(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103224562 B
(45)授权公告日 2017.09.08

(21)申请号 201310075812.8
(22)申请日 2002.08.21
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 103224562 A
(43)申请公布日 2013.07.31
(30)优先权数据
0120649.9 2001.08.23 GB
0215212.2 2002.07.01 GB
(62)分案原申请数据
02816422.9 2002.08.21
(73)专利权人 RSR有限公司
地址 英国加的夫
(72)发明人 伯纳德·里斯·史密斯
雅德维加·富尔马尼亚克
简·菲娜·桑德斯
(74)专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司 72003
代理人 任晓华 吴小瑛
(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
C12N 15/13(2006.01)
G01N 33/68(2006.01)
G01N 33/577(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
(56)对比文件
WO 0005345 A1,2000.02.03,
EP 1078989 A2,2001.02.28,
WO 9964865 A1,1999.12.16,
审查员 崔传明

权利要求书3页 说明书52页 附图49页

(54)发明名称

促甲状腺素受体的表位区域和针对该区域的抗体

(57)摘要

本发明涉及针对TSH受体的抗体及其片段，使用所述抗体筛选针对TSH受体的自身抗体的方法，包含所述针对TSH受体的抗体试剂盒和药物组合物，以及所述抗体在制备用于刺激甲状腺组织和/或包含TSH受体的组织的药物中的应用。

CN 103224562 B

1.针对TSH受体的单克隆抗体或其包含Fab片段的片段，或针对TSH受体的重组抗体或其包含Fab结构域的片段，其中，所述抗体或其片段包含：

含有图10所示的V_H CDR I、II和III的抗体V_H结构域以及含有图12所示的V_L CDR I、II和III的抗体V_L结构域，从而提供抗体结合位点；

或者含有图14所示的V_H CDR I、II和III的抗体V_H结构域以及含有图16所示的V_L CDR I、II和III的抗体V_L结构域，从而提供抗体结合位点；

或者含有图18所示的V_H CDR I、II和III的抗体V_H结构域以及含有图20所示的V_L CDR I、II和III的抗体V_L结构域，从而提供抗体结合位点；

或者含有图22所示的V_H CDR I、II和III的抗体V_H结构域以及含有图24所示的V_L CDR I、II和III的抗体V_L结构域，从而提供抗体结合位点；

或者含有图46所示的V_H CDR I、II和III的抗体V_H结构域以及含有图48所示的V_L CDR I、II和III的抗体V_L结构域，从而提供抗体结合位点。

2.如权利要求1所述的抗体或其片段，所述抗体或其片段能够与TSH受体结合从而刺激TSH受体，其中所述抗体或其片段与TSH受体表位结合，所述TSH受体表位由TSH受体的246-260位氨基酸组成；并且，在20μg/ml或更低的浓度下，所述抗体或片段在环AMP甲状腺细胞试验中具有大于180％的甲状腺刺激活性，所述甲状腺刺激活性百分数用下述比例的100×来计算：在所述抗体或其片段存在下制得的环AMP比上在健康血液供体血清库存在下制得的环AMP。

3.如权利要求1所述的针对TSH受体的单克隆抗体或重组抗体或其包含Fab片段的片段，其包含：

图14所示的V_H结构域和图16所示的V_L结构域；

或图18所示的V_H结构域和图20所示的V_L结构域；

或图22所示的V_H结构域和图24所示的V_L结构域。

4.如前述任一项所述的单克隆抗体或重组抗体，其分别为图13和15、图21和23以及图17和19中所述的16E5、14D3或17D2。

5.一种多聚核苷酸，其编码权利要求1所述的抗体或其片段的氨基酸序列，所述多聚核苷酸如图25-40或57-60所示；或上述序列的一部分，如图26、28、30、32、34、36、38、40、58或60所标示的；或在其全长上与上述序列具有至少70％的序列同一性。

6.如权利要求5所述的多聚核苷酸，在其全长上与权利要求5所述的序列具有至少80％的序列同一性。

7.如权利要求6所述的多聚核苷酸，在其全长上与权利要求5所述的序列具有至少90％的序列同一性。

8.用于筛选得自受试者的体液样品中的针对TSH受体的自身抗体的试剂盒，其中，所述受试者疑似患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病，或所述自身免疫疾病的康复者，所述试剂盒包含：

(a)全长TSH受体或者与TSH受体的自身抗体反应的一个或多个多肽；

(b)权利要求1-4中任一项所述的一个或多个单克隆抗体或重组抗体或其片段；

(c)用于将所述受试者的体液样品、所述TSH受体或所述的一个或多个多肽，和所述的一个或多个单克隆抗体或重组抗体或其片段相接触，从而允许所述TSH受体或所述的一个

或多个多肽与存在于所述样品中的TSH受体的自身抗体、或与所述的一个或多个单克隆抗体或重组抗体或其片段相互反应的装置;和

(d)用于监测所述TSH受体或所述的一个或多个多肽与存在于所述样品中的所述自身抗体的相互反应,从而提供所述样品中存在TSH受体的自身抗体的指征的装置。

9.如权利要求8所述的试剂盒,其中所述一个或多个多肽由或主要由下述一个或多个一级结构构象组成:

TSH受体的22-91位氨基酸;

TSH受体的246-260位氨基酸;

TSH受体的260-363位氨基酸;和

TSH受体的380-418位氨基酸,

其中针对TSH受体反应而产生的自身抗体能与其发生相互作用,但不包括全长TSH受体。

10.如权利要求8所述的试剂盒,其包含用于权利要求1-4中任一项所述的一个或多个单克隆抗体或重组抗体或其片段的标记物。

11.如权利要求8所述的试剂盒,其中,所述试剂盒包含:

(a)全长TSH受体、或者与TSH受体的自身抗体反应的一个或多个多肽;

(b)权利要求1-4中任一项所述的一个或多个单克隆抗体或重组抗体或其片段;

(c)用于将所述受试者的体液样品、所述TSH受体或所述的一个或多个多肽,和所述的一个或多个单克隆抗体或重组抗体或其片段相接触,从而允许所述TSH受体或所述的一个或多个多肽与存在于所述样品中的TSH受体的自身抗体、或与所述的一个或多个单克隆抗体或重组抗体或其片段相互反应的装置;

(d)用于在所述一个或多个单克隆抗体或重组抗体或其片段与所述受试者体液样品和所述TSH受体或所述的一个或多个多肽相接触之前或之后,将所述一个或多个单克隆抗体或重组抗体或其片段直接或间接固定在一表面上的装置;和

(e)用于监测所述TSH受体或所述的一个或多个多肽与存在于所述样品中的所述自身抗体的相互反应,从而提供所述样品中存在TSH受体的自身抗体的指征的装置。

12.如权利要求11所述的试剂盒,其中所述一个或多个多肽由或主要由下述一个或多个一级结构构象组成:

TSH受体的22-91位氨基酸;

TSH受体的246-260位氨基酸;

TSH受体的260-363位氨基酸;和

TSH受体的380-418位氨基酸,

其中针对TSH受体反应而产生的自身抗体能与其发生相互作用,但不包括全长TSH受体。

13.如权利要求8所述的试剂盒,其包含用于所述TSH受体或所述的一个或多个多肽的标记物。

14.一种药物组合物,其包含权利要求1-4中任一项所述的单克隆抗体或重组抗体或其片段,和一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

15.权利要求1-4中任一项所述的单克隆抗体或重组抗体或其片段的应用,其用于制备

用于刺激甲状腺组织或包含TSH受体的组织的药物。

16.权利要求1-4中任一项所述的单克隆抗体或重组抗体或其片段与能够刺激甲状腺组织和/或包含TSH受体的组织的一种或多种进一步的药剂的组合产品，其同时、单独或顺序地用来刺激甲状腺组织和/或包含TSH受体的组织，其中所述的一种或多种进一步的药剂包含重组的人TSH。

17.权利要求1-4中任一项所述的单克隆抗体或重组抗体或其片段与能够刺激甲状腺组织和/或包含TSH受体的组织的一种或多种进一步的药剂在制备用于同时、单独或顺序地刺激甲状腺组织和/或包含TSH受体的组织的药物中的用途，其中所述的一种或多种进一步的药剂包含重组的人TSH。

促甲状腺素受体的表位区域和针对该区域的抗体

[0001] 本申请是申请日为2002年8月21日，申请号为02816522.9，名称为“促甲状腺素(TSH)受体的表位区域，及其用途和针对该区域的抗体”的发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及促甲状腺素(TSH)受体的表位区域，及其用途和针对该区域的抗体，以及用于筛选针对TSH受体的自身抗体的试剂盒。

背景技术

[0003] 促甲状腺素或甲状腺刺激激素(TSH)是一种垂体激素，它在调节甲状腺的功能上起重要作用。在下丘脑中形成的TRH能刺激TSH的释放，并且TSH控制重要的甲状腺激素如甲状腺素(T4)和三-碘化甲腺氨酸(T3)的形成及释放。根据反馈机理，血清中的甲状腺激素的浓度会控制TSH的释放。甲状腺细胞中T3和T4的形成受TSH的刺激，其中在刺激步骤中垂体释放的TSH与甲状腺细胞膜上的TSH受体结合。

[0004] 在某些病理条件下，也会形成各种类型的针对TSH受体的自身抗体。当存在各种类型的自身抗体时，由于TSH分子受到屏蔽，在TSH受体上T3和T4的生成和释放会受到抑制，或者，另一方面，由于抗TSH受体的自身抗体模拟TSH的作用并且刺激甲状腺激素的合成及释放，使得甲状腺激素会以一种不受控的方式被释放。

[0005] 自身免疫甲状腺疾病(AITD)是一种在世界不同人群中最常见的自身免疫病。一部分AITD病人，主要是有甲状腺机能亢进疾病的病人就具有前述的针对TSH受体的自身抗体。自身抗体会结合TSH受体并且通常会模拟TSH功能，它刺激甲状腺产生高水平的甲状腺激素。这些自身抗体具有刺激作用。在某些病人身上，自身抗体结合TSH受体但是不刺激甲状腺激素的产生，这些抗体被称为具有封闭作用(J Sanders,Y Oda,S-A Roberts,M Maruyama,J Furmaniak,B Rees Smith"Understanding the thyrotrophin receptor function-structure relationship."Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism.Ed.TF Davies199711(3):451-479.Pub.Baillière Tindall,London)。

[0006] 在诊断和治疗AITD、尤其是甲状腺机能亢进疾病中，测定TSH受体的自身抗体非常重要。目前有三种分析方法用于测定TSH受体的自身抗体：

[0007] (a)竞争结合分析，它测定TSH受体的自身抗体对TSH与TSH受体制备物结合的抑制能力；(b)生物分析，它测定TSH受体自身抗体刺激培养物中细胞表达TSH受体的能力；(c)用TSH受体自身抗体对TSH受体制备物的免疫沉淀。

[0008] 用这些分析方法对TSH受体自身抗体的测定在下列文献中有记载：J Sanders,Y Oda,S-A Roberts,M Maruyama,J Furmaniak,B Rees Smith"Understanding the thyrotrophin receptor function-structure relationship."Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism.Ed.T F Davies199711(3):451-479.Pub.Bailliere Tindall,London,and J Sanders,Y Oda,S Roberts,A Kiddie,T Richards,J Bolton,V McGrath,S Walters,D Jaskólski,J Furmaniak,B Rees Smith"The interaction of TSH

receptor autoantibodies with^{125}I-labelled TSH receptor."Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism199984(10):3797-3802.

[0009] 但是,上述目前这些用于测定TSH受体自身抗体的分析方法中存在一些缺陷。竞争分析(a)可用于不同的类型,并且非常敏感,而且在常规使用中相对容易操作。但是,现在已知的用于检测TSH受体自身抗体的竞争性放射受体分析方法具有一些使用上的根本性的弱点:这是因为对于受体的变化或与之结合的生物分子的变化,TSH受体制备物的结合能力通常会发生敏感的反应。肽或蛋白这些生物分子,例如激素或自身抗体,与受体的结合在性质上是非常复杂的,并且受体和生物分子间的特异性结合对于受体的结构变化尤其敏感,这种敏感性远远超过涉及受体的大部分免疫检测中作为基础的抗原/抗体结合对的情况。为了固定和/或标记TSH受体,通常会导致结构改变,从而大大影响了受体的功能。

[0010] 就生物分析(b)而言,它由于昂贵、费时长、对操作人员的技术要求高,因而不适合常规使用。而免疫沉淀分析(c),目前可用的这类免疫沉淀分析方法在实际中不具备检测TSH受体自身抗体所需的敏感度。

发明内容

[0011] 本发明减少了现有技术检测TSH受体自身抗体时存在的问题。尤其是,本发明提供了筛选TSH受体自身抗体的诊断方法和试剂盒,它比现有的诊断方法和试剂盒具有更高的敏感度,并且,如果需要的话,允许在上述的竞争分析方法中使用一种或多种TSH受体的竞争性结合对应物或竞争因子。尤其是,本发明在筛选TSH受体自身抗体的诊断方法和试剂盒中使用一种或多种TSH受体特定的表位区域。

[0012] 因此,本发明提供了一段多肽序列,用于诊断或治疗与TSH受体的免疫反应相关的自身免疫疾病,该多肽序列含有一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构(它是氨基酸残基的连续序列),针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0013] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个,或者一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0014] (所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构,或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构,或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物);

[0015] 其中,针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),从而实现诊断和治疗的目的。

[0016] 更优选地,本发明提供了一段多肽序列,用于诊断或治疗与TSH受体的免疫反应相关的自身免疫疾病,该多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该一级结构组成,针对TSH受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用

(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0017] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个,上述序列中的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0018] (所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构,或TSH受体277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构,或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物);

[0019] 其中,针对TSH受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),从而实现诊断和治疗的目的。

[0020] 此外,本发明提供了一段多肽序列,用于诊断或治疗与TSH受体的免疫反应相关的自身免疫疾病,该多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该一级结构组成,针对TSH受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0021] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个,上述序列中的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0022] (所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构,或TSH受体277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构,或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物);

[0023] 其中,针对TSH受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),从而实现诊断和治疗的目的。

[0024] 本发明进一步提供了一段多肽序列,用于诊断或治疗与TSH受体的免疫反应相关的自身免疫疾病,该多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该一级结构组成,针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0025] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个,上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0026] 如图1,3,5和7中描述的任一段氨基酸序列,(所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:如图5所描述的任一氨基酸序列中TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构,或如图5所描述的任一氨基酸序列的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似

物或衍生物;和/或如图3所描述的任一氨基酸序列的TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构,或如图3所描述的任一氨基酸序列的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物);

[0027] 其中,针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),从而实现所述的诊断和治疗的目的。

[0028] 更特殊的是,本发明进一步提供了一段多肽序列,用于诊断或治疗与TSH受体的免疫反应相关的自身免疫疾病,该多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该一级结构组成,针对TSH受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0029] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个,或者上述序列中的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0030] 如图1,3,5和7任一图中描述的任一段氨基酸序列,(所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:如图5所描述的任一氨基酸序列的TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构,或如图5所描述的任一氨基酸序列的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或如图3所描述的任一氨基酸序列的TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构,或如图3所描述的任一氨基酸序列的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物);

[0031] 其中,针对TSH受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),从而实现诊断和治疗的目的。

[0032] 本发明进一步提供了一段多肽序列,用于诊断或治疗与TSH受体的免疫反应相关的自身免疫疾病,该多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该一级结构组成,针对TSH受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0033] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个,或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0034] 如图1,3,5和7任一图中描述的任一段氨基酸序列,(所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:如图5所描述的任一氨基酸序列的TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构,或如图5所描述的任一氨基酸序列的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或如图3所描述的任一氨基酸序列的TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构,或如图3所描述的任一氨基酸序列的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物);

[0035] 其中,针对TSH受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体

和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，从而实现诊断和治疗的目的。

[0036] 更加优选，在诊断或治疗中优选使用下述的一段多肽序列，或包含一个或多个下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由这些一级结构组成的序列：

[0037] TSH受体的32-41位氨基酸、TSH受体的36-42位氨基酸、TSH受体的247-260位氨基酸、TSH受体的277-296位氨基酸、和TSH受体的381-385位氨基酸中的一个或多个，或上述序列中的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0038] (所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构，或TSH受体277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；和/或TSH受体的247-260位氨基酸的一级结构，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)；

[0039] 尤其是，根据本发明优选诊断或治疗用的多肽序列使用TSH受体的第277-296位氨基酸，或它的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物。

[0040] 尤其是，根据本发明优选诊断或治疗用的多肽序列使用TSH受体的第246-260位氨基酸，或它的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物。

[0041] 尤其是，根据本发明优选诊断或治疗用的多肽序列使用TSH受体的第247-260位氨基酸，或它的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物。

[0042] 本发明特别优选的诊断或治疗应用包含与TSH受体的免疫反应相关的自身免疫疾病的诊断和治疗：

[0043] (i)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0044] TSH受体的277-296位氨基酸，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；和

[0045] (ii)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0046] TSH受体的246-260位氨基酸，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0047] 其中，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，从而实现诊断和治疗的目的。

[0048] 尤其是，这些诊断或治疗用途中可包含：

[0049] (i)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0050] TSH受体的277-296位氨基酸，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；和

[0051] (ii)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0052] TSH受体的246-260位氨基酸，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0053] 其中，针对TSH受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，从而实现诊断和治疗的目的。

[0054] 此外，这些诊断或治疗用途还包含：

[0055] (i)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0056] TSH受体的277-296位氨基酸，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；和

[0057] (ii)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0058] TSH受体的246-260位氨基酸，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0059] 其中，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，从而实现诊断和治疗的目的。

[0060] 本发明特别优选的诊断或治疗应用包含与TSH受体的免疫反应相关的自身免疫疾病的诊断和治疗：

[0061] (i)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0062] 如图5所示的任一个氨基酸序列的TSH受体的277-296位氨基酸，或如图5所示的任一个氨基酸序列的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；和

[0063] (ii)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或

主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0064] 如图3所示的任一个氨基酸序列的TSH受体的246-260位氨基酸，或如图3所示的任一个氨基酸序列的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0065] 其中，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，从而实现诊断和治疗的目的。

[0066] 尤其是，这些诊断或治疗用途包含：

[0067] (i)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0068] 如图5所示的任一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸，或如图5所示的任一个氨基酸序列的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；和

[0069] (ii)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0070] 如图3所示的任一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸，或如图3所示的任一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0071] 其中，针对TSH受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，从而实现诊断和治疗的目的。

[0072] 此外，这些诊断或治疗用途可包含：

[0073] (i)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0074] 如图5所示的任一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸，或如图5所示的任一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；和

[0075] (ii)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0076] 如图3所示的任一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸，或如图3所示的

任一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0077] 其中，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，从而实现诊断和治疗的目的。

[0078] 本发明进一步优选上述的诊断或治疗用途，其利用：

[0079] (i)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0080] TSH受体的277-296位氨基酸，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；和

[0081] (ii)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0082] TSH受体的246-260位氨基酸，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0083] 进一步利用：

[0084] (iii)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0085] TSH受体的381-385位氨基酸，或TSH受体的381-385位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0086] 尤其是，这些优选的诊断或治疗用途用到：

[0087] (i)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0088] 如图5所示的任一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸，或如图5所示的任一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；和

[0089] (ii)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0090] 如图3所示的任一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸，或如图3所示的任一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；和

[0091] (iii)多肽序列含有或由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0092] 如图7所示的任一个氨基酸序列中的TSH受体的381-385位氨基酸，或如图7所示的任一个氨基酸序列中的TSH受体的381-385位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0093] 技术人员结合相应的图能更好理解，上述的氨基酸序列可以是人的、猪的、牛的、犬科动物的、猫科动物的、小鼠的、大鼠的或来源于绵羊的，上述每一物种中的特定的氨基酸序列在后面结合图1,3,5和7将会详细描述。

[0094] 本发明还提供了一个或多个TSH受体表位，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的一个或多个TSH受体表位包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0095] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0096] (尤其是TSH受体的277-296位氨基酸，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；或TSH受体的246-260位氨基酸，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)；

[0097] 尤其是，本发明还提供了一个或多个TSH受体表位，针对TSH受体的自身抗体能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，所述的一个或多个TSH受体表位包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0098] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0099] (尤其是TSH受体的277-296位氨基酸，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；或TSH受体的246-260位氨基酸，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)。

[0100] 此外，本发明还提供了一个或多个TSH受体表位，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的一个或多个TSH受体表位包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0101] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0102] (尤其是TSH受体的277-296位氨基酸，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；或TSH

受体的246-260位氨基酸，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)。

[0103] 本发明进一步提供了一个或多个TSH受体表位，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的一个或多个TSH受体表位包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0104] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0105] 如图1，3，5和7任一图所示的任一氨基酸序列(尤其是如图5所示的任一氨基酸中的TSH受体的277-296位氨基酸，或如图5所示的任一氨基酸中的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；或如图3所示的任一氨基酸中的TSH受体的246-260位氨基酸，或如图3所示的任一氨基酸中的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)。

[0106] 尤其是，本发明进一步提供了一个或多个TSH受体表位，针对TSH受体的自身抗体能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，所述的一个或多个TSH受体表位包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0107] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0108] 如图1，3，5和7所示的任一氨基酸序列(尤其是如图5所示的任一氨基酸的TSH受体的277-296位氨基酸，或如图5所示的任一氨基酸的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；或如图3所示的任一氨基酸的TSH受体的246-260位氨基酸，或如图3所示的任一氨基酸的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)。

[0109] 本发明进一步提供了一个或多个TSH受体表位，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的一个或多个TSH受体表位包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0110] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0111] 如图1，3，5和7所示的任一氨基酸序列(尤其是如图5所示的任一氨基酸中的TSH受体的277-296位氨基酸，或如图5所示的任一氨基酸中的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；或如图3所示的任一氨基酸的TSH受体的246-260位氨基酸，或如图3所示的任一氨基酸的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片

段的突变体、类似物或衍生物)。

[0112] 更优选的是,优选一个或多个TSH受体表位包含TSH受体的32-41位氨基酸、TSH受体的36-42位氨基酸、TSH受体的247-260位氨基酸、TSH受体的277-296位氨基酸、和TSH受体的381-385位氨基酸中的一个或多个,或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0113] (尤其是TSH受体的277-296位氨基酸,或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;或TSH受体的247-260位氨基酸,或TSH受体的247-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)。

[0114] 根据本发明的一个尤其优选的TSH受体表位,它包含下述氨基酸序列、或由下述氨基酸序列组成、或者主要是由下述氨基酸序列组成:TSH受体的277-296位氨基酸,或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)。

[0115] 根据本发明的一个尤其优选的TSH受体表位,它包含下述氨基酸序列、或由下述氨基酸序列组成、或者主要是由下述氨基酸序列组成:TSH受体的246-260位氨基酸,或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)。

[0116] 根据本发明的一个尤其优选的TSH受体表位,它包含下述氨基酸序列、或由下述氨基酸序列组成、或者主要是由下述氨基酸序列组成:TSH受体的247-260位氨基酸,或TSH受体的247-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)。

[0117] 本发明还提供了一种多肽,由于该多肽的存在,针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),并且它包含或是由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构组成,或者主要是由该一级结构组成,针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些结构序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0118] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个,或者上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0119] (尤其是TSH受体的277-296位氨基酸,或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或TSH受体的246-260位氨基酸,或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物),针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些氨基酸序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),不包括全长TSH受体。

[0120] 尤其是，本发明提供了一种多肽，针对TSH受体的自身抗体能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，并且它包含或是由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构(它是氨基酸残基的连续序列)组成，或者主要是由该一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0121] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0122] (尤其是TSH受体的277-296位氨基酸，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；和/或TSH受体的246-260位氨基酸，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)，针对TSH受体的自身抗体能与这些氨基酸序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，TSH受体的全长序列除外。

[0123] 此外，本发明提供了一种多肽，针对TSH受体的淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，并且它包含或是由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构(它是氨基酸残基的连续序列)组成，或者主要是由该一级结构组成，针对TSH受体的淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0124] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0125] (尤其是TSH受体的277-296位氨基酸，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；和/或TSH受体的246-260位氨基酸，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些氨基酸序列产生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，而TSH受体的全长序列除外。

[0126] 本发明进一步提供了一种多肽，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，并且它包含或是由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构(它是氨基酸残基的连续序列)组成，或者主要是由该一级结构组成，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0127] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0128] 如图1,3,5和7任一图中所示的任意一段氨基酸序列(尤其是如图5中所示的任意一段氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸,或如图5中所示的任意一段氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或如图3中所示的任意一段氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸,或如图3中所示的任意一段氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物);针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些氨基酸序列产生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),而TSH受体的全长序列除外。

[0129] 尤其是,本发明进一步提供了一种多肽,针对TSH受体的自身抗体能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),并且它包含或是由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构(它是氨基酸残基的连续序列)组成,或者主要是由该一级结构组成,针对TSH受体的自身抗体能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0130] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个,或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0131] 如图1,3,5和7中所示的任意一段氨基酸序列(尤其是如图5中所示的任意一段氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸,或如图5中所示的任意一段氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或如图3中所示的任意一段氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸,或如图3中所示的任意一段氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物),针对TSH受体的自身抗体能与这些氨基酸序列产生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),而TSH受体的全长序列除外。

[0132] 本发明进一步提供了一种多肽,针对TSH受体的淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),并且它包含或是由一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构(它是氨基酸残基的连续序列)组成,或者主要是由该一级结构组成,针对TSH受体的淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0133] TSH受体的22-91位氨基酸、TSH受体的246-260位氨基酸、TSH受体的260-363位氨基酸、和TSH受体的380-418位氨基酸中的一个或多个,或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0134] 如图1,3,5和7任一图中所示的任意一段氨基酸序列(尤其是如图5中所示的任意一段氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸,或如图5中所示的任意一段氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或如图3中所示的任意一段氨基酸序列中的TSH受

体的246-260位氨基酸，或如图3中所示的任意一段氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些氨基酸序列产生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，而TSH受体的全长序列除外。

[0135] 更优选的是，本发明优选的多肽包含一个或多个TSH受体表位的部分或全部一级结构，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0136] TSH受体的32-41位氨基酸、TSH受体的36-42位氨基酸、TSH受体的247-260位氨基酸、TSH受体的277-296位氨基酸、和TSH受体的381-385位氨基酸中的一个或多个，或者上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)。

[0137] 优选本发明的多肽包含下列序列、由下列序列组成，或者主要是由下列序列组成：TSH受体的277-296位氨基酸，或其一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0138] 优选本发明的多肽包含下列序列、由下列序列组成，或者主要是由下列序列组成：TSH受体的246-260位氨基酸，或其一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0139] 优选根据本发明的多肽包含下列序列、由下列序列组成，或者主要是由下列序列组成：TSH受体的247-260位氨基酸，或其一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0140] 优选本发明所提供的多肽，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，并且所述的多肽包含TSH受体表位的部分或全部一级结构，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，该多肽包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0141] (i)TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)；以及

[0142] (ii)TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)；

[0143] TSH受体的全长序列除外。

[0144] 更加优选的是本发明所提供的多肽，针对TSH受体的自身抗体能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，并且所述的多肽包含TSH受体表位的部分或全部一级结构，针对TSH受体的自身抗体能与该表位发生相互作用(在允

许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，该多肽包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0145] (i)TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)；以及

[0146] (ii)TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)；

[0147] TSH受体的全长序列除外。

[0148] 此外，本发明提供了一种多肽，针对TSH受体的淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，并且所述的多肽包含TSH受体表位的部分或全部一级结构，针对TSH受体的淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，该多肽包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0149] (i)TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)；以及

[0150] (ii)TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)；

[0151] TSH受体的全长序列除外。

[0152] 本发明进一步提供了一种多肽，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，并且所述的多肽包含TSH受体表位的部分或全部一级结构，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，该多肽包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0153] (i)如图5中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构，或如图5中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)；以及

[0154] (ii)如图3中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构，或如图3中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋

巴细胞相互作用的合适条件下)；

[0155] TSH受体的全长序列除外。

[0156] 更优选，本发明进一步提供了一种多肽，针对TSH受体的自身抗体能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，并且所述的多肽包含TSH受体表位的部分或全部一级结构，针对TSH受体的自身抗体能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)，该多肽包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0157] (i)如图5中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构，或如图5中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)；以及

[0158] (ii)如图3中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构，或如图3中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下)；

[0159] TSH受体的全长序列除外。

[0160] 本发明进一步提供了一种多肽，针对TSH受体的淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，并且所述的多肽包含TSH受体表位的部分或全部一级结构，针对TSH受体的淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)，该多肽包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0161] (i)如图5中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构，或如图5中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)；以及

[0162] (ii)如图3中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构，或如图3中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下)；

[0163] TSH受体的全长序列除外。

[0164] 本发明优选提供了一种多肽，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，并且所述的多肽包含TSH受体表位的部分或全部一级结构，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，该多肽包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0165] (i)TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构，或TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)；以及

[0166] (ii)TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构，或TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)；

[0167] (iii)TSH受体的381-385位氨基酸的一级结构，或TSH受体的381-385位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)；

[0168] TSH受体的全长序列除外。

[0169] 更优选的是，本发明进一步提供了一种多肽，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，并且所述的多肽包含TSH受体表位的部分或全部一级结构，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，该多肽包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0170] (i)如图5中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一级结构，或如图5中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的277-296位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)；以及

[0171] (ii)如图3中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一级结构，或如图3中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的246-260位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)；

[0172] (iii)如图7中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的381-385位氨基酸的一级结构，或如图7中的任意一个氨基酸序列中的TSH受体的381-385位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物，针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许TSH受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)；

[0173] TSH受体的全长序列除外。

[0174] 技术人员结合相应的图能更好理解，上述的氨基酸序列可以是人的、猪的、牛的、犬科动物的、猫科动物的、小鼠的、大鼠的或来源于绵羊的，上述每一物种中的特定的氨基酸序列在后面结合图1,3,5和7将会详细描述。合适地，根据本发明第二种技术方案的多肽，它包含对应于TSH受体一个以上表位的部分或全部一级结构氨基酸序列，对应于相应表位

的部分或全部一级结构的氨基酸序列可被氨基酸连接序列分离，以便所提供的特定氨基酸序列在构形、排列或序列上都能与TSH受体的活性位点的氨基酸序列相似或实质上类似，和/或能有效提供上述TSH受体的特定氨基酸序列，使其在构形、排列或序列上都最适合与此处所述的自身抗体和/或淋巴细胞产生相互作用。

[0175] 本发明优选的多肽序列和多肽包含分别由图1，3，5或7所示的特定的TSH受体氨基酸序列，或由该序列组成，或是主要由该序列组成。如上述所述，本发明还包括在此所述的特定氨基酸序列的“突变体”、“类似物”、“衍生物”和“片段”，当用来指示本发明的多肽序列和多肽时（例如，附图所示的具有特定氨基酸一级结构的多肽），所用的术语“突变体”、“类似物”、“衍生物”和“片段”是指和附图所示的具有特定氨基酸一级结构的多肽序列和多肽具有实质上相同的生物学功能或活性（根据在此表述的自身抗体和/或淋巴细胞相互作用）的多肽序列和多肽。合适地，在此所述的突变体、类似物、衍生物和片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物可具有如图所示的氨基酸一级结构，其中几个或少数一些（例如5到10，1到5或1到3）氨基酸残基以任何组合被取代、缺失或添加。尤其优选的是沉默的取代、缺失和添加，它们没有改变或没有实质上改变本发明上述多肽的生物活性或功能。保守取代也是优选的，这在后面会详细介绍。

[0176] 更优选的是，结合附图，在此描述的具有特定氨基酸一级结构的多肽突变体、类似物或衍生物可以是：

[0177] (i)其中一个或多个氨基酸残基被一个保守的或非保守的氨基酸残基取代（优选一个保守的氨基酸残基）；或

[0178] (ii)其中一个或多个氨基酸残基含有一个取代基；或

[0179] (iii)进一步含有额外的氨基酸，以便所有效提供的本发明多肽中特定氨基酸序列在构形、排列或序列上都能与TSH受体的活性位点的氨基酸序列相似或实质上类似，和/或有效提供的本发明多肽中上述TSH受体的特定氨基酸序列，使其在构形、排列或序列上都最适合与此处所述的自身抗体和/或淋巴细胞产生相互作用。

[0180] 这些突变体、类似物或衍生物是在本领域的技术人员的认识范围内的。

[0181] 一般来说，突变体、类似物或衍生物可以通过保守氨基酸取代而与参考序列（例如，附图所示的具有特定氨基酸一级结构的多肽）不同的多肽。这些取代可以利用类似性质的另一氨基酸取代多肽中的一个给定的氨基酸。常见的保守取代是在脂肪族氨基酸A、V、L和I上相互进行的取代；在羟基残基S和T上的相互取代；在酸性残基D和E上的相互取代；在酰胺残基N和Q上的相互取代；在碱性残基K和R上的相互取代；在芳香残基F和Y上的相互取代。

[0182] 优选本发明提供的突变体、类似物或衍生物进一步包含额外的氨基酸，以便所有效提供的本发明多肽中特定氨基酸序列在构形、排列或序列上都能与TSH受体的活性位点的氨基酸序列相似或实质上类似，和/或有效提供的本发明多肽中上述TSH受体的特定氨基酸序列，使其在构形、排列或序列上都最适合与此处所述的自身抗体和/或淋巴细胞产生相互作用。

[0183] 更加优选，所用的术语“片段”代表的多肽具有的氨基酸序列与具有图示的特定氨基酸一级结构的多肽及其突变体或衍生物的氨基酸一级结构的部分序列（而非全部）完全相同，这些片段可以是“自由形式的（free standing）”，也就是，不是其它氨基酸或多肽的

部分或与其它氨基酸或多肽融合，或是其它更大的多肽的部分或一个区域。本领域的技术人员能够理解到，本发明的片段含有或包含在此所述的TSH受体的一个或多个表位的氨基酸一级结构，以便能和自身抗体和/或淋巴细胞相互作用。

[0184] 因此，本发明的包括含有图示的特定氨基酸的一级结构多肽，并且多肽(即上述的突变体、类似物和衍生物)至少具有与图示的特定氨基酸的一级结构多肽70%的同一性，优选至少80%同一性，更加优选具有至少90%的同一性，更优选与图示的特定氨基酸的一级结构多肽具有至少95%的同一性，并且本发明的多肽还包含上述多肽序列的片段。

[0185] 本发明的多肽还可通过表达后面将要提到的本发明的多聚核苷酸来获得。此外，本发明的多肽还可通过本领域公知的技术，由多肽合成仪来合成。本发明通过这些方式获得的多肽不会与其它真核多肽或污染物结合，而在天然环境中这些真核多肽或污染物则可能与所述多肽结合。

[0186] 在此所述的本发明的多肽可以用各种制备重组蛋白的系统表达。例如，在E coli表达系统中，编码本发明合适多肽的cDNA译码可被克隆到载体中，如pET22、pMEX8、pGEX2T或pQE81L His或其对应物。在酵母中表达时(例如，Saccharomyces cerevisiae或Schizosaccharornyces pombe)，可以使用的载体例如，pYES2、pESP2或pYES2/CT或其对应物。AcMNPV(Bac-N-Blue)载体或其对应物可被用在昆虫细胞中的表达，pRC/CMV、pcDNA3.1载体或它们的对应物可被用在哺乳细胞中的表达，例如中国苍鼠卵巢细胞(CHO)。本发明的多肽可以不连续的蛋白方式被表达，或以融合蛋白的方式连接到例如谷胱甘肽S转移酶(GST)或多组氨酸连接处。在不连续的蛋白表达方式中，使用亲和柱层析纯化，其中色谱柱上的琼脂糖颗粒偶联了针对本发明多肽相应部分的鼠单克隆抗体。如果本发明的多肽与GST融合，则可使用谷胱甘肽琼脂糖层析纯化来分离融合蛋白。能够使用特定的蛋白酶将GST与本发明的多肽分开，接着使用第二轮谷胱甘肽琼脂糖层析来将GST和本发明的多肽分离。在多肽与多组氨酸连接的情况下，可使用固定金属亲和层析来纯化。

[0187] 本发明进一步提供了制备前述多肽的方法，其包括下述步骤：

[0188] (i)提供一种前述的宿主细胞；

[0189] (ii)培养宿主细胞；并且

[0190] (iii)从中回收本发明的多肽。

[0191] 可使用常规的分离和纯化技术来回收本发明的多肽，例如本领域普通技术人员公知的层析分离和免疫分离技术。

[0192] 本发明进一步的技术方案所提供的多聚核苷酸包括：

[0193] (i)编码前述多肽的核苷酸序列；

[0194] (ii)编码前述多肽的核苷酸序列，其中该多肽包含一段或多段如图1,3,5和7任意一个所示的TSH受体的特定氨基酸序列；

[0195] (iii)编码(ii)中多肽的核苷酸序列，其中核苷酸序列包含编码上述图1,3,5和7任意一个所示的TSH受体特定氨基酸的核苷酸碱基，该核苷酸碱基分别由图2,4,6和8定义；

[0196] (iv)核苷酸序列，由于遗传密码的简并性而在密码子序列上不同于序列(iii)；

[0197] (v)核苷酸序列，它含有序列(iii)的等位突变；

[0198] (vi)核苷酸序列，它含有(i)，(ii)，(iii)，(iv)或(v)序列中任意一个的片段；或

[0199] (vii)核苷酸序列，它在严格条件下能和(i)，(ii)，(iii)，(iv)，(v)或(vi)中任意

一个序列杂交。

[0200] 本发明多肽的核苷酸碱基，它编码上述本发明多肽的表位区域，概述如下：

[0201]

氨基酸序列数	核苷酸序列数
22-91	64-273
32-41	94-123
36-42	106-126
246-260	736-780
247-260	739-780
260-363	778-1089
277-296	829-888
380-418	1138-1254
381-385	1141-1155

[0202] 本发明的多聚核苷酸可以是DNA形式，包括例如cDNA、合成的DNA和基因组DNA，它们可以是克隆获得的、或化学合成的，或两种技术的组合获得的。本发明的优选的实施方式包括cDNA或合成的DNA。

[0203] 编码本发明多肽的编码序列可以和上述(iii)中的以及图2、4、6和8中任意一个的多聚核苷酸编码序列相同。它也可以是具有不同序列的多聚核苷酸，由于遗传密码的冗余(简并)而编码本发明的多肽。

[0204] 本发明进一步涉及上述多聚核苷酸的突变体，它编码具有图示的特定氨基酸一级结构的多肽，或该多肽的突变体、类似物、衍生物或片段，或片段的突变体、类似物或衍生物，如前文所详细表述的。多聚核苷酸的突变体可以是自然突变体，例如自然产生的等位突变体，或可预知的天然突变体。那些非天然产生的多聚核苷酸突变体可以是由突变技术制备的。

[0205] 突变体可以是通过核苷酸取代、缺失或添加而与前述多聚核苷酸不同的突变体。取代、缺失或添加可以涉及一个或多个核苷酸。如前所述，编码区域的改变可以产生保守的或非保守的氨基酸取代、缺失或添加。

[0206] 适宜地，本发明的突变多聚核苷酸与编码图示的特定氨基酸一级结构多肽的多聚核苷酸以及与此多聚核苷酸互补或杂交的多聚核苷酸的全长序列具有至少70%的同一性。此外，更加优选的多聚核苷酸是与编码图示的特定氨基酸一级结构多肽的多聚核苷酸以及与此多聚核苷酸互补或杂交的多聚核苷酸的全长序列具有至少80%同一性。尤其优选的核苷酸与上述序列具有至少90%同一性，更优选具有至少95%同一性。在具有至少95%同一性的多聚核苷酸中，优选具有至少97%同一性的多聚核苷酸，更优选具有至少98%和至少99%同一性，最有选的是具有至少99%同一性的多聚核苷酸。

[0207] 事实上，如前所述，本发明进一步涉及与前述序列杂交的多聚核苷酸。在这一点，本发明尤其涉及在严格条件下与前述多聚核苷酸杂交的多聚核苷酸。在此所用的术语“严格条件”意思是只有在序列之间存在至少95%和优选至少97%的互补情况下才会发生杂交。

[0208] 本发明还涉及载体，它包含本发明的一种或多种多聚核苷酸，还涉及含有本发明载体的基因工程宿主细胞，以及用重组技术生产本发明的多肽。

[0209] 因此，本发明进一步提供了具有生物功能的载体系统，它含有前述的多聚核苷酸，并且能够将多聚核苷酸导入宿主微生物的基因组中。

[0210] 通过遗传工程的方式可以使多聚核苷酸被整合到宿主细胞中，并表达本发明的多肽，并且本发明进一步提供了一种宿主细胞，该宿主细胞被分别由本发明前述的多聚核苷酸、或载体系统转化或转染。合适的DNA序列可以通过本发明任一种公知的技术被插入到载体中。

[0211] 根据本发明一个尤其优选的实施方式，本发明还提供了一种方法，用来从受试者(尤其是人)的体液样品中筛选针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞，该受试者怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者，所述方法包含：

[0212] (a)提供：(i)从所述受试者中获得的所述体液样品或(ii)从所述样品中分离到的淋巴细胞；

[0213] (b)将所述的样品或分离到的淋巴细胞与前述的本发明的多肽接触(在允许TSH受体和这些针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)，以便允许所述的多肽能够和针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞相互作用，该抗体或淋巴细胞存在于所述的样品中或从所述的样品中分离到；以及

[0214] (c)监测所述的多肽与所述的针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞相互作用的程度和效果，其中该抗体或淋巴细胞存在于所述的样品中或从所述的样品中分离到，因而提供了所述自身抗体或所述淋巴细胞存在于样品中或从样品中分离的指示。

[0215] 实际上，如上所述，本发明的方法适合用来从受试者的体液样品中筛选针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞。本发明的方法，尤其适合用来从受试者的体液样品中筛选针对TSH受体的自身抗体，这在后面会有详细叙述。

[0216] 本发明尤其提供了一种方法，用来从受试者(尤其是人)的体液样品中筛选针对TSH受体的自身抗体，该受试者怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者，所述方法包含：

[0217] (a)从所述受试者中提供所述的体液样品；

[0218] (b)将所述的样品与前述的本发明的多肽接触(在允许TSH受体和这些针对TSH受体的自身抗体相互作用的合适条件下)，以便允许所述的多肽能够和针对TSH受体、并存在于所述的样品中的自身抗体相互作用；以及

[0219] (c)监测所述的多肽与所述的针对TSH受体、并存在于所述的样品中的自身抗体相互作用的程度，因而提供了所述自身抗体存在于样品中的指示。

[0220] 典型地，本发明的方法还用到对照，例如，从正常受试者中获得的体液样品，换句话说，受试者没有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病。

[0221] 筛选本发明TSH受体的自身抗体的方法包括：直接监测(i)受试者体液样品中针对TSH受体的自身抗体与(ii)多肽的相互作用，如本发明前面所述，使用本领域已知的典型的非竞争性的三明治型检测方法。

[0222] 典型地，本发明使用非竞争性技术的方法监测前述的(i)样品中TSH受体的自身抗体与(ii)本发明多肽相互作用的程度，该方法包括给本发明前述的多肽或者TSH受体自身抗体的结合对应物提供标记的方法，任一种技术都能够达到监测前述相互作用的目的。例

如，本发明的方法可包括直接地或间接地标记本发明前述的多肽；将该标记的多肽与准备筛选TSH受体自身抗体的体液样品接触，从而提供它们的混合物；往混合物中加入存在于体液样品中的TSH受体自身抗体的结合对应物(如，抗IgG试剂)，从而导致了混合物中标记的多肽和TSH受体自身抗体的任一复合物的沉淀。此外，优选本发明的方法进一步包含往混合物中加入TSH受体自身抗体的标记过的结合对应物(例如，标记的抗IgG试剂，如蛋白A或抗人IgG，或标记的TSH受体的全长序列或它的表位)，其中混合物是通过接触(i)固定到支持物上的本发明前述的多肽和(ii)准备用来筛选TSH受体自身抗体的体液样品而得到的。

[0223] 此外，还优选使用已知的竞争性检测方法，从本发明的体液样品中筛选TSH受体的自身抗体。例如，本发明的方法可使用至少一个竞争物，该竞争物能与TSH受体的自身抗体竞争结合本发明前述的多肽。

[0224] 典型地，本发明的竞争性检测方法中使用的竞争物可包含一个或多个抗体，该抗体可以是天然的，或部分或全部合成得到的。本发明使用的竞争物可选择性的含有任何其它具有结合结构域或区域的蛋白(例如TSH)，该含有结合结构域或区域的蛋白能够与TSH受体的自身抗体竞争结合本发明前述的多肽。优选地，本发明使用的竞争物包含单克隆抗体，重组抗体和多克隆抗体(尤其是单克隆抗体)，它们能与TSH受体的自身抗体竞争结合本发明前述的多肽。

[0225] 因此典型地，本发明的竞争性检测方法可进一步包含提供至少一个竞争物，例如单克隆或多克隆抗体，从而在所述方法的步骤(b)中本发明前述的多肽能够与竞争物，如单克隆或多克隆抗体，或者所述样品中的TSH受体的自身抗体相互作用。

[0226] 典型地，根据本发明在竞争性检测方法中监测包括比较：

[0227] (i)在不存在待筛选的体液样品(也就是疑似疾病样品)，但正常受试者的体液样品、也就是没有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病的受试者的体液样品任意存在的条件下，本发明前述的多肽与一个或多个前述的竞争物(尤其是单克隆或多克隆抗体)的相互作用；与

[0228] (ii)在存在待筛选的体液样品(也就是疑似疾病样品)的条件下，本发明前述的多肽与一个或多个前述的竞争物(尤其是单克隆或多克隆抗体)的相互作用。

[0229] 典型地，这种比较涉及观察与(i)相比(ii)中的竞争物与本发明前述多肽之间相互作用的减小，以便能为所述样品中存在TSH受体的自身抗体提供指征。一般地，可以通过直接或间接地标记竞争物，在含有和不含有准备筛选TSH受体自身抗体的体液样品的条件下，监测上述标记的竞争物与本发明多肽的相互作用间的任何变化，从而观察到相互作用的减小。合适地，本发明前述的多肽可被固定住以便进行上述的监测。

[0230] 本发明尤其提供了一种从受试者(尤其是人)的体液样品中筛选针对TSH受体的自身抗体的方法，该受试者怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者，所述方法包含：

[0231] (a)提供来自所述受试者的所述体液样品；

[0232] (b)使所述样品接触：

[0233] (i)TSH受体的全长序列(尤其是重组获得的TSH受体的全长序列)接触，和

[0234] (ii)至少一个竞争物接触，其中该竞争物能与本发明的TSH受体自身抗体竞争结合本发明前述的多肽，

[0235] (在允许TSH受体和这些针对TSH受体的自身抗体相互作用的合适条件下),以便允许所述的TSH受体的全长序列与所述样品中TSH受体的自身抗体或所述的竞争物相互作用;并且

[0236] (c)监测所述的TSH受体的全长序列与所述样品中的自身抗体相互作用,因而提供了所述的TSH受体自身抗体存在于样品中的指示。

[0237] TSH受体的全长序列可以是人的、猪的、牛的、犬科动物的、猫科动物的、小鼠的、大鼠的或来源于绵羊的,更优选是重组获得的TSH受体的全长序列。在该检测中使用的竞争物通常包括前述的单克隆或多克隆抗体(优选单克隆)。

[0238] 在本发明的方法中使用的合适的可探测到的标记物选自酶标记物、同位素标记物、化学发光标记物、荧光标记物,染料等。

[0239] 在使用同位素标记(例如^{125}I,^{14}C,^{3}H或^{35}S)的情况下,监测包括测定放射性,该放射性依赖于本发明前述多肽的结合。一般用gamma计数器或液态闪烁计数器来测定放射性。

[0240] 在根据本发明筛选淋巴细胞的方法下,一般优选首先使用本领域公知的技术从受试者体液样品中分离到淋巴细胞,接着与本发明的多肽接触来刺激分离的淋巴细胞的增殖。监测本发明的多肽与上述增殖的淋巴细胞相互接触的效果,一般使用本领域公知的技术来监测淋巴细胞的增殖。

[0241] 根据本发明进一步优选的实施方式,提供了一种试剂盒用来筛选受试者(尤其是人)体液样品中针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞,该受试者怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述的试剂盒包括:

[0242] (a)本发明前述的多肽;

[0243] (b)用于将(i)从所述受试者中获得的所述体液样品,或(ii)从所述受试者体液样品中分离到的淋巴细胞,与本发明前述的的多肽接触(在允许TSH受体和这些针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)的装置(means),以便允许所述的多肽能够与针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞相互作用,该抗体或淋巴细胞存在于所述的样品中或从所述的样品中分离到;以及

[0244] (c)用于监测所述的多肽与所述的针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞相互作用的程度和效果的装置,其中该抗体或淋巴细胞存在于所述的样品中或从所述的样品中分离到,从而为所述自身抗体或所述淋巴细胞存在于样品中或从样品中分离出提供指征。

[0245] 实际上,如上所述,本发明的试剂盒适合用来从受试者的体液样品中筛选针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞。本发明的试剂盒,尤其适合用来从受试者的体液样品中筛选针对TSH受体的自身抗体,在后面会有详细叙述。

[0246] 本发明尤其提供了一种试剂盒,用来从受试者(尤其是人)的体液样品中筛选针对TSH受体的自身抗体,该受试者怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述试剂盒包含:

[0247] (a)本发明前述的多肽;

[0248] (b)用于将从所述受试者中获得的所述体液样品与前述的本发明的多肽接触(在允许TSH受体和这些针对TSH受体的自身抗体相互作用的合适条件下),以便允许所述的多肽能够与存在于所述样品中的针对TSH受体的自身抗体相互作用的装置(means);以及

[0249] (c)用于监测所述的多肽与所述的存在于所述样品中的针对TSH受体的自身抗体相互作用的程度，从而为所述自身抗体存在于样品中提供指征的装置。

[0250] 典型地，本发明的试剂盒还包括对照，例如，从正常受试者、也就是没有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病的受试者中获得体液样品。

[0251] 筛选本发明TSH受体的自身抗体的试剂盒可以包括直接监测(i)受试者体液样品中的针对TSH受体的自身抗体与(ii)如本发明前述的多肽的相互作用的装置，典型地包括本领域已知的非竞争性三明治型检测方法。

[0252] 典型地，本发明的试剂盒包含非竞争性的检测方法，用来监测(i)前述样品中的TSH受体的自身抗体与(ii)本发明多肽的相互作用的程度，该方法包括给本发明前述的多肽或者TSH受体自身抗体的结合对应物提供标记物，任一种技术都能够达到监测前述相互作用的目的。例如，本发明的试剂盒可包括直接地或间接地标记本发明前述的多肽；将该标记的多肽与准备筛选TSH受体自身抗体的体液样品接触，从而提供它们的混合物；存在于体液样品中的TSH受体自身抗体的结合对应物(如，抗IgG试剂)；往混合物中加入该结合对应物，从而导致了混合物中标记的多肽和TSH受体自身抗体的任意一种复合物的沉淀。此外，优选本发明的试剂盒进一步包含往混合物中加入TSH受体自身抗体的标记过的结合对应物(例如，标记的抗IgG试剂，如蛋白A或抗人IgG，或标记的TSH受体的全长序列或它的表位)，其中混合物是通过接触(i)固定到支持物上的本发明前述的多肽和(ii)准备用来筛选TSH受体自身抗体的体液样品而得到的。

[0253] 此外，还优选使用包含已知的竞争性检测方法的试剂盒从本发明的体液样品中筛选TSH受体自身抗体。例如，本发明的试剂盒可使用至少一个竞争物，该竞争物能与TSH受体的自身抗体竞争结合本发明前述的多肽。

[0254] 典型地，本发明的竞争性检测试剂盒中使用的竞争物可包含一个或多个抗体，该抗体可以是天然的，或部分或全部合成得到的。本发明使用的竞争物可选择性的含有任何其它具有结合结构域或区域的蛋白(例如TSH)，该含有结合结构域或区域的蛋白能够与TSH受体的自身抗体竞争结合本发明前述的多肽。优选地，本发明使用的竞争物包含单克隆抗体或多克隆抗体(尤其是单克隆抗体)，它们能与TSH受体的自身抗体竞争结合本发明前述的多肽。

[0255] 因此典型地，本发明的竞争性检测试剂盒可进一步包含提供至少一个竞争物，例如单克隆或多克隆抗体，从而本发明前述的多肽能够与竞争物，如单克隆或多克隆抗体，或者所述样品中的TSH受体的自身抗体相互作用。

[0256] 典型地，根据本发明监测竞争性检测的试剂盒包括比较：

[0257] (i)在不存在待筛选的体液样品(也就是疑似疾病样品)，并且但正常受试者的体液样品、也就是没有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病的受试者的体液样品任意存在的条件下，本发明前述的多肽与一个或多个前述的竞争物(尤其是单克隆或多克隆抗体)的相互作用；与

[0258] (ii)在存在待筛选的体液样品的条件下，本发明前述的多肽与一个或多个前述的竞争物(尤其是单克隆或多克隆抗体)的相互作用。

[0259] 典型地，这种比较涉及观察与(i)相比(ii)中的竞争物与本发明前述多肽之间相互作用的减小，以便能为所述样品中存在TSH受体的自身抗体提供指征。一般地，可以通过

直接或间接地标记竞争物，在含有和不含有准备筛选TSH受体自身抗体的体液样品的条件下，监测上述标记的竞争物与本发明多肽的相互作用间的任何变化，从而观察到相互作用的减小。合适地，本发明前述的多肽可被固定住以便进行上述的监测。

[0260] 本发明尤其提供了一种试剂盒，用来从受试者(尤其是人)的体液样品中筛选针对TSH受体的自身抗体，该受试者怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者，所述试剂盒包含：

[0261] (a) TSH受体的全长序列(尤其是重组获得的TSH受体的全长序列)；

[0262] (b) 至少一个竞争物，其中该竞争物能与本发明的TSH受体自身抗体竞争结合本发明前述的多肽，

[0263] (c) 用来接触来源于受试者的体液样品、所述的TSH受体全长序列和所述的竞争物(在允许TSH受体和这些针对TSH受体的自身抗体相互作用的合适条件下)，以便允许所述的TSH受体全长序列与所述样品中TSH受体的自身抗体或所述的竞争物相互作用的装置(means)；并且

[0264] (d) 监测所述的TSH受体全长序列与所述样品中的自身抗体相互作用，因而为所述的TSH受体自身抗体存在于样品中提供指征的装置。

[0265] TSH受体的全长序列可以是人的、猪的、牛的、犬科动物的、猫科动物的、小鼠的、大鼠的或来源于绵羊的，更优选是重组获得的TSH受体全长序列。在该检测试剂盒中使用的竞争物通常包括前述的单克隆或多克隆抗体(优选单克隆)。

[0266] 在本发明的试剂盒中使用的合适的可探测到的标记物选自酶标记物、同位素标记物、化学发光标记物、荧光标记物，染料等。

[0267] 在使用同位素标记(例如^{125}I，^{14}C，^{3}H或^{35}S)的情况下，监测包括测定放射性，该放射性依赖于本发明前述多肽的结合。一般用gamma计数器或液态闪烁计数器来测定放射性。

[0268] 在利用本发明筛选淋巴细胞的试剂盒的情况下，一般优选首先使用本领域公知的技术从受试者体液样品中分离到淋巴细胞，接着与本发明的多肽接触来刺激分离的淋巴细胞的增殖。本发明的试剂盒还提供了监测本发明的多肽与上述增殖的淋巴细胞相互接触效果的手段(也为本领域所公知)。

[0269] 从前文的描述可知，本发明提供了检测方法和试剂盒，用来检测针对体液样品中TSH受体的自身抗体(尤其)或淋巴细胞。针对体液样品中TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞(或至少是样品中这类自身抗体和/或淋巴细胞的水平)是可检测出的，检测结果可表明在受试者中是否存在与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病，其中样品是从该受试者中获得的，该检测可以用来诊断与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病的征兆或疾病的存在与否。

[0270] 因此，本发明进一步提供了一种方法，该方法用来诊断在受试者(尤其是人)中与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病的征兆或疾病的存在与否，其中该受试者怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者，所述方法包含检测受试者体液样品中针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞，因而，检测到的自身抗体和/或淋巴细胞可以用来诊断在受试者中与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病的征兆或疾病的存在与否。

[0271] 本发明进一步提供了一种方法，该方法用来在动物受试者(尤其是人)中推迟或预

防与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病的发作，其中该受试者怀疑患有或容易患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者，所述方法包含首先检测受试者体液样品中针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞，因而，该自身抗体和/或淋巴细胞是受试者中与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病的发作或存在的指征，根据上述指征对受试者与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病的发作征兆进行诊断，以便推迟与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病的发作和/或预防该疾病.

[0272] 本发明前述的多肽尤其适合用于与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病的治疗。例如，通过给予怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者是该自身免疫疾病的康复者的受试者(尤其是人)本发明前述的多肽，会产生耐受性。

[0273] 因而，本发明进一步提供了一种药物组合物，其包括本发明前述的多肽，以及药学上可接受的载体，稀释剂或赋形剂，其中该多肽可以和针对TSH受体的自身抗体和/或淋巴细胞相互作用。

[0274] 本发明进一步提供了前述的多肽在制备治疗甲状腺机能亢进疾病的药物中的应用。

[0275] 本发明所述的组合物或药物应包含治疗有效量或预防有效量的至少一种本发明的多肽，以及药学上可接受的载体。药学载体可以是任何适合用于向病人给予多肽的可相容的、无毒的物质。无菌水、酒精、脂肪、蜡和惰性固体都可用作载体。药学上可接收的佐剂、缓冲试剂、分散剂等也可加到药物组合物中。这种组合物可包含本发明中的单个多肽或含有两个或更多的多肽。

[0276] 也可将本发明的多肽与免疫球蛋白，如IgG偶联，或与患者的淋巴细胞偶联，用来促进耐受性。这种方法记载在Bradley-Mullen,Activation of Distinct Subsets of T Suppressor Cells with Type III Ptzemnococcal Polysaccharide Coupled to Syngeneic Spleen Cells,in:IMMUNOLOGICAL TOLERANCE TO SELF AND NON-SELF, Buttisto et al.,eds.,Annals N.Y.Acad.Sci.Vol.392,pp156-166,1982。此外，多肽可经过修饰以便保持或促进与MHC的结合，同时减少或消除与相关的T细胞受体的结合。在该方法下，经修饰过的多肽可与天然TSH受体竞争，用来抑制辅助T细胞活化，从而抑制免疫反应。在该情况下，需要注意，给予的本发明的药物组合物能改善但不会加强自身免疫反应。

[0277] 本发明的药物组合物能用于肠道外给药。优选，组合物可肠道外给药，即皮下、肌肉内或静脉内给药。因此，本发明包括以肠道外给药的方式给予患者的组合物，该组合物包含存在于如前所述的可接受载体中的多肽的溶液或分散体。药物组合物中的多肽浓度可在很大范围内变动，即，从小于约0.1%重量比，通常小于约1%重量比，到20%重量百分比或更大的范围内变动。典型的用于肌肉内注射的药物组合物含有，例如，1ml的无菌缓冲水和1至100μg的本发明的纯化多肽。一种用于静脉灌输的典型的组合物包含100至500ml的无菌Ringer's溶液，以及100至500mg的本发明纯化的多肽。制备肠道外给药组合物的实际方法是本领域公知的，并且在多处都有详细记载，如Remington's Pharmaceutical Science, 15th Edition,Mack Publishing Company,Easton,Pa.(1980)。

[0278] 除了直接使用本发明的多肽用于药物组合物中，还可根据下述的原理将本发明的多肽用于增加受试者对TSH受体的耐受性，该受试者怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者。更特别的是，可使

用常规方法收集受试者的外周血淋巴细胞，并如上所述与本发明的多肽相接触而刺激淋巴细胞。通常，可存在其它的有丝分裂素和生长强化子，例如植物血球凝集素、白细胞介素2，及其它。在本发明多肽的刺激下，增殖的T辅助细胞可被分离和克隆。然后持续增殖的克隆可用来制备应用于受试者的治疗组合物。克隆的T细胞可通过诸如暴露于辐射等方式被弱化，然后给予受试者用来诱导耐受。此外，T细胞受体或它的一部分可通过常规的蛋白纯化方法从克隆的T细胞中分离到，然后给予受试者。这种免疫治疗方法可参考Sinha et al. (1990)Science248:1380-1388。

[0279] 在某些情况下，T辅助细胞被上述克隆后，也可从T细胞受体中开发治疗用肽，这种肽能有效治疗怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病的病人，或者刚从该自身免疫疾病中康复的病人。在这种情况下，可通过常规方法分离并克隆T细胞受体基因，并通过上述的重组技术生产基于该受体的肽。然后，可将重组方法获得的肽加入到上述的药物组合物中。

[0280] 本发明还提供了一种克隆针对TSH受体的淋巴细胞的方法，该方法包括：提供淋巴细胞源；

[0281] 将淋巴细胞与本发明前述的多肽接触，以便使所述的淋巴细胞增殖；并且分离和克隆增殖的淋巴细胞。

[0282] 本发明还提供了上述制备得到的克隆的淋巴细胞在治疗与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病中的应用。因此，提供了一种药物组合物，含有上述制备到的克隆的淋巴细胞、药学上可接受的载体、稀释剂和赋形剂，以及这种克隆的淋巴细胞在制备治疗与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病，尤其是甲状腺机能亢进疾病，的药物中的应用。

[0283] 本发明还提供了一个或多个治疗剂，该治疗剂通过接触含有前述的TSH受体的一个或多个表位的部分或全部一级结构的氨基酸序列而产生治疗效果，本发明进一步提供了一个或多个治疗剂，该治疗剂通过接触含有前述的TSH受体的一个或多个表位的部分或全部一级结构的氨基酸序列而产生治疗效果，并且用于治疗与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病。

[0284] 本发明还进一步提供了一种治疗与受试者TSH受体免疫反应相关的自身免疫性疾病的方法，该方法包括首先按前述方法检测受试者的体液样品中针对TSH受体的自身抗体或淋巴细胞，从而对受试者的自身免疫性疾病进行诊断，然后给予受试者治疗有效剂量的至少一种能够有效治疗这种自身免疫疾病的治疗剂，例如本发明前述的多肽。

[0285] 本发明还进一步提供了一种治疗与受试者(尤其是人类受试者)TSH受体免疫反应相关的自身免疫性疾病的治疗方法，该方法包括给予受试者治疗有效剂量的治疗剂，该治疗剂通过与包含前述TSH受体的一个或多个表位的氨基酸一级结构的部分或全部序列的氨基酸相互反应，从而起到治疗效果。

[0286] 所给予的治疗剂的量根据所治疗的特定的自身免疫性疾病的情况而确定，该情况可能为患者的年龄，最终要依靠治疗医生的判断。

[0287] 本发明还进一步提供了前述的试剂盒与治疗有效量的至少一种可有效治疗与TSH受体免疫反应相关的自身免疫性疾病的治疗剂的联合应用。

[0288] 如前所述，本发明筛选的体液样品一般包括血液样品或其它液态血液的部分，例如尤其是血清样品或血浆样品，但该样品通常可以是另外的生物液体，如唾液或尿液或可

溶性组织提取物，或通过活组织穿刺法得到的液体。

[0289] 本发明还提供了TSH受体的结合对应物，例如TSH受体的抗体、或者TSH受体的抗体的片段，该结合对应物能够与前述的TSH受体的一个或多个表位相互反应，尤其是TSH受体的277-296位的氨基酸片段。合适地，本发明的抗体可以是单克隆抗体(优选)、重组抗体或多克隆抗体。本发明提供的典型的抗体，例如单克隆抗体，都是纯化的形式。

[0290] 更特异地，本发明提供的单克隆抗体可以包括任意的单克隆抗体3C7，2B4，8E2，18C5，4D7，16E5，17D2，3B3以及14D3，或者上述抗体的活性片段，这些单克隆抗体或者片段在实施例中以及接下来的附图中进行了详细地描述。实施例中描述的诸如2B4，8E2，18C5，4D7，16E5，17D2，3B3以及14D3等抗体或者其活性片段优选具有对TSH受体的高亲和力，如最少约为$10^8 mol^{-1}$。因此，本发明进一步提供了对TSH受体的一个或多个表位的亲和力至少约为$10^8 mol^{-1}$的单克隆抗体，该表位由TSH受体的下述氨基酸序列之一提供：

[0291] TSH受体的22至91位氨基酸；或者

[0292] TSH受体的246至260位氨基酸；

[0293] 或者更特异地，包含TSH受体的下述氨基酸序列之一：

[0294] TSH受体的36至42位氨基酸；或者

[0295] TSH受体的247至260位氨基酸。

[0296] 本发明还提供了对TSH受体的一个或多个表位的亲和力至少约为$10^8 mol^{-1}$的单克隆抗体，该表位由TSH受体的下述氨基酸序列之一提供：

[0297] TSH受体的32至41位氨基酸；或者

[0298] TSH受体的277至296位氨基酸。

[0299] 本发明特别优选的实施例提供了TSH受体的结合对应物，该结合对应物能够与TSH受体结合从而刺激TSH受体，该结合对应物不包括TSH或TSH受体的天然制备的自身抗体。

[0300] 优选的结合对应物包括抗体，尤其是单克隆或者重组抗体(优选单克隆)，其能够与TSH受体结合，从而刺激TSH受体。本文公开的能够通过这种途径刺激TSH受体的单克隆抗体的实例包括4D7，16E5，17D2和14D3。

[0301] 本发明的优选情况提供了TSH受体的结合对应物，该结合对应物能够与TSH受体结合，从而刺激TSH受体，其包含：

[0302] 抗体V_H结构域，其选自下述组成的组：

[0303] 图10、14、18、22、42、46或50所示的V_H结构域，包含一个或多个V_HCDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图10所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列，包含一个或多个V_H CDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图14所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列，包含一个或多个V_H CDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图18所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列，包含一个或多个V_H CDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图22所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列，包含一个或多个V_H CDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图42所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列，包含一个或多个V_H CDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图46所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列，包含一个或多个V_H CDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图50所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列；和/或

[0304] 抗体V_L结构域，其选自下述组成的组：

[0305] 图12、16、20、24、44、48或52所示的V_L结构域，包含一个或多个V_LCDR的V_L结构域，所

述V_L CDR具有与图12所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列，包含一个或多个V_L CDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图16所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列，包含一个或多个V_L CDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图20所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列，包含一个或多个V_L CDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图24所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列，包含一个或多个V_L CDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图44所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列，包含一个或多个V_L CDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图48所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列，包含一个或多个V_L CDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图52所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列。

[0306] 本发明前述结合对应物优选包含与前述抗体V_L结构域成对的前述抗体V_H结构域，从而使提供的TSH受体的抗体结合位点包含V_H和V_L结构域，尽管进一步的讨论说明抗体V_H结构域或抗体V_L结构域各自独立地用于与TSH受体结合。因此前述的结合对应物优选可包含前述抗体V_H结构域而不包含抗体V_L结构域。前述的结合对应物同样优选可包含前述抗体V_L结构域而不包含抗体V_H结构域。相应地，前述的结合对应物可以包含与前述抗体V_L结构域成对的抗体V_H结构域，其提供的TSH受体的抗体结合位点包含V_H和V_L结构域。

[0307] 因此本发明优选的实施例可以包括前述的结合对应物，其包含与图12所示抗体V_L结构域成对的图10所示的抗体V_H结构域，从而为TSH受体提供包含V_H和V_L结构域的抗体结合位点；或者包括前述的结合对应物，其包含与图16所示抗体V_L结构域成对的图14所示的抗体V_H结构域，从而为TSH受体提供包含V_H和V_L结构域的抗体结合位点；或者包括前述的结合对应物，其包含与图20所示抗体V_L结构域成对的图18所示的抗体V_H结构域，从而为TSH受体提供包含V_H和V_L结构域的抗体结合位点；或者包括前述的结合对应物，其包含与图24所示抗体V_L结构域成对的图22所示的抗体V_H结构域，从而为TSH受体提供包含V_H和V_L结构域的抗体结合位点；或者包括前述的结合对应物，其包含与图44所示抗体V_L结构域成对的图42所示的抗体V_H结构域，从而为TSH受体提供包含V_H和V_L结构域的抗体结合位点；或者包括前述的结合对应物，其包含与图48所示抗体V_L结构域成对的图46所示的抗体V_H结构域，从而为TSH受体提供包含V_H和V_L结构域的抗体结合位点；或者包括前述的结合对应物，其包含与图52所示抗体V_L结构域成对的图50所示的抗体V_H结构域，从而为TSH受体提供包含V_H和V_L结构域的抗体结合位点。

[0308] 本发明进一步构想前述V_H结构域可以与其它的、而非本文为详述的V_L结构域成对连接。本发明还进一步构想本文描述的V_L结构域可以与其它的、而非本文为详述的V_H结构域成对连接。

[0309] 本发明的另一实施例提供了如前所述的TSH受体的结合对应物，该结合对应物能够与TSH受体结合，从而刺激TSH受体，其包含：

[0310] 抗体V_H结构域，其包含：

[0311] 包含一个或多个V_H CDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图10所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列，或者包含一个或多个V_H CDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图14所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列，或者包含一个或多个V_H CDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图18所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列，或者包含一个或多个V_H CDR的V_H结构域，所述V_HCDR具有与图22所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列，或者包含一个或多个V_H CDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图42所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列，或者包含一个或多个V_H CDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图46所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列，或者包含一个或多个V_H

CDR的V_H结构域，所述V_H CDR具有与图50所示的V_H CDR相对应的氨基酸序列；和/或

[0312] 抗体V_L结构域，其包含：

[0313] 包含一个或多个V_L CDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图12所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列，或者包含一个或多个V_L CDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图16所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列，或者包含一个或多个V_L CDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图20所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列，或者包含一个或多个V_L CDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图24所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列，或者包含一个或多个V_LCDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图44所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列，或者包含一个或多个V_L CDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图48所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列，或者包含一个或多个V_L CDR的V_L结构域，所述V_L CDR具有与图52所示的V_L CDR相对应的氨基酸序列。

[0314] 上述的一个或多个CDR可以选自前述的V_H和V_L结构域并插入至合适的框架中。例如，前述的一个或多个CDR的氨基酸序列可被插入至与本文所述不同的抗体框架区域，然后该抗体插入一个或多个CDR并能够与TSH受体结合，优选刺激前述的TSH受体。或者，本发明的结合对应物可以包含能够与TSH受体结合的多肽，从而能够刺激前述的TSH受体，并包含本文所述的一个或多个CDR的一级结构氨基酸序列，以及任选的进一步包括氨基酸，进一步包括的氨基酸能够增强所述的一个或多个CDR对TSH受体的结合亲和力，或者不影响多肽对TSH受体的结合特性。

[0315] 本发明优选的结合对应物包括抗体。本文所用的术语“抗体”包括天然的、或者部分或全部合成制备得到的免疫球蛋白。该术语还涵盖了具有结合结构域的任意多肽，该结构域为抗体结合结构域或与抗体结合结构域同源。抗体的实例包括免疫球蛋白同种型和它们的同种亚型(isotypic subclasses)以及包含诸如Fab、scFv或类似的抗体结合结构域的片段。

[0316] 特别地，本文所述的特异的抗体片段构成了本发明的重要方面。这样，本发明的结合对应物包含前述的抗体，该抗体可以包含下述片段中的任何：(i)由V_L、V_H和C_H1结构域组成的Fab片段；(ii)由V_H和C_H1结构域组成的Fd片段；(iii)由V_L和V_H结构域组成的Fv片段；(iv)由V_H结构域组成的dAb片段；(v)分离的CDR区域；(vi)F(ab')2片段，一个包含两个相连的Fab片段的二价片段；以及(vii)单链Fv分子(scFv)，其中V_H结构域和V_L结构域通过肽连接子(linker)相连，从而使得两个结构域联合形成抗原结合位点。

[0317] 当本发明的结合对应物包含抗体时，该抗体可以包含完整的抗体，其中的抗体包括可变区和恒定区，参考图9-24或者41-52可进一步阐述针对本发明抗体的可变区和恒定区。

[0318] 本发明还可包含本文所述的特定的结合对应物、抗体、V_H结构域、V_L结构域、CDR和多肽的突变株、类似物和衍生物，其中所述的突变株、类似物和衍生物保留了与TSH受体结合的能力从而刺激本文前述的TSH受体。本文前述的术语突变株、类似物和衍生物进一步详细描述了本发明的多肽，前述这些术语意味着也可使用本发明特异的结合对应物的突变株、类似物和衍生物。

[0319] 本发明还进一步提供了能够与TSH受体结合的结合对应物，从而刺激本文前述的TSH受体，进一步提供的结合对应物能与本文公开的任何特异性结合对应物竞争性结合TSH受体，该结合对应物不包含TSH或TSH受体的自身抗体。特别地，进一步提供的结合对应物可

以包含进一步的具有前述TSH受体表位区域结合位点的抗体，该进一步的抗体能够与TSH受体结合从而刺激如前所述的TSH受体，并能与本文公开的任意特异性结合对应物竞争性结合TSH受体。

[0320] 本发明还提供了一种多聚核苷酸，其包括：

[0321] (i)如图25至40、或53至64所示的核苷酸序列；或上述序列的一部分，诸如图26、28、30、32、34、36、38、40、54、56、58、60、62或64所示，其编码如图10、12、14、16、18、20、22、24、42、44、46、48、50或52任意所示的抗体V_H结构域、抗体V_L结构域、或CDR的氨基酸序列：；

[0322] (ii)编码本文前述的结合对应物的核苷酸序列，或者编码如前所述的抗体V_H结构域、抗体V_L结构域、或结合对应物的CDR的氨基酸序列；

[0323] (iii)编码具有如图9至24或41至52所示氨基酸一级结构的结合对应物的核苷酸序列，或者编码如图10、12、14、16、18、20、22、24、42、44、46、48、50或52任意所示的抗体V_H结构域、抗体V_L结构域、或CDR的氨基酸序列；

[0324] (iv)遗传密码的简并性所致的密码子序列与(i)中的任意序列都不同的核苷酸序列；

[0325] (v)包含(i)中任意序列的等位基因突变的核苷酸序列；

[0326] (vi)包含选自(i)、(ii)、(iii)、(iv)或(v)任意序列的片段的核苷酸序列，尤其是包含选自(i)、(ii)、(iii)、(iv)或(v)任意序列的片段、且编码本文前述结合对应物的Fab片段、Fd片段、Fv片段、dAb片段、分离的CDR区域、F(ab')2片段、或scFv片段的核苷酸序列；

[0327] (vii)核苷酸碱基的突变、缺失或取代所致的与(i)中的任意序列不同的核苷酸序列，其编码前述的结合对应物，或编码前述的结合对应物的抗体V_H结构域、抗体V_L结构域、或CDR的氨基酸序列。

[0328] 本发明的多聚核苷酸的突变株与(i)中任意多聚核苷酸序列的全部长度中至少具有70%的同一性，更高的优选与(i)中任意的多聚核苷酸序列的全部长度中至少具有80%的同一性，特别优选与(i)中任意的多聚核苷酸序列的全部长度中至少具有90%的同一性，在这些特别优选的多聚核苷酸序列中，尤其优选具有95%的同一性。此处所述的特定多聚核苷酸序列突变株的含义已经在前面有详细描述。

[0329] 本发明进一步提供了一种生物功能载体系统，其载递前述的多聚核苷酸，能够将多聚核苷酸引入宿主生物的基因组。

[0330] 本发明还涉及以本发明的多聚核苷酸转化的宿主细胞以及通过重组技术制备本发明的结合对应物。可以利用遗传工程方法使多聚核苷酸掺入宿主细胞并表达本发明的结合对应物。

[0331] 本文前述的结合对应物可以用于诊断和治疗，并可有利地与本文前述的TSH受体的一个或多个表位区域相互反应或结合。

[0332] 相应地，本文前述的结合对应物可被用于检测前述自身抗体的筛选方法以及前述的诊断方法。也就是，本发明所述的结合对应物能够用于代替已经描述的竞争物用于检测前述自身抗体的筛选方法以及前述的诊断方法。相似地，本发明的结合对应物能够用于代替已经描述的竞争物用于检测前述自身抗体的试剂盒中。

[0333] 本发明还提供了一种筛选受试者体液样品中TSH受体自身抗体的方法，所述的受试者怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体的免疫反应相关的自身免疫性疾病、或者受试者

是该自身免疫疾病的康复者，所述方法包含：

[0334] (a)从受试者中获得所述的体液样品；

[0335] (b)将所述样品与下述物质接触：

[0336] (i)TSH受体的全长序列、该受体的一个或多个表位或包含TSH受体的一个或多个表位的多肽，和

[0337] (ii)前述的一个或多个结合对应物；

[0338] (在允许TSH受体和针对TSH受体的自身抗体相互作用的合适条件下)从而使得所述的TSH受体、所述的该受体的一个或多个表位或者所述的多肽与所述样品中TSH受体的自身抗体、或所述的一个或多个结合对应物相互作用；以及

[0339] (c)监测所述TSH受体、所述的该受体的一个或多个表位或者所述的多肽与所述样品中的自身抗体的相互作用，从而提供了所述样品中TSH受体的自身抗体存在的指征。

[0340] 优选地，本发明的上述方法进一步包括为一个或多个结合对应物提供标记，适宜的标记如本文前述。

[0341] 本发明还提供了一种筛选受试者体液样品中针对TSH受体的自身抗体的方法，所述的受试者怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体的免疫反应相关的自身免疫性疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者，所述方法包含：

[0342] (a)从受试者中获得所述的体液样品；

[0343] (b)将所述样品与下述物质接触：

[0344] (i)TSH受体全长序列、该受体的一个或多个表位或包含TSH受体的一个或多个表位的多肽，和

[0345] (ii)TSH受体的一个或多个结合成分；

[0346] (在允许TSH受体与针对TSH受体的自身抗体相互作用的合适条件下)从而使得所述的TSH受体、所述的该受体的一个或多个表位或者所述的多肽与所述样品中的TSH受体的自身抗体、或所述的一个或多个结合成分相互作用；以及

[0347] (c)监测所述TSH受体、所述的该受体的一个或多个表位或者所述的多肽与所述样品中的自身抗体的相互作用，从而提供了所述样品中TSH受体的自身抗体存在的指征；

[0348] 其中在步骤(b)之前、或之后将所述的一个或多个结合成分直接或间接固定(immobilised)至一表面上。

[0349] 特异地，所述一个或多个结合成分包含本发明前述的一个或多个结合对应物。适宜地，提供了TSH受体、其一个或多个表位或者多肽的标记方法。

[0350] 本发明还提供了一种试剂盒用来筛选受试者体液样品中针对TSH受体的自身抗体，该受试者怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者，所述的试剂盒包含：

[0351] (a)TSH受体全长序列、该受体的一个或多个表位或包含TSH受体的一个或多个表位的多肽；

[0352] (b)本文前述的一个或多个结合对应物；

[0353] (c)用来将所述受试者的体液样品、所述TSH受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽、和所述一个或多个结合对应物相接触，(在允许TSH受体和针对TSH受体的自身抗体相互作用的合适条件下)从而使得所述TSH受体、所述该受体的一个或多个表位或所述

多肽与样品中存在的针对TSH受体的自身抗体、或所述的一个或多个结合对于相互反应的装置(means)；和

[0354] (d)用来监测所述TSH受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽与样品中存在的自身抗体的相互反应，从而提供了所述样品中TSH受体的自身抗体存在的指征的装置。

[0355] 适宜地，如上所述的试剂盒进一步包含用来对一个或多个结合对应物进行标记，适宜的标记手段如本发明前述。

[0356] 本发明还提供了一种试剂盒用来筛选受试者体液样品中针对TSH受体的自身抗体，该受试者怀疑患有、容易患有或患有与TSH受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者，所述的试剂盒包含：

[0357] (a)TSH受体全长序列、该受体的一个或多个表位或包含TSH受体的一个或多个表位的多肽；

[0358] (b)TSH受体的一个或多个结合成分；

[0359] (c)用来将所述受试者的体液样品、所述TSH受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽、和所述一个或多个结合对应物相接触，(在允许TSH受体和针对TSH受体的自身抗体相互作用的合适条件下)从而使得所述TSH受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽与所述样品中存在的针对TSH受体的自身抗体、或所述的一个或多个结合对于相互反应的装置(means)；

[0360] (d)在所述一个或多个结合成分与所述受试者体液样品和所述TSH受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽相接触之前或之后，用来将所述一个或多个结合成分直接或间接固定在一表面上的装置；和

[0361] (e)用来监测所述TSH受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽与所述样品中存在的自身抗体的相互反应，从而提供了所述样品中TSH受体的自身抗体存在的指征的装置。

[0362] 典型地，一个或多个结合成分包含本发明前述的一个或多个结合对应物。适宜地，可提供对TSH受体、该受体的一个或多个表位、或者多肽的标记手段。

[0363] 适宜地，前述的方法或试剂盒能够使用本发明前述的多肽或表位。

[0364] 如本发明前述，在TSH受体的自身抗体存在时，TSH受体与固定的结合成分或结合对应物之间的结合将降低。这种筛选TSH受体自身抗体的方法和试剂盒能有效减少TSH受体固定至表面时产生的问题。

[0365] 本发明前述的结合对应物也可用于治疗。因此，本发明进一步提供了治疗方法，所述方法包含给予前述的特异性结合对应物、包含前述的特异性结合对应物的药物组合物(带有一种或多种药学可接受载体、稀释剂或赋形剂)，以及本发明前述的特异性结合对应物在制备药物或组合物、尤其是用于刺激甲状腺组织和/或含有TSH受体的组织的药物或组合物中的应用。特别地，本发明的特异性结合对应物可用于肿瘤学，尤其用于甲状腺癌症的诊断、处理和治疗。

[0366] 尽管最适宜的给药途径通常要依靠患者的状况和所治疗的特定疾病来决定，本发明的药物组合物包括适用于口腔、肠胃外或局部给药的药物组合物。尽管所用剂量要由一系列因素，包括患者的年龄、性别、待治疗的特定疾病以及前述的给药途径来决定，但所能给予患者的本发明前述结合对应物的精确剂量要由临床医生来判断。

[0367] 本发明还进一步提供了刺激甲状腺组织和/或包含TSH受体的组织的方法，该方法包括给与需要该种刺激的病人诊断或治疗有效量的本发明前述的结合对应物。

[0368] 本发明还提供了前述的结合对应物与能够刺激甲状腺组织和/或包含TSH受体的组织的一种或多种进一步药剂的联合应用，该结合对应物和进一步的药剂可同时、单独或顺序应用来刺激刺激甲状腺组织和/或包含TSH受体的组织。优选地，一种或多种进一步的药剂包含重组人TSH和/或一种或多种突变株、类似物、衍生物或其片段，或者这类片段的突变株、类似物、或衍生物。选择性地，一个或多个进一步的药剂能够独立与TSH受体结合。

[0369] 下面提供的阐述性解释用于理解本文使用的某些术语。下述解释仅为提供便利而非对本发明做出限制。

[0370] TSH受体的结合对应物或结合成分描述了对TSH受体具有结合特异性的分子。本发明所述的结合对应物或结合成分可以是天然的、或全部或部分人工合成制备的。这类结合对应物或结合成分具有与TSH受体的一个或多个表位特异性结合的结构域或区域，因此与TSH受体的一个或多个表位具有互补性。

[0371] C结构域表示抗体分子中相对恒定的氨基酸序列区域。

[0372] CDR表示在抗体分子重链和轻链上存在的决定簇互补区，表示高度可变区的序列。CDR约为可变区的15%至20%，其代表抗体的抗原结合位点。

[0373] FR表示骨架区，其代表未出现于CDR的可变轻链结构域和可变重链结构域的剩余部分。

[0374] HC表示抗体分子的重链部分，其包含重链可变区和IgG恒定区的第一结构域。

[0375] 宿主细胞是被转化或转染的细胞，或者能够被外源多聚核苷酸序列转化或转染的细胞。

[0376] 同一性(IDENTITY)，如现有技术所知，是两个或多个多肽序列、或两个或多个多聚核苷酸序列之间通过序列比较得出的关系。

[0377] LC表示抗体分子的轻链。

[0378] TSH受体的刺激(如本文所述，被结合对应物或结合成分刺激)表示结合对应物或结合成分与TSH受体的结合能力，与TSH受体的这种结合结果可产生诸如生成环AMP的效果。这种刺激与TSH受体和TSH或TSH受体自身抗体的结合所产生的反应相类似，这样，本文所述的结合对应物或者结合成分模拟了TSH或TSH受体自身抗体与TSH受体的结合作用。

[0379] V结构域表示抗体分子的高度可变氨基酸序列。

[0380] V_H结构域表示抗体分子重链的可变区域或结构域。

[0381] V_L结构域表示抗体分子轻链的可变区域或结构域。

附图说明

[0382] 下面将对本发明的附图和实施例进行阐述，这些阐述并非用于对本发明进行限制。

[0383] 图1列出了(以下述顺序)人、猪、牛、猫科动物、犬科动物、小鼠、大鼠和绵羊的TSH受体的1至200位氨基酸。

[0384] 图2列出了(以下述顺序)编码猫科动物、牛、犬科动物、小鼠、猪、大鼠、绵羊和人的TSH受体区域的1至300位核苷酸碱基。

[0385] 图3列出了(以下述顺序)人、猪、牛、猫科动物、犬科动物、小鼠、大鼠和绵羊的TSH受体的200至300位氨基酸。

[0386] 图4列出了(以下述顺序)编码猫科动物、牛、犬科动物、小鼠、猪、大鼠、绵羊和人的TSH受体区域的700至899位核苷酸碱基。

[0387] 图5列出了(以下述顺序)人、猪、牛、猫科动物、犬科动物、小鼠、大鼠和绵羊的TSH受体的250至499位氨基酸。

[0388] 图6列出了(以下述顺序)编码猫科动物、牛、犬科动物、小鼠、猪、大鼠、绵羊和人的TSH受体区域的750至1100位核苷酸碱基。

[0389] 图7列出了(以下述顺序)人、猪、牛、猫科动物、犬科动物、小鼠、大鼠和绵羊的TSH受体的350至500位氨基酸。

[0390] 图8列出了(以下述顺序)编码猫科动物、牛、犬科动物、小鼠、猪、大鼠、绵羊和人的TSH受体区域的1100至1299位核苷酸碱基。

[0391] 图9列出了4D7的重链(HC)氨基酸。

[0392] 图10列出了4D7的重链(HC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即10至115位氨基酸)、CDR(即31至35位CDR1氨基酸、50至66位CDRII氨基酸和99至104位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即116至200位氨基酸)。

[0393] 图11列出了4D7的轻链(LC)氨基酸。

[0394] 图12列出了4D7的轻链(LC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即9至111位氨基酸)、CDR(即24至38位CDR1氨基酸、54至60位CDRII氨基酸和93至101位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即112至211位氨基酸)。

[0395] 图13列出了16E5的重链(HC)氨基酸。

[0396] 图14列出了16E5的重链(HC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即9至120位氨基酸)、CDR(即31至35位CDR1氨基酸、50至66位CDRII氨基酸和99至109位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即121至205位氨基酸)。

[0397] 图15列出了16E5的轻链(LC)氨基酸。

[0398] 图16列出了16E5的轻链(LC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即9至107位氨基酸)、CDR(即24至34位CDR1氨基酸、50至56位CDRII氨基酸和89至97位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即108至207位氨基酸)。

[0399] 图17列出了17D2的重链(HC)氨基酸。

[0400] 图18列出了17D2的重链(HC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即9至120位氨基酸)、CDR(即31至35位CDR1氨基酸、50至66位CDRII氨基酸和99至109位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即121至205位氨基酸)。

[0401] 图19列出了17D2的轻链(LC)氨基酸。

[0402] 图20列出了17D2的轻链(LC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即9至107位氨基酸)、CDR(即24至34位CDR1氨基酸、50至56位CDRII氨基酸和89至97位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即108至207位氨基酸)。

[0403] 图21列出了14D3的重链(HC)氨基酸。

[0404] 图22列出了14D3的重链(HC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即9至120位氨基酸)、CDR(即31至35位CDR1氨基酸、50至66位CDRII氨基酸和99至109位CDRIII氨基酸)以及

恒定区域或结构域(即121至205位氨基酸)。

[0405] 图23列出了14D3的轻链(LC)氨基酸。

[0406] 图24列出了14D3的轻链(LC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即9至107位氨基酸)、CDR(即24至34位CDR1氨基酸、50至56位CDRII氨基酸和89至97位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即108至207位氨基酸)。

[0407] 图25列出了编码图9的4D7的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0408] 图26列出了编码图9的4D7的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图10的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0409] 图27列出了编码图11的4D7的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0410] 图28列出了编码图11的4D7的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图12的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0411] 图29列出了编码图13的16E5的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0412] 图30列出了编码图13的16E5的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图14的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0413] 图31列出了编码图15的16E5的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0414] 图32列出了编码图15的16E5的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图16的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0415] 图33列出了编码图17的17D2的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0416] 图34列出了编码图17的17D2的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图18的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0417] 图35列出了编码图19的17D2的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0418] 图36列出了编码图19的17D2的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图20的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0419] 图37列出了编码图21的14D3的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0420] 图38列出了编码图21的14D3的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图22的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0421] 图39列出了编码图23的14D3的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0422] 图40列出了编码图23的14D3的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图24的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0423] 图41列出了3B3的重链(HC)氨基酸。

[0424] 图42列出了3B3的重链(HC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即8至112位氨基酸)、CDR(即31至35位CDR1氨基酸、50至66位CDRII氨基酸和99至101位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即113至196位氨基酸)。

[0425] 图43列出了3B3的轻链(LC)氨基酸。

[0426] 图44列出了3B3的轻链(LC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即9至111位氨基酸)、CDR(即24至38位CDR1氨基酸、54至60位CDRII氨基酸和93至101位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即112至211位氨基酸)。

[0427] 图45列出了3C7的重链(HC)氨基酸。

[0428] 图46列出了3C7的重链(HC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即10至115位氨基

酸)、CDR(即31至35位CDR1氨基酸、50至66位CDRII氨基酸和99至104位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即116至200位氨基酸)。

[0429] 图47列出了3C7的轻链(LC)氨基酸。

[0430] 图48列出了3C7的轻链(LC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即9至111位氨基酸)、CDR(即24至38位CDR1氨基酸、54至60位CDRII氨基酸和93至101位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即112至211位氨基酸)。

[0431] 图49列出了2B4的重链(HC)氨基酸。

[0432] 图50列出了2B4的重链(HC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即9至122位氨基酸)、CDR(即31至35位CDR1氨基酸、50至66位CDRII氨基酸和99至111位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即123至207位氨基酸)。

[0433] 图51列出了2B4的轻链(LC)氨基酸。

[0434] 图52列出了2B4的轻链(LC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即9至112位氨基酸)、CDR(即24至39位CDR1氨基酸、78至82位CDRII氨基酸和94至102位CDRIII氨基酸)以及恒定区域或结构域(即113至212位氨基酸)。

[0435] 图53列出了编码图41的3B3的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0436] 图54列出了编码图41的3B3的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图42的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0437] 图55列出了编码图43的3B3的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0438] 图56列出了编码图43的3B3的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图44的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0439] 图57列出了编码图45的3C7的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0440] 图58列出了编码图45的3C7的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图46的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0441] 图59列出了编码图47的3C7的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0442] 图60列出了编码图47的3C7的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图48的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0443] 图61列出了编码图49的2B4的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0444] 图62列出了编码图49的2B4的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图50的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0445] 图63列出了编码图51的2B4的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0446] 图64列出了编码图51的2B4的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图52的可变区域或结构域、CDR和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0447] 更特异地,图1至8阐明了下述:

[0448] 图1列出了上述物种中TSH受体的1至200位氨基酸,其中包括用于本发明的下述氨基酸序列:

[0449] TSH受体的22至91位氨基酸;

[0450] TSH受体的32至41位氨基酸;和

[0451] TSH受体的36至42位氨基酸。

[0452] 图2列出了上述物种中1至300位核苷酸碱基,其中包括图1中上述氨基酸序的编码

区域。

[0453] 图3列出了上述物种中TSH受体的200至300位氨基酸，其中包括用于本发明的下述氨基酸序列：

[0454] TSH受体的246至260位氨基酸；和

[0455] TSH受体的247至260位氨基酸。

[0456] 图4列出了上述物种中700至899位核苷酸碱基，其中包括图3中上述氨基酸序的编码区域。

[0457] 图5列出了上述物种中TSH受体的250至449位氨基酸，其中包括用于本发明的下述氨基酸序列：

[0458] TSH受体的260至363位氨基酸；和

[0459] TSH受体的277至296位氨基酸。

[0460] 图6列出了上述物种中750至1100位核苷酸碱基，其中包括图5中上述氨基酸序的编码区域。

[0461] 图7列出了上述物种中TSH受体的350至500位氨基酸，其中包括用于本发明的下述氨基酸序列：

[0462] TSH受体的380至418位氨基酸；和

[0463] TSH受体的381至385位氨基酸。

[0464] 图8列出了上述物种中1100至1299位核苷酸碱基，其中包括图7中上述氨基酸序的编码区域。

具体实施方式

[0465] 实施例1

[0466] (1)TSH受体的小鼠单克隆抗体的制备

[0467] 采用CHO细胞表达的重组、高纯化成熟形式的TSH受体免疫BALB/c小鼠(Y Oda,J Sanders,M Evans,A Kiddie,A Munkley,C James,T Richards,J Wills,J Furmaniak,B Rees Smith"Epitope analysis of the human thyrotrophin(TSH)receptor using monoclonal antibodies."Thyroid200010(12):1051-1059.)。利用pcDNA3.1中克隆的全长人TSHR cDNA通过DNA免疫技术制备小鼠抗体。利用标准技术克隆Mabs，利用蛋白A凝胶亲和色谱法从培养物上清中纯化IgGs。Mabs与TSH受体的反应通过如下方法进行检验：(a)利用部分纯化的受体进行Western免疫印迹实验，(b)抑制TSH与TSH受体的结合，(c)如YOda,J Sanders,S Roberts,M Maruyama,R Kato,M Perez,V BPeteresen,N Wedlock,J Furmaniak,B ReesSmith"Binding characteristics of antibodies to the TSH receptor."Journal of Molecular Endocrinology199820:233-244.中所述的在体外转录/翻译系统中制备的^{35}S-标记的TSH受体的免疫沉淀实验。

[0468] (2)^{125}I-TSH与TSH受体结合的抑制

[0469] ^{125}I-TSH与TSH受体结合的抑制通过下述实验进行分析：50μL用去污剂增溶的TSH受体与50μL按照步骤(1)纯化的Mab在室温下预先温育15分钟，然后加入100μL的^{125}I-TSH(30,000cpm)，接下来在37°C温育一小时。通过加入2mL16.5%聚乙二醇和25μL健康供血者的血清来沉淀^{125}I-TSH/TSH受体复合物，在4°C、1500Xg离心30分钟，吸出受体复合物，利用公

知的技术测定沉淀的放射性。

[0470] MAbs termed:2B4Mab(IgG浓度为5μg/mL)、8E2Mab(IgG浓度为1μg/mL)、和18C5Mab(IgG浓度为1mg/mL)对TSH结合的抑制分别为76%、38%、和91%。用L-半胱氨酸/木瓜蛋白酶或胃蛋白酶消化2B4Mab、8E2Mab、和18C5Mab IgGs,然后利用蛋白A柱分离Fc和Fab来制备Fab片段。

[0471] (3)利用Mabs进行表位识别

[0472] Western印迹分析法(Y Oda,J Sanders,M Evans,A Kiddie,A Munkley,C James,T Richards,J Wills,J Furmaniak,B Rees Smith"Epitope analysis of the human thyrotrophin(TSH)receptor using monoclonal antibodies."Thyroid200010(12):1051-1059)显示2B4MAb与TSH受体序列氨基酸(aa)380至418位之间的表位结合,8E2MAb与22至91位之间的表位结合,18C5MAb与246至260位之间的表位结合。采用覆盖这些区域的TSH受体肽重叠分析(Y Oda,J Sanders,M Evans,A Kiddie,A Munkley,C James,T Richards,J Wills,J Furmaniak,B Rees Smith"Epitope analysis of the human thyrotrophin(TSH)receptor using monoclonal antibodies."Thyroid200010(12):1051-1059.)表明2B4MAb与aa381至385反应、8E2MAb与aa36至42反应、18C5MAb与aa247至260反应。

[0473] (4)^{125}I-标记的TSH受体的制备

[0474] TSH受体的可溶性制备物通过^{125}I-标记的MAB(4E31)与TSH受体的C-末端反应来标记^{125}I,该方法参见J Sanders,Y Oda,S Roberts,A Kiddie,T Richards,J Bolton,V McGrath,S Walters,D Jasklski,J Furmaniak,B Rees Smith"The interaction of TSH receptor autoantibodieswith'ZSI-labelled TSH receptor."Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism1999,84(10):3797-3802。在室温下将部分的^{125}I-标记的4E31F(ab)$_2$和可溶性TSH受体温育15分钟,然后将其用于步骤(5)的免疫沉淀检测中。

[0475] (5)TSH受体自身抗体(TRAb)与TSH受体的结合通过MAbs的抑制

[0476] 采用下述方法检测了MAbs对TRAb与TSH受体结合的抑制:

[0477] 取10μL步骤(4)中制备的^{125}I-标记的TSH受体(30,000cpm)与20μL的2B4Fab(5和10mg/mL)在室温下预先温育15分钟,然后与20μL的TRAb阳性患者血清一起在室温下温育1小时。接下来加入50μL固态蛋白A(一种抗-人IgG试剂),继续在室温下温育1小时,然后洗涤,在4°C、1500Xg离心30分钟,吸出沉淀,测定沉淀的放射性。利用8E2和18C5Fabs以及两种Fabs结合到一起进行类似的实验。

[0478] 实施例1的结果

[0479] TRAb与TSH受体结合抑制的结果如表1所示。

[0480] 实施例2

[0481] 方法

[0482] (1)TSH受体的小鼠单克隆抗体的制备

[0483] 采用CHO细胞表达的重组、高纯化成熟形式的TSH受体免疫BALB/c小鼠(Y Oda,J Sanders,M Evans,A Kiddie,A Munkley,C James,T Richards,J Wills,J Furmaniak,B Rees Smith"Epitope analysis of the human thyrotrophin(TSH)receptor using monoclonal antibodies."Thyroid200010(12):1051-1059.)。利用pRC/CM.1中克隆的全长

人TSHR cDNA通过DNA免疫技术制备小鼠抗体。利用标准技术克隆MAbs，利用蛋白A凝胶亲和色谱法从培养物上清中纯化IgGs。

[0484] $(Fab)_2$片段通过下述方法制备：用胃蛋白酶消化纯化的Mab IgGs，然后进行蛋白A亲和柱色谱分离，该分离方法按照Y.Oda,J.Sanders,S.Roberts,M.Maruyama,R.Kato,M.Perez,VB Petersen,N.Wedlock,J.Furmaniak,B.Rees Smith1998"Binding characteristics of antibodies to the TSH receptor".Journal of Molecular Endocrinology20:233-244.描述的方法。

[0485] Fab片段通过下述方法制备：按照E.Hendry,G.Taylor,F.Grennan-Jones,A.Sullivan,N.Liddy,J.Godfrey,N.Hayakawa,M.Powell,J.Furmaniak,B Rees Smith2001"X-ray crystal structure of a monoclonal antibody that binds to a major autoantigenic epitope on thyroid peroxidase."Thyroid11(12):1091-1099.描述的方法利用木瓜蛋白酶消化纯化的Mab IgGs。

[0486] MAbs与TSH受体的反应通过下述方法进行检验：(a)利用部分纯化的受体进行Western免疫印迹实验，(b)抑制TSH与TSH受体的结合，和(c)如Y Oda,J Sanders,S Roberts,M Maruyama,R Kato,M Perez,V BPeteresen,N Wedlock,J Furmaniak,B Rees Smith"Binding characteristics of antibodies to the TSH receptor."Journal of Molecular Endocrinology199820:233-244.中所述的在体外转录/翻译系统中制备的^{35}S-标记的TSH受体的免疫沉淀实验。

[0487] (2)^{125}I-TSH与TSH受体结合的抑制

[0488] (a)利用去污剂增溶的TSHR的PEG方法

[0489] ^{125}I-TSH与去污剂增溶的TSH受体结合的抑制通过下述实验分析：取50μL按照上述步骤(1)纯化的MAb与受体在室温下预先温育15分钟，然后加入100μL的^{125}I-TSH(30,000cpm)，接下来在37°C温育1小时。通过加入2mL16.5%聚乙二醇和25μL健康供血者的血清来沉淀^{125}I-TSH和TSH受体复合物，在4°C、1500Xg离心30分钟，吸出受体复合物，在gamma计数器中测定沉淀的放射性。

[0490] (b)利用TSHR包被管的方法

[0491] 在该方法中，首先用Mab诸如4E31包被塑料管，其中Mab能与TSHR的部分结合，该TSHR与TSH或TRAb的结合无关。然后加入用去污剂增溶的TSHR制备物并利用TSHR Mab进行捕获，则该TSHR制备物固定在管的表面，能够与TSH或TRAb进行结合。特别地，在塑料管(NuncMaxisorp,每管200μL)中加入与TSHR C末端(在pH9.2的0.1M Na_2CO_3中的10μg/mL$F(ab)_2$制备物)反应的MAb4E31，在4°C包被过夜。洗涤并后续包被(10mg/mL牛血清白蛋白)后，再次以测定缓冲液(10mM Tris-HCl pH7.8,50mM NaCI,1mg/mL牛血清白蛋白,0.1% Triton X-100)洗涤管子。然后加入200μL用去污剂增溶的TSHR制备物，在4°C温育过夜，接下来进行吸出和洗涤步骤。然后，在TSHR包被管中加入20μL"起始"缓冲液(10mM Tris-HCl pH7.8,50mM NaCI,牛血清白蛋白1mg/mL,6mM NaN_3,1%Triton X-100)，接下来加入100μL纯化的MAb IgG或者患者的血清，并在室温下温和振摇同时温育2小时。吸出后(aspiration)，用1mL测定缓冲液两次洗涤管子，加入100μL的^{125}I-TSH(80,000cpm)，在室温下温育20-60分钟并振摇。然后用1mL测定缓冲液两次洗涤管子，吸出，并在gamma计数器中进行计数。

[0492] (3)对MAbs的甲状腺刺激或阻断作用的分析

[0493] 利用购自Yamasa Corporation,Tokyo,Japan的试剂测定Mabs在分离的猪甲状腺细胞中对环AMP生成的刺激(甲状腺刺激活性)或者通过阻断环AMP的TSH刺激而起到TSH拮抗剂的作用(阻断作用)。

[0494] 此外,还利用M.Kita,L.Ahma,R.C.Marians,H.Vlase,P.Unger,P.N.Graves,T.F.Davies1999"Regulation and transfer of a murine model of thyrotropin receptor antibody mediated Graves'disease."Endocrinology140:1392-1398.中描述的方法分析了在表达人TSHR的中国苍鼠卵巢细胞(CHO)中MAbs刺激环AMP生成的能力。

[0495] (4)^{125}I-标记的MAbs与TSHR的结合以及TRAb的作用

[0496] 用^{125}I标记纯化的IgG,所述IgG来自具有甲状腺刺激活性(表2,16E5和14D3)的MAbs中的两个,然后利用实施例1(4)中的交连葡聚糖G-50过滤的方法分离未被标记的^{125}I。

[0497] 按照上述2b的方法用TSHR制备物包被塑料管。然后,加入100μL待测血清(来源于健康供血者或具有甲状腺机能亢进症的患者),将管在室温下温育2小时同时振摇。温育后,用测定缓冲液两次洗涤所述管子。然后,向管中加入100μL的^{125}I标记的16E5或14D3IgG(30,000cpm,稀释液:20mMTris-HCl pH7.3,50mM NaCI,1mg/mL牛血清白蛋白,0.1%Triton X-100),将管在室温下温育1小时同时振摇。温育后,采用与稀释^{125}I标记的MAbs相同的缓冲液两次洗涤所得管子,然后用gamma计数器进行计数。

[0498] (5)TSHR与MAbs包被管的结合以及TRAb的作用

[0499] 将用去污剂增溶的TSHR制备物(20μL)与100μL待测血清和20μL起始缓冲液(上述2b中)在室温下温育1小时。取该混合液100μL加入到以TSHR MAb(如上述2b中)包被的塑料管中,在室温下温育1小时并同时振摇。然后吸出该管,洗涤两次(上述2b中),加入如上述4中用^{125}I标记的100μL(30,000cpm)的^{125}I标记C-末端TSHR MAb4E31F(ab)$_2$。再次在室温下温育1小时并同时振摇后,吸出管,洗涤两次,用gamma计数器进行测定放射性。

[0500] 利用前文(Kettleborough C.A.et al"Optimization of primers for cloning libraries of mouse immunoglobulin genes using the polymerase chain reaction."European Journal of Immunology199323:206-211)所述的序列设计寡聚核苷酸引物。

[0501] 上游和下游引物都包括附加的5'限制性核酸内切酶位点序列,以便用来克隆PCR产物。将RT-PCR产物克隆至通过Qiagen方法(Qiagen)制备的pUC18DNA中,并通过Sanger-Coulson方法测序。

[0502] 实施例2的结果

[0503] (1)TSHR MAbs甲状腺刺激作用如表2和3所示。在分离的猪甲状腺细胞中4种MAbs(16E5、14D3、17D2和4D7)能够刺激环AMP的生成。此外当检测来自这些MAbs中的三种的Fab片段时,三种Fab片段都能刺激环AMP的生成(表2)。比较TRAb阳性患者血清对MAbs的刺激具有类似的水平(表2)。而且,具有强烈抑制TSH与TSHR结合能力的TSHR MAb2B4并未表现出甲状腺刺激活性(表2)。另一TSHR MAb和Fab(3B3)以及Tg MAb Fab2G2都未刺激环AMP的生成(表2)。

[0504] 在进一步的系列实验中,检测了能够刺激猪甲状腺细胞的某些MABS(16E5和14D3)在表达人TSHR的CHO细胞中刺激环AMP生成的能力(表3)。得到了与猪甲状腺细胞中类似的结果。

[0505] (2)在健康供血者血清存在情况下,^{125}I-标记的16E5与TSHR包被管的结合在所加

入总计数的23%至35%的范围内变动(表4)。在甲状腺机能亢进患者血清存在情况下(都为TRAb阳性),^{125}I-标记的16E5的结合能力显著降低,在1.9%至7.5%的范围内变动(表4)。

[0506] 上述结果说明甲状腺机能亢进患者血清具有TRAb活性,能够抑制TSHRMAb16E5与TSHR的结合。采用标记的16E5的进一步实验如表5所示,其中比较了甲状腺机能亢进患者血清对于(a)^{125}I-标记的16E5与TSHR包被管和(b)^{125}I-标记的TSH与TSHR包被管的结合进行了比较。还采用^{125}I-标记的TSHR MAb14D3进行了与表5类似的实验,结果如表6所示。

[0507] 甲状腺机能亢进患者血清对于^{125}I-标记的16E5、14D3或TSH结合TSHR包被管的影响类似于多数情况下观察到结合强抑制作用(表5和6)。与甲状腺机能亢进患者血清相比,健康供血者血清对标记的MAb或标记的TSH与TSHR包被管的结合几乎没有作用(表5和6)。表7为含有自身抗体的血清(该自身抗体不是TSHR自身抗体)对于标记的TSH、16E5和14D3结合TSHR包被管的影响。由表7能够看出,包含谷氨酸脱羧酶自身抗体的血清(D1和D2)或者包含21羟化酶自身抗体的血清(A1和A2)对TSH或MAb的结合没有作用。然而,来源于甲状腺机能亢进患者的血清G42表现出对TSH和MAb的结合都有强的、剂量依赖性的抑制。

[0508] (3)如图8所示,以MAb16E5包被的塑料管能够与TSHR结合,这种结合被含有TSHR自身抗体的甲状腺机能亢进患者的血清所抑制。特别地,利用^{125}I-标记的TSHR MAb4E31检测TSHR的结合显示:(a)在健康供血者血清存在的情况下,标记的4E31的结合在加入的总cpm的13.5%至17.8%的范围内变动,而(b)在甲状腺机能亢进患者的血清存在情况下,标记的MAb的结合在加入的总cpm的1.8%至4.8%的范围内变动。用MAb14D3包被的塑料管得到了类似的结果(表9)。

[0509] 结论

[0510] 表2-9的结果显示:

[0511] (a)我们已经制备了TSHR MAbs和MAb Fab片段,这些抗体和片段能够刺激分离的甲状腺细胞,刺激方法类似于患者血清中的TRAb和TSH。

[0512] (b)在检验TSHR自身抗体(TRAb)时,这些MAbs能够用于代替标记的TSH。

[0513] (c)当MAbs包被至塑料表面时,它们能够结合TSHR制备物。这种结合会被患者血清中的TRAb所抑制,从而提供了一种新的TRAb测试方法。

[0514] (d)Mabs能够刺激甲状腺表明它们在体外应用代替TSH方面非常有用。

[0515] 实施例3用TSH受体Mabs抑制^{125}I-16E5Fab与溶性TSH受体的结合

[0516] 方法

[0517] ^{125}I-16E5Fab与去污剂增溶的TSH受体的结合抑制可通过如下测试方法分析:50ul前述纯化的Mab IgG(100ug/ml)与受体在室温下温育30分钟,然后加入100ul的^{125}I-16E5Fab(30,000cpm),接着在室温下温育2小时。通过加入2mL16.5%聚乙二醇和50μL健康供血者的血清来沉淀^{125}I-TSH和TSH受体复合物,在4°C、1500Xg离心30分钟,吸出受体复合物,在gamma计数器中测定沉淀的放射性。

[0518] 结果见表10。从表10可以看出,Mab4D7(它结合到表位区域的246-260位置,并刺激分离的甲状腺细胞)能强烈抑制标记的16E5Fab与TSH受体的结合(24.2%抑制)。两个其它抗体,3C7和18C5也能强烈抑制16E5Fab结合(分别是17%和15.7%抑制),并且也能结合到表位区域的246-260位。其它Mabs仅观察到很弱或没有抑制现象。这些结果说明了表位区域246-260是与16E5结合TSH受体相关的。从表10中还能看出,其它刺激Mabs14D3和17D2能有效竞

争16E5结合TSH受体，表位区域246-260也可能对于14D3和17D2结合TSH受体是非常重要的。

[0519] 表1：用MAb Fabs抑制患者血清(K3)中的TRAb与TSH受体的结合

[0520]

	血清 K3 1/10	
	标记的 TSHR 免疫沉淀(%)	%抑制
缓冲液	17.5	-
2B4 (5mg/ml)	10.1	42
2B4 (10mg/ml)	3.9	77.7
18C5 (5mg/ml)	13.7	21.7
18C5 (10mg/ml)	9.7	44
8E2 (5mg/ml)	15.0	14.3
8E2 (10mg/ml)	13.0	25.7
2B4+18C5 (5mg/ml)	5.7	67.4

[0521]

18C5+8E2 (5mg/ml)	12.4	29.1
2B4+8E2 (5mg/ml)	8.1	53.7
未标记的 TSH (2.94mg/ml)	7.8	55.4
2B4+8E2+18C5(3.3mg/ml)	7.4	57.7

[0522] $$\%抑制 = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100\right)$$

[0523] A=在有测试血清和Mab Fab存在下，^{125}I-TSHR(cpm)免疫沉淀占加入试管材料的总cpm的百分比，

[0524] B=在有测试血清和检测缓冲液存在下，^{125}I-TSHR(cpm)免疫沉淀占加入试管材料的总cpm的百分比。

[0525] 上述结果说明：

[0526] (1)与TSH结合有关的TSH受体的序列同样也涉及TRAb结合；

[0527] (2)与这些序列反应的鼠MAb能用于有效抑制TRAb与TSH受体的结合；以及

[0528] (3)与一个或多个上述TSH受体序列反应的一个或多个MAbs可用于探测和测定TRAb。

[0529] 表2：用分离的猪甲状腺细胞来测试TSHR MAbs的甲状腺刺激作用

[0530]

测试样品	刺激(%)[1]	抑制TSH结合(%)[2,3]
16E5IgG200μg/ml	466	nt
20μg/ml	332	83.3
2μg/ml	269	73.6
0.2μg/ml	157	nt
0.02μg/ml	52	nt
14D3IgG200μg/ml	557	nt

20μg/ml	351	76.4
2μg/ml	323	61.0
0.2μg/ml	227	nt
0.02μg/ml	78	nt
17D2IgG200μg/ml	377	nt
20μg/ml	207	81.3
2μg/ml	134	73.7

[0531]

4D7IgG200μg/ml	259	33[4]
20μg/ml	31	nt
3B3IgG[a]200μg/ml	34	30.7
20μg/ml	37	6.1
2B4IgG[a]20μg/ml	100	nt
2μg/ml	116	69.9
3C7Fab1mg/ml	348	45.2
4D7Fab1mg/ml	512	48.6
16E5Fab200μg/ml	425	53[5]
14D3Fab200μg/ml	648	64[5]
17D2Fab200μg/ml	274	45[5]
3B3Fab[a]200μg/ml	42	66.5[4]
2G2Fab[6]1mg/ml	55	0
200μg/ml	37	0
TRAb+ve病人dil1:2	771	65[7]
dil1:4	530	nt
健康血液供体血清库	29	0.6
TRAb阴性血清	70	0

[0532] 表2注释:

[0533] [1]用健康血液供体血清库稀释Mab IgG或Fab的制备物。刺激(%)用下述的100×来计算:在测试样品存在下制得的环AMP比上在健康血液供体血清库存在下制得的环AMP。刺激水平>180%作为阳性,即,刺激水平总是大于在单个健康血液供体血清时观察到的水平。

[0534] [2]TSH结合的抑制水平>10%是阳性。

[0535] [3]方法=包被的试管。

[0536] [4]在250ug/ml测试到的抑制。

[0537] [5]在10ug/ml测试到的抑制。

[0538] [6]2G2是Mab与甲状腺球蛋白反应,即,未与TSHR反应。

[0539] [7]使用未稀释血清的抑制。

[0540] [a]3B3和2B4IgGs作为TSH的拮抗剂,即,阻碍TSH通过分离的猪甲状腺细胞刺激环AMP的产生。

[0541] nt=在该浓度下未测试。

[0542] 表3:用CHO细胞表达人TSHR来测试TSHR MAbs的甲状腺刺激作用

[0543]

测试样品[1]	刺激(%)[2]	TSH结合的抑制(%)[3,4]
16E520μg/ml	850	78.8[5]
14D320μg/ml	908	71.8[5]
2B420μg/ml	111	84.4
TRAb+ve病人	850	65.0[6]
健康血液供体血清库	100	0

[0544] 表3注释:

[0545] [1]所有样品在加至细胞之前按1:10稀释。

[0546] [2]刺激(%)用下述的100×来计算:在测试样品存在下制得的环AMP比上在健康血液供体血清库存在下制得的环AMP。

[0547] [3]TSH结合的抑制水平>10%是阳性。

[0548] [4]方法=包被的试管。

[0549] [5]在10μg/ml测到的抑制。

[0550] [6]未稀释抑制的测定。

[0551] 表4:[125]I-标记的MAb16E5与TSHR包被的试管的结合以及TRAb在患者血清中的效果

[0552]

测试材料[1]	抑制 TSH 结合(%)[2]	[125]I-16E5 结合到 TSHR 包被管(加入总计数%)
G1	21	5.6
G2	22.7	6.5
G3	24.7	3.5
G4	22.7	6.0
G5	28.1	3.6
G6	29.4	2.5
G7	29.3	5.8
G8	39	1.9
G9	31.9	6.8
G10	34.8	5.4
G11	34.5	3.4
G12	35.3	4.2
G13	35.6	6.2

[0553]

G14	36.9	2.8
G15	30.3	4.3
G16	35	2.2
G17	47.6	3.9
G18	44.3	3.4
G19	53.5	3.7
G20	59.2	7.5
G21	58.9	4.9
NPS	<14	27.5
NSF 1	<14	23.3
NSF 2	<14	30.2
NSF 3	<14	29.1
NSF 4	<14	22.8
NSF 5	<14	28.9
NSF 6	<14	31.0
NSF 7	<14	29.2
NSF 8	<14	35.3
NSF 9	<14	26.3
NSF 10	<14	25.2

[0554] 表4注释

[0555] [1]血清G1-G22来自于甲状腺机能亢进疾病的患者;血清NSF1-NSF10来自于健康血液供体;

[0556] NPS=健康血液供体血清库

[0557] [2]TSH结合的抑制>14%是阳性;使用PEG方法。

[0558] 表5:甲状腺机能亢进疾病的患者血清对^{125}I-16E5结合的影响以及^{125}I-TSH与TSHR包被试管的结合

[0559]

测试材料[1]	^{125}I-16E5结合到TSHR包被管(加入总计数%)[2]	抑制^{125}I-16E5结合(%)[2,3]	^{125}I-TSH结合到TSHR包被管(加入总计数%)[4]	抑制^{125}I-TSH结合(%)[3,4]
G23	13.2	44.0	8.9	27.1
G28	5.8	75.4	3.8	68.5
G29	13.3	43.6	8.0	34.3
G30	9.2	61.0	5.3	56.9
G32	11.9	49.6	7.5	38.4

[0560]

G36	15.5	34.3	10.1	17.5
G38	16.1	31.8	10.0	18.3
G41	17.8	24.6	10.8	11.4
G43	5.9	75.0	4.0	67.2
G44	18.6	21.2	12.4	-ve
G45	5.1	78.4	3.5	71.0
G46	3.8	83.9	2.7	77.9
G47	7.2	69.5	4.3	64.8
G48	6.9	70.8	4.8	60.8
G49	9.1	61.4	6.1	49.6
G50	8.7	63.1	6.3	48.4
G51	11.9	49.6	7.9	35.2
G52	12.3	47.9	7.4	39.0
NSF 4	23.0	2.6	12.5	-ve
NSF 5	25.3	-ve	12.3	-ve
NSF 10	22.4	5.1	12.5	-ve
NSF 16	23.3	1.3	12.0	1.8
NSF 17	24.3	-ve	11.5	5.3
NSF 18	19.9	15.7	11.2	8.0
NSF 20	21.5	8.9	12.3	-ve
NSF 21	23.3	1.3	12.3	-ve
NSF 22	24.5	-ve	12.4	-ve
NSF 26	26.5	-ve	12.8	-ve

[0561] 表5注释

[0562] [1]血清G23-G52来自于甲状腺机能亢进疾病的患者；血清NSF来自于健康血液供体；

[0563] [2]在健康血液供体血清下对^{125}I-16E5结合的平均值为23.6%。

[0564] [3]使用下式来计算结合的抑制

[0565] $$\%抑制 = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100\right)$$

[0566] 其中A=在有测试血清时的结合

[0567] B=在健康血液供体血清下的结合平均数。

[0568] [4]在健康血液供体血清下对^{125}I-TSH结合的平均值为12.2%。

[0569] 表6^{125}I-标记的MAb14D3与TSHR包被的试管的结合以及TRAb在患者血清中的效果

[0570]

测试材料[1]	^{125}I-14D3 结合到 TSHR 包被管(加入总计数%)[2]	抑制 ^{125}I-14D3 结合(%)[2,3]	^{125}I-TSH 结合到 TSHR 包被管(加入总计数%)[4]	抑制 ^{125}I-TSH 结合(%)[3,4]
G23	13.9	20	8.9	26.6
G24	11.3	35	6.9	43.4
G25	14.1	19	7.2	40.5
G26	7.3	58	2.6	78.3
G27	12.3	29.7	7.3	40.1
G28	8.0	54.4	3.8	68.3
G29	13.2	24.4	8.0	34.0
G30	12.5	28.4	5.3	56.6
G31	9.8	44	4.3	64.3
G32	11.4	34.8	7.5	38.0
G33	12.7	27.2	6.1	49.9
G34	10.9	37.5	7.5	37.8
G35	9.8	43.6	4.3	64.6
G36	13.5	22.8	10.1	16.9
G37	11.9	31.6	9.3	23.4
G38	11.3	35.4	10.0	17.6
G39	12.3	29.5	7.9	34.8
G40	9.8	44.0	7.2	40.9
G41	14.0	19.8	10.8	10.7
NSF 4	17.4	0.3	12.5	-ve
NSF 5	16.5	9.1	12.3	-ve
NSF 10	17.6	-ve	12.5	-ve
NSF 16	17.7	-ve	12.0	1.1
NSF 17	17.0	2.7	11.5	4.6
NSF 18	16.6	8.6	11.2	7.3
NSF 20	18.3	-ve	12.3	-ve
NSF 21	16.8	3.6	12.3	-ve
NSF 22	16.3	6.7	12.4	-ve

[0571]

NSF 26	18.4	-ve	12.8	-ve

[0572] 表6注释

[0573] [1]血清G23-G41来自于Graves'疾病的患者;血清NSF来自于健康血液供体;

[0574] [2]在健康血液供体血清下对^{125}I-14D3结合的平均值为17.4%。

[0575] [3]使用下式来计算结合的抑制

[0576] $$\%抑制=100-\left(\frac{A}{B}\times 100\right)$$

[0577] 其中A=在有测试血清时的结合；

[0578] B=在健康血液供体血清下的结合平均数。

[0579] [4]在健康血液供体血清下对^{125}I-TSH结合的平均值为12.1%。

[0580] 表7：各种患者的血清通过标记的TSH、16E5和14D3对TSHR包被的试管结合的影响

[0581]

测试样品[1]	与 TSHR 包被试管结合的抑制(%)[2]，分别利用：		
	^{125}I-TSH	^{125}I-16E5	^{125}I-14D3
G42/5	87	71	77
G42/10	82	56	51
G42/20	70	34	24
D1/10	2	3	2
D1/100	-2	3	0
D2/10	1	1	-7
D2/100	-2	0	0
A1/10	-1	3	2
A1/100	-1	3	-1
A2/10	5	3	5
A2/100	1	3	1

[0582] 表7的注释：

[0583] [1]血清G42来自于甲状腺机能亢进疾病的患者；

[0584] 血清D1和D2来自1型糖尿病患者(对谷氨酸脱羧酶的自身抗体为阳性)

[0585] 血清A1和A2来自爱迪生氏病患者(对类固醇21-羟化酶的自身抗体为阳性)

[0586] 所有的测试样品都被健康血液供体的血清稀释，稀释因子为/5，/10，/20/或100

[0587] [2]使用下式来计算结合的抑制

[0588] $$\%抑制=100-\left(\frac{A}{B}\times 100\right)$$

[0589] 其中A=在有测试血清时的结合

[0590] B=在健康血液供体血清库时的结合平均数。

[0591] 表8：患者血清对TSHR与16E5F(ab)$_2$包被的试管结合的影响

[0592]

测试材料[1]	^{125}I-4E31 标记的 THSR 结合到 16E5 $F(ab)_2$ 包被管(加入总计数%)	抑制 TSHR 结合[2]	抑制 TSH 结合(%)[3]
G43	1.8	91.4	72.3
G44	4.8	77.2	45.1
G45	3.0	85.6	71.8
G46	2.0	90.2	83.8
G47	1.8	91.4	75.3
NSF 10	17.8	-15	<14
NSF 17	14.8	4	<14
NSF 21	13.5	12	<14

[0593] 表8注释

[0594] [1]血清G43-G47来自于甲状腺机能亢进疾病的患者；

[0595] 血清NSF来自健康血液供体

[0596] [2]使用下式来计算结合的抑制

[0597] $$\%抑制 = 100-\left(\frac{A}{B}\times 100\right)$$

[0598] 其中A=在有测试血清时结合4E31的结合；

[0599] B=标记的4E31与健康血液供体血清的结合平均数(15.4%)

[0600] [3]TSH结合的抑制>14%为阳性；使用了PEG方法。

[0601] 表9：患者血清对TSHR与14D3F $(ab)_2$包被试管结合的影响

[0602]

测试材料[1]	^{125}I-4E31 标记的 THSR 结合到 14D3 $F(ab)_2$ 包被管(加入总计数%)	抑制 TSHR 结合[2]	抑制 TSH 结合(%)[3]
血清 A	4.0	70	72
血清 B	6.9	49	40
血清 C	3.0	78	85
血清 D	2.6	81	80
NSF 5	15.1	-12	<14
NSF 17	14.6	-9	<14
NSF 21	12.0	10	<14
NSF 23	11.8	12	<14

[0603] 表9注释：

[0604] [1]血清A-D来自于甲状腺机能亢进疾病的患者；

[0605] 血清NSF来自健康血液供体

[0606] [2]使用下式来计算结合的抑制

[0607] $$\%抑制 = 100-\left(\frac{A}{B}\times 100\right)$$

[0608] 其中A=有测试血清时标记的4E31的结合；

[0609] B=4E31与健康血液供体血清的结合平均数(13.4%)

[0610] ^{3}TSH结合的抑制>14%为阳性；使用了PEG方法。

[0611] 表10：通过TSHR MAbs对^{125}I-16E5Fab与TSHR结合的抑制

[0612]

IgG(100μg/ml)	抑制%	表位区域(aa)
16E5	70.4	-
14D3	67.6	-
17D2	69.2	-
2G2	-ve	甲状腺球蛋白特异性的
5D6	-ve	22-41
8E2	-ve	22-41
4B5	7.1	22-41
10C4	-ve	37-56
10D5	-ve	37-71

[0613]

4D2	-ve	37-71
2E2	-ve	52-71
1D6	-ve	202-221
7B5	-ve	202-221
16B6	-ve	202-221
3C3	11.2	202-236
4B4	-ve	217-236
4E4	-ve	217-236
8D3	-ve	217-236
6D7	-ve	217-236
18C5	15.7	246-260
3C7	17	246-260
4D7	24.2	246-260
3B3	8.8	277-296
5B5	-ve	307-326
4E6	-ve	307-326
6E2	-ve	322-341
9C2	-ve	322-341
6B4	-ve	337-356
3E4	-ve	337-371
3F3	-ve	352-371
3B2	-ve	352-371
7C2	-ve	367-386

2B4	-ve	381-385
3E6	5.4	381-385
8E3	4.8	381-385
7C4	-ve	381-385
1D5	4.2	381-385
4E2	-ve	381-385
3D3	-ve	382-401
2C4	-ve	382-401
10C2	-ve	382-401
7E5	-ve	382-401

```
         MRPTPLLQLALLALPRSLGGKGCPSPPCECHQEDDFRVT   Majority

   1     MRPADLLQLVLLLDLPRDLGGMGCSSPPCECHQEEDFRVT   HTSHR.PRO
   1     MSLTPLLQLALVLALPRSLRGKGCPSPPCECHQEDDFRVT   PTSHR.PRO
   1     MRPTPLLRLALFLVLPSSLGGERCPSPPCECRQEDDFRVT   BTSHR.PRO
   1     MRQTPLLQLALLLSLPRSLGGKGCPSPPCECHQEDDFRVT   CTSHR.PRO
   1     MRPPPLLHLALLLALPRSLGGKGCPSPPCECHQEDDFRVT   DTSHR.PRO
   1     MRPGSLLLLVLLLALSRSLRGKECASPPCECHQEDDFRVT   MTSHR.PRO
   1     MRPGSLLQLTLLLALPRSLWGRGCTSPPCECHQEDDFRVT   RTSHR.PRO
   1     MRPTPLLRLALLLVLPSSLWGERCPSPPCECRQEDDFRVT   STSHRP.PRO

         CKDIHRIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR   Majority

  41     CKDIQRIPSLPPSTQTLKLIETHLRTIPSHAFSNLPNISR   HTSHR.PRO
  41     CKDIHSIPPLPPNTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR   PTSHR.PRO
  41     CKDIQSIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR   BTSHS.PRO
  41     CKDIHRIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR   CTSHR.PRO
  41     CKDIHRIPTLPPSTQTLKFIETQLKTIPSRAFSNLPNISR   DTSHR.PRO
  41     CKELHRIPSLPPSTQTLKLIETHLKTIPSLAFSSLPNISR   MTSHR.PRO
  41     CKELHQIPSLPPSTQTLKLIETHLKTIPSLAFSSLPNISR   RTSHS.PRO
  41     CKDIQRIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR   STSHRP.PRO

         IYLSIDATLQQLESHSFYNLSKMTHIEIRNTRSLTYIDPG   Majority

  81     IYVSIDVTLQQLESHSFYNLSKVTHIEIRNTRNLTYIDPD   HTSHR.PRO
  81     IYLSIDATLQQLESQSFYNLSKMTHIEIRNTRSLTYINPG   PTSHR.PRO
  81     IYLSIDATLQQLESHSFYNLSKVTHIEIRNTRSLTYIDSG   BTSHR.PRO
  81     IYLSIDATLQRLESHSFYNLSKMTHIEIRNTRSLTYIDPG   CTSHR.PRO
  81     IYLSIDATLQRLESHSFYNLSKMTHIEIRNTRSLTSIDPD   DTSHR.PRO
  81     IYLSIDATLQRLEPHSFYNLSKMTHIEIRNTRSLTYIDPD   MTSHR.PRO
  81     IYLSIDATLQRLEPHSFYNLSKMTHIEIRNTRSLTYIDPD   RTSHR.PRO
  81     IYLSIDATLQQLESHSFYNLSKVTHIEIRNTRSLTYIDSG   STSHRP.PRO

         ALKELPLLKFLGIFNTGLRVFPDLTKVYSTDVFFILEITD   Majority

 121     ALKELPLLKFLGIFNTGLKMFPDLTKVYSTDIFFILEITD   HTSHR.PRO
 121     ALKDLPLLKFLGIFNTGLRIFPDLTKVYSTDVFFILEITD   PTSHR.PRO
 121     ALKELPLLKFLGIFNTGLRVFPDLTKIYSTDVFFILEITD   BTSHR.PRO
 121     ALKELPLLKFLGIFNTGLGVFPDLTKVYSTDVFFILEITD   CTSHR.PRO
 121     ALKELPLLKFLGIFNTGLGVFPDVTKVYSTDVFFILEITD   DTSHR.PRO
 121     ALTELPLLKFLGIFNTGLRIFPDLTKIYSTDIFFILEITD   MTSHR.PRO
 121     ALTELPLLKFLGIFNTGLRIFPDLTKIYSTDVFFILEITD   RTSHR.PRO
 121     ALKELPLLKFLGIFNTGLRVFPDLTKIYSTDVFFILEITD   STSHRP.PRO

         NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT   Majority

 161     NPYMTSIPVNAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSVQGYAFNGT   HTSHR.PRO
 161     NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSVQGHAFNGT   PTSHR.PRO
 161     NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT   BTSHR.PRO
 161     NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT   CTSHR.PRO
 161     NPYMASIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT   DTSHR.PRO
 161     NPYMTSVPENAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSVQGHAFNGT   MTSHR.PRO
 161     NPYMTSVPENAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT   RTSHR.PRO
 161     NPYMTSVPANAFQGLSNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT   STSHRP.PRO
```

图1

```
     ATGAGGCCGACGCCCCTGCTGCAGCTGGCGCTGCTTCTCG  Majority

   1 ATGAGGCAGACGCCCCTGCTGCAGCTGGCGTTACTTCTCT  CAT.SEQ
   1 ATGCGGCCGACGCCCCTCCTGCGGCTGGCGCTGTTTCTGG  COW.SEQ
   1 ATGAGGCCGCCGCCCCTGCTGCACCTGGCGCTGCTTCTCG  DOG.SEQ
   1 ATGAGGCCAGGGTCCCTGCTGCTGCTTGTTCTGCTGCTCG  MOUSE.SEQ
   1 ATGAGTCTGACGCCCCTGTTGCAGCTGGCGCTCGTTCTCG  PTSHR.SEQ
   1 ATGAGGCCAGGGTCCCTGCTCCAGCTCACTCTGCTGCTCG  RAT.SEQ
   1 ATGCGGCCGACGCCCCTCCTGCGGTTGGCGCTGCTTCTGG  SHEEP.SEQ
   1 ATGAGGCCGGCGGACTTGCTGCAGCTGGTGCTGCTGCTCG  HTSHR.SEQ

     CCCTGCCCAGGAGCCTGGGGGGGAAGGGGTGTCCGTCTCC  Majority

  41 CCCTGCCCAGGAGCCTGGGGGGGAAAGGGTGTCCGTCTCC  CAT.SEQ
  41 TCCTGCCCAGCAGCCTCGGTGGGGAGAGGTGTCCGTCTCC  COW.SEQ
  41 CCCTGCCCAGGAGCCTGGGGGGGAAGGGGTGTCCTTCTCC  DOG.SEQ
  41 CCCTGTCCAGGAGCCTGCGGGGCAAAGAGTGTGCGTCTCC  MOUSE.SEQ
  41 CCCTGCCCAGGAGCCTCAGGGGGAAAGGGTGTCCGTCTCC  PTSHR.SEQ
  41 CCCTGCCCAGGAGCCTCTGGGGCAGAGGGTGTACTTCTCC  RAT.SEQ
  41 TCCTGCCCAGCAGCCTCTGGGGGGAGAGGTGTCCGTCTCC  SHEEP.SEQ
  41 ACCTGCCCAGGGACCTGGGCGGAATGGGGTGTTCGTCTCC  HTSHR.SEQ

     GCCCTGCGAGTGCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC  Majority

  81 GCCCTGCGAGTGTCACCAGGAAGATGACTTCAGAGTCACC  CAT.SEQ
  81 GCCCTGCGAATGCCGCCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC  COW.SEQ
  81 CCCCTGTGAGTGCCACCAGGAGGATGACTTCAGAGTCACC  DOG.SEQ
  81 ACCCTGTGAGTGTCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC  MOUSE.SEQ
  81 GCCCTGCGAATGCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC  PTSHR.SEQ
  81 ACCCTGCGAATGCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC  RAT.SEQ
  81 GCCCTGCGAATGCCGCCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC  SHEEP.SEQ
  81 ACCCTGCGAGTGCCATCAGGAGGAGGACTTCAGAGTCACC  HTSHR.SEQ

     TGCAAGGATATCCACCGCATCCCCAGCTTACCGCCCAGCA  Majority

 121 TGCAAGGATATTCACCGTATCCCCAGCCTACCGCCCAGCA  CAT.SEQ
 121 TGCAAGGACATCCAGAGCATCCCTAGCTTACCCCCCAGCA  COW.SEQ
 121 TGCAAGGATATCCACCGCATCCCCACCCTACCACCCAGCA  DOG.SEQ
 121 TGCAAGGAGCTCCACCGAATCCCCAGCCTGCCGCCCAGCA  MOUSE.SEQ
 121 TGCAAGGATATCCACAGCATCCCCCCCTTACCACCCAATA  PTSHR.SEQ
 121 TGCAAGGAACTCCACCAAATCCCCAGCCTACCGCCCAGCA  RAT.SEQ
 121 TGCAAGGACATCCAGCGCATCCCTAGCTTACCCCCCAGCA  SHEEP.SEQ
 121 TGCAAGGATATTCAACGCATCCCCAGCTTACCGCCCAGTA  HTSHR.SEQ

     CGCAGACTCTGAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT  Majority

 161 CGCAGACTCTGAAATTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT  CAT.SEQ
 161 CGCAGACCCTGAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT  COW.SEQ
 161 CGCAGACTCTGAAGTTTATAGAGACTCAGCTGAAAACCAT  DOG.SEQ
 161 CCCAGACTCTGAAGCTCATCGAGACTCATCTGAAGACCAT  MOUSE.SEQ
 161 CTCAGACACTAAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT  PTSHR.SEQ
 161 CCCAGACTCTGAAGCTCATCGAGACTCACCTGAAGACCAT  RAT.SEQ
 161 CGCAGACCCTGAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT  SHEEP.SEQ
 161 CGCAGACTCTGAAGCTTATTGAGACTCACCTGAGAACTAT  HTSHR.SEQ
```

图2

```
     TCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG  Majority

201  TCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG  CAT.SEQ
201  TCCCAGTCGTGCGTTCTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG  COW.SEQ
201  TCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG  DOG.SEQ
201  ACCCAGTCTTGCATTTTCGAGTCTGCCCAATATTTCCAGG  MOUSE.SEQ
201  CCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG  PTSHR.SEQ
201  TCCCAGTCTTGCCTTTTCGAGCCTGCCCAATATTTCCAGG  RAT.SEQ
201  TCCCAGTCGTGCGTTCTCAAATTTGCCCAATATTTCCAGG  SHEEP.SEQ
201  TCCAAGTCATGCATTTTCTAATCTGCCCAATATTTCCAGA  HTSHR.SEQ

     ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCGGCTGGAAT  Majority

241  ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCGACTGGAAT  CAT.SEQ
241  ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCAGCTGGAAT  COW.SEQ
241  ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCGGCTGGAAT  DOG.SEQ
241  ATCTATTTATCTATAGATGCAACTCTGCAGCGGCTGGAAC  MOUSE.SEQ
241  ATCTACCTGTCAATAGATGCAACTCTACAGCAGCTGGAAT  PTSHR.SEQ
241  ATCTATCTATCCATAGATGCCACTCTGCAGCGACTGGAGC  RAT.SEQ
241  ATCTACTTGTCAATAGATGCGACTTTGCAGCAACTGGAAT  SHEEP.SEQ
241  ATCTACGTATCTATAGATGTGACTCTGCAGCAGCTGGAAT  HTSHR.SEQ

     CACATTCCTTCTACAATTTG                      Majority

281  CACATTCCTTCTACAATTTG                      CAT.SEQ
281  CACATTCCTTCTACAATTTA                      COW.SEQ
281  CACATTCCTTCTACAATTTA                      DOG.SEQ
281  CACATTCTTTCTACAATTTG                      MOUSE.SEQ
281  CACAGTCCTTCTACAATTTG                      PTSHR.SEQ
281  CACATTCTTTCTACAATTTG                      RAT.SEQ
281  CACATTCCTTCTACAATTTA                      SHEEP.SEQ
281  CACACTCCTTCTACAATTTG                      HTSHR.SEQ
```

图2续

```
     TKLDAVYLNKNKYLTAIDKDAFGGVYSGFTLLDVSYTSVT  Majority

200  TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVYSGPSLLDVSQTSVT  HTSHR.PRO
200  TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVFSGPTLLDVSYTSVT  PTSHR.PRO
200  TKLDAVYLNKNKYLTVIGQDAFAGVYSGPTLLDISYTSVT  BTSHR.PRO
200  TKLDAVYLNKNKYLTAIDQDAFGGVYSGPTLLDVSYTSVT  CTSHR.PRO
200  TKLDAVYLNKNKYLSAIDKDAFGGVYSGPTLLDVSYTSVT  DTSHR.PRO
200  TKLDAVYLNKNKYLTAIDNDAFGGVYSGPTLLDVSSTSVT  MTSHR.PRO
200  TKLDAVYLNKNKYLTAIDKDAFGGVYSGPTLLDVSSTSVT  RTSHR.PRO
200  TKLDAVYLNKNKYLTVIDQDAFAGVYSGPTLLDISYTSVT  STSHRP.PRO

     ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSPSFLHLTRADLSY  Majority

240  ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY  HTSHR.PRO
240  ALPPKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY  PTSHR.PRO
240  ALPSKGLEHLKELIARNTWTLRKLPLSLSFLHLTRADLSY  BTSHS.PRO
240  ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLTLSFLHLTRADLSY  CTSHR.PRO
240  ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY  DTSHR.PRO
240  ALPSKGLEHLKELIAKDTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY  MTSHR.PRO
240  ALPSKGLEHLKELIAKNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY  RTSHS.PRO
240  ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY  STSHRP.PRO

     PSHCCAFKNQKKIRGILESLM                     Majority

280  PSHCCAFKNQKKIRGILESLM                     HTSHR.PRO
280  PSHCCAFKNQKKIRGILESLM                     PTSHR.PRO
280  PSHCCAFKNQKKIRGILQSLM                     BTSHR.PRO
280  PSHCCAFKNQKKIRGILESFM                     CTSHR.PRO
280  PSHCCAFKNQKKIRGILESLM                     DTSHR.PRO
280  PSHCCAFKNQKKIRGILESLM                     MTSHR.PRO
280  PSHCCAFKNQKKIRGILESLM                     RTSHR.PRO
280  PSHCCAFKNQKNIRGILQSLM                     STSHRP.PRO
```

图3

```
     TCTTACACCAGTGTCACTGCCCTTCCATCCAAAGGCCTGG  Majority

700  TCTTACACCAGTGTCACTGCCCTGCCATCCAAAGGCCTGG  CAT.SEQ
700  TCTTATACCAGTGTCACAGCCCTACCATCCAAAGGCCTGG  COW.SEQ
700  TCTTACACCAGTGTTACTGCCCTGCCATCCAAAGGCCTGG  DOG.SEQ
700  TCTTCCACCAGCGTCACTGCCCTTCCTTCCAAAGGCCTGG  MOUSE.SEQ
700  TCTTATACCAGTGTTACTGCCCTGCCACCCAAAGGCCTGG  PTSHR.SEQ
700  TCTTCCACCAGCGTTACTGCTCTTCCTTCCAAAGGCCTGG  RAT.SEQ
700  TCTTATACCAGTGTCACTGCCCTACCATCCAAAGGCCTGG  SHEEP.SEQ
700  TCTCAAACCAGTGTCACTGCCCTTCCATCCAAAGGCCTGG  HTSHR.SEQ

     AGCACCTGAAGGAACTGATACCAAGAAACACTTGGACTCT  Majority

740  AGCACCTGAAGGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT  CAT.SEQ
740  AACACCTGAAGGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT  COW.SEQ
740  AGCATCTAAAGGAGCTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT  DOG.SEQ
740  AGCACCTCAAAGAACTGATCGCAAAAGACACCTGGACTCT  MOUSE.SEQ
740  AACACCTGAAGGAACTGATAGCAAGAAATACTTGGACTCT  PTSHR.SEQ
740  AGCACCTCAAAGAGCTGATCGCGAAGAACACCTGGACTCT  RAT.SEQ
740  AACACCTGAAGGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT  SHEEP.SEQ
740  AGCACCTGAAGGAACTGATAGCAAGAAACACCTGGACTCT  HTSHR.SEQ

     AAAGAAACTTCCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACA  Majority

780  AAAGAAACTTCCACTTACCTTGAGTTTCCTTCACCTCACA  CAT.SEQ
780  AAGGAAACTTCCTCTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACA  COW.SEQ
780  AAAGAAACTCCCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTTACA  DOG.SEQ
780  CAAAAAGCTCCCGCTGTCGTTGAGTTTCCTCCACCTCACT  MOUSE.SEQ
780  AAAGAAACTTCCACTGTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACA  PTSHR.SEQ
780  CAAAAAGCTCCCCCTGTCCTTGAGCTTCCTCCACCTCACT  RAT.SEQ
780  AAAGAAACTTCCTCTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACA  SHEEP.SEQ
780  TAAGAAACTTCCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACA  HTSHR.SEQ

     CGGGCTGACCTTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA  Majority

820  CGGGCTGACCTTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA  CAT.SEQ
820  CGGGCTGACCTTTCTTATCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTA  COW.SEQ
820  CGGGCTGACCTTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA  DOG.SEQ
820  CGGGCTGACCTCTCTTACCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTA  MOUSE.SEQ
820  CGAGCTGACCTTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA  PTSHR.SEQ
820  CGGGCTGACCTCTCTTACCCAAGTCACTGCTGTGCTTTTA  RAT.SEQ
820  CGGGCTGACCTTTCTTATCCGAGCCACTGCTGTGCTTTTA  SHEEP.SEQ
820  CGGGCTGACCTTTCTTACCCAAGCCACTGCTGTGCCTTTA  HTSHR.SEQ

     AGAATCAGAAGAAAATCAGACCAATCCTTGACTCTTTAAT  Majority

860  AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCCTTCAT  CAT.SEQ
860  AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAAT  COW.SEQ
860  AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCCTTAAT  DOG.SEQ
860  AGAACCAGAAGAAAATCAGGGGAATCCTGGAGTCTTTGAT  MOUSE.SEQ
860  AGAATCAGAAGAAGATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAAT  PTSHR.SEQ
860  AGAACCAGAAGAAAATCAGGGGAATCCTAGAGTCTTTGAT  RAT.SEQ
860  AGAATCAGAAGAATATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAAT  SHEEP.SEQ
860  AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCCTTGAT  HTSHR.SEQ
```

图4

```
     KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ  Majority

250  KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ  HTSHR.PRO
250  KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ  PTSHR.PRO
250  KELIARNTWTLRKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ  BTSHR.PRO
250  KELIARNTWTLKKLPLTLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ  CTSHR.PRO
250  KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ  DTSHR.PRO
250  KELIAKDTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ  MTSHR.PRO
250  KELIAKNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ  RTSHR.PRO
250  KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ  STSHRP.PRO

     KKIRGILESLMCNESSIRSLRQRKSVNALNGPFYQEYEED  Majority

290  KKIRGILESLMCNESSMQSLRQRKSVNALNSPLHQEYEEN  HTSHR.PRO
290  KKIRGILESLMCNESSIRSLRQRKSVNAVNGPFYQEYEED  PTSHR.PRO
290  KKIRGILQSLMCNESSIRGLRQRKSASALNGPFYQEYEDX  BTSHS.PRO
290  KKIRGILESFMCNDSSIRSLRQRKSVNALNGPFDQEYEEY  CTSHR.PRO
290  KKIRGILESLMCNESSIRSLRQRKSVNTLNGPFDQEYEEY  DTSHR.PRO
290  KKIRGILESLMCNESSIRNLRQRKSVNILRGPIYQEYEED  MTSHR.PRO
290  KKIRGILESLMCNESSIRNLRQRKSVNVMRGPVYQEYEEG  RTSHS.PRO
290  KNIRGILQSLMCNESSIWGLRQRKSASALNGPFYQEYEED  STSHRP.PRO

     LDGSSAGYKENSKFQDTHSNSHYYVFFEEQEDEIIGFGQE  Majority

330  LGDSIVGYKEKSKFQDTHNNAHYYVFFEEQEDEIIGFGQE  HTSHR.PRO
330  LGDTSVGNKENSKFQDTHSNSHYYVFFEEQEDEIIGFGQE  PTSHR.PRO
330  LGDGSAGYKENSKFQDTQSNSHYYVFFEEQEDEIIGFGQQ  BTSHR.PRO
330  LGDSHAGYKDNSKFQDTRSNSHYYVFFEEQXDEILGFGQE  CTSHR.PRO
330  LGDSHAGYKDNSQFQDTDSNSHYYVFFEEQEDEILGFGQE  DTSHR.PRO
330  PGDNSVGYKQNSKFQESPSNSHYYVFFEEQEDEVVGFGQE  MTSHR.PRO
330  LGDNHVGYKQNSKFQEGPSNSHYYVFFEEQEDEIIGFGQE  RTSHR.PRO
330  LGDGSAGYKENSKFQDTHSNSHYYVFFEDQEDEIIGFGQE  STSHRP.PRO

     LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE  Majority

370  LKNPQEETLQAFDSHYDYTICGDSEDMVCTPKSDEFNPCE  HTSHR.PRO
370  LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE  PTSHR.PRO
370  LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE  BTSHR.PRO
370  LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGNEDMVCTPKSDEFNPCE  CTSHR.PRO
370  LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGNEDMVCTPKSDEFNPCE  DTSHR.PRO
370  LKNPQEETLQAFESHYDYTVCGDNEDMVCTPKSDEFNPCE  MTSHR.PRO
370  LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGDNEDMVCTPKSDEFNPCE  RTSHR.PRO
370  LKNPQEETLQAFDNHYDYTVCGGSEEMVCTPKSDEFNPCE  STSHRP.PRO

     DIMGYKFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP  Majority

410  DIMGYKFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLLILLTSHYKLNVP  HTSHR.PRO
410  DIMGYRFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP  PTSHR.PRO
410  DIMGYKFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP  BTSHR.PRO
410  DIMGYKFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLIILLTSHYKLTVP  CTSHR.PRO
410  DIMGYKFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLIVLLTSHYKLTVP  DTSHR.PRO
410  DIMGYRFLRIVVWFVSLLALLGNIFVLLILLTSHYKLTVP  MTSHR.PRO
410  DIMGYKFLRIVVWFVSPMALLGNVFVLFVLLTSHYKLTVP  RTSHR.PRO
410  DIMGYKFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP  STSHRP.PRO
```

图5

```
    GGAACTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAAACTT  Majority

750 GGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAAACTT  CAT.SEQ
750 GGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAGGAAACTT  COW.SEQ
750 GGAGCTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAAACTC  DOG.SEQ
750 AGAACTGATCGCAAAAGACACCTGGACTCTCAAAAAGCTC  MOUSE.SEQ
750 GGAACTGATAGCAAGAAATACTTGGACTCTAAAGAAACTT  PTSHR.SEQ
750 AGAGCTGATCGCGAAGAACACCTGGACTCTCAAAAAGCTC  RAT.SEQ
750 GGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAAACTT  SHEEP.SEQ
750 GGAACTGATAGCAAGAAACACCTGGACTCTTAAGAAACTT  HTSHR.SEQ

    CCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC  Majority

790 CCACTTACCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC  CAT.SEQ
790 CCTCTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC  COW.SEQ
790 CCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTTACACGGGCTGACC  DOG.SEQ
790 CCGCTGTCGTTGAGTTTCCTCCACCTCACTCGGGCTGACC  MOUSE.SEQ
790 CCACTGTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGAGCTGACC  PTSHR.SEQ
790 CCCCTGTCCTTGAGCTTCCTCCACCTCACTCGGGCTGACC  RAT.SEQ
790 CCTCTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC  SHEEP.SEQ
790 CCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC  HTSHR.SEQ

    TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA  Majority

830 TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA  CAT.SEQ
830 TTTCTTATCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTAAGAATCAGAA  COW.SEQ
830 TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA  DOG.SEQ
830 TCTCTTACCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTAAGAACCAGAA  MOUSE.SEQ
830 TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA  PTSHR.SEQ
830 TCTCTTACCCAAGTCACTGCTGTGCTTTTAAGAACCAGAA  RAT.SEQ
830 TTTCTTATCCGAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA  SHEEP.SEQ
830 TTTCTTACCCAAGCCACTGCTGTGCCTTTAAGAATCAGAA  HTSHR.SEQ

    GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAATGTGTAATGAG  Majority

870 GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCCTTCATGTGTAATGAC  CAT.SEQ
870 GAAAATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAATGTGTAACGAG  COW.SEQ
870 GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCCTTAATGTGTAATGAA  DOG.SEQ
870 GAAAATCAGGGGAATCCTGGAGTCTTTGATGTGTAATGAG  MOUSE.SEQ
870 GAAGATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAATGTGTAATGAG  PTSHR.SEQ
870 GAAAATCAGGGGAATCCTAGAGTCTTTGATGTGTAATGAG  RAT.SEQ
870 GAATATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAATGTGTAACGAG  SHEEP.SEQ
870 GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCCTTGATGTGTAATGAG  HTSHR.SEQ

    AGCAGTATTCGGAGCCTGCGTCAGAGAAAATCTGTGAATG  Majority

910 AGCAGTATTCGGAGCCTGCGTCAGAGAAAATCTGTGAATG  CAT.SEQ
910 AGCAGTATTCGGGGCCTGCGTCAGAGAAAATCCGCAAGTG  COW.SEQ
910 AGCAGTATTCGGAGCCTGCGCCAGAGAAAATCTGTGAATA  DOG.SEQ
910 AGCAGTATCCGGAACCTTCGTCAAAGGAAATCAGTGAACA  MOUSE.SEQ
910 AGCAGTATTCGGAGCCTGCGTCAGAGAAAATCTGTGAATG  PTSHR.SEQ
910 AGTAGTATCCGGAACCTGCGTCAAAGAAAGTCAGTGAACG  RAT.SEQ
910 AGCAGTATTTGGGGCCTGCGTCAGAGAAAATCCGCGAGTG  SHEEP.SEQ
910 AGCAGTATGCAGAGCTTGCGCCAGAGAAAATCTGTGAATG  HTSHR.SEQ
```

图6

```
     CTTTGAATGGTCCCTTCTACCAGGAATATGAAGAGGATCT  Majority

 950 CTTTGAATGGTCCCTTCGACCAGGAATATGAAGAGTATCT  CAT.SEQ
 950 CTTTGAATGGTCCCTTCTACCAGGAATATGAGGATNNNCT  COW.SEQ
 950 CTTTGAATGGCCCCTTTGACCAGGAATATGAAGAGTATCT  DOG.SEQ
 950 TCTTGAGGGGTCCCATCTACCAGGAATATGAAGAAGATCC  MOUSE.SEQ
 950 CTGTAAATGGTCCCTTTTACCAAGAATATGAAGAGGATCT  PTSHR.SEQ
 950 TCATGAGGGGTCCCGTCTACCAGGAATATGAAGAAGGTCT  RAT.SEQ
 950 CTTTGAATGGTCCCTTCTACCAGGAATATGAAGAGGATCT  SHEEP.SEQ
 950 CCTTGAATAGCCCCCTCCACCAGGAATATGAAGAGAATCT  HTSHR.SEQ

     GGGTGACAGCAGTGTTGGGTACAAGGAAAACTCCAAGTTC  Majority

 990 AGGTGACAGCCATGCTGGATATAAGGACAACTCTAAGTTC  CAT.SEQ
 990 GGGTGATGGCAGTGCTGGGTACAAGGAGAACTCCAAGTTC  COW.SEQ
 990 GGGTGACAGCCATGCTGGGTACAAGGACAACTCTCAGTTC  DOG.SEQ
 990 GGGTGACAACAGTGTTGGGTACAAACAAAACTCCAAGTTC  MOUSE.SEQ
 990 GGGCGACACGAGTGTTGGGAATAAGGAAAACTCCAAGTTC  PTSHR.SEQ
 990 GGGTGACAACCATGTTGGGTACAAACAAAACTCCAAGTTC  RAT.SEQ
 990 GGGTGATGGCAGTGCTGGGTACAAGGAGAACTCCAAGTTC  SHEEP.SEQ
 990 GGGTGACAGCATTGTTGGGTACAAGGAAAAGTCCAAGTTC  HTSHR.SEQ

     CAGGATACCCATAGCAACTCTCATTATTATGTCTTCTTTG  Majority

1030 CAGGATACTCGCAGCAACTCTCATTATTATGTCTTCTTTG  CAT.SEQ
1030 CAAGATACCCAAAGCAACTCTCATTACTATGTCTTCTTTG  COW.SEQ
1030 CAGGATACCGATAGCAATTCTCATTATTATGTCTTCTTCG  DOG.SEQ
1030 CAGGAGAGCCCAAGCAACTCTCACTATTACGTCTTCTTTG  MOUSE.SEQ
1030 CAGGATACCCATAGCAACTCCCATTACTACGTCTTCTTTG  PTSHR.SEQ
1030 CAGGAGGGCCCAAGCAACTCTCACTATTACGTCTTCTTTG  RAT.SEQ
1030 CAAGATACCCACAGCAACTCTCATTACTATGTCTTCTTTG  SHEEP.SEQ
1030 CAGGATACTCATAACAACGCTCATTATTACGTCTTCTTTG  HTSHR.SEQ

     AAGAACAAGAGGATGAGATCATTGGTTTTGG           Majority

1070 AAGAACAANNNGACGAGATCCTTGGTTTTGG           CAT.SEQ
1070 AGGAGCAAGAAGATGAGATCATCGGTTTTGG           COW.SEQ
1070 AAGAACAAGAAGATGAGATCCTCGGTTTTGG           DOG.SEQ
1070 AAGAACAAGAGGATGAGGTCGTTGGTTTCGG           MOUSE.SEQ
1070 AAGAACAAGAGGATGAGATCATTGGTTTTGG           PTSHR.SEQ
1070 AAGAACAAGAGGACGAGATCATCGGTTTCGG           RAT.SEQ
1070 AGGATCAAGAAGATGAGATCATCGGTTTTGG           SHEEP.SEQ
1070 AAGAACAAGAGGATGAGATCATTGGTTTTGG           HTSHR.SEQ
```

图6续

```
    SHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV  Majority

750 AHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTI  CAT.SEQ
750 SHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV  COW.SEQ
750 SHYYVFFEEQEDEIIGFGQQLKNPQEETLQAFDSHYDYTV  DOG.SEQ
750 SHYYVFFEEQXDEILGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV  MOUSE.SEQ
750 SHYYVFFEEQEDEILGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV  PTSHR.SEQ
750 SHYYVFFEEQEDEVVGFGQELKNPQEETLQAFESHYDYTV  RAT.SEQ
750 SHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV  SHEEP.SEQ
750 SHYYVFFEDQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDNHYDYTV  HTSHR.SEQ

    CGGSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLLAL  Majority

790 CGDSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLLAL  CAT.SEQ
790 CGGSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYRFLRIVVWFVSLLAL  COW.SEQ
790 CGGSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLLAL  DOG.SEQ
790 CGGNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLLAL  MOUSE.SEQ
790 CGGNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLLAL  PTSHR.SEQ
790 CGDNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYRFLRIVVWFVSLLAL  RAT.SEQ
790 CGDNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSPMAL  SHEEP.SEQ
790 CGGSEEMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLLAL  HTSHR.SEQ

    LGNVFVLVILLTSHYKLTVPRFLMCNLAFADFCMGMYLLL  Majority

830 LGNVFVLLILLTSHYKLNVPRFLMCNLAFADFCMGMYLLL  CAT.SEQ
830 LGNVFVLVILLTSHYKLTVPRFLMCNLAFADFCMGMYLLL  COW.SEQ
830 LGNVFVLVILLTSHYKLTVPRFLMCNLAFADFCMGLYLLL  DOG.SEQ
830 LGNVFVLIILLTSHYKLTVPRFLMCNLAFADFCMGMYLLL  MOUSE.SEQ
830 LGNVFVLIVLLTSHYKLTVPRFLMCNLAFADFCMGMYLLL  PTSHR.SEQ
830 LGNIFVLLILLTSHYKLTVPRFLMCNLAFADFCMGVYLLL  RAT.SEQ
830 LGNVFVLFVLLTSHYKLTVPRFLMCNLAFADFCMGVYLLL  SHEEP.SEQ
830 LGNVFVLVILLTSHYKLTVPRFLMCNLAFADFCMGLYLLL  HTSHR.SEQ

    IASVDLYTHSEYYNHAIDWQTGPGCNTAGFF           Majority

870 IASVDLYTHSEYYNHAIDWQTGPGCNTAGFF           CAT.SEQ
870 IASVDLYTQSEYYNHAIDWQTGPGCNTAGFF           COW.SEQ
870 IASVDLYTQSEYYNHAIDWQTGPGCNTAGFF           DOG.SEQ
870 IASVDLYTHSEYYNHAIDWQTGPGCNAAGFF           MOUSE.SEQ
870 IASVDLYTHSEYYNHAIDWQTGPGCNTAGFF           PTSHR.SEQ
870 IASVDLYTHSEYYNHAIDWQTGPGCNTAGFF           RAT.SEQ
870 IASVDLYTHTEYYNHAIDWQTGPGCNTAGFF           SHEEP.SEQ
870 IASVDLYTQSEYYNHAIDWQTGPGCNTAGFF           HTSHR.SEQ
```

图7

```
     GCCAAGAGCTCAAAAACCCCCAGGAAGAGACCCTCCAGGC  Majority

700  GCCAGGAGCTTAAAAACCCACAAGAAGAGACCCTACAGGC  CAT.SEQ
700  GCCAACAGCTCAAAAACCCCCAGGAGGAGACCCTGCAGGC  COW.SEQ
700  GGCAGGAGCTTAAAAACCCACAGGAAGAGACCCTCCAGGC  DOG.SEQ
700  GCCAAGAGCTCAAAAATCCTCAGGAAGAGACTCTCCAAGC  MOUSE.SEQ
700  GCCAAGAGCTCAAAAACCCCCAGGAAGAGACCCTCCAGGC  PTSHR.SEQ
700  GCCAAGAGCTCAAAAATCCTCAGGAAGAGACTCTCCAAGC  RAT.SEQ
700  GCCAAGAGCTTAAAAACCCCCAGGAGGAGACCCTGCAGGC  SHEEP.SEQ
700  GCCAGGAGCTCAAAAACCCCCAGGAAGAGACTCTACAAGC  HTSHR.SEQ

     CTTTGACAGCCATTATGACTACACCGTGTGTCGGGGCAGT  Majority

740  CTTCGATAGCCATTATGACTACACTGTGTGTGGAGGCAAT  CAT.SEQ
740  CTTTGACAGCCATTACGACTATACCGTGTGTGGGGGCAGT  COW.SEQ
740  CTTTGATAGCCATTATGACTACACTGTGTGTGGTGGCAAT  DOG.SEQ
740  CTTCGAGAGCCACTATGACTACACGGTGTGTGGGGACAAC  MOUSE.SEQ
740  CTTTGACAGCCATTACGACTACACCGTGTGTGGGGGCAGT  PTSHR.SEQ
740  CTTCGACAGCCACTATGACTACACTGTGTGTGGGGACAAC  RAT.SEQ
740  CTTTGACAACCATTACGACTATACCGTGTGCGGGGGGAGT  SHEEP.SEQ
740  TTTTGACAGCCATTATGACTACACCATATGTGGGGACAGT  HTSHR.SEQ

     GAGGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCAGATCAGTTCAACC  Majority

780  GAAGACATGGTGTGTACTCCCAAGTCAGATGAGTTCAACC  CAT.SEQ
780  GAGGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCGGATGAGTTCAACC  COW.SEQ
780  GAAGACATGGTGTGTACTCCTAAGTCAGATGAGTTCAACC  DOG.SEQ
780  GAGGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCGGACGAGTTTAACC  MOUSE.SEQ
780  GAAGACATGGTGTGCACCCCCAAGTCAGATGAGTTCAACC  PTSHR.SEQ
780  GAGGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCAGACGAGTTTAACC  RAT.SEQ
780  GAGGAGATGGTGTGTACCCCCAAGTCGGATGAGTTCAACC  SHEEP.SEQ
780  GAAGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCCGATGAGTTCAACC  HTSHR.SEQ

     CCTGTGAAGACATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT  Majority

820  CCTGTGAAGACATAATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT  CAT.SEQ
820  CCTGTGAGGACATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATCGT  COW.SEQ
820  CCTGTGAAGACATAATGGGCTACAAGTTCCTGAGGATTGT  DOG.SEQ
820  CCTGTGAAGATATCATGGGCTACAGGTTCCTGAGAATCGT  MOUSE.SEQ
820  CCTGTGAAGACATAATGGGCTACAGGTTCCTGAGAATCGT  PTSHR.SEQ
820  CCTGTGAAGATATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATCGT  RAT.SEQ
820  CCTGTGAGGACATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT  SHEEP.SEQ
820  CGTGTGAAGACATAATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT  HTSHR.SEQ

     GGTGTGGTTTGTTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC  Majority

860  GGTGTGGTTTGTTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC  CAT.SEQ
860  GGTGTGGTTTGTGAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAACGTC  COW.SEQ
860  GGTGTGGTTTGTTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC  DOG.SEQ
860  GGTGTGGTTTGTCAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATATC  MOUSE.SEQ
860  GGTGTGGTTCGTTAGCCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC  PTSHR.SEQ
860  GGTATGGTTTGTCAGTCCGATGGCTCTCCTGGGCAACGTC  RAT.SEQ
860  GGTGTGGTTTGTGAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAACGTC  SHEEP.SEQ
860  GGTGTGGTTCGTTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC  HTSHR.SEQ
```

图8

4D7 - HC

DVQLKHSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLEWIGL
INPYTGGTNYNQKFKGKAKLTVDKSSSTAFMELLSLTSEDSAVYYCARDG
NLDYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVA
HPASKTKVD

图9

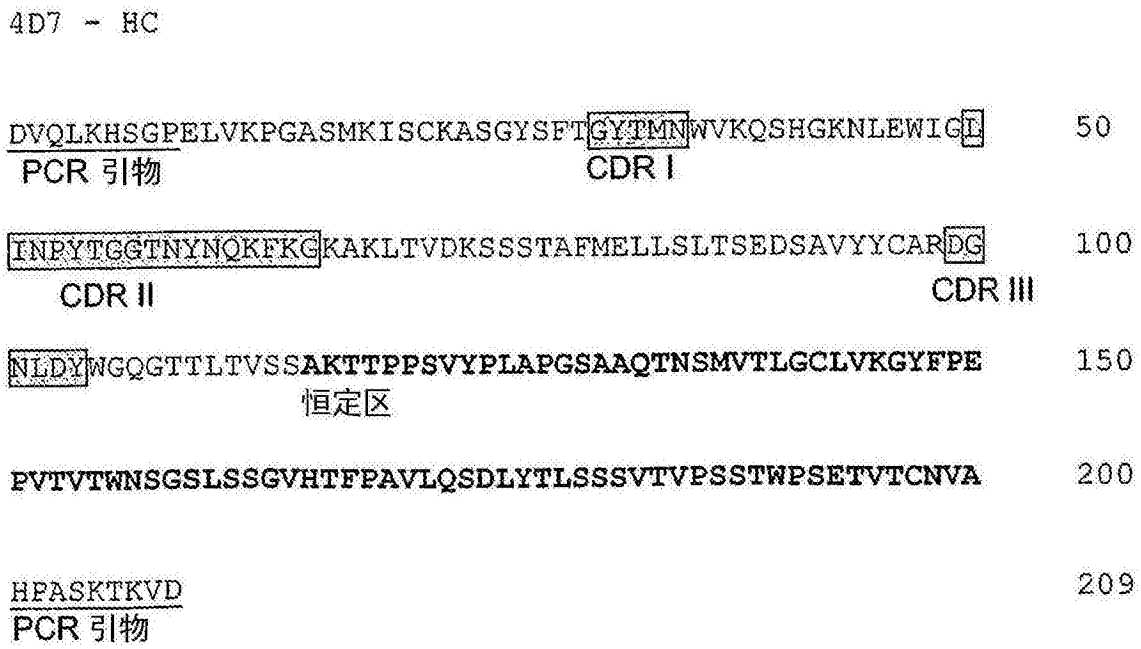


图10

4D7 - LC

SIVMSQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDNYGFSFMHWFQQIPGQPPKL
LIYAASNQGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKEVPY
TFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA
THKTSTSPIVKSFNRNEC

图11

4D7 - LC

SIVMSQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDNYGFSFMHWFQQIPGQPPKL 50
PCR 引物 CDR I

LIYAASNQGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKEVPY 100
CDR II CDR III

TFGGGTKLEIK**RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV** 150
恒定区

KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA 200

THKTSTSPIVKSFNRNEC 218
PCR 引物

图12

16E5 - HC

DVQLVQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFTGYNMHWVKQSHGKSLEWIGY
IDPYNGATSYNQKFEDKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRW
DWDPYAMDYWGQGTSVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK
GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTSPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI
TCNVAHPASKTKVD

图13

16E5 - HC

DVQLVQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFTGYNMHWVKQSHGKSLEWIGY 50

PCR 引物 CDR I

IDPYNGATSYNQKFEDKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRW 100

CDR II

DWDPYAMDYWGQGTSVTVSS**AKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK** 150

CDR III 恒定区

GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTSPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI 200

TCNVAHPASKTKVD 214

PCR 引物

图14

16E5 - LC

DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQSIGTSIHWYQQRTNGSPRLLIKY
ASESISGIFSRFSGSGSGTDFTLTINSVESEDIADYYCQQSNRWPLTFGA
GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI
DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKT
STSPIVKSFNRNEC

图15

16E5 - LC

DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQSIGTSIHWYQQRTNGSPRLLIKY 50
PCR 引物 CDR I

ASESISGIFSRFSGSGSGTDFTLTINSVESEDIADYYCQQSNRWPLTFGA 100
CDR II CDR III

GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI 150
恒定区

DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKT 200

STSPIVKSFNRNEC 214
PCR 引物

图16

17D2 - HC

DVQIQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFTAYNMHWVKQTHGKSLEWIGY
IDPYSGATSYHQKFKGKATLTVDKSSSTAYMRLNSLTSEDSAVYYCARRW
DWDPYAMDYWGQGTSVTVSSAKTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVK
GYFPESVTVTWNSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSAWPSQTV
TCSVAHPASNTTVD

图17

17D2 - HC

DVQIQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFTAYNMHWVKQTHGKSLEWIGY 50

PCR 引物 CDR I

IDPYSGATSYHQKFKGKATLTVDKSSSTAYMRLNSLTSEDSAVYYCARRW 100

CDR II

DWDPYAMDYWGQGTSVTVSS**AKTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVK** 150

CDR III 恒定区

GYFPESVTVTWNSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSAWPSQTV 200

TCSVAHPASNTTVD 214

PCR 引物

图18

17D2 - LC

SVEMSQSPAILSVSPGERISFSCRASQSIGTSIHWYQQRTNGSPRLLIKY
ASASISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQSNSWPLTFGA
GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI
DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKT
STSPIVKSFNRNEC

图19

17D2 - LC

SVEMSQSPAILSVSPGERISFSCRASQSIGTSIHWYQQRTNGSPRLLIKY 50
PCR 引物 CDR I

ASASISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQSNSWPLTFGA 100
CDR II CDR III

GTKLELK**RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI** 150
恒定区

DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKT 200

STSPIVKSFNRNEC 214
PCR 引物

图20

14D3 - HC

DVQMQQPGPELVKPGASLKMSCKASGYSFTGYNMHWVKQSHGKSLEWIGY
IDPYSGATSYNQKFEGKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRW
DWDPYAMDYWGQGTSVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK
GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI
TCNVAHPASNTKVD

图21

14D3 - HC

DVQMQQPGPELVKPGASLKMSCKASGYSFTGYNMHWVKQSHGKSLEWIGY 50

PCR 引物 CDR I

IDPYSGATSYNQKFEGKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRW 100

CDR II

DWDPYAMDYWGQGTSVTVSS**AKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK** 150

CDR III 恒定区

GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI 200

TCNVAHPASNTKVD 214

PCR 引物

图22

14D3 - LC

NILMTQSPAILSVSPGERVSFACRASQSIGTSIHWYQQRTNGSPRLLIKY
ASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQTNRWPLTFGA
GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI
DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKT
STSPIVKSFNRNEC

图23

14D3 - LC

NILMTQSPAILSVSPGERVSFACRASQSIGTSIHWYQQRTNGSPRLLIKY 50
PCR 引物 CDR I

ASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQTNRWPLTFGA 100
CDR II CDR III

GTKLELK**RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI** 150
恒定区

DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKT 200

STSPIVKSFNRNEC 214
PCR 引物

图24

4D7 - HC

gacgtccagctgaagcactcaggacctgagctggtgaagcctggagcttc
aatgaagatatcctgtaaggcttctggttactcattcactggctacacca
tgaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattggactt
attaatccttacactggtggtactaactacaaccagaagttcaagggcaa
ggccaaattaactgtagacaagtcatccagcacagccttcatggagctcc
tcagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagagatggt
aaccttgactactgggggccaaggcaccactctcacagtctcctcagccaa
aacgacacccccatctgtctatccactggcccctggatctgctgcccaaa
ctaactccatggtgaccctgggatgcctggtcaagggctatttccctgag
ccagtgacagtgacctggaactctggatccctgtccagcggtgtgcacac
cttcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtga
ctgtcccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgttgcc
cacccagccagcaagaccaaggtcgac

图25

4D7 - HC

gacgtccagctgaagcactcaggacctgagctggtgaagcctggagcttc 50
PCR 引物

aatgaagatatcctgtaaggcttctggttactcattcactggctacacca 100
CDR I

tgaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattggactt 150

attaatccttacactggtggtactaactacaaccagaagttcaagggcaa 200
CDR II

ggccaaattaactgtagacaagtcatccagcacagccttcatggagctcc 250

tcagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagagatggt 300
CDR III

aaccttgactactggggccaaggcaccactctcacagtctcctcagccaa 350

aacgacaccccatctgtctatccactggccctggatctgctgcccaaa 400
恒定区

ctaactccatggtgaccctgggatgcctggtcaagggctatttccctgag 450

ccagtgacagtgacctggaactctggatccctgtccagcggtgtgcacac 500

cttcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtga 550

ctgtcccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgttgcc 600

cacccagccagcaagaccaaggtcgac 627
PCR 引物

图26

4D7 - LC

agcattgtgatgtcacagtcgccagcttctttggctgtgtctctagggca
gagggccaccatctcctgcagagccagcgaaactgttgataattatggct
ttagttttatgcactggttccaacagataccgggacagccacccaaactc
ctcatctatgctgcatccaaccaaggatccggggtccctgccaggtttag
tggcagtgggtctgggacagacttcagcctcaacatccatcctatggagg
aggatgatactgcaatgtatttctgtcagcaaagtaaggaggttccgtac
acgttcggaggggggaccaagctggaaataaaacgggctgatgctgcacc
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtg
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc
aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc
actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga
gtgt

图27

4D7 - LC

agcattgtgatgtcacagtcgccagcttctttggctgtgtctctagggca 50
PCR 引物

gagggccaccatctcctgcagagccagcgaaactgttgataattatggct 100
CDR I

ttagttttatgcactggttccaacagataccgggacagccacccaaactc 150

ctcatctatgctgcatccaaccaaggatccggggtccctgccaggtttag 200
CDR II

tggcagtgggtctgggacagacttcagcctcaacatccatcctatggagg 250

aggatgatactgcaatgtatttctgtcagcaaagtaaggaggttccgtac 300
CDR III

acgttcggaggggggaccaagctggaaataaaacgggctgatgctgcacc 350
恒定区

aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtg 400

cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc 450

aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg 500

gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca 550

cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc 600

actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga 650
PCR 引物

gtgt 654

图28

16E5 - HC

gacgtccagttggtgcaatctggacctgagctggtgaagcctggagcttc
agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaaca
tgcactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattgggtat
attgatccttacaatggtgctactagctacaaccagaaattcgaggacaa
ggccacattgactgtagacaaatcttccagcacagcctacatgcagctca
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg
gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcac
cgtctcctcagccaaaacaacagccccatcggtctatccactggcccctg
tgtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgcctggtcaag
ggttatttccctgagccagtgaccttgacctggaactctggatccctgtc
cagtggtgtgcacacctccccagctgtcctgcagtctgacctctacaccc
tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtccatc
acctgcaatgtggcccacccggccagcaagaccaaggtcgac

图29

16E5 - HC

gacgtccagttggtgcaatctggacctgagctggtgaagcctggagcttc 50
PCR 引物

agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaaca 100
CDR I

tgcactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattgggtat 150

attgatccttacaatggtgctactagctacaaccagaaattcgaggacaa 200
CDR II

ggccacattgactgtagacaaatcttccagcacagcctacatgcagctca 250

acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg 300
CDR III

gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcac 350

cgtctcctca**gccaaaacaacagccccatcggtctatccactggccctg** 400
恒定区

tgtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgcctggtcaag 450

ggttatttccctgagccagtgaccttgacctggaactctggatccctgtc 500

cagtggtgtgcacacctccccagctgtcctgcagtctgacctctacaccc 550

tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtccatc 600

acctgcaatgtggcccacccggccagcaagaccaaggtcgac 642
PCR 引物

图30

16E5 - LC

gacatcttgctgactcagtctccagccatcctgtctgtgagtccaggaga
aagagtcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac
actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcataaagtat
gcttctgagtccatctctgggatattttctaggtttagtggcagtggatc
agggacagattttactcttaccatcaacagtgtggagtctgaagatattg
cagattattactgtcaacaaagtaataggtggccgctcacgttcggagct
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt
gatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca
tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt

图31

16E5 - LC

gacatcttgctgactcagtctccagccatcctgtctgtgagtccaggaga 50

PCR 引物

aagagtcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac 100

CDR I

actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcataaagtat 150

gcttctgagtccatctctgggatattttctaggtttagtggcagtggatc 200

CDR II

agggacagattttactcttaccatcaacagtgtggagtctgaagatattg 250

cagattattactgtcaacaaagtaataggtggccgctcacgttcggagct 300

CDR III

gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat 350

恒定区

cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt 400

gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt 450

gatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga 500

cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg 550

acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca 600

tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt 642

PCR 引物

图32

17D2 - HC

gacgtccagatccagcagtctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc
agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactgcctacaaca
tgcactgggtgaagcagacccatggaaagagccttgagtggattggttat
attgatccttacagtggtgctactagctaccaccagaaattcaagggcaa
ggccacattgactgttgacaaatcttccagcacagcctacatgcgcctca
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg
gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcac
cgtctcctcagccaaaacaacacccccatcagtctatccactggcccctg
ggtgtggagatacaactggttcctccgtgactctgggatgcctggtcaag
ggctacttccctgagtcagtgactgtgacttggaactctggatccctgtc
cagcagtgtgcacaccttcccagctctcctgcagtctggactctacacta
tgagcagctcagtgactgtcccctccagcgcctggccaagtcagaccgtc
acctgcagcgttgctcacccggccagcaacaccacggtcgac

图33

17D2 - HC

gacgtccagatccagcagtctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc 50
PCR 引物

agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactgcctacaaca 100
CDR I

tgcactgggtgaagcagacccatggaaagagccttgagtggattggttat 150

attgatccttacagtggtgctactagctaccaccagaaattcaagggcaa 200
CDR II

ggccacattgactgttgacaaatcttccagcacagcctacatgcgcctca 250

acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg 300

gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcac 350
CDR III

cgtctcctcagccaaaacaacacccccatcagtctatccactggccctg 400
恒定区

ggtgtggagatacaactggttcctccgtgactctgggatgcctggtcaag 450

ggctacttccctgagtcagtgactgtgacttggaactctggatccctgtc 500

cagcagtgtgcacaccttcccagctctcctgcagtctggactctacacta 550

tgagcagctcagtgactgtcccctccagcgcctggccaagtcagaccgtc 600

acctgcagcgttgctcacccggccagcaacaccacggtcgac 642
PCR 引物

图34

17D2 - LC

agcgttgagatgtcacagtcgccagccatcctgtctgtgagtccaggaga
aagaatcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac
actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcattaagtat
gcttctgcgtctatctctgggatcccttccaggtttagtggcagtggatc
agggacagattttactcttagcatcaacagtgtggagtctgaagatattg
cagattattactgtcaacaaagtaatagctggccgctcacgttcggtgct
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt
gatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca
tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt

图35

17D2 - LC

agcgttgagatgtcacagtcgccagccatcctgtctgtgagtccaggaga 50

PCR 引物

aagaatcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac 100

CDR I

actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcattaagtat 150

gcttctgcgtctatctctgggatcccttccaggtttagtggcagtggatc 200

CDR II

agggacagattttactcttagcatcaacagtgtggagtctgaagatattg 250

cagattattactgtcaacaaagtaatagctggccgctcacgttcggtgct 300

CDR III

gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat 350

恒定区

cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt 400

gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt 450

gatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga 500

cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg 550

acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca 600

tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt 642

PCR 引物

图36

14D3 - HC

gacgtccagatgcagcagcctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc
actaaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaaca
tgcactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattggatat
attgatccttacagtggtgctactagctacaaccagaaattcgagggcaa
ggccacattgactgtagacaaatcttccagcacagcctacatgcagctca
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg
gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcac
cgtctcctcagccaaaacaacagccccatcggtctatccactggcccctg
tgtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgcctggtcaag
ggttatttccctgagccagtgaccttgacctggaactctggatccctgtc
cagtggtgtgcacaccttcccagctgtcctgcagtctgacctctacaccc
tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtccatc
acctgcaatgtggcccacccagccagcaacaccaaggtcgac

图37

14D3 - HC

gacgtccagatgcagcagcctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc 50
PCR 引物

actaaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaaca 100
CDR I

tgcactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattggatat 150

attgatccttacagtggtgctactagctacaaccagaaattcgagggcaa 200
CDR II

ggccacattgactgtagacaaatcttccagcacagcctacatgcagctca 250

acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg 300
CDR III

gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcac 350

cgtctcctcagccaaaacaacagccccatcggtctatccactggcccctg 400
恒定

tgtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgcctggtcaag 450

ggttatttccctgagccagtgaccttgacctggaactctggatccctgtc 500

cagtggtgtgcacaccttcccagctgtcctgcagtctgacctctacaccc 550

tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtccatc 600

acctgcaatgtggccCACCCAGCCAGCAACACCAAGGTCGAC 642
PCR 引物

图38

14D3 - LC

aacattctgatgacacagtctccagccatcttgtctgtgagtccaggaga
aagagtcagtttcgcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac
actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcataaagtat
gcttctgagtctatctctgggatcccttccaggtttagtggcagtggatc
agggacagattttactcttagcatcaacagtgtggagtctgaagatattg
cagattattactgtcaacaaactaataggtggccgctcacgttcggtgct
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt
gatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca
tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt

图39

14D3 - LC

aacattctgatgacacagtctccagccatcttgtctgtgagtccaggaga 50

PCR 引物

aagagtcagtttcgcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac 100

CDR I

actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcataaagtat 150

gcttctgagtctatctctgggatcccttccaggtttagtggcagtggatc 200

CDR II

agggacagattttactcttagcatcaacagtgtggagtctgaagatattg 250

cagattattactgtcaacaaactaataggtggccgctcacgttcggtgct 300

CDR III

gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat 350

恒定区

cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt 400

gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt 450

gatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga 500

cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg 550

acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca 600

tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt 642

PCR 引物

图40

3B3 - HC

DVQLQQPGAELVKPGASVKLSCTTSGVNIKDTYMHWMKQRPEQGLEWIGR
IDPANGNTKYDPKFRGKATITADTSSNTVYVQLRSLTSEDTAVYYCAYDG
YWGQGTLVTVSAAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVT
VTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPA
SSTKVD

图41

3B3 - HC

DVQLQQPGAELVKPGASVKLSCTTSGVNIKDTYMHWMKQRPEQGLEWIGR 50
PCR 引物 CDR I

IDPANGNTKYDPKFRGKATITADTSSNTVYVQLRSLTSEDTAVYYCAYDG 100
CDR II CDR III

YWGQGTLVTVSAAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVT 150
恒定区

VTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPA200
PCR 引物

SSTKVD 206

图42

3B3 - LC

NIVMTQTPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNNFMHWYQQKPGQSPRL
LIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTTNPVEADDVATYYCQQSHKDPL
TFGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA
THKTSTSPIVKSFKANEC

图43

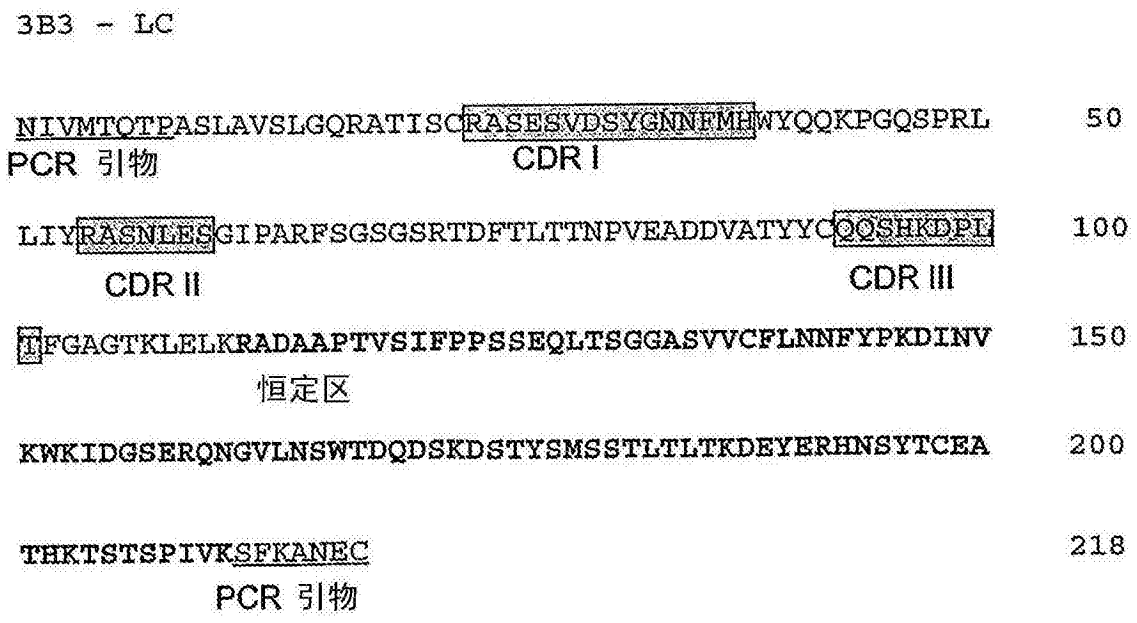

3B3 - LC
NIVMTQTPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNNFMHWYQQKPGQSPRL 50
PCR 引物
CDR I
LIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTTNPVEADDVATYYCQQSHKDPL 100
CDR II
CDR III
TFGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV 150
恒定区
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA 200
THKTSTSPIVKSFKANEC 218
PCR 引物

图44

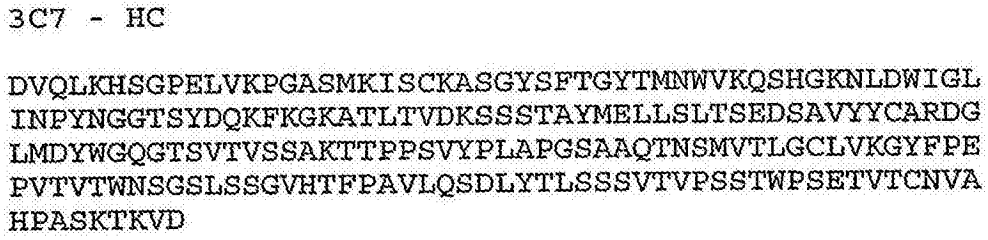

3C7 - HC
DVQLKHSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLDWIGL
INPYNGGTSYDQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDG
LMDYWGQGTSVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVA
HPASKTKVD

图45

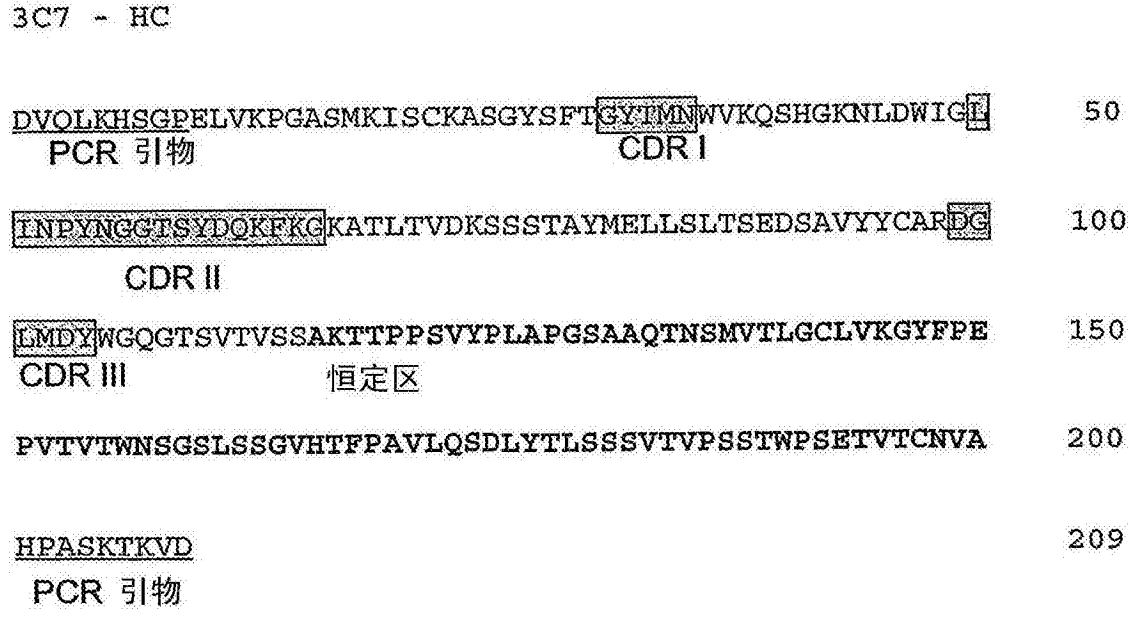

3C7 - HC
DVQLKHSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLDWIGL 50
PCR 引物
CDR I
INPYNGGTSYDQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDG 100
CDR II
LMDYWGQGTSVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE 150
CDR III
恒定区
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVA 200
HPASKTKVD 209
PCR 引物

图46

3C7 - LC

DIVMTQTPASLAVSLGQRATIFCRASQSVDYNGISYMHWFQQKPGQPPKL
LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSFEDPH
TFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA
THKTSTSPIVKSFNRNEC

图47

3C7 - LC

DIVMTQTPASLAVSLGQRATIFCRASQSVDYNGISYMHWFQQKPGQPPKL 50
PCR 引物 CDR I

LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSFEDPH 100
CDR II CDR III

IFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV 150
恒定区

KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA 200

THKTSTSPIVKSFNRNEC 218
PCR 引物

图48

2B4 - HC

DVQLQQSGTVLARPGASVRMSCKASGYSFTRYWIHWLKQRPGQGLEWIGA
IFPGNRDTSYNQRFKGKAEVTAVTSASTAYLDLSSLTNEDSAVYYCTRWP
YYGSIYVNFDYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCL
VKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSE
TVTCNVAHPASSTKVD

图49

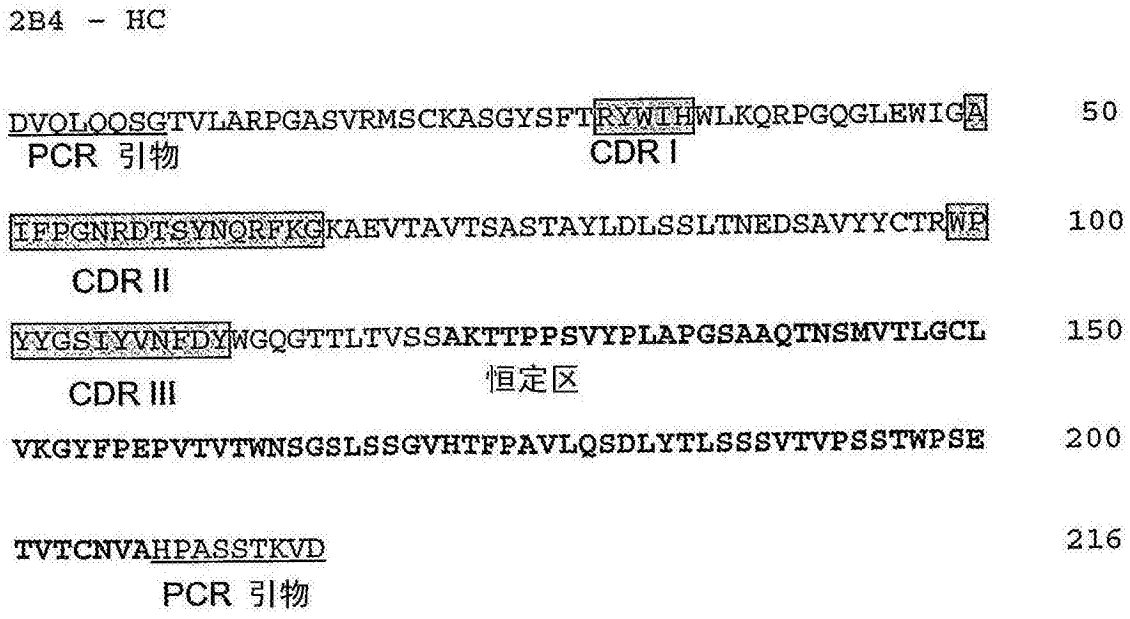

2B4 - HC
DVQLQQSGTVLARPGASVRMSCKASGYSFTRYWTHWLKQRPGQGLEWIGA 50
PCR 引物
CDR I
IFPGNRDTSYNQRFKGKAEVTAVTSASTAYLDLSSLTNEDSAVYYCTRWP 100
CDR II
YYGSIYVNFDYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCL 150
CDR III
恒定区
VKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSE 200
TVTCNVAHPASSTKVD 216
PCR 引物

图50

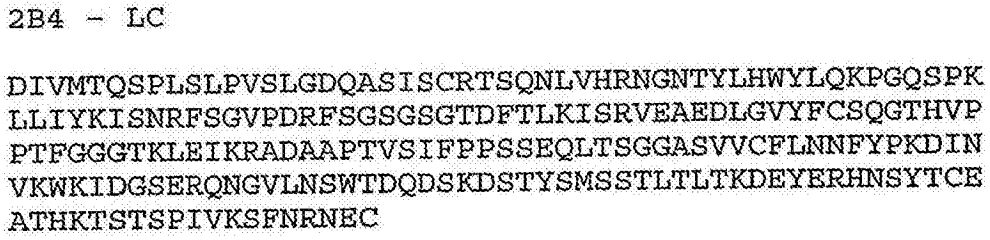

2B4 - LC
DIVMTQSPLSLPVSLGDQASISCRTSQNLVHRNGNTYLHWYLQKPGQSPK
LLIYKISNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQGTHVP
PTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDIN
VKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCE
ATHKTSTSPIVKSFNRNEC

图51

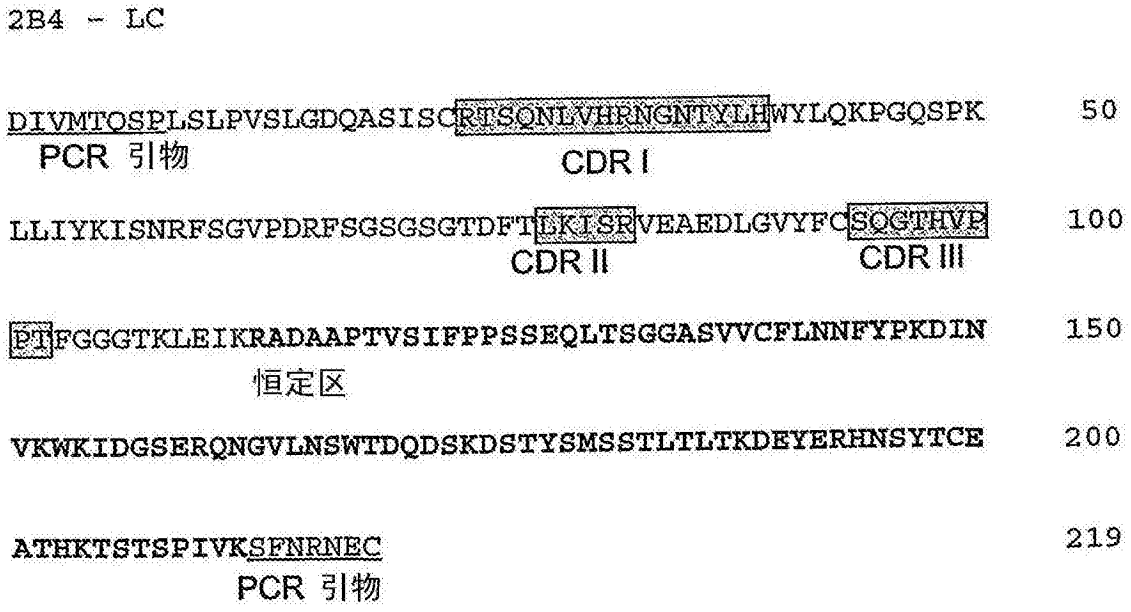

2B4 - LC
DIVMTQSPLSLPVSLGDQASISCRTSQNLVHRNGNTYLHWYLQKPGQSPK 50
PCR 引物
CDR I
LLIYKISNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQGTHVP 100
CDR II
CDR III
PTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDIN 150
恒定区
VKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCE 200
ATHKTSTSPIVKSFNRNEC 219
PCR 引物

图52

3B3 - HC

gacgtccagctccagcagcctggagcagagcttgtgaagccaggggcctc
agtcaagttgtcctgcaccacttctggcgtcaacattaaagacacctata
tgcactggatgaagcagaggcctgaacagggcctggagtggattggaagg
attgatcctgcgaatggtaatactaaatatgacccgaaattccggggcaa
ggccactataacagcagacacatcctccaacacggtctacgtgcaactca
gaagcctgacatctgaggacactgccgtctattactgtgcctatgatggt
tactggggccaagggactctggtcactgtctctgcagccaaaacgacacc
cccatctgtctatccactggcccctggatctgctgcccaaactaactcca
tggtgaccctgggatgcctggtcaagggctatttccctgagccagtgaca
gtgacctggaactctggatccctgtccagcggtgtgcacaccttcccagc
tgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgactgtcccct
ccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgttgcccacccggcc
agcagcaccaaggtcgac

图53

3B3 - HC

gacgtccagctccagcagcctggagcagagcttgtgaagccaggggcctc 50
PCR

agtcaagttgtcctgcaccacttctggcgtcaacattaaagacacctata 100
CDR I

tgcactggatgaagcagaggcctgaacagggcctggagtggattggaaagg 150

attgatcctgcgaatggtaatactaaatatgacccgaaattccgggggcaa 200
CDR II

ggccactataacagcagacacatcctccaacacggtctacgtgcaactca 250

gaagcctgacatctgaggacactgccgtctattactgtgcctatgatggt 300
CDR III

tactggggccaagggactctggtcactgtctctgcagccaaaacgacacc 350
恒定区

cccatctgtctatccactggccctggatctgctgcccaaactaactcca 400

tggtgaccctgggatgcctggtcaagggctatttccctgagccagtgaca 450

gtgacctggaactctggatccctgtccagcggtgtgcacaccttcccagc 500

tgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgactgtcccct 550

ccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgttgcccacccggcc 600
PCR 引物

agcagcaccaaggtcgac 618

图54

3B3 - LC

aacattgtgatgacccaaactccagcctctttggctgtgtctctagggca
gagggccaccatatcctgcagagccagtgaaagtgttgatagttatggca
ataattttatgcactggtaccagcagaaaccaggacagtcacccagactc
ctcatctatcgtgcatccaacctagaatctgggatccctgccaggttcag
tggcagtgggtctaggacagacttcaccctcaccactaatcctgtggagg
ctgatgatgttgcaacctattactgtcagcaaagtcataaggatccgctc
acgttcggtgctgggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcacc
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtg
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc
aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc
actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaaggaacatga
gtgt

图55

3B3 - LC

aacattgtgatgacccaaactccagcctctttggctgtgtctctagggca 50

PCR 引物

gagggccaccatatcctgcagagccagtgaaagtgttgatagttatggca 100

CDR I

ataattttatgcactggtaccagcagaaaccaggacagtcacccagactc 150

ctcatctatcgtgcatccaacctagaatctgggatccctgccaggttcag 200

CDR II

tggcagtgggtctaggacagacttcaccctcaccactaatcctgtggagg 250

ctgatgatgttgcaacctattactgtcagcaaagtcataaggatccgctc 300

CDR III

acgttcggtgctgggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcacc 350

恒定区

aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtg 400

cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc 450

aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg 500

gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca 550

cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc 600

actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga 650

PCR 引物

gtgt 652

图56

3C7 - HC

gacgtccagctgaagcatcaggacctgagctggtgaagcctggagcttca
atgaagatatcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaccat
gaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattggactta
ttaatccttacaatggtggtactagctacgaccagaagttcaagggcaag
gccacattaactgtagacaagtcatccagcacagcctacatggagctcct
cagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagagatggcc
tgatggactactggggtcaaggaacctcagtcaccgtctcctcagccaaa
acgacaccccatctgtctatccactggcccctggatctgctgcccaaac
taactccatggtgaccctgggatgcctggtcaagggctatttccctgagc
cagtgacagtgacctggaactctggatccctgtccagcggtgtgcacacc
ttcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgac
tgtcccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgttgccc
acccggccagcaagaccaaggtcgac

图57

3C7 - HC

gacgtccagctgaagcatcaggacctgagctggtgaagcctggagcttca 50

PCR 引物

atgaagatatcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaccat 100

CDR I

gaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattggacttta 150

CDR II

ttaatccttacaatggtggtactagctacgaccagaagttcaagggcaag 200

gccacattaactgtagacaagtcatccagcacagcctacatggagctcct 250

cagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagagatggcc 300

CDR III

tgatggactactggggtcaaggaacctcagtcaccgtctcctcagccaaa 350

恒定区

acgacaccccatctgtctatccactggcccctggatctgctgcccaaac 400

taactccatggtgaccctgggatgcctggtcaagggctatttccctgagc 450

cagtgacagtgacctggaactctggatccctgtccagcggtgtgcacacc 500

ttcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgac 550

tgtccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgttgccc 600

acccggccagcaagaccaaggtcgac 626

PCR 引物

图58

3C7 - LC

gatattgtgatgacccaaactccagcttctttggctgtgtctctaggaca
gagagccactatcttctgcagagccagccagagtgtcgattataatggaa
ttagttatatgcactggttccaacagaaaccaggacagccacccaaactc
ctcatctatgctgcatccaacctagaatctgggatccctgccaggttcag
tggcagtgggtctgggacagacttcaccctcaacatccatcctgtggagg
aggaagatgctgcaacctattactgtcagcaaagttttgaggatccgcac
acgttcggaggggggaccaagctggaaataaaacgggctgatgctgcacc
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtg
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc
aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc
actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga
gtgt

图59

3C7 - LC

gatattgtgatgacccaaactccagcttctttggctgtgtctctaggaca 50

PCR 引物

gagagccactatcttctgcagagccagccagagtgtcgattataatggaa 100

CDR I

ttagttatatgcactggttccaacagaaaccaggacagccacccaaactc 150

ctcatctatgctgcatccaacctagaatctgggatccctgccaggttcag 200

CDR II

tggcagtgggtctgggacagacttcaccctcaacatccatcctgtggagg 250

aggaagatgctgcaacctattactgtcagcaaagttttgaggatccgcac 300

CDR III

acgttcggaggggggaccaagctggaaataaaacgggctgatgctgcacc 350

恒定区

aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtg 400

cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc 450

aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg 500

gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca 550

cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc 600

actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga 650

PCR 引物

gtgt 654

图60

2B4 - HC

gacgtccagctgcagcagtctgggactgtgctggcaaggcctggggcttc
cgtgaggatgtcctgcaaggcttctggctacagctttaccaggtactgga
tacactggttaaaacagaggcctggacagggtctagaatggattggtgct
atttttcctggaaatcgtgataccagttacaaccagaggttcaagggcaa
ggccgaagtgactgcagtcacatccgccagcactgcctacttggacctca
gtagcctgacaaatgaggactctgcggtctattactgtacaagatggcct
tactatggttccatctacgttaactttgactactggggccaaggcaccac
tctcacagtctcctcagccaaaacgacacccccatctgtctatccactgg
cccctggatctgctgcccaaactaactccatggtgaccctgggatgcctg
gtcaagggctatttccctgagccagtgacagtgacctggaactctggatc
cctgtccagcggtgtgcacaccttcccagctgtcctgcagtctgacctct
acactctgagcagctcagtgactgtcccctccagcacctggcccagcgag
accgtcacctgcaacgttgcccacccagccagcagcaccaaggtcgac

图61

2B4 - HC

gacgtccagctgcagcagtctgggactgtgctggcaaggcctggggcttc 50

PCR 引物

cgtgaggatgtcctgcaaggcttctggctacagctttaccaggtactgga 100

CDR I

tacactggttaaaacagaggcctggacagggtctagaatggattggtgct 150

attttcctggaaatcgtgataccagttacaaccagaggttcaagggcaa 200

CDR II

ggccgaagtgactgcagtcacatccgccagcactgcctacttggacctca 250

gtagcctgacaaatgaggactctgcggtctattactgtacaagatggcct 300

tactatggttccatctacgttaactttgactactggggccaaggcaccac 350

CDR III

tctcacagtctcctcagccaaaacgacaccccatctgtctatccactgg 400

恒定区

ccctggatctgctgcccaaactaactccatggtgaccctgggatgcctg 450

gtcaagggctatttccctgagccagtgacagtgacctggaactctggatc 500

cctgtccagcggtgtgcacaccttcccagctgtcctgcagtctgacctct 550

acactctgagcagctcagtgactgtccctccagcacctggcccagcgag 600

accgtcacctgcaacgttgcccacccagccagcagcaccaaggtcgac 648

PCR 引物

图62

2B4 - LC

gatattgtgatgacccagtctcctctctccctgcctgtcagtcttggaga
tcaagcctccatctcttgcagaactagtcagaaccttgtacacaggaatg
gaaacacctatttacattggtacctgcagaagccaggccagtctccaaag
ctcctgatttacaaaatttccaaccgattttctggggtcccagacaggtt
cagtggcagtggatcagggacagatttcacactcaagatcagcagagtgg
aggctgaggatctgggagtttatttctgctctcaaggtacacatgttcct
ccgacgttcggtggaggcaccaagctggaaatcaaacgggctgatgctgc
accaactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggag
gtgcctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaat
gtcaagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacag
ttggactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccc
tcacgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgag
gccactcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaa
tgagtgt

图63

2B4 - LC

gatattgtgatgacccagtctcctctctccctgcctgtcagtcttggaga 50
PCR 引物

tcaagcctccatctcttgcagaactagtcagaaccttgtacacaggaatg 100
CDR I

gaaacacctatttacattggtacctgcagaagccaggccagtctccaaag 150

ctcctgatttacaaaatttccaaccgatttctggggtcccagacaggtt 200
CDR II

cagtggcagtggatcagggacagatttcacactcaagatcagcagagtgg 250

aggctgaggatctgggagtttatttctgctctcaaggtacacatgttcct 300
CDR III

ccgacgttcggtggaggcaccaagctggaaatcaaacgggctgatgctgc 350
恒定区

accaactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggag 400

gtgcctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaat 450

gtcaagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacag 500

ttggactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccc 550

tcacgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgag 600

gccactcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaa 650
PCR 引物

tgagtgt 657

图64