



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109862907 A

(43)申请公布日 2019.06.07

(21)申请号 201780041381.X

(22)申请日 2017.05.02

(30)优先权数据

62/330,420 2016.05.02 US

62/416,447 2016.11.02 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.01.02

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/030612 2017.05.02

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/192567 EN 2017.11.09

(71)申请人 泰特拉基因股份有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 L. 马里恩 B. 范德沃宁格

H. 德哈德 W.D. 哈里曼

E.J. 科拉里尼 P. 科卢西

J. 比德宁科 Y. 比沙彦 A. 帕波彦

J. 卡达尔里 T.G. 克拉克

R.D. 卡恩

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 张文辉

(51)Int.Cl.

A61K 39/00(2006.01)

C07K 16/00(2006.01)

C07K 16/44(2006.01)

权利要求书2页 说明书28页 附图36页

(54)发明名称

抗Kv1.3抗体及其生产方法和用途

(57)摘要

公开了抗Kv1.3抗体(mAb),特别是以高亲和力特异性结合Kv1.3和/或抑制Kv1.3功能的mAb。提供了这些抗Kv1.3mAb的轻链和重链的CDR的氨基酸序列,以及这些CDR的共有序列。另外,提供了抗Kv1.3抗体的VH和VL区中的CDR的规范结构。本公开还提供了编码抗Kv1.3mAb的核酸分子、表达载体、宿主细胞、用于制备抗Kv1.3mAb的方法,以及用于表达抗Kv1.3mAb的方法。最后,公开了使用抗Kv1.3mAb作为治疗剂的方法,例如用于预防或治疗自身免疫性病症的方法。

1. 特异性结合人Kv1.3蛋白的抗体,所述抗体包含:  
免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,  
其中所述轻链的可变区包含:
  - (i) CDR1区,其包含选自由SEQ ID NO:43-69;249-267;381-386组成的组的氨基酸序列;
  - (ii) CDR2区,其包含选自由SEQ ID NO:70-88;268-280;387-391组成的组的氨基酸序列;和/或
  - (iii) CDR3区,其包含选自由SEQ ID NO:89-112;281-297;392-398组成的组的氨基酸序列。
2. 特异性结合人Kv1.3蛋白的抗体,所述抗体包含:  
免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,  
其中所述重链的可变区包含:
  - (i) CDR1区,其包含选自由SEQ ID NO:165-177;317-334;409-415组成的组的氨基酸序列;
  - (ii) CDR2区,其包含选自由SEQ ID NO:178-202;335-352;416-422组成的组的氨基酸序列;和/或
  - (iii) CDR3区,其包含选自由SEQ ID NO:203-229;353-370;423-429组成的组的氨基酸序列。
3. 特异性结合人Kv1.3蛋白的抗体,所述抗体包含:  
免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,  
其中所述轻链的可变区包含:
  - (i) CDR1区,其包含选自由VL CDR1基序1-6组成的组的氨基酸序列;
  - (ii) CDR2区,其包含选自由VL CDR2基序1-6组成的组的氨基酸序列;和/或
  - (iii) CDR3区,其包含选自由VL CDR3基序1-6组成的组的氨基酸序列。
4. 特异性结合人Kv1.3蛋白的抗体,所述抗体包含:  
免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,  
其中所述重链的可变区包含:
  - (i) CDR1区,其包含选自由VH CDR1基序1-6组成的组的氨基酸序列;
  - (ii) CDR2区,其包含选自由VH CDR2基序1-6组成的组的氨基酸序列;和/或
  - (iii) CDR3区,其包含选自由VH CDR3基序1-6组成的组的氨基酸序列。
5. 包含权利要求1-4中任一项的抗体的抗体制剂。
6. 权利要求5的抗体制剂,其中所述制剂为单克隆抗体制剂。
7. 权利要求5的抗体制剂,其中所述制剂为至少两种单克隆抗体制剂的混合物。
8. 编码权利要求1-4中任一项的重链或轻链的分离的核酸分子。
9. 权利要求8的分离的核酸分子,其中所述核酸分子选自由以下各项组成的组:克隆载体、表达载体、异源重组载体和病毒整合载体。
10. 用权利要求8-9中任一项的核酸转化的细胞。
11. 权利要求10的细胞,其中所述细胞为哺乳动物细胞。
12. 权利要求11的细胞,其中所述细胞为啮齿动物细胞。

13. 权利要求11的细胞,其中所述细胞为中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。
14. 权利要求11的细胞,其中所述细胞为人细胞。
15. 分离表达Kv1.3蛋白的细胞的方法,所述方法包括:
  - (a) 获得细胞的群体;
  - (b) 使所述细胞的群体与权利要求1-4中任一项的多种抗体接触;和
  - (c) 将特异性结合所述抗体的群体中的细胞与不特异性结合所述抗体的群体中的细胞分开。
16. 权利要求15的方法,其中通过荧光激活细胞分选分开所述细胞。
17. 权利要求15的方法,其中通过荧光激活细胞分选使用固定化的二抗分开所述细胞。
18. 用于预防或治疗受试者中自身免疫性病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的权利要求5-7中任一项的抗体制剂。
19. 权利要求18的方法,其中所述抗体制剂抑制Kv1.3钾通道,从而预防或治疗所述自身免疫性病症。
20. 权利要求18的方法,其中消耗所述受试者的自身反应性效应记忆T细胞,从而预防或治疗所述自身免疫性病症。
21. 权利要求18-20中任一项的方法,其中所述自身免疫性病症选自下组:多发性硬化;重症肌无力;自身免疫性神经病;吉兰-巴雷综合征;自身免疫性葡萄膜炎;克罗恩病;溃疡性结肠炎;原发性胆汁性肝硬变;自身免疫性肝炎;自身免疫性血小板减少;1型糖尿病;艾迪生病;格雷夫斯病;桥本甲状腺炎;自身免疫性睾丸炎;白塞病(Behcet's disease);类风湿性关节炎;与牙周病相关的骨吸收;系统性红斑狼疮;硬皮病多肌炎,皮炎;寻常型天疱疮;脊柱关节病;强直性脊柱炎;以及干燥综合征(Sjogren's syndrome)。
22. 用于预防或治疗受试者中移植物抗宿主病的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的权利要求5-7中任一项的抗体制剂。
23. 权利要求22的方法,其中所述抗体制剂抑制Kv1.3钾通道,从而预防或治疗移植物抗宿主病。
24. 权利要求22的方法,其中消耗所述受试者的自身反应性效应记忆T细胞,从而预防或治疗移植物抗宿主病。

## 抗Kv1.3抗体及其生产方法和用途

[0001] 援引并入

[0002] 本申请要求2016年5月2日提交的美国申请序列号62/330,420和2016年11月2日提交的美国申请序列号62/416,447的优先权,其中每篇的内容通过引用整体并入本文。

### 发明领域

[0003] 本公开一般涉及抗体、其生产和用途。具体地,本公开涉及特异性结合人Kv1.3蛋白、调节人Kv1.3蛋白的活性的抗体,生产此类抗体的方法,以及使用此类抗体的诊断、治疗和临床方法。

[0004] 发明背景

[0005] Kv1.3蛋白是电压门控离子通道,其进行钾离子通过生物膜的转移,并调节可激发和不可激发两种细胞类型的膜电位。特别地,Kv1.3在调节活化的T-效应记忆( $T_{EM}$ )和其他T细胞亚组中的 $Ca^{2+}$ 信号传导中起着充分表征的作用(Wulff et al. (2003), Clin. Invest. 111:1703-1713; Beeton et al. (2006), PNAS. 103:17414-19)。 $T_{EM}$ 细胞中Kv1.3的上调与自身免疫性疾病中的炎症部位相关(Rus et al. (2005), PNAS 102:11094-99; Beeton 2006);并且研究已表明,特定的Kv1.3阻断剂在许多动物炎症模型中是有效的(Beeton et al. (2001), J. Immunol. 166:936-44); Beeton et al. 2006; Koo et al. (1997), J. Immunol. 158, 5210-28; Matheu et al. (2008), Immunity, 29, 602-14; Azam et al. (2007), J. Invest. Dermatol. 127, 1419-29; Cheong et al. (2011), Cardiovasc. Res. 89, 282-89; Hyodo et al. (2010), Am. J. Physiol. 299, 1258-69; Gilhar et al. (2011), J. Invest. Dermatol. 131, 118-24)。在小鼠中,阻断Kv1.3活性可以改变响应抗原的T细胞的表型并将其转化为抑制状态(Gocke et al (2012), J. Immunol. 188, 5877-5886; Grishkan et al (2015), J. Immunol. 195, 1399-1407; Hu et al (2011), J. Biol. Chem. 287, 1261-1268)。

[0006] 正在开发肽毒素及其衍生物作为抑制Kv1.3功能的治疗剂,用于治疗自身免疫性疾病。例如,衍生自海葵*Stichodactyla helianthus*的肽毒素ShK以高亲和力结合Kv1.3四聚体的外前庭(vestibule)并阻闭通过孔的离子电导(Beeton et al. (2003), J. Biol. Chem., 278, 9928-37)。

[0007] 调节Kv1.3的功能的治疗性抗体代表了另一类生物制剂,其可以开发以治疗各种 $T_{EM}$ 介导的自身免疫性疾病。识别胞内表位和胞外表位两者的许多抗Kv1.3抗体是可商购的(例如,Alomone Labs, Jerusalem, Israel: 抗Kv1.3(胞外), Cat#APC101; 抗Kv1.3(胞内), Cat#APC002),但是其没有功能活性并且不调节Kv1.3活性。然而,用位于人Kv1.3孔区的外端的由14个氨基酸组成的肽免疫的兔产生能够功能性抑制Kv1.3活性的多克隆抗体(Yang et al. (2012), PLoS One 7, e36379),表明功能性抗Kv1.3免疫球蛋白是可行的。

[0008] 然而,仍然需要鉴定和开发识别Kv1.3,和特别地胞外环区域的高亲和力单克隆抗体(mAb),所述胞外环区域预期在对Kv1.3活性发挥调节作用中是至关重要的。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明部分依赖于人Kv1.3蛋白的改善的免疫原性制剂的开发,其允许生产针对四聚体Kv1.3离子通道的胞外域并且对Kv1.3具有优异的亲和力和特异性的抗Kv1.3单克隆抗体。这些抗体具有治疗和诊断效用两者。

[0011] 因此,在一方面,本发明提供了抗Kv1.3单克隆抗体(mAb),特别是调节Kv1.3功能活性的mAb。特别地,本发明提供了轻链和重链的CDR的氨基酸序列,以及这些CDR的共有序列,并且能够生产包含这些CDR的多种抗体和其他基于免疫球蛋白的分子。另外,本发明提供了轻链和重链可变域中CDR的预测规范结构,从而能够生产特异性结合Kv1.3的另外的抗体和其他基于免疫球蛋白的分子。

[0012] 在另一方面,本发明提供了编码抗Kv1.3mAb和其他基于免疫球蛋白的分子的核酸分子、包含此类核酸的表达载体、包含此类核酸或载体的宿主细胞、用于制备抗Kv1.3mAb和其他基于免疫球蛋白的分子的方法,以及用于表达抗Kv1.3mAb和其他基于免疫球蛋白的分子的方法。最后,提供了使用抗Kv1.3mAb和其他基于免疫球蛋白的分子作为治疗药物或诊断试剂的方法。

[0013] 在另一方面,本发明提供了特异性结合人Kv1.3蛋白的抗体,所述抗体包含:免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,其中所述轻链的可变区包含:(i) CDR1区,其包含选自由SEQ ID NO:43-69;249-267;381-386组成的组的氨基酸序列;(ii) CDR2区,其包含选自由SEQ ID NO:70-88;268-280;387-391组成的组的氨基酸序列;和/或(iii) CDR3区,其包含选自由SEQ ID NO:89-112;281-297;392-398组成的组的氨基酸序列。

[0014] 在另一方面,本发明提供了特异性结合人Kv1.3蛋白的抗体,所述抗体包含:免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,其中所述重链的可变区包含:(i) CDR1区,其包含选自由SEQ ID NO:165-177;317-334;409-415组成的组的氨基酸序列;(ii) CDR2区,其包含选自由SEQ ID NO:178-202;335-352;416-422组成的组的氨基酸序列;和/或(iii) CDR3区,其包含选自由SEQ ID NO:203-229;353-370;423-429组成的组的氨基酸序列。

[0015] 在另一方面,本发明提供了特异性结合人Kv1.3蛋白的抗体,所述抗体包含:免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,其中所述轻链的可变区包含:(i) CDR1区,其包含选自由VL CDR1基序1-6组成的组的氨基酸序列;(ii) CDR2区,其包含选自由VL CDR2基序1-6组成的组的氨基酸序列;和/或(iii) CDR3区,其包含选自由VL CDR3基序1-6组成的组的氨基酸序列。

[0016] 在另一方面,本发明提供了特异性结合人Kv1.3蛋白的抗体,所述抗体包含:免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,其中所述重链的可变区包含:(i) CDR1区,其包含选自由VH CDR1基序1-6组成的组的氨基酸序列;(ii) CDR2区,其包含选自由VH CDR2基序1-6组成的组的氨基酸序列;和/或(iii) CDR3区,其包含选自由VH CDR3基序1-6组成的组的氨基酸序列。

[0017] 在一些实施方案中,本发明提供了包含如本文所述的抗体的抗体制剂。在一些实施方案中,本发明提供了抗体制剂,其中所述制剂为单克隆抗体制剂。在一些实施方案中,本发明提供了抗体制剂,其中所述制剂为至少两种单克隆抗体制剂的混合物。

[0018] 在另一方面,本发明提供了编码如本文所述的任一种抗体的重链或轻链的分离的核酸分子。在一些实施方案中,本发明提供了分离的核酸分子,其中所述核酸分子选自由以下各项组成的组:克隆载体、表达载体、异源重组载体和病毒整合载体。在一些实施方案中,本发明提供了用核酸转化的细胞。在一些实施方案中,所述细胞为哺乳动物细胞。在一些实施方案中,所述细胞为啮齿动物细胞。在一些实施方案中,所述细胞为中国仓鼠卵巢(CHO)

细胞。在一些实施方案中,所述细胞为人细胞。

[0019] 在另一方面,本发明提供了分离表达Kv1.3蛋白的细胞的方法,所述方法包括:(a)获得细胞的群体;(b)使所述细胞的群体与如本文所述的多种抗体接触;和(c)将特异性结合所述抗体的群体中的细胞与不特异性结合所述抗体的群体中的细胞分开。在一些实施方案中,通过荧光激活细胞分选分开所述细胞。在一些实施方案中,通过荧光激活细胞分选使用固定化的二抗分开所述细胞。

[0020] 在另一方面,本发明提供了用于预防或治疗人受试者中自身免疫性病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗体制剂。在一些实施方案中,所述抗体制剂抑制Kv1.3钾通道,从而预防或治疗自身免疫性病症。在一些实施方案中,消耗所述受试者的自身反应性效应记忆T细胞,从而预防或治疗所述自身免疫性病症。在一些实施方案中,所述自身免疫性病症选自下组:多发性硬化;重症肌无力;自身免疫性神经病;吉兰-巴雷综合征;自身免疫性葡萄膜炎;克罗恩病;溃疡性结肠炎;原发性胆汁性肝硬变;自身免疫性肝炎;自身免疫性血小板减少;1型糖尿病;艾迪生病;格雷夫斯病;桥本甲状腺炎;自身免疫性睾丸炎;白塞病;类风湿性关节炎;与牙周病相关的骨吸收;系统性红斑狼疮;硬皮病多肌炎,皮炎;寻常型天疱疮;脊柱关节病;强直性脊柱炎;以及干燥综合征。

[0021] 在另一方面,本发明提供了用于预防或治疗受试者中移植物抗宿主病的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗体制剂。在一些实施方案中,所述抗体制剂抑制Kv1.3钾通道,从而预防或治疗移植物抗宿主病。在一些实施方案中,消耗所述受试者的自身反应性效应记忆T细胞,从而预防或治疗移植物抗宿主病。

[0022] 下面说明和描述了本发明的这些和其他方面和实施方案。通过审查以下附图和详细描述,其他组合物、方法和特征对于本领域技术人员将变得显而易见。意图是所有此类另外的组合物、方法和特征都在本发明的范围内。

[0023] 附图简述

[0024] 以下附图说明了本发明的实施方案,并且不意味着限制如权利要求书所涵盖的本发明的范围。

[0025] 图1A提供了人Kv1.3蛋白的氨基酸序列(登录号:P22001.3)(SEQ ID NO:1)。图1B显示了用C-末端FLAG(粗体斜体)和10X His(下划线)标签修饰的Kv1.3氨基酸序列(SEQ ID NO:2)。

[0026] 图2显示了将人Kv1.3编码基因(KCNA3)置于四膜虫属(Tetrahymena)MTT5启动子的控制下的表达构建体设计,以及四膜虫属核糖体DNA载体(pTRAS1)的NotI限制性位点中整个表达构建体的放置。

[0027] 图3显示了Kv1.3蛋白脂质体免疫原制剂的SDS-PAGE和Western分析。左图显示了在SDS-PAGE上解析并通过考马斯染色检测的Kv1.3。右图显示了使用抗Kv1.3胞外环抗体的抗Kv1.3Western分析。注意,Kv1.3解析为两种不同的种类:对应于预测分子量(~66kDa)和更高分子量(>250kDa)种类的单体。

[0028] 图4显示了经免疫的鸡血清中抗Kv1.3抗体滴度的FACS分析。用Kv1.3磁珠进行FACS分析。左图是对照分析,显示用或不用商业抗Kv1.3抗体温育的珠子的分布。中图显示了与免疫前血清或来自经Kv1.3免疫的鸡的血清(第3次抽取)温育的Kv1.3珠子的分布。右图显示了用免疫前血清或来自用非相关离子通道免疫的鸡的血清(第3次抽取)温育的

Kv1.3珠子的分布。

[0029] 图5A-5B显示了用于葡聚糖酶法 (GEM) 测定以分离抗Kv1.3抗体的Kv1.3配制剂。图5A显示了Kv1.3蛋白脂质体 (块代表磷脂双层中的Kv1.3蛋白)。图5B显示了用商业抗Kv1.3抗体标记的Kv1.3磁珠。

[0030] 图6显示了在HEK293细胞中表达的二价scFv-Fc抗体设计。构建体包括前导序列 (Le)、可变轻链 (VL)、接头区 (Li)、可变重链 (VH) 和人IgG1的Fc域 (hIgG1-Fc)。

[0031] 图7A显示了通过衍生自鸡 (ch\_) 的抗体 (p1A1、p1A11、p1F8、p1D8、p1H4、p2A3、p2G9、p1H7和p1E6) 对Kv1.3活性的功能性抑制。图7B显示了通过衍生自美洲驼 (Llama) (L) 的抗体 (1A3) 对Kv1.3活性的功能性抑制。图7C显示了衍生自鸡的特异性抗Kv1.3抗体 (p2D9) 的实例,其在功能上不抑制Kv1.3活性。在瞬时表达人Kv1.3的L929人成纤维细胞中,通过全细胞膜片钳电生理学测定Kv1.3的活性。最上面的线显示在不存在抗体的情况下细胞的对照电生理学记录。最下面的线显示用400nM抗体温育的细胞的电生理学记录。

[0032] 图8A显示了阻断Kv1.3活性的衍生自鸡 (ch\_) 的三种抗体 (p1E6、L1A3和p2G9) 的剂量响应分析。显示了用十倍稀释的抗体温育的细胞的电流记录。图8B显示了比较抗体p1E6与抗体L1A3 (上图) 和p2G9 (下图) 的剂量-响应曲线。每种抗体的IC<sub>50</sub>值计算为6nM (p1E6)、46nM (p2G9) 和10<sup>-9</sup>nM (L1A3)。

[0033] 图9显示了与其他Kv家族成员Kv1.5和Kv11.1 (hERG) 相比,抗体p1A1对阻断Kv1.3活性的选择性。

[0034] 图10显示了抗体L1A3抑制CD3/CD28活化的猴T细胞中天然Kv1.3的功能。

[0035] 图11A-11B显示了根据本发明的鸡中产生的抗Kv1.3抗体的轻链可变区 (SEQ ID NO:3-42) 的比对。CDR1、2和3的大概位置用粗体加下划线的文本突出显示。

[0036] 图12显示了根据本发明的鸡中产生的独特轻链CDR序列 (SEQ ID NO:43-112) 的比对。

[0037] 图13A-13C显示了根据本发明的鸡中产生的抗Kv1.3抗体的重链可变区 (SEQ ID NO:125-164) 的比对。CDR1、2和3的大概位置用粗体加下划线的文本突出显示。

[0038] 图14显示了根据本发明的鸡中产生的独特重链CDR序列 (SEQ ID NO:165-229) 的比对。

[0039] 图15显示了根据本发明的美洲驼中产生的抗Kv1.3抗体的轻链可变区 (SEQ ID NO:230-248) 的比对。CDR1、2和3的大概位置用粗体加下划线的文本突出显示。

[0040] 图16显示了根据本发明的美洲驼中产生的独特美洲驼轻链CDR序列 (SEQ ID NO:249-297) 的比对。

[0041] 图17显示了根据本发明的美洲驼中产生的抗Kv1.3抗体的重链可变区 (SEQ ID NO:298-316) 的比对。CDR1、2和3的大概位置用粗体加下划线的文本突出显示。

[0042] 图18显示了根据本发明的美洲驼中产生的独特美洲驼重链CDR序列 (SEQ ID NO:317-370) 的比对。

[0043] 图19显示了根据本发明的鸡中产生并且不同于图11A-11B中所示的那些轻链可变区的抗Kv1.3抗体的轻链可变区 (SEQ ID NO:371-380) 的比对。CDR1、2和3的大概位置用粗体加下划线的文本突出显示。

[0044] 图20显示了如图19中所示的和根据本发明产生的独特轻链CDR序列 (SEQ ID NO:

381-398)的比对。

[0045] 图21显示了根据本发明的鸡中产生并且不同于图13A-13C中所示的那些重链可变区的抗Kv1.3抗体的重链可变区(SEQ ID NO:399-408)的比对。CDR1、2和3的大概位置用粗体加下划线的文本突出显示。

[0046] 图22显示了如图21中所示的和根据本发明产生的独特重链CDR序列(SEQ ID NO:409-429)的比对。

[0047] 详细说明

[0048] 本公开涉及分离的抗体(Ab),特别是以高亲和力特异性结合人Kv1.3的Ab和调节Kv1.3功能活性的Ab。在某些实施方案中,抗Kv1.3Ab衍生自特定的重链和轻链序列和/或包含特定的结构特征,例如CDR区,其包含特定的氨基酸序列。本公开提供了分离的抗Kv1.3Ab、制备此类抗Kv1.3Ab的方法、包含此类抗Kv1.3Ab的免疫缀合物和双特异性分子,以及表达此类抗Kv1.3Ab的方法。本公开还涉及使用抗Kv1.3Ab作为用于自身免疫性疾病的治疗性处理或作为诊断试剂的方法。

[0049] 定义

[0050] 除非下文另外定义,否则本文使用的所有科学和技术术语旨在具有与本领域普通技术人员通常理解的含义相同的含义。本文所采用技术的引用意指本领域通常理解的技术,包括对本领域技术人员显而易见的那些技术上的变化或者等同的或后来开发的技术的替代。另外,为了更清楚和简明地描述作为本发明的主题,提供以下定义用于说明书和所附权利要求书中使用的某些术语。

[0051] 如本文所用,术语“抗体”或缩写“Ab”包括完整抗体和任何抗原结合片段(即“抗原结合部分”)或其单链,具有或不具有天然糖基化。完整的“抗体”是指包含通过二硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链的糖蛋白或其抗原结合部分。每条重链包括重链可变区(V<sub>H</sub>)和重链恒定区。重链恒定区由三个域C<sub>H1</sub>、C<sub>H2</sub>和C<sub>H3</sub>组成。每条轻链包括轻链可变区(V<sub>L</sub>)和具有一个域C<sub>L</sub>的轻链恒定区。V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>区可以进一步细分为互补决定区(CDR)和框架区(FR)。V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>区各自包括与抗原(例如,Kv1.3)相互作用的三个CDR,称为CDR1、CDR2和CDR3。

[0052] 如本文所用,术语抗体的“抗原结合部分”是指保留特异性结合抗原(例如,Kv1.3)的能力的抗体的一个或多个片段。涵盖在术语抗体的“抗原结合部分”内的结合片段的实例包括Fab片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、Fab'片段、Fd片段、Fv片段、scFv片段、dAb片段和分离的CDR。

[0053] 如本文所用,术语“单克隆抗体”或“单克隆抗体制剂”是指抗体分子的制剂,其基本上由具有单个重链氨基酸序列和单个轻链氨基酸序列的抗体组成(但可以具有异质性糖基化(heterogeneous glycosylation))。

[0054] 如本文所用,术语“人源化抗体”包括具有恒定区和可变区框架区(FR)但不具有衍生自人种系免疫球蛋白序列的CDR的抗体。

[0055] 如本文所用,术语“重组抗体”包括通过重组手段制备、表达、创建或分离的所有抗体。在某些实施方案中,重组抗体自转化以表达抗体的宿主细胞(例如,自转染瘤)分离。在其他实施方案中,重组抗体分离自重组、组合抗体文库,例如噬菌体展示文库。还可以通过涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接到其他DNA序列的任何其他手段来制备、表达、创建或分离重组抗体。

[0056] 如本文所用,术语“同种型”是指由恒定区基因编码的重链类别(例如,人抗体的

IgA、IgD、IgE、IgG和IgM)或轻链类别(例如,人中的 $\kappa$ 或 $\lambda$ )。术语“亚型”是指亚型内的亚类(例如,人中的IgA<sub>1</sub>、IgA<sub>2</sub>、IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>、IgG<sub>4</sub>)。

[0057] 短语“对规定抗原特异性的抗体”在本文中可与短语“特异性结合规定抗原的抗体”互换使用。如本文所用,术语“K<sub>a</sub>”是指特定抗体-抗原复合物的结合速率而术语“K<sub>d</sub>”是指解离速率。术语“K<sub>D</sub>”是指解离常数,其获自K<sub>d</sub>与K<sub>a</sub>的比率并表示为摩尔浓度(M)。根据一些实施方案,“特异性结合人Kv1.3”的抗体意指以 $5 \times 10^{-8}$ M或更少,更优选地 $1 \times 10^{-8}$ M或更少的K<sub>D</sub>与人Kv1.3结合的抗体。

[0058] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。尽管与本文描述的那些方法和材料类似或等同的方法和材料可以用于本发明的实践或测试,但下文描述了适合的方法和材料。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献都通过引用整体并入。如果发生冲突,则以本说明书,包括定义为准。另外,材料、方法和实施例仅是说明性的而不旨在限制。

[0059] 本文提及的专利、科学和技术文献建立了在提交时本领域技术人员可获得的知识。本文引用的公告的美国专利、公开的和未决的专利申请以及其他出版物的全部公开内容通过引用并入本文,其程度如同每篇具体地和单独地指出通过引用并入一样。在任何不一致的情况下,以本公开为准。

[0060] 抗Kv1.3抗体

[0061] 本发明提供了多种对人Kv1.3蛋白,特别是胞外环上的表位具有高亲和力,并且调节Kv1.3功能活性的新抗体。抗体可以包含本文公开的完整VH和VL区,或者可以仅包含与已知的人或其他哺乳动物(例如人)或禽(例如鸡)框架区组合的本文公开的CDR序列。另外,基于本文公开的特定CDR序列,提供了共有CDR序列的序列基序,并且还提供了包含由与已知的人或其他哺乳动物或禽框架区组合的由这些基序定义的CDR序列的抗体。此外,指定了VL和VH区的每个CDR的可能的规范结构,并且还提供了包含与已知的人或其他哺乳动物或禽框架区组合的属于公开的结构基序的CDR的抗体。

[0062] 本发明的CDR序列(包括图11-22中公开的CDR和由本文公开的序列基序定义的CDR两者)可以根据本领域熟知的方法与其他免疫球蛋白序列组合以产生具有由本发明的CDR确定的抗原结合特异性的免疫球蛋白分子。

[0063] 在一些实施方案中,本发明的CDR与来自其他抗体的框架区(FR)和恒定域(CH或CL)序列组合。例如,尽管本文公开的一些CDR衍生自鸡B细胞并具有鸡FR和恒定域序列,但它们可以与人或哺乳动物或禽FR和恒定域序列重组以产生人源化或其他重组抗体。类似地,本文公开的衍生自美洲驼的CDR可以与人或哺乳动物恒定域序列重组以产生人源化或其他重组抗体。此类重组抗体的产生是本领域技术人员所熟知的,并且仅需要常规实验。

[0064] 可以根据其预期用途选择在此类重组抗体中包括的恒定区的类型。例如,如果抗体意图用于治疗性用途以靶向表达Kv1.3的细胞以进行破坏,则可以使用IgG亚型的重链恒定域(即Fc区)。如果抗体仅意图作为用于标记细胞的试剂(例如,用于荧光激活细胞分选(FACS)),则完整抗体、抗原结合片段(Fab)、单链可变片段(scFV)、单域抗体(sdAb)或者甚至非抗体免疫球蛋白分子(例如MHC受体胞外域)可以与本发明的CDR一起使用。

[0065] 可以独立地选择本发明的CDR,使得给定可变轻(VL)链或可变重(VH)链的CDR1、

CDR2和CDR3序列可以选自不同的初始VL和VH链、选自不同的VL和VH CDR基序,或选自所公开的CDR和基序的组合。然而,轻链CDR的序列应选自公开的VL CDR或VL CDR基序,而重链CDR的序列应选自公开的VH CDR或VH CDR基序。类似地,适当地对于VL或VH链,CDR1区的序列应选自公开的CDR1或CDR1基序序列,CDR2区的序列应选自公开的CDR2或CDR2基序序列,而CDR3区的序列应选自公开的CDR3或CDR3基序序列。

[0066] 在某些方面,本发明提供了Kv1.3结合抗体或其抗原结合部分,其具有图11-22中描述的任何一种抗体的结合特异性。

[0067] 在某些方面,本发明提供了Kv1.3结合抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体或其抗原结合部分包含与来自图13、17或21的抗体的VH链90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的VH链和与来自图11、15或19的抗体的VL链90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的VL链。

[0068] 在某些方面,本发明提供了Kv1.3结合抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体或其抗原结合部分包含来自图13、17或21的抗体的VH链和来自图11、15或19的抗体的VL链。

[0069] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合部分是完全人源化的并且重组产生的。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合部分不是天然存在的。在某些实施方案中,抗体包含如从用Kv1.3免疫的动物分离的VH和VL链的配对。在某些实施方案中,抗体包含如从用Kv1.3免疫的动物分离的VH和VL链的配对,其中抗体的Fc部分不是如从免疫的动物分离的VH和VL链的配对的同种型或部分。在某些实施方案中,抗体包含VH和VL链的配对,其中VH或VL可以单独地从经免疫的动物中分离。在一些实施方案中,抗体包含一个克隆细胞系的VH链或VH链的CDR,以及另一个克隆细胞系的VL或CDR。在某些实施方案中,抗体包含如从用通过取代一个或多个氨基酸修饰的Kv1.3免疫的动物分离的VH和VL链的配对。

[0070] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合部分包含VH,其包含来自图13、17或21的抗体的CDR1、CDR2和CDR3。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合部分包含VL,其包含来自图11、15或19的抗体的CDR1、CDR2和CDR3。

[0071] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合部分包含VH,并且还包含互补VL,所述VH包含来自图13、17或21的抗体的CDR1、CDR2和CDR3,所述VL包含来自图11、15或19的抗体CDR1、CDR2、CDR3。

[0072] 在某些方面,本发明提供了药物组合物,其包含本发明的任何一种抗体或其抗原结合部分或其任意组合。在某些方面,本发明提供了药物组合物,其包括本发明的任何一种抗体或其抗原结合部分和药学上可接受的载体。

[0073] 比较抗体的序列及其对Kv1.3的亲力和抑制,技术人员可以容易地确定序列同一性,比较序列长度并确定序列同一性百分比和/或变化,包括VH和VL序列中的序列同一性百分比和/或变化,包括CDR中的序列同一性百分比和/或变化,以及在保持Kv1.3的亲力和抑制的情况下可以容许的取代的特定位置和类型。

[0074] 在某些实施方案中,本发明提供与本文所述抗体的VH和VL氨基酸序列99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%、80%相同的抗体,其中所述抗体结合并抑制Kv1.3。在某些实施方案中,本发明提供与本文所述抗体的VH的CDR1、2和/或3和VL的CDR1、2和/或3氨基酸序列99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、

82%、81%、80%相同的抗体,其中所述抗体结合并抑制Kv1.3。

[0075] 使用抗Kv1.3抗体的方法

[0076] 本发明的抗Kv1.3抗体可以用于免疫亲和纯化、免疫组织化学和免疫疗法的标准方法,但具体应用于表达Kv1.3蛋白的细胞和组织。

[0077] 例如,本发明的抗Kv1.3抗体可以用于从混合细胞群中分离表达Kv1.3的细胞,所述混合细胞群仅包括表达Kv1.3的细胞的级份。例如,可以使单独的细胞经受使用荧光标记的抗Kv1.3抗体的技术例如FAC或使用固定化的抗Kv1.3抗体的免疫亲和纯化。

[0078] 类似地,固定化的抗Kv1.3抗体可以用于从衍生自表达Kv1.3的细胞的裂解物中纯化Kv1.3蛋白。可以在保持与细胞膜片段结合的情况下或在例如用各种去污剂处理后从生物膜解离之后纯化Kv1.3蛋白。另外,Kv1.3可以在与特异性结合Kv1.3的小分子或生物制剂(例如,肽、mAb等)结合的情况下以此类方式纯化。此类纯化的Kv1.3制剂将在用于确定关于具有和不具有结合分子的这两种情况下的Kv1.3的结构信息的技术(例如,结晶学、cryoEM)中具有效用。此外,此类制剂将在筛选与Kv1.3特异性相互作用的分子的各种文库(例如,小分子、mAb)中具有效用。

[0079] 或者,可以使用本发明的抗Kv1.3抗体进行免疫组织化学,以鉴定表达Kv1.3的细胞或组织和/或定量此类细胞中的Kv1.3表达。

[0080] 此外,本发明的抗Kv1.3抗体可以在治疗上用于靶向表达Kv1.3的细胞,特别是T<sub>EM</sub>细胞,和/或用于抑制Kv1.3在此类细胞中的功能。另外,与Kv1.3结合并且可以抑制或可以不抑制Kv1.3活性的本发明的抗Kv1.3抗体可以经由细胞毒性Fc介导的效应器功能,例如抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)消耗靶Kv1.3表达细胞,特别是T<sub>EM</sub>细胞。此外,与抑制Kv1.3功能的部分缀合的本发明的抗Kv1.3抗体也可以治疗性使用。本发明的抗Kv1.3抗体的抗体-药物缀合物也可以用于将治疗药物递送至表达Kv1.3的细胞。

[0081] 在自身免疫性疾病中,特异性自身反应性T细胞可以经历分化成长期活化的记忆T细胞,其通过迁移到发炎组织并且分泌细胞因子而促进发病机制。尽管不受任何作用机制的束缚,但在一些实施方案中,阻断Kv1.3活性可以改变响应抗原的T细胞的表型并将T细胞转化为有益于治疗自身免疫性疾病的抑制状态。在慢性自身免疫性疾病中,存在T效应记忆(TEM)细胞的克隆扩增。已经表明,在具有Kv1.3功能丧失突变的细胞中,T中央记忆(TCM)细胞无法分化成T效应记忆(TEM)细胞,并且TEM细胞甚至重回为TCM细胞。(Hu et al. (2012), J. of Biological Chemistry, 287 (2), 1261-68)。因此,在一些实施方案中,抗体或其抗原结合部分抑制Kv1.3功能以治疗自身免疫性免疫病症。因此,本发明的Kv1.3结合抗体或其抗原结合部分可以用于预防或治疗受试者的自身免疫性病症的方法中。该方法包括向受试者施用治疗有效量的如本文所述的抗体或其抗原结合部分。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合部分抑制Kv1.3钾通道。在一些实施方案中,受试者的自身反应性效应记忆T细胞得以耗尽或减少。在一些实施方案中,怀疑受试者患有自身免疫性疾病或针对患有自身免疫性疾病评估受试者。在一些实施方案中,受试者是人。

[0082] 在一些实施方案中,自身免疫性病症是多发性硬化、重症肌无力、自身免疫性神经病、吉兰-巴雷综合征、自身免疫性葡萄膜炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎、原发性胆汁性肝硬化、自身免疫性肝炎、自身免疫性血小板减少、1型糖尿病、艾迪生病、格雷夫斯病、桥本甲状

腺炎、自身免疫性睾丸炎、白塞病、类风湿性关节炎、与牙周病相关的骨吸收、系统性红斑狼疮、硬皮病多肌炎, 皮炎、寻常型天疱疮、脊柱关节病、强直性脊柱炎或干燥综合征

[0083] 将组织从供体移植到接受体后可以发生移植物抗宿主病 (GvHD)。GvHD由来自供体器官的受体反应性T细胞引起, 其识别并破坏MHC错配的宿主组织。因此, 本发明的Kv1.3结合抗体或其抗原结合部分可以用于预防或治疗受试者中的GvHD的方法中。该方法包括向受试者施用治疗有效量的如本文所述的抗体或其抗原结合部分。在一些实施方案中, 抗体或其抗原结合部分抑制Kv1.3钾通道。在一些实施方案中, 受试者的自身反应性效应记忆T细胞得以耗尽或减少。在一些实施方案中, 受试者已接受来自非遗传相同供体的器官移植物。在一些实施方案中, 受试者是人。

[0084] 在一些实施方案中, 本发明的Kv1.3结合抗体或其抗原结合部分可以用于抑制受试者中Kv1.3钾通道的方法中。该方法包括以有效抑制Kv1.3钾通道的量向受试者施用本文所述的抗体。在一些实施方案中, 受试者是人。

[0085] 编码抗Kv1.3抗体的核酸分子

[0086] 本发明还提供了编码本发明的抗Kv1.3抗体的核酸分子。可以使用通用遗传密码的标准表设计此类核酸, 以选择将编码期望氨基酸序列的密码子, 或者可以使用反映不同生物体特征性的密码子偏倚的专门密码子表。因此, 例如, 为了优化本发明的抗Kv1.3抗体在CHO细胞中的表达, 可以使用针对CHO细胞优化的密码子表设计编码期望抗体的核酸。

[0087] 编码本发明的抗Kv1.3抗体的核酸可以包括在本领域已知的极其多种载体中, 所述载体包括克隆载体 (例如, 细菌或哺乳动物克隆载体)、转化载体 (例如, 同源重组、病毒整合或自主复制载体) 和表达载体 (例如, 高拷贝数、诱导型或组成型哺乳动物表达载体)。

[0088] 表达抗Kv1.3抗体的细胞

[0089] 还提供了表达编码本发明的抗Kv1.3抗体的异源序列的宿主细胞。此类宿主细胞可以用于本发明的抗Kv1.3抗体的商业生产, 并且可以通过用上述表达载体转化适当的宿主细胞来产生。

[0090] 在一些实施方案中, 本发明提供了表达本发明的抗Kv1.3抗体的哺乳动物细胞, 包括CHO细胞。然而, 本领域技术人员可以在多种宿主细胞中表达抗体, 所述宿主细胞包括细菌、酵母、昆虫和哺乳动物系统。参见例如Verma et al. (1998), *J. Immunol. Methods* 216 (1-2): 165-81, 通过引入整体并入本文。

[0091] 药物组合物

[0092] 在某些方面, 本发明提供了包含本文所述抗体的药物组合物, 其中所述组合物用于治疗目的, 例如但不限于治疗和/或预防自身免疫性疾病或GvHD。在某些方面, 本发明提供了药物组合物, 其包含本文所述的抗体与用于治疗 and/或预防自身免疫性疾病或GvHD的任何其他适合的抗体或组合物的组合。在某些实施方案中, 药物组合物包含一种或多种编码本文所述抗体的核酸。在某些实施方案中, 这些核酸可以通过用于表达抗体的任何适合的载体表达。

[0093] 制备药物组合物的各种方法是本领域已知的并且是本发明所考虑的。在一些实施方案中, 组合物包括适用于生物分子例如本文所述的抗体的赋形剂。在一些实施方案中, 可以在特定细胞系和条件下产生抗体, 以便控制抗体的糖基化。

[0094] 在某些方面, 本发明提供了本文所述的可以配制为组合物 (例如, 药物组合物) 的

抗体或其抗原结合部分。适合的组合物可以包含溶解或分散在药学上可接受的载体(例如水性介质)中的抗体或其抗原结合部分。该组合物可以是无菌的,并且可以通过静脉内,例如推注或通过连续输注施用。施用可以通过肌肉内、腹膜内、脑脊髓内、皮下、关节内、滑膜内、鞘内、口服局部或通过吸入进行。抗体或其抗原结合部分也可以配制成适于局部施用至皮肤或粘膜的组合物。此类组合物可以采用液体、软膏剂、乳膏、凝胶和糊剂的形式。标准制剂技术可以用于制备适合的组合物。

[0095] 本文所述的抗体或其抗原结合部分可以施用于患有自身免疫性疾病和/或患有移植抗宿主病的受试者,并且凭借与表达Kv1.3细胞的T细胞的表面结合的抗体或其抗原结合部分而用于杀死T细胞。

[0096] 适合的剂量范围可以取决于抗体或其抗原结合部分以及制剂的性质和施用的途径。本领域技术人员无需过度实验即可以确定最佳剂量。

### 实施例

[0097] Kv1.3免疫原和B细胞和噬菌体筛选试剂的制备

[0098] 优化编码人Kv1.3蛋白的基因(图1A;SEQ ID NO:1)用于在嗜热四膜虫(*Tetrahymena thermophila*)中表达。通过在Kv1.3C-末端掺入编码双亲和性FLAG(DYKDDDDK)和10X His标签的核苷酸进一步修饰优化的Kv1.3基因(图1B;SEQ ID NO:2)。合成优化的Kv1.3基因并克隆到表达盒中,所述表达盒将Kv1.3基因表达的控制置于诱导型嗜热四膜虫金属硫蛋白启动子下(图2)。随后将含有Kv1.3基因的完整表达盒克隆到嗜热四膜虫高拷贝数核糖体DNA表达载体pTRAS1(图2;美国专利号8,664,374)中。用含有Kv1.3的pTRAS1转化交配四膜虫细胞,并在含有转化体选择剂的培养基中选择存活的转化体。选择在诱导基因表达后表达Kv1.3的细胞用于制备Kv1.3免疫原。培养转化体四膜虫细胞的培养物(>1L)并诱导表达Kv1.3,收获并通过微流化裂解。通过离心收集膜级分,并且然后冷冻用于随后的纯化。

[0099] 从含有Fos-胆碱(Fos-Choline)去污剂的缓冲液中的四膜虫膜中提取Kv1.3,并且随后通过NiNTA色谱法纯化。将纯化的Kv1.3重建为由10mg/ml磷脂酰胆碱组成的脂质体,以产生Kv1.3蛋白脂质体。图3显示了Kv1.3蛋白脂质体免疫原样品的SDS-PAGE和Western分析。

[0100] 抗体生成

[0101] 鸡衍生的抗体:Kv1.3蛋白脂质体用于免疫鸡,并且用于通过加强增加免疫应答。在血清中增加的特异性抗Kv1.3抗体滴度的时段后,处死动物并收获脾细胞。表1显示了抗Kv1.3抗体滴度结果。通过比较用Kv1.3或非相关离子通道Nav1.8包被的孔中的ELISA信号来确定特异性。另外,图4显示了使用经Kv1.3包被的磁珠通过FACS分析在血清中的特异性抗Kv1.3抗体滴度。使用来自用非相关离子通道即Nav1.8免疫的动物衍生的血清的Kv1.3磁珠,通过FACS未观察到特异性信号。使用GEM测定(美国专利号8,030,095和美国专利号8,415,173)通过荧光鉴定产生抗Kv1.3抗体的脾B细胞,所述GEM测定掺入Kv1.3蛋白脂质体或附着于磁珠的Kv1.3(图5A和B)。

[0102] 表1:经免疫的鸡中的抗Kv1.3抗体滴度。

[0103]

稀释度	Kv1.3		Nav1.8	
	免疫前	最终抽取	免疫前	最终抽取
50	0.242	3.354	0.066	0.444
250	0.063	2.433	0.051	0.141
1250	0.051	1.587	0.057	0.081
6250	0.046	0.621	0.048	0.058
31250	0.038	0.155	0.05	0.05
156250	0.045	0.074	0.049	0.06
781250	0.035	0.051	0.054	0.049

[0104] 通过PCR扩增来自通过GEM测定鉴定的单独B细胞的可变轻和重链基因,并且以与人IgG1Fc的融合物克隆到哺乳动物表达载体中,以产生编码二价scFv-Fc抗体的基因(图6)。抗体在HEK293细胞中表达,并且通过ELISA测定上清液以证实与非相关离子通道(Nav1.8)相比与Kv1.3的特异性结合。下表2显示了使用Kv1.3蛋白脂质体在GEM测定中鉴定的克隆的scFv-Fc抗体的ELISA结果。下表3显示了使用Kv1.3磁珠在GEM测定中鉴定的克隆的scFv-Fc抗体的ELISA结果。

[0105] 表2:衍生自鸡的抗Kv1.3抗体的ELISA分析

[0106]

	19724p1.A1		19724p1.A11		19724p1.A5		19724p1.A9		19724p1.B1		19724p1.B11	
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8
50	1.231	0.072	1.209	0.07	1.08	0.054	1.24	0.074	1.119	0.068	1.134	0.074
250	1.496	0.052	1.482	0.05	1.169	0.056	1.486	0.053	1.375	0.064	1.235	0.057
1250	1.216	0.075	1.277	0.059	1.195	0.066	1.404	0.067	1.382	0.065	1.109	0.067
6250	1.101	0.055	1.156	0.067	1.224	0.061	0.94	0.064	1.308	0.057	0.95	0.05
	19724p1.C12		19724p1.C4		19724p1.D11		19724p1.D2		19724p1.D8		19724p1.E2	
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8
50	1.337	0.06	1.096	0.06	1.181	0.059	0.86	0.062	1.053	0.065	1.278	0.061
250	0.103	0.053	1.029	0.07	1.116	0.063	1.004	0.047	1.207	0.048	1.43	0.047
1250	1.526	0.083	1.203	0.056	1.078	0.072	0.904	0.06	1.066	0.062	1.533	0.053
6250	1.075	0.051	1.105	0.051	0.869	0.057	0.638	0.074	0.693	0.058	1.283	0.062
	19724p1.E3		19724p1.F3		19724p1.F6		19724p1.F7		19724p1.F8		19724p1.F9	
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8
50	1.029	0.061	1.199	0.077	1.385	0.072	1.357	0.08	1.802	1.435	1.399	0.065
250	1.349	0.053	1.268	0.054	1.321	0.066	1.372	0.064	1.487	1.007	1.359	0.05
1250	1.22	0.051	1.194	0.053	1.512	0.067	1.358	0.061	1.113	0.436	1.392	0.062
6250	0.83	0.068	0.945	0.075	1.239	0.068	1.353	0.068	0.523	0.183	1.317	0.072
	19724p1.G6		19724p1.H12		19724p1.H2		19724p1.H4		19724p1.H7		19724p1.B5 (阴性)	
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8
50	1.64	0.059	1.291	0.077	1.328	0.064	1.344	0.062	1.358	0.071	0.078	0.053
250	1.54	0.056	1.424	0.09	1.466	0.085	1.253	0.066	1.267	0.065	0.082	0.067
1250	1.307	0.051	1.167	0.081	1.397	0.083	1.122	0.077	1.149	0.08	0.073	0.08
6250	1.155	0.062	1.213	0.083	1.202	0.086	0.811	0.094	1.009	0.083	0.088	0.084
	19724p1.E6 (阴性)		模拟品									
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8								
50	0.077	0.06	0.071	0.04								
250	0.074	0.074	0.071	0.053								
1250	0.077	0.077	0.066	0.067								
6250	0.084	0.084	0.09	0.081								

[0107] 表3:衍生自鸡的抗Kv1.3抗体的ELISA分析

[0108]

	<b>19724p2.A2</b>		<b>19724p2.A3</b>		<b>19724p2.A5</b>		<b>19724p2.A7</b>		<b>19724p2.B5</b>		<b>19724p2.C4</b>	
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8
50	0.621	0.039	0.972	0.058	0.693	0.062	0.795	0.042	0.577	0.07	0.876	0.052
250	0.459	0.051	0.945	0.053	0.747	0.059	0.781	0.051	0.361	0.052	0.829	0.051
1250	0.219	0.055	0.931	0.051	0.584	0.055	0.568	0.047	0.149	0.051	0.828	0.044
6250	0.083	0.054	0.671	0.053	0.29	0.055	0.278	0.056	0.061	0.053	0.412	0.065
	<b>19724p2.D1</b>		<b>19724p2.D2</b>		<b>19724p2.D9</b>		<b>19724p2.E6</b>		<b>19724p2.F7</b>		<b>19724p2.G9</b>	
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8
50	0.951	0.055	0.77	0.056	0.813	0.056	0.878	0.071	0.701	0.061	0.955	0.059
250	0.853	0.053	0.501	0.054	0.974	0.063	0.921	0.063	0.63	0.061	0.994	0.073
1250	0.914	0.046	0.254	0.051	0.753	0.065	0.934	0.063	0.501	0.054	0.919	0.074
6250	0.671	0.053	0.132	0.056	0.557	0.06	0.59	0.063	0.303	0.066	0.638	0.07
	<b>19724p2.H10</b>		<b>19724p2.H12</b>		<b>19724p2.H4</b>		<b>19724p2.H6</b>					
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8				
50	0.853	0.049	0.542	0.046	0.598	0.057	0.912	0.065				
250	0.882	0.061	0.477	0.049	0.506	0.063	0.966	0.059				
1250	0.893	0.064	0.363	0.062	0.285	0.05	0.99	0.054				
6250	0.173	0.051	0.146	0.052	0.136	0.064	0.77	0.052				

[0109] 美洲驼源抗体:用编码人Kv1.3的DNA免疫美洲驼,并用Kv1.3蛋白脂质体加强。一旦检测到特异性抗Kv1.3抗体滴度,就构建噬菌体文库并使用Kv1.3磁珠进行噬菌体淘选。对阳性克隆进行测序并通过ELISA证实纯化的scFv-Fc抗体特异性结合Kv1.3。

[0110] 抗Kv1.3抗体的分析

[0111] 对抗Kv1.3抗体克隆测试 (i) 它们结合人T细胞系上的天然Kv1.3的能力,和/或 (ii) 它们调节Kv1.3活性的功能性的能力(表4和7)。

[0112] 人白血病T细胞系Jurkat在细胞表面上表达Kv1.3(Gasiorowska et al. (2012), Cell Mol Biol Lett.17:559-570)。通过FACS分析GEM发现的每种抗体结合Jurkat细胞的能力。表4显示结合六个克隆(19724p1.A11,19724p1.D8,19724p1.H7,19724p1.E6,19724p2.A3,19724p2.G9)以比与其他抗体相关的背景水平(平均信号约193)显著更高的信号(平均信号约3,370)结合Jurkat细胞。另外,三个克隆(19724p2.D2,19724p2.D9和19724p2.E6)显示略高于背景水平的信号(平均信号约314)。在对于Jurkat结合呈FACS阳性的抗体中,一个克隆(19724p1.E6)通过ELISA未显示与Kv1.3的结合。该结果可以表明该抗体识别构象依赖性Kv1.3表位,该表位维持在用于初始GEM选择的Kv1.3蛋白脂质体中和Jurkat细胞表面上存在的天然Kv1.3通道中,但在ELISA程序过程中丢失,推测是在Kv1.3与ELISA板的孔结合时。

[0113] 表4:衍生自鸡的抗Kv1.3抗体的抗体ELISA和功能分析

[0114]

抗 Kv1.3 抗体克隆	Kv1.3 ELISA	Nav1.8 ELISA (阴性)	Jurkat 结合 (MFI)	% Kv1.3 抑制 (400nM)		
				平均值	SEM (+/-)	n
19724p1.A1	阳性	阴性	198	50.28	13.02	8
19724p1.A11	阳性	阴性	9401	56.51	10.1	6
19724p1.A5	阳性	阴性	181	0	0	3
19724p1.A9	阳性	阴性	208	0	0	2
19724p1.B1	阳性	阴性	180	0	0	3
19724p1.B11	阳性	阴性	185	0	0	2
19724p1.C12	阳性	阴性	191	0	0	4
19724p1.C4	阳性	阴性	187	0	0	2
19724p1.D11	阳性	阴性	180	0	0	2
19724p1.D2	阳性	阴性	177	0	0	2
19724p1.D8	阳性	阴性	1757	54.47	1.52	3
19724p1.E2	阳性	阴性	202	0	0	2
19724p1.E3	阳性	阴性	205	0	0	2
19724p1.F3	阳性	阴性	180	0	0	2
19724p1.F6	阳性	阴性	181	0	0	2
19724p1.F7	阳性	阴性	185	0	0	2
19724p1.F8	阳性	阳性	174	44.34	12.12	3
19724p1.F9	阳性	阴性	206	0	0	2
19724p1.G6	阳性	阴性	193	0	0	2
19724p1.H12	阳性	阴性	198	0	0	2
19724p1.H2	阳性	阴性	209	0	0	2
19724p1.H4	阳性	阴性	222	45.99	12.38	6
19724p1.H7	阳性	阴性	1168	47.32	12.42	2
19724p1.E6	阴性	阴性	4776	82.28	10.45	12
19724p2.A2	阳性	阴性	205	0	0	2
19724p2.A3	阳性	阴性	1960	45.02	3.5	2
19724p2.A5	阳性	阴性	171	0	0	2
19724p2.A7	阳性	阴性	170	0	0	2
19724p2.B5	阳性	阴性	183	0	0	2
19724p2.C4	阳性	阴性	190	0	0	2
19724p2.D1	阳性	阴性	188	0	0	2
19724p2.D2	阳性	阴性	264	0	0	2
19724p2.D9	阳性	阴性	298	0	0	2
19724p2.E6	阳性	阴性	380	0	0	2
19724p2.F7	阳性	阴性	180	0	0	2
19724p2.G9	阳性	阴性	1157	75.35	11.65	11
19724p2.H10	阳性	阴性	172	0	0	2
19724p2.H12	阳性	阴性	174	0	0	2
19724p2.H4	阳性	阴性	172	0	0	2
19724p2.H6	阳性	阴性	177	0	0	2

[0115] 对抗Kv1.3抗体测试对在L929人成纤维细胞中瞬时表达的人Kv1.3通道的抑制。在转染后24小时将细胞铺在包被有聚-L-赖氨酸的盖玻片上,用于使用EPC-10HEKA放大器的全细胞膜片钳。在正常林格(Ringers)溶液中记录对照电流,该林格溶液含有:160mM NaCl、4.5mM KCl、2mM CaCl<sub>2</sub>、1mM MgCl<sub>2</sub>、10mM HEPES (调节至pH 7.4和290-310mOsm)。将贴片移液管(patchpipette)从钠钙玻璃(soda lime glass) (微血细胞比容管, Kimble Chase, Rochester, NY) 中拉出至2-3MΩ的电阻,并填充内部移液管溶液,其含有:45mM KF、2mM MgCl<sub>2</sub>、10mM HEPES、10mM EGTA (pH 7.2, 290-310mOsm)。使用去极化脉冲记录电流,每30秒施加40mV,持续200毫秒。在浴灌流(bathperfusion)之前立即将抗体在正常林格溶液中新鲜稀释。在记录期间连续监测细胞电容、细胞表面积的直接测量和通路电阻(access resistance),以确保最小的电流损耗(rundown)。图7显示十个抗体克隆(鸡抗体p1A11、p1D8、p1H7、P1E6、p2A3、p2G9、p1A1、p1F8、p1H4和美洲驼抗体L1A3)功能性抑制Kv1.3活性。剂量-响应分析显示,最有力的抗体具有6nM (p1E6)、46nM (p2G9) 和109nM (L1A3) 的IC<sub>50</sub>值(图

8)。另外,抗体已显示出相对于其他Kv家族成员的对Kv1.3的选择性抑制(图9)和对活化的猕猴T细胞中Kv1.3的抑制,表明它们将表现出相似的针对人T细胞中的Kv1.3的活性(图10)。

[0116] 抗体序列分析

[0117] 衍生自鸡的抗体:将产生潜在有用的抗Kv1.3抗体的B细胞克隆进行DNA测序,并推导出轻链和重链可变域的相应氨基酸序列。公开了源自上述GEM筛选的40种抗体的序列。

[0118] 可变轻链序列

[0119] VL序列比对。上述所有VL序列的比对显示在图11A-11B中。该图表明三个CDR区(粗体,下划线)的大致位置和对应于每个序列的SEQ ID NO。

[0120] 独特VL CDR序列。图11A-11B的VL的独特CDR序列的比对显示在图12中。在40个VL序列中,有27个独特CDR1序列、19个独特CDR2序列和24个独特CDR3序列,如图12中所示。

[0121] VL CDR共有序列。基于图12中公开的序列,以及天然存在的氨基酸的结构/功能特征,可以确定VL CDR的共有序列。

[0122] 一个共有序列是VL CDR1基序1:

[0123]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}$  (SEQ ID NO:113)

[0124] 其中 $X_1$ 是S、T或C; $X_2$ 是G、A、V、L、I、M、R、K或H; $X_3$ 是G、A、V、L、I、M、D、E、S、T或C; $X_4$ 是Y、F、W、R、K、H、D、E、G、A、S、T、C或不存在; $X_5$ 是N、Q、S、T、C、Y、F、W或不存在; $X_6$ 是Y、F、W、V、L、I、M、A、G、D、E或不存在; $X_7$ 是A、G、V、L、I、M、S、T、C、D、E或不存在; $X_8$ 是S、T、C、G、A、V、L、I、M或不存在; $X_9$ 是G、A、V、L、I、M、S、T、C、D、E、R、K、H、W、F、Y或不存在; $X_{10}$ 是S、T、C、Y、F、W、N、Q、G、A、V、L、I、M、R、K、H或不存在; $X_{11}$ 是Y、F、W、G、A、V、L、I、M、T、S、C、N、Q或不存在; $X_{12}$ 是Y、F或W以及 $X_{13}$ 是G、A、V、L、I、M、S、T或C。在一些实施方案中, $X_1$ 限于S;和/或 $X_2$ 限于G或R;和/或 $X_3$ 限于G、D或S;和/或 $X_4$ 限于Y、R、D、G、S或不存在;和/或 $X_5$ 限于N、S、Y或不存在;和/或 $X_6$ 限于Y、V、D或不存在;和/或 $X_7$ 限于A、S、D或不存在;和/或 $X_8$ 限于S、G或不存在;和/或 $X_9$ 限于G、S、D、R、W或不存在;和/或 $X_{10}$ 限于S、Y、N、G、R或不存在;和/或 $X_{11}$ 限于Y、G、T、S、F、N或不存在;和/或 $X_{12}$ 限于Y或F;和/或 $X_{13}$ 限于G或S。在一些实施方案中,子序列 $X_1X_2X_3$ 限于S G G;在一些实施方案中,子序列 $X_1X_2X_3$ 限于S G S;在一些实施方案中,子序列 $X_1X_2X_3$ 限于S R D;以及在一些实施方案中,子序列 $X_1X_2X_3$ 限于S G D。

[0125] 特别注意到SEQ ID NO:3、21、22、23、24、37、38、39和42的VL CDR1序列衍生自与图11A-11B中其他抗体不同的抑制Kv1.3功能的抗体,另外的共有序列是VL CDR1基序2:

[0126]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}$  (SEQ ID NO:114)

[0127] 其中 $X_1$ 是S、T或C; $X_2$ 是G、A、V、L、I或M; $X_3$ 是G、A、V、L、I、M、S、T或C; $X_4$ 是Y、F、W或不存在; $X_5$ 是S、T、C或不存在; $X_6$ 是D、E或不存在; $X_7$ 是D、E、S、T、C或不存在; $X_8$ 是G、V、L、I、M、A、S、T或C; $X_9$ 是G、V、L、I、M、A、S、T或C; $X_{10}$ 是Y、F、W、S、T、C、K、R或H; $X_{11}$ 是Y、F、W、G、V、L、I、M或A; $X_{12}$ 是Y、F或W以及 $X_{13}$ 是G、V、L、I、M或A。在一些实施方案中, $X_1$ 限于S;和/或 $X_2$ 限于G;和/或 $X_3$ 限于G或S;和/或 $X_4$ 限于Y或不存在;和/或 $X_5$ 限于S或不存在;和/或 $X_6$ 限于D或不存在;和/或 $X_7$ 限于D、S或不存在;和/或 $X_8$ 限于G、S或不存在;和/或 $X_9$ 限于S、G或V;和/或 $X_{10}$ 限于Y、S或R;和/或 $X_{11}$ 限于Y、F或G;和/或 $X_{12}$ 限于Y或F;和/或 $X_{13}$ 限于G。在一些实施方案中,子序列 $X_1X_2X_3$ 限于S G G;以及在一些实施方案中,子序列 $X_1X_2X_3$ 限于S G S。

[0128] 特别注意到SEQ ID NO:21、22、23、24、39和42的VL CDR1序列衍生自与图11A-11B

中其他抗体不同的对Jurkat细胞结合呈FACS阳性的抗体,另外的共有序列是VL CDR1基序3:

[0129]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}$  (SEQ ID NO:115)

[0130] 其中 $X_1$ 是S、T或C; $X_2$ 是G、A、V、I、L或M; $X_3$ 是G、A、V、I、L或M; $X_4$ 是S、T、C、Y、F或W; $X_5$ 是S、T、C、G、A、V、I、L或M; $X_6$ 是V、A、I、L、M、G、D、E或不存在; $X_7$ 是S、T、C、D、E或不存在; $X_8$ 是G、A、V、I、L、M或不存在; $X_9$ 是S、T、C或不存在; $X_{10}$ 是Y、F、W或不存在; $X_{11}$ 是F、Y、W或不存在; $X_{12}$ 是F、Y或W以及 $X_{13}$ 是G、V、L、I、M或A。在一些实施方案中, $X_1$ 限于S;和/或 $X_2$ 限于G;和/或 $X_3$ 限于G;和/或 $X_4$ 限于S或Y;和/或 $X_5$ 限于S或G;和/或 $X_6$ 限于D、V或不存在;和/或 $X_7$ 限于S、D或不存在;和/或 $X_8$ 限于G或不存在;和/或 $X_9$ 限于S或不存在;和/或 $X_{10}$ 限于Y或不存在;和/或 $X_{11}$ 限于F、Y或不存在;和/或 $X_{12}$ 限于F或Y;和/或 $X_{13}$ 限于G。在一些实施方案中子序列 $X_1X_2X_3$ 限于S G G。

[0131] 特别注意到SEQ ID NO:42的VL CDR1序列衍生自与图11A-11B中其他抗体不同的可以识别构象Kv1.3表位的抗体,另外的共有序列是VL CDR1基序4:

[0132]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}$  (SEQ ID NO:116)

[0133] 其中 $X_1$ 是S、T或C; $X_2$ 是G、A、V、I、L或M; $X_3$ 是G、A、V、I、L或M; $X_4$ 是Y、F或W; $X_5$ 是S、T或C; $X_6$ 是D或E; $X_7$ 是D或E; $X_8$ 是G、A、V、I、L或M; $X_9$ 是S、T或C; $X_{10}$ 是Y、F或W; $X_{11}$ 是Y、F或W; $X_{12}$ 是Y、F或W;以及 $X_{13}$ 是G、A、V、I、L或M。在一些实施方案中 $X_1$ 限于S;和/或 $X_2$ 限于G;和/或 $X_3$ 限于G;和/或 $X_4$ 限于Y;和/或 $X_5$ 限于S;和/或 $X_6$ 限于D;和/或 $X_7$ 限于D;和/或 $X_8$ 限于G;和/或 $X_9$ 限于S;和/或 $X_{10}$ 限于Y;和/或 $X_{11}$ 限于Y;和/或 $X_{12}$ 限于Y;和/或 $X_{13}$ 限于G。

[0134] 对于VL CDR2,一个共有序列是VL CDR2基序1:

[0135]  $Y_1Y_2Y_3Y_4Y_5Y_6Y_7$  (SEQ ID NO:117)

[0136] 其中 $Y_1$ 是D、E、N、Q、Y、F、W、S、T、C、R、K或H; $Y_2$ 是N、Q、D、E、S、T或C;以及 $Y_3$ 是T、S、C、N、Q、D、E、K、R或H; $Y_4$ 是N、Q、K、R、H、E或D; $Y_5$ 是R、K或H; $Y_6$ 是P以及 $Y_7$ 是S、T或C。在一些实施方案中, $Y_1$ 限于D、N、E、Y、S、W、R或H;和/或 $Y_2$ 限于N、D或S;和/或 $Y_3$ 限于T、N、D、K或S;和/或 $Y_4$ 限于N、K、Q或E;和/或 $Y_5$ 限于R或K;和/或 $Y_6$ 限于P;和/或 $Y_7$ 限于S。

[0137] 特别注意到SEQ ID NO:3、21、22、23、24、37、38、39和42的VL CDR2序列衍生自与图11A-11B中其他抗体不同的抑制Kv1.3功能的抗体,另外的共有序列是VL CDR2基序2:

[0138]  $Y_1Y_2Y_3Y_4Y_5Y_6Y_7$  (SEQ ID NO:118)

[0139] 其中 $Y_1$ 是D、E、Y、F或W; $Y_2$ 是N、Q、S、T或C; $Y_3$ 是T、S、C、D、E、N或Q; $Y_4$ 是K、R、H、N或Q; $Y_5$ 是R、K或H; $Y_6$ 是P以及 $Y_7$ 是S、T或C。在一些实施方案中, $Y_1$ 限于D、E或Y;和/或 $Y_2$ 限于N或S;和/或 $Y_3$ 限于T、D或N;和/或 $Y_4$ 限于K或N;和/或 $Y_5$ 限于R或K;和/或 $Y_6$ 限于P;和/或 $Y_7$ 限于S。

[0140] 特别注意到SEQ ID NO:21、22、23、24、39和42的VL CDR2序列衍生自与图11A-11B中其他抗体不同的对Jurkat细胞结合呈FACS阳性的抗体,另外的共有序列是VL CDR2基序3:

[0141]  $Y_1Y_2Y_3Y_4Y_5Y_6Y_7$  (SEQ ID NO:119)

[0142] 其中 $Y_1$ 是Y、F、W、D或E; $Y_2$ 是N、Q、S、T或C; $Y_3$ 是D、E、N或Q; $Y_4$ 是K、R或H; $Y_5$ 是R、K或H; $Y_6$ 是P; $Y_7$ 是S、T或C。在一些实施方案中, $Y_1$ 限于Y或E;和/或 $Y_2$ 限于N或S;和/或 $Y_3$ 限于D或N;和/或 $Y_4$ 限于K;和/或 $Y_5$ 限于R或K;和/或 $Y_6$ 限于P;和/或 $Y_7$ 限于S。

[0143] 特别注意到SEQ ID NO:42的VL CDR2序列衍生自与图11A-11B中其他抗体不同的可以识别构象Kv1.3表位的抗体,另外的共有序列是VL CDR2基序4:

[0144] Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub> (SEQ ID NO:120)

[0145] 其中Y<sub>1</sub>是E或D;Y<sub>2</sub>是N或Q;Y<sub>3</sub>是N或Q;Y<sub>4</sub>是K、R或H;Y<sub>5</sub>是R、K或H;Y<sub>6</sub>是P;以及Y<sub>7</sub>是S、T或C。在一些实施方案中,Y<sub>1</sub>限于E;和/或Y<sub>2</sub>限于N;和/或Y<sub>3</sub>限于N;和/或Y<sub>4</sub>限于K;和/或Y<sub>5</sub>限于R;和/或Y<sub>6</sub>限于P;和/或Y<sub>7</sub>限于S。

[0146] 对于VL CDR3,一个共有序列是VL CDR3基序1:

[0147] Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub>Z<sub>10</sub> (SEQ ID NO:121)

[0148] 其中Z<sub>1</sub>是G、A、V、L、I、M、C、S或T;Z<sub>2</sub>是G、A、N、Q、V、L、I、M、S、T或C;Z<sub>3</sub>是Y、F、W、E、D、T、S、C、I、V、L、M、A、G、R、K或H;Z<sub>4</sub>是D、E、I、V、L、M、G或A;Z<sub>5</sub>是S、T、C、G、A、D、E、N、Q、I、V、L、M、K、R或H;Z<sub>6</sub>是N、Q、S、T、C、I、V、L、M、G或A;Z<sub>7</sub>是T、S、C、I、V、L、M、A、G、R、K、H、Y、F、W、D、E、N或Q;Z<sub>8</sub>是Y、F、W、N、Q、T、S、C、V、L、I、M、A、D、E、G或不在于;Z<sub>9</sub>是V、L、I、M、A、G、D、E或不在于;以及Z<sub>10</sub>是A、G、V、L、I、M、T、S、C、D、E、Y、F、W或不在于。在一些实施方案中,Z<sub>1</sub>限于G或C;和/或Z<sub>2</sub>限于G、N、A、S或T;和/或Z<sub>3</sub>限于Y、E、W、T、F、I、S、A或R;和/或Z<sub>4</sub>限于D、E或I;和/或Z<sub>5</sub>限于S、G、D、N、I或K;和/或Z<sub>6</sub>限于N、S、T或I;和/或Z<sub>7</sub>限于T、I、G、R、Y、E、S、A或N;和/或Z<sub>8</sub>限于Y、N、T、V、D、G或不在于;和/或Z<sub>9</sub>限于V、D或不在于;和/或Z<sub>10</sub>限于A、T、D、S、Y或不在于。

[0149] 特别注意到SEQ ID NO:3、21、22、23、24、37、38、39和42的VL CDR3序列衍生自与图8A-8B中其他抗体不同的抑制Kv1.3功能的抗体,另外的共有序列是VL CDR3基序2:

[0150] Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub> (SEQ ID NO:122)

[0151] 其中Z<sub>1</sub>是G、A、V、L、I或M;Z<sub>2</sub>是G、A、V、L、I、M、S、T或C;Z<sub>3</sub>是Y、F或W;Z<sub>4</sub>是D或E;Z<sub>5</sub>是S、T或C;Z<sub>6</sub>是S、T、C、N、Q、I、V、L、M、A或G;Z<sub>7</sub>是N、Q、T、S、C、D、E、I、V、L、M、A或G;Z<sub>8</sub>是G、A、V、L、I、M、Y、F或W;以及Z<sub>9</sub>是F、Y、W、A、V、L、I、M、G或不在于。在一些实施方案中,Z<sub>1</sub>限于G;和/或Z<sub>2</sub>限于G、T或S;和/或Z<sub>3</sub>限于Y或W;和/或Z<sub>4</sub>限于D;和/或Z<sub>5</sub>限于S;和/或Z<sub>6</sub>限于S、N或I;和/或Z<sub>7</sub>限于N、T、E或A;和/或Z<sub>8</sub>是G、Y或A;和/或Z<sub>9</sub>限于Y、A或不在于。

[0152] 特别注意到SEQ ID NO:21、22、23、24、39和42的VL CDR3序列衍生自与图11A-11B中其他抗体不同的对Jurkat细胞结合呈FACS阳性的抗体,另外的共有序列是VL CDR3基序3:

[0153] Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub> (SEQ ID NO:123)

[0154] 其中Z<sub>1</sub>是G、A、V、L、I或M;Z<sub>2</sub>是T、S或C;Z<sub>3</sub>是Y、F或W;Z<sub>4</sub>是D或E;Z<sub>5</sub>是S、T或C;Z<sub>6</sub>是I、V、L、M、A、G、S、T或C;Z<sub>7</sub>是E、D、A、G、V、L、I或M;Z<sub>8</sub>是A、G、V、L、I或M;以及Z<sub>9</sub>是Y、F、W或不在于。在一些实施方案中Z<sub>1</sub>限于G;和/或Z<sub>2</sub>限于T或S;和/或Z<sub>3</sub>限于Y或W;和/或Z<sub>4</sub>限于D;和/或Z<sub>5</sub>限于S;和/或Z<sub>6</sub>限于I或S;和/或Z<sub>7</sub>限于E或A;和/或Z<sub>8</sub>限于A或G;和/或Z<sub>9</sub>限于Y或不在于。

[0155] 特别注意到SEQ ID NO:42的VL CDR3序列衍生自与图11A-11B中其他抗体不同的可以识别构象Kv1.3表位的抗体,另外的共有序列是VL CDR3基序4:

[0156] Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub> (SEQ ID NO:124)

[0157] 其中Z<sub>1</sub>是G、A、V、L、I或M;Z<sub>2</sub>是S、T或C;Z<sub>3</sub>是W、F或Y;Z<sub>4</sub>是D或E;Z<sub>5</sub>是S、T或C;Z<sub>6</sub>是S、T或C;Z<sub>7</sub>是A、G、V、L、I或M;以及Z<sub>8</sub>是G、A、V、L、I或M。在一些实施方案中Z<sub>1</sub>限于G;和/或Z<sub>2</sub>限于S;和/或Z<sub>3</sub>限于W;和/或Z<sub>4</sub>限于D;和/或Z<sub>5</sub>限于S;和/或Z<sub>6</sub>限于S;和/或Z<sub>7</sub>限于A;和/或Z<sub>8</sub>限于G。

[0158] 可变重链序列

[0159] VH序列比对。上述所有VH序列的比对显示在图13A-13C中。该图表明三个CDR区(粗

体,下划线)的大致位置和对应于每个序列的SEQ ID NO。

[0160] 独特VH CDR序列。图13A-13C的VH的独特CDR序列的比对显示在图14中。在40个VH序列中,有13个独特CDR1序列、25个独特CDR2序列和27个独特CDR3序列,如图14中所示。

[0161] VH CDR共有序列。基于图14中公开的序列,以及天然存在的氨基酸的结构/功能特征,可以确定VH CDR的共有序列。

[0162] 对于VH CDR1,一个共有序列是VH CDR1基序1:

[0163]  $X_1X_2X_3X_4X_5$  (SEQ ID NO:442)

[0164] 其中 $X_1$ 是N、Q、S、T或C; $X_2$ 是D、E、S、T或C; $X_3$ 是Y、F、W、H、K或R; $X_4$ 是G、A、N、Q、V、L、M、I、S、T或C;以及 $X_5$ 是M、V、L、I、G或A。在一些实施方案中, $X_1$ 限于N或S;和/或 $X_2$ 限于D、S或T;和/或 $X_3$ 限于Y、H、R或F;和/或 $X_4$ 限于G、N、A、Q、S或T;和/或 $X_5$ 限于M或V。

[0165] 特别注意到SEQ ID NO:125、129、130、131、132、133、141、159和160的VH CDR1序列衍生自与图13A-13C中其他抗体不同的抑制Kv1.3功能的抗体,另外的共有序列是VH CDR1基序2:

[0166]  $X_1X_2X_3X_4X_5$  (SEQ ID NO:443)

[0167] 其中 $X_1$ 是S、T、C、N或Q; $X_2$ 是S、T、C、D或E; $X_3$ 是Y、F、W、K、R或H; $X_4$ 是G、A、V、L、I或M; $X_5$ 是M、A、V、L、G或I。在一些实施方案中, $X_1$ 限于S或N;和/或 $X_2$ 限于S或D;和/或 $X_3$ 限于Y、R或H;和/或 $X_4$ 限于A或G;和/或 $X_5$ 限于M。

[0168] 特别注意到SEQ ID NO:129、130、131、132、133和141的VH CDR1序列衍生自与图13A-13C中其他抗体不同的对Jurkat细胞结合呈FACS阳性的抗体,另外的共有序列是VH CDR1基序3:

[0169]  $X_1X_2X_3X_4X_5$  (SEQ ID NO:444)

[0170] 其中 $X_1$ 是S、T或C; $X_2$ 是D、E、S、T或C; $X_3$ 是R、K、H、Y、F或W; $X_4$ 是G、A、V、L、I、M、N或Q;以及 $X_5$ 是M、A、G、V、L或I。在一些实施方案中, $X_1$ 限于S;和/或 $X_2$ 限于D或S;和/或 $X_3$ 限于R、Y或H;和/或 $X_4$ 限于G或Q;和/或 $X_5$ 限于M。

[0171] 特别注意到SEQ ID NO:129的VH CDR1序列衍生自与图10-10C中其他抗体不同的可以识别构象Kv1.3表位的抗体,另外的共有序列是VH CDR1基序4:

[0172]  $X_1X_2X_3X_4X_5$  (SEQ ID NO:445)

[0173] 其中 $X_1$ 是S、T或C; $X_2$ 是S、T或C; $X_3$ 是H、R或K; $X_4$ 是G、A、V、I、L或M;以及 $X_5$ 是M、A、G、I、L或V。在一些实施方案中, $X_1$ 限于S;和/或 $X_2$ 限于S;和/或 $X_3$ 限于H;和/或 $X_4$ 限于G;和/或 $X_5$ 限于M。

[0174] 对于VH CDR2,一个共有序列是VH CDR2基序1:

[0175]  $Y_1Y_2Y_3Y_4Y_5Y_6Y_7Y_8Y_9Y_{10}Y_{11}Y_{12}Y_{13}Y_{14}Y_{15}Y_{16}Y_{17}$  (SEQ ID NO:446)

[0176] 其中 $Y_1$ 是G、A、V、L、I、M、E、D、K、R、H、S、T或C; $Y_2$ 是I、V、L、M或A; $Y_3$ 是Y、F、W、S、T、C、D、E、N或Q; $Y_4$ 是S、T、C或不存在; $Y_5$ 是S、T、C、N、Q、R、K、H、A、G、V、L、I、M、D或E; $Y_6$ 是S、T、C、D、E、A、G、V、L、I、M、F、Y或W; $Y_7$ 是G、A、V、L、I、M、D或E; $Y_8$ 是R、K、H、N、Q、S、T、C、G、A、V、L、I或M; $Y_9$ 是Y、F、W、S、T、C、R、K、H、E、D、G、A、V、L、I、M或不存在的; $Y_{10}$ 是T、S、C、A、G、V、L、I或M; $Y_{11}$ 是Y、F、W、A、G、V、L、I、M、R、K、H、S、T、C、D、E、N或Q; $Y_{12}$ 是Y、F、W、H、K、R或P; $Y_{13}$ 是G、A、V、L、I、M、T、S或C; $Y_{14}$ 是A、G、V、L、I、M、S、T、C或P; $Y_{15}$ 是A、G、V、L、I或M; $Y_{16}$ 是V、L、I、M、A或G;以及 $Y_{17}$ 是Q、N、K、R、H、D或E。在一些实施方案中, $Y_1$ 限于G、A、E、K、V或S;和/或 $Y_2$ 限于I或V;和/或 $Y_3$ 限于Y、S、D、N、E或T;

和/或Y<sub>4</sub>限于S或不存在;和/或Y<sub>5</sub>限于不存在、N、R、A、D、K或V;和/或Y<sub>6</sub>限于S、D、A、V、T、F或G;和/或Y<sub>7</sub>限于G、A或D;和/或Y<sub>8</sub>限于R、N、S、G或T;和/或Y<sub>9</sub>限于Y、F、S、R、T、E、G、D或不存在;和/或Y<sub>10</sub>限于T或A;和/或Y<sub>11</sub>限于Y、A、R、G、S、L、D、N或H;和/或Y<sub>12</sub>限于Y、H或P;和/或Y<sub>13</sub>限于G、T或A;和/或Y<sub>14</sub>限于A、S或P;和/或Y<sub>15</sub>限于A;和/或Y<sub>16</sub>限于V;和/或Y<sub>17</sub>限于Q、K、R、D或E。

[0177] 特别注意到SEQ ID NO:125、129、130、131、132、133、141、159和160的VH CDR2序列衍生自与图13A-13C中其他抗体不同的抑制Kv1.3功能的抗体,另外的共有序列是VH CDR2基序2:

[0178] Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub>Y<sub>8</sub>Y<sub>9</sub>Y<sub>10</sub>Y<sub>11</sub>Y<sub>12</sub>Y<sub>13</sub>Y<sub>14</sub>Y<sub>15</sub>Y<sub>16</sub>Y<sub>17</sub> (SEQ ID NO:447)

[0179] 其中Y<sub>1</sub>是S、T、C、G、A、V、L、I、M或不存在;Y<sub>2</sub>是I、V、L、M、A或G;Y<sub>3</sub>是I、V、L、M、A、G、S、T、C、Y、F或W;Y<sub>4</sub>是N、Q、S、T、C或不存在;Y<sub>5</sub>是A、V、L、I、M、G、S、T、C、R、K或H;Y<sub>6</sub>是D、E、G、A、V、L、I、M、F、Y、W、S、T或C;Y<sub>7</sub>是D、E、G、A、V、L、I、A或M;Y<sub>8</sub>是S、T、C、N、Q、R、K或H;Y<sub>9</sub>是T、S、C、Y、F、W、R、K或H;Y<sub>10</sub>是S、T、C、A、V、L、I、M或G;Y<sub>11</sub>是Y、F、W、K、R、H、G、V、L、I、M或A;Y<sub>12</sub>是Y、F、W、K、R或H;Y<sub>13</sub>是A、G、V、L、I或M;Y<sub>14</sub>是A、G、V、L、I或M;Y<sub>15</sub>是V、L、I、M、A或G;Y<sub>16</sub>是V、L、I、M、A或G以及Y<sub>17</sub>是K、R、H、Q或N。在一些实施方案中,Y<sub>1</sub>限于S、G或不存在;和/或Y<sub>2</sub>限于I、A或G;和/或Y<sub>3</sub>限于S、Y或I;和/或Y<sub>4</sub>限于N、S或不存在;和/或Y<sub>5</sub>限于V、S或R;和/或Y<sub>6</sub>限于D、A、F或S;和/或Y<sub>7</sub>限于D或G;和/或Y<sub>8</sub>限于S、N或R;和/或Y<sub>9</sub>限于S、Y或R;和/或Y<sub>10</sub>限于T或A;和/或Y<sub>11</sub>限于Y、H、G、R或A;和/或Y<sub>12</sub>限于Y或H;和/或Y<sub>13</sub>限于G;和/或Y<sub>14</sub>限于A;和/或Y<sub>15</sub>限于A;和/或Y<sub>16</sub>限于V;和/或Y<sub>17</sub>是K或Q。

[0180] 特别注意到SEQ ID NO:129、130、131、132、133和141的VH CDR2序列衍生自与图13A-13C中其他抗体不同的对Jurkat细胞结合呈FACS阳性的抗体,另外的共有序列是VH CDR2基序3:

[0181] Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub>Y<sub>8</sub>Y<sub>9</sub>Y<sub>10</sub>Y<sub>11</sub>Y<sub>12</sub>Y<sub>13</sub>Y<sub>14</sub>Y<sub>15</sub>Y<sub>16</sub> (SEQ ID NO:448)

[0182] 其中Y<sub>1</sub>是G、A、V、L、I或M;Y<sub>2</sub>是I、V、L、A、G或M;Y<sub>3</sub>是S、T、C、N或Q;Y<sub>4</sub>是S、T、C、R、K或H;Y<sub>5</sub>是S、T、C、F、Y、W、D或E;Y<sub>6</sub>是G、A、V、L、I或M;Y<sub>7</sub>是R、K、H、N、Q、S、T或C;Y<sub>8</sub>是S、T、C、R、K或H;Y<sub>9</sub>是S、T、C、A、G、V、L、I或M;Y<sub>10</sub>是A、G、V、L、I、M、R、K或H;Y<sub>11</sub>是Y、F、W、H、R或K;Y<sub>12</sub>是G、A、V、I、L或M;Y<sub>13</sub>是A、G、V、I、L或M;Y<sub>14</sub>是A、G、V、I、L或M;Y<sub>15</sub>是V、A、G、I、L或M;以及Y<sub>16</sub>是K、R或H。在一些实施方案中,Y<sub>1</sub>限于G或A;和/或Y<sub>2</sub>限于I;和/或Y<sub>3</sub>限于S或N;和/或Y<sub>4</sub>限于S或R;和/或Y<sub>5</sub>限于S、F或D;和/或Y<sub>6</sub>限于G;和/或Y<sub>7</sub>限于R、N或S;和/或Y<sub>8</sub>限于S或R;和/或Y<sub>9</sub>限于A或T;和/或Y<sub>10</sub>限于A、G或R;和/或Y<sub>11</sub>限于Y或H;和/或Y<sub>12</sub>限于G;和/或Y<sub>13</sub>限于A;和/或Y<sub>14</sub>限于A;和/或Y<sub>15</sub>限于V;和/或Y<sub>16</sub>限于K。

[0183] 特别注意到SEQ ID NO:129的VH CDR2序列衍生自与图13A-13C中其他抗体不同的可以识别构象Kv1.3表位的抗体,另外的共有序列是VH CDR2基序4:

[0184] Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub>Y<sub>8</sub>Y<sub>9</sub>Y<sub>10</sub>Y<sub>11</sub>Y<sub>12</sub>Y<sub>13</sub>Y<sub>14</sub>Y<sub>15</sub>Y<sub>16</sub> (SEQ ID NO:449)

[0185] 其中Y<sub>1</sub>是G、A、V、I、L或M;Y<sub>2</sub>是I、V、L、M、G或A;Y<sub>3</sub>是S、T或C;Y<sub>4</sub>是R、K或H;Y<sub>5</sub>是D或E;Y<sub>6</sub>是G、A、V、I、L或M;Y<sub>7</sub>是S、T或C;Y<sub>8</sub>是R、K或H;Y<sub>9</sub>是T、S或C;Y<sub>10</sub>是R、K或H;Y<sub>11</sub>是Y、F或W;Y<sub>12</sub>是G、A、V、I、L或M;Y<sub>13</sub>是A、G、V、I、L或M;Y<sub>14</sub>是A、G、V、I、L或M;Y<sub>15</sub>是V、G、A、I、L或M;以及Y<sub>16</sub>是K、R或H。在一些实施方案中,Y<sub>1</sub>限于G;和/或Y<sub>2</sub>限于I;和/或Y<sub>3</sub>限于S;和/或Y<sub>4</sub>限于R;和/或Y<sub>5</sub>限于D;和/或Y<sub>6</sub>限于G;和/或Y<sub>7</sub>限于S;和/或Y<sub>8</sub>限于R;和/或Y<sub>9</sub>限于T;和/或Y<sub>10</sub>限于R;和/或Y<sub>11</sub>限于Y;和/或Y<sub>12</sub>限于G;和/或Y<sub>13</sub>限于A;和/或Y<sub>14</sub>限于A;和/或Y<sub>15</sub>限于V;和/或Y<sub>16</sub>限于K。

[0186] 对于VH CDR3,一个共有序列是VH CDR3基序1:

[0187]  $Z_1Z_2Z_3Z_4Z_5Z_6Z_7Z_8Z_9Z_{10}Z_{11}Z_{12}Z_{13}Z_{14}Z_{15}Z_{16}Z_{17}Z_{18}Z_{19}Z_{20}Z_{21}Z_{22}Z_{23}Z_{24}Z_{25}Z_{26}Z_{27}$  (SEQ ID NO: 450)

[0188] 其中 $Z_1$ 是N、Q、S、T、C、A、G、V、L、I、M、D或E; $Z_2$ 是A、G、V、L、I、M、S、T、C、Y、F、W、N或Q; $Z_3$ 是D、E、G、A、V、L、I、M、Y、F、W、S、T、C、H、R、K或不存在; $Z_4$ 是S、T、C、E、D、N、Q、G、A、V、I、L、M、R、K、H或不存在; $Z_5$ 是G、A、V、L、I、M、C、S、T或不存在; $Z_6$ 是Y、F、W、C、S、T、R、K、H或不存在; $Z_7$ 是Y、F、W、N、Q、C、S、T或不存在; $Z_8$ 是W、F、Y或不存在; $Z_9$ 是N、Q或不存在; $Z_{10}$ 是T、S、C或不存在; $Z_{11}$ 是C、S、T、Y、F、W、A、G、V、L、I、M或不存在; $Z_{12}$ 是T、S、C、N、Q、G、A、V、L、I、M、D、E、Y、F、W或不存在; $Z_{13}$ 是G、A、V、L、I、M、C、S、T、D、E、K、R、H或不存在; $Z_{14}$ 是Y、F、W、A、G、V、L、I、M、S、T、C、P、D、E或不存在; $Z_{15}$ 是N、Q、S、T、C、G、A、V、L、I、M、R、K、H或不存在; $Z_{16}$ 是C、S、T、G、A、V、L、I、M或不存在; $Z_{17}$ 是A、G、V、L、I M、W、F、Y、T、S、C、D、E或不存在; $Z_{18}$ 是D、E、T、S、C、A、G、V、L、I、M、P、W、F、Y或不存在; $Z_{19}$ 是Y、F、W、A、G、V、L、I、M、N、Q、S、T、C或不存在; $Z_{20}$ 是G、A、V、L、I、M、T、S、C或不存在; $Z_{21}$ 是A、G、V、L、I、M、P、Y、F、W、S、T、C或不存在; $Z_{22}$ 是G、A、V、L、I、M、H、K、R、D、E、S、T、C、Y、F、W或不存在; $Z_{23}$ 是Y、F、W、E、D、S、T、C、N、Q、L、A、G、V、I或M; $Z_{24}$ 是I、V、L、A、G或M; $Z_{25}$ 是D或E, $Z_{26}$ 是A、G、V、L、I、M、S、T或C;以及 $Z_{27}$ 是W、F或Y。在一些实施方案中, $Z_1$ 限于N、S、C、A、G、D或T;和/或 $Z_2$ 限于A、S、T、Y、N、G、V或F;和/或 $Z_3$ 限于D、G、Y、S、H、L或不存在;和/或 $Z_4$ 限于S、T、E、N、D、G、R、C、Q或不存在;和/或 $Z_5$ 限于G、C或不存在;和/或 $Z_6$ 限于Y、C、R或不存在;和/或 $Z_7$ 限于Y、N、C或不存在;和/或 $Z_8$ 限于W或不存在;和/或 $Z_9$ 限于N或不存在;和/或 $Z_{10}$ 限于T或不存在;和/或 $Z_{11}$ 限于C、Y、A或不存在;和/或 $Z_{12}$ 限于T、N、G、D、Y、A、C、S或不存在;和/或 $Z_{13}$ 限于G、C、D、K、A或不存在;和/或 $Z_{14}$ 限于Y、A、S、P、T、D或不存在;和/或 $Z_{15}$ 限于N、S、G、I、R、T或不存在;和/或 $Z_{16}$ 限于C、G、S或不存在;和/或 $Z_{17}$ 限于A、W、Y、G、T、I、D、V或不存在;和/或 $Z_{18}$ 限于D、T、C、A、G、P、W或不存在;和/或 $Z_{19}$ 限于Y、F、A、N、S、G或不存在;和/或 $Z_{20}$ 限于G、T、A、I或不存在;和/或 $Z_{21}$ 限于A、P、Y、V、T、I、L或不存在;和/或 $Z_{22}$ 限于G、A、H、D、S、Y或不存在;和/或 $Z_{23}$ 限于Y、E、S、N、L、T、D、C、I、G或A;和/或 $Z_{24}$ 限于I或M;和/或 $Z_{26}$ 限于A、S或T;和/或 $Z_{27}$ 限于W。

[0189] 特别注意到SEQ ID NO:125、129、130、131、132、133、141、159和160的VH CDR3序列衍生自与图13A-13C中其他抗体不同的抑制Kv1.3功能的抗体,另外的共有序列是VH CDR3基序2:

[0190]  $Z_1Z_2Z_3Z_4Z_5Z_6Z_7Z_8Z_9Z_{10}Z_{11}Z_{12}Z_{13}Z_{14}Z_{15}Z_{16}Z_{17}Z_{18}Z_{19}Z_{20}Z_{21}$  (SEQ ID NO:451)

[0191] 其中 $Z_1$ 是S、T、C、V、L、I、M、A或G或不存在; $Z_2$ 是S、T、C、V、L、I、M、A或G或不存在; $Z_3$ 是Y、F、W或不存在; $Z_4$ 是Q、N、D、E、V、L、I、M、A、G或不存在; $Z_5$ 是C、S、T、N、Q、Y、F、W或不存在; $Z_6$ 是A、G、V、L、I、M、S、T、C、D或E; $Z_7$ 是G、V、L、I、M、A、D、E、S、T、C或不存在; $Z_8$ 是D、E、Y、F、W、G、V、L、I、M、A、S、T或C; $Z_9$ 是C、S、T、N、Q、G、V、L、I、M或A; $Z_{10}$ 是C、S、T、F、Y、W、G、V、L、I、M或A; $Z_{11}$ 是F、Y或W; $Z_{12}$ 是T、S、C或不存在; $Z_{13}$ 是G、V、L、I、M、A、F、Y、W、S、T或C; $Z_{14}$ 是Y、F、W、G、V、L、I、M或A; $Z_{15}$ 是P、G、A、V、I、L或M; $Z_{16}$ 是F、Y、W、G、V、L、I、M或A; $Z_{17}$ 是G、A、V、I、L、M、S、T、C、D、E、F、Y或W; $Z_{18}$ 是V、L、I、M、A或G; $Z_{19}$ 是D或E; $Z_{20}$ 是S、T、C、V、L、I、M、A或G; $Z_{21}$ 是W、F或Y。在一些实施方案中, $Z_1$ 限于S、G或不存在;和/或 $Z_2$ 限于S、A或不存在;和/或 $Z_3$ 限于Y或不存在;和/或 $Z_4$ 限于Q、E、G或不存在;和/或 $Z_5$ 限于C、Y、N或不存在;和/或 $Z_6$ 限于A、D、S、C或A;和/或 $Z_7$ 限于G、T、D或不存在;和/或 $Z_8$ 限于D、Y、G或S;和/或 $Z_9$ 限于N、S、T或G;和/或 $Z_{10}$ 限于C、G、S或Y;和/或 $Z_{11}$ 限于W或Y;和/或 $Z_{12}$ 限于T或不存在;和/或 $Z_{13}$ 限于G、F、C或T;和/或 $Z_{14}$ 限于Y、I G或A;和/或

Z15限于P、A或V；和/或Z16限于Y或G；和/或Z17限于G、S、E、L或Y；和/或Z18限于I；和/或Z19限于D；和/或Z20限于T或A；和/或Z21限于W。

[0192] 特别注意到SEQ ID NO:129、130、131、132、133和141的VH CDR3序列衍生自与图13A-13C中其他抗体不同的对Jurkat细胞结合呈FACS阳性的抗体，另外的共有序列是VH CDR3基序3：

[0193]  $Z_1Z_2Z_3Z_4Z_5Z_6Z_7Z_8Z_9Z_{10}Z_{11}Z_{12}Z_{13}Z_{14}Z_{15}Z_{16}Z_{17}Z_{18}Z_{19}Z_{20}Z_{21}$  (SEQ ID NO:452)

[0194] 其中Z<sub>1</sub>是G、A、V、I、L、M、S、T、C或不存在的；Z<sub>2</sub>是A、G、V、I、L、M或不存在的；Z<sub>3</sub>是Y、F、W或不存在的；Z<sub>4</sub>是D、E、G、A、V、I、L、M或不存在的；Z<sub>5</sub>是S、T、C、Y、F、W或不存在的；Z<sub>6</sub>是D、E、S、T或C；Z<sub>7</sub>是T、S、C、G、A、V、I、L或M；Z<sub>8</sub>是Y、F、W、S、T、C、G、A、V、I、L或M；Z<sub>9</sub>是T、S、C、G、A、V、I、L或M；Z<sub>10</sub>是S、T或C；Z<sub>11</sub>是G、V、L、I、M、A、Y、F或W；Z<sub>12</sub>是S、T、C、Y、F或W；Z<sub>13</sub>是F、Y、W、G、A、V、I、L、M或不存在的；Z<sub>14</sub>是G、A、V、I、L或M；Z<sub>15</sub>是G、A、V、I、L或M；Z<sub>16</sub>是G、A、V、L、I或M；Z<sub>17</sub>是E、D、S、T、C、G、A、V、I、L或M；Z<sub>18</sub>是V、L、I、M、A或G；Z<sub>19</sub>是D或E；Z<sub>20</sub>是V、L、I、M、A或G；以及Z<sub>21</sub>是W、F或Y。在一些实施方案中，Z<sub>1</sub>限于G、S或不存在的；和/或Z<sub>2</sub>限于A或不存在的；和/或Z<sub>3</sub>限于Y或不存在的；和/或Z<sub>4</sub>限于G、E或不存在的；和/或Z<sub>5</sub>限于Y、C或不存在的；和/或Z<sub>6</sub>限于D、C或不存在的；和/或Z<sub>7</sub>限于S或G；和/或Z<sub>8</sub>限于T、S或Y；和/或Z<sub>9</sub>限于S或G；和/或Z<sub>10</sub>限于T、C或S；和/或Z<sub>11</sub>限于G或W；和/或Z<sub>12</sub>限于Y、C或T；和/或Z<sub>13</sub>限于G、F或不存在的；和/或Z<sub>14</sub>限于G、A或I；和/或Z<sub>15</sub>限于V或A；和/或Z<sub>16</sub>是G；和/或Z<sub>17</sub>限于E、L或S；和/或Z<sub>18</sub>限于I；和/或Z<sub>19</sub>限于D；和/或Z<sub>20</sub>限于A；和/或Z<sub>21</sub>限于W。

[0195] 特别注意到SEQ ID NO:129的VH CDR3序列衍生自与图10A-10C中其他抗体不同的可以识别构象Kv1.3表位的抗体，另外的共有序列是VH CDR3基序4：

[0196]  $Z_1Z_2Z_3Z_4Z_5Z_6Z_7Z_8Z_9Z_{10}Z_{11}Z_{12}Z_{13}Z_{14}Z_{15}Z_{16}Z_{17}Z_{18}Z_{19}Z_{20}Z_{21}$  (SEQ ID NO:453)

[0197] 其中Z<sub>1</sub>是S、T或C；Z<sub>2</sub>是A、G、V、I、L或M；Z<sub>3</sub>是Y、F或W；Z<sub>4</sub>是E或D；Z<sub>5</sub>是C、S或T；Z<sub>6</sub>是D或E；Z<sub>7</sub>是G、A、V、I、L或M；Z<sub>8</sub>是Y、F或W；Z<sub>9</sub>是S、T或C；Z<sub>10</sub>是S、T或C；Z<sub>11</sub>是W、F或Y；Z<sub>12</sub>是T、S或C；Z<sub>13</sub>是E或D；Z<sub>14</sub>是I、A、G、V、L或M；Z<sub>15</sub>是A、G、V、I、L或M；Z<sub>16</sub>是G、A、V、I、L或M；Z<sub>17</sub>是S、T或C；Z<sub>18</sub>是I、G、A、V、L或M；Z<sub>19</sub>是D或E；Z<sub>20</sub>是A、G、V、I、L或M；以及Z<sub>21</sub>是W、F或Y。在其他实施方案中，Z<sub>1</sub>限于S；和/或Z<sub>2</sub>限于A；和/或Z<sub>3</sub>限于Y；和/或Z<sub>4</sub>限于E；和/或Z<sub>5</sub>限于C；和/或Z<sub>6</sub>限于D；和/或Z<sub>7</sub>限于G；和/或Z<sub>8</sub>限于Y；和/或Z<sub>9</sub>限于S；和/或Z<sub>10</sub>限于C；和/或Z<sub>11</sub>限于W；和/或Z<sub>12</sub>限于T；和/或Z<sub>13</sub>限于E；和/或Z<sub>14</sub>限于I；和/或Z<sub>15</sub>限于A；和/或Z<sub>16</sub>限于G；和/或Z<sub>17</sub>限于S；和/或Z<sub>18</sub>限于I；和/或Z<sub>19</sub>限于D；和/或Z<sub>20</sub>限于A；和/或Z<sub>21</sub>限于W。

[0198] CDR规范结构

[0199] 轻链和重链可变区中CDR结构的预测基于Chothia及其同事的工作(例如,Chothia et al. (1987), J.Mol.Biol.196:901-17;Al-Lazikani et al. (1997), J.Mol.Biol.273:927-48), 并且集中于免疫球蛋白高变区显示的保守规范CDR结构(North et al. (2011), J.Mol.Biol.406(2):228-56)。为了确定与公开的衍生自鸡的抗Kv1.3抗体相关的潜在规范结构(表4), 将来自每个抗Kv1.3克隆的轻链和重链可变区提交用于“SAbDAb”结构抗体数据库(Dunbar et al. (2014), Nucleic Acids Res.42:D1140-D1146)中的序列分析。在PyIgClassify数据库中进一步分析具有最高百分比同一性的RCSB蛋白质数据库(PDB)结构, 以鉴定相关的CDR环构象。在一些情况下, 通过SAbDAb分析鉴定出具有相同百分比同一性的多于一种PDB结构。在那些情况下, 使用PyIgClassify数据库确定每个PDB命中的规范结构(表5)。

[0200] 表5:衍生自鸡的抗Kv1.3抗体的PDB结构和CDR规范结构分配。\*SAbDAb:基于完整可变域的序列搜索

[0201]

SAbDAb 序列分析			PyIgClassify CDR 规范结构分配					
mAb 克隆	PDB 结构	百分比 同一性 (全可 变区)	H1	H2	H3	L1	L2	L3
19724p2.A2	5d72	60.28	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	60.28	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.A3	5d70	65.09	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.A5	4qci	63.01	H1-13-1	H2-10-2	H3-13-*	L1-11-3	L2-8-1	L3-9-*
19724p2.A7	5d7s	63.33	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5c7x	63.33	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p2.B5	5d71	60.56	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	5d70	60.56	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.C4	5d7s	63.5	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5c7x	63.5	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p2.D1	5d72	63.67	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	63.67	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.D2	5d72	64.31	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	64.31	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.D9	4qhu	62.79	H1-13-1	H2-10-*	H3-8-2	L1-11-3	L2-8-1	L3-11-1
19724p2.E6	5d72	64.28	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p2.F7	5d72	65.72	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	65.72	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.G9	5d70	65.09	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.H10	5d71	62.73	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.H12	5d72	64.31	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	64.31	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.H4	5d72	64.78	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	64.78	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.H6	5d72	63.67	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	63.67	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_A1	4qhu	62.79	H1-13-1	H2-10-*	H3-8-2	L1-11-3	L2-8-1	L3-11-1
19724p1_A5	5d71	64.31	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_A9	5d72	62.61	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	62.61	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_A11	5d70	63.03	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_B1	5d72	64.92	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	64.92	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_B11	5d70	66.19	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_C4	5d72	62.61	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	62.61	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_C12	5d72	66.82	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_D2	5d72	62.73	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_D8	5d72	63.38	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_D11	5d70	62.91	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_E2	5d72	61.5	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_E3	5d71	63.38	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_E6	5d70	64.95	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_F3	5d70	66.19	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_F6	5d72	60.37	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_F7	5d72	66.35	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	66.35	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_F8	5d72	62.08	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	62.08	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_F9	5d72	66.82	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	66.82	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_G6	5d72	63.67	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d7s	63.67	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5c7x	63.67	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_H2	5d72	61.97	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_H4	4qhu	62.79	H1-13-1	H2-10-*	H3-8-2	L1-11-3	L2-8-1	L3-11-1
19724p1_H7	5d70	62.85	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_H12	5d70	63.84	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*

[0202] 基于该分析,抗Kv1.3抗体可以由以下PDB结构构成:5d72、5d70、4qci、5d7s、5c7x、5d71和4qhu。

[0203] 基于PDB结构,抗Kv1.3抗体可以具有以下规范CDR结构:H1CDR是H1-13-1;H2CDR是H2-12-1、H2-10-2或H2-10-\*;H3CDR是H3-8-2或H3-13-\*;L1CDR是L1-11-3;L2CDR是L2-6-\*或L2-8-1;以及L3CDR是L3-9-\*或L3-11-1。

[0204] 特别注意到抗Kv1.3抗体克隆19724p1\_F8、19724p1\_A1、19724p2\_A3、19724p2\_G9、19724p1\_A11、19724p1\_D8、19724p1\_E6、19724p1\_H4和19724p1\_H7抑制Kv1.3活性,与其他发现的抗体不同,抗Kv1.3抗体的相关PDB结构可以包含5d72、5d70和4qhu(表6)。基于这些PDB结构分配,功能性抑制性Kv1.3抗体可以包含以下规范CDR序列:H1CDR是H1-13-1;H2CDR是H2-12-1、H2-10-2或H2-10-\*;H3CDR是H3-8-2;L1CDR是L1-11-3;L2CDR是L2-6-\*或L2-8-1以及L3CDR是L3-9-\*或L3-11-1。

[0205] 特别注意到抗Kv1.3抗体克隆19724p1\_A11、19724p1\_H7、19724p2\_G9、19724p2\_A3、19724p1\_E6和19724\_D8对于Jurkat结合呈FACS阳性,与其他发现的抗体不同,抗Kv1.3抗体的相关PDB结构可以包含5d70和5d72(表6)。基于这些PDB结构分配,FACS阳性Jurkat结合Kv1.3抗体可以包含以下规范CDR序列:H1CDR是H1-13-1;H2CDR是H2-10-2或H2-12-1;H3CDR是H3-8-2;L1CDR是L1-11-3;L2CDR是L2-6-\*以及L3CDR是L3-9-\*。

[0206] 特别注意到抗Kv1.3抗体克隆19724p1\_E6可以识别构象Kv1.3表位,与其他发现的抗体不同,抗Kv1.3抗体的相关PDB结构可以由5d70构成(表6)。基于该PDB结构分配,构象Kv1.3抗体可以包含以下规范CDR序列:H1CDR是H1-13-1;H2CDR是H2-10-2;H3CDR是H3-8-2;L1CDR是L1-11-3;以及L3CDR是L3-9-\*。

[0207] 表6:衍生自鸡的选择性抗Kv1.3抗体的PDB结构和CDR规范结构分配。

[0208]

PyIgClassify CDR 规范结构分配								
mAb 特性	克隆	PDB 结构	H1	H2	H3	L1	L2	L3
抑制 Kv1.3 活性	19724p1_F8	5d72	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
		5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p1_A1	4qhu	H1-13-1	H2-10-*	H3-8-2	L1-11-3	L2-8-1	L3-11-1
	19724p2_A3	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p2_G9	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p1_A11	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p1_D8	5d72	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	19724p1_E6	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p1_H4	4qhu	H1-13-1	H2-10-*	H3-8-2	L1-11-3	L2-8-1	L3-11-1
	19724p1_H7	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
FACS 阳性 Jurkat 结合	19724p1_A11	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p1_H7	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p2_G9	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p2_A3	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p1_D8	5d72	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	19724p1_E6	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
识别构象表位	19724p1_E6	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*

[0209] 将产生潜在有用的抗Kv1.3抗体的另外的克隆进行DNA测序,并推导出轻链和重链

可变域的相应氨基酸序列。公开了源自上述GEM筛选的十种抗体的序列。

[0210] 可变轻链序列

[0211] VL序列比对。上述所有VL序列的比对显示在图19中。该图表明三个CDR区(粗体,下划线)的大致位置和对应于每个序列的SEQ ID NO。

[0212] 独特VL CDR序列。图19的VL的独特CDR序列的比对显示在图20中。在10个VL序列中,有6个独特CDR1序列、5个独特CDR2序列和7个独特CDR3序列,如图20中所示。

[0213] 可变重链序列

[0214] VH序列比对。上述所有VH序列的比对显示在图21中。该图表明三个CDR区(粗体,下划线)的大致位置和对应于每个序列的SEQ ID NO。

[0215] 独特VH CDR序列。图21的VH的独特CDR序列的比对显示在图22中。在10个VH序列中,有7个独特CDR1序列、7个独特CDR2序列和7个独特CDR3序列,如图22中所示。

[0216] 衍生自美洲驼的抗体:将产生潜在有用的抗Kv1.3抗体的克隆进行DNA测序,并推导出轻链和重链可变域的相应氨基酸序列。公开了衍生自上述经Kv1.3免疫的美洲驼的十九种抗体的序列。

[0217] 可变轻链序列

[0218] VL序列比对。上述所有VL序列的比对显示在图15中。该图表明三个CDR区(粗体,下划线)的大致位置和对应于每个序列的SEQ ID NO。

[0219] 独特VL CDR序列。图15的VL的独特CDR序列的比对显示在图16中。在19个VL序列中,有19个独特CDR1序列、13个独特CDR2序列和17个独特CDR3序列,如图16中所示。

[0220] VL CDR共有序列。基于图16中公开的序列,以及天然存在的氨基酸的结构/功能特征,可以确定VL CDR的共有序列。

[0221] 一个共有序列是VL CDR1基序5:

[0222]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}$  (SEQ ID NO:430)

[0223] 其中 $X_1$ 是K、R、H、V、L、I、M、A、G、S、T或C; $X_2$ 是S、T、C、G、V、L、I、M或A; $X_3$ 是S、T、C、K、R或H; $X_4$ 是Q、N、E、D、S、T或C; $X_5$ 是S、T、C、G、V、L、I、M或A; $X_6$ 是V、L、I、M、A、G、D、E、S、T或C; $X_7$ 是A、G、V、L、I,或M; $X_8$ 是S、T、C、H、K、R、F、W、Y、G、V、L、I、M或A; $X_9$ 是G、A、V、L、I、M或不存在; $X_{10}$ 是S、T、C或不存在; $X_{11}$ 是N、Q、D、E或不存在; $X_{12}$ 是Q、N、G、V、L、I、M、A、E、D、Y、F、W、S、T或C; $X_{13}$ 是K、R、H、N、Q、G、V、L、I、M、A、F、Y、W、S、T或C; $X_{14}$ 是T、S、C、N或Q; $X_{15}$ 是F、Y、W、S、T或C; $X_{16}$ 是G、V、L、I、M、A、F、Y、W或P以及 $X_{17}$ 是N、Q、Y、F、W、T、S、C、D或E。在一些实施方案中, $X_1$ 限于K、A、T或G;和/或 $X_2$ 限于S、A、T、G或L;和/或 $X_3$ 限于S、T或R;和/或 $X_4$ 限于Q、E或S;和/或 $X_5$ 限于S、T或G;和/或 $X_6$ 限于V、L、D或S;和/或 $X_7$ 限于L、V、M或I;和/或 $X_8$ 限于S、H、R、F、G或T;和/或 $X_9$ 限于G、A或不存在;和/或 $X_{10}$ 限于S、T或不存在;和/或 $X_{11}$ 限于N、D或不存在;和/或 $X_{12}$ 限于Q、G、E、Y或S;和/或 $X_{13}$ 限于K、N、G、Y或S;和/或 $X_{14}$ 限于T、S或N;和/或 $X_{15}$ 限于Y或S;和/或 $X_{16}$ 限于L、A、F、V或P;和/或 $X_{17}$ 限于N、Y、T、S或D。

[0224] 特别注意到SEQ ID NO:231的VL CDR1序列衍生自与图15中其他抗体不同的抑制Kv1.3功能的抗体,另外的共有序列是VL CDR1基序6:

[0225]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}$  (SEQ ID NO:431)

[0226] 其中 $X_1$ 是K、R或H; $X_2$ 是S、T或C; $X_3$ 是S、T或C; $X_4$ 是Q或N; $X_5$ 是S、T,或C; $X_6$ 是V、L、I、M、A或G; $X_7$ 是V、L、I、M、A或G; $X_8$ 是S、T或C; $X_9$ 是V、L、I、M、A或G; $X_{10}$ 是S、T或C; $X_{11}$ 是N或Q; $X_{12}$ 是N或

Q; X<sub>13</sub>是K、R或H; X<sub>14</sub>是S、T或C; X<sub>15</sub>是Y、F或W; X<sub>16</sub>是V、L、I、M、A或G; 以及X<sub>17</sub>是N或Q。在一些实施方案中, X<sub>1</sub>限于K; 和/或X<sub>2</sub>限于S; 和/或X<sub>3</sub>限于S; 和/或X<sub>4</sub>限于Q; 和/或X<sub>5</sub>限于S; 和/或X<sub>6</sub>限于V; 和/或X<sub>7</sub>限于V; 和/或X<sub>8</sub>限于S; 和/或X<sub>9</sub>限于A; 和/或X<sub>10</sub>限于S; 和/或X<sub>11</sub>限于N; 和/或X<sub>12</sub>限于Q; 和/或X<sub>13</sub>限于K; 和/或X<sub>14</sub>限于S; 和/或X<sub>15</sub>限于Y; 和/或X<sub>16</sub>限于L; 和/或X<sub>17</sub>限于N。

[0227] 对于VL CDR2, 一个共有序列是VL CDR2基序5:

[0228] Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub> (SEQ ID NO: 432)

[0229] 其中Y<sub>1</sub>是Y、F、W、Q、N、R、K、H、E或D; Y<sub>2</sub>是V、L、I、M、A、G、D、E、S、T或C; 以及Y<sub>3</sub>是S、T、C、V、L、I、M、A、G、N或Q; Y<sub>4</sub>是S、T、C、N、Q、K、R、H、V、L、I、M、A或G; Y<sub>5</sub>是R、K、H、Q或N; Y<sub>6</sub>是E、D、S、T、C、G、V、L、I、M、A、K、R或H以及Y<sub>7</sub>是V、L、I、M、A、G、S、T或C。在一些实施方案中, Y<sub>1</sub>限于Y、Q、R、E、K或N; 和/或Y<sub>2</sub>限于A、V、D或T; 和/或Y<sub>3</sub>限于S、A、T或N; 和/或Y<sub>4</sub>限于T、N、K、S或I; 和/或Y<sub>5</sub>限于R、Q或H; 和/或Y<sub>6</sub>限于E、S、D、G、A或H; 和/或Y<sub>7</sub>限于L或S。

[0230] 特别注意到SEQ ID NO: 231的VL CDR2序列衍生自与图15中其他抗体不同的抑制Kv1.3功能的抗体, 另外的共有序列是VL CDR2基序6:

[0231] Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub> (SEQ ID NO: 433)

[0232] 其中Y<sub>1</sub>是Y、F或W; Y<sub>2</sub>是V、L、I、M、A或G; Y<sub>3</sub>是S、T或C; Y<sub>4</sub>是S、T或C; Y<sub>5</sub>是Q或N; Y<sub>6</sub>是E或D; 以及Y<sub>7</sub>是V、L、I、M、A或G。在一些实施方案中, Y<sub>1</sub>限于Y; 和/或Y<sub>2</sub>限于A; 和/或Y<sub>3</sub>限于S; 和/或Y<sub>4</sub>限于T; 和/或Y<sub>5</sub>限于Q; 和/或Y<sub>6</sub>限于E; 和/或Y<sub>7</sub>限于L。

[0233] 对于VL CDR3, 一个共有序列是VL CDR3基序5:

[0234] Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub>Z<sub>10</sub>Z<sub>11</sub>Z<sub>12</sub> (SEQ ID NO: 434)

[0235] 其中Z<sub>1</sub>是Q、N、V、L、I、M、A或G; Z<sub>2</sub>是Q、N、S、T、C、V、L、I、M、A或G; Z<sub>3</sub>是V、L、I、M、A、G、F、Y、W或不存在; Z<sub>4</sub>是K、R、H、V、L、I、M、A、G或不存在; Z<sub>5</sub>是S、T、C、R、K、H或不存在; Z<sub>6</sub>是V、L、I、M、A、G、R、K、H、S、T、C或不存在; Z<sub>7</sub>是Y、F、W、S、T、C、G、V、L、I、M、A、N或Q; Z<sub>8</sub>是S、T、C、R、K、H、Y、F、W或不存在; Z<sub>9</sub>是V、L、I、M、A、G、Y、F、W或不存在; Z<sub>10</sub>是P、S、T、C、N或Q; Z<sub>11</sub>是F、Y、W、V、L、I、M、A、G、S、T或C; 以及Z<sub>12</sub>是N、Q、S、T、C、G、V、L、I、M、A或G。在一些实施方案中, Z<sub>1</sub>限于Q或A; 和/或Z<sub>2</sub>限于Q、S或L; 和/或Z<sub>3</sub>限于A、G、V、Y或不存在; 和/或Z<sub>4</sub>限于R、I或不存在; 和/或Z<sub>5</sub>限于T、S、H或不存在; 和/或Z<sub>6</sub>限于G、R、I、K、S或不存在; 和/或Z<sub>7</sub>限于Y、T、G、S或N; 和/或Z<sub>8</sub>限于S、H、Y或不存在; 和/或Z<sub>9</sub>限于A、Y、F或不存在; 和/或Z<sub>10</sub>限于P、T或N; 和/或Z<sub>11</sub>限于Y、W、I、L、M、V、T或A; 和/或Z<sub>12</sub>限于N、S、T、A、I或V。

[0236] 特别注意到SEQ ID NO 231的VL CDR3序列衍生自与图15中其他抗体不同的抑制Kv1.3功能的抗体, 另外的是共有序列是VL CDR3基序6:

[0237] Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub> (SEQ ID NO: 435)

[0238] 其中Z<sub>1</sub>是Q或N; Z<sub>2</sub>是Q或N; Z<sub>3</sub>是V、L、I、M、A或G; Z<sub>4</sub>是Y、F或W; Z<sub>5</sub>是S、T或C; Z<sub>6</sub>是V、L、I、M、A或G; Z<sub>7</sub>是P; Z<sub>8</sub>是Y、F或W; 以及Z<sub>9</sub>是N或Q。在一些实施方案中, Z<sub>1</sub>限于Q; 和/或Z<sub>2</sub>限于Q; 和/或Z<sub>3</sub>限于A; 和/或Z<sub>4</sub>限于Y; 和/或Z<sub>5</sub>限于S; 和/或Z<sub>6</sub>限于A; 和/或Z<sub>7</sub>限于P; 和/或Z<sub>8</sub>是Y; 和/或Z<sub>9</sub>限于N。

[0239] 可变重链序列

[0240] VH序列比对。上述所有VH序列的比对显示在图17中。该图表明三个CDR区(粗体, 下划线)的大致位置和对应于每个序列的SEQ ID NO。

[0241] 独特VH CDR序列。图17的VH的独特CDR序列的比对显示在图18中。在19个VH序列

中,有18个独特CDR1序列、18个独特CDR2序列和18个独特CDR3序列,如图18中所示。

[0242] VH CDR共有序列。基于图18中公开的序列,以及天然存在的氨基酸的结构/功能特征,可以确定VH CDR的共有序列。

[0243] 对于VH CDR1,一个共有序列是VH CDR1基序5:

[0244]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$  (SEQ ID NO: 436)

[0245] 其中 $X_1$ 是S、T、C或不存在; $X_2$ S、T、C、N、Q或不存在; $X_3$ 是Y、F、W、G、V、L、I、M、A、K、R、H、D、E、S、T、C、N或Q; $X_4$ 是Y、F、W、S、T、C、N或Q;以及 $X_5$ 是Y、F、W、V、L、I、M、A、G、S、T或C; $X_6$ 是F、Y、W、V、L、I、M、A或G;以及 $X_7$ 是S、T、C、V、L、I、M、A、G、N、Q、D、E、F、Y、W、K、R或H。在一些实施方案中, $X_1$ 限于T或不存在;和/或 $X_2$ 限于T、S、N或不存在;和/或 $X_3$ 限于Y、G、K、D、I、A、S或N;和/或 $X_4$ 限于Y、S、F、N或S;和/或 $X_5$ 限于Y、A、G、T、W或S;和/或 $X_6$ 限于W、I或M;和/或 $X_7$ 限于T、S、G、N、E、A、Y或H。

[0246] 特别注意到SEQ ID NO:306的VH CDR1序列衍生自与图17中其他抗体不同的抑制Kv1.3功能的抗体,另外的共有序列是VH CDR1基序6:

[0247]  $X_1X_2X_3X_4X_5$  (SEQ ID NO: 437)

[0248] 其中 $X_1$ 是V、L、I、M、A或G; $X_2$ 是N或Q; $X_3$ 是V、L、I、M、A或G; $X_4$ 是V、L、I、M、A或G;以及 $X_5$ 是S、T或C。在一些实施方案中, $X_1$ 限于I;和/或 $X_2$ 限于N;和/或 $X_3$ 限于G;和/或 $X_4$ 限于M;和/或 $X_5$ 限于S。

[0249] 对于VH CDR2,一个共有序列是VH CDR2基序5:

[0250]  $Y_1Y_2Y_3Y_4Y_5Y_6Y_7Y_8Y_9Y_{10}Y_{11}Y_{12}Y_{13}Y_{14}Y_{15}Y_{16}Y_{17}$  (SEQ ID NO: 438)

[0251] 其中 $Y_1$ 是V、L、I、M、A、G、N、Q、S、T或C; $Y_2$ 是V、L、I、M、A、G、F、W或Y; $Y_3$ 是V、L、I、M、A、G、P、S、T、C、N或Q; $Y_4$ 是F、Y、W、V、L、I、M、A、G、N、Q、P、S、T或C; $Y_5$ 是S、T、C、V、L、I、M、A、G、Y、F、W、D、E、K、R或H; $Y_6$ 是V、L、I、M、A、G、D、E、S、T或C; $Y_7$ 是V、L、I、M、A、G、D、E、S、T、C或不存在; $Y_8$ 是S、T、C、N、Q、D、E、R、K、H、V、L、I、M、A、G、N、Q或不存在; $Y_9$ 是F、Y、W、S、T、C、N、Q、V、L、I、M、A或G; $Y_{10}$ 是Y、F、W、D、E、N、Q、S、T或C; $Y_{11}$ 是Y、F或W; $Y_{12}$ 是S、T、C、N、Q、V、L、I、M、A、G、R、K、H、D或E; $Y_{13}$ 是P、N、Q、E或D; $Y_{14}$ 是S、T、C、V、L、I、M、A、G、K、R或H; $Y_{15}$ 是V、L、I、M、A、G、F、Y或W; $Y_{16}$ 是K、R、H、N或Q;以及 $Y_{17}$ 是S、T、C、V、L、I、M、A或G。在一些实施方案中, $Y_1$ 限于A、V、N、T、S、G或Q;和/或 $Y_2$ 限于I、V或F;和/或 $Y_3$ 限于A、P、S、G、L或N;和/或 $Y_4$ 限于Y、G、N、P、W、S或T;和/或 $Y_5$ 限于S、A、Y、D、E、K或G;和/或 $Y_6$ 限于G、D或S;和/或 $Y_7$ 限于G、D、E、V、S或不存在;和/或 $Y_8$ 限于S、N、D、R、T、A、G、I、N或不存在;和/或 $Y_9$ 限于F、T、N或A;和/或 $Y_{10}$ 限于Y、D、N、S、W或T;和/或 $Y_{11}$ 限于Y或F;和/或 $Y_{12}$ 限于S、T、N、A、R或E;和/或 $Y_{13}$ 限于P、Q、E或D;和/或 $Y_{14}$ 限于S、A或K;和/或 $Y_{15}$ 限于L、F、M或V;和/或 $Y_{16}$ 限于K或Q;和/或 $Y_{17}$ 限于S或G。

[0252] 特别注意到SEQ ID NO:306的VH CDR2序列衍生自与图17中其他抗体不同的抑制Kv1.3功能的抗体,另外的共有序列是VH CDR2基序6:

[0253]  $Y_1Y_2Y_3Y_4Y_5Y_6Y_7Y_8Y_9Y_{10}Y_{11}Y_{12}Y_{13}Y_{14}Y_{15}Y_{16}Y_{17}$  (SEQ IDNO: 439)

[0254] 其中 $Y_1$ 是S、T或C; $Y_2$ 是V、L、I、M、A或G; $Y_3$ 是N或Q; $Y_4$ 是S、T或C; $Y_5$ 是V、L、I、M、A或G; $Y_6$ 是V、L、I、M、A或G; $Y_7$ 是E或D; $Y_8$ 是V、L、I、M、A或G; $Y_9$ 是S、T或C; $Y_{10}$ 是N或Q; $Y_{11}$ 是Y、F或W; $Y_{12}$ 是R、K或H; $Y_{13}$ 是D或E; $Y_{14}$ 是S、T或C; $Y_{15}$ 是V、L、I、M A或G; $Y_{16}$ 是K、R或H;以及 $Y_{17}$ 是V、L、I、M、A或G。在一些实施方案中, $Y_1$ 限于S;和/或 $Y_2$ 限于I;和/或 $Y_3$ 限于N;和/或 $Y_4$ 限于S;和/或 $Y_5$ 限于G;和/或 $Y_6$ 限于G;和/或 $Y_7$ 限于E;和/或 $Y_8$ 限于I;和/或 $Y_9$ 限于T;和/或 $Y_{10}$ 限于N;和/或 $Y_{11}$ 限于Y;

和/或Y<sub>12</sub>限于R;和/或Y<sub>13</sub>限于D;和/或Y<sub>14</sub>限于S;和/或Y<sub>15</sub>限于V;和/或Y<sub>16</sub>限于K;和/或Y<sub>17</sub>限于G。

[0255] 对于VH CDR3,一个共有序列是VH CDR3基序5:

[0256] Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub>Z<sub>10</sub>Z<sub>11</sub>Z<sub>12</sub>Z<sub>13</sub>Z<sub>14</sub>Z<sub>15</sub>Z<sub>16</sub> (SEQ ID NO: 440)

[0257] 其中Z<sub>1</sub>是N、Q、V、L、I、M、A、G、R、K、H、D、E、S、T、C或不存在;Z<sub>2</sub>是R、K、H、S、T、C、V、L、I、M、A、G、P、F、Y、W或不存在;Z<sub>3</sub>是V、L、I、M、A、G、S、T、C、P、R、K、H或不存在;Z<sub>4</sub>是V、L、I、M、A、G、F、Y、W、D、E、N、Q或不存在;Z<sub>5</sub>是F、Y、W、V、L、I、M、A、G、S、T、C或不存在;Z<sub>6</sub>是F、Y、W、S、T、C、V、L、I、M、A、G或不存在;Z<sub>7</sub>是S、T、C、K、R、H或不存在;Z<sub>8</sub>是S、T、C、F、Y、W或不存在;Z<sub>9</sub>是V、L、I、M、A、G、P、F、Y、W、Q、N或不存在;Z<sub>10</sub>是F、Y、W、V、L、I、M、A、G、S、T、C或不存在;Z<sub>11</sub>是P、V、L、I、M、A、G、S、T、C或不存在;Z<sub>12</sub>是V、L、I、M、A、G、S、T、C、P、F、Y、W或不存在;Z<sub>13</sub>是V、L、I、M、A、G、N、Q、E、D、S、T、C或不存在;Z<sub>14</sub>是Y、F、W、V、L、I、M、A、G或不存在;Z<sub>15</sub>是E、D、V、L、I、M、A、G、S、T、C、Q、N或不存在;以及Z<sub>16</sub>是F、Y、W、S、T、C、V、L、I、M、A、G、D或E。在一些实施方案中,Z<sub>1</sub>限于N、A、R、D、G、S或不存在;和/或Z<sub>2</sub>限于R、S、V、T、P、W或不存在;和/或Z<sub>3</sub>限于G、T、L、P、R或不存在;和/或Z<sub>4</sub>限于A、W、Y、D、N或不存在;和/或Z<sub>5</sub>限于Y、L、G、T或不存在;和/或Z<sub>6</sub>限于Y、S、G、L或不存在;和/或Z<sub>7</sub>限于S、T、K、R或不存在;和/或Z<sub>8</sub>限于T、Y、W或不存在;和/或Z<sub>9</sub>限于G、P、Y、Q或不存在;和/或Z<sub>10</sub>限于Y、L、I、T、S、G或不存在;和/或Z<sub>11</sub>限于P、A、G、V、T、I、S或不存在;和/或Z<sub>12</sub>限于G、S、P、V、F、A、T或不存在;和/或Z<sub>13</sub>限于G、N、E、D、T、A、S或不存在;和/或Z<sub>14</sub>限于Y、F、W、L或不存在;和/或Z<sub>15</sub>限于E、D、G、S、Q、I或不存在;和/或Z<sub>16</sub>限于Y、S、M或D。

[0258] 特别注意SEQ ID NO:306的VH CDR3序列衍生自与图17中其他抗体不同的抑制Kv1.3功能的抗体,另外的共有序列是VH CDR3基序6:

[0259] Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub> (SEQ ID NO: 441)

[0260] 其中Z<sub>1</sub>是V、L、I、M、A或G;Z<sub>2</sub>是V、L、I、M、A或G;Z<sub>3</sub>是V、L、I、M、A或G;Z<sub>4</sub>是V、L、I、M、A或G;Z<sub>5</sub>是Y、F或W;Z<sub>6</sub>是D或E;以及Z<sub>7</sub>是Y、F或W。在一些实施方案中,Z<sub>1</sub>限于G;和/或Z<sub>2</sub>限于I;和/或Z<sub>3</sub>限于V;和/或Z<sub>4</sub>限于A;和/或Z<sub>5</sub>限于Y;和/或Z<sub>6</sub>限于D;和/或Z<sub>7</sub>限于Y。

[0261] CDR规范结构

[0262] 为了确定与公开的衍生自美洲驼的抗Kv1.3抗体相关的潜在规范结构(表7),将来自每个抗Kv1.3克隆的轻链和重链可变区提交用于“SAbDAb”结构抗体数据库(Dunbar et al. (2014),Nucleic Acids Res.42:D1140-D1146)中的序列分析。在PyIgClassify数据库中进一步分析具有最高百分比同一性的RCSB蛋白质数据库(PDB)结构,以鉴定相关的CDR环构象。在一些情况下,通过SAbDAb分析鉴定出具有相同百分比同一性的多于一种PDB结构。在那些情况下,使用PyIgClassify数据库确定每个PDB命中的规范结构(表8)。

[0263] 表7:衍生自美洲驼的抗Kv1.3抗体的抗体ELISA和功能分析

[0264]

抗 Kv1.3 抗体克隆	Kv1.3 ELISA	Nav1.8 ELISA (阴性)	% Kv1.3 抑制 (400nM)		
			平均值	SEM (+/-)	n
3A12	阳性	阴性	0	0	2
1A3	阳性	阴性	73.53	8.71	3
3B12	阳性	阴性	0	0	1
3B6	阳性	阴性	0	0	2
3A4	阳性	阴性	0	0	2
3B2	阳性	阴性	0	0	2
3F9	阳性	阴性	0	0	1
2A10	阳性	阴性	0	0	5
3E12	阳性	阴性	0	0	2
3F4	阳性	阴性	0	0	1
3E5	阳性	阴性	0	0	2
2A2	阳性	阴性	0	0	2
3F2	阳性	阴性	0	0	1
3G10	阳性	阴性	0	0	1
3C7	阳性	阴性	0	0	2
2E2	阳性	阴性	0	0	1
3H5	阳性	阴性	0	0	1
1E6	阳性	阴性	0	0	4
3C9	阳性	阴性	0	0	1

[0265] 表8:衍生自美洲驼的抗Kv1.3抗体的PDB结构和CDR规范结构分配。

[0266]

SAbDAb 序列分析			PyIgClassify CDR 规范结构分配					
mAb 克隆	PDB 结构	百分比 同一性 (全可变区)	H1	H2	H3	L1	L2	L3
3A12	5i1d	74.77	H1-13-1	H2-10-12	H3-12-*	L1-17-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	3qos	74.77						
1A3	5i1d	73.79	H1-13-1	H2-10-12	H3-12-*	L1-17-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	3qos	73.79						
3B12	5i1d	74.23	H1-13-1	H2-10-12	H3-12-*	L1-17-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	3qos	74.23						
3B6	5kna	73.21						
	5kmv	73.21						
3A4	5tzt	70.22						
3B2	5kna	70.98						
	5kmv	70.98						
3F9	4lkx	73.66	H1-14-1	H2-9-1	H3-10-*	L1-16-1	L2-8-2	L3-9-cis7-1
2A10	4ojf	77.31	H1-13-1	H2-10-6	H3-12-*	L1-16-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	4hix	77.31	H1-13-1	H2-10-6	H3-12-*	L1-16-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
3.00E+12	5kna	75						
	5kmv	75						
	4ojf	75	H1-13-1	H2-10-6	H3-12-*	L1-16-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	4hix	75	H1-13-1	H2-10-6	H3-12-*	L1-16-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
3F4	4ojf	75.89	H1-13-1	H2-10-6	H3-12-*	L1-16-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	4hix	75.89	H1-13-1	H2-10-6	H3-12-*	L1-16-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
3E5	5kna	77.23						
	5kmv	77.23						
2A2	5kna	79.01						
	5kmv	79.01						
3F2	5kna	77.57						
	5kmv	77.57						
3G10	4zs7	79.74	H1-15-cis11-*	H2-9-1	H3-14-*	L1-14-2	L2-8-1	L3-10-cis6-*
3C7	4zs7	78.44	H1-15-cis11-*	H2-9-1	H3-14-*	L1-14-2	L2-8-1	L3-10-cis6-*
2E2	5f6i	76.88	H1-13-1	H2-10-2	H3-10-*	L1-14-2	L2-8-1	L3-10-*
	4rav	76.88	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-14-2	L2-8-2	L3-9-*
3H5	4zs7	82.17	H1-15-cis11-*	H2-9-1	H3-14-*	L1-14-2	L2-8-1	L3-10-cis6-*
1E6	4o9h	69.91	H1-13-1	H2-10-2	H3-11-*	L1-14-1	L2-8-1	L3-9-*
3C9	4o9h	70.35	H1-13-1	H2-10-2	H3-11-*	L1-14-1	L2-8-1	L3-9-*

[0267] 基于该分析,抗Kv1.3抗体可以由以下PDB结构构成:5i1d、3qos、5kna、5kmv、5tzt、4lkx、4ojf、4hix、4zs7、5f6i、4rav和4o9h。

[0268] 基于PDB结构,抗Kv1.3抗体可以具有以下规范CDR结构:H1CDR是H1-13-1、H1-14-1或H1-15-cis11-\*;H2CDR是H2-10-12、H2-9-1、H2-10-2或H2-10-6;H3CDR是H3-12-\*、H3-10-\*、H3-11-\*、H3-14-\*或H3-8-2;L1CDR是L1-17-1、L1-16-1、L1-14-2或L1-14-1;L2CDR是L2-8-1或L2-8-2;以及L3CDR是L3-9-cis7-1、L3-10-cis6-\*、L3-9-\*或L3-10-\*。

[0269] 特别注意到抗Kv1.3抗体克隆1A3抑制Kv1.3活性,与其他发现的抗体不同,抗Kv1.3抗体的相关PDB结构可以包含5i1d或3qos(表8)。基于这些PDB结构分配,功能性抑制性Kv1.3抗体可以包含以下规范CDR序列:H1CDR是H1-13-1;H2CDR是H2-10-12;H3CDR是H3-12-\*;L1CDR是L1-17-1;L2CDR是L2-8-1以及L3CDR是L3-9-cis7-1。

[0270] 尽管已经在前述示例性实施方案中描述和说明了所公开的主题,但是应该理解,本公开仅通过示例的方式进行,并且在不脱离所公开的主题的精神和范围的情况下,可以对所公开的主题的实现的细节进行许多改变,所公开的主题仅受所附权利要求书的限制。

人 Kv1.3 氨基酸序列  
( 登录 : P22001.3; SEQ ID NO: 1 )

```

1  MDERLSLLRS  PPPPSARHRA  HPPQRPASSG  GAHTLVNHGY  AEPAAGRELP  PDMTVVPGDH
61  LLEPEVADGG  GAPFQGGCGG  GGCDRYEPLP  PSLPAAGEQD  CCGERVVINI  SGLRFETQLK
121  TLCQFPETLL  GDPKRRMRYF  DPLRNEYFFD  RNRPSFDAIL  YYYSQGGRRR  RPNVVPIDIF
181  SEEIRFYQLG  EEAMEKFRED  EGFLREEERP  LPRRDFQRQV  WLLFEYPESH  GPARGIAIVS
241  VLVILISIVI  FCLETLPFR  DEKDYPASTS  QDSFEAAGNS  TSGSRAGASS  FSDPFFVRET
301  LCIIWFSFEL  LVRFACPSK  ATFSRNIMNL  IDIVAIIPYF  ITLGTELAER  QNGGQQAMSL
361  AILRVIRLVR  VFRIFKLSRH  SKGLQILGQT  LKASMRLEGL  LIFFLFIGVI  LFSSAVYFAE
421  ADDPTS GFSS  IPDAFWWAVV  TMTTVGYGDM  HPVTIGGKIV  GSLCAIAGVL  TIALPVPVIV
481  SNFNIFYHRE  TEGEEQSQYM  HVGSCQHLSS  SAEELRKARS  NSTLSKSEYM  VIEEGGMNHS
541  AFPQTPFKTG  NSTATCTTNN  NPNSCVNIKK  IFTDV

```

图1A

## 人 Kv1.3 氨基酸序列 (SEQ ID NO: 2)

1 MDERLSLLRS PPPPSARHRA HPPQRPASSG GAHTLVNHGY AEPAAGRELP PDMTVVPGDH  
 61 LLEPEVADGG GAPPGGCGG GGCDRYEPLP PSLPAAGEQD CCGERVVINI SGLRFETQLK  
 121 TLCQFPETLL GDPKRRMRYF DPLRNEYFFD RNRPSFDAIL YYYQSGGRIR RPNVPIIDIF  
 181 SEEIRFYQLG EEAMEKFRED EGFLREEERP LPRRDFQRQV WLLFEYPESH GPARGIAIVS  
 241 VLVILISIVI FCLETLPEFR DEKDYPASTS QDSFEAAGNS TSGSRAGASS FSDPFFVET  
 301 LCIIWFSFEL LVRFACPSK ATFSRNIMNL IDIVAIIPYF ITLGTLEAER QNGGQAMSL  
 361 AILRVIRLVR VFRIFKLSRH SKGLQILGQT LKASMRELGL LIFFLFIGVI LFSSAVYFAE  
 421 ADDPTS GFSS IPDAFWAVV TMTTVGYGDM HPVTIGGKIV GSLCAIAGVL TIALPVPVIV  
 481 SNFNIFYHRE TEGEEQSQYM HVGSCQHLSS SAEELRKARS NSTLSKSEYM VIEEGGMNHS  
 541 AFPQTPEFKTG NSTATCTTNN NPNSCVNIKK IFTDV**DYKDD** DDKHHHHHHH HHH

图1B

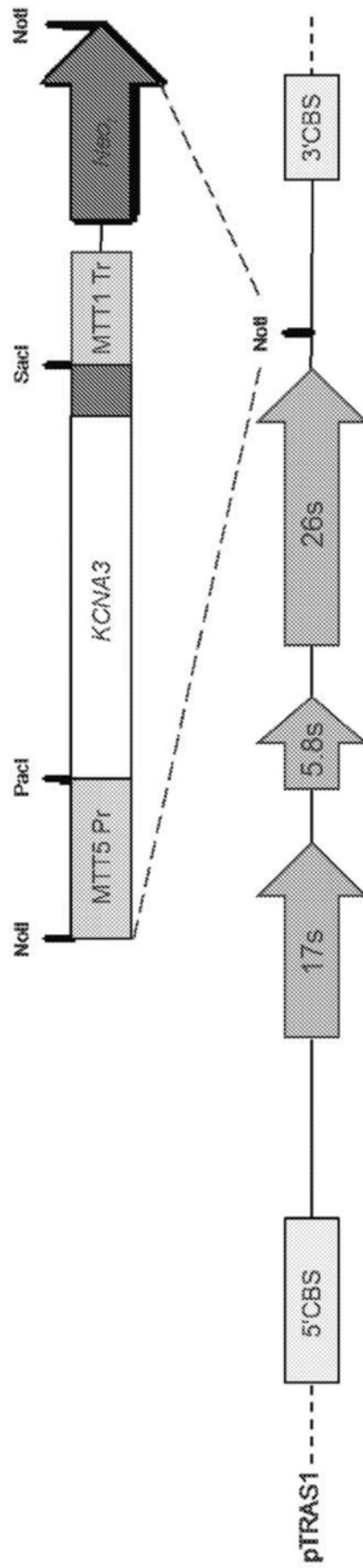


图2

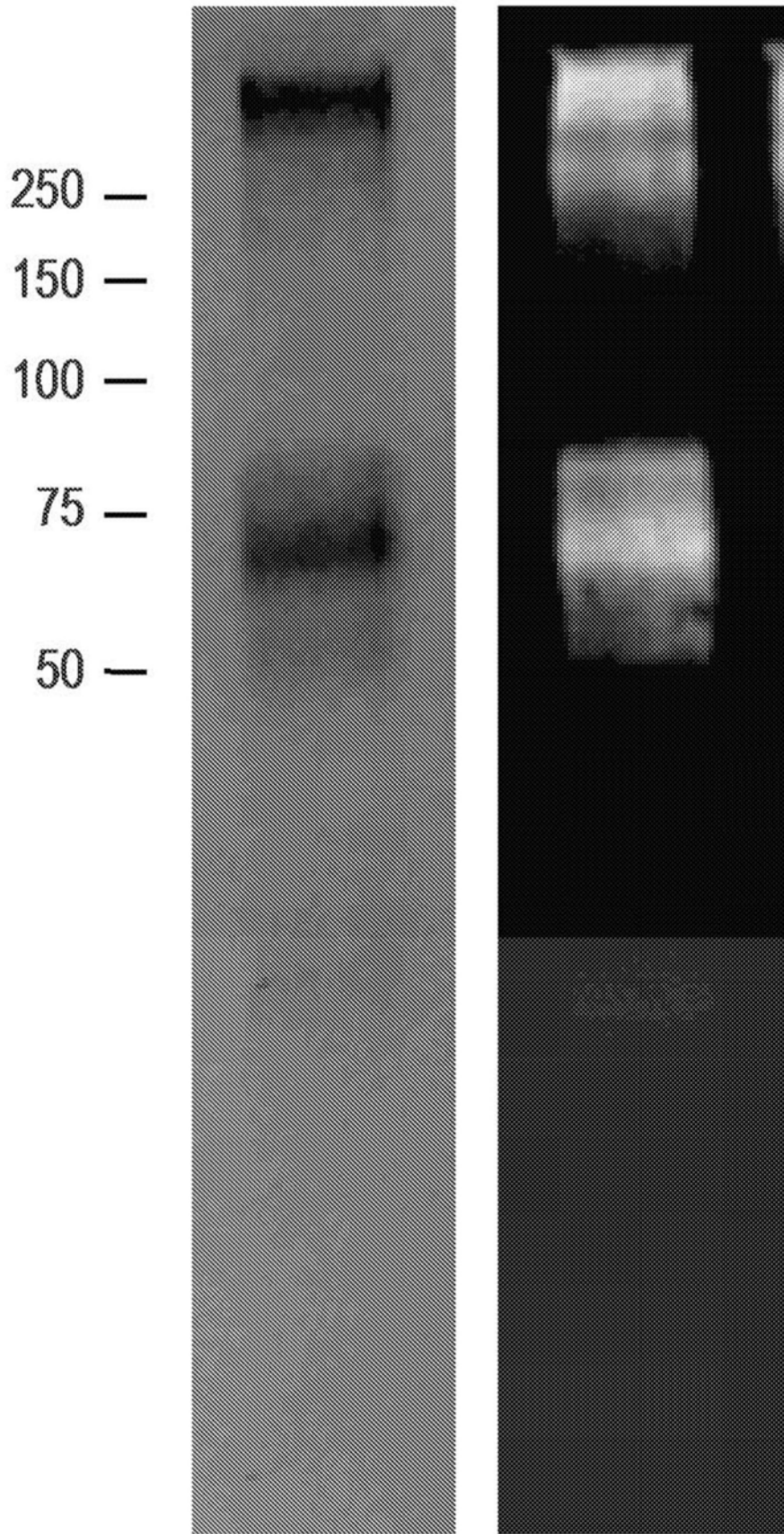


图3

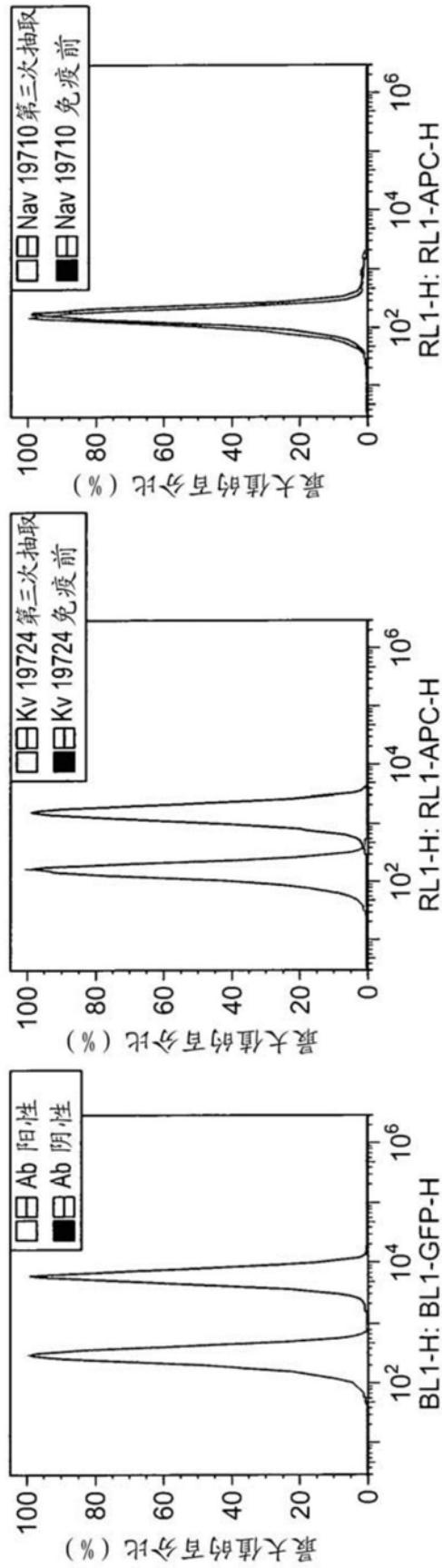


图4

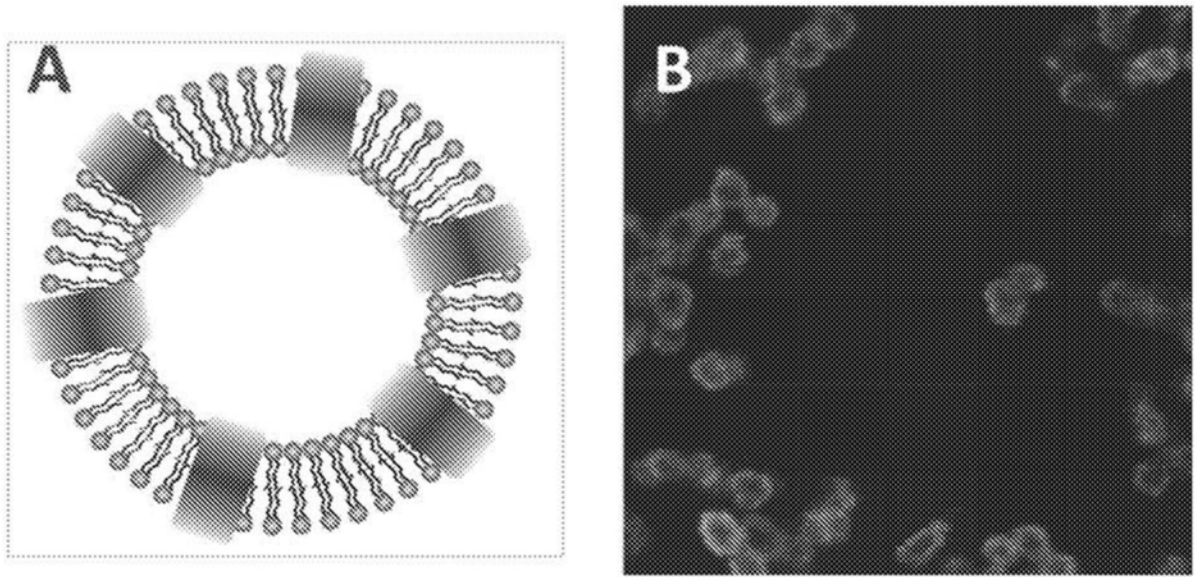


图5A-B



图6

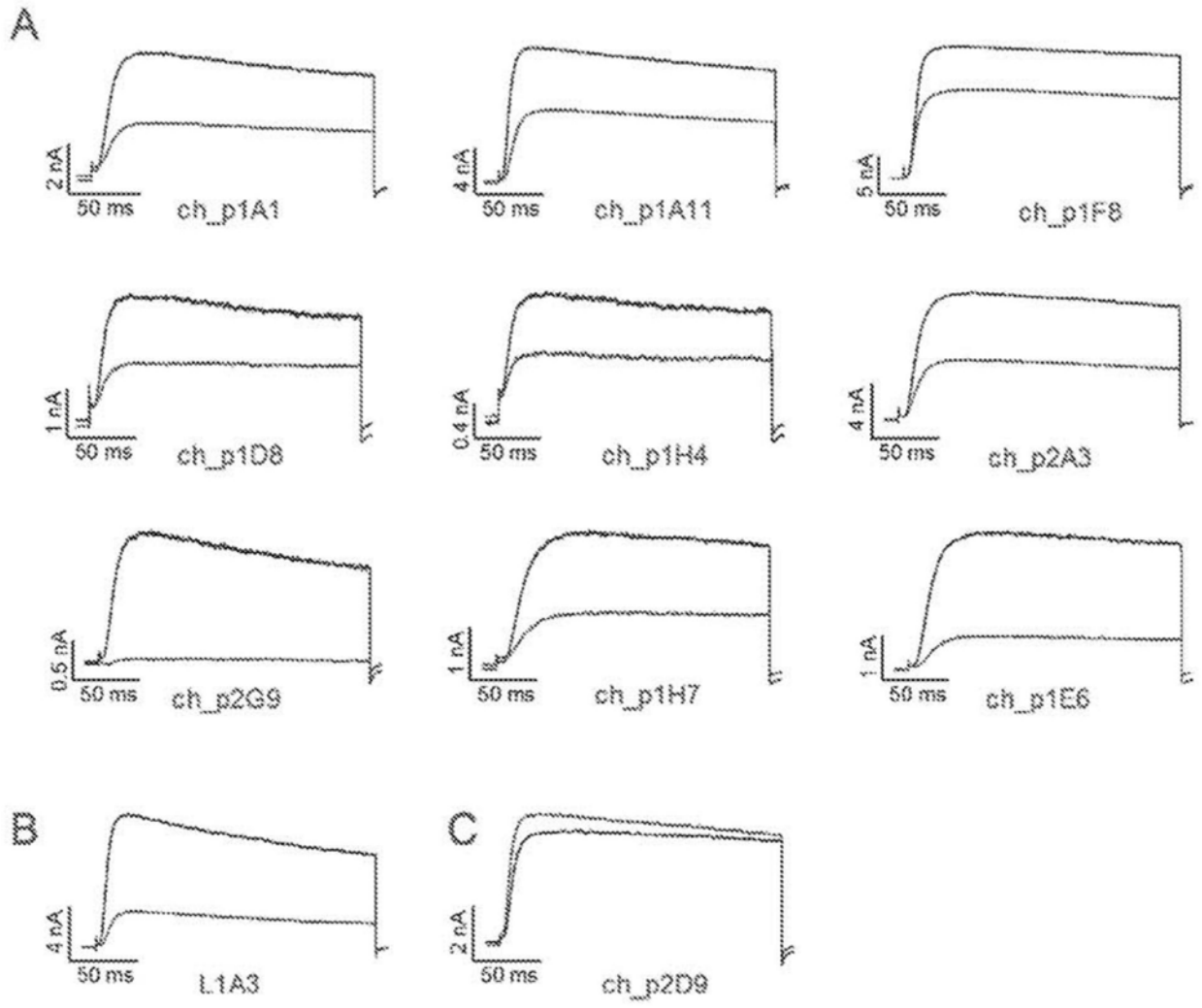


图7A-C

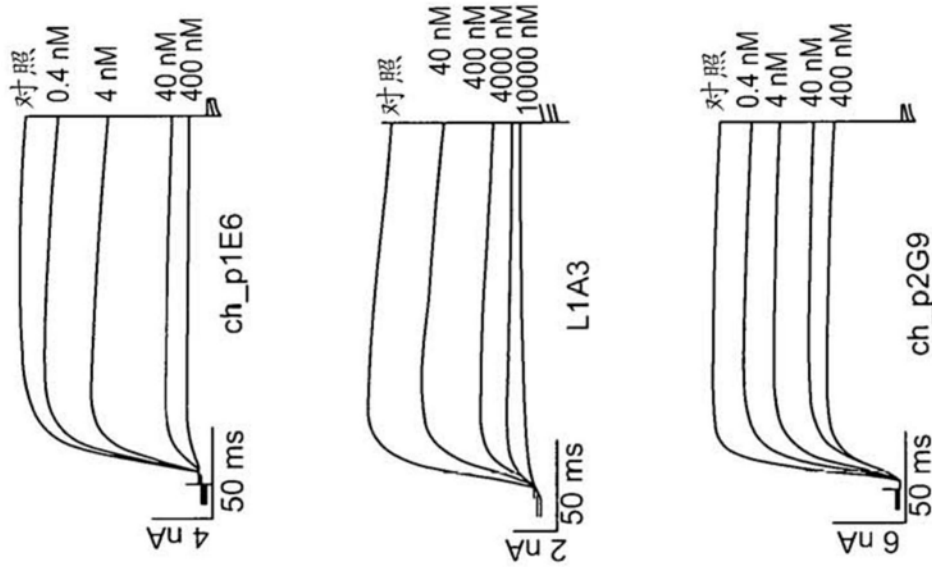


图8A

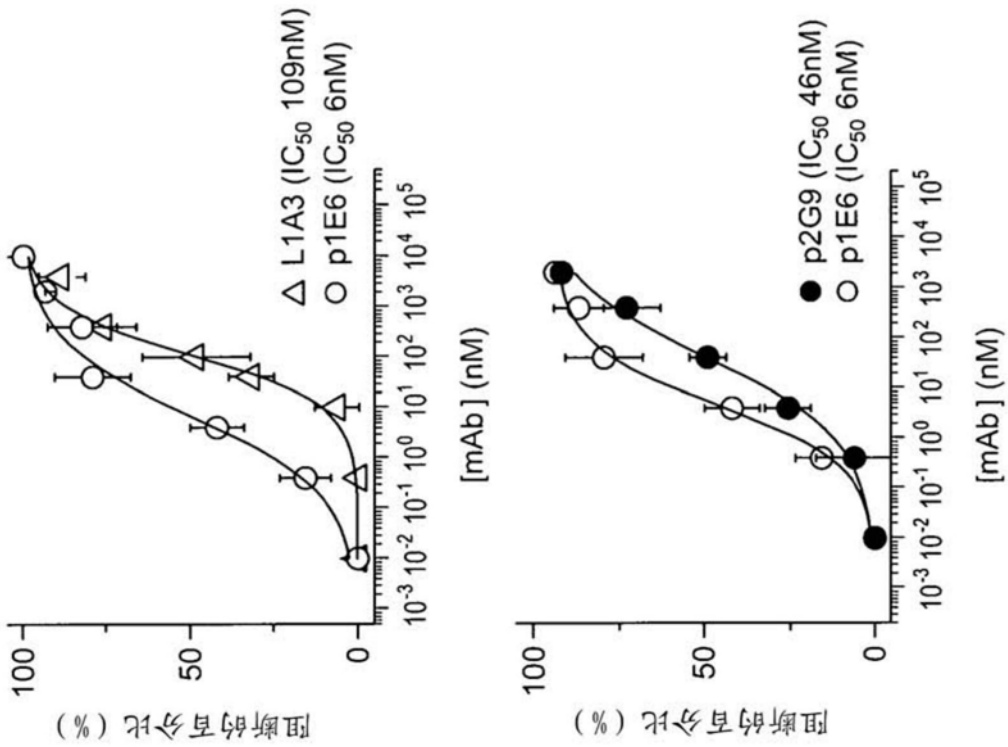


图8B

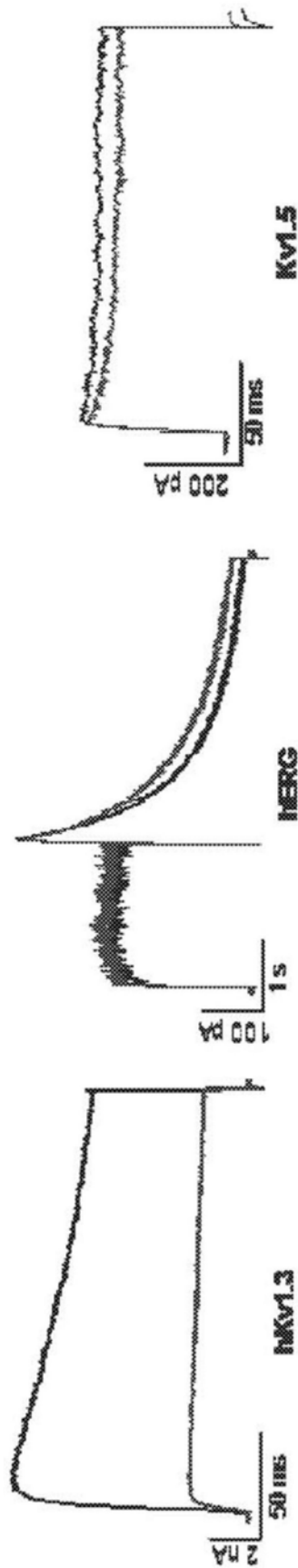


图9

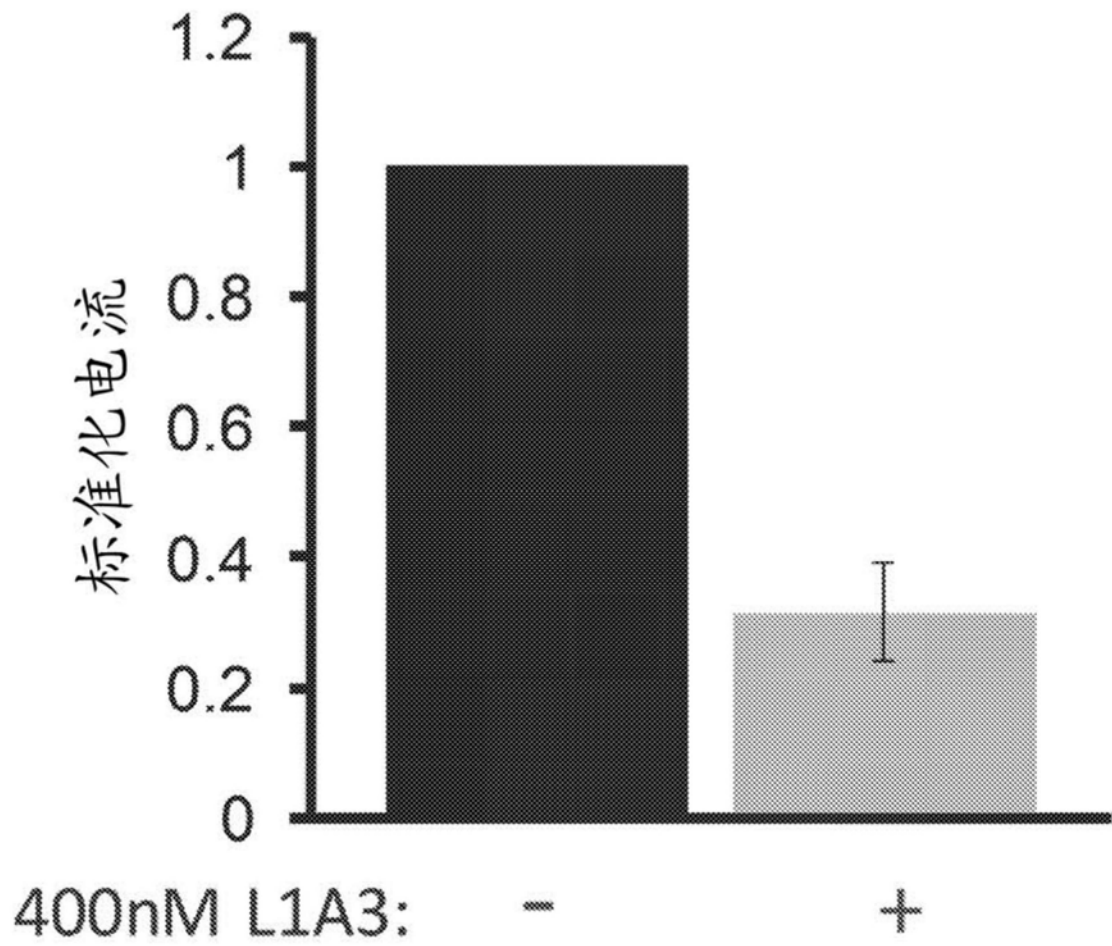


图10

轻链可变区序列比对

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR1	CDR2
3	19724p1_F8	-AVTQPASVSANPGETVETCSGS-----SGSYGWYQQKAPGSAPVTVIYDNTNRPSDIP	
4	19724p1_A9	ALTQQPASVSANPGETVKITCSGGNYAGSYYYGWYQQKAPGSAPVTVIYDNTNRPSNIP	
5	19724p2_A5	-AVTQPASVSANPGETVKITCSGG-----GSSYYGWYQQKSPGRTPVTVIYDNTNRPSDIP	
6	19724p2_H10	-AVTQPASVSANPGETVKITCSGG-----GSSYYGWYQQKSPGRTPVTVIYDNTNRPSDIP	
7	19724p2_A2	-ALTQPASVSANPGETVEITCSGGRS---DYYSWHQQEAPGSAPVTVIYDNTNRPSDIP	
8	19724p1_F6	-ALTQPASVSANLGETVKVITCSGGYS---RYGYSWHQQKSPGSAPVTVIYESNKRPSDIP	
9	19724p1_D2	-ALTHPASVSANPGETVKVITCSGGYS---NYGYSWHQQKSPGSAPVTVIYDNTNRPSDIP	
10	19724p1_E2	-ALTQPASVSANPGETVKVITCSGGYS---SYGYSWFQQKSPGSAPVTVIYDNTNRPSDIP	
11	19724p1_H2	-ALTQPASVSANPGETVKVITCSGGYS---SYGYSWFQQKSPGSAPVTVIYDNTNRPSDIP	
12	19724p2_D2	-ALTQPASVSANLGGTVEITCSRDDS----GYGYGWYQQKSPGSALVTVIYSSNNQRPSDIP	
13	19724p2_H12	-ALTQPASVSANLGGTVEITCSRDDS----GYGYGWYQQKSPGSALVTVIYSSNNQRPSDIP	
14	19724p2_H4	-ALTQPASVSANLGGTVEITCSRDDS----GYGYGWYQQKSPGSALVTVIYSSNNQRPSDIP	
15	19724p1_C4	-ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSYAGSYYYGWHQQKSPGSAPVTVIYNNKRPSDIP	
16	19724p2_E6	-ALTQPSSVSANLGGTVEITCSGG-----SYTYGWFQQKSPGSAPVTVIYNNKRPSDIP	
17	19724p1_C12	ALTQQPASVSANPGETVKITCSGG-----SYTYGWFQQKSPGSAPVTVIYSSNQRPSNIP	
18	19724p1_F7	ALTQQPASVSANPGETVKITCSGG-----SYTYGWFQQKSSGSALVTVIYDNTNRPSDIP	
19	19724p1_F9	ALTQQPASVSANPGETVKITCSGG-----SYTYGWFQQKSPGSALVTVIYDNTNRPSDIP	
20	19724p2_B5	-AVTQPASVSANLGETVKITCSGGGS---GSYYGWYQQKSPGSAPVTVIYEDTKRPSNIP	
21	19724p2_G9	-ALTQPASVSANPGETVKITCSGGGS---GYFFGWYQQKSPGSAPVTVIYESNKKPSNIP	
22	19724p1_A11	-ALTQPASVSTNPGETVKITCSGGGS---GYFFGWYQQKSPGSAPVTVIYESNKRPSNIP	
23	19724p1_H7	-ALTQPASVSANPGETVKITCSGGGS---GYFFGWYQQKSPGSAPVTVIYESNKRPSNIP	

图11A

轻链可变区序列比对 (续)

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR1	CDR2
24	19724p2_A3		
25	19724p1_H12		
26	19724p1_A5		
27	19724p1_E3		
28	19724p2_D1		
29	19724p2_H6		
30	19724p1_B11		
31	19724p1_F3		
32	19724p2_A7		
33	19724p2_C4		
34	19724p1_G6		
35	19724p1_D11		
36	19724p2_D9		
37	19724p1_A1		
38	19724p1_H4		
39	19724p1_D8		
40	19724p2_F7		
41	19724p1_B1		
42	19724p1_E6		

图11A (续)

轻链可变区序列比对 (续)

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR3
3	19724p1_F8	SRFSGSASGSTATLTIIGVQVEDEGVYFCGGYDSNTY-AGIFGAGTTLTVL
4	19724p1_A9	SRFSGSLSGSTATLTIIGVQVEDEAVYFCGNEDSST- <u>---STFGAGTTLTVL</u>
5	19724p2_A5	SRFSGSKSGSTATLTIIGVQAEDEAVYFCGAWEGSS- <u>---PAFGAGTTLTVL</u>
6	19724p2_H10	SRFSGSKSGSTATLTIIGVQAEDEAVYFCGAWEGSS- <u>---PAFGAGTTLTVL</u>
7	19724p2_A2	SRFSGAVSGSTGTLTIIGVQAEDEAVYFCGGYDDTIN- <u>---PIFGAGTTLTVL</u>
8	19724p1_F6	SRFSGSKSGSTGTLTIIGVQAEDEAVYFCGSTDNNGY- <u>---PAFGAGTTLTVL</u>
9	19724p1_D2	SRFSGSKSGSTATLTIIGVQAEDEAVYFCGSTDNNGY- <u>---PAFGAGTTLTVL</u>
10	19724p1_E2	SRFSGSKSGSTGTLTIIGVQAEDEAVYFCGSTDINGY- <u>---PAFGAGTTLTVL</u>
11	19724p1_H2	SRFSGSKSGSTGTLTIIGVQAEDEAVYFCGSTDINGY- <u>---PAFGAGTTLTVL</u>
12	19724p2_D2	SRFSGSKSGSTHALTIAGVRAEDEAVYCCSFDSSTYVTDI- <u>FGAGTTLTVL</u>
13	19724p2_H12	SRFSGSKSGSTHTLTIIGVRAEDEAVYCCSFDSSTYVTDI- <u>FGAGTTLTVL</u>
14	19724p2_H4	SRFSGSKSGSTHTLTIIGVRAEDEAVYCCSFDSSTYVTDI- <u>FGAGTTLTVL</u>
15	19724p1_C4	SRFSGALSGSTNTLTIIGVQAEDEAVYFCGSDSSRT- <u>---AAFGAGTTLTVL</u>
16	19724p2_E6	SRFSGSLSGSTNTLTIIGVQADDEAVYCCGSTDSSYV- <u>---DIFGAGTTLTVL</u>
17	19724p1_C12	SRFSGSLSGSTNTLTIIGVRAEDEAVYCCGSTDSSYV- <u>---DIFGAGTTLTVL</u>
18	19724p1_F7	SRFSGSASGSTATLTIIGVQAEDEAVYFCGSEFSSGD- <u>---GIFGAGTTLTVL</u>
19	19724p1_F9	SRFSGSASGSTATLTIIGVQAEDEAVYFCGSEFSSGD- <u>---GIFGAGTTLTVL</u>
20	19724p2_B5	SRFSGSASGSTATLTIIGVVRADDEAVYFCGAYDGSY- <u>---TPIFGAGTTLTVL</u>
21	19724p2_G9	SRFSGSTSGSTNTLTIIGVQADDEAVYFCGTYDSIEA- <u>---IFGAGTTLTVL</u>
22	19724p1_A11	SRFSGSTSGSTNTLTIIGVQADDEAVYFCGTYDSIEA- <u>---IFGAGTTLTVL</u>
23	19724p1_H7	SRFSGSTSGSTNTLTIIGVQADDEAVYFCGTYDSIEA- <u>---IFGAGTTLTVL</u>

图11B

轻链可变区序列比对 (续)

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR3
24	19724p2_A3	SRFSGTSGSTNTLTIIGVQADDEAVYFCGTYDSIEA---IFGAGTTLTVL
25	19724p1_H12	SRFSGSKSGSTVTLTIIGVRAEDEAVYFCGTEDNTG--AAIFGAGTTLTVL
26	19724p1_A5	SRFSGTSGSTTTLTIIGVRAEDEAVYFCGSDSS---GIFGAGTTLTVL
27	19724p1_E3	SRFSGTSGSTTTLTIIGVRAEDEAVYFCGSDSS---GIFGAGTTLTVL
28	19724p2_D1	SRFSGSKSGSTATLTIIGVQAEDEAVYCGNADKTSG---TFGAGTTLTVL
29	19724p2_H6	SRFSGSKSGSTATLTIIGVQAEDEAVYCGNADKTSG---TFGAGTTLTVL
30	19724p1_B11	SRFSGTSGSTLTIIGVQADDEAVYFCGNADSSAGDDAIFGAGTTLTVL
31	19724p1_F3	SRFSGTSGSTLTIIGVQADDEAVYFCGNADSSAGDDAIFGAGTTLTVL
32	19724p2_A7	SRFSGSKSGSTGTLTIIGVQVEDEAVYFCGAREDSSD--TSSFGAGTTLTVL
33	19724p2_C4	SRFSGSKSGSTGTLTIIGVQVEDEAVYFCGAREDSSD--TSSFGAGTTLTVL
34	19724p1_G6	SRFSGSKSGSTGTLTIIGVQAEDEAVYCGAWESSN--SGVFGAGTTLTVL
35	19724p1_D11	SRFSGSKSGSTGTLTIIGVQAEDEAVYCGGYDSSD--SGIFGAGTTLTVL
36	19724p2_D9	SRFSGSKSGSTNTLTIIGVRAEDEAVYFCGGYDSSNG--GTFGAGTTLTVL
37	19724p1_A1	SRFSGSKSGSTNTLTIIGVRAEDEAVYFCGGYDSSNG--GTFGAGTTLTVL
38	19724p1_H4	SRFSGSKSGSTNTLTIIGVRAEDEAVYFCGGYDSSNG--GTFGAGTTLTVL
39	19724p1_D8	SRFSGSKSGSTGTLTIIGVQAEDEAVYFCGSWDSSAG--YSTFFGAGTTLTVL
40	19724p2_F7	SRFSGLSGSTNTLTIIGVQADDEAVYCGSADSSV---LFGAGTTLTVL
41	19724p1_B1	SRFSGLSGSTNTLTIIGVRAEDEAVYCGSWDSSAG---IFGAGTTLTVL
42	19724p1_E6	SRFSGLSGSTNTLTIIGVRAEDEAVYCGSWDSSAG---IFGAGTTLTVL

图11B(续)

独特轻链 CDR 序列比对

SEQ ID NO.	CDR 1	SEQ ID NO.	CDR 2	SEQ ID NO.	CDR3
43	SGS---SGSYG	70	DNTRPS	89	GGYDSNTY--A
44	SGGNYAGSYYG	71	NDNKRPS	90	GNEDSST----
45	SGG---GSSYYG	72	ESNKRPS	91	GAWEGSS----
46	SGGRS---DYYS	73	YNDKRPS	92	GGYDDTIN--
47	SGGYS---RYGYS	74	SNNQRPS	93	GSTDNNGY--
48	SGGYS---NYGYS	75	NNNKRPS	94	GSTDNNGY--
49	SGGYS---SYGYS	76	YNKKRPS	95	GSTDINGY--
50	SRDDS---GYGYG	77	SNSQRPS	96	GSFDSSTYVT
51	SGGYSAGSYYG	78	YNDNRPS	97	GSIDSSRT--
52	SGG-----SYTYG	79	EDTKRPS	98	GSTDSSYV--
53	SGG-----SYSYG	80	ESNKKPS	99	GSFDSSSGD--
54	SGGS---GSYYYG	81	WDDERPS	100	GAYDGSTY-T
55	SGGS---GYFFG	82	YNSKRPS	101	GTYDSIEA--
56	SGGS---SNYYG	83	RNDKRPS	102	GTEDNTG--A
57	SGDGS---SSYYG	84	HNDKRPS	103	CGSIDSS----
58	SGGG---GSYG	85	WNDKRPS	104	GNADKTSG--
59	SGGSY---SNYYG	86	YNKKRPS	105	GNADSSAGDD
60	SGSS-----GSYG	87	ENTKRPS	106	GAREDSSD-T
61	SGSD---SNNYG	88	ENNKRPS	107	GAWESSN-S
62	SGGS---GSSYYG			108	GGYDGSSD-S
63	SGGG---GSYYG			109	GGYDSSNG---
64	SGGG---SSYYG			110	GSWDSSAG-Y
65	SGGG---SRYYG			111	GSADSSSV--
66	SGSSVSG---YG			112	GSWDSSAG--
67	SGGNYDGSYYG				
68	SGG-----GSYYG				
69	SGGYSDDGSYYG				

图12

重链可变区序列比对

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR1	CDR2
125	19724p1_F8	MAAVTLDESGGGLQTPGGGLSLVCKASGDFNDYGMGWVVRQAPGKGLFVAGIY-SSGRY	
126	19724p2.D1	MAAVTLDESEGGGLQTPGGGLSLVCKASGFTFSSYNNMGWVVRQAPGKGLFVAAIS-NDANF	
127	19724p2.H6	MAAVTLDESEGGGLQTPGGGLSLVCRASGFTFSSYNNMGWVVRQAPGKGLFVAAIS-NDANF	
128	19724p1_C4	MAAVTLDESGGGLQTPGGTSLVCKASGFTFSDYGMGWVVRQAPGKGLFVVAEID-SAGSS	
129	19724p1_E6	MAAVTLDESGGGLQTPGGTSLVCKASGFTFSSHGMQWVVRQAPGKGLFVAGIS-RDGSR	
130	19724p1_A11	MAAVTLDESGGGLRTPGGALSIVCKGSGFTFSDRGMFVVRQAPGKGLFVAGIS-SSGRS	
131	19724p1_H7	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKGSGFTFSDRCMFVVRQAPGKGLFVAGIS-SSGRS	
132	19724p2.A3	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYGMFVVRQAPGKGLFVAGIS-SSGRS	
133	19724p2.G9	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYGMFVVRQAPGKGLFVAGIS-SSGRS	
134	19724p2.A5	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTMSSYAMYWVVRQAPGKGLFVVAEIN-AVGST	
135	19724p2.H10	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTMSSYAMYWVVRQAPGKGLFVVAEIN-AVGST	
136	19724p1_A5	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYGMQWVVRQAPGKGLFVAGIS-ATGSE	
137	19724p1_E3	MAAVTLDESEGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYGVQWVVRQAPGKGLFVAGIS-ATGSE	
138	19724p2.A7	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYQMNWVVRQAPGKGLFVAAIN-SFGNS	
139	19724p2.C4	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYQMNWVVRQAPGKGLFVAAIN-SFGNS	
140	19724p1_G6	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYQMNWIRQAPGKGLFVAAIN-RFGNT	
141	19724p1_D8	MAAVTLDESGGGLQTPGGGLSLVCKASGDFDSSYQMNWVVRQAPGKGLFVAAIN-RFGNS	
142	19724p1_E2	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYQMNWIRQAPGKGLFVAAIN-RFGNS	
143	19724p1_H2	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYQMNWIRQAPGKGLFVAAIN-RFGNS	
144	19724p1_D2	MAAVTLDESGGGLQTPGGGLSLVCKASGDFDSSYQMNWIRQAPGKGLFVAAIN-RFGNG	
145	19724p1_F6	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGDFDSSYQMNWIRQAPGKGLFVAAIN-RFGNS	
146	19724p1_A9	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSTHGMFVVRQAPGKGLFVAKIN-AAGSG	
147	19724p2.B5	MAAVTLDESGGGLQTPGGGLSLVCKASGFSFSSYGMFVVRQAPGKGLFVVAEIVSSNDGSD	

图13A

重链可变区序列比对 (续)

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR1	CDR2
148	19724p2.F7	MAAVTLDESGGGLQTPGGGLSLVCKASGDFSSYAMWVRQAPGKGLEWVAGID-DGGSY	
149	19724p1_B11	MAAVTLDESGGGLQTPGGGLSLVCKASGTFSSYAMGWVRQAPGKGLEWVAGID-DDGSD	
150	19724p1_F3	MAAVTLDESGGGLQAPGGGLSLVCKASGTFSSYAMGWVRQAPGKGLEWVAGID-DDGSD	
151	19724p2.E6	MAAVTLDESGGGLQTPGGGLSLVCKASGTFSSFNMFVVRQTPGKGLEWVAGIE-NDGG-	
152	19724p1_B1	MAAVTLDESGGGLQTPGGTSLVCKASGTFSSYAMFVVRQTPGKGLEYVAEIT-NTGSE	
153	19724p1_D11	MAAVTLDESEGGLOTPGGGLSLVCKASGFISSFNMFVVRQAPGKGLELVAEIS-DTGTIT	
154	19724p1_C12	MAAVTLDESGGGLQTPGGGLSLVCKASGTFSSYSVQWVRQAPGKGLEWVAGIE-NDGGG	
155	19724p2.A2	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFSSSHGMFVVRRTPGKGLEYVAEIT-NTGSE	
156	19724p1_H12	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFSISSYGMWVRQAPGKGLEWVGVIS-NSGSS	
157	19724p1_F7	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSLICKASGTFSSYTMGWVRQAPGKGLEWVGVIS-KDGGG	
158	19724p1_F9	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSLICKASGTFSSYTMGWVRQAPGKGLEWVGVIS-KDGGG	
159	19724p1_A1	MAAVTLDESGGGLQTPGGTSLVCKASGTFSSYAMWVRQAPGKGLEFVASIS-VADSS	
160	19724p1_H4	MAAVTLDESGGGLQTPGGTSLVCKASGTFSSYAMWVRQAPGKGLEFVASIS-VADSS	
161	19724p2.D9	MAAVTLDESGGGLQTPGGTSLVCKASGTFSSYAMWVRQAPGKGLEFVASIS-VADSS	
162	19724p2.H12	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGTFSSFNMNWVRQAPGKGLEWVASIS-NTGSS	
163	19724p2.D2	MAAVTLEESGGLOTPGGALSLVCKASGTFSSFNMNWVRQAPGKGLEWVASIS-NTGSS	
164	19724p2.H4	MAAVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGTFSSFNMNWVRQAPGKGLEWVASIS-NTGSS	

图13A(续)

重链可变区序列比对 (续)

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR2 (续)	CDR3
125	19724p1_F8	<u>TYGAAVQGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDAAIYYCAKNADSGYY</u> -----T-----	
126	19724p2.D1	<u>TAYGSAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYFCAKSAGTGCN</u> -----NGYNCADY	
127	19724p2.H6	<u>TAYGSAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYFCAKSAGTGCN</u> -----NGYNCADY	
128	19724p1_C4	<u>TYTTPAVRGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYYCTKCSGSG</u> -----GC-----	
129	19724p1_E6	<u>TRYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTAIYFCAKSAYEC</u> -----DGYSCWTF	
130	19724p1_A11	<u>AAYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYFCAKSTGTG</u> -----YG-----	
131	19724p1_H7	<u>AAYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYFCAKSTGTG</u> -----YG-----	
132	19724p2.A3	<u>TAYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYFCAKSTGTG</u> -----YG-----	
133	19724p2.G9	<u>TAYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYFCAKSTGTG</u> -----YG-----	
134	19724p2.A5	<u>TGYGPAVDGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYYCAKSYSN</u> -----CGGYSC--A	
135	19724p2.H10	<u>TGYGPAVDGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYYCAKSYSN</u> -----CGDYSC--A	
136	19724p1_A5	<u>TSYAPAVKGRATISRDNGQSTVRLQLDNLRAEDTATYYCAKAAGSGRC</u> -----AGAGGYCN	
137	19724p1_E3	<u>TSYAPAVKGRATISRDNGQSTVRLQLDNLRAEDTATYYCAKAAGSGRC</u> -----AGAGGYCN	
138	19724p2.A7	<u>TGHGAAVKGRATISRDDGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYYCAKGAYD</u> -----YCG-GGWCN	
139	19724p2.C4	<u>TGHGAAVKGRATISRDDGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYYCAKGAYD</u> -----YCGSGGWCN	
140	19724p1_G6	<u>TGPGAAVKGRVTISRDDGQSTVRLQLSNLRAEDTGTYYCAKGAYG</u> -----YCGSGGWCN	
141	19724p1_D8	<u>TGHGAAVKGRVTISRDDGQSTVRLQLSNLRAEDTATYFCAKGAYG</u> -----YCGSGSWCA	
142	19724p1_E2	<u>TGHGAAVKGRVTISRDDGQSTVRLQLSDPRAEDTATYYCAKSAYG</u> -----YCGSGSWCS	
143	19724p1_H2	<u>TGHGAAVKGRVTISRDDGQSTVRLQLSDLRAEDTATYYCAKSAYG</u> -----YCGSGSWCS	
144	19724p1_D2	<u>TGHGAAVKGRVTISRDDGQSTVRLQLNNLRAEDTATYYCAKGAYG</u> -----YCGSGSWCS	
145	19724p1_F6	<u>TGHGAAVKGRVTISRDDGQSTVRLQLSNLRAEDTATYFCAKGAYG</u> -----YCGSGSWCS	
146	19724p1_A9	<u>TGYGSAVKGRATISRDNGQSTLRLQLNNLRAEDTGTYYCAKDNVD</u> -----CGKSI CGAY	
147	19724p2.B5	<u>TSYGSAAVEGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYFCAKSSHE</u> -----CGKSSCWGY	

图13B

重链可变区序列比对 (续)

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR2 (续)	CDR3
148	19724p2.F7	<u>TGYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYYCARGGL</u> -----	
149	19724p1_B11	<u>TLYAPAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYYCAKSAAGRGYCWNTAGGYRCTPY</u>	
150	19724p1_F3	<u>TLYAPAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYYCAKSAAGRGYCWNTAGGYRCTPY</u>	
151	19724p2.E6	<u>ADYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYYCAKTAD</u> -----SGSGCIWG	
152	19724p1_B1	<u>TRYGAAVKGRGTISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYFCAKGVYGY</u> -----CGSGSWCC	
153	19724p1_D11	<u>TYGSAVKGRATISRDNGQSTVRLQLDNLRAEDTGTYYCAKAAGG</u> -----GCPTC--TY	
154	19724p1_C12	<u>TDYGSAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYYCARNAG</u> -----AGCDWNG	
155	19724p2.A2	<u>TAYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYYFCAKSSYD</u> -----CGTGCWGY	
156	19724p1_H12	<u>TNYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGIYFCAKDFGC</u> -----SGSSCVGY	
157	19724p1_F7	<u>TYYGSAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYYCARGVS</u> -----	
158	19724p1_F9	<u>TYYGSAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYYCARGVS</u> -----	
159	19724p1_A1	<u>THYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYYCAKSSYQ</u> -----CADNCWGY	
160	19724p1_H4	<u>THYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYYCAKSSYQ</u> -----CADNCWGY	
161	19724p2.D9	<u>THYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYYCAKSSYQ</u> -----CADNCWGY	
162	19724p2.H12	<u>TAYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLGAEDTGTYYCTRGS</u> -----	
163	19724p2.D2	<u>TAYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYYCTRGS</u> -----	
164	19724p2.H4	<u>TAYGAAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYYCTRGS</u> -----	

图13B(续)

重链可变区序列比对 (续)

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR3 (续)
125	19724p1_F8	<u>GAGYIDAWGHGTEVIVS</u>
126	19724p2.D1	<u>TPGYIDSWGHGTEVIVS</u>
127	19724p2.H6	<u>TPGYIDSWGHGTEVIVS</u>
128	19724p1_C4	<u>AYGEIDTWGHGTEVIVS</u>
129	19724p1_E6	<u>IAGSIDAWGHGTEVIVS</u>
130	19724p1_A11	<u>GVGEIDAWGHGTEVIVS</u>
131	19724p1_H7	<u>GVGEIDAWGHGTEVIVS</u>
132	19724p2.A3	<u>GVGEIDAWGHGTEVIVS</u>
133	19724p2.G9	<u>GVGEIDAWGHGTEVIVS</u>
134	19724p2.A5	<u>-AANIDAWGHGTEVIVS</u>
135	19724p2.H10	<u>-AANIDAWGHGTEVIVS</u>
136	19724p1_A5	<u>-PGSIDTWGHGTEVIVS</u>
137	19724p1_E3	<u>-PGSIDTWGHGTEVIVS</u>
138	19724p2.A7	<u>-TAYIDAWGHGTEVIVS</u>
139	19724p2.C4	<u>-TAYIDAWGHGTEVIVS</u>
140	19724p1_G6	<u>-AAYIDAWGHGTEVIVS</u>
141	19724p1_D8	<u>-AGLIDAWGHGTEVIVS</u>
142	19724p1_E2	<u>-PATIDAWGHGTEVIVS</u>
143	19724p1_H2	<u>-PATIDAWGHGTEVIVS</u>
144	19724p1_D2	<u>-PATIDAWGHGTEVIVS</u>
145	19724p1_F6	<u>-PATIDAWGHGTEVIVS</u>
146	19724p1_A9	<u>-AGSIDAWGHGTEVIVS</u>
147	19724p2.B5	<u>-IGSIDAWGHGTEVIVS</u>

图13C

重链可变区序列比对 (续)

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR3 (续)
148	19724p2.F7	<u>---TIDTWGRGTEVIIVS</u>
149	19724p1_B11	<u>-LGDMDAWGHGTEVIIVS</u>
150	19724p1_F3	<u>-LGDMDAWGHGTEVIIVS</u>
151	19724p2.E6	<u>-VGCIDAWGHGTEVIIVS</u>
152	19724p1_B1	<u>-THIIDAWGHGTEVIIVS</u>
153	19724p1_D11	<u>-TDGIDAWGHGTEVIIVS</u>
154	19724p1_C12	<u>-AGCIDAWGHGTEVIIVS</u>
155	19724p2.A2	<u>-IGSIDAWGHGTEVIIVS</u>
156	19724p1_H12	<u>---NIDAWGHGTEVIIVS</u>
157	19724p1_F7	<u>--SDIDAWGHGTEVIIVS</u>
158	19724p1_F9	<u>--SDIDAWGHGTEVIIVS</u>
159	19724p1_A1	<u>-PYGIDTWGHGTEVIIVS</u>
160	19724p1_H4	<u>-PYGIDTWGHGTEVIIVS</u>
161	19724p2.D9	<u>-PYGIDTWGHGTEVIIVS</u>
162	19724p2.H12	<u>---AIDAWGHGTEVIIVS</u>
163	19724p2.D2	<u>---AIDAWGHGTEVIIVS</u>
164	19724p2.H4	<u>---AIDAWGHGTEVIIVS</u>

图13C (续)

独特重链 CDR 序列比对		SEQ ID NO.	CDR1	SEQ ID NO.	CDR2
		165	NDYGM	178	GIY--SSGRYTYGAAVQ
		166	SSYNM	179	AIS--NDANFTAYGSAVK
		167	SDYGM	180	EID--SAGSSTYYTPAVR
		168	SSHGM	181	GIS--RDGSRTRYGAAVK
		169	SDRGM	182	GIS--SSGRSAAYGAAVK
		170	SSYGM	183	GIS--SSGRSTAYGAAVK
		171	SSYAM	184	EIN--AVGSTTGYGPAVD
		172	SSYGV	185	GIS--ATGSETSYAPAVK
		173	SSYQM	186	AIN--SFGNSTGHGAAVK
		174	STHGM	187	AIN--RFGNTTGPFAAVK
		175	SSFNM	188	AIN--RFGNSTGHGAAVK
		176	SSYSV	189	AIN--RFGNGTGHGAAVK
		177	SSYTM	190	KIN--AAGSGTGYGSAVK
				191	EVSSNDGSDTSYGS AVE
				192	GID--DGGSYTGYGAAVK
				193	GID--DDGSDTLYAPAVK
				194	GIE--NDGG--ADYGAAVK
				195	EIT--NTGSETRYGAAVK
				196	EIS--DTGTTTYGSAVK
				197	GIE--NDGGTDYGS AVK
				198	EIT--NTGSETAYGAAVK
				199	VIS--NSGSS TNYGAAVK
				200	VIS--KGGSTYYGSAVK
				201	SIS--VADSS THYGAAVK
				202	SIS--NTGSS TAYGAAVK

图14

SEQ ID NO.	CDR3
203	NADSGYY-----T-----GAGYIDAW
204	SAGTGCN-----NGYNCADYTPGYIDSW
205	CSGSG-----GC-----AYGEIDTW
206	SAYEC-----DGYSCWTFIAGSIDAW
207	STGTG-----YG-----GVGEIDAW
208	SYSN-----CGGYSC--A-AANIDAW
209	SYSN-----CGDYSC--A-AANIDAW
210	AAGSGRC-----AGAGGYCN-PGSIDTW
211	GAYD-----YCG-GGWCN--TAYIDAW
212	GAYD-----YCGSGGCN--TAYIDAW
213	GAYG-----YCGSGWCN--AAYIDAW
214	GAYG-----YCGSGSWCA-AGLIDAW
215	SAYG-----YCGSGSWCS-PATIDAW
216	GAYG-----YCGSGSWCS-PATIDAW
217	DNYD-----CGKICGAY-AGSIDAW
218	SSHE-----CGKSSCWGY-IGSIDAW
219	GGL-----TIDTW
220	SAGRGYCWNTAGGYRCTPY-LGDMDAW
221	TAD-----SGSGCIWG-VGCIDAW
222	GVYG-Y-----CGSGSWCG-THIIDAW
223	AAGG-----GCPTC-TY-TDGDIDAW
224	NAG-----AGCDWG-AGCIDAW
225	SSYD-----CGTGCWGY-IGSIDAW
226	DFGC-----SGSSCVGY---NIDAW
227	GVS-----SDIDAW
228	SSYQ-----CADNCWGY-PYGDIDTW
229	GS-----AIDAW

图14(续)

轻链可变区序列比对

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR1	CDR2
230	3A12_VL	<u>LEIVMTQSPSSVTASAGERVTINCKSSQSVLSGSGNQKTYLNWYQORPGQSPRLLIYYAST</u>	
231	1A3_VL	<u>LDIQMTQSPSSVTASVGEKVTINCKSSQSVVSASNQKSYLNWYQORPGQSPRLLIYYAST</u>	
232	3B12_VL	<u>LEIVLTQSPSSVTASVGEKVTINCKSSQSVVSGSNQKSYLNWYQORPGQSPRLLIYYAST</u>	
233	3B6_VL	<u>LDLVLTIQIPGSLSVVPGESVSI<del>CKSSQSLH</del>-TDGKTYAYWLQKPGQRPQLLSQVSI</u>	
234	3A4_VL	<u>LATMLTQSPGSLSVVPGESASISCKASQSLMH-TDGKTYFYWLQKPGQRPQLLIYQVSN</u>	
235	3B2_VL	<u>LATMLTQSPGSLSVVPGESASISCKASQSLIH-TDGKTYLYWLQKPGQRPQLLIYQVSN</u>	
236	3F9_VL	<u>LDVLTQTTPGSLSVVPGESASISCKTSQSLVR-SDGNTFLYLLQKPGQSPQRLLIYQVSN</u>	
237	2A10_VL	<u>LATMLTQSPGSLSVVPGESASISCKASESLVF-SDGKTYLYWLLQKPGQSPQRLLIYQVSN</u>	
238	3E12_VL	<u>LATMLTQSPDLSLVVPGESASISCKASQSLIH-TDEKTYLYWLLQKPGQSPQRLLIYQVSN</u>	
239	3F4_VL	<u>LATMLTQSPGSLSVVPGQASISCKASQTLVH-SDGKTYFTWLLQKPGQSPQRLLIYQVAN</u>	
240	3E5_VL	<u>LATMLTQSPGSLSVVPGESASVSCATQSLVH-SDGKTYLYWLLQKPGQSPQRLLIYQVSN</u>	
241	2A2_VL	<u>LDLVLTIQIPGSLSVVPGESASISCKASQSLVH-SDGKTYLYWLLQKPGQSPQRLLIYQVSN</u>	
242	3F2_VL	<u>LDLVLTIQIPGSLSVVPGESASISCKGSQSLVH-SDGKTYLYWLLHHPGQSPQRLLIYQVSN</u>	
243	3G10_VL	<u>-HSAVT-QPPSVSGTLGKTVTISCAGTSSDVG---YGNVYSWYQQLPGTAPKLLIYRDTT</u>	
244	3C7_VL	<u>-HSAVT-QPPSVSGTLGKTLTISCAGTSSDIG---GYNVSVWYQQLPGTAPKLLIYEVNK</u>	
245	2E2_VL	<u>-HSAVT-QPPSVSGTLGKTVTISCAGTSSDIG---GYNVYSWYQQLPGTAPKLLIYKVST</u>	
246	3H5_VL	<u>-QSALT-QPPSVSGTLGKTVTISCAGTSSDIG---GYNVYSWYQQLPGTAPKLLIYKVST</u>	
247	1E6_VL	<u>-QTVVT-QEPLSVSPGGTTLTCGLSSGSVSV---SSNYPNWYQQLPGTAPRLLIYNTNS</u>	
248	3C9_VL	<u>-QAVVT-QEPLSVSPGGTTLTCGLRSGSVT---SSNYPDWYQQLPGTAPRLLIYNTNS</u>	

图15

轻链可变区序列比对 (续)

	CDR2 (续)	CDR3
230	3A12_VL	<u>REL</u> GIPDRFSGSGSTTDFTLTISSVQPEDAAVYCCQA--- <u>YSAPYN</u> FGSGTRLEIK-
231	1A3_VL	<u>QEL</u> GIPDRFSGSGSTTDFTLTISSVQPEDAAVYCCQA--- <u>YSAPYN</u> FGSGTRLEIK-
232	3B12_VL	<u>QEL</u> GIPDRFSGSGSTTDFTLTISSVQPEDAAVYCCQA--- <u>YSAPYS</u> FGSGTRLEIK-
233	3B6_VL	<u>RSS</u> GVSDRFTGSGSGTDFTLKISGVKAEDAGVYCAQA--- <u>THYPWT</u> FGQGTKLEIK-
234	3A4_VL	<u>RDS</u> GVPTFTGSGSGTDFTLKISGVKATDAGVYCAQG--- <u>THYPI</u> SFGSGTRLEIK-
235	3B2_VL	<u>HES</u> GVPTFTGSGSGTDFTLKISGVKAEDAGVYCAQA--- <u>TYYPYA</u> FGSGTRLEIK-
236	3F9_VL	<u>RGS</u> GVPTFTGSGSGTDFTLKINGVKAEDAGVYCAQA--- <u>TYYPLS</u> FGSGTRLEIK-
237	2A10_VL	<u>RGS</u> GVPTFTGSGSGTDFTLKISGVKAEDAGVYCAQG--- <u>TYFPLT</u> FGSGTRLEIK-
238	3E12_VL	<u>RGS</u> GVPTFTGSGSGTDFTLKISGVKAEDAGVYCAQA--- <u>TYYPMT</u> FGQGTKLEIK-
239	3F4_VL	<u>RGS</u> GVSDRFTASGSGTDFTLKISGVKAEDAGVYCAQA--- <u>TYYPVT</u> FGQGTKVELK-
240	3E5_VL	<u>RAS</u> GVPTFTGSGSGTDFTLKISGVKAEDAGVYCAQA--- <u>TYYPVT</u> FGQGTKVELK-
241	2A2_VL	<u>RGS</u> GVPTFTGSGSGTDFTLKISGVKAEDAGVYCAQV--- <u>TYYPVT</u> FGQGTKVELK-
242	3F2_VL	<u>RAS</u> GVPTFTGSGSGTDFTLKISGVKAEDAGVYCAQG--- <u>TYYPLT</u> FGQGTKLEIK-
243	3G10_VL	<u>RAS</u> GIPDRFSGSKSGNTASLTISGLQSGDEADYCA <del>SYRTGG</del> -- <u>TTI</u> FGGGTHLTVLG
244	3C7_VL	<u>RAS</u> GIPDRFSGSKSGNTASLSISGLQSEDEADYCA <del>SYRSRS</del> -- <u>NYV</u> FGGGTHLTVLG
245	2E2_VL	<u>RAS</u> GIPDRFSGSKSGNTASLTISGLQSEDEADYCA <del>SYRSGG</del> -- <u>NLV</u> FGGGTRLTVLG
246	3H5_VL	<u>RAS</u> GIPDRFSGSKSGNTASLTISGLQSEDEADYCA <del>SYRSIN</del> -- <u>NAV</u> FGGGTHLTVLG
247	1E6_VL	<u>RHS</u> GVPSRYSGISGNKAALITFGADPEDEADYCAL-- <u>HKGSY</u> TVVFGGGTKLTVLG
248	3C9_VL	<u>RHS</u> GVPSRFSGSISGNKAALITGAQPEDEADYCAL <u>YISSGS</u> NAVFGGGTHLTVLG

图15(续)

独特轻链 CDR 序列比对

SEQ ID NO.	CDR 1	SEQ ID NO.	CDR 2	SEQ ID NO.	CDR 3
249	KSSQSVLSGNSQKTYLN	268	YASTREL	281	QQA---YSAPYN
250	KSSQSVVSASNQKSYLN	269	YASTQEL	282	QQA---YSAPYS
251	KSSQSVVSGNSQKSYLN	270	QVSIRSS	283	AQA---THYPWT
252	KSSQSLIH-TDGKTYAY	271	QVSNRDS	284	AQG---THYPIS
253	KASQSLMH-TDGKTYFY	272	QVSNHES	285	AQA---TYYPYA
254	KASQSLIH-TDGKTYLY	273	QVSNRGS	286	AQA---TYYPPLS
255	KTSQSLVR-SDGNTFLY	274	QVANRGS	287	AQG---TYFPPLT
256	KASESLVF-SDGKTYLY	275	QVSNRGS	288	AQA---TYYPMT
257	KASQSLIH-TDEKTYLY	276	QVSNRAS	289	AQA---TYYPVPT
258	KASQTLVH-SDGKTYFT	277	RDTTRAS	290	AQV---TYYPVPT
259	KATQSLVH-SDGKTYLY	278	EVNKRAS	291	AQG---TYYPPLT
260	KASQSLVH-SDGKTYLY	279	KVSTRAS	292	ASYRTGG--TTI
261	KGSQSLVH-SDGKTYLY	280	NTNSRHS	293	ASYRSRS--NYV
262	AGTSSDVG---YGNIVS			294	ASYRSGG--NLV
263	AGTSSDIG---GYNSVS			295	ASYRSIN--NAV
264	AGTSSDIG---GYNYVS			296	AL--HKGSYTVV
265	TGTSSDIG---GYNYVS			297	ALYISSGGSYNVAV
266	GLSSGGSVS---SSNYPN				
267	GLRSGSVT---SSNYPD				

图16

重链可变区序列比对

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR1	CDR2
298	3C9_VH	QVQVQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVSGASIA
299	3C7_VH	QVQVQESGPGLVKPSQTL	SLTCAVSGDSIT
300	1E6_VH	EVQLQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVSGDSIT
301	3G10_VH	QVQVQESGPGLVKPSQTL	SLTCTASGDSIT
302	3F9_VH	QLQLVESGPGLVKPSQTL	SLTCTIVTGGSI
303	3H5_VH	QVQLQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVFGGSI
304	3A4_VH	EVQLVQPGAELRNPGASV	KVSKASGYTF--TKFYIE
305	3B2_VH	ELQLVESGGGLVQPGGSL	RLSCAASGTF--DDYAMT
306	1A3_VH	QVQLQESGGGLVQPGGSL	RLSCAASGTF--SINGMS
307	3A12_VH	ELQLVESGGGLVQPGGSL	RLSCAASGTF--SINGMS
308	3B6_VH	QLQLVESGGGLVQPGGSL	RLSCAASGTF--GAYTMA
309	2E2_VH	QLQLVESGGGLVQPGGSL	RLSCAASGTF--SYWMY
310	3F2_VH	QLQLVESGGGLVQPGGSL	RLSCSASGTF--SSYTMS
311	3B12_VH	QVQVQESGGGLVQPGGSL	RVSCAASGTF--GNYAMS
312	2A10_VH	-----EVQLVQPGGSL	RLSCAASGTF--SSSSMH
313	2A2_VH	QLQLVESGGGLVQPGGSL	RLSCAASGTF--SNYAMT
314	3E5_VH	QVQVQESGGGLVQPGGSL	RVSCAASGTF--SSYIMN
315	3F4_VH	QVQLQESGGGLVQPGGSL	RVSCAASGTF--SDYIMN
316	3E12_VH	EVQVQESGGGLVQPGGSL	RLSCAASGTF--GSYAMY

图17



重链可变区序列比对 (续)

298	3C9_VH	TQVTVSS
299	3C7_VH	TQVTVSS
300	1E6_VH	TQVTVSS
301	3G10_VH	TQVTVSS
302	3F9_VH	TQVTVSS
303	3H5_VH	TQVTVSS
304	3A4_VH	TQVIVSS
305	3B2_VH	TQVIVSS
306	1A3_VH	TQVTVSS
307	3A12_VH	TQVTVSS
308	3B6_VH	TQVTVSS
309	2E2_VH	TQVTVSS
310	3F2_VH	TQVLVSS
311	3B12_VH	TQVTVSS
312	2A10_VH	TQVTVSS
313	2A2_VH	TQVTVSS
314	3E5_VH	TQVTVSS
315	3F4_VH	TQVTVSS
316	3E12_VH	TQVTVSS

图17(续)

独特重链 CDR 序列比对

SEQ ID NO.	CDR1	SEQ ID NO.	CDR2
317	TNYYWT	335	AIAYSG-SFYSPSLKS
318	TTYAWS	336	VIPGAG-NTYYSPALKS
319	TTYSAWS	337	VISNYG-DYYTTPSLKS
320	TSYSGWG	338	VIGYDG-RTYINPSSLKS
321	TSGYAWS	339	VIGYDG-TNYYSPSLKS
322	TNYYAWN	340	VIAYDG-ATYFNPSLKS
323	KFYIE	341	NILPEDGGTYAQQFQG
324	DYAMT	342	TISWKDDTTDYAESMKG
325	INGMS	343	SINSGGEITNYRDSVKG
326	AYTMA	344	GVNSGGDITSYADSVKG
327	SYWMY	345	TFGSGS-NTWYADSVKG
328	SYTMS	346	TINSGGV-TNYADSVKG
329	NYAMS	347	GINSGSSAYYEDSVKG
330	SSSMH	348	SINSGGDTTNYADSVKG
331	NYAMT	349	VVNSGGGSTTYADSVKG
332	SYVMN	350	QINTGGDSTYYADSVKG
333	DYYMN	351	QINTGGDRTYTDSVKG
334	SYAMY	352	TINSGGDS TNYADSLKG

图18

SEQ ID NO.	CDR3
353	NRGAYYSTGYPGGYEY
354	ASTWL-TYGLASGYDY
355	-VLYGSKWPIGPNFGS
356	ARPDGSRWYTVGEYDY
357	-----VGWGS
358	RTRYTGSYQSTPDFGS
359	-----TFGS
360	DP-----VNFGS
361	G-----IVAYDY
362	DPG-----M
363	DPTNGL---GSFTFGS
364	-----SAYS
365	SW-----ATYQY
366	-----TSYIY
367	-----PSLGS
368	-----GNLGY
369	-----SSLSS
370	-----PGFGS

图18(续)

轻链可变区序列比对		CDR1	CDR2
SEQ ID NO.	克隆名称		
371	19724p3_E12	AVTQPASVSNPGETVEITCSGGG-----YYGWYQQKSPGSAPVTVIYWNDKRPSDIPS	
372	19724p3_G3	AVTQPASVSNPGETVEITCSGGG-----YYGWYQQKSPGSAPVTVIYWNDKRPSDIPS	
373	19724p3_D3	VLTPASVSANLGGTVEITCSGGG-----NNYGWYQQKSPGSAPVTVIYSNQRPSPNIPS	
374	19724p3_G6	VLTPASVSANLGGTVEITCSGGG-----NNYGWYQQKSPGSAPVTVIYSNQRPSPNIPS	
375	19724p3_F95'	ALTQPSSVSANLGGTVKITCSGGYSDAGSYYYGWYQQKSPGSAPVTVIYSNDKRPSDIPS	
376	19724p3_F10	ALTQPASVSANLGGTVEITCSGGYSGY-DYGYGWYQQKSPGSAPVTVIYSNDKRPSDIPS	
377	19724p3_G8	ALTQPASVSANLGGTVEITCSGGYSGY-DYGYGWYQQKSPGSAPVTVIYSNDKRPSDIPS	
378	19724p3_A12	AVTQPASVSANPGETVKITCSGGG-----YEYGFQKSPGSALVTVIYDNTNRPSDIPS	
379	19724p3_E10_2	ALTQPASVSANLGGTVEITCSGGG-----YSYGFQKAPGSAPVTVIYDDTNRPSGIPS	
380	19724p3_F7	ALTQPASVSANLGGTVEITCSGGG-----YSYGFQKAPGSAPVTVIYDDTNRPSGIPS	
CD3			
371	19724p3_E12	RFSGSKSGSTATLTI TGVRAEDEAVYCCGGYDGGTDAVFGAGTTLTVL	
372	19724p3_G3	RFSGSKSGSTATLTI TGVRAEDEAVYCCGGYDGGTDAVFGAGTTLTVL	
373	19724p3_D3	RFSGSKSGSTGTLTI TGVQADDEAVYFCGSDST-DRDMFGAGTTLTVL	
374	19724p3_G6	RFSGSKSGSTGTLTI TGVQVEDEAVYFCGSDST-DRDMFGAGTTLTVL	
375	19724p3_F95'	RFSGALSGSTATLTI TGVQADDEAVYFCGSRDSN-TEAIFGAGTTLTVL	
376	19724p3_F10	RFSGSKSGSTGTLTI TGVQAEDEAVYFCGSDSS-YVGI FGAGTTLTVL	
377	19724p3_G8	RFSGSKSGSTGTLTI TGVQADDEAVYFCGSDSS-YVGI FGAGTTLTVL	
378	19724p3_A12	RFSGSSSGSANTLTI TGVQAEDEAVYCCGSDSS-GNGIFGAGTTLTVL	
379	19724p3_E10_2	RFSGSTSGSTLTI TAVQAEDEAVYCCGSDNSIYAGIFGAGTTLTVL	
380	19724p3_F7	RFSGSTSGSTLTI TAVQAEDEAVYCCGSDNSIYAGIFGAGTTLTVL	

图19

独特轻链 CDR 序列比对

SEQ ID NO.	CDR 1	SEQ ID NO.	CDR 2	SEQ ID NO.	CDR 3
381	SGGG-----YYG	387	WNDKRPS	392	GGYDGSSTD
382	SGGS-----NNYG	388	SNNQRPS	393	GDYDGSSTD
383	SGYSDAGSYYG	389	SNDKRPS	394	GSYDST-DR
384	SGYSGY-DYGYG	390	DNTNRPS	395	GSRDSN-TE
385	SGGS-----YEYG	391	DDTNRPS	396	GSTDSS-YV
386	SGGS-----YSYG			397	GSADSS-GN
				398	GSWDNSIYA

图20

重链可变区序列比对

SEQ ID NO.	克隆名称	CDR1	CDR2
399	19724p3_E10_2	<u>MAAVTLDESGGGLQTPGGGLSLVCKASGFTFSDHGMFWVRQAPGKGLEFVTGISKDGGA</u>	
400	19724p3_F7	<u>MAAVTLDESGGGLQTPGGGLSLVCKASGFTFSDHGMFWVRQAPGKGLEFVTGISKDGGA</u>	
401	19724p3_A12	<u>MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSSNMGWVRQAPGKGLEWVAEITSTGR-T</u>	
402	19724p3_F95'	<u>MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYDMGWVRQAPGKGLEVVAGITSAGG-G</u>	
403	19724p3_D3	<u>MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYQMNWIRQAPGKGLEFVAAINRFGN-S</u>	
404	19724p3_G6	<u>MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYQMNWIRQAPGKGLEFVAAINRFGN-S</u>	
405	19724p3_G3	<u>MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSDYAMGWVRQAPGKGLEYYASINRFGN-S</u>	
406	19724p3_E12	<u>MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKGSGFTFSSFNMIWVRQAPGKGLEYYVASIYSGGGGY</u>	
407	19724p3_F10	<u>MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYAMFWVRQAPGKGLEYYASIDDAGG---</u>	
408	19724p3_G8	<u>MAAVTLDESGGGLQTPGGALSIVCKASGFTFSSYAMFWVRQAPGKGLEYYASIDDAGG---</u>	
		CDR3	
399	19724p3_E10_2	<u>TWYATAVDGRATISKDNGQSTLRQLNLRRAEDTATYFCAKPSNVGACTFSYPSCPYPY----</u>	
400	19724p3_F7	<u>TWYATAVDGRATISKDNGQSALRLQLNLRRAEDTATYFCAKPSNVGACTFSYPSCPYPY----</u>	
401	19724p3_A12	<u>TDYGSVAVKGRATISRDNQSTLRQLNLRRAEDTGTYCIRYIDDGSG-----G-----</u>	
402	19724p3_F95'	<u>TEYGAAVDGRATISKDNGQSTVRLQLNLRRAEDTGTYCAYVGGCGGGRG-S-----</u>	
403	19724p3_D3	<u>TGQGEAVKGRVTISRDDGQSTVRLQLNLRRAEDTATYCAKAYGYC-GSG-GWC-----</u>	
404	19724p3_G6	<u>TGQGEAVKGRVTISRDDGQSTVRLQLNLRRAEDTATYCAKAYGYC-GSG-GWC-----</u>	
405	19724p3_G3	<u>TGYAAAVKGRATISRDSGQSTVRLQLNLRRAEDTGTYCTKSAYSQY-N-----</u>	
406	19724p3_E12	<u>TNYGAAVKGRATISRDNQSTVRLQLNLRRAEDTATYCAKADAGSDCWHTD-GWSTYNCG</u>	
407	19724p3_F10	<u>TEYGAAVKGRATISRDNQSTVRLQLNLRRAEDTGTYCAKADARSR-----R-SWC-----</u>	
408	19724p3_G8	<u>TEYGAAVKGRATISRDNQSTVRLQLNLRRAEDTGTYCAKADARSR-----R-SWC-----</u>	

图21

重链可变区序列比对 (续)

399	19724p3_E10_2	CDR3 (续)	<u>TAGS</u> IDA <u>WGHG</u> TEVIVSS
400	19724p3_F7		<u>TAGS</u> IDA <u>WGHG</u> TEVIVSS
401	19724p3_A12		<u>CCGS</u> ID <u>VWGHG</u> TEVIVSS
402	19724p3_F95'		<u>CGDS</u> IDA <u>WGHG</u> TEVIVSS
403	19724p3_D3		<u>G</u> VGNIDA <u>WGHG</u> TEVIVSS
404	19724p3_G6		<u>G</u> VGNIDA <u>WGHG</u> TEVIVSS
405	19724p3_G3		<u>-SG</u> ILDA <u>WGHG</u> TEVIVSS
406	19724p3_E12		<u>DSGR</u> IDA <u>WGHG</u> TEVIVSS
407	19724p3_F10		<u>AAGC</u> ID <u>TWGHG</u> TEVIVSS
408	19724p3_G8		<u>AAGC</u> ID <u>TWGHG</u> TEVIVSS

图21 (续)

独特重链 CDR 序列比对

SEQ ID NO.	CDR1	SEQ ID NO.	CDR2
409	SDHGM	416	GISKDGG-ATWYATAVD
410	SSSNM	417	EITSTGR-TTDYGS AVK
411	SSYDM	418	GITSAGG-GTEYGAAVD
412	SSYQM	419	AINRFGN-STGQGEAVK
413	SDYAM	420	SINRFGN-STGYAAA VK
414	SSFNM	421	SIYSGGGY TNYGAA VK
415	SSYAM	422	SIDDAGG--TEYGAA VK

SEQ ID NO.	CDR3
423	PSNVGACTFSYP SCPY---TAGSIDAW
424	YID DGS---G-----CCGSIDVW
425	YVSGGCGRG-S-----CGDSIDAW
426	GAYGYC-GSG-GWC-----GVGNIDAW
427	SAYSGY-N-----SGILIDAW
428	DAGSDCWHTD-GWSTYNCGDSGRIDAW
429	DARSRS---R-SWC-----AAGCIDTW

图22