(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 107207604 B
(45)授权公告日 2021.10.26

(21)申请号 201680007605.0
(22)申请日 2016.01.29
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107207604 A
(43)申请公布日 2017.09.26
(30)优先权数据
2015-017882 2015.01.30 JP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.07.27
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2016/052602 2016.01.29
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2016/121908 JA 2016.08.04
(73)专利权人 学校法人埼玉医科大学
地址 日本埼玉县
专利权人 第一三共株式会社
(72)发明人 片桐岳信 大泽贤次 塚本翔 辻真之介 川口喜郎 中村健介
(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
代理人 李平 杨淑媛
(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61K 45/00(2006.01)
A61P 19/08(2006.01)
C12N 1/15(2006.01)
C12N 1/19(2006.01)
C12N 1/21(2006.01)
C12N 5/10(2006.01)
C12N 15/09(2006.01)
C12P 21/08(2006.01)

(56)对比文件
WO 2007/123896 A2,2007.11.01
WO 2007/123896 A2,2007.11.01
WO 2014/051109 A1,2014.03.03
Frederick S Kaplan et al..From mysteries to medicines:drug development for fibrodysplasia ossificans progressiva.《Expert Opinion on Orphan Drug》.2013,第1卷(第8期),第640页右栏倒数第1段-461页左栏第1段.

审查员 王岩

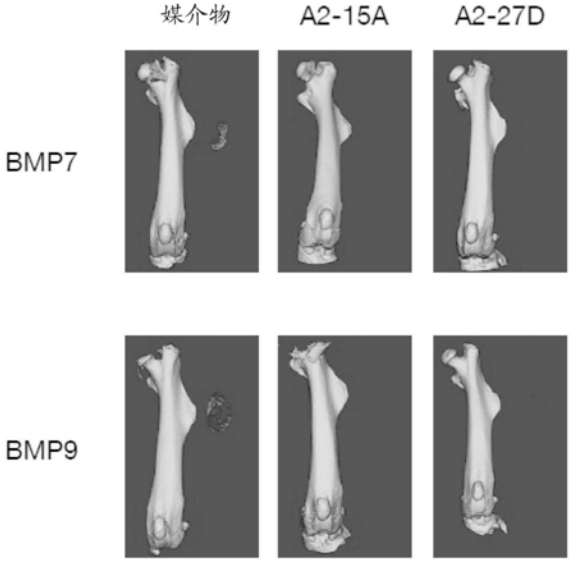
权利要求书6页 说明书76页
序列表92页 附图43页

(54)发明名称

抗ALK2抗体

(57)摘要

本发明提供一种与ALK2蛋白特异性结合且具有对由ALK2介导的BMP信号转导的抑制活性的抗体、该抗体的制备方法、以及含有该抗体以用于治疗和/或预防异位骨化和/或骨营养不良、贫血、或者扩散型内因性脑桥神经胶质瘤(DIPG)的药物组合物。



CN 107207604 B

1.一种抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,重链序列含有具有CDRH1、CDRH2、CDRH3的可变区,所述CDRH1为SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列,所述CDRH2为SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列,所述CDRH3为SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列;以及

轻链序列含有具有CDRL1、CDRL2、CDRL3的可变区,所述CDRL1为SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列,所述CDRL2为SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列,所述CDRL3为SEQ ID NO:77所示的氨基酸序列。

2.根据权利要求1所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段含有SEQ ID NO:2所示氨基酸序列的重链可变区序列和SEQ ID NO:4所示氨基酸序列的轻链可变区序列。

3.一种抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,重链序列含有具有CDRH1、CDRH2、CDRH3的可变区,所述CDRH1为SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列,所述CDRH2为SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列,所述CDRH3为SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列;以及

轻链序列含有具有CDRL1、CDRL2、CDRL3的可变区,所述CDRL1为SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列,所述CDRL2为SEQ ID NO:63或SEQ ID NO:71所示的氨基酸序列,所述CDRL3为SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列。

4.根据权利要求3所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段含有SEQ ID NO:6所示氨基酸序列的重链可变区序列和SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列或SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列。

5.一种抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,重链序列含有具有CDRH1、CDRH2、CDRH3的可变区,所述CDRH1为SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列,所述CDRH2为SEQ ID NO:79所示的氨基酸序列,所述CDRH3为SEQ ID NO:80所示的氨基酸序列;以及

轻链序列含有具有CDRL1、CDRL2、CDRL3的可变区,所述CDRL1为SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列,所述CDRL2为SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列,所述CDRL3为SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列。

6.根据权利要求5所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段含有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的重链可变区序列和SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的轻链可变区序列。

7.一种抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,重链序列含有具有CDRH1、CDRH2、CDRH3的可变区,所述CDRH1为SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列,所述CDRH2为SEQ ID NO:66所示的氨基酸序列,所述CDRH3为SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列;以及

轻链序列含有具有CDRL1、CDRL2、CDRL3的可变区,所述CDRL1为SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列,所述CDRL2为SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列,所述CDRL3为SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列。

8.根据权利要求7所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段含有SEQ ID NO:14所示氨基酸序列的重链可变区序列和SEQ ID NO:16所示氨基酸序列的轻链可变区序列。

9.根据权利要求1、3、5、7中任一项所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段,其中,所述抗体与野生型ALK2蛋白和突变型ALK2蛋白结合。

10.根据权利要求1、3、5、7中任一项所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体为单克隆抗体。

11.根据权利要求1、3、5、7中任一项所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体和所述抗原结合片段为嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、单链抗体或scFV、双特异性抗体，或多特异性抗体。

12.根据权利要求1、3、5、7中任一项所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体的抗原结合片段选自于Fab、F(ab')2、Fab'和Fv。

13.根据权利要求1、3、5、7中任一项所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，重链含有人免疫球蛋白G1重链、人免疫球蛋白G2重链或人免疫球蛋白G4重链的恒定区，轻链含有人免疫球蛋白κ轻链的恒定区。

14.根据权利要求13所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，重链含有人免疫球蛋白G1重链的恒定区。

15.根据权利要求14所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，人免疫球蛋白G1重链的234位亮氨酸(Leu)被置换为丙氨酸(Ala)，235位亮氨酸(Leu)被置换为丙氨酸(Ala)。

16.根据权利要求13所述的抗ALK2抗体，其中，重链含有人免疫球蛋白G2重链的恒定区。

17.根据权利要求13所述的抗ALK2抗体，其中，重链含有人免疫球蛋白G4重链的恒定区。

18.根据权利要求17所述的抗ALK2抗体，其中，人免疫球蛋白G4重链的241位的丝氨酸(Ser)被置换为脯氨酸(Pro)。

19.一种抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其是与ALK2蛋白的胞外区特异性结合，且抑制由ALK2介导的BMP信号转导的抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体：含有SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、或者含有SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链。

20.根据权利要求19所述的抗ALK2抗体，其中，所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体：含有SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～472位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、或者含有SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～468位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

21.根据权利要求19所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体：含有SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～468位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

22.一种抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其是与ALK2蛋白的胞外区特异性结合，且抑制由ALK2介导的BMP信号转导的抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体为包含

下列重链和轻链的抗体：含有SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、或者含有SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链。

23.根据权利要求22所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体：含有SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链。

24.根据权利要求22所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体：含有SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、或者含有SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、或者含有SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

25.根据权利要求22所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体：含有SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、或者含有SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

26.根据权利要求25所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体：含有SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

27.一种抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其是与ALK2蛋白的胞外区特异性结合，且抑制由ALK2介导的BMP信号转导的抗体或该抗体的抗原结合片段，其特征在于，含有下列序列：

(a)选自于以下氨基酸序列的重链可变区序列：

a1)SEQ ID NO:111所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的氨基酸序列；

a2)SEQ ID NO:113所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的氨基酸序列；以及

(b)选自于以下氨基酸序列的轻链可变区序列：

b1)SEQ ID NO:115所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的氨基酸序列；

b2)SEQ ID NO:117所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的氨基酸序列；

b3)SEQ ID NO:119所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的氨基酸序列。

28.一种抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其是与ALK2蛋白的胞外区特异性结合，且抑制由ALK2介导的BMP信号转导的抗体或该抗体的抗原结合片段，其特征在于，含有下列序列：

(a)选自于以下氨基酸序列的重链可变区序列：

a1)SEQ ID NO:121所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的氨基酸序列；

a2)SEQ ID NO:123所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的氨基酸序列；以及

(b)选自于以下氨基酸序列的轻链可变区序列：

b1)SEQ ID NO:125所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列；

b2)SEQ ID NO:127所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列；

b3)SEQ ID NO:129所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列。

29.根据权利要求1、3、5、7、19、22、27、28中任一项所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体含有羧基末端缺失1～数个氨基酸的重链。

30.根据权利要求1、3、5、7、19、22、27、28中任一项所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体为重链或轻链氨基末端的氨基酸残基焦谷氨酰化的抗体。

31.一种药物组合物，其特征在于，含有权利要求1～30中任一项所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段中的至少任一个。

32.根据权利要求31所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物为异位骨化的治疗和/或预防剂。

33.一种异位骨化的治疗和/或预防用药物组合物，其特征在于，含有权利要求1～30中任一项所述的抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段中的至少任一个，以及选自于抗炎药、甾体药、双膦酸盐、肌肉松弛剂、视黄酸受体(RAR)γ激动剂中的至少任一个。

34.根据权利要求32或33所述的药物组合物，其特征在于，异位骨化为进行性骨化性纤维发育不良(FOP)、进行性骨发育异常(POH)、外伤性异位骨化、或者人工关节置换术后的异位骨化。

35.根据权利要求32或33所述的药物组合物，其特征在于，异位骨化为进行性骨化性纤维发育不良(FOP)。

36.根据权利要求31所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物为贫血的治疗和/或预防剂。

37.根据权利要求31所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物为扩散型内因性脑桥神经胶质瘤(DIPG)的治疗和/或预防剂。

38.权利要求1～30中任一项所述的抗ALK2抗体、该抗体的抗原结合片段、或者权利要求31～35中任一项所述的药物组合物中的至少任一个在制备用于治疗和/或预防异位骨化的药物中的用途。

39.同时给药或相继给药的权利要求1～30中任一项所述的抗ALK2抗体、该抗体的抗原结合片段、或者权利要求31～35中任一项所述的药物组合物中的至少任一个，以及选自于抗炎药、甾体药、双膦酸盐、肌肉松弛剂、视黄酸受体(RAR)γ激动剂中的至少任一个在制备

用于治疗和/或预防异位骨化的药物中的用途。

40.根据权利要求38或39所述的用途，其特征在于，异位骨化为进行性骨化性纤维发育不良(FOP)、进行性骨发育异常(POH)、外伤性异位骨化、或者人工关节置换术后的异位骨化。

41.根据权利要求38或39所述的用途，其特征在于，异位骨化为进行性骨化性纤维发育不良(FOP)。

42.权利要求1～30中任一项所述的抗ALK2抗体、该抗体的抗原结合片段、或者权利要求31或36所述的药物组合物中的至少任一个在制备用于治疗和/或预防贫血的药物中的用途。

43.权利要求1～30中任一项所述的抗ALK2抗体、该抗体的抗原结合片段、或者权利要求31或37所述的药物组合物中的至少任一个在制备用于治疗和/或预防扩散型内因性脑桥神经胶质瘤(DIPG)的药物中的用途。

44.一种多核苷酸，其编码权利要求1～30中任一项所述的抗ALK2抗体。

45.一种多核苷酸，其特征在于，包括下列多核苷酸：

(a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

a1)SEQ ID NO:29所示的核苷酸序列的58～426位核苷酸的核苷酸序列；

a2)SEQ ID NO:104所示的核苷酸序列的58～426位核苷酸的核苷酸序列；和

(b)以下核苷酸序列的多核苷酸：

b1)SEQ ID NO:35所示的核苷酸序列的86～424位核苷酸的核苷酸序列。

46.一种多核苷酸，其特征在于，其包括下列多核苷酸：

(a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

a1)SEQ ID NO:41所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

a2)SEQ ID NO:106所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；和

(b)以下核苷酸序列的多核苷酸：

b1)SEQ ID NO:51所示的核苷酸序列的86～412位核苷酸的核苷酸序列。

47.一种多核苷酸，其特征在于，其包括下列多核苷酸：

(a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

a1)SEQ ID NO:43所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

a2)SEQ ID NO:108所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；和

(b)以下核苷酸序列的多核苷酸：

b1)SEQ ID NO:55所示的核苷酸序列的86～412位核苷酸的核苷酸序列。

48.一种多核苷酸，其特征在于，其包括下列多核苷酸：

(a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

a1)SEQ ID NO:110所示的核苷酸序列的58～411位核苷酸的核苷酸序列；

a2)SEQ ID NO:112所示的核苷酸序列的58～411位核苷酸的核苷酸序列；和

(b)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

b1)SEQ ID NO:114所示的核苷酸序列的61～384位核苷酸的核苷酸序列；

b2)SEQ ID NO:116所示的核苷酸序列的61～384位核苷酸的核苷酸序列；

b3)SEQ ID NO:118所示的核苷酸序列的61～384位核苷酸的核苷酸序列。

49.一种多核苷酸,其特征在于,其包括下列多核苷酸:

(a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸:

a1)SEQ ID NO:120所示的核苷酸序列的58～411位核苷酸的核苷酸序列;

a2)SEQ ID NO:122所示的核苷酸序列的58～411位核苷酸的核苷酸序列;和

(b)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸:

b1)SEQ ID NO:124所示的核苷酸序列的61～387位核苷酸的核苷酸序列;

b2)SEQ ID NO:126所示的核苷酸序列的61～387位核苷酸的核苷酸序列;

b3)SEQ ID NO:128所示的核苷酸序列的61～387位核苷酸的核苷酸序列。

50.一种载体,其包含权利要求44～49中任一项所述的多核苷酸中的任一个。

51.一种转化的宿主细胞,其包含权利要求44～49中任一项所述的多核苷酸中的任一个。

52.一种转化的宿主细胞,其包含权利要求50所述的载体。

53.一种抗体的制备方法,所述抗体为权利要求1～30中任一项所述的抗ALK2抗体,所述制备方法包括培养权利要求51或52所述的宿主细胞并从培养产物中纯化抗体的步骤。

抗ALK2抗体

技术领域

[0001] 本发明涉及作为异位骨化和/或骨营养不良的治疗和/或预防药有用的物质、以及异位骨化和/或骨营养不良的治疗和/或预防方法。

背景技术

[0002] 进行性骨化性纤维发育不良(Fibrodysplasia ossificans progressiva(FOP))是在骨骼肌或腱、韧带等通常不形成骨组织的软组织中,异位性地形成软骨组织或骨组织的遗传性疾病(非专利文献1-3)。本疾病中异位骨化在包括面部的全身发生,异位性骨组织与现有的骨组织发生融合而使关节活动度明显降低,身体发生变形(非专利文献1-3)。

[0003] 已知FOP中异位骨化除了伴随成长而慢性发展之外,还伴有因肌肉损伤或病毒感染等而发生称为急性发作(flare-up)的症状而发展为急性异位骨化(非专利文献1)。急性发作是以炎症反应、长期疼痛为主要症状的肿胀,除了发生肌肉损伤的碰伤或跌倒、肌肉注射等所诱导之外,也已知有原因不明的突然的急性发作病例。由于在FOP中急性发作后形成异位性骨组织,严禁进行活检或手术等侵入性医疗行为,不能用外科方法去除异位性骨组织。此外,在FOP中形成的异位性骨组织由于是由正常的软骨细胞或成骨细胞形成,与正常的骨组织同样地被代谢,因此不能使用药物等内科方法只去除异位性骨组织。

[0004] 抑制FOP异位骨化的根本治疗法尚未确立,只能对疼痛采取对症治疗。因此,去除在FOP中形成的异位性骨组织非常困难,期待着开发出在异位骨化开始前能够达到预防效果的药物。

[0005] 作为FOP的致病基因,已鉴定出编码在包括骨骼肌组织的软组织中诱导异位性骨形成的骨形成蛋白(Bone morphogenetic protein(BMP))受体之一的Activin Like Kinase 2(ALK2;激活素受体样激酶2)基因(非专利文献4)。ALK2也就是称为激活素A受体I(Activin A type I Receptor 1(ACVR1))的基因。由家族性和孤立性FOP病例中发现了伴有氨基酸置换的ALK2(非专利文献4)。

[0006] 人和小鼠ALK2是包含具有信号肽的509个氨基酸的一次跨膜蛋白,作为与BMP结合的跨膜型丝氨酸-苏氨酸激酶受体发挥功能(非专利文献1-3)。在N末端侧的胞外区结合BMP,通过细胞内的丝氨酸-苏氨酸激酶激活下游的细胞内信息传递系统。

[0007] BMP受体根据其结构和功能,分为含ALK2的I型受体、II型受体2种(非专利文献1-3)。II型受体是即使不结合BMP也显示激酶活性的组成性活性酶。另一方面,含ALK2的I型受体在不与BMP结合的状态为非活性酶,显示为BMP结合依赖性激酶活性。认为这是由于与BMP的结合,II型受体激酶以I型受体的细胞内结构域作为底物进行磷酸化,使I型受体三级结构发生变化而激活I型受体(非专利文献1-3)。

[0008] 已知如果置换I型受体胞内区的特定氨基酸,则变为II型受体非依赖性激活的组成性活性型受体(非专利文献1-3)。如果过表达该I型受体的组成性活性型突变体,则不施加BMP刺激也可激活细胞内信息传递系统。因此,认为I型受体是由细胞外向细胞内传递BMP信息的主要作用分子。

[0009] 从家族性和典型的孤立性FOP病例鉴定出的ALK2的突变是Arg206置换为His的R206H突变体(非专利文献4)。迄今为止从FOP病例鉴定出的基因突变已确认全部在ALK2胞内区发生氨基酸突变。这些FOP病例的大部分突变集中在ALK2胞内区的ATP结合区附近(非专利文献5)。

[0010] 如果使FOP鉴定的ALK2突变体在培养细胞中过表达,则不施加BMP刺激也可激活BMP的细胞内信息传递系统(非专利文献6)。因此,作为FOP的治疗药,开发出:对ALK2激酶的低分子抑制剂、特异性抑制遗传性突变的ALK2表达的RNAi或外显子跳读法、ALK2受体下游的转录因子抑制剂、以及经由BMP信号的成骨细胞分化抑制剂等(专利文献1和非专利文献1-3)。

[0011] 现在开发的低分子化合物或核酸的FOP治疗药,均期望透过细胞膜在细胞内抑制ALK2信号。但是,核酸药物尚未确立有效的药物传递法,此外激酶抑制剂存在着对于与ALK2同一性高的其他ALK受体家族的特异性低等问题。因此,期待对于FOP开发针对ALK2的特异性高的新治疗药。作用于ALK2胞外区并抑制信号的抗体药物是利用生理性免疫系统的安全性高的治疗方法。抗体药物在通过血流容易稳定地进行药物传递的同时不对同一性高的其他ALK受体家族发生作用,能够发挥只抑制ALK2的特异性。进一步,对于ALK2野生型或包括新型突变体的胞内区各种突变体也可期待有抑制作用。此外,由于不抑制如在全身细胞表达的ALK3,因此针对ALK2的特异性抑制抗体,与一般的成骨细胞分化抑制剂不同,可期待成为对正常骨骼组织的生长或保持、再生影响少的药品。但是,关于与ALK2特异性结合并对FOP显示治疗效果的抗体,至今尚未知晓。

[0012] 现有技术文献

[0013] 专利文献

[0014] 专利文献1:国际公开第WO2007/123896号

[0015] 非专利文献

[0016] 非专利文献1:T.Katagiri,J.Oral Biosci.,52,33-41(2010)

[0017] 非专利文献2:T.Katagiri,J.Oral Biosci.,54,119-123(2012)

[0018] 非专利文献3:T.Katagiri and S.Tsukamoto,Biol.Chem.,394,703-714(2013)

[0019] 非专利文献4:E.M.Shore et al.,Nat.Genet.,38,525-527(2006)

[0020] 非专利文献5:A.Chaikuad et al.,J.Biol.Chem.,287,36990-36998(2012)

[0021] 非专利文献6:T.Fukuda et al.,J.Biol.Chem.,284,7149-7156(2009)

发明内容

[0022] 发明所要解决的问题

[0023] 本发明的目的在于,提供一种有用的作为异位骨化和/或骨营养不良的治疗和/或预防药的物质、以及对异位骨化和/或骨营养不良的治疗和/或预防方法。

[0024] 解决问题的技术方案

[0025] 本发明人为了解决上述问题而进行了深入研究,成功地获得新的抗体,该抗体与ALK2特异性结合,具有异位骨化和/或骨营养不良的治疗和/或预防效果,从而完成了本发明。

[0026] 即,本发明包括以下内容的发明。

[0027] (1)一种抗体或该抗体的抗原结合片段,其与包含以下的(a)～(e)中的任一个所述的氨基酸序列中的至少7个氨基酸的多肽序列特异性结合,且抑制由ALK2介导的BMP信号转导:

[0028] (a)SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列

[0029] (b)包含SEQ ID NO:84所示氨基酸序列中21～123位氨基酸残基的氨基酸序列

[0030] (c)SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列

[0031] (d)包含SEQ ID NO:86所示氨基酸序列中21～123位氨基酸残基的氨基酸序列

[0032] (e)(a)～(d)中的任一个所述的氨基酸序列中伴有1～多个氨基酸残基的置换、缺失或添加的氨基酸序列。

[0033] (2)一种抗体或该抗体的抗原结合片段,其与包含由以下的(f)～(j)中的任一个所述的核苷酸序列所编码的氨基酸序列中的至少7个氨基酸的多肽序列特异性结合,且抑制由ALK2介导的BMP信号转导:

[0034] (f)SEQ ID NO:85所示的核苷酸序列

[0035] (g)包含SEQ ID NO:85所示的核苷酸序列的728～1036位核苷酸残基的核苷酸序列

[0036] (h)SEQ ID NO:87所示的核苷酸序列

[0037] (i)包含SEQ ID NO:87所示的核苷酸序列的728～1036位核苷酸残基的核苷酸序列

[0038] (j)在严格条件下与包含(f)～(i)中的任一个所述的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸的核苷酸序列。

[0039] (3)如(1)或(2)所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其中,所述多肽序列为ALK2胞外区内的序列。

[0040] (4)如(1)～(3)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其中,所述抗体与野生型ALK2蛋白和突变型ALK2蛋白结合。

[0041] (5)如(1)～(4)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其中,所述抗体为单克隆抗体或多克隆抗体。

[0042] (6)如(1)～(5)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其中,所述抗体和所述抗原结合片段为嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、单链抗体、双特异性抗体或多特异性抗体。

[0043] (7)如(1)～(6)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段与选自于下列的至少任一种抗体对于所述多肽的结合为交叉竞争:含有包含SEQ ID NO:2所示氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:4所示氨基酸序列的轻链可变区的抗体、含有包含SEQ ID NO:6所示氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:8所示氨基酸序列的轻链可变区的抗体、含有包含SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的轻链可变区的抗体、以及含有包含SEQ ID NO:14所示氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:16所示氨基酸序列的轻链可变区的抗体。

[0044] (8)如(1)～(6)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段与选自于下列的至少任一种抗体所结合的表位结合:含有包

含SEQ ID NO:2所示氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:4所示氨基酸序列的轻链可变区的抗体、含有包含SEQ ID NO:6所示氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:8所示氨基酸序列的轻链可变区的抗体、含有包含SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的轻链可变区的抗体、以及含有包含SEQ ID NO:14所示氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:16所示氨基酸序列的轻链可变区的抗体。

[0045] (9)如(1)～(6)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段与含有下列各残基的表位结合:SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列中的18位谷氨酸(Glu)、19位甘氨酸(Gly)、39位异亮氨酸(Ile)、40位天冬酰胺(Asn)、41位天冬氨酸(Asp)、42位甘氨酸(Gly)、43位苯丙氨酸(Phe)、44位组氨酸(His)、45位缬氨酸(Val)、46位酪氨酸(Tyr)、82位天冬酰胺(Asn)、84位苏氨酸(Thr)、86位谷氨酰胺(Gln)和87位亮氨酸(Leu)。

[0046] (10)如(1)～(6)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段与下列各残基之间具有相互作用距离:SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列中的18位谷氨酸(Glu)、19位甘氨酸(Gly)、39位异亮氨酸(Ile)、40位天冬酰胺(Asn)、41位天冬氨酸(Asp)、42位甘氨酸(Gly)、43位苯丙氨酸(Phe)、44位组氨酸(His)、45位缬氨酸(Val)、46位酪氨酸(Tyr)、82位天冬酰胺(Asn)、84位苏氨酸(Thr)、86位谷氨酰胺(Gln)和87位亮氨酸(Leu)。

[0047] (11)如(1)～(6)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段与含有下列各残基的表位结合:SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列中的18位谷氨酸(Glu)、19位甘氨酸(Gly)、20位亮氨酸(Leu)、39位异亮氨酸(Ile)、41位天冬氨酸(Asp)、42位甘氨酸(Gly)、43位苯丙氨酸(Phe)、44位组氨酸(His)、45位缬氨酸(Val)、46位酪氨酸(Tyr)和84位苏氨酸(Thr)。

[0048] (12)如(1)～(6)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段与下列各残基之间具有相互作用距离:SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列中的18位谷氨酸(Glu)、19位甘氨酸(Gly)、20位亮氨酸(Leu)、39位异亮氨酸(Ile)、41位天冬氨酸(Asp)、42位甘氨酸(Gly)、43位苯丙氨酸(Phe)、44位组氨酸(His)、45位缬氨酸(Val)、46位酪氨酸(Tyr)和84位苏氨酸(Thr)。

[0049] (13)如(10)或(12)所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,所述相互作用距离为6埃以下。

[0050] (14)如(10)或(12)所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,所述相互作用距离为4埃以下。

[0051] (15)如(1)～(8)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,重链序列含有具有CDRH1、CDRH2、CDRH3的可变区,所述CDRH1包含SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列,所述CDRH2包含SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列,所述CDRH3包含SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列所示的氨基酸序列;以及

[0052] 轻链序列含有具有CDRL1、CDRL2、CDRL3的可变区,所述CDRL1包含SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列,所述CDRL2包含SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列,所述CDRL3包含SEQ ID NO:77所示的氨基酸序列。

[0053] (16)如(15)所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗

体的抗原结合片段含有包含SEQ ID NO:2所示氨基酸序列的重链可变区序列和包含SEQ ID NO:4所示氨基酸序列的轻链可变区序列。

[0054] (17)如(1)～(8)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,重链序列含有具有CDRH1、CDRH2、CDRH3的可变区,所述CDRH1包含SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列,所述CDRH2包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列,所述CDRH3包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列所示的氨基酸序列;以及

[0055] 轻链序列含有具有CDRL1、CDRL2、CDRL3的可变区,所述CDRL1包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列,所述CDRL2包含SEQ ID NO:63或SEQ ID NO:71所示的氨基酸序列,所述CDRL3包含SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列。

[0056] (18)如(17)所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段含有包含SEQ ID NO:6所示氨基酸序列的重链可变区序列和包含SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列或SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列。

[0057] (19)如(1)～(10)、(13)～(14)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,重链序列含有具有CDRH1、CDRH2、CDRH3的可变区,所述CDRH1包含SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列,所述CDRH2包含SEQ ID NO:79所示的氨基酸序列,所述CDRH3包含SEQ ID NO:80所示的氨基酸序列所示的氨基酸序列;以及

[0058] 轻链序列含有具有CDRL1、CDRL2、CDRL3的可变区,所述CDRL1包含SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列,所述CDRL2包含SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列,所述CDRL3包含SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列。

[0059] (20)如(19)所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段含有包含SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的重链可变区序列和包含SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的轻链可变区序列。

[0060] (21)如(1)～(8)、(11)～(14)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,重链序列含有具有CDRH1、CDRH2、CDRH3的可变区,所述CDRH1包含SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列,所述CDRH2包含SEQ ID NO:66所示的氨基酸序列,所述CDRH3包含SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列所示的氨基酸序列;以及

[0061] 轻链序列含有具有CDRL1、CDRL2、CDRL3的可变区,所述CDRL1包含SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列,所述CDRL2包含SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列,所述CDRL3包含SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列。

[0062] (22)如(21)所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段含有包含SEQ ID NO:14所示氨基酸序列的重链可变区序列和包含SEQ ID NO:16所示氨基酸序列的轻链可变区序列。

[0063] (23)如(1)～(22)中任一项所述的抗体的抗原结合片段,所述抗原结合片段选自于Fab、F(ab')2、Fab'和Fv。

[0064] (24)如(1)～(22)中任一项所述的抗体,其特征在于,所述抗体为scFv。

[0065] (25)如(1)～(22)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所述抗体或该抗体的抗原结合片段为嵌合抗体。

[0066] (26)如(1)～(22)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,所

述抗体或该抗体的抗原结合片段为人源化的抗体或该抗体的抗原结合片段。

[0067] (27)如(1)～(24)中任一项所述的抗体，其中，重链含有人免疫球蛋白G1重链、人免疫球蛋白G2重链或人免疫球蛋白G4重链的恒定区，轻链含有人免疫球蛋白κ轻链的恒定区。

[0068] (28)如(27)所述的抗体，其中，重链含有人免疫球蛋白G1重链的恒定区。

[0069] (29)如(28)所述的抗体，其中，人免疫球蛋白G1重链的234位亮氨酸(Leu)被置换为丙氨酸(Ala)，235位亮氨酸(Leu)被置换为丙氨酸(Ala)。

[0070] (30)如(27)所述的抗体，其中，重链含有人免疫球蛋白G2重链的恒定区。

[0071] (31)如(27)所述的抗体，其中，重链含有人免疫球蛋白G4重链的恒定区。

[0072] (32)如(31)所述的抗体，其中，人免疫球蛋白G4重链的241位的丝氨酸(Ser)被置换为脯氨酸(Pro)。

[0073] (33)一种抗体或该抗体的抗原结合片段，其是与ALK2蛋白的胞外区特异性结合，且抑制由ALK2介导的BMP信号转导的抗体或该抗体的抗原结合片段，其特征在于，含有下列序列：

[0074] (a)选自于以下氨基酸序列的重链可变区序列：

[0075] a1)包含SEQ ID NO:28所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0076] a2)包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0077] a3)包含SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0078] a4)与a1)～a3)的氨基酸序列具有至少95％同一性的氨基酸序列；

[0079] a5)与a1)～a3)的氨基酸序列具有至少99％同一性的氨基酸序列；

[0080] a6)a1)～a3)的氨基酸序列中1～数个氨基酸残基被置换、缺失或添加的氨基酸序列；以及

[0081] (b)选自于以下氨基酸序列的轻链可变区序列：

[0082] b1)包含SEQ ID NO:32所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0083] b2)包含SEQ ID NO:34所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0084] b3)包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0085] b4)包含SEQ ID NO:38所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0086] b5)与选自b1)～b4)中任一个的氨基酸序列具有至少95％同一性的氨基酸序列；

[0087] b6)与选自b1)～b4)中任一个的氨基酸序列具有至少99％同一性的氨基酸序列；

[0088] b7)选自b1)～b4)中任一个的氨基酸序列中1～数个氨基酸残基被置换、缺失或添加的氨基酸序列。

[0089] (34)如(33)所述的抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、或者含有包含SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链。

[0090] (35)如(33)所述的抗体，其中，所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～472位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含

SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、或者含有包含SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～468位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

[0091] (36)如(33)所述的抗体，其中，所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～468位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

[0092] (37)一种抗体或该抗体的抗原结合片段，其是与ALK2蛋白的胞外区特异性结合，且抑制由ALK2介导的BMP信号转导抗体或该抗体的抗原结合片段，其特征在于，含有下列序列：

[0093] (a)选自于以下氨基酸序列的重链可变区序列：

[0094] a1)包含SEQ ID NO:40所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0095] a2)包含SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0096] a3)包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0097] a4)包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0098] a5)包含SEQ ID NO:48所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0099] a6)包含SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0100] a7)包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0101] a8)与选自a1)～a7)中任一个的氨基酸序列具有至少95％同一性的氨基酸序列；

[0102] a9)与选自a1)～a7)中任一个的氨基酸序列具有至少99％同一性的氨基酸序列；

[0103] a10)选自a1)～a7)中任一个的氨基酸序列中1～数个氨基酸残基被置换、缺失或添加的氨基酸序列；以及

[0104] (b)选自于以下氨基酸序列的轻链可变区序列：

[0105] b1)包含SEQ ID NO:50所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0106] b2)包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0107] b3)包含SEQ ID NO:54所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0108] b4)包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0109] b5)包含SEQ ID NO:58所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0110] b6)与选自b1)～b5)中任一个的氨基酸序列具有至少95％同一性的氨基酸序列；

[0111] b7)与选自b1)～b5)中任一个的氨基酸序列具有至少99％同一性的氨基酸序列；

[0112] b8)选自b1)～b5)中任一个的氨基酸序列中1～数个氨基酸残基被置换、缺失或添加的氨基酸序列。

[0113] (38)如(37)所述的抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、或者含有包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～140位

氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链。

[0114] (39)如(37)所述的抗体,其中,所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体:含有包含SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、或者含有包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、或者含有包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

[0115] (40)如(37)所述的抗体,其中,所述抗体为包含下列重链和轻链的抗体:含有包含SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、或者含有包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

[0116] (41)一种抗体或该抗体的抗原结合片段,其是与ALK2蛋白的胞外区特异性结合,且抑制由ALK2介导的BMP信号转导的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,含有下列序列:

[0117] (a)选自于以下氨基酸序列的重链可变区序列:

[0118] a1)包含SEQ ID NO:111所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的氨基酸序列;

[0119] a2)包含SEQ ID NO:113所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的氨基酸序列;

[0120] a3)与a1)或a2)的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列;

[0121] a4)与a1)或a2)的氨基酸序列具有至少99%同一性的氨基酸序列;

[0122] a5)a1)或a2)的氨基酸序列中1～数个氨基酸残基被置换、缺失或添加的氨基酸序列;以及

[0123] (b)选自于以下氨基酸序列的轻链可变区序列:

[0124] b1)包含SEQ ID NO:115所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的氨基酸序列;

[0125] b2)包含SEQ ID NO:117所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的氨基酸序列;

[0126] b3)包含SEQ ID NO:119所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的氨基酸序列;

[0127] b4)与选自b1)～b3)中任一个的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列;

[0128] b5)与选自b1)～b3)中任一个的氨基酸序列具有至少99%同一性的氨基酸序列;

[0129] b6)选自b1)～b3)中任一个的氨基酸序列中1～数个氨基酸残基被置换、缺失或添加的氨基酸序列。

[0130] (42)一种抗体或该抗体的抗原结合片段,其是与ALK2蛋白的胞外区特异性结合,且抑制由ALK2介导的BMP信号转导的抗体或该抗体的抗原结合片段,其特征在于,含有下列序列:

[0131] (a)选自于以下氨基酸序列的重链可变区序列:

[0132] a1)包含SEQ ID NO:121所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的氨基酸序列;

[0133] a2)包含SEQ ID NO:123所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0134] a3)与a1)或a2)的氨基酸序列具有至少95％同一性的氨基酸序列；

[0135] a4)与a1)或a2)的氨基酸序列具有至少99％同一性的氨基酸序列；

[0136] a5)a1)或a2)的氨基酸序列中1～数个氨基酸残基被置换、缺失或添加的氨基酸序列；以及

[0137] (b)选自于以下氨基酸序列的轻链可变区序列：

[0138] b1)包含SEQ ID NO:125所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0139] b2)包含SEQ ID NO:127所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0140] b3)包含SEQ ID NO:129所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列；

[0141] b4)与选自b1)～b3)中任一个的氨基酸序列具有至少95％同一性的氨基酸序列；

[0142] b5)与选自b1)～b3)中任一个的氨基酸序列具有至少99％同一性的氨基酸序列；

[0143] b6)选自b1)～b3)中任一个的氨基酸序列中1～数个氨基酸残基被置换、缺失或添加的氨基酸序列。

[0144] (43)如(1)～(42)中任一项所述的抗体，其中，所述抗体含有羧基末端缺失1～数个氨基酸的重链。

[0145] (44)如(1)～(43)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段，其中，所述抗体为重链或轻链氨基末端的氨基酸残基焦谷氨酰化(pyroglutamylation)的抗体。

[0146] (45)一种药物组合物，其特征在于，含有(1)～(44)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段中的至少任一个。

[0147] (46)如(45)所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物为异位骨化的治疗和/或预防剂。

[0148] (47)一种异位骨化的治疗和/或预防用药物组合物，其特征在于，含有(1)～(44)中任一项所述的抗体或该抗体的抗原结合片段中的至少任一个、以及选自于抗炎药、甾体药、双膦酸盐、肌肉松弛剂、视黄酸受体(RAR)γ激动剂中的至少任一个。

[0149] (48)如(46)或(47)所述的药物组合物，其特征在于，异位骨化为进行性骨化性纤维发育不良(FOP)、进行性骨发育异常(POH)、外伤性异位骨化、或者人工关节置换术后的异位骨化。

[0150] (49)如(46)或(47)所述的药物组合物，其特征在于，异位骨化为进行性骨化性纤维发育不良(FOP)。

[0151] (50)如(45)所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物为贫血的治疗和/或预防剂。

[0152] (51)如(45)所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物为扩散型内因性脑桥神经胶质瘤(DIPG)的治疗和/或预防剂。

[0153] (52)一种异位骨化的治疗和/或预防方法，其特征在于，给药(1)～(44)中任一项所述的抗体、该抗体的抗原结合片段、或者(45)～(49)中任一项所述的药物组合物中的至少任一个。

[0154] (53)一种异位骨化的治疗和/或预防方法，其特征在于，同时给药或相继给药(1)～(44)中任一项所述的抗体、该抗体的抗原结合片段、或者(45)～(49)中任一项所述的药物组合物中的至少任一个、以及选自于抗炎药、甾体药、双膦酸盐、肌肉松弛剂、视黄酸受体

(RAR)γ激动剂中的至少任一个。

[0155] (54)如(52)或(53)所述的治疗和/或预防方法,其特征在于,异位骨化为进行性骨化性纤维发育不良(FOP)、进行性骨发育异常(POH)、外伤性异位骨化、或者人工关节置换术后的异位骨化。

[0156] (55)如(52)或(53)所述的治疗和/或预防方法,其特征在于,异位骨化为进行性骨化性纤维发育不良(FOP)。

[0157] (56)一种贫血的治疗和/或预防方法,其特征在于,给药(1)～(44)中任一项所述的抗体、该抗体的抗原结合片段、或者(45)或(50)所述的药物组合物中的至少任一个。

[0158] (57)一种扩散型内因性脑桥神经胶质瘤(DIPG)的治疗和/或预防方法,其特征在于,给药(1)～(44)中任一项所述的抗体、该抗体的抗原结合片段、或者(45)或(51)所述的药物组合物中的至少任一个。

[0159] (58)一种多核苷酸,其编码(1)～(44)中任一项所述的抗体。

[0160] (59)一种多核苷酸,其特征在于,包括下列多核苷酸:

[0161] (a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸:

[0162] a1)包含SEQ ID NO:27所示的核苷酸序列的58～426位核苷酸的核苷酸序列;

[0163] a2)包含SEQ ID NO:29所示的核苷酸序列的58～426位核苷酸的核苷酸序列;

[0164] a3)包含SEQ ID NO:104所示的核苷酸序列的58～426位核苷酸的核苷酸序列;

[0165] a4)与a1)～a3)的核苷酸序列具有至少95%同一性的核苷酸序列;

[0166] a5)与a1)～a3)的核苷酸序列具有至少99%同一性的核苷酸序列;

[0167] a6)在严格条件下与包含a1)～a3)的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列;

[0168] a7)a1)或a2)的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列;和/或

[0169] (b)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸:

[0170] b1)包含SEQ ID NO:31所示的核苷酸序列的86～424位核苷酸的核苷酸序列;

[0171] b2)包含SEQ ID NO:33所示的核苷酸序列的86～424位核苷酸的核苷酸序列;

[0172] b3)包含SEQ ID NO:35所示的核苷酸序列的86～424位核苷酸的核苷酸序列;

[0173] b4)包含SEQ ID NO:37所示的核苷酸序列的86～424位核苷酸的核苷酸序列;

[0174] b5)与选自b1)～b4)中任一个的核苷酸序列具有至少95%同一性的核苷酸序列;

[0175] b6)与选自b1)～b4)中任一个的核苷酸序列具有至少99%同一性的核苷酸序列;

[0176] b7)在严格条件下与包含选自b1)～b4)中任一个的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列;

[0177] b8)选自b1)～b4)中任一个的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列。

[0178] (60)一种多核苷酸,其特征在于,其包括下列多核苷酸:

[0179] (a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸:

[0180] a1)包含SEQ ID NO:39所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列;

[0181] a2)包含SEQ ID NO:41所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列;

[0182] a3)包含SEQ ID NO:43所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列;

[0183] a4)包含SEQ ID NO:45所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

[0184] a5)包含SEQ ID NO:47所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

[0185] a6)包含SEQ ID NO:106所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

[0186] a7)包含SEQ ID NO:108所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

[0187] a8)与选自a1)～a7)中任一个的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0188] a9)与选自a1)～a7)中任一个的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0189] a10)在严格条件下与包含选自a1)～a7)中任一个的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0190] a11)选自a1)～a7)中任一个的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列；和/或

[0191] (b)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

[0192] b1)包含SEQ ID NO:49所示的核苷酸序列的86～412位核苷酸的核苷酸序列；

[0193] b2)包含SEQ ID NO:51所示的核苷酸序列的86～412位核苷酸的核苷酸序列；

[0194] b3)包含SEQ ID NO:53所示的核苷酸序列的86～412位核苷酸的核苷酸序列；

[0195] b4)包含SEQ ID NO:55所示的核苷酸序列的86～412位核苷酸的核苷酸序列；

[0196] b5)包含SEQ ID NO:57所示的核苷酸序列的86～412位核苷酸的核苷酸序列；

[0197] b6)与选自b1)～b5)中任一个的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0198] b7)与选自b1)～b5)中任一个的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0199] b8)在严格条件下与包含选自b1)～b5)中任一个的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0200] b9)选自b1)～b5)中任一个的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列。

[0201] (61)一种多核苷酸，其特征在于，其包括下列多核苷酸：

[0202] (a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

[0203] a1)包含SEQ ID NO:110所示的核苷酸序列的58～411位核苷酸的核苷酸序列；

[0204] a2)包含SEQ ID NO:112所示的核苷酸序列的58～411位核苷酸的核苷酸序列；

[0205] a3)与a1)或a2)的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0206] a4)与a1)或a2)的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0207] a5)在严格条件下与包含a1)或a2)的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0208] a6)a1)或a2)的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列；和/或

[0209] (b)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

[0210] b1)包含SEQ ID NO:114所示的核苷酸序列的61～384位核苷酸的核苷酸序列；

[0211] b2)包含SEQ ID NO:116所示的核苷酸序列的61～384位核苷酸的核苷酸序列；

[0212] b3)包含SEQ ID NO:118所示的核苷酸序列的61～384位核苷酸的核苷酸序列；

[0213] b4)与选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0214] b5)与选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0215] b6)在严格条件下与包含选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列的互补核苷酸序列

的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0216] b7)选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列。

[0217] (62)一种多核苷酸，其特征在于，其包括下列多核苷酸：

[0218] (a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

[0219] a1)包含SEQ ID NO:120所示的核苷酸序列的58～411位核苷酸的核苷酸序列；

[0220] a2)包含SEQ ID NO:122所示的核苷酸序列的58～411位核苷酸的核苷酸序列；

[0221] a3)与a1)或a2)的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0222] a4)与a1)或a2)的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0223] a5)在严格条件下与包含a1)或a2)的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0224] a6)a1)或a2)的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列；和/或

[0225] (b)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

[0226] b1)包含SEQ ID NO:124所示的核苷酸序列的61～387位核苷酸的核苷酸序列；

[0227] b2)包含SEQ ID NO:126所示的核苷酸序列的61～387位核苷酸的核苷酸序列；

[0228] b3)包含SEQ ID NO:128所示的核苷酸序列的61～387位核苷酸的核苷酸序列；

[0229] b4)与选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0230] b5)与选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0231] b6)在严格条件下与包含选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0232] b7)选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列。

[0233] (63)一种载体，其包含(58)～(62)中任一项所述的多核苷酸中的任一个。

[0234] (64)一种转化的宿主细胞，其包含(58)～(62)中任一项所述的多核苷酸中的任一个。

[0235] (65)一种转化的宿主细胞，其包含(63)所述的载体。

[0236] (66)一种抗体的制备方法，所述抗体为(1)～(44)中任一项所述的抗体，所述制备方法包括培养(64)或(65)所述的宿主细胞并从培养产物中纯化抗体的步骤。

[0237] 根据本发明能够得到异位骨化和/或骨营养不良的治疗剂和/或预防剂。

[0238] 本说明书涵盖作为本申请优先权的基础的日本专利申请号2015-017882的公开内容。

附图说明

[0239] 图1是表示杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体对小鼠ALK2-His&Fc(“mALK2-Fc”)的识别、及对人Fc的结合的图示。使用培养基作为对照(“对照培养基，Control medium”)。

[0240] 图2A是表示杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体不能识别荧光蛋白EGFP表达细胞的图示。

[0241] 图2B是表示杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体识别野生型的小鼠ALK2表达细胞(mALK2(WT)-EGFP)的图示。

[0242] 图2C是表示杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体识别野生型的人ALK2表达细胞(hALK2(WT)-EGFP)的图示。

[0243] 图2D是表示杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体识别FOP突变(R206H)的人ALK2表达细胞(hALK2(R206H)-EGFP)的图示。

[0244] 图3是表示杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体仅特异性识别ALK2表达细胞,不能识别ALK1、ALK3、ALK6表达细胞的图示。

[0245] 图4是表示杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体识别野生型的ALK2表达细胞、用FOP鉴定而显示的12种ALK2突变体表达细胞的图示。

[0246] 图5是表示杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体在使ALK2的野生型和R206H突变型过表达的HEK293A细胞中,以剂量依赖性的方式抑制由BMP7诱导的BMP特异性萤光素酶(luc)活性的图示。

[0247] 图6是表示杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体不能完全抑制由BMP2诱导的C2C12细胞向成骨细胞样细胞的分化的图示。

[0248] 图7是表示杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体以剂量依赖性的方式抑制由BMP7和GDF2/BMP9诱导的C2C12细胞向成骨细胞样细胞的分化的图示。

[0249] 图8是表示杂交瘤A2-15A和A2-27D产生的单克隆抗体抑制由BMP7和GDF2/BMP9诱导的小鼠的骨骼肌组织中的异位性骨诱导的图。

[0250] 图9是表示嵌合抗体cA2-15A、cA2-27D对于由BMP7诱导的BMP特异性萤光素酶(luc)活性显示与各自的大鼠单克隆抗体A2-15A、A2-27D同等的抑制活性。

[0251] 图10是表示嵌合抗体cA2-15A、cA2-27D以剂量依赖性的方式抑制由BMP诱导的C2C12细胞向成骨细胞样细胞的分化的图示。

[0252] 图11是表示A2-15A抗体的各CDR序列的氨基酸序列的图。

[0253] 图12是表示A2-27D抗体的各CDR序列的氨基酸序列的图。

[0254] 图13是表示A2-11E抗体的各CDR序列的氨基酸序列的图。

[0255] 图14是表示A2-25C抗体的各CDR序列的氨基酸序列的图。

[0256] 图15是表示人源化hA2-15A-H1的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0257] 图16是表示人源化hA2-15A-H4的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0258] 图17是表示含有编码人源化hA2-15A-L1的序列的DNA片段的核苷酸序列和人源化hA2-15A-L1的氨基酸序列的图。

[0259] 图18是表示含有编码人源化hA2-15A-L4的序列的DNA片段的核苷酸序列和人源化hA2-15A-L4的氨基酸序列的图。

[0260] 图19是表示含有编码人源化hA2-15A-L6的序列的DNA片段的核苷酸序列和人源化hA2-15A-L6的氨基酸序列的图。

[0261] 图20是表示含有编码人源化hA2-15A-L7的序列的DNA片段的核苷酸序列和人源化hA2-15A-L7的氨基酸序列的图。

[0262] 图21是表示人源化hA2-27D-H1的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0263] 图22是表示人源化hA2-27D-H2的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0264] 图23是表示人源化hA2-27D-H3的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0265] 图24是表示人源化hA2-27D-H4的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0266] 图25是表示人源化hA2-27D-H5的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0267] 图26是表示含有编码人源化hA2-27D-L1的序列的DNA片段的核苷酸序列和人源化hA2-27D-L1氨基酸序列的图。

[0268] 图27是表示含有编码人源化hA2-27D-L2的序列的DNA片段的核苷酸序列和人源化hA2-27D-L2的氨基酸序列的图。

[0269] 图28是表示含有编码人源化hA2-27D-L3的序列的DNA片段的核苷酸序列和人源化hA2-27D-L3的氨基酸序列的图。

[0270] 图29是表示含有编码人源化hA2-27D-L4的序列的DNA片段的核苷酸序列和人源化hA2-27D-L4的氨基酸序列的图。

[0271] 图30是表示含有编码人源化hA2-27D-L5的序列的DNA片段的核苷酸序列和人源化hA2-27D-L5的氨基酸序列的图。

[0272] 图31是表示人源化A2-15A抗体(IgG1)和人源化A2-27D抗体(IgG1)以剂量依赖性的方式抑制由BMP7诱导的BMP特异性萤光素酶(luc)活性的图示。

[0273] 图32是表示人源化hA2-15A-H4 IgG2型的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0274] 图33是表示人源化hA2-27D-H2-LALA的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0275] 图34是表示人源化hA2-27D-H3-LALA的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0276] 图35是表示人源化A2-15A抗体(IgG2)和人源化A2-27D抗体(LALA)以剂量依赖性的方式抑制由BMP7诱导的BMP特异性萤光素酶(luc)活性的图示。

[0277] 图36是表示人源化A2-15A抗体(IgG2)和人源化A2-27D抗体(LALA)抑制由BMP7诱导的小鼠骨骼肌组织中的异位性骨诱导的图。

[0278] 图37是表示人ALK2-ECD与人嵌合cA2-27D-Fab复合体的X射线结晶结构的图。

[0279] 图38是表示人源化hA2-11E-H3的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0280] 图39是表示人源化hA2-11E-H4的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0281] 图40是表示人源化hA2-11E-L2的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0282] 图41是表示人源化hA2-11E-L3的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0283] 图42是表示人源化hA2-11E-L4的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0284] 图43是表示人源化hA2-25C-H3的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0285] 图44是表示人源化hA2-25C-H4的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0286] 图45是表示人源化hA2-25C-L1的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0287] 图46是表示人源化hA2-25C-L2的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0288] 图47是表示人源化hA2-25C-L3的核苷酸序列和氨基酸序列的图。

[0289] 图48是表示人源化A2-11E抗体(IgG1)和人源化A2-25C抗体(IgG1)以剂量依赖性的方式抑制由BMP诱导的C2C12细胞向成骨细胞样细胞的分化的图示。

[0290] 图49是表示人ALK2-ECD与人嵌合cA2-25C-Fab复合体的X射线结晶结构的图。

[0291] 图50是表示杂交瘤A2-27D产生的单克隆抗体在野生型(WT)和显示的13种全部的突变体中抑制由BMP7诱导的萤光素酶(Luc)活性的图示。

具体实施方式

[0292] 1.定义

[0293] 本文中的术语“基因”不仅包括DNA,还包括mRNA、cDNA和cRNA。

[0294] 本文中的术语“多核苷酸”与“核酸“相同含义使用,同时包括DNA、RNA、探针、寡核苷酸和引物。

[0295] 本文中的术语“多肽”与“蛋白”无区别地使用。

[0296] 本文中的术语“RNA级分”是指含有RNA的级分。

[0297] 本文中的术语“细胞”包括动物个体内的细胞和培养的细胞。

[0298] 本文中的术语“ALK2”与“ALK2蛋白”相同含义使用,包括野生型和突变体(也被称为突变型)。

[0299] 本文中的术语“抗体的抗原结合片段”也被称为“抗体的功能片段”,表示具有与抗原的结合活性的抗体的部分片段,包括Fab、F(ab')$_2$、Fv、scFv、双链抗体(diabody)、线性抗体、以及由抗体片段形成的多特异性抗体等。此外,在还原条件下处理F(ab')$_2$得到的抗体可变区的单价片段Fab'也属于抗体的抗原结合片段。然而,只要具有与抗原的结合能力,则并不限定于这些分子。此外,这些抗原结合片段中不仅包括用适当的酶处理抗体蛋白的全长分子得到的片段,还包括使用基因工程学修饰的抗体基因在适当的宿主细胞中产生的蛋白。

[0300] 本文中的术语“表位”也被称为“抗原结合位点”,一般情况下,是指含有抗原的至少7个氨基酸、至少8个氨基酸、至少9个氨基酸、或至少10个氨基酸的抗体所结合的抗原位点,本文中表示特定的抗ALK2抗体所结合的ALK2的部分肽或部分三级结构。所述的ALK2部分肽的表位可以通过免疫测定法等本领域技术人员所熟知的方法进行确定,例如可以采用以下的方法。制备ALK2的各种部分结构。在制备部分结构时,可使用公知的寡肽合成技术。例如,用本领域技术人员已知的基因重组技术制备从ALK2的C末端或者N末端以适当的长度依次缩短的一系列多肽,然后研究检测抗体对这些多肽的反应性,在确定大致的识别位点之后,合成更短的肽并研究与这些肽的反应性,由此可确定表位。此外,特定的ALK2抗体所结合的ALK2部分三级结构的表位可以通过由X射线结晶结构分析来鉴定对与所述抗体相邻的ALK2的氨基酸残基,由此可进行表位确定。如果第二抗ALK2抗体与第一抗ALK2抗体所结合的部分肽或部分三级结构结合,则可以确定第一抗体和第二抗体共享表位。此外,通过确认第二抗ALK2抗体对于第一抗ALK2抗体对ALK2的结合为(交叉)竞争(即,第二抗体阻碍第一抗体与ALK2的结合),即使未确定具体表位的序列或结构,也可以确定第一抗体和第二抗体共享表位。而且,第一抗体和第二抗体与共同的表位结合,并且第一抗体具有抑制由ALK2介导的BMP信号活性等活性时,可以期待第二抗体也具有相同的活性。

[0301] 已知抗体分子的重链和轻链中各有3个互补决定区(CDR:Complementarity determining region)。互补决定区也被称为超变结构域(hypervariable domain),是位于抗体的重链和轻链可变区内,一级结构中变异性特别高的位点,在每条重链和轻链的多肽链的一级结构上,独立地位于3处。本文中,对于抗体的互补决定区,从重链氨基酸序列的氨基末端侧起将重链的互补决定区表示为CDRH1、CDRH2、CDRH3,从轻链氨基酸序列的氨基末端侧起将轻链的互补决定区表示为CDRL1、CDRL2、CDRL3。这些位点在三级结构上彼此接近,决定对所结合的抗原的特异性。

[0302] 本文中的术语“在严格条件下进行杂交”是指能够在以下条件下或在与其相当的条件下进行杂交:在市售杂交溶液ExpressHyb Hybridization Solution(Clontech公司制造)中,约50-70℃(例如68℃)下进行杂交,或者使用将DNA固定的滤膜在约0.7-1.0M的NaCl存在下、在约50-70℃(例如68℃)下进行杂交,然后使用约0.1-2倍浓度的SSC溶液(1倍浓度SSC由150mM NaCl、15mM柠檬酸钠组成。此外,根据需要,该溶液中也可以含有约0.1-0.5%SDS),在约50-70℃(例如68℃)下进行清洗而进行鉴定。

[0303] 本文中的术语“1～数个”和“1或数个”中的“数个”表示2～10个。优选为10个以下、更优选为5或6个以下、进一步更优选为2或3个。

[0304] 2.ALK2

[0305] ALK2基因是编码在包括骨骼肌组织的软组织中诱导异位性骨形成的BMP受体中的一种的FOP的致病基因。由家族性和孤立性FOP病例可发现伴随氨基酸置换的突变型ALK2。作为人ALK2的突变型,已知有:L196P(196位的亮氨酸被置换为脯氨酸的突变)、delP197_F198insL(197位的脯氨酸和198位的苯丙氨酸缺失、插入亮氨酸的突变)、R202I(202位的精氨酸被置换为异亮氨酸的突变)、R206H(206位的精氨酸被置换为组氨酸的突变)、Q207E(207位的谷氨酰胺被置换为谷氨酸的突变)、R258S(258位的精氨酸被置换为丝氨酸的突变)、R258G(258位的精氨酸被置换为甘氨酸的突变)、G325A(325位的甘氨酸被置换为丙氨酸的突变)、G328E(328位的甘氨酸被置换为谷氨酸的突变)、G328R(328位的甘氨酸被置换为精氨酸的突变)、G328W(328位的甘氨酸被置换为色氨酸的突变)、G356D(356位的甘氨酸被置换为天冬氨酸的突变)、R375P(375位的精氨酸被置换为脯氨酸的突变)等。

[0306] 本发明中使用的ALK2可通过在体外(in vitro)合成、或者利用基因操作在宿主细胞中产生而获得。具体地,将ALK2 cDNA导入能表达的载体中后,通过在含有转录和翻译所需要的酶、底物和能量物质的溶液中进行合成、或者转化其他原核生物或真核生物的宿主细胞以表达ALK2,由此可得到该蛋白。

[0307] 本发明中使用的ALK2为来源于包括人及小鼠的哺乳动物的ALK2,例如人ALK2的氨基酸序列和核苷酸序列可以通过参照GenBank登录号NM-001105来获得,氨基酸序列为SEQ ID NO:84、核苷酸序列为SEQ ID NO:85也在本文中公开。小鼠ALK2的氨基酸序列和核苷酸序列可以通过参照GenBank登录号NP-001103674来获得,氨基酸序列为SEQ ID NO:86、核苷酸序列为SEQ ID NO:87也在本文中公开。予以说明,ALK2有时被称为ACVR1(Activin A type I Receptor 1)或ACTR1(Activin Receptor Type 1),这些均表示相同的分子。

[0308] ALK2的cDNA,例如可以将表达ALK2 cDNA的cDNA文库作为模板,对ALK2的cDNA使用特异性扩增的引物进行聚合酶链反应(下面称为“PCR”)(Saiki,R.K.,et al.,Science,(1988)239,487-49),也就是利用PCR法来获得。

[0309] 予以说明,ALK2的cDNA也包括编码如下蛋白的多核苷酸:在严格条件下与包含编码人或小鼠ALK2的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交,并且与ALK2具有同等生物活性的蛋白。进一步,ALK2的cDNA也包括编码如下蛋白的多核苷酸:从人或小鼠ALK2基因座转录的剪接变体或在严格条件下与其进行杂交的多核苷酸,并且与ALK2具有同等生物活性的蛋白。

[0310] 另外,ALK2也包括具有如下蛋白:在人或小鼠ALK2的氨基酸序列、或在从这些序列中除去信号序列的氨基酸序列中包含1或数个氨基酸被置换、缺失、或添加的氨基酸序列,

与ALK2具有同等生物活性的蛋白。进一步,ALK2也包括具有如下蛋白:在从人或小鼠ALK2基因座转录的剪接变体所编码的氨基酸序列或该氨基酸序列中包含1或数个氨基酸被置换、缺失、或添加的氨基酸序列,并且与ALK2具有同等生物活性的蛋白。

[0311] 3.异位骨化和/或骨营养不良的检测

[0312] 由ALK2介导的BMP信号转导可引发异位骨化和/或骨营养不良。

[0313] “异位骨化”是指本来不是骨的部位形成骨,“骨营养不良”是指已形成骨的形状及本质发生异常。“异位骨化”可举出进行性骨化性纤维发育不良(FOP)、进行性骨发育异常(POH)、外伤性异位骨化、人工关节置换术后的异位骨化等,“骨营养不良”可举出脊椎关节炎(SpA)、强直性脊柱炎(AS)等,但不限定于这些。

[0314] ALK2是结合BMP的跨膜型丝氨酸-苏氨酸激酶受体,在N末端侧胞外区结合BMP,并通过细胞内的丝氨酸-苏氨酸激酶激活下游的细胞内信息传递系统。骨形成蛋白(BMP)是属于转化生长因子B(TGF-B)超家族的多功能生长因子,已鉴定有约20种BMP家族成员。已确定BMP在包含骨骼肌组织的软组织中诱导异位性骨形成,因此认为BMP与促进异常骨形成的疾病有关。BMP-2、BMP-4与ALK2相比,被认为与ALK3亲和性更高。由于ALK3与ALK2相比,广泛存在地表达,因此认为在各种部位诱导异位骨化的实验中一般常用BMP-2及BMP-4。另一方面,认为BMP-7对ALK2的亲和性较高,此外BMP-9对ALK1的亲和性较高,但已知对ALK2也具有较高的亲和性。FOP中由于引起由ALK2介导的异位骨化,因此认为由BMP-7和BMP-9激活由ALK2介导的信号而对异位性骨诱导进行药效验证,由此能够确认对FOP有无治疗和/或预防效果。

[0315] 在BMP存在下培养成肌细胞(C2C12细胞)时,则通过对BMP特异性的细胞内信号转导系统抑制分化为成熟肌细胞,取而代之诱导为向成骨细胞分化。因此,通过用C2C12细胞的由BMP向成骨细胞的分化诱导模型,能够分析由ALK2介导的BMP信号转导。

[0316] 4.抗ALK2抗体的制造

[0317] 本发明针对ALK2的抗体,例如,可按照WO2009/091048、WO2011/027808、或WO2012/133572所述的方法得到。即,用靶抗原对非人动物进行免疫,从免疫建立后的动物采集淋巴液、淋巴组织、血细胞试样或来源于骨髓的细胞,来选择与靶抗原特异性结合的非人动物的浆细胞和/或成浆细胞。从得到的浆细胞和/或成浆细胞中采集针对靶抗原的抗体基因,并鉴定其碱基序列,从而根据鉴定的基因碱基序列能够得到上述抗体或抗体的片段。此外,同样地通过从人感染患者血液得到浆细胞和/或成浆细胞,能够得到抗体或抗体片段。通过检测获得的抗体对ALK2的结合性,能够挑选出可适用于人疾病的抗体。作为如上述方式得到的单克隆抗体的例子,可举出A2-11E、A2-15A、A2-25C、A2-27D。

[0318] 予以说明,本文中赋予抗体特征的CDR/FR中所分配的氨基酸位置按照KABAT编号(KABAT et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service National Institutes of Health,Bethesda,MD.(1991))进行分配。

[0319] 另外,也可以按照公知的方法(例如,Kohler and Milstein,Nature(1975)256,p.495-497、Kennet,R.ed.,Monoclonal Antibodies,p.365-367,Plenum Press,N.Y.(1980)),通过使产生针对ALK2抗体的抗体形成细胞与骨髓瘤细胞融合而建立杂交瘤,从而得到单克隆抗体。上述方法的具体实例如WO2009/48072(2009年4月16日公开)和WO2010/117011(2010年10月14日公开)所示。可是,获得单克隆抗体的方法在已建立的领域之内,并

不限定于上述的具体例。

[0320] 本发明的抗体不仅包括针对上述ALK2的单克隆抗体，还包括同样具有治疗/预防效果的例如降低多克隆抗体、针对人的异种抗原性等为目的而进行人工修饰的基因重组型抗体，例如包括嵌合(Chimeric)抗体、人源化(Humanized)抗体、人抗体等。这些抗体可使用已知的方法制造。

[0321] 作为嵌合抗体，可举出抗体的可变区和恒定区(Fc)各自为异种的抗体、例如将来源于小鼠或大鼠抗体的可变区连接到来源于人的恒定区的嵌合抗体(参照Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.,81,6851-6855(1984))。作为来源于A2-15A的嵌合抗体中的一例，可举出包含如下的抗体：具有包含序列表SEQ ID NO:20中20～472位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和具有包含SEQ ID NO:22中21～237位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链；作为来源于A2-27D的嵌合抗体中的一例，可举出包含如下的抗体：具有包含序列表SEQ ID NO:24中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和具有包含SEQ ID NO:26中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

[0322] 作为人源化抗体，可举出仅将CDR整合到来源于人的抗体中的抗体(参照Nature(1986)321,p.522-525)、或通过CDR移植法除了CDR序列还将一部分构架的氨基酸残基也移植到人抗体中的抗体(国际公开第WO90/07861号单行本)。

[0323] 作为来源于A2-15A抗体的人源化抗体，只要包含A2-15A的6种全部的CDR序列，且具有针对ALK2的结合活性，就包括在本发明的抗体中。予以说明，A2-15A抗体的重链可变区包含如下CDR：包含SEQ ID NO:59所示氨基酸序列的CDRH1(GFTFSHYYMA)、包含SEQ ID NO:60所示氨基酸序列的CDRH2(SITNSGGSINYRDSVKG)和包含SEQ ID NO:61所示氨基酸序列的CDRH3(EGGENYGGYPPFAY)。此外，A2-15A抗体的轻链可变区包含如下CDR：包含SEQ ID NO:62所示氨基酸序列的CDRL1(RANQGVSLSRYNLMH)、包含SEQ ID NO:63所示氨基酸序列的CDRL2(RSSNLAS)和包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的CDRL3(QQSRESPFT)。这些CDR的氨基酸序列也如图11所示。

[0324] 作为来源于A2-27D抗体的人源化抗体，只要包含A2-27D的6种全部的CDR序列，且具有针对ALK2的结合活性，就包括在本发明的抗体中。予以说明，A2-27D抗体的重链可变区包含如下CDR：包含SEQ ID NO:65所示氨基酸序列的CDRH1(GSTFSNYGMK)、包含SEQ ID NO:66所示氨基酸序列的CDRH2(SISRSSTYIYYADTVKG)和包含SEQ ID NO:67所示氨基酸序列的CDRH3(AISTPFYWYFDF)。此外，A2-27D抗体的轻链可变区包含如下CDR：包含SEQ ID NO:68所示氨基酸序列的CDRL1(LASSSVSYMT)、包含SEQ ID NO:69所示氨基酸序列的CDRL2(GTSNLAS)和包含SEQ ID NO:70所示氨基酸序列的CDRL3(LHLTSYPPYT)。这些CDR的氨基酸序列也如图12所示。

[0325] 作为来源于A2-11E抗体的人源化抗体，只要包含A2-11E的6种全部的CDR序列，且具有针对ALK2的结合活性，就包括在本发明的抗体中。予以说明，A2-11E抗体的重链可变区包含如下CDR：包含SEQ ID NO:72所示氨基酸序列的CDRH1(GFTFSNYYMY)、包含SEQ ID NO:73所示氨基酸序列的CDRH2(SINTDGGSTYYPDSVKG)和包含SEQ ID NO:74所示氨基酸序列的CDRH3(STPNIPLAY)。此外，A2-11E抗体的轻链可变区包含如下CDR：包含SEQ ID NO:75所示氨基酸序列的CDRL1(KASQNIYKYLN)、包含SEQ ID NO:76所示氨基酸序列的CDRL2(YSNSLQT)和包含SEQ ID NO:77所示氨基酸序列的CDRL3(FQYSSGPT)。这些CDR的氨基酸序列也如图13

所示。

[0326] 作为来源于A2-25C抗体的人源化抗体，只要包含A2-25C的6种全部的CDR序列，且具有针对ALK2的结合活性，就包括在本发明的抗体中。予以说明，A2-25C抗体的重链可变区包含如下CDR：包含SEQ ID NO:78所示氨基酸序列的CDRH1(GFTFSYYAMS)、包含SEQ ID NO:79所示氨基酸序列的CDRH2(SISRGGDNTYYRDTVKG)和包含SEQ ID NO:80所示氨基酸序列的CDRH3(LNYNNYFDY)。此外，A2-25C抗体的轻链可变区包含如下CDR：包含SEQ ID NO:81所示氨基酸序列的CDRL1(QASQDIGNWLS)、包含SEQ ID NO:82所示氨基酸序列的CDRL2(GATSLAD)和包含SEQ ID NO:83所示氨基酸序列的CDRL3(LQAYSAPFT)。这些CDR的氨基酸序列也如图14所示。

[0327] 另外，进一步各CDR中1～3个氨基酸残基置换为其他氨基酸残基的CDR修饰的人源化抗体只要也具有针对ALK2的结合活性，就包括在本发明的抗体中。作为CDRL2中氨基酸置换例，可举出在SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列中置换1个氨基酸的CDRL2。优选为包含SEQ ID NO:71所示氨基酸序列的CDRL2(RSSNLAQ)。此CDR的氨基酸序列也如图11所示。

[0328] 作为来源于A2-15A抗体的人源化抗体的实例，可举出含有以下重链可变区的重链和含有以下轻链可变区的轻链的任意组合：所述重链可变区含有包含序列表SEQ ID NO:28所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的氨基酸序列、包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的氨基酸序列、或包含序列表SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的氨基酸序列，和所述轻链可变区含有包含SEQ ID NO:32所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的氨基酸序列、包含SEQ ID NO:34所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的氨基酸序列、包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的氨基酸序列、或包含SEQ ID NO:38所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的氨基酸序列。

[0329] 作为优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:28所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:32所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:28所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:34所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:32所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:34所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:38所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链。

[0330] 作为更优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：具有包含SEQ ID NO:28

所示氨基酸序列中20～472位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:32所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:28所示氨基酸序列中20～472位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:34所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～472位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:32所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～472位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:34所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～472位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～472位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:38所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～468位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链。

[0331] 作为进一步优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～142位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～133位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链。

[0332] 作为进一步更优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:30所示氨基酸序列中20～472位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～468位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

[0333] 作为最优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:105所示氨基酸序列中20～468位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:36所示氨基酸序列中21～238位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

[0334] 作为来源于A2-27D抗体的人源化抗体的实例，可举出含有以下重链可变区的重链和含有以下轻链可变区的轻链的任意组合：所述重链可变区含有包含序列表SEQ ID NO:40所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列、包含序列表SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列、包含序列表SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列、包含序列表SEQ ID NO:46所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列、包含SEQ ID NO:48所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列、包含SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列、或包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的氨基酸序列，和所述轻链可变区含有包含SEQ ID NO:50所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列、包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列、包含SEQ ID NO:54所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列、包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列、或包含SEQ ID NO:58所示氨基酸序列中21

～129位氨基酸残基的氨基酸序列。

[0335] 作为优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:40所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:50所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:40所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:40所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:54所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:50所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:54所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:50所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:54所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:54所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:58所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:48所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链。

[0336] 作为更优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：包含SEQ ID NO:40所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:50所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:40所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸

序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:40所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:54所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:50所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:54所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:50所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:54所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:54所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:58所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:48所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

[0337] 作为进一步优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:42所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～140位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链。

[0338] 作为进一步更优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID

NO:42所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

[0339] 作为最优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:107所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:52所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列中20～470位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:56所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

[0340] 作为来源于A2-11E抗体的人源化抗体的实例，可举出含有以下重链可变区的重链和含有以下轻链可变区的轻链的任意组合：所述重链可变区含有包含序列表SEQ ID NO:111所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的氨基酸序列、或包含SEQ ID NO:113所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的氨基酸序列，和所述轻链可变区含有包含SEQ ID NO:115所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的氨基酸序列、包含SEQ ID NO:117所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的氨基酸序列、或包含SEQ ID NO:119所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的氨基酸序列。

[0341] 作为优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:111所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:115所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:111所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:117所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:111所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:119所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:113所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:115所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:113所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:117所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:113所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:119所示氨基酸序列中21～128位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链。

[0342] 作为更优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：具有包含SEQ ID NO:111所示氨基酸序列中20～467位具有氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:115所示氨基酸序列中21～233位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:111所示氨基酸序列中20～467位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:117所示氨基酸序列中21～233位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:

111所示氨基酸序列中20～467位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:119所示氨基酸序列中21～233位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:113所示氨基酸序列中20～467位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:115所示氨基酸序列中21～233位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:113所示氨基酸序列中20～467位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:117所示氨基酸序列中21～233位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:113所示氨基酸序列中20～467位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:119所示氨基酸序列中21～233位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

[0343] 作为来源于A2-25C抗体的人源化抗体的实例，可举出含有以下重链可变区的重链和含有以下轻链可变区的轻链的任意组合：所述重链可变区含有包含序列表SEQ ID NO:121所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的氨基酸序列、或包含SEQ ID NO:123所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的氨基酸序列，和所述轻链可变区含有包含SEQ ID NO:125所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列、包含SEQ ID NO:127所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列、或包含SEQ ID NO:129所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的氨基酸序列。

[0344] 作为优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：含有包含SEQ ID NO:121所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:125所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:121所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:127所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:121所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:129所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:123所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:125所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:123所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:127所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:123所示氨基酸序列中20～137位氨基酸残基的重链可变区序列的重链和含有包含SEQ ID NO:129所示氨基酸序列中21～129位氨基酸残基的轻链可变区序列的轻链。

[0345] 作为更优选的组合，可举出含有以下重链和轻链的抗体：具有包含SEQ ID NO:121所示氨基酸序列中20～467位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:125所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:121所示氨基酸序列中20～467位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:127所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:121所示氨基酸序列中20～467位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:129所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:123所示氨基酸序列中20～467位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:125所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链、含有包含SEQ ID NO:123所示氨基酸序列中20～467位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:127所示氨基

酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链或含有包含SEQ ID NO:123所示氨基酸序列中20～467位氨基酸残基的氨基酸序列的重链和含有包含SEQ ID NO:129所示氨基酸序列中21～234位氨基酸残基的氨基酸序列的轻链。

[0346] 作为本发明的抗体,进一步,可举出人抗体。抗ALK2人抗体是指只具有来源于人染色体抗体的基因序列的人抗体。抗ALK2人抗体可通过使用具有含有人抗体的重链和轻链基因的人染色体片段的产生人抗体的小鼠的方法(参照Tomizuka,K.et al.,Nature Genetics(1997)16,p.133-143;Kuroiwa,Y.et.al.,Nucl.Acids Res.(1998)26,p.3447-3448;Yoshida,H.et.al.,Animal Cell Technology:Basic and Applied Aspects vol.10,p.69-73(Kitagawa,Y.,Matsuda,T.and Iijima,S.eds.),Kluwer Academic Publishers,1999.;Tomizuka,K.et.al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA(2000)97,p.722-727等)来获得。

[0347] 这种产生人抗体的小鼠具体地可通过如下方式制备:内源性免疫球蛋白重链和轻链基因座被破坏,取而代之通过人类人工染色体(Human artificial chromosome,HAC)载体或小鼠人工染色体(Mouse artificial chromosome,MAC)载体等载体导入人免疫球蛋白重链和轻链基因座而成的基因重组动物,从而制备基因敲除动物和转基因动物、以及使这些动物相互交配而成。

[0348] 另外,通过基因重组技术,通过分别编码上述人抗体重链和轻链的cDNA、优选通过含有该cDNA的载体来转化真核细胞,培养产生基因重组人单克隆抗体的转化细胞,由此也能够从培养上清中得到该抗体。这里,可使用哺乳动物细胞作为宿主,例如真核细胞、优选为CHO细胞、淋巴细胞或骨髓瘤等。

[0349] 另外,已知获得抗体的方法还有从人抗体文库筛选出的来源于噬菌体的人抗体(参照Wormstone,I.M.et.al,Investigative Ophthalmology&Visual Science.(2002)43(7),p.2301-2308;Carmen,S.et.al.,Briefings in Functional Genomics and Proteomics(2002),1(2),p.189-203;Siriwardena,D.et.al.,Ophthalmology(2002)109(3),p.427-431等)。

[0350] 例如,可以使用噬菌体展示法(Nature Biotechnology(2005),23,(9),p.1105-1116),其在噬菌体表面表达人抗体的可变区作为单链抗体(scFv),并选择与抗原结合的噬菌体。通过分析与抗原结合而被选择的噬菌体基因,可以确定编码与抗原结合的人抗体可变区的DNA序列。如果明确与抗原结合的scFv的DNA序列,则通过制备具有该序列的表达载体,并导入适当的宿主中表达,由此获得人抗体(WO92/01047、WO92/20791、WO93/06213、WO93/11236、WO93/19172、WO95/01438、WO95/15388、Annu.Rev.Immunol(1994)12,p.433-455、Nature Biotechnology(2005)23(9),p.1105-1116)。

[0351] 与本发明提供的抗体结合相同表位的抗体也包括在本发明的抗体中。例如,可举出与A2-11E抗体、A2-15A抗体、A2-25C抗体和/或A2-27D抗体结合相同表位的抗体。

[0352] 当抗体与抗原的部分高阶结构结合或识别时,与该抗体相应的表位可通过如下确定:利用X射线结构分析来鉴定与该抗体相邻的抗原上的氨基酸残基。例如,使抗体或其片段和抗原或其片段结合并结晶,再进行结构分析,由此可以对于与抗体具有相互作用距离的抗原上的氨基酸残基进行鉴定。相互作用距离为8埃(Å)以下,优选为6Å以下,更优选为4Å以下。具有这种与抗体相互作用的距离的1个或1个以上的氨基酸残基可构成抗体的表

位(抗原结合位点)。当该氨基酸残基为2个以上时,各氨基酸在一级序列上也可以彼此不相邻。

[0353] 如果使嵌合A2-27D抗体的Fab片段与含有人ALK2的ECD片段(SEQ ID NO:84的氨基酸编号21～123)的肽结合,在(2%(v/v)Tacsimate pH7.0,100mM HEPES pH 7.5,20%(w/v)聚乙二醇3,350)的条件下结晶,则得到的结晶属于体心单斜晶系,空间群为C121、晶胞为a=c=119.39Å、b=37.32Å,B＝92.54。可以利用其三维结构坐标并使用分子置换法来确定相位(参照实施例16)。

[0354] A2-27D抗体识别人ALK2上的部分高阶结构。在人ALK2的氨基酸序列(SEQ ID NO:84)中,与A2-27D抗体具有相互作用距离的氨基酸残基、即表位由以下各残基构成:18位谷氨酸(Glu),19位甘氨酸(Gly),39位异亮氨酸(Ile),40位天冬酰胺(Asn),41位天冬氨酸(Asp),42位甘氨酸(Gly),43位苯丙氨酸(Phe),44位组氨酸(His),45位缬氨酸(Val),46位酪氨酸(Tyr),82位天冬酰胺(Asn),84位苏氨酸(Thr),86位谷氨酰胺(Gln)和87位亮氨酸(Leu)。与所述表位结合、或与所述氨基酸残基具有相互作用距离的抗体、其抗原结合片段或其修饰体,也包括在本发明的抗体、其抗原结合片段或其修饰体中。

[0355] 如果使嵌合A2-25C抗体的Fab片段与含有人ALK2的ECD片段(SEQ ID NO:84的氨基酸编号21～123)的肽结合,在(0.15M Li_2SO_4,0.1M柠檬酸钠pH3.4,18%(w/v)PEG6,000,20%(v/v)乙二醇)的条件下结晶,则得到的结晶属于四方晶系,空间群为$P2_12_12_1$、晶胞为a=74.49Å, b=128.05Å、c=147.73Å。可以利用其三维结构坐标使用分子置换法来确定相位(参照实施例21)。

[0356] A2-25C抗体识别人ALK2上的部分高阶结构。在人ALK2的氨基酸序列(SEQ ID NO:84)中,与A2-25C抗体具有相互作用距离的氨基酸残基、即表位由以下各残基构成:18位谷氨酸(Glu),19位甘氨酸(Gly),20位亮氨酸(Leu),39位异亮氨酸(Ile),41位天冬氨酸(Asp),42位甘氨酸(Gly),43位苯丙氨酸(Phe),44位组氨酸(His),45位缬氨酸(Val),46位酪氨酸(Tyr),84位苏氨酸(Thr)。与所述表位结合、或与所述氨基酸残基具有相互作用距离的抗体、其抗原结合片段或其修饰体,也包括在本发明的抗体、其抗原结合片段或其修饰体中。

[0357] 上述抗体可以通过实施例2、实施例6、实施例9或实施例10所示的方法等评价针对抗原的结合性,挑选出适合的抗体。抗体的解离常数,例如为1×10^{-6}-1×10^{-12}M,只要由本发明的抗体达到目的的治疗或预防效果,则并不限定于此范围。抗体与抗原(ALK2)的解离常数可使用检测原理为表面等离子体共振(SPR)的Biacore T200(GE Healthcare Bioscience公司)进行测定。例如,对于作为配体固定的抗原,通过与作为分析物的设定为适当浓度的抗体反应,测定其结合和解离,而得到结合速率常数ka1、解离速率常数kd1和解离常数(KD;KD＝kd1/ka1)。针对ALK2的结合性评价并不限定于使用Biacore T200,也可以利用检测原理为表面等离子体共振(SPR)的仪器、检测原理为动力排除测定(Kinetic Exclusion Assay)的KinExA(Sapidyne Instruments公司)、检测原理为生物膜干涉法(Bio-Layer Interferometry)的BLItz系统(Pall公司)、或者ELISA(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)法等。

[0358] 作为比较抗体性质时其他指标的一例,可举出抗体稳定性。差示扫描量热法(DSC)

是能够快速且精确地测量热变性中点温度(Tm)的方法,Tm为蛋白相对构象稳定性的有利指标。通过利用DSC测定Tm值并比较其值,从而比较热稳定性的差异。已知抗体的保存稳定性显示为与抗体的热稳定性有一定相关(Lori Burton,et.al.,Pharmaceutical Development and Technology(2007)12,p.265-273),可通过以热稳定性为指标,挑选适合的抗体。作为用于挑选抗体的其他指标,可举出在适当宿主细胞中产量高和在水溶液中的凝集性低。例如由于产量最高的抗体不一定显示最高的热稳定性,因此需要根据以上所述指标进行综合判断,以挑选出最适合对人用药的抗体。

[0359] 另外,也已知有使用适当接头连接抗体的全长重链和轻链序列而获得单链免疫球蛋白(single chain immunoglobulin)的方法(Lee,H-S,et.al.,Molecular Immunology(1999)36,p.61-71;Shirrmann,T.et.al.,mAbs(2010),2,(1)p.1-4)。这种单链免疫球蛋白通过二聚化,可以具有与本来的四聚体的抗体相似的结构与活性。此外,本发明的抗体也可以为具有单一重链可变区但不具有轻链序列的抗体。这种抗体称为单一结构域抗体(single domain antibody:sdAb)或纳米抗体(nanobody),实际上报告有在骆驼或羊驼中被观察到,且具有抗原结合能力(Muyldemans S.et.al.,Protein Eng.(1994)7(9),1129-35,Hamers-Casterman C.et.al.,Nature(1993)363(6428)446-8)。上述抗体也可以解释为本发明抗体的抗原结合片段中的一种。

[0360] 另外,通过调控与本发明抗体结合的糖链修饰,可以增强抗体依赖细胞介导的细胞毒活性。作为抗体糖链修饰调控技术,已知有WO99/54342、WO2000/61739、WO2002/31140等,但并不限定于这些。

[0361] 在先分离抗体基因之后再导入适当的宿主来制备抗体的情况时,可使用适当的宿主与表达载体的组合。

[0362] 作为抗体基因的具体例,可举出编码本文中所述抗体重链序列的基因(或多核苷酸)、编码轻链序列的基因(或多核苷酸)、或者这些基因(或多核苷酸)的组合。

[0363] 编码抗体或抗体结构成分(重链或轻链)的多核苷酸的具体例如下所述。

[0364] (1)为以下多核苷酸(a)和/或(b)。

[0365] 该多核苷酸的特征在于,含有下列序列:

[0366] (a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸:

[0367] a1)包含SEQ ID NO:27所示的核苷酸序列的58～426位核苷酸的核苷酸序列;

[0368] a2)包含SEQ ID NO:29所示的核苷酸序列的58～426位核苷酸的核苷酸序列;

[0369] a3)包含SEQ ID NO:104所示的核苷酸序列的58～426位核苷酸的核苷酸序列;

[0370] a4)与a1)～a3)的核苷酸序列具有至少95%同一性的核苷酸序列;

[0371] a5)与a1)～a3)的核苷酸序列具有至少99%同一性的核苷酸序列;

[0372] a6)在严格条件下与包含a1)～a3)的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列;

[0373] a7)a1)或a2)的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列;和/或

[0374] (b)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸:

[0375] b1)包含SEQ ID NO:31所示的核苷酸序列的86～424位核苷酸的核苷酸序列;

[0376] b2)包含SEQ ID NO:33所示的核苷酸序列的86～424位核苷酸的核苷酸序列;

[0377] b3)包含SEQ ID NO:35所示的核苷酸序列的86～424位核苷酸的核苷酸序列；

[0378] b4)包含SEQ ID NO:37所示的核苷酸序列的86～424位核苷酸的核苷酸序列；

[0379] b5)与选自b1)～b4)中任一个的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0380] b6)与选自b1)～b4)中任一个的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0381] b7)在严格条件下与包含选自b1)～b4)中任一个的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0382] b8)选自b1)～b4)中任一个的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列。

[0383] (2)为以下多核苷酸(a)和/或(b)。

[0384] 该多核苷酸的特征在于，含有下列序列：

[0385] (a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

[0386] a1)包含SEQ ID NO:39所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

[0387] a2)包含SEQ ID NO:41所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

[0388] a3)包含SEQ ID NO:43所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

[0389] a4)包含SEQ ID NO:45所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

[0390] a5)包含SEQ ID NO:47所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

[0391] a6)包含SEQ ID NO:106所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

[0392] a7)包含SEQ ID NO:108所示的核苷酸序列的58～420位核苷酸的核苷酸序列；

[0393] a8)与选自a1)～a7)中任一个的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0394] a9)与选自a1)～a7)中任一个的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0395] a10)在严格条件下与包含选自a1)～a7)中任一个的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0396] a11)选自a1)～a7)中任一个的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列；和/或

[0397] (b)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

[0398] b1)包含SEQ ID NO:49所示的核苷酸序列的86～412位核苷酸的核苷酸序列；

[0399] b2)包含SEQ ID NO:51所示的核苷酸序列的86～412位核苷酸的核苷酸序列；

[0400] b3)包含SEQ ID NO:53所示的核苷酸序列的86～412位核苷酸的核苷酸序列；

[0401] b4)包含SEQ ID NO:55所示的核苷酸序列的86～412位核苷酸的核苷酸序列；

[0402] b5)包含SEQ ID NO:57所示的核苷酸序列的86～412位核苷酸的核苷酸序列；

[0403] b6)与选自b1)～b5)中任一个的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0404] b7)与选自b1)～b5)中任一个的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0405] b8)在严格条件下与包含选自b1)～b5)中任一个的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0406] b9)选自b1)～b5)中任一个的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列。

[0407] (3)为以下多核苷酸(a)和/或(b)。

[0408] 该多核苷酸的特征在于，含有下列序列：

[0409] (a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

[0410] a1)包含SEQ ID NO:110所示的核苷酸序列的58～411位核苷酸的核苷酸序列；

[0411] a2)包含SEQ ID NO:112所示的核苷酸序列的58～411位核苷酸的核苷酸序列；

[0412] a3)与a1)或a2)的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0413] a4)与a1)或a2)的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0414] a5)在严格条件下与包含a1)或a2)的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0415] a6)a1)或a2)的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列；和/或

[0416] (b)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

[0417] b1)包含SEQ ID NO:114所示的核苷酸序列的61～384位核苷酸的核苷酸序列；

[0418] b2)包含SEQ ID NO:116所示的核苷酸序列的61～384位核苷酸的核苷酸序列；

[0419] b3)包含SEQ ID NO:118所示的核苷酸序列的61～384位核苷酸的核苷酸序列；

[0420] b4)与选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0421] b5)与选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0422] b6)在严格条件下与包含选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0423] b7)选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列。

[0424] (4)为以下多核苷酸(a)和/或(b)。

[0425] 该多核苷酸的特征在于，含有下列序列：

[0426] (a)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

[0427] a1)包含SEQ ID NO:120所示的核苷酸序列的58～411位核苷酸的核苷酸序列；

[0428] a2)包含SEQ ID NO:122所示的核苷酸序列的58～411位核苷酸的核苷酸序列；

[0429] a3)与a1)或a2)的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0430] a4)与a1)或a2)的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0431] a5)在严格条件下与包含a1)或a2)的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0432] a6)a1)或a2)的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列；和/或

[0433] (b)选自于以下核苷酸序列的多核苷酸：

[0434] b1)包含SEQ ID NO:124所示的核苷酸序列的61～387位核苷酸的核苷酸序列；

[0435] b2)包含SEQ ID NO:126所示的核苷酸序列的61～387位核苷酸的核苷酸序列；

[0436] b3)包含SEQ ID NO:128所示的核苷酸序列的61～387位核苷酸的核苷酸序列；

[0437] b4)与选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列具有至少95％同一性的核苷酸序列；

[0438] b5)与选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列具有至少99％同一性的核苷酸序列；

[0439] b6)在严格条件下与包含选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列的互补核苷酸序列的多核苷酸进行杂交的多核苷酸所具有的核苷酸序列；

[0440] b7)选自b1)～b3)中任一个的核苷酸序列中1～数个核苷酸被置换、缺失或添加的核苷酸序列。

[0441] 当转化宿主细胞时，重链序列基因(或多核苷酸)和轻链序列基因(或多核苷酸)可以插入到同一表达载体中，此外也可以插入到不同的表达载体中。在使用真核细胞作为宿主的情况下，可以使用动物细胞、植物细胞、真核微生物。作为动物细胞，可举出哺乳类细胞，例如，猴细胞的COS细胞(Gluzman,Y.Cell(1981)23,p.175-182,ATCC CRL-1650)、小鼠成纤维细胞NIH3T3(ATCC No.CRL-1658)或中国仓鼠卵巢细胞(CHO细胞,ATCC CCL-61)的二氢叶酸还原酶-缺陷型细胞株(Urlaub,G.and Chasin,L.A.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.(1980)77,p.4126-4220)。此外，在使用原核细胞的情况时，例如可举出大肠杆菌、枯草芽孢杆菌。通过向这些细胞转化目的抗体基因而导入在体外(in vitro)培养转化的细胞，由此可得到抗体。在上述培养法中有时产量因抗体的序列而不同，可以以产量为指标在具有同等结合活性的抗体中筛选容易作为药物生产的抗体。

[0442] 作为本发明抗体的同种型没有限制，例如可举出IgG(IgG1,IgG2,IgG3,IgG4)、IgM、IgA(IgA1,IgA2)、IgD或者IgE等，可举出优选为IgG或IgM、进一步优选为IgG1、IgG2或IgG4。

[0443] 在使用IgG1作为本发明抗体的同种型的情况下，可通过置换恒定区的一部分氨基酸残基来调控效应子功能(参照WO88/07089、WO94/28027、WO94/29351)。作为IgG1的突变体，可举出IgG1 LALA(IgG1-L234A,L235A)、IgG1 LAGA(IgG1-L235A,G237A)等，优选为IgG1 LALA。

[0444] 在使用IgG4作为本发明抗体的同种型的情况下，通过置换恒定区的一部分氨基酸残基，可抑制IgG4特有的分解，延长半衰期(参照Molecular Immunology,30,1 105-108(1993))。作为IgG4突变体，可举出IgG4 pro(IgG4-S241P)等。

[0445] 另外，本发明的抗体也可以是具有抗体的抗原结合位点的抗体的抗原结合片段或其修饰体。可以通过用木瓜蛋白酶、胃蛋白酶等蛋白酶处理抗体、或者利用基因工程学方法修饰抗体基因并在适当的培养细胞中表达，由此得到该抗体的片段。在这些抗体片段中，可以将保持有全长抗体分子所具有的全部或一部分功能的片段称为抗体的抗原结合片段。作为抗体的功能，可举出通常的抗原结合活性、抑制抗原活性的活性、增强抗原活性的活性、抗体依赖细胞介导的细胞毒活性、补体依赖性的细胞毒活性、及补体依赖性细胞的细胞毒活性。本发明中抗体的抗原结合片段所保持的功能是针对ALK2的结合活性，优选为抑制ALK2活性的活性，更优选抑制由ALK2介导的BMP信号转导的活性，最优选为抑制异位骨化和/或骨营养不良的活性。

[0446] 例如，作为抗体片段，可举出Fab、$F(ab')_2$、Fv、或用适当接头连接重链与轻链Fv的单链Fv(scFv)、双链抗体(diabody或diabodies)、线性抗体、及由抗体片段形成的多特异性抗体等。此外，抗体片段也包括在还原条件下处理$F(ab')_2$而得到的抗体可变区的单价片段的Fab'。

[0447] 进一步，本发明的抗体也可以是针对至少2种不同抗原具有特异性的多特异性抗体。通常这种分子与2种抗原结合而成(即，双特异性抗体(bispecific antibody))、本发明中“多特异性抗体”包括针对2种以上(例如，3种)抗原具有特异性的抗体。

[0448] 本发明的多特异性抗体可以包含全长的抗体或这样的抗体片段(例如，双特异性抗体)。双特异性抗体制备方式如下：可通过将2种抗体的重链和轻链(HL对)结合而制备，也可以通过使产生不同单克隆抗体的杂交瘤融合而制备双特异性抗体形成融合细胞

(Millstein et al.,Nature(1983)305,p.537-539)。

[0449] 本发明的抗体可以是单链抗体(也记为scFv)。单链抗体通过用多肽接头连接抗体的重链可变区和轻链可变区而得到(Pluckthun,The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,113(Rosenberg和Moore编著、Springer Verlag,New York,p.269-315(1994)、Nature Biotechnology(2005),23,p.1126-1136)。此外,也可以使用用多肽接头连接2个scFv而制备的BiscFv片段作为双特异性抗体。

[0450] 制备单链抗体的方法在本技术领域是已知的(例如,参照美国专利第4,946,778号、美国专利第5,260,203号、美国专利第5,091,513号、美国专利第5,455,030号等)。在该scFv中,重链可变区和轻链可变区通过不形成缀合物的接头,优选为多肽接头进行连接(Huston,J.S.et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.(1988),85,p.5879-5883)。scFv中重链可变区和轻链可变区可以来源于同一抗体,也可以来源于各自不同的抗体。作为连接可变区的多肽接头,例如可使用包含12～19个残基的任意单链肽。

[0451] 编码scFv的DNA可通过如下获得:在编码所述抗体的重链或重链可变区的DNA和编码轻链或轻链可变区的DNA中,以编码这些序列中的全部或所需氨基酸序列的DNA部分为模板,通过PCR法使用界定其两末端的引物对进行扩增,然后,组合编码多肽接头部分的DNA和界定其两末端的引物对进一步扩增,以使两末端分别连接重链、轻链。

[0452] 另外,如果一旦制备出编码scFv的DNA,则按照常规方法可得到含有该DNA的表达载体和由该表达载体转化的宿主,此外,通过利用该宿主,按照常规方法可得到scFv。其抗体片段可与上述同样地获得基因并表达,通过宿主产生。

[0453] 本发明的抗体也可以进行多聚化以提高针对抗原的亲和性。作为多聚化的抗体,可以是1种抗体,也可以是识别同一抗原多个表位的多个抗体。作为对抗体进行多聚化的方法,可举出IgG CH3结构域结合2个scFv、结合链霉亲和素、导入螺旋-转角-螺旋基序等。

[0454] 本发明的抗体可以是氨基酸序列不同的多种抗ALK2抗体混合物的多克隆抗体。作为多克隆抗体的一例,可举出CDR不同的多种抗体的混合物。作为这种克隆抗体,可使用对产生不同抗体的细胞混合物进行培养并从该培养物中纯化的抗体(参照WO2004/061104)。

[0455] 本发明的抗体可以是与上述抗体的重链和/或轻链相比具有80％～99％同一性的抗体。其中“同一性”的术语,具有本领域中使用的一般定义。同一性的％是指将2个氨基酸序列进行比对(Alignment)使氨基酸一致性为最大时,每个总氨基酸数(包括帽)中同一氨基酸数的百分比。通过组合与上述重链氨基酸序列和轻链氨基酸序列显示为高同一性的序列,可以选择具有与上述各抗体具有同等抗原结合能力、BMP信号转导抑制作用的抗体。这样的同一性,一般为80％以上的同一性,优选为90％以上的同一性,更优选为95％以上的同一性,最优选为99％以上的同一性。此外,通过组合在重链和/或轻链的氨基酸序列中1～数个氨基酸残基被置换、缺失和/或添加的氨基酸序列,也可以选择与上述各抗体具有同等各种作用的抗体。被置换、缺失和/或添加的氨基酸残基数,一般为10个氨基酸残基以下,优选为5～6个氨基酸残基以下,更优选为2～3个氨基酸残基以下,最优选为1个氨基酸残基。

[0456] 予以说明,已知哺乳类培养细胞中生产的抗体的重链羧基末端的赖氨酸残基缺失(Journal of Chromatography A,705:129-134(1995)),此外已知相同重链羧基末端的甘氨酸、赖氨酸的2氨基酸残基缺失,位于羧基末端的脯氨酸残基被重新酰胺化(Analytical Biochemistry,360:75-83(2007))。

[0457] 进一步另外，已知在制备抗体时，在抗体重链或轻链氨基末端的谷氨酰胺或谷氨酸残基被焦谷氨酰化修饰，本发明的抗体也可以具有这样的修饰(WO2013/147153)。

[0458] 但是，这些重链序列的缺失、或者重链或轻链序列的修饰并不影响抗体的抗原结合能力和效应子功能(补体的激活、抗体依赖性细胞毒作用等)。

[0459] 因此，本发明中也包括该缺失或经修饰的抗体，可举出在重链羧基末端缺失有1或2个氨基酸的缺失体、及酰胺化的该缺失体(例如，羧基末端位点的脯氨酸残基经酰胺化的重链)、重链或轻链的氨基末端氨基酸残基经焦谷氨酰化的抗体等。然而，只要具有抗原结合能力和效应子功能，本发明的抗体重链的羧基末端缺失体并不限定于上述各类。构成本发明抗体的2个重链可以是全长和选自于上述缺失体的重链中任意一种，也可以是组合其中任意两种。各缺失体的相对量可受到产生本发明抗体的哺乳类培养细胞种类和培养条件的影响，可举出作为本发明抗体的主要成分，在2个重链两者的羧基末端缺失1个氨基酸残基的情况。

[0460] 两种氨基酸序列间的同一性可以通过使用Blast算法2.2.2版(Altschul,Stephen F.,Thomas L.Madden,Alejandro A.Schaffer,Jinghui Zhang,Zheng Zhang,Webb Miller,and David J.Lipman(1997),“Gapped BLAST and PSI-BLAST:a new generation of protein database search programs”,Nucleic Acids Res.25:3389-3402)的默认参数来进行确定。Blast算法也可通过在互联网访问www.ncbi.nlm.nih.gov/blast使用。予以说明，通过上述Blast算法，可计算Identity(或Identities)和Positivity(或Positivities)的2种百分比值。前者是在应计算同一性的两种氨基酸序列间在氨基酸残基一致时的值，后者是同时考虑化学结构相似的氨基酸残基的数值。本文中将在氨基酸残基一致时具有的Identity(同一性)的值作为同一性的值。

[0461] 作为抗体的修饰体，可使用与聚乙二醇(PEG)等各种分子结合的抗体。

[0462] 本发明的抗体也可以是进一步这些抗体与其他制剂形成缀合物的抗体(Immunoconjugate)。作为这种抗体的例子，可举出该抗体与放射性物质或具有药理作用的化合物结合而成的抗体(Nature Biotechnology(2005)23,p.1137-1146)。

[0463] 得到的抗体可纯化至均一。抗体的分离、纯化可使用通常蛋白所用的分离、纯化方法即可。例如如果适当地选择及组合柱色谱、滤膜过滤、超滤、盐析、透析、制备用聚丙烯酰胺凝胶电泳、等电点电泳等，则可分离纯化抗体(Strategies for Protein Purification and Characterization:A Laboratory Course Manual,Daniel R.Marshak et al.eds.,Cold Spring Harbor Laboratory Press(1996);Antibodies:A Laboratory Manual.Ed Harlow and David Lane,Cold Spring Harbor Laboratory(1988))，但并不限定于这些。

[0464] 作为色谱法，可举出亲和色谱法、离子交换色谱法、疏水色谱法、凝胶过滤色谱法、反相色谱法、吸附色谱法等。

[0465] 这样的色谱法可使用HPLC或FPLC等液相色谱法进行。

[0466] 作为亲和色谱中使用的柱子，可举出Protein A柱、Protein G柱。

[0467] 例如作为使用Protein A柱的柱子，可举出Hyper D、POROS、Sepharose F.F.(GE Healthcare公司)等。

[0468] 另外也可以使用固定化有抗原的载体，利用对抗原的结合性来纯化抗体。

[0469] 5.含有抗ALK2抗体的药物

[0470] 从按照上述“4.抗ALK2抗体的制造”中记载的方法得到的抗ALK2抗体中，可得到抑制ALK2生物活性的抗体。这种抑制ALK2生物活性的抗体在生体内由于抑制ALK2生物活性、即由ALK2介导的BMP信号转导，因此作为药物，可用作对异位骨化和/或骨营养不良的治疗和/或预防剂、或用作对贫血的治疗和/或预防剂。

[0471] 作为用抗ALK2抗体可以治疗和/或预防的疾病，例如可举出：进行性骨化性纤维发育不良(FOP)、进行性骨发育异常(POH)、外伤性异位骨化、人工关节置换术后的异位骨化、脊椎关节炎(SpA)、强直性脊柱炎(AS)、贫血、扩散型内因性脑桥神经胶质瘤(DIPG)、头发稀疏等，优选为进行性骨化性纤维发育不良(FOP)、进行性骨发育异常(POH)、外伤性异位骨化、或者人工关节置换术后的异位骨化，更优选为进行性骨化性纤维发育不良(FOP)，只要是由由ALK2介导的BMP信号转导引起的疾病即可，但不限定于这些。FOP患者中可见手指、脚趾发生融合或变形、颈椎发生融合或变形等，也可见听力困难，这些都包括在由由ALK2介导的BMP信号转导引起的疾病中。

[0472] 全部的FOP患者中可见ALK2中激活型突变，迄今为止已报告有10种以上的突变种类。这些突变可知全部存在于ALK2蛋白的胞内区的氨基酸突变(错义突变)，胞外区的氨基酸序列则无变化。本发明的抗体由于与ALK2胞外区结合，因此不论突变种类，均可以用作对全部FOP患者的治疗和/或预防剂。

[0473] FOP的治疗是指FOP的症状痊愈、症状改善、症状减轻、或症状发展抑制。

[0474] FOP的预防是指避免或抑制急性发作或异位骨化的发病。

[0475] 另外，本发明的抗体不仅与突变ALK2也与野生型ALK2结合，抑制下游信号，因此也可以对与FOP不同的非遗传性的异位骨化用作治疗和/或预防剂。作为非遗传性的异位骨化，可举出：脑挫伤后的异位骨化、脊髓损伤后的异位骨化、烧伤后的异位骨化、人工关节置换术后的异位骨化等。这些非遗传性的异位骨化原因，报告有神经肽或肥大细胞-微小噬菌体等免疫系统细胞的参与(参照J.Cell.Biochem.,112,10(2011)、J.Cell.Biochem.,112,10(2011)和J.Pathol.,236,2(2015))，提示在FOP患者的急性发作中也涉及相同的致病机理(参照Hum.Pahol.,32,8(2001)和Histol.Histopathol.,29,10(2014))。因此，本发明的抗体不仅可以用作FOP中的异位骨化，还可以用作非遗传性的异位骨化的治疗和/或预防剂。

[0476] 作为贫血的通过BMP-ALK信号转导途径正调节转录的靶基因，已知有铁调素(Hepcidin)(参照Blood,118,15(2011))。铁调素(Hepcidin)是主要在肝脏中产生的肽激素，控制在胃肠道表达的与铁吸收相关的转运体(铁转运蛋白)分解(参照Science,306,5704(2004))。由于铁调素(Hepcidin)的功能抑制或抑制表达量通过铁转运蛋白表达量增加而与促进从胃肠道的铁吸收相关，因此报告有可以用作贫血的治疗药(参照Pharmacol Ther,146(2015))。因此，本发明的抗体可通过肝脏中铁调素(Hepcidin)的表达抑制，以增加铁吸收，由此可用作缺铁性贫血的治疗和/或预防剂。

[0477] 或者本发明的抗体也可以用作扩散型内因性脑桥神经胶质瘤(DIPG)的治疗和/或预防剂。DIPG是认为集中于脑干部的脑桥的弥漫性(侵润性)的星形细胞系肿瘤，据称在小儿脑干肿瘤中占约75～80％，报告有由于脑干控制呼吸等必需功能，因此生存率在2年不到10％的程度(Khuong-Quang D-A et al.,Acta Neuropathol 124:439-447,2012)。本发明的抗体也可以用作DIPG的治疗和/或预防剂。

[0478] 作为上述药物的抗ALK2抗体的例子，可举出根据“4.抗ALK2抗体的制造”所述的方法由A2-15A抗体、A2-27D抗体、A2-11E抗体或A2-25C抗体制备的嵌合抗体或人源化抗体。此外，与A2-15A抗体、A2-27D抗体A2-11E抗体和/或A2-25C抗体结合相同表位的嵌合抗体、人源化抗体和人抗体也可以用作药物。

[0479] 在体外(in vitro)抗ALK2抗体对ALK2的生物活性(BMP信号抑制活性)可通过如下方法确认：例如，用插入有BMP响应序列的报告质粒进行萤光素酶检测、SMAD1/5/8的磷酸化、BMP靶基因的表达分析、或由BMP配体的刺激而向成骨细胞分化进行诱导的小鼠成肌细胞C2C12中测定碱性磷酸酶活性。

[0480] 在体内(in vivo)利用实验动物的抗ALK2抗体对异位骨化或骨营养不良的治疗或预防效果可通过如下方法确认：例如，在小鼠肌肉移植含BMP配体颗粒的异位骨化诱导模型、或对导入突变ALK2的FOP模型小鼠皮下或静脉给药抗ALK2抗体，从而分析异位性骨的形成。

[0481] 如上述方式得到的抗AKL2抗体作为药物，特别是用作用于进行性骨化性纤维发育不良(FOP)等异位骨化的治疗或预防的药物组合物。

[0482] 作为一个例子，抗ALK2抗体对异位骨化的治疗或预防可以以该抗体单独地或者与至少一个其他异位骨化治疗剂同时使用进行给药。此外作为一个例子，抗ALK2抗体可以与在治疗上有效剂量的治疗剂同时使用进行给药。作为可与抗ALK2抗体同时使用进行给药的其他异位骨化治疗剂，可举出抗炎药、甾体药、双膦酸盐、肌肉松弛剂、视黄酸受体(RAR)γ激动剂等，但不限定于这些。

[0483] 作为抗炎药，可举出：阿司匹林、双氯芬酸、吲哚美辛、布洛芬、酮洛芬、萘普生、吡罗昔康、罗非考昔、塞来考昔、咪唑硫嘌呤、青霉胺、甲氨蝶呤、柳氮磺胺吡啶、来氟米特、英夫利昔、依那西普等，优选为吲哚美辛、布洛芬、吡罗昔康或塞来考昔。

[0484] 作为甾体药，可举出：泼尼松、倍氯米松、倍他米松、氟替卡松、地塞米松、氢化可的松等，优选为泼尼松。

[0485] 作为双膦酸盐，可举出：阿仑膦酸盐、英卡膦酸盐、氯膦酸盐、依替膦酸盐、伊班膦酸盐、因卡膦酸盐、米诺膦酸盐、奈立膦酸盐、奥帕膦酸盐、帕米膦酸盐、piridronate、利塞膦酸盐、替鲁膦酸盐、唑来膦酸盐等，优选为帕米膦酸盐或唑来膦酸盐。

[0486] 作为肌肉松弛剂，可举出：环苯扎林、美他沙酮、巴氯芬等，优选为巴氯芬。

[0487] 作为视黄酸受体γ激动剂，可举出帕罗伐汀(Palovarotene)等。

[0488] 根据异位骨化的状态或希望达到的治疗和/或预防的程度，也可以给予2种、3种或其以上的其他治疗剂，这些其他治疗剂可以通过包括在同一制剂中同时给药。其他治疗剂和抗ALK2抗体也可以通过封装在同一制剂中同时给药。此外，抗ALK2抗体和其他治疗剂也可以通过封装在各自的制剂中同时给药。进一步，其他制剂和抗ALK2抗体也可以相继地各自给药。即，也可以在给予其他治疗剂后再给予含有抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段为有效成分的治疗剂、或者在给予含有抗ALK2抗体或该抗体的抗原结合片段为有效成分的治疗剂后再给予其他治疗剂。在基因治疗中给药的情况下，蛋白质的异位骨化治疗剂基因和抗ALK2抗体基因可以插入到各自的或者同一启动子区的下游，可以导入到各自的或者同一载体中。

[0489] 通过组合抗ALK2抗体或其片段与异位骨化治疗剂，可以制造如M.C.Garnet

“Targeted drug conjugates:principles and progress”,Advanced Drug Delivery Reviews,(2001)53,171-216中所述的靶向型药物复合体。为了实现这个目的,除抗体分子以外,可使用任何抗体片段,只要其不完全失去识别ALK2抗原的能力,例如可举例有Fab、F(ab')$_2$、Fv等片段,在本发明中可以以相同的方式使用抗体和该片段。抗ALK2抗体或该抗体片段与FOP治疗剂的结合方式可以是如M.C.Garnet“Targeted drug conjugates:principles and progress”,Advanced Drug Delivery Reviews,(2001)53,171-216、G.T.Hermanson“Bioconjugate Techniques”Academic Press,California(1996)、Putnam and J.Kopecek“Polymer Conjugates with Anticancer Activity”Advances in Polymer Science(1995)122,55-123等所述的各种方式。即,可举出抗ALK2抗体和异位骨化治疗剂以化学方式直接结合或者通过寡肽等间隔基进行结合的方式,或通过适当的药物载体进行结合的方式。作为药物载体的例子,可举出脂质体或水溶性聚合物。这些药物载体所介入的方式,更具体地可举例有:异位骨化治疗剂包含在脂质体中的该脂质体与抗体结合而成的方式、以及异位骨化治疗剂与水溶性聚合物(分子量为1000～10万左右的化合物)以化学方式直接或者通过寡肽等间隔基进行结合的该水溶性聚合物与抗体结合而成的方式。抗体(或该片段)与异位骨化治疗剂、脂质体和水溶性聚合物等药物载体的结合可以通过本领域技术人员已知的方法,如G.T.Hermanson“Bioconjugate Techniques”Academic Press,California(1996)、Putnam and J.Kopecek“Polymer Conjugates with Anticancer Activity”Advances in Polymer Science(1995)122,55-123所述的方法等实施。将异位骨化治疗剂包含在脂质体可以通过本领域技术人员已知的方法,如D.D.Lasic“Liposomes:From Physics to Applications”,Elsevier Science Publishers B.V.,Amsterdam(1993)等所述的方法等实施。异位骨化治疗剂与水溶性聚合物的结合可以通过本领域技术人员已知的方法,如D.Putnam and J Kopecek“Polymer Conjugates with Anticancer Activity”Advances in Polymer Science(1995)122,55-123所述的方法等实施。除上述方法外,抗体(或该片段)与蛋白质的异位骨化治疗剂(或该片段)的复合体可以通过本领域技术人员已知的方法以基因工程学方法制备。

[0490] 本发明也提供药物组合物,其含有在治疗和/或预防上有效剂量的抗ALK2抗体和药学上可接受的稀释剂、载体、增溶剂、乳化剂、防腐剂和/或佐剂。

[0491] 本发明也提供药物组合物,其含有在治疗和/或预防上有效剂量的抗ALK2抗体和在治疗和/或预防上有效剂量的至少一种异位骨化治疗剂及药学上可接受的稀释剂、载体、增溶剂、乳化剂、防腐剂和/或佐剂。

[0492] 作为本发明药物组合物中可接受的制剂中使用的物质,优选对于药物组合物被给予者为无毒的物质,优选在给药量或给药浓度无毒的物质。

[0493] 本发明的药物组合物可以含有用于改变或保持pH、渗透压、粘度、透明度、颜色、等渗性、无菌性、稳定性、溶出度、缓释速率、吸收速率、渗透速率的用于制剂的物质。作为用于制剂的物质可举出如下物质,但并不限定于这些:甘氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸和赖氨酸等氨基酸;抗菌剂;抗坏血酸、硫酸钠和亚硫酸氢钠等抗氧化剂;磷酸盐、柠檬酸盐、硼酸盐缓冲剂、碳酸氢盐和Tris-HCl溶液等缓冲剂;甘露糖醇和甘氨酸等填充剂;乙二胺四乙酸盐(EDTA)等螯合剂;咖啡因、聚乙烯吡咯烷酮、β-环糊精和羟丙基-β-环糊精等络合剂;葡萄糖、甘露糖和糊精等填充剂;单糖和二糖等其它碳水化合物;着色剂;矫味剂;

稀释剂;乳化剂;聚乙烯吡咯烷酮等亲水聚合物;低分子量多肽、成盐抗衡离子、苯扎氯铵、苯甲酸盐、水杨酸、硫柳汞、苯乙醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、氯己定、山梨酸和过氧化氢等防腐剂;甘油、丙二醇和聚乙二醇等溶剂;甘露糖醇和山梨糖醇等糖醇;悬浮剂;山梨坦酯(sorbitan esters)、聚山梨酯(包括聚山梨酯20和聚山梨酯80)、Triton、氨丁三醇、卵磷脂和胆固醇等表面活性剂;蔗糖和山梨糖醇等稳定促进剂;氯化钠、氯化钾和甘露糖醇/山梨糖醇等弹性增强剂;运载剂;赋形剂和/或药物佐剂。这些用于制剂的物质的添加量优选为相对于抗ALK2抗体重量为0.01～100倍,特别优选为添加0.1～10倍。制剂中优选药物组合物的组成可由本领域技术人员根据适用疾病、适用给药途径等进行适当确定。

[0494] 药物组合物中的赋形剂或载体可以是液体或固体。适当的赋形剂或载体可以是注射用水或生理盐水、人工脑脊液或通常用于非经口给药的其他物质。中性生理盐水或含血清白蛋白的生理盐水也可以用作载体。药物组合物中可包含pH7.0-8.5的Tris缓冲液、pH4.0-5.5的醋酸缓冲液、pH3.0-6.2的柠檬酸缓冲液。此外,这些缓冲液中也可以含有山梨醇或其他化合物。本发明的药物组合物中可举出含有抗ALK2抗体的药物组合物、以及含有抗ALK2抗体和至少一种异位骨化治疗剂的药物组合物,本发明的药物组合物作为具有所选择组成和所需纯度的制剂,制成冷冻干燥品或者液体。含有抗ALK2抗体的药物组合物、以及含有抗ALK2抗体和至少一种异位骨化治疗剂的药物组合物也可以使用如蔗糖的适当赋形剂成型为冷冻干燥品。

[0495] 本发明的药物组合物可制备为用于非经口给药,也可以制备为用于经口的胃肠道吸收。制剂的组成和浓度可根据给药方法确定,本发明的药物组合物中所含的抗ALK2抗体对ALK2的亲和性,即对ALK2的解离常数(KD值),亲和性越高(KD值低),减少对人的给药量也能发挥药效,因此根据该结果可以确定本发明的药物组合物对人的给药量。关于给药量,在对人给予人型抗ALK2抗体时,例如可以在1～180天以约0.1～100mg/kg给药1次或多次即可。但是,关于给药量或给药次数,一般应考虑患者的性别、体重、年龄、症状、严重程度、副作用等确定,因此并不限定于上述剂量或用法。

[0496] 作为本发明的药物组合物形式,并不限定,例如可举出含输液的注射剂、栓剂、鼻剂、舌下剂、经皮吸收剂等。给药途径为经口途径或非经口途径,非经口途径并不限定,例如可举出静脉内、动脉内、肌肉内、直肠内、经粘膜内、皮内等途径。

[0497] [实施例]

[0498] 下面,通过实施例具体地说明本发明,但本发明不限于这些实施例。予以说明,下述实施例中关于基因操作的各项操作,除非另作说明,均根据《分子克隆(Molecular Cloning)》(Sambrook,J.,Fritsch,E.F.和Maniatis,T.著,Cold Spring Harbor Laboratory Press于1989年出版)所述的方法进行操作,或者在使用市售的试剂及试剂盒时,按照市售品的说明书进行使用。

[0499] <实施例1>

[0500] 大鼠抗ALK2抗体(11E2、15A6、25C11和27D11:下面略写为A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D)的制备

[0501] 1)-1抗原的制备

[0502] 用作抗原的mALK2-Fc使用北京义翘神州科技有限公司(Sino Biological Inc.)制的小鼠ALK2-His&Fc(Cat.#50297-M03H)。

[0503] 1)-2动物的免疫

[0504] 将1mg/mL的小鼠ALK2-His&Fc和TiterMaxGold(TiterMax,美国)以等量混合制备乳液。向6周龄的Wister雌性大鼠、2只,以每只100μg的抗原与佐剂一起分2次经皮下给药。1～2周后只皮下给药抗原溶液40μg,3天后作为抗体形成细胞无菌地摘除脾细胞和各种淋巴结,用于下面的细胞融合。

[0505] 1)-3与骨髓瘤细胞的细胞融合

[0506] 将上述的抗体形成细胞与由BALB/c小鼠获得的骨髓瘤细胞系(P3U1细胞)比例调节为5:1～10:1,用50%聚乙二醇1500融合3分钟,然后,6分钟内进行稀释。融合的细胞(每只大鼠使用10块的96孔板)与饲养细胞(胸腺细胞)同时进行接种。培养基用含有HAT添加剂的含15%FBS的RPMI1640培养基(含有谷氨酰胺、丙酮酸、青霉素、链霉素)进行培养。

[0507] 1)-4杂交瘤的选择

[0508] 细胞融合开始1周后,使用各自的培养上清,用酶结合免疫吸附法(ELISA)选择识别所用小鼠ALK2-His&Fc作为抗原的克隆,并且,除去只识别人Fc(北京义翘神州科技有限公司(Sino Biological Inc.)制)的克隆。ELISA如下进行。

[0509] 首先,在96孔ELISA板(NUNC公司制,Cat.#442404)中,将用PBS稀释为1μg/ml的抗原在室温下2小时,此外在4℃下过夜,进行固定。弃去固定液,在溶解于PBS的0.5%脱脂奶粉溶液中,在室温下进行30分钟的封闭。接着,添加上述杂交瘤的培养上清,室温下静置1小时。清洗酶标板后,加入用0.5%脱脂奶粉稀释至1:2500的ALP标记抗大鼠IgG抗体(SBA公司制),并且室温下静置1小时。清洗酶标板后,将磷酸单苯酯系底物在室温下反应20分后,测定波长492nm处的吸光度。

[0510] 对于选择的杂交瘤,用有限稀释法进行2次以上的克隆。通过上述操作,分离产生单克隆抗体A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D的杂交瘤株。

[0511] 结果如图1所示。表明杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的各单克隆抗体识别小鼠ALK2-His&Fc,但与人Fc不结合。

[0512] <实施例2>

[0513] 大鼠抗ALK2抗体(A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D)的体外(invitro)评价

[0514] 2)-1利用流式细胞术的抗体筛选

[0515] 2)-1-1小鼠和人ALK2表达细胞的制备

[0516] 将HEK293A细胞以达到3×10^4细胞/cm^2接种到100mm培养皿中,用含有15%FBS的DMEM培养基,在37℃、5%CO_2的条件下过夜培养。次日,使用Lipofectamine 2000(Invitrogen公司制)将pcDEF3/小鼠ALK2(WT)-EGFP、pcDEF3/人ALK2(WT)-EGFP、pcDEF3/人ALK2(R206H)-EGFP、pcDEF3分别导入到HEK293A细胞,进一步过夜培养。次日,将调节至1×10^6细胞/mL的细胞悬浮液以每100μL分注到1.5mL微量离心管中,500g离心5分钟后除去上清。向细胞中加入稀释至1μg/mL的纯化IgG 100μL,4℃下静置30分钟。用PBS清洗细胞3次后,加入稀释至1:200的Alexa flour 647Goat anti-Rat IgG(H+L)(Life Technologies公司制)100μL,进一步在4℃下静置30分钟。用PBS清洗细胞3次后,用流式细胞仪(FACS Aria II:BD Biosciences公司制)检测荧光。数据用BD Diva Software(BD Biosciences公司制)进行分析,细胞表达EGFP的强度和染色的Alexa flour 647的荧光强度绘制成曲线。

[0517] 结果如图2A～图2D所示。可确认到杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的

各单克隆抗体不能识别荧光蛋白EGFP表达细胞(图2A),但特异性识别小鼠ALK2表达细胞(图2B)、野生型和FOP的人ALK2表达细胞(分别为图2C和图2D)。该结果表明杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体是与ALK2胞外区结合的抗体。

[0518] 2)-2利用免疫染色法的抗体筛选

[0519] 2)-2-1人ALK1、ALK2、ALK3、ALK6表达细胞的制备

[0520] 将小鼠C2C12细胞以5×10^3细胞/孔接种到96孔板(Greiner公司制),用含有15%FBS的DMEM培养基,在37℃、5%CO_2的条件下过夜培养。次日,使用Lipofectamine 2000(Invitrogen公司制)将pcDEF3/人ALK1-EGFP、pcDEF3/人ALK2-EGFP、pcDEF3/人ALK3-EGFP、pcDEF3/人ALK6-EGFP、及对照的pcDEF3分别导入到C2C12细胞,进一步过夜培养。

[0521] 2)-2-2人ALK1、ALK2、ALK3、ALK6的荧光免疫染色

[0522] 将C2C12细胞在10%中性福尔马林(Nacalai Tesque公司制,日本)中,室温下固定20分钟后,用10%山羊正常血清封闭30分钟。除去封闭液后,加入用封闭液稀释至10μg/mL的纯化IgG,室温下静置1小时。用PBS清洗3次后,加入用封闭液稀释至1:1000的Goat Alexa594-conjugated anti-rat IgG(Invitrogen公司制),室温下静置1小时。用PBS清洗3次后,在10%中性福尔马林中室温下,固定15分,用DAPI(LifeTechnologies公司制)进行核染色。荧光信号使用荧光显微镜BZ-9000(Keyence公司制)进行观察。

[0523] 结果如图3所示。可确认到杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体仅特异性识别ALK2表达细胞,而不能识别ALK1、ALK3、ALK6表达细胞。该结果表明杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体是与ALK2特异性结合的抗体。

[0524] 2)-2-3用FOP鉴定的ALK2突变体表达细胞的制备

[0525] 将小鼠C2C12细胞以0.5×10^3细胞/孔地接种到96孔板(Greiner公司制),用含有15%FBS的DMEM培养基,在37℃、5%CO_2的条件下过夜培养。次日,使用Lipofectamine 2000(Invitrogen公司制),将导入pcDEF3的人ALK2 cDNA的野生型、以及pcDEF3/人ALK2－L196P、pcDEF3/人ALK2－P197_F198delinsL,pcDEF3/人ALK2－R202I,pcDEF3/人ALK2－R206H,pcDEF3/人ALK2－Q207E,pcDEF3/人ALK2－R258S,pcDEF3/人ALK2－G325A,pcDEF3/人ALK2－G328E,pcDEF3/人ALK2－G328R,pcDEF3/人ALK2－G328W,pcDEF3/人ALK2－G356D,及pcDEF3/人ALK2－R375P的各用FOP鉴定的突变体、以及对照的pcDEF3分别导入到C2C12细胞,进一步过夜培养。

[0526] 2)-2-4用FOP鉴定的ALK2突变体的荧光免疫染色

[0527] 将C2C12细胞在10%中性福尔马林(Nacalai Tesque公司制,日本)中,室温下固定20分钟后,用10%山羊正常血清封闭30分钟。除去封闭液后,加入用封闭液稀释至10μg/mL的纯化IgG,室温下静置1小时。用PBS清洗3次后,加入用封闭液稀释至1:1000的Goat Alexa594-conjugated anti-rat IgG(Invitrogen公司制),室温下静置1小时。用PBS清洗3次后,在10%中性福尔马林中室温下,固定15分,用DAPI(LifeTechnologies公司制)进行核染色。荧光信号使用荧光显微镜BZ-9000(Keyence公司制)进行观察。

[0528] 结果如图4所示。可确认到杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体除了识别野生型的ALK2表达细胞之外,还识别用FOP鉴定的12种ALK2突变体表达细胞。该结果表明杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体是与野生型ALK2、及FOP的各ALK2突变体结合的抗体。

[0529] 2)-3利用萤光素酶报告基因检测的抗体筛选

[0530] 利用BMP特异性的萤光素酶报告基因分析单克隆抗体对由ALK2介导的细胞内信号的抑制活性。将HEK293A细胞以1×10^4细胞/孔接种到萤光素酶检测用96孔白色酶标板(Greiner公司制),用含有15%FBS的DMEM培养基,在37℃、5%CO_2的条件下过夜培养。次日,使用Lipofectamine 2000(Invitrogen公司制)导入pcDEF3/人ALK2(WT)-V5-His、或pcDEF3/人ALK2(R206H)-V5-His、pGL4.26/Id1WT4F-luc(Genes Cells,7,949(2002))、phRL SV40(Promega公司制)。2.5小时后,将培养基更换为新鲜的OPTI-MEM I(LifeTechnologies公司制),进一步培养1小时。然后,更换为含有系列稀释的单克隆抗体和10ng/mL的BMP7(Milteney公司制)或0.5ng/mL的BMP9(Peprotech公司制)的OPTI-MEM I,进一步过夜培养。次日,利用Dual-Glo双萤光素酶检测系统(Promega公司制)并用酶标仪GENios(TECAN公司制)测定萤火虫和海肾(Renilla)萤光素酶活性。

[0531] 结果如图5所示。可确认到杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体在过表达ALK2的野生型和R206H突变型的HEK293A细胞中,以剂量依赖性的方式抑制由BMP7诱导的BMP特异性萤光素酶活性。

[0532] 2)-4利用BMP的成骨细胞分化诱导测定的抗体筛选

[0533] 关于单克隆抗体对经由内源性ALK2的细胞内信号的抑制活性,利用BMP的C2C12细胞对于向成骨细胞的分化诱导活性的效果进行分析。将C2C12细胞以0.5×10^3细胞/孔地接种到96孔板(Greiner公司制),用含有15%FBS的DMEM培养基,在37℃、5%CO_2的条件下过夜培养。次日,更换为含有系列稀释的单克隆抗体和200ng/mL的BMP2(Corefront株式会社制)、200ng/mL的BMP7(Milteney公司制)或20ng/mL的GDF2/BMP9(Peprotech公司制)的OPTI-MEM I,进一步培养3天。去除C2C12细胞的培养基,并用PBS进行清洗后,用50μL/孔的冰冷丙酮:乙醇(1:1)溶液处理细胞1分钟,进一步用PBS清洗3次。测定ALP活性作为向成骨细胞用细胞分化的指标。ALP活性的测定如下:加入100μL/孔的含底物溶液(1mg/mL 4-Nitrophenyl phosphate(4-硝基苯磷酸酯)(Sigma-Aldrich公司制)和1mM $MgCl_2$的0.1M二乙醇胺(Diethanolamine)(Sigma-Aldrich公司制)-HCl,pH10.0),在室温下,搅拌振荡机上15-30分钟进行反应。添加50μL的3M NaOH使反应停止,使用微孔板检测仪infinite F50(TECAN公司制)测定波长405nm处的吸光度。

[0534] 结果如图6和图7所示。可确认到杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体几乎不抑制由BMP2诱导的C2C12细胞向成骨细胞样细胞的分化(图6),而以剂量依赖性的方式抑制由BMP7和GDF2/BMP9诱导的C2C12细胞向成骨细胞样细胞的分化(图7)。该结果表明杂交瘤A2-11E、A2-15A、A2-25C和A2-27D产生的单克隆抗体是抑制C2C12细胞所功能性表达的内源性ALK2的抗体。

[0535] <实施例3>

[0536] 编码大鼠抗ALK2抗体(A2-11E,A2-15A,A2-25C,A2-27D)可变区的cDNA的核苷酸序列的确定

[0537] 3)-1编码A2-11E可变区的cDNA的核苷酸序列的确定

[0538] 3)-1-1从产生A2-11E的杂交瘤中制备总RNA

[0539] 为了扩增含A2-11E可变区的cDNA,使用TRIzol Reagent(Ambion公司)从产生A2-11E的杂交瘤中制备总RNA。

[0540] 3)-1-2cDNA(5'-RACE-Ready cDNA)的合成

[0541] cDNA(5'-RACE-Ready cDNA)的合成如下进行实施:使用1μg在实施例3)-1-1中制备的总RNA,并利用SMARTer RACE cDNA扩增试剂盒(Clontech公司)。

[0542] 3)-1-3利用5'-RACE PCR对含A2-11E重链可变区的cDNA的扩增和序列的确定

[0543] 作为用于利用PCR扩增A2-11E重链基因可变区的cDNA的引物,使用了UPM(Universal Primer A Mix:SMARTer RACE cDNA扩增试剂盒中附带)和具有5'-CTCCAGAGTTCCAGGTCACGGTGACTGGC-3'(RG2AR3;SEQ ID NO:88)序列的寡核苷酸。UPM使用的是SMARTer RACE cDNA扩增试剂盒(Clontech公司)中的附带品,RG2AR3根据数据库中大鼠重链的恒定区序列进行设计。

[0544] 用该引物的组合和以在实施例3)-1-2中合成的cDNA(5'-RACE-Ready cDNA)为模板,利用5'-RACE PCR扩增含A2-11E重链可变区的cDNA。PCR是使用KOD-Plus-(TOYOBO公司,日本)作为聚合酶(Polymerase),按照SMARTer RACE cDNA扩增试剂盒(Clontech公司)操作指南,以Touchdown PCR程序进行实施。

[0545] 使用MinElute PCR Purification Kit(QIAGEN公司)对用5'-RACE PCR扩增的含重链可变区的cDNA进行纯化,然后用Zero Blunt TOPO PCR Cloning Kit(Invitrogen公司)进行克隆,对克隆的含重链可变区的cDNA的核苷酸序列进行序列分析。

[0546] 作为序列引物,使用了具有根据数据库中大鼠重链的恒定区序列进行设计的5'-CTCCAGAGTTCCAGGTCACGGTGACTGGC-3'(RG2AR3;SEQ ID NO:88)序列的寡核苷酸和NUP(Nested Universal Primer A:SMARTer RACE cDNA扩增试剂盒中附带)。

[0547] 使用基因序列分析装置("ABI PRISM 3700DNA Analyzer;Applied Biosystems"或者"Applied Biosystems 3730xl Analyzer;Applied Biosystems")进行序列分析,使用GeneAmp 9700(Applied Biosystems公司)进行PCR反应。

[0548] 经确定的编码A2-11E重链可变区的cDNA的核苷酸序列如序列表的SEQ ID NO:1所示,氨基酸序列如SEQ ID NO:2所示。

[0549] 3)-1-4利用5'-RACE PCR对含A2-11E轻链可变区的cDNA的扩增和序列的确定

[0550] 作为用于利用PCR扩增A2-11E轻链基因可变区的cDNA的引物,使用了UPM(Universal Primer A Mix:SMARTer RACE cDNA扩增试剂盒中附带)和具有5'-TCAGTAACACTGTCCAGGACACCATCTC-3'(RKR5;SEQ ID NO:89)序列的寡核苷酸。UPM使用的是SMARTer RACE cDNA扩增试剂盒(Clontech公司)中的附带品,RKR5根据数据库中大鼠轻链的恒定区序列进行设计。

[0551] 用该引物的组合和以在实施例3)-1-2中合成的cDNA(5'-RACE-Ready cDNA)为模板,利用5'-RACE PCR扩增含A2-11E轻链可变区的cDNA。PCR是使用KOD-Plus-(TOYOBO公司,日本)作为聚合酶(Polymerase),按照SMARTer RACE cDNA扩增试剂盒(Clontech公司)操作指南,以Touchdown PCR程序进行实施。

[0552] 用MinElute PCR Purification Kit(QIAGEN公司)对用5'-RACE PCR扩增的含轻链可变区的cDNA进行纯化,然后用Zero Blunt TOPO PCR Cloning Kit(Invitrogen公司)进行克隆,对克隆的含轻链可变区的cDNA的核苷酸序列进行序列分析。

[0553] 作为序列引物,使用了具有根据数据库中大鼠轻链的恒定区序列进行设计的5'-TCAGTAACACTGTCCAGGACACCATCTC-3'(RKR5;SEQ ID NO:89)序列的寡核苷酸和NUP(Nested

Universal Primer A:SMARTer RACE cDNA扩增试剂盒中附带)。

[0554] 使用基因序列分析装置(“ABI PRISM 3700DNA Analyzer;Applied Biosystems”或者“Applied Biosystems 3730xl Analyzer;Applied Biosystems”)进行序列分析,使用GeneAmp 9700(Applied Biosystems公司)进行PCR反应。

[0555] 经确定的编码A2-11E轻链可变区的cDNA的核苷酸序列如序列表的SEQ ID NO:3所示,氨基酸序列如SEQ ID NO:4所示。

[0556] 3)-2编码A2-15A可变区的cDNA的核苷酸序列的确定

[0557] 3)-2-1从产生A2-15A的杂交瘤中制备总RNA

[0558] 为了扩增含A2-15A可变区的cDNA,以与实施例3)-1-1相同的方法从产生A2-15A的杂交瘤中制备总RNA。

[0559] 3)-2-2 cDNA(5’-RACE-Ready cDNA)的合成

[0560] cDNA(5’-RACE-Ready cDNA)的合成是使用1μg在实施例3)-2-1中制备的总RNA,以与实施例3)-1-2相同的方法进行的。

[0561] 3)-2-3利用5’-RACE PCR对含A2-15A重链可变区的cDNA的扩增和序列的确定

[0562] 使用在实施例3)-2-2中合成的cDNA(5’-RACE-Ready cDNA)为模板,以与实施例3)-1-3相同的方法扩增含A2-15A重链可变区的cDNA并确定序列。

[0563] 经确定的编码A2-15A重链可变区的cDNA的核苷酸序列如序列表的SEQ ID NO:5所示,氨基酸序列如SEQ ID NO:6所示。

[0564] 3)-2-4利用5’-RACE PCR对含A2-15A轻链可变区的cDNA的扩增和序列的确定

[0565] 使用在实施例3)-2-2中合成的cDNA(5’-RACE-Ready cDNA)为模板,以与实施例3)-1-4相同的方法扩增含A2-15A轻链可变区的cDNA并确定序列。

[0566] 经确定的编码A2-15A轻链可变区的cDNA的核苷酸序列如序列表的SEQ ID NO:7所示,氨基酸序列如SEQ ID NO:8所示。

[0567] 3)-3编码A2-25C可变区的cDNA的核苷酸序列的确定

[0568] 3)-3-1从产生A2-25C杂交瘤中制备总RNA

[0569] 为了扩增含A2-25C可变区的cDNA,以与实施例3)-1-1相同的方法从产生A2-25C的杂交瘤中制备总RNA。

[0570] 3)-3-2 cDNA(5’-RACE-Ready cDNA)的合成

[0571] cDNA(5’-RACE-Ready cDNA)的合成是使用1μg在实施例3)-3-1中制备的总RNA,以与实施例3)-1-2相同的方法进行的。

[0572] 3)-3-3利用5’-RACE PCR对含A2-25C重链可变区的cDNA的扩增和序列的确定

[0573] 使用在实施例3)-3-2中合成的cDNA(5’-RACE-Ready cDNA)为模板,以与实施例3)-1-3相同的方法扩增含A2-25C重链可变区的cDNA并确定序列。

[0574] 经确定的编码A2-25C重链可变区的cDNA的核苷酸序列如序列表的SEQ ID NO:9所示,氨基酸序列如SEQ ID NO:10所示。

[0575] 3)-3-4利用5’-RACE PCR对含A2-25C轻链可变区的cDNA的扩增和序列的确定

[0576] 使用在实施例3)-3-2中合成的cDNA(5’-RACE-Ready cDNA)为模板,以与实施例3)-1-4相同的方法扩增含A2-25C轻链可变区的cDNA并确定序列。

[0577] 经确定的编码A2-25C轻链可变区的cDNA的核苷酸序列如序列表的SEQ ID NO:11

所示,氨基酸序列如SEQ ID NO:12所示。

[0578] 3)-4编码A2-27D可变区的cDNA的核苷酸序列的确定

[0579] 3)-4-1从产生A2-27D的杂交瘤中制备总RNA

[0580] 为了扩增含A2-27D可变区的cDNA,以与实施例3)-1-1相同的方法从产生A2-27D的杂交瘤中制备总RNA。

[0581] 3)-4-2cDNA(5'-RACE-Ready cDNA)的合成

[0582] cDNA(5'-RACE-Ready cDNA)的合成是使用1μg在实施例3)-4-1中制备的总RNA,以与实施例3)-1-2相同的方法进行的。

[0583] 3)-4-3利用5'-RACE PCR对含A2-27D重链可变区的cDNA的扩增和序列的确定

[0584] 使用在实施例3)-4-2中合成的cDNA(5'-RACE-Ready cDNA)为模板,以与实施例3)-1-3相同的方法扩增含A2-27D重链可变区的cDNA并确定序列。

[0585] 经确定的编码A2-27D重链可变区的cDNA的核苷酸序列如序列表的SEQ ID NO:13所示,氨基酸序列如SEQ ID NO:14所示。

[0586] 3)-4-4利用5'-RACE PCR对含A2-27D轻链可变区的cDNA的扩增和序列的确定

[0587] 使用在实施例3)-4-2中合成的cDNA(5'-RACE-Ready cDNA)为模板,以与实施例3)-1-4相同的方法扩增含A2-27D轻链可变区的cDNA并确定序列。

[0588] 经确定的编码A2-27D轻链可变区的cDNA的核苷酸序列如序列表的SEQ ID NO:15所示,氨基酸序列如SEQ ID NO:16所示。

[0589] <实施例4>

[0590] 大鼠抗ALK2抗体(A2-15A和A2-27D)的体内(in vivo)评价

[0591] 4)-1杂交瘤培养上清的制备

[0592] 将在实施例1)-4中得到的1.0×10^{6}个杂交瘤用含10%FBS的TIL高糖培养基进行培养(T75细胞培养瓶),然后用INTEGRA CL1000进行高密度培养(10%FBS培养基)。接着培养基更换为无血清的培养基,进一步用INTEGRA CL1000进行培养之后,获得必要量的杂交瘤培养上清。获得的杂交瘤培养上清在用于纯化前保存在2～8℃。

[0593] 4)-2杂交瘤培养上清中的抗体的纯化

[0594] 将在实施例4)-1中得到的培养上清中的抗体用蛋白G亲和色谱(4～6℃下)一步进行纯化。蛋白G亲和色谱纯化后的缓冲液更换步骤在4～6℃下进行。首先,向用PBS平衡过的蛋白G(GE Healthcare Bioscience公司)填充的柱子中施加杂交瘤的培养上清。在培养上清液全部进入柱子之后,用2倍柱体积以上的PBS洗涤柱子。接着用0.1M甘氨酸-盐酸水溶液(pH2.7)进行洗脱,收集含有抗体的级分。向收集的级分中加入1M Tris-HCl(pH9.0)调节至pH7.0～7.5,然后通过透析(Thermo Scientificsha,Slide-A-Lyzer透析盒)并用HBSor(25mM组氨酸/5%山梨醇、pH6.0)进行缓冲液置换。用离心超滤浓缩装置(Centrifugal UF Filter Device)VIVASPIN20(截留分子量UF10K,Sartorius公司,4℃下)浓缩,并将IgG浓度调节至8mg/ml以上。最后用Minisart-Plus型滤器(Sartorius公司)过滤作为纯化样品。

[0595] 4)-3由BMP移植的异位骨化诱导模型

[0596] 单克隆抗体对骨骼肌组织中异位骨化的抑制活性在小鼠中由BMP的异位性骨诱导实验中进行分析。含BMP颗粒的制备方法如下:将1μg的BMP7(Milteney公司制)、或1μg的GDF2/BMP9(Peprotech公司制)渗入到调节直径为4mm的I型胶原蛋白海绵(Collatape,

Zimmer Dental公司制)内,过夜后用冷冻干燥机(FDU-810,东京理科器械公司制,日本)进行冷冻干燥。用小动物实验用简易吸入麻醉装置(株式会社夏目制作所制,日本)和2%异氟烷(和光纯药工业公司制,日本)对8-10周龄的C57BL/6小鼠进行全身麻醉,在左右下肢的大腿肌肉组织内各移植一个含BMP颗粒。将杂交瘤A2-15A和A2-27D产生的单克隆抗体,从移植1周前开始,以10mg/kg、1次/周进行皮下给药,到移植后第2周,同样地在一边进行抗体给药一边喂养。对照组中给予等量的溶剂(25mM组氨酸/5%山梨醇,pH6.0)。移植含BMP颗粒2周后,切除大腿骨及连同在一起的移植的含BMP颗粒,用显微CT(μCT35,SCANCO公司制)分析异位性骨的形成。

[0597] 结果如图8所示。在移植BMP7和GDF2/BMP9并用媒介物(vehicle)处理的小鼠中,通过显微CT分析发现在大腿骨右侧诱导有异位性骨。另一方面,在给药杂交瘤A2-15A和A2-27D产生的单克隆抗体的小鼠中,即使移植BMP7和GDF2/BMP9也未检测到异位性骨。因此,可确认到杂交瘤A2-15A和A2-27D产生的单克隆抗体抑制了由BMP7和GDF2/BMP9诱导的骨骼肌组织中的异位性骨诱导。

[0598] <实施例5>

[0599] 人嵌合化抗ALK2抗体(cA2-15A、cA2-27D)的制备

[0600] 5)-1嵌合和人源化抗体轻链表达载体pCMA-LK的构建

[0601] 通过使用In-Fusion Advantage PCR克隆试剂盒(Clontech公司),将用限制性内切酶XbaI和PmeI消化质粒pcDNA3.3-TOPO/LacZ(Invitrogen公司)而得到的约5.4kb片段和包含编码如SEQ ID NO:17所示的人κ链分泌信号和人κ链恒定区的DNA序列的DNA片段进行连接,从而制备pcDNA3.3/LK。

[0602] 以pcDNA3.3/LK为模板,用下述引物对进行PCR反应,将得到的约3.8kb片段磷酸化后进行自身连接,从而构建在CMV启动子下游具有信号序列、克隆位点和人κ链恒定区的嵌合和人源化抗体轻链表达载体pCMA-LK。

[0603] 引物对

[0604] 5'-TATACCGTCGACCTCTAGCTAGAGCTTGGC-3'(3.3-F1;SEQ ID NO:90)

[0605] 5'-GCTATGGCAGGGCCTGCCGCCCCGACGTTG-3'(3.3-R1;SEQ ID NO:91)

[0606] 5)-2嵌合和人源化抗体IgG1型重链表达载体pCMA-G1的构建

[0607] 通过使用In-Fusion Advantage PCR克隆试剂盒(Clontech公司),将用XbaI和PmeI消化pCMA-LK并去除κ链分泌信号和人κ链恒定区的DNA片段和包含编码如SEQ ID NO:18所示的人重链信号序列和人IgG1恒定区的氨基酸的DNA序列的DNA片段进行连接,从而构建在CMV启动子下游具有信号序列、克隆位点、人IgG1重链恒定区的嵌合和人源化抗体IgG1型重链表达载体pCMA-G1。

[0608] 5)-3cA2-15A重链表达载体的构建

[0609] 以在实施例3)-2-3中得到的A2-15A的包含重链可变区cDNA为模板,用KOD-Plus-(TOYOBO公司,日本)和下述引物对扩增包含编码重链可变区cDNA的DNA片段,用限制性内切酶BlpI切割嵌合和人源化IgG1型重链表达载体pCMA-G1,使用In-Fusion HD PCR克隆试剂盒(Clontech公司)将该DNA片段插入到切割上述载体pCMA-G1而成的位点中,由此构建cA2-15A重链表达载体。将得到的表达载体命名为"pCMA-G1/cA2-15A"。cA2-15A重链的核苷酸序列如SEQ ID NO:19所示,氨基酸序列如SEQ ID NO:20所示。

[0610] 用于cA2-15A重链的引物对

[0611] 5’-CCAGATGGGTGCTGAGCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGAG-3’(A2-15AH-F;SEQ ID NO:92)

[0612] 5’-CTTGGTGGAGGCTGAGCTGACAGTGACCAGAGTGCCTTGGCCCCAG-3’(A2-15AH-R;SEQ ID NO:93)

[0613] 5)-4cA2-15A轻链表达载体的构建

[0614] 以在实施例3)-2-4中得到的含A2-15A轻链可变区的cDNA为模板，用KOD-Plus-(TOYOBO公司，日本)和下述引物对扩增包含编码轻链可变区cDNA的DNA片段，用限制性内切酶BsiWI切割嵌合和人源化轻链通用表达载体pCMA-LK，使用In-Fusion HD PCR克隆试剂盒(Clontech公司)将该DNA片段插入到切割上述载体pCMA-LK而成的位点中，由此构建cA2-15A的轻链表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-LK/cA2-15A”。cA2-15A轻链的核苷酸序列如序列表的SEQ ID NO:21所示，氨基酸序列如SEQ ID NO:22所示。

[0615] 用于cA2-15A轻链的引物对

[0616] 5’-ATCTCCGGCGCGTACGGCGACATTGTCTTGACCCAGTCTCCTGC-3’(A2-15AL-F;SEQ ID NO:94)

[0617] 5’-GGAGGGGGCGGCCACAGCCCGTTTCAGTTCCAGCTTGGTCCCAG-3’(A2-15AL-R;SEQ ID NO:95)

[0618] 5)-5cA2-27D重链表达载体的构建

[0619] 以在实施例3)-4-3中得到的A2-27D的包含重链可变区cDNA为模板，用KOD-Plus-(TOYOBO公司，日本)和下述引物对扩增包含编码重链可变区cDNA的DNA片段，用限制性内切酶BlpI切割嵌合和人源化IgG1型重链表达载体pCMA-G1，使用In-Fusion HD PCR克隆试剂盒(Clontech公司)将该DNA片段插入到切割上述载体pCMA-G1而成的位点中，由此构建cA2-27D重链表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G1/cA2-27D”。cA2-27D重链的核苷酸序列如SEQ ID NO:23所示，氨基酸序列如SEQ ID NO:24所示。

[0620] 用于cA2-27D重链的引物对

[0621] 5’-CCAGATGGGTGCTGAGCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAG-3’(A2-27DH-F;SEQ ID NO:96)

[0622] 5’-CTTGGTGGAGGCTGAGCTCACGGTGACCACGGTTCCTGGGCCCCAG-3’(A2-27DH-R;SEQ ID NO:97)

[0623] 5)-6cA2-27D轻链表达载体的构建

[0624] 以在实施例3)-4-4中得到的含A2-27D轻链可变区的cDNA为模板，用KOD-Plus-(TOYOBO公司，日本)和下述引物对扩增包含编码轻链可变区cDNA的DNA片段，用限制性内切酶BsiWI切割嵌合和人源化抗体轻链通用表达载体pCMA-LK，使用In-Fusion HD PCR克隆试剂盒(Clontech公司)将该DNA片段插入到切割上述载体pCMA-LK而成的位点中，由此构建cA2-27D抗体的轻链表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-LK/cA2-27D”。cA2-27D抗体轻链的核苷酸序列如序列表的SEQ ID NO:25所示，氨基酸序列如SEQ ID NO:26所示。

[0625] 用于cA2-27D轻链的引物对

[0626] 5’-ATCTCCGGCGCGTACGGCGAAATTGTTCTCACTCAGTCTCCAAC-3’(A2-27DL-F;SEQ ID NO:98)

[0627] 5’-GGAGGGGGCGGCCACAGCCCGTTTCAGTTCCAGCTTGGTCCCAG-3’(A2-15AL-R;SEQ ID NO:95)

[0628] 5)-7cA2-15A和cA2-27D的生产

[0629] 按照操作指南对FreeStyle 293F细胞(Invitrogen公司)进行传代和培养。将处于对数生长期的1.2×10^9个FreeStyle 293F细胞(Invitrogen公司)接种到3L聚碳酸酯锥形瓶(Fernbach Erlenmeyer Flask)(CORNING公司)中,用FreeStyle293表达培养基(Invitrogen公司)进行稀释并调节至2.0×10^6细胞/ml,然后在37℃、8％CO_2培养箱内以90rpm振荡培养1小时。将1.8mg聚乙烯亚胺(Polyscience#24765)溶解在20ml Opti-Pro SFM培养基(Invitrogen公司)中,接着将用NucleoBond Xtra(TaKaRa公司,日本)制备的H链表达载体(0.24mg)和L链表达载体(0.36mg)添加到20ml Opti-Pro SFM培养基(Invitrogen公司)中。向聚乙烯亚胺/Opti-Pro SFM混合液20ml中加入表达载体/Opti-Pro SFM混合液20ml并温和地进行搅拌,进一步在放置5分钟后添加FreeStyle 293F细胞。在37℃、8％CO_2培养箱内4小时、90rpm下振荡培养后添加600ml的EX-CELL VPRO培养基(SAFC Biosciences公司)、18ml的GlutaMAX I(GIBCO公司)和30ml的Yeastolate Ultrafiltrate(GIBCO公司),对在37℃、8％CO_2培养箱内7天、90rpm下振荡培养而得到的培养上清用一次性囊式滤器(Disposable Capsule Filter)(Advantec#CCS-045-E1H)进行过滤。

[0630] 将通过pCMA-G1/cA2-15A和pCMA-LK/cA2-15A的组合而获得的大鼠抗体A2-15A的嵌合抗体命名为“cA2-15A”,将通过pCMA-G1/cA2-27D与pCMA-LK/cA2-27D的组合而获得的大鼠抗体A2-27D的嵌合抗体命名为“cA2-27D”。

[0631] 5)-8cA2-15A和cA2-27D的二步法纯化

[0632] 用rProtein A亲和色谱(4-6℃下)和陶瓷羟基磷灰石(室温下)的二步法对从在实施例5)-7中得到的培养上清而来的抗体进行纯化。rProtein A亲和色谱纯化后和陶瓷羟基磷灰石纯化后的缓冲液更换步骤在4-6℃下进行。向用PBS平衡过的MabSelectSuRe(GE Healthcare Bioscience公司制,HiTrap柱)施加培养上清。在培养上清全部进入柱子之后,用2倍柱体积以上的PBS洗涤柱子。接着用2M精氨酸盐酸盐溶液(pH4.0)进行洗脱,收集含有抗体的级分。通过透析(Thermo Scientific公司,Slide-A-Lyzer透析盒)将该级分置换为PBS之后,将用5mM磷酸钠/50mM MES/pH7.0的缓冲液稀释5倍的抗体溶液施加到陶瓷羟基磷灰石的柱子(日本Bio-Rad公司,Bio-Scale CHT Type－1Hydroxyapatite Column)中,该柱子用5mM NaPi/50mM MES/30mM NaCl/pH7.0的缓冲液平衡过。进行氯化钠的线性浓度梯度洗脱,收集含有抗体的级分。通过透析(Thermo Scientificsha,Slide-A-Lyzer透析盒)并用HBSor(25mM组氨酸/5％山梨醇,pH6.0)对该级分进行缓冲液置换。用离心超滤浓缩装置(Centrifugal UF Filter Device)VIVASPIN20(截留分子量UF10K,Sartorius公司、4℃下)浓缩,将IgG浓度调节至2mg/ml以上。最后用Minisart-Plus型滤器(Sartorius公司)进行过滤,作为纯化样品。

[0633] <实施例6>

[0634] 人嵌合化抗ALK2抗体(cA2-15A、cA2-27D)的体外(in vitro)活性评价

[0635] 6)-1利用萤光素酶报告基因检测的抗体评价

[0636] 利用BMP特异性的萤光素酶报告基因分析制备的人嵌合抗体对由ALK2介导的细胞内信号的抑制活性。将HEPG2细胞以1×10^4细胞/孔接种到萤光素酶检测用96孔白色酶标板

(CORNING公司制)，用含有10％FBS的DMEM培养基，在37℃、5％CO_2的条件下过夜培养。次日，使用Lipofectamine 2000(Invitrogen公司制)导入pGL4.26/Id1WT4F-luc(Genes Cells，7，949(2002))。2.5小时后，将培养基更换为新鲜的OPTI-MEM I(LifeTechnologies公司制)，进一步培养3小时。然后，更换为含有系列稀释的单克隆抗体和10ng/mL的BMP7(Milteney公司制)的OPTI-MEM I，进一步过夜培养。次日，利用Dual-Glo双萤光素酶检测系统(Promega公司制)并使用酶标仪SpectraMaxM4(Molecular Devices公司制)测定萤光素酶活性。

[0637] 结果如图9所示。可确认到相对于由BMP7诱导的BMP特异性萤光素酶活性，嵌合抗体cA2-15A、cA2-27D表现出与各自的大鼠单克隆抗体A2-15A、A2-27D同等的抑制活性。

[0638] 6)-2BMP的成骨细胞分化诱导测定的抗体评价

[0639] 关于制备的人嵌合抗体对通过内源性ALK2的细胞内信号的抑制活性，利用BMP的C2C12细胞对于向成骨细胞的分化诱导活性的效果进行分析。将C2C12细胞以5×10^3细胞/孔接种到96孔板(IWAKI公司制)，用含有15％FBS的DMEM培养基，在37℃、5％CO_2的条件下过夜培养。次日，将培养基更换为新鲜的OPTI-MEM I(LifeTechnologies公司制)，更换为含有系列稀释的单克隆抗体和2ng/mL的GDF2/BMP9(Peprotech公司制)的OPTI-MEM I，进一步培养3天。去除C2C12细胞的培养基，并用PBS进行清洗后，用50μL/孔的冰冷丙酮:乙醇(1:1)溶液处理细胞1分钟，进一步用PBS清洗3次。测定ALP活性作为向成骨细胞用细胞分化的指标。ALP活性的测定如下:加入100μL/孔的含底物溶液(1mg/mL 4-Nitrophenyl phosphate(4-硝基苯磷酸酯)(Sigma-Aldrich公司制)和1mM $MgCl_2$的0.1M二乙醇胺(Diethanolamine)(Sigma-Aldrich公司制)-HCl，pH10.0)，在室温下，搅拌振荡机上15-30分钟进行反应。添加50μL的3M NaOH使反应停止，使用酶标仪SpectraMaxM4(Molecular Devices公司制)测定波长405nm处的吸光度。

[0640] 结果如图10所示。可确认到嵌合抗体cA2-15A、cA2-27D以剂量依赖性的方式抑制由BMP诱导的C2C12细胞向成骨细胞样细胞的分化。该结果表明嵌合抗体cA2-15A、cA2-27D抑制C2C12细胞所功能性表达的内源性ALK2的抗体。此外，可确认到该抑制活性与各自的大鼠单克隆抗体A2-15A、A2-27D同等。

[0641] <实施例7>

[0642] 抗ALK2抗体A2-15A和A2-27D的人源化体设计

[0643] 7)-1人源化hA2-15A的设计

[0644] 7)-1-1 A2-15A可变区的分子建模

[0645] 通过称作同源建模的公知方法(Methods in Enzymology，203，121-153，(1991))来实行A2-15A可变区的分子建模。将登录于蛋白质数据库(Protein Data Bank)(Nuc.Acid Res.35，D301-D303(2007))的人免疫球蛋白可变区的一级序列(可以得到从X-射线晶体结构衍生出的三维结构)与在上面经确定的A2-15A可变区进行对比。结果选择为3KYM和3S35，因其各自相对于A2-15A的重链和轻链可变区，具有最高的序列同一性。通过组合分别与A2-15A的重链和轻链相对应的3KYM和3S35的坐标，得到“构架模型”，从而制备构架区的三维结构。然后，将各CDR的代表性构象整合到构架模型中。

[0646] 最后，为了获得在能量方面A2-15A可变区可能的分子模型，进行能量计算，以排除不利的原子间接触。利用市售的蛋白质三维结构分析程序Discovery Studio(Accelrys公

司制)进行上述方法步骤。

[0647] 7)-1-2对于人源化hA2-15A的氨基酸序列的设计

[0648] 通常通过称作CDR移植的方法(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86,10029-10033(1989))的公知方法进行人源化hA2-15A的构建。根据构架区内的氨基酸同一性选择受体抗体。

[0649] 将A2-15A构架区的序列与人的亚组一致性序列的构架区进行对比。结果是KABAT et al.(Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service National Institutes of Health,Bethesda,MD.(1991))中已确定的人γ链III亚组的一致性序列和人κ链IV亚组的一致性序列,由于其构架区中具有高的序列同一性,因此选择为受体。将人γ链III亚组的一致性序列和人κ链IV亚组的一致性序列的构架区氨基酸残基与A2-15A的氨基酸残基进行比对,从而鉴定出其中使用的不同氨基酸的位置。使用上面构建的A2-15A的三维模型来分析这些残基的位置,然后按照Queen et al.(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86,10029-10033(1989))提供的标准,选择待移植到受体上的供体残基。按下列实施例中所述,通过将一些选定的供体残基转移到受体抗体,构建人源化hA2-15A的序列。

[0650] 7)-2 A2-15A重链的人源化

[0651] 7)-2-1人源化hA2-15A-H1型重链

[0652] 将SEQ ID NO:20所示的嵌合cA2-15A重链中的氨基酸编号35(精氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号38(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号61(苏氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号94(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号96(丝氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号103(天冬氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号107(丝氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号112(苏氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号116(苏氨酸)置换为丙氨酸而设计的人源化hA2-15A重链命名为“人源化hA2-15A-H1型重链”(有时也称为“hA2-15A-H1”)。

[0653] 人源化hA2-15A-H1型重链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:28所示。SEQ ID NO:28的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～142位氨基酸残基的序列、包含143～472位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。编码SEQ ID NO:28氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:27所示。SEQ ID NO:27的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～426位核苷酸的序列、包含427～1416位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:27的核苷酸序列和SEQ ID NO:28的氨基酸序列也如图15所示。

[0654] 7)-2-2 人源化hA2-15A-H4型重链

[0655] 将SEQ ID NO:20所示的嵌合cA2-15A重链中的氨基酸编号35(精氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号38(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号61(苏氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号103(天冬氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号107(丝氨酸)置换为丙氨酸而设计的人源化hA2-15A重链命名为“人源化hA2-15A-H4型重链”(有时也称为“hA2-15A-H4”)。

[0656] 人源化hA2-15A-H4型重链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:30所示。SEQ ID NO:30的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～142位氨基酸残基的序列、包含143～472位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。编码SEQ ID NO:30氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:29所示。SEQ ID NO:29的核苷酸序

列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～426位核苷酸的序列、包含427～1416位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:29的核苷酸序列和SEQ ID NO:30的氨基酸序列也如图16所示。

[0657] 7)-3 A2-15A轻链的人源化

[0658] 7)-3-1人源化hA2-15A-L1型轻链

[0659] 将SEQ ID NO:22所示的嵌合cA2-15A轻链中的氨基酸编号24(亮氨酸)置换为甲硫氨酸、将氨基酸编号29(丙氨酸)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号29-30之间(缺失残基)置换为丝氨酸、将氨基酸编号36(谷氨酰胺)置换为谷氨酸、将氨基酸编号41(丝氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号66(赖氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号81(异亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号83(丙氨酸)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号99(天冬酰胺)置换为丝氨酸、将氨基酸编号100(脯氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号101(缬氨酸)置换为亮氨酸、将氨基酸编号104(天冬氨酸)置换为谷氨酸、将氨基酸编号106(异亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号108(苏氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号123(丙氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号127(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号129(亮氨酸)置换为异亮氨酸而设计的人源化hA2-15A轻链命名为“人源化hA2-15A-L1型轻链”(有时也称为“hA2-15A-L1”)。

[0660] 人源化hA2-15A-L1型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:32所示。SEQ ID NO:32的氨基酸序列中的包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～133位氨基酸残基的序列、包含134～238位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:32氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:31所示。SEQ ID NO:31的核苷酸序列中包含26～85位核苷酸的序列、包含86～424位核苷酸的序列、包含425～739位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:31的核苷酸序列和SEQ ID NO:32的氨基酸序列也如图17所示。

[0661] 7)-3-2人源化hA2-15A-L4型轻链

[0662] 将SEQ ID NO:22所示的嵌合cA2-15A轻链中的氨基酸编号29(丙氨酸)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号29-30之间(缺失残基)置换为丝氨酸、将氨基酸编号36(谷氨酰胺)置换为谷氨酸、将氨基酸编号41(丝氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号99(天冬酰胺)置换为丝氨酸、将氨基酸编号100(脯氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号108(苏氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号123(丙氨酸)置换为谷氨酰胺而设计的人源化hA2-15A轻链命名为“人源化hA2-15A-L4型轻链”(有时也称为“hA2-15A-L4”)。

[0663] 人源化hA2-15A-L4型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:34所示。SEQ ID NO:34的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～133位氨基酸残基的序列、包含134～238位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:34氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:33所示。SEQ ID NO:33的核苷酸序列中包含26～85位核苷酸的序列、包含86～424位核苷酸的序列、包含425～739位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:33的核苷酸序列和SEQ ID NO:34的氨基酸序列也如图18所示。

[0664] 7)-3-3人源化hA2-15A-L6型轻链

[0665] 将SEQ ID NO:22所示的嵌合cA2-15A轻链中的氨基酸编号29(丙氨酸)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号29-30之间(缺失残基)置换为丝氨酸、将氨基酸编号36(谷氨酰胺)置换

为谷氨酸、将氨基酸编号41(丝氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号79(丝氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号99(天冬酰胺)置换为丝氨酸、将氨基酸编号100(脯氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号108(苏氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号123(丙氨酸)置换为谷氨酰胺而设计的人源化hA2-15A轻链命名为“人源化hA2-15A-L6型轻链”(有时也称为“hA2-15A-L6”)。

[0666] 人源化hA2-15A-L6型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:36所示。SEQ ID NO:36的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～133位氨基酸残基的序列、包含134～238位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:36氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:35所示。SEQ ID NO:35的核苷酸序列中包含26～85位核苷酸的序列、包含86～424位核苷酸的序列、包含425～739位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:35的核苷酸序列和SEQ ID NO:36的氨基酸序列也如图19所示。

[0667] 7)-3-4人源化hA2-15A-L7型轻链

[0668] 将SEQ ID NO:22所示的嵌合cA2-15A轻链中的氨基酸编号29(丙氨酸)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号29-30之间(缺失残基)置换为丝氨酸、将氨基酸编号36(谷氨酰胺)置换为谷氨酸、将氨基酸编号41(丝氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号70(亮氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号99(天冬酰胺)置换为丝氨酸、将氨基酸编号100(脯氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号108(苏氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号123(丙氨酸)置换为谷氨酰胺而设计的人源化hA2-15A轻链命名为“人源化hA2-15A-L7型轻链”(有时也称为“hA2-15A-L7”)。

[0669] 人源化hA2-15A-L7型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:38所示。SEQ ID NO:38的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～133位氨基酸残基的序列、包含134～238位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:38氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:37所示。SEQ ID NO:37的核苷酸序列中包含26～85位核苷酸的序列、包含86～424位核苷酸的序列、包含425～739位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:37的核苷酸序列和SEQ ID NO:38的氨基酸序列也如图20所示。

[0670] 7)-4通过组合重链和轻链的人源化hA2-15A的设计

[0671] 设计包含人源化hA2-15A-H1型重链和人源化hA2-15A-L1型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-15A-H1/L1”(有时也称为“hA2-15A-H1/L1”)。设计包含人源化hA2-15A-H1型重链和人源化hA2-15A-L4型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-15A-H1/L4”(有时也称为“hA2-15A-H1/L4”)。设计包含人源化hA2-15A-H4型重链和人源化hA2-15A-L1型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-15A-H4/L1”(有时也称为“hA2-15A-H4/L1”)。设计包含人源化hA2-15A-H4型重链和人源化hA2-15A-L4型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-15A-H4/L4”(有时也称为“hA2-15A-H4/L4”)。设计包含人源化hA2-15A-H4型重链和人源化hA2-15A-L6型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-15A-H4/L6”(有时也称为“hA2-15A-H4/L6”)。设计包含人源化hA2-15A-H4型重链和人源化hA2-15A-L7型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-15A-H4/L7”(有时也称为“hA2-15A-H4/L7”)。以上设计的抗体可根据实施例8进行制备并根据实施例2和4进行评价。

[0672] 7)-5人源化hA2-27D的设计

[0673] 7)-5-1 A2-27D可变区的分子建模

[0674] 通过称作同源建模的公知方法(Methods in Enzymology,203,121-153,(1991))来实行A2-27D可变区的分子建模。将登录于蛋白质数据库(Protein Data Bank)(Nuc.Acid Res.35,D301-D303(2007))的人免疫球蛋白可变区的一级序列(可以得到从X-射线晶体结构衍生出的三维结构)与在上面经确定的A2-27D可变区进行对比。结果选择为3EYQ和4I9W,因其各自相对于A2-27D的重链和轻链可变区,具有最高的序列同一性。通过组合分别与A2-27D的重链和轻链相对应的3EYQ和4I9W的坐标,得到“构架模型”,从而制备构架区的三维结构。然后,将各CDR的代表性构象整合到构架模型中。

[0675] 最后,为了获得在能量方面A2-27D可变区可能的分子模型,进行能量计算,以排除不利的原子间接触。利用市售的蛋白质三维结构分析程序Discovery Studio(Accelrys公司制)进行上述方法步骤。

[0676] 7)-5-2对于人源化hA2-27D的氨基酸序列的设计

[0677] 通常通过称作CDR移植的方法(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86,10029-10033(1989))的公知方法进行人源化hA2-27D的构建。根据构架区内的氨基酸同一性选择受体抗体。

[0678] 将A2-27D构架区的序列与人的亚组一致性序列的构架区进行对比。结果是KABAT et al.(Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service National Institutes of Health,Bethesda,MD.(1991))中已确定的人γ链III亚组的一致性序列和人κ链IV亚组的一致性序列,由于其构架区中具有高的序列同一性,因此选择为受体。将人γ链III亚组的一致性序列和人κ链III亚组的一致性序列的构架区氨基酸残基与A2-27D的氨基酸残基进行比对,从而鉴定出其中使用的不同氨基酸的位置。使用上面构建的A2-27D的三维模型来分析这些残基的位置,然后按照Queen et al.(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86,10029-10033(1989))提供的标准,选择待移植到受体上的供体残基。按下列实施例中所述,通过将一些选定的供体残基转移到受体抗体,构建人源化hA2-27D的序列。

[0679] 7)-6 A2-27D重链的人源化

[0680] 7)-6-1人源化hA2-27D-H1型重链

[0681] 将SEQ ID NO:24所示的嵌合cA2-27D重链中的氨基酸编号35(精氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号38(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号42(亮氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号56(异亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号68(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号94(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号95(精氨酸)置换为赖氨酸、将氨基酸编号103(苏氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号107(丝氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号112(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号117(丙氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号132(脯氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号135(缬氨酸)置换为亮氨酸而设计的人源化hA2-15A重链命名为“人源化hA2-27D-H1型重链”(有时也称为“hA2-27D-H1”)。

[0682] 人源化hA2-27D-H1型重链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:40所示。SEQ ID NO:40的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～140位氨基酸残基的序列、包含141～470位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。编码SEQ

ID NO:40氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:39所示。SEQ ID NO:39的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～420位核苷酸的序列、包含421～1410位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:39的核苷酸序列和SEQ ID NO:40的氨基酸序列也如图21所示。

[0683] 7)-6-2人源化hA2-27D-H2型重链

[0684] 将SEQ ID NO:24所示的嵌合cA2-27D重链中的氨基酸编号35(精氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号38(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号42(亮氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号68(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号94(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号95(精氨酸)置换为赖氨酸、将氨基酸编号103(苏氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号107(丝氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号112(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号132(脯氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号135(缬氨酸)置换为亮氨酸而设计的人源化hA2-27D重链命名为“人源化hA2-27D-H2型重链”(有时也称为“hA2-27D-H2”)。

[0685] 人源化hA2-27D-H2型重链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:42所示。SEQ ID NO:42的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～140位氨基酸残基的序列、包含141～470位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。编码SEQ ID NO:42氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:41所示。SEQ ID NO:41的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～420位核苷酸的序列、包含421～1410位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:41的核苷酸序列和SEQ ID NO:42的氨基酸序列也如图22所示。

[0686] 7)-6-3人源化hA2-27D-H3型重链

[0687] 将SEQ ID NO:24所示的嵌合cA2-27D重链中的氨基酸编号35(精氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号38(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号42(亮氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号94(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号95(精氨酸)置换为赖氨酸、将氨基酸编号103(苏氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号107(丝氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号112(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号132(脯氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号135(缬氨酸)置换为亮氨酸而设计的人源化hA2-27D重链命名为“人源化hA2-27D-H3型重链”(有时也称为“hA2-27D-H3”)。

[0688] 人源化hA2-27D-H3型重链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:44所示。SEQ ID NO:44的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～140位氨基酸残基的序列、包含141～470位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。编码SEQ ID NO:44氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:43所示。SEQ ID NO:43的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～420位核苷酸的序列、包含421～1410位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:43的核苷酸序列和SEQ ID NO:44的氨基酸序列也如图23所示。

[0689] 7)-6-4人源化hA2-27D-H4型重链

[0690] 将SEQ ID NO:24所示的嵌合cA2-27D重链中的氨基酸编号35(精氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号38(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号42(亮氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号94(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号95(精氨酸)置换为赖氨酸、将氨基酸编号103(苏氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号107(丝氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号

135(缬氨酸)置换为亮氨酸而设计的人源化hA2-27D重链命名为“人源化hA2-27D-H4型重链”(有时也称为“hA2-27D-H4”)。

[0691] 人源化hA2-27D-H4型重链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:46所示。SEQ ID NO:46的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～140位氨基酸残基的序列、包含141～470位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。编码SEQ ID NO:46氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:45所示。SEQ ID NO:45的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～420位核苷酸的序列、包含421～1410位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:45的核苷酸序列和SEQ ID NO:46的氨基酸序列也如图24所示。

[0692] 7)-6-5人源化hA2-27D-H5型重链

[0693] 将SEQ ID NO:24所示的嵌合cA2-27D重链中的氨基酸编号35(精氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号38(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号42(亮氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号95(精氨酸)置换为赖氨酸、将氨基酸编号103(苏氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号135(缬氨酸)置换为亮氨酸而设计的人源化hA2-27D重链命名为“人源化hA2-27D-H5型重链”(有时也称为“hA2-27D-H5”)。

[0694] 人源化hA2-27D-H5型重链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:48所示。SEQ ID NO:48的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～140位氨基酸残基的序列、包含141～470位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。编码SEQ ID NO:48氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:47所示。SEQ ID NO:47的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～420位核苷酸的序列、包含421～1410位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:47的核苷酸序列和SEQ ID NO:48的氨基酸序列也如图25所示。

[0695] 7)-7 A2-27D轻链的人源化

[0696] 7)-7-1人源化hA2-27D-L1型轻链

[0697] 将SEQ ID NO:26所示的嵌合cA2-27D轻链中的氨基酸编号29(苏氨酸置换为甘氨酸、将氨基酸编号31(甲硫氨酸)置换为亮氨酸、将氨基酸编号32(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号33(丙氨酸)置换为亮氨酸、将氨基酸编号38(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号39(缬氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号42(天冬酰胺)置换为丝氨酸、将氨基酸编号59(丝氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号61(丙氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号62(丝氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号64(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号66(色氨酸)置换为亮氨酸、将氨基酸编号77(缬氨酸)置换为异亮氨酸、将氨基酸编号79(天冬酰胺)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号89(丝氨酸)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号90(酪氨酸)置换为苯丙氨酸、将氨基酸编号91(丝氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号93(丙氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号96(丝氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号97(甲硫氨酸)置换为亮氨酸、将氨基酸编号99(丙氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号102(缬氨酸)置换为苯丙氨酸、将氨基酸编号104(苏氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号120(丙氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号124(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号126(亮氨酸)置换为异亮氨酸而设计的人源化hA2-27D轻链命名为“人源化hA2-27D-L1型轻链”(有时也称为“hA2-27D-L1”)。

[0698] 人源化hA2-27D-L1型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:50所示。SEQ ID NO:

50的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～129位氨基酸残基的序列、包含130～234位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:50氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:49所示。SEQ ID NO:49的核苷酸序列中包含26～85位核苷酸的序列、包含86～412位核苷酸的序列、包含413～727位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:49的核苷酸序列和SEQ ID NO:50的氨基酸序列也如图26所示。

[0699] 7)-7-2人源化hA2-27D-L2型轻链

[0700] 将SEQ ID NO:26所示的嵌合cA2-27D轻链中的氨基酸编号29(苏氨酸置换为甘氨酸、将氨基酸编号31(甲硫氨酸)置换为亮氨酸、将氨基酸编号32(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号33(丙氨酸)置换为亮氨酸、将氨基酸编号38(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号39(缬氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号42(天冬酰胺)置换为丝氨酸、将氨基酸编号59(丝氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号61(丙氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号64(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号79(天冬酰胺)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号89(丝氨酸)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号90(酪氨酸)置换为苯丙氨酸、将氨基酸编号91(丝氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号93(丙氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号96(丝氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号97(甲硫氨酸)置换为亮氨酸、将氨基酸编号99(丙氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号102(缬氨酸)置换为苯丙氨酸、将氨基酸编号104(苏氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号120(丙氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号124(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号126(亮氨酸)置换为异亮氨酸而设计的人源化hA2-27D轻链命名为“人源化hA2-27D-L2型轻链”(有时也称为“hA2-27D-L2”)。

[0701] 人源化hA2-27D-L2型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:52所示。SEQ ID NO:52的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～129位氨基酸残基的序列、包含130～234位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:52氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:51所示。SEQ ID NO:51的核苷酸序列中包含26～85位核苷酸的序列、包含86～412位核苷酸的序列、包含413～727位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:51的核苷酸序列和SEQ ID NO:52的氨基酸序列也如图27所示。

[0702] 7)-7-3人源化hA2-27D-L3型轻链

[0703] 将SEQ ID NO:26所示的嵌合cA2-27D轻链中的氨基酸编号29(苏氨酸置换为甘氨酸、将氨基酸编号31(甲硫氨酸)置换为亮氨酸、将氨基酸编号32(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号33(丙氨酸)置换为亮氨酸、将氨基酸编号38(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号39(缬氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号42(天冬酰胺)置换为丝氨酸、将氨基酸编号59(丝氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号64(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号79(天冬酰胺)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号89(丝氨酸)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号91(丝氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号93(丙氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号96(丝氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号97(甲硫氨酸)置换为亮氨酸、将氨基酸编号99(丙氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号102(缬氨酸)置换为苯丙氨酸、将氨基酸编号124(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号126(亮氨酸)置换为异亮氨酸而设计的人源化hA2-27D轻链命名为“人源化hA2-27D-L3型轻链”(有时也称为“hA2-27D-L3”)。

[0704] 人源化hA2-27D-L3型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:54所示。SEQ ID NO:54的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～129位氨基酸残基的序列、包含130～234位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:54氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:53所示。SEQ ID NO:53的核苷酸序列中包含26～85位核苷酸的序列、包含86～412位核苷酸的序列、包含413～727位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:53的核苷酸序列和SEQ ID NO:54的氨基酸序列也如图28所示。

[0705] 7)-7-4人源化hA2-27D-L4型轻链

[0706] 将SEQ ID NO:26所示的嵌合cA2-27D轻链中的氨基酸编号29(苏氨酸置换为甘氨酸、将氨基酸编号32(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号38(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号42(天冬酰胺)置换为丝氨酸、将氨基酸编号59(丝氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号64(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号79(天冬酰胺)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号89(丝氨酸)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号91(丝氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号93(丙氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号96(丝氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号99(丙氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号102(缬氨酸)置换为苯丙氨酸而设计的人源化hA2-27D轻链命名为“人源化hA2-27D-L4型轻链”(有时也称为“hA2-27D-L4”)。

[0707] 人源化hA2-27D-L4型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:56所示。SEQ ID NO:56的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～129位氨基酸残基的序列、包含130～234位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:56氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:55所示。SEQ ID NO:55的核苷酸序列中包含26～85位核苷酸的序列、包含86～412位核苷酸的序列、包含413～727位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:55的核苷酸序列和SEQ ID NO:56的氨基酸序列也如图29所示。

[0708] 7)-7-5人源化hA2-27D-L5型轻链

[0709] 将SEQ ID NO:26所示的嵌合cA2-27D轻链中的氨基酸编号29(苏氨酸置换为甘氨酸、将氨基酸编号32(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号38(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号91(丝氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号93(丙氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号96(丝氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号99(丙氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号102(缬氨酸)置换为苯丙氨酸而设计的人源化hA2-27D轻链命名为“人源化hA2-27D-L5型轻链”(有时也称为“hA2-27D-L5”)。

[0710] 人源化hA2-27D-L5型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:58所示。SEQ ID NO:58的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～129位氨基酸残基的序列、包含130～234位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:58氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:57所示。SEQ ID NO:57的核苷酸序列中包含26～85位核苷酸的序列、包含86～412位核苷酸的序列、包含413～727位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:57的核苷酸序列和SEQ ID NO:58的氨基酸序列也如图30所示。

[0711] 7)-8通过组合重链和轻链的人源化hA2-27D的设计

[0712] 设计包含人源化hA2-27D-H1型重链和人源化hA2-27D-L1型轻链的抗体并命名为

“人源化hA2-27D-H1/L1”(有时也称为“hA2-27D-H1/L1”)。设计包含人源化hA2-27D-H1型重链和人源化hA2-27D-L2型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H1/L2”(有时也称为“hA2-27D-H1/L2”)。设计包含人源化hA2-27D-H1型重链和人源化hA2-27D-L3型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H1/L3”(有时也称为“hA2-27D-H1/L3”)。设计包含人源化hA2-27D-H2型重链和人源化hA2-27D-L1型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H2/L1”(有时也称为“hA2-27D-H2/L1”)。设计包含人源化hA2-27D-H2型重链和人源化hA2-27D-L2型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H2/L2”(有时也称为“hA2-27D-H2/L2”)。设计包含人源化hA2-27D-H2型重链和人源化hA2-27D-L3型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H2/L3”(有时也称为“hA2-27D-H2/L3”)。设计包含人源化hA2-27D-H3型重链和人源化hA2-27D-L1型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H3/L1”(有时也称为“hA2-27D-H3/L1”)。设计包含人源化hA2-27D-H3型重链和人源化hA2-27D-L2型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H3/L2”(有时也称为“hA2-27D-H3/L2”)。设计包含人源化hA2-27D-H3型重链和人源化hA2-27D-L3型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H3/L3”(有时也称为“hA2-27D-H3/L3”)。设计包含人源化hA2-27D-H3型重链和人源化hA2-27D-L4型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H3/L4”(有时也称为“hA2-27D-H3/L4”)。设计包含人源化hA2-27D-H4型重链和人源化hA2-27D-L3型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H4/L3”(有时也称为“hA2-27D-H4/L3”)。设计包含人源化hA2-27D-H4型重链和人源化hA2-27D-L4型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H4/L4”(有时也称为“hA2-27D-H4/L4”)。设计包含人源化hA2-27D-H4型重链和人源化hA2-27D-L5型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H4/L5”(有时也称为“hA2-27D-H4/L5”)。设计包含人源化hA2-27D-H5型重链和人源化hA2-27D-L4型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-27D-H5/L4”(有时也称为“hA2-27D-H5/L4”)。以上设计的抗体可根据实施例8进行制备并根据实施例2和4进行评价。

[0713] <实施例8>

[0714] 人源化A2-15A抗体和人源化A2-27D抗体的表达载体的构建和抗体的制备

[0715] 8)-1人源化A2-15A的重链表达载体的构建

[0716] 8)-1-1人源化hA2-15A-H1型重链表达载体的构建

[0717] 合成包含编码人源化hA2-15A-H1可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-15A-H1可变区如SEQ ID NO:27所示的人源化hA2-15A-H1核苷酸序列的核苷酸编号36～443所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。以合成的DNA片段为模板,用KOD-Plus-(TOYOBO公司,日本)和下述引物对扩增包含编码人源化hA2-15A-H1可变区的DNA序列的DNA片段,用限制性内切酶BlpI切割嵌合和人源化抗体IgG1型重链表达载体pCMA-G1,使用In-Fusion HD PCR克隆试剂盒(Clontech公司)将该DNA片段插入到切割上述载体pCMA-G1而成的位点中,由此构建人源化hA2-15A-H1表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-15A-H1”。

[0718] 引物对

[0719] 5’-AGCTCCCAGATGGGTGCTGAGC-3’(EG-Inf-F;SEQ ID NO:99)

[0720] 5’-GGGCCCTTGGTGGAGGCTGAGC-3’(EG1-Inf-R;SEQ ID NO:100)

[0721] 8)-1-2人源化hA2-15A-H4型重链表达载体的构建

[0722] 合成包含编码人源化hA2-15A-H4可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-15A-H4可变区如SEQ ID NO:29所示的人源化hA2-15A-H4核苷酸序列的核苷酸编号36～443中所

示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例8)-1-1相同的方法构建人源化hA2-15A-H4表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-15A-H4”。

[0723] 8)-2人源化A2-15A的轻链表达载体的构建

[0724] 8)-2-1人源化hA2-15A-L1型轻链表达载体的构建

[0725] 合成包含编码人源化hA2-15A-L1序列的DNA片段,该人源化hA2-15A-L1如SEQ ID NO:31所示(GENEART公司,基因合成服务)。以合成的DNA片段为模板,用KOD-Plus-(TOYOBO公司)和下述引物对扩增含有编码人源化hA2-15A-L1序列的DNA片段,用限制性内切酶XbaI和PmeI消化表达载体pCMA-LK并去除κ链分泌信号和人κ链恒定区,使用In-Fusion HD PCR克隆试剂盒(Clontech公司)将该DNA片段插入到切割上述载体pCMA-LK而成的位点中,由此构建人源化hA2-15A-L1表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-15A-L1”。

[0726] 引物对

[0727] 5’-CCAGCCTCCGGACTCTAGAGCCACC-3’(CM-inf-F;SEQ ID NO:101)

[0728] 5’-AGTTAGCCTCCCCCGTTTAAACTC-3’(CM-inf-R;SEQ ID NO:102)

[0729] 8)-2-2人源化hA2-15A-L4型轻链表达载体的构建

[0730] 合成包含编码人源化hA2-15A-L4序列的DNA片段,该人源化hA2-15A-L4如SEQ ID NO:33所示(GENEART公司,基因合成服务)。按照与实施例8)-2-1相同的方法构建人源化hA2-15A-L4表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-15A-L4”。

[0731] 8)-2-3人源化hA2-15A-L6型轻链表达载体的构建

[0732] 合成包含编码人源化hA2-15A-L6序列的DNA片段,该人源化hA2-15A-L6如SEQ ID NO:35所示(GENEART公司,基因合成服务)。按照与实施例8)-2-1相同的方法构建人源化hA2-15A-L6表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-15A-L6”。

[0733] 8)-2-4人源化hA2-15A-L7型轻链表达载体的构建

[0734] 合成包含编码人源化hA2-15A-L7序列的DNA片段,该人源化hA2-15A-L7如SEQ ID NO:37所示(GENEART公司,基因合成服务)。按照与实施例8)-2-1相同的方法构建人源化hA2-15A-L7表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-15A-L7”。

[0735] 8)-3人源化A2-27D的重链表达载体的构建

[0736] 8)-3-1人源化hA2-27D-H1型重链表达载体的构建

[0737] 合成包含编码人源化hA2-27D-H1可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-27D-H1可变区如SEQ ID NO:39所示的人源化hA2-27D-H1核苷酸序列的核苷酸编号36～437所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例8)-1-1相同的方法构建人源化hA2-27D-H1表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-27D-H1”。

[0738] 8)-3-2人源化hA2-27D-H2型重链表达载体的构建

[0739] 合成包含编码人源化hA2-27D-H2可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-27D-H2可变区如SEQ ID NO:41所示的人源化hA2-27D-H2核苷酸序列的核苷酸编号36～437所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例8)-1-1相同的方法构建人源化hA2-27D-H2表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-27D-H2”。

[0740] 8)-3-3人源化hA2-27D-H3型重链表达载体的构建

[0741] 合成包含编码人源化hA2-27D-H3可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-27D-H3可变区如SEQ ID NO:43所示的人源化hA2-27D-H3核苷酸序列的核苷酸编号36～437所示

(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例8)-1-1相同的方法构建人源化hA2-27D-H3表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-27D-H3”。

[0742] 8)-3-4人源化hA2-27D-H4型重链表达载体的构建

[0743] 合成包含编码人源化hA2-27D-H4可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-27D-H4可变区如SEQ ID NO:45所示的人源化hA2-27D-H4核苷酸序列的核苷酸编号36～437所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例8)-1-1相同的方法构建人源化hA2-27D-H4表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-27D-H4”。

[0744] 8)-3-5人源化hA2-27D-H5型重链表达载体的构建

[0745] 合成包含编码人源化hA2-27D-H5可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-27D-H5可变区如SEQ ID NO:47所示的人源化hA2-27D-H5核苷酸序列的核苷酸编号36～437所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例8)-1-1相同的方法构建人源化hA2-27D-H5表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-27D-H5”。

[0746] 8)-4人源化A2-27D的轻链表达载体的构建

[0747] 8)-4-1人源化hA2-27D-L1型轻链表达载体的构建

[0748] 合成包含编码人源化hA2-27D-L1序列的DNA片段,该人源化hA2-27D-L1如SEQ ID NO:49所示(GENEART公司,基因合成服务)。按照与实施例8)-2-1相同的方法构建人源化hA2-27D-L1表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-27D-L1”。

[0749] 8)-4-2人源化hA2-27D-L2型轻链表达载体的构建

[0750] 合成包含编码人源化hA2-27D-L2序列的DNA片段,该人源化hA2-27D-L2如SEQ ID NO:51所示(GENEART公司,基因合成服务)。按照与实施例8)-2-1相同的方法构建人源化hA2-27D-L2表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-27D-L2”。

[0751] 8)-4-3人源化hA2-27D-L3型轻链表达载体的构建

[0752] 合成包含编码人源化hA2-27D-L3序列的DNA片段,该人源化hA2-27D-L3如SEQ ID NO:53所示(GENEART公司,基因合成服务)。按照与实施例8)-2-1相同的方法构建人源化hA2-27D-L3表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-27D-L3”。

[0753] 8)-4-4人源化hA2-27D-L4型轻链表达载体的构建

[0754] 合成包含编码人源化hA2-27D-L4序列的DNA片段,该人源化hA2-27D-L4如SEQ ID NO:55所示(GENEART公司,基因合成服务)。按照与实施例8)-2-1相同的方法构建人源化hA2-27D-L4表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-27D-L4”。

[0755] 8)-4-5人源化hA2-27D-L5型轻链表达载体的构建

[0756] 合成包含编码人源化hA2-27D-L5序列的DNA片段,该人源化hA2-27D-L5如SEQ ID NO:57所示(GENEART公司,基因合成服务)。按照与实施例8)-2-1相同的方法构建人源化hA2-27D-L5表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-27D-L5”。

[0757] 8)-5人源化A2-15A抗体(IgG1)和人源化A2-27D抗体(IgG1)的制备

[0758] 8)-5-1人源化A2-15A抗体(IgG1)和人源化A2-27D抗体(IgG1)的生产

[0759] 按照与实施例5)-7相同的方法生产。即,通过在实施例8)-1-2中构建的pCMA-G1/hA2-15A-H4与在实施例8)-2-3中构建的pCMA/hA2-15A-L6的组合,获得人源化hA2-15A-H4/L6。通过在实施例8)-3-2中构建的pCMA-G1/hA2-27D-H2与在实施例8)-4-2中构建的pCMA/hA2-27D-L2的组合,获得人源化hA2-27D-H2/L2。通过在实施例8)-3-3中构建的pCMA-G1/

hA2-27D-H3与在实施例8)-4-4中构建的pCMA/hA2-27D-L4的组合，获得人源化hA2-27D-H3/L4。

[0760] 8)-5-2人源化A2-15A抗体(IgG1)和人源化A2-27D抗体(IgG1)的二步法纯化

[0761] 按照与实施例5)-8相同的方法纯化在实施例8)-5-1中得到的培养上清。

[0762] <实施例9>

[0763] 人源化A2-15A抗体(IgG1)和人源化A2-27D抗体(IgG1)的体外(invitro)活性评价

[0764] 9)-1利用萤光素酶报告基因检测的抗体评价

[0765] 利用BMP特异性的萤光素酶报告基因分析在实施例8)-5中制备的人源化hA2-15A-H4/L6、人源化hA2-27D-H2/L2和人源化hA2-27D-H3/L4对由ALK2介导的细胞内信号的抑制活性。按照与实施例6)-1相同的方法，将pGL4.26/Id1WT4F-luc(Genes Cells,7,949(2002))导入至HEPG2细胞，3小时后培养基更换为新鲜的FreeStyle293表达培养基(Invitrogen公司)。然后，添加人源化抗体和10ng/mL的BMP7(Milteney公司制)，在次日测定萤光素酶活性。

[0766] 结果如图31所示。确认到人源化hA2-15A-H4/L6、人源化hA2-27D-H2/L2和人源化hA2-27D-H3/L4以剂量依赖性的方式抑制由BMP7诱导的BMP特异性萤光素酶活性。

[0767] <实施例10>

[0768] 人源化A2-15A抗体(IgG1)和人源化A2-27D抗体(IgG1)对人ALK2的结合性评价

[0769] 在实施例8)-5中制备的人源化hA2-15A-H4/L6、人源化hA2-27D-H2/L2和人源化hA2-27D-H3/L4与抗原(Recombinant Human ALK2 Fc Chimera,Sino Biological Inc.)的解离常数测定如下进行：使用Biacore T200(GE Healthcare Bio-Sciences株式会社)，将抗原固定化为配体，将抗体作为分析物测定。抗原以1.25μg/mL添加60秒，固定化到传感芯片CM5(GE Healthcare Bio-Sciences株式会社)。作为运行缓冲液，使用HBS-EP+(10mM HEPES pH7.4、0.15M NaCl,3mM EDTA、0.05％表面活性剂P20)。在固定有抗原的芯片上，以流速30μL/分添加抗体的稀释系列溶液(0.2-50nM)300秒，接着进行1800秒的解离相监测。作为再生溶液，以流速10μL/分添加30秒、2次添加pH1.5的10mM甘氨酸盐酸溶液。对于数据分析，利用分析软件(BIAevaluation software,version 1.0)的Bivalent结合模型，计算结合速率常数ka、解离速率常数kd和解离常数(KD;KD＝kd/ka)。

[0770] 结果如表1所示。

[0771] [表1]

[0772] 人源化A2-15A抗体和人源化A2-27D

[0773] 抗体的解离常数

[0774]

	名称	KD(nM)
1	hA2-27D-H2/L2	5.7

[0775]

2	hA2-27D-H3/L4	4.3
3	hA2-15A-H4/L6	4.3

[0776] <实施例11>

[0777] 人源化A2-15A抗体(IgG2)的制备

[0778] 11)-1人源化IgG2型重链表达载体pCMA-G2的构建

[0779] 通过使用In-Fusion Advantage PCR克隆试剂盒(Clontech公司),将用XbaI和PmeI消化在实施例5)-1中构建的pCMA-LK并去除κ链分泌信号和人κ链恒定区的DNA片段和包含编码人重链分泌信号序列和人IgG2恒定区的氨基酸序列的核苷酸序列的DNA片段(SEQ ID NO:103)进行连接,从而构建在CMV启动子下游具有信号序列、克隆位点、人IgG2重链恒定区的嵌合和人源化IgG2型重链表达载体pCMA-G2。

[0780] 11)-2人源化hA2-15A-H4 IgG2型重链表达载体的构建

[0781] 以在实施例8)-1-2中构建的pCMA-G1/hA2-15A-H4为模板,用KOD-Plus-(TOYOBO公司)和下述引物对扩增包含编码重链可变区cDNA的DNA片段,用限制性内切酶BlpI切割人源化IgG2型重链表达载体pCMA-G2,使用In-Fusion HD PCR克隆试剂盒(Clontech公司)将该DNA片段插入到切割上述载体pCMA-G2而成的位点中,由此构建人源化hA2-15A-H4 IgG2型表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G2/hA2-15A-H4”。

[0782] 人源化hA2-15A-H4 IgG2型重链的核苷酸序列如SEQ ID NO:104所示,氨基酸序列如SEQ ID NO:105所示。SEQ ID NO:104的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～426位核苷酸的序列、包含427～1404位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:105的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～142位氨基酸残基的序列、包含143～468位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。SEQ ID NO:104的核苷酸序列和SEQ ID NO:105的氨基酸序列也如图32所示。

[0783] 用于人源化hA2-15A-H4 IgG2型重链的引物对

[0784] 5’-CAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGC-3’(15A-H4-F;SEQ ID NO:130)

[0785] 5’-CTTGGTGCTGGCTGAGCTGACGGTCACGAGGGTGCC-3’(15A-H4-R;SEQ ID NO:131)

[0786] 11)-3人源化A2-15A抗体(IgG2)的生产

[0787] 按照与实施例5)-7相同的方法生产。通过在实施例11)-2中构建的pCMA-G2/hA2-15A-H4与在实施例8)-2-3中构建的pCMA/hA2-15A-L6的组合而获得的人源化A2-15A抗体命名为“人源化hA2-15A-H4/L6(IgG2)”。

[0788] 11)-4人源化hA2-15A-H4/L6(IgG2)的二步法纯化

[0789] 按照与实施例5)-8相同的方法纯化在实施例11)-3中得到的培养上清。

[0790] <实施例12>

[0791] 人源化A2-27D抗体(IgG1 LALA)的制备

[0792] 12)-1人源化hA2-27D-H2-LALA型重链表达载体的构建

[0793] 以在实施例8)-3-2中构建的pCMA-G1/hA2-27D-H2为模板,使用下述引物对和KOD-Plus-Mutagenesis Kit(TOYOBO公司)导入突变,由此构建hA2-27D-H2-LALA型重链表达载体。将构建的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-27D-H2-LALA”。

[0794] 人源化hA2-27D-H2-LALA型重链的核苷酸序列如SEQ ID NO:106所示,氨基酸序列如SEQ ID NO:107所示。SEQ ID NO:106的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58

～420位核苷酸的序列、包含421～1410位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:107的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～140位氨基酸残基的序列、包含141～470位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。SEQ ID NO:106的核苷酸序列和SEQ ID NO:107的氨基酸序列也如图33所示。

[0795] 引物对：

[0796] 5’-GCGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTTCCCC-3’(LALA-F;SEQ ID NO:132)

[0797] 5’-GGCTTCAGGTGCTGGGCAGGGTGGGCATGTG-3’(LALA-R;SEQ ID NO:133)

[0798] 12)-2人源化hA2-27D-H3-LALA型重链表达载体的构建

[0799] 以在实施例8)-3-3中构建的pCMA-G1/hA2-27D-H3为模板，按照与实施例12)-1相同的方法构建hA2-27D-H3-LALA型重链表达载体。将构建的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-27D-H3-LALA”。

[0800] 人源化hA2-27D-H3-LALA型重链的核苷酸序列如SEQ ID NO:108所示，氨基酸序列如SEQ ID NO:109所示。SEQ ID NO:108的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～420位核苷酸的序列、包含421～1410位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:109的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～140位氨基酸残基的序列、包含141～470位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。SEQ ID NO:108的核苷酸序列和SEQ ID NO:109的氨基酸序列也如图34所示。

[0801] 12)-3人源化A2-27D抗体(IgG1 LALA)的生产

[0802] 按照与实施例5)-7相同的方法生产。将通过在实施例12)-1中构建的pCMA-G1/hA2-27D-H2-LALA与在实施例8)-4-2中构建的pCMA/hA2-27D-L2的组合而获得的人源化A2-27D抗体命名为“人源化hA2-27D-H2/L2(IgG1 LALA)”，将通过在实施例12)-2中构建的pCMA-G1/hA2-27D-H3-LALA与在实施例8)-4-4中构建的pCMA/hA2-27D-L4的组合而获得的人源化A2-27D抗体命名为“人源化hA2-27D-H3/L4(IgG1 LALA)”。

[0803] 12)-4人源化A2-27D抗体(IgG1 LALA)的二步法纯化

[0804] 按照与实施例5)-8相同的方法纯化在实施例12)-3中得到的培养上清。

[0805] <实施例13>

[0806] 人源化A2-15A抗体(IgG2)、人源化A2-27D抗体(IgG1 LALA)的体外(in vitro)活性评价

[0807] 13)-1利用萤光素酶报告基因检测的抗体评价

[0808] 利用BMP特异性的萤光素酶报告基因分析在实施例11)-4中制备的人源化A2-15A-H4/L6(IgG2)、在实施例12)-4中得到的人源化A2-27D-H2/L2(IgG1 LALA)对由ALK2介导的细胞内信号的抑制活性。按照与实施例6)-1相同的方法，将pGL4.26/Id1WT4F-luc(Genes Cells,7,949(2002))导入至HEPG2细胞，3小时后培养基更换为新鲜的FreeStyle293表达培养基(Invitrogen公司)。然后，添加人源化抗体和2.5ng/mL的BMP9，与实施例6)-1相同地在次日测定萤光素酶活性。

[0809] 结果如图35所示。确认到人源化A2-15A-H4/L6(IgG2)、人源化A2-27D-H2/L2(IgG1 LALA)以剂量依赖性的方式抑制由BMP9诱导的BMP特异性萤光素酶活性。

[0810] <实施例14>

[0811] 人源化A2-15A抗体(IgG2)、人源化A2-27D抗体(IgG1 LALA)对人ALK2的结合性评价

[0812] 14)-1人ALK2胞外域的表达纯化

[0813] 构建表达如下蛋白的质粒:将编码人ALK2胞外域(包含NCBI蛋白数据库的登录号NP_001096的氨基酸序列的21～123位氨基酸残基的多肽)的DNA整合到载体pET-28b(+)(Novagen公司,目录编号:69865),在C末端侧连接His-标签序列的蛋白。使用该质粒,转化大肠杆菌SHuffle T7(New England Biolabs公司,目录编号:C3029H),用TB培养基(Sigma-Aldrich公司,目录编号:T0918)进行培养。培养之后,离心分离用超音波破碎的菌体,用HisTrap FF crude柱(GE HEALTHCARE公司,目录编号:17-5286-01)纯化上清。然后,用HiLoad 26/600Superdex 200柱(GE HEALTHCARE公司,目录编号:28-9893-36)纯化人ALK2胞外域,直至在电泳中获得分子量为12kDa的单一条带。

[0814] 14)-2使用人源化A2-15A抗体(IgG2)、人源化A2-27D抗体(IgG1LALA)测定抗原结合能力

[0815] 在实施例11)-4中制备的人源化hA2-15A-H4/L6(IgG2)、在实施例12)-4中制备的人源化hA2-27D-H2/L2(IgG1 LALA)和人源化hA2-27D-H3/L4(IgG1 LALA)与抗原(在实施例14)-1中制备的人ALK2胞外域)的解离常数测定通过如下捕获法进行:使用Biacore T200(GE Healthcare Bio-Sciences株式会社,日本),在固定化的抗人IgG(Fc)抗体上捕获(capture)抗体作为配体,测定作为分析物的抗原。通过氨基偶联法将约1000RU抗人IgG(Fc)抗体(Human Antibody Capture kit,GE Healthcare Bio-Sciences株式会社)共价结合到传感芯片CM5(GE Healthcare Bio-Sciences株式会社)。也同样地将该抗体固定化到参比池。作为运行缓冲液,使用HBS-EP+(10mM HEPES pH7.4、0.15M NaCl,3mM EDTA、0.05%表面活性剂P20)。在固定化有抗人IgG(Fc)抗体的芯片上,在添加抗体约1分钟后,以流速30μL/分添加抗原的稀释系列溶液(0.78-200nM)300秒,接着进行600秒的解离相监测。作为再生溶液,以流速10μL/分30秒添加3M氯化镁溶液。对于数据分析,利用分析软件(BIAevaluation software,version 1.0)的1:1结合模型计算结合速率常数ka、解离速率常数kd和解离常数(KD;KD=kd/ka)。

[0816] 结果如表2所示。

[0817] [表2]

[0818] 人源化A2-15A抗体(IgG2)和人源化A2-27D抗体

[0819] (IgG1 LALA)的解离常数

[0820]

	名称	KD(nM)
1	hA2-15A-H4/L6、IgG2	17.4
2	hA2-27D-H2/L2、IgG1 LALA	13.6
3	hA2-27D-H3/L4、IgG1 LALA	13.3

[0821] <实施例15>

[0822] 人源化A2-15A抗体(IgG2)、人源化A2-27D抗体(IgG1 LALA)的体内(in vivo)活性评价

[0823] 在实施例11)-4中制备的人源化hA2-15A-H4/L6(IgG2)和在实施例12)-4中制备的

人源化hA2-27D-H2/L2(IgG1 LALA)对异位骨化的抑制活性利用用小鼠的由BMP7移植的异位骨化模型进行分析。向切成为4mm直径圆形的CollaTape(Zimmer Dental公司制)渗入BMP7(Milteney公司制)2.5微克(μg)并在-80℃冷冻一夜,然后真空干燥。除去小鼠(C57BL/6:8-9周龄)大腿骨附近的皮毛,在异氟烷吸入麻醉下切开,将冷冻干燥的滤纸移植到骨骼肌内。移植起2周后利用显微CT(Comscan公司制)对异位骨化发生钙化的异位性骨进行分析,然后取出骨骼肌内的异位骨,测定重量。抗体给药每周1次(将移植日设为第0天并依次为第1天、第6天)进行皮下给药。给药抗体浓度用溶剂(HBSor)稀释为1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg。对于对照组的小鼠,制备用溶剂稀释为10mg/kg的IgG(JACKSON IMMUNORESEARCH公司制)进行给药。

[0824] 结果如图36所示。可确认到人源化hA2-15A-H4/L6(IgG2)和人源化hA2-27D-H2/L2(IgG1 LALA)抑制由BMP7诱导的小鼠骨骼肌组织中的异位性骨诱导。

[0825] <实施例16>

[0826] A2-27D抗体的表位分析

[0827] 16)-1人嵌合cA2-27D Fab片段的制备

[0828] 使用Pierce Fab制备试剂盒,从在实施例5)-8中得到的人嵌合cA2-27D抗体制备Fab片段。

[0829] 16)-2人嵌合cA2-27D Fab片段与ALK2-ECD复合体的结晶和结构分析

[0830] 将在16)-1中得到的人嵌合cA2-27D Fab片段和按照实施例14制备的ALK2-ECD复合体浓缩到2.4mg/mL,用于结晶。结晶使用蒸气扩散法。向蛋白溶液0.5μL加入等量的沉淀剂溶液(2%(v/v)Tacsimate pH7.0,100mM HEPES pH7.5,20%(w/v)聚乙二醇3,350)并将所得溶液置于含有50μL沉淀溶液的密封容器,且使该两种溶液彼此没有接触,将该容器静置在20℃。3天后得到0.1mm×0.1mm×0.1mm的单晶。将得到的结晶浸渍在添加20%(v/v)甘油的沉淀剂溶液中,接着用液氮冷冻。在95K氮气流下利用高能加速器研究机构光子工厂的BL1A收集X射线衍射数据。使用软件XDS(Acta Cryst.(2010).D66,125-132),从得到的衍射图像将衍射强度予以数值化,计算结晶结构因子。结晶属于体心单斜晶系,空间群为C121,晶胞为a=c=119.39Å、b=37.32Å,β=92.54。使用得到的结构因子与Fab(利用以前进行晶体结构分析的抗体结构)的三维结构坐标进行分子置换法来确定相位。在计算中使用软件phaser(CCP4:Collaborative Computational Project No.4)。晶体在不对称单元中含有1个复合物。使用软件refmac5(CCP4)进行结构精修,并使用软件coot进行模型校正。重复进行该操作,得到2.6Å分辨率的最终R因子为22.3%、自由R因子为26.7%。模型由1个复合物组成,并含有A2-27D Fab的L链氨基酸残基1-211、H链氨基酸残基1-134和141-223、ALK2-ECD的氨基酸残基11-89、及61个水分子。从经确定的A2-27D Fab起位于4Å以内的ALK2-ECD的氨基酸残基如下所示:Glu18,Gly19,Ile39,Asn40,Asp41,Gly42,Phe43,His44,Val45,Tyr46,Asn82,Thr84,Gln86,Leu87。图37中表示复合体全体的带状模型。

[0831] <实施例17>

[0832] 人源化A2-11E抗体和人源化A2-25C抗体的设计

[0833] 17)-1人源化hA2-11E的设计

[0834] 17)-1-1 A2-11E可变区的分子建模

[0835] 通过称作同源建模的公知方法(Methods in Enzymology,203,121-153,(1991))来实行A2-11E可变区的分子建模。将登录于蛋白质数据库(Protein Data Bank)(Nuc.Acid Res.35,D301-D303(2007))的人免疫球蛋白可变区的一级序列(可以得到从X-射线晶体结构衍生出的三维结构)与在上面经确定的A2-11E可变区进行对比。结果选择为3BN9,因其相对于A2-11E的重链和轻链可变区,具有最高的序列同一性。通过组合3BN9的坐标,得到“构架模型”,从而制备构架区的三维结构。然后,将各CDR的代表性构象整合到构架模型中。

[0836] 最后,为了获得在能量方面的A2-11E可变区可能的分子模型,进行能量计算,以排除不利的原子间接触。利用市售的蛋白质三维结构分析程序Discovery Studio(Accelrys公司制)进行上述方法步骤。

[0837] 17)-1-2对于人源化hA2-11E的氨基酸序列的设计

[0838] 通常通过称作CDR移植的方法(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86,10029-10033(1989))的公知方法进行人源化hA2-11E的构建。根据构架区内的氨基酸同一性选择受体抗体。

[0839] 将A2-11E构架区的序列与人的亚组一致性序列的构架区进行对比。结果是KABAT et al.(Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service National Institutes of Health,Bethesda,MD.(1991))中已确定的人γ链III亚组的一致性序列和人κ链I亚组的一致性序列,由于其构架区中具有高的序列同一性,因此选择为受体。将人γ链III亚组的一致性序列和人κ链I亚组的一致性序列的构架区氨基酸残基与A2-11E的氨基酸残基进行比对,从而鉴定出其中使用的不同氨基酸的位置。使用上面构建的A2-11E的三维模型来分析这些残基的位置,然后按照Queen et al.(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86,10029-10033(1989))提供的标准,选择待移植到受体上的供体残基。按下列实施例中所述,通过将一些选定的供体残基转移到受体抗体,构建人源化hA2-11E的序列。

[0840] 17)-2 A2-11E重链的人源化

[0841] 17)-2-1人源化hA2-11E-H3型重链

[0842] 将序列表SEQ ID NO:2所示的A2-11E重链中的氨基酸编号7(苏氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号16(精氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号19(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号23(缬氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号48(异亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号61(脯氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号69(丙氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号75(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号76(谷氨酸)置换为赖氨酸、将氨基酸编号88(丝氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号93(苏氨酸)置换为缬氨酸而设计的人源化hA2-11E重链命名为“hA2-11E-H3型重链”。

[0843] 人源化hA2-11E-H3型重链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:111所示。SEQ ID NO:111的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～137位氨基酸残基的序列、包含138～467位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。编码SEQ ID NO:111氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:110所示。SEQ ID NO:110的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～411位核苷酸的序列、包含412～1401位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:110的核苷酸序列和SEQ ID NO:111的氨基酸序列也如图38所示。

[0844] 17)-2-2人源化hA2-11E-H4型重链

[0845] 将序列表SEQ ID NO:2所示的A2-11E重链中的氨基酸编号7(苏氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号16(精氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号19(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号23(缬氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号69(丙氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号75(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号76(谷氨酸)置换为赖氨酸、将氨基酸编号88(丝氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号93(苏氨酸)置换为缬氨酸而设计的人源化hA2-11E重链命名为“hA2-11E-H4型重链”。

[0846] 人源化hA2-11E-H4型重链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:113所示。SEQ ID NO:113的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～137位氨基酸残基的序列、包含138～467位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。编码SEQ ID NO:113氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:112所示。SEQ ID NO:112的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～411位核苷酸的序列、包含412～1401位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:112的核苷酸序列和SEQ ID NO:113的氨基酸序列也如图39所示。

[0847] 17)-3 A2-11E轻链的人源化

[0848] 17)-3-1人源化hA2-11E-L2型轻链

[0849] 将序列表SEQ ID NO:4所示的A2-11E轻链中的氨基酸编号10(亮氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号21(亮氨酸)置换为异亮氨酸、将氨基酸编号22(丝氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号40(亮氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号42(谷氨酸)置换为赖氨酸、将氨基酸编号58(异亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号83(缬氨酸)置换为苯丙氨酸、将氨基酸编号85(异亮氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号87(苯丙氨酸)置换为酪氨酸、将氨基酸编号99(脯氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号103(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号105(亮氨酸)置换为异亮氨酸、将氨基酸编号108(丙氨酸)置换为苏氨酸而设计的人源化hA2-11E轻链命名为“hA2-11E-L2型轻链”。

[0850] 人源化hA2-11E-L2型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:115所示。SEQ ID NO:115的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～128位氨基酸残基的序列、包含129～233位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:115氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:114所示。SEQ ID NO:114的核苷酸序列中包含1～60位核苷酸的序列、包含61～384位核苷酸的序列、包含385～699位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:114的核苷酸序列和SEQ ID NO:115的氨基酸序列也如图40所示。

[0851] 17)-3-2人源化hA2-11E-L3型轻链

[0852] 将序列表SEQ ID NO:4所示的A2-11E轻链中的氨基酸编号10(亮氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号21(亮氨酸)置换为异亮氨酸、将氨基酸编号22(丝氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号40(亮氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号42(谷氨酸)置换为赖氨酸、将氨基酸编号83(缬氨酸)置换为苯丙氨酸、将氨基酸编号85(异亮氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号87(苯丙氨酸)置换为酪氨酸、将氨基酸编号99(脯氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号103(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号105(亮氨酸)置换为异亮氨酸、将氨基酸编号108(丙氨酸)置换为苏氨酸而设计的人源化hA2-11E轻链命名为“hA2-11E-L3型轻链”。

[0853] 人源化hA2-11E-L3型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:117所示。SEQ ID NO:117的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～128位氨基酸残基的序列、包含129～233位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:117氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:116所示。SEQ ID NO:116的核苷酸序列中包含1～60位核苷酸的序列、包含61～384位核苷酸的序列、包含385～699位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:116的核苷酸序列和SEQ ID NO:117的氨基酸序列也如图41所示。

[0854] 17)-3-3人源化hA2-11E-L4型轻链

[0855] 将序列表SEQ ID NO:4所示的A2-11E轻链中的氨基酸编号10(亮氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号21(亮氨酸)置换为异亮氨酸、将氨基酸编号40(亮氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号83(缬氨酸)置换为苯丙氨酸、将氨基酸编号103(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号105(亮氨酸)置换为异亮氨酸、将氨基酸编号108(丙氨酸)置换为苏氨酸而设计的人源化hA2-11E轻链命名为“hA2-11E-L4型轻链”。

[0856] 人源化hA2-11E-L4型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:119所示。SEQ ID NO:119的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～128位氨基酸残基的序列、包含129～233位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:119氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:118所示。SEQ ID NO:118的核苷酸序列中包含1～60位核苷酸的序列、包含61～384位核苷酸的序列、包含385～699位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:118的核苷酸序列和SEQ ID NO:119的氨基酸序列也如图42所示。

[0857] 17)-4通过组合重链和轻链的人源化hA2-11E的设计

[0858] 设计包含人源化hA2-11E-H3型重链和人源化hA2-11E-L2型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-11E-H3/L2”(有时也称为“hA2-11E-H3/L2”)。设计包含人源化hA2-11E-H3型重链和人源化hA2-11E-L3型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-11E-H3/L3”(有时也称为“hA2-11E-H3/L3”)。设计包含人源化hA2-11E-H3型重链和人源化hA2-11E-L4型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-11E-H3/L4”(有时也称为“hA2-11E-H3/L4”)。设计包含人源化hA2-11E-H4型重链和人源化hA2-11E-L2型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-11E-H4/L2”(有时也称为“hA2-11E-H4/L2”)。设计包含人源化hA2-11E-H4型重链和人源化hA2-11E-L3型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-11E-H4/L3”(有时也称为“hA2-11E-H4/L3”)。设计包含人源化hA2-11E-H4型重链和人源化hA2-11E-L4型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-11E-H4/L4”(有时也称为“hA2-11E-H4/L4”)。以上设计的抗体可根据实施例18进行制备并根据实施例2和4进行评价。

[0859] 17)-5人源化hA2-25C的设计

[0860] 17)-5-1 A2-25C可变区的分子建模

[0861] 通过称作同源建模的公知方法(Methods in Enzymology,203,121-153,(1991))来实行A2-25C可变区的分子建模。将登录于蛋白质数据库(Protein Data Bank)(Nuc.Acid Res.35,D301-D303(2007))的人免疫球蛋白可变区的一级序列(可以得到从X-射线晶体结构衍生出的三维结构)与在上面经确定的A2-25C可变区进行对比。结果选择为3BN9,因其相对于A2-25C的重链和轻链可变区,具有最高的序列同一性。通过组合3BN9的坐标,得到“构

架模型”,从而制备构架区的三维结构。然后,将各CDR的代表性构象整合到构架模型中。

[0862] 最后,为了获得在能量方面的A2-25C可变区可能的分子模型,进行能量计算,以排除不利的原子间接触。利用市售的蛋白质三维结构分析程序Discovery Studio(Accelrys公司制)进行上述方法步骤。

[0863] 17)-5-2对于人源化hA2-25C的氨基酸序列的设计

[0864] 通常通过称作CDR移植的方法(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86,10029-10033(1989))的公知方法进行人源化hA2-25C的构建。根据构架区内的氨基酸同一性选择受体抗体。

[0865] 将A2-25C构架区的序列与人的亚组一致性序列的构架区进行对比。结果是KABAT et al.(Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service National Institutes of Health,Bethesda,MD.(1991))中已确定的人γ链III亚组的一致性序列和人κ链I亚组的一致性序列,由于其构架区中具有高的序列同一性,因此选择为受体。将人γ链III亚组的一致性序列和人κ链I亚组的一致性序列的构架区氨基酸残基与A2-25C的氨基酸残基进行比对,从而鉴定出其中使用的不同氨基酸的位置。使用上面构建的A2-25C的三维模型来分析这些残基的位置,然后按照Queen et al.(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86,10029-10033(1989))提供的标准,选择待移植到受体上的供体残基。按下列实施例中所述,通过将一些选定的供体残基转移到受体抗体,构建人源化hA2-25C的序列。

[0866] 17)-6 A2-25C重链的人源化

[0867] 17)-6-1人源化hA2-25C-H3型重链

[0868] 将序列表SEQ ID NO:10所示的A2-25C重链中的氨基酸编号19(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号38(半胱氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号42(苏氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号63(苏氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号75(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号84(天冬氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号88(丝氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号93(苏氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号112(缬氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号113(甲硫氨酸)置换为亮氨酸而设计的人源化hA2-25C重链命名为“hA2-25C-H3型重链”。

[0869] 人源化hA2-25C-H3型重链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:121所示。SEQ ID NO:121的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～137位氨基酸残基的序列、包含138～467位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。编码SEQ ID NO:121氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:120所示。SEQ ID NO:120的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～411位核苷酸的序列、包含412～1401位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:120的核苷酸序列和SEQ ID NO:121的氨基酸序列也如图43所示。

[0870] 17)-6-2人源化hA2-25C-H4型重链

[0871] 将序列表SEQ ID NO:10所示的A2-25C重链中的氨基酸编号19(赖氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号38(半胱氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号42(苏氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号63(苏氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号75(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号84(天冬氨酸)置换为天冬酰胺、将氨基酸编号88(丝氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号113(甲硫氨酸)置换为亮氨酸而设计的人源化hA2-25C重链命名为“hA2-25C-H4型重

链”。

[0872] 人源化hA2-25C-H4型重链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:123所示。SEQ ID NO:123的氨基酸序列中包含1～19位氨基酸残基的序列、包含20～137位氨基酸残基的序列、包含138～467位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、重链可变区、重链恒定区。编码SEQ ID NO:123氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:122所示。SEQ ID NO:122的核苷酸序列中包含1～57位核苷酸的序列、包含58～411位核苷酸的序列、包含412～1401位核苷酸的序列分别编码信号序列、重链可变区序列、重链恒定区序列。SEQ ID NO:122的核苷酸序列和SEQ ID NO:123的氨基酸序列也如图44所示。

[0873] 17)-7 A2-25C轻链的人源化

[0874] 17)-7-1人源化hA2-25C-L1型轻链

[0875] 将序列表SEQ ID NO:12所示的A2-25C轻链中的氨基酸编号9(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号15(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号16(谷氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号17(谷氨酸)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号18(异亮氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号43(丝氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号45(谷氨酰胺)置换为赖氨酸、将氨基酸编号66(精氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号70(谷氨酰胺)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号71(酪氨酸)置换为苯丙氨酸、将氨基酸编号72(丝氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号74(赖氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号77(精氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号79(精氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号80(缬氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号83(异亮氨酸)置换为苯丙氨酸、将氨基酸编号84(甘氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号85(异亮氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号100(丝氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号104(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号109(丙氨酸)置换为苏氨酸而设计的人源化hA2-25C轻链命名为“hA2-25C-L1型轻链”。

[0876] 人源化hA2-25C-L1型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:125所示。SEQ ID NO:125的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～129位氨基酸残基的序列、包含130～234位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:125氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:124所示。SEQ ID NO:124的核苷酸序列中包含1～60位核苷酸的序列、包含61～387位核苷酸的序列、包含388～702位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:124的核苷酸序列和SEQ ID NO:125的氨基酸序列也如图45所示。

[0877] 17)-7-2人源化hA2-25C-L2型轻链

[0878] 将序列表SEQ ID NO:12所示的A2-25C轻链中的氨基酸编号9(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号15(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号16(谷氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号17(谷氨酸)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号18(异亮氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号43(丝氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号45(谷氨酰胺)置换为赖氨酸、将氨基酸编号70(谷氨酰胺)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号72(丝氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号74(赖氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号77(精氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号79(精氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号80(缬氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号83(异亮氨酸)置换为苯丙氨酸、将氨基酸编号84(甘氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号85(异亮氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号100(丝氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号104(亮氨酸)置换

为缬氨酸、将氨基酸编号109(丙氨酸)置换为苏氨酸而设计的人源化hA2-25C轻链命名为“hA2-25C-L2型轻链”。

[0879] 人源化hA2-25C-L2型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:127所示。SEQ ID NO:127的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～129位氨基酸残基的序列、包含130～234位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:127氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:126所示。SEQ ID NO:126的核苷酸序列中包含1～60位核苷酸的序列、包含61～387位核苷酸的序列、包含388～702位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:126的核苷酸序列和SEQ ID NO:127的氨基酸序列也如图46所示。

[0880] 17)-7-3人源化hA2-25C-L3型轻链

[0881] 将序列表SEQ ID NO:12所示的A2-25C轻链中的氨基酸编号9(丙氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号15(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号16(谷氨酸)置换为甘氨酸、将氨基酸编号17(谷氨酸)置换为天冬氨酸、将氨基酸编号18(异亮氨酸)置换为精氨酸、将氨基酸编号45(谷氨酰胺)置换为赖氨酸、将氨基酸编号72(丝氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号74(赖氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号77(精氨酸)置换为丝氨酸、将氨基酸编号79(精氨酸)置换为谷氨酰胺、将氨基酸编号80(缬氨酸)置换为脯氨酸、将氨基酸编号83(异亮氨酸)置换为苯丙氨酸、将氨基酸编号84(甘氨酸)置换为丙氨酸、将氨基酸编号85(异亮氨酸)置换为苏氨酸、将氨基酸编号104(亮氨酸)置换为缬氨酸、将氨基酸编号109(丙氨酸)置换为苏氨酸而设计的人源化hA2-25C轻链命名为“hA2-25C-L3型轻链”。

[0882] 人源化hA2-25C-L3型轻链的氨基酸序列如序列表SEQ ID NO:129所示。SEQ ID NO:129的氨基酸序列中包含1～20位氨基酸残基的序列、包含21～129位氨基酸残基的序列、包含130～234位氨基酸残基的序列分别相当于信号序列、轻链可变区、轻链恒定区。编码SEQ ID NO:129氨基酸序列的核苷酸序列如序列表SEQ ID NO:128所示。SEQ ID NO:128的核苷酸序列中包含1～60位核苷酸的序列、包含61～387位核苷酸的序列、包含388～702位核苷酸的序列分别编码信号序列、轻链可变区序列、轻链恒定区序列。SEQ ID NO:128的核苷酸序列和SEQ ID NO:129的氨基酸序列也如图47所示。

[0883] 17)-8通过组合重链和轻链的人源化hA2-25C的设计

[0884] 设计包含人源化hA2-25C-H3型重链和人源化hA2-25C-L1型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-25C-H3/L1(有时也称为“hA2-25C-H3/L1”)。设计包含人源化hA2-25C-H3型重链和人源化hA2-25C-L2型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-25C-H3/L2”(有时也称为“hA2-25C-H3/L2”)。设计包含人源化hA2-125C-H3型重链和人源化hA2-25C-L3型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-25C-H3/L3”(有时也称为“hA2-25C-H3/L3”)。设计包含人源化hA2-25C-H4型重链和人源化hA2-25C-L1型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-25C-H4/L1”(有时也称为“hA2-25C-H4/L1”)。设计包含人源化hA2-25C-H4型重链和人源化hA2-25C-L2型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-25C-H4/L2”(有时也称为“hA2-25C-H4/L2”)。设计包含人源化hA2-25C-H4型重链和人源化hA2-25C-L3型轻链的抗体并命名为“人源化hA2-25C-H4/L3”(有时也称为“hA2-25C-H4/L3”)。以上设计的抗体可根据实施例18进行制备并根据实施例2和4进行评价。

[0885] <实施例18>

[0886] 人源化A2-11E抗体(IgG1)和人源化A2-25C抗体(IgG1)载体的构建和制备

[0887] 18)-1人源化A2-11E的重链表达载体的构建

[0888] 18)-1-1人源化hA2-11E-H3型重链表达载体的构建

[0889] 合成包含编码人源化hA2-11E-H3可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-11E-H3可变区如SEQ ID NO:110所示的人源化hA2-11E-H3核苷酸序列的核苷酸编号36～428所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例8)-1-1相同的方法构建人源化hA2-11E-H3表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-11E-H3”。

[0890] 18)-1-2人源化hA2-11E-H4型重链表达载体的构建

[0891] 合成包含编码人源化hA2-11E-H4可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-11E-H4可变区如SEQ ID NO:112所示的人源化hA2-11E-H4核苷酸序列的核苷酸编号36～428所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例8)-1-1相同的方法构建人源化hA2-11E-H4表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-11E-H4”。

[0892] 18)-2人源化A2-11E的轻链表达载体的构建

[0893] 18)-2-1人源化hA2-11E-L2型轻链表达载体的构建

[0894] 合成包含编码人源化hA2-11E-L2可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-11E-L2可变区如SEQ ID NO:114所示的人源化hA2-11E-L2核苷酸序列的核苷酸编号37～399所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。以合成的DNA片段为模板,用KOD-Plus-(TOYOBO公司)和下述引物对扩增包含编码人源化hA2-11E-L2可变区的DNA序列的DNA片段,用限制性内切酶BsiWI切割在实施例5)-1中构建的嵌合和人源化抗体轻链表达载体pCMA-LK,使用In-Fusion HD PCR克隆试剂盒(Clontech公司)将该DNA片段插入到切割上述载体pCMA-LK而成的位点中,由此构建人源化hA2-11E-L2表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-11E-L2”。

[0895] 引物对

[0896] 5’-CTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGC-3’(CM-LKF;SEQ ID NO:134)

[0897] 5’-GGAGGGGGCGGCCACCGTACG-3’(KCL-Inf-R;SEQ ID NO:135)

[0898] 18)-2-2人源化hA2-11E-L3型轻链表达载体的构建

[0899] 合成包含编码人源化hA2-11E-L3可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-11E-L3可变区如SEQ ID NO:116所示的人源化hA2-11E-L3核苷酸序列的核苷酸编号37～399所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例18)-2-1相同的方法构建人源化hA2-11E-L3表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-11E-L3”。

[0900] 18)-2-3人源化hA2-11E-L4型轻链表达载体的构建

[0901] 合成包含编码人源化hA2-11E-L4可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-11E-L4可变区如SEQ ID NO:118所示的人源化hA2-11E-L4核苷酸序列的核苷酸编号37～339所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例18)-2-1相同的方法构建人源化hA2-11E-L4表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-11E-L4”。

[0902] 18)-3人源化A2-25C的重链表达载体的构建

[0903] 18)-3-1人源化hA2-25C-H3型重链表达载体的构建

[0904] 合成包含编码人源化hA2-25C-H3可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-25C-H3可变区如SEQ ID NO:120所示的人源化hA2-25C-H3核苷酸序列的核苷酸编号36～428所

示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例8)-1-1相同的方法构建人源化hA2-25C-H3表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-25C-H3”。

[0905] 18)-3-2人源化hA2-25C-H4型重链表达载体的构建

[0906] 合成包含编码人源化hA2-25C-H4可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-25C-H4可变区如SEQ ID NO:122所示的人源化hA2-25C-H4核苷酸序列的核苷酸编号36～428所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例8)-1-1相同的方法构建人源化hA2-25C-H4表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA-G1/hA2-25C-H4”。

[0907] 18)-4人源化A2-25C的轻链表达载体的构建

[0908] 18)-4-1人源化hA2-25C-L1型轻链表达载体的构建

[0909] 合成包含编码人源化hA2-25C-L1可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-25C-L1可变区如SEQ ID NO:124所示的人源化hA2-25C-L1核苷酸序列的核苷酸编号37～402所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例18)-2-1相同的方法构建人源化hA2-25C-L1表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-25C-L1”。

[0910] 18)-4-2人源化hA2-25C-L2型轻链表达载体的构建

[0911] 合成包含编码人源化hA2-25C-L2可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-25C-L2可变区如SEQ ID NO:126所示的人源化hA2-25C-L2核苷酸序列的核苷酸编号37～402所示(GENEART公司,人工基因合成服务)。按照与实施例18)-2-1相同的方法构建人源化hA2-25C-L2表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-25C-L2”。

[0912] 18)-4-3人源化hA2-25C-L3型轻链表达载体的构建

[0913] 合成包含编码人源化hA2-25C-L3可变区的DNA序列的DNA片段,该人源化hA2-25C-L3可变区如SEQ ID NO:128所示的人源化hA2-25C-L3核苷酸序列的核苷酸编号37～402所示(GENEART公司人工基因合成服务)。按照与实施例18)-2-1相同的方法构建人源化hA2-25C-L3表达载体。将得到的表达载体命名为“pCMA/hA2-25C-L3”。

[0914] 18)-5人源化A2-11E抗体(IgG1)和人源化A2-25C抗体(IgG1)的小规模生产

[0915] 按照操作指南,对FreeStyle 293F细胞(Invitrogen公司)进行传代和培养。

[0916] 将处于对数生长期的1×10^7个FreeStyle 293F细胞(Invitrogen公司)用FreeStyle293表达培养基(Invitrogen公司)稀释至9.6mL,然后接种到30mL方形贮藏瓶(Nalgene公司)中,在37℃、8％CO_2培养箱内以90rpm振荡1小时进行培养。将聚乙烯亚胺(Polyscience#24765)30μg溶解于Opti-Pro SFM(Invitrogen公司)200μL中,接着将用NucleoBond Xtra(TaKaRa公司)制备的轻链表达载体(6μg)和重链表达载体(4μg)添加到200μL的Opti-Pro SFM(Invitrogen公司)中。向聚乙烯亚胺/Opti-Pro SFM混合液200μL加入表达载体/Opti-Pro SFM混合液200μL并温和地进行搅拌,进一步在放置5分钟后添加FreeStyle 293F细胞。在37℃、8％CO_2培养箱、90rpm下振荡培养进行7天并将得到的培养上清用Minisart-Plus型滤器(Sartorius公司)过滤,作为评价用的样品。

[0917] 通过在实施例18)-1-1中构建的pCMA-G1/hA2-11E-H3与在实施例18)-2-1中构建的pCMA/hA2-11E-L2的组合,获得人源化hA2-11E-H3/L2。通过在实施例18)-1-1中构建的pCMA-G1/hA2-11E-H3与在实施例18)-2-2中构建的pCMA/hA2-11E-L3的组合,获得人源化hA2-11E-H3/L3。通过在实施例18)-1-1中构建的pCMA-G1/hA2-11E-H3与在实施例18)-2-3中构建的pCMA/hA2-11E-L4的组合,获得人源化hA2-11E-H3/L4。通过在实施例18)-1-2中构

建的pCMA-G1/hA2-11E-H4与在实施例18)-2-1中构建的pCMA/hA2-11E-L2的组合，获得人源化hA2-11E-H4/L2。通过在实施例18)-1-2中构建的pCMA-G1/hA2-11E-H4与在实施例18)-2-2中构建的pCMA/hA2-11E-L3的组合，获得人源化hA2-11E-H4/L3。通过在实施例18)-1-2中构建的pCMA-G1/hA2-11E-H4与在实施例18)-2-3中构建的pCMA/hA2-11E-L4的组合，获得人源化hA2-11E-H4/L4。

[0918] 通过在实施例18)-3-1中构建的pCMA-G1/hA2-25C-H3与在实施例18)-4-1中构建的pCMA-/hA2-25C-L1的组合，获得人源化hA2-25C-H3/L1。通过在实施例18)-3-1中构建的pCMA-G1/hA2-25C-H3与在实施例18)-4-2中构建的pCMA/hA2-25C-L2的组合，获得人源化hA2-25C-H3/L2。通过在实施例18)-3-1中构建的pCMA-G1/hA2-25C-H3与在实施例18)-4-3中构建的pCMA/hA2-25C-L3的组合，获得人源化hA2-25C-H3/L3。通过在实施例18)-3-2中构建的pCMA-G1/hA2-25C-H4与在实施例18)-4-1中构建的pCMA/hA2-25C-L1的组合，获得人源化hA2-25C-H4/L1。通过在实施例18)-3-2中构建的pCMA-G1/hA2-25C-H4与在实施例18)-4-2中构建的pCMA/hA2-25C-L2的组合，获得人源化hA2-25C-H4/L2。通过在实施例18)-3-2中构建的pCMA-G1/hA2-25C-H4与在实施例18)-4-3中构建的pCMA/hA2-25C-L3的组合，获得人源化hA2-25C-H4/L3。

[0919] <实施例19>

[0920] 人源化A2-11E抗体(IgG1)和人源化A2-25C抗体(IgG1)的体外(in vitro)活性评价

[0921] 19)-1由BMP的成骨细胞分化诱导测定的抗体评价

[0922] 在实施例18)-5中制备的人源化A2-11E抗体(IgG1)和人源化A2-25C抗体(IgG1)抑制通过内源性ALK2的细胞内信号的活性与实施例6)-2同样地按照对由BMP诱导的C2C12细胞向成骨细胞的分化诱导活性的效果进行分析。使用2.5ng/mL的GDF2/BMP9(RD-SYSTEMS公司制)进行分化诱导。

[0923] 结果如图48所示。可确认到人源化A2-11E抗体(IgG1)和人源化A2-25C抗体(IgG1)以剂量依赖性的方式抑制由BMP诱导的C2C12细胞向成骨细胞样细胞的分化。

[0924] <实施例20>

[0925] 人源化A2-11E抗体(IgG1)和人源化A2-25C抗体(IgG1)对人ALK2的结合性评价

[0926] 在实施例18)-5中制备的人源化A2-11E抗体(IgG1)和人源化A2-25C抗体(IgG1)与抗原(在实施例14)-1中制备的人ALK2胞外域)的解离常数测定通过如下捕获法进行：使用固定化在Biacore T200(GE Healthcare Bio-Sciences株式会社，日本)的抗人IgG(Fc)抗体捕获(capture)抗体作为配体，测定作为分析物的抗原。通过氨基偶联法将约1000RU抗人IgG(Fc)抗体(Human Antibody Capture kit，GE Healthcare Bio-Sciences株式会社)共价结合到传感芯片CM5(GE Healthcare Bio-Sciences株式会社)。也同样地固定化到参比池。作为运行缓冲液，使用HBS-EP+(10mM HEPES pH7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA、0.05％表面活性剂P20)。在固定化有抗人IgG(Fc)抗体的芯片上，添加含有抗体的培养上清约1分钟，然后以流速30μL/分添加抗原的稀释系列溶液(0.78-200nM)300秒，接着进行600秒的解离相监测。作为再生溶液，以流速10μL/分30秒添加3M $MgCl_2$。对于数据分析，利用分析软件(BIAevaluation software，version 1.0)的1:1结合模型计算结合速率常数ka、解离速率常数kd和解离常数(KD;KD＝kd/ka)。

[0927] 结果如表3所示。

[0928] [表3]

[0929] 人源化A2-11E抗体和人源化A2-25C

[0930] 抗体的解离常数

[0931]

	名称	KD(nM)
1	hA2-11E-H3/L2	63.1
2	hA2-11E-H3/L3	47.4
3	hA2-11E-H3/L4	31.3
4	hA2-11E-H4/L2	19.9
5	hA2-11E-H4/L3	18.5
6	hA2-11E-H4/L4	11.1
7	hA2-25C-H3/L1	115.8
8	hA2-25C-H3/L2	53.3
9	hA2-25C-H3/L3	64.4
10	hA2-25C-H4/L1	81.8
11	hA2-25C-H4/L2	56.7
12	hA2-25C-H4/L3	27.9

[0932] <实施例21>

[0933] A2-25C抗体的表位分析

[0934] 21)-1人嵌合cA2-25C Fab片段的制备

[0935] 使用木瓜蛋白酶(Sigma-Aldrich)将与实施例5)-8同样制备的人嵌合cA2-25C切割为Fab片段和Fc片段，将其添加到HiTrap蛋白A HP柱(GE Healthcare)。对以流出液(flow-through)级分回收的Fab片段进行浓缩。

[0936] 21)-2人嵌合cA2-25C Fab片段与ALK2-ECD复合体的结晶和结构分析

[0937] 将在实施例21)-1中得到的嵌合A2-25C Fab片段和按照实施例14制备的ALK2-ECD复合体浓缩到3.8mg/mL，用于结晶。结晶使用蒸气扩散法。向蛋白溶液0.5μL加入等量的沉淀剂溶液(0.15M Li_2SO_4，0.1M柠檬酸钠pH3.4，18％(w/v)PEG6,000，20％(v/v)乙二醇)并将所得溶液置于含有50μL沉淀溶液的密封容器，且使该两种溶液彼此没有接触，将该容器静置在20℃。3天后得到0.1mm×0.05mm×0.02mm的单晶。用液氮冷冻得到的结晶，在95K氮气流下利用SPring8的BL41XU收集X射线衍射数据。使用软件mosflm(CCP4:Collaborative Computational Project No.4)，从得到的衍射图像将衍射强度予以数值化，计算结晶结构因子。结晶属于四方晶系，空间群为$P2_12_12_1$，晶胞为a=74.49Å，b=128.05Å、c=147.73Å。使用得到的结构因子与Fab(利用以前进行晶体结构分析的抗体结构)的三维结构坐标进行分子置换法来确定相位。计算中使用软件phaser(CCP4:Collaborative Computational Project No.4)。晶体在不对称单元中含有2个复合物。使用软件refmac5(CCP4)进行结构精修，并使用软件coot进行模型校正。重复进行该操作，得到2.1Å分辨率的最终R因子为22.4％、自由R因子为25.3％。模型由2个复合物组成，并含有A2-25C Fab的L链氨基酸残基1-212、H链氨基酸残基1-219、ALK2-ECD的氨基酸残基12-52和66-88、及411个水分子。从经

确定的2个A2-25C Fab起共同位于4Å以内的ALK2-ECD的氨基酸残基如下所示:Glu18,Gly19,Leu20,Ile39,Asp41,Gly42,Phe43,His44,Val45,Tyr46,Thr84。图49中表示复合体全体的带状模型。

[0938] <实施例22>

[0939] A2-27D对各种突变ALK2的抑制活性评价

[0940] A2-27对迄今为止从FOP病例鉴定出的13种突变体(L196P、delP197_F198insL、R202I、R206H、Q207E、R258S、R258G、G325A、G328E、G328R、G328W、G356D和R375P)、及野生型ALK2的抑制活性与实施例2)-3同样地通过用HEK293A细胞的BMP特异性的Id1WT4F-luc萤光素酶报告基因进行分析。基因导入后,2.5小时后将培养基更换为含10ng/mL的BMP7(Milteney公司制)和3μg/mL的大鼠IgG1(R&D Systems公司制)或A2-27D的新鲜OPTI-MEM I(LifeTechnologies公司制)并过夜培养。次日,利用Dual-Glo双萤光素酶检测系统(Promega公司制)测定萤光素酶活性。

[0941] 结果如图50所示。可确认到单克隆抗体A2-27D在野生型和13种全部的突变体抑制由BMP7诱导的萤光素酶活性(图50)。

[0942] 工业的可利用性

[0943] 本发明的嵌合或人源化抗ALK2抗体具有抑制由ALK2介导的BMP信号转导的作用,含有该抗ALK2抗体的药物组合物能够作为异位骨化和/或骨营养不良、贫血、或者扩散型内因性脑桥神经胶质瘤(DIPG)的治疗或预防剂。

[0944] 序列表自由文本

[0945] SEQ ID NO:1:编码A2-11E重链可变区的cDNA的核苷酸序列

[0946] SEQ ID NO:2:A2-11E重链可变区的氨基酸序列

[0947] SEQ ID NO:3:编码A2-11E轻链可变区的cDNA的核苷酸序列

[0948] SEQ ID NO:4:A2-11E轻链可变区的氨基酸序列

[0949] SEQ ID NO:5:编码A2-15A重链可变区的cDNA的核苷酸序列

[0950] SEQ ID NO:6:A2-15A重链可变区的氨基酸序列

[0951] SEQ ID NO:7:编码A2-15A轻链可变区的cDNA的核苷酸序列

[0952] SEQ ID NO:8:A2-15A轻链可变区的氨基酸序列

[0953] SEQ ID NO:9:编码A2-25C重链可变区的cDNA的核苷酸序列

[0954] SEQ ID NO:10:A2-25C重链可变区的氨基酸序列

[0955] SEQ ID NO:11:编码A2-25C轻链可变区的cDNA的核苷酸序列

[0956] SEQ ID NO:12:A2-25C轻链可变区的氨基酸序列

[0957] SEQ ID NO:13:编码A2-27D重链可变区的cDNA的核苷酸序列

[0958] SEQ ID NO:14:A2-27D重链可变区的氨基酸序列

[0959] SEQ ID NO:15:编码A2-27D轻链可变区的cDNA的核苷酸序列

[0960] SEQ ID NO:16:A2-27D轻链可变区的氨基酸序列

[0961] SEQ ID NO:17:含有编码人κ链分泌信号和人κ链恒定区的氨基酸序列的DNA片段的核苷酸序列

[0962] SEQ ID NO:18:含有编码人重链分泌信号和人IgG1恒定区的氨基酸序列的DNA片段的核苷酸序列

[0963] SEQ ID NO:19:人嵌合cA2-15A重链的核苷酸序列

[0964] SEQ ID NO:20:人嵌合cA2-15A重链的氨基酸序列

[0965] SEQ ID NO:21:人嵌合cA2-15A轻链的核苷酸序列

[0966] SEQ ID NO:22:人嵌合cA2-15A轻链的氨基酸序列

[0967] SEQ ID NO:23:人嵌合cA2-27D重链的核苷酸序列

[0968] SEQ ID NO:24:人嵌合cA2-27D重链的氨基酸序列

[0969] SEQ ID NO:25:人嵌合cA2-27D轻链的核苷酸序列

[0970] SEQ ID NO:26:人嵌合cA2-27D轻链的氨基酸序列

[0971] SEQ ID NO:27:人源化hA2-15A-H1的核苷酸序列

[0972] SEQ ID NO:28:人源化hA2-15A-H1的氨基酸序列

[0973] SEQ ID NO:29:人源化hA2-15A-H4的核苷酸序列

[0974] SEQ ID NO:30:人源化hA2-15A-H4的氨基酸序列

[0975] SEQ ID NO:31:含有编码人源化hA2-15A-L1的序列的DNA片段的核苷酸序列

[0976] SEQ ID NO:32:人源化hA2-15A-L1的氨基酸序列

[0977] SEQ ID NO:33:含有编码人源化hA2-15A-L4的序列的DNA片段的核苷酸序列

[0978] SEQ ID NO:34:人源化hA2-15A-L4的氨基酸序列

[0979] SEQ ID NO:35:含有编码人源化hA2-15A-L6的序列的DNA片段的核苷酸序列

[0980] SEQ ID NO:36:人源化hA2-15A-L6的氨基酸序列

[0981] SEQ ID NO:37:含有编码人源化hA2-15A-L7的序列的DNA片段的核苷酸序列

[0982] SEQ ID NO:38:人源化hA2-15A-L7的氨基酸序列

[0983] SEQ ID NO:39:人源化hA2-27D-H1的核苷酸序列

[0984] SEQ ID NO:40:人源化hA2-27D-H1的氨基酸序列

[0985] SEQ ID NO:41:人源化hA2-27D-H2的核苷酸序列

[0986] SEQ ID NO:42:人源化hA2-27D-H2的氨基酸序列

[0987] SEQ ID NO:43:人源化hA2-27D-H3的核苷酸序列

[0988] SEQ ID NO:44:人源化hA2-27D-H3的氨基酸序列

[0989] SEQ ID NO:45:人源化hA2-27D-H4的核苷酸序列

[0990] SEQ ID NO:46:人源化hA2-27D-H4的氨基酸序列

[0991] SEQ ID NO:47:人源化hA2-27D-H5的核苷酸序列

[0992] SEQ ID NO:48:人源化hA2-27D-H5的氨基酸序列

[0993] SEQ ID NO:49:含有编码人源化hA2-27D-L1的序列的DNA片段的核苷酸序列

[0994] SEQ ID NO:50:人源化hA2-27D-L1的氨基酸序列

[0995] SEQ ID NO:51:含有编码人源化hA2-27D-L2的序列的DNA片段的核苷酸序列

[0996] SEQ ID NO:52:人源化hA2-27D-L2的氨基酸序列

[0997] SEQ ID NO:53:含有编码人源化hA2-27D-L3的序列的DNA片段的核苷酸序列

[0998] SEQ ID NO:54:人源化hA2-27D-L3的氨基酸序列

[0999] SEQ ID NO:55:含有编码人源化hA2-27D-L4的序列的DNA片段的核苷酸序列

[1000] SEQ ID NO:56:人源化hA2-27D-L4的氨基酸序列

[1001] SEQ ID NO:57:含有编码人源化hA2-27D-L5的序列的DNA片段的核苷酸序列

[1002] SEQ ID NO:58:人源化hA2-27D-L5的氨基酸序列

[1003] SEQ ID NO:59:A2-15A的CDRH1的氨基酸序列

[1004] SEQ ID NO:60:A2-15A的CDRH2的氨基酸序列

[1005] SEQ ID NO:61:A2-15A的CDRH3的氨基酸序列

[1006] SEQ ID NO:62:A2-15A的CDRL1的氨基酸序列

[1007] SEQ ID NO:63:A2-15A的CDRL2的氨基酸序列

[1008] SEQ ID NO:64:A2-15A的CDRL3的氨基酸序列

[1009] SEQ ID NO:65:A2-27D的CDRH1的氨基酸序列

[1010] SEQ ID NO:66:A2-27D的CDRH2的氨基酸序列

[1011] SEQ ID NO:67:A2-27D的CDRH3的氨基酸序列

[1012] SEQ ID NO:68:A2-27D的CDRL1的氨基酸序列

[1013] SEQ ID NO:69:A2-27D的CDRL2的氨基酸序列

[1014] SEQ ID NO:70:A2-27D的CDRL3的氨基酸序列

[1015] SEQ ID NO:71:人源化hA2-15A-L6的CDRL2的氨基酸序列

[1016] SEQ ID NO:72:A2-11E的CDRH1的氨基酸序列

[1017] SEQ ID NO:73:A2-11E的CDRH2的氨基酸序列

[1018] SEQ ID NO:74:A2-11E的CDRH3的氨基酸序列

[1019] SEQ ID NO:75:A2-11E的CDRL1的氨基酸序列

[1020] SEQ ID NO:76:A2-11E的CDRL2的氨基酸序列

[1021] SEQ ID NO:77:A2-11E的CDRL3的氨基酸序列

[1022] SEQ ID NO:78:A2-25C的CDRH1的氨基酸序列

[1023] SEQ ID NO:79:A2-25C的CDRH2的氨基酸序列

[1024] SEQ ID NO:80:A2-25C的CDRH3的氨基酸序列

[1025] SEQ ID NO:81:A2-25C的CDRL1的氨基酸序列

[1026] SEQ ID NO:82:A2-25C的CDRL2的氨基酸序列

[1027] SEQ ID NO:83:A2-25C的CDRL3的氨基酸序列

[1028] SEQ ID NO:84:人ALK2的氨基酸序列

[1029] SEQ ID NO:85:人ALK2的核苷酸序列

[1030] SEQ ID NO:86:小鼠ALK2的氨基酸序列

[1031] SEQ ID NO:87:小鼠ALK2的核苷酸序列

[1032] SEQ ID NO:88～102:引物

[1033] SEQ ID NO:103:含有编码人重链信号序列和人IgG2恒定区的氨基酸序列的DNA片段的核苷酸序列

[1034] SEQ ID NO:104:人源化hA2-15A-H4 IgG2型的核苷酸序列

[1035] SEQ ID NO:105:人源化hA2-15A-H4 IgG2型的氨基酸序列

[1036] SEQ ID NO:106:人源化hA2-27D-H2-LALA的核苷酸序列

[1037] SEQ ID NO:107:人源化hA2-27D-H2-LALA的氨基酸序列

[1038] SEQ ID NO:108:人源化hA2-27D-H3-LALA的核苷酸序列

[1039] SEQ ID NO:109:人源化hA2-27D-H3-LALA的氨基酸序列

[1040] SEQ ID NO:110:人源化hA2-11E-H3的核苷酸序列

[1041] SEQ ID NO:111:人源化hA2-11E-H3的氨基酸序列

[1042] SEQ ID NO:112:人源化hA2-11E-H4的核苷酸序列

[1043] SEQ ID NO:113:人源化hA2-11E-H4的氨基酸序列

[1044] SEQ ID NO:114:人源化hA2-11E-L2的核苷酸序列

[1045] SEQ ID NO:115:人源化hA2-11E-L2的氨基酸序列

[1046] SEQ ID NO:116:人源化hA2-11E-L3的核苷酸序列

[1047] SEQ ID NO:117:人源化hA2-11E-L3的氨基酸序列

[1048] SEQ ID NO:118:人源化hA2-11E-L4的核苷酸序列

[1049] SEQ ID NO:119:人源化hA2-11E-L4的氨基酸序列

[1050] SEQ ID NO:120:人源化hA2-25C-H3的核苷酸序列

[1051] SEQ ID NO:121:人源化hA2-25C-H3的氨基酸序列

[1052] SEQ ID NO:122:人源化hA2-25C-H4的核苷酸序列

[1053] SEQ ID NO:123:人源化hA2-25C-H4的氨基酸序列

[1054] SEQ ID NO:124:人源化hA2-25C-L1的核苷酸序列

[1055] SEQ ID NO:125:人源化hA2-25C-L1的氨基酸序列

[1056] SEQ ID NO:126:人源化hA2-25C-L2的核苷酸序列

[1057] SEQ ID NO:127:人源化hA2-25C-L2的氨基酸序列

[1058] SEQ ID NO:128:人源化hA2-25C-L3的核苷酸序列

[1059] SEQ ID NO:129:人源化hA2-25C-L3的氨基酸序列

[1060] SEQ ID NO:130～135:引物

[1061] 本说明书中引用的全部出版物、专利及专利申请直接通过引用以其整体并入本说明书中。

[0001] 序列表

[0002] <110> 学校法人埼玉医科大学

[0003] 第一三共株式会社

[0004] <120> 抗ALK2抗体

[0005] <130> PH-6427-PCT

[0006] <150> JP 2015-017882

[0007] <151> 2015-01-30

[0008] <160> 135

[0009] <170> PatentIn version 3.5

[0010] <210> 1

[0011] <211> 354

[0012] <212> DNA

[0013] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[0014] <220>

[0015] <221> V_region

[0016] <222> (1)..(354)

[0017] <400> 1

[0018] gaggtgcagc tagtggagac tgggggaggc ttagtgcagc ctggaaggtc tctgaaactc 60

[0019] tcctgtgtag cctctggatt cacattcagt aactactaca tgtactggat ccgccaggct 120

[0020] ccagggaagg gactggagtg gatttcatcc attaatactg atggtggtag cacttactat 180

[0021] ccagactccg tgaagggccg attcgctatc tccagagata atgcagaaaa caccgtatac 240

[0022] ctgcaaatga acagtctgag gtctgaggac acagcgactt attactgtgc aaaatccact 300

[0023] ccaaatatcc ctcttgctta ctggggccaa ggcactctgg tcactgtctc ttca 354

[0024] <210> 2

[0025] <211> 118

[0026] <212> PRT

[0027] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[0028] <220>

[0029] <221> V_region

[0030] <222> (1)..(118)

[0031] <400> 2

[0032] Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

[0033] 1 5 10 15

[0034] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

[0035] 20 25 30

[0036] Tyr Met Tyr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

[0037] 35 40 45

[0038] Ser Ser Ile Asn Thr Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

[0039] 50 55 60

[0040] Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Val Tyr

[0041] 65 70 75 80

[0042] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
[0043] 85 90 95
[0044] Ala Lys Ser Thr Pro Asn Ile Pro Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
[0045] 100 105 110
[0046] Leu Val Thr Val Ser Ser
[0047] 115
[0048] <210> 3
[0049] <211> 324
[0050] <212> DNA
[0051] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[0052] <220>
[0053] <221> V_region
[0054] <222> (1)..(324)
[0055] <400> 3
[0056] gacatccaga tgacccagtc tccttcactc ctgtcagcat ctgtgggaga cagagtcact 60
[0057] ctcagctgca aagcaagtca gaatatttac aagtacttaa actggttcca gcaaaagctt 120
[0058] ggagaagctc ccaaactcct gatatattat tcaaacagtt tgcaaacggg catcccatca 180
[0059] aggttcagtg gcagtggatc tggtactgat ttcacactta ccatcagcag cctgcagcct 240
[0060] gaagatgttg ccatatattt ctgctttcag tacagcagtg ggcccacgtt tggacctggg 300
[0061] accaagctgg aactgaaacg ggct 324
[0062] <210> 4
[0063] <211> 108
[0064] <212> PRT
[0065] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[0066] <220>
[0067] <221> V_region
[0068] <222> (1)..(108)
[0069] <400> 4
[0070] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0071] 1 5 10 15
[0072] Asp Arg Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Tyr
[0073] 20 25 30
[0074] Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Leu Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[0075] 35 40 45
[0076] Tyr Tyr Ser Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0077] 50 55 60
[0078] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0079] 65 70 75 80
[0080] Glu Asp Val Ala Ile Tyr Phe Cys Phe Gln Tyr Ser Ser Gly Pro Thr
[0081] 85 90 95
[0082] Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala
[0083] 100 105

[0084] <210> 5

[0085] <211> 369

[0086] <212> DNA

[0087] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[0088] <220>

[0089] <221> V_region

[0090] <222> (1)..(369)

[0091] <400> 5

[0092] gaggtgcagc tggtggagtc tggcggaggc ttagtacagc ctggaaggtc cctgaaactc 60

[0093] tcctgtgcag cctcaggatt cactttcagt cactattaca tggcctgggt ccgccaggct 120

[0094] ccaacgaagg gtctggagtg ggtcgcatcc attactaata gtggtggtag tattaactat 180

[0095] cgagactccg tcaagggccg attcactatc tccagagata atgcaaaaag caccctatac 240

[0096] ctgcaaatgg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aagagaaggt 300

[0097] ggagaaaact acggagggta tcccccgttt gcttactggg gccaaggcac tctggtcact 360

[0098] gtctcttca 369

[0099] <210> 6

[0100] <211> 123

[0101] <212> PRT

[0102] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[0103] <220>

[0104] <221> V_region

[0105] <222> (1)..(123)

[0106] <400> 6

[0107] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

[0108] 1 5 10 15

[0109] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr

[0110] 20 25 30

[0111] Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0112] 35 40 45

[0113] Ala Ser Ile Thr Asn Ser Gly Gly Ser Ile Asn Tyr Arg Asp Ser Val

[0114] 50 55 60

[0115] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Thr Leu Tyr

[0116] 65 70 75 80

[0117] Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys

[0118] 85 90 95

[0119] Thr Arg Glu Gly Gly Glu Asn Tyr Gly Gly Tyr Pro Pro Phe Ala Tyr

[0120] 100 105 110

[0121] Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[0122] 115 120

[0123] <210> 7

[0124] <211> 336

[0125] <212> DNA

[0126] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[0127] <220>

[0128] <221> V_region

[0129] <222> (1)..(336)

[0130] <400> 7

[0131] gacattgtct tgacccagtc tcctgctttg gctgtgtctc tagggcagag ggccacaatc 60

[0132] tcctgtaggg ccaaccaagg tgtcagtcta tctagatata atcttatgca ctggtaccaa 120

[0133] cagaaaccag gacagaaacc caaactcctc atctatcgtt catccaacct agcatctggg 180

[0134] atccctgcca ggttcagtgg cagtgggtct gggacagact tcaccctcac catcaatcct 240

[0135] gtgcaggctg atgatattgc aacctattac tgtcagcaga gtagggagtc tccgttcacg 300

[0136] tttggagctg ggaccaagct ggaactgaaa cgggct 336

[0137] <210> 8

[0138] <211> 112

[0139] <212> PRT

[0140] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[0141] <220>

[0142] <221> V_region

[0143] <222> (1)..(112)

[0144] <400> 8

[0145] Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Ala Val Ser Leu Gly Gln

[0146] 1 5 10 15

[0147] Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Asn Gln Gly Val Ser Leu Ser Arg

[0148] 20 25 30

[0149] Tyr Asn Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Lys Pro Lys

[0150] 35 40 45

[0151] Leu Leu Ile Tyr Arg Ser Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg

[0152] 50 55 60

[0153] Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Pro

[0154] 65 70 75 80

[0155] Val Gln Ala Asp Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Glu

[0156] 85 90 95

[0157] Ser Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala

[0158] 100 105 110

[0159] <210> 9

[0160] <211> 354

[0161] <212> DNA

[0162] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[0163] <220>

[0164] <221> V_region

[0165] <222> (1)..(354)

[0166] <400> 9

[0167] gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttagtgcagc ctggaggatc cctgaaactc 60

[0168] tcctgtgcag cctcaggatt cactttcagt tactatgcca tgtcttgggt ctgccaggct 120
[0169] ccaacgaagg gtctggagtg ggtcgcatcc attagtcgtg gtggtgataa cacttactat 180
[0170] cgagacaccg tgaagggccg attcactacc tccagagata atgcaaaaaa caccctatac 240
[0171] ctgcaaatgg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtgc aagactgaat 300
[0172] tataacaact actttgatta ctggggccaa ggagtcatgg tcacagtctc ctca 354
[0173] <210> 10
[0174] <211> 118
[0175] <212> PRT
[0176] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[0177] <220>
[0178] <221> V_region
[0179] <222> (1)..(118)
[0180] <400> 10
[0181] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0182] 1 5 10 15
[0183] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
[0184] 20 25 30
[0185] Ala Met Ser Trp Val Cys Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0186] 35 40 45
[0187] Ala Ser Ile Ser Arg Gly Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Thr Val
[0188] 50 55 60
[0189] Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
[0190] 65 70 75 80
[0191] Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
[0192] 85 90 95
[0193] Ala Arg Leu Asn Tyr Asn Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val
[0194] 100 105 110
[0195] Met Val Thr Val Ser Ser
[0196] 115
[0197] <210> 11
[0198] <211> 327
[0199] <212> DNA
[0200] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[0201] <220>
[0202] <221> V_region
[0203] <222> (1)..(327)
[0204] <400> 11
[0205] gacatccaga tgacacagtc tcctgcctcc ctgtctgcat ctctggaaga aattgtcacc 60
[0206] atcacatgcc aggcaagcca ggacattggt aattggttat catggtatca gcagaaacca 120
[0207] gggaaatctc ctcagctcct gatctatggt gcaaccagct tggcagatgg ggtcccatca 180
[0208] aggttcagcg gcagtagatc tggcacacag tattctctta agatcagcag actacgggtt 240
[0209] gaagatattg gaatctatta ctgtctacag gcttatagtg ctccattcac gttcggctca 300

[0210] gggacgaagt tggaaataaa acgggct 327

[0211] <210> 12

[0212] <211> 109

[0213] <212> PRT

[0214] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[0215] <220>

[0216] <221> V_region

[0217] <222> (1)..(109)

[0218] <400> 12

[0219] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Leu Glu

[0220] 1 5 10 15

[0221] Glu Ile Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Trp

[0222] 20 25 30

[0223] Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile

[0224] 35 40 45

[0225] Tyr Gly Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0226] 50 55 60

[0227] Ser Arg Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Ser Arg Leu Arg Val

[0228] 65 70 75 80

[0229] Glu Asp Ile Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala Tyr Ser Ala Pro Phe

[0230] 85 90 95

[0231] Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala

[0232] 100 105

[0233] <210> 13

[0234] <211> 363

[0235] <212> DNA

[0236] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[0237] <220>

[0238] <221> V_region

[0239] <222> (1)..(363)

[0240] <400> 13

[0241] gaggtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttagtacagc ctggaaggtc cctgaaactc 60

[0242] tcctgtttag cctctggatc cactttcagt aactatggaa tgaaatggat tcgccaggct 120

[0243] ccagggaagg ggctggagtg ggttgcatct attagtagaa gtagcactta catctactat 180

[0244] gcagacacag tgaagggccg atttaccatc tccagagaca atgccaggaa caccctgtac 240

[0245] ctgcaaatga ccagtctgag gtctgaagac acagccttgt attactgtgc ggcagctata 300

[0246] tctacccccc tctactggta ctttgacttc tggggcccag gaaccgtggt caccgtgtcc 360

[0247] tca 363

[0248] <210> 14

[0249] <211> 121

[0250] <212> PRT

[0251] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[0252] <220>
[0253] <221> V_region
[0254] <222> (1)..(121)
[0255] <400> 14
[0256] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[0257] 1 5 10 15
[0258] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Leu Ala Ser Gly Ser Thr Phe Ser Asn Tyr
[0259] 20 25 30
[0260] Gly Met Lys Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0261] 35 40 45
[0262] Ala Ser Ile Ser Arg Ser Ser Thr Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
[0263] 50 55 60
[0264] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Leu Tyr
[0265] 65 70 75 80
[0266] Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
[0267] 85 90 95
[0268] Ala Ala Ala Ile Ser Thr Pro Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Phe Trp Gly
[0269] 100 105 110
[0270] Pro Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
[0271] 115 120
[0272] <210> 15
[0273] <211> 327
[0274] <212> DNA
[0275] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[0276] <220>
[0277] <221> V_region
[0278] <222> (1)..(327)
[0279] <400> 15
[0280] gaaattgttc tcactcagtc tccaacaacc atggctgcat ctccggggga aaaggtcacc 60
[0281] ctcaactgcc ttgccagctc aagtgtaagt tacatgacct ggtaccagca gaagtcaggc 120
[0282] gcctccccca aactctggat ttatggcaca tccaacctag cttctggagt cccaaatcgc 180
[0283] ttcagtggca gtgggtctgg gacatcttat tcgctcgcaa tcagctccat ggaggctgaa 240
[0284] gatgttgcaa cttattactg cctgcacttg actagttacc caccgtacac gtttggagct 300
[0285] gggaccaagc tggaactgaa acgggct 327
[0286] <210> 16
[0287] <211> 109
[0288] <212> PRT
[0289] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[0290] <220>
[0291] <221> V_region
[0292] <222> (1)..(109)
[0293] <400> 16

[0294] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Thr Thr Met Ala Ala Ser Pro Gly
[0295] 1 5 10 15
[0296] Glu Lys Val Thr Leu Asn Cys Leu Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
[0297] 20 25 30
[0298] Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Ala Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
[0299] 35 40 45
[0300] Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser
[0301] 50 55 60
[0302] Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Ala Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
[0303] 65 70 75 80
[0304] Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu His Leu Thr Ser Tyr Pro Pro Tyr
[0305] 85 90 95
[0306] Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala
[0307] 100 105
[0308] <210> 17
[0309] <211> 449
[0310] <212> DNA
[0311] <213> 智人(Homo sapiens)
[0312] <400> 17
[0313] gcctccggac tctagagcca ccatggtgct gcagacccag gtgttcatct ccctgctgct 60
[0314] gtggatctcc ggcgcgtacg gcgatatcgt gatgattaaa cgtacggtgg ccgccccctc 120
[0315] cgtgttcatc ttccccccct ccgacgagca gctgaagtcc ggcaccgcct ccgtggtgtg 180
[0316] cctgctgaat aacttctacc ccagagaggc caaggtgcag tggaaggtgg acaacgccct 240
[0317] gcagtccggg aactcccagg agagcgtgac cgagcaggac agcaaggaca gcacctacag 300
[0318] cctgagcagc accctgaccc tgagcaaagc cgactacgag aagcacaagg tgtacgcctg 360
[0319] cgaggtgacc caccagggcc tgagctcccc cgtcaccaag agcttcaaca gggggagtg 420
[0320] ttaggggccc gtttaaacgg gggaggcta 449
[0321] <210> 18
[0322] <211> 1132
[0323] <212> DNA
[0324] <213> 智人(Homo sapiens)
[0325] <400> 18
[0326] gcctccggac tctagagcca ccatgaaaca cctgtggttc ttcctcctgc tggtggcagc 60
[0327] tcccagatgg gtgctgagcc aggtgcaatt gtgcaggcgg ttagctcagc ctccaccaag 120
[0328] ggcccaagcg tcttcccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc 180
[0329] ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaacccgtga ccgtgagctg gaactcaggc 240
[0330] gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc 300
[0331] ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 360
[0332] gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac 420
[0333] aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tgggggggacc ctcagtcttc 480
[0334] ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 540
[0335] gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 600

[0336] gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg 660

[0337] gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 720

[0338] aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc 780

[0339] cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 840

[0340] caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 900

[0341] gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac 960

[0342] ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac 1020

[0343] gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacaccca gaagagcctc 1080

[0344] tccctgtctc ccggcaaatg agatatcggg cccgtttaaa cgggggaggc ta 1132

[0345] <210> 19

[0346] <211> 1416

[0347] <212> DNA

[0348] <213> 人工的

[0349] <220>

[0350] <223> 人嵌合cA2-15A的重链核苷酸序列

[0351] <220>

[0352] <221> sig_peptide

[0353] <222> (1)..(57)

[0354] <220>

[0355] <221> V_region

[0356] <222> (58)..(426)

[0357] <220>

[0358] <221> C_region

[0359] <222> (427)..(1416)

[0360] <400> 19

[0361] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

[0362] gtgcagctgg tggagtctgg cggaggctta gtacagcctg gaaggtccct gaaactctcc 120

[0363] tgtgcagcct caggattcac tttcagtcac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180

[0364] acgaagggtc tggagtgggt cgcatccatt actaatagtg gtggtagtat taactatcga 240

[0365] gactccgtca agggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcac cctatacctg 300

[0366] caaatggaca gtctgaggtc tgaggacacg gccacttatt actgtacaag agaaggtgga 360

[0367] gaaaactacg gagggtatcc cccgtttgct tactggggcc aaggcactct ggtcactgtc 420

[0368] agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc ttccccctgg caccctcctc caagagcacc 480

[0369] tctggcggca cagccgccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga acccgtgacc 540

[0370] gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctgcag 600

[0371] tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

[0372] cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt 720

[0373] gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccct gcccagcacc tgaactcctg 780

[0374] gggggaccct cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840

[0375] acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900

[0376] aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccccg ggaggagcag 960

[0377] tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020

[0378] ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1080
[0379] atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140
[0380] gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200
[0381] gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc cagcccgaga acaactacaa gaccacccct 1260
[0382] cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320
[0383] aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380
[0384] tacacccaga agagcctctc cctgtctccc ggcaaa 1416
[0385] <210> 20
[0386] <211> 472
[0387] <212> PRT
[0388] <213> 人工的
[0389] <220>
[0390] <223> 人嵌合cA2-15A的重链氨基酸序列
[0391] <220>
[0392] <221> SIGNAL
[0393] <222> (1)..(19)
[0394] <220>
[0395] <221> V_region
[0396] <222> (20)..(142)
[0397] <220>
[0398] <221> C_region
[0399] <222> (143)..(472)
[0400] <400> 20
[0401] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
[0402] 1 5 10 15
[0403] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[0404] 20 25 30
[0405] Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
[0406] 35 40 45
[0407] Ser His Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu
[0408] 50 55 60
[0409] Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Asn Ser Gly Gly Ser Ile Asn Tyr Arg
[0410] 65 70 75 80
[0411] Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
[0412] 85 90 95
[0413] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr
[0414] 100 105 110
[0415] Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Gly Gly Glu Asn Tyr Gly Gly Tyr Pro Pro
[0416] 115 120 125
[0417] Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
[0418] 130 135 140
[0419] Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr

[0420] 145 150 155 160
[0421] Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
[0422] 165 170 175
[0423] Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
[0424] 180 185 190
[0425] His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
[0426] 195 200 205
[0427] Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
[0428] 210 215 220
[0429] Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
[0430] 225 230 235 240
[0431] Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
[0432] 245 250 255
[0433] Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
[0434] 260 265 270
[0435] Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
[0436] 275 280 285
[0437] Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
[0438] 290 295 300
[0439] Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
[0440] 305 310 315 320
[0441] Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
[0442] 325 330 335
[0443] Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
[0444] 340 345 350
[0445] Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
[0446] 355 360 365
[0447] Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
[0448] 370 375 380
[0449] Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
[0450] 385 390 395 400
[0451] Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
[0452] 405 410 415
[0453] Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
[0454] 420 425 430
[0455] Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
[0456] 435 440 445
[0457] Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
[0458] 450 455 460
[0459] Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0460] 465 470
[0461] <210> 21

[0462] <211> 711

[0463] <212> DNA

[0464] <213> 人工的

[0465] <220>

[0466] <223> 人嵌合cA2-15A的轻链核苷酸序列

[0467] <220>

[0468] <221> sig_peptide

[0469] <222> (1)..(60)

[0470] <220>

[0471] <221> V_region

[0472] <222> (61)..(396)

[0473] <220>

[0474] <221> C_region

[0475] <222> (397)..(711)

[0476] <400> 21

[0477] atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

[0478] gacattgtct tgacccagtc tcctgctttg gctgtgtctc tagggcagag ggccacaatc 120

[0479] tcctgtaggg ccaaccaagg tgtcagtcta tctagatata atcttatgca ctggtaccaa 180

[0480] cagaaaccag gacagaaacc caaactcctc atctatcgtt catccaacct agcatctggg 240

[0481] atccctgcca ggttcagtgg cagtgggtct gggacagact tcaccctcac catcaatcct 300

[0482] gtgcaggctg atgatattgc aacctattac tgtcagcaga gtagggagtc tccgttcacg 360

[0483] tttggagctg ggaccaagct ggaactgaaa cgggctgtgg ccgccccctc cgtgttcatc 420

[0484] ttcccccccct ccgacgagca gctgaagtcc ggcaccgcct ccgtggtgtg cctgctgaat 480

[0485] aacttctacc ccagagaggc caaggtgcag tggaaggtgg acaacgccct gcagtccggg 540

[0486] aactcccagg agagcgtgac cgagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctgagcagc 600

[0487] accctgaccc tgagcaaagc cgactacgag aagcacaagg tgtacgcctg cgaggtgacc 660

[0488] caccagggcc tgagctcccc cgtcaccaag agcttcaaca gggggggagtg t 711

[0489] <210> 22

[0490] <211> 237

[0491] <212> PRT

[0492] <213> 人工的

[0493] <220>

[0494] <223> 人嵌合cA2-15A的轻链氨基酸序列

[0495] <220>

[0496] <221> SIGNAL

[0497] <222> (1)..(20)

[0498] <220>

[0499] <221> V_region

[0500] <222> (21)..(132)

[0501] <220>

[0502] <221> C_region

[0503] <222> (133)..(237)

[0504] <400> 22

[0505] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

[0506] 1 5 10 15

[0507] Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Ala Val

[0508] 20 25 30

[0509] Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Asn Gln Gly Val

[0510] 35 40 45

[0511] Ser Leu Ser Arg Tyr Asn Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly

[0512] 50 55 60

[0513] Gln Lys Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ser Ser Asn Leu Ala Ser Gly

[0514] 65 70 75 80

[0515] Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu

[0516] 85 90 95

[0517] Thr Ile Asn Pro Val Gln Ala Asp Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln

[0518] 100 105 110

[0519] Gln Ser Arg Glu Ser Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu

[0520] 115 120 125

[0521] Leu Lys Arg Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser

[0522] 130 135 140

[0523] Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn

[0524] 145 150 155 160

[0525] Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala

[0526] 165 170 175

[0527] Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys

[0528] 180 185 190

[0529] Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp

[0530] 195 200 205

[0531] Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu

[0532] 210 215 220

[0533] Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

[0534] 225 230 235

[0535] <210> 23

[0536] <211> 1410

[0537] <212> DNA

[0538] <213> 人工的

[0539] <220>

[0540] <223> 人嵌合cA2-27D的重链核苷酸序列

[0541] <220>

[0542] <221> sig_peptide

[0543] <222> (1)..(57)

[0544] <220>

[0545] <221> V_region

[0546] <222> (58)..(420)

[0547] <220>

[0548] <221> C_region

[0549] <222> (421)..(1410)

[0550] <400> 23

[0551] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

[0552] gtgcagctgg tggagtctgg aggaggctta gtacagcctg gaaggtccct gaaactctcc 120

[0553] tgtttagcct ctggatccac tttcagtaac tatggaatga aatggattcg ccaggctcca 180

[0554] gggaaggggc tggagtgggt tgcatctatt agtagaagta gcacttacat ctactatgca 240

[0555] gacacagtga agggccgatt taccatctcc agagacaatg ccaggaacac cctgtacctg 300

[0556] caaatgacca gtctgaggtc tgaagacaca gccttgtatt actgtgcggc agctatatct 360

[0557] acccccttct actggtactt tgacttctgg ggcccaggaa ccgtggtcac cgtgagctca 420

[0558] gcctccacca agggcccaag cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggc 480

[0559] ggcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaacccgt gaccgtgagc 540

[0560] tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgctgtcct gcagtcctca 600

[0561] ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660

[0562] tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720

[0563] aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccctgcccag cacctgaact cctgggggga 780

[0564] ccctcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840

[0565] gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900

[0566] tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagtacaac 960

[0567] agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020

[0568] gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080

[0569] aaagccaaag gccagccccg ggaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140

[0570] atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200

[0571] gccgtggagt gggagagcaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1260

[0572] ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320

[0573] cagcagggca acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacc 1380

[0574] cagaagagcc tctccctgtc tcccggcaaa 1410

[0575] <210> 24

[0576] <211> 470

[0577] <212> PRT

[0578] <213> 人工的

[0579] <220>

[0580] <223> 人嵌合cA2-27D的重链氨基酸序列

[0581] <220>

[0582] <221> SIGNAL

[0583] <222> (1)..(19)

[0584] <220>

[0585] <221> V_region

[0586] <222> (20)..(140)

[0587] <220>

[0588] <221> C_region

[0589] <222> (141)..(470)

[0590] <400> 24

[0591] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

[0592] 1 5 10 15

[0593] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln

[0594] 20 25 30

[0595] Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Leu Ala Ser Gly Ser Thr Phe

[0596] 35 40 45

[0597] Ser Asn Tyr Gly Met Lys Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

[0598] 50 55 60

[0599] Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Arg Ser Ser Thr Tyr Ile Tyr Tyr Ala

[0600] 65 70 75 80

[0601] Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn

[0602] 85 90 95

[0603] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu

[0604] 100 105 110

[0605] Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Ile Ser Thr Pro Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp

[0606] 115 120 125

[0607] Phe Trp Gly Pro Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

[0608] 130 135 140

[0609] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly

[0610] 145 150 155 160

[0611] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro

[0612] 165 170 175

[0613] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

[0614] 180 185 190

[0615] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val

[0616] 195 200 205

[0617] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn

[0618] 210 215 220

[0619] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro

[0620] 225 230 235 240

[0621] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

[0622] 245 250 255

[0623] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

[0624] 260 265 270

[0625] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

[0626] 275 280 285

[0627] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

[0628] 290 295 300

[0629] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

[0630] 305 310 315 320
[0631] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[0632] 325 330 335
[0633] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[0634] 340 345 350
[0635] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[0636] 355 360 365
[0637] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[0638] 370 375 380
[0639] Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[0640] 385 390 395 400
[0641] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[0642] 405 410 415
[0643] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[0644] 420 425 430
[0645] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[0646] 435 440 445
[0647] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[0648] 450 455 460
[0649] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0650] 465 470
[0651] <210> 25
[0652] <211> 702
[0653] <212> DNA
[0654] <213> 人工的
[0655] <220>
[0656] <223> 人嵌合cA2-27D的轻链核苷酸序列
[0657] <220>
[0658] <221> sig_peptide
[0659] <222> (1)..(60)
[0660] <220>
[0661] <221> V_region
[0662] <222> (61)..(387)
[0663] <220>
[0664] <221> C_region
[0665] <222> (388)..(702)
[0666] <400> 25
[0667] atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60
[0668] gaaattgttc tcactcagtc tccaacaacc atggctgcat ctccggggga aaaggtcacc 120
[0669] ctcaactgcc ttgccagctc aagtgtaagt tacatgacct ggtaccagca gaagtcaggc 180
[0670] gcctccccca aactctggat ttatggcaca tccaacctag cttctggagt cccaaatcgc 240
[0671] ttcagtggca gtgggtctgg gacatcttat tcgctcgcaa tcagctccat ggaggctgaa 300

[0672] gatgttgcaa cttattactg cctgcacttg actagttacc caccgtacac gtttggagct 360
[0673] gggaccaagc tggaactgaa acgggctgtg gccgcccccc ccgtgttcat cttccccccc 420
[0674] tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
[0675] cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
[0676] gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
[0677] ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
[0678] ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702
[0679] <210> 26
[0680] <211> 234
[0681] <212> PRT
[0682] <213> 人工的
[0683] <220>
[0684] <223> 人嵌合cA2-27D的轻链氨基酸序列
[0685] <220>
[0686] <221> SIGNAL
[0687] <222> (1)..(20)
[0688] <220>
[0689] <221> V_region
[0690] <222> (21)..(129)
[0691] <220>
[0692] <221> C_region
[0693] <222> (130)..(234)
[0694] <400> 26
[0695] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[0696] 1 5 10 15
[0697] Gly Ala Tyr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Thr Thr Met Ala
[0698] 20 25 30
[0699] Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Leu Asn Cys Leu Ala Ser Ser Ser
[0700] 35 40 45
[0701] Val Ser Tyr Met Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Ala Ser Pro Lys
[0702] 50 55 60
[0703] Leu Trp Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asn Arg
[0704] 65 70 75 80
[0705] Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Ala Ile Ser Ser
[0706] 85 90 95
[0707] Met Glu Ala Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu His Leu Thr Ser
[0708] 100 105 110
[0709] Tyr Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
[0710] 115 120 125
[0711] Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
[0712] 130 135 140
[0713] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

[0714] 145 150 155 160

[0715] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

[0716] 165 170 175

[0717] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

[0718] 180 185 190

[0719] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

[0720] 195 200 205

[0721] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

[0722] 210 215 220

[0723] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

[0724] 225 230

[0725] <210> 27

[0726] <211> 1416

[0727] <212> DNA

[0728] <213> 人工的

[0729] <220>

[0730] <223> 编码人源化hA2-15A-H1的核苷酸序列

[0731] <220>

[0732] <221> sig_peptide

[0733] <222> (1)..(57)

[0734] <220>

[0735] <221> V_region

[0736] <222> (58)..(426)

[0737] <220>

[0738] <221> C_region

[0739] <222> (427)..(1416)

[0740] <400> 27

[0741] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

[0742] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120

[0743] tgtgccgcca gcggcttcac cttcagccac tactacatgg cctgggtgcg ccaggcccct 180

[0744] ggcaaaggac tggaatgggt ggccagcatc accaacagcg gcggcagcat caactaccgg 240

[0745] gacagcgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300

[0746] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact attgtgccag agagggcggc 360

[0747] gagaactacg gcggctatcc ccctttttgcc tactggggcc agggcaccct cgtgaccgtc 420

[0748] agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc ttccccctgg caccctcctc caagagcacc 480

[0749] tctggcggca cagccgccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga acccgtgacc 540

[0750] gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctgcag 600

[0751] tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

[0752] cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt 720

[0753] gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccct gcccagcacc tgaactcctg 780

[0754] gggggaccct cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840

[0755] acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900

[0756] aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccccg ggaggagcag 960

[0757] tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020

[0758] ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1080

[0759] atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140

[0760] gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200

[0761] gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc cagcccgaga acaactacaa gaccacccct 1260

[0762] cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320

[0763] aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380

[0764] tacacccaga agagcctctc cctgtctccc ggcaaa 1416

[0765] <210> 28

[0766] <211> 472

[0767] <212> PRT

[0768] <213> 人工的

[0769] <220>

[0770] <223> 人源化hA2-15A-H1的氨基酸序列

[0771] <220>

[0772] <221> SIGNAL

[0773] <222> (1)..(19)

[0774] <220>

[0775] <221> V_region

[0776] <222> (20)..(142)

[0777] <220>

[0778] <221> C_region

[0779] <222> (143)..(472)

[0780] <400> 28

[0781] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

[0782] 1 5 10 15

[0783] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln

[0784] 20 25 30

[0785] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe

[0786] 35 40 45

[0787] Ser His Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

[0788] 50 55 60

[0789] Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Asn Ser Gly Gly Ser Ile Asn Tyr Arg

[0790] 65 70 75 80

[0791] Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn

[0792] 85 90 95

[0793] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val

[0794] 100 105 110

[0795] Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Gly Glu Asn Tyr Gly Gly Tyr Pro Pro

[0796] 115 120 125

[0797] Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

[0798] 130 135 140

[0799] Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr

[0800] 145 150 155 160

[0801] Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro

[0802] 165 170 175

[0803] Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

[0804] 180 185 190

[0805] His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

[0806] 195 200 205

[0807] Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile

[0808] 210 215 220

[0809] Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val

[0810] 225 230 235 240

[0811] Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

[0812] 245 250 255

[0813] Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

[0814] 260 265 270

[0815] Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

[0816] 275 280 285

[0817] Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

[0818] 290 295 300

[0819] Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

[0820] 305 310 315 320

[0821] Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

[0822] 325 330 335

[0823] Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

[0824] 340 345 350

[0825] Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

[0826] 355 360 365

[0827] Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

[0828] 370 375 380

[0829] Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

[0830] 385 390 395 400

[0831] Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

[0832] 405 410 415

[0833] Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

[0834] 420 425 430

[0835] Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

[0836] 435 440 445

[0837] Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

[0838] 450 455 460

[0839] Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[0840] 465 470

[0841] <210> 29

[0842] <211> 1416

[0843] <212> DNA

[0844] <213> 人工的

[0845] <220>

[0846] <223> 编码人源化hA2-15A-H4的核苷酸序列

[0847] <220>

[0848] <221> sig_peptide

[0849] <222> (1)..(57)

[0850] <220>

[0851] <221> V_region

[0852] <222> (58)..(426)

[0853] <220>

[0854] <221> C_region

[0855] <222> (427)..(1416)

[0856] <400> 29

[0857] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

[0858] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120

[0859] tgtgccgcca gcggcttcac cttcagccac tactacatgg cctgggtgcg ccaggcccct 180

[0860] ggcaaaggac tggaatgggt ggccagcatc accaacagcg gcggcagcat caactaccgg 240

[0861] gacagcgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaacg ccaagagcac cctgtacctg 300

[0862] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccacctact actgtacaag agagggcggc 360

[0863] gagaactacg gcggctaccc tccttttgcc tactggggcc agggcaccct cgtgaccgtc 420

[0864] agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc ttccccctgg caccctcctc caagagcacc 480

[0865] tctggcggca cagccgccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga acccgtgacc 540

[0866] gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctgcag 600

[0867] tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

[0868] cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt 720

[0869] gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccct gcccagcacc tgaactcctg 780

[0870] gggggaccct cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840

[0871] acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900

[0872] aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccccg ggaggagcag 960

[0873] tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020

[0874] ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1080

[0875] atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140

[0876] gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200

[0877] gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc cagcccgaga acaactacaa gaccacccct 1260

[0878] cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320

[0879] aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380

[0880] tacacccaga agagcctctc cctgtctccc ggcaaa 1416

[0881] <210> 30

[0882] <211> 472
[0883] <212> PRT
[0884] <213> 人工的
[0885] <220>
[0886] <223> 人源化hA2-15A-H4的氨基酸序列
[0887] <220>
[0888] <221> SIGNAL
[0889] <222> (1)..(19)
[0890] <220>
[0891] <221> V_region
[0892] <222> (20)..(142)
[0893] <220>
[0894] <221> C_region
[0895] <222> (143)..(472)
[0896] <400> 30
[0897] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
[0898] 1 5 10 15
[0899] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[0900] 20 25 30
[0901] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
[0902] 35 40 45
[0903] Ser His Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[0904] 50 55 60
[0905] Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Asn Ser Gly Gly Ser Ile Asn Tyr Arg
[0906] 65 70 75 80
[0907] Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
[0908] 85 90 95
[0909] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr
[0910] 100 105 110
[0911] Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Gly Gly Glu Asn Tyr Gly Gly Tyr Pro Pro
[0912] 115 120 125
[0913] Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
[0914] 130 135 140
[0915] Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
[0916] 145 150 155 160
[0917] Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
[0918] 165 170 175
[0919] Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
[0920] 180 185 190
[0921] His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
[0922] 195 200 205
[0923] Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile

[0924] 210 215 220

[0925] Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val

[0926] 225 230 235 240

[0927] Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

[0928] 245 250 255

[0929] Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

[0930] 260 265 270

[0931] Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

[0932] 275 280 285

[0933] Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

[0934] 290 295 300

[0935] Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

[0936] 305 310 315 320

[0937] Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

[0938] 325 330 335

[0939] Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

[0940] 340 345 350

[0941] Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

[0942] 355 360 365

[0943] Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

[0944] 370 375 380

[0945] Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

[0946] 385 390 395 400

[0947] Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

[0948] 405 410 415

[0949] Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

[0950] 420 425 430

[0951] Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

[0952] 435 440 445

[0953] Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

[0954] 450 455 460

[0955] Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[0956] 465 470

[0957] <210> 31

[0958] <211> 764

[0959] <212> DNA

[0960] <213> 人工的

[0961] <220>

[0962] <223> 含有编码人源化hA2-15A-L1的序列的DNA片段的核苷酸序列

[0963] <220>

[0964] <221> sig_peptide

[0965] <222> (26)..(85)

[0966] <220>
[0967] <221> V_region
[0968] <222> (86)..(424)
[0969] <220>
[0970] <221> C_region
[0971] <222> (425)..(739)
[0972] <400> 31
[0973] ccagcctccg gactctagag ccaccatggt gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct 60
[0974] gctgtggatc agcggcgcct acggcgacat cgtgatgacc cagagccctg acagcctggc 120
[0975] cgtgtctctg ggagagaggg ccaccatcaa ctgcagagcc aaccagggcg tgtccctgag 180
[0976] ccggtacaac ctgatgcact ggtatcagca gaagcccggc cagcccccca agctgctgat 240
[0977] ctacagaagc tccaacctgg ccagcggcgt gcccgataga ttttctggca gcggctccgg 300
[0978] caccgacttc accctgacaa tcagctccct gcaggccgag gacgtggccg tgtactactg 360
[0979] ccagcagagc agagagagcc ccttcacctt tggccagggc accaaggtgg aaatcaagcg 420
[0980] ggctgtggcc gctccctccg tgttcatctt ccacccagc gacgagcagc tgaagtctgg 480
[0981] cacagccagc gtcgtgtgcc tgctgaacaa cttctacccc cgcgaggcca aggtgcagtg 540
[0982] gaaggtggac aatgccctgc agagcggcaa ctcccaggaa agcgtgaccg agcaggacag 600
[0983] caaggactcc acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg agcaaggccg actacgagaa 660
[0984] gcacaaggtg tacgcctgcg aagtgaccca ccagggcctg tctagccccg tgaccaagag 720
[0985] cttcaaccgg ggcgagtgtt gagtttaaac gggggaggct aact 764
[0986] <210> 32
[0987] <211> 238
[0988] <212> PRT
[0989] <213> 人工的
[0990] <220>
[0991] <223> 人源化hA2-15A-L1的氨基酸序列
[0992] <220>
[0993] <221> SIGNAL
[0994] <222> (1)..(20)
[0995] <220>
[0996] <221> V_region
[0997] <222> (21)..(133)
[0998] <220>
[0999] <221> C_region
[1000] <222> (134)..(238)
[1001] <400> 32
[1002] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[1003] 1 5 10 15
[1004] Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala
[1005] 20 25 30
[1006] Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Asn Gln Gly
[1007] 35 40 45

[1008] Val Ser Leu Ser Arg Tyr Asn Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
[1009] 50 55 60
[1010] Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ser Ser Asn Leu Ala Ser
[1011] 65 70 75 80
[1012] Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
[1013] 85 90 95
[1014] Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
[1015] 100 105 110
[1016] Gln Gln Ser Arg Glu Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
[1017] 115 120 125
[1018] Glu Ile Lys Arg Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
[1019] 130 135 140
[1020] Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
[1021] 145 150 155 160
[1022] Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
[1023] 165 170 175
[1024] Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
[1025] 180 185 190
[1026] Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
[1027] 195 200 205
[1028] Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
[1029] 210 215 220
[1030] Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[1031] 225 230 235
[1032] <210> 33
[1033] <211> 764
[1034] <212> DNA
[1035] <213> 人工的
[1036] <220>
[1037] <223> 含有编码人源化hA2-15A-L4的序列的DNA片段的核苷酸序列
[1038] <220>
[1039] <221> sig_peptide
[1040] <222> (26)..(85)
[1041] <220>
[1042] <221> V_region
[1043] <222> (86)..(424)
[1044] <220>
[1045] <221> C_region
[1046] <222> (425)..(739)
[1047] <400> 33
[1048] ccagcctccg gactctagag ccaccatggt gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct 60
[1049] gctgtggatc agcggcgcct acggcgatat cgtgctgacc cagagccctg acagcctggc 120

[1050] cgtgtctctg ggagagaggg ccaccatcaa ctgcagagcc aaccagggcg tgtccctgag 180
[1051] ccggtacaac ctgatgcact ggtatcagca gaagcccggc cagaagccca agctgctgat 240
[1052] ctaccggtcc agcaacctgg cctctggcat ccccgccaga ttttctggca gcggctccgg 300
[1053] caccgacttc accctgacaa tcagcagcgt gcaggccgac gacattgccg tgtactactg 360
[1054] ccagcagagc agagagagcc ccttcacctt tggccagggc accaagctgg aactgaagag 420
[1055] agccgtggcc gctccctccg tgttcatctt cccacctagc gacgagcagc tgaagtctgg 480
[1056] cacagccagc gtcgtgtgcc tgctgaacaa cttctacccc cgcgaggcca aggtgcagtg 540
[1057] gaaggtggac aatgccctgc agagcggcaa cagccaggaa agcgtgaccg agcaggacag 600
[1058] caaggactcc acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg agcaaggccg actacgagaa 660
[1059] gcacaaggtg tacgcctgcg aagtgaccca ccagggcctg tctagccccg tgaccaagag 720
[1060] cttcaaccgg ggcgagtgtt gagtttaaac gggggaggct aact 764
[1061] <210> 34
[1062] <211> 238
[1063] <212> PRT
[1064] <213> 人工的
[1065] <220>
[1066] <223> 人源化hA2-15A-L4的氨基酸序列
[1067] <220>
[1068] <221> SIGNAL
[1069] <222> (1)..(20)
[1070] <220>
[1071] <221> V_region
[1072] <222> (21)..(133)
[1073] <220>
[1074] <221> C_region
[1075] <222> (134)..(238)
[1076] <400> 34
[1077] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[1078] 1 5 10 15
[1079] Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala
[1080] 20 25 30
[1081] Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Asn Gln Gly
[1082] 35 40 45
[1083] Val Ser Leu Ser Arg Tyr Asn Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
[1084] 50 55 60
[1085] Gly Gln Lys Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ser Ser Asn Leu Ala Ser
[1086] 65 70 75 80
[1087] Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
[1088] 85 90 95
[1089] Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Asp Asp Ile Ala Val Tyr Tyr Cys
[1090] 100 105 110
[1091] Gln Gln Ser Arg Glu Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu

[1092] 115 120 125
[1093] Glu Leu Lys Arg Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
[1094] 130 135 140
[1095] Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
[1096] 145 150 155 160
[1097] Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
[1098] 165 170 175
[1099] Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
[1100] 180 185 190
[1101] Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
[1102] 195 200 205
[1103] Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
[1104] 210 215 220
[1105] Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[1106] 225 230 235
[1107] <210> 35
[1108] <211> 764
[1109] <212> DNA
[1110] <213> 人工的
[1111] <220>
[1112] <223> 含有编码人源化hA2-15A-L6的序列的DNA片段的核苷酸序列
[1113] <220>
[1114] <221> sig_peptide
[1115] <222> (26)..(85)
[1116] <220>
[1117] <221> V_region
[1118] <222> (86)..(424)
[1119] <220>
[1120] <221> C_region
[1121] <222> (425)..(739)
[1122] <400> 35
[1123] ccagcctccg gactctagag ccaccatggt gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct 60
[1124] gctgtggatc agcggcgcct acggcgatat cgtgctgacc cagagccctg acagcctggc 120
[1125] cgtgtctctg ggagagaggg ccaccatcaa ctgcagagcc aaccagggcg tgtccctgag 180
[1126] ccggtacaac ctgatgcact ggtatcagca gaagcccggc cagaagccca agctgctgat 240
[1127] ctaccggtcc agcaacctgg cccagggcat ccctgccaga ttttctggca gcggctccgg 300
[1128] caccgacttc accctgacaa tcagcagcgt gcaggccgac gacattgccg tgtactactg 360
[1129] ccagcagagc agagagagcc ccttcacctt tggccagggc accaagctgg aactgaagag 420
[1130] agccgtggcc gctccctccg tgttcatctt cccacctagc gacgagcagc tgaagtctgg 480
[1131] cacagccagc gtcgtgtgcc tgctgaacaa cttctacccc cgcgaggcca aggtgcagtg 540
[1132] gaaggtggac aatgccctgc agagcggcaa cagccaggaa agcgtgaccg agcaggacag 600
[1133] caaggactcc acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg agcaaggccg actacgagaa 660

[1134] gcacaaggtg tacgcctgcg aagtgaccca ccagggcctg tctagccccg tgaccaagag 720

[1135] cttcaaccgg ggcgagtgtt gagtttaaac gggggaggct aact 764

[1136] <210> 36

[1137] <211> 238

[1138] <212> PRT

[1139] <213> 人工的

[1140] <220>

[1141] <223> 人源化hA2-15A-L6的氨基酸序列

[1142] <220>

[1143] <221> SIGNAL

[1144] <222> (1)..(20)

[1145] <220>

[1146] <221> V_region

[1147] <222> (21)..(133)

[1148] <220>

[1149] <221> C_region

[1150] <222> (134)..(238)

[1151] <400> 36

[1152] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

[1153] 1 5 10 15

[1154] Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala

[1155] 20 25 30

[1156] Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Asn Gln Gly

[1157] 35 40 45

[1158] Val Ser Leu Ser Arg Tyr Asn Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

[1159] 50 55 60

[1160] Gly Gln Lys Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ser Ser Asn Leu Ala Gln

[1161] 65 70 75 80

[1162] Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

[1163] 85 90 95

[1164] Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Asp Asp Ile Ala Val Tyr Tyr Cys

[1165] 100 105 110

[1166] Gln Gln Ser Arg Glu Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu

[1167] 115 120 125

[1168] Glu Leu Lys Arg Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro

[1169] 130 135 140

[1170] Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu

[1171] 145 150 155 160

[1172] Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn

[1173] 165 170 175

[1174] Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser

[1175] 180 185 190

[1176] Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
[1177] 195 200 205
[1178] Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
[1179] 210 215 220
[1180] Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[1181] 225 230 235
[1182] <210> 37
[1183] <211> 764
[1184] <212> DNA
[1185] <213> 人工的
[1186] <220>
[1187] <223> 含有编码人源化hA2-15A-L7的序列的DNA片段的核苷酸序列
[1188] <220>
[1189] <221> sig_peptide
[1190] <222> (26)..(85)
[1191] <220>
[1192] <221> V_region
[1193] <222> (86)..(424)
[1194] <220>
[1195] <221> C_region
[1196] <222> (425)..(739)
[1197] <400> 37
[1198] ccagcctccg gactctagag ccaccatggt gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct 60
[1199] gctgtggatc agcggcgcct acggcgatat cgtgctgacc cagagccctg acagcctggc 120
[1200] cgtgtctctg ggagagaggg ccaccatcaa ctgcagagcc aaccagggcg tgtccctgag 180
[1201] ccggtacaac ctgatgcact ggtatcagca gaagcccggc cagaagccca agctggccat 240
[1202] ctacagaagc agcaacctgg ccagcggcat ccccgccaga ttttctggca gcggctccgg 300
[1203] caccgacttc accctgacaa tcagcagcgt gcaggccgac gacattgccg tgtactactg 360
[1204] ccagcagagc agagagagcc ccttcacctt tggccagggc accaagctgg aactgaagag 420
[1205] agccgtggcc gctccctccg tgttcatctt cccacctagc gacgagcagc tgaagtctgg 480
[1206] cacagccagc gtcgtgtgcc tgctgaacaa cttctacccc cgcgaggcca aggtgcagtg 540
[1207] gaaggtggac aatgccctgc agagcggcaa cagccaggaa agcgtgaccg agcaggacag 600
[1208] caaggactcc acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg agcaaggccg actacgagaa 660
[1209] gcacaaggtg tacgcctgcg aagtgaccca ccagggcctg tctagccccg tgaccaagag 720
[1210] cttcaaccgg ggcgagtgtt gagtttaaac gggggaggct aact 764
[1211] <210> 38
[1212] <211> 238
[1213] <212> PRT
[1214] <213> 人工的
[1215] <220>
[1216] <223> 人源化hA2-15A-L7的氨基酸序列
[1217] <220>

[1218] <221> SIGNAL
[1219] <222> (1)..(20)
[1220] <220>
[1221] <221> V_region
[1222] <222> (21)..(133)
[1223] <220>
[1224] <221> C_region
[1225] <222> (134)..(238)
[1226] <400> 38
[1227] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[1228] 1 5 10 15
[1229] Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala
[1230] 20 25 30
[1231] Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Asn Gln Gly
[1232] 35 40 45
[1233] Val Ser Leu Ser Arg Tyr Asn Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
[1234] 50 55 60
[1235] Gly Gln Lys Pro Lys Leu Ala Ile Tyr Arg Ser Ser Asn Leu Ala Ser
[1236] 65 70 75 80
[1237] Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
[1238] 85 90 95
[1239] Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Asp Asp Ile Ala Val Tyr Tyr Cys
[1240] 100 105 110
[1241] Gln Gln Ser Arg Glu Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
[1242] 115 120 125
[1243] Glu Leu Lys Arg Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
[1244] 130 135 140
[1245] Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
[1246] 145 150 155 160
[1247] Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
[1248] 165 170 175
[1249] Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
[1250] 180 185 190
[1251] Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
[1252] 195 200 205
[1253] Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
[1254] 210 215 220
[1255] Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[1256] 225 230 235
[1257] <210> 39
[1258] <211> 1410
[1259] <212> DNA

[1260] <213> 人工的

[1261] <220>

[1262] <223> 编码人源化hA2-27D-H1的核苷酸序列

[1263] <220>

[1264] <221> sig_peptide

[1265] <222> (1)..(57)

[1266] <220>

[1267] <221> V_region

[1268] <222> (58)..(420)

[1269] <220>

[1270] <221> C_region

[1271] <222> (421)..(1410)

[1272] <400> 39

[1273] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

[1274] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120

[1275] tgtgccgcca gcggcagcac cttcagcaac tacggcatga aatgggtgcg ccaggcccct 180

[1276] ggcaagggac tggaatgggt gtccagcatc agcagaagca gcacctacat ctactacgcc 240

[1277] gacaccgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300

[1278] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact attgtgccag agccatcagc 360

[1279] acccccttct actggtactt cgacttctgg ggccagggca ccctcgtgac cgtcagctca 420

[1280] gcctccacca agggcccaag cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggc 480

[1281] ggcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaacccgt gaccgtgagc 540

[1282] tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgctgtcct gcagtcctca 600

[1283] ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660

[1284] tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720

[1285] aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccctgcccag cacctgaact cctgggggga 780

[1286] ccctcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840

[1287] gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900

[1288] tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagtacaac 960

[1289] agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020

[1290] gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080

[1291] aaagccaaag gccagccccg ggaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140

[1292] atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200

[1293] gccgtggagt gggagagcaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1260

[1294] ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320

[1295] cagcagggca acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacc 1380

[1296] cagaagagcc tctccctgtc tcccggcaaa 1410

[1297] <210> 40

[1298] <211> 470

[1299] <212> PRT

[1300] <213> 人工的

[1301] <220>

[1302] <223> 人源化hA2-27D-H1的氨基酸序列
[1303] <220>
[1304] <221> SIGNAL
[1305] <222> (1)..(19)
[1306] <220>
[1307] <221> V_region
[1308] <222> (20)..(140)
[1309] <220>
[1310] <221> C_region
[1311] <222> (141)..(470)
[1312] <400> 40
[1313] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
[1314] 1 5 10 15
[1315] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[1316] 20 25 30
[1317] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe
[1318] 35 40 45
[1319] Ser Asn Tyr Gly Met Lys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[1320] 50 55 60
[1321] Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Arg Ser Ser Thr Tyr Ile Tyr Tyr Ala
[1322] 65 70 75 80
[1323] Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
[1324] 85 90 95
[1325] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
[1326] 100 105 110
[1327] Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Ile Ser Thr Pro Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp
[1328] 115 120 125
[1329] Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[1330] 130 135 140
[1331] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[1332] 145 150 155 160
[1333] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[1334] 165 170 175
[1335] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[1336] 180 185 190
[1337] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[1338] 195 200 205
[1339] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[1340] 210 215 220
[1341] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
[1342] 225 230 235 240
[1343] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

[1344] 245 250 255
[1345] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[1346] 260 265 270
[1347] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[1348] 275 280 285
[1349] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[1350] 290 295 300
[1351] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
[1352] 305 310 315 320
[1353] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[1354] 325 330 335
[1355] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[1356] 340 345 350
[1357] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[1358] 355 360 365
[1359] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[1360] 370 375 380
[1361] Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[1362] 385 390 395 400
[1363] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[1364] 405 410 415
[1365] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[1366] 420 425 430
[1367] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[1368] 435 440 445
[1369] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[1370] 450 455 460
[1371] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1372] 465 470
[1373] <210> 41
[1374] <211> 1410
[1375] <212> DNA
[1376] <213> 人工的
[1377] <220>
[1378] <223> 编码人源化hA2-27D-H2的核苷酸序列
[1379] <220>
[1380] <221> sig_peptide
[1381] <222> (1)..(57)
[1382] <220>
[1383] <221> V_region
[1384] <222> (58)..(420)
[1385] <220>

[1386] <221> C_region
[1387] <222> (421)..(1410)
[1388] <400> 41
[1389] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60
[1390] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120
[1391] tgtgccgcca gcggcagcac cttcagcaac tacggcatga agtggatccg gcaggcccct 180
[1392] ggcaagggcc tggaatgggt gtccagcatc agcagaagca gcacctacat ctactacgcc 240
[1393] gacaccgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300
[1394] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact attgtgccgc cgctatcagc 360
[1395] acccccttct actggtactt cgacttctgg ggccagggca ccctcgtgac cgtcagctca 420
[1396] gcctccacca agggcccaag cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggc 480
[1397] ggcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaacccgt gaccgtgagc 540
[1398] tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgctgtcct gcagtcctca 600
[1399] ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660
[1400] tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720
[1401] aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccctgcccag cacctgaact cctgggggga 780
[1402] ccctcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840
[1403] gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900
[1404] tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagtacaac 960
[1405] agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020
[1406] gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080
[1407] aaagccaaag gccagccccg ggaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140
[1408] atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200
[1409] gccgtggagt gggagagcaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1260
[1410] ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320
[1411] cagcagggca acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacc 1380
[1412] cagaagagcc tctccctgtc tcccggcaaa 1410
[1413] <210> 42
[1414] <211> 470
[1415] <212> PRT
[1416] <213> 人工的
[1417] <220>
[1418] <223> 人源化hA2-27D-H2的氨基酸序列
[1419] <220>
[1420] <221> SIGNAL
[1421] <222> (1)..(19)
[1422] <220>
[1423] <221> V_region
[1424] <222> (20)..(140)
[1425] <220>
[1426] <221> C_region
[1427] <222> (141)..(470)

[1428] <400> 42

[1429] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
[1430] 1 5 10 15
[1431] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[1432] 20 25 30
[1433] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe
[1434] 35 40 45
[1435] Ser Asn Tyr Gly Met Lys Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[1436] 50 55 60
[1437] Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Arg Ser Ser Thr Tyr Ile Tyr Tyr Ala
[1438] 65 70 75 80
[1439] Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
[1440] 85 90 95
[1441] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
[1442] 100 105 110
[1443] Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Ile Ser Thr Pro Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp
[1444] 115 120 125
[1445] Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[1446] 130 135 140
[1447] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[1448] 145 150 155 160
[1449] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[1450] 165 170 175
[1451] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[1452] 180 185 190
[1453] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[1454] 195 200 205
[1455] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[1456] 210 215 220
[1457] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
[1458] 225 230 235 240
[1459] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[1460] 245 250 255
[1461] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[1462] 260 265 270
[1463] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[1464] 275 280 285
[1465] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[1466] 290 295 300
[1467] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
[1468] 305 310 315 320
[1469] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

[1470] 325 330 335
[1471] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[1472] 340 345 350
[1473] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[1474] 355 360 365
[1475] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[1476] 370 375 380
[1477] Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[1478] 385 390 395 400
[1479] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[1480] 405 410 415
[1481] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[1482] 420 425 430
[1483] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[1484] 435 440 445
[1485] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[1486] 450 455 460
[1487] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1488] 465 470
[1489] <210> 43
[1490] <211> 1410
[1491] <212> DNA
[1492] <213> 人工的
[1493] <220>
[1494] <223> 编码人源化hA2-27D-H3的核苷酸序列
[1495] <220>
[1496] <221> sig_peptide
[1497] <222> (1)..(57)
[1498] <220>
[1499] <221> V_region
[1500] <222> (58)..(420)
[1501] <220>
[1502] <221> C_region
[1503] <222> (421)..(1410)
[1504] <400> 43
[1505] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60
[1506] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120
[1507] tgtgccgcca gcggcagcac cttcagcaac tacggcatga agtggatccg gcaggcccct 180
[1508] ggcaagggcc tggaatgggt ggccagcatc agcagaagca gcacctacat ctactacgcc 240
[1509] gacaccgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300
[1510] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact attgtgccgc cgctatcagc 360
[1511] acccccttct actggtactt cgacttctgg ggccagggca ccctcgtgac cgtcagctca 420

[1512] gcctccacca agggcccaag cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggc 480
[1513] ggcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaacccgt gaccgtgagc 540
[1514] tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgctgtcct gcagtcctca 600
[1515] ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660
[1516] tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720
[1517] aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccctgcccag cacctgaact cctgggggga 780
[1518] ccctcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840
[1519] gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900
[1520] tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagtacaac 960
[1521] agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020
[1522] gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080
[1523] aaagccaaag gccagccccg ggaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140
[1524] atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200
[1525] gccgtggagt gggagagcaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1260
[1526] ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320
[1527] cagcagggca acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacc 1380
[1528] cagaagagcc tctccctgtc tcccggcaaa 1410
[1529] <210> 44
[1530] <211> 470
[1531] <212> PRT
[1532] <213> 人工的
[1533] <220>
[1534] <223> 人源化hA2-27D-H3的氨基酸序列
[1535] <220>
[1536] <221> SIGNAL
[1537] <222> (1)..(19)
[1538] <220>
[1539] <221> V_region
[1540] <222> (20)..(140)
[1541] <220>
[1542] <221> C_region
[1543] <222> (141)..(470)
[1544] <400> 44
[1545] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
[1546] 1 5 10 15
[1547] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[1548] 20 25 30
[1549] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe
[1550] 35 40 45
[1551] Ser Asn Tyr Gly Met Lys Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[1552] 50 55 60
[1553] Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Arg Ser Ser Thr Tyr Ile Tyr Tyr Ala

[1554] 65 70 75 80
[1555] Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
[1556] 85 90 95
[1557] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
[1558] 100 105 110
[1559] Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Ile Ser Thr Pro Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp
[1560] 115 120 125
[1561] Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[1562] 130 135 140
[1563] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[1564] 145 150 155 160
[1565] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[1566] 165 170 175
[1567] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[1568] 180 185 190
[1569] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[1570] 195 200 205
[1571] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[1572] 210 215 220
[1573] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
[1574] 225 230 235 240
[1575] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[1576] 245 250 255
[1577] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[1578] 260 265 270
[1579] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[1580] 275 280 285
[1581] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[1582] 290 295 300
[1583] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
[1584] 305 310 315 320
[1585] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[1586] 325 330 335
[1587] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[1588] 340 345 350
[1589] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[1590] 355 360 365
[1591] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[1592] 370 375 380
[1593] Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[1594] 385 390 395 400
[1595] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

[1596] 405 410 415

[1597] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

[1598] 420 425 430

[1599] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

[1600] 435 440 445

[1601] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

[1602] 450 455 460

[1603] Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[1604] 465 470

[1605] <210> 45

[1606] <211> 1410

[1607] <212> DNA

[1608] <213> 人工的

[1609] <220>

[1610] <223> 编码人源化hA2-27D-H4的核苷酸序列

[1611] <220>

[1612] <221> sig_peptide

[1613] <222> (1)..(57)

[1614] <220>

[1615] <221> V_region

[1616] <222> (58)..(420)

[1617] <220>

[1618] <221> C_region

[1619] <222> (421)..(1410)

[1620] <400> 45

[1621] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

[1622] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120

[1623] tgtgccgcca gcggcagcac cttcagcaac tacggcatga agtggatccg gcaggcccct 180

[1624] ggcaagggcc tggaatgggt ggccagcatc agcagaagca gcacctacat ctactacgcc 240

[1625] gacaccgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300

[1626] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccctgtact attgtgccgc cgctatcagc 360

[1627] acccccttct actggtactt cgacttctgg ggccctggca ccctcgtgac cgtcagctca 420

[1628] gcctccacca agggcccaag cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggc 480

[1629] ggcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaacccgt gaccgtgagc 540

[1630] tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgctgtcct gcagtcctca 600

[1631] ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660

[1632] tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720

[1633] aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccctgcccag cacctgaact cctgggggga 780

[1634] ccctcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct 840

[1635] gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900

[1636] tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagtacaac 960

[1637] agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020

[1638] gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080
[1639] aaagccaaag gccagccccg ggaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140
[1640] atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200
[1641] gccgtggagt gggagagcaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1260
[1642] ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320
[1643] cagcagggca acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacc 1380
[1644] cagaagagcc tctccctgtc tcccggcaaa 1410
[1645] <210> 46
[1646] <211> 470
[1647] <212> PRT
[1648] <213> 人工的
[1649] <220>
[1650] <223> 人源化hA2-27D-H4的氨基酸序列
[1651] <220>
[1652] <221> SIGNAL
[1653] <222> (1)..(19)
[1654] <220>
[1655] <221> V_region
[1656] <222> (20)..(140)
[1657] <220>
[1658] <221> C_region
[1659] <222> (141)..(470)
[1660] <400> 46
[1661] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
[1662] 1 5 10 15
[1663] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[1664] 20 25 30
[1665] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe
[1666] 35 40 45
[1667] Ser Asn Tyr Gly Met Lys Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[1668] 50 55 60
[1669] Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Arg Ser Ser Thr Tyr Ile Tyr Tyr Ala
[1670] 65 70 75 80
[1671] Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
[1672] 85 90 95
[1673] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu
[1674] 100 105 110
[1675] Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Ile Ser Thr Pro Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp
[1676] 115 120 125
[1677] Phe Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[1678] 130 135 140
[1679] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly

[1680] 145 150 155 160
[1681] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[1682] 165 170 175
[1683] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[1684] 180 185 190
[1685] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[1686] 195 200 205
[1687] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[1688] 210 215 220
[1689] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
[1690] 225 230 235 240
[1691] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[1692] 245 250 255
[1693] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[1694] 260 265 270
[1695] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[1696] 275 280 285
[1697] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[1698] 290 295 300
[1699] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
[1700] 305 310 315 320
[1701] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[1702] 325 330 335
[1703] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[1704] 340 345 350
[1705] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[1706] 355 360 365
[1707] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[1708] 370 375 380
[1709] Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[1710] 385 390 395 400
[1711] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[1712] 405 410 415
[1713] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[1714] 420 425 430
[1715] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[1716] 435 440 445
[1717] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[1718] 450 455 460
[1719] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1720] 465 470
[1721] <210> 47

[1722] <211> 1410
[1723] <212> DNA
[1724] <213> 人工的
[1725] <220>
[1726] <223> 编码人源化hA2-27D-H5的核苷酸序列
[1727] <220>
[1728] <221> sig_peptide
[1729] <222> (1)..(57)
[1730] <220>
[1731] <221> V_region
[1732] <222> (58)..(420)
[1733] <220>
[1734] <221> C_region
[1735] <222> (421)..(1410)
[1736] <400> 47
[1737] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60
[1738] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120
[1739] tgtgccgcca gcggcagcac cttcagcaac tacggcatga agtggatccg gcaggcccct 180
[1740] ggcaagggcc tggaatgggt ggccagcatc agcagaagca gcacctacat ctactacgcc 240
[1741] gacaccgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaacg ccaagaacac cctgtacctg 300
[1742] cagatgaaca gcctgcggag cgaggacacc gccctgtact attgtgccgc cgctatcagc 360
[1743] acccccttct actggtactt cgacttctgg ggccctggca ccctcgtgac cgtcagctca 420
[1744] gcctccacca agggcccaag cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggc 480
[1745] ggcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaacccgt gaccgtgagc 540
[1746] tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgctgtcct gcagtcctca 600
[1747] ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660
[1748] tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720
[1749] aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccctgcccag cacctgaact cctgggggga 780
[1750] ccctcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840
[1751] gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900
[1752] tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagtacaac 960
[1753] agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020
[1754] gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080
[1755] aaagccaaag gccagccccg ggaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140
[1756] atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200
[1757] gccgtggagt gggagagcaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1260
[1758] ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320
[1759] cagcagggca acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacc 1380
[1760] cagaagagcc tctccctgtc tcccggcaaa 1410
[1761] <210> 48
[1762] <211> 470
[1763] <212> PRT

[1764] <213> 人工的
[1765] <220>
[1766] <223> 人源化hA2-27D-H5的氨基酸序列
[1767] <220>
[1768] <221> SIGNAL
[1769] <222> (1)..(19)
[1770] <220>
[1771] <221> V_region
[1772] <222> (20)..(140)
[1773] <220>
[1774] <221> C_region
[1775] <222> (141)..(470)
[1776] <400> 48
[1777] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
[1778] 1 5 10 15
[1779] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[1780] 20 25 30
[1781] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe
[1782] 35 40 45
[1783] Ser Asn Tyr Gly Met Lys Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[1784] 50 55 60
[1785] Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Arg Ser Ser Thr Tyr Ile Tyr Tyr Ala
[1786] 65 70 75 80
[1787] Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
[1788] 85 90 95
[1789] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu
[1790] 100 105 110
[1791] Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Ile Ser Thr Pro Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp
[1792] 115 120 125
[1793] Phe Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[1794] 130 135 140
[1795] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[1796] 145 150 155 160
[1797] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[1798] 165 170 175
[1799] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[1800] 180 185 190
[1801] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[1802] 195 200 205
[1803] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[1804] 210 215 220
[1805] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro

[1806] 225 230 235 240
[1807] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[1808] 245 250 255
[1809] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[1810] 260 265 270
[1811] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[1812] 275 280 285
[1813] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[1814] 290 295 300
[1815] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
[1816] 305 310 315 320
[1817] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[1818] 325 330 335
[1819] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[1820] 340 345 350
[1821] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[1822] 355 360 365
[1823] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[1824] 370 375 380
[1825] Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[1826] 385 390 395 400
[1827] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[1828] 405 410 415
[1829] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[1830] 420 425 430
[1831] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[1832] 435 440 445
[1833] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[1834] 450 455 460
[1835] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1836] 465 470
[1837] <210> 49
[1838] <211> 752
[1839] <212> DNA
[1840] <213> 人工的
[1841] <220>
[1842] <223> 含有编码人源化hA2-27D-L1的序列的DNA片段的核苷酸序列
[1843] <220>
[1844] <221> sig_peptide
[1845] <222> (26)..(85)
[1846] <220>
[1847] <221> V_region

[1848] <222> (86)..(412)
[1849] <220>
[1850] <221> C_region
[1851] <222> (413)..(727)
[1852] <400> 49
[1853] ccagcctccg gactctagag ccaccatggt gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct 60
[1854] gctgtggatc agcggcgcct acggcgagat cgtgctgaca cagagccctg gcaccctgag 120
[1855] cctgtctcca ggcgaaagag ccaccctgtc ctgtctggcc agcagcagcg tgtcctacat 180
[1856] gacctggtat cagcagaagc ccggccaggc ccccagactg ctgatctacg gcacaagcaa 240
[1857] tctggcctcc ggcatccccg acagattttc cggctctggc agcggcaccg acttcaccct 300
[1858] gaccatcagc agactggaac ccgaggactt cgccgtgtac tactgcctgc acctgaccag 360
[1859] ctacccccccc tacacatttg gccagggcac caaggtggaa atcaagcggg ctgtggccgc 420
[1860] tccctccgtg ttcatctttc cacccagcga cgagcagctg aagtccggca cagctagcgt 480
[1861] cgtgtgcctg ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa 540
[1862] tgccctgcag agcggcaact cccaggaaag cgtgaccgag caggacagca aggactccac 600
[1863] ctacagcctg agcagcaccc tgacactgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta 660
[1864] cgcctgcgaa gtgacccacc agggcctgtc tagccccgtg accaagagct tcaaccgggg 720
[1865] cgagtgttga gtttaaacgg gggaggctaa ct 752
[1866] <210> 50
[1867] <211> 234
[1868] <212> PRT
[1869] <213> 人工的
[1870] <220>
[1871] <223> 人源化hA2-27D-L1的氨基酸序列
[1872] <220>
[1873] <221> SIGNAL
[1874] <222> (1)..(20)
[1875] <220>
[1876] <221> V_region
[1877] <222> (21)..(129)
[1878] <220>
[1879] <221> C_region
[1880] <222> (130)..(234)
[1881] <400> 50
[1882] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[1883] 1 5 10 15
[1884] Gly Ala Tyr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
[1885] 20 25 30
[1886] Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Leu Ala Ser Ser Ser
[1887] 35 40 45
[1888] Val Ser Tyr Met Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
[1889] 50 55 60

[1890] Leu Leu Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Asp Arg
[1891] 65 70 75 80
[1892] Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg
[1893] 85 90 95
[1894] Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu His Leu Thr Ser
[1895] 100 105 110
[1896] Tyr Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[1897] 115 120 125
[1898] Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
[1899] 130 135 140
[1900] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
[1901] 145 150 155 160
[1902] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
[1903] 165 170 175
[1904] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[1905] 180 185 190
[1906] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
[1907] 195 200 205
[1908] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
[1909] 210 215 220
[1910] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[1911] 225 230
[1912] <210> 51
[1913] <211> 752
[1914] <212> DNA
[1915] <213> 人工的
[1916] <220>
[1917] <223> 含有编码人源化hA2-27D-L2的序列的DNA片段的核苷酸序列
[1918] <220>
[1919] <221> sig_peptide
[1920] <222> (26)..(85)
[1921] <220>
[1922] <221> V_region
[1923] <222> (86)..(412)
[1924] <220>
[1925] <221> C_region
[1926] <222> (413)..(727)
[1927] <400> 51
[1928] ccagcctccg gactctagag ccaccatggt gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct 60
[1929] gctgtggatc agcggcgcct acggcgagat cgtgctgaca cagagccctg gcaccctgag 120
[1930] cctgtctcca ggcgaaagag ccaccctgtc ctgtctggcc agcagcagcg tgtcctacat 180
[1931] gacctggtat cagcagaagc ccggccagag ccccagactg tggatctacg gcaccagcaa 240

[1932] tctggcctcc ggcgtgcccg atagattttc cggctctggc agcggcaccg acttcaccct 300
[1933] gaccatcagc agactggaac ccgaggactt cgccgtgtac tactgcctgc acctgaccag 360
[1934] ctacccccc tacacatttg gccagggcac caaggtggaa atcaagcggg ctgtggccgc 420
[1935] tccctccgtg ttcatctttc cacccagcga cgagcagctg aagtccggca cagctagcgt 480
[1936] cgtgtgcctg ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa 540
[1937] tgccctgcag agcggcaact cccaggaaag cgtgaccgag caggacagca aggactccac 600
[1938] ctacagcctg agcagcaccc tgacactgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta 660
[1939] cgcctgcgaa gtgacccacc agggcctgtc tagccccgtg accaagagct tcaaccgggg 720
[1940] cgagtgttga gtttaaacgg gggaggctaa ct 752
[1941] <210> 52
[1942] <211> 234
[1943] <212> PRT
[1944] <213> 人工的
[1945] <220>
[1946] <223> 人源化hA2-27D-L2的氨基酸序列
[1947] <220>
[1948] <221> SIGNAL
[1949] <222> (1)..(20)
[1950] <220>
[1951] <221> V_region
[1952] <222> (21)..(129)
[1953] <220>
[1954] <221> C_region
[1955] <222> (130)..(234)
[1956] <400> 52
[1957] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[1958] 1 5 10 15
[1959] Gly Ala Tyr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
[1960] 20 25 30
[1961] Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Leu Ala Ser Ser Ser
[1962] 35 40 45
[1963] Val Ser Tyr Met Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg
[1964] 50 55 60
[1965] Leu Trp Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg
[1966] 65 70 75 80
[1967] Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg
[1968] 85 90 95
[1969] Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu His Leu Thr Ser
[1970] 100 105 110
[1971] Tyr Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[1972] 115 120 125
[1973] Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

[1974] 130 135 140

[1975] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

[1976] 145 150 155 160

[1977] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

[1978] 165 170 175

[1979] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

[1980] 180 185 190

[1981] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

[1982] 195 200 205

[1983] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

[1984] 210 215 220

[1985] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

[1986] 225 230

[1987] <210> 53

[1988] <211> 752

[1989] <212> DNA

[1990] <213> 人工的

[1991] <220>

[1992] <223> 含有编码人源化hA2-27D-L3的序列的DNA片段的核苷酸序列

[1993] <220>

[1994] <221> sig_peptide

[1995] <222> (26)..(85)

[1996] <220>

[1997] <221> V_region

[1998] <222> (86)..(412)

[1999] <220>

[2000] <221> C_region

[2001] <222> (413)..(727)

[2002] <400> 53

[2003] ccagcctccg gactctagag ccaccatggt gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct 60

[2004] gctgtggatc agcggcgcct acggcgagat cgtgctgaca cagagccctg gcaccctgag 120

[2005] cctgtctcca ggcgaaagag ccaccctgtc ctgtctggcc agcagcagcg tgtcctacat 180

[2006] gacctggtat cagcagaagc caggcgccag ccccagactg tggatctacg gcacaagcaa 240

[2007] cctggccagc ggcgtgcccg atagattttc tggcagcggc tccggcaccg actacaccct 300

[2008] gacaatcagc agactggaac ccgaggactt cgccacctac tactgcctgc acctgaccag 360

[2009] ctacccccc tacacatttg gagccggcac caaggtggaa atcaagcggg ctgtggccgc 420

[2010] tccctccgtg ttcatctttc cacccagcga cgagcagctg aagtctggca cagccagcgt 480

[2011] cgtgtgcctg ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa 540

[2012] tgccctgcag agcggcaact cccaggaaag cgtgaccgag caggacagca aggactccac 600

[2013] ctacagcctg agcagcacac tgaccctgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta 660

[2014] cgcctgcgaa gtgacccacc agggcctgtc tagccccgtg accaagagct tcaaccgggg 720

[2015] cgagtgttga gtttaaacgg gggaggctaa ct 752

[2016] <210> 54
[2017] <211> 234
[2018] <212> PRT
[2019] <213> 人工的
[2020] <220>
[2021] <223> 人源化hA2-27D-L3的氨基酸序列
[2022] <220>
[2023] <221> SIGNAL
[2024] <222> (1)..(20)
[2025] <220>
[2026] <221> V_region
[2027] <222> (21)..(129)
[2028] <220>
[2029] <221> C_region
[2030] <222> (130)..(234)
[2031] <400> 54
[2032] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[2033] 1 5 10 15
[2034] Gly Ala Tyr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
[2035] 20 25 30
[2036] Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Leu Ala Ser Ser Ser
[2037] 35 40 45
[2038] Val Ser Tyr Met Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ala Ser Pro Arg
[2039] 50 55 60
[2040] Leu Trp Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg
[2041] 65 70 75 80
[2042] Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Arg
[2043] 85 90 95
[2044] Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu His Leu Thr Ser
[2045] 100 105 110
[2046] Tyr Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[2047] 115 120 125
[2048] Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
[2049] 130 135 140
[2050] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
[2051] 145 150 155 160
[2052] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
[2053] 165 170 175
[2054] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[2055] 180 185 190
[2056] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
[2057] 195 200 205

[2058] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
[2059] 210 215 220
[2060] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[2061] 225 230
[2062] <210> 55
[2063] <211> 752
[2064] <212> DNA
[2065] <213> 人工的
[2066] <220>
[2067] <223> 含有编码人源化hA2-27D-L4的序列的DNA片段的核苷酸序列
[2068] <220>
[2069] <221> sig_peptide
[2070] <222> (26)..(85)
[2071] <220>
[2072] <221> V_region
[2073] <222> (86)..(412)
[2074] <220>
[2075] <221> C_region
[2076] <222> (413)..(727)
[2077] <400> 55
[2078] ccagcctccg gactctagag ccaccatggt gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct 60
[2079] gctgtggatc agcggcgcct acggcgagat cgtgctgaca cagagccctg gcaccatgtc 120
[2080] tgccagccct ggcgagagag tgaccctgag ctgtctggcc agctccagcg tgtcctacat 180
[2081] gacctggtat cagcagaagc caggcgccag ccccagactg tggatctacg gcacaagcaa 240
[2082] cctggccagc ggcgtgcccg atagattttc tggcagcggc tccggcaccg actacaccct 300
[2083] gaccatcagc cggatggaac ccgaggactt cgccacctac tactgcctgc acctgaccag 360
[2084] ctacccccc tacacatttg gagccggcac caagctggaa ctgaagagag ccgtggctgc 420
[2085] cccctccgtg ttcatcttcc cacctagcga cgagcagctg aagtctggca cagccagcgt 480
[2086] cgtgtgcctg ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa 540
[2087] tgccctgcag agcggcaaca gccaggaaag cgtgaccgag caggacagca aggactccac 600
[2088] ctacagcctg agcagcaccc tgacactgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta 660
[2089] cgcctgcgaa gtgacccacc agggcctgtc tagccccgtg accaagagct tcaaccgggg 720
[2090] cgagtgttga gtttaaacgg gggaggctaa ct 752
[2091] <210> 56
[2092] <211> 234
[2093] <212> PRT
[2094] <213> 人工的
[2095] <220>
[2096] <223> 人源化hA2-27D-L4的氨基酸序列
[2097] <220>
[2098] <221> SIGNAL
[2099] <222> (1)..(20)

[2100] <220>
[2101] <221> V_region
[2102] <222> (21)..(129)
[2103] <220>
[2104] <221> C_region
[2105] <222> (130)..(234)
[2106] <400> 56
[2107] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[2108] 1 5 10 15
[2109] Gly Ala Tyr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Met Ser
[2110] 20 25 30
[2111] Ala Ser Pro Gly Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Leu Ala Ser Ser Ser
[2112] 35 40 45
[2113] Val Ser Tyr Met Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ala Ser Pro Arg
[2114] 50 55 60
[2115] Leu Trp Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg
[2116] 65 70 75 80
[2117] Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Arg
[2118] 85 90 95
[2119] Met Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu His Leu Thr Ser
[2120] 100 105 110
[2121] Tyr Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
[2122] 115 120 125
[2123] Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
[2124] 130 135 140
[2125] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
[2126] 145 150 155 160
[2127] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
[2128] 165 170 175
[2129] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[2130] 180 185 190
[2131] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
[2132] 195 200 205
[2133] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
[2134] 210 215 220
[2135] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[2136] 225 230
[2137] <210> 57
[2138] <211> 752
[2139] <212> DNA
[2140] <213> 人工的
[2141] <220>

[2142] <223> 含有编码人源化hA2-27D-L5的序列的DNA片段的核苷酸序列
[2143] <220>
[2144] <221> sig_peptide
[2145] <222> (26)..(85)
[2146] <220>
[2147] <221> V_region
[2148] <222> (86)..(412)
[2149] <220>
[2150] <221> C_region
[2151] <222> (413)..(727)
[2152] <400> 57
[2153] ccagcctccg gactctagag ccaccatggt gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct 60
[2154] gctgtggatc agcggcgcct acggcgagat cgtgctgaca cagagccctg gcaccatgtc 120
[2155] tgccagccct ggcgagagag tgaccctgaa ttgtctggcc agcagcagcg tgtcctacat 180
[2156] gacctggtat cagcagaagt ccggcgccag ccccaaactg tggatctacg gcaccagcaa 240
[2157] cctggccagc ggcgtgccca atagattttc cggcagcggc tccggcacct cctacaccct 300
[2158] gaccatcagc cggatggaac ccgaggactt cgccacctac tactgcctgc acctgaccag 360
[2159] ctacccccccc tacacatttg gagccggcac caagctggaa ctgaagagag ccgtggccgc 420
[2160] tccctccgtg ttcatcttcc cacctagcga cgagcagctg aagtctggca cagccagcgt 480
[2161] cgtgtgcctg ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa 540
[2162] tgccctgcag agcggcaaca gccaggaaag cgtgaccgag caggacagca aggactccac 600
[2163] ctacagcctg agcagcaccc tgacactgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta 660
[2164] cgcctgcgaa gtgacccacc agggcctgtc tagccccgtg accaagagct tcaaccgggg 720
[2165] cgagtgttga gtttaaacgg gggaggctaa ct 752
[2166] <210> 58
[2167] <211> 234
[2168] <212> PRT
[2169] <213> 人工的
[2170] <220>
[2171] <223> 人源化hA2-27D-L5的氨基酸序列
[2172] <220>
[2173] <221> SIGNAL
[2174] <222> (1)..(20)
[2175] <220>
[2176] <221> V_region
[2177] <222> (21)..(129)
[2178] <220>
[2179] <221> C_region
[2180] <222> (130)..(234)
[2181] <400> 58
[2182] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[2183] 1 5 10 15

[2184] Gly Ala Tyr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Met Ser
[2185] 20 25 30
[2186] Ala Ser Pro Gly Glu Arg Val Thr Leu Asn Cys Leu Ala Ser Ser Ser
[2187] 35 40 45
[2188] Val Ser Tyr Met Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Ala Ser Pro Lys
[2189] 50 55 60
[2190] Leu Trp Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asn Arg
[2191] 65 70 75 80
[2192] Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Arg
[2193] 85 90 95
[2194] Met Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu His Leu Thr Ser
[2195] 100 105 110
[2196] Tyr Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
[2197] 115 120 125
[2198] Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
[2199] 130 135 140
[2200] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
[2201] 145 150 155 160
[2202] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
[2203] 165 170 175
[2204] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[2205] 180 185 190
[2206] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
[2207] 195 200 205
[2208] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
[2209] 210 215 220
[2210] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[2211] 225 230
[2212] <210> 59
[2213] <211> 10
[2214] <212> PRT
[2215] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2216] <400> 59
[2217] Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr Tyr Met Ala
[2218] 1 5 10
[2219] <210> 60
[2220] <211> 17
[2221] <212> PRT
[2222] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2223] <400> 60
[2224] Ser Ile Thr Asn Ser Gly Gly Ser Ile Asn Tyr Arg Asp Ser Val Lys
[2225] 1 5 10 15

[2226] Gly
[2227] <210> 61
[2228] <211> 14
[2229] <212> PRT
[2230] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2231] <400> 61
[2232] Glu Gly Gly Glu Asn Tyr Gly Gly Tyr Pro Pro Phe Ala Tyr
[2233] 1 5 10
[2234] <210> 62
[2235] <211> 15
[2236] <212> PRT
[2237] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2238] <400> 62
[2239] Arg Ala Asn Gln Gly Val Ser Leu Ser Arg Tyr Asn Leu Met His
[2240] 1 5 10 15
[2241] <210> 63
[2242] <211> 7
[2243] <212> PRT
[2244] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2245] <400> 63
[2246] Arg Ser Ser Asn Leu Ala Ser
[2247] 1 5
[2248] <210> 64
[2249] <211> 9
[2250] <212> PRT
[2251] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2252] <400> 64
[2253] Gln Gln Ser Arg Glu Ser Pro Phe Thr
[2254] 1 5
[2255] <210> 65
[2256] <211> 10
[2257] <212> PRT
[2258] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2259] <400> 65
[2260] Gly Ser Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Lys
[2261] 1 5 10
[2262] <210> 66
[2263] <211> 17
[2264] <212> PRT
[2265] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2266] <400> 66
[2267] Ser Ile Ser Arg Ser Ser Thr Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val Lys

[2268] 1 5 10 15

[2269] Gly

[2270] <210> 67

[2271] <211> 12

[2272] <212> PRT

[2273] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[2274] <400> 67

[2275] Ala Ile Ser Thr Pro Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Phe

[2276] 1 5 10

[2277] <210> 68

[2278] <211> 10

[2279] <212> PRT

[2280] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[2281] <400> 68

[2282] Leu Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Thr

[2283] 1 5 10

[2284] <210> 69

[2285] <211> 7

[2286] <212> PRT

[2287] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[2288] <400> 69

[2289] Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser

[2290] 1 5

[2291] <210> 70

[2292] <211> 10

[2293] <212> PRT

[2294] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[2295] <400> 70

[2296] Leu His Leu Thr Ser Tyr Pro Pro Tyr Thr

[2297] 1 5 10

[2298] <210> 71

[2299] <211> 7

[2300] <212> PRT

[2301] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[2302] <400> 71

[2303] Arg Ser Ser Asn Leu Ala Gln

[2304] 1 5

[2305] <210> 72

[2306] <211> 10

[2307] <212> PRT

[2308] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[2309] <400> 72

[2310] Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Tyr Met Tyr
[2311] 1 5 10
[2312] <210> 73
[2313] <211> 17
[2314] <212> PRT
[2315] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2316] <400> 73
[2317] Ser Ile Asn Thr Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
[2318] 1 5 10 15
[2319] Gly
[2320] <210> 74
[2321] <211> 9
[2322] <212> PRT
[2323] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2324] <400> 74
[2325] Ser Thr Pro Asn Ile Pro Leu Ala Tyr
[2326] 1 5
[2327] <210> 75
[2328] <211> 11
[2329] <212> PRT
[2330] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2331] <400> 75
[2332] Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Tyr Leu Asn
[2333] 1 5 10
[2334] <210> 76
[2335] <211> 7
[2336] <212> PRT
[2337] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2338] <400> 76
[2339] Tyr Ser Asn Ser Leu Gln Thr
[2340] 1 5
[2341] <210> 77
[2342] <211> 8
[2343] <212> PRT
[2344] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2345] <400> 77
[2346] Phe Gln Tyr Ser Ser Gly Pro Thr
[2347] 1 5
[2348] <210> 78
[2349] <211> 10
[2350] <212> PRT
[2351] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

[2352] <400> 78
[2353] Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr Ala Met Ser
[2354] 1 5 10
[2355] <210> 79
[2356] <211> 17
[2357] <212> PRT
[2358] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2359] <400> 79
[2360] Ser Ile Ser Arg Gly Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Thr Val Lys
[2361] 1 5 10 15
[2362] Gly
[2363] <210> 80
[2364] <211> 9
[2365] <212> PRT
[2366] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2367] <400> 80
[2368] Leu Asn Tyr Asn Asn Tyr Phe Asp Tyr
[2369] 1 5
[2370] <210> 81
[2371] <211> 11
[2372] <212> PRT
[2373] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2374] <400> 81
[2375] Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Trp Leu Ser
[2376] 1 5 10
[2377] <210> 82
[2378] <211> 7
[2379] <212> PRT
[2380] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2381] <400> 82
[2382] Gly Ala Thr Ser Leu Ala Asp
[2383] 1 5
[2384] <210> 83
[2385] <211> 9
[2386] <212> PRT
[2387] <213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
[2388] <400> 83
[2389] Leu Gln Ala Tyr Ser Ala Pro Phe Thr
[2390] 1 5
[2391] <210> 84
[2392] <211> 509
[2393] <212> PRT

[2394] <213> 智人(Homo sapiens)

[2395] <400> 84

[2396] Met Val Asp Gly Val Met Ile Leu Pro Val Leu Ile Met Ile Ala Leu
[2397] 1 5 10 15
[2398] Pro Ser Pro Ser Met Glu Asp Glu Lys Pro Lys Val Asn Pro Lys Leu
[2399] 20 25 30
[2400] Tyr Met Cys Val Cys Glu Gly Leu Ser Cys Gly Asn Glu Asp His Cys
[2401] 35 40 45
[2402] Glu Gly Gln Gln Cys Phe Ser Ser Leu Ser Ile Asn Asp Gly Phe His
[2403] 50 55 60
[2404] Val Tyr Gln Lys Gly Cys Phe Gln Val Tyr Glu Gln Gly Lys Met Thr
[2405] 65 70 75 80
[2406] Cys Lys Thr Pro Pro Ser Pro Gly Gln Ala Val Glu Cys Cys Gln Gly
[2407] 85 90 95
[2408] Asp Trp Cys Asn Arg Asn Ile Thr Ala Gln Leu Pro Thr Lys Gly Lys
[2409] 100 105 110
[2410] Ser Phe Pro Gly Thr Gln Asn Phe His Leu Glu Val Gly Leu Ile Ile
[2411] 115 120 125
[2412] Leu Ser Val Val Phe Ala Val Cys Leu Leu Ala Cys Leu Leu Gly Val
[2413] 130 135 140
[2414] Ala Leu Arg Lys Phe Lys Arg Arg Asn Gln Glu Arg Leu Asn Pro Arg
[2415] 145 150 155 160
[2416] Asp Val Glu Tyr Gly Thr Ile Glu Gly Leu Ile Thr Thr Asn Val Gly
[2417] 165 170 175
[2418] Asp Ser Thr Leu Ala Asp Leu Leu Asp His Ser Cys Thr Ser Gly Ser
[2419] 180 185 190
[2420] Gly Ser Gly Leu Pro Phe Leu Val Gln Arg Thr Val Ala Arg Gln Ile
[2421] 195 200 205
[2422] Thr Leu Leu Glu Cys Val Gly Lys Gly Arg Tyr Gly Glu Val Trp Arg
[2423] 210 215 220
[2424] Gly Ser Trp Gln Gly Glu Asn Val Ala Val Lys Ile Phe Ser Ser Arg
[2425] 225 230 235 240
[2426] Asp Glu Lys Ser Trp Phe Arg Glu Thr Glu Leu Tyr Asn Thr Val Met
[2427] 245 250 255
[2428] Leu Arg His Glu Asn Ile Leu Gly Phe Ile Ala Ser Asp Met Thr Ser
[2429] 260 265 270
[2430] Arg His Ser Ser Thr Gln Leu Trp Leu Ile Thr His Tyr His Glu Met
[2431] 275 280 285
[2432] Gly Ser Leu Tyr Asp Tyr Leu Gln Leu Thr Thr Leu Asp Thr Val Ser
[2433] 290 295 300
[2434] Cys Leu Arg Ile Val Leu Ser Ile Ala Ser Gly Leu Ala His Leu His
[2435] 305 310 315 320

[2436] Ile Glu Ile Phe Gly Thr Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His Arg Asp
[2437] 325 330 335
[2438] Leu Lys Ser Lys Asn Ile Leu Val Lys Lys Asn Gly Gln Cys Cys Ile
[2439] 340 345 350
[2440] Ala Asp Leu Gly Leu Ala Val Met His Ser Gln Ser Thr Asn Gln Leu
[2441] 355 360 365
[2442] Asp Val Gly Asn Asn Pro Arg Val Gly Thr Lys Arg Tyr Met Ala Pro
[2443] 370 375 380
[2444] Glu Val Leu Asp Glu Thr Ile Gln Val Asp Cys Phe Asp Ser Tyr Lys
[2445] 385 390 395 400
[2446] Arg Val Asp Ile Trp Ala Phe Gly Leu Val Leu Trp Glu Val Ala Arg
[2447] 405 410 415
[2448] Arg Met Val Ser Asn Gly Ile Val Glu Asp Tyr Lys Pro Pro Phe Tyr
[2449] 420 425 430
[2450] Asp Val Val Pro Asn Asp Pro Ser Phe Glu Asp Met Arg Lys Val Val
[2451] 435 440 445
[2452] Cys Val Asp Gln Gln Arg Pro Asn Ile Pro Asn Arg Trp Phe Ser Asp
[2453] 450 455 460
[2454] Pro Thr Leu Thr Ser Leu Ala Lys Leu Met Lys Glu Cys Trp Tyr Gln
[2455] 465 470 475 480
[2456] Asn Pro Ser Ala Arg Leu Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Leu Thr
[2457] 485 490 495
[2458] Lys Ile Asp Asn Ser Leu Asp Lys Leu Lys Thr Asp Cys
[2459] 500 505
[2460] <210> 85
[2461] <211> 3062
[2462] <212> DNA
[2463] <213> 智人(Homo sapiens)
[2464] <400> 85
[2465] gaagagatgt gggcctctgg ggccgctgga ttcagtaact tccgtcgggt tctagactgg 60
[2466] ctcggctctg tccagtttgt gccagatagt ctcccacccc ctccccaccc ctcctttccc 120
[2467] ctggagattt gaacgctgct tgcatgggag aaaagctact tagagaagaa aacgttccac 180
[2468] ttagtaacag aagaaaagtc ttggttaaaa agttgtcatg aatttggctt ttggagagag 240
[2469] gcagcaagcc tggagcattg gtaagcgtca cactgccaaa gtgagagctg ctggagaact 300
[2470] cataatccca ggaacgcctc ttctactctc cgagtacccc agtgaccaga gtgagagaag 360
[2471] ctctgaacga gggcacgcgg cttgaaggac tgtgggcaga tgtgaccaag agcctgcatt 420
[2472] aagttgtaca atggtagatg gagtgatgat tcttcctgtg cttatcatga ttgctctccc 480
[2473] ctcccctagt atggaagatg agaagcccaa ggtcaacccc aaactctaca tgtgtgtgtg 540
[2474] tgaaggtctc tcctgcggta atgaggacca ctgtgaaggc cagcagtgct tttcctcact 600
[2475] gagcatcaac gatggcttcc acgtctacca gaaaggctgc ttccaggttt atgagcaggg 660
[2476] aaagatgacc tgtaagaccc cgccgtcccc tggccaagcc gtggagtgct gccaagggga 720
[2477] ctggtgtaac aggaacatca cggcccagct gcccactaaa ggaaaatcct tccctggaac 780

[2478] acagaatttc cacttggagg ttggcctcat tattctctct gtagtgttcg cagtatgtct 840

[2479] tttagcctgc ctgctgggag ttgctctccg aaaatttaaa aggcgcaacc aagaacgcct 900

[2480] caatccccga gacgtggagt atggcactat cgaagggctc atcaccacca atgttggaga 960

[2481] cagcacttta gcagatttat tggatcattc gtgtacatca ggaagtggct ctggtcttcc 1020

[2482] ttttctggta caaagaacag tggctcgcca gattacactg ttggagtgtg tcgggaaagg 1080

[2483] caggtatggt gaggtgtgga ggggcagctg gcaaggggag aatgttgccg tgaagatctt 1140

[2484] ctcctcccgt gatgagaagt catggttcag ggaaacggaa ttgtacaaca ctgtgatgct 1200

[2485] gaggcatgaa aatatcttag gtttcattgc ttcagacatg acatcaagac actccagtac 1260

[2486] ccagctgtgg ttaattacac attatcatga aatgggatcg ttgtacgact atcttcagct 1320

[2487] tactactctg gatacagtta gctgccttcg aatagtgctg tccatagcta gtggtcttgc 1380

[2488] acatttgcac atagagatat ttgggaccca agggaaacca gccattgccc atcgagattt 1440

[2489] aaagagcaaa aatattctgg ttaagaagaa tggacagtgt tgcatagcag atttgggcct 1500

[2490] ggcagtcatg cattcccaga gcaccaatca gcttgatgtg gggaacaatc cccgtgtggg 1560

[2491] caccaagcgc tacatggccc ccgaagttct agatgaaacc atccaggtgg attgtttcga 1620

[2492] ttcttataaa agggtcgata tttgggcctt tggacttgtt ttgtgggaag tggccaggcg 1680

[2493] gatggtgagc aatggtatag tggaggatta caagccaccg ttctacgatg tggttcccaa 1740

[2494] tgacccaagt tttgaagata tgaggaaggt agtctgtgtg gatcaacaaa ggccaaacat 1800

[2495] acccaacaga tggttctcag acccgacatt aacctctctg gccaagctaa tgaaagaatg 1860

[2496] ctggtatcaa aatccatccg caagactcac agcactgcgt atcaaaaaga ctttgaccaa 1920

[2497] aattgataat tccctcgaca aattgaaaac tgactgttga cattttcata gtgtcaagaa 1980

[2498] ggaagatttg acgttgttgt cattgtccag ctgggaccta atgctggcct gactggttgt 2040

[2499] cagaatggaa tccatctgtc tccctcccca aatggctgct ttgacaaggc agacgtcgta 2100

[2500] cccagccatg tgttggggag acatcaaaac caccctaacc tcgctcgatg actgtgaact 2160

[2501] gggcatttca cgaactgttc acactgcaga gactaatgtt ggacagacac tgttgcaaag 2220

[2502] gtagggactg gaggaacaca gagaaatcct aaaagagatc tgggcattaa gtcagtggct 2280

[2503] ttgcatagct ttcacaagtc tcctagacac tccccacggg aaactcaagg aggtggtgaa 2340

[2504] tttttaatca gcaatattgc ctgtgcttct cttctttatt gcactaggaa ttctttgcat 2400

[2505] tccttacttg cactgttact cttaatttta aagacccaac ttgccaaaat gttggctgcg 2460

[2506] tactccactg gtctgtcttt ggataatagg aattcaattt ggcaaaacaa aatgtaatgt 2520

[2507] cagactttgc tgcattttac acatgtgctg atgtttacaa tgatgccgaa cattaggaat 2580

[2508] tgtttataca caactttgca aattatttat tacttgtgca cttagtagtt tttacaaaac 2640

[2509] tgctttgtgc atatgttaaa gcttatttt atgtggtctt atgattttat tacagaaatg 2700

[2510] tttttaacac tatactctaa aatggacatt ttcttttatt atcagttaaa atcacatttt 2760

[2511] aagtgcttca catttgtatg tgtgtagact gtaacttttt ttcagttcat atgcagaacg 2820

[2512] tatttagcca ttacccacgt gacaccaccg aatatattac tgatttagaa gcaaagattt 2880

[2513] cagtagaatt ttagtcctga acgctacggg gaaaatgcat tttcttcaga attatccatt 2940

[2514] acgtgcattt aaactctgcc agaaaaaaat aactattttg ttttaatcta ctttttgtat 3000

[2515] ttagtagtta tttgtataaa ttaaataaac tgttttcaag tcaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3060

[2516] aa 3062

[2517] <210> 86

[2518] <211> 509

[2519] <212> PRT

[2520] <213> 小鼠(Mus musculus)

[2521] <400> 86

[2522] Met Val Asp Gly Val Met Ile Leu Pro Val Leu Met Met Met Ala Phe

[2523] 1 5 10 15

[2524] Pro Ser Pro Ser Val Glu Asp Glu Lys Pro Lys Val Asn Gln Lys Leu

[2525] 20 25 30

[2526] Tyr Met Cys Val Cys Glu Gly Leu Ser Cys Gly Asn Glu Asp His Cys

[2527] 35 40 45

[2528] Glu Gly Gln Gln Cys Phe Ser Ser Leu Ser Ile Asn Asp Gly Phe His

[2529] 50 55 60

[2530] Val Tyr Gln Lys Gly Cys Phe Gln Val Tyr Glu Gln Gly Lys Met Thr

[2531] 65 70 75 80

[2532] Cys Lys Thr Pro Pro Ser Pro Gly Gln Ala Val Glu Cys Cys Gln Gly

[2533] 85 90 95

[2534] Asp Trp Cys Asn Arg Asn Ile Thr Ala Gln Leu Pro Thr Lys Gly Lys

[2535] 100 105 110

[2536] Ser Phe Pro Gly Thr Gln Asn Phe His Leu Glu Val Gly Leu Ile Ile

[2537] 115 120 125

[2538] Leu Ser Val Val Phe Ala Val Cys Leu Leu Ala Cys Ile Leu Gly Val

[2539] 130 135 140

[2540] Ala Leu Arg Lys Phe Lys Arg Arg Asn Gln Glu Arg Leu Asn Pro Arg

[2541] 145 150 155 160

[2542] Asp Val Glu Tyr Gly Thr Ile Glu Gly Leu Ile Thr Thr Asn Val Gly

[2543] 165 170 175

[2544] Asp Ser Thr Leu Ala Glu Leu Leu Asp His Ser Cys Thr Ser Gly Ser

[2545] 180 185 190

[2546] Gly Ser Gly Leu Pro Phe Leu Val Gln Arg Thr Val Ala Arg Gln Ile

[2547] 195 200 205

[2548] Thr Leu Leu Glu Cys Val Gly Lys Gly Arg Tyr Gly Glu Val Trp Arg

[2549] 210 215 220

[2550] Gly Ser Trp Gln Gly Glu Asn Val Ala Val Lys Ile Phe Ser Ser Arg

[2551] 225 230 235 240

[2552] Asp Glu Lys Ser Trp Phe Arg Glu Thr Glu Leu Tyr Asn Thr Val Met

[2553] 245 250 255

[2554] Leu Arg His Glu Asn Ile Leu Gly Phe Ile Ala Ser Asp Met Thr Ser

[2555] 260 265 270

[2556] Arg His Ser Ser Thr Gln Leu Trp Leu Ile Thr His Tyr His Glu Met

[2557] 275 280 285

[2558] Gly Ser Leu Tyr Asp Tyr Leu Gln Leu Thr Thr Leu Asp Thr Val Ser

[2559] 290 295 300

[2560] Cys Leu Arg Ile Val Leu Ser Ile Ala Ser Gly Leu Ala His Leu His

[2561] 305 310 315 320

[2562] Ile Glu Ile Phe Gly Thr Gln Gly Lys Ser Ala Ile Ala His Arg Asp
[2563] 325 330 335
[2564] Leu Lys Ser Lys Asn Ile Leu Val Lys Lys Asn Gly Gln Cys Cys Ile
[2565] 340 345 350
[2566] Ala Asp Leu Gly Leu Ala Val Met His Ser Gln Ser Thr Asn Gln Leu
[2567] 355 360 365
[2568] Asp Val Gly Asn Asn Pro Arg Val Gly Thr Lys Arg Tyr Met Ala Pro
[2569] 370 375 380
[2570] Glu Val Leu Asp Glu Thr Ile Gln Val Asp Cys Phe Asp Ser Tyr Lys
[2571] 385 390 395 400
[2572] Arg Val Asp Ile Trp Ala Phe Gly Leu Val Leu Trp Glu Val Ala Arg
[2573] 405 410 415
[2574] Arg Met Val Ser Asn Gly Ile Val Glu Asp Tyr Lys Pro Pro Phe Tyr
[2575] 420 425 430
[2576] Asp Val Val Pro Asn Asp Pro Ser Phe Glu Asp Met Arg Lys Val Val
[2577] 435 440 445
[2578] Cys Val Asp Gln Gln Arg Pro Asn Ile Pro Asn Arg Trp Phe Ser Asp
[2579] 450 455 460
[2580] Pro Thr Leu Thr Ser Leu Ala Lys Leu Met Lys Glu Cys Trp Tyr Gln
[2581] 465 470 475 480
[2582] Asn Pro Ser Ala Arg Leu Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Leu Thr
[2583] 485 490 495
[2584] Lys Ile Asp Asn Ser Leu Asp Lys Leu Lys Thr Asp Cys
[2585] 500 505
[2586] <210> 87
[2587] <211> 3312
[2588] <212> DNA
[2589] <213> 小鼠(Mus musculus)
[2590] <400> 87
[2591] ccgcctcccc gggttcagca cccgaccgcc gctggaccag aggaacaaag gagctgcccc 60
[2592] cgtgtcaccc agcccttcag tggaagtctg gaaaaggaac agaggtgata ttgcagtgga 120
[2593] tgagcagaga gaagccggcc tctggtgctc ttgagctggt ctgcccatag ggagcctgct 180
[2594] gggagaaggt acagcttccg gaagactcct cccggagcgc ctctcccatc ctcctctccc 240
[2595] ttggagcagt cagtacctct ctgctggagg atctgggctg ggtgtgccgg gagctggctt 300
[2596] taactgtagc cctgtcaggc tttccccgga cctcgcggaa gagcgtcacc agcccccacg 360
[2597] gctttccaac acatcacctc ttttcatgcc gtttggcaca gatcgaatct acagggatga 420
[2598] atggatccag ggtctggttt taagttctat ggtagtcgtc caaggagcca ttggtattca 480
[2599] tctaacgcaa acgatcaagt tacattctga aagtaacatc ccaccagaaa ccctccagca 540
[2600] gcagtcacgt ctgtgtaaag ccaagccctg gcatgcgcac tgccaggtca gagtgtggtg 600
[2601] gtacacgtgt ttaacaggtc atttgtcaac tgaaggaaag accccggctt gacttacctg 660
[2602] ttatacaatg gtcgatggag taatgatcct tcctgtgcta atgatgatgg ctttcccttc 720
[2603] cccgagtgtg gaagatgaga agcccaaggt caaccagaaa ctttacatgt gtgtgtgtga 780

[2604] gggcctctcc tgcgggaacg aggaccactg tgaaggccag cagtgttttt cttctctgag 840
[2605] catcaacgat ggcttccacg tctaccagaa gggctgcttt caggtttatg agcaggggaa 900
[2606] gatgacgtgt aagaccccgc cgtcacctgg ccaggctgtg gagtgctgcc aaggggactg 960
[2607] gtgtaacagg aacatcacgg cccagctgcc cactaaaggg aagtccttcc ccggaacaca 1020
[2608] gaatttccac ctggaagttg gccttatcat cctctcggtg gtgtttgcag tatgtctttt 1080
[2609] agcttgcatc cttggagttg ctctcaggaa gtttaagaga cgcaatcaag agcgcctgaa 1140
[2610] ccccagagac gtggagtatg gtaccattga agggctcatc accaccaatg tgggagacag 1200
[2611] cactctagcg gaactactag atcactcgtg tacatcagga agtggctccg gtcttccttt 1260
[2612] cctggtacag agaacggtgg ctcgccagat aaccctgttg gagtgtgtcg ggaagggccg 1320
[2613] gtatggagaa gtatggaggg gcagctggca aggcgaaaat gtcgctgtga agatcttctc 1380
[2614] ctcccgagac gagaagtcat ggttcaggga gacggaattg tacaacactg tgatgttgag 1440
[2615] gcatgaaaat atcttaggtt tcatcgcttc agacatgacc tccagacact ccagtaccca 1500
[2616] gctgtggctc atcacacatt accatgaaat gggatcgttg tatgactacc ttcagctcac 1560
[2617] tactctggat acggttagct gccttcggat tgtactgtcc atagccagcg gccttgccca 1620
[2618] tttgcacata gagatatttg ggacccaagg gaagtccgcc attgcccatc gagatctgaa 1680
[2619] gagcaaaaac atcctggtga agaagaatgg acagtgctgc atagcagatt tgggcctggc 1740
[2620] agtcatgcat tcccagagca caaaccagct tgatgtggga aacaaccccc gtgtggggac 1800
[2621] caagcgctac atggctccgg aagtgctcga tgaaaccatc caagtggatt gctttgattc 1860
[2622] ttataagagg gtcgatattt gggcctttgg ccttgttctg tgggaagtgg ccaggcgaat 1920
[2623] ggtgagcaat ggtatagtgg aagattacaa gccaccattc tatgatgtgg ttcccaatga 1980
[2624] cccaagtttt gaagatatga ggaaagttgt ctgtgtggat caacagaggc caaacatacc 2040
[2625] taacagatgg ttctcagacc cgacattaac ttctctggcg aagctgatga aagagtgctg 2100
[2626] gtatcagaac ccatccgcaa gactcacagc tctacgtatc aaaaagactt tgaccaaaat 2160
[2627] cgataattcc ctagacaaat taaaaactga ctgttgacct tgtcaccggt gtcaagaagg 2220
[2628] agagtcaatg ctgtccttgt ccagctggga cctaatgctg gcctgactgg ttgtcagaac 2280
[2629] agaatccatc tgacccccct cccgaagtgg ctgctttgac ggaagcagat gtctcttccc 2340
[2630] agccatgttc caggggggaga caccaaaacc accctaacct cgctcaaaaa ctgtgactcg 2400
[2631] agccctcgat gaactgttca caccacaaag acttaacggt gggcaggtct ggtggcaagg 2460
[2632] gggagggaag tggaggaacc cggaaagatc ctgcaggcga tctgggcatt aagacagtgg 2520
[2633] ctctctgcgt atctttcgcg ggtctcctag acactcccca cgggaagctc aaggaggcgg 2580
[2634] tgaattcgta atcagcaata tcggctgcat ctactcttcg ttgcactagg aattctgtgc 2640
[2635] attccttact tgcactgtgg cccttaatct taaagaccca acttgccaaa acattggctg 2700
[2636] cgtactccac tggcctgtct ctggataata ggaattcaat ctggcaacac aaaaatgtac 2760
[2637] cgttggactc tgctgcattt tacacacgtg ctgatgttta caaggatgcg aacattagga 2820
[2638] attgtttaga cacaactttg caaattattt attactggtg cacttagcgg tttgtttgaa 2880
[2639] accgcctcgt gcatatgtta aagcttattt ttatgtggtc ttatgatttt attaccgaaa 2940
[2640] tgtttttaac acccaactct gaaacggaca ttttctttta ttatcagtta aattcacatt 3000
[2641] taagtgcttc acatttttt ttttaaatgt gtgtagactg taactttctt ttcagttcgt 3060
[2642] atgcagaaca tatttagcca ttacccatgc aacaccaccc gatatattac tgatttagaa 3120
[2643] gcaaagattt cagtagaatt ttagtcccaa acgctgtggg gggaaatgca tcttcttcgg 3180
[2644] aattatccat tacgtgcatt taaactctgc cagaaaaaaa aataactatt ttgttttaat 3240
[2645] ctacttttg tatttagtag ttatttgtat aaattaaata aactgttttc aagtcaaaaa 3300

[2646] aaaaaaaaaa aa 3312
[2647] <210> 88
[2648] <211> 29
[2649] <212> DNA
[2650] <213> 人工的
[2651] <220>
[2652] <223> 引物
[2653] <400> 88
[2654] ctccagagtt ccaggtcacg gtgactggc 29
[2655] <210> 89
[2656] <211> 28
[2657] <212> DNA
[2658] <213> 人工的
[2659] <220>
[2660] <223> 引物
[2661] <400> 89
[2662] tcagtaacac tgtccaggac accatctc 28
[2663] <210> 90
[2664] <211> 30
[2665] <212> DNA
[2666] <213> 人工的
[2667] <220>
[2668] <223> 引物
[2669] <400> 90
[2670] tataccgtcg acctctagct agagcttggc 30
[2671] <210> 91
[2672] <211> 30
[2673] <212> DNA
[2674] <213> 人工的
[2675] <220>
[2676] <223> 引物
[2677] <400> 91
[2678] gctatggcag ggcctgccgc cccgacgttg 30
[2679] <210> 92
[2680] <211> 45
[2681] <212> DNA
[2682] <213> 人工的
[2683] <220>
[2684] <223> 引物
[2685] <400> 92
[2686] ccagatgggt gctgagcgag gtgcagctgg tggagtctgg cggag 45
[2687] <210> 93

[2688] <211> 46
[2689] <212> DNA
[2690] <213> 人工的
[2691] <220>
[2692] <223> 引物
[2693] <400> 93
[2694] cttggtggag gctgagctga cagtgaccag agtgccttgg ccccag 46
[2695] <210> 94
[2696] <211> 44
[2697] <212> DNA
[2698] <213> 人工的
[2699] <220>
[2700] <223> 引物
[2701] <400> 94
[2702] atctccggcg cgtacggcga cattgtcttg acccagtctc ctgc 44
[2703] <210> 95
[2704] <211> 44
[2705] <212> DNA
[2706] <213> 人工的
[2707] <220>
[2708] <223> 引物
[2709] <400> 95
[2710] ggaggggcg gccacagccc gtttcagttc cagcttggtc ccag 44
[2711] <210> 96
[2712] <211> 45
[2713] <212> DNA
[2714] <213> 人工的
[2715] <220>
[2716] <223> 引物
[2717] <400> 96
[2718] ccagatgggt gctgagcgag gtgcagctgg tggagtctgg aggag 45
[2719] <210> 97
[2720] <211> 46
[2721] <212> DNA
[2722] <213> 人工的
[2723] <220>
[2724] <223> 引物
[2725] <400> 97
[2726] cttggtggag gctgagctca cggtgaccac ggttcctggg ccccag 46
[2727] <210> 98
[2728] <211> 44
[2729] <212> DNA

[2730] <213> 人工的
[2731] <220>
[2732] <223> 引物
[2733] <400> 98
[2734] atctccggcg cgtacggcga aattgttctc actcagtctc caac 44
[2735] <210> 99
[2736] <211> 22
[2737] <212> DNA
[2738] <213> 人工的
[2739] <220>
[2740] <223> 引物
[2741] <400> 99
[2742] agctcccaga tgggtgctga gc 22
[2743] <210> 100
[2744] <211> 22
[2745] <212> DNA
[2746] <213> 人工的
[2747] <220>
[2748] <223> 引物
[2749] <400> 100
[2750] gggcccttgg tggaggctga gc 22
[2751] <210> 101
[2752] <211> 25
[2753] <212> DNA
[2754] <213> 人工的
[2755] <220>
[2756] <223> 引物
[2757] <400> 101
[2758] ccagcctccg gactctagag ccacc 25
[2759] <210> 102
[2760] <211> 24
[2761] <212> DNA
[2762] <213> 人工的
[2763] <220>
[2764] <223> 引物
[2765] <400> 102
[2766] agttagcctc ccccgtttaa actc 24
[2767] <210> 103
[2768] <211> 1118
[2769] <212> DNA
[2770] <213> 人工的
[2771] <220>

[2772] <223> 含有人重链信号序列和编码人IgG2恒定区的序列

[2773] 的DNA片段的核苷酸序列

[2774] <400> 103

[2775] gcctccggac tctagagcca ccatgaaaca cctgtggttc ttcctcctgc tggtggcagc 60

[2776] tcccagatgg gtgctgagcc aggtgcaatt gtgcaggcgg ttagctcagc cagcaccaag 120

[2777] ggcccttccg tgttccctct ggcccccttgt agccgttcca ccagcgagtc caccgccgcc 180

[2778] cttggctgtc tggtgaagga ctacttccct gagcctgtga ccgtgagctg gaactccgga 240

[2779] gcccttacca gcggcgtgca caccttccct gccgtgctgc agtccagcgg cctttactcc 300

[2780] ctgagctccg tggtgaccgt gcctagctcc aacttcggca cccaaaccta cacctgtaac 360

[2781] gtggaccaca agcctagcaa caccaaggtg gacaagaccg tggagcgtaa gtgttgtgtg 420

[2782] gagtgtcctc cttgtcctgc ccctcctgtg gccggacctt ccgtgttcct tttccctcct 480

[2783] aagcctaagg acaccctgat gatcagccgt acccctgagg tgacctgtgt ggtggtggac 540

[2784] gtgtcccacg aggaccctga ggtgcagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac 600

[2785] aacgccaaga ccaagcctcg tgaggagcaa ttcaacagca ccttccgtgt ggtgtccgtg 660

[2786] cttaccgtgg tgcaccaaga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgtaa ggtgagcaac 720

[2787] aagggacttc ctgcccctat cgagaagacc atctccaaga ccaagggcca acctcgtgag 780

[2788] cctcaagtgt acacccttcc tcctagccgt gaggagatga ccaagaacca agtgtccctt 840

[2789] acctgtctgg tgaagggctt ctaccctagc gacatcgccg tggagtggga gtccaacgga 900

[2790] caacctgaga acaactacaa gaccacccct cctatgcttg acagcgacgg ctccttcttc 960

[2791] ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc cgttggcaac aaggcaacgt gttcagctgt 1020

[2792] tccgtgatgc acgaggccct gcacaaccac tacacccaaa agagcctttc cctgagccct 1080

[2793] ggaaagtgat atcgggcccg tttaaacggg ggaggcta 1118

[2794] <210> 104

[2795] <211> 1404

[2796] <212> DNA

[2797] <213> 人工的

[2798] <220>

[2799] <223> 人源化hA2-15A-H4 IgG2型的核苷酸序列

[2800] <400> 104

[2801] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

[2802] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120

[2803] tgtgccgcca gcggcttcac cttcagccac tactacatgg cctgggtgcg ccaggcccct 180

[2804] ggcaaaggac tggaatgggt ggccagcatc accaacagcg gcggcagcat caactaccgg 240

[2805] gacagcgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaacg ccaagagcac cctgtacctg 300

[2806] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccacctact actgtacaag agagggcggc 360

[2807] gagaactacg gcggctaccc tccttttgcc tactggggcc agggcaccct cgtgaccgtc 420

[2808] agctcagcca gcaccaaggg cccttccgtg ttccctctgg ccccttgtag ccgttccacc 480

[2809] agcgagtcca ccgccgccct tggctgtctg gtgaaggact acttccctga gcctgtgacc 540

[2810] gtgagctgga actccggagc ccttaccagc ggcgtgcaca ccttccctgc cgtgctgcag 600

[2811] tccagcggcc tttactccct gagctccgtg gtgaccgtgc ctagctccaa cttcggcacc 660

[2812] caaacctaca cctgtaacgt ggaccacaag cctagcaaca ccaaggtgga caagaccgtg 720

[2813] gagcgtaagt gttgtgtgga gtgtcctcct tgtcctgccc ctcctgtggc cggaccttcc 780

[2814] gtgttccttt tccctcctaa gcctaaggac accctgatga tcagccgtac ccctgaggtg 840
[2815] acctgtgtgg tggtggacgt gtcccacgag gaccctgagg tgcagttcaa ctggtacgtg 900
[2816] gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc aagcctcgtg aggagcaatt caacagcacc 960
[2817] ttccgtgtgg tgtccgtgct taccgtggtg caccaagact ggctgaacgg caaggagtac 1020
[2818] aagtgtaagg tgagcaacaa gggacttcct gcccctatcg agaagaccat ctccaagacc 1080
[2819] aagggccaac ctcgtgagcc tcaagtgtac acccttcctc ctagccgtga ggagatgacc 1140
[2820] aagaaccaag tgtcccttac ctgtctggtg aagggcttct accctagcga catcgccgtg 1200
[2821] gagtgggagt ccaacggaca acctgagaac aactacaaga ccacccctcc tatgcttgac 1260
[2822] agcgacggct ccttcttcct gtacagcaag ctgaccgtgg acaagtcccg ttggcaacaa 1320
[2823] ggcaacgtgt tcagctgttc cgtgatgcac gaggccctgc acaaccacta cacccaaaag 1380
[2824] agcctttccc tgagccctgg aaag 1404
[2825] <210> 105
[2826] <211> 468
[2827] <212> PRT
[2828] <213> 人工的
[2829] <220>
[2830] <223> 人源化hA2-15A-H4 IgG2型的氨基酸序列
[2831] <400> 105
[2832] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
[2833] 1 5 10 15
[2834] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[2835] 20 25 30
[2836] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
[2837] 35 40 45
[2838] Ser His Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[2839] 50 55 60
[2840] Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Asn Ser Gly Gly Ser Ile Asn Tyr Arg
[2841] 65 70 75 80
[2842] Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
[2843] 85 90 95
[2844] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr
[2845] 100 105 110
[2846] Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Gly Gly Glu Asn Tyr Gly Gly Tyr Pro Pro
[2847] 115 120 125
[2848] Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
[2849] 130 135 140
[2850] Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
[2851] 145 150 155 160
[2852] Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
[2853] 165 170 175
[2854] Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
[2855] 180 185 190

[2856] His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
[2857] 195 200 205
[2858] Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
[2859] 210 215 220
[2860] Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
[2861] 225 230 235 240
[2862] Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
[2863] 245 250 255
[2864] Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
[2865] 260 265 270
[2866] Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
[2867] 275 280 285
[2868] His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
[2869] 290 295 300
[2870] Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
[2871] 305 310 315 320
[2872] Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
[2873] 325 330 335
[2874] Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
[2875] 340 345 350
[2876] Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
[2877] 355 360 365
[2878] Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
[2879] 370 375 380
[2880] Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
[2881] 385 390 395 400
[2882] Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
[2883] 405 410 415
[2884] Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
[2885] 420 425 430
[2886] Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
[2887] 435 440 445
[2888] Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
[2889] 450 455 460
[2890] Ser Pro Gly Lys
[2891] 465
[2892] <210> 106
[2893] <211> 1410
[2894] <212> DNA
[2895] <213> 人工的
[2896] <220>
[2897] <223> 人源化hA2-27D-H2-LALA的核苷酸序列

[2898] <400> 106

[2899] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

[2900] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120

[2901] tgtgccgcca gcggcagcac cttcagcaac tacggcatga agtggatccg gcaggcccct 180

[2902] ggcaagggcc tggaatgggt gtccagcatc agcagaagca gcacctacat ctactacgcc 240

[2903] gacaccgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300

[2904] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact attgtgccgc cgctatcagc 360

[2905] acccccttct actggtactt cgacttctgg ggccagggca ccctcgtgac cgtcagctca 420

[2906] gcctccacca agggcccaag cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggc 480

[2907] ggcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaacccgt gaccgtgagc 540

[2908] tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgctgtcct gcagtcctca 600

[2909] ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660

[2910] tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720

[2911] aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccctgcccag cacctgaagc cgcgggggga 780

[2912] ccctcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840

[2913] gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900

[2914] tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagtacaac 960

[2915] agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020

[2916] gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080

[2917] aaagccaaag gccagccccg ggaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140

[2918] atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200

[2919] gccgtggagt gggagagcaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1260

[2920] ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320

[2921] cagcagggca acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacc 1380

[2922] cagaagagcc tctccctgtc tcccggcaaa 1410

[2923] <210> 107

[2924] <211> 470

[2925] <212> PRT

[2926] <213> 人工的

[2927] <220>

[2928] <223> 人源化hA2-27D-H2-LALA的氨基酸序列

[2929] <400> 107

[2930] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

[2931] 1 5 10 15

[2932] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln

[2933] 20 25 30

[2934] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe

[2935] 35 40 45

[2936] Ser Asn Tyr Gly Met Lys Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

[2937] 50 55 60

[2938] Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Arg Ser Ser Thr Tyr Ile Tyr Tyr Ala

[2939] 65 70 75 80

[2940] Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
[2941] 85 90 95
[2942] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
[2943] 100 105 110
[2944] Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Ile Ser Thr Pro Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp
[2945] 115 120 125
[2946] Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[2947] 130 135 140
[2948] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[2949] 145 150 155 160
[2950] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[2951] 165 170 175
[2952] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[2953] 180 185 190
[2954] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[2955] 195 200 205
[2956] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[2957] 210 215 220
[2958] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
[2959] 225 230 235 240
[2960] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[2961] 245 250 255
[2962] Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[2963] 260 265 270
[2964] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[2965] 275 280 285
[2966] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[2967] 290 295 300
[2968] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
[2969] 305 310 315 320
[2970] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[2971] 325 330 335
[2972] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[2973] 340 345 350
[2974] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[2975] 355 360 365
[2976] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[2977] 370 375 380
[2978] Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[2979] 385 390 395 400
[2980] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[2981] 405 410 415

[2982] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[2983] 420 425 430
[2984] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[2985] 435 440 445
[2986] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[2987] 450 455 460
[2988] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[2989] 465 470
[2990] <210> 108
[2991] <211> 1410
[2992] <212> DNA
[2993] <213> 人工的
[2994] <220>
[2995] <223> 人源化hA2-27D-H3-LALA的核苷酸序列
[2996] <400> 108
[2997] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60
[2998] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120
[2999] tgtgccgcca gcggcagcac cttcagcaac tacggcatga agtggatccg gcaggcccct 180
[3000] ggcaagggcc tggaatgggt ggccagcatc agcagaagca gcacctacat ctactacgcc 240
[3001] gacaccgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300
[3002] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact attgtgccgc cgctatcagc 360
[3003] acccccttct actggtactt cgacttctgg ggccagggca ccctcgtgac cgtcagctca 420
[3004] gcctccacca agggcccaag cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggc 480
[3005] ggcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaacccgt gaccgtgagc 540
[3006] tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgctgtcct gcagtcctca 600
[3007] ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660
[3008] tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720
[3009] aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccctgcccag cacctgaagc cgcgggggga 780
[3010] ccctcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840
[3011] gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900
[3012] tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagtacaac 960
[3013] agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020
[3014] gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080
[3015] aaagccaaag gccagccccg ggaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140
[3016] atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200
[3017] gccgtggagt gggagagcaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1260
[3018] ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320
[3019] cagcagggca acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacc 1380
[3020] cagaagagcc tctccctgtc tcccggcaaa 1410
[3021] <210> 109
[3022] <211> 470
[3023] <212> PRT

[3024] <213> 人工的

[3025] <220>

[3026] <223> 人源化hA2-27D-H3-LALA的氨基酸序列

[3027] <400> 109

[3028] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
[3029] 1 5 10 15
[3030] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[3031] 20 25 30
[3032] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe
[3033] 35 40 45
[3034] Ser Asn Tyr Gly Met Lys Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[3035] 50 55 60
[3036] Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Arg Ser Ser Thr Tyr Ile Tyr Tyr Ala
[3037] 65 70 75 80
[3038] Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
[3039] 85 90 95
[3040] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
[3041] 100 105 110
[3042] Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Ile Ser Thr Pro Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp
[3043] 115 120 125
[3044] Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[3045] 130 135 140
[3046] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[3047] 145 150 155 160
[3048] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[3049] 165 170 175
[3050] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[3051] 180 185 190
[3052] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[3053] 195 200 205
[3054] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[3055] 210 215 220
[3056] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
[3057] 225 230 235 240
[3058] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[3059] 245 250 255
[3060] Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[3061] 260 265 270
[3062] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[3063] 275 280 285
[3064] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[3065] 290 295 300

[3066] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
[3067] 305 310 315 320
[3068] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[3069] 325 330 335
[3070] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[3071] 340 345 350
[3072] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[3073] 355 360 365
[3074] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[3075] 370 375 380
[3076] Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[3077] 385 390 395 400
[3078] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[3079] 405 410 415
[3080] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[3081] 420 425 430
[3082] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[3083] 435 440 445
[3084] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[3085] 450 455 460
[3086] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[3087] 465 470
[3088] <210> 110
[3089] <211> 1401
[3090] <212> DNA
[3091] <213> 人工的
[3092] <220>
[3093] <223> 人源化hA2-11E-H3的核苷酸序列
[3094] <400> 110
[3095] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60
[3096] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120
[3097] tgtgccgcca gcggcttcac cttcagcaac tactacatgt actggatccg gcaggcccct 180
[3098] ggcaagggcc tggaatgggt gtccagcatc aacaccgatg gcggcagcac ctactacgcc 240
[3099] gacagcgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cgtgtacctg 300
[3100] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gagcaccccc 360
[3101] aacatccccc tggcctattg gggccaggga accctcgtga ccgtcagctc agcctccacc 420
[3102] aagggcccaa gcgtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg cggcacagcc 480
[3103] gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaacccg tgaccgtgag ctggaactca 540
[3104] ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc cccgctgtcc tgcagtcctc aggactctac 600
[3105] tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660
[3106] aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt 720
[3107] gacaaaactc acacatgccc accctgccca gcacctgaac tcctgggggg accctcagtc 780

[3108] ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840
[3109] tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900
[3110] ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccccgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960
[3111] cgggtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020
[3112] tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080
[3113] ggccagcccc gggaaccaca ggtgtacacc ctgccccccat cccgggagga gatgaccaag 1140
[3114] aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200
[3115] tgggagagca atggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccctcccgt gctggactcc 1260
[3116] gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggc 1320
[3117] aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac ccagaagagc 1380
[3118] ctctccctgt ctcccggcaa a 1401
[3119] <210> 111
[3120] <211> 467
[3121] <212> PRT
[3122] <213> 人工的
[3123] <220>
[3124] <223> 人源化hA2-11E-H3的氨基酸序列
[3125] <400> 111
[3126] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
[3127] 1 5 10 15
[3128] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[3129] 20 25 30
[3130] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
[3131] 35 40 45
[3132] Ser Asn Tyr Tyr Met Tyr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[3133] 50 55 60
[3134] Glu Trp Val Ser Ser Ile Asn Thr Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala
[3135] 65 70 75 80
[3136] Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
[3137] 85 90 95
[3138] Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
[3139] 100 105 110
[3140] Tyr Tyr Cys Ala Lys Ser Thr Pro Asn Ile Pro Leu Ala Tyr Trp Gly
[3141] 115 120 125
[3142] Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
[3143] 130 135 140
[3144] Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
[3145] 145 150 155 160
[3146] Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
[3147] 165 170 175
[3148] Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
[3149] 180 185 190

[3150] Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
[3151] 195 200 205
[3152] Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
[3153] 210 215 220
[3154] Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
[3155] 225 230 235 240
[3156] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[3157] 245 250 255
[3158] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[3159] 260 265 270
[3160] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[3161] 275 280 285
[3162] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[3163] 290 295 300
[3164] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[3165] 305 310 315 320
[3166] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[3167] 325 330 335
[3168] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[3169] 340 345 350
[3170] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[3171] 355 360 365
[3172] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[3173] 370 375 380
[3174] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[3175] 385 390 395 400
[3176] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[3177] 405 410 415
[3178] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[3179] 420 425 430
[3180] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[3181] 435 440 445
[3182] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[3183] 450 455 460
[3184] Pro Gly Lys
[3185] 465
[3186] <210> 112
[3187] <211> 1401
[3188] <212> DNA
[3189] <213> 人工的
[3190] <220>
[3191] <223> 人源化hA2-11E-H4的核苷酸序列

[3192] <400> 112

[3193] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

[3194] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120

[3195] tgtgccgcca gcggcttcac cttcagcaac tactacatgt actggatccg gcaggcccct 180

[3196] ggcaagggcc tggaatggat cagcagcatc aacaccgacg gcggcagcac ctactacccc 240

[3197] gatagcgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cgtgtacctg 300

[3198] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gagcaccccc 360

[3199] aacatccccc tggcctattg gggccaggga accctcgtga ccgtcagctc agcctccacc 420

[3200] aagggcccaa gcgtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg cggcacagcc 480

[3201] gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaacccg tgaccgtgag ctggaactca 540

[3202] ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc cccgctgtcc tgcagtcctc aggactctac 600

[3203] tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660

[3204] aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt 720

[3205] gacaaaactc acacatgccc accctgccca gcacctgaac tcctgggggg accctcagtc 780

[3206] ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840

[3207] tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900

[3208] ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccccgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960

[3209] cgggtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020

[3210] tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080

[3211] ggccagcccc gggaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140

[3212] aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200

[3213] tgggagagca atggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccctcccgt gctggactcc 1260

[3214] gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggc 1320

[3215] aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac ccagaagagc 1380

[3216] ctctccctgt ctcccggcaa a 1401

[3217] <210> 113

[3218] <211> 467

[3219] <212> PRT

[3220] <213> 人工的

[3221] <220>

[3222] <223> 人源化hA2-11E-H4的氨基酸序列

[3223] <400> 113

[3224] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

[3225] 1 5 10 15

[3226] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln

[3227] 20 25 30

[3228] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe

[3229] 35 40 45

[3230] Ser Asn Tyr Tyr Met Tyr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

[3231] 50 55 60

[3232] Glu Trp Ile Ser Ser Ile Asn Thr Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro

[3233] 65 70 75 80

[3234] Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
[3235] 85 90 95
[3236] Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
[3237] 100 105 110
[3238] Tyr Tyr Cys Ala Lys Ser Thr Pro Asn Ile Pro Leu Ala Tyr Trp Gly
[3239] 115 120 125
[3240] Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
[3241] 130 135 140
[3242] Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
[3243] 145 150 155 160
[3244] Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
[3245] 165 170 175
[3246] Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
[3247] 180 185 190
[3248] Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
[3249] 195 200 205
[3250] Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
[3251] 210 215 220
[3252] Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
[3253] 225 230 235 240
[3254] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[3255] 245 250 255
[3256] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[3257] 260 265 270
[3258] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[3259] 275 280 285
[3260] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[3261] 290 295 300
[3262] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[3263] 305 310 315 320
[3264] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[3265] 325 330 335
[3266] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[3267] 340 345 350
[3268] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[3269] 355 360 365
[3270] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[3271] 370 375 380
[3272] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[3273] 385 390 395 400
[3274] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[3275] 405 410 415

[3276] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[3277] 420 425 430
[3278] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[3279] 435 440 445
[3280] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[3281] 450 455 460
[3282] Pro Gly Lys
[3283] 465
[3284] <210> 114
[3285] <211> 699
[3286] <212> DNA
[3287] <213> 人工的
[3288] <220>
[3289] <223> 人源化hA2-11E-L2的核苷酸序列
[3290] <400> 114
[3291] atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60
[3292] gacatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc 120
[3293] atcacatgca aggccagcca gaacatctac aagtacctga actggttcca gcagaagccc 180
[3294] ggcaaggccc ccaagctgct gatctactac agcaacagcc tgcagaccgg cgtgcccagc 240
[3295] agattttctg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga caatcagctc cctgcagccc 300
[3296] gaggacttcg ccacctacta ctgcttccag tacagcagcg gccccacctt tggccagggc 360
[3297] accaaggtgg aaatcaagcg tacggtggcc gccccctccg tgttcatctt ccccccctcc 420
[3298] gacgagcagc tgaagtccgg caccgcctcc gtggtgtgcc tgctgaataa cttctacccc 480
[3299] agagaggcca aggtgcagtg gaaggtggac aacgccctgc agtccgggaa ctcccaggag 540
[3300] agcgtgaccg agcaggacag caaggacagc acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg 600
[3301] agcaaagccg actacgagaa gcacaaggtg tacgcctgcg aggtgaccca ccagggcctg 660
[3302] agctcccccg tcaccaagag cttcaacagg ggggagtgt 699
[3303] <210> 115
[3304] <211> 233
[3305] <212> PRT
[3306] <213> 人工的
[3307] <220>
[3308] <223> 人源化hA2-11E-L2的氨基酸序列
[3309] <400> 115
[3310] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[3311] 1 5 10 15
[3312] Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
[3313] 20 25 30
[3314] Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn
[3315] 35 40 45
[3316] Ile Tyr Lys Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
[3317] 50 55 60

[3318] Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ser Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser
[3319] 65 70 75 80
[3320] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
[3321] 85 90 95
[3322] Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Tyr Ser
[3323] 100 105 110
[3324] Ser Gly Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
[3325] 115 120 125
[3326] Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
[3327] 130 135 140
[3328] Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
[3329] 145 150 155 160
[3330] Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
[3331] 165 170 175
[3332] Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
[3333] 180 185 190
[3334] Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
[3335] 195 200 205
[3336] Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
[3337] 210 215 220
[3338] Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[3339] 225 230
[3340] <210> 116
[3341] <211> 699
[3342] <212> DNA
[3343] <213> 人工的
[3344] <220>
[3345] <223> 人源化hA2-11E-L3的核苷酸序列
[3346] <400> 116
[3347] atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60
[3348] gacatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc 120
[3349] atcacatgca aggccagcca gaacatctac aagtacctga actggttcca gcagaagccc 180
[3350] ggcaaggccc ccaagctgct gatctactac agcaacagcc tgcagaccgg catccccagc 240
[3351] agattttctg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga caatcagctc cctgcagccc 300
[3352] gaggacttcg ccacctacta ctgcttccag tacagcagcg gccccacctt tggccagggc 360
[3353] accaaggtgg aaatcaagcg tacggtggcc gccccctccg tgttcatctt ccccccctcc 420
[3354] gacgagcagc tgaagtccgg caccgcctcc gtggtgtgcc tgctgaataa cttctacccc 480
[3355] agagaggcca aggtgcagtg gaaggtggac aacgccctgc agtccgggaa ctcccaggag 540
[3356] agcgtgaccg agcaggacag caaggacagc acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg 600
[3357] agcaaagccg actacgagaa gcacaaggtg tacgcctgcg aggtgaccca ccagggcctg 660
[3358] agctcccccg tcaccaagag cttcaacagg ggggagtgt 699
[3359] <210> 117

[3360] <211> 233
[3361] <212> PRT
[3362] <213> 人工的
[3363] <220>
[3364] <223> 人源化hA2-11E-L3的氨基酸序列
[3365] <400> 117
[3366] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[3367] 1 5 10 15
[3368] Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
[3369] 20 25 30
[3370] Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn
[3371] 35 40 45
[3372] Ile Tyr Lys Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
[3373] 50 55 60
[3374] Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ser Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser
[3375] 65 70 75 80
[3376] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
[3377] 85 90 95
[3378] Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Tyr Ser
[3379] 100 105 110
[3380] Ser Gly Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
[3381] 115 120 125
[3382] Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
[3383] 130 135 140
[3384] Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
[3385] 145 150 155 160
[3386] Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
[3387] 165 170 175
[3388] Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
[3389] 180 185 190
[3390] Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
[3391] 195 200 205
[3392] Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
[3393] 210 215 220
[3394] Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[3395] 225 230
[3396] <210> 118
[3397] <211> 699
[3398] <212> DNA
[3399] <213> 人工的
[3400] <220>
[3401] <223> 人源化hA2-11E-L4的核苷酸序列

[3402] <400> 118

[3403] atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

[3404] gacatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tagagtgacc 120

[3405] atcagctgca aggccagcca gaacatctac aagtacctga actggttcca gcagaagccc 180

[3406] ggcgaggccc ccaagctgct gatctactac agcaacagcc tgcagaccgg catccccagc 240

[3407] agattttctg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga caatcagctc cctgcagccc 300

[3408] gaggacttcg ctatctactt ctgttttcaa tactccagcg gccccacctt cggccctggc 360

[3409] accaaggtgg aaatcaagcg tacggtggcc gccccctccg tgttcatctt ccccccctcc 420

[3410] gacgagcagc tgaagtccgg caccgcctcc gtggtgtgcc tgctgaataa cttctacccc 480

[3411] agagaggcca aggtgcagtg gaaggtggac aacgccctgc agtccgggaa ctcccaggag 540

[3412] agcgtgaccg agcaggacag caaggacagc acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg 600

[3413] agcaaagccg actacgagaa gcacaaggtg tacgcctgcg aggtgaccca ccagggcctg 660

[3414] agctcccccg tcaccaagag cttcaacagg ggggagtgt 699

[3415] <210> 119

[3416] <211> 233

[3417] <212> PRT

[3418] <213> 人工的

[3419] <220>

[3420] <223> 人源化hA2-11E-L4的氨基酸序列

[3421] <400> 119

[3422] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

[3423] 1 5 10 15

[3424] Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser

[3425] 20 25 30

[3426] Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn

[3427] 35 40 45

[3428] Ile Tyr Lys Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Glu Ala Pro

[3429] 50 55 60

[3430] Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ser Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser

[3431] 65 70 75 80

[3432] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

[3433] 85 90 95

[3434] Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Phe Cys Phe Gln Tyr Ser

[3435] 100 105 110

[3436] Ser Gly Pro Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

[3437] 115 120 125

[3438] Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

[3439] 130 135 140

[3440] Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

[3441] 145 150 155 160

[3442] Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

[3443] 165 170 175

[3444] Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
[3445] 180 185 190
[3446] Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
[3447] 195 200 205
[3448] Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
[3449] 210 215 220
[3450] Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[3451] 225 230
[3452] <210> 120
[3453] <211> 1401
[3454] <212> DNA
[3455] <213> 人工的
[3456] <220>
[3457] <223> 人源化hA2-25C-H3的核苷酸序列
[3458] <400> 120
[3459] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60
[3460] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120
[3461] tgtgccgcca gcggcttcac cttcagctac tacgccatga gctgggtgcg ccaggcccct 180
[3462] ggaaaaggcc tggaatgggt ggccagcatc agcagaggcg gcgacaacac ctactaccgg 240
[3463] gacagcgtga agggccggtt caccaccagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300
[3464] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact attgcgccag actgaactac 360
[3465] aacaactact tcgactactg gggccagggc accctcgtga ccgtcagctc agcctccacc 420
[3466] aagggcccaa gcgtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg cggcacagcc 480
[3467] gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaacccg tgaccgtgag ctggaactca 540
[3468] ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc cccgctgtcc tgcagtcctc aggactctac 600
[3469] tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660
[3470] aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt 720
[3471] gacaaaactc acacatgccc accctgccca gcacctgaac tcctgggggg accctcagtc 780
[3472] ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840
[3473] tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900
[3474] ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccccgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960
[3475] cgggtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020
[3476] tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080
[3477] ggccagcccc gggaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140
[3478] aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200
[3479] tgggagagca atggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccctcccgt gctggactcc 1260
[3480] gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggc 1320
[3481] aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac ccagaagagc 1380
[3482] ctctccctgt ctcccggcaa a 1401
[3483] <210> 121
[3484] <211> 467
[3485] <212> PRT

[3486] <213> 人工的

[3487] <220>

[3488] <223> 人源化hA2-25C-H3的氨基酸序列

[3489] <400> 121

[3490] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
[3491] 1 5 10 15
[3492] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[3493] 20 25 30
[3494] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
[3495] 35 40 45
[3496] Ser Tyr Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[3497] 50 55 60
[3498] Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Arg Gly Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Arg
[3499] 65 70 75 80
[3500] Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
[3501] 85 90 95
[3502] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
[3503] 100 105 110
[3504] Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Asn Tyr Asn Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
[3505] 115 120 125
[3506] Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
[3507] 130 135 140
[3508] Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
[3509] 145 150 155 160
[3510] Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
[3511] 165 170 175
[3512] Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
[3513] 180 185 190
[3514] Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
[3515] 195 200 205
[3516] Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
[3517] 210 215 220
[3518] Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
[3519] 225 230 235 240
[3520] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[3521] 245 250 255
[3522] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[3523] 260 265 270
[3524] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[3525] 275 280 285
[3526] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[3527] 290 295 300

[3528] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[3529] 305 310 315 320
[3530] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[3531] 325 330 335
[3532] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[3533] 340 345 350
[3534] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[3535] 355 360 365
[3536] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[3537] 370 375 380
[3538] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[3539] 385 390 395 400
[3540] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[3541] 405 410 415
[3542] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[3543] 420 425 430
[3544] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[3545] 435 440 445
[3546] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[3547] 450 455 460
[3548] Pro Gly Lys
[3549] 465
[3550] <210> 122
[3551] <211> 1401
[3552] <212> DNA
[3553] <213> 人工的
[3554] <220>
[3555] <223> 人源化hA2-25C-H4的核苷酸序列
[3556] <400> 122
[3557] atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60
[3558] gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120
[3559] tgtgccgcca gcggcttcac cttcagctac tacgccatga gctgggtgcg ccaggcccct 180
[3560] ggaaaaggcc tggaatgggt ggccagcatc agcagaggcg gcgacaacac ctactaccgg 240
[3561] gacagcgtga agggccggtt caccaccagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300
[3562] cagatgaaca gcctgcgggc cgaggacacc gccacctact attgcgccag actgaactac 360
[3563] aacaactact tcgactactg gggccagggc gtgctcgtga ccgtcagctc agcctccacc 420
[3564] aagggcccaa gcgtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg cggcacagcc 480
[3565] gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaacccg tgaccgtgag ctggaactca 540
[3566] ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccgctgtcc tgcagtcctc aggactctac 600
[3567] tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660
[3568] aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt 720
[3569] gacaaaactc acacatgccc accctgccca gcacctgaac tcctgggggg accctcagtc 780

[3570] ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840
[3571] tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900
[3572] ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccccgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960
[3573] cgggtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020
[3574] tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080
[3575] ggccagcccc gggaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140
[3576] aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200
[3577] tgggagagca atggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccctcccgt gctggactcc 1260
[3578] gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggc 1320
[3579] aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac ccagaagagc 1380
[3580] ctctccctgt ctcccggcaa a 1401
[3581] <210> 123
[3582] <211> 467
[3583] <212> PRT
[3584] <213> 人工的
[3585] <220>
[3586] <223> 人源化hA2-25C-H4的氨基酸序列
[3587] <400> 123
[3588] Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
[3589] 1 5 10 15
[3590] Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[3591] 20 25 30
[3592] Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
[3593] 35 40 45
[3594] Ser Tyr Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[3595] 50 55 60
[3596] Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Arg Gly Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Arg
[3597] 65 70 75 80
[3598] Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
[3599] 85 90 95
[3600] Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr
[3601] 100 105 110
[3602] Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Asn Tyr Asn Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
[3603] 115 120 125
[3604] Gln Gly Val Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
[3605] 130 135 140
[3606] Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
[3607] 145 150 155 160
[3608] Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
[3609] 165 170 175
[3610] Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
[3611] 180 185 190

[3612] Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
[3613] 195 200 205
[3614] Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
[3615] 210 215 220
[3616] Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
[3617] 225 230 235 240
[3618] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[3619] 245 250 255
[3620] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[3621] 260 265 270
[3622] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[3623] 275 280 285
[3624] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[3625] 290 295 300
[3626] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[3627] 305 310 315 320
[3628] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[3629] 325 330 335
[3630] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[3631] 340 345 350
[3632] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[3633] 355 360 365
[3634] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[3635] 370 375 380
[3636] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[3637] 385 390 395 400
[3638] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[3639] 405 410 415
[3640] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[3641] 420 425 430
[3642] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[3643] 435 440 445
[3644] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[3645] 450 455 460
[3646] Pro Gly Lys
[3647] 465
[3648] <210> 124
[3649] <211> 702
[3650] <212> DNA
[3651] <213> 人工的
[3652] <220>
[3653] <223> 人源化hA2-25C-L1的核苷酸序列

[3654] <400> 124

[3655] atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

[3656] gacatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc 120

[3657] attacctgtc aggccagcca ggacatcggc aactggctga gctggtatca gcagaagccc 180

[3658] ggcaaggccc ccaagctgct gatctacggc gccacatctc tggccgatgg cgtgcccagc 240

[3659] agattttctg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga caatcagcag cctgcagccc 300

[3660] gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcaa gcctacagcg ccccttcac ctttggccag 360

[3661] ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttcccccc 420

[3662] tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

[3663] cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

[3664] gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

[3665] ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

[3666] ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

[3667] <210> 125

[3668] <211> 234

[3669] <212> PRT

[3670] <213> 人工的

[3671] <220>

[3672] <223> 人源化hA2-25C-L1的氨基酸序列

[3673] <400> 125

[3674] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

[3675] 1 5 10 15

[3676] Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser

[3677] 20 25 30

[3678] Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp

[3679] 35 40 45

[3680] Ile Gly Asn Trp Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

[3681] 50 55 60

[3682] Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser

[3683] 65 70 75 80

[3684] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

[3685] 85 90 95

[3686] Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala Tyr

[3687] 100 105 110

[3688] Ser Ala Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

[3689] 115 120 125

[3690] Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

[3691] 130 135 140

[3692] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

[3693] 145 150 155 160

[3694] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

[3695] 165 170 175

[3696] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[3697] 180 185 190
[3698] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
[3699] 195 200 205
[3700] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
[3701] 210 215 220
[3702] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[3703] 225 230
[3704] <210> 126
[3705] <211> 702
[3706] <212> DNA
[3707] <213> 人工的
[3708] <220>
[3709] <223> 人源化hA2-25C-L2的核苷酸序列
[3710] <400> 126
[3711] atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60
[3712] gacatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc 120
[3713] attacctgtc aggccagcca ggacatcggc aactggctga gctggtatca gcagaagccc 180
[3714] ggcaaggccc ccaagctgct gatctacggc gccacatctc tggccgatgg cgtgcccagc 240
[3715] agattcagcg gcagcagatc cggcaccgac tacaccctga ccatcagcag cctgcagccc 300
[3716] gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcaa gcctacagcg ccccccttcac ctttggccag 360
[3717] ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccct ccgtgttcat cttccccccc 420
[3718] tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
[3719] cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
[3720] gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
[3721] ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
[3722] ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702
[3723] <210> 127
[3724] <211> 234
[3725] <212> PRT
[3726] <213> 人工的
[3727] <220>
[3728] <223> 人源化hA2-25C-L2的氨基酸序列
[3729] <400> 127
[3730] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[3731] 1 5 10 15
[3732] Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
[3733] 20 25 30
[3734] Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp
[3735] 35 40 45
[3736] Ile Gly Asn Trp Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
[3737] 50 55 60

[3738] Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser
[3739] 65 70 75 80
[3740] Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser
[3741] 85 90 95
[3742] Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala Tyr
[3743] 100 105 110
[3744] Ser Ala Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[3745] 115 120 125
[3746] Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
[3747] 130 135 140
[3748] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
[3749] 145 150 155 160
[3750] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
[3751] 165 170 175
[3752] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[3753] 180 185 190
[3754] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
[3755] 195 200 205
[3756] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
[3757] 210 215 220
[3758] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[3759] 225 230
[3760] <210> 128
[3761] <211> 702
[3762] <212> DNA
[3763] <213> 人工的
[3764] <220>
[3765] <223> 人源化hA2-25C-L3的核苷酸序列
[3766] <400> 128
[3767] atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60
[3768] gacatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc 120
[3769] attacctgtc aggccagcca ggacatcggc aactggctga gctggtatca gcagaagccc 180
[3770] ggcaagagcc ccaagctgct gatctacggc gccacctctc tggccgatgg cgtgccaagc 240
[3771] agattcagcg gcagcagatc cggcacccag tacaccctga ccatcagcag cctgcagccc 300
[3772] gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcaa gcctacagcg ccccccttcac ctttggcagc 360
[3773] ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccct ccgtgttcat cttccccccc 420
[3774] tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
[3775] cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
[3776] gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
[3777] ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
[3778] ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggagt gt 702
[3779] <210> 129

[3780] <211> 234
[3781] <212> PRT
[3782] <213> 人工的
[3783] <220>
[3784] <223> 人源化hA2-25C-L3的氨基酸序列
[3785] <400> 129
[3786] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[3787] 1 5 10 15
[3788] Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
[3789] 20 25 30
[3790] Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp
[3791] 35 40 45
[3792] Ile Gly Asn Trp Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro
[3793] 50 55 60
[3794] Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser
[3795] 65 70 75 80
[3796] Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser
[3797] 85 90 95
[3798] Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala Tyr
[3799] 100 105 110
[3800] Ser Ala Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[3801] 115 120 125
[3802] Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
[3803] 130 135 140
[3804] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
[3805] 145 150 155 160
[3806] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
[3807] 165 170 175
[3808] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[3809] 180 185 190
[3810] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
[3811] 195 200 205
[3812] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
[3813] 210 215 220
[3814] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[3815] 225 230
[3816] <210> 130
[3817] <211> 40
[3818] <212> DNA
[3819] <213> 人工的
[3820] <220>
[3821] <223> 引物

[3822] <400> 130
[3823] cagatgggtg ctgagcgaag tgcagctggt ggaatctggc 40
[3824] <210> 131
[3825] <211> 36
[3826] <212> DNA
[3827] <213> 人工的
[3828] <220>
[3829] <223> 引物
[3830] <400> 131
[3831] cttggtgctg gctgagctga cggtcacgag ggtgcc 36
[3832] <210> 132
[3833] <211> 30
[3834] <212> DNA
[3835] <213> 人工的
[3836] <220>
[3837] <223> 引物
[3838] <400> 132
[3839] gcgggggggac cctcagtctt cctcttcccc 30
[3840] <210> 133
[3841] <211> 31
[3842] <212> DNA
[3843] <213> 人工的
[3844] <220>
[3845] <223> 引物
[3846] <400> 133
[3847] ggcttcaggt gctgggcagg gtgggcatgt g 31
[3848] <210> 134
[3849] <211> 24
[3850] <212> DNA
[3851] <213> 人工的
[3852] <220>
[3853] <223> 引物
[3854] <400> 134
[3855] ctgtggatct ccggcgcgta cggc 24
[3856] <210> 135
[3857] <211> 21
[3858] <212> DNA
[3859] <213> 人工的
[3860] <220>
[3861] <223> 引物
[3862] <400> 135
[3863] ggaggggcg gccaccgtac g 21

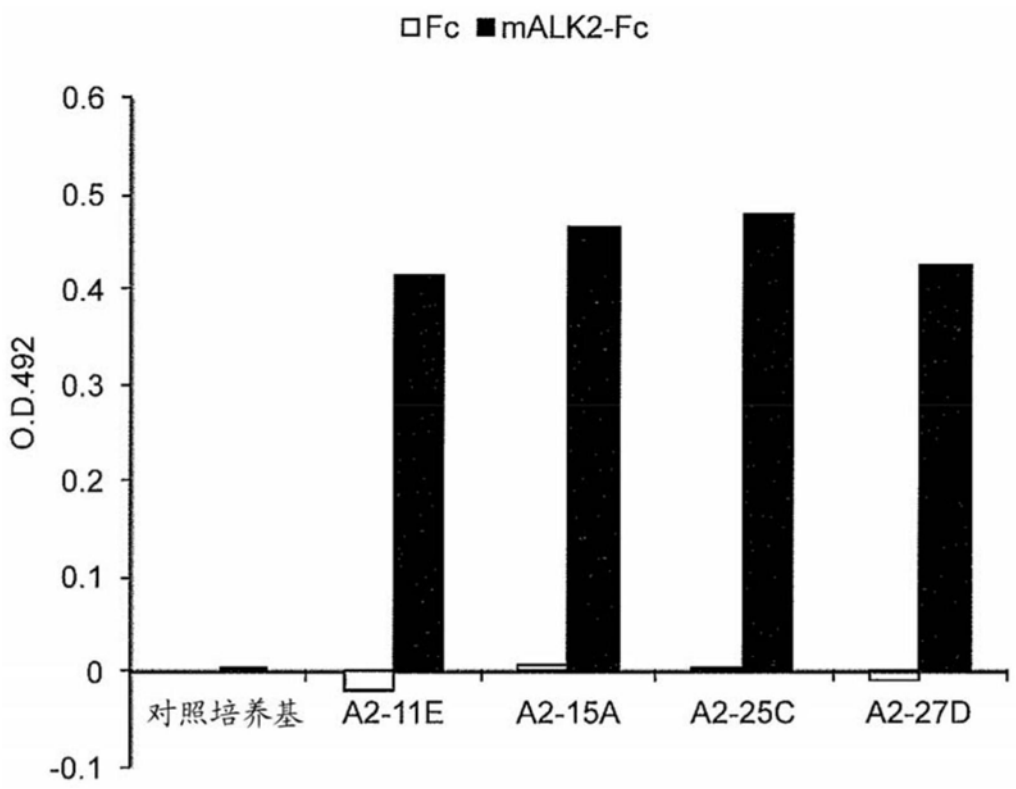

□Fc ■mALK2-Fc
O.D.492
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
-0.1
对照培养基
A2-11E
A2-15A
A2-25C
A2-27D

图1

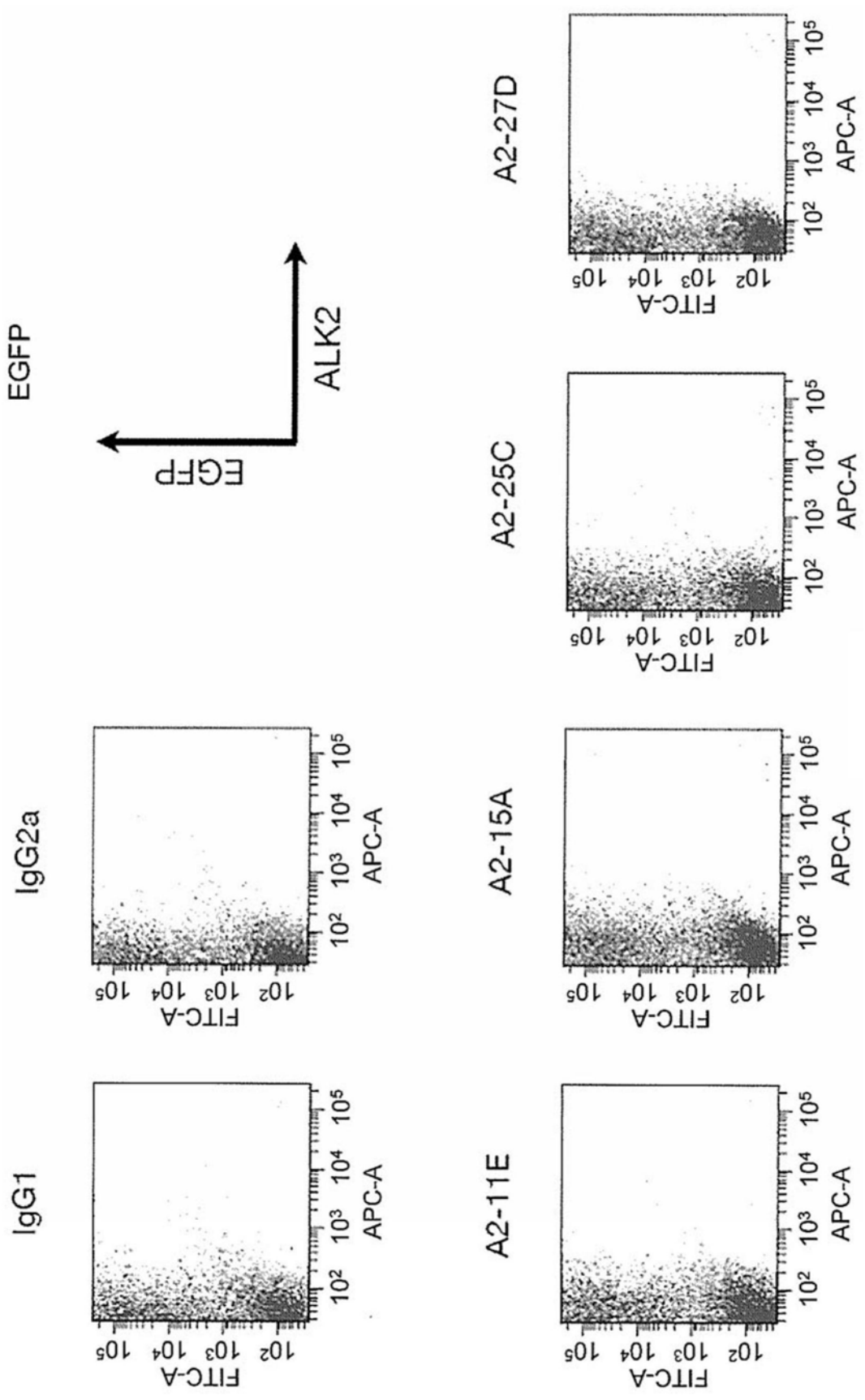

EGFP
ALK2
EGFP
IgG1
IgG2a
A2-11E
A2-15A
A2-25C
A2-27D
FITC-A
APC-A
10²
10³
10⁴
10⁵

图2A

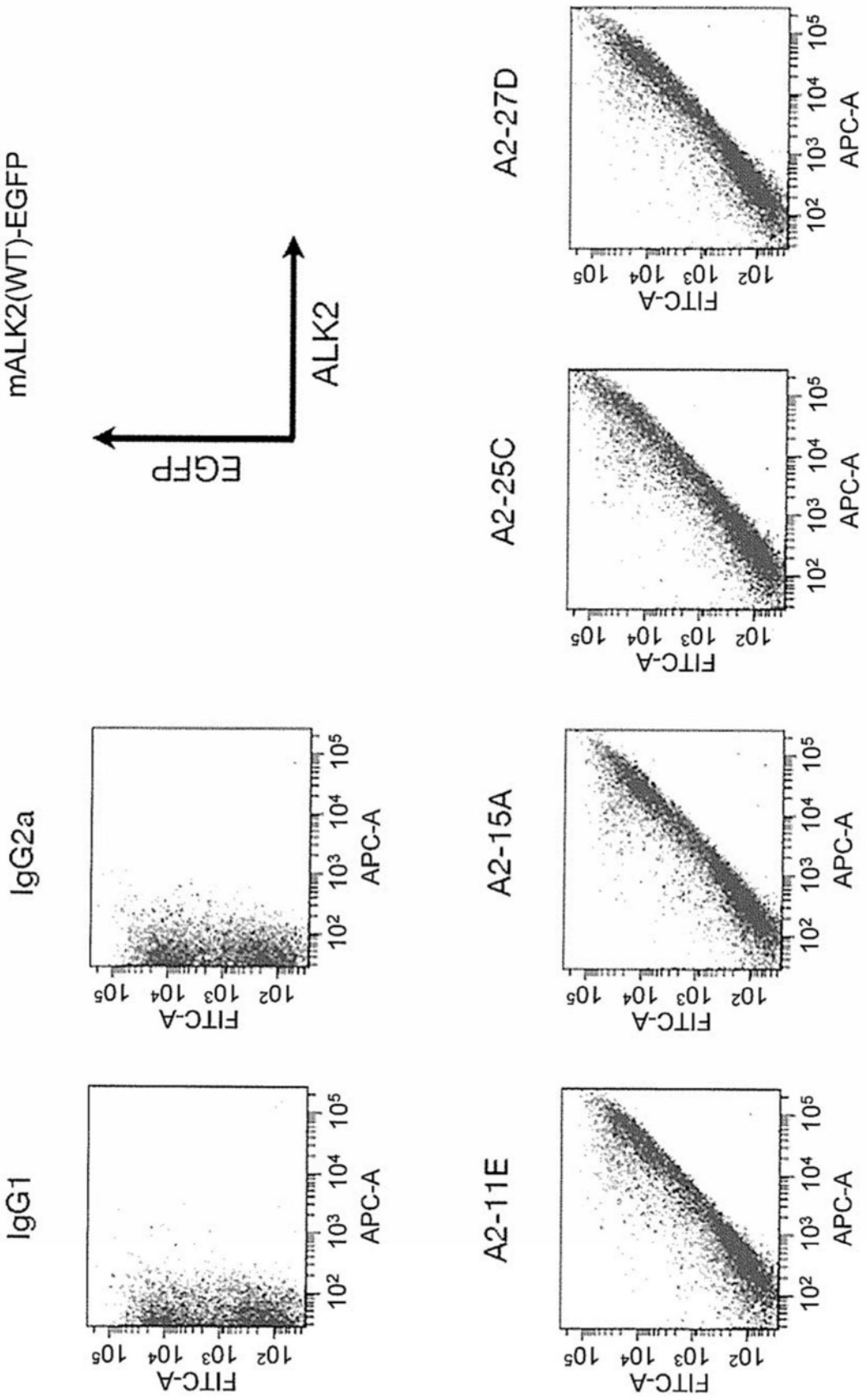

mALK2(WT)-EGFP
EGFP
ALK2
IgG1
IgG2a
A2-11E
A2-15A
A2-25C
A2-27D
FITC-A
APC-A
10² 10³ 10⁴ 10⁵

图2B

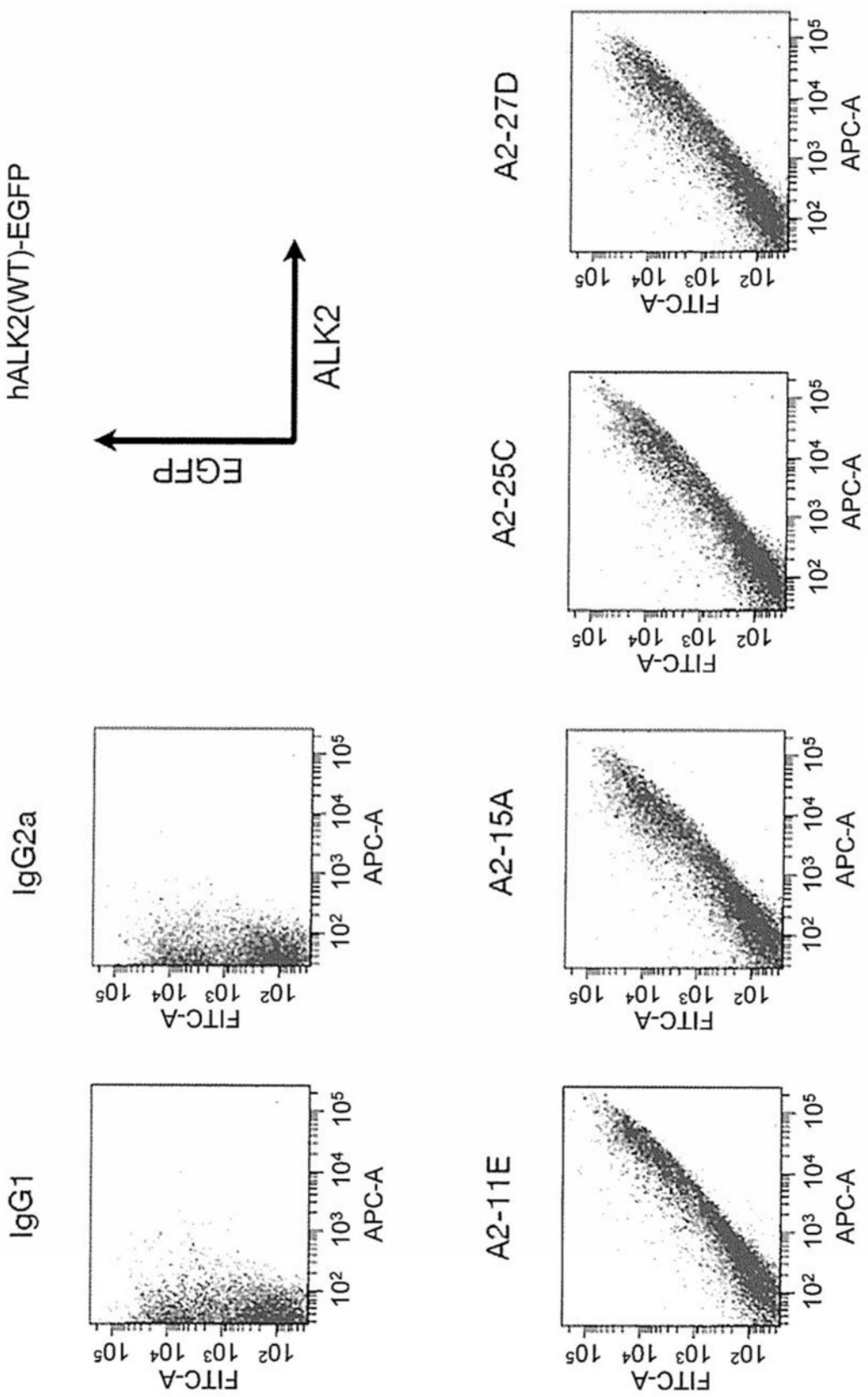

hALK2(WT)-EGFP
EGFP
ALK2
IgG1
IgG2a
A2-11E
A2-15A
A2-25C
A2-27D
FITC-A
APC-A
10² 10³ 10⁴ 10⁵

图2C

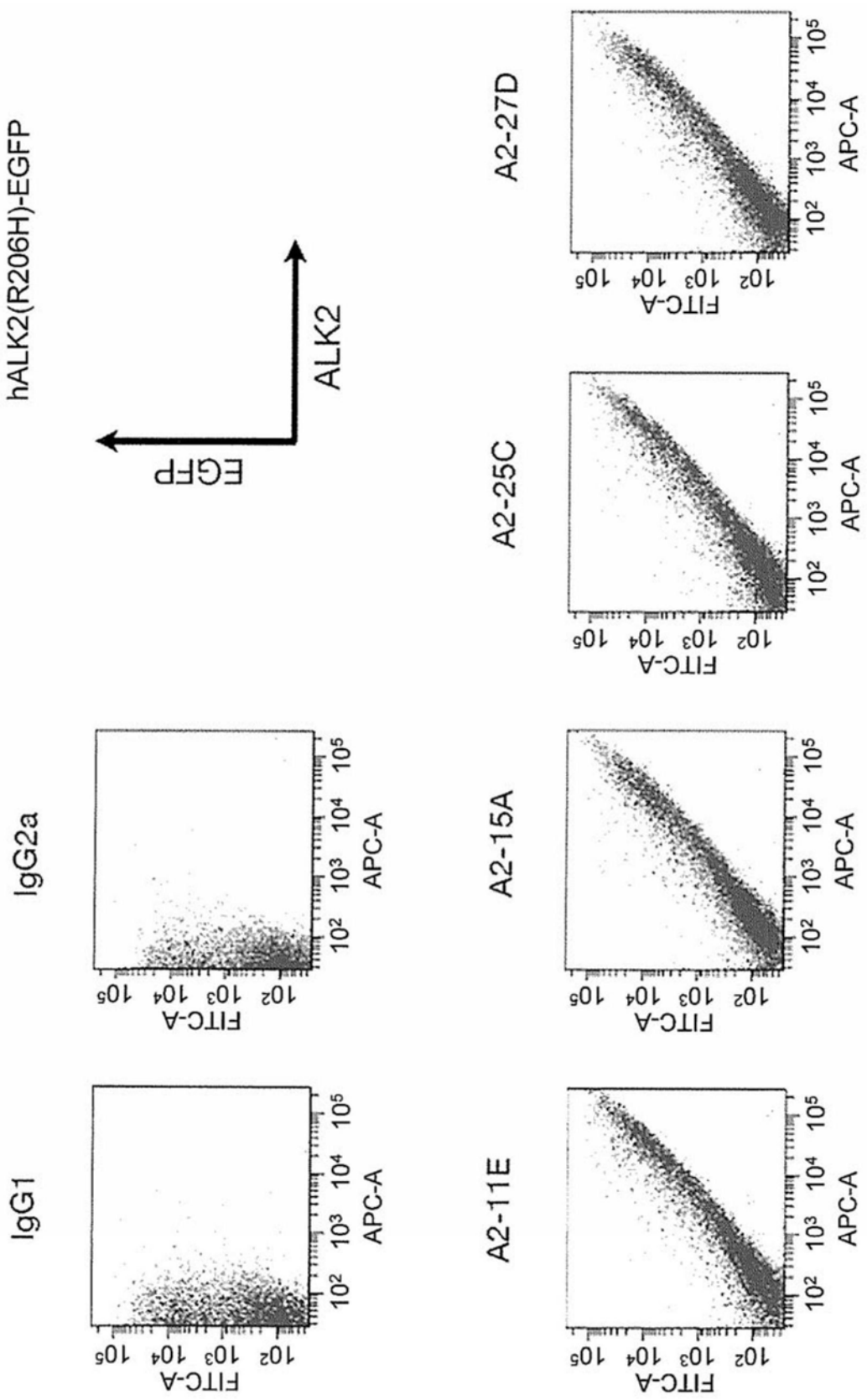

hALK2(R206H)-EGFP
EGFP
ALK2
IgG1
IgG2a
A2-11E
A2-15A
A2-25C
A2-27D
FITC-A
APC-A
10² 10³ 10⁴ 10⁵

图2D

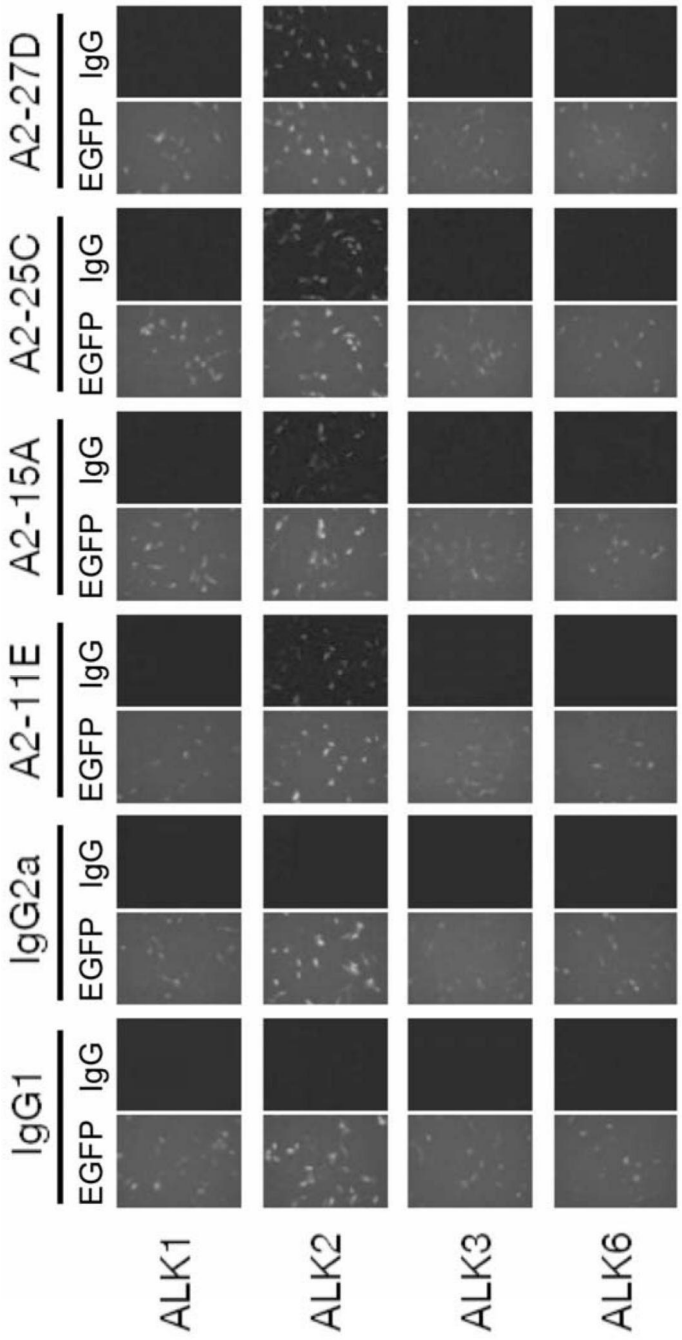

IgG1
IgG2a
A2-11E
A2-15A
A2-25C
A2-27D
EGFP
IgG
ALK1
ALK2
ALK3
ALK6

图3

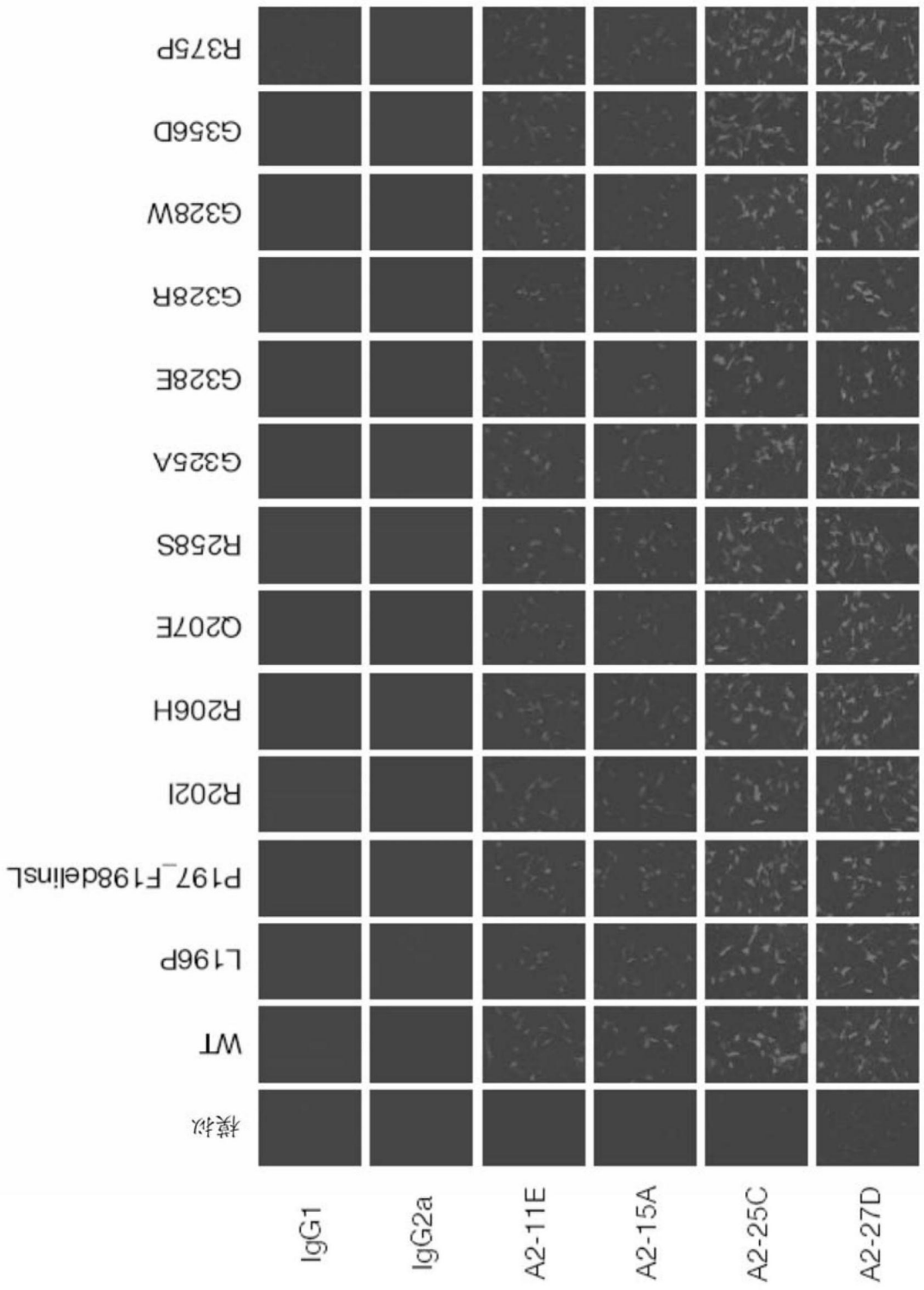

模拟
WT
L196P
P197_F198delinsL
R202I
R206H
Q207E
R258S
G325A
G328E
G328R
G328W
G356D
R375P
IgG1
IgG2a
A2-11E
A2-15A
A2-25C
A2-27D

图4

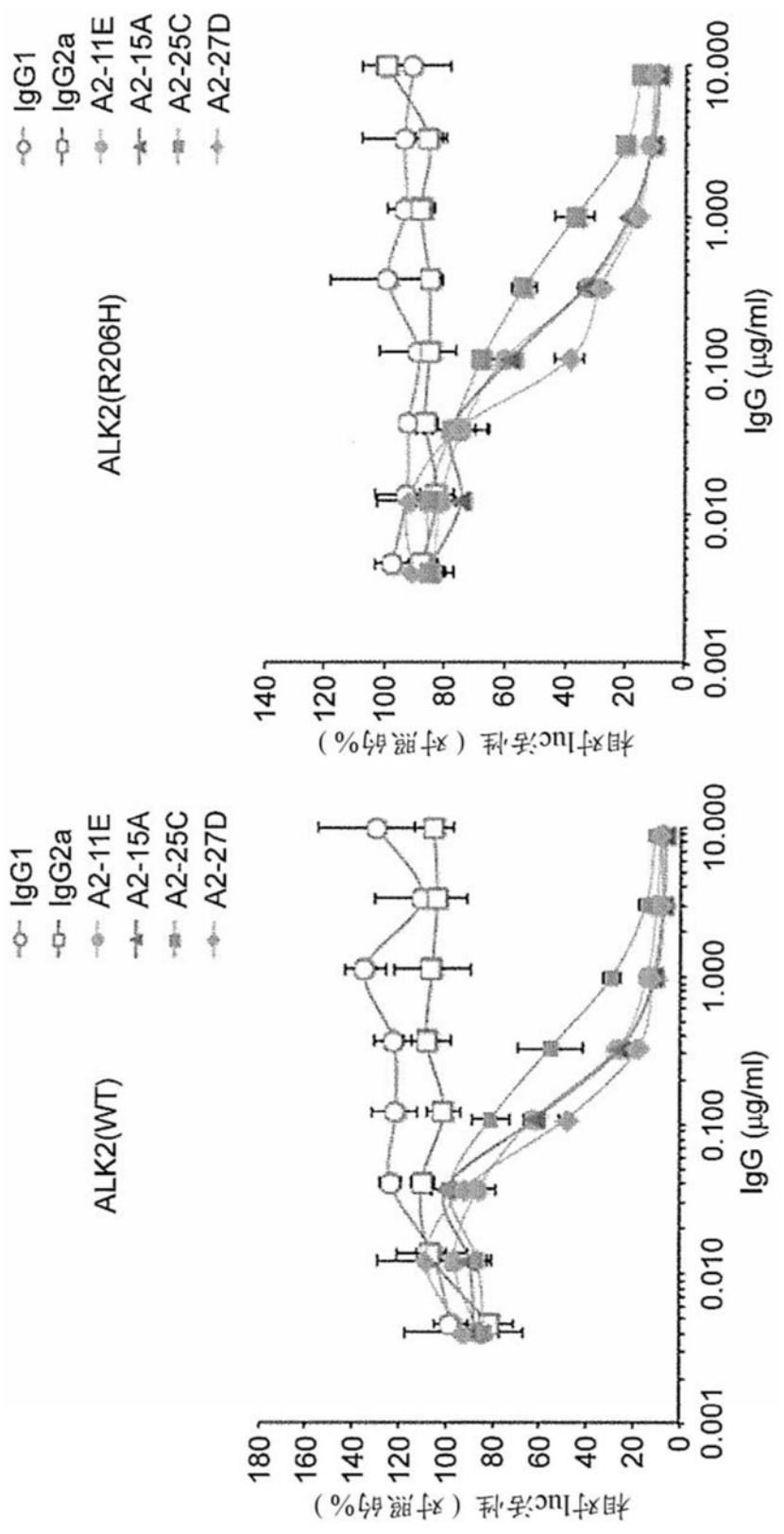

IgG1
IgG2a
A2-11E
A2-15A
A2-25C
A2-27D
ALK2(R206H)
相对luc活性（对照的%）
IgG (μg/ml)
0.001
0.010
0.100
1.000
10.000
0
20
40
60
80
100
120
140
IgG1
IgG2a
A2-11E
A2-15A
A2-25C
A2-27D
ALK2(WT)
相对luc活性（对照的%）
IgG (μg/ml)
0.001
0.010
0.100
1.000
10.000
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180

图5

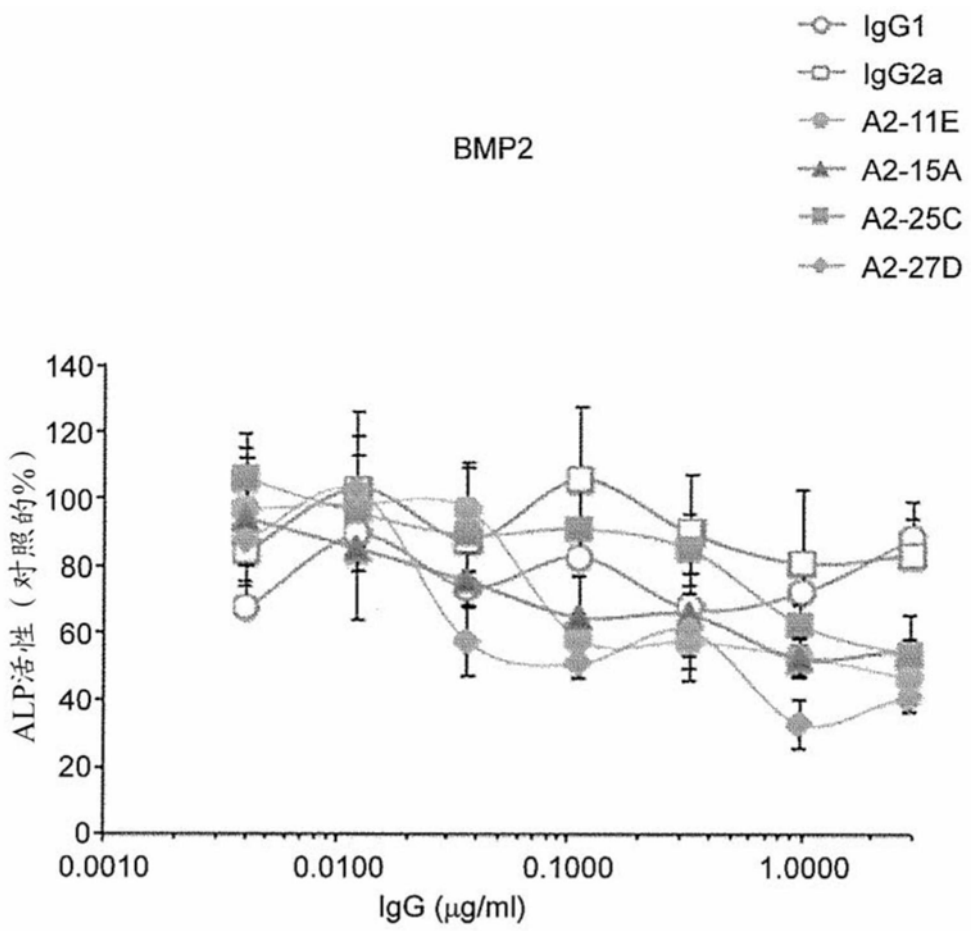

BMP2
IgG1
IgG2a
A2-11E
A2-15A
A2-25C
A2-27D
ALP活性（对照的%）
140
120
100
80
60
40
20
0
0.0010
0.0100
0.1000
1.0000
IgG (μg/ml)

图6

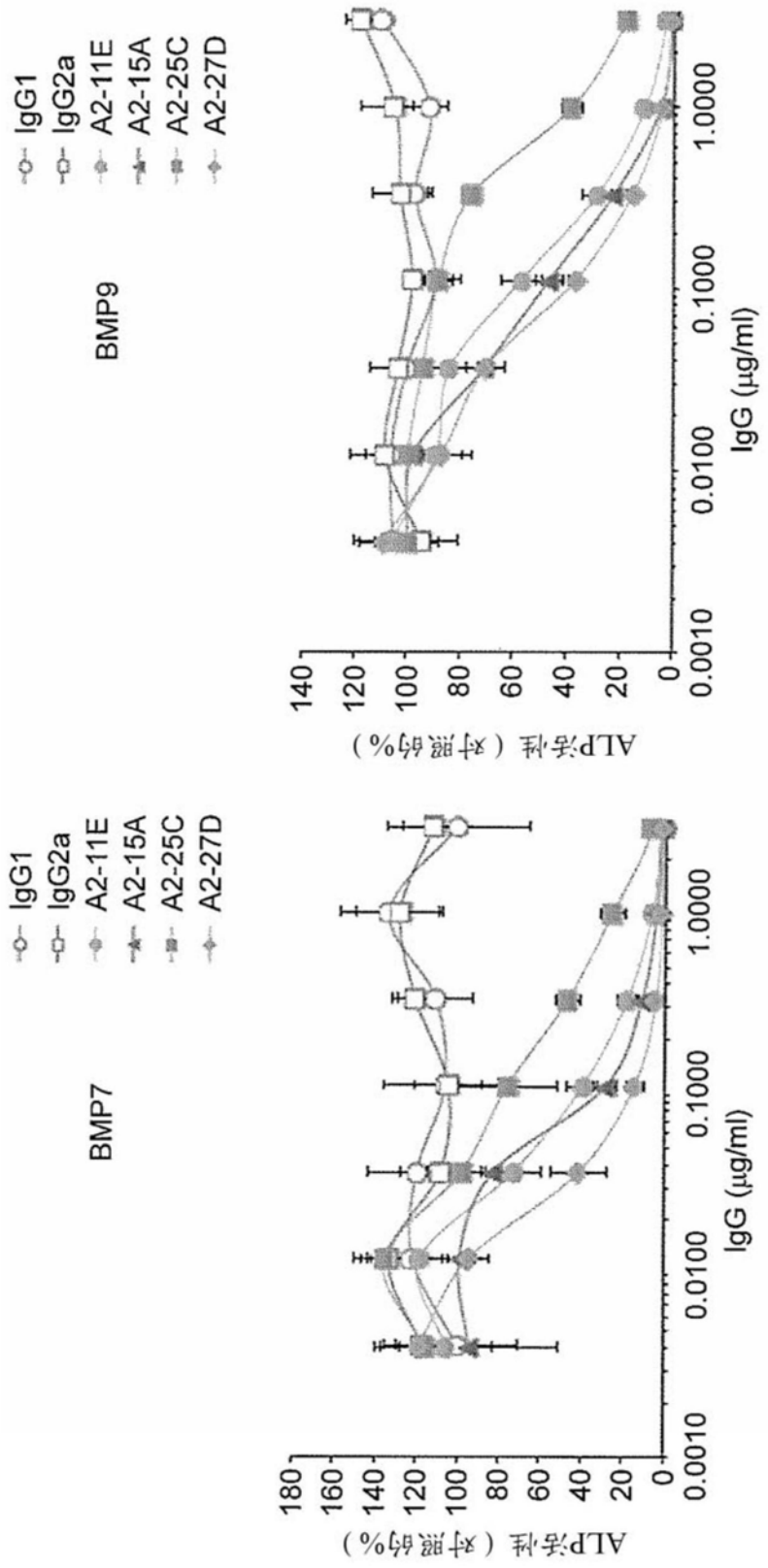

BMP9
IgG1
IgG2a
A2-11E
A2-15A
A2-25C
A2-27D
ALP活性（对照的%）
IgG (μg/ml)
0.0010
0.0100
0.1000
1.0000
0
20
40
60
80
100
120
140
BMP7
IgG1
IgG2a
A2-11E
A2-15A
A2-25C
A2-27D
ALP活性（对照的%）
IgG (μg/ml)
0.0010
0.0100
0.1000
1.0000
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180

图7

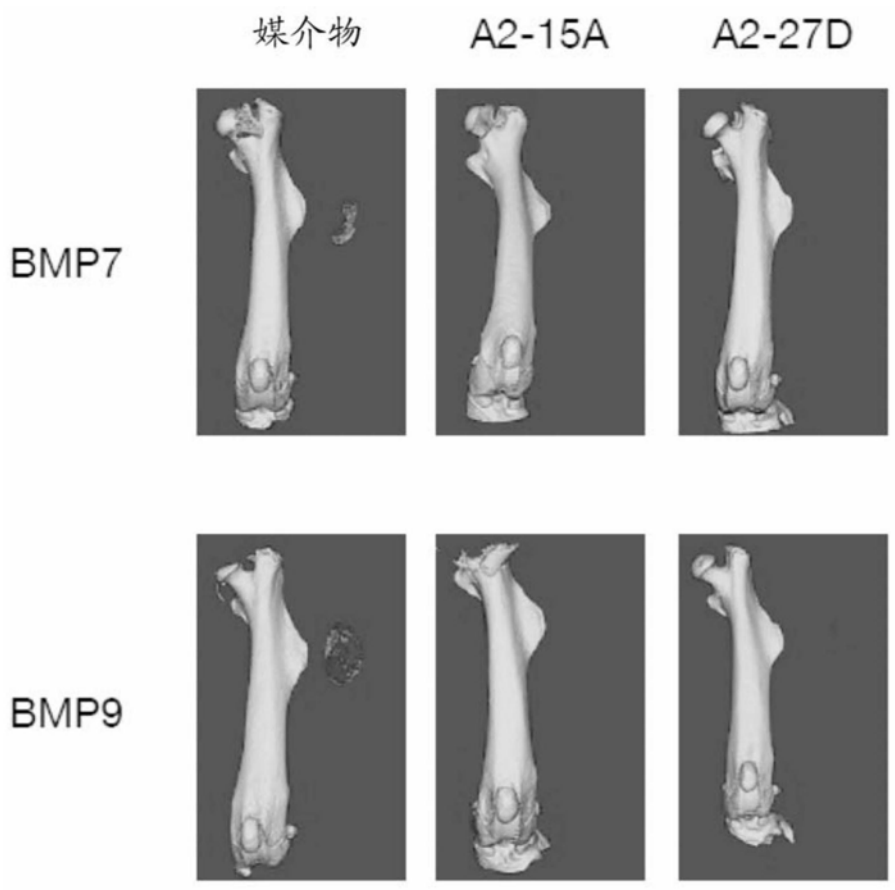


图8

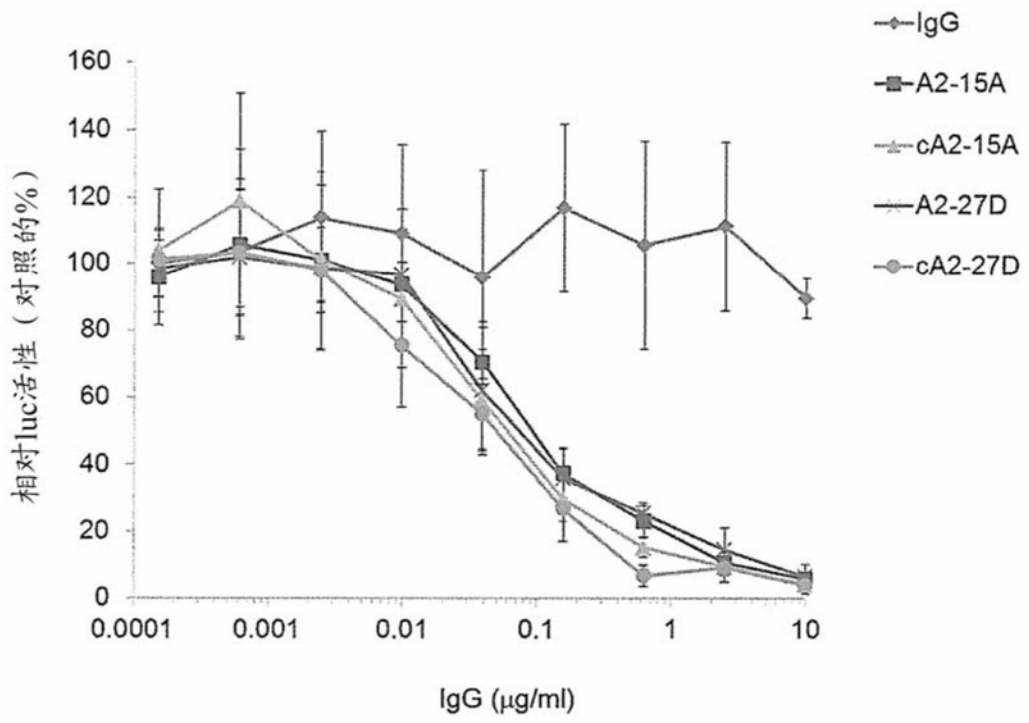

IgG
A2-15A
cA2-15A
A2-27D
cA2-27D
相对luc活性（对照的%）
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
IgG (μg/ml)

图9

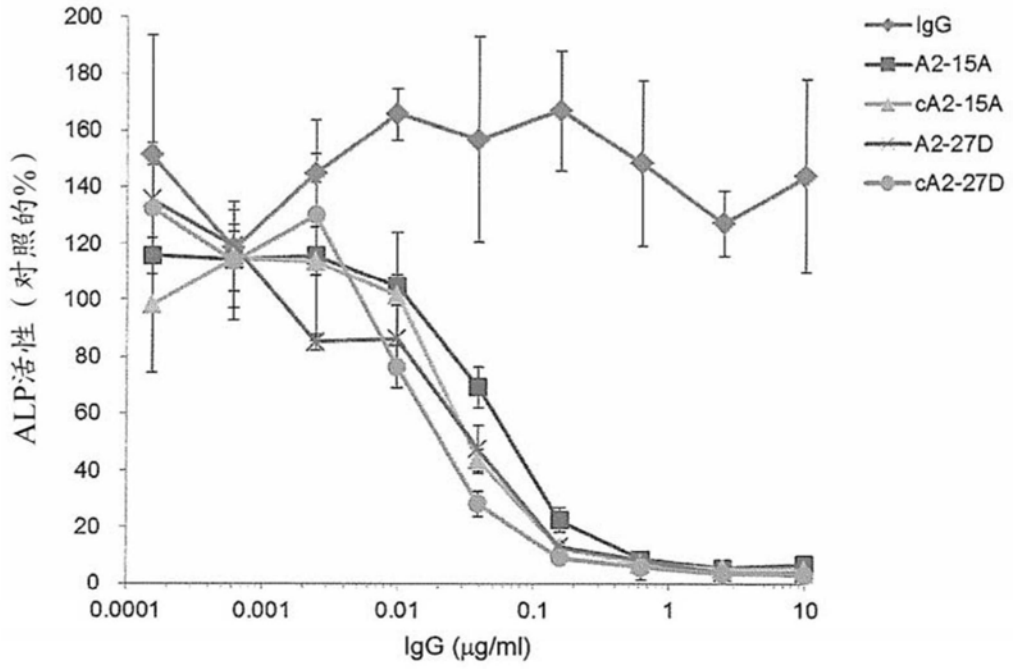

IgG
A2-15A
cA2-15A
A2-27D
cA2-27D
ALP活性（对照的%）
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
IgG (μg/ml)

图10

SEQ ID NO: 59: A2-15A的CDRH1的氨基酸序列
GFTFSHYYMA

SEQ ID NO: 60: A2-15A的CDRH2的氨基酸序列
SITNSGGSINYRDSVKG

SEQ ID NO: 61: A2-15A的CDRH3的氨基酸序列
EGGENYGGYPPFAY

SEQ ID NO: 62: A2-15A的CDRL1的氨基酸序列
RANQGVSLSRYNLMH

SEQ ID NO: 63: A2-15A的CDRL2的氨基酸序列
RSSNLAS

SEQ ID NO: 64: A2-15A的CDRL3的氨基酸序列
QQSRESPFT

SEQ ID NO: 71: 人源化hA2-15A-L6的CDRL2的氨基酸序列
RSSNLAQ

图11

SEQ ID NO: 65: A2-27D的CDRH1的氨基酸序列
GSTFSNYGMK

SEQ ID NO: 66: A2-27D的CDRH2的氨基酸序列
SISRSSTYIYYADTVKG

SEQ ID NO: 67: A2-27D的CDRH3的氨基酸序列
AISTPFYWYFDF

SEQ ID NO: 68: A2-27D的CDRL1的氨基酸序列
LASSSVSYMT

SEQ ID NO: 69: A2-27D的CDRL2的氨基酸序列
GTSNLAS

SEQ ID NO: 70: A2-27D的CDRL3的氨基酸序列
LHLTSYPPYT

图12

SEQ ID NO: 72: A2-11E的CDRH1的氨基酸序列
GFTFSNYYMY

SEQ ID NO: 73: A2-11E的CDRH2的氨基酸序列
SINTDGGSTYYPDSVKG

SEQ ID NO: 74: A2-11E的CDRH3的氨基酸序列
STPNIPLAY

SEQ ID NO: 75: A2-11E的CDRL1的氨基酸序列
KASQNIYKYLN

SEQ ID NO: 76: A2-11E的CDRL2的氨基酸序列
YSNSLQT

SEQ ID NO: 77: A2-11E的CDRL3的氨基酸序列
FQYSSGPT

图13

SEQ ID NO: 78: A2-25C的CDRH1的氨基酸序列
GFTFSYYAMS

SEQ ID NO: 79: A2-25C的CDRH2的氨基酸序列
SISRGGDNTYYRDTVKG

SEQ ID NO: 80: A2-25C的CDRH3的氨基酸序列
LNYNNYFDY

SEQ ID NO: 81: A2-25C的CDRL1的氨基酸序列
QASQDIGNWLS

SEQ ID NO: 82: A2-25C的CDRL2的氨基酸序列
GATSLAD

SEQ ID NO: 83: A2-25C的CDRL3的氨基酸序列
LQAYSAPFT

图14

SEQ ID NO: 27: 人源化hA2-15A-H1的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAG
CCACTACTACATGGCCTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGGTGGCCAGCATCACCAACAGC
GGCGGCAGCATCAACTACCGGGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGAGGGCGGCGAGAA
CTACGGCGGCTATCCCCCTTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGG
TCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTT
CCCCGCTGTCCTGCAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC
ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAAT
CTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTT
CCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC
CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCC
GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGG
CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
GGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCC
TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAA
CAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGAC
AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCC
AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-426）、恒定区（427-1416）

SEQ ID NO: 28: 人源化hA2-15A-H1的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYYMAWVRQAPGKGLEWVASITNS
GGSINYRDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGENYGGYPPFAYWGQGTLVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG
TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-142）、恒定区（143-427）

图15

SEQ ID NO: 29: 人源化hA2-15A-H4的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAG
CCACTACTACATGGCCTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGGTGGCCAGCATCACCAACAGC
GGCGGCAGCATCAACTACCGGGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAGCACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCACCTACTACTGTACAAGAGAGGGCGGCGAGAA
CTACGGCGGCTACCCTCCTTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGG
TCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTT
CCCCGCTGTCCTGCAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC
ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAAT
CTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTT
CCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC
CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCC
GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGG
CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
GGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCC
TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAA
CAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGAC
AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCC
AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-426）、恒定区（427-1416）

SEQ ID NO: 30: 人源化hA2-15A-H4的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYYMAWVRQAPGKGLEWVASITNS
GGSINYRDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMNSLRAEDTATYYCTREGGENYGGYPPFAYWGQGTLVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG
TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-142）、恒定区（143-472）

图16

SEQ ID NO: 31: 含有编码人源化hA2-15A-L1的序列的DNA片段的核苷酸序列

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGC
GGCGCCTACGGCGACATCGTGATGACCCAGAGCCCTGACAGCCTGGCCGTGTCTCTGGGAGAGAGGGCCACCA
TCAACTGCAGAGCCAACCAGGGCGTGTCCCTGAGCCGGTACAACCTGATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGG
CCAGCCCCCCAAGCTGCTGATCTACAGAAGCTCCAACCTGGCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGC
GGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCTCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGC
AGAGCAGAGAGAGCCCCTTCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGGCTGTGGCCGCTCCCTC
CGTGTTCATCTTTCCACCCAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACAGCCAGCGTCGTGTGCCTGCTGAACAAC
TTCTACCCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACTCCCAGGAAAGCG
TGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA
GAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGG
GGCGAGTGTtgagtttaaacgggggaggctaact

信号序列（26-85）、可变区（86-424）、恒定区（425-739）

SEQ ID NO: 32: 人源化hA2-15A-L1的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRANQGVSLSRYNLMHWYQQKPGQPPKLLIY
RSSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSRESPFTFGQGTKVEIKRAVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE
VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-133）、恒定区（134-238）

图17

SEQ ID NO: 33: 含有编码人源化hA2-15A-L4的序列的DNA片段的核苷酸序列

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGC
GGCGCCTACGGCGATATCGTGCTGACCCAGAGCCCTGACAGCCTGGCCGTGTCTCTGGGAGAGAGGGCCACCA
TCAACTGCAGAGCCAACCAGGGCGTGTCCCTGAGCCGGTACAACCTGATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGG
CCAGAAGCCCAAGCTGCTGATCTACCGGTCCAGCAACCTGGCCTCTGGCATCCCCGCCAGATTTTCTGGCAGC
GGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCGTGCAGGCCGACGACATTGCCGTGTACTACTGCCAGC
AGAGCAGAGAGAGCCCCTTCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAACTGAAGAGAGCCGTGGCCGCTCCCTC
CGTGTTCATCTTCCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACAGCCAGCGTCGTGTGCCTGCTGAACAAC
TTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCG
TGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA
GAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGG
GGCGAGTGTtgagtttaaacgggggaggctaact

信号序列（26-85）、可变区（86-424）、恒定区（425-739）

SEQ ID NO: 34: 人源化hA2-15A-L4的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRANQGVSLSRYNLMHWYQQKPGQKPKLLIY
RSSNLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSVQADDIAVYYCQQSRESPFTFGQGTKLELKRAVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE
VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-133）、恒定区（134-238）

图18

SEQ ID NO: 35: 含有编码人源化hA2-15A-L6的序列的DNA片段的核苷酸序列

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGC
GGCGCCTACGGCGATATCGTGCTGACCCAGAGCCCTGACAGCCTGGCCGTGTCTCTGGGAGAGAGGGCCACCA
TCAACTGCAGAGCCAACCAGGGCGTGTCCCTGAGCCGGTACAACCTGATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGG
CCAGAAGCCCAAGCTGCTGATCTACCGGTCCAGCAACCTGGCCCAGGGCATCCCTGCCAGATTTTCTGGCAGC
GGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCGTGCAGGCCGACGACATTGCCGTGTACTACTGCCAGC
AGAGCAGAGAGAGCCCCTTCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAACTGAAGAGAGCCGTGGCCGCTCCCTC
CGTGTTCATCTTCCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACAGCCAGCGTCGTGTGCCTGCTGAACAAC
TTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCG
TGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA
GAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGG
GGCGAGTGTtgagtttaaacgggggaggctaact

信号序列（26-85）、可变区（86-424）、恒定区（425-739）

SEQ ID NO: 36: 人源化hA2-15A-L6的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRANQGVSLSRYNLMHWYQQKPGQKPKLLIY
RSSNLAQGIPARFSGSGSGTDFTLTISSVQADDIAVYYCQQSRESPFTFGQGTKLELKRAVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE
VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-133）、恒定区（134-238）

图19

SEQ ID NO: 37: 含有编码人源化hA2-15A-L7的序列的DNA片段的核苷酸序列

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGC
GGCGCCTACGGCGATATCGTGCTGACCCAGAGCCCTGACAGCCTGGCCGTGTCTCTGGGAGAGAGGGCCACCA
TCAACTGCAGAGCCAACCAGGGCGTGTCCCTGAGCCGGTACAACCTGATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGG
CCAGAAGCCCAAGCTGGCCATCTACAGAAGCAGCAACCTGGCCAGCGGCATCCCCGCCAGATTTTCTGGCAGC
GGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCGTGCAGGCCGACGACATTGCCGTGTACTACTGCCAGC
AGAGCAGAGAGAGCCCCTTCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAACTGAAGAGAGCCGTGGCCGCTCCCTC
CGTGTTCATCTTCCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACAGCCAGCGTCGTGTGCCTGCTGAACAAC
TTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCG
TGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA
GAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGG
GGCGAGTGTtgagtttaaacgggggaggctaact

信号序列（26-85）、可变区（86-424）、恒定区（425-739）

SEQ ID NO: 38: 人源化hA2-15A-L7的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRANQGVSLSRYNLMHWYQQKPGQKPKLAIY
RSSNLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSVQADDIAVYYCQQSRESPFTFGQGTKLELKRAVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE
VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-133）、恒定区（134-238）

图20

SEQ ID NO: 39: 人源化hA2-27D-H1的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCAGCACCTTCAG
CAACTACGGCATGAAATGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCAGCATCAGCAGAAGC
AGCACCTACATCTACTACGCCGACACCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGCCATCAGCACCCC
CTTCTACTGGTACTTCGACTTCTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCA
AGCGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG
ACTACTTCCCCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGC
TGTCCTGCAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACTCACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCC
AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA
GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGG
AGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA
GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAG
CCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCT
GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACTA
CAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC
AGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGA
GCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-420）、恒定区（421-1410）

SEQ ID NO: 40: 人源化hA2-27D-H1的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSNYGMKWVRQAPGKGLEWVSSISRS
STYIYYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAISTPFYWYFDFWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-140）、恒定区（141-470）

图21

SEQ ID NO: 41: 人源化hA2-27D-H2的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCAGCACCTTCAG
CAACTACGGCATGAAGTGGATCCGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCAGCATCAGCAGAAGC
AGCACCTACATCTACTACGCCGACACCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCGCCGCTATCAGCACCCC
CTTCTACTGGTACTTCGACTTCTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCA
AGCGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG
ACTACTTCCCCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGC
TGTCCTGCAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACTCACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCC
AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA
GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGG
AGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA
GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAG
CCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCT
GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACTA
CAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC
AGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGA
GCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-420）、恒定区（421-1410）

SEQ ID NO: 42: 人源化hA2-27D-H2的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSNYGMKWIRQAPGKGLEWVSSISRS
STYIYYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAAISTPFYWYFDFWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-140）、恒定区（141-470）

图22

SEQ ID NO: 43: 人源化hA2-27D-H3的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCAGCACCTTCAG
CAACTACGGCATGAAGTGGATCCGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGGCCAGCATCAGCAGAAGC
AGCACCTACATCTACTACGCCGACACCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCGCCGCTATCAGCACCCC
CTTCTACTGGTACTTCGACTTCTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCA
AGCGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG
ACTACTTCCCCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGC
TGTCCTGCAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACTCACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCC
AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA
GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGG
AGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA
GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAG
CCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCT
GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACTA
CAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC
AGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGA
GCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-420）、恒定区（421-1410）

SEQ ID NO: 44: 人源化hA2-27D-H3的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSNYGMKWIRQAPGKGLEWVASISRS
STYIYYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAAISTPFYWYFDFWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-140）、恒定区（141-470）

图23

SEQ ID NO: 45: 人源化hA2-27D-H4的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCAGCACCTTCAG
CAACTACGGCATGAAGTGGATCCGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGGCCAGCATCAGCAGAAGC
AGCACCTACATCTACTACGCCGACACCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCCTGTACTATTGTGCCGCCGCTATCAGCACCCC
CTTCTACTGGTACTTCGACTTCTGGGGCCCTGGCACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCA
AGCGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG
ACTACTTCCCCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGC
TGTCCTGCAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACTCACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCC
AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA
GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGG
AGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA
GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAG
CCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCT
GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACTA
CAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC
AGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGA
GCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-420）、恒定区（421-1410）

SEQ ID NO: 46: 人源化hA2-27D-H4的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSNYGMKWIRQAPGKGLEWVASISRS
STYIYYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAISTPFYWYFDFWGPGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-140）、恒定区（141-470）

图24

SEQ ID NO: 47: 人源化hA2-27D-H5的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCAGCACCTTCAG
CAACTACGGCATGAAGTGGATCCGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGGCCAGCATCAGCAGAAGC
AGCACCTACATCTACTACGCCGACACCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGGGACAACGCCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCCTGTACTATTGTGCCGCCGCTATCAGCACCCC
CTTCTACTGGTACTTCGACTTCTGGGGCCCTGGCACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCA
AGCGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG
ACTACTTCCCCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGC
TGTCCTGCAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACTCACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCC
AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA
GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGG
AGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA
GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAG
CCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCT
GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACTA
CAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC
AGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGA
GCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-420）、恒定区（421-1410）

SEQ ID NO: 48: 人源化hA2-27D-H5的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSNYGMKWIRQAPGKGLEWVASISRS
STYIYYADTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRSEDTALYYCAAAISTPFYWYFDFWGPGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-140）、恒定区（141-470）

图25

SEQ ID NO: 49: 含有编码人源化hA2-27D-L1的序列的DNA片段的核苷酸序列

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGC
GGCGCCTACGGCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGGCACCCTGAGCCTGTCTCCAGGCGAAAGAGCCACCC
TGTCCTGTCTGGCCAGCAGCAGCGTGTCCTACATGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGACT
GCTGATCTACGGCACAAGCAATCTGGCCTCCGGCATCCCCGACAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGAC
TTCACCCTGACCATCAGCAGACTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCTGCACCTGACCAGCTACC
CCCCCTACACATTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGGCTGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTT
TCCACCCAGCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCTAGCGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGC
GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACTCCCAGGAAAGCGTGACCGAGCAGG
ACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACACTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT
GTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGTtga
gtttaaacggggaggctaact

信号序列（26-85）、可变区（86-412）、恒定区（413-727）

SEQ ID NO: 50: 人源化hA2-27D-L1的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCLASSSVSYMTWYQQKPGQAPRLLIYGTSNL
ASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCLHLTSYPPYTFGQGTKVEIKRAVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-129）、恒定区（130-234）

图26

SEQ ID NO: 51: 含有编码人源化hA2-27D-L2的序列的DNA片段的核苷酸序列

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGC
GGCGCCTACGGCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGGCACCCTGAGCCTGTCTCCAGGCGAAAGAGCCACCC
TGTCCTGTCTGGCCAGCAGCAGCGTGTCCTACATGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGAGCCCCAGACT
GTGGATCTACGGCACCAGCAATCTGGCCTCCGGCGTGCCCGATAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGAC
TTCACCCTGACCATCAGCAGACTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCTGCACCTGACCAGCTACC
CCCCCTACACATTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGGCTGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTT
TCCACCCAGCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCTAGCGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGC
GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACTCCCAGGAAAGCGTGACCGAGCAGG
ACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACACTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT
GTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGTtga
gtttaaacggggaggctaact

信号序列（26-85）、可变区（86-412）、恒定区（413-727）

SEQ ID NO: 52: 人源化hA2-27D-L2的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCLASSSVSYMTWYQQKPGQSPRLWIYGTSNL
ASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCLHLTSYPPYTFGQGTKVEIKRAVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-129）、恒定区（130-234）

图27

SEQ ID NO: 53: 含有编码人源化hA2-27D-L3的序列的DNA片段的核苷酸序列

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGC
GGCGCCTACGGCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGGCACCCTGAGCCTGTCTCCAGGCGAAAGAGCCACCC
TGTCCTGTCTGGCCAGCAGCAGCGTGTCCTACATGACCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGCGCCAGCCCCAGACT
GTGGATCTACGGCACAAGCAACCTGGCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGAC
TACACCCTGACAATCAGCAGACTGGAACCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCTGCACCTGACCAGCTACC
CCCCCTACACATTTGGAGCCGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGGCTGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTT
TCCACCCAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACAGCCAGCGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGC
GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACTCCCAGGAAAGCGTGACCGAGCAGG
ACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACACTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT
GTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGTtga
gtttaaacggggaggctaact

信号序列（26-85）、可变区（86-412）、恒定区（413-727）

SEQ ID NO: 54: 人源化hA2-27D-L3的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCLASSSVSYMTWYQQKPGASPRLWIYGTSNL
ASGVPDRFSGSGSGTDYTLTISRLEPEDFATYYCLHLTSYPPYTFGAGTKVEIKRAVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-129）、恒定区（130-234）

图28

SEQ ID NO: 55: 含有编码人源化hA2-27D-L4的序列的DNA片段的核苷酸序列

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGC
GGCGCCTACGGCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGGCACCATGTCTGCCAGCCCTGGCGAGAGAGTGACCC
TGAGCTGTCTGGCCAGCTCCAGCGTGTCCTACATGACCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGCGCCAGCCCCAGACT
GTGGATCTACGGCACAAGCAACCTGGCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGAC
TACACCCTGACCATCAGCCGGATGGAACCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCTGCACCTGACCAGCTACC
CCCCCTACACATTTGGAGCCGGCACCAAGCTGGAACTGAAGAGAGCCGTGGCTGCCCCCTCCGTGTTCATCTT
CCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACAGCCAGCGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGC
GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCGTGACCGAGCAGG
ACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACACTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT
GTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGTtga
gtttaaacggggaggctaact

信号序列（26-85）、可变区（86-412）、恒定区（413-727）

SEQ ID NO: 56: 人源化hA2-27D-L4的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGEIVLTQSPGTMSASPGERVTLSCLASSSVSYMTWYQQKPGASPRLWIYGTSNL
ASGVPDRFSGSGSGTDYTLTISRMEPEDFATYYCLHLTSYPPYTFGAGTKLELKRAVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-129）、恒定区（130-234）

图29

SEQ ID NO: 57: 含有编码人源化hA2-27D-L5的序列的DNA片段的核苷酸序列

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGC
GGCGCCTACGGCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGGCACCATGTCTGCCAGCCCTGGCGAGAGAGTGACCC
TGAATTGTCTGGCCAGCAGCAGCGTGTCCTACATGACCTGGTATCAGCAGAAGTCCGGCGCCAGCCCCAAACT
GTGGATCTACGGCACCAGCAACCTGGCCAGCGGCGTGCCCAATAGATTTTCCGGCAGCGGCTCCGGCACCTCC
TACACCCTGACCATCAGCCGGATGGAACCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCTGCACCTGACCAGCTACC
CCCCCTACACATTTGGAGCCGGCACCAAGCTGGAACTGAAGAGAGCCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTT
CCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACAGCCAGCGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGC
GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCGTGACCGAGCAGG
ACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACACTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT
GTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGTtga
gtttaaacgggggaggctaact

信号序列（26-85）、可变区（86-412）、恒定区（413-727）

SEQ ID NO: 58: 人源化hA2-27D-L5的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGEIVLTQSPGTMSASPGERVTLNCLASSSVSYMTWYQQKSGASPKLWIYGTSNL
ASGVPNRFSGSGSGTSYTLTISRMEPEDFATYYCLHLTSYPPYTFGAGTKLELKRAVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-129）、恒定区（130-234）

图30

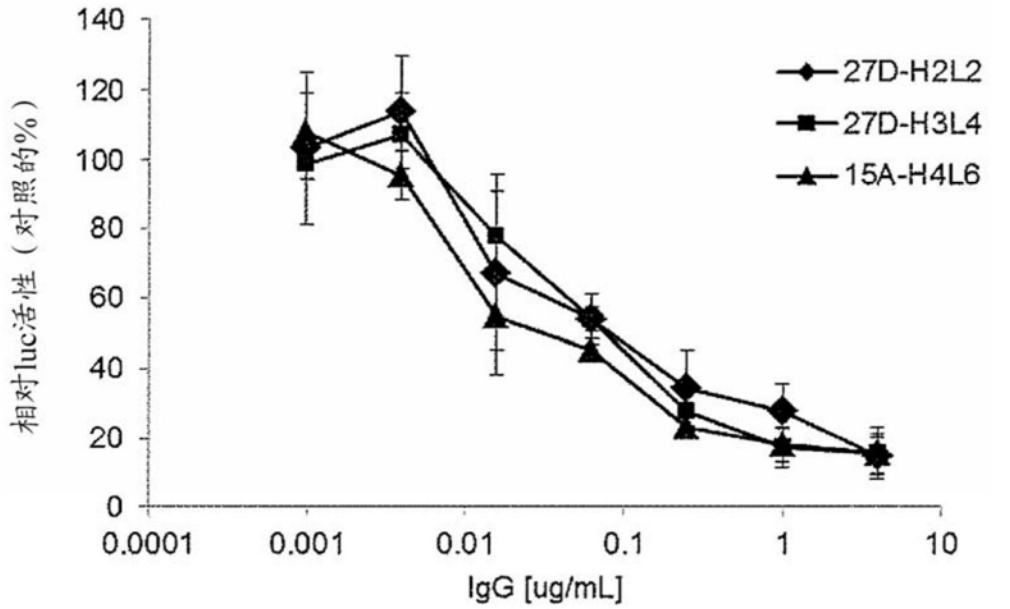


图31

SEQ ID NO: 104: 人源化hA2-15A-H4 IgG2型的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAG
CCACTACTACATGGCCTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGGTGGCCAGCATCACCAACAGC
GGCGGCAGCATCAACTACCGGGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAGCACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCACCTACTACTGTACAAGAGAGGGCGGCGAGAA
CTACGGCGGCTACCCTCCTTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCAGCACCAAG
GGCCCTTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCCGTTCCACCAGCGAGTCCACCGCCGCCCTTGGCTGTCTGG
TGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGAGCTGGAACTCCGGAGCCCTTACCAGCGGCGTGCACACCTT
CCCTGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTTTACTCCCTGAGCTCCGTGGTGACCGTGCCTAGCTCCAACTTCGGC
ACCCAAACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGTAAGT
GTTGTGTGGAGTGTCCTCCTTGTCCTGCCCCTCCTGTGGCCGGACCTTCCGTGTTCCTTTTCCCTCCTAAGCC
TAAGGACACCCTGATGATCAGCCGTACCCCTGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCT
GAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGTGAGGAGCAAT
TCAACAGCACCTTCCGTGTGGTGTCCGTGCTTACCGTGGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAA
GTGTAAGGTGAGCAACAAGGGACTTCCTGCCCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGCCAACCTCGT
GAGCCTCAAGTGTACACCCTTCCTCCTAGCCGTGAGGAGATGACCAAGAACCAAGTGTCCCTTACCTGTCTGG
TGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAACCTGAGAACAACTACAAGAC
CACCCCTCCTATGCTTGACAGCGACGGCTCCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGTTGG
CAACAAGGCAACGTGTTCAGCTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAGAGCCTTT
CCCTGAGCCCTGGAAAG

信号序列（1-57）、可变区（58-426）、恒定区（427-1404）

SEQ ID NO: 105: 人源化hA2-15A-H4 IgG2型的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYYMAWVRQAPGKGLEWVASITNS
GGSINYRDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMNSLRAEDTATYYCTREGGENYGGYPPFAYWGQGTLVTVSSASTK
GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFG
TQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-142）、恒定区（143-468）

图32

SEQ ID NO: 106: 人源化hA2-27D-H2-LALA的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCAGCACCTTCAG
CAACTACGGCATGAAGTGGATCCGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCAGCATCAGCAGAAGC
AGCACCTACATCTACTACGCCGACACCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCGCCGCTATCAGCACCCC
CTTCTACTGGTACTTCGACTTCTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCA
AGCGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG
ACTACTTCCCCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGC
TGTCCTGCAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACTCACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGCGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCC
AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA
GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGG
AGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA
GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAG
CCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCT
GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACTA
CAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC
AGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGA
GCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-420）、恒定区（421-1410）

SEQ ID NO: 107: 人源化hA2-27D-H2-LALA的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSNYGMKWIRQAPGKGLEWVSSISRS
STYIYYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAAISTPFYWYFDFWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-140）、恒定区（141-470）

图33

SEQ ID NO: 108: 人源化hA2-27D-H3-LALA的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCAGCACCTTCAG
CAACTACGGCATGAAGTGGATCCGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGGCCAGCATCAGCAGAAGC
AGCACCTACATCTACTACGCCGACACCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCGCCGCTATCAGCACCCC
CTTCTACTGGTACTTCGACTTCTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCA
AGCGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG
ACTACTTCCCCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGC
TGTCCTGCAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACTCACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGCGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCC
AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA
GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGG
AGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA
GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAG
CCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCT
GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACTA
CAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC
AGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGA
GCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-420）、恒定区（421-1410）

SEQ ID NO: 109: 人源化hA2-27D-H3-LALA的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSNYGMKWIRQAPGKGLEWVASISRS
STYIYYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAAISTPFYWYFDFWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-140）、恒定区（141-470）

图34

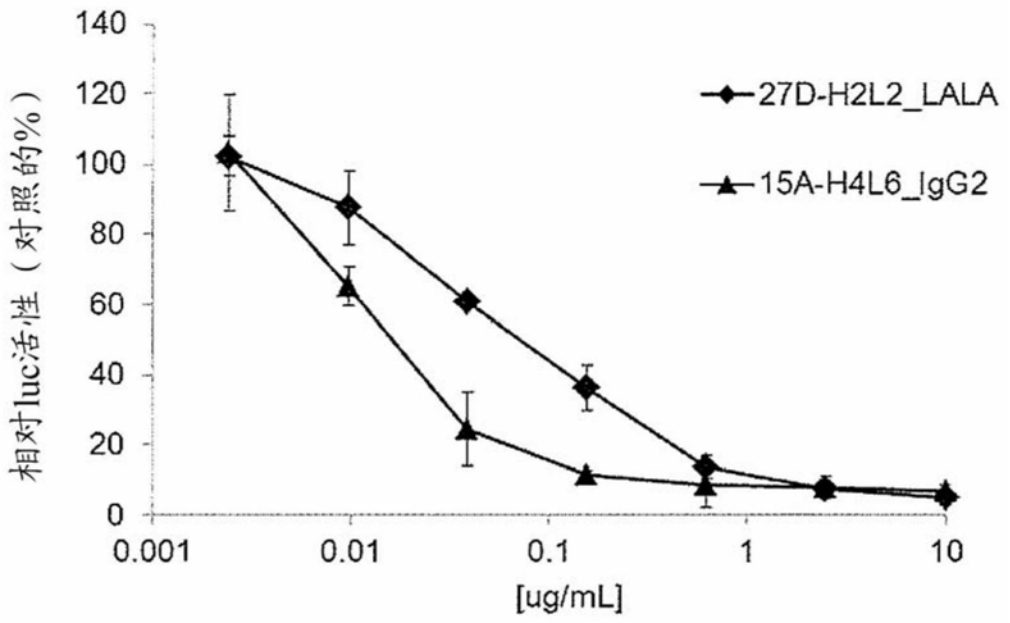

140
120
100
80
60
40
20
0
相对luc活性（对照的%）
0.001
0.01
0.1
1
10
[ug/mL]
27D-H2L2_LALA
15A-H4L6_IgG2

图35

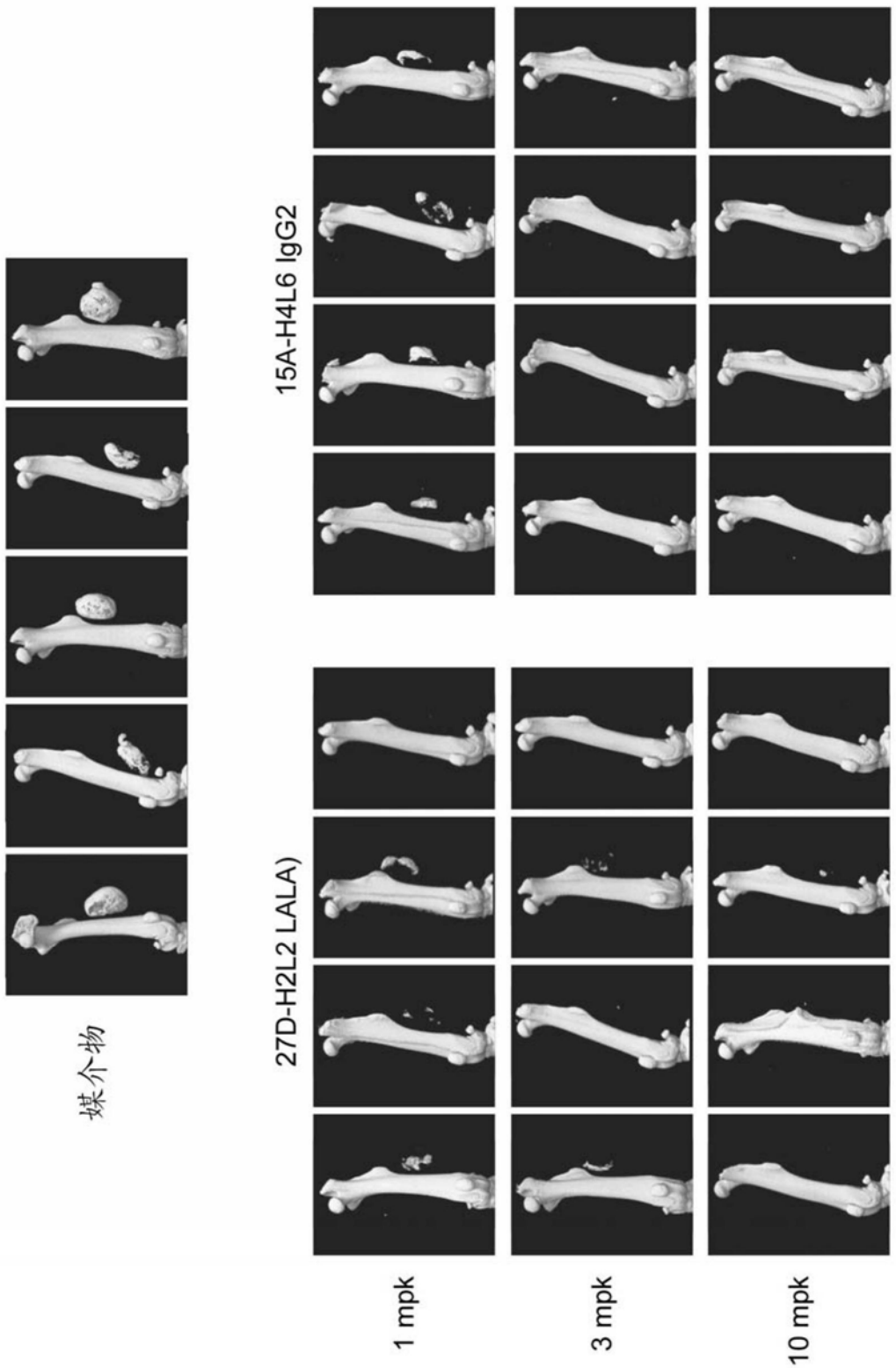


图36

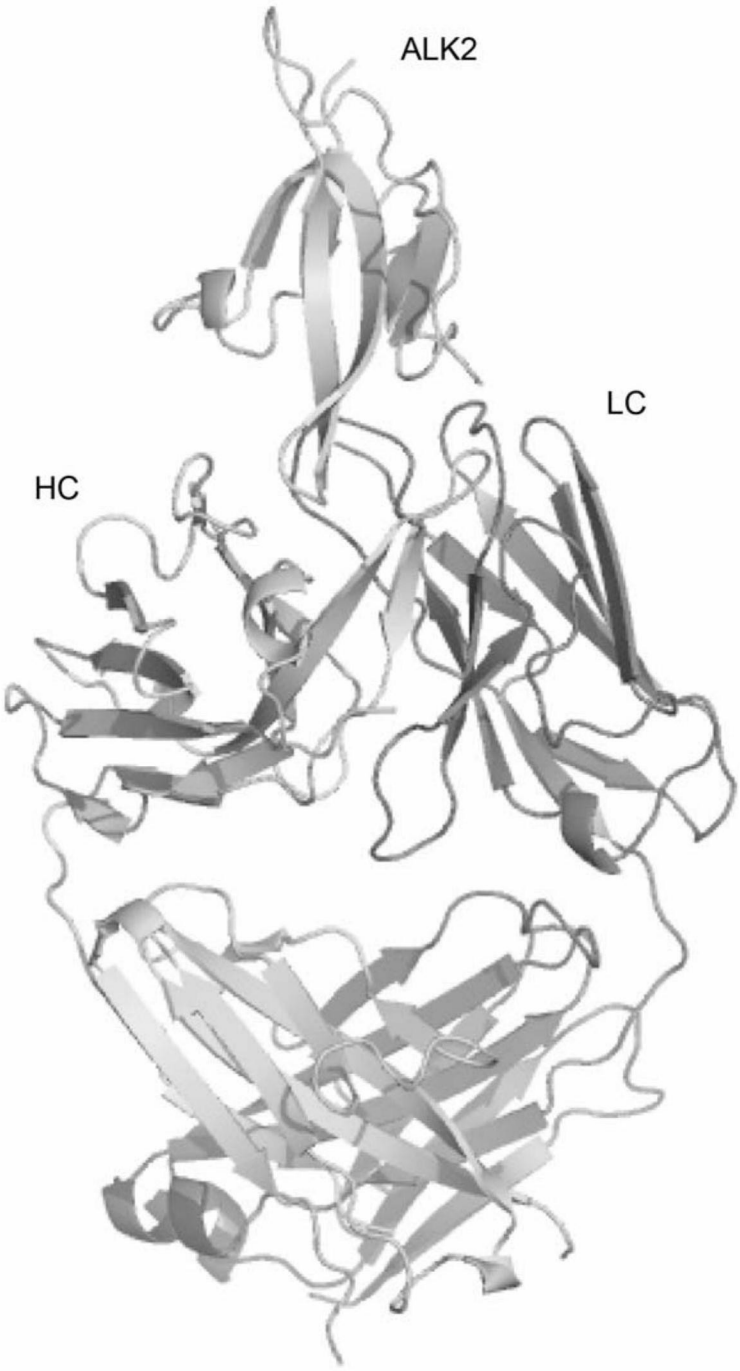


图37

SEQ ID NO: 110: 人源化hA2-11E-H3的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAG
CAACTACTACATGTACTGGATCCGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCAGCATCAACACCGAT
GGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCG
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGAGCACCCCCAACAT
CCCCCTGGCCTATTGGGGCCAGGGAACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTC
CCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC
CCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCCTGCA
GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC
TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTC
ACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAA
GGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG
GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACA
ACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG
CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAA
CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA
AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCAC
CCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG
CAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCC
TGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-411）、恒定区（412-1401）

SEQ ID NO: 111: 人源化hA2-11E-H3的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMYWIRQAPGKGLEWVSSINTD
GGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSTPNIPLAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-137）、恒定区（138-467）

图38

SEQ ID NO: 112: 人源化hA2-11E-H4的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAG
CAACTACTACATGTACTGGATCCGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCAGCAGCATCAACACCGAC
GGCGGCAGCACCTACTACCCCGATAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCG
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGAGCACCCCCAACAT
CCCCCTGGCCTATTGGGGCCAGGGAACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTC
CCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC
CCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCCTGCA
GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC
TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTC
ACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAA
GGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG
GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACA
ACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG
CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAA
CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA
AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCAC
CCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG
CAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCC
TGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-411）、恒定区（412-1401）

SEQ ID NO: 113: 人源化hA2-11E-H4的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMYWIRQAPGKGLEWISSINTD
GGSTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSTPNIPLAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-137）、恒定区（138-467）

图39

SEQ ID NO: 114: 人源化hA2-11E-L2的核苷酸序列

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACATCCAGATGA
CCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCCAGAACAT
CTACAAGTACCTGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTACAGCAACAGC
CTGCAGACCGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCTCCC
TGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCTTCCAGTACAGCAGCGGCCCCACCTTTGGCCAGGGCACCAA
GGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCC
GGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACA
ACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAG
CAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGC
CTGAGCTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT

信号序列（1-60）、可变区（61-384）、恒定区（385-699）

SEQ ID NO: 115: 人源化hA2-11E-L2的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNIYKYLNWFQQKPGKAPKLLIYYSNS
LQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQYSSGPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-128）、恒定区（129-233）

图40

SEQ ID NO: 116: 人源化hA2-11E-L3的核苷酸序列

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACATCCAGATGA
CCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCCAGAACAT
CTACAAGTACCTGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTACAGCAACAGC
CTGCAGACCGGCATCCCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCTCCC
TGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCTTCCAGTACAGCAGCGGCCCCACCTTTGGCCAGGGCACCAA
GGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCC
GGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACA
ACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAG
CAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGC
CTGAGCTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT

信号序列（1-60）、可变区（61-384）、恒定区（385-699）

SEQ ID NO: 117: 人源化hA2-11E-L3的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNIYKYLNWFQQKPGKAPKLLIYYSNS
LQTGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQYSSGPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-128）、恒定区（129-233）

图41

SEQ ID NO: 118: 人源化hA2-11E-L4的核苷酸序列

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACATCCAGATGA
CCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATCAGCTGCAAGGCCAGCCAGAACAT
CTACAAGTACCTGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCGAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTACAGCAACAGC
CTGCAGACCGGCATCCCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCTCCC
TGCAGCCCGAGGACTTCGCTATCTACTTCTGTTTTCAATACTCCAGCGGCCCCACCTTCGGCCCTGGCACCAA
GGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCC
GGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACA
ACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAG
CAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGC
CTGAGCTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT

信号序列（1-60）、可变区（61-384）、恒定区（385-699）

SEQ ID NO: 119: 人源化hA2-11E-L4的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCKASQNIYKYLNWFQQKPGEAPKLLIYYSNS
LQTGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAIYFCFQYSSGPTFGPGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-128）、恒定区（129-233）

图42

SEQ ID NO: 120: 人源化hA2-25C-H3的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAG
CTACTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGAAAAGGCCTGGAATGGGTGGCCAGCATCAGCAGAGGC
GGCGACAACACCTACTACCGGGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCACCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCCAGACTGAACTACAACAA
CTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTC
CCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC
CCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCCTGCA
GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC
TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTC
ACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAA
GGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG
GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACA
ACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG
CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAA
CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA
AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCAC
CCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG
CAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCC
TGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-411）、恒定区（412-1401）

SEQ ID NO: 121: 人源化hA2-25C-H3的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYYAMSWVRQAPGKGLEWVASISRG
GDNTYYRDSVKGRFTTSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLNYNNYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-137）、恒定区（138-467）

图43

SEQ ID NO: 122: 人源化hA2-25C-H4的核苷酸序列

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTGG
AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAG
CTACTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGAAAAGGCCTGGAATGGGTGGCCAGCATCAGCAGAGGC
GGCGACAACACCTACTACCGGGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCACCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCACCTACTATTGCGCCAGACTGAACTACAACAA
CTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCGTGCTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTC
CCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC
CCGAACCCGTGACCGTGAGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCCTGCA
GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC
TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTC
ACACATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAA
GGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG
GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACA
ACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG
CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAA
CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA
AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCAC
CCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG
CAGGGCAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCC
TGTCTCCCGGCAAA

信号序列（1-57）、可变区（58-411）、恒定区（412-1401）

SEQ ID NO: 123: 人源化hA2-25C-H4的氨基酸序列

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYYAMSWVRQAPGKGLEWVASISRG
GDNTYYRDSVKGRFTTSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCARLNYNNYFDYWGQGVLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

信号序列（1-19）、可变区（20-137）、恒定区（138-467）

图44

SEQ ID NO: 124: 人源化hA2-25C-L1的核苷酸序列

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACATCCAGATGA
CCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATTACCTGTCAGGCCAGCCAGGACAT
CGGCAACTGGCTGAGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCACATCT
CTGGCCGATGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCC
TGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCTGCAAGCCTACAGCGCCCCCTTCACCTTTGGCCAGGGCAC
CAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAG
TCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGG
ACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCT
GAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAG
GGCCTGAGCTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT

信号序列（1-60）、可变区（61-387）、恒定区（388-702）

SEQ ID NO: 125: 人源化hA2-25C-L1的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGNWLSWYQQKPGKAPKLLIYGATS
LADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQAYSAPFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-129）、恒定区（130-234）

图45

SEQ ID NO: 126: 人源化hA2-25C-L2的核苷酸序列

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACATCCAGATGA
CCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATTACCTGTCAGGCCAGCCAGGACAT
CGGCAACTGGCTGAGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCACATCT
CTGGCCGATGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCAGATCCGGCACCGACTACACCCTGACCATCAGCAGCC
TGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCTGCAAGCCTACAGCGCCCCCTTCACCTTTGGCCAGGGCAC
CAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAG
TCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGG
ACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCT
GAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAG
GGCCTGAGCTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT

信号序列（1-60）、可变区（61-387）、恒定区（388-702）

SEQ ID NO: 127: 人源化hA2-25C-L2的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGNWLSWYQQKPGKAPKLLIYGATS
LADGVPSRFSGSRSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQAYSAPFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-129）、恒定区（130-234）

图46

SEQ ID NO: 128: 人源化hA2-25C-L3的核苷酸序列

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACATCCAGATGA
CCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATTACCTGTCAGGCCAGCCAGGACAT
CGGCAACTGGCTGAGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGAGCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCACCTCT
CTGGCCGATGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCAGATCCGGCACCCAGTACACCCTGACCATCAGCAGCC
TGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCTGCAAGCCTACAGCGCCCCCTTCACCTTTGGCAGCGGCAC
CAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAG
TCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGG
ACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCT
GAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAG
GGCCTGAGCTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT

信号序列（1-60）、可变区（61-387）、恒定区（388-702）

SEQ ID NO: 129: 人源化hA2-25C-L3的氨基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGNWLSWYQQKPGKSPKLLIYGATS
LADGVPSRFSGSRSGTQYTLTISSLQPEDFATYYCLQAYSAPFTFGSGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

信号序列（1-20）、可变区（21-129）、恒定区（130-234）

图47

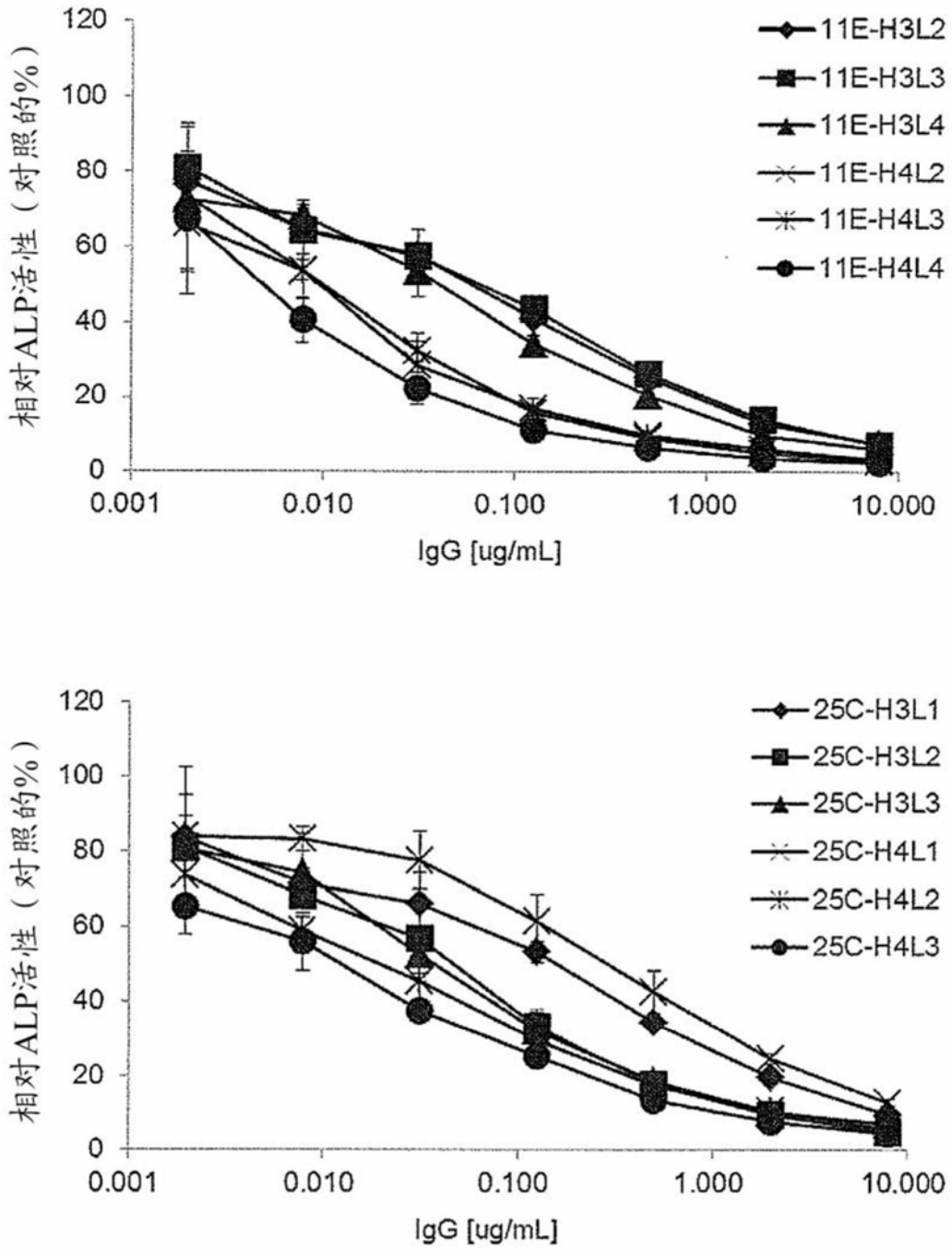

120
100
80
60
40
20
0
相对ALP活性（对照的%）
0.001
0.010
0.100
1.000
10.000
IgG [ug/mL]
11E-H3L2
11E-H3L3
11E-H3L4
11E-H4L2
11E-H4L3
11E-H4L4
120
100
80
60
40
20
0
相对ALP活性（对照的%）
0.001
0.010
0.100
1.000
10.000
IgG [ug/mL]
25C-H3L1
25C-H3L2
25C-H3L3
25C-H4L1
25C-H4L2
25C-H4L3

图48

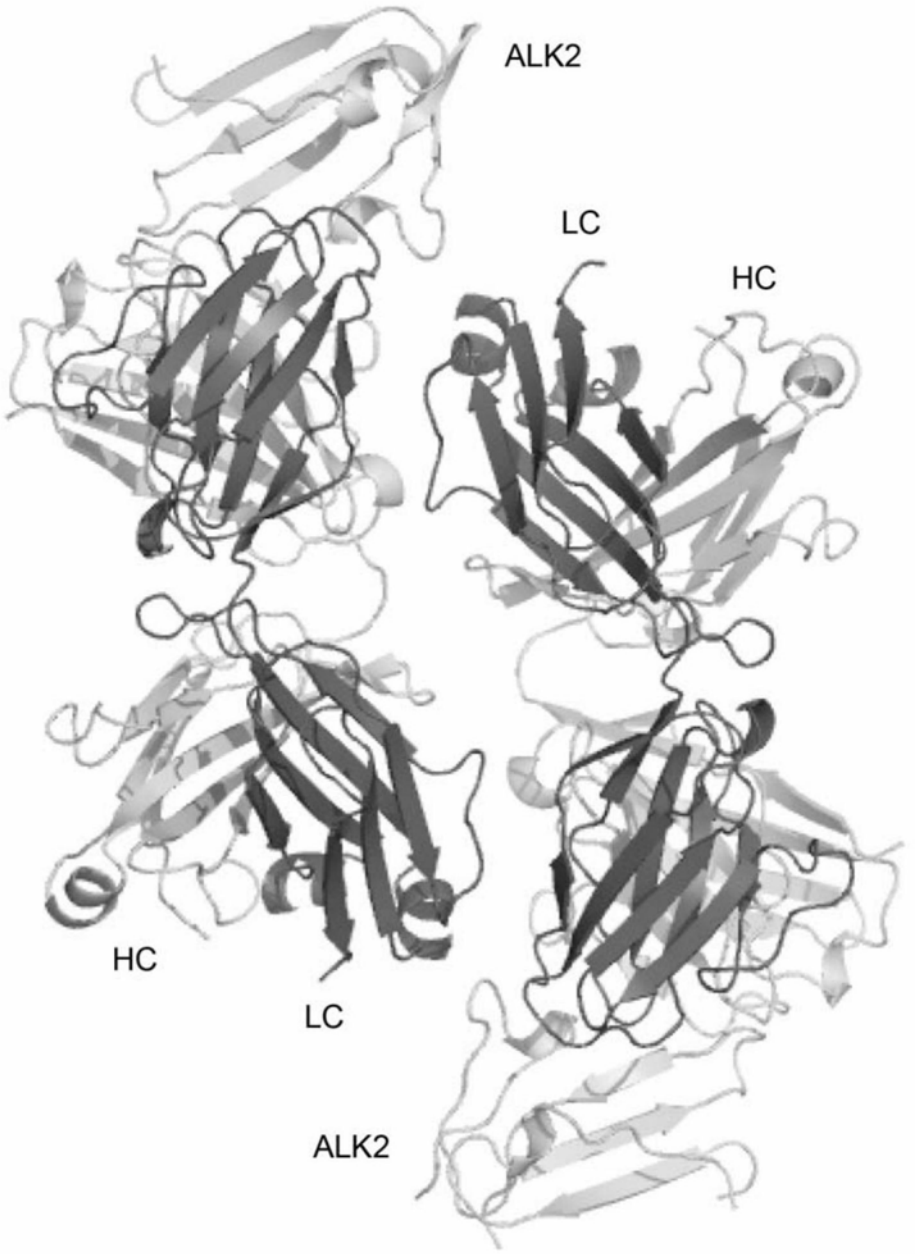


图49

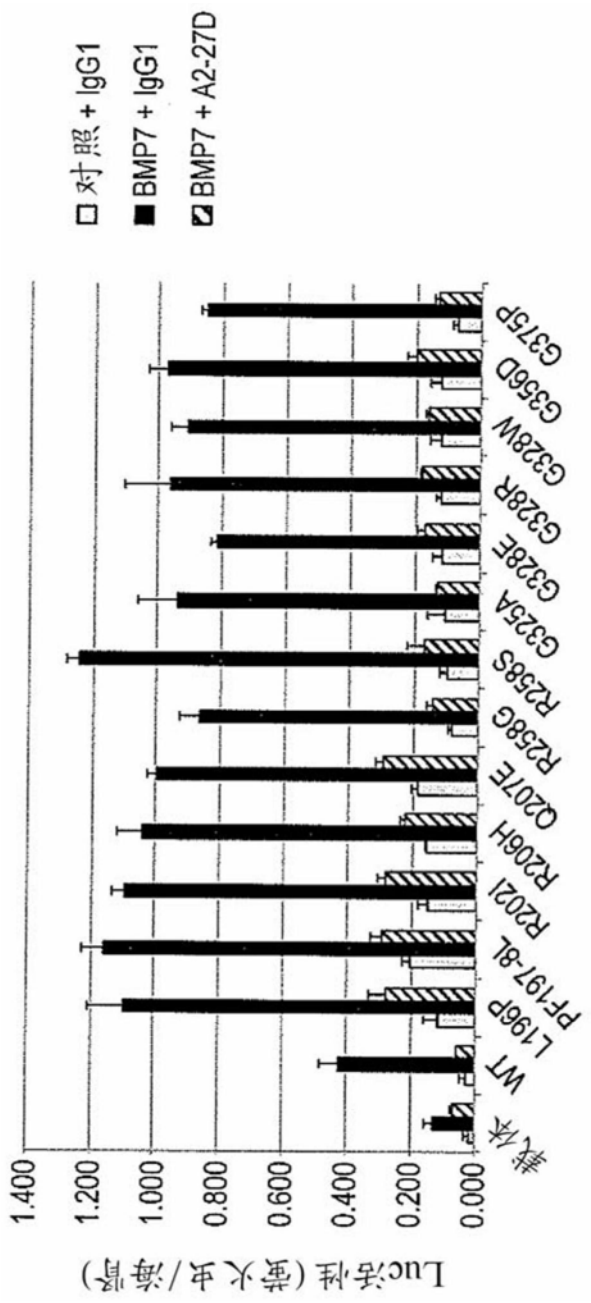

□对照 + IgG1
■BMP7 + IgG1
▨BMP7 + A2-27D
1.400
1.200
1.000
0.800
0.600
0.400
0.200
0.000
Luc活性 (萤火虫/海肾)
载体
WT
L196P
PF197-8L
R202I
R206H
Q207E
R258G
R258S
G325A
G328E
G328R
G328W
G356D
G375P

图50