



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116348487 A

(43) 申请公布日 2023. 06. 27

(21) 申请号 202180063472.X

(22) 申请日 2021.07.23

(30) 优先权数据

63/055,813 2020.07.23 US

63/086,589 2020.10.01 US

63/187,379 2021.05.11 US

63/219,611 2021.07.08 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.03.16

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/042900 2021.07.23

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/020680 EN 2022.01.27

(71) 申请人 欧萨尔普罗席纳有限公司

地址 爱尔兰都柏林

(72) 发明人 M·斯科夫 T·S·尼贾尔

S·戈文达拉扬 T·珀塞尔

M·韦尔奇 F·巴德 R·巴伯

W·扎戈

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

专利代理师 张文辉

(51) Int.Cl.

C07K 16/18 (2006.01)

权利要求书5页 说明书51页

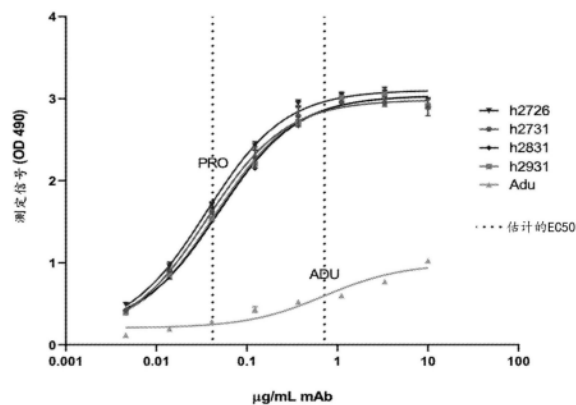
序列表78页 附图36页

(54) 发明名称

抗淀粉样β抗体

(57) 摘要

提供了结合人类β-淀粉样肽的抗体、用所述抗体检测、测量和治疗淀粉样生成性病症的方法、包含该抗体的药物组合物和制造方法。



1. 一种特异性结合至A β 肽的抗体或其片段,其包括包含重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区和包含轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,其中所述重链CDR1、CDR2和CDR3以及所述轻链CDR1、CDR2和CDR3如针对表1A和表1B中的抗体中之一者所显示。

2. 如权利要求1的抗体或其片段,其中所述重链可变区如针对表1A和表1B中的抗体中之一者所显示。

3. 如权利要求1的抗体或其片段,其中所述轻链可变区如针对表1A和表1B中的抗体中之一者所显示。

4. 一种特异性结合至A β 肽的抗体或其片段,其包括包含重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区和包含轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,其中

重链CDR1包含SEQ ID NO:16、19或20中之一者,

重链CDR2包含SEQ ID NO:20、21、22或23中之一者,

重链CDR3包含SEQ ID NO:18、24或25中之一者,

轻链CDR1包含SEQ ID NO:26、29、31或32中之一者,

轻链CDR2包含SEQ ID NO:33、34、35或36中之一者,并且

轻链CDR3包含SEQ ID NO:28、38或39中之一者。

5. 如权利要求1或权利要求4的抗体或其片段,其中不包括所述CDR的所述重链可变区与选自SEQ ID NO:3、4、5、6和7的氨基酸序列至少95%相同,并且不包括所述CDR的所述轻链可变区与选自SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、14和15的氨基酸序列至少95%相同。

6. 如权利要求5的抗体或其片段,其中不包括所述CDR的所述重链可变区与选自SEQ ID NO:3、4、5、6和7的氨基酸序列至少98%相同,并且不包括所述CDR的所述轻链可变区与选自SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、14和15的氨基酸序列至少98%相同。

7. 如权利要求6的抗体或其片段,其中重链可变区选自SEQ ID NO:3、4、5、6和7,并且所述轻链可变区选自SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、14和15。

8. 一种特异性结合至A β 肽的抗体或其片段,其包括包含重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区和包含轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,其中:

重链CDR1包含氨基酸序列GFTFSNX₁GMS,其中X₁为Y或F(SEQ IDNO:88);

重链CDR2包含氨基酸序列SX₁RSGSGRTYYSDNVKG,其中X₁为I或V(SEQ ID NO:89);

重链CDR3包含氨基酸序列YDHXY₁GX₂SDY,其中X₁为S或T且X₂为S或T(SEQ ID NO:90);

轻链CDR1包含氨基酸序列KSSQSLLDYDGKTYLN(SEQ ID NO:91);

轻链CDR2包含氨基酸序列X₁VX₂NRDX₃,其中X₁=K或R,X₂为S或T,并且X₃为S或T(SEQ ID NO:92);

轻链CDR3包含氨基酸序列WQGTHFPRX₁,其中X₁为S或T(SEQ IDNO:93)。

9. 如权利要求8的抗体或其片段,其中轻链CDR3包含WQGTHFPRX₁FX₂,其中X₁为S或T并且X₂为F或Y(SEQ ID NO:94)。

10. 一种特异性结合至A β 肽的抗体或其片段,其包括包含重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区和包括包含轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,其中:

重链CDR1包含氨基酸序列GFTFX₁NX₂GMS,其中X₁为S或A,并且X₂为Y或F(SEQ ID NO:95);

重链CDR2包含氨基酸序列SX₁RSGX₂X₃RTYYSDNVKG,其中X₁为I或V,X₂为S或G并且X₃为S或G(SEQ ID NO:96);

重链CDR3包含氨基酸序列YDHYX₁GX₂SDY,其中X₁为S或T并且X₂为S或T(SEQ ID NO:90);
轻链CDR1包含氨基酸序列X₁SSQSLX₂DX₃DGKTYLN,其中X₁为K或R,X₂为V、M或L,并且X₃为Y、T或S(SEQ ID NO:97);

轻链CDR2包含氨基酸序列X₁VX₂NRX₃X₄,其中X₁=K或R,X₂为S或T,并且X₃为E或D,并且X₄为S或T(SEQ ID NO:98);

轻链CDR3包含氨基酸序列WQGX₁HFPRX₂,其中X₁为S或T,并且X₂为S或T(SEQ ID NO:99)。

11.如权利要求10的抗体或其片段,其中轻链CDR3包含WQGTHFPRX₁FX₂X₃,其中X₁为S或T,X₂为S或T并且X₃为F或Y(SEQ ID NO:100)。

12.如权利要求1至11中任一项的抗体或其片段,其中所述抗体是人源化的。

13.如权利要求1至11中任一项的抗体或其片段,其中所述抗体是人类IgG1。

14.如权利要求1至11中任一项的抗体或其片段,其中所述抗体是全抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体或重组抗体。

15.如权利要求1至11中任一项的抗体或其片段,其中所述片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、Fab_c或Fv。

16.如权利要求1至11中任一项的抗体或其片段,其进一步包括包含与SEQ ID NO:40至少95%相同的氨基酸序列的重链恒定区。

17.如权利要求1至11中任一项的抗体或其片段,其进一步包括包含与SEQ ID NO:41至少95%相同的氨基酸序列的轻链恒定区。

18.如权利要求1至17中任一项的抗体或其片段,其中所述抗体特异性结合至具有包含来自AB的氨基酸1-7的三个或更多个氨基酸位置的氨基酸序列的表位。

19.一种核酸,其编码如权利要求1至18中任一项的抗体或片段的重链和/或轻链。

20.一种药物组合物,其包含如权利要求1至19中任一项的抗体或其片段,和药学上可接受的载剂或稀释剂。

21.一种产生权利要求1至18中任一项的抗体或其片段的方法,所述方法包括:

(a)培养用编码所述抗体或其片段的重链和轻链的核酸转化的细胞,使得所述细胞分泌所述抗体或其片段;和

(b)自细胞培养物纯化所述抗体或其片段。

22.一种产生生产如权利要求1至18中任一项的抗体或其片段的细胞系的方法,所述方法包括:

(a)将编码所述抗体或其片段的重链和轻链和可选择的标志物的载体引入细胞中;

(b)使所述细胞在选择具有增加载体拷贝数的细胞的条件下繁殖;

(c)自所述所选细胞分离单个细胞;和

(d)储存自基于抗体或其片段的产率所选择的单个细胞克隆的细胞。

23.如权利要求22的方法,其进一步包括在选择性条件下繁殖所述细胞且筛选天然表达和分泌至少100mg/L/10⁶个细胞/24小时的细胞系。

24.一种预防或治疗患者的淀粉样生成性疾病的方法,其包括向所述患者施用有效剂量的如权利要求1至18中任一项的抗体或片段。

25.如权利要求24的方法,其中所述淀粉样生成性疾病是系统性淀粉样变性、阿尔茨海默病、成年期发病型糖尿病、帕金森病、亨廷顿病、额颞叶痴呆、唐氏综合征或轻度认知损

伤。

26. 一种治疗经诊断患有阿尔茨海默病的患者的方法, 所述方法包括以有效治疗所述疾病的方案向患有所述疾病的患者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或其片段。

27. 一种在已由遗传或生化标志物确定阿尔茨海默病风险的患者中降低所述疾病风险或延迟所述疾病发作的方法, 其包括以有效降低所述疾病风险或延迟所述疾病发作的方案向患者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或其片段。

28. 一种在患有淀粉样生成性疾病相关病症或疾病的受试者中改善认知的方法, 其包括向所述受试者施用有效量的如权利要求1至18中任一项的抗体或其片段。

29. 如权利要求28的方法, 其中所述淀粉样生成性疾病是系统性淀粉样变性、阿尔茨海默病、成年期发病型糖尿病、帕金森病、亨廷顿病、额颞叶痴呆、唐氏综合征或轻度认知损伤。

30. 一种治疗人类受试者的唐氏综合征或临床或临床前阿尔茨海默病的方法, 其包括向所述人类受试者施用有效量的如权利要求1至18中任一项的抗体或片段。

31. 一种抑制人类受试者中淀粉样斑块的形成的方法, 其包括向所述人类受试者施用有效量的如权利要求1至18中任一项的抗体或片段。

32. 一种减少人类受试者脑中的淀粉样斑块的方法, 其包括向所述人类受试者施用有效量的如权利要求1至18中任一项的人源化抗体或片段。

33. 一种抑制或减少患有淀粉样生成性疾病或处在发展淀粉样生成性疾病风险的受试者中的淀粉样斑块的方法, 其包括向所述受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体的有效方案, 由此抑制或减少所述受试者的淀粉样斑块。

34. 如权利要求31至33中任一项的方法, 其中所述淀粉样斑块包含 AB_{1-42} 、 AB 的焦谷氨酸种类(例如 AB_{pE3-42})或其组合。

35. 一种检测患有淀粉样生成性疾病或处在淀粉样生成性疾病风险的受试者中的淀粉样斑块的方法, 其包括向受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或其片段, 和检测所述受试者中结合至 AB 的所述抗体或其片段。

36. 如权利要求35的方法, 其中所述淀粉样生成性疾病是系统性淀粉样变性、阿尔茨海默病、成年期发病型糖尿病、帕金森病、亨廷顿病、额颞叶痴呆、唐氏综合征或轻度认知损伤。

37. 如权利要求35的方法, 其中所述抗体或其片段经标记。

38. 如权利要求35的方法, 其中所述抗体或其片段用荧光标记物、顺磁性标记物或放射性标记物进行标记。

39. 如权利要求38的方法, 其中所述放射性标记物使用正电子发射断层扫描(PET)或单光子发射计算机断层扫描(SPECT)检测。

40. 一种在进行淀粉样生成性疾病治疗的受试者中测量治疗功效的方法, 其包括:

(a) 在通过向受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或其片段进行治疗之前, 测量所述受试者中淀粉样斑块的第一水平, 并且检测所述受试者中结合至 AB 的所述抗体或其片段的第一量,

(b) 向所述受试者施用所述治疗,

(c) 在通过向受试者施用所述抗体或其片段进行治疗之后, 测量所述受试者中淀粉样

斑块的第二水平,并且检测所述受试者中结合至A β 的所述抗体或其片段,

其中所述淀粉样斑块水平的降低指示对治疗的阳性响应。

41. 一种在进行淀粉样生成性疾病治疗的受试者中测量治疗功效的方法,其包括:

(a) 在通过向受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或其片段进行治疗之前,测量所述受试者中淀粉样斑块的第一水平,并且检测所述受试者中结合至A β 的所述抗体或其片段的第一量,

(b) 向所述受试者施用所述治疗,

(c) 在通过向受试者施用所述抗体或其片段进行治疗之后,测量所述受试者中淀粉样斑块的第二水平,并且检测所述受试者中结合至A β 的所述抗体或其片段的第二量,

其中所述淀粉样斑块浓度没有变化或淀粉样斑块的小幅增加指示对治疗的阳性响应。

42. 一种促进清除人类受试者的A β 的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或片段的有效方案。

43. 如权利要求42的方法,其中所述A β 存在于所述受试者的脑组织中。

44. 一种清除人类受试者的A β 的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或片段的有效方案。

45. 如权利要求44的方法,其中所述A β 存在于所述受试者的脑组织中。

46. 一种减少人类受试者的A β 的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或片段的有效方案。

47. 如权利要求46的方法,其中所述A β 存在于所述受试者的脑组织中。

48. 一种减少人类受试者的A β 积累或聚集的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或片段的有效方案。

49. 如权利要求48的方法,其中所述A β 存在于所述受试者的脑组织中。

50. 一种抑制人类受试者的A β 积累或聚集的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或片段的有效方案。

51. 如权利要求50的方法,其中所述A β 存在于所述受试者的脑组织中。

52. 一种促进清除患有淀粉样生成性疾病或处在发展淀粉样生成性疾病风险中的受试者的脑组织中的A β 的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或片段的有效方案,由此促进清除所述受试者的脑组织中的A β 。

53. 一种清除患有淀粉样生成性疾病或处在发展淀粉样生成性疾病风险中的受试者的脑组织中的A β 的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或片段的有效方案,由此清除所述受试者的脑组织中的A β 。

54. 一种减少患有淀粉样生成性疾病或处在发展淀粉样生成性疾病风险中的受试者的脑组织中的A β 的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或片段的有效方案,由此减少所述受试者的脑组织中的A β 。

55. 一种减少患有淀粉样生成性疾病或处在发展淀粉样生成性疾病风险中的受试者的脑组织中的A β 积累或聚集的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或片段的有效方案,由此减少所述受试者的脑组织中的A β 积累或聚集。

56. 一种抑制患有淀粉样生成性疾病或处在发展淀粉样生成性疾病风险中的受试者的脑组织中的A β 积累或聚集的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至18中任一项的

抗体或片段的有效方案,由此抑制所述受试者的脑组织中的A β 积累或聚集。

57.如权利要求52至56中任一项的方法,其中所述淀粉样生成性疾病是系统性淀粉样变性、阿尔茨海默病、成年期发病型糖尿病、帕金森病、亨廷顿病、额颞叶痴呆、唐氏综合征或轻度认知损伤。

58.如权利要求42至57中任一项的方法,其中所述A β 包含A β_{1-42} 、A β 的焦谷氨酸种类(例如A β_{pE3-42})或其组合。

59.如权利要求24至58中任一项的方法,其中所述抗体或片段通过外周施用来施用。

60.如权利要求59的方法,其中所述外周施用是静脉内或皮下。

抗淀粉样 β 抗体

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2020年7月23日提交的美国临时专利申请号63/055,813、2020年10月1日提交的美国临时专利申请号63/086,589、2021年5月11日提交的美国临时专利申请号63/187,379及2021年7月8日提交的美国临时专利申请号63/219,611的权益,所有该等申请以全文引用之方式并入本文中。

[0003] 序列表声明

[0004] 序列表的计算机可读形式通过电子提交方式与本申请一起提交,并通过引用其整体并入本申请。序列表包含在2021年7月22日创建的文件中,具有文件名“20-1030-WO_Sequence-List_ST25.txt”,并且大小为155kb。

技术领域

[0005] 本公开涉及抗淀粉样 β (A β) 抗体以及组合物及其使用方法。

背景技术

[0006] 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是导致老年性痴呆的进行性疾病。该疾病一般被归类为发生在老年(65岁+)的晚期发作以及在老年期之前(即35至60岁)完全发展的早期发作。此两种类型疾病的疾病病理似乎相同,但在较早年龄开始的病例中,异常往往更严重且更广泛。该疾病的特征在于脑中的至少两种类型的病变:神经原纤维缠结及老年斑块。神经原纤维缠结是微管相关tau蛋白的细胞内沉积,微管相关tau蛋白由彼此成对缠绕的两条细丝组成。老年斑块(即淀粉样斑块)是通过对脑组织切片的显微镜分析可见的在中心处具有细胞外淀粉样沉积的直径高达150 μ m的无组织型神经纤维网面积。脑内淀粉样斑块的积累亦与唐氏综合征(Down's syndrome)及其他认知病症相关。

[0007] 斑块的主要成分是称为A β (淀粉样 β (Abeta)) 或 β -淀粉样肽的肽。A β 肽是称为淀粉样前体蛋白(APP)的较大跨膜糖蛋白的39至43个氨基酸的4-kDa内部片段。由于不同分泌酶对APP进行蛋白水解加工,因此A β 主要以短形式(长度为40个氨基酸)及长形式(长度为42至43个氨基酸)两种形式存在。APP的部分疏水跨膜域位于A β 的羧基端,且可以解释A β 聚集成斑块的能力,特别是在长形式的情况下。脑中淀粉样斑块的积累最终导致神经元细胞死亡。与此种类型的神经退化相关的身体症状表征阿尔茨海默病。

发明内容

[0008] 本公开涉及特异性结合至A β 的抗体(及抗体片段)、产生此类抗体及抗体片段及相关核酸的方法、治疗患有A β 相关神经疾病的患者的方法、显示对A β 的高亲和力结合的抗体的药学配制剂及组合物,其用于以下的防治性和/或治疗性用途:例如治疗、降低淀粉样生成性疾病(amyloidogenic disease)风险或延迟淀粉样生成性疾病发作,预防、减少或抑制淀粉样生成性疾病的标志物,例如A β 斑块,以及改善认知。本公开进一步涉及检测淀粉样斑块及测量进行淀粉样生成性疾病治疗的患者的治疗功效的方法。本公开至少部分地基于特

异性结合至Aβ肽且有效减少斑块负荷及中和与淀粉样生成性病征 (amyloidogenic disorder) 相关的可溶性Aβ种类的单克隆抗体的鉴定及表征。

[0009] 在各种方面中,本公开涉及特异性结合至Aβ肽的抗体或其片段。该抗体及片段包括包含重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区和包含轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,其中该重链CDR1、CDR2和CDR3以及轻链CDR1、CDR2及CDR3如表1中的抗体中之一者所显示。此外,本公开的抗体或片段可具有如表1中之抗体中之一者所显示的重链可变区且可具有如表1中之抗体中之一者所显示的轻链可变区。

[0010] 在本公开的各种实施方案中,抗体及其片段包括包含重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区以及包含轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,其中

[0011] 重链CDR1包含SEQ ID NO:16、19或20中之一者,

[0012] 重链CDR2包含SEQ ID NO:20、21、22或23中之一者,

[0013] 重链CDR3包含SEQ ID NO:18、24或25中之一者,

[0014] 轻链CDR1包含SEQ ID NO:26、29、31或32中之一者,

[0015] 轻链CDR2包含SEQ ID NO:33、34、35或36中之一者,及

[0016] 轻链CDR3包含SEQ ID NO:28、38或39中之一者。

[0017] 本公开的抗体或其片段可包含与选自SEQ ID NO:3、4、5、6及7的氨基酸序列至少95%或98%相同的重链可变区(不包括CDR)及与选自SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、14及15的氨基酸序列至少95%或98%相同的轻链可变区(不包括CDR)。此外,该重链可变区可选自SEQ ID NO:3、4、5、6及7,及该轻链可变区可选自SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、14及15。

[0018] 在进一步的实施方案中,本公开涉及特异性结合至Aβ肽的抗体或其片段,其包括包含重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区以及包含轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,具有以下氨基酸序列:

[0019] 重链CDR1包含氨基酸序列GFTFSNX₁GMS,其中X₁为Y或F(SEQ ID NO:88);

[0020] 重链CDR2包含氨基酸序列SX₁RSGSGRTYYSDNVKG,其中X₁为I或V(SEQ ID NO:89);

[0021] 重链CDR3包含氨基酸序列YDHXY₁GX₂SDY,其中X₁为S或T且X₂为S或T(SEQ ID NO:90);

[0022] 轻链CDR1包含氨基酸序列KSSQSLLDYDGKTYLN(SEQ ID NO:91);

[0023] 轻链CDR2包含氨基酸序列X₁VX₂NRDX₃,其中X₁为K或R,X₂为S或T,且X₃为S或T(SEQ ID NO:92)。

[0024] 轻链CDR3包含氨基酸序列WQGTHFPRX₁,其中X₁为S或T(SEQ ID NO:93)。

[0025] 此外,该轻链CDR3可为WQGTHFPRX₁FX₂,其中X₁为S或T且X₂为F或Y(SEQ ID NO:94)。

[0026] 再进一步地,本公开的实施方案涉及特异性结合至Aβ肽的抗体或其片段,其包括包含重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区及包含轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,具有以下氨基酸序列:

[0027] 重链CDR1包含氨基酸序列GFTFX₁NX₂GMS,其中X₁为S或A,且X₂为Y或F(SEQ ID NO:95);

[0028] 重链CDR2包含氨基酸序列SX₁RSGX₂X₃RTYYSDNVKG,其中X₁为I或V,X₂为S或G且X₃为S或G(SEQ ID NO:96);

[0029] 重链CDR3包含氨基酸序列YDHXY₁GX₂SDY,其中X₁为S或T且X₂为S或T(SEQ ID NO:

90) ;

[0030] 轻链CDR1包含氨基酸序列 $X_1SSQSLX_2DX_3DGKTYLN$, 其中 X_1 为K或R, X_2 为V、M或L, 且 X_3 为Y、T或S (SEQ ID NO:97) ;

[0031] 轻链CDR2包含氨基酸序列 $X_1VX_2NRX_3X_4$, 其中 X_1 为K或R, X_2 为S或T, 且 X_3 为E或D, 且 X_4 为S或T (SEQ ID NO:98) 。

[0032] 轻链CDR3包含氨基酸序列 $WQGX_1HFPRX_2$, 其中 X_1 为S或T, 且 X_2 为S或T (SEQ ID NO:99) 。

[0033] 轻链CDR3亦可包含 $WQGTHFPRX_1FX_2X_3$, 其中 X_1 为S或T, X_2 为S或T且 X_3 为F或Y (SEQ ID NO:100) 。

[0034] 在本公开的进一步的方面中, 该抗体或其片段是人源化的, 是人类IgG1, 或可为全抗体 (full antibody)、嵌合抗体、CDR移植抗体或重组抗体。抗体片段可包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fabc或Fv。

[0035] 更进一步地, 本公开的抗体或片段可包括包含与SEQ ID NO:40至少95%相同的氨基酸序列的重链恒定区, 且可包括包含与SEQ ID NO:41至少95%相同的氨基酸序列的轻链恒定区。该抗体或片段可特异性结合至具有包含来自AB的氨基酸1-7的三个或更多个氨基酸位置的氨基酸序列的表位。

[0036] 在另外方面中, 本公开涉及编码如本文所述的抗体的重链和/或轻链的核酸。

[0037] 本公开亦涉及包含如本文所述的抗体或其片段的药物组合物。

[0038] 在各种实施方案中, 本公开涉及一种产生如本文所述的抗体或其片段的方法。该方法可包括 (a) 培养用编码抗体或其片段的重链和轻链的核酸转化的细胞, 使得该细胞分泌抗体或其片段; 和 (b) 自细胞培养物纯化该抗体或其片段。

[0039] 在另一个方面中, 本公开涉及一种产生生产如本文所述的抗体或其片段的细胞系的方法。该方法可包括 (a) 将编码抗体或其片段的重链和轻链和可选择的标志物的载体引入细胞中; (b) 使该细胞在选择具有增加载体拷贝数的细胞的条件下繁殖; (c) 自该所选细胞分离单个细胞; 和 (d) 储存自基于抗体或其片段的产率所选择的单个细胞克隆的细胞。该方法亦可包括在选择性条件下繁殖细胞且筛选天然表达和分泌至少100mg/L/10⁶个细胞/24小时的细胞系。

[0040] 添加的另外方面包括预防或治疗患者的淀粉样生成性疾病的方法。该方法包括向患者施用有效剂量的如本文所述的抗体或片段。淀粉样生成性疾病可为系统性淀粉样变性、阿尔茨海默病、成年期发病型糖尿病 (mature onset diabetes)、帕金森病 (Parkinson's disease)、亨廷顿病 (Huntington's disease)、额颞叶痴呆、唐氏综合征 (Down's syndrome) 或轻度认知损伤。

[0041] 当淀粉样生成性疾病时, 本公开的方法可包括以有效治疗该疾病的方案向患有该疾病的患者施用该抗体或其片段。此外, 本公开的方法包括在已由遗传或生化标志物确定阿尔茨海默病风险的患者中降低该疾病的风险或延迟该疾病的发作。该方法包括以有效降低疾病风险或延迟疾病发作的方案向患有该疾病的患者施用如本文所述的抗体或其片段。

[0042] 更进一步地, 本公开涉及一种用于实现患有病症或疾病相关淀粉样生成性疾病的受试者的认知改善的方法。该方法包括向该受试者施用有效量的如本文所述的抗体或其片段。淀粉样生成性疾病可为系统性淀粉样变性、阿尔茨海默病、成年期发病型糖尿病、帕金

森病、亨廷顿病、额颞叶痴呆、唐氏综合征或轻度认知损伤。

[0043] 更进一步地,本公开涉及一种用于治疗人类受试者的唐氏综合征或临床或临床前阿尔茨海默病的方法。该方法包括向该受试者施用有效量的如本文所述的抗体或其片段。

[0044] 本公开的方法亦包括以下中之一者或多者:抑制人类受试者中淀粉样斑块的形成,减少人类受试者脑中的淀粉样斑块,抑制或减少患有淀粉样生成性疾病或处在发展淀粉样生成性疾病风险的受试者中的淀粉样斑块。该方法包括向该受试者施用有效量的如本文所述的抗体或其片段。在此等方法中之各者中,该淀粉样斑块可包括 AB_{1-42} 、 AB 的焦谷氨酸种类(例如 AB_{pE3-42})或其组合。

[0045] 在又一个方面中,本公开涉及一种检测患有淀粉样生成性疾病或处在淀粉样生成性疾病风险的受试者中的淀粉样斑块的方法。该方法包括向受试者施用如本文所述的抗体或片段,及检测该受试者中结合至 AB 的该抗体或其片段。淀粉样生成性疾病是系统性淀粉样变性、阿尔茨海默病、成年期发病型糖尿病、帕金森病、亨廷顿病、额颞叶痴呆、唐氏综合征或轻度认知损伤。在该等检测方法中,该抗体或其片段可例如用荧光标记物、顺磁性标记物或放射性标记物进行标记。放射性标记物可使用正电子发射断层扫描(PET)或单光子发射计算机断层扫描(SPECT)检测。

[0046] 一种在进行淀粉样生成性疾病治疗的受试者中测量治疗功效的方法,其包括:

[0047] (a) 在通过向受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体或其片段进行治疗之前,测量该受试者中淀粉样斑块的第一水平,并且检测该受试者中结合至 AB 的该抗体或其片段的第一量,

[0048] (b) 向该受试者施用该治疗,

[0049] (c) 在通过向受试者施用该抗体或其片段进行治疗之后,测量该受试者中淀粉样斑块的第二水平,并且检测该受试者中结合至 AB 的该抗体或其片段,

[0050] 其中该淀粉样斑块浓度的降低指示对治疗的阳性响应。

[0051] 更进一步地,本公开的其他方面包括一种在进行淀粉样生成性疾病治疗的受试者中测量治疗功效的方法。该方法包括(a) 在通过向受试者施用如本文所述的抗体或其片段进行治疗之前,测量该受试者中淀粉样斑块的第一水平,并且检测该受试者中结合至 AB 的抗体或其片段的第一量,(b) 向该受试者施用该治疗,(c) 在通过向受试者施用该抗体或其片段进行治疗之后,测量该受试者中淀粉样斑块的第二水平,并且检测该受试者中结合至 AB 的抗体或其片段的第二量。淀粉样斑块浓度没有变化或淀粉样斑块的小幅增加指示对治疗的阳性响应。

[0052] 本公开的方法亦包括在人类受试者中减少、清除或促进清除 AB ,或减少或抑制 AB 积累或聚集。此类方法包括向该受试者施用如本文所述的抗体或其片段的有效方案。该 AB 可存在于受试者的脑组织中。

[0053] 本公开的方法亦包括减少、促进清除或清除患有淀粉样生成性疾病或处在发展淀粉样生成性疾病风险中的受试者的脑组织中的 AB 。此类方法包括向该受试者施用如本文所述的抗体或其片段的有效方案。

[0054] 本公开的方法亦包括抑制或减少患有淀粉样生成性疾病或处在发展淀粉样生成性疾病风险中的受试者的脑组织中的 AB 积累或聚集。此类方法包括向该受试者施用如本文所述的抗体或其片段的有效方案。

[0055] 一种抑制患有淀粉样生成性疾病或处在发展淀粉样生成性疾病风险中的受试者的脑组织中的A β 积累或聚集的方法,其包括向该受试者施用如权利要求1至18中任一项的抗体的有效方案,由此抑制该受试者的脑组织中的A β 积累或聚集。淀粉样生成性疾病可为系统性淀粉样变性、阿尔茨海默病、成年期发病型糖尿病、帕金森病、亨廷顿病、额颞叶痴呆、唐氏综合征或轻度认知损伤。该A β 可为A β_{1-42} 、A β 的焦谷氨酸种类(例如A β_{pE3-42})或其组合。

[0056] 在本公开的前述方法中之各者中,该抗体通过外周施用而施用,其可为静脉内或皮下施用。

[0057] 附图简述

[0058] 图1显示VL的三种不同形式的比对,该等形式通过将人类种系框架残基并入至巴匹珠单抗(bapineuzumab) (hBP) VL序列中而设计。规范或界面残基没有改变。

[0059] 图2显示4918、4917、4921、3818、49人类3、2931及巴匹珠单抗对照之用于相对于巴匹珠单抗(hBP)的IC₅₀比率测定的竞争性ELISA测定图。

[0060] 图3显示2926、2831、2927、2726、2731、2826及巴匹珠单抗对照之用于相对于巴匹珠单抗(hBP)的IC₅₀比率测定的竞争性ELISA测定图。

[0061] 图4显示2727、2931及巴匹珠单抗对照之用于相对于巴匹珠单抗(hBP)之IC₅₀比率测定的竞争性ELISA测定图。

[0062] 图5A及图5B显示2931、2731及巴匹珠单抗(图5A)、以及2726、2831及巴匹珠单抗(图5B)的竞争性ELISA测定图。

[0063] 图6显示在100nM至0.39nM(2倍连续稀释)的分析物浓度下,h2726(图6A)、h2731(图6B)、h2831(图6C)及2931(图6D)结合至A β_{1-28} 的BIAcore感测图。

[0064] 图7显示比较人源化抗体(PB-0569(阿杜那单抗(aducanumab))、PB-0573(h2726)、PB-0574(h2731)、PB-0575(h2831)、PB-0576(h2931))对重组淀粉样 β 1-42(A β_{1-42})原纤维的结合特性的BIAcore感测图。

[0065] 图8显示h2931以高相对亲和力结合可溶性A β 寡聚物。

[0066] 图9显示评估2726、2731、2831、2931与阿杜那单抗对照的A β 原纤维结合活性的图。在恒定浓度的A β 原纤维中滴定抗体(左小图)或在恒定浓度的抗体中滴定A β 原纤维(右小图),二者均指示2726、2731、2831及2931的结合实质上优于阿杜那单抗。

[0067] 图10显示AD脑中的A β 结合。在h2726、h2731、h2831及h2931抗体间,对组织A β 病理的结合似乎相似。用0.3 μ g/ml的四种抗体h2726、h2731、h2831、h2931染色的影像实例显示其在具有不同量A β 病理的两个AD脑(AD11至97及AD 13至75)中的染色模式。对于各脑,影像来自切片的相同面积且对于所有四种抗体显示相对相似的病理强度及分布。用阿杜那单抗染色始终最弱的(比例尺:500 μ m)。

[0068] 图11显示对照的AD脑中的A β 结合。人类IgG同种型对照抗体在AD脑中不产生染色。如此等实例中所显示,用1 μ g/ml的人类IgG同种型培养的AD切片没有任何染色(比例尺:500 μ m)。

[0069] 图12显示AD脑中的A β 结合的定量。AD组织中的A β 病理染色的定量揭示h2726、h2731、h2831及h2931抗体之间的相似结合。将来自四个AD脑的切片与以下浓度的抗体h2726、h2731、h2831、h2931以及阿杜那单抗一起培养:0.03、0.1、0.3、1、3及9 μ g/ml。切片成

像后,使用Halo®成像分析软件进行形态测定染色组织面积的百分比。各图比较用五种抗体获得的AD脑中的测量值。四个图一致显示h2726、h2731、h2831、h2931抗体的结合概况相似。用阿杜那单抗获得的测量值显著较低。

[0070] 图13显示AD脑中的A β 结合。hBP强烈地且以剂量依赖性方式结合至组织A β 病理。影像来自具有相似病理分布的切片(脑AD 13至75)的相对相同面积。hBP显示染色量随浓度增加而增加,且其在各浓度下对A β 病理的结合均强于BAN2401或阿杜那单抗(比例尺:500 μ m)。

[0071] 图14显示来自h2931及阿杜那单抗在具有原代鼠类小胶质细胞的APP.PS1 Tg小鼠组织中的离体吞噬作用研究的个别(图14A)及合并(图14B)结果。h2931及阿杜那单抗均证明相较于同种型对照的A β_{1-42} 高度显著降低。图14B

[0072] 图15显示指示相较于同种型对照随着h2726、h2731、h2831及h2931浓度的增加而减少可溶性寡聚物结合至大鼠海马体神经元上的神经突,且通过+/-A β 添加归一化的图。图15A显示每个神经元的斑点及图15B显示总斑点计数(每孔40个视野)。

[0073] 图16显示表示在递增浓度的2726、2731、2831及2931下通过+/-A β 添加归一化的每个神经元的A β 斑点的百分比的图。

[0074] 图17显示巴匹珠单抗可变重链序列及本公开2726、2731、2831及2931的四个序列的比对。CDR以粗体表示。

[0075] 图18显示巴匹珠单抗轻链序列及本公开的2726、2731、2831及2931的四个(可变轻链)序列的比对。CDR以粗体表示。

[0076] 图19显示列出本公开的抗体的可变重链及轻链CDR序列的CDR表。图19A是指重链CDR及图19B是指轻链CDR。

[0077] 图20显示通过竞争ELISA测量结合异质聚集的A β_{42} 物质的抗体效价的图。图20A显示h2931、h2731及巴匹珠单抗对照,及图20BA显示h2831、h2726及巴匹珠单抗对照。

[0078] 图21显示通过ELISA测量抗体对原纤维A β_{42} 的直接结合及相对亲和力的图。

[0079] 图22显示测量A β 斑块面积结合的抗体剂量响应(其通过AD脑中的免疫组织化学染色测量为阳性组织百分比)的图。

[0080] 图23显示在抗体存在下可溶性A β 对大鼠海马体神经元的结合的定量。

[0081] 图24显示h2731在来自具有原代鼠类小胶质细胞的AD组织中的离体吞噬作用研究的结果。h2731证明A β_{1-42} 的高度显著减少,指示该抗体稳健地促进此种类型的吞噬作用及移除。

[0082] 图25A及25B证实用于离体吞噬作用测定的AD组织中存在焦谷氨酸-3A β (A β_{pE3-42}) (图23A)且证明焦谷氨酸-3A β 及h2931的类似结合模式(图23A及B)。

[0083] 图26A及26B显示h2931及h2731在来自具有原代鼠类小胶质细胞的AD组织中的离体吞噬作用研究的结果。h2931及h2731均证明焦谷氨酸-3A β (A β_{pE3-42})的高度显著减少,指示两种抗体均稳健地促进此种类型的吞噬作用及移除。

[0084] 图27显示h2731结合A β_{1-42} 的N端,但不结合A β_{pE3-42} 。

[0085] 图28A及28B显示本发明的抗体在体外诱导THP-1人类单核细胞吞噬A β_{1-42} 原原纤维。

[0086] 图29A及图29B显示与AD脑组织中的A β_{pE3-42} 相比,通过N端抗Ab抗体测定的A β_{1-XX} 之分布型式。图29C显示与人类AD脑组织中的A β_{pE3-42} 相比,A β_{1-XX} 覆盖的面积百分比的定量。

[0087] 图30显示h2731对A β 斑块的定位,抗A β_{pE3-42} 抗体信号对A β 斑块的定位,及h2731及抗A β_{pE3-42} 抗体信号对A β 斑块的共定位。

[0088] 图31A及图31B显示抗A β 抗体h2731以剂量依赖性方式促进自AD脑组织的离体A β_{pE3-42} 清除,其效价高于阿杜那单抗。

[0089] 图32A显示A β_{pE3-42} 自AD脑组织的h2731及阿杜那单抗清除的浓度依赖性,及图32B显示h2731的效应是小胶质细胞依赖性的。

[0090] 图33比较在重复给药的情况下h2731及阿杜那单抗的预测CNS暴露。

[0091] 图34显示抗A β 抗体h2731促进AD脑组织中含有A β_{pE3-42} 的斑块的离体清除。

[0092] 发明详述

[0093] 靶向淀粉样 β (A β) 的N端的单克隆抗体 (mAb) 已临床上证明减少淀粉样斑块负荷并且一种此类抗体阿杜那单抗显示斑块负荷的显著减少与阿尔茨海默病 (AD) 的认知能力下降的减缓相关。临床前研究亦已指示,靶向A β 的N端表位的单克隆抗体 (mAb) 在体外及体内均激发抗体依赖性小胶质细胞介导的A β 斑块清除及可溶性毒性A β 寡聚物的中和。据推测,靶向N端A β 的mAb的施用经由A β 斑块的清除及可溶性A β 聚集物的中和来减缓AD患者的疾病进展。

[0094] A β 抗体巴匹珠单抗 (hBP) 是自亲代鼠类抗体3D6开发的人源化抗体。根据本公开的各种方面,应用多管齐下的方法来建构针对hBP的优异抗体。分析hBP的人源性 (Humanness) 且决定可优化的轻链人源化。

[0095] 对PDB数据库 [Deshpande等人,2005] 中的蛋白质序列进行搜索以找到将提供hBP的粗略结构模型的结构。hBP fab PDB代码4HIX [Miles等人,2013] 的晶体结构用于Vh及Vk结构,因为其具有可接受的分辨率及与hBP Vh及Vk匹配的精确序列,为环保留相同规范结构。

[0096] 对hBP VL作为输入序列进行IMGT/DomainGapAlignment,以将人类种系VK基因序列IGHV2-30*02鉴定为与hBP VL的最接近匹配。hBP VL的框架与IGHV2-30*02的相应框架区共有高度序列相似性。因此,选择IGHV2-30*02VL的框架区作为hBP框架区的进一步优化的指导序列。根据hBP 3D结构,CDR-L2中不与抗原进行任何直接接触的另外残基亦更改为种系序列,导致以下变化。

[0097] 通过将人类种系框架残基并入至hBP VL序列中而设计VL的三种不同形式。规范或界面残基没有改变。此外,基于P15位于转角处且种系基因在该位置处具有Leu的结构观测,在可变轻链的一种形式中测试P15L。

[0098] 基于3D结构观测,设计在轻链及重链CDR及框架中的许多残基处的取代。在第一轮循理式设计中产生突变VL及VH形式及测试其结合。在第二轮循理式设计中组合显示改良结合的突变。另外,亦将通过进一步分析结构引导的新突变并入至该设计中。

[0099] 因此,本公开提供抗体 (及抗体片段)、编码此类抗体及抗体片段的核酸及产生此类抗体及抗体片段的方法、药物组合物及用于以下的方法:预防或治疗淀粉样生成性疾病,降低淀粉样生成性疾病风险或延迟淀粉样生成性疾病发作,实现患有与淀粉样生成性疾病有关的病况的受试者的认知的改善,抑制受试者中A β 斑块的形成,减少受试者脑中的A β 斑块,抑制或减少处在发展淀粉样生成性疾病风险中的受试者中的淀粉样斑块,检测淀粉样斑块,测量进行淀粉样生成性疾病治疗的受试者中的治疗功效,其中淀粉样生成性疾病包

括阿尔茨海默病及如本文所述的其他疾病。本公开至少部分地基于有效结合 β 淀粉样蛋白(A β) (例如结合可溶性和/或聚集的A β) ,介导(例如聚集的A β 的)吞噬作用,减少斑块负荷和/或减少神经炎性营养不良(neuritic dystrophy) (例如在患者中),中和可溶性毒性A β 种类的单克隆抗体的属的表征。本公开的抗体及片段展现比报导的目前实验疗法更大的病理性原纤维A β 的结合强度(亲和力和/或亲合力)及对可溶性毒性A β 形式的高亲和力。此等抗体可实现更方便的给药策略且增强患者可及性。

[0100] 在更详细地描述本公开特定方面之前,定义多个术语。

[0101] 定义

[0102] 术语“抗体”包括完整抗体及其结合片段。通常,片段与衍生该等片段的完整抗体竞争特异性结合至靶标。片段包括单独重链、轻链Fab、Fab'、F(ab')₂、F(ab)c、Fv及单域抗体。单(可变)域抗体包含常规抗体中自其VL搭配物(或反之亦然)分离的VH区(Ward等人,1989,Nature 341:544至546)以及来自其中VH区与VL区不相关的物种(诸如骆驼科(Camelidae)或软骨鱼(例如护士鲨(nurse shark)))的VH区(有时称为VHH)(参见例如WO 9404678)。其中一条链与其天然搭配物分离的单域抗体有时称为Dab及来自骆驼科或软骨鱼的单域抗体有时称为纳米抗体。恒定区或恒定区的部分可存在或可不存在于单域抗体中。例如,来自骆驼科天然单可变区抗体包含VHH可变区、及CH2及CH3恒定区。单域抗体可通过与常规抗体类似的方法进行人源化。Dab类型的抗体通常是自人类来源的抗体获得。纳米抗体类型的抗体是骆驼科或鲨鱼来源的且可进行人源化。片段可通过重组DNA技术来产生,或通过完整免疫球蛋白的酶促或化学分离来产生。术语“抗体”亦包括双特异性抗体。双特异性或双功能抗体是具有两个不同重链/轻链对及两个不同结合位点的人工杂合抗体(参见例如Songsivilai及Lachmann,Clin.Exp.Immunol.,79:315至321(1990);Kostelny等人,J.Immunol.,148:1547-53(1992))。

[0103] 免疫球蛋白轻链或重链可变区(本文有时亦分别称为“轻链可变域”(“VL域”)或“重链可变域”(“VH域”))由“框架”区间插三个“互补决定区”或“CDR”组成。该等框架区用于比对CDR以特异性结合至抗原的表位。CDR包含主要负责抗原结合的抗体氨基酸残基。自氨基端至羧基端,VL及VH域均包含以下框架(FR)及CDR区:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。VL域之CDR 1、2及3本文有时亦分别称为CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3;VH域之CDR 1、2及3本文有时亦分别称为CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3。当本申请公开以R作为C端残基的VL序列时,该R可替代地视为是轻链恒定区的N端残基。因此,本申请亦应理解为公开不含C端R的VL序列。

[0104] 各VL及VH域的氨基酸的分配符合CDR的任何常规定义。常规定义包括Kabat定义(Kabat,Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,Bethesda,MD,1987及1991)、Chothia定义(Chothia&Lesk,J.Mol.Biol.196:901至917,1987;Chothia等人,Nature 342:878至883,1989);Chothia Kabat CDR的复合物,其中CDR-H1是Chothia及Kabat CDR的复合物;Oxford Molecular的抗体模型化软件使用的AbM定义;及Martin等人(bioinfo.org.uk/abs)的contact定义(参见表A)。Kabat提供一种广泛使用的编号约定(Kabat编号),其中不同重链之间或不同轻链之间的相应残基分配相同编号。当根据CDR的某个定义(例如Kabat)称抗体包含CDR时,该定义指定存在于抗体中的CDR残基的最小数量(即Kabat CDR)。不排除亦存在落入另一个常规CDR定义内但在指定定义之

外的其他残基。例如,包含由Kabat定义的CDR之抗体尤其包括的可能性是其中CDR包含Kabat CDR残基而没有其他CDR残基的抗体、及其中CDR H1是复合物Chothia-Kabat CDR H1及其他CDR包含Kabat CDR残基且没有基于其他定义的另外CDR残基的抗体。

[0105] 表A

[0106] 使用Kabat编号的CDR的常规定义

[0107]

环	Kabat	Chothia	Chothia & Kabat 的复 合物	AbM	Contact
L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
H1	H31-- H35B	H26-- H32..H34*	H26--H35B*	H26--H35B	H30--H35B
H2	H50--H65	H52--H56	H50--H65	H50--H58	H47--H58
H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

[0108] *Chothia的CDR-H1可在H32、H33或H34处结束(取决于环的长度)。此是因为Kabat编号方案将额外残基的插入置于35A及35B处,而Chothia编号将其置于31A及31B处。若H35A及H35B(Kabat编号)均不存在,则Chothia CDR-H1环在H32处结束。若仅存在H35A,则其在H33处结束。若H35A及H35B均存在,则其在H34处结束。

[0109] 在一些实施方案中,本发明的人源化抗体的CDR具有选自Kabat、Chothia、Kabat/Chothia复合物、AbM及Contact的组的定义。

[0110] 轻链和/或重链的氨基端或羧基端的一个或几个氨基酸(诸如重链之C端赖氨酸)可在一部分或所有分子中缺失或衍生化。可在恒定区中进行取代以减少或增加效应功能,诸如补体介导的细胞毒性或ADCC(参见,例如Winter等人,美国专利第5,624,821号;Tso等人,美国专利第5,834,597号;及Lazar等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 103:4005,2006),或延长在人类中的半衰期(参见,例如Hinton等人,J.Biol.Chem.279:6213,2004)。示例性取代包括在位置250处的Gln和/或在位置428处的Leu(在本段中对于恒定区使用EU编号)以增加抗体的半衰期。在任何或所有位置234、235、236和/或237处的取代降低对Fc γ 受体,特别是Fc γ RI受体的亲和力(参见,例如US 6,624,821)。在人类IgG1之位置234、235及237处的丙氨酸取代可用于降低效应功能。一些抗体在人类IgG1之位置234、235及237处具有丙氨酸取代以降低效应功能。任选地,人类IgG2中之位置234、236和/或237经丙氨酸取代及位置

235经谷氨酰胺取代(参见,例如US 5,624,821)。在一些抗体中,使用在人类IgG1的EU编号的位置241、264、265、270、296、297、322、329及331中之一者或多者处的突变。在一些抗体中,使用在人类IgG1的EU编号的位置318、320及322中之一者或多者处的突变。在一些抗体中,位置234和/或235经丙氨酸取代和/或位置329经甘氨酸取代。在一些抗体中,位置234及235经丙氨酸取代。在一些抗体中,该同种型是人类IgG2或IgG4。

[0111] 术语“人源化免疫球蛋白”或“人源化抗体”是指包含至少一个人类免疫球蛋白或抗体链(即至少一个人源化轻链或重链)的免疫球蛋白或抗体。术语“人源化免疫球蛋白链”或“人源化抗体链”(即“人源化免疫球蛋白轻链”或“人源化免疫球蛋白重链”)是指具有可变区的免疫球蛋白或抗体链(即分别为轻链或重链),该可变区包含实质上来自人类免疫球蛋白或抗体的可变框架区及实质上来自非人类免疫球蛋白或抗体的互补决定区(CDR)(例如至少一个CDR,优选两个CDR,更优选三个CDR),且此外包含恒定区(例如就轻链而言,至少一个恒定区或其部分,且就重链而言,优选三个恒定区)。术语“人源化可变区”(例如“人源化轻链可变区”或“人源化重链可变区”)是指可变区,其包含实质上来自人类免疫球蛋白或抗体的可变框架区及实质上来自非人类免疫球蛋白或抗体的互补决定区(CDR)。

[0112] 因此,人源化免疫球蛋白或抗体的区或残基或人源化免疫球蛋白或抗体链的区或残基(除了可能的CDR之外)与一个或多个天然人类免疫球蛋白序列的相应区或残基实质上相同。术语“对应区”或“对应残基”是指当该第一及第二序列进行最佳比对用于比较目的时,第二氨基酸或核苷酸序列上的占据与第一氨基酸或核苷酸序列上的区或残基相同(即等效)的位置的区或残基。

[0113] 术语“表位”或“抗原决定簇”是指抗原上与抗体结合的位点。表位可由邻接氨基酸或通过一种或多种蛋白质的三级折叠并列的非邻接氨基酸形成。由邻接氨基酸形成的表位通常在暴露于变性溶剂时保留,而由三级折叠形成的表位通常在用变性溶剂处理时丢失。表位通常包含呈独特空间构象的至少3个,且更通常地,至少5个或8至10个氨基酸。当称表位在蛋白质的氨基酸残基范围内(例如在AB的残基1至6内)时,该范围包含界定其边界的残基。该范围内的某些残基有助于表位,而其他的则可能没有。形成表位的残基可彼此邻接或可彼此不邻接。类似地,当抗体结合至特定氨基酸范围内发现的表位时,抗体不需要接触该范围内的所有氨基酸残基,且抗体所接触的表位的残基可彼此邻接或可彼此不邻接。确定表位的空间构象的方法包括例如x射线晶体学及2维核磁共振。参见,例如Epitope Mapping Protocols, Methods in Molecular Biology,第66卷,Glenn E.Morris编(1996)。

[0114] 识别相同表位的抗体可在简单免疫测定中鉴定,简单免疫测定显示一种抗体阻断另一种抗体结合至靶抗原或与另一种抗体竞争结合至靶抗原的能力,即竞争性结合测定。竞争性结合是在其中测试下的免疫球蛋白抑制参考抗体特异性结合至共同抗原(诸如AB)的测定中测定。已知许多类型的竞争性结合测定,例如:固相直接或间接放射免疫测定(RIA)、固相直接或间接酶免疫测定(EIA)、夹心竞争测定(参见Stahli等人,Methods in Enzymology 9:242(1983));固相直接生物素-抗生物素蛋白(avidin)EIA(参见Kirkland等人,J.Immunol.137:3614(1986));固相直接标记测定、固相直接标记夹心测定(参见Harlow及Lane,Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Press(1988));使用I-125标记物的固相直接标记物RIA(亦参见Morel等人,Mol.Immunol.25(1):7(1988));固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(Cheung等人,Virology176:546(1990));及直接标记RIA。

(Moldenhauer等人, Scand. J. Immunol. 32:77 (1990))。通常, 此类测定涉及使用结合至携带此等未经标记的测试免疫球蛋白及经标记的参考免疫球蛋白中之任一者之固体表面或细胞的纯化抗原。竞争性抑制通过在测试免疫球蛋白的存在下测定结合至固体表面或细胞的标记物的量来测定。通常, 测试免疫球蛋白过量存在。通常, 当竞争性抗体过量存在时, 其对参考抗体与共同抗原的特异性结合抑制至少50至55%、55至60%、60至65%、65至70%、70至75%或更多。

[0115] 抗体之间的竞争通过测定来测定, 在该测定中, 待测抗体抑制参考抗体(例如3D6、阿杜单抗、巴匹珠单抗)与共同抗原的特异性结合(参见, 例如Junghans等人, Cancer Res. 50:1495, 1990)。若过量的测试抗体(例如至少 $2\times$ 、 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $20\times$ 或 $100\times$)抑制参考抗体的结合至少50%, 但优选75%、90%或99%, 则测试抗体与参考抗体竞争, 如在竞争性结合测定所测定。通过竞争测定鉴定的抗体(竞争抗体)包括结合至与参考抗体相同的表位之抗体及结合至足够接近于参考抗体所结合的表位以发生空间位阻的相邻表位之抗体。

[0116] 抗体的表位亦可通过结合至其抗原的抗体之X射线晶体学以鉴定接触残基来确定。或者, 若抗原中的降低或消除一种抗体的结合的所有氨基酸突变降低或消除另一种抗体的结合, 则两种抗体具有相同表位。若降低或消除一种抗体的结合的一些氨基酸突变降低或消除另一种抗体的结合, 则两种抗体具有重叠表位。

[0117] 表位亦通过免疫细胞(例如B细胞和/或T细胞)来识别。表位的细胞识别可通过测定抗原依赖性增殖的体外测定来确定, 如通过 ^3H -胸苷并入, 通过细胞因子分泌, 通过抗体分泌, 或通过抗原依赖性杀死(细胞毒性T淋巴细胞测定)测定。

[0118] 示例性表位或抗原决定簇可存在于人类淀粉样前体蛋白(APP)内但优选存在于APP之A β 肽内。存在APP之多种同等型, 例如APP⁶⁹⁵、APP⁷⁵¹及APP⁷⁷⁰。APP内的氨基酸根据APP⁷⁷⁰同等型之序列分配编号(参见, 例如GenBank存档号P05067, 亦如SEQ ID NO:85所示)。

[0119] A β (本文亦称为 β 淀粉样肽及淀粉样 β (A-beta))肽是APP的39至43个氨基酸的约4-kDa内部片段(A β 39、A β 40、A β 41、A β 42及A β 43)。A β 40例如由APP之残基672至711组成及A β 42由APP之残基673至713组成。由于不同分泌酶酵素体内或原位蛋白水解加工APP, 因此A β 以“短形式”(长度为40个氨基酸)及“长形式”(长度为42至43个氨基酸)两种形式存在。如本文所述的优选表位或抗原决定簇位于A β 肽的N端内且包含A β 之氨基酸1至10内, 优选来自A β 42之残基1至3、1至4、1至5、1至6、1至7、或3至7之残基。另外提及的表位或抗原决定簇包含A β 之残基2至4、5、6、7或8; A β 之残基3至5、6、7、8或9; 或A β 42之残基4至7、8、9或10。

[0120] “可溶性”或“解离的”A β 是指单体、聚集、寡聚、与其他蛋白质及脂质结合或不结合的A β 种类, 其在以 $100,000\times g$ 离心后保留在溶液(上清液)中。“可溶性”A β 是指聚集的A β 种类, 无论是否为淀粉样(β 片层), 其在 $100,000\times g$ 离心后不保留在溶液中, 例如通过非共价键保持在一起的A β 。据信A β (例如A β 42)聚集至少部分是由于在肽的C端(APP的跨膜域的部分)存在疏水残基。制备可溶性A β 的一种方法是利用声处理将冻干肽溶解于纯DMSO中。将所得溶液离心以移除任何不溶性微粒。

[0121] 抗体的“特异性结合”意指该抗体展现对抗原或优选表位的可观亲和力且优选不展现显著交叉反应性。“可观”或优选结合包括以至少 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9M^{-1} 或 10^{10}M^{-1} 的亲和力的结合。大于 10^7M^{-1} , 优选大于 10^8M^{-1} 的亲和力为更优选的。彼等本文阐述者之中间值亦意欲在本公开的范畴内且优选结合亲和力可表示为某一范围的亲和力, 例如 10^6 至 10^{10}M^{-1} , 优选

为 10^7 至 10^{10}M^{-1} ,更优选为 10^8 至 10^{10}M^{-1} 。“不展现显著交叉反应性”的抗体是不会可观地结合至非所欲实体(例如非所欲蛋白质实体)的抗体。例如,特异性结合至A β 的抗体将可观地结合A β 但将不与非A β 蛋白质或肽(例如斑块中所包含的非A β 蛋白或肽)显著反应。对优选表位具有特异性的抗体将例如不与相同蛋白质或肽上的远程表位显著交叉反应。特异性结合可根据用于测定此种结合之任何本领域公认的手段来测定。优选地,特异性结合根据Scatchard分析和/或竞争性结合测定来测定。

[0122] 结合片段通过重组DNA技术或通过完整免疫球蛋白之酶促或化学切割来产生。结合片段包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fabc、Fv、单链及单链抗体。

[0123] 术语“患者”包括接受防治性或治疗性治疗的人类及其他哺乳动物受试者。

[0124] 术语“有效剂量(effective dose或effective dosage)”定义为足以达成或至少部分达成所需效应之量。术语“治疗有效剂量”定义为足以治愈或至少部分阻止已经罹患疾病的患者的该疾病及其并发症的量。对于此种用途有效之量将取决于感染之严重度及患者的自身免疫系统之一般状态。

[0125] 如本文所用,术语“治疗”定义为对患者施用或施用治疗剂,或对来自患有疾病、疾病之症状或疾病预先倾向性的患者之分离的组织或细胞系施用或施用治疗剂,且目的是治愈(cure)、治愈(heal)、减轻、缓解、改变、补救、改善、改良或影响疾病、疾病之症状或疾病预先倾向性。

[0126] 术语“淀粉样生成性疾病”包括与不溶性淀粉样原纤维或淀粉样斑块的形成或沉积相关(或由其引起)的任何疾病。示例性淀粉样生成性疾病包括但不限于系统性淀粉样变性、阿尔茨海默病、成年期发病型糖尿病、帕金森病、亨廷顿病、额颞叶痴呆、唐氏综合征、轻度认知损伤、朊病毒(prion)相关传染性海绵状脑病(分别为人类的库鲁病(kuru disease)及库贾氏症(Creutzfeldt-Jacob disease)及绵羊及牛的痒病及BSE)及类似者。不同淀粉样生成性疾病由沉积的原纤维的多肽组分的性质来定义或表征。例如,在患有阿尔茨海默病的受试者或患者中, β -淀粉样蛋白(例如野生型、变体或截短型 β -淀粉样蛋白)是淀粉样沉积之特征性多肽组分。因此,阿尔茨海默病是例如受试者或患者的脑的“以A β 之沉积为特征的疾病”或“与A β 之沉积相关的疾病”的实例。术语“ β -淀粉样蛋白”、“ β -淀粉样肽”、“ β -淀粉样”、“A β ”及“A β 肽”在本文中可互换使用。

[0127] 若受试者具有至少一种已知风险因子(例如遗传、生化、家族史、情境暴露),将个体置于该风险因子,发展该疾病的风险在统计学上显著高于没有风险因子的个体,则该个体处在增加的疾病风险中。

[0128] 术语“症状”是指患者所感知的疾病的主观证据,诸如步态改变。“征象”是指医生观测到的疾病的客观证据。

[0129] 统计显著性意指 $p < 0.05$ 。

[0130] 抗A β 抗体

[0131] 现转向本公开的各种方面,本公开的第一方面涉及特异性结合至A β 肽的抗体或其片段。该抗体或片段包含来自本文中鉴定为h2726、h2731、h2831、h2931、h2926、h4921、h2828、h2929、h3818G、h2927、h49k3G、h4917G、h2727及h4918G的构建体中之一者的重链CDR及轻链CDR。本公开的特定单克隆抗体可结合至A β 的残基1至6内的表位(其中天然A β 的第一N端残基指定为1)。一些单克隆抗体结合至氨基酸1至6内的表位,一些结合至1至5内的表

位, 及一些结合至1至4内的表位。一些抗体结合至氨基酸1至3、2至5、3至5、2至4、2至5、2至6、3至5、或3至6内的表位。当称抗体结合至指定残基内(诸如例如AB1至6)的表位时, 意指的是该抗体特异性结合至含有指定残基(即此实例中的AB1至6)的多肽; 此种抗体不一定接触AB1-6内的每个残基。

[0132] 在另一个方面中, 该抗体或片段包含具有重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区及包含轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区, 来自表1A中显示的构建体。

[0133] 表1A

[0134]

构建体 ID	VH/VL 序列		SEQ ID	CDR 序列		SEQ ID
h2726	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIRSGSGRTYYSDNVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYSGSSDYWGQGLTVTVSS	3	1	GFTFS NYGMS	16
				2	SIRSG SGRTY YSDNV KG	20
				3	YDHYS GSSDY	18
	VL	DVVMTQSPLSLPVTGPGEPAISICKSSQSLLDYDGKTYLNWLLQKPGQSPQRLIYKVSNRDSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHTFPRTFGQGTKVEIK	8	1	KSSQS LLDYD GKTYL N	29
				2	KVSNR DS	33
				3	WQGTHT FPRT	28
h2731	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIRSGSGRTYYSDNVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYSGSSDYWGQGLTVTVSS	3	1	GFTFS NYGMS	16
				2	SIRSG SGRTY YSDNV KG	20
				3	YDHYS GSSDY	18
	VL	DVVMTQSPLSLPVTLGEPAISICKSSQSLLDYDGKTYLNWLLQKPGQSPQRLIYRVTNRDGTGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHTFPRSFGQGTKVEIK	9	1	KSSQS LLDYD GKTYL N	29
				2	RVTNR DT	34
				3	WQGTHT FPRS	38
h2831	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGMSWVRQAPGKGLEWVASVRSRSGSGRTYYSDNVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYSGTSDYWGQGLTVTVSS	4	1	GFTFS NFGMS	19
				2	SVRSG SGRTY YSDNV KG	21
				3	YDHYS GTSDY	24
	VL	DVVMTQSPLSLPVTLGEPAISICKSSQSLLDYDGKTYLNWLLQKPGQSPQRLIYRVTNRDGTGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHTFPRSFGQGTKVEIK	9	1	KSSQS LLDYD GKTYL N	29
				2	RVTNR DT	34
				3	WQGTHT FPRS	38
h2931	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGMSWVRQAPGKGLEWVASVRSRSGSGRTYYSDNVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYTGTSYWGQGLTVTVSS	5	1	GFTFS NFGMS	19
				2	SVRSG SGRTY YSDNV KG	21
				3	YDHYT GTSDY	25
	VL	DVVMTQSPLSLPVTLGEPAISICKSSQSLLDYDGKTYLNWLLQKPGQSPQRLIYRVTNRDGTGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHTFPRSFGQGTKVEIK	9	1	KSSQS LLDYD GKTYL N	29
				2	RVTNR DT	34
				3	WQGTHT FPRS	38

[0135]

		LIYRVNTRDTGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCWQGTHTFPRS FGQGTKVEIK				
h2926	VH	EVQLES GGGLVQPGGS LRLSCAASGFTFSNFGM SWVRQAPGKGLEWVASV RSGSGRTYYSDNVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVRYDHY TGTSDYWGQGT LVTVSS	5	1	GFTFS NFGMS	19
				2	SVRSG SGRTY YSDNV KG	21
				3	YDHYT GTSDY	25
	VL	DVVMTQSPLSLPVTPE PASISCKSSQSLLDYDG KTYLNWLLQKPGQSPQR LIYKVS NRDSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCWQGTHTFPRT FGQGTKVEIK	8	1	KSSQS LLDYD GKTYL N	29
				2	KVSNR DS	33
				3	WQGTHT FPRT	28
h4921G	VH	EVQLES GGGLVQPGGS LRLSCAASGFTFSNFGM SWVRQAPGKGLEWVASV RSGGGRTYYSDNVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVRYDHY SGTSDYWGQGT LVTVSS	6	1	GFTFS NFGMS	19
				2	SVRSG GGRTY YSDNV KG	22
				3	YDHYS GTSDY	24
	VL	DVVMTQSPLSLPVTLGE PASISCKSSQSLLDSDG KTYLNWLLQKPGQSPQR LIYRVNTRDTGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCWQGTHTFPRT FGQGTKVEIK	10	1	KSSQS LLDS D GKTYL N	26
				2	RVTNR DT	34
				3	WQGTHT FPRT	28
h2826	VH	EVQLES GGGLVQPGGS LRLSCAASGFTFSNFGM SWVRQAPGKGLEWVASV RSGSGRTYYSDNVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVRYDHY SGTSDYWGQGT LVTVSS	4	1	GFTFS NFGMS	19
				2	SVRSG SGRTY YSDNV KG	21
				3	YDHYS GTSDY	24
	VL	DVVMTQSPLSLPVTPE PASISCKSSQSLLDYDG KTYLNWLLQKPGQSPQR LIYKVS NRDSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCWQGTHTFPRT FGQGTKVEIK	8	1	KSSQS LLDYD GKTYL N	29
				2	KVSNR DS	33
				3	WQGTHT FPRT	28
h2929	VH	EVQLES GGGLVQPGGS LRLSCAASGFTFSNFGM SWVRQAPGKGLEWVASV RSGSGRTYYSDNVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVRYDHY TGTSDYWGQGT LVTVSS	5	1	GFTFS NFGMS	19
				2	SVRSG SGRTY YSDNV KG	21
				3	YDHYT GTSDY	25
	VL	DVVMTQSPLSLPVTPE PASISCRSSQSLVDYDG KTYLNWLLQRPQSPQR LIYKVS NRDSGVPDRFS	11	1	RSSQS LVDYD GKTYL N	31
				2	KVSNR DS	33
				3	WQGSHT FPRS	39

[0136]

		GSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCWQGSHFPRS YGQGTKVEIK				
h3818G	VH	EVQLES GGGLVQP GGS LRLSCAASGFTFANYGM SWVRQAPGKGLEWVASV RSGGSRTYYSDNVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVRYDHY SGSSDYWGQGLTVTVSS	7	1	GFTFA NYGMS	20
				2	SVRSG GSRTY YSDNV KG	23
				3	YDHYS GSSDY	18
	VL	DVVMTQSPLSLPVTLGE PASISCKSSQSLMDTDG KTYLNWLLQKPGQSPQR LIYKVS NRSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCWQGT HFPRT FGQGTKVEIK	12	1	KSSQS LMDTD GKTYL N	32
				2	KVSNR ES	35
				3	WQGT H FPRT	28
h2927	VH	EVQLES GGGLVQP GGS LRLSCAASGFTFSNFGM SWVRQAPGKGLEWVASV RSGSGRTYYSDNVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVRYDHY TGTSDYWGQGLTVTVSS	5	1	GFTFS NFGMS	19
				2	SVRSG SGRTY YSDNV KG	21
				3	YDHYT GTSDY	25
	VL	DVVMTQSPLSLPVT PGE PASISCKSSQSLLDYDG KTYLNWLLQKPGQSPQR LIYKVS NRDSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCWQGT HFPRS FGQGTKVEIK	13	1	KSSQS LLDYD GKTYL N	29
				2	KVSNR DS	33
				3	WQGT H FPRS	38
h49k3G	VH	EVQLES GGGLVQP GGS LRLSCAASGFTFSNFGM SWVRQAPGKGLEWVASV RSGGGRTYYSDNVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVRYDHY SGTSDYWGQGLTVTVSS	6	1	GFTFS NFGMS	19
				2	SVRSG GGRTY YSDNV KG	22
				3	YDHYS GTSDY	24
	VL	DVVMTQSPLSLPVTLGE PASISCKSSQSLDSDG KTYLNWLLQKPGQSPQR LIYKVS NRDSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCWQGT HFPRT FGQGTKVEIK	14	1	KSSQS LLDSD GKTYL N	26
				2	KVSNR DS	33
				3	WQGT H FPRT	28
h4917G	VH	EVQLES GGGLVQP GGS LRLSCAASGFTFSNFGM SWVRQAPGKGLEWVASV RSGGGRTYYSDNVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVRYDHY SGTSDYWGQGLTVTVSS	6	1	GFTFS NFGMS	19
				2	SVRSG GGRTY YSDNV KG	22
				3	YDHYS GTSDY	24
	VL	DVVMTQSPLSLPVTLGE PASISCKSSQSLDSDG KTYLNWLLQKPGQSPQR LIYKVTN RESGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEA	15	1	KSSQS LLDSD GKTYL N	26
				2	KVTNR ES	36
				3	WQGT H FPRS	38

[0137]

		EDVGVYYCWQGTHFPRS FGQGTKVEIK				
h2727	VH	EVQLLESGGGLVQP ~~GG~~ S LRLSCAASGFTFSNYGM SWVRQAPGKGLEWVASI RSGSGRTYYS ~~DN~~ VKGRF TISRDN ~~SKNT~~ LYLQMNS LRAEDTAVYYCVRYDHY SGSSDYWGQGT ~~LV~~ TVSS	3	1	GFTFS NYGMS	16
				2	SIRSG SGRTY YSDNV KG	20
				3	YDHYS GSSDY	18
	VL	DVVMTQSPLSLPVT ~~P~~ GE PASISCKSSQSL ~~LD~~ YDG KTYLNWLLQKPGQSPQR LIYKVS ~~NR~~ DSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCWQGTHFPRS FGQGTKVEIK	13	1	KSSQS LLDYD GKTYL N	29
				2	KVSNR DS	33
				3	WQGT ~~H~~ FPRS	38
h4918G	VH	EVQLLESGGGLVQP ~~GG~~ S LRLSCAASGFTFSNFGM SWVRQAPGKGLEWVASV RSGGGRTYYS ~~DN~~ VKGRF TISRDN ~~SKNT~~ LYLQMNS LRAEDTAVYYCVRYDHY SGTSDYWGQGT ~~LV~~ TVSS	6	1	GFTFS NFGMS	19
				2	SVRSG GGRTY YSDNV KG	22
				3	YDHYS GTSDY	24
	VL	DVVMTQSPLSLPVT ~~L~~ GE PASISCKSSQSLMDTDG KTYLNWLLQKPGQSPQR LIYKVS ~~NR~~ ESGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCWQGTHF ~~P~~ RT FGQGTKVEIK	12	1	KSSQS LMDTD GKTYL N	32
				2	KVSNR ES	25
				3	WQGT ~~H~~ F ~~P~~ RT	28

[0138] 在另一个方面中,本公开的抗体或片段包含如表1中的构建体中之一者所显示的重链可变区(VH)。该抗体或片段亦可包含如表1A中的构建体中之一者所显示的轻链可变区(VL)。

[0139] 表1A中鉴定的重链及轻链序列中之各者的CDR与来自巴匹珠单抗(“Bapi”、“hBP”)的CDR的比对显示于图19A及19B中。在一个方面中,本公开涉及包含重链CDR1、CDR2和CDR3的抗体或其片段,其中CDR1可选自SEQ ID NO:16、19及20中之任何一者,其中CDR2可选自SEQ ID NO:17、20、21、22及23中之任何一者且其中CDR3可选自SEQ ID NO:18、24、25中之任何一者。另外,该抗体或其片段包含轻链CDR1、CDR2及CDR3,其中CDR1可选自SEQ ID NO:26、29、31及32中之任何一者,其中CDR2可选自SEQ ID NO:27、33、34及35中之任何一者,且其中CDR3可选自SEQ ID NO:28、38及39中之任何一者。在该等实施方案中之各者中,该重链CDR及轻链CDR在组合下不同时为SEQ ID NO:16、17、18、26、27及28。

[0140] 对以上描述的抗体之蛋白质模型化信息分析鉴定CDR中的两种变化,该等变化尤其造成本公开的抗体的亲和力/亲和力特性的增加:

[0141] CDR-L1:S32Y(在位置32处,Ser变为Tyr),及

[0142] CDR-H2:G55S(在位置54处,Gly变为Ser)

[0143] 结合本文所列抗体所结合的相同表位的在CDR-L1中的位置32处具有Tyr且在CDR-H2中的位置54处具有Ser的抗Aβ抗体预期具有与所列鉴定抗体相同的性质(参见表1A及图19A及图19B)。所公开的在CDR-L1中的位置32处不具有Tyr且在CDR-H2中的位置55处不具有Ser的抗体可修饰为在CDR-L1中的位置32处具有Tyr且在CDR-H2中的位置55处具有Ser且可预期赋予本文鉴定的此类抗体类似的结合性质。

[0144] 在位置32处具有Tyr的CDR-L1单独实例包括SEQ NO:29及31。在位置55处具有Ser的CDR-H2的实例包括SEQ NO:20及21。

[0145] 作为实例,包含在位置32处具有Tyr的CDR-L1及在位置55处具有Ser的CDR-H2的抗体包括具有h2726、h2731、h2727、h2826、h2831、h2926、h2927、h2931、h2929的CDR的抗体(参见表1A)。另外的此类抗体包括包含如下表1B中所阐明的LC CDR 1、2、3及HC CDR 1、2、3之抗体。

[0146] 表1B

抗体	HC/LC	CDR 序列 (HC 1, 2, 3; LC 1, 2, 3)		SEQ ID
h2729	HC	1	GFTFS NYGMS	16
		2	SIRSG SGRTY YSDNV KG	20
		3	YDHYS GSSDY	18
	LC	1	RSSQS LVDYD GKTYL N	31
		2	KVSNR DS	33
		3	WQGSF FPRS	39
h2829	HC	1	GFTFS NFGMS	19
		2	SVRSG SGRTY YSDNV KG	21
		3	YDHYS GTSDY	24
	LC	1	RSSQS LVDYD GKTYL N	31
		2	KVSNR DS	33
		3	WQGSF FPRS	39
h2827	HC	1	GFTFS NFGMS	19
		2	SVRSG SGRTY YSDNV KG	21
		3	YDHYS GTSDY	24
	LC	1	KSSQS LLDYD GKTYL N	29
		2	RVTNR DT	33
		3	WQGTG FPRS	38
HC-S55/ LC-Y32	HC	1	GFTFS NYGMS	16
		2	SIRSG SGRTY YSDNV KG	20
	LC	3	YDHYS GSSDY	18
		1	KSSQS LLDYD GKTYL N	29
		2	LVSKL DS	27
		3	WQGTG FPRT	28

[0149] 根据针对本文鉴定的抗体所鉴定之结合性质,可鉴定将预期提供类似结合性质的共有序列。例如,在本公开的实施方案中,特异性结合至AB肽的抗体或其结合片段可包含具有重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区及具有轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,如下:

[0150] 重链CDR1包含氨基酸序列GFTFSN_{X1}GMS,其中X₁为Y或F(SEQ ID NO:88);

[0151] 重链CDR2包含氨基酸序列SX₁RSGSGRTYYSNDVKG,其中X₁为I或V(SEQ ID NO:89);

[0152] 重链CDR3包含氨基酸序列YDHYX₁GX₂SDY,其中X₁为S或T且X₂为S或T(SEQ ID NO:90);

[0153] 轻链CDR1包含氨基酸序列KSSQSLLDYDGKTYLN(SEQ ID NO:91);

[0154] 轻链CDR2包含氨基酸序列X₁VX₂NRDX₃,其中X₁为K或R,X₂为S或T,且X₃为S或T(SEQ

ID NO:92) ;

[0155] 轻链CDR3包含氨基酸序列WQGTHFPRX₁,其中X₁为S或T(SEQ ID NO:93)。

[0156] 在一些实施方案中,该轻链CDR3包含WQGTHFPRX₁FX₂,其中X₁为S或T且X₂为F或Y(SEQ ID NO:94)。

[0157] 可预期提供与本文描述的抗体相似的结合性质的相似共有序列包含具有重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区及具有轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,如下:

[0158] 重链CDR1包含氨基酸序列GFTFX₁NX₂GMS,其中X₁为S或A,且X₂为Y或F(SEQ ID NO:95) ;

[0159] 重链CDR2包含氨基酸序列SX₁RSGX₂X₃RTYYSDNVKG,其中X₁为I或V,X₂为S或G且X₃为S或G(SEQ ID NO:96) ;

[0160] 重链CDR3包含氨基酸序列YDHYX₁GX₂SDY,其中X₁为S或T且X₂为S或T(SEQ ID NO:90) ;

[0161] 轻链CDR1包含氨基酸序列X₁SSQSLX₂DX₃DGKTYLN,其中X₁为K或R,X₂为V、M或L,且X₃为Y、T或S(SEQ ID NO:97) ;

[0162] 轻链CDR2包含氨基酸序列X₁VX₂NRX₃X₄,其中X₁为K或R,X₂为S或T,且X₃为E或D,且X₄为S或T(SEQ ID NO:98) ;

[0163] 轻链CDR3包含氨基酸序列WQGX₁HFPRX₂,其中X₁为S或T,且X₂为S或T(SEQ ID NO:99)。

[0164] 在一些实施方案中,该轻链CDR3包含WQGTHFPRX₁FX₂X₃,其中X₁为S或T,X₂为S或T且X₃为F或Y(SEQ ID NO:100)。

[0165] 此外,该等轻链及重链可变区可与表1A中显示的轻链及重链可变区具有至少75%同一性。例如,该等轻链及重链可变区可与表1A中鉴定的VH和/或VL序列具有75%同一性、80%同一性、85%同一性、90%同一性、95%同一性、96%同一性、97%同一性、98%同一性、99%同一性、或100%同一性。在各种方面中,VH及VL中的任何序列变异可存在于CDR之外,使得本公开的VH及VL序列包含表1A中鉴定的CDR,但VH及VL序列之CDR之外的区域可与表1A中的VH及VL序列之CDR之外的区域具有至少75%同一性。

[0166] 例如,本公开的抗体或片段可包含与SEQ ID NO:3、4、5、6及7中之一者具有至少95%同一性的重链可变区(不包括CDRS)及与SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、14及15中之一者具有至少95%同一性的轻链可变区(不包括CDR)。

[0167] 本公开的抗体及片段亦可包含与SEQ ID NO:40具有至少75%同一性的重链恒定区。例如,该重链恒定区可与SEQ ID NO:40具有75%同一性、80%同一性、85%同一性、90%同一性、95%同一性、96%同一性、97%同一性、98%同一性、99%同一性、或100%同一性。

[0168] 本公开的抗体及片段亦可包含与SEQ ID NO:41具有至少75%同一性的轻链恒定区。例如,该重链恒定区可与SEQ ID NO:41具有75%同一性、80%同一性、85%同一性、90%同一性、95%同一性、96%同一性、97%同一性、98%同一性、99%同一性、或100%同一性。

[0169] 与表1A中描述的序列(加上任何恒定区)具有少于100%同一性的变体抗体或片段可与表1A的抗Aβ抗体相差少至1至15个氨基酸残基,少至1至10个氨基酸残基,诸如6至10个,少至5个,少至4、3、2或甚至1个氨基酸残基。“保守氨基酸取代”是其中氨基酸残基经具有具有相似电荷的侧链的氨基酸残基替换的取代。具有具有相似电荷的侧链的氨基酸残基

家族已在本领域中定义。此等家族包括具有以下氨基酸：碱性侧链（例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸）、酸性侧链（例如天冬氨酸、谷氨酸）、不带电荷的极性侧链（例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸）、非极性侧链（例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸）、 β -分支链侧链（例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸）及芳香族侧链（例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸）。或者，突变可沿着全部或部分编码序列随机引入，诸如通过饱和诱变，且可筛选所得突变体的生物学活性以鉴定保留活性（例如结合A β 多肽之能力）的突变体。

[0170] 例如，可仅在抗体分子的框架区中引入突变。引入的突变可为沉默或中性错义突变，即于抗体的结合抗原之能力没有效应或效应很小。此等类型的突变可用于优化密码子的使用，或改良杂交瘤的抗体产生。或者，非中性错义突变可改变抗体的结合抗原之能力。本领域技术人员将能够设计及测试具有所需性质（诸如抗原结合活性没有改变或结合活性改变（例如抗原结合活性改良或抗体特异性变化））的突变体分子。诱变后，经编码的蛋白质可例行表达及经编码的蛋白质的功能和/或生物学活性（例如免疫特异性结合A β 多肽的至少一个表位的能力）可使用本文描述的技术或通过本领域中已知的例行修饰技术来确定。

[0171] 在前述实施方案中之各者中，本公开的抗体或片段可为如本文所述的人源化抗体。例如，该抗体可为人类IgG1抗体。此外，该抗体可为全抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体或重组抗体。该抗体的片段可为Fab、Fab'、F(ab')₂、Fab₂或Fv。片段通过重组DNA技术或通过完整免疫球蛋白的酶促或化学分离来产生。

[0172] 可称本文公开的抗体或结合片段、变体或衍生物以小于或等于 $5 \times 10^{-2} \text{秒}^{-1}$ 、 10^{-2}秒^{-1} 、 $5 \times 10^{-3} \text{秒}^{-1}$ 或 10^{-3}秒^{-1} 之解离速率(k(off))结合至A β 或其片段或变体。在某些实施方案中，可称本公开的抗体以小于或等于 $5 \times 10^4 \text{秒}^{-1}$ 、 10^4秒^{-1} 、 $5 \times 10^5 \text{秒}^{-1}$ 、或 10^5秒^{-1} 、 $5 \times 10^6 \text{秒}^{-1}$ 、 10^6秒^{-1} 、 $5 \times 10^7 \text{秒}^{-1}$ 或 10^7秒^{-1} 之解离速率(k(off))结合A β 或其片段或变体。

[0173] 可称本文公开的抗体或抗原结合片段、变体或衍生物以大于或等于 $10^3 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 、 $5 \times 10^3 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 、 $10^4 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 或 $5 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 之结合速率(k(on))结合本文公开的靶多肽（例如A β ）或其片段或变体。在某些实施方案中，可称本公开的抗体以大于或等于 $10^5 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 、 $5 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 、 $10^6 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 、或 $5 \times 10^6 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 或 $10^7 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 之结合速率(k(on))结合本文公开的靶多肽（例如A β ）或其片段或变体。

[0174] 如本文所述的抗A β 抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物亦可在就其结合亲和力A β 方面进行描绘或指定。结合亲和力可包括具有小于 $5 \times 10^{-2} \text{M}$ 、 10^{-2}M 、 $5 \times 10^{-3} \text{M}$ 、 10^{-3}M 、 $5 \times 10^{-4} \text{M}$ 、 10^{-4}M 、 $5 \times 10^{-5} \text{M}$ 、 10^{-5}M 、 $5 \times 10^{-6} \text{M}$ 、 10^{-6}M 、 $5 \times 10^{-7} \text{M}$ 、 10^{-7}M 、 $5 \times 10^{-8} \text{M}$ 、 10^{-8}M 、 $5 \times 10^{-9} \text{M}$ 、 10^{-9}M 、 $5 \times 10^{-10} \text{M}$ 、 10^{-10}M 、 $5 \times 10^{-11} \text{M}$ 、 10^{-11}M 、 $5 \times 10^{-12} \text{M}$ 、 10^{-12}M 、 $5 \times 10^{-13} \text{M}$ 、 10^{-13}M 、 $5 \times 10^{-14} \text{M}$ 、 10^{-14}M 、 $5 \times 10^{-15} \text{M}$ 或 10^{-15}M 之解离常数或K_d之彼等。

[0175] 重组抗体的表达

[0176] 本公开还涉及编码抗体之重组多核苷酸，其在表达时包含本公开的抗体的重链及轻链CDR。本文提供示例性多核苷酸，其在表达时编码包含单克隆抗体之重链及轻链CDR之多肽链（例如，SEQ ID NO:42至SEQ ID NO:69），其编码可变轻链及重链多肽、及其CDR，根据SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:39。由于密码子简并性，其他多核苷酸序列容易地取代彼等序列。

[0177] 人源化及人类抗体通常通过重组表达产生。将编码可连接至恒定区的人源化轻链

及重链可变区之核酸插入至表达载体中。该等轻链及重链可克隆于相同或不同表达载体中。编码免疫球蛋白链之DNA区段是可操作地连接至表达载体中的控制序列,从而确保免疫球蛋白多肽的表达。表达控制序列包括但不限于启动子(例如天然相关或异源启动子)、信号序列、增强子元件及转录终止序列。优选地,表达控制序列是能够转化或转染真核宿主细胞的载体中的真核启动子系统。一旦载体已整合至适宜宿主中,立刻将宿主维持在适于核苷酸序列的高水平表达及交叉反应抗体的收集及纯化之条件下。

[0178] 此等表达载体通常作为游离基因(episome)或作为宿主染色体DNA之组成部分在宿主生物中复制。通常,表达载体包含选择标志物(例如氨苄青霉素(ampicillin)抗性、潮霉素抗性、四环素抗性 or 新霉素抗性)以允许检测彼等经所需DNA序列转化之细胞。

[0179] 一种可用于克隆本公开的多核苷酸之原核宿主是大肠杆菌(E.coli)。适合使用的其他微生物宿主包括杆菌,诸如枯草杆菌(Bacillus subtilis)及其他肠杆菌科,诸如沙门氏菌(Salmonella)、沙雷氏菌(Serratia)及各种假单胞菌(Pseudomonas)物种。在此等原核宿主中,亦可制备表达载体,其将通常含有与宿主细胞相容的表达控制序列(例如复制起点)。此外,将存在任何数目之多种熟知启动子,诸如乳糖启动子系统、色氨酸(trp)启动子系统、 β -内酰胺酶启动子系统或来自噬菌体 λ 之启动子系统。该等启动子通常控制表达,任选地与操纵子序列一起,且具有核糖体结合位点序列及类似者,用于启动及完成转录及翻译。

[0180] 其他微生物(诸如酵母)亦可用于表达。酵母菌属(Saccharomyces)是优选的酵母宿主,其具有适宜载体,该等载体具有表达控制序列(例如启动子)、复制起点、终止序列及如期望的类似者。典型启动子包括3-磷酸甘油酸激酶及其他糖酵解酶。诱导型酵母启动子尤其包括来自醇脱氢酶、异细胞色素C(isocytochrome C)及负责麦芽糖及半乳糖利用的酶的启动子。此外,植物(例如水稻、烟草)可用于表达。

[0181] 亦可使用哺乳动物组织细胞培养物以表达及产生本公开的多肽(例如编码免疫球蛋白或其片段之多核苷酸)。真核细胞可特别有用,因为本领域中已开发许多能够分泌异源蛋白质(例如完整免疫球蛋白)之适宜宿主细胞系,且包括CHO细胞系、各种Cos细胞系、HeLa细胞(优选地,骨髓瘤细胞系)或经转化之B细胞或杂交瘤。优选地,该等细胞是非人类的。此等细胞之表达载体可包含表达控制序列,诸如复制起点、启动子及增强子、及必要加工信息位点,诸如核糖体结合位点、RNA剪接位点、聚腺苷酸化位点及转录终止子序列。优选的表达控制序列是衍生自免疫球蛋白基因、SV40、腺病毒、牛乳头瘤病毒、巨细胞病毒及类似者的启动子。

[0182] 可将抗体编码序列并入转基因中以引入至转基因动物之基因组中且随后在转基因动物之乳中表达。适宜转基因包括与来自乳腺特异性基因(诸如酪蛋白或 β 乳球蛋白)之启动子及增强子可操作连接的轻链和/或重链的编码序列。

[0183] 含有所关注的多核苷酸序列(例如重链及轻链编码序列及表达控制序列)之载体可通过熟知方法转移至宿主细胞中,该等方法根据细胞宿主之类型而变化。例如,氯化钙转染通常用于原核细胞,而磷酸钙处理、电穿孔、脂质转染、基因枪(biolistics)或基于病毒之转染可用于其他细胞宿主。用于转化哺乳动物细胞之其他方法包括使用聚凝胺、原生质体融合、脂质体、电穿孔及显微注射(一般参见,Sambrook等人,同上)。对于转基因动物的产生,转基因可显微注射至受精卵母细胞中,或可并入至胚胎干细胞之基因组中,且将此类细

胞之细胞核转移至去核卵母细胞中。

[0184] 当将重链及轻链克隆于单独表达载体上时,载体经共转染以达成完整免疫球蛋白的表达及组装。一旦表达,本公开的完整抗体、其二聚体、个别轻链及重链或其他免疫球蛋白形式可根据本领域之标准程序进行纯化,包括硫酸铵沉淀、亲和柱(例如Protein A)、柱层析、HPLC纯化、凝胶电泳及类似者。对于药学用途,优选至少约90至95%同构型的实质上纯免疫球蛋白,且最优选98至99%或更高同构型。

[0185] 增加含有所关注的多核苷酸序列之表达载体之拷贝数作为增加抗体或抗体片段的产生的方式是合需的。为此目的对细胞进行基因操作且于随后选择最佳细胞之多种方法是本领域中已知的。此等方法通常包括“扩增”步骤来增加并入的表达载体之拷贝数以提高所需蛋白质的达成的产率。过去已报导扩增方法,例如Bebbington及Hentschel (DNA Cloning Volume III (IRL press, 1987))。许多可选择的标志物中之任何者通常呈核酸序列之形式,其编码参与宿主细胞代谢且对于其在某些培养基条件下的存活必不可少的酶,可操作地连接至表达载体,藉此于选择可选择的标志物后即可促进所需蛋白质的表达。当蛋白质的滴度不可接受地升高时,可使针对高拷贝数所选择的细胞经受进一步的扩增方法。此类方法可涉及使细胞经受某些抑制可选择的标志物(例如甲氨喋呤及二氢叶酸还原酶、甲硫氨酸亚砷亚胺及谷氨酰胺合成酶、多重抗药性(multidrug resistance)/阿霉素)的毒性药物。通过此种抑制,可选择具有该标志物的表达水平增加的细胞群体。此通常会导致类似功能连接之表达盒之表达水平增加。评估经受扩增方法的个别细胞中的载体拷贝数直至达到蛋白质产生的平台,优选至少约100mg/ml/10⁶个细胞/24小时。于随后筛选通过此类选择及扩增生长的克隆的滴度/产率以选择最佳克隆且然后进一步评估。自此种滴定及筛选,通常鉴定一个或少量克隆用于随后产生一种或多种所需蛋白质且于随后单独使用其。

[0186] 药物组合物

[0187] 已知制备抗Aβ抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物并向有此需要受试者施用其的几种方法。抗Aβ抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物的施用途径可为例如外周、经口、中枢(例如鞘内、颅内)、胃肠外、通过吸入或局部。

[0188] 如本文所讨论,可配制抗Aβ抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物以便促进活性剂的施用及促进活性剂的稳定性。在某些实施方案中,根据本公开的药物组合物包含药学上可接受、非毒性、无菌载剂诸如生理盐水、非毒性缓冲液、防腐剂及类似者。就本申请之目的而言,抗Aβ抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物的药有效量应被认为意指足以达成对靶标的有效结合且足以达成例如在不影响血管淀粉样下减少脑淀粉样斑块,或在抗Aβ抗体或其抗原结合片段的慢性给药期间使微出血的发生最小化的效益的量。在一些实施方案中,抗Aβ抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物可以有效量穿过血脑屏障以减少脑淀粉样斑块。

[0189] 用于本公开中的药物组合物包含药学上可接受的载剂,包括例如离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白(诸如人类血清白蛋白)、缓冲物质(诸如磷酸盐)、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸之部分甘油酯混合物、水、盐或电解质诸如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶态二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合

物、聚乙二醇及羊毛脂。

[0190] 微生物之作用之预防可通过各种抗细菌剂及抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞及类似者来达成。在许多情况下,可在组合物中包含等渗剂,例如糖、多元醇或盐。可注射组合物的延长吸收可通过在该组合物中包含延迟吸收的药剂(例如单硬脂酸铝及明胶)来实现。

[0191] 胃肠外配制剂可为单一单次剂量(bolus dose)、输注或负荷单次剂量,然后是维持剂量。此等组合物可以特定固定或可变间隔施用,例如每天一次,或“根据需要”地施用。

[0192] 用于胃肠外施用的制剂包括无菌水性溶液或非水性溶液、悬浮液及乳液。非水性溶剂之实例使丙二醇、聚乙二醇、植物油(诸如橄榄油)及可注射有机酯(诸如油酸乙酯)。水性载剂包括水、醇/水溶液、乳液或悬浮液,包括盐水及缓冲介质。胃肠外载剂包括氯化钠溶液、林格氏右旋糖(Ringer's dextrose)、右旋糖及氯化钠、乳酸化林格氏或不挥发油。静脉内媒介物包括流体及营养补充剂、电解质补充剂(诸如彼等基于林格氏右旋糖者)及类似者。亦可存在防腐剂及其他添加剂,诸如例如抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂及惰性气体及类似者。此外,根据药物组合物之所欲用途,本公开的药物组合物可包含其他试剂,诸如多巴胺或精神药理学药物。

[0193] 与载剂材料组合以产生单一剂型的抗AB抗体或其片段、变体或衍生物的量将根据所治疗的宿主及特定施用模式而变化。该组合物可以单剂量、多剂量或在确定的时间段内以输注形式施用。亦可调整剂量方案以提供最佳所需响应(例如治疗性或防治性响应)。

[0194] 如本文所用,术语“外周施用”包括例如静脉内、动脉内、腹膜内、肌肉内、皮下、鼻内、眼内/玻璃体内、直肠或阴道施用。虽然所有此等施用形式均清楚地视为在本公开的范畴内,但施用形式的实例将是用于注射,特别是用于皮下、静脉内或动脉内注射或滴注的溶液。用于注射的适宜药物组合物可包含缓冲液、表面活性剂,任选地稳定剂等。用于外周施用的制剂包括无菌水性溶液或非水性溶液、悬浮液及乳液。亦可存在防腐剂及其他添加剂,诸如例如抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂及惰性气体及类似者。

[0195] 本公开的治疗组合物通常是实质上纯的,不含非所欲污染物。此意指该药剂通常是至少50%w/w纯的干扰蛋白及通过其产生或纯化产生之其他污染物,但不排除将该药剂与过量的药学上可接受的载剂或意欲促进其使用的其他媒介物组合之可能性。有时,单克隆抗体(或其他治疗剂)是至少60%、70%、80%、90%、95%或99%w/w纯的干扰蛋白及来自产生或纯化的污染物。

[0196] 适合治疗的患者

[0197] 本公开还涉及通过施用本公开的抗体、片段及药物组合物来治疗阿尔茨海默病及其他淀粉样生成性疾病,在患者中产生有益治疗反应(例如诱导AB的吞噬作用,减少斑块负荷,抑制斑块形成,减少神经炎性营养不良,中和可溶性毒性AB物质,改善认知功能,和/或逆转、治疗或预防认知能力下降),例如用于预防或治疗淀粉样生成性疾病。本公开亦关于一种所揭示的抗体及片段于制造用于治疗或预防淀粉样生成性疾病的药物之用途。

[0198] 在一个方面中,本公开提供预防或治疗患者之与AB的淀粉样沉积相关的疾病的方法。在一个方面中,该等淀粉样沉积在脑或其他CNS区域中。此类疾病包括阿尔茨海默病、唐氏综合征、年龄相关黄斑变性(AMD)及认知损伤。后者可伴或不伴淀粉样生成性疾病的其他特性发生。本公开的一些方法需要向患者施用有效剂量的特异性结合至淀粉样沉积的组分

的抗体。此类方法可用于预防或治疗人类患者的阿尔茨海默病。

[0199] 该等方法可用于无症状患者及彼等目前显示疾病症状的患者。用于此类方法中的抗体可为人源化抗体、人类抗体或其片段(例如抗原结合片段)且可为如本文所述的单克隆或多克隆抗体。在又一个方面中,本公开的特征在于施用自用AB肽免疫的人类制备的抗体,该人类可为意欲用抗体治疗的患者。

[0200] 在另一个方面中,本公开的特征在于将抗体与药物载剂一起作为药物组合物施用。或者,抗体可通过施用编码至少一个抗体链的多核苷酸施用于患者。表达多核苷酸以在患者中产生抗体链。任选地,该多核苷酸编码抗体之重链及轻链。表达多核苷酸以在患者中产生重链及轻链。在示例性实施方案中,监测患者的患者血液中所施用抗体的水平。

[0201] 适合治疗的患者包括处在疾病风险中但未显示症状的个体以及目前显示症状的患者。在阿尔茨海默病之情况下,活得足够长的任何人均可能处在阿尔茨海默病风险中。因此,本方法包括向一般群体防治性施用,而无需对受试者患者之风险进行任何评估。本方法对于具有阿尔茨海默病之已知遗传风险的个体尤其有用。此等个体包括彼等具有已经历该疾病的亲属的个体及通过分析遗传或生化标志物确定风险的彼等个体。阿尔茨海默病风险的遗传标志物包括APP基因的突变,特别是在位置717及位置670及671处的突变,分别称为Hardy及Swedish突变。其他风险标志物是早老素基因PS1及PS2的突变、及ApoE4、AD家族史、高胆固醇血症或动脉粥样硬化。目前罹患阿尔茨海默病的个体可自特征性痴呆以及以上描述的风险因素的存在识别出。此外,许多诊断测试可用于鉴定患有AD的个体。此等包括测定CSF tau及Aβ42浓度。tau升高及Aβ42浓度降低表明AD的存在。罹患阿尔茨海默病的个体亦可通过如实例部分中所讨论的ADRD标准来诊断。

[0202] 无症状患者的治疗可在任何年龄(例如10、20、30)开始。然而,通常,在患者达到40、50、60或70之前不需要开始治疗。治疗通常需要在一段时段内的多次剂量。治疗可通过经时测定抗体水平来监测。若响应下降,则指示加强剂量。在潜在唐氏综合征患者之情况下,治疗可通过对母亲施用治疗剂来在产前或在出生后不久开始。

[0203] 体内检测

[0204] 在另一个方面中,本公开提供用于检测患有淀粉样生成性疾病或处于发展淀粉样生成性疾病风险中的患者中的淀粉样斑块及沉积的方法。此类方法可用于诊断或证实淀粉样生成性疾病或其易感性。例如,该等方法可用于具有痴呆症状的患者中,其中观测到异常淀粉样沉积可能指示阿尔茨海默病。该等方法亦可用于无症状患者。淀粉样异常沉积的存在指示易患未来症状性疾病。

[0205] 在一些实施方案中,该方法包括向受试者/患者施用本公开的抗体或其片段及检测结合至Aβ的抗体或其片段。

[0206] 抗体和/或其抗体片段可通过导致递送至意欲显像的组织任何适宜手段施用,例如通过静脉内注射至患者的身体中或通过颅内注射直接施用至脑中。抗体和/或其片段之剂量可包括治疗剂量、亚治疗剂量或超治疗剂量。在一些实施方案中,标记抗体或其片段,包括荧光标记物、顺磁性标记物或放射性标记物。标记物之选择取决于检测手段。例如,荧光标记物适用于视觉检测。顺磁性标记物的使用适用于断层扫描检测,无需手术干预。在一些实施方案中,使用正电子发射断层扫描(PET)或单光子发射计算机断层扫描(SPECT)检测放射性标记物。

[0207] 在另一个方面中,本公开提供用于测定进行淀粉样生成性疾病治疗的受试者的治疗功效的方法。在一些实施方案中,在通过施用本公开的抗体或其片段进行治疗之前,测量该受试者中淀粉样斑块的第一水平及检测受试者中结合至A β 的抗体或其片段的第一量。然后可对受试者施用治疗,接着测量受试者中淀粉样斑块的第二水平,及检测受试者中结合至A β 的抗体或其片段。在一些实施方案中,淀粉样斑块浓度的降低指示对治疗的阳性响应,且在一些实施方案中,淀粉样斑块浓度没有变化或淀粉样斑块的小幅增加指示对治疗的阳性响应。在一些实施方案中,淀粉样斑块的水平可使用检测本文描述的淀粉样斑块的方法来测量。

[0208] 在一些实施方案中,淀粉样生成性疾病的诊断可例如通过比较来自测量的第一水平(即基线)的标记位置的数量、大小和/或强度与受试者之随后淀粉样斑块的第二水平来进行。经时增加指示疾病进展,没有变化指示,及经时较少或较低强度的淀粉样斑块指示缓解。

[0209] 治疗方案

[0210] 防治性应用:将药物组合物或药物以足以消除或降低疾病风险、减轻疾病严重度或延迟疾病发作的量(包括疾病的生化、组织学和/或行为症状、其并发症及呈现于疾病的发展期间的中间病理表型)施用于易患阿尔茨海默病或其他淀粉样生成性疾病或另外处于阿尔茨海默病或其他淀粉样生成性疾病风险中的患者。患者易感性或发展淀粉样生成性疾病的风险可例如自遗传标志物、生化标志物、未指定的遗传风险或其他手段来确定。在治疗性应用中,将组合物或药物以足以治愈或至少部分阻止疾病症状(生化、组织学和/或行为)(包括其并发症及该疾病的发展中的中间病理表型)的量施用于易患或已经罹患此种疾病的患者。

[0211] 在一些实施方案中,药剂的施用减少或消除尚未发展特征性阿尔茨海默病或其他淀粉样生成性疾病认知病理的患者的认知损伤。足以达成治疗性或防治性治疗的量定义为治疗或防治有效剂量。在防治性及治疗性方案中,药剂通常以几个剂量施用直至已达成足够免疫应答,其中“免疫应答(immune response或immunological response)”包括受体受试者中的针对抗原的(抗体介导的)体液和/或细胞(通过抗原特异性T细胞或其分泌产物介导)应答的发展。此种应答可为活性应答,即通过施用免疫原诱导,或被动应答,即通过施用免疫球蛋白或抗体或初免T细胞诱导。

[0212] 在一些实施方案中,抗体在多种情况下施用。单次剂量之间的间隔可为每周、每月或每年。间隔亦可为不规则的,如通过测量患者的血液A β 抗体水平所指示。在一些方法中,调整剂量以达成1至1000 μ g/ml且在一些方法中25至300 μ g/ml之血浆抗体浓度。或者,抗体可呈持续释放型配制剂施用,在该情况下需要较少施用频率。剂量及频率取决于患者中抗体的半衰期而变化。一般而言,人类抗体显示最长半衰期,接着是人源化抗体、嵌合抗体及非人类抗体。

[0213] 施用的剂量及频率可根据治疗是防治性的还是治疗性的而变化。在防治性应用中,将含有本抗体或其混合物的组合物施用于尚未处于疾病状态下的患者以增强患者的抗性。此种量定义为“防治有效剂量”。在该用途中,精确量再次取决于患者的健康状态及一般免疫力,但一般在0.1至25mg/kg/剂之范围内,尤其是0.5至2.5mg/kg/剂。在很长一段时间内以相对不频繁间隔施用相对低的剂量。一些患者在其余生中继续接受治疗。

[0214] 在治疗性应用中,有时需要相对短间隔的相对高剂量(例如约0.5至300mg/kg抗体/剂,以5至25mg/kg之剂量更常用)直至疾病的进展减少或终止,且优选直至患者显示疾病之症状的部分或完全改善。此后,可对患者施用防治方案。

[0215] 施用:治疗剂可通过胃肠外、局部、静脉内、经口、皮下、动脉内、颅内、腹膜内、鼻内、眼内或肌肉内手段施用用于防治性和/或治疗性治疗。肌肉内注射最通常在手臂或腿部肌肉中进行。在一些方法中,将药剂直接注射至沉积已积累的特定组织中,例如颅内注射。对于抗体的施用优选肌肉内注射或静脉内输注。在一些方法中,将特定治疗抗体直接注射至颅骨中。在一些方法中,将抗体作为持续释放型组合物或装置施用。

[0216] 本公开的药剂可任选地与至少部分有效治疗淀粉样生成性疾病的其他药剂组合施用。在阿尔茨海默病及唐氏综合征的情况下,其中淀粉样沉积发生在脑中,本公开的药剂亦可与增加本公开的药剂穿过血脑屏障的其他药剂结合施用。

[0217] 通过以下非限制性实例将更全面地描述本公开。

[0218] SEQ ID NO.40:huIgG1恒定区

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0220] SEQ ID NO.41:huk恒定区

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0222] SEQ ID NO.42:h2726_VH(可变重链)核苷酸序列

GAAAGTGCAGCTTCTGGAGAGCGGGGCGGCCTGGTGCAGCCGGGCGGATCCCTGAGACTGTC
CTGTGCCGCGTCCGGTTTTACCTTCTCCAACACGGAATGTCATGGGTCCGCCAAGCACCCG
GAAAGGGATTGGAATGGGTGGCTTCGATCCGGTCCGGCTCGGGACGGACCTACTACTCCGAT
AACGTCAAGGGCAGATTCACCTATTAGCCGGGACAAACAGCAAGAATACCCTGTACCTCCAAAT
GAACTCCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGCGTGCGCTACGACCACTACTCGG
GTTCTCTGATTACTGGGGACAGGGGACCCTCGTGACTGTGTCAAGC

[0224] SEQ ID NO.43:h2726_VL(可变重链)核苷酸序列

GATGTCGTGATGACCCAGTCAACCTGTCCCTTCTGTGACTCCCGGAGAACCGGCGTCCAT
TTCGTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGCTCGATTATGACGGAAAGACCTACCTGAACTGGTTGC
TCCAAAAGCCTGGGCAGAGCCCCAGAGACTGATCTACAAAGTGTC AACAGGGACTCGGGC
GTGCCGGACCGCTTCTCGGGGTCCGGTTCCGGTACCGACTTTACGCTGAAGATCTACGGGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGAGTGTA TACTGTTGGCAGGGCACTCACTTCCCGCGGACCTTCG
GACAAGGCACCAAGGTTCGAGATCAAG

[0226] SEQ ID NO.44:h2931_VH(可变重链)核苷酸序列

- [0227] GAAAGTGCAGCTCCTGGAGTCCGGGGGTGGACTGGTGCAGCCCGGGGGCAGCCTGAGGCTGAG
CTGCGCCGCGTCAGGATTACCTTCTCCAACCTTCGGAATGTCCTGGGTGAGACAGGCCCCGG
GAAAGGGCCTTGAATGGGTGGCTAGCGTGCGCTCCGGTTCCGGACGGACCTACTACTCGGAC
AACGTGAAGGGCCGGTTTACTATCTCCCGGGACAATTCAAGAACACCCTGTACCTCCAAAT
GAACTCCTTGCGCGCCGAGGATACCGCAGTGTATTACTGCGTGCGCTACGACCACTACTCTG
GCACTAGCGATTACTGGGGCCAGGGAACTCTGGTCACCGTGTGTCGTC
- [0228] SEQ ID NO.45:h2931_VL(可变轻链)核苷酸序列
GATGTCGTGATGACTCAGTCACCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTTGGGGAACCCGCCTCGAT
CTCGTGCAAGAGCTCCCAGAGCCTGCTCGACTATGATGGAAAGACCTACCTGAACTGGTTGC
TCCAAAAGCCGGGGCCAGAGCCCCCAGAGGCTGATCTACCGCGTGACCAACCGCGACACCGGG
GTGCCGGACCGGTTCTCCGGATCCGGCAGCGGCACTGACTTCACCCTGAAAATTTCCAGAGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTTGGCAGGGTACTCACTTTCCACGGTCCTTCG
GTCAAGGAACCAAGGTCGAGATCAAG
- [0230] SEQ ID NO.46:h2731_VH(可变重链)核苷酸序列
GAAAGTGCAGCTTCTGGAGAGCGGGGGCGGCCTGGTGCAGCCGGGCGGATCCCTGAGACTGTC
CTGTGCCGCGTCCGGTTTTACCTTCTCCAACCTACGGAATGTCATGGGTCCGCCAAGCACCCG
GAAAGGGATTGGAATGGGTGGCTTCGATCCGGTCCGGCTCGGGACGGACCTACTACTCCGAT
AACGTCAAGGGCAGATTCACTATTAGCCGGGACAACAGCAAGAATACCCTGTACCTCCAAAT
GAACTCCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGCGTGCGCTACGACCACTACTCGG
GTTCTCTGATTACTGGGGACAGGGGACCCTCGTGACTGTGTCAAGC
- [0231] GATGTCGTGATGACTCAGTCACCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTTGGGGAACCCGCCTCGAT
CTCGTGCAAGAGCTCCCAGAGCCTGCTCGACTATGATGGAAAGACCTACCTGAACTGGTTGC
TCCAAAAGCCGGGGCCAGAGCCCCCAGAGGCTGATCTACCGCGTGACCAACCGCGACACCGGG
GTGCCGGACCGGTTCTCCGGATCCGGCAGCGGCACTGACTTCACCCTGAAAATTTCCAGAGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTTGGCAGGGTACTCACTTTCCACGGTCCTTCG
GTCAAGGAACCAAGGTCGAGATCAAG
- [0232] SEQ ID NO.47:h2731_VL(可变轻链)核苷酸序列
GATGTCGTGATGACTCAGTCACCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTTGGGGAACCCGCCTCGAT
CTCGTGCAAGAGCTCCCAGAGCCTGCTCGACTATGATGGAAAGACCTACCTGAACTGGTTGC
TCCAAAAGCCGGGGCCAGAGCCCCCAGAGGCTGATCTACCGCGTGACCAACCGCGACACCGGG
GTGCCGGACCGGTTCTCCGGATCCGGCAGCGGCACTGACTTCACCCTGAAAATTTCCAGAGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTTGGCAGGGTACTCACTTTCCACGGTCCTTCG
GTCAAGGAACCAAGGTCGAGATCAAG
- [0233] GATGTCGTGATGACTCAGTCACCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTTGGGGAACCCGCCTCGAT
CTCGTGCAAGAGCTCCCAGAGCCTGCTCGACTATGATGGAAAGACCTACCTGAACTGGTTGC
TCCAAAAGCCGGGGCCAGAGCCCCCAGAGGCTGATCTACCGCGTGACCAACCGCGACACCGGG
GTGCCGGACCGGTTCTCCGGATCCGGCAGCGGCACTGACTTCACCCTGAAAATTTCCAGAGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTTGGCAGGGTACTCACTTTCCACGGTCCTTCG
GTCAAGGAACCAAGGTCGAGATCAAG
- [0234] SEQ ID NO.48:h2831_VH(可变重链)核苷酸序列
GAAAGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGGGGATCCCTGCGGCTTTC
CTGCGCCGCATCCGGCTTACCTTTTCAAACCTTCGGAATGTCGTGGGTGAGACAGGCCCCGG
GAAAGGGTCTGGAATGGGTGGCCTCAGTGCGGTCCGGATCGGGTAGAACCTACTACAGCGAT
AACGTGAAGGGCCGGTTCACGATCTCCCGCGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACTTGCAAAT
GAATAGCCTCAGGGCTGAGGATACCGCGGTCTACTACTGTGTGCGCTATGACCACTACACTG
GAACTAGCGACTACTGGGGCCAGGGGACCCTCGTGACTGTGTGTCGTC
- [0235] GAACTAGCGACTACTGGGGCCAGGGGACCCTCGTGACTGTGTGTCGTC
- [0236] SEQ ID NO.49:h2831_VL(可变轻链)核苷酸序列

- [0238] GATGTCGTGATGACTCAGTCACCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTTGGGGAACCCGCCTCGAT
CTCGTGCAAGAGCTCCCAGAGCCTGCTCGACTATGATGGAAAGACCTACCTGAACTGGTTGC
TCCAAAAGCCGGGCCAGAGCCCCAGAGGCTGATCTACCGCGTGACCAACCGCGACACCGGG
GTGCCGGACCGGTTCTCCGGATCCGGCAGCGGCACTGACTTCACCCTGAAAATTTCCAGAGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTTGGCAGGGTACTCACTTTCCACGGTCTTTCG
GTCAAGGAACCAAGGTCGAGATCAAG
- [0239] SEQ ID NO.50:h2926_VH(可变重链)核苷酸序列
GAAGTGCAGCTCCTGGAGTCCGGGGGTGGACTGGTGCAGCCCGGGGGCAGCCTGAGGCTGAG
CTGCGCCGCGTCAGGATTACCTTCTCCAACTTCGGAATGTCCTGGGTGAGACAGGCCCCGG
GAAAGGGCCTTGAATGGGTGGCTAGCGTGCCTCCGGTTCCGGACGGACCTACTACTCGGAC
- [0240] AACGTGAAGGGCCGGTTTACTATCTCCCGGGACAATTGGAAGAACACCCTGTACCTCCAAAT
GAACTCCTTGCGCGCCGAGGATACCGCAGTGTATTACTGCGTGCCTACGACCACTACTCTG
GCACTAGCGATTACTGGGGCCAGGGAACCTCTGGTCACCGTGTCTGCA
- [0241] SEQ ID NO.51:h2926_VL(可变轻链)核苷酸序列
GATGTCGTGATGACCCAGTCACCACTGTCCCTTCTGTGACTCCCGGAGAACCGGCGTCCAT
TTCGTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGCTCGATTATGACGGAAAGACCTACCTGAACTGGTTGC
TCCAAAAGCCTGGGCAGAGCCCCAGAGACTGATCTACAAAGTGTCCAACAGGGACTCGGGC
- [0242] GTGCCGGACCGCTTCTCGGGGTCCGGTTCCGGTACCGACTTTACGCTGAAGATCTCACGGGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTTGGCAGGGCACTCACTTCCCGCGGACCTTCG
GACAAGGCACCAAGGTCGAGATCAAG
- [0243] SEQ ID NO.52:h4921G VH(可变重链)核苷酸序列
GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCGGGGGGGGGACTCGTGCAGCCCGGGGGCTCCCTGAGACTCTC
TTGTGCCGCTCCGGCTTCACTTTTTTCAAACCTTCGGAATGTCCTGGGTCCGCCAAGCACCGG
GAAAGGGTCTGGAATGGGTGCGCAGCGTGCAGTCCGGCGGCGGACGGACTTACTACTCCGAC
- [0244] AACGTGAAGGGCCGGTTTACCATCTCAAGGGATAACTCCAAGAATACTCTGTACTTGCAAAT
GAACTCGCTGCGCGCTGAAGATACCGCGGTGTACTATTGCGTGCCTACGACCACTACTCCG
GTACCAGCGACTACTGGGGACAGGGAACCCTTGTGACCGTGTCTGAGC
- [0245] SEQ ID NO.53:h4921G VL(可变轻链)核苷酸序列
GATGTCGTGATGACTCAGTCGCCCCCTCTCCCTGCCTGTGACTCTGGGGGAACCCGCGTCCAT
TTCGTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGTTGGAATCAGACGGAAAGACCTACCTTAACTGGCTGC
TGCAAAAGCCAGGACAGAGCCCGCAGAGGCTGATCTACCGCGTGACCAACCGGGATACGGGA
- [0246] GTGCCGGACAGATTACGCGGCTCGGGTTCCGGCACCGACTTCACCCTCAAAATCTCCCGCGT
CGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTATTACTGTTGGCAGGGAACCCACTTTCTCTCGGACCTTCG
GTCAAGGGACTAAGGTCGAAATCAAG
- [0247] SEQ ID NO.54:h2826 VH(可变重链)核苷酸序列

- [0248] GAAGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCAGGGGATCCCTGCGGCTTTC
CTGCGCCGCATCCGGCTTCACCTTTTCAAACCTTCGGAATGTCGTGGGTGAGACAGGCCCCGG
GAAAGGGTCTGGAATGGGTGGCCTCAGTGCGGTCCGGATCGGGTAGAACCTACTACAGCGAT
AACGTGAAGGGCCGGTTCACGATCTCCCGCGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACTTGCAAAT
GAATAGCCTCAGGGCTGAGGATACCGCGGTCTACTACTGTGTGCGCTATGACCACTACACTG
GAACTAGCGACTACTGGGGCCAGGGGACCCTCGTGACTGTGTGCTCC
- [0249] SEQ ID NO.55:h2826 VL(可变轻链)核苷酸序列
GATGTCGTGATGACCCAGTCACCACTGTCCCTTCCCTGTGACTCCCGGAGAACCGGCGTCCAT
TTCGTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGCTCGATTATGACGGAAAGACCTACCTGAACTGGTTCG
TCCAAAAGCCTGGGCAGAGCCCCAGAGACTGATCTACAAAGTGTCACACAGGGACTCGGGC
- [0250] GTGCCGGACCGCTTCTCGGGGTCCGGTTCGGTACCGACTTTACGCTGAAGATCTCACGGGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTTGGCAGGGCACTCACTTCCCGCGGACCTTCG
GACAAGGCACCAAGGTCGAGATCAAG
- [0251] SEQ ID NO.56:h2929 VH(可变重链)核苷酸序列
GAAGTGCAGCTCCTGGAGTCCGGGGGTGGACTGGTGCAGCCCAGGGGAGCCTGAGGCTGAG
CTGCGCCGCGTCAGGATTCACCTTCTCCAACCTTCGGAATGTCCTGGGTGAGACAGGCCCCGG
GAAAGGGCCTTGAATGGGTGGCTAGCGTGCCTCCGGTTCGGACGGACCTACTACTCGGAC
- [0252] AACGTGAAGGGCCGGTTTACTATCTCCCGGGACAATTCAAGAACACCCTGTACCTCCAAAT
GAACTCCTTGCGCGCCGAGGATACCGCAGTGTATTACTGCGTGCGCTACGACCACTACTCTG
GCACTAGCGATTACTGGGGCCAGGGAACCTCTGGTCACCGTGTCGTCA
- [0253] SEQ ID NO.57:h2929 VL(可变轻链)核苷酸序列
GATGTCGTGATGACCCAAAGCCCCCTGTCCCTCCCTGTGACTCCTGGAGAGCCGGCGTCCAT
TTCCTGCCGGTCAAGCCAGTCCCTGGTGGACTACGACGGAAAGACCTACCTCAACTGGCTGC
TGCAGCGCCCCGGGCAGTCGCCGAGCGGCTTATCTACAAAGTGTCACACCGCGACTCGGGC
- [0254] GTGCCGGATAGGTTTTTCGGGTTCGGGAAGCGGCACCGACTTCACCCTGAAAATCTCCAGAGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTTGGCAGGGTTCTCACTTCCCACGGTCATATG
GCCAAGGGACTAAGGTCGAAATCAAG
- [0255] SEQ ID NO.58:h3818G VH(可变重链)核苷酸序列
GAAGTGCAGCTCCTGGAGTCCGGCGGTGGACTGGTGCAGCCGGGCGGATCCCTGAGACTGTC
CTGCGCCGCGTCGGGCTTTACTTTTCGCAAATTACGGCATGAGCTGGGTGAGACAGGCCCCCG
GGAAGGGTCTGGAATGGGTGGCCAGCGTCCGGAGCGGGGATCCCGGACCTATTACTCCGAC
- [0256] AACGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCAAGGGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACTTGCAAAT
GAACAGCCTTCGGGCTGAGGATACTGCCGTGTACTACTGCGTGCGCTACGACCACTACTCCG
GATCCTCGGATTACTGGGGACAGGGAACCCTCGTGACCGTGTCATCG
- [0257] SEQ ID NO.59:h3818G VL(可变轻链)核苷酸序列

- [0258] GATGTCGTGATGACTCAGTCGCCCTCTCCCTGCCTGTGACTCTGGGGGAACCCGCGTCCAT
TTCGTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGATGGACACCGACGGAAAGACCTACCTTAAGTGGCTGC
TGCAAAAGCCAGGACAGAGCCCGCAGAGGCTGATCTACAAAGTGTCAAACCGGGAGTCCGGA
GTGCCCGACAGATTACGCGGCTCGGGTTCCGGCACCGACTTCACCCTCAAATCTCCCGCGT
CGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTATTACTGTTGGCAGGGAACCCACTTTCTCGGACCTTCG
GTCAAGGGACTAAGGTCGAAATCAAG
- [0259] SEQ ID NO.60:h2927 VH(可变重链)核苷酸序列
GAAGTGCAGCTCCTGGAGTCCGGGGGTGGACTGGTGCAGCCCGGGGGCAGCCTGAGGCTGAG
CTGCGCCGCGTCAGGATTACCTTCTCCAACCTTCGGAATGTCCTGGGTGAGACAGGCCCCGG
GAAAGGGCCTTGAATGGGTGGCTAGCGTGCCTCCGGTTCCGGACGGACCTACTACTCGGAC
- [0260] AACGTGAAGGGCCGGTTTACTATCTCCCGGGACAATTCGAAGAACACCCTGTACCTCCAAAT
GAACTCCTTGCGCGCCGAGGATACCGCAGTGTATTACTGCGTGCCTACGACCACTACTCTG
GCACTAGCGATTACTGGGGCCAGGGAACCTCTGGTCACCGTGTCTGCA
- [0261] SEQ ID NO.61:h2927 VL(可变轻链)核苷酸序列
GATGTCGTGATGACTCAGTCACCGCTCTCCCTCCCTGTGACCCCGGGCGAACCAGCGTCGAT
CTCCTGCAAGAGCAGCCAATCATTGCTGGACTACGACGGAAAGACCTATCTTAAGTGGCTGC
TGCAGAAGCCCGGGCAGAGCCCGCAGCGCCTGATCTACAAAGTGTCCAACAGAGACTCCGGA
- [0262] GTGCCTGATAGGTTCTCGGGTTCCGGCTCCGGTACCGACTTCACTCTGAAAATTTCCCGGGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTTGGCAGGGCACCCACTTCCCCCGGTGTTG
GACAAGGGACCAAGGTCGAGATCAAG
- [0263] SEQ ID NO.62:h49K3G VH(可变重链)核苷酸序列
GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCGGGGGGGGGACTCGTGCAGCCCGGGGGCTCCCTGAGACTCTC
TTGTGCCGCTCCGGCTTCACTTTTTTCAAACCTTCGGAATGTCCTGGGTCCGCCAAGCACCGG
GAAAGGGTCTGGAATGGGTGCCAGCGTGCCTCCGGCGGGACGGACTTACTACTCCGAC
- [0264] AACGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCAAGGGATAACTCCAAGAATACTCTGTACTTGCAAAT
GAACTCGCTGCGCGCTGAAGATACCGCGGTGTACTATTGCGTGCCTACGACCACTACTCCG
GTACCAGCGACTACTGGGGACAGGGAACCCTTGTGACCGTGTGAGC
- [0265] SEQ ID NO.63:h49K3G VL(可变轻链)核苷酸序列
GATGTCGTGATGACTCAGTCGCCCTCTCCCTGCCTGTGACTCTGGGGGAACCCGCGTCCAT
TTCGTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGTTGGACTCAGACGGAAAGACCTACCTTAAGTGGCTGC
TGCAAAAGCCAGGACAGAGCCCGCAGAGGCTGATCTACAAAGTGTCAAACCGGGATTCCGGA
- [0266] GTGCCCGACAGATTACGCGGCTCGGGTTCCGGCACCGACTTCACCCTCAAATCTCCCGCGT
CGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTATTACTGTTGGCAGGGAACCCACTTTCTCGGACCTTCG
GTCAAGGGACTAAGGTCGAAATCAAG
- [0267] SEQ ID NO.64:h4917G VH(可变重链)核苷酸序列

[0268]

GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCGGGGGGGGGACTCGTGCAGCCCGGGGGGCTCCCTGAGACTCTC
TTGTGCCGCCTCCGGCTTCACTTTTTTCAAACCTTCGGAATGTCCTGGGTCCGCCAAGCACCGG
GAAAGGGTCTGGAATGGGTTCGCCAGCGTGCAGTCCGGCGGGCGGACGGACTTACTACTCCGAC
AACGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCAAGGGATAACTCCAAGAATACTCTGTACTTGCAAAT
GAACTCGCTGCGCGCTGAAGATACCGCGGTGTACTATTGCGTGCGCTACGACCACTACTCCG
GTACCAGCGACTACTGGGGACAGGGAACCCTTGTGACCGTGTGAGC

[0269]

SEQ ID NO.65:h4917G VL(可变轻链)核苷酸序列

GATGTCGTGATGACTCAGTCGCCCCCTCTCCCTGCCTGTGACTCTGGGGGAACCCGCGTCCAT
TTCGTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGTTGGACTCAGACGGAAAGACCTACCTTAAGTGGCTGC

[0270]

TGCAAAAGCCAGGACAGAGCCCGCAGAGGCTGATCTACAAAGTGACCAACCGGGAGTCCGGA
GTGCCGGACAGATTACGCGGCTCGGGTTCGGCACCGACTTCACCCTCAAAATCTCCCGCGT
CGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTATTACTGTTGGCAGGGAACCCACTTTCCCTCGGTCAATCG
GTCAAGGGACTAAGGTCGAAATCAAG

[0271]

SEQ ID NO.66:h2727 VH(可变重链)核苷酸序列

GAAGTGCAGCTTCTGGAGAGCGGGGGCGGCCTGGTGCAGCCGGGCGGATCCCTGAGACTGTC
CTGTGCCGCGTCCGGTTTTACCTTCTCCAACCTACGGAATGTCATGGGTCCGCCAAGCACCCG

[0272]

GAAAGGGATTGGAATGGGTGGCTTCGATCCGGTCCGGCTCGGGACGGACCTACTACTCCGAT
AACGTCAAGGGCAGATTCACTATTAGCCGGGACAACAGCAAGAATACCCTGTACCTCCAAAT
GAACTCCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGCGTGCGCTACGACCACTACTCGG
GTTCCCTCTGATTACTGGGGACAGGGGACCCTCGTGACTGTGTCAAGC

[0273]

SEQ ID NO.67:h2727 VL(可变轻链)核苷酸序列

GATGTCGTGATGACTCAGTCACCGCTCTCCCTCCCTGTGACCCCGGGCGAACCAGCGTCGAT
CTCCTGCAAGAGCAGCCAATCATTGCTGGACTACGACGGAAAGACCTATCTTAAGTGGCTGC

[0274]

TGCAGAAGCCCGGGCAGAGCCCGCAGCGCCTGATCTACAAAGTGTCACAGAGACTCCGGA
GTGCCTGATAGGTTCTCGGGTTCGGGCTCCGGTACCGACTTCACTCTGAAAATTTCCCGGGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTTGGCAGGGCACCCACTTCCCCCGGTGTTTG
GACAAGGGACCAAGGTCGAGATCAAG

[0275]

SEQ ID NO.68:h4918G VH(可变重链)核苷酸序列

GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCGGGGGGGGGACTCGTGCAGCCCGGGGGGCTCCCTGAGACTCTC
TTGTGCCGCCTCCGGCTTCACTTTTTTCAAACCTTCGGAATGTCCTGGGTCCGCCAAGCACCGG

[0276]

GAAAGGGTCTGGAATGGGTTCGCCAGCGTGCAGTCCGGCGGGCGGACGGACTTACTACTCCGAC
AACGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCAAGGGATAACTCCAAGAATACTCTGTACTTGCAAAT
GAACTCGCTGCGCGCTGAAGATACCGCGGTGTACTATTGCGTGCGCTACGACCACTACTCCG
GTACCAGCGACTACTGGGGACAGGGAACCCTTGTGACCGTGTGAGC

[0277]

SEQ ID NO.69:h4918G VL(可变轻链)核苷酸序列

- [0278] GATGTCGTGATGACTCAGTCGCCCTCTCCCTGCCTGTGACTCTGGGGGAACCCGCGTCCAT
TTCGTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGATGGACACCGACGGAAGACCTACCTTAAGTGGCTGC
TGCAAAAGCCAGGACAGAGCCCGCAGAGGCTGATCTACAAAGTGTCAAACCGGGAGTCCGGA
GTGCCGACAGATTTCAGCGGCTCGGGTCCGGCACCGACTTCACCCTCAAATCTCCCGCGT
CGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTATTACTGTTGGCAGGGAACCCACTTTCCTCGGACCTTCG
GTCAAGGGACTAAGGTCGAAATCAAG
- [0279] SEQ ID NO.70:阿杜那单抗重链:
QVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFAFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWF DGTKKYYTD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNTLRAEDTAVYYCARDRGIGARRGPYYMDVWGKTTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
[0280] LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
- [0281] SEQ ID NO.71:阿杜那单抗轻链:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
[0282] LKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0283] SEQ ID NO.72:巴匹珠单抗HC(重链)
EVQLLES GGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIRSGGGRTYYSD
NVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYS GSSDYWGQGT LVTVSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
[0284] PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK
- [0285] SEQ ID NO.73:巴匹珠单抗VH(可变重链)
EVQLLES GGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIRSGGGRTYYSD
[0286] NVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYS GSSDYWGQGT LVTVSS
- [0287] SEQ ID NO:16:VH CDR1 GFTFSNYGMS
- [0288] SEQ ID NO:17:VH CDR2 SIRSGGGRTYYSDYNVKG
- [0289] SEQ ID NO:18:VH CDR3 YDHYS GSSDY
- [0290] SEQ ID NO.77:巴匹珠单抗LC(轻链)

- [0291] DVVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQKPGQSPQRLIYLVSKLDSG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0292] SEQ ID NO.78:巴匹珠单抗VL(可变轻链)
- [0293] DVVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQKPGQSPQRLIYLVSKLDSG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPRTFGQGTKVEIK
- [0294] SEQ ID NO:26:VL CDR1 KSSQSLDSDGKTYLN
- [0295] SEQ ID NO:27:VL CDR2 LVSSKLDS
- [0296] SEQ ID NO:28:VL CDR3 WQGTHFPRT
- [0297] SEQ ID NO.82:更汀芦单抗(Gantenerumab)HC氨基酸序列:
QVELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINASGTRTYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGYVRYFDVWGQGT LVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
[0298] VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
- [0299] SEQ ID NO.83:更汀芦单抗LC氨基酸序列:
DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPAR
FSGSGSGTDFTLTISSELPEDFATYYCLQIYNMPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
[0300] QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0301] SEQ ID NO.84:淀粉样 β (A β)1-42:
- [0302] DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA
- [0303] SEQ ID NO.85:淀粉样 β (A β)前体蛋白:

- MLPGLALLLLAAWTARALEVPTDGNAGLLAEPQIAMFCGRLNMHMNVQNGKWDSDPSGKTC
IDTKEGILQYCQEVPELQITNVVEANQPVTIQNWCKRGRKQCKTHPHFVIPYRCLVGEFVS
DALLVPDKCKFLHQERMDVCETHLHWHTVAKETCSEKSTNLHDYGMLLPCGIDKFRGVEFVC
CPLAEESDNVDSADAEEDDSVWVGADTDYADGSEDKVVEVAEEEEVAEVEEEEADDDDED
EDGDEVEEEAEPEYEEATERTTTSIATTTTTTTESVEEVVREVCSEQAETGPCRAMISRWFYD
VTEGKCAPFFYGGCGGNRNNFDTEEYCMVCGSAMSQSLLKTTQEPLARDPVKLPPTTAASTP
[0304] DAVDKYLETPGDENEHAHFQKAKERLEAKHRERMSQVMREWEAERQAKNLPKADKKAVIQH
FQEKVESLEQEAANERQQLVETHMARVEAMLNDRRLALENYITALQAVPPRPRHVFNMLKK
YVRAEQKDRQHTLKHFEHVRMVDPKKAAQIRSQVMTHLRVIYERMNQSLSLLYNPAVAEEI
QDEVDELLQKEQNYSDDVLNMISEPRISYGNDALMPSLTETKTTVELLPVNGEFSLDDLQP
WHSFGADSV PANTENEVEPV DARPAADRGLTTRPGSGLTNIKTEEISEVKMDAEFRHDSGYE
VHHQKL VFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIATVIVITLVMLKKKQYTSIHG VVEVDAAVTP
EERHLSKMQQNGYENPTYKFFEQMQN
- [0305] SEQ ID NO.86:huIgG1恒定区核苷酸序列
GCCAGCACTAAGGGGCCTAGCGTCTTTCCGCTGGCCCCGTCTCCAAGTCCACTTCGGGTGG
AACCGCGGCACTGGGGTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCGGTCACCGTGTCTCTGGA
ACTCGGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCATACTTTCCCTGCGGTGCTGCAGTCCTCCGGGCTC
TACTCGCTGTCAAGCGTGGTCACCGTCCCAGCTCATCCCTGGGTACTCAGACCTACATTTG
CAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACCAAGGTCGACAAGAAAGTGGAGCCTAAGAGCTGCG
ACAAGACCCACACCTGTCCCCGTGTCCCGCCCCTGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTC
CTCTTCCCGCCTAAGCCGAAGGACACTCTGATGATCTCGAGAACCCTGAAGTGACCTGTGT
GGTGGTGGATGTGTCCACGAGGATCCGGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGAGTGG
[0306] AAGTCCATAACGCCAAGACCAAGCCCCGCGAGGAACAGTACAAC TCACTTACCGGGTGGTG
TCAGTGCTGACCGTGCTGCACCAAGATTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTCTC
CAACAAGGCGCTGCCGGCCCCATTGAAAAGACCATCAGCAAGGCTAAGGGCCAGCCCCGGG
AACCACAGGTCTACACCTTGCCCCCTTCCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAAGTGTGCTG
ACGTGCCTGGTCAAGGGCTTTTATCCATCTGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGCAACGGCCA
GCCGAAAACAAC TACAAGACTACCCCGCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCGTTCTTCCTGT
ATTCCAAGCTCACCGTGGATAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAATGTGTT CAGCTGCAGCGTG
ATGCATGAGGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAATCACTGTCCCTTTCCCCGGAAAGTA
A
- [0307] SEQ ID NO.87:huKappa恒定区核苷酸序列

[0308]

CGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGG
AACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGA
AGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG
GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAA
AGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACA
GGGGAGAGTGTTAA

实施例

[0309] 已包括以下实施例以说明本文公开的模式。以下实施例的某些方面根据本发明共同发明人发现或设想的在本文公开的实践中工作良好的技术及程序来描述。根据本公开及本领域中的一般技术水平,技术人员当明了以下实施例仅旨在例示且在不脱离本公开的范畴内可采用许多修改、改变及变动。

[0310] 如此等实验中所使用,“阿杜那单抗”或“Adu”是指具有SEQ ID NO:70及SEQ ID NO:71之轻链的抗体,且如美国专利公开号US 2015/0315267及PCT公开号W0 2014/089500中所述。

[0311] 如此等实验中所使用,“BAN-2401”及“更汀芦单抗”是指具有SEQ ID NO:79之重链及SEQ ID NO:80之轻链的抗体,如例如欧洲专利号EP 1960428B1中所述。

[0312] 在以下方法中,通过ELISA、表面等离子体共振 (SPR) 及免疫组织化学 (IHC) 来表征抗体对聚集或原纤维A β 的结合概况。通过免疫荧光、ELISA及MSD定量在APP/PS1转基因小鼠脑以及具有原代鼠类小胶质细胞的AD脑中离体评估介导吞噬斑块清除的能力,且在大鼠原代海马体培养物中评估A β 寡聚体神经元结合的中和。

[0313] 本文呈现的结果:相对于其他N端A β 抗体疗法(巴匹珠单抗、阿杜那单抗),本描述的mAb展现在竞争或标准结合ELISA中对聚集及原纤维A β 的更大的表观亲和力。本公开的mAb对原纤维A β 的增强之亲合力通过SPR平衡结合动力学证实,指示由于较慢解离速率动力学,比阿杜那单抗高5至11倍。对冷冻人类AD脑切片之IHC剂量响应评估显示比阿杜那单抗更大的表观亲和力及和斑块面积结合,不论测试的个体AD供体组织。在离体活性测定中,显示本公开的mAb通过APP/PS1小鼠组织中的小胶质细胞吞噬作用显著促进A β 斑块减少且以浓度依赖性方式阻断可溶性A β 寡聚物对大鼠原代神经元的结合。在人类AD脑的离体功能测定中,显示来自本描述的mAb显著促进焦谷氨酸化A β (一种老年斑块之转译后修饰组分)的清除。

[0314] 实施例1.A β 抗体设计

[0315] A β 抗体巴匹珠单抗(hBP)是自亲代鼠类抗体3D6开发的人源化抗体。在此,应用多管齐下的方法来构建针对hBP的优异抗体。分析hBP的人源性且决定可优化轻链人源化。

[0316] 对PDB数据库[Deshpande等人,2005]中的蛋白质序列进行搜索以找到将提供hBP的粗略结构模型的结构。hBP fab PDB代码4HIX[Miles等人,2013]的晶体结构用于Vh及Vk结构,因为其具有可接受的分辨率(2.2 Å)及与hBP Vh及Vk匹配的精确序列,为环保留相同规范结构。

[0317] 对hBP VL作为输入序列进行IMGT/DomainGapAlignment。人类种系VK基因序列

IGHV2-30*02与hBP VL最接近匹配。hBP VL的框架与IGHV2-30*02单独相应框架区共有高度序列相似性。因此,选择IGHV2-30*02VL的框架区作为hBP框架区的进一步优化的指导序列。另外,根据hBP 3D结构,CDR-L2中不与抗原进行任何直接接触的三个残基亦更改为种系序列,导致以下变化L50K、K53N及L54R(Kabat)。

[0318] 通过将人类种系框架残基并入至hBP VL序列中而设计VL的三种不同形式。规范或界面残基没有改变。设计的VK形式的比对显示于图1中。

[0319] 基于P15位于转角处且种系基因在该位置处具有Leu的结构观测,在可变轻链之一形式中测试P15L。

[0320] 基于3D结构观测,设计在轻链及重链CDR及框架中的许多残基处的取代。在第一轮循理式设计中,生成总共三十一条轻链及三十二条重链突变体VL及VH形式且测试结合。在第二轮循理式设计中组合显示改良结合的突变。另外,亦将通过进一步分析结构引导的新突变并入至该设计中。

[0321] 对CDR-H1、T28、S30、N31、Y32及G33(Kabat)内的以下位置进行基于循理式设计的诱变。对于CDR-H2位置I51、G53、G54、T57、S60、D61及N62亦进行突变(Kabat)。CDR-H3位置D96、H97、S99、S100a及Y102进行循理式诱变(Kabat)。

[0322] 对于可变轻链,在CDR-L1位置K24、L27c、D27d及S27e(Kabat)处尝试多次取代。对轻链CDR-L2位置K53及L54进行定向及有限诱变(Kabat)。CDR-L3位置未进行取代。

[0323] 对于重链以及轻链,框架区中选定的几个位置亦进行循理式诱变。

[0324] 在Atum GPSpro软件之帮助下设计及分析五十七个另外重链及三十三个轻链变体,该软件分析人类可变重链及轻链的数据库且基于计算机学习,建议查询序列特异性变化。

[0325] 对于可变重域,设计且分析在位置A24、S25、G26、F27、T28、F29、S30、N31、Y32、G33及M34处的多个取代(Kabat)。大多数此等位置在CDR-H1内。类似地,对许多CDR-H2残基进行诱变,诸如位置A49、S50、I51、R52、S52a、G53、G54、G55、R56、T57、Y58、Y59、S60、D61、N62、V63及K64(Kabat)。此外,进行CDR-H3内的氨基酸的多次取代,例如位置V93、R94、Y95、D96、H97、Y98、S99、G100、S100a、S100b、D101及Y102(Kabat)。

[0326] 亦针对可变轻链CDR-L1位置K24、S25、S26、Q27、S27a、L27b、L27c、D27d、S27e、D28、G29、K30、T31、Y32、L33及N34(Kabat)设计多次取代。对于CDR-L2,在位置L50、V51、S52、K53、L54、D55及S56(Kabat)处进行诱变。大多数CDR-L3位置(诸如Q90、G91、T92、H93、F94、P95、R96及T97)亦经多个氨基酸循理式取代(Kabat)。

[0327] 分析由循理式设计以及GPSpro设计产生的所有变体抗体的表达、熔点(T_m)、亲和力及亲合力。基于上文提及的分析,选择来自循理式设计的八种抗体及来自计算机学习活动的六种抗体用于进一步分析。

[0328] 实施例2.通过竞争性ELISA测定的 IC_{50} 比率测定。

[0329] 使用基于经标记的抗体对抗原包被板的结合的竞争(抑制)的测定来测定本公开的抗体之 IC_{50} 。

[0330] 为了生成原纤维,将预先用HFIP(六氟异丙醇)处理且干燥的A β 1-42多肽再悬浮于DMSO中至5mM,然后用10mM HCl进一步稀释至100uM。将样品在37°C下培养24小时,且然后离心以分离可溶性及原纤维物质。将集结粒(pellet)再悬浮于1x D-PBS中至初始体积且在使

用前进行声处理。

[0331] 用0.5mg/ml原纤维A β 42包被板且例如用1%BSA/PBS封闭。将在0.1%BSA/PBS中制备的hBP之七份3倍稀释液(以150 μ g/ml开始(75 μ g/ml最终浓度))及测试抗体之四份3倍稀释液(以20 μ g/ml开始(10 μ g/ml最终浓度))一式三份添加至孔,每孔50u1。将在0.1%BSA/PBS中制备的0.75 μ g/ml(0.35 μ g/ml最终浓度)的50u1 hBP-生物素添加至所有孔且将板在室温下温育2小时,然后用TTBS洗涤3x。然后添加100u1稀释1/10,000的GE链霉亲和素HRP且温育30分钟。然后用TTBS洗涤6x板。按照制造商指示新鲜制备Thermo Fisher邻苯二胺二盐酸盐(OPD)底物,且添加每孔100u1。将该反应温育15分钟且用50u1 2N H₂SO₄终止该反应。于Spectromax上,在490nm下读取样品。图2、图3及图4说明4918、4917、4921、3818、49人类3、2931及巴匹珠单抗对照(图2),2926、2831、2927、2726、2731、2826及巴匹珠单抗对照(图3)及2727、2929及巴匹珠单抗对照(图4)之竞争性ELISA测定图。各测试抗体之IC₅₀除以hBP的IC₅₀以得到半数最大抑制浓度(IC₅₀)比率。小于一的比率指示比hBP更佳的性能。参见表2。

[0332] 表2

[0333]

抗体	对原纤维 A β 42 的竞争 ELISA IC ₅₀ 比率(测试:hBP)
h2931	0.59
h2731	0.61
h2726	0.68
h2831	0.77
h2926	0.99
h4921	1.01
h2826	1.10
h2929	1.16
h3818	1.18
h2927	1.60
h49_hum3	2.16
h49_VK17	2.69
h2727	3.06
h4918	ND
hBP	1

[0334] 实施例3.通过竞争性ELISA的单克隆抗体效价测定

[0335] 本公开的某些单克隆抗体及hBP之结合效力通过其与结合至聚集的A β 42的生物素

化巴匹珠单抗竞争结合之能力来测定,该能力通过竞争性ELISA评估。将1mg AB42添加至1ml diH₂O且剧烈涡旋并在室温下置于旋转振荡器(nutator)上48小时。用0.5mg/ml异质AB42聚集物混合物包被板且例如用1%BSA/PBS封闭。将hBP之七份3倍稀释液(以150μg/ml开始(在用hBP-生物素稀释后为75μg/ml))及测试抗体之四份3倍稀释液(以20μg/ml开始(在用hBP-生物素稀释后为10μg/ml))一式三份添加至孔,每孔50ul。将50ul 0.75μg/ml(在稀释后为0.35μg/ml)的hBP-生物素添加至所有孔且将板在室温下温育2小时,然后用TTBS洗涤3x。然后添加100ul 1/10,000稀释的GE链霉亲和素HRP且温育30分钟。用TTBS洗涤板六次。按照制造商指示新鲜制备Thermo Fisher邻苯二胺二盐酸盐(OPD)底物,且添加每孔100ul。将该反应温育15分钟且用50ul 2N H₂SO₄终止该反应。于Spectromax上,在490nm下读取样品。图5A显示2931、2731及巴匹珠单抗对照之竞争ELISA测定图;图5B显示2726、2831及巴匹珠单抗对照之竞争ELISA测定图。图20A显示2931、2731及巴匹珠单抗对照之竞争ELISA测定图(数据显示于表3,第1至2行中);图20B显示2831、2726及巴匹珠单抗对照之竞争ELISA测定(数据显示于表3,第4至5列中)。对于图20A及图20B,曲线及所得IC₅₀估计代表数据之非线性三参数最小二乘拟合。单个点是一式三份样品的平均值(变异系数<20%)。

[0336] 表3

[0337]	mAb	巴匹珠单抗	h2931	h2731
	IC ₅₀ (μg/mL mAb)	15.04	6.901	5.024
	mAb	巴匹珠单抗	h2726	h2831
	IC ₅₀ (μg/mL mAb)	21.83	9.049	9.907

[0338] 结果显示抗体2931、2731、2726及2831显示高于hBP的效价;比hBP低约2至4的IC₅₀值。

[0339] 实施例4.通过BIAcore表征人源化mAb或Fab

[0340] 为了比较人源化抗体或人源化抗原结合片段(Fab)对重组AB₁₋₄₂原纤维的结合特性,使用BIAcore T200(GE Life Sciences)进行分析。

[0341] 为了产生原纤维,将预先用HFIP(六氟异丙醇)处理且干燥的AB₁₋₄₂多肽再悬浮于DMSO中至5mM,然后用10mM HCl进一步稀释至100uM。将样品在37℃下温育24小时,且然后离心以分离可溶性及原纤维物质。将集结粒(pellet)再悬浮于D-PBS中至初始体积且在使用前进行声处理。

[0342] 原纤维经由胺偶联固定化于传感器芯片CM5(GE Healthcare Life Sciences)上至确保约100RU之分析物的最大结合的程度。将不同浓度的抗体或Fab(在1nM至100nM之范围内)在电泳缓冲液(HBS+0.05%P-20,1mg/mL BSA)中以30μL/min通过偶联配体300秒结合时间及1200秒解离时间。芯片表面的再生通过10mM甘氨酸-HCl(pH 1.7)的2次短时间注射来达成。将数据空白减去不含配体之传感器及0nM分析物浓度。使用BIAcore Insight评估软件(v2.0)且体折射率设置为0RU,使用整体1:1拟合进行分析。解离数据(k_{diss};kd)显示于表4(Fab)及表6(抗体)中。

[0343] 与阿杜那单抗相比,可看到h2726、h2731、h2831及h2931 Fab及抗体的类似的、较

小的解离常数,阿杜那单抗显示显著更大的解离常数。

[0344] 表4

[0345]	注射变数 分析物 1 溶 液	1:1 结合 ka (1/Ms)	kd (1/s)	表观 KD (M)	Rmax (RU)
	h2726	1.29e+5	2.59e-4	2.01e-9	133.5
	h2731	1.29e+5	2.89e-4	2.24e-9	134.0
	h2831	1.08e+5	2.48e-4	2.31e-9	127.1
	h2931	1.23e+5	1.99e-4	1.62e-9	132.0
	hBP	1.12e+5	6.00e-4	5.34e-9	116.1

[0346] 实施例5.通过BIAcore表征人源化mAb表观亲和力

[0347] 使用Biacore T200进行抗Aβ候选者对Aβ₁₋₂₈ (Bachem, Torrance, CA) 的结合亲和力的测定。抗人类Fc抗体经由胺偶联固定化至CM3感测芯片 (GE Healthcare Life Sciences) 上且用于捕获Aβ抗体。

[0348] 将各种浓度之Aβ₁₋₂₈ (分析物, 在从100nM降至0.39nM的浓度范围内, 2倍连续稀释的各稀释步骤) 以50μl/min在电泳缓冲液 (HBS+0.05%P-20, 1mg/mL BSA) 中通过所捕获的配体240秒结合时间及900秒解离时间。将数据空白减去不含配体之无关传感器及包含0nM分析物浓度之电泳缓冲液。使用Biacore评估软件 (v3.0) 的整体1:1拟合进行分析。

[0349] 表观解离常数 (KD) 显示于表5中, 其中本公开的mAb显示对Aβ₁₋₂₈单体的4至7nM结合亲和力。以自0.39nM至100nM之浓度结合之感测图显示于图6A (h2726)、图6B (h2731)、图6C (h2831) 及图6D (h2931) 中。

[0350] 表5

[0351]	注射变数 捕获溶液	分析物 1 溶液	1:1 结合 ka (1/Ms)	kd (1/s)	表观 KD (M)	Rmax (RU)
	h2726	Aβ ₁₋₂₈	9.23e+4	5.55e-4	6.01e-9	87.0
	h2731	Aβ ₁₋₂₈	1.19e+5	5.95e-4	5.01e-9	78.3
	h2831	Aβ ₁₋₂₈	7.31e+4	5.08e-4	6.95e-9	88.0
	h2931	Aβ ₁₋₂₈	9.47e+4	4.12e-4	4.35e-9	76.1

[0352] 实施例6.通过BIAcore表征人源化mAb表观亲和力

[0353] 为了比较人源化抗体与重组Aβ₁₋₄₂原纤维的结合特性, 使用BIAcore T200进行分析。

[0354] 为了产生原纤维, 将预先用HFIP (六氟异丙醇) 处理且干燥的Aβ₁₋₄₂多肽再悬浮于

DMSO中至5mM,然后用10mM HCl进一步稀释至100 μ M。将样品在37℃下温育24小时,且然后离心以分离可溶性及原纤维物质。将集结粒再悬浮于1x D-PBS中至初始体积且在使用前进行声处理。

[0355] 原纤维经由胺偶联固定化于传感器芯片CM5 (GE Healthcare Life Sciences) 上至确保约50RU之分析物的最大结合的程度。将不同浓度的抗体 (在0.411nM至100nM之范围内) 在电泳缓冲液 (HBS+0.05%P-20, 1mg/mL BSA) 中以30 μ L/min通过偶联配体300秒结合时间及1200秒解离时间。芯片表面的再生通过10mM甘氨酸-HCl (pH 1.7) 的2次短时间注射来达成。将数据空白减去不含配体之传感器及0nM分析物浓度。使用BIAcore Insight评估软件 (v2.0) 且体折射率设置为0RU,使用整体1:1拟合进行分析。表观解离常数 (KD) 显示于表6中及以100nM结合之比较感测图显示于图7中。

[0356] 表6

[0357]	固定化配体	注射变数 分析物 1 溶 液	1:1 结合 ka (1/Ms)	kd (1/s)	表观 KD (M)	Rmax (RU)
[0358]	原纤维 A β 7.5 μ g/mL Ace4.5	Adu	2.96e+7	1.70e- 2	5.74e- 10	45.2
	原纤维 A β 7.5 μ g/mL Ace4.5	h2726	3.93e+5	2.12e- 5	5.40e- 11	51.0
	原纤维 A β 7.5 μ g/mL Ace4.5	h2731	3.72e+5	2.62e- 5	7.04e- 11	50.7
	原纤维 A β 7.5 μ g/mL Ace4.5	h2831	2.65e+5	2.94e- 5	1.11e- 10	50.2
	原纤维 A β 7.5 μ g/mL Ace4.5	h2931	3.35e+5	2.05e- 5	6.12e- 11	50.0

[0359] Abeta, 淀粉样 β , A β ; ka, 结合速率常数; kd, 解离速率常数; KD, 表观平衡解离常数; mAb, 单克隆抗体; R_{max}, 最大响应; SPR, 表面等离子体共振。

[0360] 通过ELISA观测到的本公开的单克隆抗体对原纤维A β 的增强之相对亲合力通过SPR平衡结合动力学 (表6) 证实, 其指示亲合力 (表观KD) 比阿杜那单抗大5倍至11倍。

[0361] 此通过在SPR感测图中观测到的不同动力学结合概况来解释 (图7)。尽管阿杜那单抗以更快结合速率 (ka) 结合A β 原纤维, 但本公开的单克隆抗体之慢得多的解离速率 (kd) 导致比阿杜那单抗更大的测量亲合力 (即更低的KD*)。

[0362] 实施例7. 通过ELISA的A β 原纤维结合

[0363] 通过ELISA评估本公开的某些单克隆抗体及阿杜那单抗对A β ₁₋₄₂及A β _{pE3-42}原纤维

的直接结合。为了生成原纤维,将预先用HFIP(六氟异丙醇)处理且干燥的A β ₁₋₄₂或A β _{pE3-42}多肽再悬浮于DMSO中至5mM,然后用10mM HCl进一步稀释至100uM。将样品在37℃下温育24小时,且然后离心以分离可溶性及原纤维物质。将集结粒再悬浮于1x D-PBS中至初始体积且在使用前进行声处理。

[0364] 将在PBS中之1.0 μ g/ml或2.5 μ g/ml之A β 原纤维在室温下包被过夜。板用1%BSA/PBS封闭1小时。将抗体在0.1%BSA-PBS及0.1%吐温(Tween) 20中自10 μ g/ml连续稀释至4.8ng/ml且将100 μ l各稀释液一式两份添加至各抗体且在室温下温育2小时。用TBS/吐温20洗涤板四次且添加1/5000稀释的100 μ l山羊抗人类IgG HRP (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc, West Grove, PA or Invitrogen, Carlsbad, CA)至各孔并在室温下温育1小时。将板在TBS/吐温20中洗涤六次,且按照制造商说明书制备Thermo Fisher邻苯二胺二盐酸盐(OPD) 试剂及ThermoFisher底物缓冲液。添加100 μ l底物且温育15分钟。用50 μ l H₂SO₄停止反应。于分子装置spectromax上在490nm下读取板。图9A及图21。对于图21,曲线及所得的EC₅₀估计代表数据的非线性三参数最小二乘拟合(数据显示于表7中)。

[0365] 表7

mAb	h2726	h2731	h2831	h2931	Adu
EC ₅₀ (μ g/mL mAb)	0.0359	0.03671	0.04894	0.04495	0.7241

[0367] 在室温下用10 μ g/ml至4.8ng/ml之A β 原纤维在PBS中之稀释液包被板过夜。用1%BSA/PBS封闭板1小时。将以2 μ g/ml含在0.1%BSA/PBS 0.1%吐温20中之抗体一式两份添加至适宜孔且在室温下温育2小时。将板用TBS/吐温20洗涤4x且然后将100 μ l Jackson山羊抗人类IgG HRP 1/5000稀释液添加至各孔并在室温下温育1小时。将板在TBS/吐温20中洗涤六次,且按照制造商说明书制备Thermo Fisher邻苯二胺二盐酸盐(OPD) 试剂及Thermofisher底物缓冲液。添加100 μ l底物且温育15分钟。用50 μ l H₂SO₄停止反应。于分子装置spectromax上在490nm下读取板。图9B,右小图。

[0368] 抗体h2726、h2731、h2831及h2931均证明对原纤维的强亲和力,且最佳及最差表达之间的差异在25%以内。此外,此四种抗体均证明比阿杜单抗显著更大的亲合力。对于图21,测定信号(OD490)增加3倍及估计EC₅₀降低15至20倍指示h2726、h2731、h2831及h2931 mAb对原纤维A β 的总体结合及相对亲合力相对于阿杜单抗增加。

[0369] 实施例8.通过ELISA的h2931对A β 寡聚物的结合

[0370] 通过ELISA评估h2931对A β 寡聚物的直接结合。为了生成寡聚物,首先将冻干生物素化及未标记的A β (Bachem) 各以1mg/mL溶解于1,1,1,3,3,3-六氟异丙醇(HFIP, Sigma)中。允许HFIP在室温下在通风橱中自样品蒸发过夜。然后在室温下将等分试样在speedvac中离心以移除所有液体以生成250 μ g FIP膜等分试样,将其储存在-80℃下直至进一步使用。

[0371] 通过将250 μ g生物素化且未标记的A β HFIP集结粒溶解于无水DMSO(Sigma)中至5mM之最终浓度来制备寡聚物。对于未标记:生物素化混合物,将样品在无菌1.5mL低结合微离心管(Axygen)中以9:1比率(未标记:生物素化)组合。然后用冷无酚神经基础培养基(Invitrogen)将DMSO溶解的样品稀释至100 μ M且在4℃下培养24小时。培养后,经由以14,000g离心15分钟将寡聚物从大不溶性物质分离。小心地移除顶部90%的上清液且放入新无菌低结合微离心管中且储存于冰上直至使用。

[0372] 在室温下在Costar ELISA高结合板中每孔100 μ l包被2.5 μ g/mL之在PBS中之各制

剂过夜。抽吸板且然后将200 μ l之在PBS中之1%BSA添加于各孔中且在室温下温育1小时。将h2931 mAb在0.1%BSA/PBS 0.1%吐温20缓冲液中以起始浓度10 μ g/ml制备且用其连续稀释七次(每次1:2)。将样品在室温下温育2小时。用TBS.0.1%吐温20洗涤板4次。将山羊抗人类(H+L)HRP(Jackson ImmunoResearch,PA)在0.1%BSA/PBS 0.1%吐温20中1/5000稀释,以100 μ l/孔添加且在室温下温育1小时。将板洗涤4次且按照制造商说明书制备邻苯二胺二盐酸盐试剂(ThermoFisher)。每孔添加100 μ l且在室温下温育15分钟。通过添加50 μ l H₂SO₄停止反应,且于分子装置SpectroMax上在490nm下读取样品。曲线及所得的EC₅₀估计代表使用GraphPad Prism软件的数据的非线性3参数最小二乘拟合。

[0373] 显示mAb h2931以高相对亲和力结合可溶性寡聚物,且估计EC₅₀为23ng/mL或0.15nM。图8。

[0374] 实施例9.AD脑中的抗A β 抗体结合

[0375] 组织样品。从Banner Sun Health Research Institute,Sun City,AZ获得冷冻人类AD脑样品。组织来自经证实具有大量A β 病理且根据提供机构的Braak系统分级的供体(表8)。此外,内部对所有组织块进行质量控制以确定其病理水平及分布。

[0376] 表8.AD供体信息

病例ID	性别	期满_年龄	PMI	Braak分数
AD 13至75	M	77	3.62	VI
AD 14至11	M	82	3.98	V
AD 15至19	F	83	3.62	V
AD 11至97	F	86	2.52	V

[0378] 组织切片及固定。将未固定的冷冻脑组织样品在冷冻模具(cryomold)中包埋于Tissue-Tek OCT(Sakura Finetek)中,浸入2-甲基丁烷及干冰浆(-60 $^{\circ}$ C)之混合物中,然后储存在-80 $^{\circ}$ C下直至切片。使用Leica 3050S低温恒温器(cryostat)产生连续10 μ m厚的冷冻切片。将切片直接解冻安装在带正电荷之载玻片上且储存在-20 $^{\circ}$ C下直至使用。在免疫组织化学IHC程序之前,在4 $^{\circ}$ C下将载玻片浸入10%中性缓冲福尔马林溶液中10分钟,在PBS中冲洗,然后在37 $^{\circ}$ C下在葡萄糖氧化酶溶液(20mMBD(+)葡萄糖、2mM叠氮化钠及2单位/mL葡萄糖氧化酶含在1X PBS中)中培养一小时。将该等载玻片在PBS中冲洗3次5分钟,接着将其转移至染色架上以在自动染色机中加工。

[0379] 抗体生物素化。使用非共价方法,藉助于在室温下用生物素结合山羊抗人类单价fab片段(Jackson ImmunoResearch)以1:4比率温育1小时而使人源化IgG抗体生物素化。未结合的过量Fab在使用前通过用人类血清再预培养小时而被吸收。然后将新鲜制备的抗体负载至染色机中以立即施用至组织切片。

[0380] 免疫染色。在自动Leica Bond Rx染色机(Leica Biosystems)中,使用Bond Research试剂盒(DS980,Leica Biosystems)及抗生物素蛋白-生物素扩增免疫过氧化物酶检测系统进行染色。将各生物素化抗A β 抗体或人类IgG对照以指定浓度施用至切片一小时且使用抗生物素蛋白-生物素扩增系统(ABC Elite Standard,PK-6100;Vector Laboratories)观察染色。随后对切片施加细胞核的苏木精计数器染色,接着在一系列上升之醇中脱水,在二甲苯中清除,盖玻片化,及风干。

[0381] 组织成像。染色的载玻片使用Hamamatsu NanoZoomer 2.0HT载玻片扫描仪

(Hamamatsu Corporation)进行数字成像,且使用NanoZoomer Digital Pathology软件(NDP.scan,2.7.25版)以.ndpi文件格式捕获影像。直接从NDP.view捕获本报告中包含的影像且未经任何增强传输。对于形态测定学,使用Halo软件(V2.1.1537)分析数字化载玻片来测定染色组织的百分比,且使用GraphPad Prism 8绘制结果。

[0382] h2726、h2731、h2831、h2931及阿杜那单抗的结果。将本公开的四种人源化抗A β 抗体h2726、h2731、h2831及h2931、以及阿杜那单抗以递增浓度施用至所有四个AD脑:0.03、0.1、0.3、1、3及9 μ g/ml。如图10(0.3 μ g/mL)中所显示,经此等抗体温育的AD脑切片展现对于AD之A β 病理而言典型的免疫阳性结构。脑AD 13至75及AD 14至11具有高密度之A β 斑块且同时脑AD 11至97及AD 15至19之病理相对稀疏。在各脑中,通过四种抗体h2726、h2731、h2831及h2931以特定浓度进行的染色在强度及分布上相当。在样品及浓度当中,用阿杜那单抗染色最弱。如图11中所例示,经1或9 μ g/ml的对照人类IgG同种型培养的来自所有四个脑的切片均没有病理染色。

[0383] 图12及图22中的图通过五种抗体在所有四个AD脑中的染色的定量图。对染色病理占据的组织表面积百分比的测定证实,在各AD脑中,四种抗体h2726、h2731、h2831、h2931在所有测试的浓度下均具有相似的结合水平。相应地,表9中的数据显示,就各脑而言,四种抗体之曲线下面积及EC50值保持相当。在整个测试的浓度范围内,利用阿杜那单抗获得的值在AD脑中始终较低。

[0384] 图22显示比阿杜那单抗更大的斑块面积结合(以染色的阳性组织百分比表示),尤其在估计为具有10mg/kg阿杜那单抗之在脑脊液中之临床相关暴露的抗体浓度下。在测试的最高浓度下观测到类似的斑块面积染色,表明在该浓度下的结合的饱和。

[0385] 表9曲线下面积及半数最大有效浓度(EC₅₀)

[0386]

曲线下面积	h2726	h2731	h2831	h2931
AD 11 至 97	50.18	50.58	49.21	47.70
AD 15 至 19	52.08	52.71	49.73	44.81
AD 13 至 75	149.3	150.4	138.7	139.1
AD 14 至 11	149.1	149.2	148.9	134.5
EC50	h2726	h2731	h2831	h2931
AD 11 至 97	0.09163	0.1346	0.1019	0.08893
AD 15 至 19	0.1356	0.1274	0.1328	0.1330
AD 13 至 75	0.1615	0.1415	0.2144	0.2273
AD 14 至 11	0.1325	0.1102	0.1625	0.1691

[0387] 巴匹珠单抗(hBP)的结果

[0388] 将来自脑AD 13至75之切片与人源化抗体hBP以及阿杜那单抗及BAN2401以以下递增浓度温育:0.03、0.1、0.3、1、3及9 μ g/ml。如使用抗体h2726、h2731、h2831及h2931所见,

hBP染色程度以剂量依赖性方式增加。此外,在所有测试的浓度下,hBP染色均强于阿杜那单抗及BAN2401,如图13中所显示。

[0389] 实施例10.用于测定(AB_{1-42} 及 AB_{pE3-42})斑块清除的离体吞噬作用测定

[0390] 在AD的早期阶段中,小胶质细胞功能具有神经保护作用,用于清除凋亡细胞及病理性蛋白质聚集物,以及在斑块周围形成障壁以限制其生长及突触毒性AB寡聚物的扩散。离体吞噬作用测定定量抗体介导之小胶质细胞清除反应。

[0391] 原代小胶质细胞培养后代:对于新生小鼠脑组织的解剖,P1幼崽用无菌剪刀迅速斩首。移除脑膜且将前脑立即浸入冰上的1至5ml解剖介质(例如具有20%FBS之高葡萄糖DMEM,P/S)中直至解剖出所需数目之幼崽脑。优选将总手术时间限制在10分钟以内以将细胞损伤最小化。

[0392] 利用新无菌吸移管使用22G针,接着使用25G针连续小心地抽吸组织两次。在4℃下以2,500x g离心样品五分钟。小心抽吸上清液且将5ml新鲜生长培养基(高葡萄糖DMEM、10%FBS、P/S及25ng/ml重组小鼠GM-CSF)添加至细胞集结粒。用无菌10ml吸移管将细胞集结粒上下吸移约10次以解离集结粒。

[0393] 将细胞过滤器(100μm孔)置于新50ml锥形管上且将物质透过细胞过滤器分散于该锥形管中。用4至5ml新鲜培养基冲洗细胞过滤器,接着在4℃下离心200x g五分钟。

[0394] 以每个T-75塑料培养瓶两个小鼠脑之密度接种细胞。小心地抽吸上清液且用10ml无菌吸移管将3ml新鲜生长培养基(高葡萄糖DMEM、10%FBS、P/S及25ng/ml重组小鼠GM-CSF)添加至各细胞集结粒。用10ml吸移管上下吸移10次以再悬浮。通过将6ml生长培养基(高葡萄糖DMEM、10%FBS、P/S及25ng/ml重组小鼠粒细胞-单核细胞集落刺激因子)添加至各瓶中制备1个无菌T-75瓶,接着在37℃下5%CO₂培养箱中添加6ml再悬浮的细胞集结粒以获得最终12ml。

[0395] 将瓶不受干扰地培养五天以允许细胞附着。在第五天,将各瓶中的培养基更换为12ml新鲜生长培养基(高葡萄糖DMEM、10%FBS、P/S及25ng/ml重组小鼠GM-CSF)。约10%的铺板的混合细胞将附着且生长于塑料表面上。每周更换培养基两次(每3至4天)以达成汇合。此种变化极小心地进行,无需接触细胞附着的瓶底部。

[0396] 7至11天后,在37℃下使用具有19-mm轨道之Lab-Line轨道振荡器以200rpm旋转该等瓶2小时。将细胞悬浮液以200x g离心且再悬浮于测定培养基(无杂交瘤血清培养基H-SFM[Life Technologies]加上1%FBS、谷氨酰胺、P/S及5ng/ml重组小鼠GM-CSF)中。

[0397] 离体测定。将APP/PS1小鼠或人类AD脑(死后间隔,少于3小时)之低温恒温器切片(10μm厚度;使用宽刀片)“解冻安装”至包被聚赖氨酸之圆形玻璃盖玻片上且置于24孔组织培养板(CT-30C OT-20C)的孔中。组织样品可在切片之间用拇指加热或通过OT降低至-12C。用测定培养基洗涤该等盖玻片两次。将(对照或抗AB)抗体以2X浓度250μl添加于测定培养基(最终20μg/ml)中,在组织培养箱中维持1小时。

[0398] 然后将小胶质细胞以800,000个细胞/ml(1,600,000个细胞/ml储液)之最终密度接种于测定培养基250μl中。将培养物在加湿培养箱中于37℃下在5%CO₂气氛中维持72小时。

[0399] 总AB(AB_{1-42})的定量。小心抽吸培养基,接着用冰冷PBS洗涤。添加100μl 8M尿素且通过吸移再悬浮组织及用吸移器吸头刮除。然后将悬浮液在-20℃下冷冻直至准备好用于

分析。将悬浮液在冰上解冻,在4℃下16,000x g离心20分钟,接着使用V-PLEX总Aβ42肽(4G8)试剂盒(Meso Scale Discovery)进行稀释及分析。结果显示于图14A、图14B及图24中。图14A及图24显示每个脑切片的Aβ浓度及图14B显示与每次治疗的散点图相同的数据(图14B的数据显示于表10中;图24的数据显示于表11中)。h2731、h2931及阿杜那单抗证明与同种型对照相比,Aβ斑块种类的高度显著减少。

[0400] 表10

[0401]	mAb (平均 pg/mL Aβ ₁₋₄₂)	同种型对照	h2931	阿杜那单抗
	平均值	92619	53113	49501
	SD	14801	18239	7961

[0402] 表11

[0403]	条件	Aβ ₁₋₄₂ (pg/ml)	SD
	健康对照	5797.25	2022.51
	AD脑+hIgG1同种型	185138.90	35888.64
	AD脑+h2731	101172.05	40194.48

[0404] 焦谷氨酸-3Aβ(Aβ_{pE3-42})的定量。N端截短且焦谷氨酸修饰之Aβ(例如Aβ_{pE3-42})已描述作AD脑中成熟老年斑块之组分(Saido等人,Neuron 14,1995)。尚不知晓N端Aβ的焦谷氨酸修饰是否会影响N端抗体(如h2731)及本文描述的其他的结合。同样地,尚不知晓此等抗体是否具有促进Aβ_{pE3-42}的吞噬细胞介导之清除之能力。

[0405] 通过免疫组织化学证实用于离体实验的AD脑中焦谷氨酸-3Aβ的存在以及其与h2931相比类似的染色模式(图25A及25B)。为了证明焦谷氨酸-3Aβ的移除,使用商业ELISA方法以测定其在离体吞噬作用期间的移除。将遵循以上方法收集的悬浮液在冰上解冻,在4℃下16,000x g离心20分钟,接着使用商业ELISA试剂盒(Amyloid Beta N3pE Aβ,IBL America)进行稀释及分析。当与未修饰之Aβ₁₋₄₂相比时,Aβ_{pE3-42} ELISA测定对于Aβ_{pE3-42}具有高度特异性(数据未显示)。

[0406] 结果显示于图26A及图26B中(数据分别显示于表12及表13中),其显示用指定抗体(图26A中之h2931及图26B中之h2731)处理后脑切片中焦谷氨酸-3Aβ浓度,分别与健康对照及经IgG1同种型对照处理之AD脑进行比较。来自不同AD脑之切片用于每次处理。h2731及h2931均证明与同种型对照相比,焦谷氨酸-3Aβ高度显著减少。

[0407] 图24及图26B一起指示当在具有原代小鼠小胶质细胞的AD患者脑组织切片上温育时,本发明抗Aβ抗体(例如h2731)促进Aβ₁₋₄₂及Aβ_{pE3-42}蛋白二者的清除。此等结果证实,此等抗体清除人类病理环境中的Aβ₁₋₄₂及Aβ_{pE3-42}。

[0408] N端靶向抗Aβ抗体促进AD患者之脑组织中之Aβ斑块种类(包括焦谷氨酸修饰之Aβ)的大量小胶质细胞介导之清除。此等数据支持进一步开发本发明抗体作为用于阿尔茨海默病的皮下施用的抗体免疫疗法。

[0409] 表12

	条件	AbpE3-42 (pg/ml)	标准偏差
[0410]	健康对照	44.20	6.39
	AD 脑 + hIgG1 同种型	259.42	27.39
	AD 脑 + h2931	62.59	16.16
[0411]	表13		
	条件	AbpE3-42 (pg/ml)	标准偏差
[0412]	健康对照	26.75	34.83
	AD 脑 + hIgG1 同种型	478.91	117.80
[0413]	AD 脑 + h2731	153.76	67.59

[0414] 实施例11.在海马体结合测定中阻断寡聚物

[0415] 大鼠海马体神经元中的A β 结合测定

[0416] E18原代大鼠海马体神经元如Zago等人(J.Neurosci 2012年2月22日,32(8) 2696至2702)所述进行培养。将可溶性A β 在有及没有抗体下于培养物DIV14-21上预温育以阻断对原代神经元之神经炎结合。

[0417] 在一天前制备新鲜未标记、生物素化或(9:1)未标记:生物素化可溶性A β 并将其在4℃下温育过夜。A β 在使用前在14,000RPM下离心15分钟。

[0418] 使用NeuroBasal-无酚红(NB-NPR)或NbActiv4-NPR培养基制备一半最终处理体积的最终处理浓度之A β 溶液及抗体之各稀释液(2x)。合并后,将混合物混合3至4次,然后在37℃下预温育30分钟。

[0419] 在结合测定之前,立即用预热的NB-NPR以150 μ L/孔冲洗神经元。抽吸缓冲液且然后将抗体/A β 处理以60 μ L/孔添加至细胞,然后在37℃下于正常培养箱条件(5%CO₂;9%O₂)下温育30至40分钟。

[0420] 将该等神经元于150 μ L/孔的NB-NPR中冲洗两次,然后在室温下于1x DPBS中之4%多聚甲醛中固定20分钟。

[0421] 将该等细胞于1x DPBS中之0.1%Triton X-100中透化5分钟且然后在室温(RT)下在10%正常山羊血清(NGS)中封闭1小时。

[0422] 在4℃下将该等样品与微管相关蛋白2(MAP2)及神经元核蛋白(NeuN)初级抗体一起于100 μ L/孔的含有1%BSA+1%NGS之1x DPBS中温育过夜。第二天,将该等样品于150 μ L/孔的1x DPBS中冲洗两次,每次冲洗5分钟。在室温下历时1小时将二级抗体添加至100 μ L/孔的1x DPBS+1%BSA+1%NGS中。

[0423] 使用Operetta HCI CLS仪器(Perkin Elmer;改进的神经元突生长算法:40x H₂O物镜;微板格式中每孔25至40个视野;每个条件(n=3))进行高内涵成像(HCI)分析以定量可溶性A β 神经炎结合斑点。使用MAP2及NeuN神经元标志物以用于各跟踪神经元突树且计算每个光场的细胞体数(例如用微管相关蛋白2(Abcam;Cambridge,UK)及NeuN(EMD Millipore)初级抗体,接着是AlexaFluor(Thermo Fisher Scientific)二级检测抗体)。使

用各种单克隆及多克隆A β 抗体(例如小鼠单克隆抗A β 抗体MabN254(EMD Millipore))检测轴突A β 斑点,接着使用AlexaFluor(Thermo Fisher Scientific)二级检测抗体或链霉亲和素-AF488检测生物素化A β 物质。图15A及图15B显示增加抗A β 抗体之浓度会减少每个神经元的斑点数,指示抗A β 活性。图23显示h2731以浓度依赖性方式有效阻断可溶性A β 聚集物对大鼠海马体突触的结合(每个神经元的A β 42斑点)。在摩尔mAb:A β 42比率低至1:500 ($p<0.05$)下检测到h2731之效应且相对于单独A β 42(无mAb预培养)在1:50摩尔比率($p<0.001$)下达成 $>90\%$ 的结合阻断。数据显示于表14中。

[0424] 表14

	可溶性 A β	同种型对 照	h273 1	h273 1	h273 1	h273 1
	1 μ M	1:50	1:100 0	1:50 0	1:10 0	1:50
[0425] 平均值(每个神经元的 A β 斑点)	76.3	58.7	51.0	39.7	11.3	6.3
SD	28.2	12.9	14.9	12.1	4.9	1.5

[0426] 实施例12. 抗A β 抗体对天然及修饰A β 种类的结合

[0427] 将人类AD脑的低温恒温器切片解冻安装至包被聚-D-赖氨酸之盖玻片上且置于24孔组织培养板中及在37°C 5%CO₂下用测试抗体温育1小时。然后以800,000个细胞/ml接种原代小鼠小胶质细胞,且将该等培养物维持在37°C 5%CO₂下72小时。小心抽吸培养基,且用PBS洗涤切片。将该等切片再悬浮于8M尿素中,以通过ELISA对A β_{pE3-42} (Immuno-Biological Laboratories, Minneapolis, MN)或通过MSD对A β_{1-42} (Meso Scale Diagnostics, Rockland, MD)进行定量。Immuno-Biological Laboratories A β_{pE3-42} ELISA试剂盒特异性检测pE3-42物质,对全长A β 没有检测到信号。

[0428] 图27证明h2731以高表观亲和力结合至全长A β 的N端但不直接结合至焦谷氨酸修饰之A β (A β_{pE3-42})。h2731以8.1ng/mL(54pM)之半数最大有效浓度(EC₅₀)结合至具有未修饰之N端(A β_{1-42})之原纤维A β 物质。h2731证明对A β_{pE3-42} 的高达100ng/ml的不可检测之结合。

[0429] 实施例13. 体外吞噬细胞介导的清除-THP-1人类单核细胞介导的A β_{1-42} 原纤维摄取

[0430] 产生含有S26C突变之A β_{1-42} 的合成原纤维,如Paranjape等人,ACS Chem. Neurosci. 2012, 3, 302至311中所述。简言之,将A β 肽以1mM溶解于100%六氟异丙醇(HFIP)(SigmaAldrich, St. Louis, MO)中,等分分装至无菌微离心管中,且在室温下在通风橱中不加盖地蒸发过夜。第二天,将等分试样真空离心以移除任何残余HFIP且在-20°C下储存于干燥剂中。用100%三氟乙酸处理一些A β 肽且在HFIP处理之前真空离心。通过将冻干A β 肽等分试样以5mM再悬浮于无菌无水二甲亚砜(DMSO)(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)中来制备直接从冻干等分试样获得的A β 寡聚物及原纤维。对于寡聚物制备,将该等样品在具有L-谷氨酰胺之无菌冰冷无酚红的Ham's F-12细胞培养基(F-12, Bioworld, Dublin, OH)中稀释至100 μ M且在4°C下培养24小时。对于原纤维制备,将该样品在10mM HCl中稀释至100 μ M且

在37℃下培养24小时。此等制剂中的A β 浓度是基于肽干重计。

[0431] 在用于体外吞噬细胞介导的清除测定之前,将成熟原原纤维结合至pHrodo Red Maleimide(Thermo Fisher)。

[0432] 在室温下将浓度为6.25、3.13、1.56、0.78、0.39、0.20、0.098及0.049 μ g/ml之抗体与pHrodo-A β_{1-42} 原原纤维一起预温育30分钟,接着添加THP-1吞噬细胞。在37℃及5%CO₂下温育3小时后,通过经由流式细胞测量术测定细胞pHrodo信号评估抗体介导之吞噬细胞介导之清除。

[0433] 如图28A及图28B中所显示,抗A β 抗体展现呈浓度依赖性方式的A β_{1-42} 原原纤维吞噬活性。此等结果表明本发明抗体可能能够驱动脑组织中之A β_{1-42} 清除。

[0434] 实施例14. 来自晚期AD患者的脑组织中的总A β 及焦谷氨酸修饰A β 的分布

[0435] 对AD脑组织进行如上文及本文中所述的离体IHC方法以确定A β_{1-XX} (用N端抗A β 抗体检测)及抗A β_{pE3-42} 之分布。

[0436] 对A β_{1-XX} 及A β_{pE3-42} 的评估证实两种物质广泛分布于来自患有晚期AD的患者的组织中。A β_{1-XX} 覆盖的百分比面积与A β_{pE3-42} 相比的分布型式(图29A(1)及图29A(2)(及分别是放大图29B(1)及图29B(2)))及定量(图29C)与之前的研究一致,表明A β_{pE3-42} 代表与N端A β 抗体靶向的未修饰之A β 混合的相对较小的经修饰A β 库。A β_{pE3-42} 显示于图29A(2)及图29B(2)中,且完整N端A β 显示于图29A(1)及图29B(1)中。抗A β_{pE3-42} 抗体不与A β_{1-42} 交叉反应(数据未显示)。

[0437] 图29A(1)及图29B(1)中的框显示接近血管的具有完整N端A β 及经修饰A β_{pE3-42} 之A β 斑块。下表15报告图29B(1)及图29B(2)中斑块中染色的定量,其如图29C中的图所呈现。平均值之间的差异在统计学上显著(p=0.007,配对双尾t检验)。

[0438] 表15

[0439]	染色面积%	
	抗体	(平均值 $\pm$ SD; N=5)
	抗 N 端 A β 抗体	12.59 $\pm$ 4
	抗 A β_{pE3-42} A β 抗体	7.17 $\pm$ 1.8

[0440] 实施例15. AD脑中抗A β 抗体h2731与A β_{pE3-42} 共定位

[0441] 通过免疫荧光显微术评估h2731免疫染色及A β_{pE3-42} 之共定位。在施用于组织之前,将N端抗A β 抗体(在此种情况下为h2731)预结合至Cy3二级抗人类抗体(Jackson Laboratories)。使用小鼠抗A β_{pE3-42} 抗体与488-AlexaFluor结合抗小鼠二级抗体检测A β_{pE3-42} 。使用连接至Hamamatsu相机(C10600-10B)的Metamorph辅助IX81 Olympus显微镜对载玻片进行成像。

[0442] 图30(小图A)显示h2731对A β 斑块的定位;图30(小图B)显示抗A β_{pE3-42} 抗体信号对A β 斑块的定位;及图30(小图C)显示h2731及抗A β_{pE3-42} 抗体信号对A β 斑块的共定位。重叠信号在斑块之密集核心区域显得更为突出。

[0443] 实施例16. 本发明抗A β 抗体以剂量依赖性方式及高于阿杜那单抗的效力促进自AD脑组织之离体A β_{pE3-42} 清除

[0444] 使用上文及本文其他地方描述的方法,评估阿杜那单抗及本发明抗体(例如h2731)从AD脑组织清除 $A\beta_{pE3-42}$ 蛋白之能力。

[0445] 将生理相关剂量响应系列之h2731(3ng/ml、10ng/ml、30ng/ml及100ng/ml)与AD患者脑组织切片及原代小鼠小胶质细胞一起温育72小时。h2731以浓度依赖性方式促进 $A\beta_{pE3-42}$ 的清除。结果呈现于下表16及图31A中。

[0446] 表16

	抗体	浓度(ng/ml)	平均 $A\beta_{pE3-42}$ (pg/ml)	
			(n=4)	标准偏差
[0447]	hIgG1 同种型	100	524.34	83.36
	h2731	3	479.56	129.92
	h2731	10	339.06	165.44
	h2731	30	229.28	51.16
[0448]	h2731	100	261.15	60.81

[0449] h2731通过小胶质细胞吞噬作用以浓度依赖方式且在相对短的温育期(72小时)期间稳健促进 $A\beta_{pE3-42}$ 自AD患者脑组织切片的清除。因此,本发明抗体在预期意欲通过皮下施用达到的浓度范围下促进 $A\beta_{pE3-42}$ 自AD患者脑的离体清除。

[0450] 进行另一系列之实验,将25ng/ml及75ng/ml之h2731与25ng/ml及225ng/ml之阿杜那单抗进行比较。结果呈现于表17及图31B中。

[0451] 表17

	抗体	浓度(ng/ml)	平均 $A\beta_{pE3-42}$ (pg/ml)	
			(n=4)	标准偏差
[0452]	hIgG1 同种型	225	449.11	58.14
	Adu	225	227.30	98.95
	Adu	25	247.34	48.06
	h2731	75	52.83	25.40
	h2731	25	71.31	64.93

[0453] h2731展现相较于阿杜那单抗之优异 $A\beta_{pE3-42}$ 清除活性,甚至在低9倍浓度下。

[0454] 将另一种生理相关剂量响应系列之h2731及阿杜那单抗(3ng/ml、25ng/ml及225ng/ml)与AD患者脑组织切片及原代小鼠小胶质细胞一起温育72小时,两者均与IgG1同种型对照相比。虽然h2731及阿杜那单抗均以浓度依赖方式促进 $A\beta_{pE3-42}$ 清除,但h2731再次如此显著更有效,且在比阿杜那单抗达到0.0005之p值所需的浓度低9倍的浓度下,p值为<0.0001。结果呈现于下表18以及图32A中。

[0455] 表18

	抗体	浓度(ng/ml)	AbpE3-42 (pg/ml)	标准偏差
[0456]	hIgG1 同种型	225	1.00	6.73
	Adu	225	85.97	74.35
	Adu	25	146.70	24.30
	Adu	3	245.97	41.70
	h2731	225	20.60	14.44
[0457]	h2731	25	41.07	31.15
	h2731	3	154.95	35.89

[0458] 为了验证h2731介导之离体吞噬活性是小胶质细胞依赖性的,进行+/-小胶质细胞实验。虽然小胶质细胞单独驱动一些 AB_{pE3-42} 自AD患者组织切片的清除,但h2731及小胶质细胞之组合使得清除显著更稳健。h2731之清除活性似乎需要小胶质细胞的存在,因为单独h2731在没有小胶质细胞下显示没有活性。结果呈现于表19及图32B中。

[0459] 表19

	抗体	浓度(ng/ml)	AbpE3-42 (pg/ml)	标准偏差
[0460]	hIgG1 同种型	75	271.79	27.01
	h2731	75	263.70	51.28
	hIgG1 + 小胶质细胞	75	174.58	15.75
	h2731 + 小胶质细胞	75	58.37	15.53

[0461] 测试的抗体浓度是基于CNS范围,该范围是对人类每月施用3mg/kg皮下h2731 (25至75ng/ml)或10mg/kg静脉内阿杜那单抗(25至225ng/ml)后,从模型化药物动力学在0.1%之稳态血浆最小及最大浓度下估计得(图33)。

[0462] 本发明抗体以预期通过皮下施用达到的浓度范围促进 AB_{pE3-42} 从AD患者脑的离体清除,且具有比阿杜那单抗更大的生物活性。

[0463] 抗体h2731减少AD脑中的 AB_{pE3-42} 染色。图34显示在经人类IgG同种型对照抗体(图34A及图34B)处理之AD脑中的斑块(白色三角形)中观测到 AB_{pE3-42} (染色由白色箭头指示)且与血管(图34A及图34C中的圆形)相关。用h2731处理增强小胶质细胞介导之 AB_{pE3-42} 浓度降低,如通过斑块的减少所证明(图34C及图34D)。本发明抗体(如通过h2731所例示)减少组织中的含有 AB_{pE3-42} 之斑块。

[0464] 实施例17.h2731靶接合

[0465] 使用表达突变体人类淀粉样前体蛋白(hAPP[V717I])及突变体人类早老素1(hPS1[A246E])之雌性APPxPS1小鼠以评估h2731及阿杜那单抗于外周施用后穿越血脑屏障且结合至脑中的淀粉样 β (A β)斑块的能力。研究开始时动物的平均年龄为6.7个月。在药物施用的前一天,所有动物均接受抗CD4抗体(20mg/kg,静脉内)的注射以防止接受h2731或阿杜那

单抗的小鼠中形成抗药物抗体,此两种抗体均是完全人源化抗体。连续三周每周给与h2731 (3或10mg/kg,皮下,SC)或阿杜那单抗(10mg/kg,静脉内)且一周后将动物安乐死。在用冰冷盐水经心灌注后,从小鼠提取脑且在干冰上于2-甲基丁烷中快速冷冻并储存在-80℃。

[0466] 使用Leica 3050S低温恒温器产生连续矢状10μm厚的冷冻切片。将切片直接解冻安装在带正电荷之载玻片上且储存在-20℃下直至使用。在IHC之前,在4℃下将载玻片浸入10%中性缓冲福尔马林溶液中10分钟,在PBS中冲洗,然后在37℃下在葡萄糖氧化酶溶液(20mMβD(+)葡萄糖、2mM叠氮化钠及2单位/mL葡萄糖氧化酶含在1X PBS中)中培养一小时。将该等载玻片在PBS中冲洗3次5分钟,接着将其转移至染色架上以在自动染色机中加工。使用生物素-SP结合山羊抗人类IgG(H+L)(Jackson ImmunoResearch Laboratories#109-065-088)以检测APPxPS1脑组织中的h2731或阿杜那单抗。使用Bond Research试剂盒(DS980,Leica Biosystems),在自动Leica Bond Rx染色机(Leica Biosystems)中进行染色。随后对切片施加细胞核的苏木精计数器染色,接着在一系列上升之醇中脱水,在二甲苯中清除,盖玻片化,及风干。使用NanoZoomer 2.0HT载玻片扫描仪(Hamamatsu Corporation,Japan)对整个切片进行成像。使用Halo软件(V2.1.1537)对数字化影像进行形态测量分析。在将大脑皮层描绘为所关注的区域后,确定染色组织面积之百分比。数据呈现于表20中。

[0467] 表20

		h2731		阿杜那单抗
		3 mg/kg, SC	10 mg/kg, SC	10 mg/kg, IV
[0468]	斑块结合 (ROI%)	0.070 ± 0.025	0.079 ± 0.034	0.060 ± 0.034

[0469] ROI=分析区域。所有数据代表每组n=5只动物的平均值±SD

[0470] 阿尔茨海默病中Aβ斑块的数量或大小的减少可与疾病进展的减缓或逆转相关。本发明抗Aβ抗体在外周施用后在体内结合Aβ并将其清除之能力支持此等抗体作为治疗剂之潜在效用。

[0471] 因此,本发明抗体促进AD患者之脑组织中的小胶质细胞介导之Aβ₁₋₄₂清除。尽管本发明抗体可不直接靶向焦谷氨酸修饰,但其可在预测为临床上相关之浓度下有效清除Aβ_{pE3-42}且具有比阿杜那单抗更高的效价及更大的生物活性,如h2731所例示。此等抗体清除焦谷氨酸种类可归因于小胶质细胞识别调理的斑块且吞噬具有不同含量之大颗粒。本发明抗体可因此通过该相同机制清除共沉积在斑块中的其他神经毒性成分。

[0472] 引用的所有公开(包括GenBank登录号、UniProtKB/Swiss-Prot登录号及类似者)、专利及专利申请均出于所有目的以全文引用之方式并入本文中,其程度如同特别地且个别地指出各个公开、专利及专利申请出于所有目的以全文引用之方式并入般。如果与Genbank及UniProtKB/Swiss-Prot登录号及类似者相关之序列存在任何差异,则本申请是指自申请的有效申请日期起(意指公开相关登录号的优先权申请的实际申请日期或较早日期)与引用的登录号相关之序列。除非另外特别指明,否则本公开的任何特征、步骤、要素、实施方案或方面可与任何其他组合使用。尽管出于清楚及理解之目的已通过说明及实施例对本公开进行一些详细的描述,但应明了可在随附权利要求的范畴内实施某些改变及修改。

序列表

<110> 欧萨尔普罗席纳有限公司

SKOV, Michael

NIJJAR, Tarlochan

GOVINDARAJAN, Sridhar

PURCELL, Tom

WELCH, Mark

BARD, Frederique

BARBOUR, Robin

ZAGO, Wagner

<120> 抗淀粉样 β 抗体

<130> 20-1030-W0

<150> 63055813

<151> 2020-07-23

<150> 63086589

<151> 2020-10-01

<150> 63187379

<151> 2021-05-11

<150> 63219611

<151> 2021-07-08

<160> 102

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 1

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65		70		75		80									
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Gly
			85					90						95	
Thr	His	Trp	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
			100					105					110		

<210> 2

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 2

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Leu	Gly
1			5					10					15		
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
			20					25					30		
Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
			35				40					45			
Pro	Gln	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
			50				55				60				
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65				70				75					80		
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
			85					90					95		
Thr	His	Phe	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
			100					105					110		

<210> 3

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 3

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1			5					10					15		
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr
			20					25					30		
Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35				40					45			

Ala	Ser	Ile	Arg	Ser	Gly	Ser	Gly	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Ser	Asp	Asn	Val
50						55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75				80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Val	Arg	Tyr	Asp	His	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ser	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
			100					105					110		
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
			115												

<210> 4

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 4

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1			5					10					15		
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Phe
		20					25					30			
Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
	35					40					45				
Ala	Ser	Val	Arg	Ser	Gly	Ser	Gly	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Ser	Asp	Asn	Val
50					55					60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75				80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Val	Arg	Tyr	Asp	His	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ser	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
			100					105					110		
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
			115												

<210> 5

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 5

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe
 20 25 30
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ser Val Arg Ser Gly Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Arg Tyr Asp His Tyr Thr Gly Thr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 6

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 6

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe
 20 25 30
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ser Val Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Thr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 7

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 7

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ala	Asn	Tyr
			20					25					30		
Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Ser	Val	Arg	Ser	Gly	Gly	Ser	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Ser	Asp	Asn	Val
	50					55				60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70				75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85					90				95			
Val	Arg	Tyr	Asp	His	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ser	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
			100					105				110			
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser									

115

<210> 8

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 8

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Tyr
			20					25				30			
Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40					45			
Pro	Gln	Arg	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55					60				

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Leu	Gly
1				5					10					15	
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
			20					25					30		
Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser

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

Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Met	Asp	Thr
20				25				30							
Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
35				40				45							
Pro	Gln	Arg	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Glu	Ser	Gly	Val	Pro
50				55				60							
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65				70				75				80			
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
85				90				95							
Thr	His	Phe	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
100				105				110							

<210> 13

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 13

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
1				5				10				15			
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Tyr
20				25				30							
Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
35				40				45							
Pro	Gln	Arg	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
50				55				60							
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65				70				75				80			
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
85				90				95							
Thr	His	Phe	Pro	Arg	Ser	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
100				105				110							

<210> 14

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 14

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Leu	Gly
1				5				10						15	
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
			20					25						30	
Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40						45		
Pro	Gln	Arg	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55					60				
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65				70					75					80	
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
			85					90						95	
Thr	His	Phe	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
			100					105						110	

<210> 15

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 15

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Leu	Gly
1				5				10						15	
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
			20					25						30	
Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40						45		
Pro	Gln	Arg	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Thr	Asn	Arg	Glu	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55					60				
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65				70					75					80	
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
			85					90						95	
Thr	His	Phe	Pro	Arg	Ser	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
			100					105						110	

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 16

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ser

1 5 10

<210> 17

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 17

Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asn Asp Tyr Asn

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 18

Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr

1 5 10

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 19

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe Gly Met Ser

1 5 10

<210> 20

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 20

Ser Ile Arg Ser Gly Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 21

Ser Val Arg Ser Gly Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 22

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 22

Ser Val Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 23

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 23

Ser Val Arg Ser Gly Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 24

Tyr Asp His Tyr Ser Gly Thr Ser Asp Tyr

1 5 10

<210> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 25

Tyr Asp His Tyr Thr Gly Thr Ser Asp Tyr

1 5 10

<210> 26

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 26

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 27

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 27

Leu Val Ser Ser Lys Leu Asp Ser

1 5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 28

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr

1 5

<210> 29

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 29

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Tyr Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 30

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 30

Ala Gly Ala Gly

1

<210> 31

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 31

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Asp Tyr Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 32

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 32

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Met Asp Thr Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 33

Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser

1 5

<210> 34

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 34

Arg Val Thr Asn Arg Asp Thr

1 5

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 35

Lys Val Ser Asn Arg Glu Ser

1 5

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 36

Lys Val Thr Asn Arg Glu Ser

1 5

<210> 37

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 37

Gly Ala Gly Ala

1

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 38

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Ser

1

5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 39

Trp Gln Gly Ser His Phe Pro Arg Ser

1

5

<210> 40

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 40

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1

5

10

15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20

25

30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35

40

45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50

55

60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65	70	75	80
Tyr Ile Cys Asn Val	Asn His Lys Pro Ser	Asn Thr Lys Val	Asp Lys
85	90	95	
Lys Val Glu Pro Lys	Ser Cys Asp Lys Thr	His Thr Cys Pro	Pro Cys
100	105	110	
Pro Ala Pro Glu Leu	Leu Gly Gly Pro Ser	Val Phe Leu Phe	Pro Pro
115	120	125	
Lys Pro Lys Asp Thr	Leu Met Ile Ser Arg	Thr Pro Glu Val	Thr Cys
130	135	140	
Val Val Val Asp Val	Ser His Glu Asp Pro	Glu Val Lys Phe	Asn Trp
145	150	155	160
Tyr Val Asp Gly Val	Glu Val His Asn Ala	Lys Thr Lys Pro	Arg Glu
165	170	175	
Glu Gln Tyr Asn Ser	Thr Tyr Arg Val Val	Ser Val Leu Thr	Val Leu
180	185	190	
His Gln Asp Trp Leu	Asn Gly Lys Glu Tyr	Lys Cys Lys Val	Ser Asn
195	200	205	
Lys Ala Leu Pro Ala	Pro Ile Glu Lys Thr	Ile Ser Lys Ala	Lys Gly
210	215	220	
Gln Pro Arg Glu Pro	Gln Val Tyr Thr Leu	Pro Pro Ser Arg	Glu Glu
225	230	235	240
Met Thr Lys Asn Gln	Val Ser Leu Thr Cys	Leu Val Lys Gly	Phe Tyr
245	250	255	
Pro Ser Asp Ile Ala	Val Glu Trp Glu Ser	Asn Gly Gln Pro	Glu Asn
260	265	270	
Asn Tyr Lys Thr Thr	Pro Pro Val Leu Asp	Ser Asp Gly Ser	Phe Phe
275	280	285	
Leu Tyr Ser Lys Leu	Thr Val Asp Lys Ser	Arg Trp Gln Gln	Gly Asn
290	295	300	
Val Phe Ser Cys Ser	Val Met His Glu Ala	Leu His Asn His	Tyr Thr
305	310	315	320
Gln Lys Ser Leu Ser	Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330		

<210> 41

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 41

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 42

<211> 357

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 42

Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly
 1 5 10 15
 Ala Gly Ala Gly Cys Gly Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Cys Cys Thr
 20 25 30
 Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly Gly Ala
 35 40 45
 Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Gly Thr Cys Cys Thr
 50 55 60
 Gly Thr Gly Cys Cys Gly Cys Gly Thr Cys Cys Gly Gly Thr Thr Thr
 65 70 75 80
 Thr Ala Cys Cys Thr Thr Cys Thr Cys Cys Ala Ala Cys Thr Ala Cys
 85 90 95
 Gly Gly Ala Ala Thr Gly Thr Cys Ala Thr Gly Gly Gly Thr Cys Cys
 100 105 110
 Gly Cys Cys Ala Ala Gly Cys Ala Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala
 115 120 125
 Gly Gly Gly Ala Thr Thr Gly Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Thr Gly

130	135	140
Gly Cys Thr Thr Cys Gly	Ala Thr Cys Cys Gly	Gly Thr Cys Cys Gly
145	150	155
Gly Cys Thr Cys Gly	Gly Gly Ala Cys Gly	Gly Ala Cys Cys Thr Ala
165	170	175
Cys Thr Ala Cys Thr Cys	Cys Gly Ala Thr Ala	Ala Cys Gly Thr Cys
180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys	Ala Gly Ala Thr Thr	Cys Ala Cys Thr Ala
195	200	205
Thr Thr Ala Gly Cys Cys	Gly Gly Gly Ala Cys	Ala Ala Cys Ala Gly
210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala	Thr Ala Cys Cys Cys	Thr Gly Thr Ala Cys
225	230	235
Cys Thr Cys Cys Ala Ala	Ala Thr Gly Ala Ala	Cys Thr Cys Cys Cys
245	250	255
Thr Gly Ala Gly Gly Gly	Cys Cys Gly Ala Gly	Gly Ala Cys Ala Cys
260	265	270
Cys Gly Cys Cys Gly Thr	Gly Thr Ala Thr Thr	Ala Cys Thr Gly Cys
275	280	285
Gly Thr Gly Cys Gly Cys	Thr Ala Cys Gly Ala	Cys Cys Ala Cys Thr
290	295	300
Ala Cys Thr Cys Gly Gly	Gly Thr Thr Cys Cys	Thr Cys Thr Gly Ala
305	310	315
Thr Thr Ala Cys Thr Gly	Gly Gly Gly Gly Ala	Cys Ala Gly Gly Gly Gly
325	330	335
Ala Cys Cys Cys Thr Cys	Gly Thr Gly Ala Cys	Thr Gly Thr Gly Thr
340	345	350
Cys Ala Ala Gly Cys		
355		
<210> 43		
<211> 336		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成肽		
<400> 43		
Gly Ala Thr Gly Thr Cys	Gly Thr Gly Ala Thr	Gly Ala Cys Cys Cys
1	5	10
Ala Gly Thr Cys Ala Cys	Cys Ala Cys Thr Gly	Thr Cys Cys Cys Thr

20	25	30
Thr Cys Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr Cys Cys Cys Gly Gly Ala		
35	40	45
Gly Ala Ala Cys Cys Gly Gly Cys Gly Thr Cys Cys Ala Thr Thr Thr		
50	55	60
Cys Gly Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Ala		
65	70	75
Gly Thr Cys Cys Cys Thr Gly Cys Thr Cys Gly Ala Thr Thr Ala Thr		
85	90	95
Gly Ala Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Ala Cys Cys		
100	105	110
Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Thr Thr Gly Cys Thr Cys Cys Ala		
115	120	125
Ala Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Gly Cys Ala Gly Ala Gly Cys		
130	135	140
Cys Cys Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr		
145	150	155
Ala Cys Ala Ala Ala Gly Thr Gly Thr Cys Cys Ala Ala Cys Ala Gly		
165	170	175
Gly Gly Ala Cys Thr Cys Gly Gly Gly Cys Gly Thr Gly Cys Cys Gly		
180	185	190
Gly Ala Cys Cys Gly Cys Thr Thr Cys Thr Cys Gly Gly Gly Gly Thr		
195	200	205
Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys Cys Gly Gly Thr Ala Cys Cys Gly Ala		
210	215	220
Cys Thr Thr Thr Ala Cys Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Cys		
225	230	235
Thr Cys Ala Cys Gly Gly Gly Thr Gly Gly Ala Ala Gly Cys Cys Gly		
245	250	255
Ala Gly Gly Ala Cys Gly Thr Gly Gly Gly Ala Gly Thr Gly Thr Ala		
260	265	270
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys		
275	280	285
Ala Cys Thr Cys Ala Cys Thr Thr Cys Cys Cys Gly Cys Gly Gly Ala		
290	295	300
Cys Cys Thr Thr Cys Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Gly Cys Ala Cys		
305	310	315
Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Gly		
325	330	335

44

<211> 357

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成肽

<400> 44

Gly	Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Ala	Cys	Thr
			20					25					30		
Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Cys
		35					40					45			
Ala	Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Ala	Gly	Cys	Thr
	50					55				60					
Gly	Cys	Gly	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Ala	Gly	Gly	Ala	Thr	Thr
65				70					75					80	
Cys	Ala	Cys	Cys	Thr	Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Ala	Cys	Thr	Thr	Cys
			85					90					95		
Gly	Gly	Ala	Ala	Thr	Gly	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Cys	Ala
		100					105					110			
Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Cys	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala
	115					120				125					
Gly	Gly	Gly	Cys	Cys	Thr	Thr	Gly	Ala	Ala	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly
	130				135					140					
Gly	Cys	Thr	Ala	Gly	Cys	Gly	Thr	Gly	Cys	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Gly
145				150					155					160	
Gly	Thr	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Ala	Cys	Gly	Gly	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala
			165				170						175		
Cys	Thr	Ala	Cys	Thr	Cys	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Ala	Cys	Gly	Thr	Gly
		180					185					190			
Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Cys	Cys	Gly	Gly	Thr	Thr	Thr	Ala	Cys	Thr	Ala
	195					200					205				
Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Ala	Thr	Thr	Cys
	210				215				220						
Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Cys	Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Thr	Ala	Cys
225				230					235					240	
Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Thr	Gly	Ala	Ala	Cys	Thr	Cys	Cys	Thr
			245					250					255		

Thr Gly Cys Gly Cys Gly Cys Cys Gly Ala Gly Gly Ala Thr Ala Cys
 260 265 270
 Cys Gly Cys Ala Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Cys
 275 280 285
 Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Ala Cys Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr
 290 295 300
 Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Cys Ala Cys Thr Ala Gly Cys Gly Ala
 305 310 315 320
 Thr Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala
 325 330 335
 Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Gly Thr
 340 345 350
 Cys Gly Thr Cys Ala
 355

<210> 45

<211> 336

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 45

Gly Ala Thr Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Thr Cys
 1 5 10 15
 Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Thr Gly Thr Cys Cys Cys Thr
 20 25 30
 Gly Cys Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Cys Cys Thr Thr Gly Gly Gly
 35 40 45
 Gly Ala Ala Cys Cys Cys Gly Cys Cys Thr Cys Gly Ala Thr Cys Thr
 50 55 60
 Cys Gly Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Thr Cys Cys Cys Ala
 65 70 75 80
 Gly Ala Gly Cys Cys Thr Gly Cys Thr Cys Gly Ala Cys Thr Ala Thr
 85 90 95
 Gly Ala Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Ala Cys Cys
 100 105 110
 Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Thr Thr Gly Cys Thr Cys Cys Ala
 115 120 125
 Ala Ala Ala Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Ala Gly Cys
 130 135 140

Cys Cys Cys Cys Ala Gly Ala Gly Gly Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr			
145	150	155	160
Ala Cys Cys Gly Cys Gly Thr Gly Ala Cys Cys Ala Ala Cys Cys Gly			
	165	170	175
Cys Gly Ala Cys Ala Cys Cys Gly Gly Gly Thr Gly Cys Cys Gly			
	180	185	190
Gly Ala Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys Thr Cys Cys Gly Gly Ala Thr			
	195	200	205
Cys Cys Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Gly Cys Ala Cys Thr Gly Ala			
	210	215	220
Cys Thr Thr Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Ala Ala Thr Thr			
225	230	235	240
Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Thr Gly Gly Ala Ala Gly Cys Cys Gly			
	245	250	255
Ala Gly Gly Ala Cys Gly Thr Gly Gly Gly Ala Gly Thr Gly Thr Ala			
	260	265	270
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Gly Thr			
	275	280	285
Ala Cys Thr Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Cys Ala Cys Gly Gly Thr			
	290	295	300
Cys Cys Thr Thr Cys Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys			
305	310	315	320
Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Gly			
	325	330	335

<210> 46

<211> 357

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 46

Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly			
1	5	10	15
Ala Gly Ala Gly Cys Gly Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Cys Cys Thr			
	20	25	30
Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly Gly Ala			
	35	40	45
Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Gly Thr Cys Cys Thr			
	50	55	60

Gly Thr Gly Cys Cys Gly Cys Gly Thr Cys Cys Gly Gly Thr Thr Thr			
65	70	75	80
Thr Ala Cys Cys Thr Thr Cys Thr Cys Cys Ala Ala Cys Thr Ala Cys			
	85	90	95
Gly Gly Ala Ala Thr Gly Thr Cys Ala Thr Gly Gly Gly Thr Cys Cys			
	100	105	110
Gly Cys Cys Ala Ala Gly Cys Ala Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala			
	115	120	125
Gly Gly Gly Ala Thr Thr Gly Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Thr Gly			
	130	135	140
Gly Cys Thr Thr Cys Gly Ala Thr Cys Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly			
145	150	155	160
Gly Cys Thr Cys Gly Gly Gly Ala Cys Gly Gly Ala Cys Cys Thr Ala			
	165	170	175
Cys Thr Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala Thr Ala Ala Cys Gly Thr Cys			
	180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Ala Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Thr Ala			
	195	200	205
Thr Thr Ala Gly Cys Cys Gly Gly Gly Ala Cys Ala Ala Cys Ala Gly			
	210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Thr Ala Cys Cys Cys Thr Gly Thr Ala Cys			
225	230	235	240
Cys Thr Cys Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Cys Cys Cys			
	245	250	255
Thr Gly Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys			
	260	265	270
Cys Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Cys			
	275	280	285
Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Ala Cys Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr			
	290	295	300
Ala Cys Thr Cys Gly Gly Gly Thr Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala			
305	310	315	320
Thr Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly Gly Gly Gly			
	325	330	335
Ala Cys Cys Cys Thr Cys Gly Thr Gly Ala Cys Thr Gly Thr Gly Thr			
	340	345	350
Cys Ala Ala Gly Cys			
	355		

<210> 47

<211> 336

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 47

Gly	Ala	Thr	Gly	Thr	Cys	Gly	Thr	Gly	Ala	Thr	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Cys	Ala	Cys	Cys	Thr	Cys	Thr	Gly	Thr	Cys	Cys	Cys	Thr
			20					25					30		
Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Thr	Gly	Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly
			35				40						45		
Gly	Ala	Ala	Cys	Cys	Cys	Gly	Cys	Cys	Thr	Cys	Gly	Ala	Thr	Cys	Thr
			50				55					60			
Cys	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Ala	Gly	Ala	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Cys	Ala
65					70					75					80
Gly	Ala	Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Cys	Thr	Cys	Gly	Ala	Cys	Thr	Ala	Thr
					85					90					95
Gly	Ala	Thr	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala	Gly	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala	Cys	Cys
			100						105					110	
Thr	Gly	Ala	Ala	Cys	Thr	Gly	Gly	Thr	Thr	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala
			115						120					125	
Ala	Ala	Ala	Gly	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Cys	Cys	Ala	Gly	Ala	Gly	Cys
			130						135				140		
Cys	Cys	Cys	Cys	Ala	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Ala	Thr	Cys	Thr
145					150					155					160
Ala	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Thr	Gly	Ala	Cys	Cys	Ala	Ala	Cys	Cys	Gly
					165					170					175
Cys	Gly	Ala	Cys	Ala	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Cys	Gly
			180						185					190	
Gly	Ala	Cys	Cys	Gly	Gly	Thr	Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Ala	Thr
			195						200					205	
Cys	Cys	Gly	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Gly	Gly	Cys	Ala	Cys	Thr	Gly	Ala
			210						215					220	
Cys	Thr	Thr	Cys	Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Ala	Ala	Ala	Ala	Thr	Thr
225					230					235					240
Thr	Cys	Cys	Ala	Gly	Ala	Gly	Thr	Gly	Gly	Ala	Ala	Gly	Cys	Cys	Gly
					245					250					255
Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Gly	Thr	Gly	Gly	Gly	Ala	Gly	Thr	Gly	Thr	Ala

	260		265		270
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Gly Thr					
275		280		285	
Ala Cys Thr Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Cys Ala Cys Gly Gly Thr					
290		295		300	
Cys Cys Thr Thr Cys Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys					
305		310		315	320
Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Gly					
	325		330		335
<210> 48					
<211> 357					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成肽					
<400> 48					
Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly					
1	5	10	15		
Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly Ala Cys Thr					
20	25	30			
Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Gly Ala					
35	40	45			
Thr Cys Cys Cys Thr Gly Cys Gly Gly Cys Thr Thr Thr Cys Cys Thr					
50	55	60			
Gly Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Thr Cys Cys Gly Gly Cys Thr Thr					
65	70	75	80		
Cys Ala Cys Cys Thr Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Cys Thr Thr Cys					
85	90	95			
Gly Gly Ala Ala Thr Gly Thr Cys Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys Ala					
100	105	110			
Gly Ala Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Ala Ala Ala					
115	120	125			
Gly Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Thr Gly					
130	135	140			
Gly Cys Cys Thr Cys Ala Gly Thr Gly Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly					
145	150	155	160		
Gly Ala Thr Cys Gly Gly Gly Thr Ala Gly Ala Ala Cys Cys Thr Ala					
165	170	175			
Cys Thr Ala Cys Ala Gly Cys Gly Ala Thr Ala Ala Cys Gly Thr Gly					

180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys Ala Cys Gly Ala		
195	200	205
Thr Cys Thr Cys Cys Cys Gly Cys Gly Ala Cys Ala Ala Cys Thr Cys		
210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Thr Ala Cys		
225	230	235
Thr Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Gly Cys Cys		240
245	250	255
Thr Cys Ala Gly Gly Gly Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Thr Ala Cys		
260	265	270
Cys Gly Cys Gly Gly Thr Cys Thr Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr		
275	280	285
Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Ala Thr Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr		
290	295	300
Ala Cys Ala Cys Thr Gly Gly Ala Ala Cys Thr Ala Gly Cys Gly Ala		
305	310	315
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly		
325	330	335
Ala Cys Cys Cys Thr Cys Gly Thr Gly Ala Cys Thr Gly Thr Gly Thr		
340	345	350
Cys Gly Thr Cys Cys		
355		
<210> 49		
<211> 336		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成肽		
<400> 49		
Gly Ala Thr Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Thr Cys		
1	5	10
Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Thr Gly Thr Cys Cys Cys Thr		
20	25	30
Gly Cys Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Cys Cys Thr Thr Gly Gly Gly		
35	40	45
Gly Ala Ala Cys Cys Cys Gly Cys Cys Thr Cys Gly Ala Thr Cys Thr		
50	55	60
Cys Gly Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Thr Cys Cys Cys Ala		

65	70	75	80
Gly Ala Gly Cys Cys Thr Gly Cys Thr Cys Gly Ala Cys Thr Ala Thr			
	85	90	95
Gly Ala Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Ala Cys Cys			
100	105	110	
Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Thr Thr Gly Cys Thr Cys Cys Ala			
115	120	125	
Ala Ala Ala Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Ala Gly Cys			
130	135	140	
Cys Cys Cys Cys Ala Gly Ala Gly Gly Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr			
145	150	155	160
Ala Cys Cys Gly Cys Gly Thr Gly Ala Cys Cys Ala Ala Cys Cys Gly			
165	170	175	
Cys Gly Ala Cys Ala Cys Cys Gly Gly Gly Gly Thr Gly Cys Cys Gly			
180	185	190	
Gly Ala Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys Thr Cys Cys Gly Gly Ala Thr			
195	200	205	
Cys Cys Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Gly Cys Ala Cys Thr Gly Ala			
210	215	220	
Cys Thr Thr Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Ala Ala Thr Thr			
225	230	235	240
Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Thr Gly Gly Ala Ala Gly Cys Cys Gly			
245	250	255	
Ala Gly Gly Ala Cys Gly Thr Gly Gly Gly Ala Gly Thr Gly Thr Ala			
260	265	270	
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Gly Thr			
275	280	285	
Ala Cys Thr Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Cys Ala Cys Gly Gly Thr			
290	295	300	
Cys Cys Thr Thr Cys Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys			
305	310	315	320
Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Gly			
325	330	335	

<210> 50

<211> 357

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 50

Gly	Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Ala	Cys	Thr
			20					25					30		
Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Cys
			35				40						45		
Ala	Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Ala	Gly	Cys	Thr
			50				55					60			
Gly	Cys	Gly	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Ala	Gly	Gly	Ala	Thr	Thr
65					70				75					80	
Cys	Ala	Cys	Cys	Thr	Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Ala	Cys	Thr	Thr	Cys
				85				90					95		
Gly	Gly	Ala	Ala	Thr	Gly	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Cys	Ala
			100					105					110		
Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Cys	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala
			115				120					125			
Gly	Gly	Gly	Cys	Cys	Thr	Thr	Gly	Ala	Ala	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly
			130				135					140			
Gly	Cys	Thr	Ala	Gly	Cys	Gly	Thr	Gly	Cys	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Gly
145					150				155					160	
Gly	Thr	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Ala	Cys	Gly	Gly	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala
				165					170					175	
Cys	Thr	Ala	Cys	Thr	Cys	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Ala	Cys	Gly	Thr	Gly
			180					185					190		
Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Cys	Cys	Gly	Gly	Thr	Thr	Thr	Ala	Cys	Thr	Ala
			195					200					205		
Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Ala	Thr	Thr	Cys
			210				215					220			
Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Cys	Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Thr	Ala	Cys
225					230				235					240	
Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Thr	Gly	Ala	Ala	Cys	Thr	Cys	Cys	Thr
				245					250					255	
Thr	Gly	Cys	Gly	Cys	Gly	Cys	Cys	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Thr	Ala	Cys
			260					265					270		
Cys	Gly	Cys	Ala	Gly	Thr	Gly	Thr	Ala	Thr	Thr	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
			275					280					285		
Gly	Thr	Gly	Cys	Gly	Cys	Thr	Ala	Cys	Gly	Ala	Cys	Cys	Ala	Cys	Thr
			290				295						300		

Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Cys Ala Cys Thr Ala Gly Cys Gly Ala
 305 310 315 320
 Thr Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala
 325 330 335
 Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Gly Thr
 340 345 350
 Cys Gly Thr Cys Ala
 355
 <210> 51
 <211> 336
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 51
 Gly Ala Thr Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys
 1 5 10 15
 Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala Cys Thr Gly Thr Cys Cys Cys Thr
 20 25 30
 Thr Cys Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr Cys Cys Cys Gly Gly Ala
 35 40 45
 Gly Ala Ala Cys Cys Gly Gly Cys Gly Thr Cys Cys Ala Thr Thr Thr
 50 55 60
 Cys Gly Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Ala
 65 70 75 80
 Gly Thr Cys Cys Cys Thr Gly Cys Thr Cys Gly Ala Thr Thr Ala Thr
 85 90 95
 Gly Ala Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Ala Cys Cys
 100 105 110
 Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Thr Thr Gly Cys Thr Cys Cys Ala
 115 120 125
 Ala Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Gly Cys Ala Gly Ala Gly Cys
 130 135 140
 Cys Cys Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr
 145 150 155 160
 Ala Cys Ala Ala Ala Gly Thr Gly Thr Cys Cys Ala Ala Cys Ala Gly
 165 170 175
 Gly Gly Ala Cys Thr Cys Gly Gly Gly Cys Gly Thr Gly Cys Cys Gly
 180 185 190

Gly Ala Cys Cys Gly Cys Thr Thr Cys Thr Cys Gly Gly Gly Gly Thr		
195	200	205
Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys Cys Gly Gly Thr Ala Cys Cys Gly Ala		
210	215	220
Cys Thr Thr Thr Ala Cys Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Cys		
225	230	235
Thr Cys Ala Cys Gly Gly Gly Thr Gly Gly Ala Ala Gly Cys Cys Gly		
245	250	255
Ala Gly Gly Ala Cys Gly Thr Gly Gly Gly Ala Gly Thr Gly Thr Ala		
260	265	270
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys		
275	280	285
Ala Cys Thr Cys Ala Cys Thr Thr Cys Cys Cys Gly Cys Gly Gly Ala		
290	295	300
Cys Cys Thr Thr Cys Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Gly Cys Ala Cys		
305	310	315
Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Gly		
325	330	335

<210> 52

<211> 357

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 52

Gly Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly		
1	5	10
Ala Gly Thr Cys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Cys Thr		
20	25	30
Cys Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Gly Cys		
35	40	45
Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Thr Thr		
50	55	60
Gly Thr Gly Cys Cys Gly Cys Cys Thr Cys Cys Gly Gly Cys Thr Thr		
65	70	75
Cys Ala Cys Thr Thr Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Cys Thr Thr Cys		
85	90	95
Gly Gly Ala Ala Thr Gly Thr Cys Cys Thr Gly Gly Gly Thr Cys Cys		
100	105	110

Gly Cys Cys Ala Ala Gly Cys Ala Cys Cys Gly Gly Gly Ala Ala Ala		
115	120	125
Gly Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Thr Cys		
130	135	140
Gly Cys Cys Ala Gly Cys Gly Thr Gly Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly		
145	150	155
Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly Ala Cys Gly Gly Ala Cys Thr Thr Ala		
165	170	175
Cys Thr Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala Cys Ala Ala Cys Gly Thr Gly		
180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala		
195	200	205
Thr Cys Thr Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala Thr Ala Ala Cys Thr Cys		
210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Thr Ala Cys Thr Cys Thr Gly Thr Ala Cys		
225	230	235
Thr Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Cys Gly Cys		
245	250	255
Thr Gly Cys Gly Cys Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Ala Cys		
260	265	270
Cys Gly Cys Gly Gly Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Gly Cys		
275	280	285
Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Ala Cys Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr		
290	295	300
Ala Cys Thr Cys Cys Gly Gly Thr Ala Cys Cys Ala Gly Cys Gly Ala		
305	310	315
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly Gly Gly Ala		
325	330	335
Ala Cys Cys Cys Thr Thr Gly Thr Gly Ala Cys Cys Gly Thr Gly Thr		
340	345	350
Cys Gly Ala Gly Cys		
355		

<210> 53

<211> 336

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 53

Gly	Ala	Thr	Gly	Thr	Cys	Gly	Thr	Gly	Ala	Thr	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Cys	Cys	Cys	Cys	Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Cys	Thr
			20					25					30		
Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Thr	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly
		35					40					45			
Gly	Ala	Ala	Cys	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Cys	Ala	Thr	Thr	Thr
		50					55					60			
Cys	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Ala	Gly	Ala	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Ala
65					70					75					80
Gly	Thr	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Thr	Thr	Gly	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys	Ala
				85					90					95	
Gly	Ala	Cys	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala	Gly	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala	Cys	Cys
			100						105				110		
Thr	Thr	Ala	Ala	Cys	Thr	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala
			115						120				125		
Ala	Ala	Ala	Gly	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Gly	Cys
			130						135				140		
Cys	Cys	Gly	Cys	Ala	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Ala	Thr	Cys	Thr
145					150					155					160
Ala	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Thr	Gly	Ala	Cys	Cys	Ala	Ala	Cys	Cys	Gly
				165					170					175	
Gly	Gly	Ala	Thr	Ala	Cys	Gly	Gly	Gly	Ala	Gly	Thr	Gly	Cys	Cys	Gly
			180						185				190		
Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Thr	Thr	Cys	Ala	Gly	Cys	Gly	Gly	Cys	Thr
			195						200				205		
Cys	Gly	Gly	Gly	Thr	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Cys	Ala	Cys	Cys	Gly	Ala
			210						215				220		
Cys	Thr	Thr	Cys	Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Cys	Ala	Ala	Ala	Ala	Thr	Cys
225					230					235					240
Thr	Cys	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Cys	Gly
				245					250					255	
Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Gly	Thr	Gly	Gly	Gly	Cys	Gly	Thr	Gly	Thr	Ala
			260						265				270		
Thr	Thr	Ala	Cys	Thr	Gly	Thr	Thr	Gly	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ala
			275						280				285		
Ala	Cys	Cys	Cys	Ala	Cys	Thr	Thr	Thr	Cys	Cys	Thr	Cys	Gly	Gly	Ala
			290						295				300		
Cys	Cys	Thr	Thr	Cys	Gly	Gly	Thr	Cys	Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Ala	Cys

305	310	315	320
Thr Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala Gly			
	325	330	335
<210> 54			
<211> 357			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<400> 54			
Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly			
1	5	10	15
Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly Ala Cys Thr			
	20	25	30
Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Gly Gly Ala			
	35	40	45
Thr Cys Cys Cys Thr Gly Cys Gly Gly Cys Thr Thr Thr Cys Cys Thr			
	50	55	60
Gly Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Thr Cys Cys Gly Gly Cys Thr Thr			
65	70	75	80
Cys Ala Cys Cys Thr Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Cys Thr Thr Cys			
	85	90	95
Gly Gly Ala Ala Thr Gly Thr Cys Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys Ala			
	100	105	110
Gly Ala Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Ala Ala Ala			
	115	120	125
Gly Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Thr Gly			
	130	135	140
Gly Cys Cys Thr Cys Ala Gly Thr Gly Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly			
145	150	155	160
Gly Ala Thr Cys Gly Gly Gly Thr Ala Gly Ala Ala Cys Cys Thr Ala			
	165	170	175
Cys Thr Ala Cys Ala Gly Cys Gly Ala Thr Ala Ala Cys Gly Thr Gly			
	180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys Ala Cys Gly Ala			
	195	200	205
Thr Cys Thr Cys Cys Cys Gly Cys Gly Ala Cys Ala Ala Cys Thr Cys			
	210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Thr Ala Cys			

225	230	235	240
Thr Thr Gly Cys Ala	Ala Ala Thr Gly Ala	Ala Thr Ala Gly Cys Cys	
	245	250	255
Thr Cys Ala Gly Gly Gly Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Thr Ala Cys			
	260	265	270
Cys Gly Cys Gly Gly Thr Cys Thr Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr			
	275	280	285
Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Ala Thr Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr			
	290	295	300
Ala Cys Ala Cys Thr Gly Gly Ala Ala Cys Thr Ala Gly Cys Gly Ala			
305	310	315	320
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly			
	325	330	335
Ala Cys Cys Cys Thr Cys Gly Thr Gly Ala Cys Thr Gly Thr Gly Thr			
	340	345	350
Cys Gly Thr Cys Cys			
	355		
<210> 55			
<211> 336			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<400> 55			
Gly Ala Thr Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys			
1	5	10	15
Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala Cys Thr Gly Thr Cys Cys Cys Thr			
	20	25	30
Thr Cys Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr Cys Cys Cys Gly Gly Ala			
	35	40	45
Gly Ala Ala Cys Cys Gly Gly Cys Gly Thr Cys Cys Ala Thr Thr Thr			
	50	55	60
Cys Gly Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Ala			
65	70	75	80
Gly Thr Cys Cys Cys Thr Gly Cys Thr Cys Gly Ala Thr Thr Ala Thr			
	85	90	95
Gly Ala Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Ala Cys Cys			
	100	105	110
Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Thr Thr Gly Cys Thr Cys Cys Ala			

115	120	125
Ala Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Gly Cys Ala Gly Ala Gly Cys		
130	135	140
Cys Cys Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr		
145	150	155
Ala Cys Ala Ala Ala Gly Thr Gly Thr Cys Cys Ala Ala Cys Ala Gly		
165	170	175
Gly Gly Ala Cys Thr Cys Gly Gly Gly Cys Gly Thr Gly Cys Cys Gly		
180	185	190
Gly Ala Cys Cys Gly Cys Thr Thr Cys Thr Cys Gly Gly Gly Gly Thr		
195	200	205
Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys Cys Gly Gly Thr Ala Cys Cys Gly Ala		
210	215	220
Cys Thr Thr Thr Ala Cys Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Cys		
225	230	235
Thr Cys Ala Cys Gly Gly Gly Thr Gly Gly Ala Ala Gly Cys Cys Gly		
245	250	255
Ala Gly Gly Ala Cys Gly Thr Gly Gly Gly Ala Gly Thr Gly Thr Ala		
260	265	270
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys		
275	280	285
Ala Cys Thr Cys Ala Cys Thr Thr Cys Cys Cys Gly Cys Gly Gly Ala		
290	295	300
Cys Cys Thr Thr Cys Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Gly Cys Ala Cys		
305	310	315
Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Gly		
325	330	335

<210> 56

<211> 357

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 56

Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly		
1	5	10
Ala Gly Thr Cys Cys Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Ala Cys Thr		
20	25	30
Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Gly Gly Cys		

35	40	45
Ala Gly Cys Cys Thr Gly	Ala Gly Gly Cys Thr Gly	Ala Gly Cys Thr
50	55	60
Gly Cys Gly Cys Cys Gly	Cys Gly Thr Cys Ala Gly	Gly Ala Thr Thr
65	70	75
Cys Ala Cys Cys Thr Thr	Cys Thr Cys Cys Ala Ala	Cys Thr Thr Cys
85	90	95
Gly Gly Ala Ala Thr Gly	Thr Cys Cys Thr Gly	Gly Gly Thr Cys Ala
100	105	110
Gly Ala Cys Ala Gly Gly	Cys Cys Cys Cys Gly	Gly Gly Ala Ala Ala
115	120	125
Gly Gly Gly Cys Cys Thr Thr	Gly Ala Ala Thr Gly	Gly Gly Thr Gly
130	135	140
Gly Cys Thr Ala Gly Cys	Gly Thr Gly Cys Gly	Cys Thr Cys Cys Gly
145	150	155
Gly Thr Thr Cys Cys Gly	Gly Ala Cys Gly	Gly Ala Cys Cys Thr Ala
165	170	175
Cys Thr Ala Cys Thr Cys	Gly Gly Ala Cys Ala	Ala Cys Gly Thr Gly
180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys	Cys Gly Gly Thr Thr	Thr Ala Cys Thr Ala
195	200	205
Thr Cys Thr Cys Cys Cys	Gly Gly Gly Ala Cys	Ala Ala Thr Thr Cys
210	215	220
Gly Ala Ala Gly Ala Ala	Cys Ala Cys Cys Cys	Thr Gly Thr Ala Cys
225	230	235
Cys Thr Cys Cys Ala Ala	Ala Thr Gly Ala Ala	Cys Thr Cys Cys Thr
245	250	255
Thr Gly Cys Gly Cys Gly	Cys Cys Gly Ala Gly	Gly Ala Thr Ala Cys
260	265	270
Cys Gly Cys Ala Gly Thr	Gly Thr Ala Thr Thr	Ala Cys Thr Gly Cys
275	280	285
Gly Thr Gly Cys Gly Cys	Thr Ala Cys Gly Ala	Cys Cys Ala Cys Thr
290	295	300
Ala Cys Thr Cys Thr Gly	Gly Cys Ala Cys Thr	Ala Gly Cys Gly Ala
305	310	315
Thr Thr Ala Cys Thr Gly	Gly Gly Gly Cys Cys	Ala Gly Gly Gly Ala
325	330	335
Ala Cys Thr Cys Thr Gly	Gly Thr Cys Ala Cys	Cys Gly Thr Gly Thr
340	345	350

Cys Gly Thr Cys Ala

355

<210> 57

<211> 336

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 57

Gly Ala Thr Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys

1 5 10 15

Ala Ala Ala Gly Cys Cys Cys Cys Cys Thr Gly Thr Cys Cys Cys Thr

20 25 30

Cys Cys Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly Ala

35 40 45

Gly Ala Gly Cys Cys Gly Gly Cys Gly Thr Cys Cys Ala Thr Thr Thr

50 55 60

Cys Cys Thr Gly Cys Cys Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Cys Cys Ala

65 70 75 80

Gly Thr Cys Cys Thr Thr Gly Gly Thr Gly Gly Ala Cys Thr Ala Cys

85 90 95

Gly Ala Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Ala Cys Cys

100 105 110

Thr Cys Ala Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Ala

115 120 125

Gly Cys Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Ala Gly Thr Cys Gly

130 135 140

Cys Cys Gly Cys Ala Gly Cys Gly Gly Cys Thr Thr Ala Thr Cys Thr

145 150 155 160

Ala Cys Ala Ala Ala Gly Thr Gly Thr Cys Cys Ala Ala Cys Cys Gly

165 170 175

Cys Gly Ala Cys Thr Cys Gly Gly Gly Cys Gly Thr Gly Cys Cys Gly

180 185 190

Gly Ala Thr Ala Gly Gly Thr Thr Thr Thr Cys Gly Gly Gly Thr Thr

195 200 205

Cys Cys Gly Gly Ala Ala Gly Cys Gly Gly Cys Ala Cys Cys Gly Ala

210 215 220

Cys Thr Thr Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Ala Ala Thr Cys

225 230 235 240

Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Thr Gly Gly Ala Ala Gly Cys Cys Gly			
245	250	255	
Ala Gly Gly Ala Cys Gly Thr Gly Gly Gly Ala Gly Thr Gly Thr Ala			
260	265	270	
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Gly Thr			
275	280	285	
Thr Cys Thr Cys Ala Cys Thr Thr Cys Cys Cys Ala Cys Gly Gly Thr			
290	295	300	
Cys Ala Thr Ala Thr Gly Gly Cys Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala Cys			
305	310	315	320
Thr Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala Gly			
325	330	335	
<210> 58			
<211> 357			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<400> 58			
Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly			
1	5	10	15
Ala Gly Thr Cys Cys Gly Gly Cys Gly Gly Thr Gly Gly Ala Cys Thr			
20	25	30	
Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly Gly Ala			
35	40	45	
Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Gly Thr Cys Cys Thr			
50	55	60	
Gly Cys Gly Cys Cys Gly Cys Gly Thr Cys Gly Gly Gly Cys Thr Thr			
65	70	75	80
Thr Ala Cys Thr Thr Thr Cys Gly Cys Ala Ala Ala Thr Thr Ala Cys			
85	90	95	
Gly Gly Cys Ala Thr Gly Ala Gly Cys Thr Gly Gly Gly Thr Cys Ala			
100	105	110	
Gly Ala Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Ala Ala			
115	120	125	
Gly Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Thr Gly			
130	135	140	
Gly Cys Cys Ala Gly Cys Gly Thr Cys Cys Gly Gly Ala Gly Cys Gly			
145	150	155	160

Gly Gly Gly Gly Ala Thr Cys Cys Cys Gly Gly Ala Cys Cys Thr Ala																	
				165						170						175	
Thr Thr Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala Cys Ala Ala Cys Gly Thr Gly				180						185						190	
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala				195						200						205	
Thr Cys Thr Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala Cys Ala Ala Cys Thr Cys				210						215						220	
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Thr Ala Cys				225						230						235	
																	240
Thr Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Ala Gly Cys Cys										245							
																250	
																	255
Thr Thr Cys Gly Gly Gly Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Thr Ala Cys										260							
																265	
																	270
Thr Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Cys										275							
																280	
																	285
Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Ala Cys Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr										290							
																295	
																	300
Ala Cys Thr Cys Cys Gly Gly Ala Thr Cys Cys Thr Cys Gly Gly Ala										305							
																310	
																	315
Thr Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly Gly Gly Ala																	
																325	
																	330
																	335
Ala Cys Cys Cys Thr Cys Gly Thr Gly Ala Cys Cys Gly Thr Gly Thr										340							
																345	
																	350
Cys Ala Thr Cys Gly																	
																355	
<210>	59																
<211>	336																
<212>	PRT																
<213>	人工序列																
<220>																	
<223>	合成肽																
<400>	59																
Gly Ala Thr Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Thr Cys																	
1				5						10						15	
Ala Gly Thr Cys Gly Cys Cys Cys Cys Thr Cys Thr Cys Cys Cys Thr																	
																20	
																	25
																	30
Gly Cys Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly																	
																35	
																	40
																	45

Gly	Ala	Ala	Cys	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Cys	Ala	Thr	Thr	Thr
50						55						60			
Cys	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Ala	Gly	Ala	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Ala
65					70					75					80
Gly	Thr	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Ala	Thr	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Cys	Cys
				85					90					95	
Gly	Ala	Cys	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala	Gly	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala	Cys	Cys
			100					105					110		
Thr	Thr	Ala	Ala	Cys	Thr	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala
			115					120					125		
Ala	Ala	Ala	Gly	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Gly	Cys
			130					135					140		
Cys	Cys	Gly	Cys	Ala	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Ala	Thr	Cys	Thr
145					150					155					160
Ala	Cys	Ala	Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Thr	Cys	Ala	Ala	Ala	Cys	Cys	Gly
					165					170					175
Gly	Gly	Ala	Gly	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Ala	Gly	Thr	Gly	Cys	Cys	Gly
			180						185				190		
Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Thr	Thr	Cys	Ala	Gly	Cys	Gly	Gly	Cys	Thr
			195					200					205		
Cys	Gly	Gly	Gly	Thr	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Cys	Ala	Cys	Cys	Gly	Ala
			210					215					220		
Cys	Thr	Thr	Cys	Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Cys	Ala	Ala	Ala	Ala	Thr	Cys
225					230					235					240
Thr	Cys	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Cys	Gly
				245						250				255	
Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Gly	Thr	Gly	Gly	Gly	Cys	Gly	Thr	Gly	Thr	Ala
			260					265					270		
Thr	Thr	Ala	Cys	Thr	Gly	Thr	Thr	Gly	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ala
			275					280					285		
Ala	Cys	Cys	Cys	Ala	Cys	Thr	Thr	Thr	Cys	Cys	Thr	Cys	Gly	Gly	Ala
			290					295					300		
Cys	Cys	Thr	Thr	Cys	Gly	Gly	Thr	Cys	Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Ala	Cys
305					310					315					320
Thr	Ala	Ala	Gly	Gly	Thr	Cys	Gly	Ala	Ala	Ala	Thr	Cys	Ala	Ala	Gly
				325						330					335

<210> 60
 <211> 357
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 60

Gly	Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Ala	Cys	Thr
			20					25					30		
Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Cys
			35				40					45			
Ala	Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Ala	Gly	Cys	Thr
			50				55				60				
Gly	Cys	Gly	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Ala	Gly	Gly	Ala	Thr	Thr
65					70				75					80	
Cys	Ala	Cys	Cys	Thr	Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Ala	Cys	Thr	Thr	Cys
				85					90					95	
Gly	Gly	Ala	Ala	Thr	Gly	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Cys	Ala
			100					105					110		
Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Cys	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala
			115				120					125			
Gly	Gly	Gly	Cys	Cys	Thr	Thr	Gly	Ala	Ala	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly
			130				135				140				
Gly	Cys	Thr	Ala	Gly	Cys	Gly	Thr	Gly	Cys	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Gly
145					150				155					160	
Gly	Thr	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Ala	Cys	Gly	Gly	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala
					165				170					175	
Cys	Thr	Ala	Cys	Thr	Cys	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Ala	Cys	Gly	Thr	Gly
			180					185					190		
Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Cys	Cys	Gly	Gly	Thr	Thr	Thr	Ala	Cys	Thr	Ala
			195				200					205			
Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Ala	Thr	Thr	Cys
			210				215				220				
Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Cys	Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Thr	Ala	Cys
225					230				235					240	
Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Thr	Gly	Ala	Ala	Cys	Thr	Cys	Cys	Thr
				245					250					255	
Thr	Gly	Cys	Gly	Cys	Gly	Cys	Cys	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Thr	Ala	Cys
			260					265				270			
Cys	Gly	Cys	Ala	Gly	Thr	Gly	Thr	Ala	Thr	Thr	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys

275	280	285
Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Ala Cys Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr		
290	295	300
Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Cys Ala Cys Thr Ala Gly Cys Gly Ala		
305	310	315
Thr Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala		
325	330	335
Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Gly Thr		
340	345	350
Cys Gly Thr Cys Ala		
355		
<210> 61		
<211> 336		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成肽		
<400> 61		
Gly Ala Thr Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Thr Cys		
1	5	10
Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Cys Thr Cys Thr Cys Cys Cys Thr		
20	25	30
Cys Cys Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys		
35	40	45
Gly Ala Ala Cys Cys Ala Gly Cys Gly Thr Cys Gly Ala Thr Cys Thr		
50	55	60
Cys Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Ala		
65	70	75
Ala Thr Cys Ala Thr Thr Gly Cys Thr Gly Gly Ala Cys Thr Ala Cys		
85	90	95
Gly Ala Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Ala Thr Cys		
100	105	110
Thr Thr Ala Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Ala		
115	120	125
Gly Ala Ala Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Ala Gly Ala Gly Cys		
130	135	140
Cys Cys Gly Cys Ala Gly Cys Gly Cys Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr		
145	150	155
Ala Cys Ala Ala Ala Gly Thr Gly Thr Cys Cys Ala Ala Cys Ala Gly		

	165		170		175
Ala Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Gly Ala Gly Thr Gly Cys Cys Thr					
	180		185		190
Gly Ala Thr Ala Gly Gly Thr Thr Cys Thr Cys Gly Gly Gly Thr Thr					
	195		200		205
Cys Cys Gly Gly Cys Thr Cys Cys Gly Gly Thr Ala Cys Cys Gly Ala					
	210		215		220
Cys Thr Thr Cys Ala Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Ala Ala Thr Thr					
225		230		235	240
Thr Cys Cys Cys Gly Gly Gly Thr Gly Gly Ala Ala Gly Cys Cys Gly					
	245		250		255
Ala Gly Gly Ala Cys Gly Thr Gly Gly Gly Ala Gly Thr Gly Thr Ala					
	260		265		270
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys					
	275		280		285
Ala Cys Cys Cys Ala Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Cys Gly Gly Thr					
	290		295		300
Cys Gly Thr Thr Thr Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala Cys					
305		310		315	320
Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Gly					
	325		330		335

<210> 62

<211> 357

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 62

Gly Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly															
1				5					10					15	
Ala Gly Thr Cys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Cys Thr															
			20					25					30		
Cys Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Gly Gly Cys															
			35					40					45		
Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Thr Thr															
			50					55					60		
Gly Thr Gly Cys Cys Gly Cys Cys Thr Cys Cys Gly Gly Cys Thr Thr															
65						70					75				80
Cys Ala Cys Thr Thr Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Cys Thr Thr Cys															

				85					90					95			
Gly	Gly	Ala	Ala	Thr	Gly	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Cys	Cys		
				100					105					110			
Gly	Cys	Cys	Ala	Ala	Gly	Cys	Ala	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala		
				115					120					125			
Gly	Gly	Gly	Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Ala	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Cys		
				130					135					140			
Gly	Cys	Cys	Ala	Gly	Cys	Gly	Thr	Gly	Cys	Gly	Gly	Thr	Cys	Cys	Gly		
145									150					155			160
Gly	Cys	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Ala	Cys	Gly	Gly	Ala	Cys	Thr	Thr	Ala		
									165					170			175
Cys	Thr	Ala	Cys	Thr	Cys	Cys	Gly	Ala	Cys	Ala	Ala	Cys	Gly	Thr	Gly		
				180					185					190			
Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Cys	Cys	Gly	Gly	Thr	Thr	Cys	Ala	Cys	Cys	Ala		
				195					200					205			
Thr	Cys	Thr	Cys	Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Ala	Thr	Ala	Ala	Cys	Thr	Cys		
				210					215					220			
Cys	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Thr	Ala	Cys	Thr	Cys	Thr	Gly	Thr	Ala	Cys		
225									230					235			240
Thr	Thr	Gly	Cys	Ala	Ala	Ala	Thr	Gly	Ala	Ala	Cys	Thr	Cys	Gly	Cys		
									245					250			255
Thr	Gly	Cys	Gly	Cys	Gly	Cys	Thr	Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Thr	Ala	Cys		
				260					265					270			
Cys	Gly	Cys	Gly	Gly	Thr	Gly	Thr	Ala	Cys	Thr	Ala	Thr	Thr	Gly	Cys		
				275					280					285			
Gly	Thr	Gly	Cys	Gly	Cys	Thr	Ala	Cys	Gly	Ala	Cys	Cys	Ala	Cys	Thr		
				290					295					300			
Ala	Cys	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Thr	Ala	Cys	Cys	Ala	Gly	Cys	Gly	Ala		
305									310					315			320
Cys	Thr	Ala	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ala		
									325					330			335
Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Thr	Gly	Thr	Gly	Ala	Cys	Cys	Gly	Thr	Gly	Thr		
				340					345					350			
Cys	Gly	Ala	Gly	Cys													
				355													

<210> 63

<211> 336

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 63

Gly	Ala	Thr	Gly	Thr	Cys	Gly	Thr	Gly	Ala	Thr	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Cys	Cys	Cys	Cys	Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Cys	Thr
			20					25					30		
Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Thr	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly
			35				40					45			
Gly	Ala	Ala	Cys	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Cys	Ala	Thr	Thr	Thr
			50				55					60			
Cys	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Ala	Gly	Ala	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Ala
65					70				75					80	
Gly	Thr	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Thr	Thr	Gly	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys	Ala
					85				90					95	
Gly	Ala	Cys	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala	Gly	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala	Cys	Cys
					100				105					110	
Thr	Thr	Ala	Ala	Cys	Thr	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala
					115				120					125	
Ala	Ala	Ala	Gly	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Gly	Cys
					130				135					140	
Cys	Cys	Gly	Cys	Ala	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Ala	Thr	Cys	Thr
145						150				155					160
Ala	Cys	Ala	Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Thr	Cys	Ala	Ala	Ala	Cys	Cys	Gly
						165				170				175	
Gly	Gly	Ala	Thr	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Ala	Gly	Thr	Gly	Cys	Cys	Gly
					180				185					190	
Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Thr	Thr	Cys	Ala	Gly	Cys	Gly	Gly	Cys	Thr
					195				200					205	
Cys	Gly	Gly	Gly	Thr	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Cys	Ala	Cys	Cys	Gly	Ala
					210				215					220	
Cys	Thr	Thr	Cys	Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Cys	Ala	Ala	Ala	Ala	Thr	Cys
225						230				235					240
Thr	Cys	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Cys	Gly
						245				250				255	
Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Gly	Thr	Gly	Gly	Gly	Cys	Gly	Thr	Gly	Thr	Ala
					260				265					270	
Thr	Thr	Ala	Cys	Thr	Gly	Thr	Thr	Gly	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ala
					275				280					285	

Ala Cys Cys Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Cys Thr Cys Gly Gly Ala			
290	295	300	
Cys Cys Thr Thr Cys Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala Cys			
305	310	315	320
Thr Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala Gly			
	325	330	335
<210> 64			
<211> 357			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<400> 64			
Gly Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly			
1	5	10	15
Ala Gly Thr Cys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Cys Thr			
	20	25	30
Cys Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Gly Cys			
	35	40	45
Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Thr Thr			
	50	55	60
Gly Thr Gly Cys Cys Gly Cys Cys Thr Cys Cys Gly Gly Cys Thr Thr			
65	70	75	80
Cys Ala Cys Thr Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Cys Thr Thr Cys			
	85	90	95
Gly Gly Ala Ala Thr Gly Thr Cys Cys Thr Gly Gly Gly Thr Cys Cys			
	100	105	110
Gly Cys Cys Ala Ala Gly Cys Ala Cys Cys Gly Gly Gly Ala Ala Ala			
	115	120	125
Gly Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Thr Cys			
	130	135	140
Gly Cys Cys Ala Gly Cys Gly Thr Gly Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly			
145	150	155	160
Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly Ala Cys Gly Gly Ala Cys Thr Thr Ala			
	165	170	175
Cys Thr Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala Cys Ala Ala Cys Gly Thr Gly			
	180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala			
	195	200	205

Thr Cys Thr Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala Thr Ala Ala Cys Thr Cys
 210 215 220
 Cys Ala Ala Gly Ala Ala Thr Ala Cys Thr Cys Thr Gly Thr Ala Cys
 225 230 235 240
 Thr Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Cys Gly Cys
 245 250 255
 Thr Gly Cys Gly Cys Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Ala Cys
 260 265 270
 Cys Gly Cys Gly Gly Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Gly Cys
 275 280 285
 Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Ala Cys Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr
 290 295 300
 Ala Cys Thr Cys Cys Gly Gly Thr Ala Cys Cys Ala Gly Cys Gly Ala
 305 310 315 320
 Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly Gly Gly Ala
 325 330 335
 Ala Cys Cys Cys Thr Thr Gly Thr Gly Ala Cys Cys Gly Thr Gly Thr
 340 345 350
 Cys Gly Ala Gly Cys
 355

<210> 65

<211> 336

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 65

Gly Ala Thr Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Thr Cys
 1 5 10 15
 Ala Gly Thr Cys Gly Cys Cys Cys Cys Thr Cys Thr Cys Cys Cys Thr
 20 25 30
 Gly Cys Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly
 35 40 45
 Gly Ala Ala Cys Cys Cys Gly Cys Gly Thr Cys Cys Ala Thr Thr Thr
 50 55 60
 Cys Gly Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Ala
 65 70 75 80
 Gly Thr Cys Cys Cys Thr Gly Thr Thr Gly Gly Ala Cys Thr Cys Ala
 85 90 95

Gly Ala Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Ala Cys Cys			
100	105	110	
Thr Thr Ala Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Ala			
115	120	125	
Ala Ala Ala Gly Cys Cys Ala Gly Gly Ala Cys Ala Gly Ala Gly Cys			
130	135	140	
Cys Cys Gly Cys Ala Gly Ala Gly Gly Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr			
145	150	155	160
Ala Cys Ala Ala Ala Gly Thr Gly Ala Cys Cys Ala Ala Cys Cys Gly			
165	170	175	
Gly Gly Ala Gly Thr Cys Cys Gly Gly Ala Gly Thr Gly Cys Cys Gly			
180	185	190	
Gly Ala Cys Ala Gly Ala Thr Thr Cys Ala Gly Cys Gly Gly Cys Thr			
195	200	205	
Cys Gly Gly Gly Thr Thr Cys Cys Gly Gly Cys Ala Cys Cys Gly Ala			
210	215	220	
Cys Thr Thr Cys Ala Cys Cys Cys Thr Cys Ala Ala Ala Ala Thr Cys			
225	230	235	240
Thr Cys Cys Cys Gly Cys Gly Thr Cys Gly Ala Gly Gly Cys Cys Gly			
245	250	255	
Ala Gly Gly Ala Cys Gly Thr Gly Gly Gly Cys Gly Thr Gly Thr Ala			
260	265	270	
Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ala			
275	280	285	
Ala Cys Cys Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Cys Thr Cys Gly Gly Thr			
290	295	300	
Cys Ala Thr Thr Cys Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala Cys			
305	310	315	320
Thr Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala Gly			
325	330	335	
<210> 66			
<211> 357			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<400> 66			
Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly			
1	5	10	15

Ala Gly Ala Gly Cys Gly Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Cys Cys Thr		
20	25	30
Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly Gly Ala		
35	40	45
Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Gly Thr Cys Cys Thr		
50	55	60
Gly Thr Gly Cys Cys Gly Cys Gly Thr Cys Cys Gly Gly Thr Thr Thr		
65	70	75
Thr Ala Cys Cys Thr Thr Cys Thr Cys Cys Ala Ala Cys Thr Ala Cys		
85	90	95
Gly Gly Ala Ala Thr Gly Thr Cys Ala Thr Gly Gly Gly Thr Cys Cys		
100	105	110
Gly Cys Cys Ala Ala Gly Cys Ala Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala		
115	120	125
Gly Gly Gly Ala Thr Thr Gly Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Thr Gly		
130	135	140
Gly Cys Thr Thr Cys Gly Ala Thr Cys Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly		
145	150	155
Gly Cys Thr Cys Gly Gly Gly Ala Cys Gly Gly Ala Cys Cys Thr Ala		
165	170	175
Cys Thr Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala Thr Ala Ala Cys Gly Thr Cys		
180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Ala Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Thr Ala		
195	200	205
Thr Thr Ala Gly Cys Cys Gly Gly Gly Ala Cys Ala Ala Cys Ala Gly		
210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Thr Ala Cys Cys Cys Thr Gly Thr Ala Cys		
225	230	235
Cys Thr Cys Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Cys Cys Cys		
245	250	255
Thr Gly Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys		
260	265	270
Cys Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Cys		
275	280	285
Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Ala Cys Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr		
290	295	300
Ala Cys Thr Cys Gly Gly Gly Thr Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala		
305	310	315
Thr Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly Gly Gly Gly		

	325		330		335
Ala Cys Cys Cys Thr Cys Gly Thr Gly		Ala Cys Thr Gly Thr Gly Thr			
	340		345		350
Cys Ala Ala Gly Cys					
	355				
<210> 67					
<211> 336					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成肽					
<400> 67					
Gly Ala Thr Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Thr Cys					
1	5		10		15
Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Cys Thr Cys Thr Cys Cys Cys Thr					
	20		25		30
Cys Cys Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys					
	35		40		45
Gly Ala Ala Cys Cys Ala Gly Cys Gly Thr Cys Gly Ala Thr Cys Thr					
	50		55		60
Cys Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Ala					
65	70		75		80
Ala Thr Cys Ala Thr Thr Gly Cys Thr Gly Gly Ala Cys Thr Ala Cys					
	85		90		95
Gly Ala Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Ala Thr Cys					
	100		105		110
Thr Thr Ala Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Ala					
	115		120		125
Gly Ala Ala Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Ala Gly Ala Gly Cys					
	130		135		140
Cys Cys Gly Cys Ala Gly Cys Gly Cys Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr					
145	150		155		160
Ala Cys Ala Ala Ala Gly Thr Gly Thr Cys Cys Ala Ala Cys Ala Gly					
	165		170		175
Ala Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Gly Ala Gly Thr Gly Cys Cys Thr					
	180		185		190
Gly Ala Thr Ala Gly Gly Thr Thr Cys Thr Cys Gly Gly Gly Thr Thr					
	195		200		205
Cys Cys Gly Gly Cys Thr Cys Cys Gly Gly Thr Ala Cys Cys Gly Ala					

210	215	220
Cys Thr Thr Cys Ala Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Ala Ala Thr Thr		
225	230	235
Thr Cys Cys Cys Gly Gly Gly Thr Gly Gly Ala Ala Gly Cys Cys Gly		240
	245	250
Ala Gly Gly Ala Cys Gly Thr Gly Gly Gly Ala Gly Thr Gly Thr Ala		255
	260	265
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys		270
	275	280
Ala Cys Cys Cys Ala Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Cys Gly Gly Thr		285
	290	295
Cys Gly Thr Thr Thr Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala Cys		300
305	310	315
Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Gly		320
	325	330
		335
<210> 68		
<211> 357		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成肽		
<400> 68		
Gly Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly		
1	5	10
Ala Gly Thr Cys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Cys Thr		15
	20	25
Cys Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Gly Gly Cys		30
	35	40
Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Thr Thr		45
	50	55
Gly Thr Gly Cys Cys Gly Cys Cys Thr Cys Cys Gly Gly Cys Thr Thr		60
65	70	75
Cys Ala Cys Thr Thr Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Cys Thr Thr Cys		80
	85	90
Gly Gly Ala Ala Thr Gly Thr Cys Cys Thr Gly Gly Gly Thr Cys Cys		95
	100	105
Gly Cys Cys Ala Ala Gly Cys Ala Cys Cys Gly Gly Gly Ala Ala Ala		110
	115	120
Gly Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Thr Cys		125

130	135	140
Gly Cys Cys Ala Gly Cys Gly Thr Gly Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly		
145	150	155
Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly Ala Cys Gly Gly Ala Cys Thr Thr Ala		
165	170	175
Cys Thr Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala Cys Ala Ala Cys Gly Thr Gly		
180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala		
195	200	205
Thr Cys Thr Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala Thr Ala Ala Cys Thr Cys		
210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Thr Ala Cys Thr Cys Thr Gly Thr Ala Cys		
225	230	235
Thr Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Cys Gly Cys		
245	250	255
Thr Gly Cys Gly Cys Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Ala Cys		
260	265	270
Cys Gly Cys Gly Gly Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Gly Cys		
275	280	285
Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Ala Cys Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr		
290	295	300
Ala Cys Thr Cys Cys Gly Gly Thr Ala Cys Cys Ala Gly Cys Gly Ala		
305	310	315
Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly Gly Gly Ala		
325	330	335
Ala Cys Cys Cys Thr Thr Gly Thr Gly Ala Cys Cys Gly Thr Gly Thr		
340	345	350
Cys Gly Ala Gly Cys		
355		

<210> 69

<211> 336

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 69

Gly Ala Thr Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Thr Cys		
1	5	10
Ala Gly Thr Cys Gly Cys Cys Cys Cys Thr Cys Thr Cys Cys Cys Thr		

20	25	30
Gly Cys Cys Thr Gly Thr Gly	Ala Cys Thr Cys Thr Gly	Gly Gly Gly Gly
35	40	45
Gly Ala Ala Cys Cys Cys Gly	Cys Gly Thr Cys Cys Ala	Thr Thr Thr
50	55	60
Cys Gly Thr Gly Cys Ala Ala	Gly Ala Gly Cys Ala Gly	Cys Cys Ala
65	70	75
80		
Gly Thr Cys Cys Cys Thr Gly	Ala Thr Gly Gly Ala Cys	Ala Cys Cys
85	90	95
Gly Ala Cys Gly Gly Ala Ala	Ala Gly Ala Cys Cys Thr	Ala Cys Cys
100	105	110
Thr Thr Ala Ala Cys Thr Gly	Gly Gly Cys Thr Gly Cys	Thr Gly Cys Ala
115	120	125
Ala Ala Ala Gly Cys Cys Ala	Gly Gly Ala Cys Ala Gly	Ala Gly Cys
130	135	140
Cys Cys Gly Cys Ala Gly Ala	Gly Gly Cys Thr Gly Ala	Thr Cys Thr
145	150	155
160		
Ala Cys Ala Ala Ala Gly Thr	Gly Thr Cys Ala Ala Ala	Cys Cys Gly
165	170	175
Gly Gly Ala Gly Thr Cys Cys	Gly Gly Ala Gly Thr Gly	Cys Cys Gly
180	185	190
Gly Ala Cys Ala Gly Ala Thr	Thr Cys Ala Gly Cys Gly	Gly Cys Thr
195	200	205
Cys Gly Gly Gly Thr Thr Cys	Cys Gly Gly Cys Ala Cys	Cys Gly Ala
210	215	220
Cys Thr Thr Cys Ala Cys Cys	Cys Thr Cys Ala Ala Ala	Ala Thr Cys
225	230	235
240		
Thr Cys Cys Cys Gly Cys Gly	Thr Cys Gly Ala Gly Gly	Cys Cys Gly
245	250	255
Ala Gly Gly Ala Cys Gly Thr	Gly Gly Cys Gly Thr Gly	Thr Ala
260	265	270
Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr	Thr Gly Gly Cys Ala Gly	Gly Gly Ala
275	280	285
Ala Cys Cys Cys Ala Cys Thr	Thr Thr Cys Cys Thr Cys	Gly Gly Ala
290	295	300
Cys Cys Thr Thr Cys Gly Gly	Thr Cys Ala Ala Gly Gly	Gly Ala Cys
305	310	315
320		
Thr Ala Ala Gly Gly Thr Cys	Gly Ala Ala Ala Thr Cys	Ala Ala Gly
325	330	335

<210> 70

<211> 454

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 70

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ala	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35				40						45			
Ala	Val	Ile	Trp	Phe	Asp	Gly	Thr	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Thr	Asp	Ser	Val
		50				55						60			
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70				75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Thr	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90					95	
Ala	Arg	Asp	Arg	Gly	Ile	Gly	Ala	Arg	Arg	Gly	Pro	Tyr	Tyr	Met	Asp
		100						105						110	
Val	Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
		115					120							125	
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly
		130				135						140			
Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
145				150						155				160	
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
			165						170					175	
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
		180						185						190	
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn
		195					200							205	
Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro
		210				215						220			
Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu
225				230						235				240	
Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp
			245						250					255	

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp																			
260																			
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly																			
275																			
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn																			
290																			
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp																			
305																			
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro																			
325																			
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu																			
340																			
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn																			
355																			
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile																			
370																			
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr																			
385																			
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys																			
405																			
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys																			
420																			
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu																			
435																			
Ser Leu Ser Pro Gly Lys																			
450																			
<210> 71																			
<211> 214																			
<212> PRT																			
<213> 人工序列																			
<220>																			
<223> 合成肽																			
<400> 71																			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly																			
1																			
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr																			
20																			
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile																			
35																			
40																			
45																			

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 72
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 72
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
Val	Arg	Tyr	Asp	His	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ser	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	
				100					105					110		
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
				115					120					125		
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	
				130					135					140		
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	
145					150					155					160	
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
				165					170					175		
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
				180					185					190		
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	
				195					200					205		
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	
				210					215					220		
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	
225					230					235					240	
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				245					250					255		
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
				260					265					270		
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
				275					280					285		
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
				290					295					300		
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
305					310					315					320	
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
				325					330					335		
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
				340					345					350		
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	
				355					360					365		
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	
				370					375					380		
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 75

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 75

Ala Ala Ala Gly

1

<210> 76

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 76

Ala Ala Gly Gly

1

<210> 77

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 77

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1

5

10

15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20

25

30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35

40

45

Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

50

55

60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65

70

75

80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly

85

90

95

Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100	105	110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
115	120	125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
130	135	140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
145	150	155
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
165	170	175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
180	185	190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
195	200	205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210	215	

<210> 78

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 78

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly		
1	5	10
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser		
20	25	30
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
35	40	45
Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro		
50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly		
85	90	95
Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	110

<210> 79

<211> 4

<212> PRT

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr			
	100	105	110
Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser			
	115	120	125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr			
	130	135	140
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro			
145	150	155	160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val			
	165	170	175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser			
	180	185	190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile			
	195	200	205
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val			
	210	215	220
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala			
225	230	235	240
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro			
	245	250	255
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val			
	260	265	270
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val			
	275	280	285
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln			
	290	295	300
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln			
305	310	315	320
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala			
	325	330	335
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro			
	340	345	350
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr			
	355	360	365
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser			

370	375	380
Asp Ile Ala Val Glu Trp	Glu Ser Asn Gly Gln Pro	Glu Asn Asn Tyr
385	390	395
Lys Thr Thr Pro Pro Val	Leu Asp Ser Asp Gly Ser	Phe Phe Leu Tyr
405	410	415
Ser Lys Leu Thr Val Asp	Lys Ser Arg Trp Gln Gln	Gly Asn Val Phe
420	425	430
Ser Cys Ser Val Met His	Glu Ala Leu His Asn His	Tyr Thr Gln Lys
435	440	445
Ser Leu Ser Leu Ser Pro	Gly Lys	
450	455	
<210> 83		
<211> 215		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成肽		
<400> 83		
Asp Ile Val Leu Thr Gln	Ser Pro Ala Thr Leu	Ser Leu Ser Pro Gly
1	5	10
Glu Arg Ala Thr Leu Ser	Cys Arg Ala Ser Gln	Ser Val Ser Ser Ser
20	25	30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln	Gln Lys Pro Gly Gln	Ala Pro Arg Leu Leu
35	40	45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser	Arg Ala Thr Gly Val	Pro Ala Arg Phe Ser
50	55	60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr	Asp Phe Thr Leu Thr	Ile Ser Ser Leu Glu
65	70	75
Pro Glu Asp Phe Ala Thr	Tyr Tyr Cys Leu Gln	Ile Tyr Asn Met Pro
85	90	95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly	Thr Lys Val Glu Ile	Lys Arg Thr Val Ala
100	105	110
Ala Pro Ser Val Phe Ile	Phe Pro Pro Ser Asp	Glu Gln Leu Lys Ser
115	120	125
Gly Thr Ala Ser Val Val	Cys Leu Leu Asn Asn	Phe Tyr Pro Arg Glu
130	135	140
Ala Lys Val Gln Trp Lys	Val Asp Asn Ala Leu	Gln Ser Gly Asn Ser
145	150	155
Gln Glu Ser Val Thr Glu	Gln Asp Ser Lys Asp	Ser Thr Tyr Ser Leu

				165					170					175			
Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val		
				180					185					190			
Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys		
			195					200					205				
Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys											
	210					215											
<210> 84																	
<211> 42																	
<212> PRT																	
<213> 人工序列																	
<220>																	
<223> 合成肽																	
<400> 84																	
Asp	Ala	Glu	Phe	Arg	His	Asp	Ser	Gly	Tyr	Glu	Val	His	His	Gln	Lys		
1				5					10					15			
Leu	Val	Phe	Phe	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ser	Asn	Lys	Gly	Ala	Ile	Ile		
			20					25					30				
Gly	Leu	Met	Val	Gly	Gly	Val	Val	Ile	Ala								
		35					40										
<210> 85																	
<211> 770																	
<212> PRT																	
<213> 人工序列																	
<220>																	
<223> 合成肽																	
<400> 85																	
Met	Leu	Pro	Gly	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Ala	Ala	Trp	Thr	Ala	Arg		
1				5					10					15			
Ala	Leu	Glu	Val	Pro	Thr	Asp	Gly	Asn	Ala	Gly	Leu	Leu	Ala	Glu	Pro		
			20					25					30				
Gln	Ile	Ala	Met	Phe	Cys	Gly	Arg	Leu	Asn	Met	His	Met	Asn	Val	Gln		
		35					40					45					
Asn	Gly	Lys	Trp	Asp	Ser	Asp	Pro	Ser	Gly	Thr	Lys	Thr	Cys	Ile	Asp		
	50					55				60							
Thr	Lys	Glu	Gly	Ile	Leu	Gln	Tyr	Cys	Gln	Glu	Val	Tyr	Pro	Glu	Leu		
65				70					75					80			
Gln	Ile	Thr	Asn	Val	Val	Glu	Ala	Asn	Gln	Pro	Val	Thr	Ile	Gln	Asn		
			85					90					95				

Trp	Cys	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Gln	Cys	Lys	Thr	His	Pro	His	Phe	Val	
				100					105					110		
Ile	Pro	Tyr	Arg	Cys	Leu	Val	Gly	Glu	Phe	Val	Ser	Asp	Ala	Leu	Leu	
				115					120					125		
Val	Pro	Asp	Lys	Cys	Lys	Phe	Leu	His	Gln	Glu	Arg	Met	Asp	Val	Cys	
				130					135					140		
Glu	Thr	His	Leu	His	Trp	His	Thr	Val	Ala	Lys	Glu	Thr	Cys	Ser	Glu	
145					150					155					160	
Lys	Ser	Thr	Asn	Leu	His	Asp	Tyr	Gly	Met	Leu	Leu	Pro	Cys	Gly	Ile	
				165					170					175		
Asp	Lys	Phe	Arg	Gly	Val	Glu	Phe	Val	Cys	Cys	Pro	Leu	Ala	Glu	Glu	
				180					185					190		
Ser	Asp	Asn	Val	Asp	Ser	Ala	Asp	Ala	Glu	Glu	Asp	Asp	Ser	Asp	Val	
				195					200					205		
Trp	Trp	Gly	Gly	Ala	Asp	Thr	Asp	Tyr	Ala	Asp	Gly	Ser	Glu	Asp	Lys	
				210					215					220		
Val	Val	Glu	Val	Ala	Glu	Glu	Glu	Glu	Val	Ala	Glu	Val	Glu	Glu	Glu	
225					230					235					240	
Glu	Ala	Asp	Asp	Asp	Glu	Asp	Asp	Glu	Asp	Gly	Asp	Glu	Val	Glu	Glu	
				245					250					255		
Glu	Ala	Glu	Glu	Pro	Tyr	Glu	Glu	Ala	Thr	Glu	Arg	Thr	Thr	Ser	Ile	
				260					265					270		
Ala	Thr	Thr	Thr	Thr	Thr	Thr	Thr	Glu	Ser	Val	Glu	Glu	Val	Val	Arg	
				275					280					285		
Glu	Val	Cys	Ser	Glu	Gln	Ala	Glu	Thr	Gly	Pro	Cys	Arg	Ala	Met	Ile	
				290					295					300		
Ser	Arg	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Thr	Glu	Gly	Lys	Cys	Ala	Pro	Phe	Phe	
305					310					315					320	
Tyr	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Asn	Arg	Asn	Asn	Phe	Asp	Thr	Glu	Glu	Tyr	
				325					330					335		
Cys	Met	Ala	Val	Cys	Gly	Ser	Ala	Met	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Lys	Thr	
				340					345					350		
Thr	Gln	Glu	Pro	Leu	Ala	Arg	Asp	Pro	Val	Lys	Leu	Pro	Thr	Thr	Ala	
				355					360					365		
Ala	Ser	Thr	Pro	Asp	Ala	Val	Asp	Lys	Tyr	Leu	Glu	Thr	Pro	Gly	Asp	
				370					375					380		
Glu	Asn	Glu	His	Ala	His	Phe	Gln	Lys	Ala	Lys	Glu	Arg	Leu	Glu	Ala	
385					390					395					400	
Lys	His	Arg	Glu	Arg	Met	Ser	Gln	Val	Met	Arg	Glu	Trp	Glu	Glu	Ala	

	405		410		415
Glu Arg Gln Ala Lys Asn Leu Pro Lys Ala Asp Lys Lys Ala Val Ile					
	420		425		430
Gln His Phe Gln Glu Lys Val Glu Ser Leu Glu Gln Glu Ala Ala Asn					
	435		440		445
Glu Arg Gln Gln Leu Val Glu Thr His Met Ala Arg Val Glu Ala Met					
	450		455		460
Leu Asn Asp Arg Arg Arg Leu Ala Leu Glu Asn Tyr Ile Thr Ala Leu					
465		470		475	480
Gln Ala Val Pro Pro Arg Pro Arg His Val Phe Asn Met Leu Lys Lys					
	485		490		495
Tyr Val Arg Ala Glu Gln Lys Asp Arg Gln His Thr Leu Lys His Phe					
	500		505		510
Glu His Val Arg Met Val Asp Pro Lys Lys Ala Ala Gln Ile Arg Ser					
	515		520		525
Gln Val Met Thr His Leu Arg Val Ile Tyr Glu Arg Met Asn Gln Ser					
	530		535		540
Leu Ser Leu Leu Tyr Asn Val Pro Ala Val Ala Glu Glu Ile Gln Asp					
545		550		555	560
Glu Val Asp Glu Leu Leu Gln Lys Glu Gln Asn Tyr Ser Asp Asp Val					
	565		570		575
Leu Ala Asn Met Ile Ser Glu Pro Arg Ile Ser Tyr Gly Asn Asp Ala					
	580		585		590
Leu Met Pro Ser Leu Thr Glu Thr Lys Thr Thr Val Glu Leu Leu Pro					
	595		600		605
Val Asn Gly Glu Phe Ser Leu Asp Asp Leu Gln Pro Trp His Ser Phe					
	610		615		620
Gly Ala Asp Ser Val Pro Ala Asn Thr Glu Asn Glu Val Glu Pro Val					
625		630		635	640
Asp Ala Arg Pro Ala Ala Asp Arg Gly Leu Thr Thr Arg Pro Gly Ser					
	645		650		655
Gly Leu Thr Asn Ile Lys Thr Glu Glu Ile Ser Glu Val Lys Met Asp					
	660		665		670
Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys Leu					
	675		680		685
Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile Gly					
	690		695		700
Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala Thr Val Ile Val Ile Thr Leu					
705		710		715	720

Val	Met	Leu	Lys	Lys	Lys	Gln	Tyr	Thr	Ser	Ile	His	His	Gly	Val	Val		
725						730						735					
Glu	Val	Asp	Ala	Ala	Val	Thr	Pro	Glu	Glu	Arg	His	Leu	Ser	Lys	Met		
740						745						750					
Gln	Gln	Asn	Gly	Tyr	Glu	Asn	Pro	Thr	Tyr	Lys	Phe	Phe	Glu	Gln	Met		
755						760						765					
Gln Asn																	
770																	
<210> 86																	
<211> 993																	
<212> PRT																	
<213> 人工序列																	
<220>																	
<223> 合成肽																	
<400> 86																	
Gly	Cys	Cys	Ala	Gly	Cys	Ala	Cys	Thr	Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	Cys		
1				5				10				15					
Cys	Thr	Ala	Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Thr	Thr	Thr	Cys	Cys	Gly	Cys	Thr		
20						25						30					
Gly	Gly	Cys	Cys	Cys	Cys	Gly	Thr	Cys	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Ala	Gly		
35						40						45					
Thr	Cys	Cys	Ala	Cys	Thr	Thr	Cys	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Ala	Ala		
50				55				60									
Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Gly	Cys	Ala	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly		
65						70						75				80	
Cys	Cys	Thr	Cys	Gly	Thr	Gly	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Thr	Ala	Cys		
85						90						95					
Thr	Thr	Cys	Cys	Cys	Cys	Gly	Ala	Gly	Cys	Cys	Gly	Gly	Thr	Cys	Ala		
100						105						110					
Cys	Cys	Gly	Thr	Gly	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Ala	Cys	Thr	Cys		
115						120						125					
Gly	Gly	Gly	Ala	Gly	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Ala	Cys	Cys	Thr	Cys	Cys		
130						135						140					
Gly	Gly	Ala	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Thr	Ala	Cys	Thr	Thr	Thr	Cys	Cys		
145						150						155				160	
Cys	Thr	Gly	Cys	Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Thr	Cys		
165						170						175					
Cys	Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Cys	Thr	Cys	Thr	Ala	Cys	Thr	Cys	Gly		
180						185						190					

Cys Thr Gly Thr Cys Ala Ala Gly Cys Gly Thr Gly Gly Thr Cys Ala		
195	200	205
Cys Cys Gly Thr Cys Cys Cys Gly Ala Gly Cys Thr Cys Ala Thr Cys		
210	215	220
Cys Cys Thr Gly Gly Gly Thr Ala Cys Thr Cys Ala Gly Ala Cys Cys		
225	230	235
240		
Thr Ala Cys Ala Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Cys Gly Thr Gly Ala		
245	250	255
Ala Cys Cys Ala Cys Ala Ala Ala Cys Cys Thr Thr Cys Cys Ala Ala		
260	265	270
Cys Ala Cys Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Cys Ala Ala Gly		
275	280	285
Ala Ala Ala Gly Thr Gly Gly Ala Gly Cys Cys Thr Ala Ala Gly Ala		
290	295	300
Gly Cys Thr Gly Cys Gly Ala Cys Ala Ala Gly Ala Cys Cys Cys Ala		
305	310	315
320		
Cys Ala Cys Cys Thr Gly Thr Cys Cys Cys Cys Cys Gly Thr Gly Thr		
325	330	335
Cys Cys Cys Gly Cys Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Cys Thr Gly Cys		
340	345	350
Thr Gly Gly Gly Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Gly Thr		
355	360	365
Gly Thr Thr Cys Cys Thr Cys Thr Thr Cys Cys Cys Gly Cys Cys Thr		
370	375	380
Ala Ala Gly Cys Cys Gly Ala Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys Thr Cys		
385	390	395
400		
Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Cys Thr Cys Gly Ala Gly Ala Ala Cys		
405	410	415
Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly Thr Gly Ala Cys Cys Thr Gly Thr		
420	425	430
Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Ala Thr Gly Thr Gly Thr		
435	440	445
Cys Cys Cys Ala Cys Gly Ala Gly Gly Ala Thr Cys Cys Gly Gly Ala		
450	455	460
Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Thr Thr Cys Ala Ala Thr Thr Gly Gly		
465	470	475
480		
Thr Ala Cys Gly Thr Gly Gly Ala Cys Gly Gly Ala Gly Thr Gly Gly		
485	490	495
Ala Ala Gly Thr Cys Cys Ala Thr Ala Ala Cys Gly Cys Cys Ala Ala		

500	505	510
Gly Ala Cys Cys Ala Ala Gly Cys Cys Cys Cys Gly Cys Gly Ala Gly		
515	520	525
Gly Ala Ala Cys Ala Gly Thr Ala Cys Ala Ala Cys Thr Cys Ala Ala		
530	535	540
Cys Thr Thr Ala Cys Cys Gly Gly Gly Thr Gly Gly Thr Gly Thr Cys		
545	550	555
Ala Gly Thr Gly Cys Thr Gly Ala Cys Cys Gly Thr Gly Cys Thr Gly		
565	570	575
Cys Ala Cys Cys Ala Ala Gly Ala Thr Thr Gly Gly Cys Thr Gly Ala		
580	585	590
Ala Cys Gly Gly Gly Ala Ala Gly Gly Ala Gly Thr Ala Cys Ala Ala		
595	600	605
Gly Thr Gly Cys Ala Ala Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Ala Cys		
610	615	620
Ala Ala Gly Gly Cys Gly Cys Thr Gly Cys Cys Gly Gly Cys Cys Cys		
625	630	635
Cys Cys Ala Thr Thr Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Cys Cys Ala Thr		
645	650	655
Cys Ala Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Thr Ala Ala Gly Gly Gly Cys		
660	665	670
Cys Ala Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Ala Ala Cys Cys Ala Cys		
675	680	685
Ala Gly Gly Thr Cys Thr Ala Cys Ala Cys Cys Thr Thr Gly Cys Cys		
690	695	700
Cys Cys Cys Thr Thr Cys Cys Cys Gly Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala		
705	710	715
Ala Thr Gly Ala Cys Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys Ala Ala Gly		
725	730	735
Thr Gly Thr Cys Gly Cys Thr Gly Ala Cys Gly Thr Gly Cys Cys Thr		
740	745	750
Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Gly Gly Cys Thr Thr Thr Thr Ala Thr		
755	760	765
Cys Cys Ala Thr Cys Thr Gly Ala Cys Ala Thr Cys Gly Cys Cys Gly		
770	775	780
Thr Gly Gly Ala Gly Thr Gly Gly Gly Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala		
785	790	795
Cys Gly Gly Cys Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys		
805	810	815

Ala Ala Cys Thr Ala Cys Ala Ala Gly Ala Cys Thr Ala Cys Cys Cys		
820	825	830
Cys Gly Cys Cys Thr Gly Thr Gly Cys Thr Gly Gly Ala Cys Thr Cys		
835	840	845
Cys Gly Ala Cys Gly Gly Cys Thr Cys Gly Thr Thr Cys Thr Thr Cys		
850	855	860
Cys Thr Gly Thr Ala Thr Thr Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Cys Ala		
865	870	875
Cys Cys Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ala Ala Gly Thr Cys Cys Ala Gly		
885	890	895
Ala Thr Gly Gly Cys Ala Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Ala Thr		
900	905	910
Gly Thr Gly Thr Thr Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Cys Gly		
915	920	925
Thr Gly Ala Thr Gly Cys Ala Thr Gly Ala Gly Gly Cys Cys Cys Thr		
930	935	940
Gly Cys Ala Cys Ala Ala Cys Cys Ala Cys Thr Ala Cys Ala Cys Thr		
945	950	955
Cys Ala Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Cys Thr Gly Thr Cys Cys Cys		
965	970	975
Thr Thr Thr Cys Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Thr Ala		
980	985	990

Ala

<210> 87

<211> 324

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 87

Cys Gly Ala Ala Cys Thr Gly Thr Gly Gly Cys Thr Gly Cys Ala Cys		
1	5	10
Cys Ala Thr Cys Thr Gly Thr Cys Thr Thr Cys Ala Thr Cys Thr Thr		
20	25	30
Cys Cys Cys Gly Cys Cys Ala Thr Cys Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gly		
35	40	45
Cys Ala Gly Thr Thr Gly Ala Ala Ala Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala		
50	55	60
Cys Thr Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Thr Thr Gly Thr Gly Thr Gly		

65	70	75	80
Cys Cys Thr Gly Cys Thr Gly Ala Ala Thr Ala Ala Cys Thr Thr Cys			
	85	90	95
Thr Ala Thr Cys Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Gly Gly Cys Cys Ala			
100	105	110	
Ala Ala Gly Thr Ala Cys Ala Gly Thr Gly Gly Ala Ala Gly Gly Thr			
115	120	125	
Gly Gly Ala Thr Ala Ala Cys Gly Cys Cys Cys Thr Cys Cys Ala Ala			
130	135	140	
Thr Cys Gly Gly Gly Thr Ala Ala Cys Thr Cys Cys Cys Ala Gly Gly			
145	150	155	160
Ala Gly Ala Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Ala Gly Ala Gly Cys Ala			
165	170	175	
Gly Gly Ala Cys Ala Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Cys Ala Gly Cys			
180	185	190	
Ala Cys Cys Thr Ala Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Ala Gly Cys Ala			
195	200	205	
Gly Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Ala Cys Gly Cys Thr Gly Ala Gly			
210	215	220	
Cys Ala Ala Ala Gly Cys Ala Gly Ala Cys Thr Ala Cys Gly Ala Gly			
225	230	235	240
Ala Ala Ala Cys Ala Cys Ala Ala Ala Gly Thr Cys Thr Ala Cys Gly			
245	250	255	
Cys Cys Thr Gly Cys Gly Ala Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Cys Ala			
260	265	270	
Thr Cys Ala Gly Gly Gly Cys Cys Thr Gly Ala Gly Cys Thr Cys Gly			
275	280	285	
Cys Cys Cys Gly Thr Cys Ala Cys Ala Ala Ala Gly Ala Gly Cys Thr			
290	295	300	
Thr Cys Ala Ala Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Ala Gly Thr Gly			
305	310	315	320
Thr Thr Ala Ala			
<210> 88			
<211> 10			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<220>			

<221> misc_feature

<222> (7) .. (7)

<223> X = Y或F

<400> 88

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Xaa Gly Met Ser

1 5 10

<210> 89

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (2) .. (2)

<223> X = I或V

<400> 89

Ser Xaa Arg Ser Gly Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (5) .. (5)

<223> X = S或T

<220>

<221> misc_feature

<222> (7) .. (7)

<223> X = S或T

<400> 90

Tyr Asp His Tyr Xaa Gly Xaa Ser Asp Tyr

1 5 10

<210> 91

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 91

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Tyr Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1

5

10

15

<210> 92

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (1) .. (1)

<223> X = K或R

<220>

<221> misc_feature

<222> (3) .. (3)

<223> X = S或T

<220>

<221> misc_feature

<222> (7) .. (7)

<223> X = S或T

<400> 92

Xaa Val Xaa Asn Arg Asp Xaa

1

5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (9) .. (9)

<223> X = S或T

<400> 93

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Xaa

1 5

<210> 94

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (9) .. (9)

<223> X = S或T

<220>

<221> misc_feature

<222> (11) .. (11)

<223> X = F或Y

<400> 94

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Xaa Phe Xaa

1 5 10

<210> 95

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (5) .. (5)

<223> X = S或A

<220>

<221> misc_feature

<222> (7) .. (7)

<223> X = Y或F

<400> 95

Gly Phe Thr Phe Xaa Asn Xaa Gly Met Ser

1 5 10

<210> 96

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (2) .. (2)

<223> X = I或V

<220>

<221> misc_feature

<222> (6) .. (6)

<223> X = S或G

<220>

<221> misc_feature

<222> (7) .. (7)

<223> X = S或G

<400> 96

Ser Xaa Arg Ser Gly Xaa Xaa Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 97

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (1) .. (1)

<223> X = K或R

<220>

<221> misc_feature

<222> (7) .. (7)

<223> X = V, M或L

<220>

<221> misc_feature

<222> (9) .. (9)

<223> X = Y, T或S

<400> 97

Xaa Ser Ser Gln Ser Leu Xaa Asp Xaa Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1	5	10	15
<210> 98			
<211> 7			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<220>			
<221> misc_feature			
<222> (1) .. (1)			
<223> X = K或R			
<220>			
<221> misc_feature			
<222> (3) .. (3)			
<223> X = S或T			
<220>			
<221> misc_feature			
<222> (6) .. (6)			
<223> X = E或D			
<220>			
<221> misc_feature			
<222> (7) .. (7)			
<223> X = S或T			
<400> 98			
Xaa Val Xaa Asn Arg Xaa Xaa			
1	5		
<210> 99			
<211> 9			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<220>			
<221> misc_feature			
<222> (4) .. (4)			
<223> X = S或T			
<220>			
<221> misc_feature			
<222> (9) .. (9)			

<223> X = S或T

<400> 99

Trp Gln Gly Xaa His Phe Pro Arg Xaa

1 5

<210> 100

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (9) .. (9)

<223> X = S或T

<220>

<221> misc_feature

<222> (11) .. (11)

<223> X = S或T

<220>

<221> misc_feature

<222> (12) .. (12)

<223> X = F或Y

<400> 100

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Xaa Phe Xaa Xaa

1 5 10

<210> 101

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 101

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

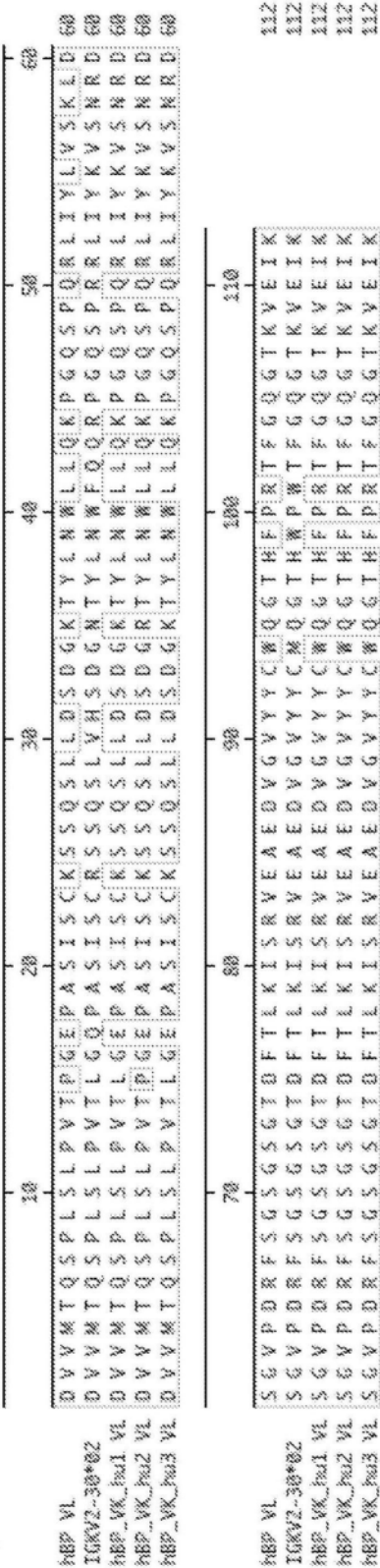
20 25 30

Asp Gly Arg Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly		80
85	90	95
Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	110
<210> 102		
<211> 112		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成肽		
<400> 102		
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly		
1	5	10
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser		15
20	25	30
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
35	40	45
Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro		
50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly		80
85	90	95
Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	110



装饰‘装饰#1’：与IGV2-30*02完全匹配的框残基

hBP VL (SEQ ID NO:78)
IGV2-30*02 (SEQ ID NO:1)
hBP_VK_hu1 VL (SEQ ID NO:2)
hBP_VK_hu2 VL (SEQ ID NO:101)
hBP_VK_hu3 VL (SEQ ID NO:102)

图1

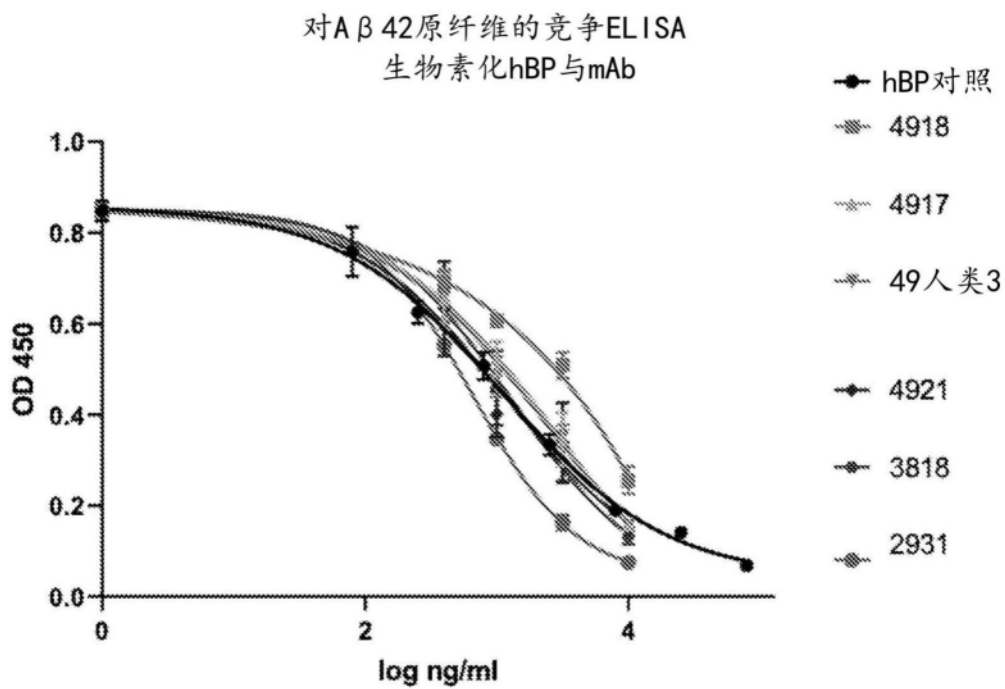


图2

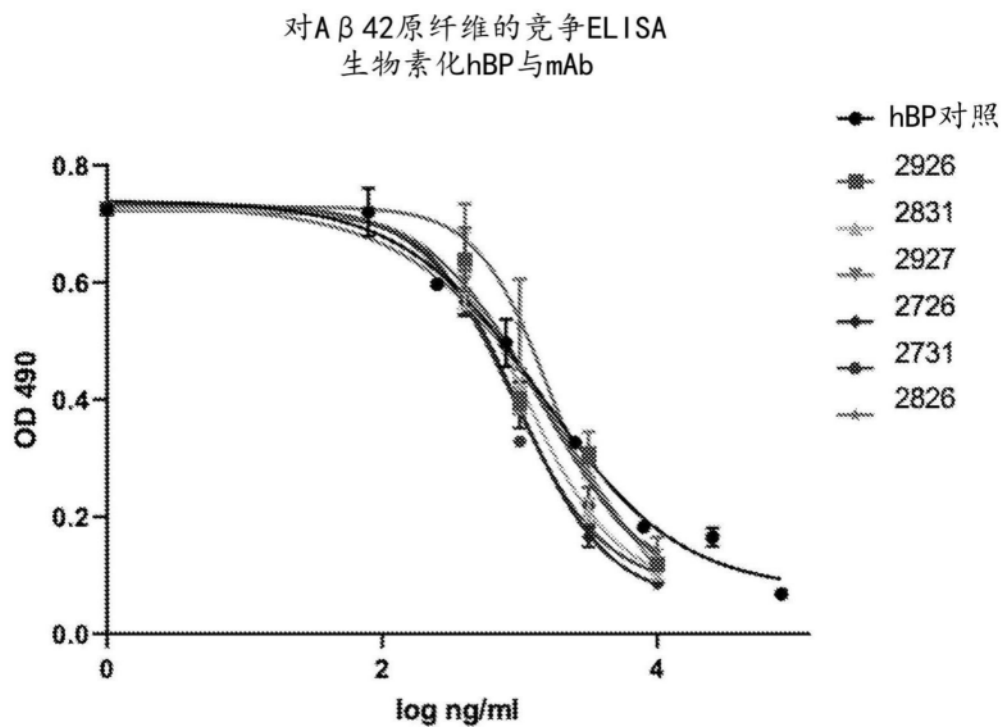


图3

对A β 42原纤维的竞争ELISA
生物素化hBP与mAb

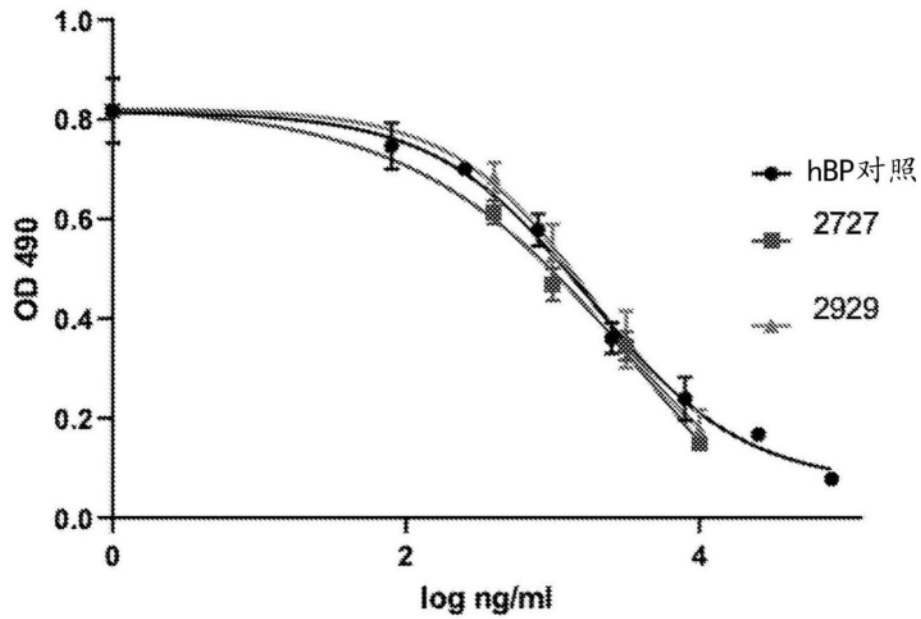
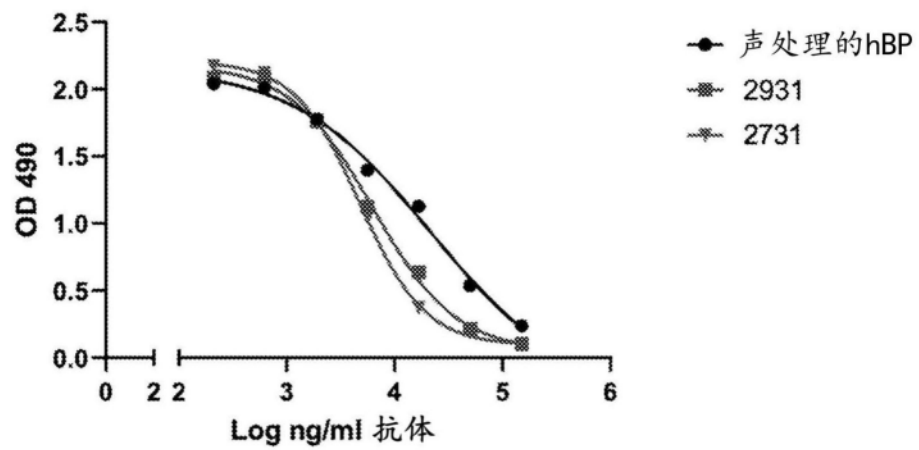


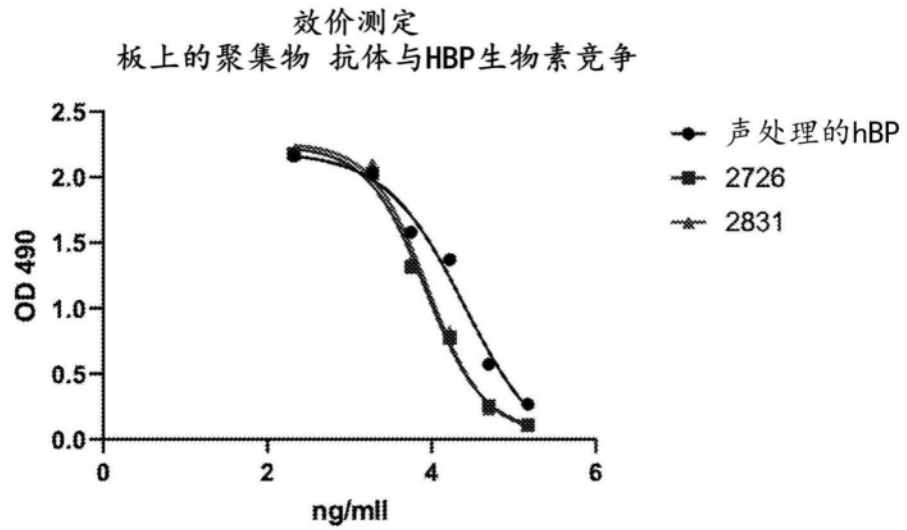
图4

效价测定
板上的聚集物 抗体与HBP生物素竞争



抗体	HBP	2931	2731
IC50	21265	6273	4763

图5A



抗体	HBP	2726	2831
IC50	25072	8409	9016

图5B

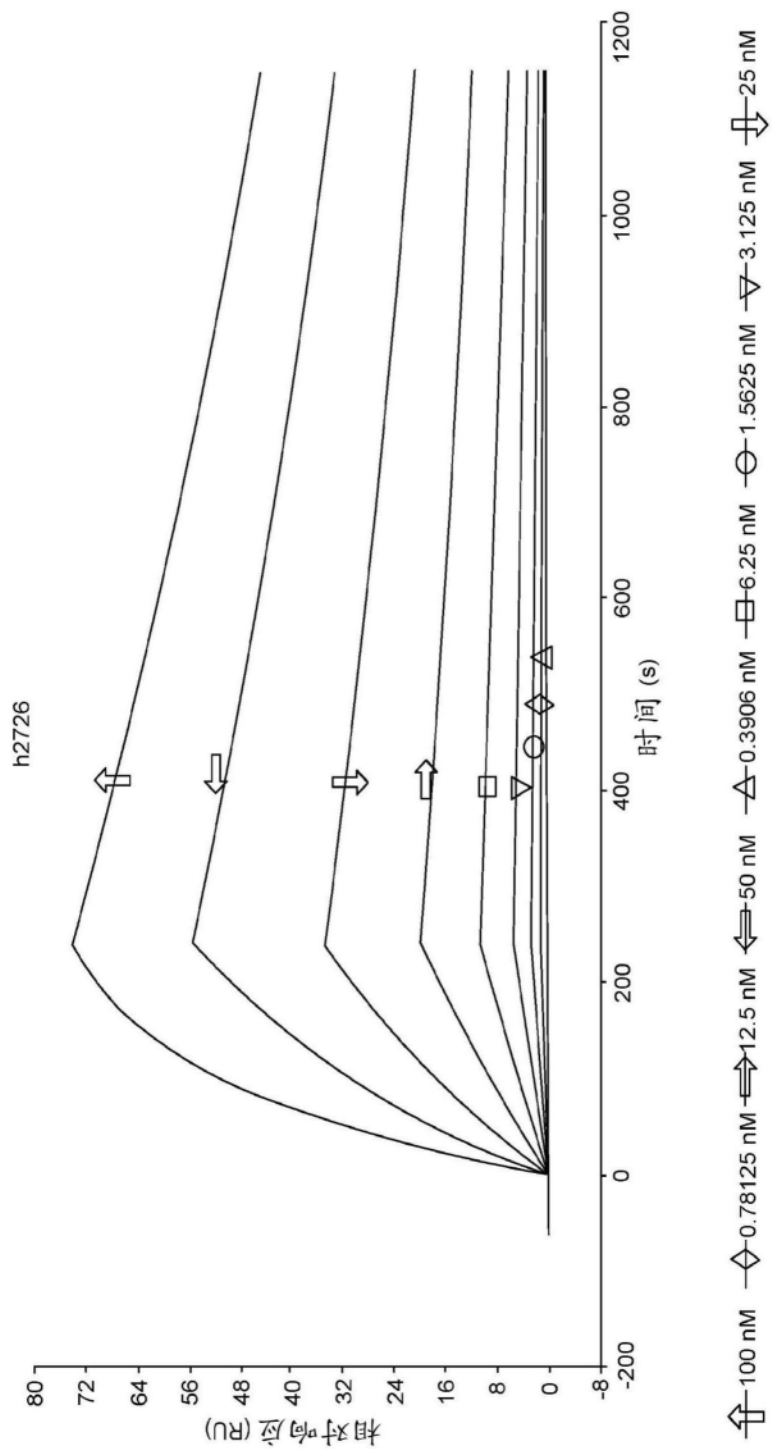


图6A

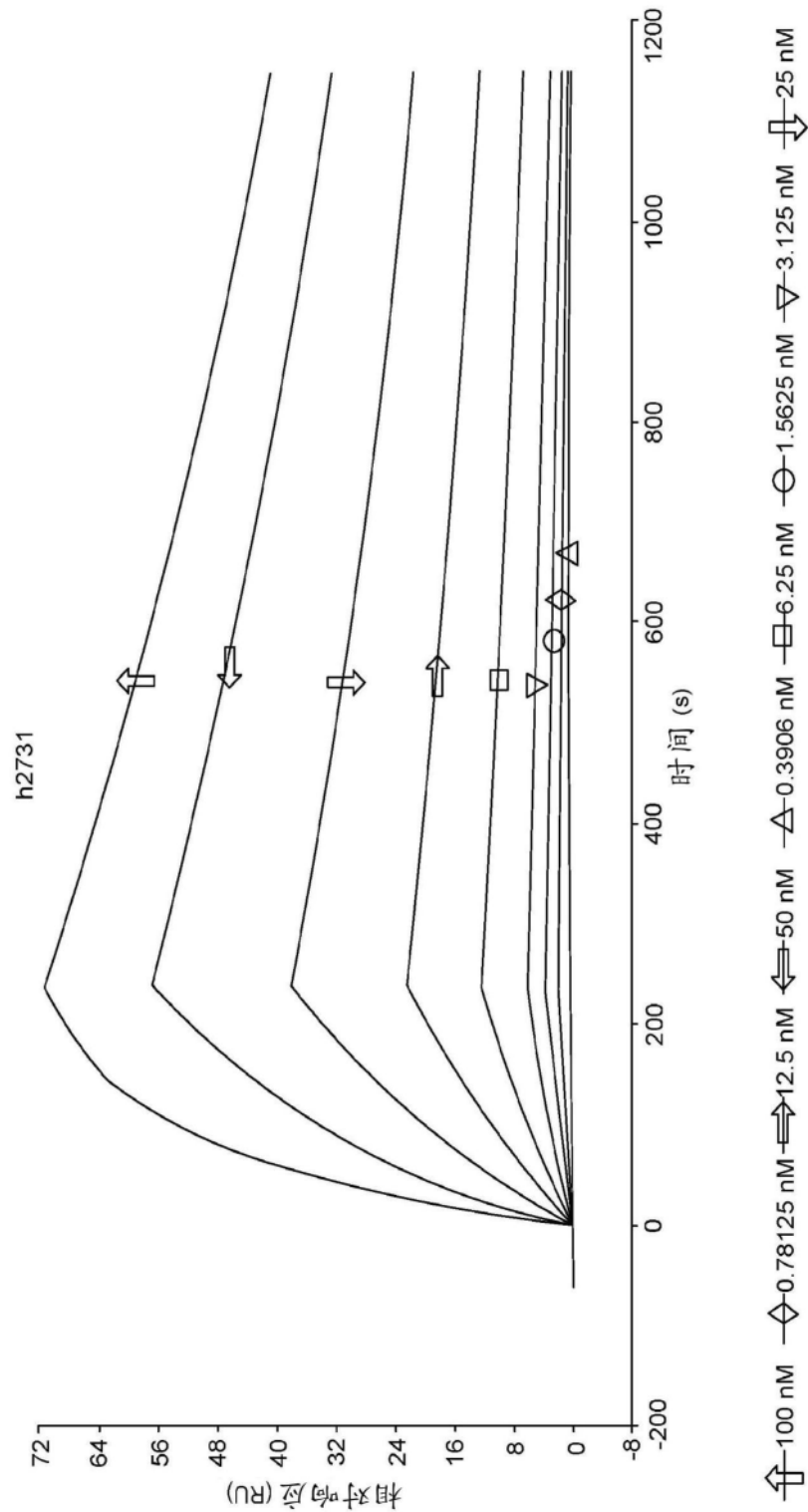


图6B

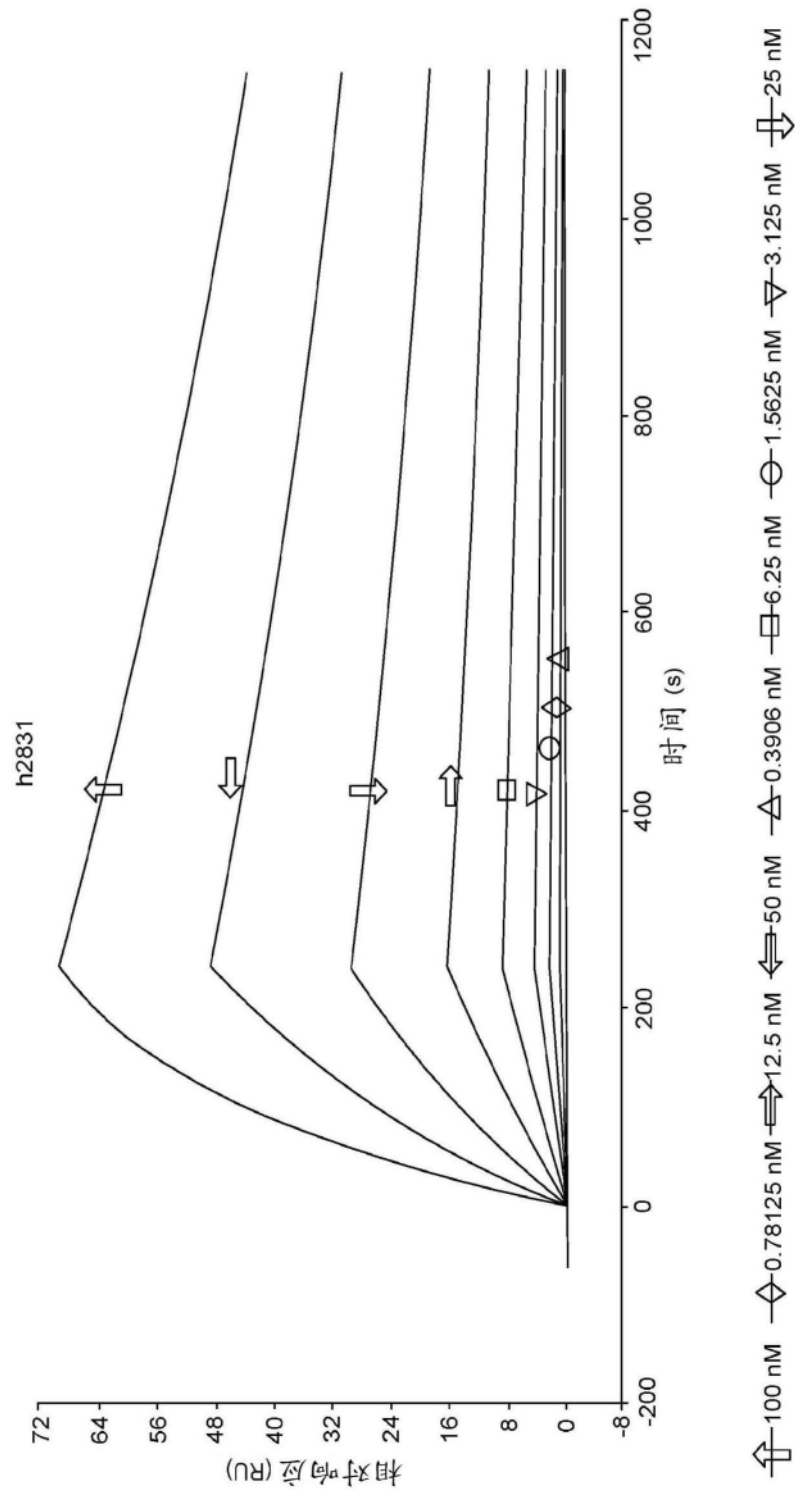


图6C

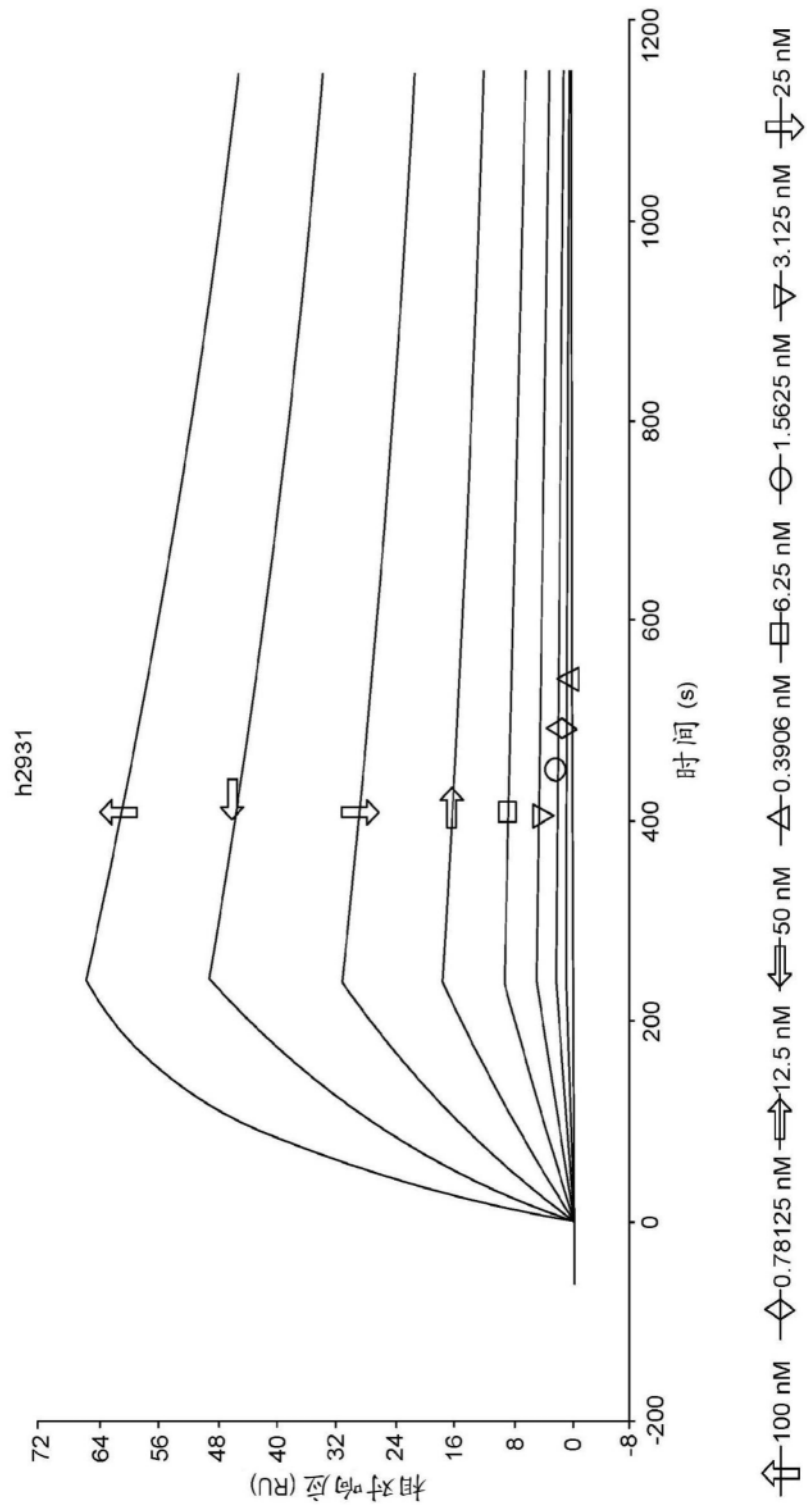


图6D

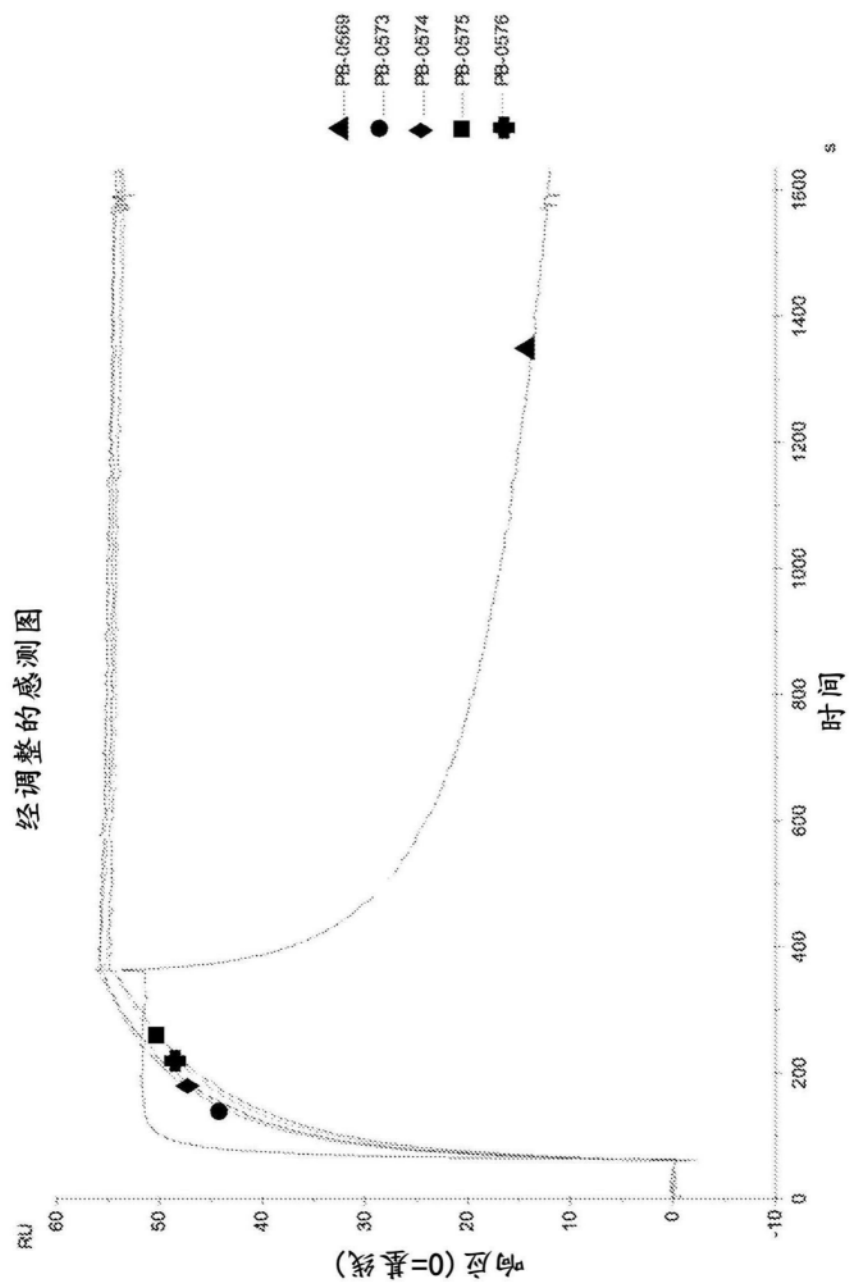


图7

于2.5 $\mu\text{g/mL}$ A β 寡聚体制剂上滴定h2931

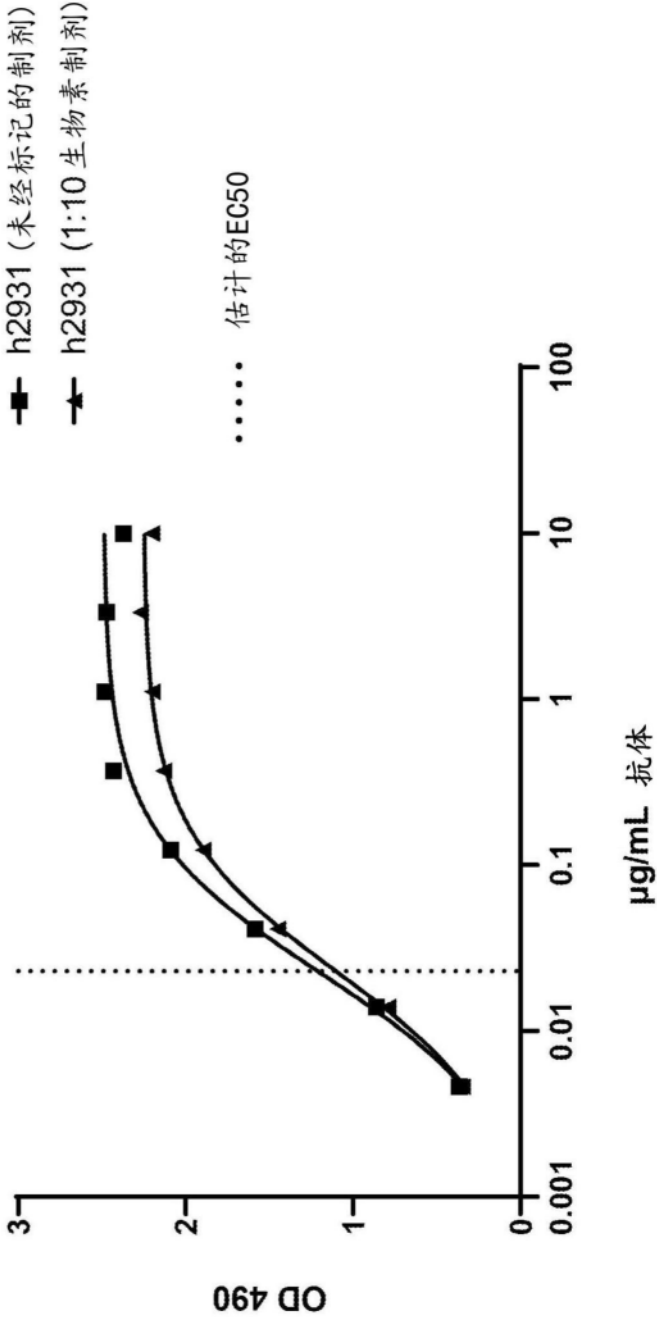
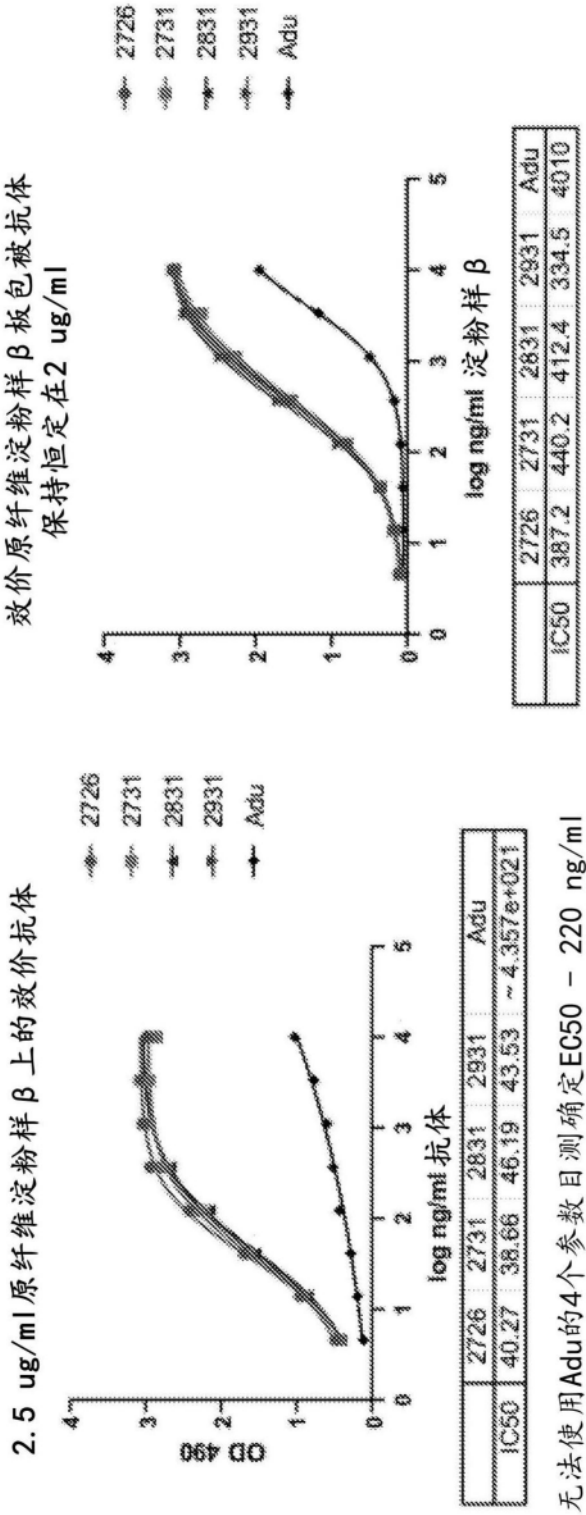


图8



无法使用Adu的4个参数目测确定EC50 - 220 ng/ml

图9

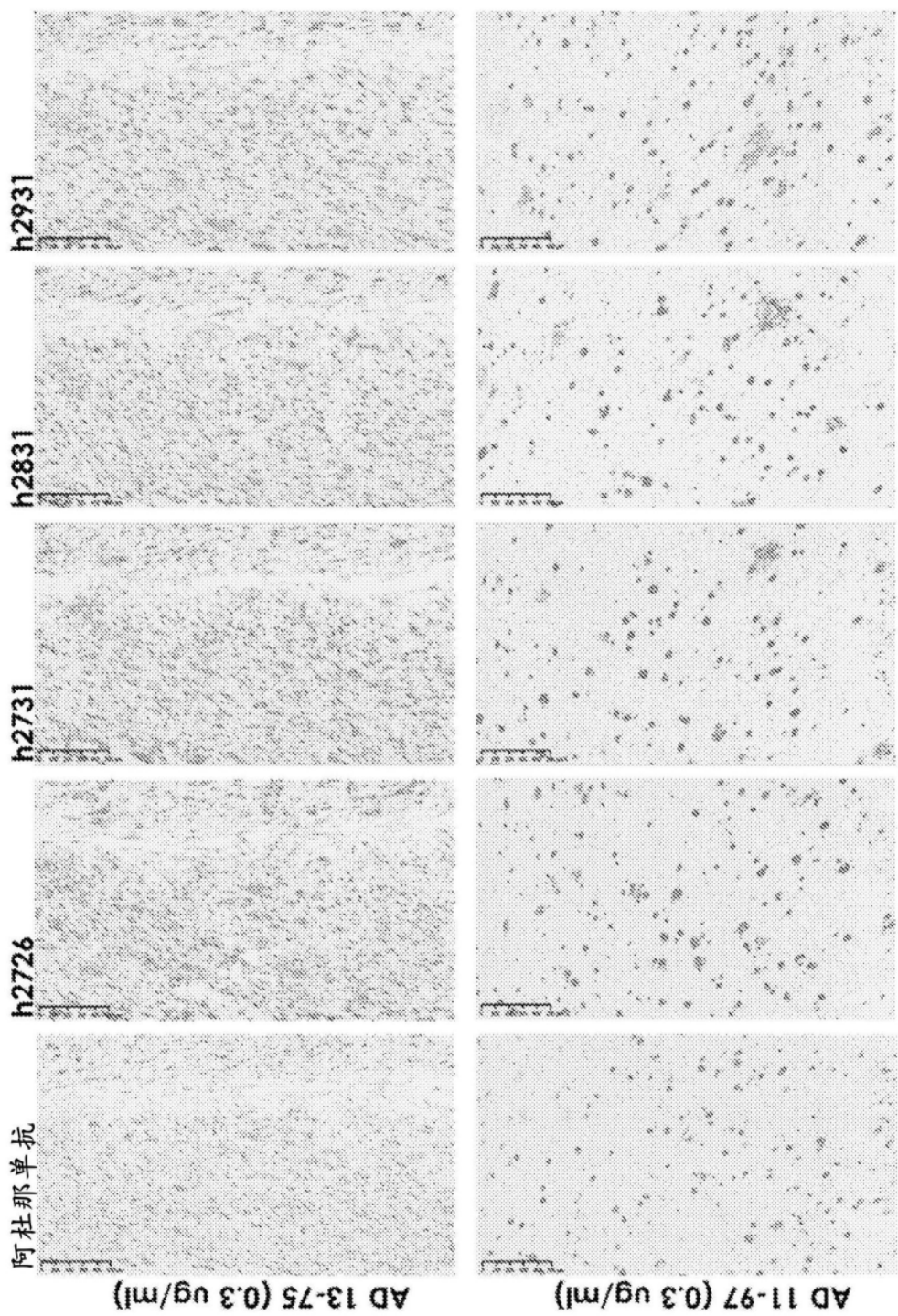


图10

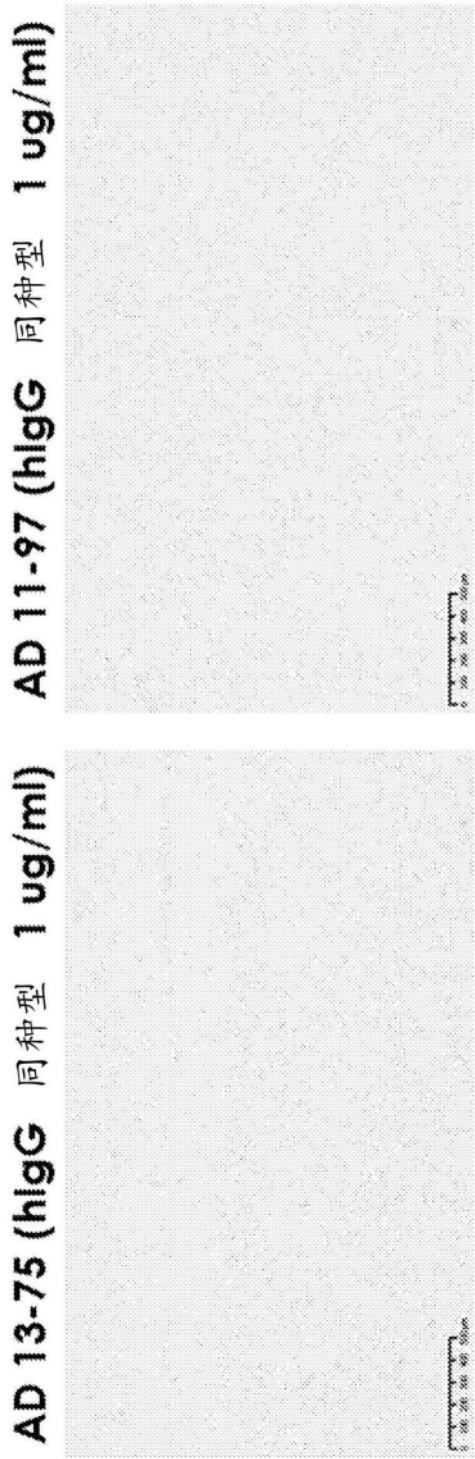


图11

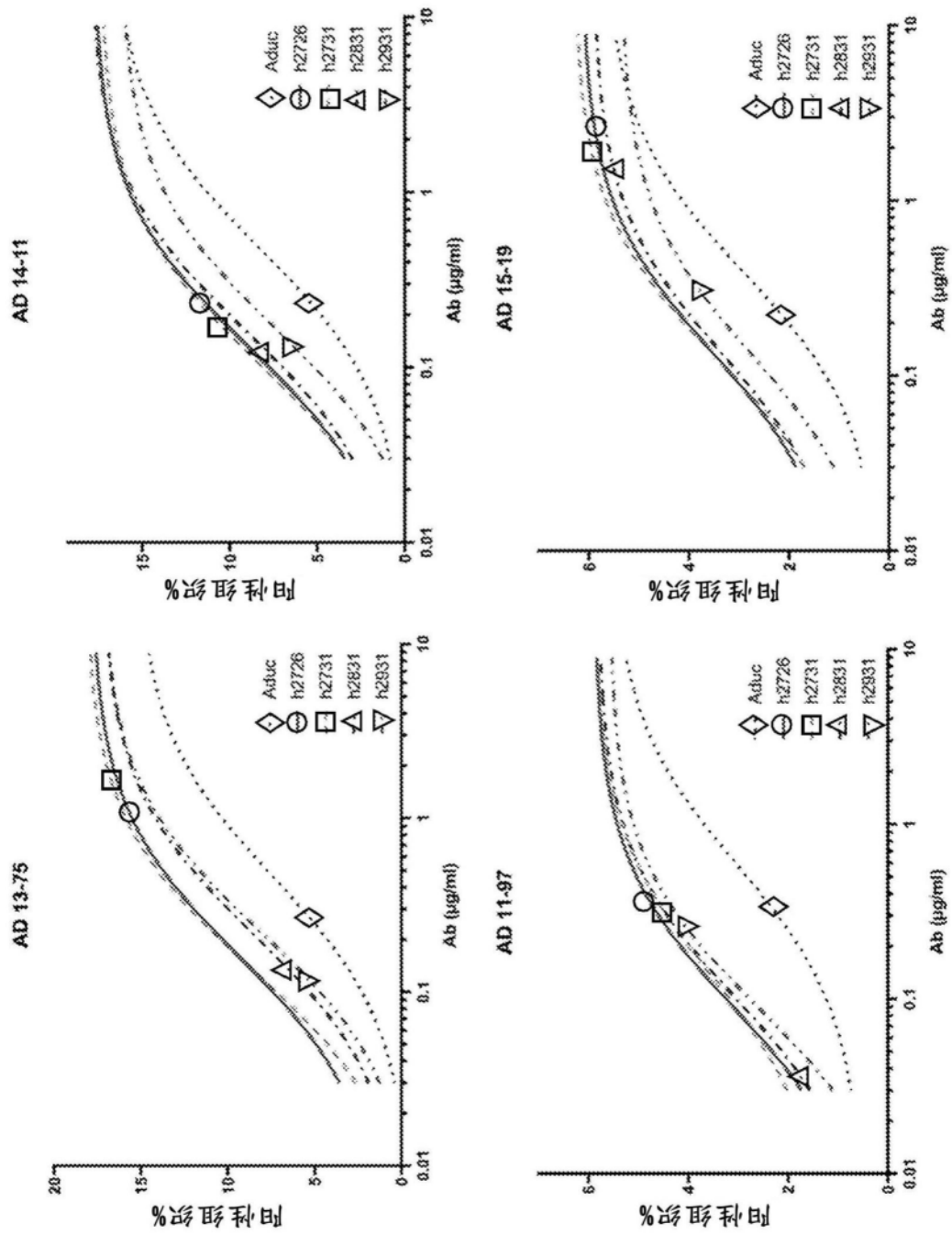


图12

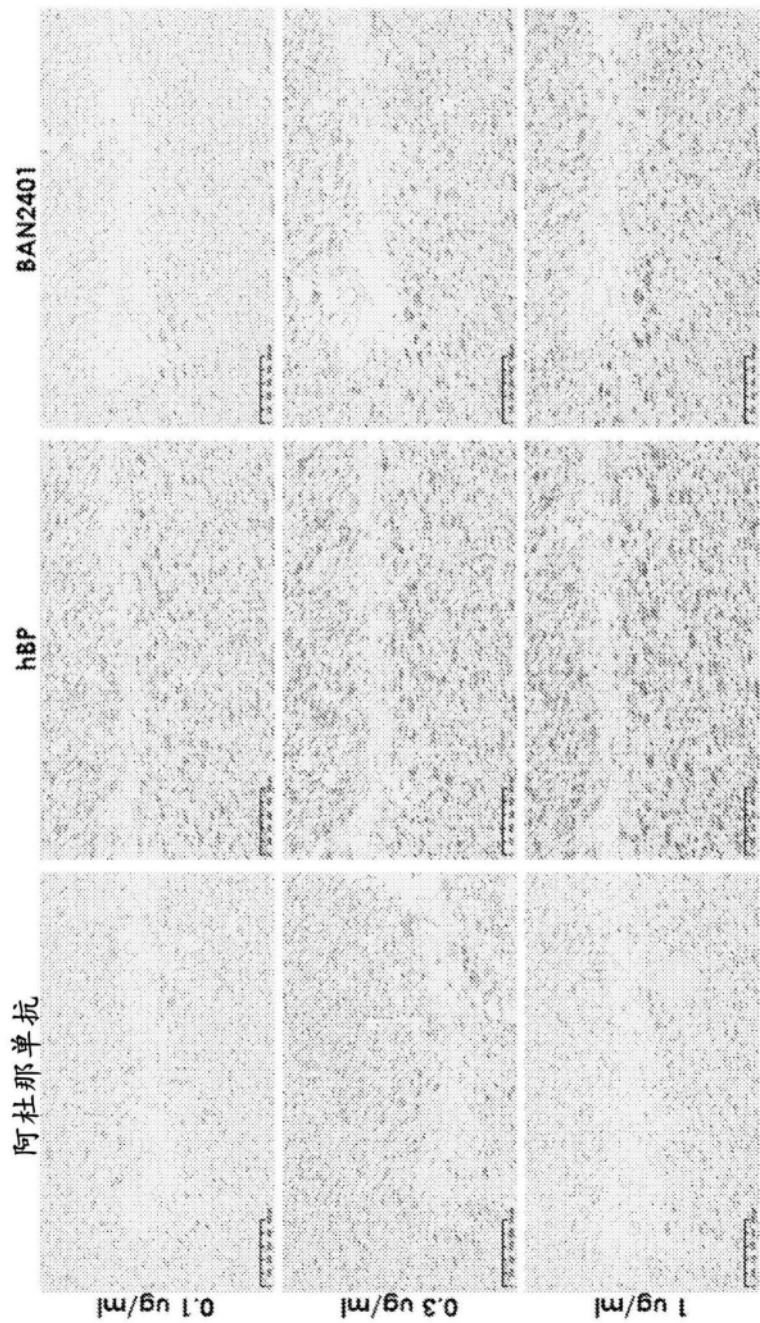


图13

离体吞噬作用
总 A β (A β_{1-42}) 的定量

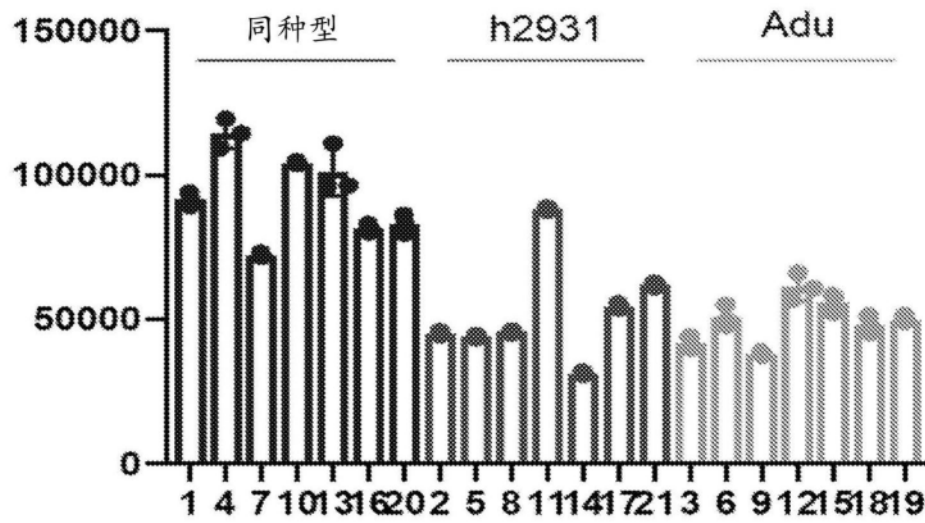


图14A

离体吞噬作用
总 A β (A β_{1-42}) 的定量

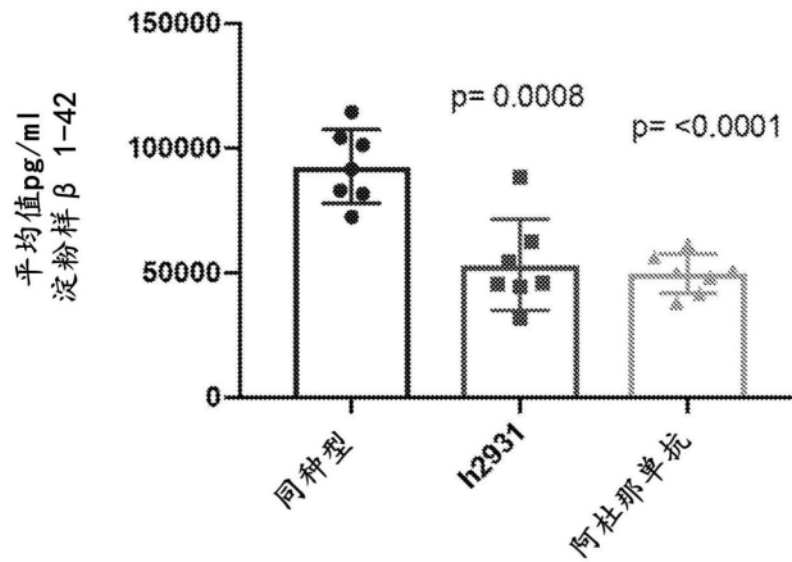


图14B

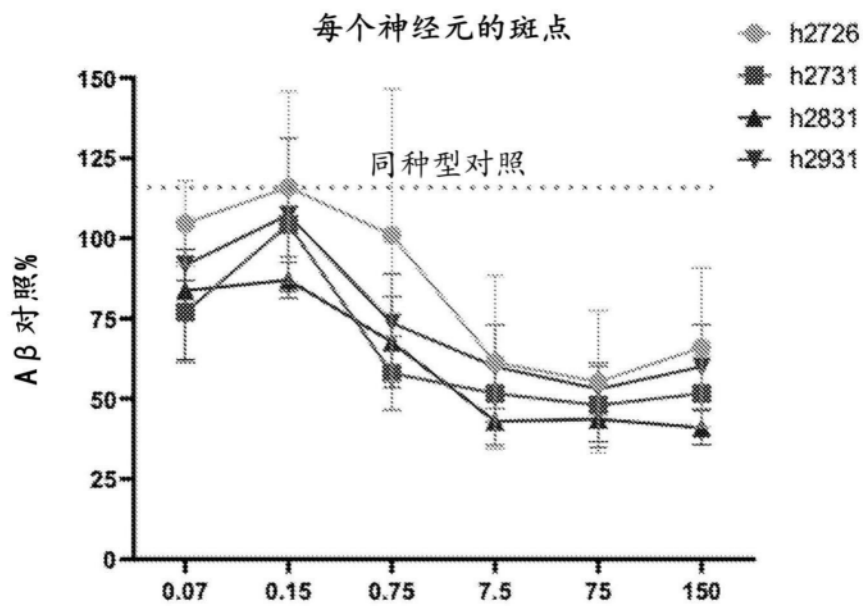


图15A

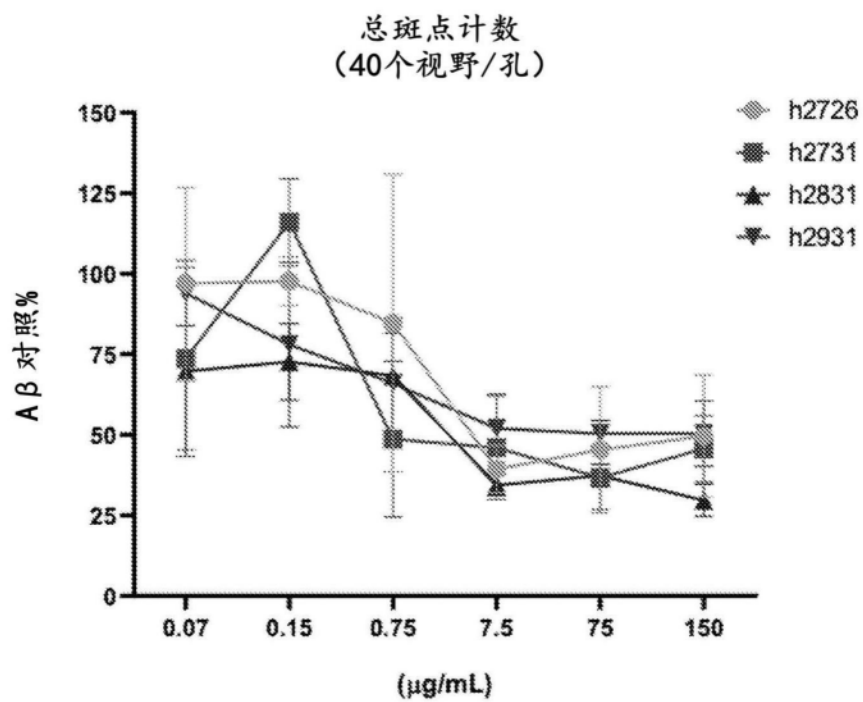
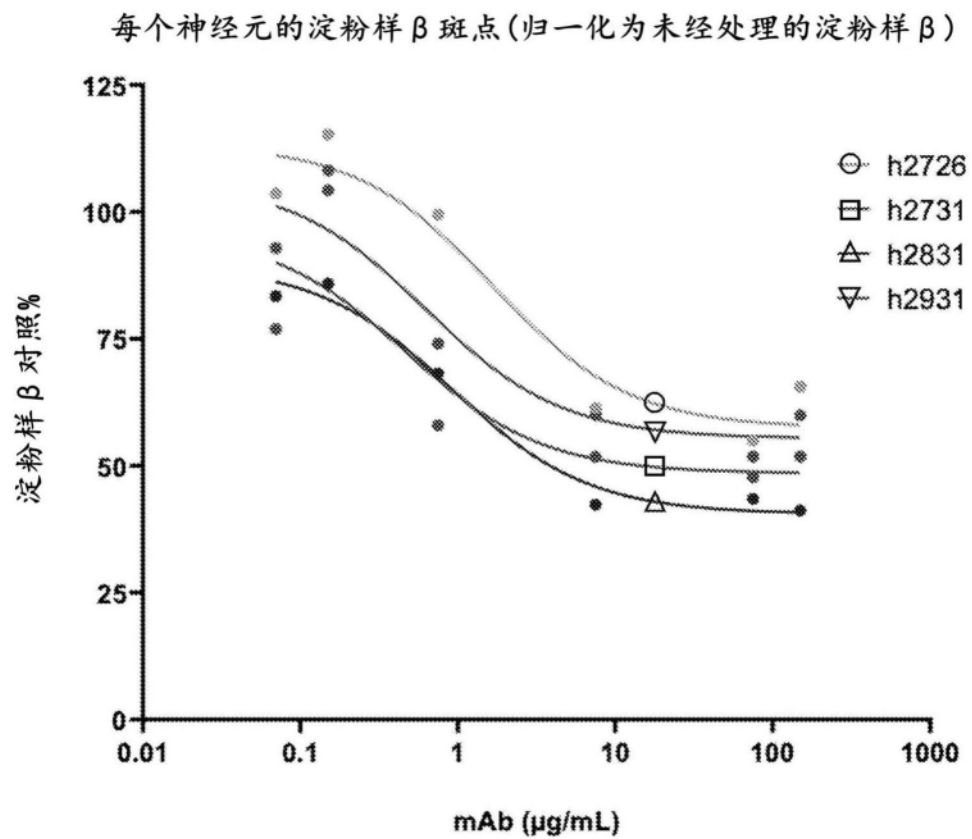


图15B



	h2726	h2731	h2831	h2931
IC50	1.672	0.4700	0.9240	0.6270

	h2726	h2731	h2831	h2931
总面积	9067	7523	6502	8481

图16

hBP VH	10	20	30	40
Hm271m26_VH	E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S <u>G F T F S N Y G M S</u> W V R Q A			40
Hm271m31_VH				40
Hm281m31_VH				40
Hm291m31_VH				40
hBP VH	50	60	70	80
Hm271m26_VH	P G K G L E W V A S <u>I R S G G C R T Y Y S D N V K G R F T I S R D N S K N T L Y</u>			80
Hm271m31_VH				80
Hm281m31_VH				80
Hm291m31_VH				80
hBP VH	90	100	110	119
Hm271m26_VH	L Q M N S L R A E D T A V Y Y C V R Y <u>D H Y S G S S D Y</u> W G Q G T L V T V S S			119
Hm271m31_VH				119
Hm281m31_VH				119
Hm291m31_VH				119

CDR以粗体表示

图17

	10	20	30	40	
hBP_LC	DV VMTQ S P L S L P V T P G E P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W				40
Hm27Lm26_VL	D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W				40
Hm27Lm31_VL	D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W				40
Hm28Lm31_VL	D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W				40
Hm29Lm31_VL	D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W				40
	50	60	70	80	
hBP_LC	L L Q K P G Q S P Q R L I Y L V S K L D S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I				80
Hm27Lm26_VL	L L Q K P G Q S P Q R L I Y K N R G V P D R F S G S G S G T D F T L K I				80
Hm27Lm31_VL	L L Q K P G Q S P Q R L I Y R T N R T G V P D R F S G S G S G T D F T L K I				80
Hm28Lm31_VL	L L Q K P G Q S P Q R L I Y R T N R T G V P D R F S G S G S G T D F T L K I				80
Hm29Lm31_VL	L L Q K P G Q S P Q R L I Y R T N R T G V P D R F S G S G S G T D F T L K I				80
	90	100	110	120	
hBP_LC	S R V E A E D V G V Y Y C W Q G T H F P R T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V				112
Hm27Lm26_VL	S R V E A E D V G V Y Y C W Q G T H F P R T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V				112
Hm27Lm31_VL	S R V E A E D V G V Y Y C W Q G T H F P R T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V				112
Hm28Lm31_VL	S R V E A E D V G V Y Y C W Q G T H F P R T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V				112
Hm29Lm31_VL	S R V E A E D V G V Y Y C W Q G T H F P R T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V				112
	130	140	150	160	
hBP_LC	F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q				160
Hm27Lm26_VL	F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q				112
Hm27Lm31_VL	F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q				112
Hm28Lm31_VL	F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q				112
Hm29Lm31_VL	F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q				112
	170	180	190	200	
hBP_LC	S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E				200
Hm27Lm26_VL	S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E				112
Hm27Lm31_VL	S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E				112
Hm28Lm31_VL	S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E				112
Hm29Lm31_VL	S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E				112
	210				
hBP_LC	V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C				219
Hm27Lm26_VL	V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C				112
Hm27Lm31_VL	V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C				112
Hm28Lm31_VL	V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C				112
Hm29Lm31_VL	V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C				112

CDR以粗体表示

图18

#	克隆 ID	CDR1		SEQ ID	CDR2		SEQ ID	CDR3		SEQ ID	VH SEQ ID
		aa 26-35			aa 50-66			aa 99-108			
	Bap1	GFIF NYGMS		16	SIRSG GGRTY YSDNV KG		17	YDHYS GSSDY		18	1
1	h2726	GFIF NYGMS		16	SIRSG S GRTY YSDNV KG		20	YDHYS GSSDY		18	3
2	h2731	GFIF NYGMS		16	SIRSG S GRTY YSDNV KG		20	YDHYS GSSDY		18	3
3	h2831	GFIF NFGMS		19	SVRSG S GRTY YSDNV KG		21	YDHYS GT SDY		24	4
4	h2931	GFIF NFGMS		19	SVRSG S GRTY YSDNV KG		21	YDHY T GT SDY		25	5
5	h2926	GFIF NFGMS		19	SVRSG S GRTY YSDNV KG		21	YDHY T GT SDY		25	5
6	h4921G	GFIF NFGMS		19	SVRSG GGRTY YSDNV KG		22	YDHYS GT SDY		24	6
7	h2826	GFIF NFGMS		19	SVRSG S GRTY YSDNV KG		21	YDHYS GT SDY		24	4
8	h2929	GFIF NFGMS		19	SVRSG S GRTY YSDNV KG		21	YDHY T GT SDY		25	5
9	h3818G	GFIF NYGMS		20	SVRSG S GRTY YSDNV KG		23	YDHYS GSSDY		18	7
10	h2927	GFIF NFGMS		19	SVRSG S GRTY YSDNV KG		21	YDHY T GT SDY		25	5
11	h49k3G	GFIF NFGMS		19	SVRSG GGRTY YSDNV KG		22	YDHYS GT SDY		24	6
12	h4917G	GFIF NFGMS		19	SVRSG GGRTY YSDNV KG		22	YDHYS GT SDY		24	6
13	h2727	GFIF NYGMS		16	SIRSG S GRTY YSDNV KG		20	YDHYS GSSDY		18	3
14	h4918G	GFIF NFGMS		19	SVRSG GGRTY YSDNV KG		22	YDHYS GT SDY		24	6

图19A

#	克隆 ID	CDR1		SEQ ID	CDR2		SEQ ID	CDR3		SEQ ID	VL SEQ ID
		aa 24-39			aa 55-61			aa 94-102			
	L-CDRs										
	Bapi	KSSQS LLDSD GKTYL N		26	LVSKL DS		27	WQGH FPRT		28	2
1	h2726	KSSQS LLDYD GKTYL N		29	KVSNR DS		33	WQGH FPRT		28	8
2	h2731*	KSSQS LLDYD GKTYL N		29	RVTNR DT		34	WQGH FPRS		38	9
3	h2831*	KSSQS LLDYD GKTYL N		29	RVTNR DT		34	WQGH FPRS		38	9
4	h2931*	KSSQS LLDYD GKTYL N		29	RVTNR DT		34	WQGH FPRS		38	9
5	h2926	KSSQS LLDYD GKTYL N		29	KVSNR DS		33	WQGH FPRT		28	8
6	H4921G*	KSSQS LLDSD GKTYL N		26	RVTNR DT		34	WQGH FPRT		28	10
7	h2826	KSSQS LLDYD GKTYL N		29	KVSNR DS		33	WQGH FPRT		28	8
8	h2929	RSSQS LVDYD GKTYL N		31	KVSNR DS		33	WQSH FPRSY		39	11
9	h3818G*	KSSQS LMDTD GKTYL N		32	KVSNR ES		35	WQGH FPRT		28	12
10	h2927	KSSQS LLDYD GKTYL N		29	KVSNR DS		33	WQGH FPRS		38	13
11	h49k3G*	KSSQS LLDSD GKTYL N		26	KVSNR DS		33	WQGH FPRT		28	14
12	h4917G*	KSSQS LLDSD GKTYL N		26	KVTNR ES		36	WQGH FPRS		38	15
13	h2727	KSSQS LLDYD GKTYL N		29	KVSNR DS		33	WQGH FPRS		38	13
14	h4918G*	KSSQS LMDTD GKTYL N		32	KVSNR ES		35	WQGH FPRT		28	12
		* = LC P15L									

图19B

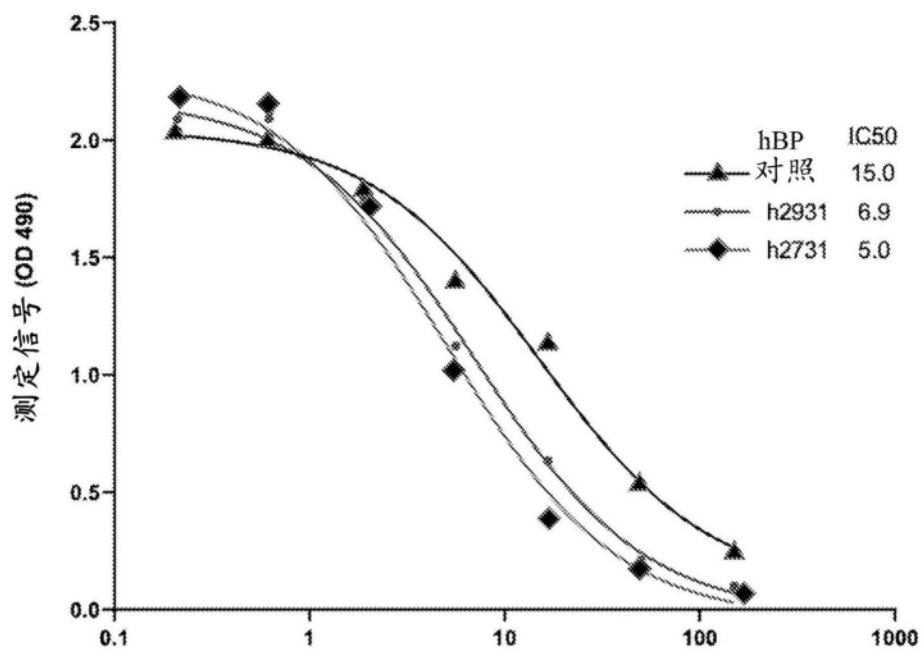


图20A

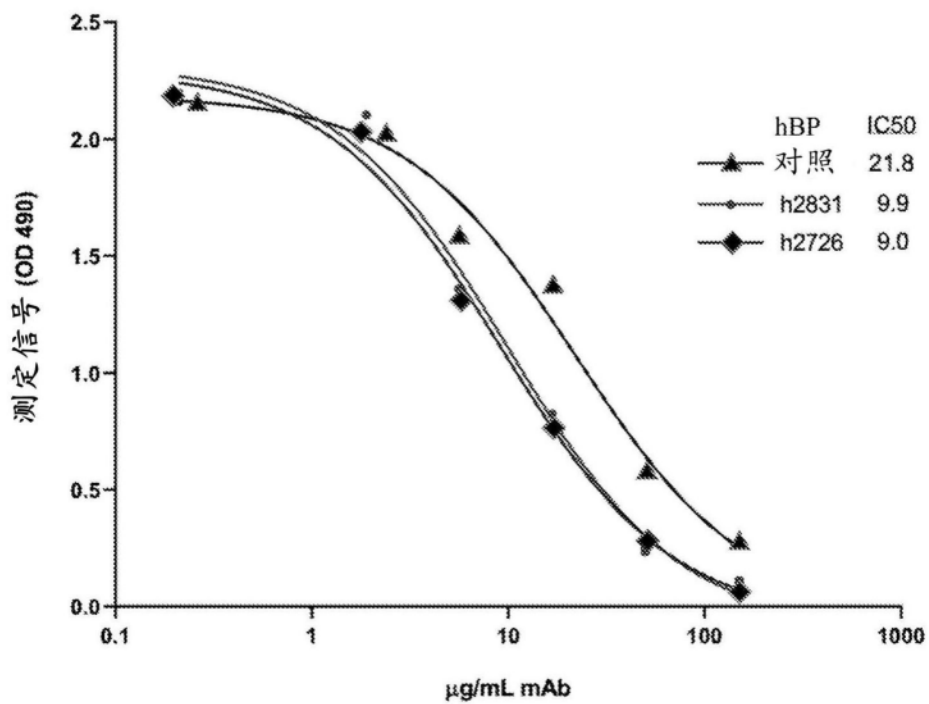


图20B

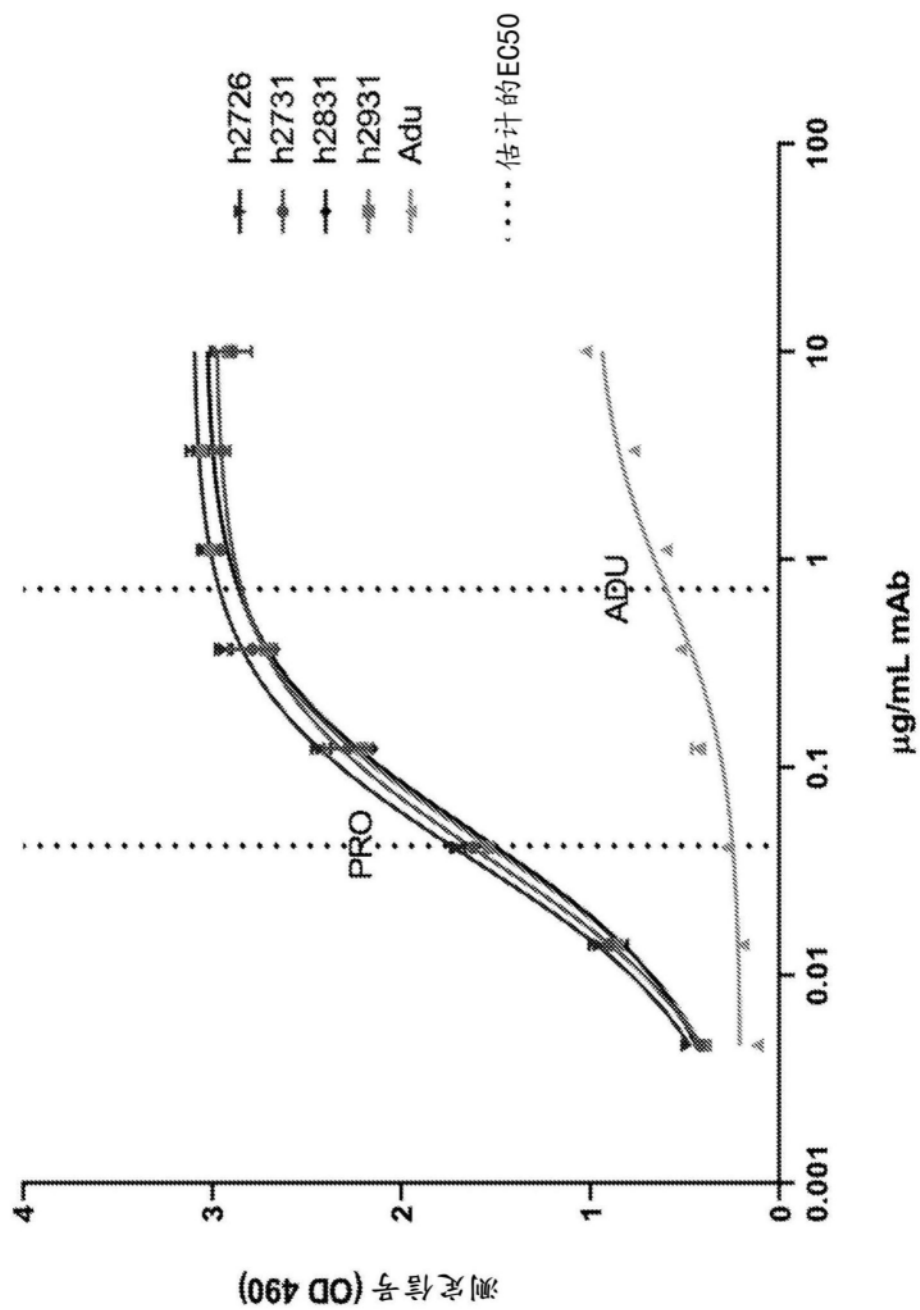


图21

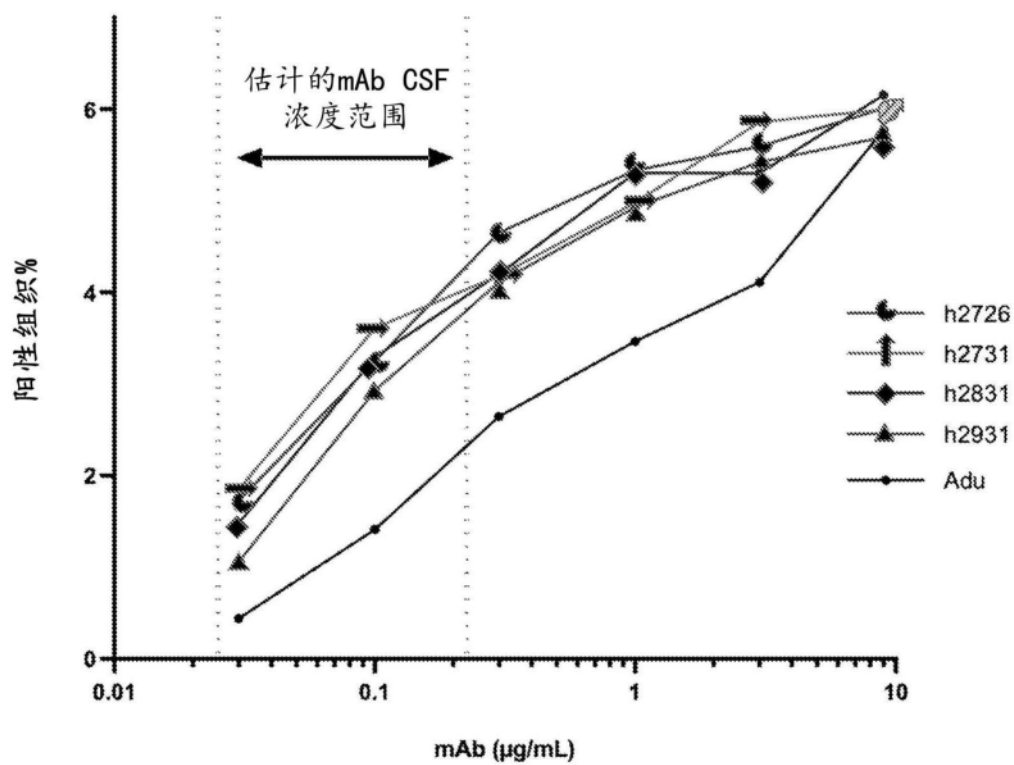


图22

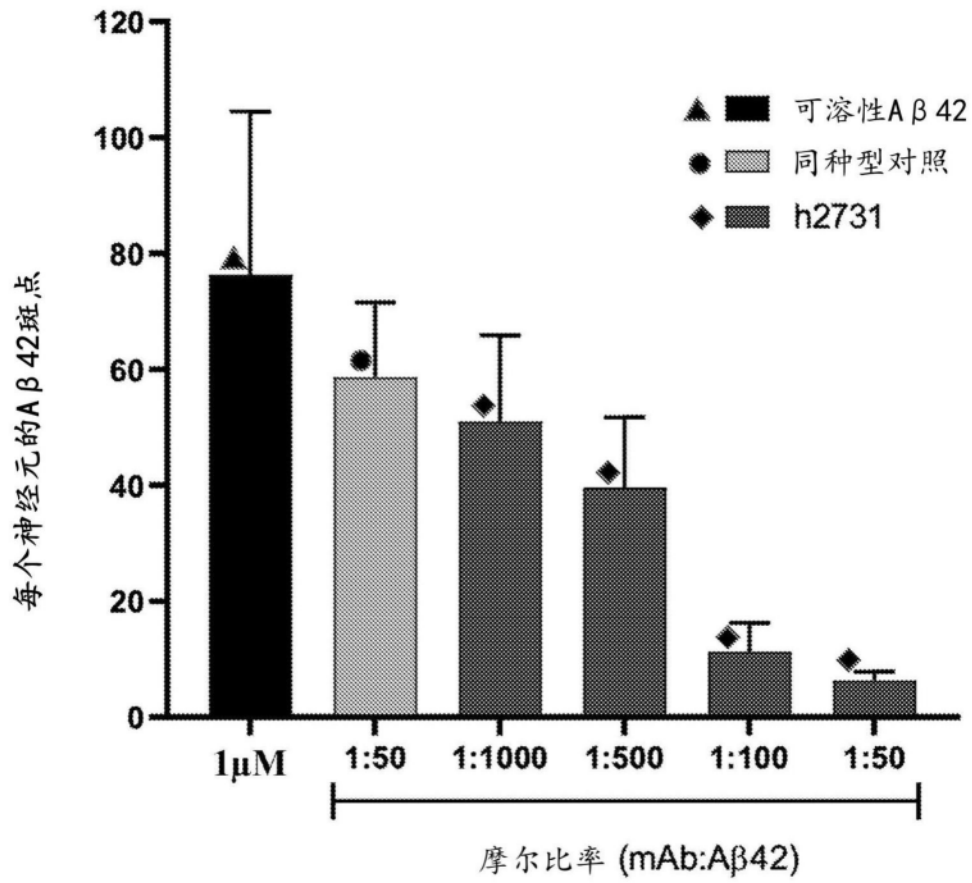


图23

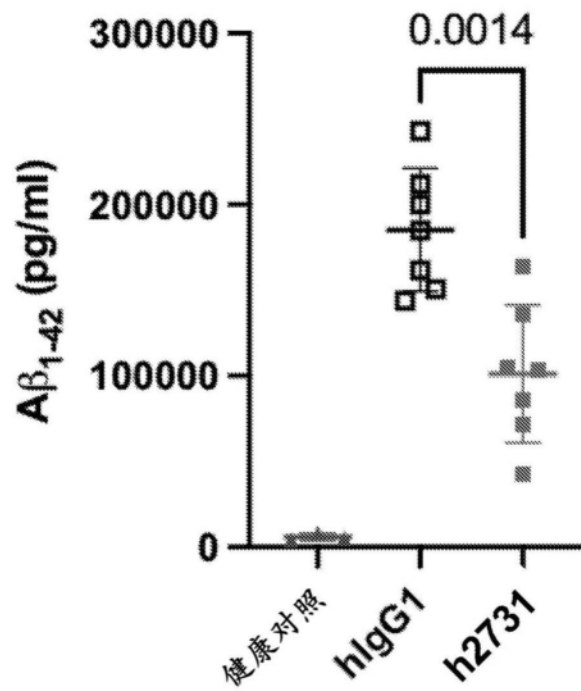


图24

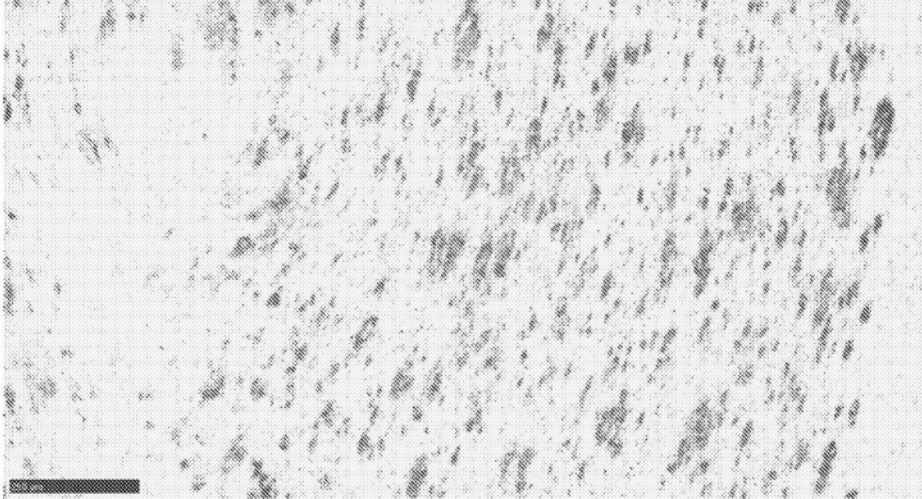
抗焦谷氨酸 (Ab822301) (10 $\mu\text{g/ml}$)

图25A

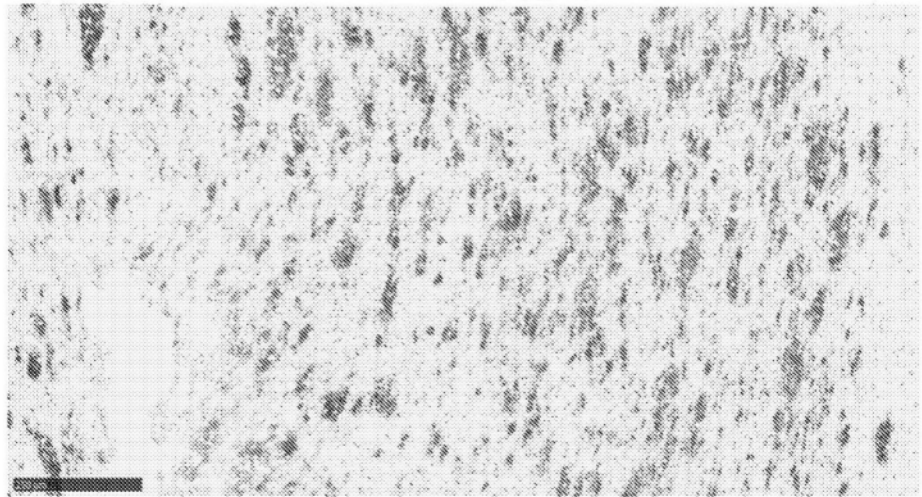
H2931 (1 $\mu\text{g/ml}$)

图25B

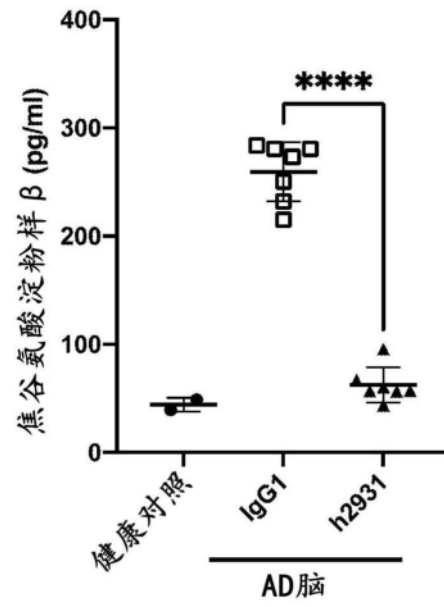


图26A

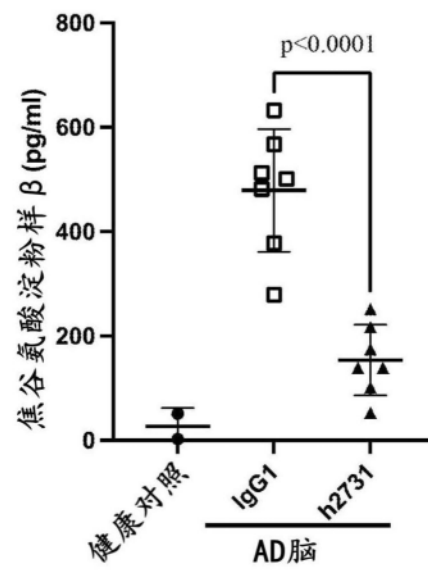


图26B

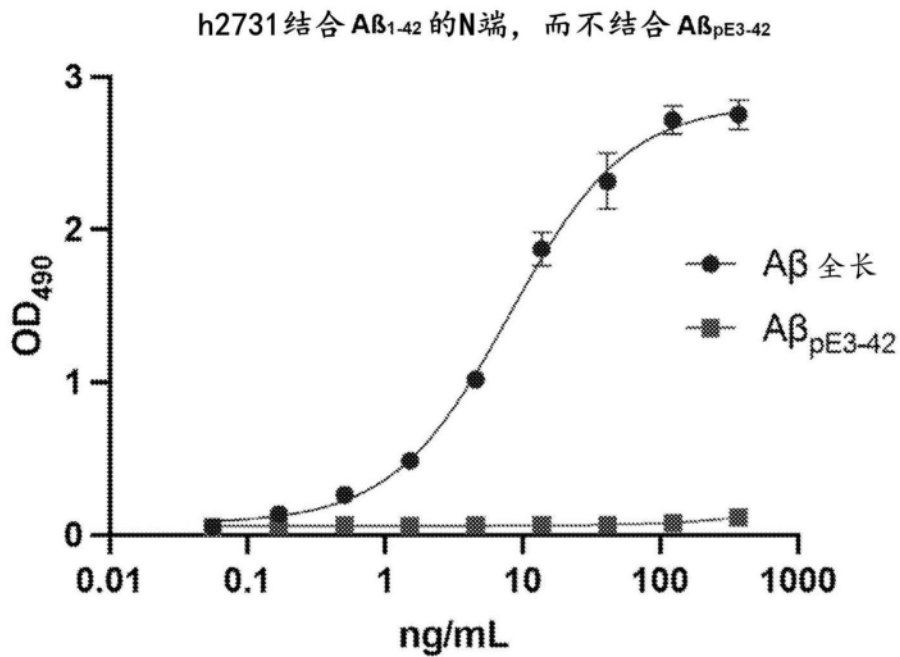


图27

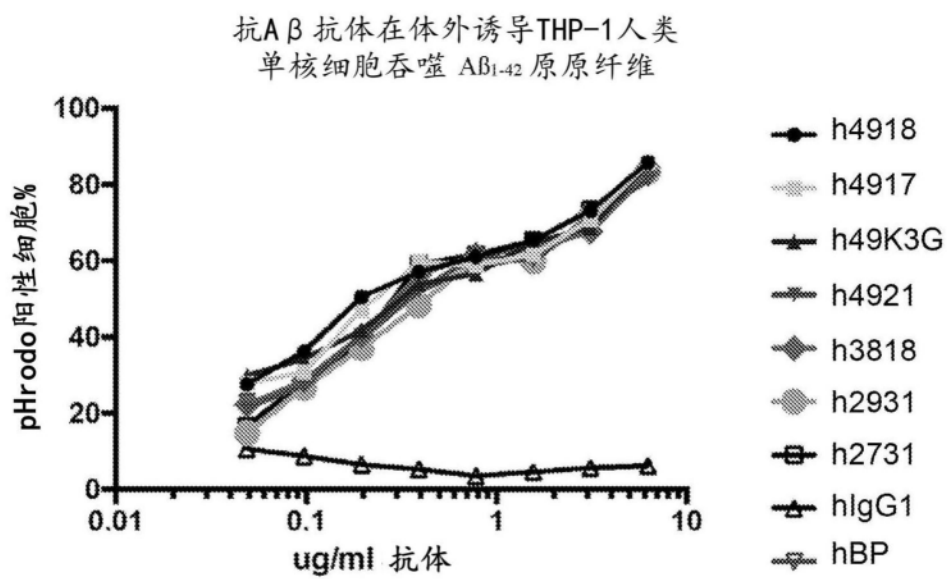


图28A

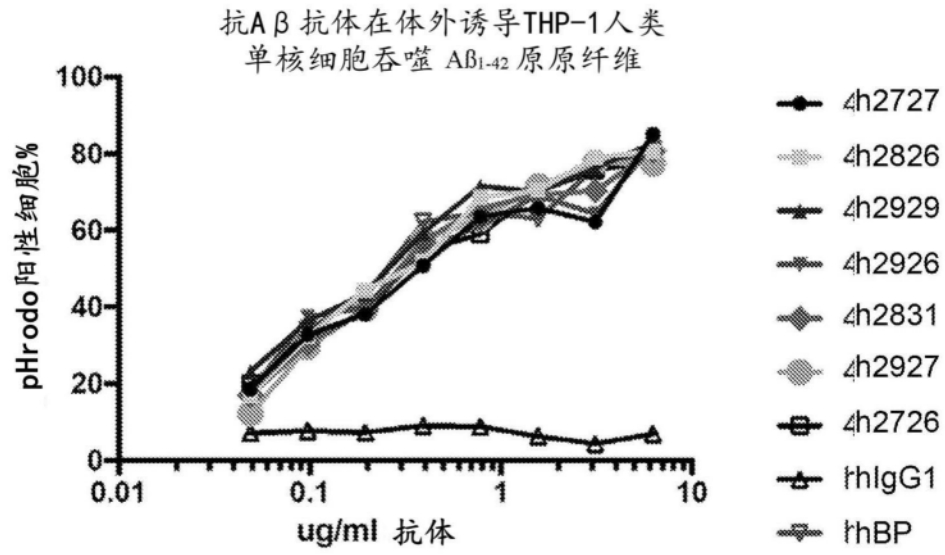


图28B

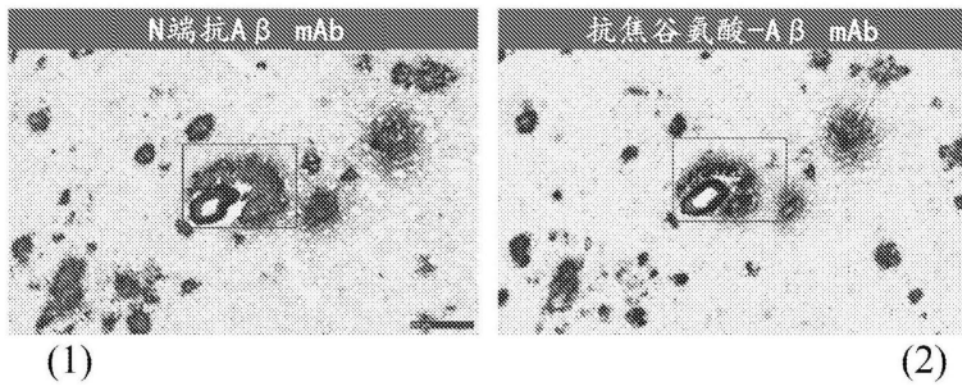


图29A

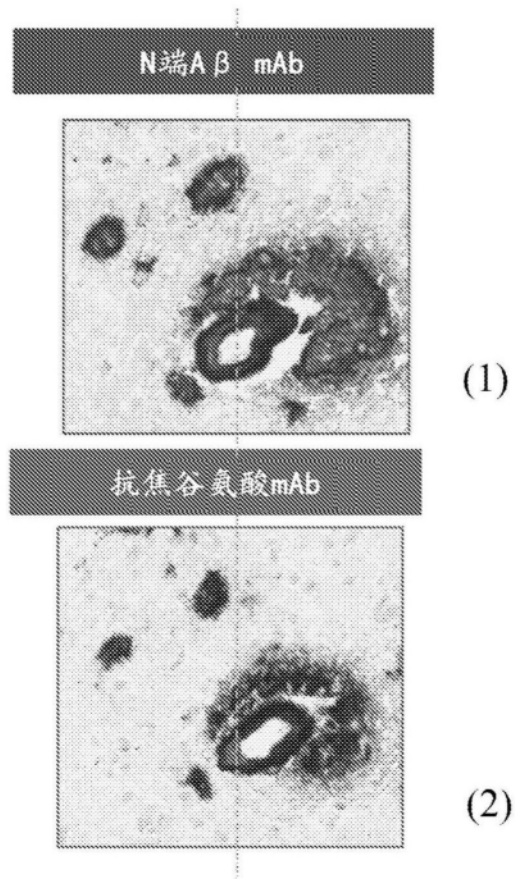


图29B

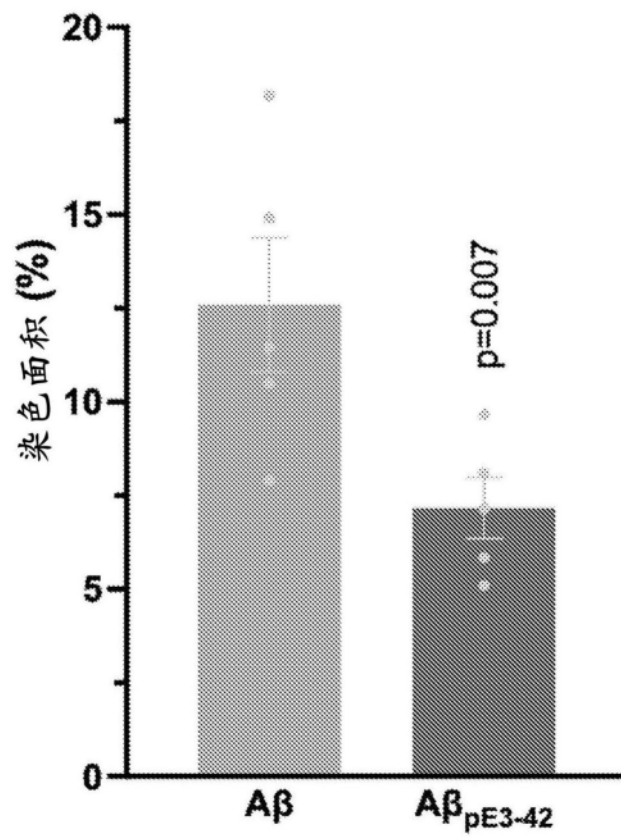


图29C

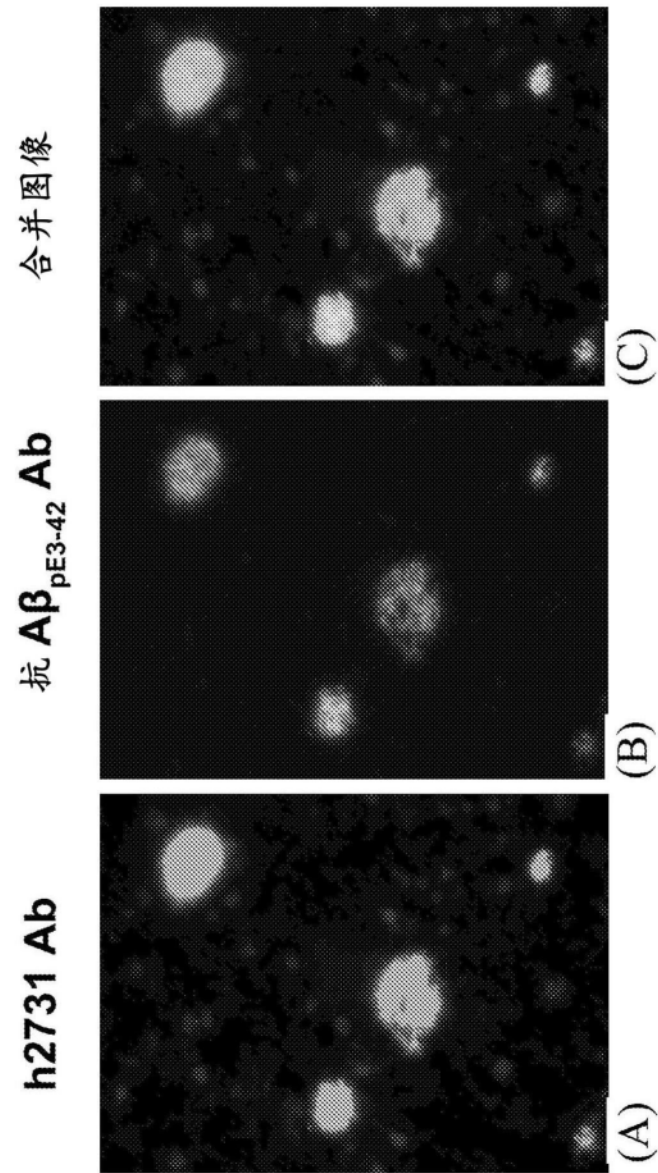


图30

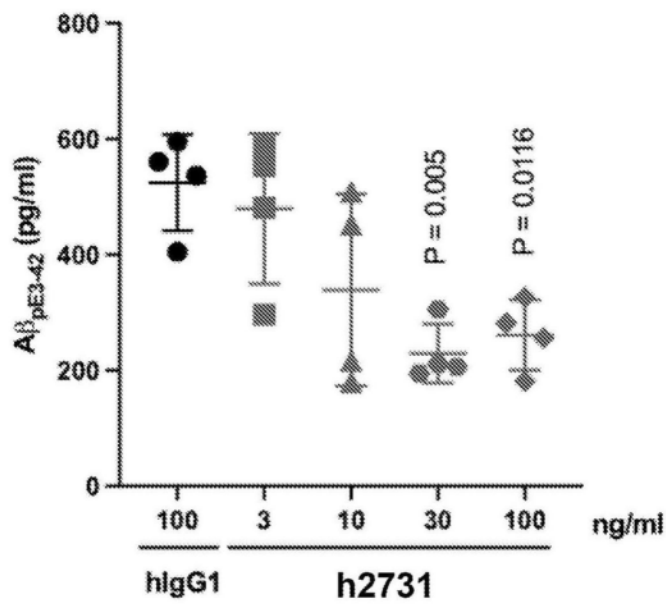


图31A

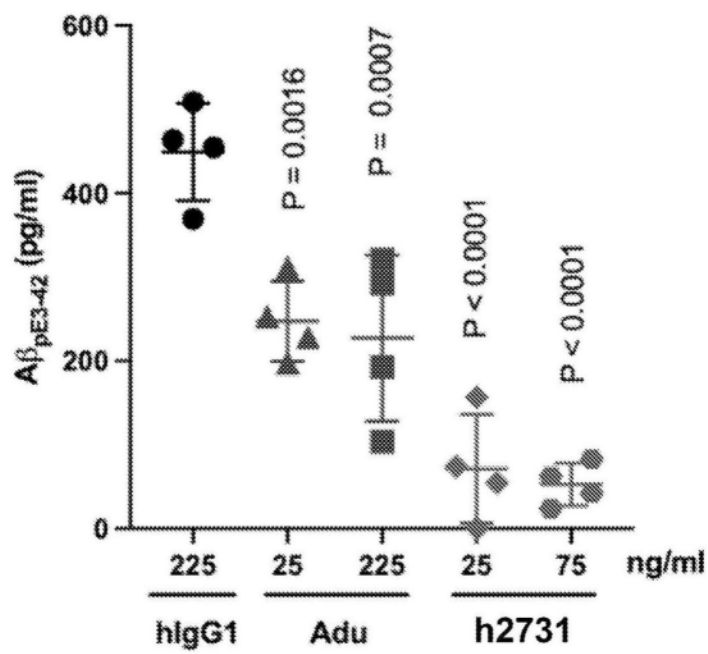


图31B

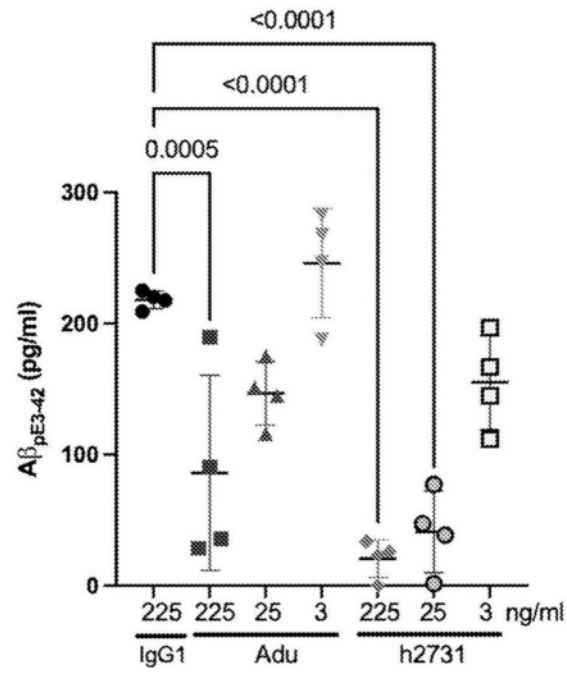


图32A

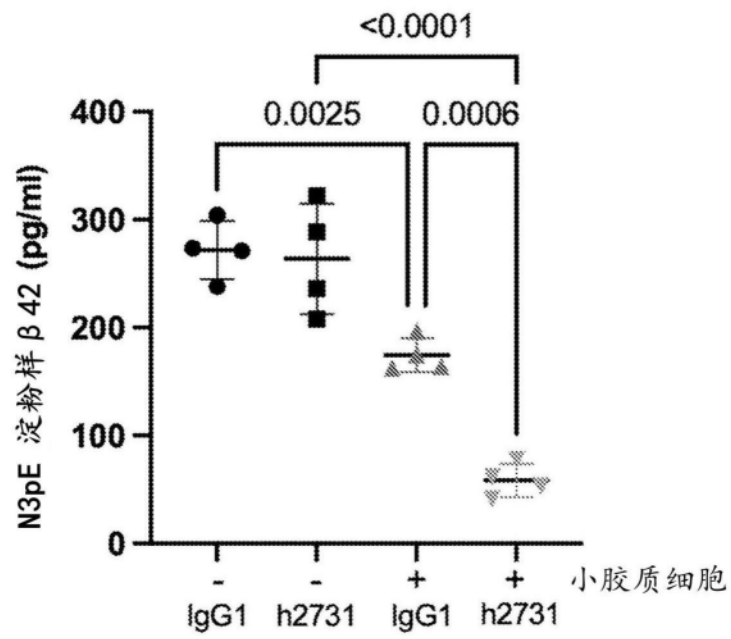


图32B

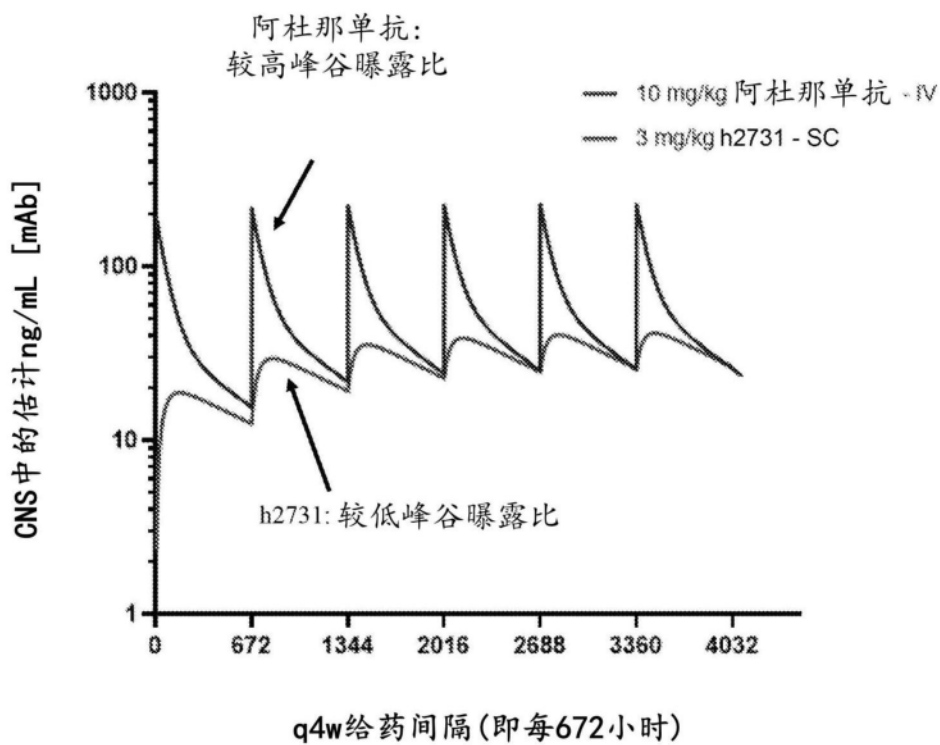


图33

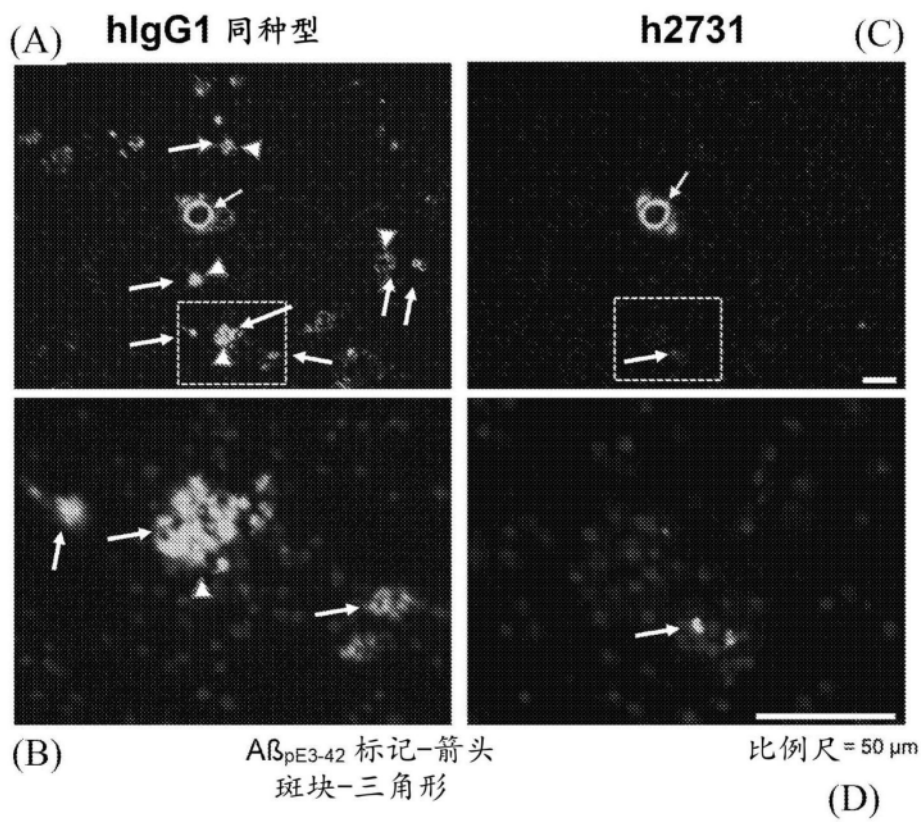


图34