子結合，或以較低親和力與其他分子結合。本發明進一步係關於展現變化之效應功能的抗CXCR5抗體。在一些實施例中，變化之效應功能係提高的ADCC。在一些實施例中，抗體缺乏或含有可偵測地減少含量之岩藻糖(亦即其經去岩藻糖基化)。本發明亦係關於包含該等抗體之組合物；以及該等抗體之用途，包括治療性及醫藥上之用途。

【0165】 在一個實施例中，本發明提供以下中之任一者，或包含以

下之組合物(包括醫藥組合物)：具有輕鏈序列或其片段，及重鏈或其片段、衍生自以下抗體中之任一者的抗體：11G2、41A10及5H7。

【0166】 適用於本發明之抗體可涵蓋單株抗體、多株抗體、抗體片段(例如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、Fc等)、嵌合抗體、雙特異性抗體、異結合抗體、單鏈(scFv)、其突變體、包含抗體片段之融合蛋白(例如結構域抗體)、人類化抗體，及免疫球蛋白分子之任何其他經修飾之構形，其包含所需特異性之抗原識別位點(包括抗體之糖基化變異體)、抗體之胺基酸序列變異體，及經共價修飾之抗體。抗體可為小鼠、大鼠、人類或任何其他來源(包括嵌合或人類化抗體)。在一些實施例中，CXCR5抗體係單株抗體。在一些實施例中，抗體係人類或人類化抗體。

【0167】 本發明之CXCR5抗體可藉由此項技術中已知之任何方法製造。用於生產人類及小鼠抗體之通用技術為此項技術中已知的及/或描述於本文中。

【0168】 在初始鑑別之後，候選CXCR5抗體之活性可藉由已知用以測試靶向生物活性之生物分析進一步證實及細化。在一些實施例中，使用活體外細胞分析進一步表徵候選CXCR5抗體。舉例而言，可使用生物分析直接篩檢候選物。實例中詳細描述用於鑑別及表徵CXCR5抗體之一些方法。

【0169】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含至少一個選自由以下各者之序列組成之群的胺基酸序列：小鼠11G2 VH、小鼠11G2 VL、h11G2 VH (XC155)、h11G2 VH (XC156)、h11G2 VH (XC157)、h11G2 VH (XC350)、h11G2 VH (XC351)、h11G2 VH (XC352)、h11G2 VH (XC353)、h11G2 VH (XC354)、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL

(XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)、h11G2 VL (XC349)、小鼠41A10 VH、小鼠41A10 VL、h41A10 VH (XC147)、h41A10 VH (XC148)、h41A10 VH (XC150)、h41A10 VL (XC142)、h41A10 VL (XC143)、h41A10 VL (XC144)、h41A10 VL (XC145)、h41A10 VL (XC146)、h41A10 VL (XC149)、小鼠5H7 VH及小鼠5H7 VL。

【0170】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段與以上抗體中之任一者競爭結合於CXCR5。

【0171】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含VH胺基酸序列及VL胺基酸序列，其包含以下組合：與以下各者中之一或多者競爭結合於人類CXCR5之抗體或其抗原結合片段：小鼠11G2、嵌合11G2、h11G2 VH (XC152)/ VL (XC151)、h11G2 VH (XC152)/ VL (XC153)、h11G2 VH (XC152)/ VL (XC154)、h11G2 VH (XC152)/ VL (XC346)、h11G2 VH (XC152)/ VL (XC347)、h11G2 VH (XC152)/ VL (XC348)、h11G2 VH (XC152)/ VL (XC349)、h11G2 VH (XC155)/ VL (XC151)、h11G2 VH (XC155)/ VL (XC153)、h11G2 VH (XC155)/ VL (XC154)、h11G2 VH (XC155)/ VL (XC346)、h11G2 VH (XC155)/ VL (XC347)、h11G2 VH (XC155)/ VL (XC3484)、h11G2 VH (XC155)/ VL (XC349)、h11G2 VH (XC156)/ VL (XC151)、h11G2 VH (XC156)/ VL (XC153)、h11G2 VH (XC156)/ VL (XC154)、h11G2 VH (XC156)/ VL (XC346)、h11G2 VH (XC156)/ VL (XC347)、h11G2 VH (XC156)/ VL (XC348)、h11G2 VH (XC156)/ VL (XC349)、h11G2 VH (XC157)/ VL (XC151)、h11G2 VH (XC157)/ VL (XC153)、h11G2 VH (XC157)/ VL (XC154)、

h11G2 VH (XC157)/ VL (XC346)、h11G2 VH (XC157)/ VL (XC347)、
 h11G2 VH (XC157)/ VL (XC348)、h11G2 VH (XC157)/ VL (XC349)、
 h11G2 VH (XC350)/ VL (XC151)、h11G2 VH (XC350)/ VL (XC153)、
 h11G2 VH (XC350)/ VL (XC154)、h11G2 VH (XC350)/ VL (XC346)、
 h11G2 VH (XC350)/ VL (XC347)、h11G2 VH (XC350)/ VL (XC348)、
 h11G2 VH (XC350)/ VL (XC349)、h11G2 VH (XC351)/ VL (XC151)、
 h11G2 VH (XC351)/ VL (XC153)、h11G2 VH (XC351)/ VL (XC154)、
 h11G2 VH (XC351)/ VL (XC346)、h11G2 VH (XC351)/ VL (XC347)、
 h11G2 VH (XC351)/ VL (XC348)、及h11G2 VH (XC351)/ VL
 (XC349)、h11G2 VH (XC352)/ VL (XC151)、h11G2 VH (XC352)/ VL
 (XC153)、h11G2 VH (XC352)/ VL (XC154)、h11G2 VH (XC352)/ VL
 (XC346)、h11G2 VH (XC352)/ VL (XC347)、h11G2 VH (XC352)/ VL
 (XC348)、h11G2 VH (XC352)/ VL (XC349)、h11G2 VH (XC353)/ VL
 (XC151)、h11G2 VH (XC353)/ VL (XC153)、h11G2 VH (XC353)/ VL
 (XC154)、h11G2 VH (XC353)/ VL (XC346)、h11G2 VH (XC353)/ VL
 (XC347)、h11G2 VH (XC353)/ VL (XC348)、h11G2 VH (XC353)/ VL
 (XC349)、h11G2 VH (XC354)/ VL (XC151)、h11G2 VH (XC354)/ VL
 (XC153)、h11G2 VH (XC354)/ VL (XC154)、h11G2 VH (XC354)/ VL
 (XC346)、h11G2 VH (XC354)/ VL (XC347)、h11G2 VH (XC354)/ VL
 (XC348)、h11G2 VH (XC354)/ VL (XC349)、小鼠41A10、嵌合
 41A10、h41A10 VH (XC147)/ VL (XC142)、h41A10 VH (XC147)/ VL
 (XC143)、h41A10 VH (XC147)/ VL (XC144)、h41A10 VH (XC147)/
 VL (XC145)、h41A10 VH (XC147)/ VL (XC146)、h41A10 VH

(XC147)/ VL (XC149)、h41A10 VH (XC148)/ VL (XC142)、h41A10 VH (XC148)/ VL (XC143)、h41A10 VH (XC148)/ VL (XC144)、h41A10 VH (XC148)/ VL (XC145)、h41A10 VH (XC148)/ VL (XC146)、h41A10 VH (XC148)/ VL (XC149)、h41A10 VH (XC150)/ VL (XC142)、h41A10 VH (XC150)/ VL (XC143)、h41A10 VH (XC150)/ VL (XC144)、h41A10 VH (XC150)/ VL (XC145)、h41A10 VH (XC150)/ VL (XC146)、h41A10 VH (XC150)/ VL (XC149)、小鼠 5H7、及嵌合 5H7。

【0172】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段與以上抗體中之任一者競爭結合於CXCR5。

【0173】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含如SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51中之至少一者之胺基酸序列中所闡述的CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3。

【0174】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段進一步包含如SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57中之至少一者之胺基酸序列中所闡述的CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3。

【0175】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含如胺基酸序列SEQ ID NO:1中所闡述之CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3，及如胺基酸序列SEQ ID NO: 6中所闡述之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3。

【0176】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含如胺基酸序列

SEQ ID NO:1中所闡述之CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3，及如胺基酸序列SEQ ID NO: 10中所闡述之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3。

【0177】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含如胺基酸序列SEQ ID NO:1中所闡述之CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3，及如胺基酸序列SEQ ID NO: 12中所闡述之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3。

【0178】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含如胺基酸序列SEQ ID NO:1中所闡述之CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3，及如胺基酸序列SEQ ID NO: 52中所闡述之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3。

【0179】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段進一步包含如胺基酸序列SEQ ID NO: 6中所闡述之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3，及如SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51中之至少一者之胺基酸序列中所闡述之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3。

【0180】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段進一步包含如胺基酸序列SEQ ID NO: 10中所闡述之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3，及如SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51中之至少一者之胺基酸序列中所闡述之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3。

【0181】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段進一步包含如胺基酸序列SEQ ID NO: 12中所闡述之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3，及如SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51中之至少一者之胺基酸序列中所闡述之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3。

【0182】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段進一步包含如胺基酸序列SEQ ID NO: 52中所闡述之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3，及如SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51中之至少一者之胺基酸序列中所闡述之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3。

【0183】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段進一步包含如胺基酸序列SEQ ID NO: 27中所闡述之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3，及如胺基酸序列SEQ ID NO: 26中所闡述之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3。

【0184】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含如由寄存於ATCC，具有寄存編號PTA-124324之質體之插入物編碼的胺基酸序列中所闡述之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3。

【0185】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含如由寄存於ATCC，具有寄存編號PTA-124323之質體之插入物編碼的胺基酸序列中所闡述之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3。

【0186】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含由寄存於ATCC，具有寄存編號PTA-124324之質體之插入物編碼的CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3胺基酸序列，及由寄存於ATCC，具有寄存編號PTA-124323之質體之插入物編碼的胺基酸序列CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3胺基酸序列。

【0187】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段與以上抗體中之任一者競爭結合於CXCR5。

【0188】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之CDR-L1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之CDR-

L2、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之CDR-L3、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之CDR-H1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之CDR-H2，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之CDR-H3。

【0189】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之CDR-L1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之CDR-L2、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之CDR-L3、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之CDR-H1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之CDR-H2，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之CDR-H3。

【0190】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之CDR-L1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之CDR-L2、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之CDR-L3、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 19之CDR-H1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之CDR-H2，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 21之CDR-H3。

【0191】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14之CDR-L1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之CDR-L2、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之CDR-L3、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 19之CDR-H1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之CDR-H2，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 21之CDR-H3。

【0192】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14之CDR-L1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之CDR-L2、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之CDR-L3、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之CDR-H1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之CDR-H2，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之CDR-H3。

【0193】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14之CDR-L1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之CDR-L2、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之CDR-L3、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之CDR-H1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之CDR-H2，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之CDR-H3。

【0194】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含如序列SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56及SEQ ID NO: 57中之至少一者中所闡述之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3胺基酸序列。

【0195】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含如序列SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51中之至少一者中所闡述之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3胺基酸序列。

【0196】 在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含如SEQ ID NO: 5中所闡述之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3胺基酸序列。

【0197】 抗體或其抗原結合片段可包含VH，該VH包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 6至少90%一致之胺基酸序列。VH可包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 6至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。VH可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6。

【0198】 抗體或其抗原結合片段可包含VH，該VH包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 10至少90%一致之胺基酸序列。VH可包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 10至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%

或99%一致之胺基酸序列。VH可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10。

【0199】 抗體或其抗原結合片段可包含VH，該VH包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 12至少90%一致之胺基酸序列。VH可包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 12至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。VH可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12。

【0200】 抗體或抗原結合片段可包含VL，該VL包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 1至少90%一致之胺基酸序列。VL可包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 1至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。VL可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1。

【0201】 抗體或抗原結合片段可包含VL，該VL包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 5至少90%一致之胺基酸序列。VL可包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 5至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。VL可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5。

【0202】 抗體或其抗原結合片段可包含VH，該VH包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 17至少90%一致之胺基酸序列。VH可包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 17至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。VH可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 17。

【0203】 抗體或其抗原結合片段可包含VH，該VH包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 18至少90%一致之胺基酸序列。VH可包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 18至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。VH可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18。

【0204】 抗體或抗原結合片段可包含VL，該VL包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 13至少90%一致之胺基酸序列。VL可包含與胺基酸序列SEQ

ID NO:13至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。VL可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13。

【0205】 抗體或抗原結合片段可包含VL，該VL包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 58至少90%一致之胺基酸序列。VL可包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 58至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。VL可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 58。

【0206】 在一個態樣中，去岩藻糖基化抗體或其抗原結合片段可包含重鏈，該重鏈包含：VH，其選自包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56或SEQ ID NO: 57之VH，且進一步包含IgG1恆定域(SEQ ID NO: 31)。在一個態樣中，該抗體變異體包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15個全長重鏈之保守或非保守取代，及/或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15個全長重鏈之添加及/或缺失。在另一態樣中，該變異體具有與全長重鏈至少65%、至少75%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或至少99%的序列一致性，且其中該抗體或抗原結合片段特異性結合CXCR5。

【0207】 本發明之去岩藻糖基化抗體可包含輕鏈，該輕鏈包含VL，該VL包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50或SEQ ID NO: 51，其中抗體進一步包含輕鏈恆定域。如本文中其他地方更加完整地描述，去岩藻糖基化抗體輕鏈恆定域可選自C κ 或C λ 恆定區，例如SEQ ID NO: 30之C κ 恆定區。在一個態樣中，該抗體變異體包含1、

2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15個全長輕鏈之保守或非保守取代，及/或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15個全長輕鏈之添加及/或缺失。在另一態樣中，該變異體具有與全長輕鏈至少65%、至少75%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或至少99%的序列一致性，且其中該抗體或抗原結合片段特異性結合CXCR5。

【0208】 抗體或抗原結合片段可包含HC，該HC包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 29 至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。HC可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 29。較佳地，抗體經去岩藻糖基化。

【0209】 抗體或抗原結合片段可包含LC，該LC包含與SEQ ID NO: 28 至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。LC可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 28。較佳地，抗體經去岩藻糖基化。

【0210】 較佳地，本發明之抗體或其抗原結合片段經去岩藻糖基化。甚至更佳，抗體或其抗原結合片段經去岩藻糖基化且相比於經岩藻糖基化之其他方面相同之抗體展現提高的ADCC效應功能。

生殖系取代

【0211】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含以下重鏈 CDR序列：(i)包含SEQ ID NO: 7之CDR-H1、包含SEQ ID NO: 8之CDR-H2，及包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11之CDR-H3；及/或(ii)以下輕鏈CDR序列：包含SEQ ID NO: 2之CDR-L1、包含SEQ ID NO: 3之CDR-L2，及包含SEQ ID NO: 4之CDR-L3。此等係小鼠CDR且較佳地經接枝

或在人類VH及VL域之情況下以其它方式添加。各種受體人類生殖系序列係可用的且用於「人類化」用於人體內之非人類物種抗體的製程將在此項技術中熟知的且亦在本文中其他地方論述。因此，熟練技術人員將理解，以上小鼠CDR序列可在人類V域胺基酸序列之情形下置放。藉此，一般使受體人類生殖系序列發生變化以保存抗體結合及原始親本(亦即供體)抗體之其他期望特徵。CDR及構架區(FW)兩者可如下經工程改造。

【0212】 在某些實施例中，相對於胺基酸序列SEQ ID NO: 2，在CDR-L1中進行不超過11個、或不超過10個、不超過9個、不超過8個、不超過7個、不超過6個、不超過5個、不超過4個、不超過3個、不超過2個、或不超過1個取代。在某些實施例中，相對於胺基酸序列SEQ ID NO: 3，在CDR-L2中進行不超過6個、不超過5個、不超過4個、不超過3個、不超過3個、不超過2個或不超過一個取代。在某些實施例中，相對於胺基酸序列SEQ ID NO: 4，在CDR-L3中進行不超過8個、不超過7個、不超過6個、不超過5個、不超過4個、不超過3個、不超過3個、不超過2個或不超過一個取代。在某些實施例中，相對於胺基酸序列SEQ ID NO: 7，在CDR-H1中進行不超過10個、不超過9個、不超過8個、不超過7個、不超過6個、不超過5個、不超過4個、不超過3個、不超過2個或不超過1個取代。在一些實施例中，相對於胺基酸序列SEQ ID NO: 8，在CDR-H2中進行不超過17個、不超過16個、不超過15個、不超過14個、不超過13個、不超過12個、不超過11個、不超過10個、不超過9個、不超過8個、不超過7個、不超過6個、不超過5個、不超過4個、不超過3個、不超過2個、或不超過1個取代。在一些實施例中，相對於胺基酸序列SEQ ID NO: 9或相對於胺基酸序列SEQ ID NO: 11，在CDR-H3中進行不超過12個、不超

過11個、或不超過10個、不超過9個、不超過8個、不超過7個、不超過6個、不超過5個、不超過4個、不超過3個、不超過2個或不超過1個取代。在某些實施例中，取代不會使結合親和力(K_D)值改變超過1000倍、超過100倍或10倍。在某些實施例中，取代為根據表1之保守取代。

【0213】 在某些實施例中，取代係人類生殖系取代，其中(供體)CDR殘基經對應的人類生殖系(受體)殘基置換，以提高人類胺基酸含量且可能降低抗體之免疫原性，如例如美國專利申請公開案第2017/0073395號及Townsend等人, 2015, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 112(50):15354-15359)中所描述。舉例而言，若使用人類生殖系DPK9構架且比較例示性抗體小鼠或人類化(XC154) 11G2 VL，則11G2 VL (小鼠及人類化XC154)抗體(SEQ ID NO: 2)及人類生殖系DPK9之CDR-L1之對準如下：

位置	27	28	29	30	31	32	33	34	35
人類生殖系DPK9	Q	<i>S</i>	I	S	S	Y	L	N	W
11G2 VL (SEQ ID NO:2)	E	<i>S</i>	V	E	Y	H	G	T	S

【0214】 對於胺基酸位置編號28(斜體)，人類生殖系殘基(受體)及對應的11G2 VL (XC154)殘基(供體)相同，且可能發生生殖系取代。對於位置27、29、30、31、32、33、34及35 (粗體且帶下劃線)，人類生殖系(受體)殘基及對應的11G2 VL (XC154) (供體)殘基不同。此等位置處11G2 VL (XC154)之殘基可經對應的人類生殖系DPK9殘基置換以進一步增加人類殘基含量。各重鏈及輕鏈CDR可遵循相同製程從而在保存結合特徵(例如抗原決定基結合、親和力及其類似者)之同時增加人類胺基酸殘基之含量，同時最小化小鼠殘基之含量，進而減少對人類中抗體之任何可能的免疫原性，例如人類抗小鼠抗體(HAMA)免疫反應。

【0215】 用於將人類生殖系殘基引入抗體CDR之方法及文庫詳細描

述於美國專利申請公開案第2017/0073395號及Townsend等人, 2015, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 112(50):15354-15359中，且兩者以全文引用之方式併入本文中。

【0216】 抗體或其抗原結合片段可包含VH構架，該VH構架包含人類生殖系VH構架序列。VH構架序列可來自人類VH3生殖系、VH1生殖系、VH5生殖系或VH4生殖系。較佳的人類生殖系重鏈構架係衍生自VH1、VH3或VH5生殖系之構架。舉例而言，可使用來自以下生殖系之VH構架：IGHV3-23、IGHV3-7或IGHV1-69(生殖系名稱係基於IMGT生殖系定義)。較佳的人類生殖系輕鏈構架係衍生自VK或V λ 生殖系之構架。舉例而言，可使用來自以下生殖系之VL構架：IGKV1-39或IGKV3-20(生殖系名稱係基於IMGT生殖系定義)。可替代地或另外，構架序列可為人類生殖系共同構架序列，諸如以下各者之構架：人類V λ 1共同序列、VK1共同序列、VK2共同序列、VK3共同序列、VH3生殖系共同序列、VH1生殖系共同序列、VH5生殖系共同序列、或VH4生殖系共同序列。人類生殖系構架之序列可獲自各種公眾資料庫，諸如V-base、IMGT、NCBI或Abysis。

【0217】 抗體或其抗原結合片段可包含VL構架，該VL構架包含人類生殖系VL構架序列。VL構架可包含一或多個胺基酸取代、添加或缺失，同時仍保留與衍生該VL構架之生殖系的功能及結構類似性。在一些態樣中，VL構架與人類生殖系VL構架序列至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%一致。在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含VL構架，該VL構架相對於人類生殖系VL構架序列包含1、2、3、4、

5、6、7、8、9、10個胺基酸取代、添加或缺失。在一些態樣中，1、2、3、4、5、6、7、8、9 或10個胺基酸取代、添加或缺失僅處於構架區中。在其他態樣中，一致性%係基於與不包括在本文中定義為CDR之彼等片段之VL的類似性。

【0218】 人類生殖系VL構架可為DPK9 (IMGT名稱：IGKV1-39)之構架。人類生殖系VL構架可為DPK12 (IMGT名稱：IGKV2D-29)之構架。人類生殖系VL構架可為DPK18 (IMGT名稱：IGKV2-30)之構架。人類生殖系VL構架可為DPK24 (IMGT名稱：IGKV4-1)之構架。人類生殖系VL構架可為HK102_V1 (IMGT名稱：IGKV1-5)之構架。人類生殖系VL構架可為DPK1 (IMGT名稱：IGKV1-33)之構架。人類生殖系VL構架可為DPK8 (IMGT名稱：IGKV1-9)之構架。人類生殖系VL構架可為DPK3 (IMGT名稱：IGKV1-6)之構架。人類生殖系VL構架可為DPK21 (IMGT名稱：IGKV3-15)之構架。人類生殖系VL構架可為Vg_38K (IMGT名稱：IGKV3-11)之構架。人類生殖系VL構架可為DPK22 (IMGT名稱：IGKV3-20)之構架。人類生殖系VL構架可為DPK15 (IMGT名稱：IGKV2-28)之構架。人類生殖系VL構架可為DPL16 (IMGT名稱：IGLV3-19)之構架。人類生殖系VL構架可為DPL8 (IMGT名稱：IGLV1-40)之構架。人類生殖系VL構架可為V1-22 (IMGT名稱：IGLV6-57)之構架。人類生殖系VL構架可為人類V λ 共同序列之構架。人類生殖系VL構架可為人類V λ 1共同序列之構架。人類生殖系VL構架可為人類V λ 3共同序列之構架。人類生殖系VL構架可為人類VK共同序列之構架。人類生殖系VL構架可為人類VK1共同序列之構架。人類生殖系VL構架可為人類VK2共同序列之構架。人類生殖系VL構架可為人類VK3共同序列之構架。

【0219】 在一些態樣中，VL構架為DPK9。亦預測遞送本發明之有利抗體的其他類似構架區，其包含SEQ ID NO: 2、3、4、7、8、9、11、14、15、16之CDR；及由以下VL胺基酸序列指定之CDR：1、5、13、28、35、37、39、47、48、48、50、51、58、59、60、61、62、97、98，包括DPK5、DPK4、DPK1、IGKV1-5*01、DPK24、DPK21、DPK15、IGKV1-13*02、IGKV1-17*01、DPK8、IGKV3-11*01，及DPK22，其包含分別與DPK-9之FW區99、97、97、96、80、76、66、97、97、96、76及74%的一致性及其一個或更少個常見結構特徵中之胺基酸差異(Kabat編號) (A)直接位於CDR (游標區)下方之殘基、L2、L4、L35、L36、L46、L47、L48、L49、L64、L66、L68、L69、L71，(B) VH/VL鏈填充殘基：L36、L38、L44、L46、L87及(C)典型的CDR結構載體殘基L2、L48、L64、L71 (參見Lo, 「Antibody Humanization by CDR Grafting」, (2004) Antibody Engineering, 第248卷, Methods in Molecular Biology 第135-159頁以及O'Brien 及Jones, 「Humanization of Monoclonal Antibodies by CDR Grafting」, (2003) Recombinant Antibodies for Cancer Therapy, Vol. 207, Methods in Molecular Biology 第81-100頁)。尤其較佳的係分別與DPK9共有99、97、97、96、80、76、66%一致性之DPK5、DPK4、DPK1、IGKV1-5*01、DPK24、DPK21及DPK15之構架區，且沒有在此等共同結構特徵中之胺基酸差異。在其他態樣中，一致性%係基於與不包括在本文中定義為CDR之彼等片段之VL的類似性。

【0220】 抗體或其抗原結合片段可包含VH構架，該VH構架包含人類生殖系VH構架序列。VH構架可包含一或多個胺基酸取代、添加或缺

失，同時仍保留與衍生該VL構架之生殖系的功能及結構類似性。在一些態樣中，VH構架與人類生殖系VH構架序列至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%一致。在一些態樣中，抗體或其抗原結合片段包含VH構架，該VH構架相對於人類生殖系VH構架序列包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個胺基酸取代、添加或缺失。在一些態樣中，1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個胺基酸取代、添加或缺失僅處於構架區中。在一些態樣中，一致性%係基於與不包括在本文中定義為CDR之彼等片段之VH的類似性。

【0221】 人類生殖系VH構架可為DP54或IGHV3-7之構架。人類生殖系VH構架可為DP47或IGHV3-23之構架。人類生殖系VH構架可為DP71或IGHV4-59之構架。人類生殖系VH構架可為DP75或IGHV1-2_02之構架。人類生殖系VH構架可為DP10或IGHV1-69之構架。人類生殖系VH構架可為DP7或IGHV1-46之構架。人類生殖系VH構架可為DP49或IGHV3-30之構架。人類生殖系VH構架可為DP51或IGHV3-48之構架。人類生殖系VH構架可為DP38或IGHV3-15之構架。人類生殖系VH構架可為DP79或IGHV4-39之構架。人類生殖系VH構架可為DP78或IGHV4-30-4之構架。人類生殖系VH構架可為DP73或IGHV5-51之構架。人類生殖系VH構架可為DP50或IGHV3-33之構架。人類生殖系VH構架可為DP46或IGHV3-30-3之構架。人類生殖系VH構架可為DP31或IGHV3-9之構架。人類生殖系VH構架可為人類VH生殖系共同序列之構架。人類生殖系VH構架可為人類VH3生殖系共同序列之構架。人類生殖系VH構架可為人類VH5生殖系共同序列之構架。人類生殖系VH構架可為人類VH1生殖系共

同序列之構架。人類生殖系VH構架可為人類VH4生殖系共同序列之構架。

【0222】 在一些態樣中，VH構架為DP-54。亦預測遞送本發明之有利抗體的其他類似構架區，其包含SEQ ID NO: 7、8、9、11、19、20、21之CDR；及由以下VH胺基酸序列指定之CDR：6、10、12、17、18、36、38、40、52、53、54、55、56、57、63、96，包括DP -50、IGHV3-30*09、IGHV3-30*15、IGHV3-48*01、DP-77、DP-51、IGHV3-66*01、DP-53、DP-48、IGHV3-53*01、IGHV3-30*02，及DP-49，其包含分別與DP-54之FW區93、92、92、99、97、97、96、96、94、94、93、92%的一致性，及一個或更少個常見結構特徵中之胺基酸差異(Kabat編號) (A)直接位於CDR (游標區)下方之殘基、H2、H47、H48及H49、H67、H69、H71、H73、H93、H94，(B) VH/VL鏈填充殘基：H37、H39、H45、H47、H91、H93及(C)典型的CDR結構載體殘基H24、H71、H94 (參見Lo 2004，及O'Brien and Jones 2003)。尤其較佳的係分別與DP-54共有93、92及92%一致性之DP-50、IGHV3-30*09、IGHV3-30*15之構架區，且沒有在此等共同結構特徵中之胺基酸差異。在一些態樣中，一致性%係基於與不包括在本文中定義為CDR之彼等片段之VH的類似性。

【0223】 在某些實施例中，本文中所述之抗體或其抗原結合片段包含(i) VH，該VH包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 8至少50%、至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%一致之胺基酸序列，及/或(ii) VL，該VL包含與胺

基酸序列SEQ ID NO: 1至少50%、至少60%、至少66%、至少70%、至少75%、至少76%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%一致之胺基酸序列。本發明亦涵蓋此等VL及VH序列之任何組合。

【0224】 在某些實施例中，本文中所述之抗體或其抗原結合片段包含(i) HC，該HC包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 29至少50%、至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%一致之胺基酸序列，及/或(ii) LC，該LC包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 28至少50%、至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%一致之胺基酸序列。本發明亦涵蓋此等HC及LC序列之任何組合。

【0225】 在某些實施例中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含Fc結構域。Fc結構域可衍生自IgA（例如IgA₁或IgA₂）、IgG、IgE或IgG（例如IgG₁、IgG₂、IgG₃或IgG₄）。

【0226】 本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其與本文中所述之抗體或其抗原結合片段中之任一者，諸如本文所提供之抗體(或其抗原結合片段)中之任一者競爭結合於人類CXCR5。舉例而言，若抗體或其抗原結合片段與人類CXCR5結合阻礙後續人類CXCR5與CXCL13的結合，則抗體或其抗原結合片段與CXCL13競爭人類CXCR5結合。

【0227】 本發明提供之抗體及抗原結合片段包括單株抗體、多株抗

體、抗體片段(例如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、Fc等)、嵌合抗體、雙特異性抗體、異結合抗體、單鏈(scFv)、其突變體、包含抗體部分之融合蛋白、結構域抗體(dAb)、人類化抗體，及包含所需特異性之抗原識別位點之免疫球蛋白分子的任何其他經修飾之構形，包括抗體之糖基化變異體、抗體之胺基酸序列變異體及經共價修飾之抗體。抗體及抗原結合片段可為小鼠、大鼠、人類或任何其他來源(包括嵌合或人類化抗體)。在一些實施例中，抗體係單株抗體。在一些實施例中，抗體係嵌合、人類化或人類抗體。在某些實施例中，抗體係人類抗體。在某些實施例中，抗體係人類化抗體。

抗原決定基定位

【0228】 本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其結合至與本文中所述之抗體或其抗原結合片段所結合相同的人類CXCR5抗原決定基。舉例而言，可藉由SPR、流式細胞量測術及此項技術中已知之任何其他分析評定抗體競爭分析(及重疊抗原決定基分析)。

【0229】 在一個態樣中，本發明涵蓋抗體或其抗原結合片段，其結合人類CXCR5及食蟹獼猴CXCR5，但不結合小鼠CXCR5。

【0230】 本發明亦包括結合人類CXCR5之N端區域(「N」)之抗體或其抗原結合片段。基於胺基酸序列SEQ ID NO: 31之編號，CXCR5之N端包含胺基酸殘基編號1-51。

【0231】 本發明包括抗體或其抗原結合片段，根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，其在包含胺基酸殘基位置編號11處之白胺酸(L)之抗原決定基處特異性結合CXCR5。

【0232】 在一個態樣中，本發明包括抗體或其抗原結合片段，根據

胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，其在包含胺基酸殘基位置編號22處之天冬胺酸(D)之抗原決定基處特異性結合CXCR5。

【0233】 在一個態樣中，本發明包括抗體或其抗原結合片段，根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，其在包含胺基酸殘基位置編號11處之白胺酸及胺基酸殘基位置編號22處之天冬胺酸之抗原決定基處特異性結合CXCR5。

【0234】 本發明包括特異性結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段，其中根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，位置編號11處之胺基酸殘基係白胺酸。

【0235】 本發明包括抗體或其抗原結合片段，根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，其在位置編號11處之胺基酸殘基係白胺酸之情況下特異性結合CXCR5，但在位置編號11處之胺基酸殘基係蘇胺酸之情況下不結合CXCR5。

【0236】 在一個態樣中，本發明包括抗體或其抗原結合片段，其特異性結合野生型人類CXCR5但在根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，胺基酸殘基位置編號11並非白胺酸之情況下不結合。

【0237】 本發明包括特異性結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段，其中根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，位置編號22處之胺基酸殘基係天冬胺酸。

【0238】 在一個態樣中，本發明包括抗體或其抗原結合片段，其特異性結合野生型人類CXCR5但在根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，位置編號22處之胺基酸殘基並非天冬胺酸之情況下不結合。

【0239】 在一個態樣中，本發明包括抗體或其抗原結合片段，其特

異性結合野生型人類CXCR5但在根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，胺基酸殘基位置編號22係丙胺酸之情況下不結合。

【0240】 本發明包括特異性結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段，其中根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，位置編號11處之胺基酸殘基係白胺酸且位置編號22處之胺基酸殘基係天冬胺酸。

【0241】 在一個態樣中，本發明包括特異性結合人類CXCR5但在以下情況下不結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段：根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，位置編號11處之胺基酸殘基並非白胺酸且位置編號22處之胺基酸殘基並非天冬胺酸。

【0242】 在一個態樣中，本發明包括抗體或其抗原結合片段，其特異性結合人類CXCR5但在以下情況下不結合：根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，位置編號11處之胺基酸殘基係蘇胺酸且位置編號22處之胺基酸殘基係丙胺酸。

【0243】 熟練技術人員結合本發明之教示內容將理解，根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，位置編號11及/或位置編號22處之胺基酸殘基對於本發明之抗體之結合至關重要。更具體而言，此等胺基酸殘基對於CXCR5與抗體11G2或其抗原結合片段之結合至關重要。因此，熟練技術人員將理解，本發明包括特異性結合CXCR5之抗體或其抗原結合片段，其中位置11處之胺基酸殘基係白胺酸且位置22處之胺基酸殘基係天冬胺酸。此等胺基酸殘基之取代或缺失會導致與CXCR5之結合的損失。位置11處之胺基酸殘基之某些取代可保存結合，但彼(白胺酸)胺基酸殘基與蘇胺酸之取代則不行。類似地，位置22處之胺基酸殘基之某些取代或缺失可保存結合，但彼胺基酸殘基號處之天冬胺酸與丙胺酸之取代則不行。因

此，11G2抗體或其抗原結合片段，或與其競爭結合之抗體的特徵在於，抗體結合人類CXCR5，其中根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號存在白胺酸11及天冬胺酸22，但抗體在白胺酸11經蘇胺酸或另一胺基酸殘基置換之情況下不結合，且抗體在天冬胺酸22經丙胺酸或另一胺基酸殘基置換之情況下不結合。在胺基酸殘基位置編號11及/或編號22處之胺基酸取代之後，結合損失之測試可使用此項技術中熟知的各種方法進行，包括使用點突變多肽之結合分析，如本文中例示之方法，。

【0244】基於本文所提供之教示內容，熟習此項技術者將理解，本發明之抗體可與例如11G2競爭，卻又不包含以下抗原決定基：其根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，包含在胺基酸殘基編號11處之白胺酸及/或胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸。亦即，抗體可與本發明之抗體競爭結合於CXCR5，但該競爭抗體結合在胺基酸殘基編號11處之白胺酸或胺基酸殘基編號22處之天冬胺酸經不同胺基酸(例如蘇胺酸對白胺酸之取代及/或丙胺酸對天冬胺酸之取代)，例如2C9、11A7及16D7取代之情況下不受影響。因此，本發明之抗體競爭結合於CXCR5以及在胺基酸殘基編號11並非白胺酸，且更具體而言其係蘇胺酸之情況下，及/或在胺基酸殘基編號22並非天冬胺酸，且更具體而言其係丙胺酸之情況下不結合CXCR5。如先前本文中其他地方所陳述，生產突變CXCR5蛋白及用於評定抗體競爭結合之分析係此項技術中熟知的，包括本文中所述之彼等方法。因此，基於本文所提供之教示內容，熟練技術人員將能夠輕易識別以下抗體：其結合CXCR5，與本發明之抗體競爭結合，且在某些胺基酸已經例如白胺酸11、天冬胺酸22或兩者取代之情況下損失結合CXCR5突變蛋白之能力，所有均根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號。

【0245】 在另一態樣中，本發明包括抗體或其抗原結合片段，起與抗體11G2或其抗原結合片段競爭結合，其中抗體在根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，胺基酸殘基編號11並非白胺酸之情況下不結合CXCR5。

【0246】 在另一態樣中，本發明包括抗體或其抗原結合片段，其與抗體11G2或其抗原結合片段競爭結合，其中抗體在根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，胺基酸殘基編號22並非白胺酸之情況下不結合CXCR5。

【0247】 在另一態樣中，本發明包括抗體或其抗原結合片段，其與抗體11G2或其抗原結合片段競爭結合，其中抗體在根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，胺基酸殘基編號11並非白胺酸且胺基酸殘基編號22並非天冬胺酸之情況下不結合CXCR5。

【0248】 在另一態樣中，本發明包括抗體或其抗原結合片段，其與抗體11G2或其抗原結合片段競爭結合，其中抗體在根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，胺基酸殘基編號11係蘇胺酸之情況下不結合CXCR5。

【0249】 在另一態樣中，本發明包括抗體或其抗原結合片段，其與抗體11G2或其抗原結合片段競爭結合，其中抗體在根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，胺基酸殘基編號22係丙胺酸之情況下不結合CXCR5。

【0250】 在另一態樣中，本發明包括抗體或其抗原結合片段，其與抗體11G2或其抗原結合片段競爭結合，其中抗體在根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號，胺基酸殘基編號11係蘇胺酸，且胺基酸殘基編號22係丙胺酸之情況下不結合CXCR5。

抗CXCR5抗體之生物活性

【0251】 除了結合CXCR5上之抗原決定基之外，本發明之抗體或其抗原結合片段亦可介導生物活性。亦即，本發明包括分離抗體或其抗原結合片段，其特異性結合CXCR5且介導至少一種選自以下之可偵測活性：
(a)以高表觀親和力結合CXCR5+細胞，但不結合表現CXCR5小鼠、大鼠或兔異種同源物之細胞；(b)拮抗對由毛喉素觸發之cAMP釋放的CXCL13抑制；(c)觸發人類供體及食蟹獼猴PBMC以及人類供體TMC中CXCR5表現細胞之ADCC；(d)結合人類CXCR5但不結合人類趨化介素受體CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、CMKLR1、CXCR3R1、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CXCR7或XCR1；(e)耗竭外周血液及/或周圍淋巴樣器官(亦即淋巴結、脾、派爾集合淋巴結及黏膜相關之淋巴組織)中之B細胞；(f)耗竭外周血液中之Tfh樣細胞；(g)耗竭周圍淋巴樣器官中之真正(bona fide) Tfh細胞；及(h)損害體液性免疫記憶反應。

【0252】 在一個態樣中，本發明包括抗體，或以高表觀親和力結合CXCR5+細胞，但不結合表現CXCR5小鼠、大鼠或兔異種同源物之細胞。可使用流式細胞量測術評定表觀親和力結合以偵測抗體與表現靶蛋白(例如CXCR5)之細胞的結合。細胞可用編碼CXCR5之核酸短暫或穩定轉染。可替代地，細胞可為在其表面上天然表現CXCR5之細胞。不管CXCR5+細胞源如何，均可使用多種此項技術中公認的方法輕易評定抗體與細胞之結合。抗體或其抗原結合片段結合人類CXCR5或食蟹獼猴CXCR5，但不會可偵測地結合小鼠、大鼠或兔CXCR5，或以小得多的程度與其結合。

【0253】 本發明包括抗體或其抗原結合片段，其特異性結合CXCR5

且拮抗由CXCL13與CXCR5之結合介導的活性。存在許多此項技術中已知用以測定對CXCR5-CXCL13信號傳導所介導之活性的抑制。一種此類分析係cAMP報導分析。在此類分析中，毛喉素誘導cAMP生產，該cAMP生產由穩定表現CXCR5之細胞中的CXCR5-CXCL13信號傳導抑制。因此在存在或不存在抗體下，藉由量測所產生之cAMP水準評定抗CXCR5抗體結合CXCR5及拮抗CXCR5-CXCL13信號傳導之作用的能力。較佳地，抗體可以約50 pM、約100 pM、約200 pM、約400 pM、約600 pM、約700 pM、約750 pM、約790 pM、約800 pM、約850 pM、約900 pM、約950 pM、約960 pM、約970 pM、約980 pM、約990 pm、或約1000 pM之EC50介導cAMP水準之劑量依賴型提高。更佳地，抗體或其抗原結合片段以約961 pM之EC50抑制對毛喉素所觸發之cAMP得CXCL13抑制。

【0254】 本發明包括抗體或其抗原結合片段，其特異性結合CXCR5且觸發人類供體及食蟹獼猴PBMC及人類供體扁桃體單核細胞(TMC)中之CXCR5表現細胞之ADCC。可使用許多ADCC分析評定抗體之ADCC活性。一種此例示性分析在本文中描述於實例6及7中，但本發明不限於此特定ADCC分析。本發明包括抗體或其抗原結合片段，其展現EC50為約0.11 pM、0.2 pM、0.5 pM、1 pM、1.5 pM、2.0 pM、2.5 pM、3.0 pM、4.5 pM、4.8 pM、5.0 pM、6.0 pM、7.0 pM、8.0 pM、9.0 pM、10 pM、11 pM、12 pM、15 pM、20 pM、25 pM、30 pM、35 pM、或40 pM之對人類B細胞、人類Tfh樣細胞、人類Tfh細胞及食蟹獼猴B細胞之ADCC活性。更佳地，抗體或其抗原結合片段展現EC50為約 2.01 ± 2.28 pM之對人類B細胞、約 4.82 ± 2.88 pM對人類Tfh樣細胞、約0.11 pM對人類THF細胞，及約 15.3 ± 11.7 pM對食蟹獼猴B細胞之ADCC活性。甚至更佳地，抗

體或其抗原結合片段經去岩藻糖基化。

【0255】 本發明涵蓋以下抗體或其抗原結合片段：其結合人類 CXCR5 但不會可偵測地結合人類蛋白質 CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、CMKLR1、CXCR3R1、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CXCR7 或 XCR1。

【0256】 本發明涵蓋抗體或其抗原結合片段，其特異性結合 CXCR5 且展現外周血液中 B 細胞之劑量依賴型耗竭。耗竭可為永久的，或更佳耗竭係暫時的及/或可逆的。在一個態樣中，足以介導 B 細胞耗竭之抗體劑量可在 0.001 至約 0.2 mg 之範圍內，其中相比於並未投與抗體之外周血液中 B 細胞或 Tfh 樣細胞的百分比，0.0001 mg/kg 可介導食蟹獼猴之外周血液中 B 細胞及 Tfh 樣細胞約 50% 之耗竭。另外，抗體可介導以少於 5 mg/kg 之劑量(靜脈內投與(IV))進行投與之食蟹獼猴的外周血液中 B 細胞及 Tfh 樣細胞之最大耗竭。較佳地，在投與抗體後出現 B 細胞、Tfh 樣及 Tfh 細胞之部分至完全恢復。

【0257】 本發明包括抗體或其抗原結合片段，其特異性結合 CXCR5 且損害體液性免疫記憶反應。在一個態樣中，使用疫苗回憶分析評定體液性記憶反應。亦即，向先前已接種抗原(例如破傷風類毒素(TT))之個體投與抗體。向個體第二次投與抗原且使免疫反應(例如 IgM 及 IgG 效價)與並未投與抗體之其他方面相同之個體的免疫反應相比。在提供本文所揭示之教示內容之後，熟練技術人員將瞭解，可使用許多用以測定體液性記憶反應之分析評定抗體或其抗原結合片段損害體液性記憶反應之能力。另外，熟練技術人員將理解，損害體液性記憶反應之能力係待用作治療劑以治療

或預防有需要之個體之免疫疾病的抗體或其抗原結合片段之期望特徵。

【0258】 本發明涵蓋抗體或其抗原結合片段，其展現至少一種、較佳兩種、甚至更佳三種、甚至更佳四種、又更佳五種、甚至更佳六種、更佳七種上文論述之生物活性、且甚至更佳上文論述之全部生物活性。

III. 去岩藻糖基化抗CXCR5抗體

【0259】 在一個態樣中，提供具有缺乏附著(直接或間接)至Fc區之岩藻糖之碳水化合物結構的抗體(亦即去岩藻糖基化抗體)。舉例而言，包含複數種該等抗體之組合物中的岩藻糖量可為0百分比至約30百分比、0百分比至約20百分比、0百分比至約15百分比、0百分比至約10百分比、且更佳0百分比至約5百分比。在一些實施例中，包含複數種該等抗體之組合物包含至少80%、更佳至少85%、又更佳至少90%、甚至更佳至少95%去岩藻糖基化抗體，又更佳至少99%、且最佳至少99.5%去岩藻糖基化抗體。在一些實施例中，抗體經100%去岩藻糖基化；亦即，使用此項技術中公認的用於偵測抗體中之岩藻糖的方法未在Asn297處偵測到岩藻糖。岩藻糖之量藉由計算Asn297處之糖鏈內之岩藻糖相對於附著至Asn 297之所有醣結構之總和的平均量來確定(例如複合、雜交及高甘露糖結構)。

【0260】 在一些實施例中，岩藻糖基化之含量不超過0.5%，其係基於測試方法之檢測限(LOQ)。因此，在一些實施例中，岩藻糖基化之含量大於或等於99.5%。可使用N連接寡醣剖面法測定樣品中岩藻糖基化、唾液酸化、甘露糖基化及末端半乳糖苷化之含量。可使用N連接寡醣方法評估N連接聚糖。簡言之，N連接聚糖由肽-N-糖苷酶F以酶方式自蛋白質釋放。聚糖隨後藉由螢光劑衍生且使用親水作用液相層析及螢光偵測分析。隨後比較層析圖譜與參考材料之層析圖譜。此項技術中已知此方法及許多

其他方法用於評定抗體之岩藻糖基化，且其可用以測定本發明之抗體中所存在之岩藻糖基化水準。

【0261】 偵測抗體中岩藻糖之非限制性例示性方法包括MALDI-TOF質譜分析(參見例如WO 2008/077546)、所釋放之經螢光標記之寡醣的HPLC量測(參見例如Schneider等人, 「N-Glycan analysis of monoclonal antibodies and other glycoproteins using UHPLC with fluorescence detection」, Agilent Technologies, Inc. (2012); Lines, J. Pharm. Biomed. Analysis, 14: 601-608 (1996); Takahasi, J. Chrom., 720: 217-225 (1996))、所釋放之經螢光標記之寡醣的毛細電泳法量測(參見例如Ma等人, Anal. Chem., 71: 5185-5192 (1999))，及利用脈衝電流偵測量測單醣組合物之HPLC (參見例如Hardy等人, Analytical Biochem., 170: 54-62 (1988))。Asn297係指位於Fc區中大約位置297處之天冬醯胺殘基(Fc區殘基之EU編號)；然而，Asn297亦可位於位置297之上游或下游約 ± 3 個胺基酸處，亦即位置294與300之間，其歸因於抗體之微小序列偏差。在本文中所述之CXCR5抗體中，在序列QYNST中發現Asn297，且其在表16中呈粗體且帶下劃線(例如野生型人類IgG1 Fc結構域之SEQ ID NO: 31)。

【0262】 岩藻糖基化變異體可以具有改善之ADCC功能。參見例如美國專利公開案第US 2003/0157108號(Presta, L.)；第US 2004/0093621號(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。關於「去岩藻糖基化」或「缺乏岩藻糖」抗體之公開案之實例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US

2004/0110282 ; US 2004/0109865 ; WO 2003/085119 ; WO
2003/084570 ; WO 2005/035586 ; WO 2005/035778 ;
WO2005/053742 ; WO2002/031140 ; Okazaki等人 J. Mol. Biol. 336:
1239-1249 (2004) ; Yamane-Ohnuki等人 Biotech. Bioeng. 87: 614
(2004)。能夠產生去岩藻糖基化抗體之細胞株之實例包括缺乏蛋白質岩藻
糖基化之Lec 13 CHO細胞(Ripka等人 Arch. Biochem. Biophys. 249:533-
545 (1986) ; 美國專利申請案第US 2003/0157108 A1號 , Presta, L ; 及
WO 2004/056312 , Adams等人 , 尤其實例11) , 及基因剔除細胞株 , 諸如
 α -1,6-岩藻糖基轉移酶基因、FUT8、基因剔除CHO細胞(參見例如
Yamane-Ohnuki等人 Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004) ; Kanda, Y.等人,
Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006) ; 及WO2003/085107)。

【0263】 抗體進一步具備平分寡醣，例如其中附著至抗體之Fc區的
雙觸寡醣藉由GlcNAc平分。此類抗體可具有減少之岩藻糖基化及/或改良
之ADCC功能。該等抗體之實例描述於例如WO 2003/011878 (Jean-
Mairet等人) ; 美國專利第6,602,684 (Umaña等人)號 ; 及US
2005/0123546 (Umaña等人)。亦提供寡醣中之至少一個半乳糖殘基與Fc
區連接之抗體。此類抗體可具有改良之CDC功能。此類抗體描述於例如
WO 1997/30087 (Patel等人) ; WO 1998/58964 (Raju, S.) ; 及WO
1999/22764 (Raju, S.)。

【0264】 在本發明之一些實施例中，去岩藻糖基化抗體在人類效應
細胞存在下比包含岩藻糖之親本抗體更有效地介導ADCC。一般而言，
ADCC活性可使用如本文所揭示之活體外ADCC分析測定，但涵蓋用於測
定ADCC活性之其他分析或方法，例如動物模型等。

【0265】 在一些實施例中，去岩藻糖基化抗CXCR5抗體活體外及/或活體內具有增強的ADCC活性。在一些實施例中，去岩藻糖基化抗CXCR5抗體活體外具有增強的ADCC活性。在一些實施例中，藉由本文中所述之方法測定活體外ADCC活性。簡言之，將抗CXCR5抗體或同型對照之連續稀釋液與來自健康人類供體或食蟹獼猴之周邊血液單核細胞(PBMC)一起培育。在此分析中，該等PBMC係自然殺手(NK)效應細胞及標靶CXCR5+ B及Tfh樣細胞之來源。使用流式細胞量測術量化在大約20 hr之後剩餘的B細胞及Tfh樣細胞之數目。藉由繪製抗原結合群體對PF-06835375抗體濃度之對數的細胞毒性百分比來產生細胞毒性滴定曲線。根據以下等式，使用GraphPad Prism[®] (6.0版, GraphPad Software, Inc, San Diego, CA)非線性回歸曲線擬合及促效劑劑量-反應模型之S形對數確定EC₅₀值：

Log(促效劑)對反應-不同斜率(四個參數)

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom} / (1 + 10^{((\text{LogEC}_{50} - X) * \text{Hill斜率}))})$$

其中Y係細胞毒性之百分比，X係抗體濃度，Top係對應於S形曲線之上部平穩段之最大Y值，Bottom係對應於S形曲線之下部平穩段之最小Y值(受限至0)，且LogEC₅₀係在曲線之反曲點處抗體濃度之對數。

【0266】 使用平均值及標準差(STDEV)通過實驗概括EC₅₀值。在一些實施例中，類似地使用自扁桃體單核細胞分離之CD4+ T細胞以及添加自PBMC分離之NK細胞評定人類化mAb誘導來自人類扁桃體之真正(bona fide) Tfh細胞之ADCC的能力。在一些實施例中，表現CXCR5之Ba/F3細胞用作靶細胞。在一些實施例中，藉由使用CytoTox非放射性細胞毒性分析(Promega, Madison, WI)量化LDH釋放來測定細胞毒性。

【0267】 在一些實施例中，使用5% Triton X-100測定最大溶解且在無抗體存在下測定自發性釋放。在一些實施例中，可使用下式測定比溶胞率之百分比： $(\text{實驗值} - \text{自發性釋放}) / (\text{最大值} - \text{自發性釋放}) \times 100 = \text{比溶胞率百分比}$ 。在一些實施例中，在所測試之至少一種抗體濃度下，具有增強的ADCC活性之去岩藻糖基化抗CXCR5抗體所引起之比溶胞率比相同量之岩藻糖基化抗體引起的比溶胞率大至少10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少35、至少40、至少45、至少50、至少60、至少65、至少70、或至少75個百分點。在一些實施例中，具有增強的ADCC活性之去岩藻糖基化抗CXCR5抗體所引起之比溶胞率比岩藻糖基化抗體引起之比溶胞率大至少10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少35、至少40、至少45、至少50、至少60、至少65、至少70、或至少75個百分點，其中各抗體之濃度在0.01與1 microg/ml之間且靶細胞係表現CXCR5之Ba/F3細胞。在一些實施例中，在0.000005 microg/ml至5 microg/ml之濃度範圍下測試抗體。

【0268】 在一些實施例中，去岩藻糖基化抗CXCR5抗體具有對Fcγ RIIIA增強的親和力。在一些實施例中，去岩藻糖基化抗CXCR5抗體具有對Fcγ RIIIA (V158)增強的親和力。在一些實施例中，去岩藻糖基化抗CXCR5抗體具有對Fcγ RIIIA (F158)增強的親和力。在一些實施例中，對Fcγ RIIIA之抗體親和力係使用表面電漿子共振及/或如下方法測定：其參考Fcγ RIIIA (V158)描述，但亦適用於測定對Fcγ RIIIA (F158)之親和力。簡言之，在一些實施例中，在塗佈蛋白A之聚葡萄糖薄片上捕獲岩藻糖基化或去岩藻糖基化抗CXCR5抗體。以各種濃度注射Fcγ RIIIA (V158) (可獲自例如R及D系統)。Fcγ RIIIA (V158)對岩藻糖基化及去岩

藻糖基化抗CXCR5抗體之締合常數、解離常數及親和力可例如使用具有表面電漿子共振系統之軟體(例如Biacore T200評估軟體1:1結合模型)測定。在一些實施例中，去岩藻糖基化抗CXCR5抗體可具有對Fc γ RIIIA (諸如Fc γ RIIIA (V158)或Fc γ RIIIA (F158))增強的親和力且可以比岩藻糖基化抗CXCR5抗體之親和力大至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少7倍、至少10倍、至少12倍、至少15倍、至少17倍、20倍、30倍、50倍、100倍、500倍、或至少1000倍之親和力結合於Fc γ RIIIA。

IV.抗CXCR5抗體表現及生產

編碼抗CXCR5抗體之核酸

【0269】 本發明亦提供編碼抗體中之任一者(包括本文中所述之抗體片段及經修飾之抗體)的聚核苷酸。本發明亦提供製造本文所述之聚核苷酸中之任一者的方法。聚核苷酸可藉由此項技術中已知之程序製造及表現。

【0270】 所需抗體、定義、抗體片段或其抗原結合片段及編碼該抗體或其片段之核酸的序列可使用標準定序技術測定。可將編碼所需抗體、定義、抗體片段或其抗原結合片段之核酸序列插入至用於重組生產及表徵之各種載體(諸如選殖及表現載體)中。編碼重鏈、重鏈之所定義抗體片段或抗原結合片段之核酸，及編碼輕鏈、輕鏈之所定義抗體片段或抗原結合片段之核酸可選殖於相同載體，或不同載體中。

【0271】 在一個態樣中，本發明提供聚核苷酸，其編碼以下CXCR5抗體及其抗原結合片段中之任一者的胺基酸序列：小鼠11G2 VH、小鼠11G2 VL、嵌合11G2 VH、嵌合11G2 VL、h11G2 VH (XC152)、h11G2 VH (XC155)、h11G2 VH (XC156)、h11G2 VH (XC157)、h11G2 VH

(XC350)、h11G2 VH (XC351)、h11G2 VH (XC352)、h11G2 VH (XC353)、h11G2 VH (XC354)、h11G2 VL (XC151)、h11G2 VL (XC153)、h11G2 VL (XC154)、h11G2 VL (XC346)、h11G2 VL (XC347)、h11G2 VL (XC348)、h11G2 VL (XC349)、小鼠41A10 VH、小鼠41A10 VL、嵌合41A10 VH、嵌合41A10 VL、人類化41A10 VH (XC147)、h41A10 VH (XC148)、h41A10 VH (XC150)、h41A10 VL (XC142)、h41A10 VL (XC143)、h41A10 VL (XC144)、h41A10 VL (XC145)、h41A10 VL (XC146)、h41A10 VL (XC149)、小鼠5H7 VH、小鼠5H7 VL、嵌合5H7 VH，及嵌合5H7 VL。編碼以上胺基酸序列之聚核苷酸編碼與如本文所揭示之本發明之抗體或其抗原結合片段的胺基酸序列至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列。

【0272】 本發明提供編碼抗體或其抗原結合片段之胺基酸序列之聚核苷酸，其結合與選自由以下組成之群的抗體基本相同之抗原決定基：嵌合41A10、人類化41A10 (142/147)、人類化41A10 (142/148)、嵌合11G2、岩藻糖基嵌合11G2、人類化11G2 (151/152)、人類化11G2 (153/155)、人類化11G2 (153/156)、人類化11G2 (154/155)、人類化11G2 (154/157)及去岩藻糖基化人類化11G2 (154/155)。

【0273】 本發明提供編碼抗體或其抗原結合片段之胺基酸序列的聚核苷酸，該抗體或其抗原結合片段與選自由以下組成之群的抗體競爭結合於CXCR5：嵌合41A10、人類化41A10 (142/147)、人類化41A10 (142/148)、嵌合11G2、岩藻糖基嵌合11G2、人類化11G2 (151/152)、人類化11G2 (153/155)、人類化11G2 (153/156)、人類化11G2 (154/155)、

人類化11G2 (154/157)及去岩藻糖基化人類化11G2 (154/155)。

【0274】 本發明提供編碼一或多種蛋白質之聚核苷酸，該一或多種蛋白質包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1-29、SEQ ID NO: 35-40及SEQ ID NO: 47-63。

【0275】 本發明提供包含如SEQ ID NO: 106、107、108及109中之一或多者所闡述之核酸序列的聚核苷酸。本發明提供包含如SEQ ID NO: 95所闡述之核酸序列的聚核苷酸。本發明提供包含如SEQ ID NO: 96所闡述之核酸序列的聚核苷酸。本發明提供包含如SEQ ID NO: 97所闡述之核酸序列的聚核苷酸。本發明提供包含如SEQ ID NO: 98所闡述之核酸序列的聚核苷酸。

【0276】 本發明提供聚核苷酸，其包含寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124323及寄存編號PTA-124324之質體之DNA插入物的核酸序列中之一或兩者。

【0277】 本發明提供聚核苷酸，其包含寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124323之質體中之插入物的核酸序列。

【0278】 本發明提供聚核苷酸，其包含寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124324之質體中之插入物的核酸序列。

【0279】 本發明提供聚核苷酸，其包含寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124323及寄存編號PTA-124324之質體之插入物的核酸序列。

【0280】 本發明提供聚核苷酸，其包含寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124323之質體之插入物的核酸序列。

【0281】 本發明提供聚核苷酸，其包含寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124324之質體之插入物的核酸序列。

【0282】 本發明提供細胞，其包含如SEQ ID NO: 106、107、108及109中之一或多者中所闡述之一或多種核酸分子。本發明提供包含如SEQ ID NO: 106及107中所闡述之一或多種核酸分子的細胞。本發明提供包含如SEQ ID NO: 108及109中所闡述之一或多種核酸分子的細胞。

【0283】 在另一態樣中，本發明提供編碼抗CXCR5抗體之聚核苷酸及其變體，其中此類變型聚核苷酸與本文所揭示之特異性核酸序列中之任一者共用至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少87%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性。此等量並不意謂為限制性的，且所述百分比之間的增量特定地設想為本發明之部分。

【0284】 本發明提供由本文所描述之核酸分子編碼之多肽。

【0285】 在一個實施例中，VH及VL域或其抗原結合片段或全長HC或LC經獨立聚核苷酸編碼。可替代地，VH及VL兩者或其抗原結合片段或HC及LC經單個聚核苷酸編碼。

【0286】 本發明亦涵蓋與任何此類序列互補之聚核苷酸。聚核苷酸可為單股(編碼或反義)或雙股，且可為DNA (基因組、cDNA或合成)或RNA分子。RNA分子包括HnRNA分子，其含有內含子且以一對一方式對應於DNA分子；及mRNA分子，其不含內含子。額外編碼或非編碼序列可(但未必)存在於本發明之聚核苷酸內，且聚核苷酸可(但未必)連接於其他分子及/或支撐材料。

【0287】 聚核苷酸可包含天然序列(亦即，編碼抗體或其部分之內源序列)或可包含此類序列之變異體。聚核苷酸變異體含有一或多個取代、

添加、缺失及/或插入以使得經編碼之多肽之免疫反應性相對於天然免疫反應性分子不降低。對於經編碼之多肽之免疫反應性的影響可通常如本文所描述評估。在一些實施例中，變異體展現與編碼天然抗體或其部分之聚核苷酸序列至少約70%一致性、在一些實施例中至少約80%一致性、在一些實施例中至少約90%一致性、及在一些實施例中至少約95%一致性。此等量並不意謂為限制性的，且所述百分比之間的增量特定地設想為本發明之部分。

【0288】 在如下文所描述之最大對應比對時，若兩個序列中之核苷酸或胺基酸序列相同，則兩個聚核苷酸或多肽序列稱為「一致」。兩個序列之間的比較通常藉由在比較窗口比較序列以鑑別且比較局部區之序列相似性來進行。如本文中所使用之「比較窗口」係指至少約20鄰近位置，通常30至約75，或40至約50之片段，其中兩個序列經最佳比對之後，序列可與鄰接位置之相同數目的參考序列相比較。

【0289】 用於比較之最佳序列比對可使用生物資訊軟體之 Lasergene[®] 套件中之 MegAlign[®] 程式 (DNASTAR[®], Inc., Madison, WI) 使用預設參數來進行。此程序體現以下參考文獻中描述之若干比對方案：Dayhoff, M.O., 1978, A model of evolutionary change in proteins - Matrices for detecting distant relationships。在 Dayhoff, M.O. (編) Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, Washington DC 第5卷, 第3增刊, 第345-358頁；Hein J., 1990, Unified Approach to Alignment and Phylogenesis 第626-645頁 Methods in Enzymology 第183卷, Academic Press, Inc., San Diego, CA；Higgins, D.G.及 Sharp, P.M., 1989, CABIOS 5:151-153；Myers,

E.W.及Muller W., 1988, CABIOS 4:11-17; Robinson, E.D., 1971, Comb. Theor. 11:105; Santou, N., Nes, M., 1987, Mol. Biol. Evol. 4:406-425; Sneath, P.H.A.及Sokal, R.R., 1973, Numerical Taxonomy the Principles and Practice of Numerical Taxonomy, Freeman Press, San Francisco, CA; Wilbur, W.J.及Lipman, D.J., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:726-730中。

【0290】 在一些實施例中，「序列一致性百分比」係藉由在比較窗口比較兩種最佳比對序列之至少20個位置，其中相比於用於最佳比對兩種序列之參考序列(其不包含添加或缺失)，該比較窗口中之聚核苷酸或多肽序列之部分可包含20%或更少、通常5至15%、或10至12%之添加或缺失(亦即間隙)。百分比係藉由以下計算：測定兩個序列中出現相同核酸鹼基或胺基酸殘基之位置數以得到匹配位置數，用匹配位置數除以參考序列中之位置總數目(亦即窗口大小)及使結果乘以100以得到序列一致性百分比。

【0291】 變異體亦可或替代地實質上與天然基因或其部分或互補序列同源。此類聚核苷酸變異體在適當嚴格條件下能夠與編碼天然抗體(或互補序列)之天然產生DNA序列雜交。

【0292】 適合的「適度嚴格條件」包括在5 X SSC、0.5% SDS、1.0 mM EDTA (pH 8.0)之溶液中預洗滌；在50°C-65°C、5 X SSC下雜交隔夜；接著在65°C下用含有0.1% SDS之2X、0.5X及0.2X SSC中之每一者洗滌兩次，歷時20分鐘。

【0293】 如本文中所使用，「高度嚴格條件」或「較高嚴格度條件」如下：(1)使用低離子強度及高溫用於洗滌，例如在50°C下0.015 M氫

化鈉/0.0015 M檸檬酸鈉/0.1%十二烷基硫酸鈉；(2)在雜交期間使用變性劑，諸如甲醯胺，例如在42°C下具有0.1%牛血清白蛋白之50% (v/v)甲醯胺/0.1%菲科爾(Ficoll)/0.1%聚乙烯吡咯啶酮/具有750 mM氯化鈉、75 mM檸檬酸鈉之pH 6.5的50 mM磷酸鈉緩衝液；或(3)在42°C下使用50%甲醯胺、5 × SSC (0.75 M NaCl, 0.075 M檸檬酸鈉)、50 mM磷酸鈉(pH 6.8)、0.1%焦磷酸鈉、5 × Denhardt氏溶液、音波處理鮭魚精子DNA (50 μg/mL)、0.1% SDS及10%硫酸葡聚糖，其中在42°C下在0.2 × SSC (氯化鈉/檸檬酸鈉)中及在55°C下在50%甲醯胺中洗液，隨後在55°C下用由含EDTA之0.1 × SSC組成的較高嚴格度洗液洗滌。熟練技術人員將知道如何視需要調節溫度、離子強度等以適應諸如探針長度及其類似物之因素。

【0294】 一般熟習此項技術者將瞭解，由於基因密碼之簡併，存在許多編碼如本文所描述之多肽之核苷酸序列。一些此等聚核苷酸攜帶與任何天然基因之核苷酸序列之最小同源性。儘管如此，本發明尤其預期因密碼子使用差異而改變之聚核苷酸。此外，包含本文所提供之聚核苷酸序列之基因的對偶基因在本發明範疇內。對偶基因係由於核苷酸之一或多個突變(諸如缺失、添加及/或取代)而變化的內源基因。所得mRNA及蛋白質可(但不必須)具有變化的結構或功能。對偶基因可使用標準技術(諸如雜交、擴增及/或資料庫序列比較)來識別。

【0295】 本發明之聚核苷酸可使用化學合成、重組方法或PCR獲得。化學聚核苷酸合成方法在此項技術中熟知且無需詳細描述於本文中。熟習此項技術者可使用本文所提供之序列及商用DNA合成器以產生所需DNA序列。

【0296】 為使用重組方法製備聚核苷酸，包含所需序列之聚核苷酸

可插入適合載體中，且繼而載體可引入適合宿主細胞中進行複製及擴增，如本文中進一步論述。聚核苷酸可藉由此項技術中已知任何方法插入宿主細胞中。細胞藉由利用直接吸收、內吞作用、轉染、F-配對或電穿孔將外源性聚核苷酸引入來轉型。一旦引入，外源性聚核苷酸可作為非整合載體(諸如質體)維持在細胞內或整合至宿主細胞基因組中。如此擴增之聚核苷酸可藉由此項技術中熟知之方法自宿主細胞分離。參見例如Sambrook等人, 1989。

【0297】 可替代地，PCR允許DNA序列複製。PCR技術在此項技術中熟知且描述於美國專利第4,683,195號、第4,800,159號、第4,754,065號及第4,683,202號以及PCR: The Polymerase Chain Reaction, Mullis等人編, Birkauswer Press, Boston, 1994。

【0298】 RNA可藉由使用適當載體中之經分離DNA且將其插入適合宿主細胞內獲得。當細胞複製且DNA轉錄至RNA時，可隨後使用熟習此項技術者熟知方法分離RNA，例如，如Sambrook等人,1989中所闡述。

【0299】 在一些實施例中，第一載體包含編碼重鏈之聚核苷酸且第二載體包含編碼輕鏈之聚核苷酸。在一些實施例中，第一載體及第二載體以類似量(諸如類似莫耳量或類似質量)轉染至宿主細胞中。在一些實施例中，介於5:1與1:5之間的莫耳比或質量比的第一載體及第二載體轉染至宿主細胞中。在一些實施例中，使用介於1:1與1:5之間的質量比的編碼重鏈之載體及編碼輕鏈之載體。在一些具體例中，使用1:2質量比的編碼重鏈之載體及編碼輕鏈之載體。

載體

【0300】 在一些實施例中，選擇經優化以在CHO或CHO源細胞中或

在NSO細胞中表現多肽之載體。例示性此類載體描述於例如Running Deer等人, *Biotechnol. Prog.* 20:880-889 (2004)中。

【0301】 合適的選殖及表現載體可包括多種組分，諸如啟動子、強化子及其他轉錄調節序列。載體亦可經構築以允許抗體可變域後續選殖至不同載體中。適合選殖載體可根據標準技術構築，或可選自大量在此項技術中可供使用之選殖載體。雖然所選選殖載體可根據意欲使用之宿主細胞變化，但適用選殖載體將一般能夠自我複製，可具有特定限制核酸內切酶之單一標靶，及/或可載有可用於選擇含有載體之純系的標記物之基因。適合實例包括質體及細菌病毒，例如pUC18、pUC19、Bluescript (例如pBS SK+)及其衍生物、mp18、mp19、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、噬菌體DNA及穿梭載體，諸如pSA3及pAT28。此等及許多其他選殖載體可購自諸如BioRad、Stratagene及Invitrogen之商業供應商。進一步提供表現載體。表現載體通常為含有根據本發明之聚核苷酸的可複製聚核苷酸構築體。暗示表現載體作為游離基因體或作為染色體DNA之整體部分在宿主細胞中必須為可複製的。適合表現載體包括(但不限於)質體、病毒載體(包括腺病毒、腺相關病毒、反轉錄病毒)、黏質體及PCT公開案第WO 87/04462號中所揭示之表現載體。載體組分可一般包括(但不限於)以下一或多者：信號序列；複製起點；一或多種標記物基因；適合轉錄控制元件(諸如啟動子、強化子及終止子)。對於表現(亦即轉譯)，亦通常需要一或多種轉譯控制元件，諸如核糖體結合位點、轉譯啟動位點及終止密碼子。

【0302】 含有所關注聚核苷酸及/或聚核苷酸本身之載體可藉由多種適當方法中之任一者引入宿主細胞中，包括電穿孔、使用氯化鈣、氯化

鈷、磷酸鈣、DEAE-聚葡萄糖或其他物質轉染；微彈轟擊；脂質體轉染；及感染(例如其中載體為諸如痘苗病毒之感染物)。引入載體或聚核苷酸之選擇將常常視宿主細胞之特徵而定。

宿主細胞

【0303】 抗體或其抗原結合片段可使用合適的宿主細胞以重組方式製得。編碼抗體或其抗原結合片段之核酸可選殖至表現載體中，該表現載體接著可經引入至宿主細胞中，諸如大腸桿菌細胞、酵母細胞、昆蟲細胞、猴COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或骨髓瘤細胞，其中該細胞並不會另外產生免疫球蛋白，以獲得重組宿主細胞中之抗體之合成。較佳宿主細胞包括CHO細胞、人類胎腎HEK-293細胞或Sp2.0細胞以及此項技術中熟知的其他多種細胞。抗體片段可藉由全長抗體之蛋白分解或其他降解、藉由重組方法或藉由化學合成而產生。抗體之多肽片段(尤其至多約50個胺基酸之較短多肽)可宜藉由化學合成來製造。用於蛋白質及肽之化學合成方法係此項技術中已知的且可商購的。

【0304】 在各種實施例中，抗CXCR5重鏈及/或抗CXCR5輕鏈可表現於原核細胞中，諸如細菌細胞；或表現於真核細胞中，諸如真菌細胞(諸如酵母)、植物細胞、昆蟲細胞及哺乳動物細胞。此類表現可例如根據此項技術中已知的程序進行。可用於表現多肽之例示性真核細胞包括(但不限於) COS細胞，包括COS 7細胞；293細胞，包括293-6E細胞；CHO細胞，包括CHO-S、DG44、Lecl3 CHO細胞及FUT8 CHO細胞；PER.C6®細胞(Crucell)；及NSO細胞。在一些實施例中，抗CXCR5重鏈及/或抗CXCR5輕鏈可表現於酵母中。參見例如美國公開案第2006/0270045 A1號。在一些實施例中，特定真核宿主細胞係根據其對抗

CXCR5重鏈及/或抗CXCR5輕鏈產生所要轉譯後修飾的能力加以選擇。舉例而言，在一些實施例中，CHO細胞產生多肽，該等多肽之唾液酸化水準高於293細胞中所產生之相同多肽。

【0305】 向所要宿主細胞中引入一或多種核酸可藉由任何方法完成，包括(但不限於)磷酸鈣轉染、DEAE-聚葡萄糖介導之轉染、陽離子脂質介導之轉染、電穿孔、轉導、感染等。非限制性例示性方法描述於例如 Sambrook 等人, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 第3版 Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001)中。核酸可根據任何適合方法短暫或穩定轉染於所要宿主細胞中。

【0306】 在一些實施例中，去岩藻糖基化抗CXCR5抗體係在能夠產生去岩藻糖基化抗體之細胞中製備，諸如缺乏蛋白質岩藻糖基化之Lec3 CHO細胞(Ripka等人 *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986)；美國專利申請第US 2003/0157108號；及WO 2004/056312，尤其實例11)，及基因剔除細胞株，諸如缺乏功能性 α -1,6-岩藻糖基轉移酶基因*FUT8*之細胞株，例如基因剔除CHO細胞(參見例如Yamane-Ohnuki等人 *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)；Kanda等人, *Biotechnol. Bioeng.* 94(4):680-688 (2006)；及WO2003/085107)。在一些實施例中，去岩藻糖基化抗CXCR5抗體係在缺乏功能性*FUT8*基因之CHO細胞中製備。在一些實施例中，去岩藻糖基化抗CXCR5抗體係在Potelligent® CHOK1SV細胞(BioWa/Lonza, Allendale, NJ)中製備。

【0307】 抗CXCR5抗體可藉由任何適合方法純化。此類方法包括(但不限於)使用親和基質或疏水性相互作用層析。適合親和力配位體包括結合抗體恆定區之CXCR5 ECD及配位體。舉例而言，蛋白質A、蛋白質

G、蛋白質A/G，或抗體親和管柱可用於結合恆定區及純化抗CXCR5抗體。疏水性相互作用層析法（例如丁基或苯基管柱）亦可適於純化一些多肽。許多純化多肽之方法係此項技術中已知的。

【0308】 在一些實施例中，抗CXCR5抗體在無細胞系統中產生。非限制性例示性無細胞系統描述於例如Sitaraman等人, *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44 (2009)；Spirin, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45 (2004)；Endo等人, *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003)中。

V.用途及醫學療法

【0309】 在一些態樣中，本發明提供使用抗CXCR5抗體或其抗原結合片段移除、抑制或降低CXCR5活性或減少信號傳導之治療方法，其中該等治療方法包含投與治療有效量之包含抗CXCR5抗體或其抗原結合片段之醫藥組合物。所治療之病症為任何可藉由移除、抑制或降低CXCR5活性或減少信號傳導而得到改良、改善、抑制或預防的疾病或病狀。

【0310】 在一些態樣中，本發明提供抗CXCR5抗體或其抗原結合片段，其用於移除、抑制或降低CXCR5活性或減少信號傳導。在一些實施例中，用途可包含投與治療有效量之包含抗CXCR5抗體或其抗原結合片段之醫藥組合物。在一些實施例中，CXCR5活性或信號傳導之抑制或減少可治療藉由移除、抑制或減少CXCR5活性或信號傳導而得以改良、改善、抑制或防止之任何疾病或病狀。

【0311】 此類疾病、病症或病狀包括但不限於發炎反應，諸如全身性紅斑性狼瘡症(SLE)；慢性發炎反應；動脈粥樣硬化；白血球黏著缺乏症；類風濕性關節炎；糖尿病(例如I型糖尿病或胰島素依賴性糖尿病)；多發性硬化症；雷諾氏症候群；自體免疫甲狀腺炎；過敏性腦脊髓炎；休

格連氏症候群；幼年型發病型糖尿病；及通常在肺結核、類肉瘤病、多發性肌炎、肉芽腫及脈管炎中發現之與細胞介素及T淋巴球所介導之急性及遲發性過敏反應相關的免疫反應；韋格納病；惡性貧血(艾迪森氏病)；涉及白血球血球滲出之疾病；中樞神經系統(CNS)發炎病症；多器官損傷症候群；溶血性貧血(包括但不限於冷球蛋白血症或庫姆氏陽性貧血)；重症肌無力；抗原-抗體複合物介導之疾病；抗腎小球基底膜疾病；抗磷脂症候群；過敏性神經炎；葛瑞夫茲氏病；朗伯-伊頓肌無力症候群；大疱性類天疱瘡；天疱瘡；自體免疫多內分泌病變；白斑病；萊特爾氏病；僵人症候群；白塞氏病；巨大細胞動脈炎；免疫複合體腎炎；IgA腎病；IgM多發性神經病；免疫性血小板減少性紫癍(ITP)或自體免疫血小板減少症及自體免疫溶血性疾病；橋本氏甲狀腺炎；自體免疫肝炎；自體免疫血友病；自體免疫淋巴增生症候群(ALPS)；自體免疫葡萄膜視網膜炎；格-巴二氏症候群；古德巴士德氏症候群；混合性結締組織病；自體免疫相關之不育；結節性多動脈炎；斑禿；特發性黏液水腫；移植物抗宿主疾病；肌肉萎縮症(杜興氏型、貝克爾型、肌緊張性型、肢帶型、面肩胛臂型、先天性型、眼咽型、遠端型、艾-德型)及控制表現CXCR5之癌細胞，諸如胰臟癌、結腸癌、膀胱癌、T細胞白血病及B細胞白血病之增殖，如熟習此項技術者考慮到本文所揭示之教示內容所瞭解。

【0312】 本發明之抗CXCR5抗體或其抗原結合片段亦可用於例如出於診斷目的偵測及/或量測樣品中之CXCR5或CXCR5表現細胞。舉例而言，抗CXCR5抗體或其片段可用於診斷藉由CXCR5之異常表現（例如過度表現、低表現、缺乏表現等）表徵之病狀或疾病。CXCR5之例示性診斷分析可包含例如使獲自患者之樣品與本發明之抗CXCR5抗體接觸，其

中抗CXCR5抗體用可偵測標記物或報導體分子標記。

【0313】如本文所用，「醫藥學上可接受之載劑」或「醫藥可接受之賦形劑」包括在與活性成分組合時允許成分保留生物活性且不與個體之免疫系統反應之任何材料。實例包括但不限於標準醫藥上之載劑中任一者，諸如磷酸鹽緩衝鹽水溶液、水、乳液(諸如油/水乳液)及各種類型之濕潤劑。對於霧劑或非經腸投與之較佳稀釋劑為磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)或生理鹽水(0.9%)。包含該等載劑之組合物藉由熟知之習知方法調配(參見例如Remington's Pharmaceutical Sciences，第18版，A. Gennaro編，Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990；及Remington, The Science and Practice of Pharmacy第20版，Mack Publishing, 2000)。

VI.組合物

【0314】本發明亦提供醫藥組合物，其包含有效量之本文中所述之CXCR5抗體或其抗原結合片段。本文中亦描述該等組合物之實例以及如何調配該等組合物。在一些實施例中，該組合物包含一或多種CXCR5抗體。在其他實施例中，CXCR5抗體識別CXCR5。在其他實施例中，CXCR5抗體係人類抗體。在其他實施例中，CXCR5抗體係人類化抗體。在一些實施例中，CXCR5抗體包含能夠觸發所需免疫反應，諸如抗體介導之溶解或ADCC之恆定區。在其他實施例中，CXCR5抗體包含恆定區，該恆定區經去岩藻糖基化且相比於經岩藻糖基化之其他方面相同之抗體提供增強的ADCC。在其他實施例中，CXCR5抗體包含抗體之一或多個CDR (諸如一個、兩個、三個、四個、五個、或在一些實施例中全部六個CDR)。

【0315】應理解，組合物可包含超過一種CXCR5抗體或其抗原結合

片段(例如識別不同CXCR5之抗原決定基之CXCR5抗體的混合物)。其他例示性組合物包含超過一種CXCR5抗體，其識別結合於CXCR5之不同抗原決定基之CXCR5抗體的相同抗原決定基，或不同物種。在一些實施例中，組合物包含識別CXCR5之不同變異體之CXCR5抗體的混合物。

【0316】 用於本發明中之組合物可進一步包含呈冷凍調配物或水溶液形式之醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑(Remington: The Science and practice of Pharmacy 第20版, 2000, Lippincott Williams 及 Wilkins, Ed. K. E. Hoover)。可接受載劑、賦形劑或穩定劑在劑量及濃度下對接受者無毒，且可包含緩衝液，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如十八烷基二甲基苯甲基氯化銨；氯化六羥季銨；苯紮氯銨、苜索氯銨；苯酚、丁基或苜醇；對羥基苯甲酸烷基酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(少於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啉酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣，及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或聚葡萄糖；螯合劑，諸如EDTA；糖類，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽抗衡離子，諸如鈉；金屬複合物(例如Zn-蛋白質)；及/或非離子界面活性劑，諸如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。本文中將進一步描述醫藥學上可接受之賦形劑。

【0317】 CXCR5抗體、其抗原結合片段及其組合物亦可與用以提高及/或補充試劑之效果之其他試劑結合使用。

【0318】 在某些實施例中，CXCR5抗體或其抗原結合片段在投藥之

前與CXCR5複合。在某些實施例中，CXCR5抗體在投藥之前不與CXCR5複合。

【0319】 本發明亦提供包括醫藥組合物、包含本發明之聚核苷酸中之任一者之組合物。在一些實施例中，組合物包含表現載體，其包含編碼如本文所描述之抗體的聚核苷酸。在其他實施例中，組合物包含表現載體，其包含編碼本文中所描述之抗體中之任一者的聚核苷酸。在另其他實施例中，組合物包含以下各者：編碼示於SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 6中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 10中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 12中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 10中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 12中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 13及SEQ ID NO: 17中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 13及SEQ ID NO: 18中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 13及SEQ ID NO: 63中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 52中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 53中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 54中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 55中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 56中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 1及SEQ

ID NO: 57中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 6及SEQ ID NO: 48中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 6及SEQ ID NO: 49中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 6及SEQ ID NO: 50中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 6及SEQ ID NO: 51中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 17及SEQ ID NO: 58中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 17及SEQ ID NO: 59中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 17及SEQ ID NO: 60中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 17及SEQ ID NO: 61中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 17及SEQ ID NO: 62中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 52及SEQ ID NO: 1中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 52及SEQ ID NO: 5中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 52及SEQ ID NO: 47中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 52及SEQ ID NO: 48中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 52及SEQ ID NO: 49中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 52及SEQ ID NO: 50中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；編碼示於SEQ ID NO: 52及SEQ ID NO: 51中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者；或編碼示於SEQ ID NO: 35及SEQ ID NO: 36中之序列之聚核苷酸中的任一者或兩者。

【0320】 在另一態樣中，聚核苷酸可編碼本發明之抗體之VH、VL及/或VH及VL兩者。亦即，組合物包含編碼本發明之抗體或其抗原結合

片段之一種聚核苷酸或超過一種聚核苷酸。

【0321】 本發明之醫藥組合物亦可在組合療法中投與，諸如與其他試劑組合。舉例而言，組合療法可包括與至少一種其他療法組合之本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段，其中療法可為手術、免疫療法或藥物療法。

【0322】 本發明之醫藥化合物可包括一或多種醫藥學上可接受之鹽。此類鹽之實例包括酸加成鹽及鹼加成鹽。酸加成鹽包括來源於無毒無機酸之彼等物，諸如鹽酸、硝酸、磷酸、硫酸、氫溴酸、氫碘酸亞磷酸及其類似物；以及來源於無毒有機酸之彼等物，諸如脂族單甲酸及脂族二甲酸、經苯基取代之烷酸、羥基烷酸、芳族酸、脂族及芳族磺酸及其類似物。鹼加成鹽包括衍生自鹼土金屬(諸如鈉、鉀、鎂、鈣及其類似物)以及衍生自無毒有機胺(諸如N,N'-二苯甲基乙二胺、N-甲基葡萄糖胺、氯普魯卡因(chloroprocaine)、膽鹼、二乙醇胺、乙二胺、普魯卡因(procaine)及其類似物)之鹽。

【0323】 本發明之醫藥組合物亦可包括醫藥學上可接受之抗氧化劑。醫藥學上可接受之抗氧化劑之實例包括：(1)水溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸、半胱胺酸鹽酸鹽、硫酸氫鈉、偏亞硫酸氫鈉、亞硫酸鈉及其類似物；(2)油溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸棕櫚酸酯、丁基化羥基大茴香醚(BHA)、丁基化羥基甲苯(BHT)、卵磷脂、沒食子酸丙酯、 α -生育酚及其類似物；及(3)金屬螯合劑，諸如檸檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸及其類似物。

【0324】 可用於本發明之醫藥組合物之適合水性及非水性載劑的實例包括水、乙醇、多元醇(諸如甘油、丙二醇、聚乙二醇及其類似物)及其

適合混合物、植物油(諸如橄欖油)及可注射有機酯(諸如油酸乙酯)。適當流動性可例如藉由使用包衣材料(諸如卵磷脂)、在分散液之情況下藉由維持所需粒度及藉由使用界面活性劑來維持。

【0325】 此等組成物亦可含有佐劑，諸如防腐劑、濕潤劑、乳化劑及分散劑。防止微生物的存在可藉由滅菌程序與藉由包含各種抗細菌劑及抗真菌劑(例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸及其類似物)來確保。亦可能需要在組合物中包括等張劑，諸如糖、氯化鈉及其類似物。另外，可注射醫藥形式之延長吸收可藉由包含延遲吸收之藥劑(諸如單硬脂酸鋁及明膠)來達成。

【0326】 醫藥組合物通常必須在製造及儲存條件下無菌且穩定。組合物可調配為溶液、微乳液、脂質體或適合於較高藥物濃度之其他有序結構。載劑可為含有例如水、乙醇、多元醇(例如，丙三醇、丙二醇及液體聚乙二醇及其類似物)及其合適混合物之溶劑或分散介質。可例如藉由使用諸如卵磷脂之包衣、在分散液之情況下藉由維持所需粒度及藉由使用界面活性劑來維持適當流動性。在多數情況下，組合物中適合包括等張劑，例如糖、多元醇(諸如甘露醇、山梨醇)或氯化鈉。可注射組合物之延長吸收可藉由在組合物中包括延遲吸收劑(例如單硬脂酸鹽及明膠)來達成。

【0327】 無菌可注射溶液可藉由將所需量之活性化合物與一種上文所枚舉之成分或成分組合一起併入適當溶劑中，並視需要接著滅菌微過濾來製備。

【0328】 一般而言，分散液藉由將活性化合物併入含有鹼性分散介質及來自以上所列舉之成分的所需其他成分的無菌媒劑中來製備。在無菌粉末用於製備無菌可注射溶液之情況下，較佳製備方法為真空乾燥及冷凍

乾燥(凍乾)，其自其預先無菌過濾溶液產生活性成分加任何額外所需成分之粉末。

【0329】 本發明之醫藥組合物可以適用於經眼投與之調配物製備、封裝或出售。該等調配物在水溶液或油性液體載劑中可例如呈包括例如0.1%-1.0% (w/w)活性成分之溶液或懸浮液之滴眼劑形式。該等滴劑可進一步包含本文中所描述之緩衝劑、鹽或一或多種其他額外成分。適用之其他可經眼投與之調配物包括包含微晶形式或脂質體製備物中之活性成分的彼等物。

【0330】 如本文中所使用，「額外成分」包括(但不限於)一或多種以下：賦形劑；界面活性劑；分散劑；惰性稀釋劑；粒化劑及崩解劑；黏合劑；潤滑劑；甜味劑；調味劑；著色劑；防腐劑；生理學上可降解之組合物，諸如明膠；水性媒劑及溶劑；油性媒劑及溶劑；懸浮劑；分散劑或潤濕劑；乳化劑、緩和劑；緩衝劑；鹽；增稠劑；填充劑；乳化劑；抗氧化劑；抗生素；抗真菌劑；穩定劑；及醫藥學上可接受之聚合或疏水性物質。本發明之醫藥組合物可包括之其他「額外成分」為此項技術中已知且描述於例如Remington's Pharmaceutical Sciences, Genaro編, Mack出版公司, Easton, PA (1985)，其以引用的方式併入本文中。

【0331】 在一個實施例中，CXCR5抗體或其抗原結合片段在靜脈內調配物中作為無菌水溶液投與，該無菌水溶液含有5 mg/mL、或在一些實施例中約10 mg/mL、或在一些實施例中約15 mg/mL、或在一些實施例中約20 mg/mL抗體、或在一些實施例中約25 mg/mL、或在一些實施例中約50 mg/mL抗體，以及醋酸鈉、聚山梨醇酯80以及pH在約5至6範圍內之氯化鈉。在一些實施例中，靜脈內調配物係無菌水溶液，其含有5或10

mg/mL之抗體，以及20 mM醋酸鈉、0.2 mg/mL 聚山梨醇酯80及140 mM pH 5.5下之氯化鈉。另外，包含抗體或其抗原結合片段之溶液在許多其他化合物之間可包含組胺酸、甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、甘胺酸、聚(伸乙基)二醇、EDTA、甲硫胺酸及其任何組合，以及相關技術中已知之許多其他化合物。

【0332】 在一個實施例中，本發明之醫藥組合物包含以下組分：50 mg/mL本發明之CXCR5抗體或抗原結合片段、20 mM組胺酸、8.5%蔗糖及0.02%聚山梨醇酯80、0.005% pH 5.8下之EDTA；在另一實施例中，本發明之醫藥組合物包含以下組分：100 mg/mL本發明之CXCR5抗體或抗原結合片段、10 mM組胺酸、5%蔗糖及0.01% pH 5.8下之聚山梨醇酯80。此組合物可呈液體調配物或凍乾粉末形式提供。當粉末在完整體積時復原，組合物保持相同配方。可替代地粉末可在半體積時復原，在此情況下該組合物包含100 mg本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段、20 mM組胺酸、10%蔗糖及0.02% pH 5.8下之聚山梨醇酯80。

【0333】 在一個實施例中，部分劑量藉由靜脈內給藥投與且其餘藉由抗體調配物注入。舉例而言，0.01 mg/kg靜脈內注射之CXCR5抗體或其抗原結合片段可以食團提供，且抗體劑量之其餘部分可藉由靜脈內注射投與。預定劑量之CXCR5抗體或其抗原結合片段可例如經一小時及半小時至兩小時至五小時之時段投與。

【0334】 關於其中試劑為例如小分子之治療劑，其可以生理學上可接受之酯或鹽形式存在於醫藥組合物中，諸如如此項技術中熟知與生理學上可接受之陽離子或陰離子組合。

【0335】 本文中所描述之醫藥組合物之調配物可藉由藥理學技術中

已知或此後研發之任何方法製備。一般而言，該等製備型方法包括使活性成分與載劑或一或多種其他附屬成分結合，且隨後必要時或需要時將產物塑形或封裝成所需單劑量單位或多劑量單位之步驟。

【0336】 在一個實施例中，本發明之組合物為實質上不含內毒素及/或相關熱解物質之無熱原質調配物。內毒素包括限制於微生物內且當微生物分解或死亡時經釋放之毒素。熱解物質亦包括來自細菌及其他微生物外膜之致熱、熱穩定物質(糖蛋白)。若向人類投與，則兩種此等物質均可導致發熱、低血壓及休克。由於潛在有害影響，因此自靜脈內投與醫藥藥物溶液移除即使低量內毒素為有利的。食品與藥物管理局(「FDA」)已設定每劑量每公斤體重在一小時內用於靜脈內藥物應用之上限為5內毒素單位(EU) (The United States Pharmacopeial Convention, Pharmacopeial Forum 26 (1):223 (2000))。當以每公斤體重幾百毫克或幾千毫克之量投與治療蛋白質時，即使移除痕量內毒素為有利的。在一個實施例中，組合物中之內毒素及熱原質含量小於10 EU/mg，或小於5 EU/mg，或小於1 EU/mg，或小於0.1 EU/mg，或小於0.01 EU/mg，或小於0.001 EU/mg。在另一實施例中，組合物中之內毒素及熱原質含量小於約10 EU/mg，或小於約5 EU/mg或，小於約1 EU/mg，或小於約0.1 EU/mg，或小於約0.01 EU/mg，或小於約0.001 EU/mg。

【0337】 在一個實施例中，本發明包含投與組合物，其中該投與為口服、非經腸、肌肉內、鼻內、陰道、經直腸、經舌、舌下、經頰、頰內、靜脈內、皮膚、皮下或經皮投與。

【0338】 在另一實施例中，本發明進一步包含投與組合物，其與其他治療組合，諸如手術、化學療法、激素療法、生物學療法、免疫療法或

輻射療法。

VII.給藥/投藥

【0339】 為製備包括本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段之醫藥或無菌組合物，使該等抗體與醫藥學上可接受之載劑或賦形劑混合。治療劑及診斷劑之調配物可藉由與生理學上可接受之呈例如凍乾粉末、漿料、水溶液、洗劑或懸浮液形式的載劑、賦形劑或穩定劑(參見例如，Hardman, 等人 (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y. ; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams 及Wilkins, New York, N. Y. ; Avis等人 (編) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY ; Lieberman 等人 (編) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY ; Lieberman等 人 (編) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY ; Weiner及Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.)。

【0340】 選擇用於治療之投與方案視若干因素而定，包括實體之血清或組織周轉率、症狀程度、實體之免疫原性及生物基質中之靶細胞之可接近性。在某些實施例中，投藥方案根據副作用之可接受含量來最大化遞送至患者之治療劑量。因此，所遞送之生物制劑量部分地視特定實體及所治療之病狀嚴重程度而定。可獲得選擇適當抗體、細胞激素及小分子劑量之導引(參見例如，Wawrzynczak, 1996, Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK ; Kresina (編), 1991, Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, N.Y. ;

Bach (編),1993, *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, N. Y.; Baert等人, 2003, *New Engl. J. Med.* 348:601-608; Milgrom等人, 1999, *New Engl. J. Med.* 341:1966-1973; Slamon等人, 2001, *New Engl. J. Med.* 344:783-792; Beniaminovitz等人, 2000, *New Engl. J. Med.* 342:613-619; Ghosh等人, 2003, *New Engl. J. Med.* 348:24-32; Lipsky等人, 2000, *New Engl. J. Med.* 343:1594-1602)。

【0341】 適當劑量由臨床師例如使用此項技術中已知或懷疑影響治療或預測影響治療之參數或因素來確定。一般而言，初始劑量為稍微小於最佳劑量的量，且隨後以較小增量遞增，直至達成所要或最佳作用(相對於任何負面的副作用而言)。重要診斷量測包括例如，炎症或所產生發炎細胞介素之含量之症狀。

【0342】 可改變本發明之醫藥組合物中之活性成分的實際劑量濃度，以便獲得在對患者無毒性之情況下有效達成特定患者、組合物及投藥模式之所需治療反應的量的活性成分。所選劑量將視多種藥物動力學因素而定，包括本發明所用特定組合物或其酯、鹽或醃胺之活性；投藥途徑；投藥時間；所用特定化合物之排泄率；治療持續時間；與所用特定組合物組合使用之其他藥物、化合物及/或物質；所治療患者之年齡、性別、體重、病狀、一般健康狀況及先前病史；及醫藥技術中熟知之類似因素。

【0343】 包含本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段之組合物可藉由連續輸液，藉由例如一天、一週或每週1到7次之時間間隔的給藥提供。可經靜脈內、皮下、表面、經口、經鼻、經直腸、肌肉內、顱內或藉由吸入劑提供劑量。專一性劑量協定為涉及避免大量不期望副作用之最大劑量

或劑量頻率之協定。總週劑量可為至少0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 體重、至少0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、至少0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、至少1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、至少10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、至少100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、至少0.2 mg/kg 、至少1.0 mg/kg 、至少2.0 mg/kg 、至少10 mg/kg 、至少15 mg/kg 、至少20 mg/kg 、至少25 mg/kg 或至少50 mg/kg (參見例如Yang, 等人, 2003, *New Engl. J. Med.* 349:427-434; Herold, 等人, 2002, *New Engl. J. Med.* 346:1692-1698; Liu, 等人, 1999, *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67:451-456; Portielji, 等人, 2003, *Cancer. Immunol. Immunother.* 52: 133-144)。劑量可為至少15 μg 、至少20 μg 、至少25 μg 、至少30 μg 、至少35 μg 、至少40 μg 、至少45 μg 、至少50 μg 、至少55 μg 、至少60 μg 、至少65 μg 、至少70 μg 、至少75 μg 、至少80 μg 、至少85 μg 、至少90 μg 、至少95 μg 或至少100 μg 。向個體投與之劑量可共計至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12次，或多於12次。

【0344】 對於本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段，向患者投與之劑量可為0.0001 mg/kg 至100 mg/kg 患者之體重。劑量可在0.0001 mg/kg 與20 mg/kg 、0.0001 mg/kg 與10 mg/kg 、0.0001 mg/kg 與5 mg/kg 、0.0001與2 mg/kg 、0.0001與1 mg/kg 、0.0001 mg/kg 與0.75 mg/kg 、0.0001 mg/kg 與0.5 mg/kg 、0.0001 mg/kg 至0.25 mg/kg 、0.0001至0.15 mg/kg 、0.0001至0.10 mg/kg 、0.001至0.5 mg/kg 、0.01至0.25 mg/kg 或0.01至0.10 mg/kg 之患者之體重之間。

【0345】 可使用以公斤(kg)計之患者體重乘以以 mg/kg 計之待投與劑量來計算CXCR5抗體或其抗原結合片段之劑量。本發明之抗體劑量可為患者體重之150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、

95 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、85 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小、或0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更小。

【0346】 本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段之單位劑量可為0.1 mg至200 mg、0.1 mg至175 mg、0.1 mg至150 mg、0.1 mg至125 mg、0.1 mg至100mg、0.1 mg至75 mg、0.1 mg至50 mg、0.1 mg至30 mg、0.1 mg至20 mg、0.1 mg至15 mg、0.1 mg至12 mg、0.1 mg至10 mg、0.1 mg至8 mg、0.1 mg至7 mg、0.1 mg至5 mg、0.1 mg至2.5 mg、0.25 mg至20 mg、0.25 mg至15 mg、0.25 mg至12 mg、0.25 mg至10 mg、0.25 mg至8 mg、0.25 mg至7 mg、0.25 mg至5 mg、0.5 mg至2.5 mg、1 mg至20 mg、1 mg至15 mg、1 mg至12 mg、1 mg至10 mg、1 mg至8 mg、1 mg至7 mg、1 mg至5 mg、或1 mg至2.5 mg。

【0347】 本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段之劑量在個體中可達到至少0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少175 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少225 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少275 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少325 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少350 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、至少375 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、或至少400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之血清效價。可替代地，本發明之抗體劑量在個體中可達到至少0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、至少

0.5 µg/ml、至少1 µg/ml、至少2 µg/ml、至少5 µg/ml、至少6 µg/ml、至少10 µg/ml、至少15 µg/ml、至少20 µg/ml、至少25 µg/ml、至少50 µg/ml、至少100 µg/ml、至少125 µg/ml、至少150 µg/ml、至少175 µg/ml、至少200 µg/ml、至少225 µg/ml、至少250 µg/ml、至少275 µg/ml、至少300 µg/ml、至少325 µg/ml、至少350 µg/ml、至少375 µg/ml或至少400 µg/ml之血清效價。

【0348】 本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段可重複給藥且投藥可間隔至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2個月、75天、3個月、或至少6個月。

【0349】 用於特定患者之有效量可視諸如所治療之病狀、患者之整體健康狀況、投與之方法途徑及劑量及副作用之嚴重程度之因素而改變(參見例如Maynard, 等人, 1996, A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, Fla.; Dent, 2001, Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ, London, UK)。

【0350】 投藥途徑可為經由例如局部或皮膚施加、經靜脈內、腹膜內、腦內、肌肉內、眼內、動脈內、腦脊髓內、病灶內注射或輸注或藉由持續釋放系統或植入物(參見例如Sidman等人, 1983, Biopolymers 22:547-556; Langer, 等人, 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15: 167-277; Langer, 1982, Chem. Tech. 12:98-105; Epstein, 等人, 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688-3692; Hwang, 等人, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030-4034; 美國專利第6,350,466號及第6,316,024號)。必要時, 組合物亦可包括助溶劑及諸如利多卡因(lidocaine)之局部麻醉劑以減輕注射位點之疼痛。另外, 亦可使用經肺投

與，例如使用吸入器或噴霧器及具有氣霧劑之調配物。參見例如美國專利第6,019,968號、第5,985,320號、第5,985,309號、第5,934,272號、第5,874,064號、第5,855,913號、第5,290,540號及第4,880,078號；及PCT公開案第WO 92/19244號、第WO 97/32572號、第WO 97/44013號、第WO 98/31346號及第WO 99/66903號，其各自以全文引用之方式併入本文中。在一個實施例中，使用Alkermes AIR™肺部藥物傳遞技術(Alkermes, Inc., Cambridge, Mass.)投與本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段或組合物。

【0351】 本發明之組合物亦可經由一或多種投與途徑來投與，該等投與途徑使用此項技術中已知多種方法中之一或多者。如熟習此項技術者所瞭解，投藥途徑及/或模式將視所要結果而變化。用於本發明之抗體之所選投與途徑包括靜脈內、肌肉內、皮內、腹膜內、皮下、脊髓或其他非經腸投與途徑，例如藉由注射或輸注。非經腸投藥可表示除經腸及局部投與外之通常藉由注射的投藥模式，且包括(但不限於)靜脈內、肌肉內、動脈內、鞘內、囊內、眶內、心內、皮內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛網膜下、脊椎內、硬膜外及胸骨內注射及輸注。可替代地，本發明之組合物可經由非非經腸途徑投與，諸如局部、表皮或經黏膜投與途徑，例如鼻內、經口、經陰道、經直腸、舌下或局部。

【0352】 若本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段在控制釋放或持續釋放系統中經投與，則泵可用於達成控制或持續釋放(參見Langer, 前述；Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:20；Buchwald等人, 1980, Surgery 88:501；Saudek等人, 1989, N. Engl. J. Med. 321:514)。

【0353】 聚合材料可用於達成本發明之療法之控制或持續釋放(參見

例如，Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC出版社, Boca Raton, Fla. (1974)；Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen及Ball (編), Wiley, New York (1984)；Ranger and Peppas, 1983, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61；亦參見Levy等人, 1985, Science 11225:190；During等人, 1979, Ann. Neurol. 25:351；Howard等人 1989, J. Neurosurg. 71: 105)；美國專利第5,679,377號；美國專利第5,916,597號；美國專利第5,912,015號；美國專利第5,989,463號；美國專利第5,128,326號；PCT公開案第WO 99/15154號；及PCT公開案第WO 99/20253號。持續釋放調配物中所用之聚合物之實例包括(但不限於)聚(甲基丙烯酸2-羥基乙酯)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸)、聚(乙烯-共-乙酸乙酯)、聚(甲基丙烯酸)、聚乙交酯(PLG)、聚酸酐、聚(N-乙炔吡咯啉酮)、聚(乙烯醇)、聚丙烯醯胺、聚(乙二醇)、聚乳酸交酯(PLA)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)及聚原酸酯。在一個實施例中，持續釋放型調配物中所用之聚合物呈惰性，不含可浸出雜質，儲存穩定，無菌且可生物降解。控制或持續釋放系統可接近預防或治療標靶置放，因此僅需要全身劑量之部分(參見例如，Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, 前述, 第2卷, 第115-138頁(1984))。

【0354】控制釋放系統論述於Langer, 1990, Science 249:1527-1533之綜述。熟習此項技術者已知之任何技術可用於產生包含本發明之一或多種抗體或其結合物之持續釋放調配物。參見例如，美國專利第4,526,938號；國際專利公開案第WO 91/05548、WO 96/20698號；Ning等人, 1996, 「Intratumoral Radioimmunotherapy of a Human Colon

Cancer Xenograft Using a Sustained-Release Gel」, *Radiotherapy and Oncology* 59:179-189 ; Song等人, 1995, 「Antibody Mediated Lung Targeting of Long-Circulating Emulsions」, *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 50:372-397 ; Cleek等人, 1997, 「Biodegradable Polymeric Carriers for a bFGF Antibody for Cardiovascular Application」, *Pro. Ml. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* 24:853-854 ; 及Lam等人, 1997, 「Microencapsulation of Recombinant Humanized Monoclonal Antibody for Local Delivery」, *Proc. Ml. Symp. Control Rel. Bioact. Mater.* 24:759-160 , 其中每一者以全文引用的方式併入本文中。

【0355】 若本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段經局部投與，則其可調配成軟膏、乳膏、經皮貼片、洗劑、凝膠、洗髮精、噴霧、氣溶膠、溶液、乳液形式或熟習此項技術者熟知之其他形式。參見例如 Remington's Pharmaceutical Sciences and Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 第19版, Mack Pub. Co., Easton, Pa. (1995)。對於非可噴塗局部劑型，通常使用包含與局部施用相容的載劑或一或多種賦形劑且在一些情況下動態黏度大於水之黏稠-半固體或固體形式。適合調配物包括(但不限於)溶液、懸浮液、乳液、乳膏、軟膏、粉末、擦劑、油膏及其類似物，必要時其滅菌或與助劑(例如，防腐劑、穩定劑、潤濕劑、緩衝劑或鹽)混合以影響各種特性，諸如滲透壓。其他適合的局部劑型包括可噴霧氣溶膠製劑，其中在一些情況下，與固體或液體惰性載劑組合之活性成分封裝於具有加壓揮發物(例如氣態推進劑，諸如氟利昂(freon))之混合物或擠壓瓶中。必要時亦可將保濕劑或濕潤劑添加

至醫藥組合物及劑型。此類其他成分之實例在此項技術中已熟知。

【0356】 若包含CXCR5抗體或其抗原結合片段之組合物經鼻內投與，則可調配成氣溶膠形式、噴霧、薄霧或成滴劑形式。特定言之，根據本發明使用的預防劑或治療劑可宜以自加壓包或噴霧器呈遞之氣溶膠噴霧形式遞送，其中使用適合推進劑(例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他適合氣體)。在加壓氣溶膠之情況下，劑量單位可藉由提供遞送計量數量之閥門來測定。可調配含有化合物與諸如乳糖或澱粉之適合粉末基質之粉末混合物的膠囊及藥筒(由例如明膠構成)用於吸入器或吹入器中。

【0357】 用第二治療劑(例如，細胞介素、類固醇、化學治療劑、抗生素或輻射)共同投與或治療之方法為項技術中所熟知(參見例如，Hardman等人(編)(2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 第10版, McGraw-Hill, New York, N.Y.; Poole及Peterson(編)(2001) Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach, Lippincott, Williams and Wilkins, Phila., Pa.; Chabner及Longo(編)(2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams and Wilkins, Phila., Pa.)。有效量之治療劑可減小症狀至少10%；至少20%；至少約30%；至少40%或至少50%。

【0358】 可為與本發明之CXCR5抗體或抗原結合片段組合投與之額外療法(例如，預防劑或治療劑)可與本發明之抗體相隔小於5分鐘投與，相隔小於30分鐘，相隔1小時，相隔約1小時，相隔約1至約2小時，相隔約2小時至約3小時，相隔約3小時至約4小時，相隔約4小時至約5小時，相隔約5小時至約6小時，相隔約6小時至約7小時，相隔約7小時至約8小

時，相隔約8小時至約9小時，相隔約9小時至約10小時，相隔約10小時至約11小時，相隔約11小時至約12小時，相隔約12小時至18小時，相隔18小時至24小時，相隔24小時至36小時，相隔36小時至48小時，相隔48小時至52小時，相隔52小時至60小時，相隔60小時至72小時，相隔72小時至84小時，相隔84小時至96小時，或96小時至120小時。兩種或超過兩種療法可在同一患者問診內投與。

【0359】 本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段及其他治療劑可經循環投與。循環療法涉及投與第一療法(例如，第一預防劑或治療劑)一段時間，隨後投與第二療法(例如，第二預防劑或治療劑)一段時間，視情況隨後投與第三療法(例如，預防劑或治療劑)一段時間等，且重複此依序投與(亦即，循環)以便減小對療法中之一者產生抵抗性，從而避免或減小療法中之一者的副作用，及/或改良療法之功效。

【0360】 在一個實施例中，本發明之CXCR5抗體可與用於治療自體免疫疾病及病症之組合物共同投與，該等組合物包括但不限於亞德裏亞黴素(adriamycin)、硫唑嘌呤、白消安(busulfan)、環磷醯胺、環孢黴素A、環磷氮介、氟達拉賓(fludarabine)、5-氟尿嘧啶、甲胺喋呤、黴酚酸嗎啉乙酯、6-巰基嘌呤、皮質類固醇、非類固醇消炎劑、西羅莫司(sirolimus)(雷帕黴素(rapamycin))及他克莫司(tacrolimus)(FK-506)。在替代實施例中，免疫調節或免疫抑制劑係選自由以下組成之群的抗體：莫羅莫那-CD3(muromonab-CD3)、阿侖單抗(Campath®)、巴利昔單抗(basiliximab)、達利珠單抗(daclizumab)、莫羅莫那(muromonab)(OKT3®)、利妥昔單抗(rituximab)、抗胸腺細胞球蛋白及IVIg，及熟習此項技術者已知之其他抗體。

【0361】 在一個實施例中，本發明之CXCR5抗體可與用於治療糖尿病之組合物共同投與，該等組合物包括但不限於雙胍(例如丁雙胍、二甲雙胍及苯乙雙胍)、激素及其類似物(澱粉素、胰島素、門冬胰島素、地特胰島素、甘精胰島素、賴麩胰島素、賴脯胰島素、利拉魯肽(liraglutide)及普蘭林肽(pramlintide))、磺醯脲衍生物(醋磺環己脲、胺磺丁脲、氯磺丙脲、格列波脲、格列齊特、格列美脲、格列吡嗪、格列喹酮、格列派特、格列本脲、格列噻唑、格列丁唑、格列己脲、格列嘧啶、甲磺吡庚脲、甲苯磺丁尿及甲苯磺環脲)、噻唑啉二酮(吡格列酮、羅格列酮及曲格列酮)、阿卡波糖(acarbose)、艾塞那肽(exenatide)、米格列醇、米格列奈(mitiglinide)、莫格列紮(muraglitazar)、那格列奈(nateglinide)、瑞格列奈(repaglinide)、西他列汀(sitagliptin)、替格列紮(tesaglitazar)、維格列汀(vildagliptin)及伏格列波糖(voglibose)。

【0362】 在某些實施例中，本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段可經調配以活體內適當分佈。舉例而言，血腦障壁(BBB)不包括許多高度親水性化合物。為確保本發明之治療劑交叉BBB(必要時)，其可例如在脂質體中經調配。關於製造脂質體之方法，參見例如美國專利第4,522,811號；第5,374,548號；及第5,399,331號。脂質體可包含選擇性輸送至專一性細胞或器官之一或多個部分，因此增強標靶藥物傳遞(參見例如，V.V. Ranade, 1989, J. Clin. Pharmacol. 29:685)。例示性標靶部分包括葉酸或生物素(參見例如，美國專利5,416,016)；甘露糖(Umezawa等人, Biochem. Biophys. Res. Commun. 153: 1038)；抗體(P. G. Bloeman等人, 1995, FEBS Lett. 357: 140；M. Owais等人, 1995, Antimicrob. Agents Chemother. 39: 180)；界面活性劑蛋白A受體(Briscoe等人, (1995) Am. J.

Physiol. 1233: 134); p120 (Schreier等人 (1994) J. Biol. Chem. 269:9090); 亦參見K. Keinanen; M.L. Laukkanen, 1994, FEBS Lett. 346:123; Killion; Fidler, 1994; Immunomethods 4:273。

【0363】 本發明提供用於向有需要的個體投與醫藥組合物之方案，該醫藥組合物包含單獨本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段，或其與其他療法之組合。本發明之組合療法之療法(例如，預防劑或治療劑)可向個體同時或連續投與。本發明之組合療法之療法(例如，預防劑或治療劑)亦可循環投與。循環療法涉及歷時一段時間投與第一療法(例如第一預防劑或治療劑)，之後歷時一段時間投與第二療法(例如第二預防劑或治療劑)及重複此依序投藥(亦即循環)，以便減少對療法中之一者(例如試劑)之抗性產生從而避免或減少療法中之一者(例如試劑)之副作用，及/或以增進療法之功效。

【0364】 本發明之組合療法之療法(例如，預防劑或治療劑)可同時向個體投與。術語「同時」不限於恰好在同一時間投與療法(例如預防劑或治療劑)，而實際上意謂包含本發明之CXCR5抗體或其抗原結合片段之醫藥組合物依序且在時間間隔內向個體投與，使得本發明之抗體或其結合物可與其他療法一起作用以提供相比其以其他方式時提高之益處。舉例而言，各療法可同時或按任何次序在不同時間點依序向個體投與；然而，若未同時投與，則其應在時間充分接近時投與以提供所需治療或預防作用。各療法可以任何適當形式且藉由任何適合途徑分別投與個體。在各種實施例中，可相隔小於15分鐘、小於30分鐘、小於1小時、約1小時、相隔約1小時至約2小時、相隔約2小時至約3小時、相隔約3小時至約4小時、相隔約4小時至約5小時、相隔約5小時至約6小時、相隔約6小時至約7小時、

相隔約7小時至約8小時、相隔約8小時至約9小時、相隔約9小時至約10小時、相隔約10小時至約11小時、相隔約11小時至約12小時、相隔24小時、相隔48小時、相隔72小時或相隔1週向個體投與療法(例如，預防劑或治療劑)。在其他實施例中，兩種或更多種療法(例如，預防劑或治療劑)可在同一患者問診內投與。

【0365】 組合療法之預防劑或治療劑可以相同醫藥組合物向個體投與。可替代地，組合療法之預防劑或治療劑可在獨立醫藥組合物中向個體同時投與。預防劑或治療劑可藉由相同或不同投與途徑向個體投與。

VIII.套組

【0366】 本發明亦提供包含本文中所描述之任何或所有抗體之套組。本發明之套組包括一或多個容器，其包含本文中所述之CXCR5抗體及根據本文中所述之本發明之一種方法使用的說明書。一般而言，此等說明書包含用於上述治療性治療之抗體投與之說明書。在一些實施例中，提供套組用於產生單劑量投藥單位。在某些實施例中，套組可含有具有乾燥蛋白質之第一容器及具有水性調配物之第二容器。在某些實施例中，包括含有施料器(例如，單室及多室預填充注射器(例如，液體注射器及冷凍乾燥物注射器)之套組。

【0367】 涉及使用CXCR5抗體之說明書通常包括關於用於預期治療之劑量、給藥時程及投藥途徑之資訊。容器可為單位劑量、散裝(例如多劑量包裝)或次單位劑量。本發明之套組中供應之說明書為通常在標籤或藥品說明書(例如套組中包括之紙片)上之書面說明書，但機器可讀說明書(例如磁化或光學儲存盤上載有的說明書)亦為可接受的。

【0368】 本發明之套組呈適合包裝形式。適合的包裝包括(但不限

於)小瓶、瓶子、罐、可撓性包裝(例如密封Mylar或塑膠袋)及其類似物。亦涵蓋用於與特定裝置，諸如吸入器、經鼻裝置(例如霧化器)或輸注裝置(諸如小型泵)組合之包裝。套組可具有無菌進入孔(例如，容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。容器亦可具有無菌進入孔(例如，容器可為靜脈內溶液袋或具有可藉由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。組合物中之至少一種活性劑係本發明之CXCR5抗體。容器可進一步包含第二醫藥活性劑。

【0369】 套組可視情況提供諸如緩衝劑之額外組分及說明性資訊。通常，套組包含容器及在容器上或與容器相聯之標籤或藥品說明書。

【0370】 本發明亦提供包含本文中所述之任何或所有抗體之診斷套組。診斷套組適用於例如偵測樣品中CXCR5之存在。在一些實施例中，診斷套組可用於鑑別患有潛在的疾病、病症或病狀之個體，該疾病、病症或病狀使個體處於罹患CXCR5介導之疾病、病症或病狀或CXCR5缺陷疾病、病症或病狀風險下。在一些實施例中，診斷套組可用於偵測疑似患有CXCR5介導之疾病或CXCR5缺陷疾病、病症或病狀之個體中CXCR5之存在及/或水準。

【0371】 本發明之診斷套組包括一或多個容器，其包含本文中所述之CXCR5抗體及根據本文中所述之本發明之一種方法使用的說明書。一般而言，此等說明書包含使用CXCR5抗體偵測處於CXCR5介導之疾病或CXCR5缺陷疾病、病症或病狀風險下或疑似患有CXCR5介導之疾病或CXCR5缺陷疾病、病症或病狀的個體中CXCR5之存在之描述。在一些實施例中，例示性診斷套組可經組態以含有試劑(諸如CXCR5抗體、陰性對照樣品、陽性對照樣品)及使用該套組之說明。

IX. 等效物

【0372】 前述描述及以下實例詳述本發明的某些特定實施例，且描述本發明人預期之最佳模式。然而，將瞭解，無論以文字呈現之前述內容如何詳細，本發明可以許多方式實踐，且本發明應根據所附申請專利範圍及其任何等效物解釋。

【0373】 雖然已參考不同申請案、方法、套組及組合物描述所揭示教示，但將瞭解在不背離本文中之教示及下文所主張之本發明情況下可進行不同變化及修改。提供以下實例以更好地說明本發明之教示內容，且並不意欲限制本文中所呈現之教示內容之範疇。儘管已在此等例示性實施例方面描述本發明教示內容，但熟練技術人員將容易理解在無不當實驗情況下此等例示性實施例之大量變化及修改為可能的。所有此類變化及修改在當前教示之範疇內。

【0374】 本文中所引用之全部參考文獻(包括專利案、專利申請案、論文、課本及類似者)及其中引用的參考文獻至其尚未引用之程度，在此以全文引用之方式併入本文中。在所併入文獻及類似材料中之一或多者(包括但不限於定義之術語、術語用法、所描述之技術或類似者)與本申請案不同或抵觸的情況下，以本申請案為準。

X. 一般技術

【0375】 應理解，本發明不限於特定合成製備方法，其當然可有所變化。除非本文中另外定義，否則結合本發明使用之科學與技術術語應具有由一般技術者通常理解之含義。另外，除非上下文另外需要，否則單數術語應包括複數且複數術語應包括單數。一般而言，本文中所描述之與細胞及組織培養、分子生物學、免疫學、微生物學、遺傳學及蛋白與核酸化

學及雜交結合使用的命名法及其技術為此項技術中熟知且常用者。

【0376】 除非另外指明，否則本發明之實施將採用在此項技術內之分子生物學(包括重組技術)、微生物學、細胞生物學、生物化學及免疫學之習知技術。該等技術在諸如以下之文獻中充分解釋：Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第二版(Sambrook等人, 1989) Cold Spring Harbor Press；Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait編, 1984)；Methods in Molecular Biology, Humana Press；Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis編, 1998) Academic Press；Animal Cell Culture (R.I. Freshney編, 1987)；Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P. Mather及P.E. Roberts, 1998) Plenum Press；Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths及D.G. Newell編, 1993-1998) J. Wiley and Sons；Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.)；Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir及C.C. Blackwell編)；Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller及M.P. Calos編, 1987)；Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel 等人, 編, 1987)；PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis等人, 編, 1994)；Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan等人, 編, 1991)；Sambrook及Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第3版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (2001)；Ausubel等人, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (2002)；Harlow及Lane Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1998)；Coligan等人, Short Protocols in

Protein Science, John Wiley & Sons, NY (2003); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C.A. Janeway及P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty.編, IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd及C. Dean,編, Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow及D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti及J.D. Capra, 編, Harwood Academic Publishers, 1995)。

【0377】 酶促反應及純化技術係根據製造商之說明書如此項技術中通常所為或如本文所描述執行。本文所述之與分析化學、生物化學、免疫學、分子生物學、合成有機化學、及醫學及醫藥化學結合使用之命名法、及其實驗室程序及技術為此項技術中熟知且常用者。標準技術用於化學合成、化學分析、醫藥製備、調配及遞送以及患者治療。

XI.生物寄存

【0378】 本發明之代表性物質於2017年7月26日寄存於美國弗吉尼亞州20110-2209馬納薩斯10801大學大街之美國菌種保存中心(American Type Culture Collection)。具有ATCC寄存編號PTA-124323之載體h11G2-VH (XC155)包含編碼抗體h11G2 (XC155)之重鏈可變區之DNA插入物，且具有ATCC寄存編號PTA-124324之載體h11G2-VL (XC154)包含編碼抗體h11G2 (XC154)之輕鏈可變區之DNA插入物。按照國際承認用於專利程序的微生物寄存布達佩斯條約(Budapest Treaty on the International Recognition of the Deposit of Microorganisms for the

Purpose of Patent Procedure) (布達佩斯條約(Budapest Treaty))及其下條例之規定進行存放。此保證維持自寄存之日起30年之寄存物之活力培養。寄存將由ATCC在布達佩斯條約之條款下提供，且受制於Pfizer Inc.與ATCC之間的協議，其保證在相關美國專利發佈後或在任何美國或外國專利申請案對公眾公佈後(不分先後)，公眾可永久且無限制地利用寄存培養物之子代，且保證由美國專利及商標局委員根據35 U.S.C.第122節及依據其之委員規則(包括特定參考886 OG 638之37 C.F.R.第1.14節)經授權所確定者可利用子代。

【0379】 本申請案之擁有人已同意，若在適合條件下培養時，處於寄存之物質的培養物死亡或丟失或破壞，則將通知以即時用另一相同物質置換該等物質。寄存物質之可供使用性不解釋為許可在違反由任何政府部門根據其專利法律授予權利之情況下實踐本發明。

實例

【0380】 參考以下實驗性實例來進一步詳細描述本發明。除非另外規定，否則提供此等實例僅出於說明的目的，且不意欲限制。因此，本發明決不應解釋為限於以下實例，而應解釋為涵蓋由於本文所提供之教示而變得明顯之任何及所有變化形式。

實例1：與人類CXCR5及食蟹獼猴CXCR5結合之雜交瘤

【0381】 連續三週間隔用混合物將雌性BALB/c小鼠免疫接種三次，該混合物含有 1×10^6 個過度表現人類CXCR5 (SEQ ID NO:32)之BaF3細胞或表現人類CXCR5 (SEQ ID NO: 32)之300.19細胞以及5 μ g CPG (ODN1826) (Invivogen)佐劑。在最終增強免疫中，使用MembranePro™功能蛋白表現系統(Thermo Fisher)，以由過度表現人類CXCR5 (SEQ ID

NO:32)之HEK-293細胞製得之20 µg病毒樣粒子(VLP)免疫接種小鼠。進行五輪融合且獲得八十八種結合表現人類CXCR5之HEK-293細胞(hCXCR5-293)的純系。彼等單株抗體係藉由蛋白A純化且測試其與表現食蟹獼猴CXCR5(SEQ ID NO: 33) (亦即cynoCXCR5-293)之hCXCR5 HEK-293及HEK-293細胞的結合。在用抗小鼠IgG PE (Southern Biotech) 染色之前，用10 µg/ml下之單株抗體對hCXCR5-293或cynoCXCR5-293細胞染色。使用FACSVerse分析儀(BD Biosciences)藉由流式細胞量測術分析細胞。針對與hCXCR5 HEK-293及cynoCXCR5 HEK-293細胞之結合進行篩檢，鑑別出三十四種結合人類及食蟹獼猴CXCR5兩者之抗體(圖3)。

實例2：抗CXCR5抗體結合於Raji氏細胞及鈣通量分析中之拮抗劑活性

【0382】 使用FACSVerse分析儀(BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ)藉由流式細胞量測術進一步針對細胞與Raji氏細胞之結合分析結合hCXCR5-293及cynoCXCR5-293兩者之抗體。抗體與Raji氏細胞之表觀親和力可計算為平衡結合滴定曲線之 EC_{50} ，其中抗原結合群體之幾何平均螢光強度(gMFI)係藉由流式細胞量測術定量且結果展示於表2中。

【0383】 資料表明某些抗體與Raji氏細胞之結合大於/小於其他抗體。此等資料證實該等抗體識別來源於伯基特氏淋巴瘤患者之Raji氏細胞上的內源性CXCR5，從而表明抗體可活體內結合B細胞。另外，抗體11G2對Raji氏細胞上之CXCR5的親和力高於參考抗CXCR5抗體16D7 (WO 2009/032661)，表明11G2可比16D7更強效。

【0384】 亦在鈣通量分析中測試結合hCXCR5-293及cynoCXCR5-293兩者之抗體的拮抗活性。另外，包括參考抗CXCR5抗體16D7 (WO

2009/032661)作為對照。簡言之，將hCXCR5 HEK-293細胞接種於96孔板中之DMEM高葡萄糖介質中。在隔夜培育之後，移出介質且將100 μ l of 1X Fluo-4 NW (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)添加至細胞。隨後在37°C下將細胞培育一小時。將單株抗體之連續稀釋液添加至細胞且在室溫下培育一小時。藉由添加111 nM重組hCXCL13 (BPS Bioscience, San Diego, CA)在Flexstation (Molecular Devices, Sunnyvale, CA)上以激發485 nM及發射525 nM量測鈣通量。在1.52秒時間間隔時收集資料。儀器藉由自最高讀數減去最低讀數測定鈣通量。抑制配位體誘導之鈣通量之IC50值係使用促效劑劑量-反應模型之GraphPad Prism® (6.0版, GraphPad Software, Inc, San Diego, CA)非線性回歸曲線擬合及S形對數測定(表2)。鈣通量之抑制證明功能性拮抗作用。因此，11G2抗體不僅係經由ADCC的強效耗竭劑，且亦係提供第二作用機制之拮抗劑。抗體11G2之拮抗作用與比較劑抗體例如2C9 (參考抗體，參見例如WO 2012/010582)及16D7 (參考抗體，參見例如WO 2009/032661)相當。cAMP報導分析資料亦證實功能性拮抗作用(參見下文)。

表2

抗體(融合瘤)	Raji氏細胞結合EC50(nM)	Ca ²⁺ 通量IC50(nM)
5H3	4.767	13.60
5H7	1.014	5.555
11G2	0.9679	5.929
31E5	0.7292	5.050
18G4	0.7454	13.86
19D9	0.9022	9.395
20G4	0.5178	9.853
21A3	1.226	9.043
23F1	0.4062	6.982
39H4	0.3154	未偵測到
47D11	0.8493	9.448
56G2	0.3871	14.36
4F1	0.4202	9.739
15D5	0.7949	11.21
20D10	0.3259	11.03

抗體(融合瘤)	Raji氏細胞結合EC50(nM)	Ca ²⁺ 通量IC50(nM)
6E9	0.5879	14.28
12E11	0.6493	13.40
16D10	0.7862	14.47
26E2	1.424	18.40
1A11	0.4936	35.06
1D10	0.2164	33.66
10G2	0.4571	14.74
9G11	0.4976	38.61
12C3	0.4868	35.01
25E1	0.7682	14.13
18G11	0.3161	5.034
23D5	0.1483	5.886
31G7	0.2848	9.084
31F3	0.2705	18.23
51D11	0.2525	7.429
41A10	0.8046	14.67
48A10	0.7083	21.07
13F4	0.6225	未偵測到
3A1	0.2572	20.22
19F8	2.378	30.03
2C9	0.21	3.486
16D7	0.65	11.43

實例3：抗CXCR5抗體重鏈及輕鏈可變區之選殖

【0385】 在實例2中分析之產生抗體之雜交瘤係使用RNeasy微套組 (Qiagen, Hilden, Germany)溶解且隨後cDNA之第一股使用superscript III 第一股合成系統(superscript III first strand synthesis system) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)合成。藉由PCR使用包含示於表16中之核酸序列SEQ ID NO: 64-88之小鼠輕鏈及重鏈簡併引子擴增輕鏈及重鏈可變區(VL及VH)。在PCR之後，將VL及VH選殖於Zero blunt TA載體 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)中且隨後對其定序。11G2、5H7及41A10抗體之小鼠VL及VH之胺基酸序列展示於表16中SEQ ID NO: 35-40下。CDR帶下劃線。

實例4：去岩藻糖基化及岩藻糖基化嵌合抗體之產生

【0386】 為評定去岩藻糖基化及岩藻糖基化對抗體活性之影響，在

哺乳動物細胞中製備來自實例3之岩藻糖基化及去岩藻糖基化型式之抗體。

【0387】 分別將相關抗體之VL及VH進一步選殖於含有人類 κ 恆定區及人類IgG1恆定區之載體中。將可變重區選殖於含有人類IgG1恆定區 (SEQ ID NO: 89)之pSMED2哺乳動物表現載體中，其產生嵌合小鼠-人類全長重鏈。將可變輕鏈區選殖於含有人類 κ 恆定區(C κ) (SEQ ID NO : 90)之pSMEN3哺乳動物表現載體中以製備嵌合小鼠-人類全長輕鏈。

【0388】 將含有嵌合抗體基因之載體短暫轉染於HEK-293F細胞 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)中以製備岩藻糖基化嵌合抗體。隨後使用蛋白A柱純化岩藻糖基化嵌合抗體。嵌合抗體與Raji氏細胞結合之表觀親和力(細胞結合EC50)係使用FACSVerse分析儀(BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ)藉由流式細胞量測術測定且展示於表3中。

表3

抗體(嵌合)	Raji氏細胞結合EC50 (nM) (岩藻糖基化)	CynoCXCR5-300.19細胞 EC50(nM) (岩藻糖基化)
5H7	0.04215	0.06027
11G2	0.01746	0.02419
31E5	未偵測到	0.05151
23F1	0.1687	66.03
47D11	0.4292	13.85
56G2	0.07613	6.376
4F1	0.3209	14.08
15D5	0.2695	1.387
20D10	0.1624	0.1478
6E9	未偵測到	18.26
12E11	0.2883	未偵測到
16D10	0.2909	未偵測到
1A11	0.08464	0.2575
1D10	0.1530	未偵測到
10G2	1.008	未偵測到
12C3	0.1035	0.1767
25E1	0.4487	11.73

抗體(嵌合)	Raji氏細胞結合EC50 (nM) (岩藻糖基化)	CynoCXCR5-300.19細胞 EC50(nM) (岩藻糖基化)
23D5	0.03410	4.168
31G7	未偵測到	12.83
31F3	0.07858	4.072
51D11	0.08732	49.63
41A10	0.3899	0.8308
13F4	0.5557	4.381
3A1	0.09156	0.3059
2C9	0.09989	0.1305

【0389】 去岩藻糖基化嵌合抗體係使用Potelligent® CHOK1SV細胞株(BioWa/Lonza, Allendale, NJ)產生，該細胞株缺乏負責岩藻糖添加之基因(α -1,6-岩藻糖基轉移酶，*FUT8*)的兩個對偶基因。將含有人類 κ 恆定區之嵌合輕鏈選殖於Lonza pEE12.4 GS載體(Lonza Biologics, Basel, Switzerland)中且含有人類IgG1恆定區之嵌合重鏈選殖於Lonza pEE6.4 GS載體(Lonza Biologics, Basel, Switzerland)中。來自pEE6.4之重鏈表現卡匣係藉由消化NotI及PvuI純化且隨後選殖於含有嵌合輕鏈之pEE12.4中之NotI及PvuI位點中。利用PvuI對含有重鏈及輕鏈表現卡匣之最終載體DGV線性化且隨後將其電穿孔於Potelligent® CHOK1SV細胞中。在24小時轉染後之後，以3-5K個細胞/孔將Potelligent®細胞接種於96孔板中之CDCHO介質(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)中，該介質補充有1XHT (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)、1 mM尿苷(Sigma, St. Louis, MO)及50 μ M MSX (EMD Millipore, Billerica, MA)。在培育三至四週之後，在Octet (Pall Fortebio, Fremont, CA)上分析來自純系之上清液的抗體效價。進一步放大高表現純系規模以進行抗體產生。隨後在蛋白A柱上純化去岩藻糖基化嵌合抗體。

【0390】 為測定抗體對CXCR5之特異性，評定抗體與表現其他細胞介素之細胞的結合。簡言之，用5 μ g/ml或10 μ g/ml各抗CXCR5嵌合抗體

對表現CXCR1、CXCR2或CXCR3之FlowCellelect趨化介素受體細胞株(EMD Millipore, Billerica, MA)及表現CXCR4之傑卡特(ATCC, Manassas, VA)進行染色。隨後使細胞與結合PE (Southern Biotech, Birmingham, AL)之山羊抗人類一起培育，之後使用FACSVerse分析儀(BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ)藉由流式細胞量測術分析。如圖4A-4D中所展示，相比於陽性對照物，所有嵌合抗體均展示與表現CXCR1 (圖4A)、CXCR2 (圖4B)、CXCR3 (圖4C)或CXCR4/Jurkat細胞(圖4D)之細胞極低之結合。

實例5：小鼠單株抗體之人類化

【0391】 為避免任何可能的HAMA (人類抗小鼠抗體)免疫原性，藉由使用來自IGKV1-39之人類生殖系構架序列(DPK9輕鏈可變域，基因銀行寄存號X93627.1，SEQ ID NO: 93)及來自IGHV3之人類生殖系構架序列(DP54重鏈可變，基因銀行寄存編號AB019440，SEQ ID NO: 91)使41A10 (C-41A10) and 11G2 (C-11G2)嵌合抗體人類化。

【0392】 嵌合抗體11G2 (C-11G2)及嵌合41A10 (C-41A10)之人類化型式係藉由互補決定區(CDR)接枝(在下文被稱作「CDR接枝」)產生。亦即，利用JH4片段(SEQ ID NO: 92)將重鏈CDR接枝於人類DP-54構架區(VH3亞基；SEQ ID NO: 91)上，而利用JK4片段(SEQ ID NO: 94)將輕鏈CDR接枝於人類DPK9構架(VKI亞基；SEQ ID NO: 93)上。

【0393】 將人類化VH區連接於人類IgG1恆定區(SEQ ID NO: 89)且隨後次選殖於專有表現載體中以產生CDR接枝之重鏈，包括但不限於SEQ ID NO:96 (11G2 CDR接枝VH)。使人類化VL區與人類κ恆定區(SEQ ID NO: 90)融合且隨後次選殖於專有表現載體中以產生CDR接枝之輕鏈，

包括但不限於SEQ ID NO: 97 (11G2 CDR接枝VL)。

實例6：去岩藻糖基化或岩藻糖基化抗CXCR5抗體之結合親和力

【0394】 評定嵌合及人類化CXCR5岩藻糖基化及去岩藻糖基化抗體對細胞表面CXCR5之表觀親和力。更具體而言，為測定嵌合及人類化CXCR5抗體與CXCR5表現細胞之表觀親和力，對人類及食蟹獼猴周邊血液單核細胞(PBMC)及人類扁桃體單核細胞(TMC)進行細胞結合實驗。CXCR5 mAb與CXCR5+細胞(B細胞、真正(bona fide) Tfh細胞及循環Tfh樣細胞)之表觀親和力經計算為平衡結合滴定曲線之EC50，其中抗原結合群體之幾何平均螢光強度(gMFI)係藉由流式細胞量測術定量。

【0395】 來自健康人類供體、來自Trima®析離術收集及對PBMC富集獲得之Trima®殘餘物獲自太平洋血液中心(Blood Centers of the Pacific) (San Francisco, CA)。PBMC係使用SepMate[□]管及LymphoprepTM根據製造商之說明書(STEMCELL Technologies, Vancouver, BC, Canada)藉由密度梯度離心分離。

【0396】 自獲自BioOptions (Brea, CA)之人類扁桃體分離扁桃體單核細胞(TMC)。簡言之，在冷RPMI 1640培養基中使用無菌刮刀將扁桃體切割成小片段(3-4 mm)。隨後在消化培養基(3 mL 10x膠原蛋白酶, 300 mL 100x 去氧核糖核酸酶(DNA酶), 6.7 mL RPMI 1640)中在37°C下使扁桃體組織消化30分鐘。將補充有10%胎牛血清(FBS)之RPMI 1640添加至中和酶活性且隨後使組織依序過濾穿過耐綸過濾器元件濾器(70 mm及40 mm篩孔尺寸耐綸)。在離心之後，使用氯化銨溶解緩衝液對糰粒進行紅細胞溶解。在磷酸鹽-緩衝鹽水(PBS)/2% FBS/2 mM乙二胺四乙酸(EDTA)中使用低速離心(200×g)持續10分鐘移出薄片。使用EasySepTM人類CD4+

T細胞富集套組，根據製造商之說明書(STEMCELL Technologies, Vancouver, BC, Canada)將CD4+ T細胞純化出TMC混合物。

【0397】 在分離之後，在96孔U形底培養板中，於分離緩衝液(含有1%FBS及1 mM EDTA之PBS)中以 1.0×10^5 個細胞/孔接種PBMC且以 2.0×10^5 細胞/孔之密度接種CD4+ TMC。隨後在室溫下在1500 rpm下將培養板離心5分鐘。將PBMC及CD4+ TMC再懸浮於螢光活化細胞分選(FACS)緩衝液(含有1% FBS之PBS)中，且在冰上培育2小時，該緩衝液含有人類結晶片段Fc嵌段(2微升/孔；Biolegend)及抗體之4倍連續稀釋液(11點稀釋系列，對於PBMC以5000 ng/mL開始且對於CD4+ TMC以312.5 ng/mL開始)。隨後用FACS緩衝液將PBMC及CD4+ TMC洗滌3次且再懸浮於50-100 mL之FACS緩衝液中，該緩衝液含有用於染色淋巴球亞群之螢光結合抗體及用以偵測CXCR5單株抗體(mAb)之對人類Ig之螢光結合二次抗體。在4°C下培育30分鐘之後，用FACS緩衝液將PBMC及CD4+ TMC洗滌2次且再懸浮於125 mL PBS中之0.5%多聚甲醛(PFA)中。將培養板儲存於4°C下直至藉由流式細胞量測術(BD LSRFortessa™ Cell Analyzer, BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ)分析。

【0398】 藉由繪製抗原結合群體對CXCR5抗體濃度之對數之gMFI產生細胞結合滴定曲線。根據以下等式，使用GraphPad Prism® (6.0版, GraphPad Software, Inc, San Diego, CA)非線性回歸曲線擬合及促效劑劑量-反應模型之S形對數確定EC₅₀值：

Log(促效劑)對反應-不同斜率(四個參數)

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom} / (1 + 10^{((\text{LogEC}_{50} - X) * \text{Hill斜率}))})$$

【0399】 其中Y係gMFI，X係抗體濃度，Top係對應於S形曲線之上

部平穩段之最大Y值，**Bottom**係對應於S形曲線之下部平穩段之最小Y值，且**LogEC₅₀**係在曲線之反曲點處抗體濃度之對數。

【0400】 使用平均值及標準差(STDEV)通過實驗概括EC₅₀值，其中進行多次重複。結果(亦即，岩藻糖基化或去岩藻糖基化嵌合及人類化CXCR5 mAb對CXCR5表現細胞之平均表觀親和力)展示於表4中。結果亦包括使用抗CXCR5對照抗體2C9 (WO 2012/010582)、16D7 (WO 2009/032661)及11A7 (WO 2016/028573) (包括其進行比較)獲得之親和力結合資料，應注意，具有多種VL及VH組合(亦即h11G2 XC51/XC152、h11G2 XC153/XC155、h11G2 XC153/XC156、h11G2 XC154/XC155及h11G2 XC154/XC157)之岩藻糖基化及去岩藻糖基化嵌合及人類化11G2抗體具有對人類B細胞大約相等之表觀親和力。亦即，資料展示去岩藻糖基化似乎不影響抗體對CXCR5表現細胞之親和力。另外，資料證實h11G2 XC154/XC155抗體(岩藻糖基化及去岩藻糖基化)所展現之親和力比對照抗CXCR5抗體2C9高大約10倍且比11A7高約100倍。對照抗CXCR5抗體16D7未展示可飽和結合。此等資料表明去岩藻糖基化未影響11G2抗體對結合於CXCR5表現細胞在親和力。因為親和力係抗原決定基與抗體抗原結合位點(亦即互補位)之間的相互作用強度之量度，所以此等資料表明即使抗體結合類似的抗原決定基，但其並未以與11G2相同之強度結合抗原決定基。

表4

CXCR5 mAb	表觀親和力 平均EC ₅₀ ±STDEV (pM)				
	人類B細胞	人類Tfh樣細胞	人類Tfh細胞	NHP B細胞	NHP Tfh樣細胞
嵌合41A10	161.28 ± 33.41	ND	ND	548.55	ND
人類化41A10 142/147	153.38 ± 57.21	ND	ND	2049.50	ND
人類化41A10 142/148	152.29 ± 75.51	ND	ND	1961.00	ND

第 181 頁(發明說明書)

CXCR5 mAb	表觀親和力 平均EC50±STDEV (pM)				
	人類B細胞	人類Tfh樣細胞	人類Tfh細胞	NHP B細胞	NHP Tfh樣細胞
嵌合11G2	17.94 ± 8.48	ND	8.46	6.95	ND
岩藻糖基嵌合11G2	8.09 ± 2.93	ND	45.59	ND	ND
人類化11G2 151/152	13.05 ± 10.9	ND	3.33	10.06	ND
人類化11G2 153/155	7.79 ± 6.89	ND	4.82	7.03	ND
人類化11G2 153/156	8.88 ± 6.39	ND	3.23	7.06	ND
人類化11G2 154/155	7.08 ± 4.48	5.92 ± 1.55	8.25	4.13	5.65
人類化11G2 154/157	19.12 ± 16.83	ND	7.24	8.65	ND
岩藻糖基人類化11G2 154/155	6.60 ± 2.33	5.89 ± 1.40	10.59	1.32	10.47
2C9 (參考抗體)	65.59 ± 37.95	ND	ND	ND	ND
16D7 (參考抗體)	不可飽和	ND	ND	ND	ND
11A7 (參考抗體)	563.63 ± 249.39	ND	ND	ND	ND

實例7：去岩藻糖基化或岩藻糖基化人類化11G2抗體相比於岩藻糖基化參考抗體之濃度依賴性結合

【0401】 使岩藻糖基化人類化11G2 (h11G2 VL XC154/VH XC155 亦稱作h11G2 154/155或h11G2 XC154/XC155)及岩藻糖基人類化11G2 CXCR5 (岩藻糖基h11G2 154/155)與來自人類PBMC之B細胞的濃度依賴性結合與比較劑mAb 2C9、16D7及11A7之結合進行比較。藉由繪製抗原結合群體對CXCR5抗體濃度之對數之gMFI來產生細胞結合滴定曲線且展示於圖5中。

【0402】 資料表明岩藻糖基化及去岩藻糖基化h11G2 154/155具有相同曲線，說明在存在於至少一種但較佳該等兩種抗體恆定鏈上之Asn297處之N連接糖型上存在或不存在岩藻糖不影響抗體對存在於細胞上之CXCR5之親和力。

【0403】 另外，資料進一步表明岩藻糖基化(實心圓， 9.630×10^{-12} M)及去岩藻糖基化(空心圓， 1.188×10^{-11} M) h11G2 154/155抗體之EC50遠低於比較劑抗體之EC50：2C9 (實心三角形， 6.24×10^{-11})、11A7 (實心

菱形， 9.265×10^{-10})及16D7 (實心方塊，大約0.004945且其不可飽和)。此等資料證實h11G2 154/155抗體具有與比較劑抗體不同之結合特徵。此等資料因此說明11G2抗體及2C9、11A7及16D7並未結合CXCR5上相同的抗原決定基。

實例8：嵌合及人類化CXCR5抗體之ADCC活性

【0404】 為測定一組嵌合及人類化CXCR5抗體刺激活性依賴性細胞細胞毒性(ADCC)所藉由之效能及功效，使CXCR5抗體或同型對照之連續稀釋液與來自健康人類供體或食蟹獼猴之周邊血液單核細胞(PBMC)一起培育。在此分析中，該等PBMC係自然殺手(NK)效應細胞及標靶B細胞及Tfh樣細胞之來源。使用流式細胞量測術量化在大約20 hr之後剩餘的B細胞及Tfh樣細胞之數目。類似地，使用自扁桃體單核細胞分離之CD4+ T細胞以及添加自PBMC分離之NK細胞評定人類化抗體誘導來自人類扁桃體之真正(bona fide) Tfh細胞之ADCC的能力。

【0405】 如實例6中所描述，來自健康人類供體、來自Trima®析離術收集及對PBMC富集獲得之Trima®殘餘物獲自太平洋血液中心(San Francisco, CA)。PBMC係使用SepMate™管及Lymphoprep™根據製造商之說明書(STEMCELL Technologies, Vancouver, BC, Canada)藉由密度梯度離心分離。在分離之後，在U形底96孔板中以 2.0×10^5 個細胞/孔之密度在完整RPMI培養基中接種PBMC。

【0406】 在此分析中，該等PBMC係自然殺手(NK)效應細胞及標靶B細胞及Tfh樣細胞之來源。將CXCR5 mAb或同型對照之連續稀釋液添加至孔且在37°C，5% CO₂下培育大約20小時。隨後在室溫(RT)下在1800 rpm下將培養板離心5分鐘。隨後用冰冷FACS洗滌PBMC且再懸浮於50 μ l

之冰冷FAC緩衝液中，該FAC緩衝液含有用於染色淋巴球亞群之螢光結合抗體。在4°C下培育15-30分鐘之後，用冰冷FACS緩衝液將PBMC洗滌2次且再懸浮於100 μ L PBS中之0.5%多聚甲醛(PFA)中。將CountBright™絕對計數珠粒(Thermo Fisher Scientific)添加至各孔(15微升/孔)。將培養板儲存於4°C下直至藉由流式細胞量測術(BD LSRFortessa™細胞分析儀)分析。

【0407】亦如先前實例6中所描述分離扁桃體單核細胞(TMC)。

【0408】根據對實例6所描述之方法製得細胞毒性滴定曲線。使用平均值及標準差(STDEV)通過實驗概括EC₅₀值，其中進行多次重複。結果展示於表5中。包括使用抗CXCR5參考抗體2C9、16D7及11A7獲得之資料以進行比較。

表5

嵌合及人類化CXCR5 mAb對CXCR5表現細胞之平均細胞毒性

CXCR5 mAb	ADCC活性 平均EC ₅₀ ± STDEV (pM)			
	人類B細胞	人類Tfh樣細胞	人類Tfh細胞	NHP B細胞
嵌合41A10	11732.28 ± 24781.14	ND	ND	ND
岩藻糖基嵌合41A10	54.47 ± 89.71	ND	ND	ND
人類化41A10 142/147	1245 ± 881.03	ND	ND	ND
人類化41A10 142/148	1109.25 ± 1081.15	ND	ND	ND
嵌合11G2	564.01 ± 1643.77	ND	1.55	115.26
岩藻糖基嵌合11G2	4.39 ± 3.08	ND	0.07	ND
人類化11G2 151/152	376.74 ± 606.13	ND	ND	43.61
人類化11G2 153/155	463.17 ± 670.85	ND	ND	20.72
人類化11G2 153/156	567.68 ± 847.34	ND	ND	28.06
人類化11G2 154/155	253.72 ± 672.14	7.978	0.77	39.14
人類化11G2 154/157	517.33 ± 1062.82	ND	ND	54.02
岩藻糖基人類化11G2 154/155	2.01 ± 2.28	4.82 ± 2.88	0.11	15.26 ± 11.65
2C9	380.31 ± 757.04	ND	ND	ND
16D7	2590.61 ± 6343.88	ND	ND	ND
11A7	4.35 ± 4.03	ND	ND	ND

【0409】 本文所揭示之資料顯示，即使岩藻糖基化之h11G2 154/155抗體亦具有大於比較劑抗體2C9 (380.31 ± 757.04)及16D7 (2590.61 ± 6343.88)之ADCC活性(253.72 ± 672.14)。岩藻糖基化抗體11A7展現大於所測試之任何岩藻糖基化抗體的ADCC活性。然而，資料顯示，去岩藻糖基化h11G2 154/155具有高於所測試之任何抗體(包括岩藻糖基化11A7)的ADCC活性。本文所呈現之表徵研究顯示，嵌合CXCR5 mAb 41A10及11G2分別觸發EC50為11.73 nM及0.56 nM之人類B細胞之ADCC。嵌合CXCR5 mAb 41A10及11G2之岩藻糖基型式將ADCC活性之效能提高至少約100倍。人類化變異體以與其對應的嵌合對應物相當或比其更優之效能觸發人類B細胞之ADCC。如同嵌合CXCR5 mAb，相比於其一般岩藻糖基化對應物，岩藻糖基人類化變異體將ADCC之效能提高至少約100倍。岩藻糖基h11G2就ADCC而言比2C9及16D7之岩藻糖基化型式更加強效，且岩藻糖基h11G2至少與岩藻糖基化11A7相當。

實例9：11G2抗體拮抗CXCL13信號傳導

【0410】 為確定CXCR5抗體係否功能上拮抗CXCL13信號傳導，將環單磷酸腺苷(cAMP)報導分析用於穩定表現人類CXCR5之經工程改造細胞株中。在此等細胞中，CXCL13以濃度依賴性方式抑制毛喉素觸發之cAMP產生。

【0411】 為確定CXCR5係否拮抗CXCL13信號傳導，在穩定表現人類CXCR5之CHO-K1細胞中進行Hit Hunter® cAMP分析(DiscoverX Corporation, Fremont, CA)。在此分析中，在產生cAMP時藉由酶片段互補形成活性β-半乳糖(β-gal)。β-gal隨後可轉化化學發光基質，從而產生可在標準微板讀取器上偵測之輸出信號。CXCR5之配位體CXCL13以濃

度依賴性方式抑制毛喉素(20 μM)觸發之cAMP產生。為測試CXCR5抗體在抑制CXCL13介導之毛喉素所誘導之cAMP產生中的效能及功效，在毛喉素(20 μM)及CXCL13 (以其600 pM之 IC_{80})存在下將各CXCR5抗體之連續稀釋液添加至表現CXCR5之CHO-K1細胞。

【0412】 根據對實例6所描述之內容(包括 EC_{50} 值測定)製得功能性拮抗作用滴定曲線。結果展示於表6中。

表6

對CXCR5+ CHO-K1細胞中CXCL13抑制之cAMP產生的活體外刺激

CXCR5 mAb	EC_{50} (pM)	CXCL13抑制%
人類化11G2 154/155	752.9	120.6
2C9	793.1	113.5
16D7	1104	102.4
11A7	1401	105.9

【0413】 在獨立研究中，測試岩藻糖基人類化11G2 154/155之功能性拮抗作用且其表現類似於人類化岩藻糖基化11G2 154/155 (亦即 $\text{EC}_{50} = 961.4$ pM)。

【0414】 資料顯示，h11G2 154/155對CXCL13信號傳導之抑制至少與參考抗體2C9、16D7、11A7相當。實際上，h11G2對CXCL13信號傳導之抑製程度(120.6%)顯著大於16D7 (102.4%)及11A7 (105.9%)。此等資料表明，11G2抗體可為有用的新穎治療劑，用以治療由CXCR5介導之CXCL13信號傳導介導或與其相關之疾病、病症或病狀。

實例10：對11G2抗體之hCXCR5上之結合位點定位

【0415】 藉由將來自小鼠CXCR5之胞外N端之胺基酸接枝於人類CXCR5上鑑別出CXCR5上之岩藻糖基人類化11G2 154/155結合位點。

【0416】 更具體而言，定位策略利用以下事實：11G2結合人類

CXCR5 (SEQ ID NO:32)，但不結合小鼠CXCR5 (SEQ ID NO:34)。人類CXCR5 (hCXCR5)及小鼠CXCR5 (mCXCR5)之胺基酸序列之比對展示於圖6中。CXCR5之胞外域之胺基酸殘基藉由加下劃線指示。小鼠及人類CXCR5蛋白質之胞外域(ECD)在圖6中各區之序列下以粗體指示且標記為「N」、「L1」、「L2」及「L3」。在小鼠與人類蛋白質之間調換此等ECDs以鑑別負責11G2對人類CXCR5之特異性及缺乏與mCXCR5結合的區域。使來自小鼠CXCR5之彼等區中之每一者與人類CXCR5中之相同區域交換以製備稱為XC251、XC252、XC253、XC254、XC255及XC256之嵌合蛋白，其中人類CXCR5蛋白質含有特定的對應小鼠CXCR5結構域。表7提供檢索表，展示調換為人類CXCR5之小鼠(m)區。

表7

(調換ECD之小鼠/人類嵌合CXCR5蛋白質)

XC251	hCXCR5-mL3
XC252	hCXCR5-mL2
XC253	hCXCR5-mN
XC254	hCXCR5-mL2-mL3
XC255	hCXCR5-mN-mL3
XC256	hCXCR5-mN-mL2

【0417】更具體而言，將小鼠L3結構域調換為對應的人類L3結構域以製備嵌合蛋白XC251，其在人類CXCR5蛋白質(hCXCR5-mL3)之情況下包含小鼠L3結構域。類似地，將小鼠L2調換為對應的人類結構域以製備嵌合蛋白XC252 (hCXCR5-mL2)；將小鼠N結構域調換為對應的人類N結構域以製備嵌合蛋白XC253 (hCXCR5-mN)；將小鼠L2及L3結構域調換為對應的人類結構域以製備嵌合蛋白XC254 (hCXCR5-mL2-mL3)；將小鼠mN及L3結構域調換為對應的人類結構域以製備嵌合蛋白XC255 (hCXCR5-mN-mL3)；及將小鼠mN及L2結構域調換為對應的人類結構域

以製備嵌合蛋白XC255 (hCXCR5-mN-mL2)。

【0418】 評定11G2與小鼠CXCR5、人類CXCR5及各種調換ECD之小鼠-人類嵌合CXCR5蛋白質(XC251-XC256)的結合且使其與各種抗體之結合比較，該等抗體亦即大鼠抗小鼠CXCR5 (大鼠) (目錄號MAB6198, R&D系統, Minneapolis, MN)、兔抗人類CXCR5 (Rb) (目錄號ab46218, Abcam, Cambridge, MA)、2C9、16D7。結果展示於表8中。粗體數字指示與蛋白質結合之抗體。

表8

(抗體與調換ECD之小鼠-人類CXCR5嵌合蛋白之結合的FACS分析)

		Rb (hCXCR5) (GMFI)	大 鼠 (mCXCR5) (GMFI)	2C9 (GMFI)	16D7 (GMFI)	11G2 (GMFI)
	hCXCR5	18575	2457	117099	149936	138584
XC251	hCXCR5-mL3	6594	3932	13287	19927	14559
XC252	hCXCR5-mL2	12496	3842	22383	26963	21650
XC254	hCXCR5-mL2- mL3	4681	3826	11446	16877	11471
	mCXCR5	1037	12537	1183	958	901
XC253	hCXCR5-mN	1549	37152	1779	1264	1215
XC255	hCXCR5-mN-mL3	1607	39099	1954	1341	1318
XC256	hCXCR5-mN-mL2	1525	31061	1966	1376	1262

【0419】 資料顯示，在抗體對小鼠CXCR5具有特異性之情況下，只要嵌合體包含小鼠N結構域，其即結合調換ECD之小鼠-人類嵌合CXCR5。類似地，對於結合人類CXCR5之抗體(11G2、2C9、16D7及Rb)，若人類N結構域存在於嵌合體中，則抗體結合嵌合CXCR5。因此，抗體之物種特異性表現為由定位於N結構域中之結合驅動。更重要地，此等資料顯示，抗體11G2、2C9及16D7之結合需要人類CXCR5之N結構域。

實例11：11G2抗體與hCXCR5結合特有之胺基酸殘基的鑑別

【0420】為更準確地確定對抗體與hCXCR5結合至關重要之特異性胺基酸殘基且進一步區分抗人類CXCR5抗體，對CXCR5之N結構域進行更詳細之研究。更具體而言，在人類CXCR5之N結構域片段(根據SEQ ID NO: 32之編號的胺基酸1-58)中進行點突變以製備各自包含CXCR5之對應的小鼠胺基酸殘基之點突變蛋白。產生表現各突變蛋白之穩定轉染物且使用流式細胞量測術檢測細胞之抗體結合。亦即，製備十九(19)種各自含有單一胺基酸取代之人類CXCR5 N結構域突變蛋白(稱為XC276-XC294)，其中CXCR5之人類殘基經對應的小鼠殘基置換，如表9中所說明。人類CXCR5突變蛋白在N端處進一步包含在表9中使用小寫字母展示之FLAG抗原決定基(DYKDDDDK)，以允許基於表現水準之正規化；FLAG標記物不影響抗體與突變蛋白結合。一般不在人類對小鼠胺基酸殘基取代已為保守性取代之位置進行取代，且此等殘基以斜體字指示。

【0421】表9展示相比於小鼠CXCR5之N區之胺基酸序列，hCXCR5之N區之胺基酸序列(展示前58個胺基酸)。兩個序列之間不同的胺基酸帶下劃線。該圖示亦展示所製備之各種構築體(XC276-XC294)，其中在hCXCR5中小鼠胺基酸殘基經對應的人類胺基酸取代。舉例而言，XC276係人類CXCR5，具有將D (人類)改變為G (小鼠)之單一胺基酸取代。因為未發生改變，所以未展示hCXCR5胺基酸序列(SEQ ID NO:32)之其餘部分。因為所測試抗體未結合小鼠CXCR5，所以製備突變蛋白以確定對抗體與hCXCR5結合至關重要之胺基酸殘基。

表9

蛋白質	突變 根據SEQ ID NO:32	展示相對於人類CXCR5變化之蛋白質序列
hCXCR5	WT	MdykdddddkNYPLTLEMD-- LENLEDFWELDRLDNYNDTSLVENHLCPATEGPLMASFKAVFVPVAY
mCXCR5		M-----NYPLTLD <u>MGSITYNMDDL</u> YKELAFYSNSTE <u>IPLQDSNFCSTVEGPLL</u> TSFKAVFMPVAY
XC276	D10G	G
XC277	SI(插入)	SI
XC278	L11T	T
XC279	E12Y	Y
XC280	W19K	K
XC281	D22A	A
XC282	R23F	F
XC283	L24Y	Y
XC284	D25S	S
XC285	Y27S	S
XC286	N28T	T
XC287	T30I	I
XC288	S31P	P
XC289	V33Q	Q
XC290	N35S	S
XC291	H36N	N
XC292	L37F	F
XC293	P39S	S
XC294	A40T	T

【0422】 編碼各突變肽之核酸短暫轉染於HEK-293T細胞中。轉染後2天，收集細胞且用1 µg/ml抗FLAG PE (Biolegend)或1 µg/ml或3 µg/ml岩藻糖基人類化11G2 154/155、2C9、S16D7或11A7，之後抗人類IgG PE (Southern Biotech, Birmingham, AL)染色。使用Accuri (BD Biosciences Franklin Lakes, NJ)藉由流式細胞量測術分析細胞。測定幾何平均螢光強度(gMFI)且計算各CXCR5抗體與抗flag之gMFI的比值。

【0423】 如圖7中所示，全部四種抗體均與野生型人類CXCR5 (XC275；WT)結合。抗體隨後提供結合各種點突變肽之不同模式。亦即，2C9不結合XC276 (包含突變D10G0)或XC277 (包含胺基酸殘基S及I至人類CXCR5 N結構域中之插入)，而11G2、16D7及11A7結合彼等蛋白質。此等資料表明，將此等兩個胺基酸插入hCXCR5序列消除2C9結合但不影響三種其他抗體之結合，表明2C9之抗原決定基不同於11G2、16D7及11A7之抗原決定基。更重要地，在胺基酸殘基位置11 (基於序列SEQ

ID NO: 32之編號)處白胺酸(L)突變為蘇胺酸(T)僅完全消除11G2與XC278之結合但不影響抗體2C9、16D7或11A7與此蛋白質之結合。因此，存在於位置編號11(相對於闡述於SEQ ID NO:32中之胺基酸序列)處之白胺酸殘基呈現出對11G2與人類CXCR5之結合至關重要，但對2C9、16D7或11A7與hCXCR5之結合並不重要。此等資料顯示11G2之抗原決定基與彼等抗體之抗原決定基不同。另外，圖7展示全部四種抗體均結合XC279，使得在胺基酸殘基12號(相對於序列SEQ ID NO: 32)處E取代為Y對於此等抗體中之任一者與hCXCR5之結合並不關鍵。

【0424】 四種抗體與XC280 (其在胺基酸殘基編號19(根據序列SEQ ID NO:32之編號)處包含對離胺酸(K)之取代W)之結合導致XC280與抗體16D7及11A7之結合損失，但不影響抗體11G2及2C9與突變蛋白之結合(圖7)。此等結果進一步證實此等四種抗體並未共用hCXCR5上之相同抗原決定基。

【0425】 圖7亦展示將位置22 (根據序列SEQ ID NO: 32之編號)處之D改變為丙胺酸(A)完全消除11G2與XC281突變蛋白之結合，但不影響抗體2C9、16D7及11A7之結合。此進一步強調11G2之抗原決定基與抗體2C9、16D7及11A7之抗原決定基不同。

【0426】 全部四種抗體與XC285-294同等結合且其結合不受此等突變蛋白中之胺基酸取代中之任一者影響。此等資料表明，對於抗體11G2、2C9、11A7及16D7，此等位置(27、28、30、31、33、35、36、37、39及40；參見表9)處之胺基酸殘基並未參與抗體與CXCR5的結合。

【0427】 因此，此等資料表明，在胺基酸位置編號11處之白胺酸(L)殘基及胺基酸位置編號22處之天冬胺酸(D)殘基(均相對於胺基酸序列

SEQ ID NO: 32之編號)對於11G2抗體與hCXCR5之結合至關重要，因為在彼等位置處用對應的小鼠胺基酸殘基取代此等殘基中之任一者(或兩者)消除抗體與hCXCR5之結合。此等資料亦顯示，抗體11G2所具有之抗原決定基與抗體2C9、16D7或11A7不同，因為L11及/或W22之改變不影響此等抗體與hCXCR5之結合。

【0428】 圖7亦展示所有四種抗體結合突變CXCR5蛋白質XC282至XC284。所有四種抗體亦結合蛋白質XC285至XC294。此等資料表明抗體11G2、2C9、16D7及11A7之抗原決定基不在突變蛋白XC282至XC294所指示之hCXCR5之N結構域的區域中。

實例12：11G2對CXCR5具有選擇性且不結合趨化介素GPCR家族之其他成員

【0429】 使用 β -抑制蛋白偶合分析(DiscoveRx)評定岩藻糖基人類化11G2 154/155對趨化介素GPCR家族之二十(20)個成員的選擇性。此分析使用經各受體穩定轉染之全細胞，且藉由偵測 β -抑制蛋白與經活化之GPCR之相互作用直接量測GPCR活性。因為抑制蛋白募集與G蛋白信號傳導無關，所以此等分析提供通用的篩檢及圖譜分析平台，其可用於實際上任何Gi、Gs或Gq偶聯受體，提供對受體或受體家族之標準化及有效比較(不管G蛋白偶合)。以促效劑(無配位體存在)及拮抗劑模式(在EC90下之配位體存在下)進行分析。在選擇性面板中包括以下趨化介素受體：CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、CMKLR1、CXCR3R1、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR5、CXCR6、CXCR7、XCR1。

【0430】 在以促效劑模式測試時，未觀測到岩藻糖基人類化11G2

154/155 (以200 nM測試)對任何其他趨化介素受體之顯著活性且相比以拮抗劑模式對評估之所有其他趨化介素受體之活性，其僅作為CXCR5之拮抗劑具有顯著活性(對配位體誘導之 β -抑制蛋白偶合92%抑制)，亦即，對於所測試之任何其他趨化介素受體未觀測到顯著抑制。

實例13：h11G2未顯示對DNA、胰島素或LPS之多反應性

【0431】 使用多反應性分析判定抗體係否可能與活體內多種不相關抗原反應。多反應性之缺乏表明11G2係CXCR5特異性抗體且其不與活體內非標靶物結合。

【0432】 黑色DELFI A培養板(Thermoscientific)經塗佈有10 $\mu\text{g/ml}$ 之雙股DNA (dsDNA ; Millipore)、5 $\mu\text{g/ml}$ 脂多醣(LPS ; Sigma)、10 $\mu\text{g/ml}$ 胰島素(Sigma, St. Louis, MO)或磷酸鹽-緩衝鹽水(PBS)且在4°C下培育隔夜。隨後使用Biotek ELx405微板洗滌器(Biotek, Winooski, VT)用水洗滌培養板且隨後用200 μl 含有1 \times PBS、0.05% Tween 20及1mM EDTA之分析緩衝液在室溫下封端一小時。在額外的洗滌步驟之後，在室溫下用抗CXCR5抗體(所有抗體均經岩藻糖基化)之連續稀釋液將培養板培育一小時。為進行偵測，將100 μl DELFIA-Eu-N1-抗人類IgG (50 $\mu\text{g/ml}$; Perkin Elmer, Waltham, MA)添加至培養板且在室溫下培育一小時。最後，將100 μl DELFIA增強溶液添加至各孔且在室溫下將培養板搖晃15分鐘，之後在VictorX4多標記板讀取器(PerkinElmer, Waltham, MA)上於鎔螢光下讀數。資料展示於表10中。

表10

針對CXCR5 mAb多反應性之螢光(計數)

CXCR5 mAb	劑量 (nM)	螢光(計數)			
		胰島素包衣	DNA包衣	LPS包衣	PBS包衣
人類化 11G2 154/155	1.2	161	1099	190	1788
	11	305	1780	829	1145
	100	6090	2696	4988	2314
2C9	1.2	267	919	328	523
	11	1690	1483	4144	1408
	100	21100	13970	21447	7758
16D7	1.2	175	701	222	1874
	11	1752	1974	1889	1733
	100	4899	14356	3850	2286
11A7	1.2	614	29862	334	1669
	11	3252	75133	1521	1608
	100	31720	108952	6510	10188

【0433】在獨立研究中，測試去岩藻糖基化人類化11G2 154/155之多反應性且其未展示與胰島素、DNA、LPS或PBS之結合，與上文表10中所展示之岩藻糖基化人類化11G2 154/155之結果一致。

【0434】此等資料顯示，11G2不與胰島素、DNA或LPS起反應，且反應性低於比較劑抗體2C9、16D7及11A7。此等資料表明11G2係可能有用的新穎治療劑。多反應性抗體根據定義以非特異性方式結合一系列生物分子。彼11G2在通用多反應性分析中未反應進一步表明11G2對CXCR5具有特異性。PK、TK及毒性資料亦表明11G2對CXCR5具有特異性。

實例14：11G2與比較劑抗體之間差異的概述

【0435】下表11概括先前本文中其他地方所描述之11G2及各種比較劑抗體之特徵。ND意謂未測定。

【0436】此等資料表明，岩藻糖基化及去岩藻糖基化抗體11G2均與比較劑抗體2C9、16D7及11A7顯著不同。亦即，11G2結合由位置11及22處小鼠胺基酸殘基之取代消除，而比較劑抗體之結合不受此等殘基之取代影響(根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32編號)。另外，2C9之結合需要存在胺基酸殘基W19、D22及R23以結合於hCXCR5，但該等抗體中無一者需

要此等全部三種胺基酸殘基，即使11A7與hCXCR5的結合通過位置19處(根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號)丙胺酸取代為W消除。不同於所有其他抗體，在人類CXCR5之D10與L11(根據胺基酸序列SEQ ID NO: 32之編號)之間插入兩個小鼠殘基消除16D7與hCXCR5之結合(參見圖7)。因此，本文所提供之資料表明11G2具有與抗體2C9、16D7及11A7不同之抗原決定基，且此等抗體具有自身亦不同之抗原決定基。

【0437】另外，本文所提供之資料顯示，11G2對hCXCR5所具有之親和力(表示為EC₅₀) (7.08 pM)比2C9 (65.59 pM)大至少10倍且比11A7 (563.63 pM)大至少100倍，且與16D7 (其因為不可飽和而無法比較)差異巨大。

表11

CXCR5 mAb	抗原決定基 (對結合至關重要)	多反應性	表觀親和力 (EC ₅₀ , pM)	ADCC (EC ₅₀ , pM)	功能性拮抗作用 (EC ₅₀ , pM)
人類化11G2 154/155	L11、D22	無	7.08	253.72	752.9
岩藻糖基人 類化11G2 154/155	ND	無	6.60	2.38	961.4
2C9	W19、D22、 R23	無	65.59	380.31	793.1
16D7	D10、SI插入	無	不飽和結合	2590.61	1104
11A7	W19	對DNA反應	563.63	4.35	1401

【0438】此等所有資料均表明，11G2實質上不同於比較劑抗體2C9、16D7及11A7，且係可能的新穎有用治療劑，用以治療或預防由CXCR5之生物活性(包括但不限於CXCR5介導之CXCL13信號傳導)介導或與其相關之疾病、病症或病狀。對於展現ADCC活性極大增強之11G2之去岩藻糖基化版本的情況尤其如此，藉此提高其作為治療劑治療例如

CXCR5之細胞表現介導或與其相關之可能的有用性。

實例15：去岩藻糖基化h11G2 XC154/XC155之活體內藥力學

【0439】 在活體內，已在多次食蟹獼猴研究中針對岩藻糖基人類化11G2 154/155探索在0.001至400毫克/公斤/劑IV或SC範圍內之劑量。如此實驗中所使用，IV及SC調配物包含以下組分：50 mg/mL本發明之CXCR5抗體或抗原結合片段、20 mM組胺酸、8.5%蔗糖、及0.02%聚山梨醇酯80、0.005%在pH 5.8下之EDTA。下表12闡述食蟹獼猴中之去岩藻糖基化11G2 XC154/XC155之研究的活體內研究設計。

表12

研究描述	劑量(投藥途徑)	給藥方案
食蟹獼猴中之單劑量藥效學(PD)研究	0.001、0.002、0.005、0.1及0.2 mg/kg (IV)	單劑量
食蟹獼猴中之重複劑量探索性毒性研究(48週恢復階段)	40及400毫克/公斤/劑(IV)， 260 (SC)	每週一次給藥，第1天、第8天及第15天三次
食蟹獼猴中之重複劑量GLP毒性研究(11個月恢復階段)	5及200毫克/公斤/劑(IV)， 20 (SC)	兩週一次給藥，第1天、第15天、第29天、第43天及第57天五次
食蟹獼猴中去岩藻糖基化h11G2 VL XC154/VH XC155之PK、PD、免疫活性能力(疫苗回憶反應)研究	2及10毫克/公斤/劑(IV)	每週一次給藥，第1天及第8天兩次

【0440】 去岩藻糖基化h11G2 VL XC154/VH XC155 (岩藻糖基h11G2 XC154/XC155)之單次劑量在0.001至0.2 mg/kg範圍內下時觀測到食蟹獼猴中外周血液中之B細胞及Tfh樣細胞之劑量依賴型耗竭；所測試之最低劑量(0.001 mg/kg)導致外周血液中B細胞及Tfh樣(亦即cTfh)細胞之大約50%耗竭。

【0441】 在食蟹獼猴中之探索性及關鍵GLP毒性研究中，岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之劑量 ≥ 5 mg/kg IV導致外周血液中B細胞及Tfh樣

細胞之顯著耗竭以及脾及其他淋巴性組織(腋及腸系膜淋巴結及腸相關淋巴組織)中之淋巴濾泡之細胞含量減少；此等影響與免疫組織化學觀測到之B細胞區域之藥理學介導之減少的細胞含量相關。在探索性及關鍵研究中，觀測到B細胞、Tfh樣細胞及Tfh細胞之部分至完全恢復。耗竭及後續充溢之動力學與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之曝光水準相關。

【0442】 為判定岩藻糖基h11G2 XC154/XC155係否損害體液性記憶反應，在食蟹獼猴中進行疫苗回憶反應研究。簡言之，在第1天及第8天以2及10毫克/公斤/劑之水準藉由IV快速注射將岩藻糖基h11G2 XC154/XC155給予在研究之前已對TT (破傷風類毒素)接種之食蟹獼猴(N=6隻/組)。岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之投藥具有良好耐受性且導致預期之藥理學(亦即，循環B細胞及Tfh樣細胞減少)。在二次TT免疫接種7天後，相比於第15天，在第22天在所有動物中在所有劑量組中觀測到免疫球蛋白M (IgM)及IgG記憶反應增加。在投與岩藻糖基H11G2 XC154/XC155 (10毫克/公斤/劑)之動物中，此等反應減少，相比於對照組之72,000，其峰值抗TT IgG平均滴定濃度為42,667，且相比於對照組之3500，其峰值抗TT IgM平均滴定濃度為1583。用作比較劑之B細胞耗乏性抗體Rituxan® (利妥昔單抗)不影響抗TT IgG記憶反應。總之，此等資料顯示岩藻糖基h11G2 XC154/XC155損害活體內體液性記憶反應。

安全性藥理學

【0443】 將心電圖及心跳速率量測併入關鍵毒性研究之設計中。不存在異常的心電圖發現，可歸因於岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之投藥。所有心電圖定性及定量地處於正常限度內且不存在心律不齊。

實例16：去岩藻糖基化h11G2 XC154/XC155之活體內藥物動力學及代謝

【0444】 驗證電化學發光(ECL)分析以在Meso Scale Discovery® (MSD)分析平台上偵測食蟹獼猴血清中ADA之存在。將陽性對照抗CXCR5抗個體基因型抗體摻入食蟹獼猴血清，且在各板上包括由彙集之正常食蟹獼猴血清組成之陰性對照以監測分析性能。使生物素標記之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155及鈎標記之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155與研究樣品、陽性對照及陰性對照共同培育。存在於樣品中之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之抗體必須與待於此分析中偵測之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之生物素標記及鈎標記型式結合。經由生物素標記之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155將複合物捕獲至抗生蛋白鏈菌素塗佈之MSD多陣列培養板，在MSD Sector Imager儀器上對其讀數。藉由使用鈎標記之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155及三丙胺進行最終偵測以在MSD Sector Imager儀器內產生ECL信號(RLU)。

【0445】 使用分層策略針對ADA測試研究樣本。在篩檢分析中以75之稀釋因數初次測試樣品。產生低於分析割點之RLU的樣品報導為陰性(< 1.88)。在完全稀釋系列中重新分析產生處於或高於分析割點之RLU的樣品以測定抗體效價。抗體效價定義為將產生等於割點RLU之樣品之倒數稀釋度。報導彼效價之對數(基數10)。

【0446】 基於第1天給藥之前收集之樣品及給藥後樣品結果之比較得出關於ADA誘導之結論。若測試給藥前樣品對ADA顯陰性且測試對應的給藥後樣品顯陽性，則認為動物對ADA之誘導顯陽性。若測試給藥前及給藥後樣品對ADA顯陽性，則認為只有給藥後樣品效價為至少0.48 (log 3，連續稀釋因子)或比給藥前樣品之效價更高時動物對ADA之誘導顯陽性。

單劑量藥物動力學

【0447】 在以0.001、0.002、0.005、0.1或0.2 mg/kg之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155單次IV給藥之後，作為研究之部分表徵岩藻糖基h11G2 XC154/XC155 PK以評定雄性及雌性食蟹獼猴(n=1隻/性別/劑量組)中外周血液B細胞及濾泡性T輔助(Tfh)樣(Tfh樣)細胞之耗竭及充溢。如此實驗中所使用，IV及SC調配物包含以下組分：50 mg/mL本發明之CXCR5抗體或抗原結合片段、20 mM組胺酸、8.5%蔗糖、及0.02%聚山梨醇酯80、0.005%在pH 5.8下之EDTA。

【0448】 在單次IV給藥之後，全身性暴露量隨劑量提高而增加，且岩藻糖基h11G2 XC154/XC155 PK之特徵為低CL及低V_{ss}，所有劑量之平均值分別在大約0.2至2.6 mL/h/kg與0.03至0.1 L/kg範圍內。所有劑量之平均t_{1/2}值在大約1至4天範圍內。在低劑量(0.001-0.005 mg/kg)下，跡象顯示CL較高，此可能歸因於抗體依賴性細胞毒性(ADCC)介導之細胞耗竭，亦可繼而導致岩藻糖基h11G2 XC154/XC155/CXCR5複合物之清除(Kryzanski等人, 2016, J. Pharmacokinet. Pharmacodyn. 43(5):513-527；Wang等人, 2010, AAPS J. 12(4):729-740)。在低劑量下，人類中可見類似的清除機制/非線性。如先前本文中其他地方所描述，觀測到外周血液中B細胞及Tfh樣細胞之劑量依賴型耗竭，且循環B細胞之耗竭比Tfh樣細胞之耗竭更加穩定。

食蟹獼猴中之重複劑量毒物動態學(TK)

【0449】 作為GLP重複劑量毒性研究之部分，在向雄性及雌性食蟹獼猴(n = 3或4隻/性別/劑量組)以5 (IV)、20 (SC)或200(IV) mg/kg每兩週(每2週)IV或SC給藥(總計5次給藥)岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之後進

行TK及ADA評估。

【0450】 在自媒劑對照組收集及分析之樣品中，不存在可定量濃度之岩藻糖基 h11G2 XC154/XC155。在所有劑量組中，全身性暴露量不存在明顯的性別相關差異；因此使用雄性及雌性食蟹獼猴之結合資料呈現組平均TK參數(表13)。

【0451】 在以5 (IV)、20 (SC)或200 (IV) mg/kg每兩週給藥之後，全身性暴露量在重複給藥之後較高，累計比值(第43研究天/第1研究天)在大約1.4至1.7範圍內。另外，全身性暴露量在IV給藥之後以劑量成比例方式提高。自11個月恢復時段之第148研究天至281研究天觀測到來自5 mg/kg (IV)劑量組之恢復動物中最後可定量濃度之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155。在SC給藥之後，岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之生物可用性經估計為至少約50%。

【0452】 在分別以5 (IV)、20 (SC)或200 (IV) mg/kg給藥岩藻糖基 h11G2 XC154/XC155之後，ADA對岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之發生率為19% (3/16隻動物)、17% (1/6隻動物)及0% (0/6隻動物)，且相比於ADA陰性動物，在ADA陽性動物中，第43研究天之血清濃度一般較低。應注意，岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之循環濃度可干擾ADA之偵測。

表13

劑量 (mg/kg/週)/投送	研究天	C _{max} (µg/mL)	T _{max} (小時)	AUC ₁₆₈ (µg•h/mL)
5 (IV)	1	112	0.61	8340
	43	142	5.5	11300
20 (SC)	1	131	100	18800
	43	219	40	31600
200 (IV)	1	4610	0.25	316000
	43	5220	1.2	438000

AUC₁₆₈ =零至給藥後168小時藥物濃度-時間曲線下面積； C_{max}=最大觀測濃度； IV=靜脈內； NA=不適用； SC=皮下； T_{max}=達至首次出現C_{max}之時間。

分佈

【0453】 在非臨床物種中未針對岩藻糖基h11G2 XC154/XC155進行蛋白質結合及組織分佈研究。在單次IV給藥之後，食蟹獼猴中岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之 V_{ss} 在大約0.03至0.1 L/kg範圍內，與對IgG所預期之有限分佈一致(Lin等人, 1999, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 288(1):371-378；Mascelli等人, 2007, *J. Clin. Pharmacol.* 47(5):553-565)。

代謝

【0454】 未用岩藻糖基h11G2 XC154/XC155進行代謝研究。類似於具有高於腎小球濾過截止值之分子量之其他治療蛋白，預期岩藻糖基h11G2 XC154/XC155主要藉由分解降解代謝(Lobo等人, 2004, *J. Pharm. Sci.* 93(11):2645-2668；Mascelli等人, 2007, 見上文；Vugmeyster等人, 2012, *World J. Biol. Chem.* 3(4):73-95)。

藥物動力學藥物相互作用

【0455】 未進行活體外或活體內藥物動力學藥物相互作用。岩藻糖基h11G2 XC154/XC155係針對CXCR5之人類化單株抗體(mAb)且已證實調節活體外細胞介素釋放，但不會活體內調節細胞介素釋放。已證實細胞介素調節細胞色素P450 (CYP)酶及轉運體之表現(Lee等人, 2010, *Clin. Pharmacokinet.* 49(5):295-310；Mahmood & Green, 2007, *J. Clin. Pharmacol.* 47(12):1540-1554)。因此，利用岩藻糖基h11G2 XC154/XC155進行治療可能影響CYP酶及轉運蛋白水準且因此調節合併用藥之清除，該等合併用藥係此等酶或轉運體之受質。然而，在診所中針對其他藥物所觀測到之細胞介素介導之藥物相互作用一直適中，導致共同投與之小分子藥物之暴露發生少於2倍變化(Huang等人, 2010, *Clin.*

Pharmacol. Ther. 87(4):497-503 ; Evers等人, 2013, Drug Metab. Dispos. 41(9):1598-1609)。因此，不希望受任何特定理論束縛，若合併用藥改變標靶表現，則其可能影響岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之PK。

人類藥物動力學之預測

【0456】 食蟹獼猴中岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之PK概況對於猴中人類IgG1 mAb而言為典型的。因此，預期人類中所預測之二室PK參數值與典型的治療劑IgG1 mAb之二室PK參數值相同且認為在待測試之劑量範圍中為線性的。所使用之PK參數值類似於先前所報導之PK參數值 (Singh等人, 2015, Developability of Biotherapeutics: Computational Approaches, S. Kumar, Singh S. Kumar編, CRC Press)。此等參數如下：中心體積(V_c)為3.2 L；外周體積(V_p)為2.2 L；中央清除(CL_c)為0.25升/天；分佈性清除(Q)為0.45升/天；SC吸收速率常數(k_a)為0.26 1/天且SC生物可用性為60%。基於本文所揭示之資料，所預測之去岩藻糖基化h11G2 XC154/XC155之人類血清半衰期為約17天。

人類有效劑量之預測

【0457】 採納基於模型之方法表徵劑量、岩藻糖基h11G2 XC154/XC155濃度、以及食蟹獼猴之血清中之B及Tfh樣細胞之調節之間的關係。接著，使用所公開之SBI-087 (如同利妥昔單抗結合B細胞上之CD-20且耗竭B細胞之人類化小模組免疫藥物(SMIP))之猴及人類藥物動力學/藥力學(PK/PD)資料轉化來自猴至人類之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之B細胞耗竭參數(Cohen等人, 2016, Clin. Ther. 38(6):1417-1434 ; Dunussi-Joannopoulos等人, 2008, Ann. Rheum. Dis. 64(Suppl II):190 (Abstr THU0171))。不同於B細胞，無人類資料可用於

Tfh樣耗竭；因此，假設Tfh樣細胞耗竭之翻譯類似於B細胞。使用SLE患者中基線B及Tfh樣細胞計數(Belouski等人, 2010, *Cytometry B Clin. Cytom.* 78(1):49-58)且預測人類細胞耗竭參數，模擬人體內在岩藻糖基h11G2 XC154/XC155投藥以後的B及Tfh樣細胞耗竭動力學。

【0458】 所預測的岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之人類有效劑量為大約10至30 mg (IV)，且係基於假設：需要持續大約8週將血液中之B細胞耗竭至 ≤ 1 cell/mL以實現臨床功效。如上文所提及，估算在10至30 mg IV (第1天及第29天給藥)之第二給藥之後的岩藻糖基h11G2 XC154/XC155血清濃度，且所預測之 C_{max} 為大約5至15 $\mu\text{g/mL}$ ，所預測之相對於給藥時間間隔 τ 之濃度時間曲線下面積(AUC_{τ})為大約38至114微克/天/毫升，且所預測之平均濃度(C_{av} ；經計算為 $AUC_{\tau}/28$)為1.36至4.06 $\mu\text{g/mL}$ 。

實例17：去岩藻糖基化h11G2 XC154/XC155之毒理學研究

【0459】 在如表14中所概括之毒性測試研究之概述，在一系列非臨床毒性研究中評定去岩藻糖基化h11G2 XC154/XC155。選擇靜脈內(IV)或皮下(SC)投藥途徑，因為其係臨床投藥之所需途徑。如此實驗中所使用，IV及SC調配物包含以下組分：50 mg/mL本發明之CXCR5抗體或抗原結合片段、20 mM組胺酸、8.5%蔗糖、及0.02%聚山梨醇酯80、0.005%在pH 5.8下之EDTA。如本文中其他地方先前所論述，使用人類或食蟹獼猴周邊血液單核細胞之研究說明，岩藻糖基h11G2 XC154/XC155以相當的親和力結合CXCR5表現細胞且在人類與猴細胞之間類似地觸發抗體依賴性細胞毒性(ADCC)。亦如本文中其他地方先前所說明，岩藻糖基h11G2 XC154/XC155不結合小鼠、大鼠或兔CXCR5異種同源物。因

此，非臨床毒性研究僅在食蟹獼猴中進行。

表14

研究 ^b	濃度或劑量	GLP身分
重複劑量毒性		
探索性研究		
伴隨恢復之食蟹獼猴中之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155的17天靜脈內及皮下探索性毒性研究	0 (IV、SC)、40 (IV)、260 (SC)、400 IV (每週一次)	無
關鍵研究		
具有一定恢復時段之食蟹獼猴中之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155的2個月靜脈內及皮下毒性研究	0 (IV、SC)、5 (IV)、20 (SC)、200 (IV) (每2週)	有
其他毒性研究		
用以建立用於岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之免疫組織化學染色方法的初步研究	0.5-25 µg/mL	無
正常人類及食蟹獼猴組織中生物素標記之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155的組織交叉反應研究	1, 5 µg/mL	有
岩藻糖基h11G2 XC154/XC155活體外人類細胞介素釋放分析	1-1000 µg/mL 或 1-100微克/孔 ^d	無

【0460】 表14中之縮寫如下：GLP=良好實驗室規範；IV=靜脈內；OECD=經濟合作與發展組織；PBMC=周邊血液單核細胞；SC=皮下。

【0461】 在符合OECD資料相互接受成員國中進行所有GLP研究。所有活體內研究均用雄性及雌性動物進行。除非另外規定，否則所有劑量均表示為毫克蛋白質/公斤體重/劑。在1、10、100或1000 µg/mL下分析人類全血(可溶相)或在1、10或100微克/孔下分析人類PBMC(固相)。

【0462】 在IV及SC研究中，以每週給藥至多400毫克/公斤/劑(IV)持續17天(總計3次給藥)或每2週至多200毫克/公斤/劑(IV)持續2個月(總計5次給藥)向猴子投與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155。17天探索性猴研究包括到第352天之恢復階段。關鍵(GLP)的2月猴子研究具有11個月恢復階段(第401天)。岩藻糖基h11G2 XC154/XC155誘導活體外分析中之細胞介

素釋放。此等研究中所鑑別之靶器官係血液淋巴細胞生成系統。2個月猴子研究中之無可見有害作用水準(NOEL)在第43天係200毫克/公斤/劑(IV)之最高測試劑量， C_{max} 為5220 $\mu\text{g/mL}$ 且 AUC_{168} 為438,000 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ 。

重複劑量毒性

【0463】 在食蟹獼猴中用岩藻糖基h11G2 XC154/XC155進行探索性及關鍵重複劑量毒性研究。

探索性毒性研究

【0464】 在探索性非GLP研究中，藉由IV或SC注射以0 (IV，SC媒劑)、40 (IV)、260 (SC)或400 (IV)毫克/公斤/劑(總計3次給藥)每週一次向猴子(1-2性別/劑)投與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155，之後為於媒劑中之恢復階段，40 (IV)及400 (IV)群組(1/性別/組)到第352天。所有動物均存活到在第17天或第352天對其安排屍檢。不存在測試物品相關之臨床徵象且對體重、食物消耗或血清細胞介素無影響。

【0465】 在給藥階段期間，外周血液中全部B細胞、CXCR5+ B細胞及循環Tfh樣細胞相對於在第2天或第3天開始之基線(分別0.00x-0.02x、0.00x-0.02x及0.03x-0.09x)減少，在第17天觀測到自基線之最大減少。在所有劑量下，耗竭之量值均相似。在脾中，相比於對照物在所有劑量下觀測到明顯減少之B細胞、CXCR5+ B細胞及真正(bona fide) Tfh細胞數目減少(分別0.018x-0.144x、0.003x-0.033x及0.037x-0.245x)。在外周血液中，在 ≥ 40 毫克/公斤/劑下在除一隻動物之外之全部動物中，絕對淋巴球到第2天減少(0.33x-0.67x基線)且在第17天觀測到在 ≥ 40 毫克/公斤/劑下動物中之免疫球蛋白(Ig)G增加(1.11x-1.81x基線)。在第2天，自然殺手(NK)細胞計數存在短暫降低(0.05x-0.14x基線)，在大多數動物中

到第6天發生部分至完整恢復。脾淋巴濾泡之細胞含量存在中度至顯著減少；在 ≥ 40 毫克/公斤/劑及260毫克/公斤/劑(SC)下，頷下、腋及腹股溝淋巴結中之淋巴濾泡之細胞含量存在極少減少，存在注射位點之微觀混合細胞浸潤。免疫組織化學展現脾中之CD20陽性細胞及CXCR5陽性細胞非劑量依賴性減少，且頷下及腹股溝淋巴結中之CD20陽性細胞減少。對淋巴組織之影響與外周血液中之B細胞及Tfh樣細胞以及總淋巴球之減少相關，且與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155 (其係靶向CXCR5表現細胞之耗乏性抗體)之藥理學一致。

【0466】 在恢復階段期間，B細胞、CXCR5+ B細胞及Tfh樣細胞外周血液計數之減少到第199天(緩慢)增加，且在第352天，在恢復階段結束時，所有動物之此等細胞類型均具有部分或完整恢復。在恢復階段期間，NK細胞及IgG返回至基線範圍(圖8A至圖8D)。不存在測試物品相關之微觀發現(包括脾及頷下以及腹股溝淋巴結之CD20及CXCR5免疫組織化學評估)且在脾中，B細胞、CXCR5+ B細胞及真正(bona fide) Tfh細胞數目類似於媒劑對照動物之值或比其更高，表明完全恢復。

【0467】 在任何劑量下，未觀測到對血清細胞介素或外周血液中之T細胞、T輔助細胞或T細胞毒性細胞之影響。在此研究中未偵測到明顯抗藥物抗體(ADA)。

【0468】 圖8A-8D係展示食蟹獼猴中外周血液B細胞及Tfh樣細胞之耗竭及復原。到探索性毒性研究之第352天，展示雄性(圖8A及圖8C)及雌性(圖8B及圖8D)中每微升血液之外周血液B細胞(圖8A及圖8B)及Tfh樣細胞(圖8C及圖8D)含量。B細胞定義為CD3-CD20+。Tfh樣細胞定義為CD3+CD4+CD95+CXCR5+細胞與CD3+CD4+CD95+hIgG+細胞之總和，

因為試驗件干擾用於免疫表型之CXCR5抗體。雄性猴子(圖8A, 每微升272-2503個細胞)及雌性猴子(圖8B, 每微升233-1700隻細胞)中之B細胞之歷史範圍由虛線表示。

關鍵(GLP)毒性研究

【0469】 在關鍵研究中, 藉由IV或SC注射以0 (IV, SC)、5 (IV)、20 (SC)或200 (IV)毫克/公斤/劑(總計5次給藥)每2週向猴子(3-8隻/性別/組)投與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155, 之後為11個月恢復階段(第401天)。在第22天(給藥階段)及第253天(恢復階段)向猴子注射匙孔螺血氫蛋白(KLH)及破傷風類毒素(TT)以分別評定初次及二次T細胞依賴性抗體反應(TDAR)。動物經免疫接種TT但在研究開始之前經免疫接種未經處理之KLH。在研究開始(基線)之前在第22天、第25天、第29天、第36天、第43天、第58天、第253天(在恢復階段免疫接種之前)、第256天、第260天、第267天、第274天、及第281天收集血液樣品且評估抗KLH-IgM、抗KLH-IgG、抗TT-IgM及抗TT-IgG之產生。

【0470】 所有給藥階段動物存活到第58天安排屍檢。不存在測試物品相關之臨床徵象且對體重、食物消耗、血漿細胞介素、凝血、臨床化學、TDAR-KLH參數或心電圖參數無影響。在此研究中所有岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之發現包括: 在5及200毫克/公斤/劑IV及20毫克/公斤/劑SC下, 外周血液中血液學、免疫表型參數之非不良及可逆變化, TDAR-TT IgG值之劑量獨立性降低, 以及雄性及雌性之脾及/或淋巴結之微觀發現及免疫表型變化。在恢復階段期間, 由於血液收集併發症在第330天對一隻對照雌性安樂死。所有剩餘的恢復動物存活至在第401天屍檢。

【0471】 岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之血液學變化包括在所有劑量下，淋巴球之總體劑量獨立性輕度至中度降低(0.34x-0.60x基線)，第2天發生率最高且在後續時間點發生率較低，其貢獻在所有劑量下，個體動物之總白血球計數減少(0.25x-0.59x基線)。淋巴球大約為前1至2個月之恢復階段內的基線及/或對照值。在第2天在200毫克/公斤/劑IV下及對個別動物而言在後續時間點以及前1至3個月恢復階段內之後續恢復下，在5毫克/公斤/劑IV及20毫克/公斤/劑SC下亦存在輕度減少之嗜鹼性球(0.17x-0.50x)，且在第6天在200毫克/公斤/劑IV下雌性之紅血球質量(血紅蛋白、紅血球計數及血細胞比容)短暫輕微減少(0.79x-0.82x)。

【0472】 早在第2天，在所有動物及劑量組中，外周血液中之總B細胞、CXCR5+ B細胞及Tfh樣細胞相對於基線存在顯著的岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之減少(0.00x-0.56x)，且保持直至給藥階段結束(第58天)，在恢復階段期間到第393天，恢復至基線或具有對應於各子集的絕對值，該子集處於在以5毫克/公斤/劑IV給藥之動物中之媒劑對照動物中觀測到的值範圍內(圖9A-9D)。在所有動物中，第2天外周血液中之NK細胞數目相對於基線亦存在顯著減少(0.04x-0.46x)；然而，到第6天觀測到大多數動物部分至完全恢復，儘管某些動物之NK細胞在一或多個後續時間點保持低於基線水準，到恢復階段結束恢復至基線。在一些動物中，在第2天，總T細胞、T輔助細胞及T細胞毒性細胞亦存在短暫減少(0.45x-0.66x)；然而，到第6天大多數動物中之此等細胞群返回至基線水準且到第36天所有動物中之此等細胞群均返回至基線水準。在任何劑量下，白介素(IL)-2、IL-6、IL-10、IL-13、干擾素(IFN)- γ 及腫瘤壞死因子(TNF)- α 均不存在岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之變化。

【0473】 在 ≥ 5 毫克/公斤/劑IV及20毫克/公斤/劑SC下，觀測到脾淋巴濾泡，及腋及腸系膜淋巴結中之淋巴濾泡，以及腸相關淋巴組織(GALT)之細胞含量發生岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之劑量獨立性減少。此與藉由免疫組織化學評定之脾中之CD20+及CXCR5+細胞的淋巴濾泡細胞含量相關，除了在20毫克/公斤/劑SC下的1隻雄性外；然而，可因自第15天ADA之發生率提高而影響此動物中之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155暴露。另外，相比於媒劑對照物，在第58天屍檢時，脾中之B細胞、CXCR5+ B細胞及Tfh細胞數目較低。一些動物相比於對照物在脾中具有較低之NK細胞數目。在第401天恢復結束時，在投與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之所有動物中檢測之各亞群的絕對值處於媒劑對照組中之動物之值的範圍內，表明在研究之給藥階段期間觀測到之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關的較低數目恢復。

【0474】 在 ≥ 5 毫克/公斤/劑IV及20毫克/公斤/劑SC下，脾及淋巴結中之淋巴濾泡的淋巴細胞含量減少以及脾中較低數目之B細胞、CXCR5+ B細胞及Tfh細胞與外周血液中總淋巴球及B細胞、CXCR5+ B細胞及Tfh樣細胞之減少相關。在恢復階段結束時(第401天)，在5 mg/kg IV劑量組中不存在岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之微觀發現，說明完全恢復。此等發現與預期耗竭CXCR5表現細胞之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之藥理學一致。外周血液及/或脾中較低數目之NK細胞可歸因於NK效應細胞死亡(其已描述於遵循抗體依賴性細胞毒性之NK細胞(Warren等人, 2011, J. Immunol. Meth. 370:86-92)中)及/或組織再分佈；然而，不排除其他機制。

【0475】 對匙孔螺血氫蛋白(KLH)之初始T細胞依賴性抗體反應

(TDAR)不存在岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之影響。在所有組中觀測到抗KLH-免疫球蛋白(Ig) M及IgG反應。在進行研究之前，以針對破傷風類毒素(TT)對所有猴子接種。在所有劑量組中之所有動物中觀測到提高之IgM及IgG記憶反應。在免疫接種後7天、14天、21天及36天，在5 IV、20 SC及/或200 IV毫克/公斤/劑組中之雄性及雌性動物中觀測到對TT之二次TDAR (IgG中心點效價值)的h11G2 XC154/XC155相關之劑量獨立性減少。在免疫接種後7天，對於5及200毫克/公斤/劑IV組觀測到統計顯著之組平均抗TT IgG抗體之減少。

【0476】 在恢復階段免疫接種之後，在處於媒劑對照組範圍內之1或多個時間點時，5 mg/kg岩藻糖基h11G2 XC154/XC155劑量組中之所有動物中均存在抗KLH IgM及IgG記憶反應。在恢復時間點期間，在恢復階段中之免疫接種後7天，在5 mg/kg劑量組動物中觀測到之組抗TT-IgG中心點效價(CPT)值存在岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之統計顯著降低。所有恢復階段動物之CPT值均處於對照組範圍內，5 mg/kg劑量組中8隻動物中之2隻除外，該等動物在所有恢復時間點一直到恢復階段中之TT免疫接種28天後均具有低於對照範圍之CPT值。抗TT IgM值不存在變化，此歸因於給藥或恢復階段期間的岩藻糖基h11G2 XC154/XC155投藥。

【0477】 在所有群組中均存在抗KLH IgM及IgG初始反應；在初次免疫接種後之1或多個時間點時，5及200毫克/公斤/劑組中之一些動物具有高於對照範圍之CPT。在任何時間點，任一組中之組平均抗KLH IgM或IgG抗體均不存在統計顯著差異。因為個體動物變化係偶發性的，缺乏劑量依賴性，且組CPT值在對照動物範圍內，所以不認為與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關。在恢復時間點期間，所有動物均處於對照範

圍內，5 mg/kg劑量組中8隻動物中之1隻除外，其在KLH免疫接種後14天、21天及28天具有略微低於對照範圍之CPT值。此等資料(劑量或恢復階段)表明，所有給藥岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之動物(雄性及雌性)均能夠類似於對照動物對KLH免疫接種產生初始IgM及IgG反應。

【0478】 儘管如藉由免疫表型偵測，外周血液中總B細胞、CXCR5⁺ B細胞、Tfh樣細胞及NK細胞顯著減少且脾中之B細胞、CXCR5⁺ B細胞及Tfh細胞數目顯著較低，淋巴球計數減少且脾、淋巴結及GALT中之淋巴細胞含量減少，但所有發現都並非有害的，此歸因於缺乏相關臨床徵象及缺乏對初始TDAR之影響。其他血液發現包括總白血球、嗜鹼性球及紅血球參數之降低，其並非有害的，此歸因於嚴重程度有限且缺乏微觀相關性。在第401天未觀察到岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之微觀及免疫組織化學發現。

【0479】 在每隔一週進行SC或IV投藥，持續2個月之後，猴子中之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155的NOAEL為200毫克/公斤/劑。在NOAEL下全身性暴露量(C_{max} 及 AUC_{168})分別為5220 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及438,000 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 。在此研究中偵測到抗岩藻糖基h11G2 XC154/XC155抗體且在本文中其他地方概括資料。在本文中其他地方提供在重複劑量毒性程序中觀察到之靶器官毒性之風險評估。可在本文中其他地方發現與猴子中之關鍵反應相關之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155的臨限值濃度。

繁殖及發育毒性

【0480】 在食蟹獼猴中，在重複劑量毒性研究中評估之雄性或雌性繁殖組織中無測試物品相關之影響。

局部耐受性

【0481】 儘管在活體內毒性研究中宏觀及微觀檢測注射部位，尚未利用岩藻糖基h11G2 XC154/XC155進行獨立式局部耐受性研究。

【0482】 在探索性猴研究中，相比於對照動物之SC注射部位的極少至輕度浸潤，在260毫克/公斤/劑下之SC注射部位中，存在中度血管周混合白血球細胞浸潤(單核白血球、嗜中性白血球及較少嗜酸性球)。在260毫克/公斤/劑SC雄性中，滲入多病灶性擴展至小血管之肌膜。在260毫克/公斤/劑SC雌性中，數種多核巨細胞浸潤皮下膠原蛋白，且在此等細胞中存在胞質內嗜鹼性或嗜酸性小片纖維物質。在關鍵2個月猴研究中，不認為IV及SC投藥部位之微觀發現與測試物品相關。

抗原性

【0483】 藉由量測在食蟹獼猴中重複劑量毒性研究中之ADA水準評定免疫原性；先前在本文中描述此等資料。

免疫毒性

【0484】 活體外及活體內研究表徵岩藻糖基h11G2 XC154/XC155對免疫系統之影響。在人類細胞介素釋放分析中使用2種不同活體外型式測定岩藻糖基h11G2 XC154/XC155誘導細胞介素(TNF- α 、IL-6及IFN- γ)釋放之可能性：使用全血之可溶相分析及使用固定之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155及周邊血液單核細胞(PBMC)的固相分析。在中此等型式中之每一者中評估來自8名健康人類供體之樣品。在兩種細胞介素釋放分析型式中，均觀測到h11G2 XC154/XC155誘導之細胞介素釋放(TNF- α 、IL-6及IFN- γ)。在活體內，猴子中之重複劑量探索性及關鍵毒性研究表徵活體內細胞介素釋放曲線，以及岩藻糖基h11G2 XC154/XC155對免疫系統細胞及組織之影響。岩藻糖基h11G2 XC154/XC155未在活體內誘導細

胞介素。如本文中其他地方所描述，在投與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之猴子之外周血液及脾中觀測到淋巴球、B細胞、CXCR5+B細胞及Tfh/Tfh樣細胞之耗竭，影響與所預期之CXCR5耗乏性抗體之作用機制一致。在探索性及關鍵毒性研究中之恢復階段之後，脾及淋巴結中之淋巴球參數與媒劑對照物相當。

【0485】 在如本文中其他地方所論述之關鍵2個月毒性研究中評估分別對KLH及TT之初始及二次TDAR反應。對KLH之初始TDAR不存在岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之影響。所有動物均產生對TT之二次TDAR反應，但在研究之給藥及恢復階段期間，在免疫接種7天後，觀測到5及200毫克/公斤/劑IV組之中心點效價發生岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之降低。

組織交叉反應性(TCR)

【0486】 在利用岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之初步染色方法研究中進行廣泛初步方法開發研究，包括多次試驗及方法。此等分析情況中無一者一致地表明所預期之細胞及組織中具有膜染色。在符合GLP之組織交叉反應研究中，評估生物素標記之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155 (岩藻糖基h11G2 XC154/XC155-Bio；1及5 µg/mL)與食蟹獼猴及人類組織之冷凍切片的結合。染色圖案在食蟹獼猴與人類組織之間交疊。在單核細胞、網狀內皮細胞、各種上皮細胞、膠細胞及/或垂體細胞中觀測到人類及猴共有之染色，表示預期之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155反應性 (Breitfeld等人, 2000, *J Exp Med* 192(11):1545-1552；Carlsen等人, 2002, *Gut* 51(3):364-371；Flynn等人, 2003, *J. Neuroimmunol.* 136(1-2):84-93；Schaerli等人, 2000, *J. Exp. Med.* 192(11):1553-1562；

Schmutz等人, 2005, *Arthritis Res. Ther.* 7(2):R217-R229), 以及甲狀腺之膠體亦觀測到。對於其他猴或人類組織, 觀測到陽性岩藻糖基h11G2 XC154/XC155染色。對於人類組織, 觀測到視神經中之神經纖維及脊髓神經根中之神經元、前列腺之平滑肌細胞、睪丸中之間質細胞及眼睛中之晶狀纖維出現染色。

【0487】 僅在食蟹獼猴中染色之組織係骨髓中之造血前驅細胞、皮膚及子宮頸之肥大細胞、大腦及脊髓中之神經纖維網、心肌細胞及胎盤及視神經鞘中之梭狀細胞。儘管此可表示出乎意料的測試物品之交叉反應, 但染色本質上發生在細胞質, 不具有顯微解剖特異性, 且缺乏清楚的質膜染色。此類細胞質染色對CXCR5表現細胞及組織與不表現CXCR5之細胞及組織的區分不佳。預期細胞質染色活體內不可進入測試物品, 且一般認為具有極少或不具有毒理學意義(Hall等人, 2008, *Preclinical Safety Evaluation of Biopharmaceuticals: A Science-Based Approach to Facilitating Clinical Trials*, 第 208-240頁, Cavagnaro, J.A.編, Wiley-Interscience; Leach等人, 2010, *Toxicol. Pathol.* 38(7):1138-1166)。缺乏清楚的膜染色表明無法獲得可靠的方法進行完整評估。在2個月重複劑量毒性研究中沒有不良發現表明在活體外組織交叉反應研究中觀測到之染色未轉變成活體內影響。儘管多次嘗試獲得可靠的TCR方法, 但所觀測到之結合未獲得超出基於所需藥理學的預期之安全性考量。

發現與藥物動力學之關係

【0488】 在每2週以5 (IV)、20 (SC)或200 (IV)毫克/公斤/劑向雄性及雌性猴子SC或IV投與2個月(總計5次給藥)之後, 測定岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之血清濃度。在所有劑量組中, 全身性暴露量不存在明顯

的性別相關差異；因此使用雄性及雌性食蟹獼猴之結合資料呈現組平均TK參數。在重複給藥之後全身性暴露量較高，其中累計比值(第43研究天/第1研究天)在大約1.4至1.7範圍內。另外，全身性暴露量在IV給藥之後以劑量成比例方式提高。在SC給藥之後，岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之生物可用性經估計為>50%。

【0489】針對此等關鍵反應所計算之與關鍵反應及暴露極限相關之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155的臨限值血清濃度提供於表15中。

表15

關鍵反應	劑量(毫克/公斤/劑)	C _{av} (µg/mL)	C _{max} (µg·h/mL)	暴露極限
重複劑量毒性研究				
猴子(1-2隻/性別/劑)中之17天毒性研究-每週一次給藥(所有發現均無害)				
外周血液：↓總B細胞，↓CXCR5+ B細胞，↓Tfh樣細胞，↓NK細胞；脾：↓總B細胞，↓CXCR5+ 總B細胞，↓真正(bona fide) Tfh細胞；↓淋巴球；↑IgG；脾：↓細胞含量(濾泡性CD20-陽性細胞及CXCR5陽性細胞)；淋巴結及扁桃體：↓細胞含量(淋巴結中：濾泡性CD20陽性細胞)	40 (IV)	844	1020	208
與上文相同，外加注射部位：血管周白血球細胞浸潤	260 (SC)	2810	3340	692
與40毫克/公斤/劑量相同	400 (IV)	7500	9610	1850
猴子(3-8隻/性別/劑)中之2個月毒性研究-每2週給藥(所有發現均無害)				
外周血液：↓總B細胞，↓CXCR5+ B細胞，↓Tfh樣細胞，↓NK細胞，↓T細胞，↓T輔助細胞，↓T細胞毒性細胞，↓WBC，↓淋巴球，↓嗜鹼性球，脾：↓B細胞，↓CXCR5+總B細胞，↓真正(bona fide) Tfh細胞，↓NK細胞；脾：↓細胞含量(濾泡性CD20+細胞及CXCR5+細胞)；淋巴結及GALT：↓淋巴細胞含量；TDAR：二次(記憶)抗TT IgG反應	5 (IV)	67.3	142	17
與上文相同	20 (SC)	188	219	46
與上文相同，外加↓紅血球質量	200 (IV) NOAEL	2610	5220	643

【0490】 表15中所使用之縮寫如下：AUC=濃度-時間曲線下面積； C_{av} =平均濃度； C_{max} =最大(平均)血漿濃度；Tfh樣細胞(可替代地為cTfh)；CXCR5 =趨化介素受體5型；GALT=腸相關淋巴組織；IgG=免疫球蛋白G；IV=靜脈內；NK=自然殺手；NOAEL=無可見有害作用水準；SC=皮下；TDAR=T細胞依賴性抗體反應；Tfh=濾泡性T輔助細胞；TT=破傷風類毒素；WBC=白血球。

【0491】 在重複劑量研究中， C_{max} 值指示平均血漿濃度。 C_{av} 值係藉由AUC除以取樣時間間隔(48或168小時)計算。在給藥階段接近結束時獲得報導值。

【0492】 暴露極限係藉由動物毒性研究中之 C_{av} 值除以在所預測之30 mg，IV人類有效劑量下預測的4.06 mg/mL人類 C_{av} 。

靶器官毒性

【0493】 基於所進行之非臨床研究，血液淋巴細胞生成系統(脾、淋巴結、GALT、扁桃體、循環淋巴球、白血球、紅血球參數、活體外細胞介素釋放)經鑑別為潛在靶器官/組織。在用岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之非關鍵17天猴研究中，此等組織中與測試物品相關之變化與在關鍵2月毒性研究中所觀測到的一致。在非關鍵及關鍵毒性研究中，在恢復階段期間所有岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之發現完全或部分返回至基線或媒劑對照組值。測試物品相關之影響中無一者視為有害，此歸因於缺少任何臨床發現或機會性感染，且歸因於對藉由TDAR分析量測之免疫功能產生極少影響。因此，針對岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之影響建立猴子中之200毫克/公斤/劑IV的NOAEL。

血管淋巴細胞生成系統

【0494】 在食蟹獼猴中之重複劑量毒性研究中，在第2研究天開始，在劑量 ≥ 5 毫克/公斤/劑(IV)及20毫克/公斤/劑(SC)下觀測到外周血液淋巴球之與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之減少。此等減少與觀測到之總B細胞、CXCR5+ B細胞及Tfh樣細胞之減少相關，該等減少保持至第57天。此等淋巴球亞群之減少到探索性毒性研究中之恢復階段結束展現完全或部分恢復至基線值。在第2天開始，在 ≥ 5 毫克/公斤/劑下亦存在NK細胞、總T細胞、T輔助細胞及T細胞毒性細胞之與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之減少，但到給藥階段結束實現部分至完全恢復至基線值。除了外周血液中之淋巴球群體之減少之外，在第6天對於投與200毫克/公斤/劑之雌性猴子觀測到RBC質量之短暫極少降低。

【0495】 外周血液中之淋巴球群體減少與 ≥ 5 毫克/公斤/劑下脾及淋巴結中之與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關的較低淋巴性細胞含量相關。脾中較低數目之總B細胞、CXCR5+ B細胞、真正(bona fide) Tfh細胞及NK細胞，以及較低濾泡性CD20+及CXCR5+細胞反應較低淋巴性細胞含量。在 ≥ 5 毫克/公斤/劑下之淋巴結及GALT以及在 ≥ 40 毫克/公斤/劑下之扁桃體中觀測到較低濾泡性淋巴細胞含量。

【0496】 在探索性及關鍵毒性研究中之恢復階段之後，脾及淋巴結中之淋巴球參數與媒劑對照物相當。

【0497】 總B細胞、CXCR5+ B細胞及Tfh/Tfh樣細胞之減少與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之預期作用機制一致，該作用機制預期耗竭CXCR5表現細胞。外周血液及脾中的較低NK細胞數目可能歸因於已知遵循ADCC在NK細胞中發生之效應細胞死亡。

【0498】 儘管在投與岩藻糖基h11G2 XC154/XC155之猴子之外周

血液及脾中觀測到淋巴球參數降低，但不存在對KLH之初始TDAR之岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關影響。所有動物均產生對TT之二次TDAR，但在 ≥ 5 毫克/公斤/劑之劑量下觀測到統計顯著降低。

【0499】認為所有岩藻糖基h11G2 XC154/XC155相關之發現無害，此歸因於缺乏相關臨床徵象或機會性感染。可在診所中在人體內監測岩藻糖基h11G2 XC154/XC155對外周血液淋巴球、總B細胞、CXCR5+B細胞、Tfh樣細胞及NK細胞之影響，以及初始及二次TDAR反應。

【0500】在可溶性及固體活體外細胞介素釋放分析型式中，觀測到岩藻糖基h11G2 XC154/XC155誘導之細胞介素釋放(TNF- α 、IL-6及IFN- γ)。由於此分子之預期藥理學預期活體外岩藻糖基h11G2 XC154/XC155誘導之細胞介素釋放。在探索性或關鍵活體內猴研究中，岩藻糖基h11G2 XC154/XC155未誘導細胞介素釋放。容易在診所中監測全身性細胞介素釋放之血清細胞介素及臨床指標。

表16

(序列)

(CDR胺基酸殘基帶下劃線)

名稱	序列識別符 編號	序列
人類化(h) 11G2 VL (XC154)	SEQ ID NO:1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVEYHGTSLMHW YQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQSRKVPWTFGQGTKVEIK
h11G2 VL (XC154) CDR- L1	SEQ ID NO:2	<u>ESVEYHGTS</u>
h11G2 VL (XC154) CDR- L2	SEQ ID NO:3	<u>AASNVESG</u>
h11G2 VL (XC154) CDR- L3	SEQ ID NO:4	<u>QQSRKVPWT</u>
h11G2 VL (XC153)	SEQ ID NO:5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVEYHGTSLMHW YQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI

名稱	序列識別符 編號	序列
		SSLQPEDFATYFCQQSRKVPWTFGQGTKVEIK
h11G2 VH (XC155)	SEQ ID NO:6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFYMSWVR QAPGKGLEWVGFIRNKANGYTTEYSASVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC <u>ARVYGSTLHY</u> WGQGT LTVSS
h11G2 VH (XC155) CDR- H1 (亦稱為 XC156)	SEQ ID NO:7	<u>GFTFTDFY</u>
h11G2 VH (XC155) CDR- H2 (亦稱為 XC156)	SEQ ID NO:8	<u>IRNKANGYT</u>
h11G2 VH (XC155) CDR- H3	SEQ ID NO:9	<u>ARVYGSTLHY</u>
h11G2 VH (XC156)	SEQ ID NO:10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFTDFYMSWVR QAPGKGLEWVGFIRNKANGYTTEYSASVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC <u>VRVYGSTLHY</u> WGQGT LTVSS
h11G2 VH (XC156) CDR-H3	SEQ ID NO:11	<u>VRVYGSTLHY</u>
h11G2 VH (XC157)	SEQ ID NO:12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFTDFYMSWVR QAPGKGLEWVGFIRNKANGYTTEYSASVKGRFTISRDN AKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYC <u>VRVYGSTLHY</u> WGQGT LTVSS
h41A10 VL (XC142)	SEQ ID NO:13	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCSASSSVNYIHWYQQKP GKAPKRLIYETSRLASGVPSRFRSGSGTDYTLTISLQPE DFATYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK
h41A10 VL (XC142) CDR- L1	SEQ ID NO:14	<u>SSVNY</u>
h41A10 VL (XC142) CDR- L2	SEQ ID NO:15	<u>ETSRLASG</u>
h41A10 VL (XC142) CDR- L3	SEQ ID NO:16	<u>QQWSSNPLT</u>
h41A10 VH (XC148)	SEQ ID NO:17	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVR QAPGKGLEWVATISSGGTYTFYPDILKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC <u>ARRGEDYRG</u> ALEHWGQGT LTVSSA
h41A10 VH (XC147)	SEQ ID NO:18	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVR QAPGKGLEWVATISSGGTYTFYPDILKGRITISRDN AKNS

名稱	序列識別符 編號	序列
		LYLQMNSLRAEDTAVYYC <u>ARRGEDYRGALEHWGQGT</u> VTVSSA
h41A10 VH (XC147) CDR- H1 (與XC148相 同)	SEQ ID NO:19	<u>GFTFRSYG</u>
h41A10 (XC147) CDR- H2 (與XC148相 同)	SEQ ID NO:20	<u>ISSGGTY</u>
h41A10 (XC147 CDR- H3 (與XC148相 同)	SEQ ID NO:21	<u>ARRGEDYRGALEH</u>
c11G2嵌合全 長輕鏈(cLC) (呈大寫字母 之小鼠VL及 呈小寫字母之 人類κ恆定區) *指示終止密 碼子	SEQ ID NO:22	DVVVTQSPDSLAVSLGQRATISCRASESVEYHGTSLMHW YQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPARFSGSGSGTDFSLNI HPVEEGDIAMYFC <u>QQSRKVPWTFGGG</u> TKLEIKrtvaapsvfif ppsdeqlksgtasvcllnfybreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqskdstysl sstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec*
c11G2嵌合全 長重鏈(cHC) (呈大寫字母 之小鼠VH及 呈小寫字母之 人類IgG1恆定 區) *指示終止密 碼子	SEQ ID NO:23	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFTDFYMSWVR QPPGRALEWLG <u>FIRNKANGYTTEYSASVKGRFTISR</u> DNS QSILYLQMNTLRAGDSATYYC <u>VRVYGSTLHYWGQGT</u> IL TVSSastkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtf pavlqssglyslsvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtccp cpapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvev hnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakg qprepvytlppsreemtknqvsltclvkgyfypsdiavewesngqpennykttppvl dsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealthhnytqkslslspg*
c41A10嵌合 輕鏈 *指示終止密 碼子	SEQ ID NO:24	QIVLTQSPAVMSASPGEKVTMTCSASSSVNYIHWYQQKS GTSPKRWIYET <u>SRLASGVPVRFSGSGSGTSYSLT</u> ISTMEA EDAATYYC <u>QQWSSNPLTFGAGTKLEL</u> Krtvaapsvfifppsdeql ksgtasvcllnfybreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqskdstyslssltlska dyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec*
c41A10嵌合 重鏈 (呈大寫字母 之小鼠VH及 呈小寫字母之	SEQ ID NO:25	EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFRSYGMSWVR QTPDKRLEWVAT <u>ISSGGTYTFYPDILKGRITISR</u> DNAKNT LYLQMSNLKSEDTAMYYC <u>ARRGEDYRGALEHWGQGT</u> S VTVSSastkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvht fpavlqssglyslsvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtccp cpapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvev

名稱	序列識別符 編號	序列
人類IgG1恆定區) *指示終止密碼子		hnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakg qprepqvylpppreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvl dsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspg*
c5H7嵌合全長輕鏈(cLC) *指示終止密碼子	SEQ ID NO:26	DVVVTQSPDSLAVSLGQRATISCRASESVEYHGTSLMHW YQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPARFSGSGSGTDFSLNI HPVEEGDVSMFFCQOSRKVPWTFGGGTKLEIKrtvaapsvfif ppsdeqlksgtasvvcllnnfyreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqskdstysl sstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec*
c5H7嵌合全長重鏈(cHC) (呈大寫字母之小鼠VH及呈小寫字母之人類IgG1恆定區) *指示終止密碼子	SEQ ID NO:27	EVKLVESGGGLVQPGDSLRLSCATSGFTFTDFYMSWVR QPPGRALEWLGFI RNKANGYTTEYSASVKGRFTISRDN QSILYLQMNTLRAGDSATYYCVRVYGSTLHYWGQGTIL TVSSastkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtf pavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtccp cpapellggpsvflfppkpkdtlmi srtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvev hnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakg qprepqvylpppreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvl dsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspg*
h11G2 (XC154)完整輕鏈 (VL由全部大寫字母指示且Cκ由小寫字母指示)	SEQ ID NO:28	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVEYHGTSLMHW YQKPGKAPKLLIYAASNVESGVP SRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQOSRKVPWTFGGGTKVEIKrtvaapsvfif ppsdeqlksgtasvvcllnnfyreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqskdstysl sstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec
h11G2 (XC155)全長重鏈 (VL由全部大寫字母指示且IgG1 Fc由小寫字母指示)	SEQ ID NO:29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFYMSWVR QAPGKGLEWVGFIRNKANGYTTEYSASVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYGSTLHYWGQGT LVTVSSastkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgv htfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtc ppcpapellggpsvflfppkpkdtlmi srtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvev evhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiska kgqprepqvylpppreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvl dsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspg
人類κ恆定輕鏈域(Cκ)	SEQ ID NO:30	rtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfyreakvqwkvdnalqsgnsqesvte qskdstyslssltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec
人類野生型IgG1 Fc (包括C _H 1及鉸鏈、C _H 2及C _H 3之部分) 野生型LLGG效應功能序列由斜體字指示 NST Asn297N	SEQ ID NO:31	astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqs sglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtccpape// ggpsvflfppkpkdtlmi srtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktk preeqyNSTyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqpre pqvylpppreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvl dsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspg

名稱	序列識別符 編號	序列
連接糖基化位 點		
人類CXCR5 (h11G2關鍵抗 原決定基結合 胺基酸殘基 L11及D22以粗 體 <i>斜體字</i> 指 示)	SEQ ID NO:32	MNYPLTLEMDLENLEDLFWELDRLDNYNDTSLVENHLC PATEGPLMASFKAVFVPVAYSLIFLLGVIGNVLVLVILERH RQTRSSTETFLFHLAVADLLL VFILPFAVAEGSVGWVLGT FLCKTVIALHKVNFYCSSLLLACIAVDRYLAIVHAVHAY RHRRLLSIHITCGTIWLVGFLLALPEILFAKVSQGHNNNS LPRCTFSQENQAETHAWFTSRFLYHVAGFLLPMLVMGW CYVGVVHRLRQAQRRPQRQKAVRVAILVTSIFFLCWSPY HIVIFLDTLARLKAVDNTCKLNGSLPVAITMCEFLGLAHC CLNPMLYTFAGVKFRSDLSRLLTKLGCTGPASLCQLFPS WRRSSLSESENATSLTTF
獼猴CXCR5	SEQ ID NO:33	MNYPLMLEMDLENLEDLFEFDKFDNYNDTSLVENHLC PATEGPLMASFKAVFVPVAYSLIFLLGVIGNVLVLVILERH RQTRSSTETFLFHLAVADLLL VFILPFAVAEGSVGWVLGT FLCKTVIALHKVNFYCSSLLLACIAVDRYLAIVHAVHAY RHRRLLSIHITCGTIWLVGFALPEILFAKVSQAHPNNSL PRCTFSQENQAETHAWFTSRFLYHVAGFLLPMLVMGWC YVGVVHRLRQAQRRPQRQKAVRVAILVTSIFFLCWSPYH IVIFLDTLVRLKAVDNTCELNGSLPVAITMCEFLGLAHCC LNPMLYTFAGVKFRSDLSRLLTKLGCTGPASLCQLFPSW RKSSLSESENATSLTTF
小鼠CXCR5	SEQ ID NO:34	MNYPLTLDMGSIYNMDDLYKELAFYSNSTEIPLQDSNF CSTVEGPLLTSFKAVFMPVAYSLIFLLGMMGNILVLVILER HRHTRSSTETFLFHLAVADLLL VFILPFAVAEGSVGWVLG TFLCKTVIALHKINFYCSSLLLACIAVDRYLAIVHAVHAY RRRRLLSIHITCTAIWLAGFLFALPELLFAKVGQPHNNDS LPQCTFSQENEAETRAWFTSRFLYHIGGFLLPMLVMGWC YVGVVHRLRQAQRRPQRQKAVRVAILVTSIFFLCWSPYH IVIFLDTLERLKAVNSSCELSGYLSVAITLCEFLGLAHCC NPMLYTFAGVKFRSDLSRLLTKLGCAGPASLCQLFPNWR KSSLSESENATSLTTF
小鼠11G2 VL	SEQ ID NO:35	DVVVTQSPDSLAVSLGQRATISCRASESVEYHGTSMLMHW YQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPARFSGSGSGTDFSLNI HPVEEGDIAMYFCQQSRKVPWTFGGGTKLEIK
小鼠11G2 VH	SEQ ID NO:36	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFTDFYMSWVR QPPGRALEWLG FIRNKANGYTTEYSASVKGRFTISRDN QSILYLQMNTLRAGDSATYYCVRVYGSTLHYWGQGTIL TVSSA
小鼠41A10 VL	SEQ ID NO:37	QIVLTQSPAVMSASPGEKVTMTCSASSSVNYIHWYQQKS GTSPKRWIYETSRLASGVPVRFSGSGSGTYSILTISTMEA EDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELK
小鼠41A10 VH	SEQ ID NO:38	EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSAASGFTFRSYGMSWVR QTPDKRLEWVATISSGGTYTFYPDILKGRITISRDNKNT LYLQMSNLKSEDTAMYYCARRGEDYRGALEHWGQGT VTVSSA
小鼠5H7 VL	SEQ ID NO:39	DVVVTQSPDSLAVSLGQRATISCRASESVEYHGTSMLMHW YQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPARFSGSGSGTDFSLNI

名稱	序列識別符 編號	序列
		HPVEEGDVSMFFCQQSRKVPWTFGGGTKLEIK
小鼠5H7 VH	SEQ NO:40	ID EVKLVESGGGLVQPGDSLRLSCATSGFTFTDFYMSWVR QPPGRALEWLG <u>FIRNK</u> ANGYTTEYSASVKGRFTISRDN QSILYLQMNTLRAGDSATYYC <u>VRVY</u> GSTLHYWGQGTIL TVSSA
2C9 輕鍵 (VL由全部大 寫字母指示且 Cκ結構域由小 寫字母指示)	SEQ NO:41	ID DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWASTRDSGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYC <u>HQYL</u> SSYTFGGGTKVEIKrtvaapsvlf ppsdeqlksgtasvvcllnnfyreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqskdstysl sstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec*
2C9重鍵 (VH由全部大 寫字母指示且 恆定區由小寫 字母指示)	SEQ NO:42	ID EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTNAMNWVR QAPGKGLERVARIRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTLYLQMNSLKTEDTAVYYC <u>VTMIP</u> FAYWGQGLTVTV SSastkgpsvflplapsskstsggtaalgclvkdypfpvsvswngalstgvtfpavl qssglyslssvvtvpssslgtqtyicvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtppcpap ellggpsvflfpkpkdtlmsirtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnak tkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqpre pqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennyktpvldsdg sfflyskltvdkrsrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspg*
16D7輕鍵	SEQ NO:43	ID DIVMTQAAPSVAVTPGASVSISCRSSKSLHSSGKTYLYW FLQRPQSPQLLIYRLSSLASGVPDRFSGSGSGTAFTLRIS RVEAEDVGVYYC <u>MQHLE</u> YPYTFGGGTKLEIKrtvaapsvlf ppsdeqlksgtasvvcllnnfyreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqskdstysl sstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec*
16D7重鍵 (VH由全部大 寫字母指示且 恆定區由小寫 字母指示)	SEQ NO:44	ID QVQLKESGPGLVAPSELSITCTVSGFSLIDYGVNWIRQP PGKGLEWLGVIWGDGTTYYNPSLKSRLSISKDNSKQVFL LKVTSLTDDTAMYYC <u>ARIVY</u> WGQGLTVTVSAastkgpsvfl plapsskstsggtaalgclvkdypfpvsvswngalstgvtfpavlqssglyslssv tvpsssslgtqtyicvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtppcpapellggpsvflfp pkpkdtlmsirtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynst yrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsre emtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennyktpvldsdgsfflyskltvdk srwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspg*
11A7輕鍵	SEQ NO:45	ID QPVLTPPPSVSKDLRQTATLTCTGNSNNVGNQGATWLQ QHGHPPKLLSYKNNNRPSGISERFSASRSGNTASLTITG LQPEDEADYYCSAWDSSLSAWVFGGGTQLTVLGQPKaap svtlfppsseelqankatlvcisdfypgavtvawkadsspvkagvettpskqsnky aassylsltpeqwkshrsycqvthegstvektvaptecs*
11A7重鍵	SEQ NO:46	ID EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVR QAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRHNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYC <u>ARGYV</u> VWGQGLTVTVSSastk gpsvflplapsskstsggtaalgclvkdypfpvsvswngalstgvtfpavlqssgly slssvvtvpssslgtqtyicvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtppcpapellgg psvflfpkpkdtlmsirtpevtcvvvdvshedpEvkfnwyvdgvevhnaktkpr eeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvy tlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennyktpvldsdgsffly skltvdkrsrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspg

名稱		序列識別符 編號	序列	序列
h11G2 (XC151)	VL	SEQ NO:47	ID	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVEYHGTSMLHW YQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQSRKVPWTFGQGTKVEIK
h11G2 (XC346)	VL	SEQ NO:48	ID	DVQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVEYHGTSMLH WYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSRKVPWTFGQGTKVEIK
h11G2 (XC347)	VL	SEQ NO:49	ID	DVQVTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVEYHGTSMLHW YQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQSRKVPWTFGQGTKVEIK
h11G2 (XC348)	VL	SEQ NO:50	ID	DVQVTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVEYHGTSMLHW YQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYFCQQSRKVPWTFGQGTKVEIK
h11G2 (XC349)	VL	SEQ NO:51	ID	DIQVTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVEYHGTSMLHW YQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQSRKVPWTFGQGTKVEIK
h11G2 (XC152)	VH	SEQ NO:52	ID	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFTDFYMSWVR QAPGKGLEWLGFI RNKANGYTTEYSAPVKGRFTISRDDS KNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRVYGSTLHYWGQGT LTVSSAS
h11G2 (XC350)	VH	SEQ NO:53	ID	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFYMSWVR QAPGKGLEWVAFIRNKANGYTTEYSASVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYGSTLHYWGQGT LTVSS
11G2 (XC351)	VH	SEQ NO:54	ID	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFTDFYMSWVR QAPGKGLEWLGFI RNKANGYTTEYSASVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRVYGSTLHYWGQGT LTVSS
11G2 (XC352)	VH	SEQ NO:55	ID	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFTDFYMSWVR QAPGKGLEWVAFIRNKANGYTTEYSASVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYGSTLHYWGQGT LTVSS
h11G2 (XC353)	VH	SEQ NO:56	ID	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFYMSWVR QAPGKGLEWVAFIRNKANGYTTEYSASVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRVYGSTLHYWGQGT LTVSS
h11G2 (XC354)	VH	SEQ NO:57	ID	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFYMSWVR QAPGKGLEWLGFI RNKANGYTTEYSASVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYGSTLHYWGQGT LTVSS
h41A10 (XC143)	VL	SEQ NO:58	ID	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSVNYIHWYQQKP GKAPKRWIYETSRLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK
h41A10 (XC144)	VL	SEQ NO:59	ID	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSVNYIHWYQQKPG KAPKRLIYETSRLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPED FATYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK
h41A10	VL	SEQ	ID	diqltqspsslsasvgdrvititcsasssvnyihwyqqkpgkpk rwiyetsrlasgvps

名稱	序列識別符 編號	序列
(XC145)	NO:60	rfsgsgsgTdytltisslqpedfatyycqqwssnpltfgggtkveik
h41A10 VL (XC146)	SEQ ID NO:61	diqmtqspsslsasvgrvtitcsasssvnyihwyqqkpgkapkrliyetsrlasgvps rfsgsgsgtdftltisslqpedfatyycqqwssnpltfgggtkveik
h41A10 VL (XC149)	SEQ ID NO:62	diqmtqspsslsasvgrvtitcsasssvnyihwyqqkpgkapklliyetsrlasgvps rfsgsgsgtdftltisslqpedfatyycqqwssnpltfgggtkveik
h41A10 VH (XC150)	SEQ ID NO:63	evqlvesggglvqpggsrlscaasgftfrsygmswvrqapgkglewvatissggyt fypdsvkgrftisrdnaknsllylqmslraedtavyycarrgedyrgalehwgqgtlvt vssas
引子5' VL1	SEQ ID NO:64	ATCACGCGGCCGCCTCACCATGAAGTTGCCTGTTAGGC TGTTGGTGCTG
引子5' VL2	SEQ ID NO:65	ATCACGCGGCCGCCTCACCATGGAG(A/T)CAGACACAC TCCTG(C/T)TATGGGT
引子5' VL3	SEQ ID NO:66	ATCACGCGGCCGCCTCACCATGAGTGTGCTCACTCAG GTCCTGG(C/G)GTTG
引子5' VL4	SEQ ID NO:67	ATCACGCGGCCGCCTCACCATGAGG(A/G)CCCCTGCTC AG(A/T)TT(C/T)TTGG(A/C)(A/T)TCTTG
引子5' VL5	SEQ ID NO:68	ATCACGCGGCCGCCTCACCATGGATTT(A/T)CAGGTGC AGATT(A/T)TCAGCTTC
引子5' VL6	SEQ ID NO:69	ATCACGCGGCCGCCTCACCATGAGGT(G/T)C(C/T)(C/T) TG(C/T)T(G/C)AG(C/T)T(C/T)CTG(G/A)GG
引子5' VL7	SEQ ID NO:70	ATCACGCGGCCGCCTCACCATGGGC(A/T)TCAAGATGG AGTCACA(G/T)(A/T)(C/T)(C/T)C(A/T)GG
引子5' VL8	SEQ ID NO:71	ATCACGCGGCCGCCTCACCATGTGGGGA(C/T)CT(G/T)T TT(C/T)C(A/C)(A/C)TTTTTCAATTG
引子5' VL9	SEQ ID NO:72	ATCACGCGGCCGCCTCACCATGGT(A/G)TCC(A/T)CA(C/ G)CTCAGTTCCTTG
引子5' VL10	SEQ ID NO:73	ATCCACGCGGCCGCCTCACCATGTATATATGTTTGTGTTGT CTATTTCT
引子5' VL11	SEQ ID NO:74	ATCACGCGGCCGCCTCACCATGGAAGCCCCAGCTCAG CTTCTCTTCC
引子3' VL	SEQ ID NO:75	CAGTTGGTGCAGCATCCGTACGTTTGATTTCAG
引子5' VH1	SEQ ID NO:76	ACTAGCGGCCGCATGAAATGCAGCTGGGTCAT(C/G)TT CTTC
引子5' VH2	SEQ ID NO:77	ACTAGCGGCCGCATGGGATGGAGCT(A/G)TATCAT(C/G) (C/T)TCT
引子5' VH3	SEQ ID NO:78	ACTAGCGGCCGCATGAAG(A/T)TGTGGTTAAACTGGGT TTTTT
引子5' VH4	SEQ ID NO:79	ACTAGCGGCCGCATG(A/G)ACTTTGGG(C/T)TCAGCTTG (A/G)TTT
引子5' VH5	SEQ ID NO:80	ACTAGCGGCCGCATGGACTCCAGGCTCAATTTAGTTTT CCTT
引子5' VH6	SEQ ID NO:81	ACTAGCGGCCGCATGGCTGTC(C/T)T(G/A)G(C/G)GCT(G /A)CTCTTCTGC
引子5' VH7	SEQ ID NO:82	ACTAGCGGCCGCATGG(A/G)ATGGAGC(G/T)GG(A/G)TC TTT(C/A)TCTT
引子5' VH8	SEQ ID NO:83	ACTAGCGGCCGCATGAGAGTGCTGATTCTTTTGTG

名稱	序列識別符 編號	序列
引子5' VH9	SEQ NO:84	ID ACTAGCGGCCGCATGG(A/C)TTGGGTGTGGA(A/C)CTT GCTATTCCTG
引子5' VH10	SEQ NO:85	ID ACTAGCGGCCGCATGGATTTTGGGCTGATTTTTTTTATTG
引子5' VH11	SEQ NO:86	ID ACTAGCGGCCGCATGGGCAGACTTACATTCTCATTCTCT G
引子5' VH12	SEQ NO:87	ID ACTAGCGGCCGCATGATGGTGTAAAGTCTTCTGTACCT G
引子3' VH	SEQ NO:88	ID GGGGGTGTCTGTCGACGCTG(A/C)(G/A)GAGAC(G/A)GT GA
人類IgG1恆定 區	SEQ NO:89	ID ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
人類κ輕鏈恆 定區(Cκ)	SEQ NO:90	ID RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
展示具有JH4 片段之構架區 (VH3亞基)之 人類DP-54 VH生殖系	SEQ NO:91	ID EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVR QAPGKGLEWVANIKQDGESEKYYVDSVKGRFTISRDNAL NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYFDYWGQGLTVTVSS
JH4	SEQ NO:92	ID WGQGLTVTVSS
具有JK4片段 之人類VL生 殖系DPK9構 架(VKI亞基)	SEQ NO:93	ID DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQK PKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK
JK4	SEQ NO:94	ID FGGGTKVEIK
編碼h11G2 VL 之核酸序列 (XC154)	SEQ NO:95	ID ACATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCCAGCCTGAGCGC TTCCGTGGGAGATAGGGTGACCATCACCTGCAGGGCC AGCGAGTCCGTGGAGTACCACGGCACCAGCCTGATGC ACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCT GCTGATCTACGCCGCCAGCAACGTGGAGAGCGGCCGTG CCTAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCGGCACCGACT TCACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTT CGCCACCTACTACTGTCAGCAGAGCAGGAAGGTGCC TGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTCGAGATCAAG
編碼h11G2 VH之核酸序	SEQ NO:96	ID GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTG CAGCCTGGCGGAAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCC

名稱	序列識別符 編號	序列
列(XC155)		AGCGGCTTCACCTTTACCGACTTCTACATGAGCTGGGT GAGGCAGGCTCCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGGG TTTCATCAGGAACAAGGCCAACGGCTACACCACCGAG TATAGCGCCTCCGTGAAGGGCAGGTTACCATCAGCA GGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAA CAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGC GCCAGAGTGTACGGCAGCACACTGCACTACTGGGGCC AGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCG
編碼h11G2 (XC154)全長 輕鏈(LC)之核 酸序列 恆定域由小寫 字母指示	SEQ ID NO:97	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCCAGCCTGAGCG CTTCCTGGGAGATAGGGTGACCATCACCTGCAGGGC CAGCGAGTCCGTGGAGTACCACGGCACCAGCCTGATG CACTGGTACCAGCAGAAGCCC GGCAAGCCCCCAAG CTGCTGATCTACGCCGCCAGCAACGTGGAGAGCGGCG TGCCTAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCGGCACCGA CTTACCCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCCGAGGAC TTCGCCACCTACTACTGTCAGCAGAGCAGGAAGGTGC CCTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTTCGAGATCAA Gcgtacggtggctgaccatctgttctccttcccgcctctgatgagcagttgaaatct ggaactgcctctgtgtgtgcctgtgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagt ggaaggtggataacgccctcaatcgggtaactcccaggagagtgacacagagcagga cagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaagcagacta cgagaacacaaagtctacgctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcctcgc acaaagagctcaacaggggagagtgtag
編碼h11G2 (XC155)全長 重鏈(HC)之核 酸序列 恆定域由小寫 字母指示	SEQ ID NO:98	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTG CAGCCTGGCGGAAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCC AGCGGCTTCACCTTTACCGACTTCTACATGAGCTGGGT GAGGCAGGCTCCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGGG TTTCATCAGGAACAAGGCCAACGGCTACACCACCGAG TATAGCGCCTCCGTGAAGGGCAGGTTACCATCAGCA GGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAA CAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGC GCCAGAGTGTACGGCAGCACACTGCACTACTGGGGCC AGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCAGCgcgtcgaccaagggcc catcggcttccccctggcaccctcctccaagacacctctgggggcacagcggcctg ggctgcctggtcaaggactactccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgc cctgaccagcggcgtgcacacctcccggctgtcctacagtcctcaggactctactcct cagcagcgtggtgacctgccctccagcagcttgggcaccagacctacatctgcaac gtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagccaaatctgtga caaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctggggggaccgtcagtct tccttcccccaaaaaccaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacat gcgtggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtgga cggcgtggaggtgcataatccaagacaaagccgcgaggagagcagtagacaacagca cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggag tacaagtcaaggttccaacaaagcctcccagccccatcgagaaaaccatctcaa agccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggagga gatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgcaaggttctatcccagcgaca tcgccgtggagtgaggagcaatgggcagcgggagaacaactacaagaccacgcctc ccgtgctggactccgacggctccttctctctatagcaagtcaccgtggacaagagca ggtggcagcaggggaacgtcttctatgctcctgatgcatgaggctctgcacaaccact

名稱	序列識別符 編號	序列
		acacgcagaagagcctctccctgtccccgggtga
編碼人類野生型IgG1 Fc之核酸序列	SEQ ID NO:99	gcgtcgaccaagggcccatcggcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctggggcacagcggccctgggtgcctggtaaggactactccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctccccggtgtcctacagtcctcaggactctacctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagctggggcaccagacctactctgcaacgtgaatcacaagccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctgggggaccgtcagcttctctcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatccaagacaaagccgcgggaggaagcagtagacaacagcagtagcctgtggtcagcgtctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctccagccccatcgagaaaaccatctcaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatccccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgacctggtcaaaggttctatccccagcgacatgccgtggagtgggagagcaatggcgaccggagagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttctctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgagctctgcacaaccactacgcagaagagcctctccctgtccccgggtga
編碼人類野生型κ恆定域(Cκ)之核酸序列	SEQ ID NO:100	cgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgcctctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgtgctgtgtaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtagcagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaagcagactacgagaaacaaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaagagcttcaacaggggagagtgtag

【0501】 雖然已參考不同申請案、方法、套組及組合物描述所揭示教示，但將瞭解在不背離本文中之教示及下文所主張之本發明情況下可進行不同變化及修改。提供前述實例以更好地說明所揭示之教示，且不意欲限制本文中呈現教示之範疇。儘管已在此等例示性實施例方面描述本發明教示內容，但熟練技術人員將容易理解在無不當實驗情況下此等例示性實施例之大量變化及修改為可能的。所有此類變化及修改在當前教示之範疇內。

【0502】 本文中所引用之全部參考文獻(包括專利、專利申請案、論文、課本及其類似者)及其中引用之參考文獻在其尚未引用之程度上，以全文引用之方式併入本文中，達成所有目的。在所併入文獻及類似材料中之一或多者(包括但不限於定義之術語、術語用法、所描述之技術或類似

者)與本申請案不同或抵觸的情況下，以本申請案為準。

【0503】 對熟習此項技術者將顯而易見，在不背離本發明之範疇或精神的情況下，可在本發明中進行各種修改及變化。考慮本文中所揭示之本發明之說明書及實踐，熟習此項技術者將清楚本發明之其他實施例。僅希望說明書及實例被視為例示性的，其中本發明之真正範疇及精神藉由以下申請專利範圍指示。

【序列表】

<110> 美商輝瑞大藥廠(PFIZER INC.)
美國加利福尼亞大學董事會(THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA)

<120> 抗CXCR5抗體及組合物及其用途

<130> W2023-706501

<140> TW 107142392

<141> 2018-11-28

<150> US 62/593,830

<151> 2017-12-01

<150> US 62/732,985

<151> 2018-09-18

<160> 100

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 1

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 Glu Ser Val Glu Tyr His
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

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

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

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

Lys Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 2
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 2

Glu Ser Val Glu Tyr His Gly Thr Ser
1 5

<210> 3
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 3

Ala Ala Ser Asn Val Glu Ser Gly
1 5

<210> 4
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 4

Gln Gln Ser Arg Lys Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 5
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 5

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 Glu Ser Val Glu Tyr His
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

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

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

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

Lys Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 6
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 6

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Ala Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 7
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 7

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe Tyr
1 5

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 8

Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 9

Ala Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr
1 5 10

<210> 10
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 10

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Val Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 11
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 11

Val Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr
 1 5 10

<210> 12
 <211> 119

<212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 12

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Val Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 13
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 13

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 14

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 14

Ser Ser Val Asn Tyr
1 5

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 15

Glu Thr Ser Arg Leu Ala Ser Gly
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 16

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr
1 5

<210> 17
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 17

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 115 120

<210> 18
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 18

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 19
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 19

Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Gly
1 5

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 20

Ile Ser Ser Gly Gly Thr Tyr
1 5

<210> 21
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 21

Ala Arg Arg Gly Glu Asp Tyr Arg Gly Ala Leu Glu His
 1 5 10

<210> 22

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 22

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

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

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

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

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

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

Lys Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 23
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 23

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

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

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Ala Leu Glu Trp Leu
 35 40 45

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

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Gly Asp Ser Ala Thr Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ile Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

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

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

<210> 24
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 24

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile
 20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Thr Met Glu Ala Glu
 65 70 75 80

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

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 25
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 25

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

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

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335

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

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly

<210> 26
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 26

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

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

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

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

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

Pro Val Glu Glu Gly Asp Val Ser Met Phe Phe Cys Gln Gln Ser Arg
 85 90 95

Lys Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 27
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 27

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

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

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Ala Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Gly Asp Ser Ala Thr Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ile Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

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

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

<210> 28

<211> 218

<212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 28

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

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

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45

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

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

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

Lys Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 29
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 29

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Ala Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

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

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

<210> 30
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 30

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

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

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 31

<211> 329

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 31

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

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

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 325

<210> 32
 <211> 372
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 32

Met Asn Tyr Pro Leu Thr Leu Glu Met Asp Leu Glu Asn Leu Glu Asp
 1 5 10 15

Leu Phe Trp Glu Leu Asp Arg Leu Asp Asn Tyr Asn Asp Thr Ser Leu
 20 25 30

Val Glu Asn His Leu Cys Pro Ala Thr Glu Gly Pro Leu Met Ala Ser
 35 40 45
 Phe Lys Ala Val Phe Val Pro Val Ala Tyr Ser Leu Ile Phe Leu Leu
 50 55 60
 Gly Val Ile Gly Asn Val Leu Val Leu Val Ile Leu Glu Arg His Arg
 65 70 75 80
 Gln Thr Arg Ser Ser Thr Glu Thr Phe Leu Phe His Leu Ala Val Ala
 85 90 95
 Asp Leu Leu Leu Val Phe Ile Leu Pro Phe Ala Val Ala Glu Gly Ser
 100 105 110
 Val Gly Trp Val Leu Gly Thr Phe Leu Cys Lys Thr Val Ile Ala Leu
 115 120 125
 His Lys Val Asn Phe Tyr Cys Ser Ser Leu Leu Leu Ala Cys Ile Ala
 130 135 140
 Val Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Ala Val His Ala Tyr Arg His
 145 150 155 160
 Arg Arg Leu Leu Ser Ile His Ile Thr Cys Gly Thr Ile Trp Leu Val
 165 170 175
 Gly Phe Leu Leu Ala Leu Pro Glu Ile Leu Phe Ala Lys Val Ser Gln
 180 185 190
 Gly His His Asn Asn Ser Leu Pro Arg Cys Thr Phe Ser Gln Glu Asn
 195 200 205
 Gln Ala Glu Thr His Ala Trp Phe Thr Ser Arg Phe Leu Tyr His Val
 210 215 220

Ala Gly Phe Leu Leu Pro Met Leu Val Met Gly Trp Cys Tyr Val Gly
 225 230 235 240

Val Val His Arg Leu Arg Gln Ala Gln Arg Arg Pro Gln Arg Gln Lys
 245 250 255

Ala Val Arg Val Ala Ile Leu Val Thr Ser Ile Phe Phe Leu Cys Trp
 260 265 270

Ser Pro Tyr His Ile Val Ile Phe Leu Asp Thr Leu Ala Arg Leu Lys
 275 280 285

Ala Val Asp Asn Thr Cys Lys Leu Asn Gly Ser Leu Pro Val Ala Ile
 290 295 300

Thr Met Cys Glu Phe Leu Gly Leu Ala His Cys Cys Leu Asn Pro Met
 305 310 315 320

Leu Tyr Thr Phe Ala Gly Val Lys Phe Arg Ser Asp Leu Ser Arg Leu
 325 330 335

Leu Thr Lys Leu Gly Cys Thr Gly Pro Ala Ser Leu Cys Gln Leu Phe
 340 345 350

Pro Ser Trp Arg Arg Ser Ser Leu Ser Glu Ser Glu Asn Ala Thr Ser
 355 360 365

Leu Thr Thr Phe
 370

<210> 33
 <211> 372
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 33

Met Asn Tyr Pro Leu Met Leu Glu Met Asp Leu Glu Asn Leu Glu Asp
 1 5 10 15

Leu Phe Leu Glu Phe Asp Lys Phe Asp Asn Tyr Asn Asp Thr Ser Leu
 20 25 30

Val Glu Asn His Leu Cys Pro Ala Thr Glu Gly Pro Leu Met Ala Ser
 35 40 45

Phe Lys Ala Val Phe Val Pro Val Ala Tyr Ser Leu Ile Phe Leu Leu
 50 55 60

Gly Val Ile Gly Asn Val Leu Val Leu Val Ile Leu Glu Arg His Arg
 65 70 75 80

Gln Thr Arg Ser Ser Thr Glu Thr Phe Leu Phe His Leu Ala Val Ala
 85 90 95

Asp Leu Leu Leu Val Phe Ile Leu Pro Phe Ala Val Ala Glu Gly Ser
 100 105 110

Val Gly Trp Val Leu Gly Thr Phe Leu Cys Lys Thr Val Ile Ala Leu
 115 120 125

His Lys Val Asn Phe Tyr Cys Ser Ser Leu Leu Leu Ala Cys Ile Ala
 130 135 140

Val Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Ala Val His Ala Tyr Arg His
 145 150 155 160

Arg Arg Leu Leu Ser Ile His Ile Thr Cys Gly Thr Ile Trp Leu Val
 165 170 175

Gly Phe Leu Phe Ala Leu Pro Glu Ile Leu Phe Ala Lys Val Ser Gln
 180 185 190

Ala His Pro Asn Asn Ser Leu Pro Arg Cys Thr Phe Ser Gln Glu Asn
 195 200 205

Gln Ala Glu Thr His Ala Trp Phe Thr Ser Arg Phe Leu Tyr His Val
 210 215 220

Ala Gly Phe Leu Leu Pro Met Leu Val Met Gly Trp Cys Tyr Val Gly
 225 230 235 240

Val Val His Arg Leu Arg Gln Ala Gln Arg Arg Pro Gln Arg Gln Lys
 245 250 255

Ala Val Arg Val Ala Ile Leu Val Thr Ser Ile Phe Phe Leu Cys Trp
 260 265 270

Ser Pro Tyr His Ile Val Ile Phe Leu Asp Thr Leu Val Arg Leu Lys
 275 280 285

Ala Val Asp Asn Thr Cys Glu Leu Asn Gly Ser Leu Pro Val Ala Ile
 290 295 300

Thr Met Cys Glu Phe Leu Gly Leu Ala His Cys Cys Leu Asn Pro Met
 305 310 315 320

Leu Tyr Thr Phe Ala Gly Val Lys Phe Arg Ser Asp Leu Ser Arg Leu
 325 330 335

Leu Thr Lys Leu Gly Cys Thr Gly Pro Ala Ser Leu Cys Gln Leu Phe
 340 345 350

Pro Ser Trp Arg Lys Ser Ser Leu Ser Glu Ser Glu Asn Ala Thr Ser
 355 360 365

Leu Thr Thr Phe
 370

<210> 34
 <211> 374
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 34

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

Asp Asp Leu Tyr Lys Glu Leu Ala Phe Tyr Ser Asn Ser Thr Glu Ile
 20 25 30

Pro Leu Gln Asp Ser Asn Phe Cys Ser Thr Val Glu Gly Pro Leu Leu
 35 40 45

Thr Ser Phe Lys Ala Val Phe Met Pro Val Ala Tyr Ser Leu Ile Phe
 50 55 60

Leu Leu Gly Met Met Gly Asn Ile Leu Val Leu Val Ile Leu Glu Arg
 65 70 75 80

His Arg His Thr Arg Ser Ser Thr Glu Thr Phe Leu Phe His Leu Ala
 85 90 95

Val Ala Asp Leu Leu Leu Val Phe Ile Leu Pro Phe Ala Val Ala Glu
 100 105 110

Gly Ser Val Gly Trp Val Leu Gly Thr Phe Leu Cys Lys Thr Val Ile
 115 120 125

Ala Leu His Lys Ile Asn Phe Tyr Cys Ser Ser Leu Leu Leu Ala Cys
 130 135 140

Ile Ala Val Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Ala Val His Ala Tyr
 145 150 155 160

Arg Arg Arg Arg Leu Leu Ser Ile His Ile Thr Cys Thr Ala Ile Trp
 165 170 175

Leu Ala Gly Phe Leu Phe Ala Leu Pro Glu Leu Leu Phe Ala Lys Val
 180 185 190

Gly Gln Pro His Asn Asn Asp Ser Leu Pro Gln Cys Thr Phe Ser Gln
 195 200 205

Glu Asn Glu Ala Glu Thr Arg Ala Trp Phe Thr Ser Arg Phe Leu Tyr
 210 215 220

His Ile Gly Gly Phe Leu Leu Pro Met Leu Val Met Gly Trp Cys Tyr
 225 230 235 240

Val Gly Val Val His Arg Leu Leu Gln Ala Gln Arg Arg Pro Gln Arg
 245 250 255

Gln Lys Ala Val Arg Val Ala Ile Leu Val Thr Ser Ile Phe Phe Leu
 260 265 270

Cys Trp Ser Pro Tyr His Ile Val Ile Phe Leu Asp Thr Leu Glu Arg
 275 280 285

Leu Lys Ala Val Asn Ser Ser Cys Glu Leu Ser Gly Tyr Leu Ser Val
 290 295 300

Ala Ile Thr Leu Cys Glu Phe Leu Gly Leu Ala His Cys Cys Leu Asn
 305 310 315 320

Pro Met Leu Tyr Thr Phe Ala Gly Val Lys Phe Arg Ser Asp Leu Ser
 325 330 335

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

Leu Phe Pro Asn Trp Arg Lys Ser Ser Leu Ser Glu Ser Glu Asn Ala
 355 360 365

Thr Ser Leu Thr Thr Phe
 370

<210> 35
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 35

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

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

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

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

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

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

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

<210> 36
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 36

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

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

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Ala Leu Glu Trp Leu
 35 40 45

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

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Gly Asp Ser Ala Thr Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Ile Leu Thr Val Ser Ser Ala
 115 120

<210> 37
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 37

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Thr Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

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

<210> 38

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 38

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala
 115 120

<210> 39
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 39

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

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

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

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

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

Pro Val Glu Glu Gly Asp Val Ser Met Phe Phe Cys Gln Gln Ser Arg
 85 90 95

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

<210> 40
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 40

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

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

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Ala Leu Glu Trp Leu
 35 40 45

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

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Gly Asp Ser Ala Thr Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Ile Leu Thr Val Ser Ser Ala
 115 120

<210> 41
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 41

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

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

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Asp Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

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

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 42
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 42

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Thr Met Ile Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

<210> 43
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 43

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

Ala Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

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

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

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 44
 <211> 440
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 44

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 115 120 125

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 130 135 140

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 145 150 155 160

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 165 170 175

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 180 185 190

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 195 200 205

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 210 215 220

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 225 230 235 240

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
305 310 315 320

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440

<210> 45
 <211> 216
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 45

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

Thr Ala Thr Leu Thr Cys Thr Gly Asn Ser Asn Asn Val Gly Asn Gln
 20 25 30

Gly Ala Thr Trp Leu Gln Gln His Gln Gly His Pro Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

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

Ala Ser Arg Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Trp Asp Ser Ser Leu
 85 90 95

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

Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
 115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
 130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
 145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
 165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
 180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
 195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215

<210> 46
 <211> 441
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 46

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

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

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

Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

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

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

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

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 130 135 140

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 145 150 155 160

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 165 170 175

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 180 185 190

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 195 200 205

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 210 215 220

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 290 295 300

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 305 310 315 320

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440

<210> 47
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 47

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 Glu Ser Val Glu Tyr His
 20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45

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

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

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

Lys Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 48
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 48

Asp Val 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 Glu Ser Val Glu Tyr His
 20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45

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

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

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

Lys Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 49
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 49

Asp Val Gln Val 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 Glu Ser Val Glu Tyr His
 20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45

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

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

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

Lys Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 50
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 50

Asp Val Gln Val 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 Glu Ser Val Glu Tyr His
 20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45

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

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

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

Lys Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

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

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 51

Asp Ile Gln Val 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 Glu Ser Val Glu Tyr His
 20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45

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

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

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

Lys Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 52
 <211> 121

<212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 52

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Val Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120

<210> 53
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 53

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Ala Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 54

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 54

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Val Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 55
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 55

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Ala Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 56
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 56

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Val Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 57
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 57

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Ala Arg Val Tyr Gly Ser Thr Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 58
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 58

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 59
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 59

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

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

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

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

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

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

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

<210> 60
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 60

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

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

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

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

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

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

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

<210> 61
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 61

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 62
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 62

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 63
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 63

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

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

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

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr Phe Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120

<210> 64
 <211> 49
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 64
 atcacgcggc cgcctcacca tgaagttgcc tgtaggctg ttggtgctg 49

<210> 65
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> n可為a或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (41)..(41)
 <223> n可為c或t

<400> 65
 atcacgcggc cgcctcacca tggagncaga cacactcctg ntatgggt 48

<210> 66
 <211> 49
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<220>
 <221> misc_feature

<222> (45)..(45)

<223> n可為c或g

<400> 66

atcacgcggc cgcctcacca tgagtgtgct cactcaggtc ctggngttg

49

<210> 67

<211> 52

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<220>

<221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> n可為a或g

<220>

<221> misc_feature

<222> (38)..(38)

<223> n可為a或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> n可為c或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(46)

<223> n可為a或c

<220>

<221> misc_feature

<222> (47)..(47)

<223> n可為a或t

<400> 67

atcacgcggc cgcctcacca tgaggncccc tgctcagntt nttggnntct tg

52

<210> 68

<211> 49

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(28)

<223> n可為a或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> n可為a或t

<400> 68

atcacgcggc cgcctcacca tggatttnca ggtgcagatt ntcagcttc

<210> 69

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<220>

<221> misc_feature

<222> (27)..(27)

<223> n可為g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (29)..(29)

<223> n可為c或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> n可為c或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (33)..(33)

<223> n可為c或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> n可為g或c

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (38)..(38)
 <223> n可為c或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(40)
 <223> n可為c或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (44)..(44)
 <223> n可為g或a

<400> 69
 atcacgcggc cgccacacca tgaggtncnn tgtnagntn ctgngg

<210> 70
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> n可為a或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (43)..(43)
 <223> n可為g或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (44)..(44)
 <223> n可為a或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (45)..(45)
 <223> n可為c或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(46)
 <223> n可為c或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (48)..(48)
 <223> n可為a或t

<400> 70
 atcacgcggc cgcctcacca tgggcntcaa gatggagtca cannnncngg

<210> 71
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (29)..(29)
 <223> n可為c或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (32)..(32)
 <223> n可為g或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (36)..(36)
 <223> n可為c或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (38)..(38)
 <223> n可為a或c

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (39)..(39)
 <223> n可為a或c

 <400> 71
 atcacgcggc cgcctcacca tgtgggganc tnttncnt ttttcaattg 50

 <210> 72
 <211> 44
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成構築體

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> n可為a或g

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (29)..(29)
 <223> n可為a或t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (32)..(32)
 <223> n可為c或g

 <400> 72
 atcacgcggc cgcctcacca tggntccnc anctcagttc cttg 44

 <210> 73
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成構築體

 <400> 73
 atccacgagg ccgcctcacc atgtatatat gtttgtgtc tatttct 47

<210> 74
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成構築體

 <400> 74
 atcacgcggc cgcctcacca tggaagcccc agctcagctt ctcttcc 47

 <210> 75
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成構築體

 <400> 75
 cagttggtgc agcatccgta cgtttgattt ccag 34

 <210> 76
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成構築體

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (33)..(33)
 <223> n可為c或g

 <400> 76
 actagcggcc gcatgaaatg cagctgggtc atnttcttc 39

 <210> 77
 <211> 37
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> n可為a或g

<220>
<221> misc_feature
<222> (33)..(33)
<223> n可為c或g

<220>
<221> misc_feature
<222> (34)..(34)
<223> n可為c或t

<400> 77
actagcggcc gcatgggatg gagctntatc atnntct 37

<210> 78
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> n可為a或t

<400> 78
actagcggcc gcatgaagnt gtggttaaac tgggtttttt 40

<210> 79
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n可為a或g

<220>

<221> misc_feature

<222> (25)..(25)

<223> n可為c或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> n可為a或g

<400> 79

actagcggcc gcatgnactt tgggntcagc ttgnttt

37

<210> 80

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 80

actagcggcc gcatggactc caggctcaat ttagttttcc tt

42

<210> 81

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(22)

<223> n可為c或t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (24)..(24)
 <223> n可為g或a

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> n可為c或g

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (30)..(30)
 <223> n可為g或a

<400> 81
 actagcggcc gcatggctgt cntngngctn ctcttctgc

39

<210> 82
 <211> 38
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> n可為a或g

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> n可為g或l

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(28)
 <223> n可為a或g

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(34)
 <223> n可為c或a

<400> 82
 actagcggcc gcatggnatg gagcnggntc tttntcct 38

<210> 83
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 83
 actagcggcc gcatgagagt gctgattcct ttgtg 35

<210> 84
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> n可為a或c

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (29)..(29)
 <223> n可為a或c

<400> 84
 actagcggcc gcatggnttg ggtgtgganc ttgctattcc tg 42

<210> 85
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 85

actagcggcc gcatggattt tgggctgatt tttttattg 39

<210> 86
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 86
 actagcggcc gcatgggcag acttacattc tcattcctg 39

<210> 87
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 87
 actagcggcc gcatgatggt gttaagtctt ctgtacctg 39

<210> 88
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> n可為a或c

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> n可為g或a

<220>
 <221> misc_feature

<222> (27)..(27)

<223>

<400> 88

gggggtgtcg tcgacgctgn ngagacngtg a

<210> 89

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 89

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

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

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 90
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 90

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60

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

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 91
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 91

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

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

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

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Ser

<210> 92

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 92

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

gtgtacggca gcacactgca ctactggggc cagggcaccc tggtgaccgt gagcagcgcg 360

<210> 97
 <211> 657
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 97
 gacatccaga tgacccagag cccttccagc ctgagcgctt ccgtgggaga tagggtgacc 60
 atcacctgca gggccagcga gtccgtggag taccacggca ccagcctgat gcaactggtac 120
 cagcagaagc ccggcaaggc cccaagctg ctgatctacg ccgccagcaa cgtggagagc 180
 ggcgctgccta gcagattcag cggcagcggga agcggcaccg acttcaccct gaccattagc 240
 agcctgcagc ccgaggactt cgccacctac tactgtcagc agagcaggaa ggtgccctgg 300
 accttcggcc agggcaccaa ggtcgagatc aagcgtacgg tggctgcacc atctgtcttc 360
 atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
 aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
 ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
 agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
 acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 657

<210> 98
 <211> 1347
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 98
 gaggtgcagc tggaggagag cggaggagga ctggcgcagc ctggcggag cctgagactg 60
 agctgcgccg ccagcggctt cacctttacc gacttctaca tgagctgggt gaggcaggct 120

cccggcaaag gactggagtg ggtgggtttc atcaggaaca aggccaacgg ctacaccacc 180
 gagtatagcg cctccgtgaa gggcaggttc accatcagca gggacaacgc caagaacagc 240
 ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcccaga 300
 gtgtacggca gcacactgca ctactggggc cagggcacc tggtgaccgt gagcagcgcg 360
 tcgaccaagg gcccatcggc cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 420
 acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480
 aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtcctcagga 540
 ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 600
 atctgcaacg tgaatcaca gccccagcaac accaagggtg acaagaaagt tgagcccaaa 660
 tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg 720
 tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag 780
 gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840
 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900
 acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960
 tacaagtgca aggtctcaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020
 gccaaagggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1080
 accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatgcc 1140
 gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200
 gactccgacg gtccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260
 caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgag 1320
 aagagcctct ccctgtcccc gggttga 1347

<210> 99
 <211> 990
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 99

```

gcgtcgacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg      60
ggcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgtcg     120
tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca     180
ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc      240
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc      300
aaatcttgtg acaaaaactca cacatgcccc ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga      360
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaacc aaggacacc tcatgatctc ccggaccct       420
gaggtcacat gcgtgggtgg ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg      480
tacgtggacg gcgtggagggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac     540
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtccctgcacc aggactggct gaatggcaag     600
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc     660
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacacc tgccccatc ccgggaggag      720
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc     780
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg      840
ctggactccg acggctcctt cttcctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg     900
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg     960
cagaagagcc tctccctgtc cccgggttga                                     990

```

<210> 100

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 100

cgtagggtgg ctgcaccatc tgtcttcac ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct	60
ggaactgcct ctgttggtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag	120
tggaaggtgg ataacgcctt ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac	180
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag	240
aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag	300
agcttcaaca ggggagagtg ttag	324

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種特異性結合C-X-C-趨化介素受體5 (CXCR5)之分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體係至少一種選自由以下組成之群的抗體：

a)包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之互補決定區L1 (complementarity-determining region L1, CDR-L1)；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之CDR-L2；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之CDR-L3；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之CDR-H1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之CDR-H2；及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之CDR-H3；

b)包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之CDR-L1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之CDR-L2；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之CDR-L3；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之CDR-H1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之CDR-H2；及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之CDR-H3；

c)包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14之CDR-L1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15之CDR-L2；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之CDR-L3；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 19之CDR-H1；包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之CDR-H2；及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 21之CDR-H3；

d)包含以下各者之抗體：包含由寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124324之質體之插入物編碼的胺基酸序列之輕鏈可變域 (VL)及包含由寄存於ATCC，具有寄存編號PTA-124323之質體之插入物編碼的胺基酸序列之重鏈可變域 (VH)；

e) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之VH；

f) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18之VH；

g) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之VH；

h) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之VH；

i) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之VH；

j) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 17之VH；

k) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之VL，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之VH；

l) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 22之LC，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HC；

m) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 24之LC，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 25之HC；

n) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 26之LC，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 27之HC；及

o) 包含以下各者之抗體：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 28之LC，及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 29之HC。

【請求項2】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體分離抗體或其抗原結合片段展現以下生物活性中之至少一者：

a) 以EC50小於約 26×10^{-12} Molar (pM)之表觀親和力結合CXCR5+人類B細胞，但不結合表現CXCR5小鼠、大鼠或兔異種同源物之細胞；

b) 拮抗由毛喉素觸發之對cAMP釋放之CXCL13抑制；

c) 觸發人類供體及食蟹獼猴PBMC及人類供體TMC中之CXCR5表現細胞之ADCC；

d) 結合人類CXCR5但不結合人類趨化介素受體CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、CMKLR1、CXCR3R1、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CXCR7或XCR1；

e) 耗竭該外周血液中之B細胞；

f) 耗竭該外周血液中之Tfh樣細胞；

g) 耗竭該脾中之真正(bona fide) Tfh細胞；及

h) 損害體液性免疫記憶反應。

【請求項3】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其包含VL，該VL包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列，及VH，該VH包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列。

【請求項4】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其包含輕鏈 (light chain, LC) 及重鏈 (heavy chain, HC)，該LC包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列；及該HC包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列。

【請求項5】

一種特異性結合C-X-C-趨化介素受體5 (CXCR5)之分離抗體或其抗原結合片段，其包含LC及HC，該LC包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列且該HC包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列。

【請求項6】

一種特異性結合C-X-C-趨化介素受體5 (CXCR5)之分離抗體或其抗原結合片段，其包含：

抗體VL區，其包含來自包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之VL區之第一、第二及第三CDR；及

抗體VH區，其包含來自包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之VH區之第一、第二及第三CDR。

【請求項7】

一種特異性結合C-X-C-趨化介素受體5 (CXCR5)之分離抗體或其抗原結合片段，其包含：

a) 抗體VL區，其包含來自包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之VL區之第一、第二及第三CDR；抗體VH區，其包含來自包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之VH區之第一、第二及第三CDR；抗體輕鏈恆定(CL)域，其包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列；及抗體重鏈恆定(CH)域，其包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列；或

b) 與SEQ ID NO: 1之胺基酸序列至少95%一致性之抗體VL區，及包含CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列；CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列；CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列；及與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列至少95%一致性之抗體VH區，及CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；CDR-H2，其包含SEQ ID NO:

8之胺基酸序列；及CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列。

【請求項8】

一種特異性結合C-X-C-趨化介素受體5 (CXCR5)之分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含CDR-L1，該CDR-L1包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列；CDR-L2，該CDR-L2包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列；CDR-L3，該CDR-L3包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列；CDR-H1，該CDR-H1包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；CDR-H2，該CDR-H2包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列；及CDR-H3，該CDR-H3包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列。

【請求項9】

如請求項1至8中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段係至少一種選自由以下組成之群的抗體：

a) 以下抗體或其抗原結合片段：其以EC50為約 6.60×10^{-12} Molar (pM)，標準偏差為約 ± 2.33 pM之表觀親和力結合在人類B細胞上表現之hCXCR5；

b) 以下抗體或其抗原結合片段：其以EC50為約5.89 pM，標準偏差為約 ± 1.40 pM之表觀親和力結合在人類循環濾泡T輔助樣細胞上表現之hCXCR5；

c) 以下抗體或其抗原結合片段：其以EC50為約10.6 pM之表觀親和力結合在人類濾泡T輔助(Tfh)細胞上表現之hCXCR5；

d) 以下抗體或其抗原結合片段：其以EC50為約1.32 pM之表觀親和力結合在食蟹獼猴B細胞上表現之cynoCXCR5；

e) 以下抗體或其抗原結合片段：其以EC50為約10.5 pM之表觀親和

力結合在食蟹獼猴Tfh樣細胞上表現之cynoCXCR5；

f) 以下抗體或其抗原結合片段：其以約961 pM之EC50拮抗cAMP報導分析中之CXCR5-CXCL13信號傳導；

g) 以下抗體或其抗原結合片段：其展現EC50為約2.01 pM，標準偏差為約±2.28 pM之對表現hCXCR5之人類B細胞的ADCC活性；

h) 以下抗體或其抗原結合片段：其展現EC50為約4.28 pM，標準偏差為約±2.88 pM之對表現hCXCR5之人類Tfh樣細胞的ADCC活性；

i) 以下抗體或其抗原結合片段：其展現EC50為約0.11 pM之對表現hCXCR5之人類Tfh細胞的ADCC活性；

j) 以下抗體或其抗原結合片段：其展現EC50為約15.3 pM，標準偏差為約±11.7 pM之對表現cynoCXCR5之食蟹獼猴B細胞的ADCC活性；

k) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合hCXCR5但不會可偵測地結合人類趨化介素受體CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、CMKLR1、CXCR3R1、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CXCR7及XCR1；

l) 抑制CXCR5與CXCL13結合之抗體或其抗原結合片段；

m) 以EC50小於約26 pM之表觀親和力結合CXCR5+人類B細胞，但不結合表現CXCR5小鼠、大鼠或兔異種同源物之細胞的抗體或其抗原結合片段；

n) 拮抗由毛喉素觸發之對cAMP釋放之CXCL13抑制的抗體或其抗原結合片段；

o) 觸發人類供體及食蟹獼猴PBMC及人類供體TMC中之CXCR5表現細胞之ADCC的抗體或其抗原結合片段；

p) 以下抗體或其抗原結合片段：其結合人類CXCR5但不結合人類趨化介素受體CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、CMKLR1、CXCR3R1、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CXCR7或XCR1；

q) 耗竭外周血液中之B細胞的抗體或其抗原結合片段；

r) 耗竭外周血液中之Tfh樣細胞的抗體或其抗原結合片段；

s) 耗竭脾中之真正(bona fide) Tfh細胞的抗體或其抗原結合片段；及

t) 損害體液性免疫記憶反應之抗體或其抗原結合片段。

【請求項10】

一種經分離核酸，其編碼如請求項1至9中任一項之抗體或其抗原結合片段。

【請求項11】

一種經分離核酸，其編碼特異性結合C-X-C趨化介素受體5型(CXCR5)之抗體或其抗原結合片段之VH、VL或兩者，其中該核酸包含：核酸序列SEQ ID NO: 95，核酸序列SEQ ID NO: 96或兩者。

【請求項12】

一種經分離核酸，其編碼特異性結合C-X-C趨化介素受體5型(CXCR5)之抗體或其抗原結合片段之重鏈、輕鏈或兩者，其中該核酸包含：核酸序列SEQ ID NO: 97，核酸序列SEQ ID NO: 98或兩者。

【請求項13】

一種經分離核酸，其編碼特異性結合C-X-C趨化介素受體5型(CXCR5)之抗體或其抗原結合片段之VH、VL或兩者，其中該核酸包含寄存於美國典型培養物寄存中心(ATCC)且具有寄存編號PTA-124323之質體

之插入物的核酸序列，寄存於ATCC且具有寄存編號PTA-124324之質體之插入物的核酸序列，或兩者。

【請求項14】

一種載體，其包含如請求項10至13中任一項之核酸。

【請求項15】

一種宿主細胞，其包含如請求項14之載體。

【請求項16】

如請求項15之宿主細胞，其中該宿主細胞係選自由以下組成之群的哺乳動物細胞：中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、猴腎(COS)細胞、人類胚胎腎細胞株293(HEK-293)細胞、BALB/c小鼠骨髓瘤細胞株NS0細胞、人類視網膜母細胞PER.C6®細胞或Sp2.0細胞。

【請求項17】

如請求項16之宿主細胞，其中該細胞缺乏功能性 α -1,6-岩藻糖基轉移酶(FUT8)。

【請求項18】

如請求項17之宿主細胞，其中該細胞係Potelligent® CHOK1SV細胞或Lec13 CHO細胞。

【請求項19】

一種在抗體或其抗原結合片段由如請求項18之Potelligent® CHOK1SV細胞表現且經去岩藻糖基化之條件下製備抗體，或其抗原結合片段之方法，其包含該宿主細胞。

【請求項20】

如請求項19之方法，其進一步包含分離該抗體或其抗原結合片段。

【請求項21】

如請求項1至8中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段係經岩藻糖基化，且其中該抗體與經岩藻糖基化之其他方面相同之抗體或其抗原結合片段相比時展現增強的抗體依賴性細胞毒性(ADCC)活性。

【請求項22】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至9及21中任一項之抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑或賦形劑。

【請求項23】

如請求項1至8中任一項之抗體或其抗原結合片段或如請求項22之醫藥組合物，其用於治療免疫疾病、病症或病狀。

【請求項24】

一種如請求項1至9及21中任一項之抗體或其抗原結合片段或如請求項22之醫藥組合物之用途，其係用於製備治療或預防有需要之人類個體中之C-X-C趨化介素受體5型(CXCR5)介導的免疫疾病、病症或病狀及控制表現CXCR5之癌細胞增殖之藥劑，其中該疾病、病症或病狀係選自由以下組成之群：發炎性皮膚病，包括牛皮癬及皮膚炎；皮肌炎；全身硬皮病及硬化症；克羅恩氏病(Crohn's disease)及潰瘍性結腸炎；呼吸窘迫症候群，包括成人呼吸窘迫症候群；腦膜炎；腦炎；葡萄膜炎；結腸炎；胃炎；腎小球腎炎；過敏性體質；濕疹；哮喘；涉及T細胞浸潤及慢性發炎反應之病狀；動脈粥樣硬化；白血球黏著缺乏症；類風濕性關節炎(RA)；全身性紅斑性狼瘡症(SLE)；糖尿病；I型糖尿病；胰島素依賴性糖尿病；多發性硬化症；雷諾氏症候群(Reynaud's syndrome)；自體免疫

甲狀腺炎；過敏性腦脊髓炎；休格連氏症候群(Sjogren's syndrome)；幼年型發病型糖尿病；通常在肺結核、類肉瘤病、多發性肌炎、肉芽腫及脈管炎中發現之與細胞介素及T淋巴球所介導之急性及遲發性過敏反應相關的免疫反應；韋格納病(Wegener's disease)；惡性貧血；涉及白血球血球滲出之疾病；中樞神經系統(CNS)發炎病症；多器官損傷症候群；溶血性貧血；冷球蛋白血症；庫姆氏陽性貧血；重症肌無力；抗原-抗體複合物介導之疾病；抗腎小球基底膜疾病；抗磷脂症候群；過敏性神經炎；葛瑞夫茲氏病(Graves' disease)；朗伯-伊頓肌無力症候群(Lambert-Eaton myasthenic syndrome)；大皰性類天疱瘡；天疱瘡；自體免疫多內分泌病變；白斑病；萊特爾氏病(Reiter's disease)；僵人症候群；白塞氏病(Bechet disease)；巨大細胞動脈炎；免疫複合體腎炎；IgA腎病；IgM多發性神經病；免疫性血小板減少性紫癜(ITP)或自體免疫血小板減少症及自體免疫溶血性疾病；橋本氏甲狀腺炎；自體免疫肝炎；自體免疫血友病；自體免疫淋巴增生症候群(ALPS)；自體免疫葡萄膜視網膜炎；格-巴二氏症候群(Guillain-Barre syndrome)；古德巴士德氏症候群(Goodpasture's syndrome)；混合性結締組織病；自體免疫相關之不育；結節性多動脈炎；斑禿；特發性黏液水腫；移植物抗宿主疾病；杜興氏型、貝克爾型、肌緊張性型、肢帶型、面肩胛臂型、先天性型、眼咽型、遠端型、艾-德型肌肉萎縮症；及胰臟癌、結腸癌、膀胱癌、T細胞白血病及B細胞白血病。

【請求項25】

如請求項24之用途，其中該疾病係全身性紅斑性狼瘡症(SLE)或類風濕性關節炎。

【請求項26】

一種如請求項1至9及21中任一項之抗體或其抗原結合片段之用途，其係用於製備用於治療免疫疾病、病症或病狀之藥劑。

【請求項27】

一種使用如請求項1至9及21中任一項之抗體或其抗原結合片段偵測樣品、組織或細胞中之C-X-C趨化介素受體5型(CXCR5)的方法，其包含使該樣品、組織或細胞與該抗體接觸及偵測該抗體。

【請求項28】

一種如請求項1至9及21中任一項之抗體或其抗原結合片段或如請求項22之醫藥組合物之用途，其係用於製備降低有需要之個體中之C-X-C趨化介素受體5型(CXCR5)的生物活性之藥劑。

【請求項29】

如請求項28之用途，其中該抗體介導至少一種選自由以下組成之群之表現C-X-C趨化介素受體5型(CXCR5)的細胞的耗竭：脾中之濾泡性T輔助(Tfh)細胞、外周血液中之B細胞，及外周血液中之Tfh樣細胞。

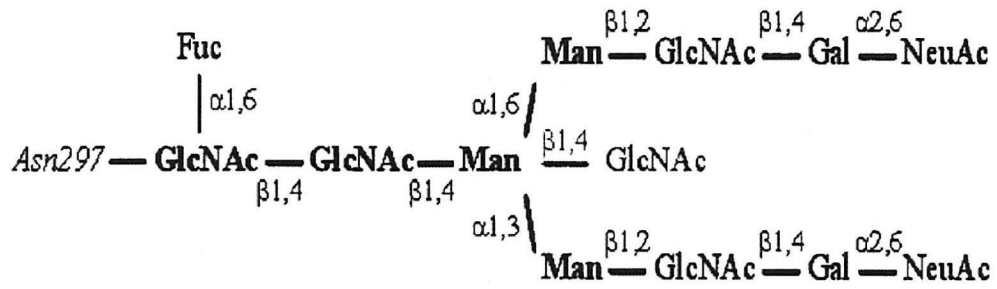
【請求項30】

一種如請求項1至9及21中任一項之抗體或其抗原結合片段或如請求項22之醫藥組合物之用途，其係用於製備抑制有需要之個體中之體液性免疫反應的藥劑。

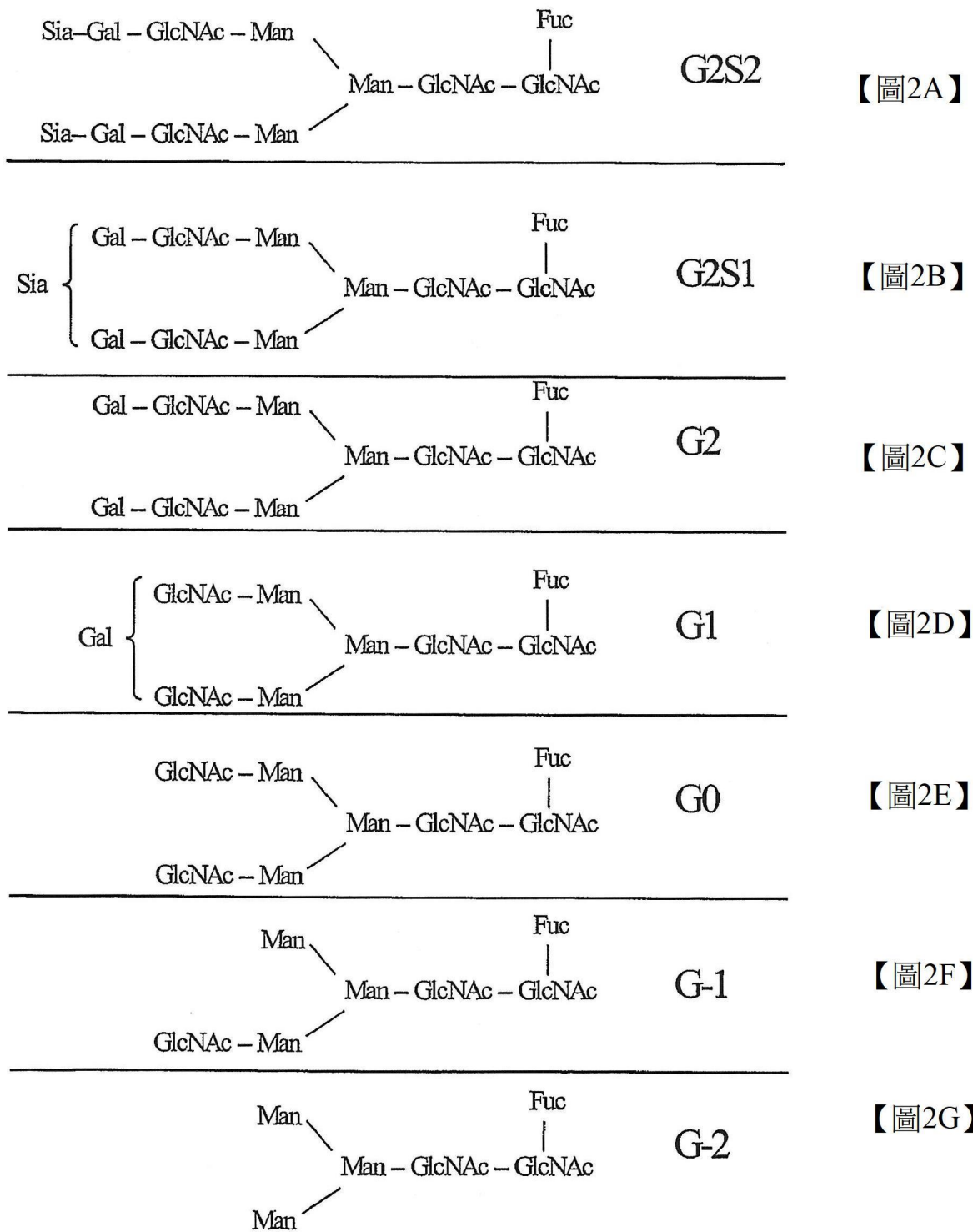
【請求項31】

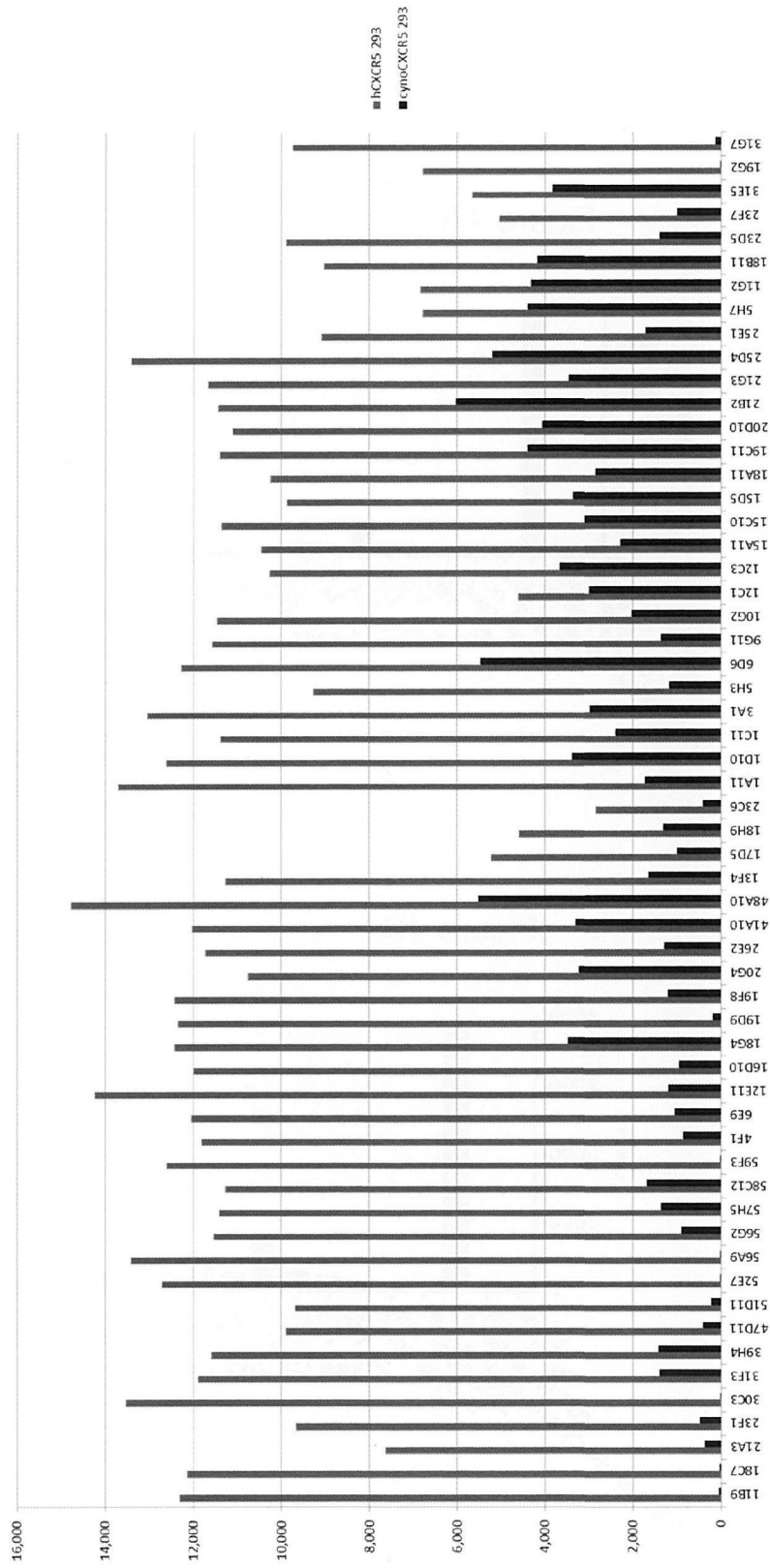
如請求項30之用途，其中該抗體介導至少一種選自由以下組成之群之表現C-X-C趨化介素受體5型(CXCR5)的細胞的耗竭：脾中之濾泡性T輔助(Tfh)細胞、外周血液中之B細胞，及外周血液中之Tfh樣細胞。

【發明圖式】

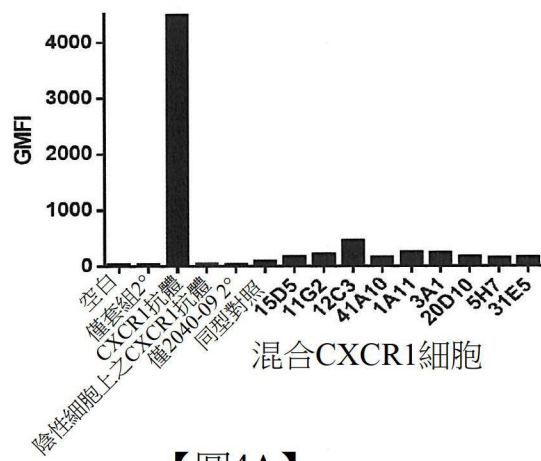


【圖1】

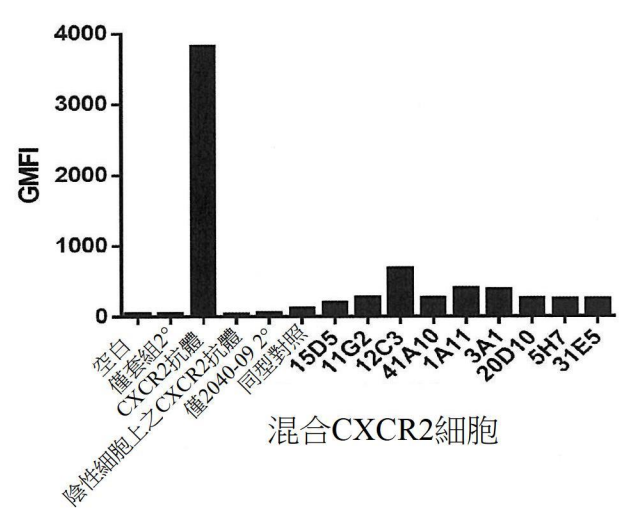




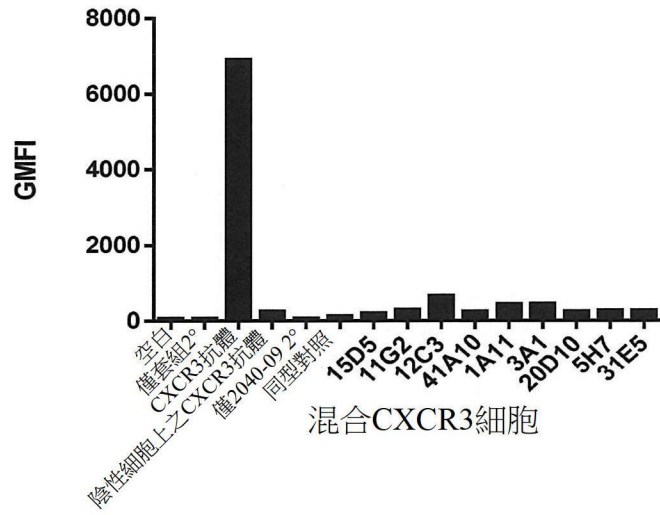
【圖3】



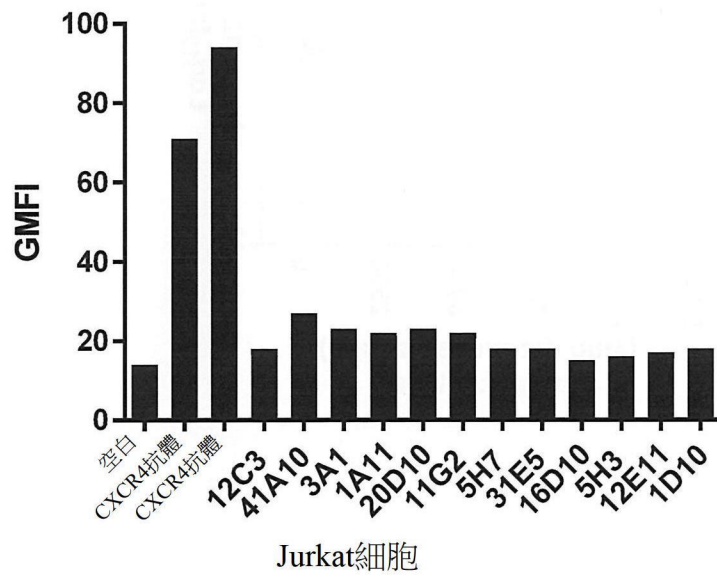
【圖4A】



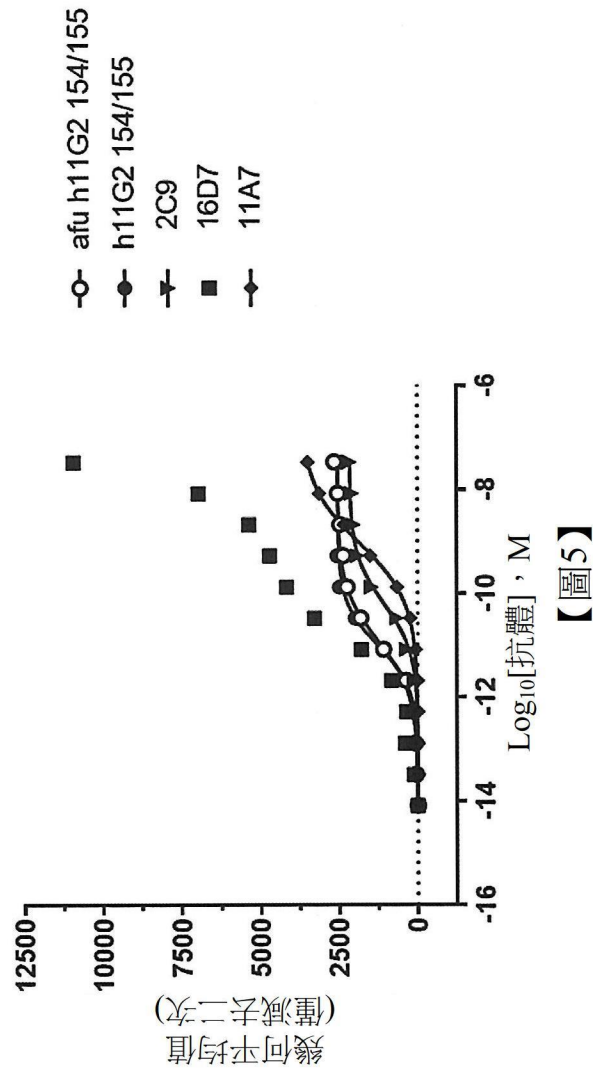
【圖4B】



【圖4C】



【圖4D】



【圖5】

h MNYPLTLEMD--LENLEDLFWELDRLDNYNDTSLVENHLC**P**ATEG**P**LMAS**F**KAVFVPVAY
m MNYPLTLDMGSIYNNMDDLYKELAFYSN**S**TEIP**L**QDS**N**FC**S**TV**E**GP**L**L**T**S**F**KAVFMPVAY

N

SLIFLLGVIGNVLVILERHRQ**TR**SS**T**ET**F**FL**H**LAVAD**L**LL**V**FIL**P**FA**V****AEGSVGWVLG**
SLIFLLGMMGNILVLVILERHR**TR**SS**T**ET**F**FL**H**LAVAD**L**LL**V**FIL**P**FA**V****AEGSVGWVLG**

L1

TFL**CK**T**V**I**A**L**H**K**V**N**F**Y**C**S**S**L**L**L**A**C**I**A**V**D**R**Y**L**A**I**V**H**A**V**H**A**Y**R**R**R**L**L**S**I**H**I**T**C**G**T**I**W**L**V**G**F**
TFL**CK**T**V**I**A**L**H**K**I**N**F**Y**C**S**S**L**L**L**A**C**I**A**V**D**R**Y**L**A**I**V**H**A**V**H**A**Y**R**R**R**L**L**S**I**H**I**T**C**T**A**I**W**L**A**G**F**

L1

LLAL**PE**I**L**F**A**K**V**S**Q**G**H**H**N**S**L**P**R**C**T**F**S**Q**E**N**O**A**E**T**H**A**W**F**T**S**R**F**L**Y**H**V**A**G**F**L**L**P**M**L**V**M**G**W**C**Y
LFAL**PE**L**L**F**A**K**V**G**Q**P**H**N**D**S**L**P**Q**C**T**F**S**Q**E**N**E**A**E**T**R**A**W**F**T**S**R**F**L**Y**H**I**G**G**F**L**L**P**M**L**V**M**G**W**C**Y

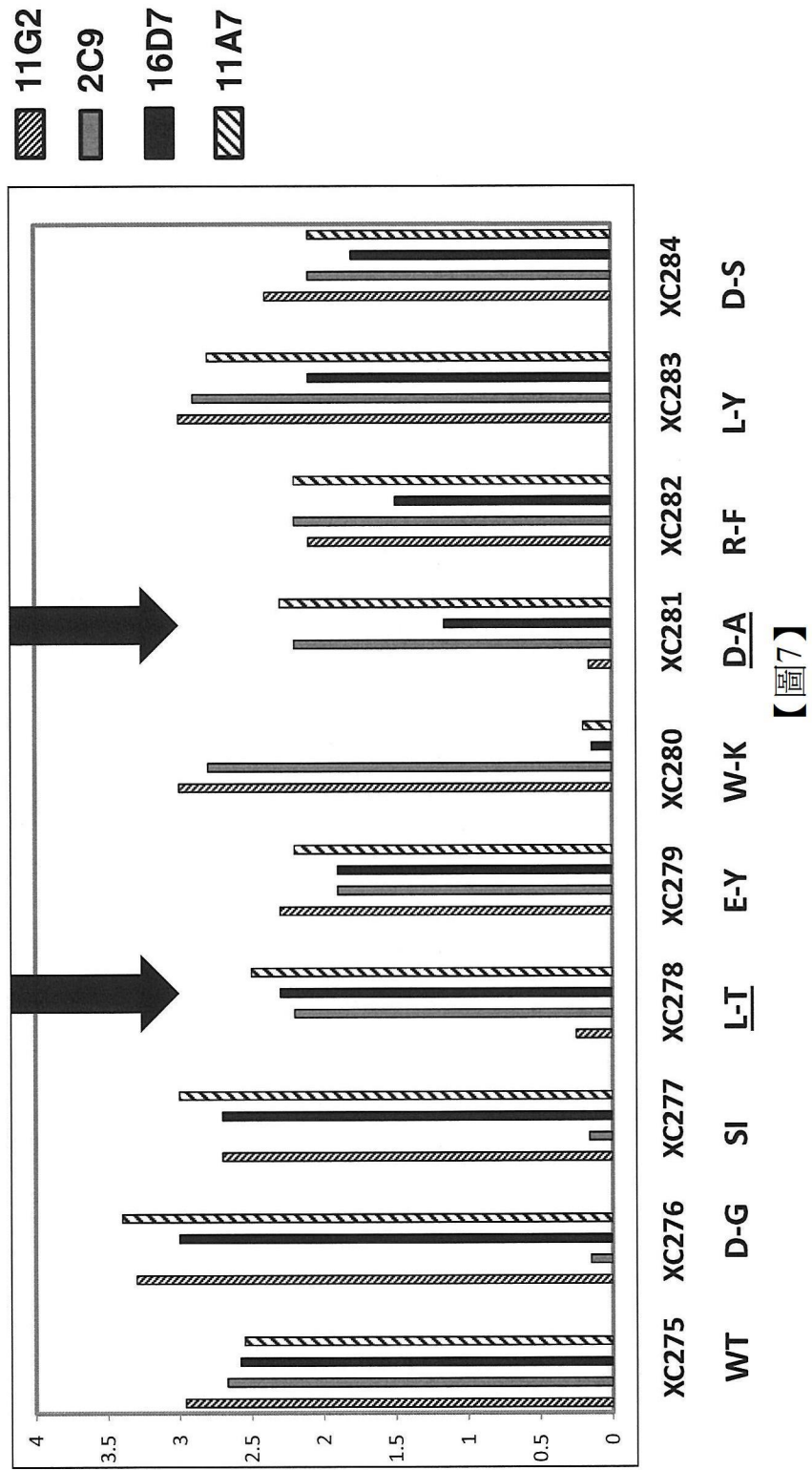
L2

VG**V**V**H**R**L**R**Q**A**Q**R**R**P**Q**R**Q**K**A**V**R**V**A**I**L**V**T**S**I**F**F**L**C**W**S**P**Y**H**I**V**I**F**L**D**T**L**A**R**L**K**A**V**D**N**T**C**K**L**N**G
VG**V**V**H**R**L**L**Q**A**Q**R**R**P**Q**R**Q**K**A**V**R**V**A**I**L**V**T**S**I**F**F**L**C**W**S**P**Y**H**I**V**I**F**L**D**T**L**E**R**L**K**A**V**N**S**S**C**E**L**S**G

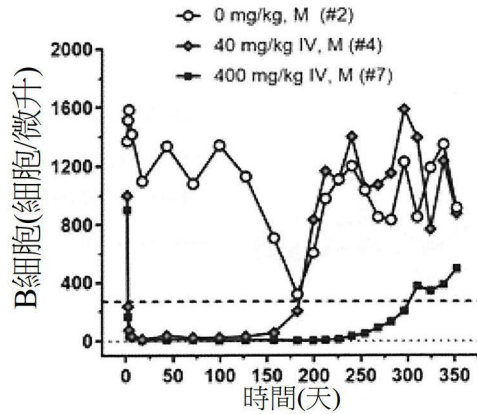
L3

SLP**V**A**I**T**M**C**E**F**L**G**L**A**H**C**C**L**N**P**M**L**Y**T**F**A**G**V**K**F**R**S**D**L**S**R**L**L**T**K**L**G**C**T**G**P**A**S**L**C**Q**L**F**P**S**W**R**R**S**
YLS**V**A**I**T**L**C**E**F**L**G**L**A**H**C**C**L**N**P**M**L**Y**T**F**A**G**V**K**F**R**S**D**L**S**R**L**L**T**K**L**G**C**A**G**P**A**S**I**C**Q**L**F**P**N**W**R**K**S**
SL**S**E**S**E**N**A**T**S**L**T**T**F
SL**S**E**S**E**N**A**T**S**L**T**T**F

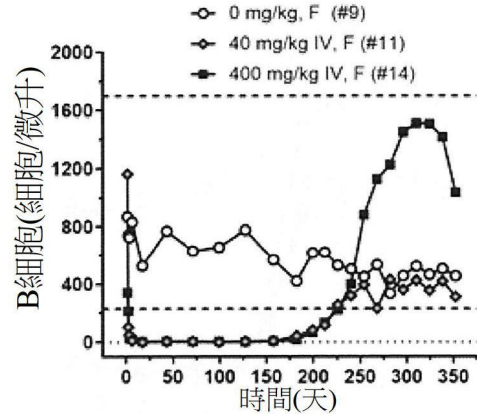
【圖6】



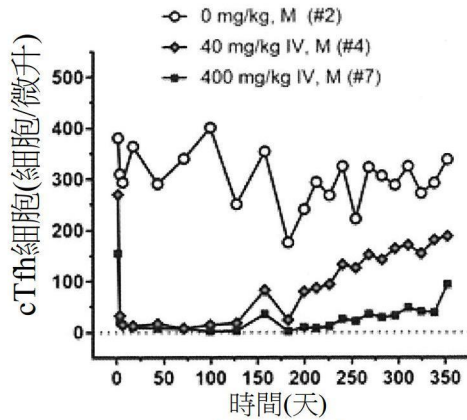
【圖7】



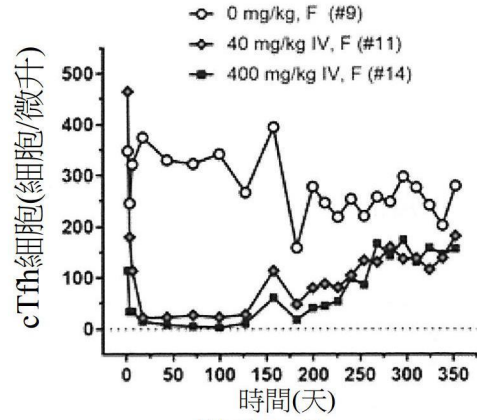
【圖8A】



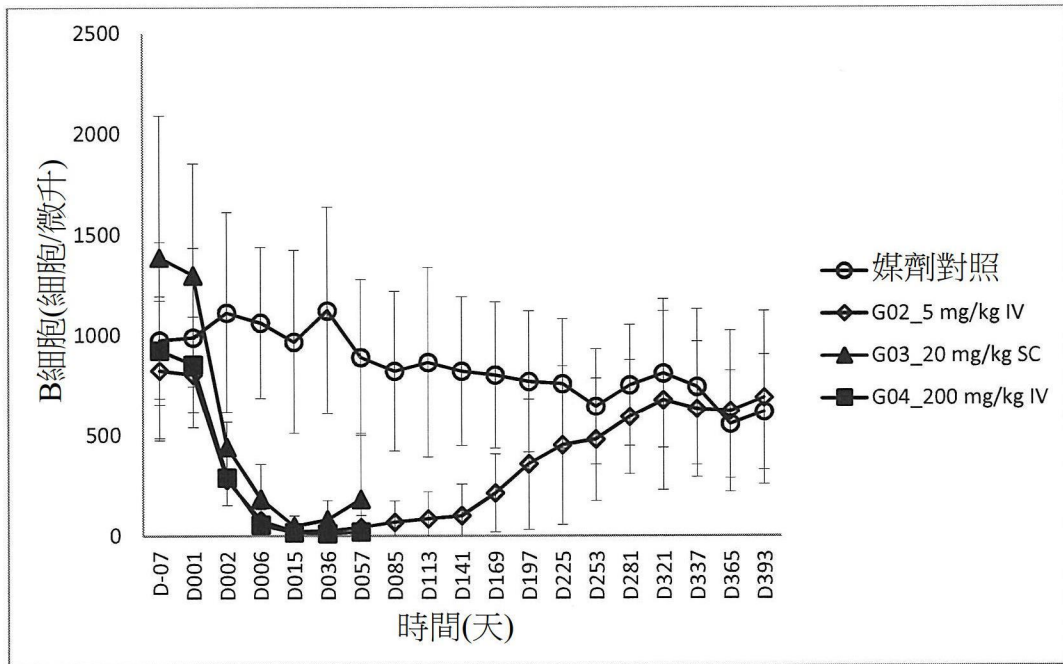
【圖8B】



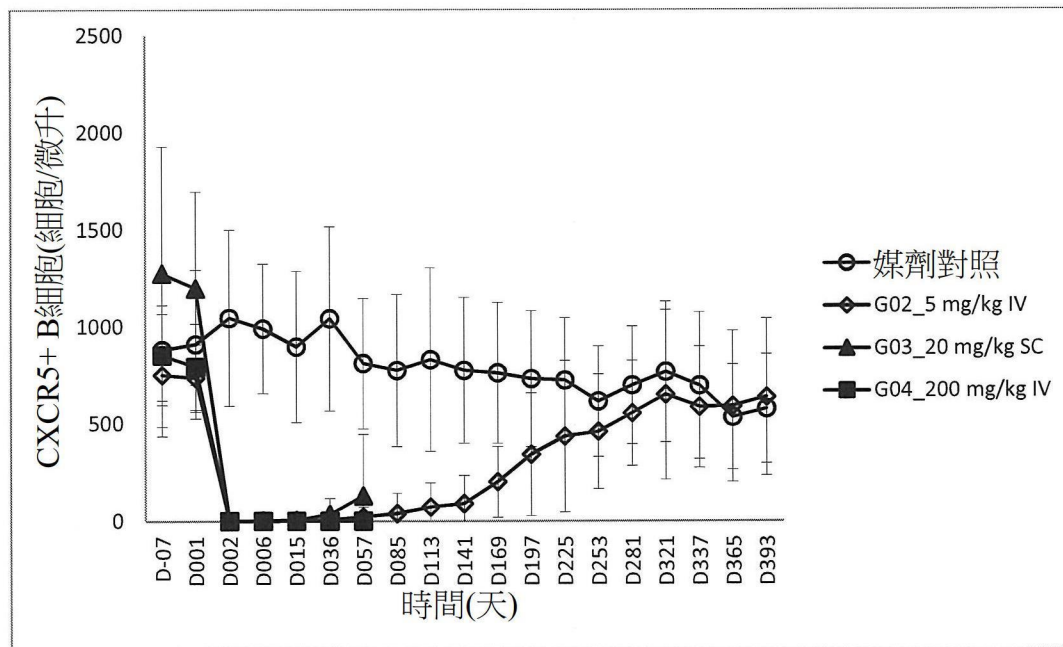
【圖8C】



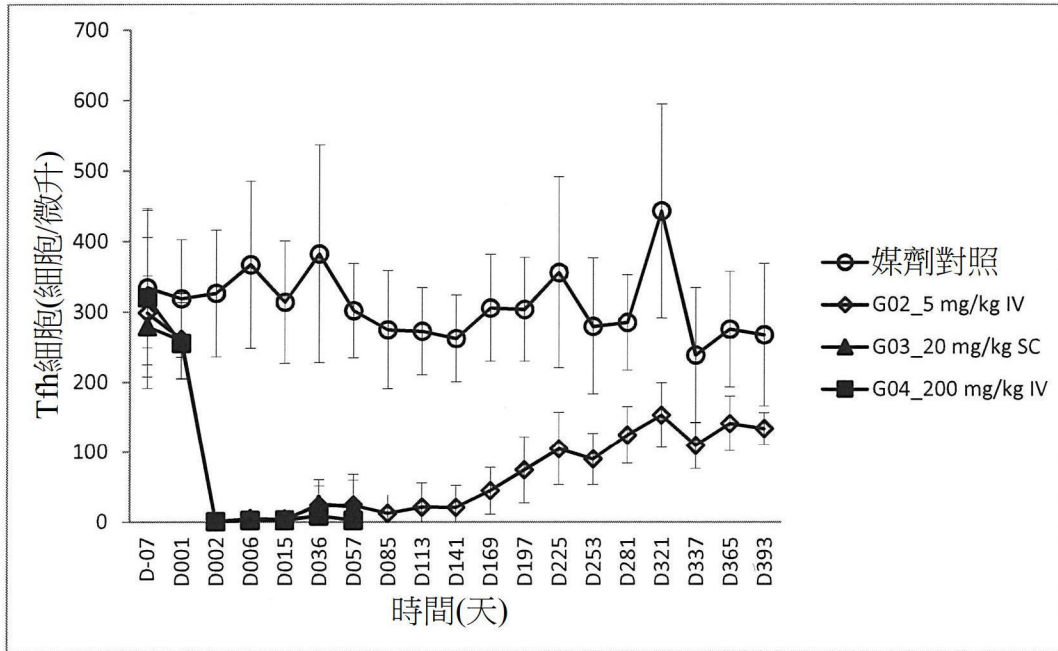
【圖8D】



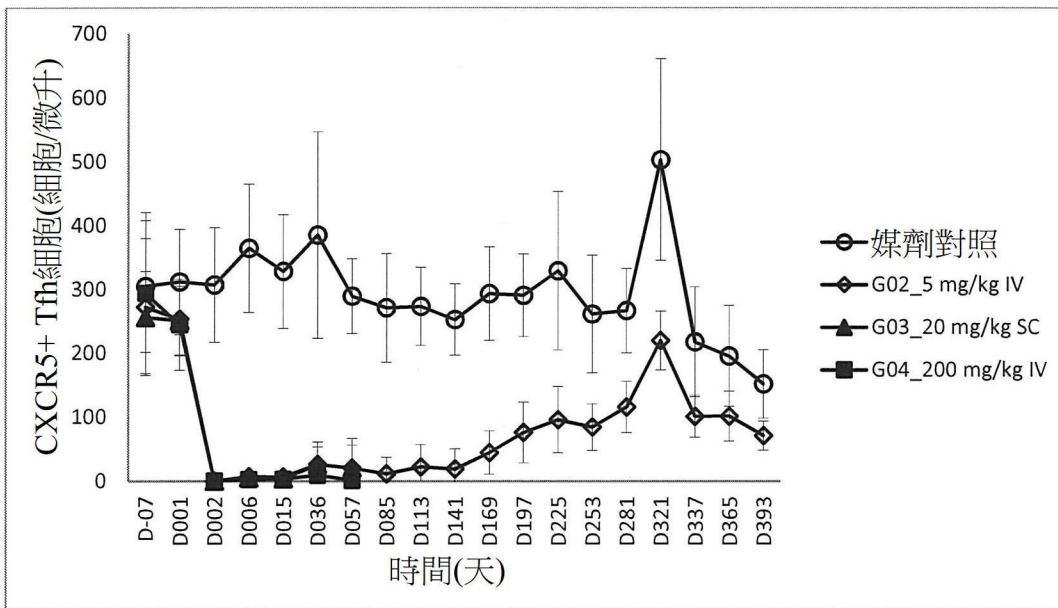
【圖9A】



【圖9B】



【圖9C】



【圖9D】