



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I529247 B

(45)公告日：中華民國 105 (2016) 年 04 月 11 日

(21)申請案號：099115371

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 05 月 13 日

(51)Int. Cl. : *C12N15/13 (2006.01)* *C07K16/18 (2006.01)*
A61K39/395 (2006.01) *A61P37/00 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2009/05/13 美國 61/177,837

(71)申請人：建新公司 (美國) GENZYME CORPORATION (US)
 美國

(72)發明人：羅伯 布魯斯 L ROBERTS, BRUCE L. (US)；夏卡拉 史瓦斯 SHANKARA, SRINIVAS (US)；布迪克 威廉 哈羅德 BRONDYK, WILLIAM HAROLD (US)；
 席德斯 威廉 M SIDERS, WILLIAM M. (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

EP 0616537B1

John G. Gribben and Michael Hallek, "Rediscovering alemtuzumab: current and emerging therapeutic roles", British Journal of Haematology, 144, 818-831, 12 January 2009.

Heather L Pulaski et al., "Identifying alemtuzumab as an anti-myeloid cell antiangiogenic therapy for the treatment of ovarian cancer", J Transl Med. 2009; 7: 49.

審查人員：蔡付樺

申請專利範圍項數：36 項 圖式數：116 共 444 頁

(54)名稱

抗人類 CD 5 2 免疫球蛋白

ANTI-HUMAN CD52 IMMUNOGLOBULINS

(57)摘要

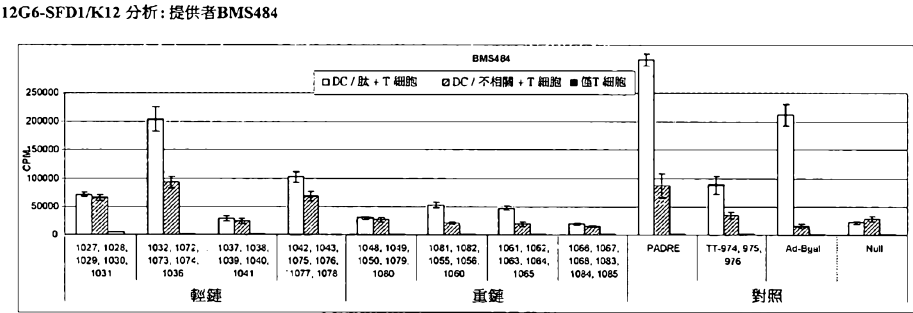
本發明係關於一種具對人類 CD52 結合專一性的人類化免疫球蛋白、老鼠單株抗體及嵌合抗體，本發明進一步係關於一種人類化免疫球蛋白輕鏈及人類化免疫球蛋白重鏈，本發明亦關於包含編碼人類化免疫球蛋白或免疫球蛋白輕鏈或重鏈的序列的分離核酸、重組載體及宿主細胞，及關於一種製備人類化免疫球蛋白的方法。該人類化免疫球蛋白可用於醫療應用以治療，例如，自體免疫疾病、癌症、非-何杰金氏淋巴瘤、多發性硬化症及慢性淋巴性白血病。

The present invention relates to humanized immunoglobulins, mouse monoclonal antibodies and chimeric antibodies that have binding specificity for human CD52. The present invention further relates to a humanized immunoglobulin light chain and a humanized immunoglobulin heavy chain. The invention also relates to isolated nucleic acids, recombinant vectors and host cells that comprise a sequence which encodes a humanized immunoglobulin or immunoglobulin light chain or heavy chain, and to a method of preparing a humanized immunoglobulin. The humanized immunoglobulins can be used in therapeutic applications to

treat, for example, autoimmune disease, cancer, non-Hodgkin's lymphoma, multiple sclerosis and chronic lymphocytic leukemia.

指定代表圖：

符號簡單說明：
(無元件符號說明)



第105A圖

六、發明說明：

本申請案主張申請於2009年5月13日的美國臨時申請案61/177,837，優先權，該申請案的揭示係以其全文併入做為參考。

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種具有人類CD52 (HUCD52)結合專一性的人類化免疫球蛋白。

【先前技術】

CD52為一種在各種正常及惡性淋巴細胞(例如T及B細胞)上大量(500,000 分子/細胞)發現的糖基化的糖基磷脂醯肌醇脂質(GPI)-錨定細胞表面蛋白，參考，例如，Hale等., *J Biol regul Homeost Agents* 15:386-391 (2001)；Huh等., *Blood* 92: Abstract 4199 (1998)；Elsner等., *Blood* 88:4684-4693 (1996)；Gilleece 等., *Blood* 82:807-812 (1993)；Rodig 等., *Clin Cancer Res* 12:7174-7179 (2006)；Ginaldi 等., *Leuk Res* 22:185-191 (1998)。CD52於骨髓樣的細胞有較低的表現量，例如單核細胞、巨噬細胞、及樹突狀細胞，而在成熟自然殺手(NK)細胞、嗜中性球、及多能造血幹細胞有些微表現。*Id.* CD52亦由附睾及輸精管的上皮細胞產生，及係在通過生殖道期間由精子獲得(Hale等，2001, *supra*；Domagala 等., *Med Sci Monit* 7:325-331 (2001))。CD52的確切生物功能仍不清楚，但是一些證據顯示其涉及T細胞遷移及共-刺激(Rowan 等., *Int Immunol* 7:69-77 (1995)；Masuyama 等., *J Exp Med*

189:979-989 (1999) ; Watanabe等., *Clin Immunol* 120:247-259 (2006))。

Campath-1H[®] (alemtuzumab, Campath[®], MabCampath[®]) 為一種人類化抗人類 CD52 單株抗體，其顯現有效力的活體外細胞毒殺效應 (ADCC 及 CDC)。Campath[®] 辨識一種抗原決定區，其由成熟 CD52 蛋白的羧端四個胺基酸及一部份帶負電的 GPI 錨區所構成。因為其顯著的細胞毒殺效應，Campath[®] 能夠活體內消耗 CD52 陽性細胞及其已證實可用於慢性淋巴性白血病 (CLL) 的一線及三線治療。已評估 Campath[®] 用於數種自體免疫疾病的治療，其包含類風濕關節炎、血管炎、肌炎及韋格納氏疾病。然而，Campath[®] 的最先進研究在於治療復發型多發性硬化症 (MS)，這些研究顯示相對於活性比較物 (Rebif)，其在復發時間有顯著改善。

仍存在標的 CD52 的額外醫療劑及方法之需求。

【發明內容】

人類化免疫球蛋白

本發明係關於一種具有人類 CD52 (huCD52) 結合專一性的人類化免疫球蛋白，他們可包含老鼠抗人類 CD52 抗體的互補決定區段 (CDRs)。本發明人類化免疫球蛋白具有與其他人類化免疫球蛋白不同，及特別是與包含小鼠抗人類 CD52 抗體的 CDRs 的其他人類化免疫球蛋白不同的胺基酸序列。本發明的人類化免疫球蛋白與人類化免疫球蛋白 Campath[®] 不同。在較佳具體實施例，他們提供比包含

Campath®的CDRs的人類化抗體更佳的優點。

此處所敘述人類化免疫球蛋白可包含人類化重鏈及人類化輕鏈。在一個具體實施例，人類化免疫球蛋白包含一種含有SEQ ID NO:3的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及一種含有SEQ ID NO:16的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的重鏈；一種含有SEQ ID NO:4的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及一種含有SEQ ID NO:17的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的重鏈；一種含有SEQ ID NO:5的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及一種含有SEQ ID NO:18的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的重鏈；一種含有SEQ ID NO:6的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及一種含有SEQ ID NO:19的一或更多CDRs的重鏈；一種含有SEQ ID NO:7的一或更多CDRs(例如，所有三個CDRs)的輕鏈及一種含有SEQ ID NO:20的一或更多CDRs(例如，所有三個CDRs)的重鏈；一種含有SEQ ID NO:8的一或更多CDRs(例如，所有三個CDRs)的輕鏈及一種含有SEQ ID NO:21的一或更多CDRs(例如，所有三個CDRs)的重鏈；一種含有SEQ ID NO:9的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及一種含有SEQ ID NO:22的一或更多CDRs(例如，所有三個CDRs)的重鏈；一種含有SEQ ID NO:10的一或更多CDRs(例如，所有三個CDRs)的輕鏈及一種含有SEQ ID NO:23的一或更多CDRs(例如，所有三個CDRs)的重鏈；一種含有SEQ ID NO:11的一或更多

CDRs(例如，所有三個CDRs)的輕鏈及一種含有SEQ ID NO:24的一或更多 CDRs(例如，所有三個CDRs) 的重鏈；一種含有SEQ ID NO:12的一或更多CDRs(例如，所有三個CDRs) 的輕鏈及一種含有SEQ ID NO:25的一或更多 CDRs(例如，所有三個CDRs)的重鏈；一種含有SEQ ID NO:12的一或更多CDRs(例如，所有三個CDRs)的輕鏈及一種含有SEQ ID NO:137的一或更多CDRs(例如，所有三個CDRs)的重鏈；或是一種含有SEQ ID NO:13的一或更多 CDRs(例如，所有三個CDRs)的輕鏈及一種含有SEQ ID NO:26的一或更多CDRs(例如，所有三個CDRs)的重鏈。在上文所提及SEQ ID NOs的CDRs係由第1 及2圖表示及參考此處所提供表1-6。

在另一具體實施例，具人類 CD52結合專一性的人類化免疫球蛋白包含一種輕鏈，其包含由SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、及SEQ ID NO:48所組成的群組中選出的一或更多CDRs (例如，所有三個)；一種重鏈，其包含由SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID

NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、及SEQ ID NO: 294所組成的群組中選出的一或更多CDRs (例如，所有三個)；或是此種輕鏈及此種重鏈；其中該人類化免疫球蛋白不為 Campath®。

在另一具體實施例，具人類 CD52結合專一性的人類化免疫球蛋白包含一種輕鏈，其包含SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、或SEQ ID NO:13的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)；一種重鏈，其包含SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、或SEQ ID NO: 137的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)；或是此種輕鏈及此種重鏈；其中該人類化免疫球蛋白不為Campath®。

在一些具體實施例，人類化免疫球蛋白的骨架區具與一種免疫球蛋白(由此得到輕鏈CDRs及重鏈CDRs)骨架區的至少50%同源性。例如，人類化免疫球蛋白的骨架區可與生殖細胞系的人類免疫球蛋白序列至少50%，至少60%，

至少 70%，至少 80%，至少 90%，至少 95%，至少 98%，至少 99%，或甚至 100% 相同。在一個具體實施例，人類化免疫球蛋白的骨架區可自 IgG 人類抗體變異區得到或衍生。在另一具體實施例，CD52 為野生型人類 CD52。在另一具體實施例，人類化免疫球蛋白可與阿來組單抗 (alemtuzumab) 競爭以結合至人類 CD52，例如，其可結合至與阿來組單抗所要結合的抗原決定區相同的抗原決定區，或是與之重疊的抗原決定區。

本發明亦相關於本發明人類化免疫球蛋白的人類化輕鏈。在一個具體實施例，人類化輕鏈包含由 SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、及 SEQ ID NO:48 所組成的群組中選出的一或更多 CDRs 或是其組合，其中該人類化輕鏈不為 Campath® 的人類化輕鏈。

在另一具體實施例，人類化輕鏈包含 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12 或 SEQ ID NO:13 的一或更多 CDRs (例如，所有三個 CDRs)，其中該人類化輕鏈不為 Campath® 的人類化輕鏈。

本發明亦相關於本發明人類化免疫球蛋白的人類化重鏈。在一個具體實施例，人類化重鏈包含由 SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、及 SEQ ID NO: 294 所組成的群組中選出的 Ig 變異區的一或更多 CDRs，或是其組合，其中該人類化重鏈不為 Campath® 的人類化重鏈。

在另一具體實施例，人類化重鏈包含 SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、或 SEQ ID NO: 137 的一或更多 CDRs (例如，所有三個 CDRs)；其中該人類化重鏈不為 Campath® 的人類化重鏈。

較佳為，本發明人類化免疫球蛋白包含本發明人類化輕鏈及本發明人類化重鏈。

在其他具體實施例，本發明係提供一種結合至人類 CD52 上的抗原決定區的人類化免疫球蛋白，該抗原決定區與老鼠單株抗體所結合的相同抗原決定區或是與之競爭或交叉競爭於，該老鼠單株抗體包含 SEQ ID NO: 3 的輕鏈

變異區及SEQ ID NO: 16的重鏈變異區；SEQ ID NO: 4的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 17的重鏈變異區；SEQ ID NO: 5的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 18的重鏈變異區；SEQ ID NO: 6的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 19的重鏈變異區；SEQ ID NO: 7的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 20的重鏈變異區；SEQ ID NO: 8的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 21的重鏈變異區；SEQ ID NO: 9的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 22的重鏈變異區；SEQ ID NO: 10的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 23的重鏈變異區；SEQ ID NO: 11的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 24的重鏈變異區；SEQ ID NO: 12的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 25的重鏈變異區；或是SEQ ID NO: 13的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 26的重鏈變異區。在其他具體實施例，人類化免疫球蛋白結合至人類CD52上的抗原決定區，其與老鼠單株抗體所結合的抗原決定區重疊。

在其他具體實施例，本發明提供一種結合至人類CD52(例如，SEQ ID NO:104)上的抗原決定區之人類化免疫球蛋白，其包含成熟人類CD52序列的至少殘基1(於此殘基1為成熟人類CD52序列的N-端，亦即，N-端甘胺酸[G]殘基；參考第4圖)。人類化免疫球蛋白可結合至包含成熟人類CD52序列的至少殘基1、3、4及5的抗原決定區(這些殘基分別為甘胺酸[G]、天門冬胺酸[N]、天冬胺酸鹽[D]、及蘇胺酸[T])。人類化免疫球蛋白可結合至包含成熟人類CD52序列的至少殘基1、2、3、4及5的抗原決定區(這些殘基分別為甘胺酸[G]、麩醯胺[Q]、天門冬胺酸[N]、天冬胺

酸鹽[D]、及蘇胺酸[T])。在其他具體實施例，本發明係提供一種結合至人類CD52上的抗原決定區之人類化免疫球蛋白，其包含成熟人類CD52序列的至少殘基7、8及9(這些殘基分別為麩醯胺[Q]、蘇胺酸[T]、及絲胺酸[S])。在一些具體實施例，抗原決定區包含成熟人類CD52序列的至少殘基7(Q)、8(T)及11(P)。在一些具體實施例，抗原決定區包含成熟人類CD52序列的至少殘基4(D)及11(P)。

在一些具體實施例，本發明係提供一種結合至人類CD52的人類化免疫球蛋白，及其包含一種輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 118、及SEQ ID NO: 121所組成的群組中選出的一或更多CDRs(例如，所有三個該CDRs)，或是一種重鏈，其包含由SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 127、及SEQ ID NO: 130所組成的群組中選出的一或更多CDRs(例如，所有三個該CDRs)，或是此種輕鏈及此種重鏈都有。在其他具體實施例，本發明係提供一種結合至人類CD52的人類化免疫球蛋白，及其包含一種輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 119、及SEQ ID NO: 122所組成的群組中選出的一或更多CDRs(例如，所有三個該CDRs)，或是一種重鏈，其包含由SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 128、及SEQ ID NO: 131所組成的群組中選出的一或更多CDRs(例如，所有三個該CDRs)，或是此種輕鏈及此種重鏈都有。在進一步具體實施例，本發明係提供一種結合至人類CD52的人類化免疫球蛋白，及其包含一種輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO:

120、及SEQ ID NO: 123所組成的群組中選出的一或更多 CDRs(例如，所有三個該CDRs)，或是一種重鏈，其包含由SEQ ID NO: 126、SEQ ID NO: 129、及SEQ ID NO: 132所組成的群組中選出的一或更多 CDRs(例如，所有三個該CDRs)，或是此種輕鏈及此種重鏈都有。

在某些具體實施例，人類化免疫球蛋白包含一種輕鏈，其包含SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 118及SEQ ID NO: 121的CDRs及一種重鏈，其包含SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 127及SEQ ID NO: 130的CDRs。在其他具體實施例，人類化免疫球蛋白包含一種輕鏈，其包含SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 119及SEQ ID NO: 122的CDRs及一種重鏈，其包含SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 128及SEQ ID NO: 131的CDRs。在其他具體實施例，人類化免疫球蛋白包含一種輕鏈，其包含SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 120及SEQ ID NO: 123的CDRs及一種重鏈，其包含SEQ ID NO: 126、SEQ ID NO: 129及SEQ ID NO: 132的CDRs。

本發明人類化免疫球蛋白係與人類化免疫球蛋白 Campath®不同。

上文所提及SEQ ID NOs: 115-132的胺基酸序列係提供於下文，及係基於在本文他處所提供的表 1-6所報告的胺基酸序列。在這些胺基酸序列，「X」表示任何胺基酸，及符號「/」表示相臨該符號的胺基酸其中一個(或任何胺基酸)可存在於所指出位置(例如，K/R表示離胺酸或精胺酸殘基係存在於所指出位置及F/L/V指出苯丙胺酸丙胺酸、

白胺酸白胺酸或纈胺酸殘基係存在於所指出位置)。

輕鏈 CDR-1 序列

K/RSSQSLL/V/IXS/TN/DGXS/TYLY (SEQ ID NO:115)

K/RSSQSLL/V/IHS/TNGXS/TYLH (SEQ ID NO:116)

RSSQSLVHTNGNS/TYLH (SEQ ID NO:117)

輕鏈 CDR-2 序列

XVSXXXS (SEQ ID NO:118)

XVSXRXS (SEQ ID NO:119)

MVSXRFS (SEQ ID NO:120)

輕鏈 CDR-3 序列

XQXXH/R/KF/L/V/IXX (SEQ ID NO:121)

SQSXH/R/KF/L/V/IPX (SEQ ID NO:122)

SQSXHVPF/P (SEQ ID NO:123)

重鏈 CDR-1 序列

GFXFXXYW/YMX (SEQ ID NO:124)

GFTFXXYW/YMX (SEQ ID NO:125)

GFTFTDYW/YMS (SEQ ID NO:126)

重鏈 CDR-2 序列

XIRXKXBXYXTXYXXSVKG (SEQ ID NO:127)

XIRXKXNXYTTEYXXSVKG (SEQ ID NO:128)

FIRNKANGYTTEYXXSVKG (SEQ ID NO:129)

重鏈 CDR-3 序列

TXXXY/F/W (SEQ ID NO:130)

TRYXY/F/WFDY (SEQ ID NO:131)

TRYIF/WFDY (SEQ ID NO:132)

本發明亦相關於一種人類化輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 118、及SEQ ID NO: 121所組成的群組中選出的一或更多CDRs(例如，所有三個該CDRs)；一種人類化輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 119、及SEQ ID NO: 122所組成的群組中選出的一或更多CDRs(例如，所有三個該CDRs)；或是一種人類化輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 120、及SEQ ID NO: 123所組成的群組中選出的一或更多CDRs(例如，所有三個該CDRs)。

本發明亦相關於一種人類化重鏈，其包含由SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 127、及SEQ ID NO: 130所組成的群組中選出的一或更多CDRs(例如，所有三個該CDRs)；一種人類化重鏈，其包含由SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 128、及SEQ ID NO: 131所組成的群組中選出的一或更多CDRs(例如，所有三個該CDRs)；或是一種人類化重鏈，其包含由SEQ ID NO: 126、SEQ ID NO: 129、及SEQ ID NO: 132所組成的群組中選出的一或更多CDRs(例如，所有三個該CDRs)。

本發明人類化輕鏈及人類化重鏈與人類化免疫球蛋白Campath®的人類化輕鏈及人類化重鏈不同。

在一些本發明具體實施例，本發明的人類化免疫球蛋白(無論可能另外定義的方式，例如，無論它們是否亦以一或更多CDRs的順序定義及/或藉由與老鼠單株抗體或是另

一人類化免疫球蛋白的交叉反應性的方式定義)：(1) 顯現對於結合至醣化及去醣化CD52沒有任何明顯偏好；(2) 顯現對醣化CD52的結合專一性；(3) 顯現對去醣化CD52的結合專一性；或(4) 相較於醣化CD52顯現對去-醣化的結合偏好。在某些具體實施例，本發明的人類化免疫球蛋白對醣化人類CD52較對非-醣化或去-醣化人類CD52具有更大結合親和力。的確，在某些本發明的具體實施例，本發明人類化免疫球蛋白顯現對醣化人類CD52特定的結合。對非-醣化或去-醣化人類CD52的結合親和力可使用醣苷酶，例如使用內切醣苷酶PNGase-F，將成熟人類CD52去醣化來測定。在某些本發明具體實施例，本發明的人類化免疫球蛋白結合至包含其N-鍵結碳水化合物基團的成熟人類CD52上的抗原決定區。此碳水化合物基團為一種唾液酸化，含聚乳糖胺核心岩藻糖四天線 N-鍵結的低聚糖 (Treumann, A. 等., (1995) *J. Biol. Chem.* 270:6088-6099)。此抗原決定區亦可包含至少成熟人類CD52序列的殘基1，至少成熟人類CD52序列的殘基3，至少成熟人類CD52序列的殘基1、3、4及5，或是至少成熟人類CD52序列的殘基1、2、3、4及5。在一些具體實施例，本發明老鼠或嵌合抗體可具任何這些結合特徵。

亦提供編碼本發明人類化免疫球蛋白、人類化輕鏈或人類化重鏈的經分離核酸分子，如在本文他處所定義。在一些具體實施例，本發明為一種(一或更多)經分離核酸分子，其編碼人類化輕鏈及人類化重鏈(其在一起會形成具

有對人類CD52的結合專一性的人類化免疫球蛋白)，其中人類化輕鏈包含SEQ ID NO:3的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)及包含SEQ ID NO:16的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的重鏈；包含SEQ ID NO:4的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及包含SEQ ID NO:17的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的重鏈；包含SEQ ID NO:5的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及包含SEQ ID NO:18的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的重鏈；包含SEQ ID NO:6的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及包含SEQ ID NO:19的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的重鏈；包含SEQ ID NO:7的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及包含SEQ ID NO:20的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的重鏈；包含SEQ ID NO:8的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及包含SEQ ID NO:21的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的重鏈；包含SEQ ID NO:9的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及包含SEQ ID NO:22的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的重鏈；包含SEQ ID NO:10的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及包含SEQ ID NO:23的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的重鏈；包含SEQ ID NO:11的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的輕鏈及包含SEQ ID NO:24的一或更多CDRs (例如，所有三個CDRs)的重鏈；包含SEQ ID NO:12的一或

更多 CDRs (例如，所有三個 CDRs)的輕鏈及包含 SEQ ID NO:25 的一或更多 CDRs (例如，所有三個 CDRs)的重鏈；包含 SEQ ID NO:12 的一或更多 CDRs (例如，所有三個 CDRs)的輕鏈及包含 SEQ ID NO:137 的一或更多 CDRs (例如，所有三個 CDRs)的重鏈；或是包含 SEQ ID NO:13 的一或更多 CDRs (例如，所有三個 CDRs)的輕鏈及包含 SEQ ID NO:26 的一或更多 CDRs (例如，所有三個 CDRs)的重鏈序列。

在一些具體實施例，本發明為一種一或更多經分離核酸分子，其編碼人類化重鏈及人類化輕鏈(其在一起會形成具對人類 CD52 的特定結合的人類化免疫球蛋白)，其中該人類化免疫球蛋白結合至與老鼠單株抗體相同的位於人類 CD52 之抗原決定區，其包含 SEQ ID NO: 3 的輕鏈變異區及 SEQ ID NO: 16 的重鏈變異區；SEQ ID NO: 4 的輕鏈變異區及 SEQ ID NO: 17 的重鏈變異區；SEQ ID NO: 5 的輕鏈變異區及 SEQ ID NO: 18 的重鏈變異區；SEQ ID NO: 6 的輕鏈變異區及 SEQ ID NO: 19 的重鏈變異區；SEQ ID NO: 7 的輕鏈變異區及 SEQ ID NO: 20 的重鏈變異區；SEQ ID NO: 8 的輕鏈變異區及 SEQ ID NO: 21 的重鏈變異區；SEQ ID NO: 9 的輕鏈變異區及 SEQ ID NO: 22 的重鏈變異區；SEQ ID NO: 10 的輕鏈變異區及 SEQ ID NO: 23 的重鏈變異區；SEQ ID NO: 11 的輕鏈變異區及 SEQ ID NO: 24 的重鏈變異區；SEQ ID NO: 12 的輕鏈變異區及 SEQ ID NO: 25 的重鏈變異區；或是 SEQ ID NO: 13 的輕鏈變異區及 SEQ

ID NO: 26的重鏈變異區。在其他具體實施例，本發明為一種一或更多經分離核酸分子，其編碼人類化重鏈及人類化輕鏈(其關聯在一起而形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白)，其中該人類化免疫球蛋白結合至於人類CD52上的抗原決定區，此抗原決定區與老鼠單株抗體所結合的抗原決定區重疊。

在其他具體實施例，本發明為一種一或更多經分離核酸分子，其編碼人類化重鏈及人類化輕鏈(其在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白)，其中該人類化免疫球蛋白結合至包含至少成熟人類CD52的殘基1之抗原決定區；該人類化免疫球蛋白結合至包含至少成熟人類CD52的殘基1、3、4及5之抗原決定區；該人類化免疫球蛋白結合至包含至少成熟人類CD52的殘基1、2、3、4及5之抗原決定區；或是該人類化免疫球蛋白結合至包含至少成熟人類CD52的殘基7、8及9之抗原決定區。在一些具體實施例，該抗原決定區包含至少成熟人類CD52序列的殘基7、8及11。在一些具體實施例，該抗原決定區包含至少成熟人類CD52序列的殘基4及11。

在其他具體實施例，本發明為一種一或更多經分離核酸分子，其編碼人類化重鏈及人類化輕鏈(其在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白)，其中該人類化免疫球蛋白包含一種輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 118、及SEQ ID NO: 121所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)，及/或一種重

鏈，其包含由 SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 127、及 SEQ ID NO: 130所組成族群選出的一或更多 CDR(例如，所有三個該 CDR)；一種輕鏈，其包含由 SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 119、及 SEQ ID NO: 122所組成族群選出的一或更多 CDR(例如，所有三個該 CDR)，及/或一種重鏈，其包含由 SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 128、及 SEQ ID NO: 131所組成族群選出的一或更多 CDR(例如，所有三個該 CDRs)；或一種輕鏈，其包含由 SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 120、及 SEQ ID NO: 123所組成族群選出的一或更多 CDR(例如，所有三個該 CDR)，及/或一種重鏈，其包含由 SEQ ID NO: 126、SEQ ID NO: 129、及 SEQ ID NO: 132所組成族群選出的一或更多 CDR(例如，所有三個該 CDR)。

在特定具體實施例，本發明為一種一或更多經分離核酸分子，其編碼人類化重鏈及人類化輕鏈(其在一起會形成具對人類 CD52 的特定結合的人類化免疫球蛋白)，其中該人類化免疫球蛋白包含一種輕鏈，其包含 SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 118及 SEQ ID NO: 121 的 CDR 及一種重鏈，其包含 SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 127及 SEQ ID NO: 130 的 CDR；一種輕鏈，其包含 SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 119及 SEQ ID NO: 122 的 CDR 及一種重鏈，其包含 SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 128及 SEQ ID NO: 131 的 CDR；或一種輕鏈，其包含 SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 120及 SEQ ID NO: 123 的 CDR 及一種重鏈，其包含 SEQ ID

NO: 126、SEQ ID NO: 129及SEQ ID NO: 132的CDR。

本發明的一或更多核酸不編碼人類化免疫球蛋白
Campath®。

在其他具體實施例，本發明為一或更多經分離核酸分子，其編碼人類化重鏈及人類化輕鏈(其在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白)，其中該人類化免疫球蛋白對於糖化人類CD52較對於非-糖化或去-糖化人類CD52具有更大結合親和力，例如，顯現對糖化人類CD52特定的結合。人類化免疫球蛋白可結合至包含其N-鍵結碳水化合物基團的成熟人類CD52上的抗原決定區。此抗原決定區亦可包含至少成熟人類CD52序列的殘基1，至少成熟人類CD52序列的殘基3，至少成熟人類CD52序列的殘基1、3、4及5，或是至少成熟人類CD52序列的殘基1、2、3、4及5。

在其他具體實施例，本發明為一種經分離核酸分子，其編碼人類化輕鏈，其包含SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:13的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)，其中該人類化輕鏈不為Campath®的人類化輕鏈。

在其他具體實施例，本發明為一種經分離核酸分子，其編碼人類化重鏈，其包含SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、

SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、或SEQ ID NO:137的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)，其中該人類化重鏈不為Campath®的人類化重鏈。

在其他具體實施例，本發明為一種經分離核酸分子，其編碼人類化輕鏈，其包含由SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、及SEQ ID NO:48或是其組合所組成族群選出的一或更多CDR，其中該人類化輕鏈不為Campath®的人類化輕鏈。

在其他具體實施例，本發明為一種經分離核酸分子，其編碼人類化重鏈，其包含由SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、及SEQ ID NO: 294或是其組合所組成族群選出的一或更多

CDR，其中該人類化重鏈不為Campath®的人類化重鏈。

在其他具體實施例，本發明為一種經分離核酸分子，其編碼人類化輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 118、及SEQ ID NO: 121所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)；一種人類化輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 119、及SEQ ID NO: 122所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)；或是一種人類化輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 120、及SEQ ID NO: 123所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)。

在其他具體實施例，本發明為一種經分離核酸分子，其編碼人類化重鏈，其包含由SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 127、及SEQ ID NO: 130所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)；人類化重鏈，其包含由SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 128、及SEQ ID NO: 131所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)；或是人類化重鏈，其包含由SEQ ID NO: 126、SEQ ID NO: 129、及SEQ ID NO: 132所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)。

本發明亦相關於一種重組載體(例如，表現載體，其包含哺乳動物細胞表現載體)，其包含編碼本發明人類化免疫球蛋白(例如，人類化輕鏈及人類化重鏈)、人類化輕鏈、或人類化重鏈的核酸。在一些具體實施例，本發明為一種重組載體，其包含編碼人類化免疫球蛋白的核酸，人

類化免疫球蛋白包含含有SEQ ID NO:3的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的輕鏈及含有SEQ ID NO:16的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的重鏈；含有SEQ ID NO:4的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的輕鏈及含有SEQ ID NO:17的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的重鏈；含有SEQ ID NO:5的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的輕鏈及含有SEQ ID NO:18的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的重鏈；含有SEQ ID NO:6的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的輕鏈及含有SEQ ID NO:19的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的重鏈；含有SEQ ID NO:7的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的輕鏈及含有SEQ ID NO:20的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的重鏈；含有SEQ ID NO:8的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的輕鏈及含有SEQ ID NO:21的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的重鏈；含有SEQ ID NO:9的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的輕鏈及含有SEQ ID NO:22的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的重鏈；含有SEQ ID NO:10的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的輕鏈及含有SEQ ID NO:23的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的重鏈；含有SEQ ID NO:11的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的輕鏈及含有SEQ ID NO:24的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的重鏈；含有SEQ ID NO:12的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的輕鏈及含有SEQ ID NO:25的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)的重鏈；含有SEQ

ID NO:12的一或更多CDR(例如,所有三個CDR)的輕鏈及含有SEQ ID NO:137的一或更多CDR(例如,所有三個CDR)的重鏈;或是含有SEQ ID NO:13的一或更多CDR(例如,所有三個CDR)的輕鏈及含有SEQ ID NO:26的一或更多CDR(例如,所有三個CDR)的重鏈。

在其他具體實施例,重組載體包含編碼人類化輕鏈的核酸,其中該人類化輕鏈包含由SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、及SEQ ID NO:48或是其組合所組成族群選出的一或更多CDR,其中該人類化輕鏈不為Campath®的人類化輕鏈。

在其他具體實施例,重組載體包含編碼人類化重鏈的核酸,其中該人類化重鏈包含由SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、

及SEQ ID NO: 294或是其組合所組成族群選出的一或更多CDR，其中該人類化重鏈不為Campath®的人類化重鏈。

在一些具體實施例，本發明提供包含一個核酸分子的一個重組載體，或是包含編碼人類化重鏈及人類化輕鏈(其在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白)核酸分子的一對重組載體，其中該人類化免疫球蛋白結合至與老鼠單株抗體相同的位於人類CD52之抗原決定區，其中該老鼠單株抗體包含SEQ ID NO: 3的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 16的重鏈變異區；SEQ ID NO: 4的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 17的重鏈變異區；SEQ ID NO: 5的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 18的重鏈變異區；SEQ ID NO: 6的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 19的重鏈變異區；SEQ ID NO: 7的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 20的重鏈變異區；SEQ ID NO: 8的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 21的重鏈變異區；SEQ ID NO: 9的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 22的重鏈變異區；SEQ ID NO: 10的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 23的重鏈變異區；SEQ ID NO: 11的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 24的重鏈變異區；SEQ ID NO: 12的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 25的重鏈變異區；或是SEQ ID NO: 13的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 26的重鏈變異區。在其他具體實施例，本發明提供包含一個核酸分子的一個重組載體，或是包含編碼人類化重鏈及人類化輕鏈(其在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白)核酸分子的一對重組載體，其中該人類化免疫球蛋白結合至於人類CD52上

的抗原決定區，此抗原決定區與老鼠單株抗體所結合的抗原決定區重疊。

在其他具體實施例，該重組載體包含一個核酸分子，或是一對包含編碼人類化重鏈及人類化輕鏈(其在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白)核酸分子的重組載體，其中該人類化免疫球蛋白結合至包含至少成熟人類CD52的殘基1之抗原決定區；結合至包含至少成熟人類CD52的殘基1、3、4及5之抗原決定區；結合至包含至少成熟人類CD52的殘基1、2、3、4及5之抗原決定區；或是結合至包含至少成熟人類CD52的殘基7、8及9之抗原決定區。在一些具體實施例，該抗原決定區包含至少成熟人類CD52序列的殘基7、8及11。在一些具體實施例，該抗原決定區包含至少成熟人類CD52序列的殘基4及11。

在一些具體實施例，該重組載體包含一個核酸分子，或是一對包含編碼人類化重鏈及人類化輕鏈(其在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白)核酸分子的重組載體，其中該人類化免疫球蛋白包含含有由SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 118、及SEQ ID NO: 121所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)之一種輕鏈，及/或包含由SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 127、及SEQ ID NO: 130所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)的一種重鏈；包含由SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 119、及SEQ ID NO: 122所組成族群選出的一或更

多 CDR(例如, 所有三個該 CDR)的一種輕鏈, 及/或包含由 SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 128、及 SEQ ID NO: 131 所組成族群選出的一或更多 CDR(例如, 所有三個該 CDR)的一種重鏈; 或包含由 SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 120、及 SEQ ID NO: 123 所組成族群選出的一或更多 CDR(例如, 所有三個該 CDR)的一種輕鏈, 及/或包含由 SEQ ID NO: 126、SEQ ID NO: 129、及 SEQ ID NO: 132 所組成族群選出的一或更多 CDR(例如, 所有三個該 CDR)的一種重鏈。

在某些具體實施例, 該重組載體包含一個核酸分子, 或是一對包含編碼人類化重鏈及人類化輕鏈(其在一起會形成具對人類 CD52 的特定結合的人類化免疫球蛋白)核酸分子的重組載體, 其中該人類化免疫球蛋白包含含有 SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 118 及 SEQ ID NO: 121 的 CDR 之輕鏈及包含 SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 127 及 SEQ ID NO: 130 的 CDR 之重鏈; 包含 SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 119 及 SEQ ID NO: 122 的 CDR 之輕鏈及包含 SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 128 及 SEQ ID NO: 131 的 CDR 之重鏈; 或包含 SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 120 及 SEQ ID NO: 123 的 CDR 之輕鏈及包含 SEQ ID NO: 126、SEQ ID NO: 129 及 SEQ ID NO: 132 的 CDR 之重鏈。

在本發明重組載體或數個載體中的一或更多核酸不編碼人類化免疫球蛋白 Campath®。

在其他具體實施例, 該重組載體包含一個核酸分子, 或是一對編碼人類化重鏈及人類化輕鏈(其關聯在一起而形

成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白核酸分子的重組載體，其中該人類化免疫球蛋白對於醣化人類CD52較對於非-醣化或去-醣化人類CD52具有更大結合親和力，例如，顯現對於醣化人類CD52特定的結合。人類化免疫球蛋白可結合至包含其N-鍵結碳水化合物基團的成熟人類CD52上的抗原決定區。此抗原決定區亦可包含至少成熟人類CD52序列的殘基1，至少成熟人類CD52序列的殘基3，至少成熟人類CD52序列的殘基1、3、4及5，或是至少成熟人類CD52序列的殘基1、2、3、4及5。

在其他具體實施例，該重組載體包含一個核酸分子，其編碼人類化輕鏈，其包含SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:13的一或更多CDR(例如，所有三個該CDRs)，其中該人類化輕鏈不為Campath®的人類化輕鏈。

在其他具體實施例，該重組載體包含一個核酸分子，其編碼人類化重鏈，其包含SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、或SEQ ID NO: 137的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)，其中該人類化重鏈不為Campath®的人類化重鏈。

在其他具體實施例，該重組載體包含一個核酸分子，其

編碼人類化輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 118、及SEQ ID NO: 121所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)；一種人類化輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 119、及SEQ ID NO: 122所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)；或是一種人類化輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 120、及SEQ ID NO: 123所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)，其中該人類化輕鏈不為Campath®的人類化輕鏈。

在其他具體實施例，該重組載體包含一個核酸分子，其編碼包含由SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 127、及SEQ ID NO: 130所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)的一種人類化重鏈；包含由SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 128、及SEQ ID NO: 131所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)的一種人類化重鏈；包含由SEQ ID NO: 126、SEQ ID NO: 129及SEQ ID NO: 132所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)的一種人類化重鏈，其中該人類化重鏈不為Campath®的人類化重鏈。

在特定具體實施例，本發明重組載體為表現載體，例如哺乳動物細胞表現載體。在某些具體實施例，載體係為一種質粒或是病毒載體(例如，腺病毒或AAV載體)。

本發明亦相關於一種包含編碼本發明人類化免疫球蛋白(人類化輕鏈及人類化重鏈)、人類化輕鏈或人類化重鏈的

(一或更多)核酸(例如，重組)的宿主細胞。在一些具體實施例，該宿主細胞包含一種本發明重組載體(例如，表現載體，其包含哺乳動物細胞表現載體)。

在特定具體實施例，該宿主細胞包含一種編碼人類化輕鏈或人類化重鏈的核酸(一或更多核酸)，其中人類化輕鏈及人類化重鏈在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白及其中該人類化免疫球蛋白包含含有SEQ ID NO:3的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之輕鏈及含有SEQ ID NO:16的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之重鏈；含有SEQ ID NO:4的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之輕鏈及含有SEQ ID NO:17的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之重鏈；含有SEQ ID NO:5的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之輕鏈及含有SEQ ID NO:18的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之重鏈；含有SEQ ID NO:6的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之輕鏈及含有SEQ ID NO:19的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之重鏈；含有SEQ ID NO:7的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之輕鏈及含有SEQ ID NO:20的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之重鏈；含有SEQ ID NO:8的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之輕鏈及含有SEQ ID NO:21的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之重鏈；含有SEQ ID NO:9的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之輕鏈及含有SEQ ID NO:22的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之重鏈；含有SEQ ID NO:10的一或更多CDR(例

如，所有三個CDR)之輕鏈及含有SEQ ID NO:23的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之重鏈；含有SEQ ID NO:11的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之輕鏈及含有SEQ ID NO:24的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之重鏈；含有SEQ ID NO:12的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之輕鏈及含有SEQ ID NO:25的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之重鏈；含有SEQ ID NO:12的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之輕鏈及含有SEQ ID NO:137的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之重鏈；或含有SEQ ID NO:13的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之輕鏈及含有SEQ ID NO:26的一或更多CDR(例如，所有三個CDR)之重鏈序列。

在一些具體實施例，該宿主細胞包含編碼人類化重鏈及人類化輕鏈的一或更多核酸分子，其中人類化輕鏈及人類化重鏈在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白，其中該人類化免疫球蛋白結合至與老鼠單株抗體相同的位於人類CD52之抗原決定區，該老鼠單株抗體包含SEQ ID NO: 3的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 16的重鏈變異區；SEQ ID NO: 4的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 17的重鏈變異區；SEQ ID NO: 5的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 18的重鏈變異區；SEQ ID NO: 6的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 19的重鏈變異區；SEQ ID NO: 7的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 20的重鏈變異區；SEQ ID NO: 8的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 21的重鏈變異區；SEQ ID NO: 9的輕鏈變異

區及SEQ ID NO: 22的重鏈變異區；SEQ ID NO: 10的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 23的重鏈變異區；SEQ ID NO: 11的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 24的重鏈變異區；SEQ ID NO: 12的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 25的重鏈變異區；或是SEQ ID NO: 13的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 26的重鏈變異區。在其他具體實施例，該宿主細胞包含編碼人類化重鏈及人類化輕鏈的一或更多核酸分子，其中人類化輕鏈及人類化重鏈在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白，其中該人類化免疫球蛋白結合至與此種老鼠單株抗體所結合抗原決定區重疊的人類CD52上的抗原決定區。

在其他具體實施例，該宿主細胞包含編碼人類化重鏈及人類化輕鏈的一或更多核酸分子，其中人類化輕鏈及人類化重鏈在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白，其中該人類化免疫球蛋白結合至包含至少成熟人類CD52的殘基1之抗原決定區；結合至包含至少成熟人類CD52的殘基1、3、4及5之抗原決定區；結合至包含至少成熟人類CD52的殘基1、2、3、4及5之抗原決定區；或是結合至包含至少成熟人類CD52的殘基7、8及9之抗原決定區。在一些具體實施例，該抗原決定區包含至少成熟人類CD52序列的殘基7、8及11。在一些具體實施例，該抗原決定區包含至少成熟人類CD52序列的殘基4及11。

在一些具體實施例，該宿主細胞包含編碼人類化重鏈及人類化輕鏈的一或更多核酸分子，其中人類化輕鏈及人類

化重鏈在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白，其中該人類化免疫球蛋白包含一種輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 118、及SEQ ID NO: 121所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)，及/或一種重鏈，其包含由SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 127、及SEQ ID NO: 130所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)；一種輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 119、及SEQ ID NO: 122所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)，及/或一種重鏈，其包含由SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 128、及SEQ ID NO: 131所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)；或一種輕鏈，其包含由SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 120、及SEQ ID NO: 123所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)，及/或一種重鏈，其包含由SEQ ID NO: 126、SEQ ID NO: 129、及SEQ ID NO: 132所組成族群選出的一或更多CDR(例如，所有三個該CDR)。

在一些具體實施例，該宿主細胞包含編碼人類化重鏈及人類化輕鏈的一或更多核酸，其中人類化輕鏈及人類化重鏈在一起會形成具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白，其中該人類化免疫球蛋白包含含有SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 118及SEQ ID NO: 121的CDR之輕鏈及包含SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 127及SEQ ID NO: 130的CDR之重鏈；包含SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 119、

及 SEQ ID NO: 122 的 CDR 之輕鏈及包含 SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 128 及 SEQ ID NO: 131 的 CDR 之重鏈；或包含 SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 120 及 SEQ ID NO: 123 的 CDR 之輕鏈及包含 SEQ ID NO: 126、SEQ ID NO: 129 及 SEQ ID NO: 132 的 CDR 之重鏈。

在其他具體實施例，該宿主細胞包含編碼人類化重鏈及人類化輕鏈的一或更多核酸分子，其中人類化輕鏈及人類化重鏈在一起會形成具對人類 CD52 的特定結合的人類化免疫球蛋白，其中該人類化免疫球蛋白對於醣化人類 CD52 較對於非-醣化或去-醣化人類 CD52 具有更大結合親和力，例如，顯現對醣化人類 CD52 特定的結合。人類化免疫球蛋白可結合至包含其 *N*-鏈結碳水化合物基團的成熟人類 CD52 上的抗原決定區。此抗原決定區亦可包含至少成熟人類 CD52 序列的殘基 1，至少成熟人類 CD52 序列的殘基 3，至少成熟人類 CD52 序列的殘基 1、3、4 及 5，或是至少成熟人類 CD52 序列的殘基 1、2、3、4 及 5。

在一些具體實施例，該宿主細胞包含編碼人類化輕鏈的一種核酸分子，其包含 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12 或 SEQ ID NO:13 的一或更多 CDR（例如，所有三個 CDR）。該人類化輕鏈不為 Campath® 的人類化輕鏈。

在其他具體實施例，該宿主細胞包含編碼人類化重鏈的一種核酸分子，其包含 SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、

SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、或SEQ ID NO: 137的一或更多 CDR(例如，所有三個 CDR)。該人類化重鏈不為 Campath®的人類化重鏈。

在一些具體實施例，該宿主細胞包含編碼人類化輕鏈的一種核酸，其中該人類化輕鏈包含由SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、及SEQ ID NO:48或是其組合所組成族群選出的一或更多 CDR，其中該人類化輕鏈不為 Campath®的人類化輕鏈。

在其他具體實施例，該宿主細胞包含編碼人類化重鏈的一種核酸，其中該人類化重鏈包含由SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID

NO:74、及SEQ ID NO: 294或是其組合所組成族群選出的一或更多CDR，其中該人類化重鏈不為Campath®的人類化重鏈。

本發明亦關於一種具對人類CD52的特定結合的人類化免疫球蛋白之製備方法，其包含在適合人類化免疫球蛋白表現的條件下培養本發明宿主細胞(例如，包含編碼本發明人類化免疫球蛋白(例如，本發明人類化輕鏈及人類化重鏈)的一或更多重組核酸之宿主細胞)，藉以表現人類化免疫球蛋白鏈及製造人類化免疫球蛋白。在一些具體實施例，該方法進一步包含純化或分離人類化免疫球蛋白。在一些具體實施例，該方法進一步包含合併該經純化或分離人類化免疫球蛋白與生理上可接受媒劑或載體以製造醫藥組合物。

本發明亦關於一種具對人類CD52的特定結合的人類化輕鏈之製備方法，其包含在適合人類化輕鏈表現的條件下培養本發明宿主細胞(例如，包含編碼本發明人類化輕鏈的一或更多重組核酸之宿主細胞)，藉以表現人類化輕鏈及製造人類化輕鏈。在一些具體實施例，該方法進一步包含純化或分離人類化輕鏈。

本發明亦關於一種具對人類CD52的特定結合的人類化重鏈之製備方法，其包含在適合人類化重鏈表現的條件下培養本發明宿主細胞(例如，包含編碼本發明人類化重鏈的一或更多重組核酸之宿主細胞)，藉以表現人類化重鏈及製造人類化重鏈。在一些具體實施例，該方法進一步包

含純化或分離人類化重鏈。

本發明進一步關於一種醫藥組合物，其包含本發明人類化免疫球蛋白(例如，包含本發明人類化輕鏈及/或本發明人類化重鏈)及生理上可接受媒劑或載體。在一些具體實施例，該醫藥組合物包含一種單位劑量組合物。

本發明亦關於一種會分泌具對人類CD52的結合專一性的單株抗體之融合瘤細胞的製造方法，其包含將人類CD52的轉基因老鼠淋巴細胞至投與人類CD52轉基因老鼠相同或類似的族系(例如，CD1)的非-轉基因老鼠，藉以製造免疫、非-轉基因老鼠。該免疫，非-轉基因老鼠的脾細胞與永生細胞融合，藉以製造融合瘤細胞，該融合瘤細胞係培養在會分泌具對人類CD52的結合專一性的單株抗體之條件。在一些具體實施例，使用FACS分析以偵測會分泌具對人類CD52的結合專一性的單株抗體之融合瘤細胞。在其他具體實施例，轉基因老鼠族系及非-轉基因老鼠族系為相同的。在某些具體實施例，CD52為野生型人類CD52。在一些具體實施例，CD52轉基因老鼠及非-轉基因老鼠為CD1老鼠。在一些具體實施例，用於免疫的淋巴細胞係由人類CD52轉基因老鼠的脾臟得到。在一些具體實施例，永生細胞係由SP2/0 Ag14細胞及NS1骨髓瘤細胞所組成族群選出。本發明亦關於一種由本發明方法所製造的融合瘤細胞。選擇性地，收集由融合瘤細胞所分泌的單株抗體及進一步純化(例如，大體上純化，分離的)。在其他具體實施例，該方法進一步包含決定由融合瘤細胞所

分泌的單株抗體之核苷酸序列。

本發明亦關於一種於需要治療病人中自體免疫疾病(例如，多發性硬化症(MS)、類風濕關節炎(RA) (參看例如，*Nature Reviews Drug Discovery* 6: 75-92 (2007))、血管炎(參看例如，*Rheumatology* 39:229-237 (2000))、貝西氏病(BD) (參看例如，*Rheumatology* 42:1539-1544 (2003))、狼瘡及乳糜瀉(Vivas, S., 等，*N. Engl. J. Med.*, 354(23):2514-2515 (2006))、血管炎、乾癬、肌炎、硬化症、再生障礙性貧血、及結腸炎)治療方法，其包含投藥有效量的本發明人類化免疫球蛋白至病人。

在另一方面，有效量的本發明人類化免疫球蛋白可與一或更多免疫抑制劑一起投藥以使需要此種治療的病人準備進行固體器官移植(Agarwal 等，*Transplant Immunol.*, 20:6-11 (2008))或是CD34+ 幹細胞移植(Burt 等，*The Lancet*, published online January 30, 2009)。

本發明亦關於一種於需要治療病人的癌症治療方法，其包含投藥有效量的本發明人類化免疫球蛋白至病人。

本發明亦關於一種於需要治療病人的多發性硬化症治療方法，其包含投藥有效量的本發明人類化免疫球蛋白至病人。

本發明亦關於一種於需要治療病人的慢性淋巴性白血病治療方法，其包含投藥有效量的本發明人類化免疫球蛋白至病人。

本發明人類化免疫球蛋白的投藥可包含(例如，於醫藥

組合物)人類化免疫球蛋白本身的投藥，編碼人類化免疫球蛋白的一或更多重組載體之投藥，或是包含編碼人類化免疫球蛋白及表現人類化免疫球蛋白的一或更多核酸(例如，一或更多重組載體)的宿主細胞的投藥。

本發明亦關於一種由自體免疫疾病、癌症、非-何杰金氏淋巴瘤、多發性硬化症、狼瘡及慢性淋巴性白血病所組成族群選出的疾病之診斷方法，其包含使用本發明人類化免疫球蛋白活體外分析病人樣品。

本發明亦關於一種本發明人類化免疫球蛋白(例如，包含本發明人類化輕鏈及/或本發明人類化重鏈)、本發明重組載體、或是本發明宿主細胞，以用於藥物，例如用於治療及/或診斷疾病，例如用於治療此處所敘述疾病或失調例如自體免疫疾病(例如，多發性硬化症、類風濕關節炎、及狼瘡)、癌症、淋巴細胞超-增生情況(例如，包含白血病例如B-細胞慢性淋巴性白血病及淋巴瘤例如非-何杰金氏淋巴瘤的T或B細胞惡性腫瘤)。參考例如，Lundin, J. 等，*Blood*, 101:4267-4272 (2003)；Rodig, SJ. 等，*Clinical Cancer Research*, 12(23):7174-7179 (2006)。本發明亦關於人類化免疫球蛋白、本發明人類化輕鏈或人類化重鏈、本發明重組載體、或是本發明宿主細胞的使用，以用於製造治療此處所敘述疾病或失調(例如，自體免疫疾病、癌症、非-何杰金氏淋巴瘤、多發性硬化症、慢性淋巴性白血病)的藥物。

老鼠單株免疫球蛋白

本發明亦關於具人類CD52結合專一性的老鼠單株抗體(老鼠單株免疫球蛋白)。在一個具體實施例，本發明係關於具人類CD52結合專一性的老鼠單株抗體，其包含含有SEQ ID NO: 3的輕鏈及含有SEQ ID NO: 16的重鏈；含有SEQ ID NO: 4的輕鏈及含有SEQ ID NO: 17的重鏈；含有SEQ ID NO: 5的輕鏈及含有SEQ ID NO: 18的重鏈；含有SEQ ID NO: 6的輕鏈及含有SEQ ID NO: 19的重鏈；含有SEQ ID NO: 7的輕鏈及含有SEQ ID NO: 20的重鏈；含有SEQ ID NO: 8的輕鏈及含有SEQ ID NO: 21的重鏈；含有SEQ ID NO: 9的輕鏈及含有SEQ ID NO: 22的重鏈；含有SEQ ID NO: 10的輕鏈及含有SEQ ID NO: 23的重鏈；含有SEQ ID NO: 11的輕鏈及含有SEQ ID NO: 24的重鏈；含有SEQ ID NO: 12的輕鏈及含有SEQ ID NO: 25的重鏈或含有SEQ ID NO: 13的輕鏈及含有SEQ ID NO: 26的重鏈。

在一個具體實施例，具人類CD52結合專一性的老鼠單株抗體包含由 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12及SEQ ID NO:13所組成族群選出的輕鏈變異區，或是由SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的重鏈變異區，或是此種輕鏈變異區及此種重鏈變異區皆包含。

本發明亦關於一種老鼠免疫球蛋白輕鏈，其包含SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:13的變異區。

本發明亦關於一種老鼠免疫球蛋白重鏈，其包含SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25或SEQ ID NO:26的變異區。

較佳為，本發明老鼠單株抗體包含本發明老鼠抗體輕鏈及本發明老鼠抗體重鏈。在一些具體實施例，本發明提供一種老鼠單株免疫球蛋白，其結合至與老鼠單株抗體相同的位於人類CD52之抗原決定區，其包含SEQ ID NO: 3的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 16的重鏈變異區；SEQ ID NO: 4的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 17的重鏈變異區；SEQ ID NO: 5的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 18的重鏈變異區；SEQ ID NO: 6的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 19的重鏈變異區；SEQ ID NO: 7的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 20的重鏈變異區；SEQ ID NO: 8的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 21的重鏈變異區；SEQ ID NO: 9的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 22的重鏈變異區；SEQ ID NO: 10的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 23的重鏈變異區；SEQ ID NO: 11的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 24的重鏈變異區；SEQ ID NO: 12的輕鏈變異區及SEQ

ID NO: 25的重鏈變異區；或是SEQ ID NO: 13的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 26的重鏈變異區。在其他具體實施例，本發明提供一種老鼠單株免疫球蛋白，其結合至人類CD52上的抗原決定區，其與老鼠單株抗體所結合的抗原決定區重疊。

在其他具體實施例，本發明提供一種老鼠單株免疫球蛋白，其結合至人類CD52上的抗原決定區，其包含至少成熟人類CD52序列的殘基1。該老鼠單株免疫球蛋白可結合至包含至少成熟人類CD52序列的殘基1、3、4及5之抗原決定區，可結合至包含至少成熟人類CD52序列的殘基1、2、3、4及5之抗原決定區，或是可結合至包含至少成熟人類CD52序列的殘基7、8及9之抗原決定區。在一些具體實施例，該抗原決定區包含至少成熟人類CD52序列的殘基7、8及11。在一些具體實施例，該抗原決定區包含至少成熟人類CD52序列的殘基4及11。

本發明亦關於一種經分離核酸分子，其編碼本發明老鼠單株免疫球蛋白、老鼠免疫球蛋白輕鏈或老鼠免疫球蛋白重鏈。在一些具體實施例，本發明為一種經分離核酸分子，其編碼老鼠免疫球蛋白重鏈及老鼠免疫球蛋白輕鏈，它們在一起會形成具對人類CD52的特定結合的老鼠單株免疫球蛋白，其中該老鼠免疫球蛋白輕鏈包含由SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12及SEQ ID NO:13所組成族

群選出的變異區，或是該老鼠免疫球蛋白重鏈包含由SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的變異區，或是此種輕鏈及此種重鏈皆包含。

在一些具體實施例，該經分離核酸編碼老鼠免疫球蛋白輕鏈，其包含由SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12及SEQ ID NO:13所組成族群選出的變異區。

在其他具體實施例，該經分離核酸編碼老鼠免疫球蛋白重鏈，其包含由SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的變異區。

本發明亦相關於一種重組載體(例如，表現載體，其包含哺乳動物細胞表現載體)，其包含編碼本發明老鼠單株免疫球蛋白(例如，老鼠免疫球蛋白輕鏈及老鼠免疫球蛋白重鏈)、老鼠免疫球蛋白輕鏈、或老鼠免疫球蛋白重鏈的核酸。在一些具體實施例，本發明為包含編碼老鼠單株免疫球蛋白的核酸的一種重組載體，或一對包含編碼老鼠單株免疫球蛋白的核酸的重組載體，其包含由SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ

ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12及SEQ ID NO:13所組成族群選出的輕鏈變異區，或由SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的重鏈變異區，或是此種輕鏈變異區及此種重鏈變異區皆包含。

在其他具體實施例，該重組載體包含編碼老鼠免疫球蛋白輕鏈的核酸，其中該老鼠免疫球蛋白輕鏈包含SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:13。

在其他具體實施例，該重組載體包含編碼老鼠免疫球蛋白重鏈的核酸，其中該老鼠免疫球蛋白重鏈包含SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25或SEQ ID NO:26。

在其他具體實施例，該重組載體包含編碼老鼠免疫球蛋白輕鏈及老鼠免疫球蛋白重鏈的核酸，其中該老鼠免疫球蛋白輕鏈及老鼠免疫球蛋白重鏈在一起會形成具對人類CD52的特定結合的老鼠單株免疫球蛋白。在一個具體實施例，該老鼠免疫球蛋白輕鏈包含由SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、

SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12及SEQ ID NO:13所組成族群選出的變異區，及該老鼠單株免疫球蛋白重鏈包含由SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的變異區。

在特定具體實施例，本發明重組載體為一種表現載體，例如哺乳動物細胞表現載體。在某些具體實施例，載體係為一種質粒或是病毒載體(例如，腺病毒或AAV載體)。

本發明亦關於一種宿主細胞，其包含一種編碼本發明老鼠單株免疫球蛋白(老鼠免疫球蛋白輕鏈及老鼠免疫球蛋白重鏈)、老鼠免疫球蛋白輕鏈或老鼠單株免疫球蛋白重鏈的一或更多核酸。例如，在一些具體實施例，該宿主細胞包含一種本發明重組載體(例如，表現載體，哺乳動物細胞表現載體)。

在一些具體實施例，該宿主細胞包含一種編碼老鼠免疫球蛋白輕鏈及老鼠免疫球蛋白重鏈的核酸，其中該老鼠免疫球蛋白輕鏈及該老鼠免疫球蛋白重鏈在一起會形成具對人類CD52的特定結合的老鼠單株免疫球蛋白及其中該老鼠免疫球蛋白輕鏈包含由SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12及SEQ ID NO:13所組成族群選出的變異

區，及/或該老鼠免疫球蛋白重鏈包含由SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的變異區，或二者皆具。

在一些具體實施例，該宿主細胞包含一種編碼老鼠免疫球蛋白輕鏈的核酸，其中該老鼠免疫球蛋白輕鏈包含由SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12及SEQ ID NO:13所組成族群選出的輕鏈變異區。

在一些具體實施例，該宿主細胞包含一種編碼老鼠免疫球蛋白重鏈的核酸，其中該老鼠免疫球蛋白重鏈包含由SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的重鏈變異區。

本發明亦關於一種老鼠單株免疫球蛋白之製備方法，其包含在適合老鼠單株免疫球蛋白表現的條件下培養本發明宿主細胞(例如，包含編碼本發明老鼠單株免疫球蛋白(例如，老鼠免疫球蛋白輕鏈及老鼠免疫球蛋白重鏈)的一或更多重組核酸(例如，重組載體)之宿主細胞)，藉以表現老鼠單株免疫球蛋白鏈及製造老鼠單株免疫球蛋白。在一些具體實施例，該方法進一步包含純化或分離老鼠單株免疫

球蛋白。

本發明亦關於一種老鼠單株免疫球蛋白輕鏈之製備方法，其包含在適合該老鼠免疫球蛋白輕鏈表現的條件下培養本發明宿主細胞(包含編碼本發明老鼠免疫球蛋白輕鏈的核酸)，藉以表現輕鏈。在一些具體實施例，該方法進一步包含純化或分離該輕鏈。

本發明亦關於一種老鼠單株免疫球蛋白重鏈之製備方法，其包含在適合該老鼠免疫球蛋白重鏈表現的條件下培養本發明宿主細胞(包含編碼本發明老鼠免疫球蛋白重鏈的核酸)，藉以表現老鼠免疫球蛋白重鏈。在一些具體實施例，該方法進一步包含純化或分離該老鼠免疫球蛋白重鏈。

本發明亦關於一種疾病診斷方法(例如，自體免疫疾病、癌症、非-何杰金氏淋巴瘤、多發性硬化症及慢性淋巴性白血病)，其包含使用本發明老鼠單株免疫球蛋白活體外分析病人樣品(例如，Lundin, J. 等，*Blood*, 101:4267-4272 (2003)；Rodig, SJ 等，*Clin. Cancer res.*, 12(23):7174-717179 (2006))。

嵌合免疫球蛋白

本發明亦關於一種具對人類CD52的特定結合的嵌合免疫球蛋白，此種嵌合免疫球蛋白可包含本發明任何老鼠單株免疫球蛋白的變異區。在一個具體實施例，本發明嵌合免疫球蛋白包含SEQ ID NO: 3的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 16的重鏈變異區；SEQ ID NO: 4的輕鏈變異區及SEQ ID

NO: 17的重鏈變異區；SEQ ID NO: 5的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 18的重鏈變異區；SEQ ID NO: 6的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 19的重鏈變異區；SEQ ID NO: 7的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 20的重鏈變異區；SEQ ID NO: 8的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 21的重鏈變異區；SEQ ID NO: 9的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 22的重鏈變異區；SEQ ID NO: 10的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 23的重鏈變異區；SEQ ID NO: 11的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 24的重鏈變異區；SEQ ID NO: 12的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 25的重鏈變異區；或是SEQ ID NO: 13的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 26的重鏈變異區。

本發明亦關於一種具對人類CD52的特定結合的嵌合免疫球蛋白，其包含由下列所組成族群選出的輕鏈變異區序列：SEQ ID NO: 3的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 4的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 5的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 6的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 7的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 8的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 9的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 10的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 11的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 12的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 13的輕鏈變異區，及/或由下列所組成族群選出的重鏈變異區序列：SEQ ID NO: 16的重鏈變異區、SEQ ID NO: 17的重鏈變異區、SEQ ID NO: 18的重鏈變異區、SEQ ID NO: 19的重鏈變異區、SEQ ID NO: 20的重鏈變異區、SEQ ID NO: 21的重鏈變異區、SEQ ID NO: 22的重鏈變異區、SEQ ID NO: 23的重鏈變異

區、SEQ ID NO: 24的重鏈變異區、SEQ ID NO: 25的重鏈變異區及SEQ ID NO: 26的重鏈變異區。

本發明亦關於一種嵌合輕鏈，其包含由SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12及SEQ ID NO:13所組成族群選出的變異區。

本發明亦關於一種嵌合重鏈，其包含由 SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的變異區。

較佳為，本發明嵌合免疫球蛋白包含本發明嵌合輕鏈及本發明嵌合重鏈。

在一些具體實施例，本發明提供一種結合至與老鼠單株抗體相同的位於人類CD52之抗原決定區的嵌合免疫球蛋白，其包含SEQ ID NO: 3的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 16的重鏈變異區；SEQ ID NO: 4的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 17的重鏈變異區；SEQ ID NO: 5的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 18的重鏈變異區；SEQ ID NO: 6的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 19的重鏈變異區；SEQ ID NO: 7的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 20的重鏈變異區；SEQ ID NO: 8的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 21的重鏈變異區；SEQ ID NO: 9的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 22的重鏈變異區；SEQ ID NO: 10的

輕鏈變異區及SEQ ID NO: 23的重鏈變異區；SEQ ID NO: 11的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 24的重鏈變異區；SEQ ID NO: 12的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 25的重鏈變異區；或是SEQ ID NO: 13的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 26的重鏈變異區。在其他具體實施例，該嵌合免疫球蛋白結合至人類CD52上的抗原決定區，此抗原決定區與老鼠單株抗體所結合的抗原決定區重疊。

在其他具體實施例，本發明提供一種嵌合免疫球蛋白，其結合至人類CD52上的抗原決定區，其包含至少成熟人類CD52序列的殘基1。該嵌合免疫球蛋白可結合至包含至少成熟人類CD52序列的殘基1、3、4及5之抗原決定區，可結合至包含至少成熟人類CD52序列的殘基1、2、3、4及5之抗原決定區，或是可結合至包含至少成熟人類CD52序列的殘基7、8及9之抗原決定區於人類CD52上。在一些具體實施例，該抗原決定區包含至少成熟人類CD52序列的殘基7、8及11。在一些具體實施例，該抗原決定區包含至少成熟人類CD52序列的殘基4及11。

本發明亦關於一種經分離核酸分子，其編碼本發明嵌合免疫球蛋白、嵌合輕鏈或嵌合重鏈。在一些具體實施例，本發明為一種編碼嵌合重鏈及嵌合輕鏈的經分離核酸分子（一或更多核酸分子），嵌合重鏈及嵌合輕鏈在一起會形成具對人類CD52的特定結合的嵌合免疫球蛋白，其中該嵌合輕鏈包含由SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ

ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12及SEQ ID NO:13所組成族群選出的變異區；及/或該嵌合重鏈包含由SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的變異區。

在一些具體實施例，本發明為一種編碼嵌合輕鏈的經分離核酸分子，嵌合輕鏈包含 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:13的變異區。

在一些具體實施例，本發明為一種編碼嵌合重鏈的經分離核酸分子，嵌合重鏈包含SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25或SEQ ID NO:26的變異區。

本發明亦相關於一種重組載體(例如，表現載體，哺乳動物細胞表現載體)，其包含編碼本發明嵌合免疫球蛋白(嵌合輕鏈及嵌合重鏈)、嵌合輕鏈、或嵌合重鏈的核酸。在一些具體實施例，本發明為一種包含編碼嵌合免疫球蛋白的一種核酸的重組載體(或包含核酸的一對重組載體)，其包含由SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12及

SEQ ID NO:13所組成族群選出的輕鏈變異區；或由SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的重鏈變異區；或此種輕鏈及重鏈皆具。

在其他具體實施例，該重組載體包含編碼嵌合輕鏈的核酸，其中該嵌合輕鏈包含 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:13的變異區。

在其他具體實施例，該重組載體包含編碼嵌合重鏈的核酸，其中該嵌合重鏈包含 SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25或SEQ ID NO:26的變異區。

在特定具體實施例，本發明重組載體為一種表現載體，例如哺乳動物細胞表現載體。在某些具體實施例，載體係為一種質粒或是病毒載體(例如，腺病毒或AAV載體)。

本發明亦相關於一種包含編碼本發明嵌合免疫球蛋白(嵌合輕鏈及嵌合重鏈)、嵌合輕鏈或嵌合重鏈的一或更多核酸(例如，一或更多重組載體)的宿主細胞。例如，在一些具體實施例，宿主細胞包含一種本發明重組載體(例如，表現載體，哺乳動物細胞表現載體)。

在一些具體實施例，該宿主細胞包含編碼嵌合輕鏈及嵌合重鏈的一種重組核酸(或一對重組核酸)，其中該嵌合輕鏈及該嵌合重鏈在一起會形成具對人類CD52的結合專一性的嵌合免疫球蛋白，其中該嵌合輕鏈包含由SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12及SEQ ID NO:13所組成族群選出的變異區；及/或該嵌合重鏈包含由SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的變異區。

在一些具體實施例，該宿主細胞包含編碼嵌合輕鏈的重組核酸，其中該嵌合輕鏈包含由SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、及SEQ ID NO:13所組成族群選出的輕鏈變異區。

在一些具體實施例，該宿主細胞包含編碼嵌合重鏈的重組核酸，其中該嵌合重鏈包含由SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的重鏈變異區。

本發明亦關於一種嵌合免疫球蛋白之製備方法，其包含在適合嵌合免疫球蛋白表現的條件下培養本發明宿主細胞(例如，包含編碼本發明嵌合免疫球蛋白(例如，嵌合輕鏈及嵌合重鏈)的一或更多經分離核酸的宿主細胞)，藉以表現嵌合免疫球蛋白鏈及製造嵌合免疫球蛋白。在一些具體實施例，該方法進一步包含純化或分離嵌合免疫球蛋白。

本發明亦關於一種嵌合輕鏈之製備方法，其包含在適合該嵌合輕鏈表現的條件下培養本發明宿主細胞(例如，包含編碼本發明嵌合輕鏈的核酸之宿主細胞)，藉以表現嵌合輕鏈及製造嵌合輕鏈。在一些具體實施例，該方法進一步包含純化或分離該嵌合輕鏈。

本發明亦關於一種嵌合重鏈之製備方法，其包含在適合該嵌合重鏈表現的條件下培養本發明宿主細胞(例如，包含編碼本發明嵌合重鏈的核酸之宿主細胞)，藉以表現嵌合重鏈及製造嵌合重鏈。在一些具體實施例，該方法進一步包含純化或分離該嵌合重鏈。

本發明亦關於一種由自體免疫疾病、癌症、非-何杰金氏淋巴瘤、多發性硬化症及慢性淋巴性白血病所組成族群選出的疾病之診斷方法，其包含使用本發明嵌合免疫球蛋白活體外分析病人樣品。

本發明亦關於一種單株抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體的輕鏈及重鏈所包含三個互補決定區段(CDR)的發現是：分別在SEQ ID NO: 3及16；分別在SEQ ID NO: 4及17；分別在SEQ ID NO: 5及18；分別在SEQ ID

NO: 6及19；分別在SEQ ID NO: 7及20；分別在SEQ ID NO: 8及21；分別在SEQ ID NO: 9及22；分別在SEQ ID NO: 10及23；分別在SEQ ID NO: 11及24；分別在SEQ ID NO: 12及25；分別在SEQ ID NO: 12及137；或分別在SEQ ID NO: 13及26。在一些具體實施例，本發明亦關於一種結合至與上文單株抗體或抗原-結合部分相同的位於人類CD52抗體之抗原決定區。在一些具體實施例，本發明亦關於一種與上文單株抗體或抗原-結合部分競爭的抗體。在一些具體實施例，本發明亦關於一種與上文單株抗體或抗原-結合部分互相競爭的抗體。

在一些具體實施例，任何上文抗體或抗原-結合部分結合至包含SEQ ID NO: 104的胺基酸序列，及該抗體或部分至SEQ ID NO: 104的結合係由在SEQ ID NO: 104的殘基4、7、8、或11的丙胺酸取代所還原。

在一些具體實施例，抗體係為一種人類化抗體、老鼠抗體、或嵌合抗體。在某些具體實施例，該抗體重鏈的骨架區利用VH3-72或VH3-23人類生殖株序列及該抗體輕鏈的骨架區利用VK2 A18b人類生殖株序列。

在一些具體實施例，本發明係關於一種單株抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體包含重鏈(H)-CDR1、H-CDR2、H-CDR3，輕鏈(L)-CDR1、L-CDR2、及L-CDR3，其胺基酸序列分別為SEQ ID NO: 51、59、69、29、36及43；分別為SEQ ID NO: 50、60、69、29、37及43；分別為SEQ ID NO: 50、61、68、29、38及43；分別

為 SEQ ID NO: 50、61、69、29、36及43；分別為 SEQ ID NO: 50、62、69、29、39及43；分別為 SEQ ID NO: 52、61、70、30、40及43；分別為 SEQ ID NO: 53、63、71、31、36及44；分別為 SEQ ID NO: 54、64、71、31、36及45；分別為 SEQ ID NO: 55、63、72、31、36及46；分別為 SEQ ID NO: 56、65、73、32、41及47；分別為 SEQ ID NO: 56、65、294、32、41及47；或分別為 SEQ ID NO: 56、66、74、33、41及48。

在一些具體實施例，本發明係關於一種單株抗-人類 CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體輕鏈及重鏈分別包含 SEQ ID NO: 3及16；分別包含 SEQ ID NO: 4及17；分別包含 SEQ ID NO: 5及18；分別包含 SEQ ID NO: 6及19；分別包含 SEQ ID NO: 7及20；分別包含 SEQ ID NO: 8及21；分別包含 SEQ ID NO: 9及22；分別包含 SEQ ID NO: 10及23；分別包含 SEQ ID NO: 11及24；分別包含 SEQ ID NO: 12及25或分別包含 SEQ ID NO: 13 及26的胺基酸序列。

在一些具體實施例，本發明係關於一種單株抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體的重鏈及輕鏈分別包含 SEQ ID NO: 103及102；分別包含 SEQ ID NO: 136及138；分別包含 SEQ ID NO: 137及138；分別包含 SEQ ID NO: 139及147；分別包含 SEQ ID NOs: 149及155；分別包含 SEQ ID NO: 149 及156；分別包含 SEQ ID NO: 158及165；分別包含 SEQ ID NO: 158及166；分別包含 SEQ ID NO: 159及

165；分別包含SEQ ID NO: 159及166；分別包含SEQ ID NO: 161及166；或分別包含SEQ ID NO: 163及166的胺基酸序列。在一些具體實施例，本發明係關於一種結合至與上述單株抗體或其抗原-結合部分相同的位於人類CD52之抗體的抗原決定區。在一些具體實施例，本發明係關於一種與上述單株抗體或其抗原-結合部分競爭之抗體。在一些具體實施例，本發明係關於一種與上述單株抗體或其抗原-結合部分交互競爭之抗體。

在某些具體實施例，本發明係關於一種單株抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體的重鏈及輕鏈分別包含SEQ ID NO: 272及273的胺基酸序列，且無信號序列。在某些具體實施例，本發明係關於一種單株抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體的重鏈及輕鏈分別包含SEQ ID NO: 274及275的胺基酸序列，且無信號序列。在某些具體實施例，本發明係關於一種單株抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體的重鏈及輕鏈分別包含SEQ ID NO: 276及278的胺基酸序列，且無信號序列。在某些具體實施例，本發明係關於一種單株抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體的重鏈及輕鏈分別包含SEQ ID NO: 277及278的胺基酸序列，且無信號序列。在某些具體實施例，本發明係關於一種單株抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體的重鏈及輕鏈分別包含SEQ ID NO: 279及280的胺基酸序列，且無信號序列。在某些具體實施例，本發明係關於一種單株

抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體的重鏈及輕鏈分別包含SEQ ID NO: 281及282的胺基酸序列，且無信號序列。

在一些具體實施例，本發明係關於一種單株抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體的輕鏈包含由SEQ ID NOs: 102、138、145-148、153-157及164-168所組成族群選出的胺基酸序列。在某些具體實施例，本發明係關於一種單株抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體的輕鏈包含由SEQ ID NOs: 273、275、278、280及282所組成族群選出的胺基酸序列，且無信號序列。在某些具體實施例，本發明係關於一種抗體的輕鏈或其抗原-結合部分，其包含由SEQ ID NOs: 102、138、145-148、153-157、164-168、273、275、278、280及282所組成族群選出的胺基酸序列，且無信號序列若存在。

在一些具體實施例，本發明係關於一種單株抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體的重鏈包含由SEQ ID NOs: 103、136、137、139-144、149-152及158-163所組成族群選出的胺基酸序列。在某些具體實施例，本發明係關於一種單株抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分，其中該抗體的重鏈包含由SEQ ID NOs: 272、274、276、277、279及281所組成族群選出的胺基酸序列，且無信號序列。在某些具體實施例，本發明係關於一種抗體重鏈或其部分，其包含由SEQ ID NOs: 103、136、137、139-144、149-152、158-163、272、274、276、277、279及281

所組成族群選出的胺基酸序列，且無信號序列若存在。

在一些具體實施例，任何上述抗體可為IgG、IgM、IgA、IgD或IgE分子。在某些具體實施例，該IgG為IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4。

在一些具體實施例，任何上述抗原-結合部分可為單一鏈抗體、Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、單一鏈Fv分子(scFv)、雙特定單一鏈Fv二聚體、雙鏈抗體、區域缺失抗體或單域抗體(dAb)。

本發明亦關於任何上述抗體或抗原-結合部分，其中該抗體或抗原-結合部分消耗 T或 B淋巴細胞，或二者；與B淋巴細胞相較，較佳為消耗T淋巴細胞；增加TNF、IL-6、或MCP-1的循環血清含量；媒介CD52-表現細胞的抗體-依賴細胞介導性細胞毒性(ADCC)；媒介CD52-表現細胞的補體依賴細胞毒性(CDC)；及/或促進人類T及/或B細胞的細胞內發信號。

本發明進一步關於一種編碼任何上述抗體的重鏈或其抗原-結合部分，或是輕鏈或其抗原-結合部分之經分離核酸。在一些具體實施例，該經分離核酸包含由SEQ ID NOs: 283、285、287、288、290及292所組成族群選出的重鏈核苷酸序列，或是該核苷酸序列不具編碼信號胜肽的序列；由SEQ ID NOs: 284, 286, 289, 291及293所組成族群選出的輕鏈核苷酸序列，或是該核苷酸序列不具編碼信號胜肽的序列；或是該重鏈核苷酸序列及該輕鏈核苷酸序列皆包含。在某些具體實施例，該經分離核酸所包含重鏈核

甘酸序列與輕鏈核苷酸序列分別由SEQ ID NO: 283及SEQ ID NO: 284所組成族群選出，皆不具編碼信號胜肽的序列；分別由SEQ ID NO: 285及SEQ ID NO: 286所組成族群選出，皆不具編碼信號胜肽的序列；分別由SEQ ID NO: 287及SEQ ID NO: 289所組成族群選出，皆不具編碼信號胜肽的序列；分別由SEQ ID NO: 288 及SEQ ID NO: 289所組成族群選出，皆不具編碼信號胜肽的序列；分別由SEQ ID NO: 290及SEQ ID NO: 291所組成族群選出，皆不具編碼信號胜肽的序列；及分別由SEQ ID NO: 292及SEQ ID NO: 293所組成族群選出，皆不具編碼信號胜肽的序列。

本發明亦關於使用包含重鏈核苷酸序列的經分離核酸及包含輕鏈核苷酸序列的經分離核酸以製造治療需要此種治療的病人之藥物，其中該重鏈核苷酸序列及該輕鏈核苷酸序列係由分別由SEQ ID NO: 283及SEQ ID NO: 284所組成族群選出，皆不具編碼信號胜肽的序列；分別由SEQ ID NO: 285及SEQ ID NO: 286所組成族群選出，皆不具編碼信號胜肽的序列；分別由SEQ ID NO: 287及SEQ ID NO: 289所組成族群選出，皆不具編碼信號胜肽的序列；分別由SEQ ID NO: 288 及SEQ ID NO: 289所組成族群選出，皆不具編碼信號胜肽的序列；分別由SEQ ID NO: 290及SEQ ID NO: 291所組成族群選出，皆不具編碼信號胜肽的序列；及分別由SEQ ID NO: 292及SEQ ID NO: 293所組成族群選出，皆不具編碼信號胜肽的序列。

本發明亦關於一種重組載體，其包含(1)編碼任何上述抗體的重鏈或其抗原-結合部分的核酸序列，(2)編碼任何上述抗體的輕鏈或其抗原-結合部分的核酸序列，或(3)二者。本發明進一步關於一種宿主細胞，其包含：編碼任何上述抗體的重鏈或其抗原-結合部分的第一核酸序列，該第一核酸序列操作地鏈結至表現控制因子；及編碼該抗體的輕鏈或其抗原-結合部分的第二核酸序列，該第二核酸序列操作地鏈結至表現控制因子。本發明係關於一種抗-人類CD52抗體或其抗原-結合部分的製造方法，其包含維持該宿主細胞在適合該抗體或部分表現的條件下，及亦關於該方法，其進一步包含分離該抗體或部分的步驟。

本發明係關於一種組合物，其包含根據申請專利範圍第1-24項中任一項的單株抗體或抗原-結合部分及醫藥可接受媒劑或載體。

在一些具體實施例，本發明係關於一種需要此種治療的病人之治療方法，其包含投藥有效量的任何上述抗體或抗原-結合部分，或是上述組合物予病人。在某些具體實施例，該病人正接受移植。

在一些具體實施例，本發明係關於一種需要自體免疫疾病治療的病人之治療方法，其包含投藥有效量的任何上述抗體或抗原-結合部分，或是上述組合物予病人。在某些具體實施例，該自體免疫疾病為，例如，多發性硬化症、風濕性關節炎、或系統性紅斑狼瘡。

在一些具體實施例，本發明係關於一種需要癌症治療的

病人之治療方法，其包含投藥有效量的任何上述抗體或抗原-結合部分，或是上述組合物予病人。在某些具體實施例，該癌症為，例如，具巨大腫瘤的非-何杰金氏淋巴瘤；B-細胞慢性淋巴性白血病；T細胞惡性腫瘤，其中與B細胞相較，該抗體或部分較佳為消耗T細胞；或是實體腫瘤。

在一些具體實施例，任何上述治療方法進一步包含投藥嗜中性球或NK細胞刺激劑予病人。在某些具體實施例，該藥劑係為G-CSF或GM-CSF。在一些具體實施例，任何上述治療方法進一步包含投藥T調節細胞刺激劑予病人。在某些具體實施例，該藥劑係為雷帕黴素。

在一些具體實施例，本發明係關於一種有需要的病人中血管新生抑制方法，其包含投藥有效量的任何上述抗體或抗原-結合部分予病人。在某些具體實施例，該病人具實體腫瘤。在某些具體實施例，該病人具血管新生。在某些具體實施例，該血管新生係在眼睛。

本發明亦關於使用任何上述抗體或抗原-結合部分以製造治療有需要病人中自體免疫疾病之藥物。更進一步，本發明係關於使用任何上述抗體或抗原-結合部分以製造治療有需要病人中癌症之藥物。本發明係關於使用任何上述抗體或抗原-結合部分以製造治療有需要移植的病人之藥物。本發明係關於使用任何上述抗體或抗原-結合部分以製造治療有需要病人中血管新生之藥物。

本發明亦關於使用任何上述抗體或抗原-結合部分做為

藥物。

【實施方式】

CD52為一種醣化，GPI錨定細胞表面富含蛋白(約 5×10^5 個抗體結合部位每個細胞)，其存在於至少95%的所有人類週邊血液淋巴細胞及單核細胞/巨噬細胞(Hale G,等「The CAMPATH-1 antigen (CD52),」*Tissue Antigens*, 35:178-327 (1990))，但是不存在於造血幹細胞。本發明係關於具結合至或選擇性結合至人類CD52或其部份的結合專一性(例如，抗原決定區專一性)免疫球蛋白(抗-CD52)。這些免疫球蛋白特定地結合至CD52，及不會特定地結合至非-CD52分子。在抗-CD52免疫球蛋白及CD52之間的特定結合可由，例如，使用流式細胞計數法測量免疫球蛋白結合至CD52+細胞的 EC_{50} 而決定。特定結合可由例如0.5-10微克/毫升的 EC_{50} 範圍所顯示。此處所敘述免疫球蛋白可具所有或部份人類CD52的結合專一性，其中人類CD52為經分離的及/或重組人類CD52，或是於表現人類CD52的細胞表面。此外，免疫球蛋白可具一或更多型式的人類CD52(例如，經醣化人類CD52；去-醣化人類CD52；非-醣化人類CD52；及對偶基因變異體)的結合專一性。在一個具體實施例，免疫球蛋白具自然發生，內源型或野生型人類CD52的結合專一性。野生型人類CD52的胺基酸序列說明於第4圖(SEQ ID NO: 104)。

此處所敘述免疫球蛋白可使用已知技術純化或分離。

「純化」或"分離"的免疫球蛋白已自其起源(例如，細胞上

層清液；於混合物中，例如於抗體庫的免疫球蛋白的混合物中)分子(例如，肽)分開，及包含由此處所敘述方法或其他合適方法所得到的免疫球蛋白。經分離免疫球蛋白包含大體上純的(實質上純的)免疫球蛋白，及由化學合成，重組技術及其組合所製造的免疫球蛋白。

更特定言之，本發明係關於抗-人類CD52免疫球蛋白、免疫球蛋白的抗原-結合片段(亦即，部分)、免疫球蛋白的輕鏈、免疫球蛋白的重鏈、及這些輕鏈或重鏈的片段。本發明亦關於成熟免疫球蛋白或其鏈，例如醣化免疫球蛋白。本發明亦關於成熟或前驅體免疫球蛋白(蛋白)。本發明亦關於編碼這些不成熟或成熟蛋白的核酸分子(例如，載體)，關於包含此種核酸的載體及宿主細胞，關於不成熟及成熟蛋白的製造方法及關於免疫球蛋白的使用方法。

本發明免疫球蛋白可用於治療需要的個體(例如，人類病人)以消耗個體的淋巴細胞及依所需其他CD52+細胞。當用於此處時，「淋巴細胞消耗」為一種藉由減少循環淋巴細胞族群(例如，T細胞及/或B細胞)而造成淋巴細胞減少的免疫抑制形式。本發明免疫球蛋白亦可用於抑制血管新生，如於下文進一步敘述。

自然發生的免疫球蛋白具共同核心結構，其中兩個相同輕鏈(約24 kD)及兩個相同重鏈(約55或70 kD)形成一個四聚物。每一個鏈的胺基-端部份係已知為變異(V)區及可與每一個鏈的其餘部分更守恆的恆定(C)區分別。在輕鏈變異區(亦稱為V_L域)內為已知為J區域的C-端部分。在重鏈變

異區(亦稱為 V_H 域)內，除了J區域還有D區域。在免疫球蛋白的大部分胺基酸序列變異侷限為在V區域的三個個別位置，其稱為高變異區或互補決定區段(CDR)，其係直接涉及抗原結合。自胺基-端開始，這些區段係分別命名為CDR1、CDR2及CDR3。這些CDR係藉由更守恆的骨架區(FR)固定於所在處。自胺基-端開始，這些區段係分別命名為FR1、FR2、FR3及FR4。CDR及FR區段的位置及編號系統已由Kabat等(Kabat, E.A., *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Government Printing Office (1991), Chothia & Lesk, *Canonical Structures for the Hypervariable Regions of Immunoglobulins*, J. Mol. Biol., 196, 901-917 (1987)，及IMGT®編號系統(The International ImMunoGeneTics Information Ssystem®, Lefranc, M.-P., *The Immunologist* 7, 132-136 (1999)定義。可執行視覺檢查及序列分析以辨識CDR邊際。對於本發明，CDR係藉由使用Kabat系統及IMGT系統而定義；亦即，當由該兩個系統定義的CDR未完全重疊，我們包含來自由該兩個系統所定義序列的殘基。

依據重鏈的同種型而定，人類免疫球蛋白可分為分為類及亞類，類包含IgG、IgM、IgA、IgD及IgE，其中重鏈分別為gamma (γ)、mu (μ)、alpha (α)、delta (δ)或epsilon (ϵ)型式。亞類包含IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及

IgA2，其中重鏈分別為 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、 $\gamma 3$ 、 $\gamma 4$ 、 $\alpha 1$ 及 $\alpha 2$ 型式。所選擇類或亞類的人類免疫球蛋白分子可包含 kappa (κ)或 lambda (λ) 輕鏈。參考例如 *Cellular and Molecular Immunology*, Wonsiewicz, M.J., Ed., Chapter 45, pp. 41-50, W. B. Saunders Co., Philadelphia, PA 91991); Nisonoff, A., *Introduction to Molecular Immunology*, 2nd Ed., Chapter 4, pp. 45-65, Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA (1984)。

當用於此處時，名稱「免疫球蛋白」及「抗體」，其係交互使用來表示整體抗體及抗原-結合片段(亦即，"抗原-結合部份"-除非另外指出，否則於此處該兩個名稱係互換使用)。抗體的抗原-結合部份可為例如單鏈抗體、Fv片段、Fab片段、Fab'片段、F(ab')₂片段、Fd片段、單鏈Fv分子(scFv)、雙特定單鏈Fv二聚體(PCT/US92/09665)、雙鏈抗體、區域缺失抗體及單域抗體(dAbs)的格式。參考例如，*Nature Biotechnology* 22(9):1161-1165 (2004))。亦在本發明範圍內的是包含VH及/或VL的抗原-結合分子。在VH的情況，分子亦可包含一或更多CH1、銜接處、CH2及CH3區域。意欲包含此種單鏈抗體於"抗原-結合部份"的名稱抗體內。

抗體部份或片段可由酶催化裂解或由重組技術製造。例如，可使用木瓜酵素或胃蛋白酶裂解以分別產生Fab或F(ab')₂片段。亦可使用已引入一或更多中止密碼子於天然終止部位上游的抗體基因以各種截短樣式製造抗體。例

如，編碼F(ab')₂片段的重鏈之重組構成物可設計為包含編碼重鏈的CH₁域及鉸鏈區的DNA序列。較佳抗原-結合片段具野生型人類CD52的結合專一性。

在另一方面，本發明提供一種抗體或此處所敘述部份的變化，其中該變化物特定地結合至人類CD52，但與參考抗體或其部份差異為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個胺基酸取代(例如，在CDR區域、FR區域、或侷限區域)。例如，變化抗體為於重鏈、重鏈變異區、輕鏈、或輕鏈變異區至少90%、至少91%、至少93%、至少95%、至少97%或至少99%相同於參考抗體。

多肽的序列相似性或同源性，其亦稱為序列同源性，典型上係使用序列分析軟體測量。蛋白分析軟體使用指派為各種取代、消除及其他修飾(包含保守型胺基酸取代)的相似性度量。來符合類似序列。舉例而言，GCG包含諸如"Gap"及"Bestfit"的程式，其可使用預設參數以決定緊密相關多肽(例如得自不同有機物種的同系多肽)之間或是野生型蛋白及其突變蛋白之間的序列同源性或序列一致性。參看例如GCG 6.1版。亦可使用利用預設或建議參數的FASTA(GCG 6.1版的程式)比較多肽序列。FASTA(例如，FASTA2及FASTA3)提供欲排列序列及搜尋序列之間的最佳重疊區域的排列及百分率序一致性(Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990); Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219 (2000))。當比較本發明序列與包含大量來自不同有機體的序列之資料庫時，另一種較佳演算法為電腦

程式 BLAST，特別是 blastp 或 tblastn，其係使用預設參數。參看例如 Altschul 等，J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)；Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-402 (1997)；此處併入做為參考。

根據本發明，可進行的一種型式的胺基酸取代為變更抗體中一或更多半胱氨酸(其可為化學反應性的)為另一種殘基物(例如而不限於丙胺酸或絲胺酸)。在一個具體實施例，存在非-正則半胱氨酸的取代反應。取代反應可在抗體的 CDR 或變異區的骨架區中或在恆定區中進行。在一些具體實施例，半胱氨酸為正則的。可進行的另一種型式的胺基酸取代為移除抗體中潛在蛋白酵素部位。此種部位可發生於抗體的 CDR 或變異區的骨架區中或於恆定區中。半胱氨酸殘基物的取代反應及蛋白酵素部位的移除會減少抗體產物中不均勻性的風險及於是增加其均勻性。另一種型式的胺基酸取代為藉由變更殘基的一個或二者而消除天門冬胺酸-甘胺酸對，其形成潛在去醯胺化部位。在本發明另一方面，可使用敘述於例如 PCT 公開 WO98/52976 及 WO00/34317 的技術去免疫型抗體以減少其致免疫性。

可在根據本發明變化中的一個進行的另一種型式的胺基酸取代為保守型胺基酸取代反應。"保守型胺基酸取代反應"為一種胺基酸殘基由具類似化學性質(例如，電荷或疏水性)的側鏈 R 基的另一個胺基酸殘基所取代的取代反應。一般，保守型胺基酸取代反應大體上不會變更蛋白的功能性質。在二或更多胺基酸序列因保守型取代反應彼此不同

的情況，可向上調整百分率序列一致性或相似度以修正取代反應的保守本質。進行此調整的方式為熟知該技藝者所已知。參看例如 Pearson, *Methods Mol. Biol.* 243:307-31 (1994)。

具類似化學性質側鏈的胺基酸實例包含 1) 脂族側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、及異白胺酸；2) 脂族-羥基側鏈：絲氨酸及蘇胺酸；3) 含醯胺側鏈：天門冬胺酸及麩醯胺；4) 芳香族側鏈：苯丙胺酸、酪氨酸、及色氨酸；5) 鹼式側鏈：離胺酸、精胺酸、及組氨酸；6) 酸式側鏈：門冬氨酸及谷氨酸；及 7) 含硫側鏈：半胱氨酸及蛋氨酸。較佳保守型胺基酸取代反應組為：纈胺酸-白胺酸、異白胺酸、苯丙胺酸、丙胺酸-酪氨酸、離胺酸-精胺酸、丙胺酸-纈胺酸、麩胺酸-天冬氨酸、及天門冬胺酸-麩醯胺。或者是，保守型置換反應為在揭示於 *Science* 256:1443-45 (1992) 的 PAM250 對數似矩陣中具正值的任何變更 (Gonnet 等)。“中度保守型”置換為在 PAM250 對數似矩陣具非負值的任何變更。

在某些具體實施例，對本發明抗體或抗原-結合部分的胺基酸取代反應為：(1) 減少對蛋白質水解的敏感性，(2) 減少對氧化反應的敏感性，(3) 改變對形成蛋白複合物的結合親合力，例如，以增強抗體的 ADCC 及 CDC 活性，(4) 賦予或修飾此種類似物的其他物理化學或功能性質，但仍保留至人類 CD52 的特定結合，(5) 移除 C-端離胺酸，及 (6) 增加或移除醣化部位。

在一方面，本發明提供一種為本發明抗體的重或輕鏈的新型及新穎多肽，或是其為重或輕鏈的含變異區部分。此種多肽為有用的因為其可與相對(輕或重)抗體鏈組合以形成CD52-結合分子。

人類化免疫球蛋白

此處所敘述為包含新穎老鼠抗-人類CD52抗體CDRs的人類化免疫球蛋白。在一個具體實施例，人類化免疫球蛋白包含具與抗-CD52抗體其他人類化類型(例如，Campath®)的胺基酸序列不同的CDR胺基酸序列之人類化輕鏈及人類化重鏈。

名稱「人類化免疫球蛋白」當用於此處時係表示一種免疫球蛋白，其包含非-人類來源的抗-CD52抗體，此處亦稱為授予體抗體(例如，小鼠抗-CD52抗體)，的一或更多輕鏈CDR(CDR1、CDR2及CDR3)及一或更多重鏈CDR(CDR1、CDR2及CDR3)的鏈，及至少一部份人類來源的免疫球蛋白(例如，得自人類來源的輕及/或重鏈的骨架區，或骨架區與恆定區，例如具或不具骨架變更的CDR-移植抗體)。本發明人類化免疫球蛋白包含與存在於Campath®的至少一個CDR(例如，來自相對應CDR)不同的至少一個CDR。參看：例如 Cabilly 等，美國專利第4,816,567號；Cabilly 等，歐洲專利第0,125,023 B1號；Boss 等，美國專利第4,816,397號；Boss 等，歐洲專利第0,120,694 B1號；Neuberger, M.S. 等，WO 86/01533；Neuberger, M.S. 等，歐洲專利第0,194,276 B1號；Winter，美國專利第5,225,539

號；Winter，歐洲專利第0,239,400 B1號；Padlan, E.A. 等，歐洲專利申請案第0,519,596 A1號。關於單一鏈抗體，亦參看：Ladner等，美國專利第4,946,778號；Huston，美國專利第5,476,786號；及Bird, R.E. 等，*Science*, 242: 423-426 (1988))。在一些具體實施例，人類化免疫球蛋白為一種去免疫型抗體。參看例如Carr等，美國專利第7,264,806號，其關於已修飾以減少潛在T-細胞抗原決定區的數目之去免疫型免疫球蛋白，由此減少免疫球蛋白在投藥至人類時引出免疫反應的傾向。

在特別具體實施例，人類化免疫球蛋白包含一或更多下列小鼠單株抗體的一或更多輕鏈CDR及一或更多重鏈CDR：小鼠8G3.25.3.5、小鼠4G7.F3、小鼠9D9.A2、小鼠11C11.C5、小鼠3G7.E9、小鼠5F7.1.1.4、小鼠12G6.15.1.2、小鼠23E6.2.2.1、小鼠2C3.3.8.1、小鼠7F11.1.9.7、及小鼠4B10.1.2.4。

在另一具體實施例，人類化免疫球蛋白結合人類CD52的親合性類似於或較佳於Campath®。在特別具體實施例，本發明人類化免疫球蛋白具本發明小鼠抗-人類CD52抗體的結合專一性(例如，具人類CD52的專一性，具相同或類似抗原決定區專一性)及/或其具相同抑制功能。人類化免疫球蛋白可具此處所敘述小鼠抗-人類CD52抗體或人類化抗-人類CD52抗體的結合專一性及/或抑制活性，及/或此處所敘述小鼠抗-人類CD52抗體或人類化抗-人類CD52抗體的抗原決定區專一性(例如，其可與小鼠抗-人類

CD52抗體競爭，或是另一種人類化抗-CD52抗體（例如，Campath®）以結合至CD52，及/或其可具小鼠或人類化抗-人類CD52抗體的抑制功能）。在特別具體實施例，人類化免疫球蛋白具小鼠抗體8G3、4G7、9D9、11C11、3G7、5F7、12G6、23E6、2C3、7F11、及r 4B10中任一個的結合專一性、抗原決定區專一性及/或抑制活性。

作為人類來源的人類化免疫球蛋白部份或是免疫球蛋白鏈（例如，骨架區；恆定區）的部份可得自任何合適的人類化免疫球蛋白或是免疫球蛋白鏈。例如，在人類化或嵌合抗體中的人類恆定區或其部份可得自人類 κ 或 λ 輕鏈基因，及/或得自人類 γ （例如， $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、 $\gamma 3$ 、 $\gamma 4$ ）、 μ 、 α （例如， $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ ）、 δ 或 ϵ 重鏈基因，其包含對偶基因變異體。一特定的恆定區（例如，IgG1），其變異體或部分可被選擇以適合效應遺傳因子功能。例如，經突變恆定區（變異體）可被併入免疫球蛋白或是免疫球蛋白鏈以最小化至Fc受體的結合及/或固定補體的能力，（參看例如，Winter等，GB 2,209,757 B；Morrison等，WO 89/07142；Morgan等WO 94/29351，December 22, 1994）。在一具體實施例中，人類骨架區於其結構或序列中沒有任何變異或突變。在特別具體實施例中，骨架區為一種於其序列中不具任何突變或變異的生殖株骨架序列。

當用於此處時，名稱「生殖株」係表示抗體基因及基因區段的核苷酸序列及胺基酸序列，因為它們經由生殖細胞自母代傳代至子代。此生殖株序列與編碼成熟B細胞中抗

體的核苷酸序列不同，成熟B細胞在B細胞成熟進行期間已由重組及超突變事件變更。「利用」特定生殖株的抗體具與生殖株核苷酸序列或是與其指定胺基酸序列最接近的核苷酸或胺基酸序列，與生殖株序列相較此種抗體常為突變的。

在其他具體實施例中，人類骨架於其結構或序列中具來自生殖株序列的最少變異或突變(例如，少於3、4、5、6、7、8、9或10個受體骨架殘基已使用授予體骨架殘基取代以改善結合親合力，參看 Queen 等，美國專利第 5,530,101號)。在特別具體實施例中，人類化免疫球蛋白鏈的骨架中有限數目的胺基酸(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個胺基酸)係選擇為與在授予體序列這些位置的胺基酸相同(亦即，"回復突變")，而非與受體序列相同，以增加包含用於人類CD52的人類化免疫球蛋白鏈的抗體之親合力。

人類骨架區(例如，重及/或輕鏈變異區)較佳為得自或衍生自具序列與授予體免疫球蛋白(小鼠抗-CD52抗體)的抗原-結合區域的類似或相當區域(例如，重及/或輕鏈變異區)相似的人類抗體變異區。人類化免疫球蛋白的人類來源部份的骨架區其他來源包含人類變異區一致性序列(參看例如，Kettleborough, C. A. 等., *Protein Engineering* 4:773-783 (1991); Carter 等 WO 94/04679; Carter美國專利第 6,407,213號))。例如，用於得到非人類部份的抗體授予體序列的區域(例如，變異區序列)可與人類序列相比

較，如 Kabat, E. A. 等 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Government Printing Office (1991) 中所述選擇人類化免疫球蛋白的人類部份的特定來源，例如，骨架區來源。

在一具體實施例中，人類化免疫球蛋白鏈的骨架區係得自，或衍生自具與非人類授予體變異區至少約 50%，至少約 55%，至少約 60%，至少約 65%，至少約 70%，至少約 75%，至少約 80%，至少約 85%，至少約 90% 或至少約 95% 的總序列相似性，的人類 Ig 變異區。在特別具體實施例中，人類化免疫球蛋白鏈的骨架區係得自或衍生自具與非人類授予體免疫球蛋白變異區的骨架區至少約 50%，至少約 55%，至少約 60%，至少約 65%，至少約 70%，至少約 75%，至少約 80%，至少約 85%，至少約 90%，或至少約 95% 的總序列相似性，的人類變異區骨架區。

在一具體實施例中，人類化免疫球蛋白的至少一個骨架區 (FR) 係得自或衍生自人類來源抗體的一或多個鏈，於是，FR 可包含得自或衍生自人類來源的一或多個抗體 (例如，得自人類免疫球蛋白鏈，得自人類一致性序列) 的 FR1 及 / 或 FR2 及 / 或 FR3 及 / 或 FR4。

用於本發明的免疫球蛋白部份具相同，或類似於它們所衍生自的免疫球蛋白或是其變異物的序列。此種變異物包含因加成、消除或取代 (例如，保守型取代) 一或多個殘基而不同的突變物，例如，藉由一或多個加成、消除或取代

而與母續列相差多至3、4、5、6、7、8、9或10個殘基。如上文所指出，本發明的人類化免疫球蛋白包含來自此處所敘述一或多個小鼠抗-CD52抗體(授予體抗體)的一或多個CDR。在骨架區的變化可被進行，例如以來自授予體抗體相對應位置的殘基取代人類來源骨架區的殘基。一或多個突變可被進行，其包含在骨架區的一或多個胺基酸的消除、插入及取代。若需要，可包含骨架突變於人類化抗體或鏈，及突變部位可使用任何合適方法，例如如在WO 98/06248所敘述選擇之，其整個意旨係併入做為參考。

熟知該技藝者了解在一些情況與小鼠抗-CD52抗體的一或更多CDRs側面相接的殘基會貢獻，及在一些情況，為直接或間接地為功能(例如，結合)所需要。如此，在一些具體實施例中，與小鼠骨架的一或多個CDR側面相接的一或多個胺基酸(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個側接胺基酸)亦包含於人類化免疫球蛋白。

在一些具體實施例中，本發明的人類化抗體的重鏈骨架區利用人類VH3-72或VH3-23生殖株序列。在一些具體實施例中，本發明的人類化抗體的人類輕鏈骨架區利用人類Vk2-A18b生殖株序列。回復突變可如下文工作實例所敘述選擇性地於一或多個殘基在這些FR區域進行以改善人類化抗體的CD52-結合親合力。

「親合力」為一種技藝名稱，其敘述結合交互作用的強度及典型上係指免疫球蛋白對人類CD52的結合整體強度。

在特別具體實施例，免疫球蛋白具 EC_{50} 值小於10微克/毫升(例如，由流式細胞計數法計數所決定)的結合活性。在另一具體實施例，免疫球蛋白具 EC_{50} 值小於5.0微克/毫升，或小於1.0微克/毫升(例如，由流式細胞計數所決定)的結合活性。

在一些具體實施例，免疫球蛋白以300奈莫耳濃度至1微微莫耳濃度(亦即， 3×10^{-7} 至 1×10^{-12} 莫耳濃度)，較佳為50奈莫耳濃度至1微微莫耳濃度，更佳為5奈莫耳濃度至1微微莫耳濃度及最佳為1奈莫耳濃度至1微微莫耳濃度的親合力(K_D ; $K_D = K_{off} (kd)/K_{on} (ka)$)結合至人類CD52，例如，由表面電漿共振所決定的， 1×10^{-7} 莫耳濃度或更少，較佳為 1×10^{-8} 莫耳濃度或更少，更佳為 1×10^{-9} 莫耳濃度或更少，有利的是 1×10^{-10} 莫耳濃度或更少及最佳為 1×10^{-11} 莫耳濃度或 1×10^{-12} 莫耳濃度或更少的 K_D ；及/或 5×10^{-1} 秒⁻¹至 1×10^{-7} 秒⁻¹，較佳為 1×10^{-2} 秒⁻¹至 1×10^{-6} 秒⁻¹，更佳為 5×10^{-3} 秒⁻¹至 1×10^{-5} 秒⁻¹的 K_{off} 速率常數，例如 5×10^{-1} 秒⁻¹或更少，較佳為 1×10^{-2} 秒⁻¹或更少，有利的是 1×10^{-3} 秒⁻¹或更少，更佳為 1×10^{-4} 秒⁻¹或更少，更佳為 1×10^{-5} 秒⁻¹或更少，及最佳為 1×10^{-6} 秒⁻¹或更少。

熟知該技藝者可了解，可使用各種方法以確認根據此處所提供及在該技藝所已知方法所製造的免疫球蛋白具必要專一性(例如，結合專一性，抗原決定區專一性)。例如，具用於人類CD52的結合專一性的本發明之人類化抗-CD52

免疫球蛋白之結合功能可使用任何合適方法偵測，例如，監控人類化免疫球蛋白與人類CD52之間複合物的形成(例如，包含人類CD52的膜部分；攜帶人類CD52的細胞，例如人類T細胞、人類B細胞；CHO細胞或包含及表現編碼人類CD52的核酸之重組宿主細胞；具CD52胺基酸序列的肽(例如，合成肽)；包含人類CD52的實體支撐)之試驗。

本發明的免疫球蛋白(例如，本發明人類化免疫球蛋白)結合至人類CD52上相同抗原決定區做為特別小鼠，嵌合，或人類化單株抗體，或是結合至與特別小鼠，嵌合，或人類化單株抗體所結合的人類CD52上抗原決定區重疊的人類CD52上抗原決定區的能力，可使用熟知該技藝者已知各種技術(包含例如競爭性結合試驗)容易地決定。這些技術涉及使用該特別抗體的標記形式，及在本發明免疫球蛋白存在及不存在情況下經標記抗體至人類CD52的結合之量度。

「抗原決定區」當用於此處時係包含能夠特定結合至免疫球蛋白的任何蛋白決定基。抗原決定區決定基一般由分子例如胺基酸或碳水化合物或糖側鏈的化學活性表面分組組成及一般具特定三度空間結構特徵，與特定電荷特徵。抗原決定區可為「線型的」或「構形的」。在線型抗原決定區，在蛋白及交互作用分子(例如抗體)之間的所有交互作用點沿蛋白的一級胺基酸序列線形發生。在構形抗原決定區，交互作用點跨越在彼此分開的蛋白上的胺基酸殘基發生。一旦決定抗原上的所欲抗原決定區，可例如使用於

本發明所敘述技術產生抗體至該抗原決定區。或者，在發現方法期間，抗體的產生及特徵化可說明關於所欲抗原決定區的資料，由此資料，可接著競爭性地篩選抗體以結合至相同抗原決定區。達到此目的的一個方法為進行競爭性研究以發現彼此競爭性結合的抗體，亦即，為結合至抗原競爭的抗體。

在一個實施例中，為決定測試抗體是否結合至本發明人類化抗體的相同或重疊抗原決定區，我們使得本發明抗-CD52抗體在飽和條件下結合至CD52及接著量度測試抗體結合至CD52的能力。若測試抗體能夠如參考抗-CD52抗體在同時間結合至CD52，則測試抗體結合至與參考抗-CD52抗體不同的抗原決定區，然而，若測試抗體不能在同時間結合至CD52，則測試抗體結合至相同抗原決定區，重疊抗原決定區，或是緊鄰由本發明抗-CD52抗體所結合之抗原決定區的抗原決定區。此實驗可使用ELISA、RIA、BIACORE™、或流式細胞計數執行。為測試抗-CD52抗體是否與其他抗-CD52抗體交叉競爭，我們可在兩個方向使用上文所敘述競爭方法，亦即，決定參考抗體是否阻擋測試抗體及反之亦然。在一較佳具體實施例中，實驗係使用BIACORE™執行。

組合亦有用於特徵化本發明抗體，「組合」這名稱係表示基於其抗原結合特徵以分組抗體的方法。一種基於其交叉競爭以「組合」抗體的高效能方法係描述於國際專利申請案第WO 03/48731號。

亦於此處提供的是人類化免疫球蛋白的部份，例如輕鏈、重鏈及輕及重鏈的部份。這些免疫球蛋白部份可得自或衍生自免疫球蛋白(例如，藉由還原及 / 或裂解)，或是由具所欲性質(例如，鍵結人類CD52，序列類似性)的核酸編碼一部份免疫球蛋白或其鏈來製造或表現，它們可由例如相關部份的重新合成所製備。包含人類及非人類來源所欲部份(例如，抗原結合區域、CDR、FR、C區域)的人類化免疫球蛋白可使用合成及 / 或重組核酸製造以製備編碼所欲人類化鏈的構成物(例如，cDNA)，例如，為製備一部份免疫球蛋白(例如，一部份鏈)，可於所欲位置引入一或多個中止密碼子。為人類化變異區編碼的核酸(例如，DNA)序列可使用PCR突變誘發方法建構以變更現有DNA序列(參看例如，Kamman, M., 等，*Nucl. Acids Res.* 17:5404 (1989))。為新CDRs編碼的PCR引子可雜交為先前人類化變異區的DNA模版，其係基於相同，或非常類似的，人類變異區(Sato, K., 等，*Cancer Research* 53:851-856 (1993))。若無法以類似DNA序列用做模版，包含編碼變異區序列的序列之核酸可由合成性寡核苷酸構建(參看例如，Kolbinger, F., *Protein Engineering* 8:971-980 (1993))。編碼信號肽的序列亦可併入核酸(例如，於合成時，於插入載體時)，若沒有信號肽序列(例如，典型上不存在)，可使用來自其他抗體的信號肽序列(參看例如，Kettleborough, C.A., *Protein Engineering* 4:773-783 (1991))。使用這些方法，此處所敘述方法或其他合適方法，變異物

可容易的被製造。

本發明係關於一種人類化免疫球蛋白，其具對人類 CD52 的結合專一性及包含人類化輕鏈及人類化重鏈及/或其部份。在一個實施例中，人類化免疫球蛋白包含一種含有 SEQ ID NO:3 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的輕鏈及一種含有 SEQ ID NO:16 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的重鏈；一種含有 SEQ ID NO:4 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的輕鏈及一種含有 SEQ ID NO:17 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的重鏈；一種含有 SEQ ID NO:5 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的輕鏈及一種含有 SEQ ID NO:18 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的重鏈；一種含有 SEQ ID NO:6 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的輕鏈及一種含有 SEQ ID NO:19 的一或多個 CDR 的重鏈；一種含有 SEQ ID NO:7 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的輕鏈及一種含有 SEQ ID NO:20 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的重鏈；一種含有 SEQ ID NO:8 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的輕鏈及一種含有 SEQ ID NO:21 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的重鏈；一種含有 SEQ ID NO:9 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的輕鏈及一種含有 SEQ ID NO:22 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的重鏈；一種含有 SEQ ID NO:10 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的輕鏈及一種含有 SEQ ID NO:23 的一或多個 CDR (例如，所有三個 CDR) 的重鏈；一種含有 SEQ ID

NO:11 的一或更多 CDR (例如, 所有三個 CDR) 的輕鏈及一種含有 SEQ ID NO:24 的一或多個 CDR (例如, 所有三個 CDR) 的重鏈; 一種含有 SEQ ID NO:12 的一或多個 CDR (例如, 所有三個 CDR) 的輕鏈及一種含有 SEQ ID NO:25 的一或多個 CDR (例如, 所有三個 CDR) 的重鏈; 一種含有 SEQ ID NO:13 的一或多個 CDR (例如, 所有三個 CDR) 的輕鏈及一種含有 SEQ ID NO:26 的一或多個 CDR (例如, 所有三個 CDR) 的重鏈。

在一個實施例中, 本發明人類化免疫球蛋白包含重鏈 (H)-CDR1、H-CDR2、H-CDR3, 輕鏈 (L)-CDR1、L-CDR2、及 L-CDR3 其胺基酸序列為: a) 分別是 SEQ ID NOs: 51、59、69、29、36 及 43; b) 分別是 SEQ ID NOs: 50、60、69、29、37 及 43; c) 分別是 SEQ ID NOs: 50、61、68、29、38 及 43; d) 分別是 SEQ ID NOs: 50、61、69、29、36 及 43; e) 分別是 SEQ ID NOs: 50、62、69、29、39 及 43; f) 分別是 SEQ ID NOs: 52、61、70、30、40 及 43; g) 分別是 SEQ ID NOs: 53、63、71、31、36 及 44; h) 分別是 SEQ ID NOs: 54、64、71、31、36 及 45; i) 分別是 SEQ ID NOs: 55、63、72、31、36 及 46; j) 分別是 SEQ ID NOs: 56、65、73、32、41 及 47; k) 分別是 SEQ ID NOs: 56、65、294、32、41 及 47, 或 l) 分別是 SEQ ID NOs: 56、66、74、33、41 及 48。

在另一實施例中, 本發明人類化免疫球蛋白包含 H-CDR3 及 L-CDR3 其序列為 a) 分別是 SEQ ID NOs: 69 及 43;

b) 分別是SEQ ID NOs: 68及43；c) 分別是SEQ ID NOs: 70及43；d) 分別是SEQ ID NOs: 71及44；e) 分別是SEQ ID NOs: 71及45；f) 分別是SEQ ID NOs: 72及46；g) 分別是SEQ ID NOs: 73及47；h) 分別是SEQ ID NOs: 294及47；或i) 分別是SEQ ID NOs: 74及48。

在具體實施例中，人類化免疫球蛋白具對人類CD52的結合專一性及包含一種輕鏈，其包含由SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47及SEQ ID NO:48所組成族群選出的一或多個CDR，或是其組合；及一種重鏈，其包含由SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74及SEQ ID NO: 294所組成族群選出的一或多個CDR，或是其組合，其中該人類化免疫球蛋白不為Campath®。

在另一實施例中，具對人類CD52結合專一性的人類化免疫球蛋白包含一種輕鏈，其包含SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:13的一或多個CDR(例如，所有三個CDR)，及一種重鏈，其包含SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26或SEQ ID NO: 137的一或多個CDR(例如，所有三個CDR)，其中該人類化免疫球蛋白不為Campath®。

本發明亦相關於一種此處所敘述人類化免疫球蛋白的人類化免疫球蛋白輕鏈。在一個實施例中，該人類化免疫球蛋白輕鏈包含SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、及SEQ ID NO:48所組成族群選出的一或多個CDR，及其組合，其中該人類化免疫球蛋白輕鏈不為Campath®的輕鏈。例如，該人類化抗體具L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3其胺基酸序列：a) 分別為SEQ ID NOs: 29、36及43；b) 分別為SEQ ID NOs: 29、37及43；c) 分

別為SEQ ID NOs: 29、38及43；d) 分別為SEQ ID NOs: 29、36及43；e) 分別為SEQ ID NOs: 29、39及43；f) 分別為SEQ ID NOs: 30、40及43；g) 分別為SEQ ID NOs: 31、36及44；h) 分別為SEQ ID NOs: 31、36及45；i) 分別為SEQ ID NOs: 31、36及46；j) 分別為SEQ ID NOs: 32、41及47；或k) 分別為SEQ ID NOs: 33、41及48。

本發明亦相關於一種人類化重鏈，其包含由SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74及SEQ ID NO: 294所組成族群選出的一或多個CDR，或是其組合，其中該人類化免疫球蛋白重鏈不為Campath®的重鏈。例如，該人類化抗體具H-CDR1、H-CDR2、及H-CDR3其胺基酸序列：a) 分別為SEQ ID NOs: 51、59及69；b) 分別為SEQ ID NOs: 50、60及69；c) 分別為SEQ ID NOs: 50、61及68；d) 分別為SEQ ID NOs: 50、61及69；e) 分別為SEQ ID NOs: 50、62及69；f) 分別為SEQ ID NOs: 52、61及70；g) 分別為SEQ ID NOs: 53、63、及71；h) 分別為SEQ ID NOs: 54、64及71；i) 分別為SEQ ID NOs: 55、63及72；j) 分別為

SEQ ID NOs: 56、65及73；k) 分別為SEQ ID NOs: 56、65及294；或l) 分別為SEQ ID NOs: 56、66及74。

在一個實施例中，本發明人類化抗體包含一種輕鏈，其包含SEQ ID NOs: 102、138、145-148、153-157及164-168其中一個的變異區(V_L)序列。在相關實施例中，該人類化抗體包含一種輕鏈，其胺基酸序列包含或由SEQ ID NOs: 273、275、278、280及282其中之一組成。

在一個具體實施例，本發明人類化抗體包含一種重鏈，其包含SEQ ID NOs: 103、136、137、139-144、149-152及158-163其中一個的變異區(V_H)序列。在相關具體實施例，該人類化抗體包含一種輕鏈，其胺基酸序列包含SEQ ID NOs: 272、274、276、277、279及281其中一個或由之組成。

在一些具體實施例，本發明人類化抗體包含 V_H 及 V_L ，其胺基酸序列包含或由下列組成

- a) 分別為SEQ ID NOs: 103及102(4B10-H1/K1)；
- b) 分別為SEQ ID NOs: 136及138(7F11-SFD1/K2)；
- c) 分別為SEQ ID NOs: 137及138(7F11-SFD2/K2)；
- d) 分別為SEQ ID NO: 139及SEQ ID NOs: 145-148其中一個(例如，分別為SEQ ID NOs: 139及146(2C3-SFD1/K11)；及分別為SEQ ID NOs: 139及147 (2C3-SFD1/K12))；
- e) 分別為SEQ ID NO: 140及SEQ ID NOs: 145-148其中一個；

- f) 分別為SEQ ID NO: 141及SEQ ID NOs: 145-148其中一個；
- g) 分別為SEQ ID NO: 142及SEQ ID NOs: 145-148其中一個；
- h) 分別為SEQ ID NO: 143 及SEQ ID NOs: 145-148其中一個；
- i) 分別為SEQ ID NO: 144及SEQ ID NOs: 145-148其中一個；
- j) 分別為SEQ ID NO: 149及SEQ ID NOs: 153-157其中一個(例如，分別為SEQ ID NOs: 149及155(12G6-SFD1/K11)；分別為SEQ ID NOs: 149及156(12G6-SFD1/K12)；及分別為SEQ ID NOs: 149及157(12G6-SFD1/K13))；
- k) 分別為SEQ ID NO: 150及SEQ ID NOs: 153-157其中一個；
- l) 分別為SEQ ID NO: 151 及SEQ ID NOs: 153-157其中一個；
- m) 分別為SEQ ID NO: 152及SEQ ID NOs: 153-157其中一個；
- n) 分別為SEQ ID NO: 158及SEQ ID NOs: 164-168其中一個(例如，SEQ ID NOs: 158 以及 165(9D9-H10/K12)；及SEQ ID NOs: 158及166(9D9-H10/K13))；
- o) 分別為SEQ ID NO: 159及SEQ ID NOs: 164-168其中一個(例如，SEQ ID NOs: 159及165(9D9-H11/K12)；及

SEQ ID NOs: 159及166(9D9-H11/K13))；

p) 分別為SEQ ID NO: 160及SEQ ID NOs: 164-168其中一個；

q) 分別為SEQ ID NO: 161及SEQ ID NOs: 164-168其中一個(例如，分別為SEQ ID NOs: 161及166(9D9-H16/K13))；

r) 分別為SEQ ID NO: 162及SEQ ID NOs: 164-168其中一個；或

s) 分別為SEQ ID NO: 163及SEQ ID NOs: 164-168其中一個(例如，分別為SEQ ID NOs: 163及166(9D9-H18/K13))。

包含於括弧的抗體進一步於下列實例敘述。

在一些具體實施例，本發明人類化抗體包含輕鏈(LC)及重鏈(HC)，其胺基酸序列包含或由下列組成 a) 分別為SEQ ID NOs: 273及272； b) 分別為SEQ ID NOs: 275及274； c) 分別為SEQ ID NOs: 278及276； d) 分別為SEQ ID NOs: 278及277； e) 分別為SEQ ID NOs: 280及279；或 f) 分別為SEQ ID NOs: 282及281。

本發明亦提供一種抗-人類CD52抗體(除了在先前技藝中已知的那些)，其結合至與此處所示例抗體相同的抗原決定區，或是與之競爭或交互競爭。這些抗體可為，例如，人類化、嵌合、或老鼠抗體。例如，本發明提供一種抗-人類CD52抗體，其結合至與老鼠抗體8G3、4F7、9D9、11C11、3G7、5F7、12G6、23E6、2C3、7F11及4B10及這

些老鼠抗體的人類化及嵌合抗體其中一個相同的抗原決定區，或是與之競爭或交互競爭。抗體結合至與參考抗體相同的抗原決定區，或是與之競爭或交互競爭之能力可如上文所敘述決定，例如，我們發現由人類化抗體 2C3-SFD1/K12 及 12G6-SFD1/K12 所結合的 CD52 抗原決定區包含於 SEQ ID NO:104 的殘基 7、8、及 11，及由人類化抗體 9D9-H16/K13 所結合的抗原決定區包含於 SEQ ID NO:104 的殘基 4 及 11。於是，在一些具體實施例，本發明提供一種抗-CD52 抗體，其結合至與那些人類化抗體相同的抗原決定區，或是與之競爭或交互競爭。

若希望，例如，為診斷或試驗目的(例如，使可醫療監控)，人類化免疫球蛋白(例如，其抗原-結合片段)可包含可偵測標記，合適的可偵測標記及人類化免疫球蛋白或其抗原-結合片段的標記方法為該技藝已知。合適的可偵測標記包含，例如，放射性同位素(例如，銥-111、鐳-99m 或碘-131)、正子放射型標記(例如，氟-19)、順磁離子(例如，釷(III)、錳(II))、抗原決定區標記(標籤)、親和性標記(例如，生物素、卵白素)、自旋標記、酶、螢光族群或化學發光族群。當未使用標記時，複合物形成(例如，在人類化免疫球蛋白及人類 CD52 之間)可由表面電漿共振、ELISA、FACS、或其他合適方法決定。

用於本發明的抗-CD52 抗體亦可經由例如，化學反應或基因修飾而共軛至其他基團(例如，聚乙二醇化聚基團)，上述基團改善抗體的藥物動力，例如半衰期。在一些具體

實施例，用於本發明的抗-CD52抗體可經由例如，化學共軛或基因修飾(例如，附加骨架中細胞介素編碼序列至抗體編碼序列，由此產生抗體：細胞介素融合蛋白)而連結至合適細胞介素。

本發明亦關於一種免疫接合，其中本發明的人類化免疫球蛋白(例如，其抗原-結合片段)係耦合至另一醫療劑，例如生物活性化合物(例如，細胞介素、超抗原、細胞毒性治療劑及毒素)。例如，具對人類CD52結合專一性的人類化免疫球蛋白(例如，其抗原-結合片段)可耦合至生物蛋白，一種植物或細菌來源的分子(或其衍生物)、白血球介素-2抗體或白喉毒素抗體。

老鼠單株免疫球蛋白

如此處所敘述，本發明已製造出具有對人類CD52結合專一性的老鼠單株免疫球蛋白。本發明的人類化及嵌合抗體可衍生自本發明老鼠單株免疫球蛋白。亦即，在一些具體實施例，本發明的人類化及嵌合抗-CD52抗體包含取自本發明老鼠單株抗體的序列，例如一或更多CDR序列。本發明的老鼠單株免疫球蛋白包含具有與已知老鼠抗-CD52單株抗體的CDR 胺基酸序列不同的CDR 胺基酸序列的輕鏈及重鏈(例如，得自CF1D12)。

當用於此處時，名稱「老鼠單株免疫球蛋白」係表示一種包含老鼠抗-人類CD52抗體的輕鏈CDRs (L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3)及重鏈CDRs (H-CDR1、H-CDR2及H-CDR3)，及老鼠來源的骨架及恆定區的免疫球蛋白。老鼠

單株免疫球蛋白為一種例如由使用融合瘤細胞計數法或重組方法所製備的單一專一性之同源抗體。

本發明係關於一種此處所敘述老鼠單株免疫球蛋白，其包含老鼠單株免疫球蛋白的抗原-結合片段(亦即，部分)、老鼠單株免疫球蛋白的輕鏈、老鼠單株免疫球蛋白的重鏈、及重鏈及輕鏈的片段。在特別具體實施例，老鼠單株免疫球蛋白為老鼠 8G3.25.3.5 (亦稱為 GENZ 8G3.25.3.5 或 8G3)、老鼠 GMA 4G7.F3 (亦稱為 4G7.F3 或 4G7)、老鼠 GMA 9D9.A2 (亦稱為 9D9.A2 或 9D9)、老鼠 GMA 11C11.C5 (亦稱為 11C11.C5 或 11C11)、老鼠 GMA 3G7.E9 (亦稱為 3G7.E9 或 3G7)、老鼠 5F7.1.1.4 (亦稱為 GENZ 5F7.1.1.4 或 5F7)、老鼠 12G6.15.1.2 (亦稱為 GENZ 12G6.15.1.2 或 2G6)、老鼠 23E6.2.2.1 (亦稱為 GENZ 23E6.2.2.1 或 23E6)、老鼠 2C3.3.8.1 (亦稱為 GENZ 2C3.3.8.1 或 2C3)、老鼠 7F11.1.9.7 (亦稱為 GENZ 7F11.1.9.7 或 7F11)、或是老鼠 4B10.1.2.4 (亦稱為 GENZ 4B10.1.2.4 或 4B10)。本發明係關於一種成熟老鼠單株免疫球蛋白，例如接著進行移除重鏈及輕鏈信號胜肽的老鼠單株免疫球蛋白及/或關於糖化免疫球蛋白。本發明亦關於一種不成熟或前驅蛋白質，例如包含信號胜肽的老鼠免疫球蛋白輕鏈或老鼠免疫球蛋白重鏈。本發明亦關於一種編碼這些不成熟或成熟蛋白的核酸分子(例如，載體)，關於包含此種核酸的宿主細胞及關於這些不成熟及成熟蛋白的製造方法。

具人類 CD52 結合專一性的老鼠單株免疫球蛋白之結合

功能可使用任何合適方法偵測，例如，使用監控老鼠單株免疫球蛋白與人類CD52(例如，包含人類CD52的膜部分，或攜帶人類CD52的細胞，例如人類T細胞、人類B細胞、包含編碼人類CD52的核酸之CHO細胞或重組宿主細胞；具CD52胺基酸序列的肽(例如，合成肽)) 之間複合物的形成之試驗。

此處亦提供老鼠免疫球蛋白的部份，其包含輕鏈、重鏈及輕及重鏈部份。這些免疫球蛋白部份可得自或衍生自免疫球蛋白(例如，藉由還原及/或裂解)，或是編碼具有所欲性質(例如，結合人類CD52，序列類似性)的一部份免疫球蛋白或其鏈的核酸可被製造或表現，它們可由例如相關部份的重新合成所製備。包含老鼠來源所欲部份(例如，抗原-結合區域、CDR、FR、及/或C區域)的老鼠單株免疫球蛋白可使用合成及/或重組核酸製造以製備編碼所欲單株免疫球蛋白鏈的構成物(例如，cDNA)。為製備一部份鏈，可於所欲位置引入一或更多中止密碼子。編碼信號胜肽的序列亦可併入核酸(例如，於合成時，於插入載體時)，若天然信號胜肽序列為無法提供的，可使用來自其他抗體的信號胜肽序列(參看例如，Kettleborough, C.A., *Protein Engineering* 4:773-783 (1991))。使用這些方法，此處所敘述方法或其他合適方法，可以很容易製造出變異物。

在一個具體實施例，本發明老鼠單株免疫球蛋白包含由SEQ ID NO:3組成的輕鏈及由SEQ ID NO:16組成的重鏈；由SEQ ID NO:4組成的輕鏈及由SEQ ID NO:17組成的重

鏈；由SEQ ID NO:5組成的輕鏈及由SEQ ID NO:18組成的重鏈；由SEQ ID NO:6組成的輕鏈及由SEQ ID NO:19組成的重鏈；由SEQ ID NO:7組成的輕鏈及由SEQ ID NO:20組成的重鏈；由SEQ ID NO:8組成的輕鏈及由SEQ ID NO:21組成的重鏈；由SEQ ID NO:9組成的輕鏈及由SEQ ID NO:22組成的重鏈；由SEQ ID NO:10組成的輕鏈及由SEQ ID NO:23組成的重鏈；由SEQ ID NO:11組成的輕鏈及由SEQ ID NO:24組成的重鏈；由SEQ ID NO:12組成的輕鏈及由SEQ ID NO:25組成的重鏈；或由SEQ ID NO:13組成的輕鏈及由SEQ ID NO:26組成的重鏈。

在另一具體實施例，本發明亦關於一種具人類CD52結合專一性的老鼠單株抗體，其包含由 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12及SEQ ID NO:13所組成族群選出的輕鏈變異區；及由SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25及SEQ ID NO:26所組成族群選出的重鏈變異區。

若希望，例如，為診斷或試驗目的(例如，想像)，老鼠單株免疫球蛋白(例如，其抗原-結合片段)可包含可偵測標記，合適的可偵測標記及老鼠單株免疫球蛋白的標記方法為該技藝已知。合適的可偵測標記包含，例如，放射性同

位素(例如，銥-111、鐳-99m或碘-131)、正子放射型標記(例如，氟-19)、順磁離子(例如，釷(III)、錳(II))、抗原決定區標記(標籤)、親和性標記(例如，生物素、卵白素)、自旋標記、酶、螢光族群或化學發光族群。當未使用標記時，複合物形成(例如，在老鼠單株免疫球蛋白及CD52之間)可由表面電漿共振或其他合適方法決定。上文針對本發明人類化抗體所敘述的所有合適方法及技術可於此處使用。

嵌合免疫球蛋白

如此處所敘述，已製造具對人類CD52結合專一性的嵌合免疫球蛋白。嵌合免疫球蛋白包含嵌合輕鏈及/或嵌合重鏈，其胺基酸序列不同於具有對人類CD52結合專一性的已知嵌合抗體的胺基酸序列的。

當用於此處時，名稱「嵌合免疫球蛋白」係表示一種重組蛋白，其包含含有衍生自一種物種的抗體，較佳為老鼠抗-人類CD52單株抗體的互補決定區段(CDRs)的變異區，然而抗體分子的恆定區係得自不同物種，例如人類抗體。

本發明係關於此處所敘述嵌合免疫球蛋白，其包含嵌合免疫球蛋白的抗原-結合片段(亦即，部分)、嵌合免疫球蛋白的嵌合輕鏈及嵌合重鏈及這些嵌合輕及重鏈的片段。本發明係關於一種成熟嵌合免疫球蛋白，例如接著進行移除重鏈及輕鏈信號胜肽的嵌合免疫球蛋白及/或關於醮化免疫球蛋白。本發明亦關於一種不成熟或前驅蛋白質，例如包含信號胜肽的嵌合重鏈。本發明亦關於一種編碼這些不

成熟或成熟蛋白的核酸分子(例如，載體)，關於包含此種核酸的宿主細胞及關於這些不成熟及成熟蛋白的製造方法。

具有人類CD52結合專一性的嵌合免疫球蛋白之結合功能可使用任何合適方法偵測，例如使用監控嵌合免疫球蛋白與人類CD52(例如，包含人類CD52的膜部分，或攜帶人類CD52的細胞，例如人類T細胞、人類B細胞、CHO細胞或包含編碼人類CD52的核酸之重組宿主細胞；具CD52胺基酸序列的肽(例如，合成肽))之間複合物的形成之試驗。

此處亦提供的是嵌合免疫球蛋白的部份，其包含輕鏈、重鏈及輕與重鏈的部份。這些免疫球蛋白部份可得自或衍生自免疫球蛋白(例如，藉由還原及/或裂解)，或是編碼具有所欲性質(例如，結合人類CD52，序列類似性)的一部份免疫球蛋白或其鏈的核酸可被製造或表現，它們可由例如相關部份的重新合成所製備。包含人類及非人類來源所欲部份(例如，抗原-結合區域、CDR、FR、及/或C區域)的嵌合免疫球蛋白可使用合成及/或重組核酸製造以製備編碼所欲嵌合鏈的構成物(例如，cDNA)。為製備一部份鏈，可於所欲位置引入一或更多中止密碼子。編碼信號勝肽的序列亦可併入核酸(例如，於合成時，於插入載體時)，若天然信號勝肽序列為無法提供的(例如，典型上不存在)，可使用來自其他抗體的信號勝肽序列(參看例如，Kettleborough, C.A., *Protein Engineering* 4:773-783 (1991))。使用這些方法，此處所敘述方法或其他合適方法，可以容

易地製造出變異物。

在一個具體實施例，本發明嵌合免疫球蛋白包含SEQ ID NO: 3的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 16的重鏈變異區；SEQ ID NO: 4的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 17的重鏈變異區；SEQ ID NO: 5的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 18的重鏈變異區；SEQ ID NO: 6的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 19的重鏈變異區；SEQ ID NO: 7的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 20的重鏈變異區；SEQ ID NO: 8的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 21的重鏈變異區；SEQ ID NO: 9的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 22的重鏈變異區；SEQ ID NO: 10的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 23的重鏈變異區；SEQ ID NO: 11的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 24的重鏈變異區；SEQ ID NO: 12的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 25的重鏈變異區；或是SEQ ID NO: 13的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 26的重鏈變異區。

本發明亦關於一種具對人類CD52的結合專一性的嵌合抗體，其包含由下列所組成族群選出的輕鏈變異區序列：SEQ ID NO: 3的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 4的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 5的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 6的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 7的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 8的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 9的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 10的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 11的輕鏈變異區、SEQ ID NO: 12的輕鏈變異區及SEQ ID NO: 13的輕鏈變異區，及由下列所組成族群選出的重鏈變異區序列：SEQ ID NO: 16的重鏈變異區、SEQ ID NO: 17的重鏈變異區、SEQ ID NO:

18的重鏈變異區、SEQ ID NO: 19的重鏈變異區、SEQ ID NO: 20的重鏈變異區、SEQ ID NO: 21的重鏈變異區、SEQ ID NO: 22的重鏈變異區、SEQ ID NO: 23的重鏈變異區、SEQ ID NO: 24的重鏈變異區、SEQ ID NO: 25的重鏈變異區及SEQ ID NO: 26的重鏈變異區。

本發明亦關於一種嵌合輕鏈，其包含SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12或SEQ ID NO: 13的變異區。

本發明亦關於一種嵌合重鏈，其包含SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25或SEQ ID NO:26的變異區。

若希望，例如，為診斷或試驗目的(例如，想像)，嵌合免疫球蛋白(例如，其抗原-結合片段)可包含可偵測標記，合適的可偵測標記及嵌合免疫球蛋白或其抗原-結合片段的標記方法為該技藝已知。合適的可偵測標記包含，例如，放射性同位素(例如，銥-111、鎇-99m或碘-131)、正子放射型標記(例如，氟-19)、順磁離子(例如，釷(III)、錳(II))、抗原決定區標記(標籤)、親和性標記(例如，生物素、卵白素)、自旋標記、酶、螢光族群或化學發光族群。當未使用標記時，複合物形成(例如，在嵌合免疫球

蛋白及人類CD52之間)可由表面電漿共振或其他合適方法決定。上文針對本發明人類化抗體所敘述的所有合適方法及技術可於此處使用。

核酸及重組載體

本發明亦關於一種經分離及/或重組(包含,例如,基本上純的)核酸,其包含編碼本發明人類化免疫球蛋白、人類化輕鏈、人類化重鏈、老鼠單株免疫球蛋白、老鼠免疫球蛋白輕鏈、老鼠免疫球蛋白重鏈、嵌合免疫球蛋白、嵌合輕鏈或嵌合重鏈的序列。

此處稱為「分離」或"純化"的核酸為已分離自其起源(例如,當他們存在於細胞或於例如庫的核酸混合物)的基因體DNA或細胞RNA的核酸,及包含由此處所敘述方法或其他合適方法所得到的核酸,其包含大體上純的核酸,由化學合成,生物及化學方法的組合所分離重組核酸所製造的核酸(參考例如, Daugherty, B.L. et al., *Nucleic Acids Res.*, 19(9): 2471-2476 (1991); Lewis, A.P. and J.S. Crowe, *Gene*, 101: 297-302 (1991))。

此處稱為"重組"的核酸為重組DNA方法所製造的核酸,其包含由人工重組方法的步驟,例如聚合酶連鎖反應(PCR)及/或使用限制酵素選殖至載體所產生的核酸。"重組"核酸亦為那些得自在細胞自然機制過程發生的重組之核酸,但會被選擇以在引至核酸細胞之後,使所欲重組可發生。

本發明亦更特定地關於一種經分離及/或重組核酸,其

包含編碼人類化免疫球蛋白、老鼠免疫球蛋白或嵌合免疫球蛋白的核苷酸序列，其具有對人類CD52的結合專一性(例如，一種本發明的人類化免疫球蛋白，其中非人類部份(例如，CDRs)係衍生自老鼠抗-CD52單株抗體；本發明老鼠免疫球蛋白；或本發明的嵌合免疫球蛋白，其中非人類部份(例如，VH及VL)係衍生自老鼠抗-CD52單株抗體)或其部份(例如，抗原-結合部份)(例如，其重或輕鏈))。

本發明的核酸可用於製造具有對人類CD52結合專一性的人類化免疫球蛋白、有具對人類CD52結合專一性的老鼠免疫球蛋白及具有對人類CD52結合專一性的嵌合免疫球蛋白。例如，編碼本發明人類化免疫球蛋白、老鼠免疫球蛋白或嵌合免疫球蛋白的核酸(例如，DNA(例如cDNA)，或RNA)或一或更多核酸可併入合適構成物(例如，重組載體)，以進一步操作序列或是以製造經編碼免疫球蛋白於合適宿主細胞。

亦提供一種適合用於表現具有對人類CD52結合專一性的人類化免疫球蛋白、具有對人類CD52結合專一性的老鼠免疫球蛋白或具有對人類CD52結合專一性的嵌合免疫球蛋白的構成物或載體(例如，表現載體)。多種載體為可提供的，其包含在宿主細胞維持單份或多份，或是其整合至宿主細胞的染色體。可將構成物或載體引入至合適宿主細胞，及表現本發明的人類化免疫球蛋白、老鼠免疫球蛋白或嵌合免疫球蛋白的細胞，其可於培養中製造及維持。

單一載體或多重載體可用於表現具有針對人類 CD52 的結合專一性的人類化免疫球蛋白、老鼠免疫球蛋白或嵌合免疫球蛋白。

合適的表現載體，例如哺乳動物細胞表現載體，亦可包含數個組成，其包含，但不限於一或更多下列：複製起點；選擇性標記基因；一或更多表現控制因子，例如轉錄控制因子(例如，啟動子、增強子、終止子)、及/或一或更多轉譯信號；膜標的或分泌的信號序列或前導序列。在構成物或載體，信號胜肽序列可由構成物或載體或其他來源提供，例如，可使用免疫球蛋白的轉錄及/或轉譯信號以主導表現。

一種啟動子可提供用於在合適宿主細胞的表現，啟動子可為組成型或是誘導型，例如，啟動子可操作地結合至編碼人類化免疫球蛋白或免疫球蛋白鏈的核酸，使得其主導經編碼多肽的表現。原核生物(例如，大腸桿菌的 lac、tac、T3、T7 啟動子)及真核生物(例如，酵母菌類醇脫氫酵素(ADH1)、SV40、CMV)宿主的各種合適啟動子為可提供的。熟知該技藝者能夠選擇適當啟動子以表現本發明抗-CD52 抗體或其部份。

此外，載體(例如，表現載體)典型上包含一種選擇性標記，以選擇攜帶載體的宿主細胞，及，在可複製載體的情況，為複製起點。編碼給予抗生素或抗藥性產物的基因為常見的選擇性標記且可用於原核生物(例如， β -內醯胺酶基因(抗安比西寧)、土黴素抗性基因(土黴素抗性)及真核細胞

(例如，新黴素(G418或建那黴素)、鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶(黴酚酸)、安比西寧、或潮黴素抗性基因)。二氫葉酸還原酶標記基因允許在各種宿主細胞胺甲葉酸選擇，編碼宿主營養缺陷標記的基因產物的基因(例如，LEU2、URA3、HIS3)常用作酵母菌中的選擇性標記，亦包含病毒(例如，桿狀病毒)或嗜菌體載體，及能夠整合至宿主細胞基因體的載體，例如反轉錄病毒載體之使用。

於是本發明亦關於一種經分離核酸分子，其編碼本發明人類化免疫球蛋白、人類化輕鏈、人類化重鏈、老鼠免疫球蛋白、老鼠免疫球蛋白輕鏈、老鼠免疫球蛋白重鏈、嵌合免疫球蛋白、嵌合輕鏈或嵌合重鏈的序列。本發明亦關於一種經分離核酸分子，其編碼免疫球蛋白的抗原-結合部分及其鏈，由本發明核酸所編碼的多肽序列係敘述於上文及下列實例。

在一些具體實施例，本發明核酸及載體編碼本發明重鏈(或其抗原-結合部分)或輕鏈(或其抗原-結合部分)，可使用包含重鏈-編碼核酸與輕鏈-編碼核酸的宿主細胞以製造包含重及輕鏈(或抗體的抗原-結合部分)的抗體。重鏈-編碼核酸與輕鏈-編碼核酸可放置於個別表現載體，它們亦可放置於在相同或不同表現控制的單一表現載體。參看例如，Cabilly美國專利第6,331,415號；Fang美國專利第7,662,623號。

具對人類CD52結合專一性的免疫球蛋白製造方法

本發明另一方面係關於一種本發明抗-人類CD52抗體的

製造方法，本發明抗體可例如由編碼合適宿主細胞中抗體的一或更多重組合核酸之表現製造。宿主細胞可使用任何合適方法製造，例如，可引入此處所敘述表現構成物(例如，該一或更多載體，例如，哺乳動物細胞表現載體)至合適宿主細胞，且可維持所產生細胞(例如，於培養，於動物，於植物)在適合構成物或載體表現的條件下。合適宿主細胞可為原核生物型，其包含細菌性細胞，例如大腸桿菌(例如，菌種DH5 α TM (Invitrogen, Carlsbad, CA))，枯草桿菌(*B. subtilis*)及/或其他合適細菌；真核生物細胞，例如真菌或酵母菌細胞(例如，嗜甲醇酵母菌(*Pichia pastoris*)、麴菌屬(*Aspergillus sp.*)、釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、裂殖性酵母菌(*Schizosaccharomyces pombe*)、粉色麵包黴菌(*Neurospora crassa*))，或是其他低級真核細胞，及高級真核細胞，例如得自昆蟲者(例如，果蠅(*Drosophila* Schnieder) S2細胞、Sf9昆蟲細胞(WO 94/26087 (O'Connor)、TN5B1-4 (HIGH 5)昆蟲細胞(Invitrogen)，哺乳動物(例如，COS細胞，例如COS-1 (ATCC Accession No. CRL-1650)及COS-7 (ATCC Accession No. CRL-1651)、CHO(例如，ATCC Accession No. CRL-9096)、CHO DG44 (Urlaub, G.及Chasin, LA., Proc. Natl. Acac. Sci. USA, 77(7):4216-4220 (1980))、293 (ATCC Accession No. CRL-1573)、HeLa (ATCC Accession No. CCL-2)、CV1 (ATCC Accession No. CCL-70)、WOP (Dailey, L., 等., J. Virol., 54:739-749 (1985))、3T3、293T (Pear, W. S., 等.,

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 90:8392-8396 (1993))、NS0細胞、SP2/0細胞、HuT 78細胞及其類似細胞))，或植物(例如，煙草、lemna (duckweed)、及藻類)，(參看，例如，Ausubel, F.M. 等，eds. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons Inc. (1993))。在一些具體實施例，該宿主細胞不為多細胞生物(例如，植物或動物)的一部份，例如，其為經分離宿主細胞或是為細胞培養的一部份。

本發明亦關於一種細胞，其包含本發明核酸，例如載體(例如，表現載體)。例如，編碼人類化免疫球蛋白的重及輕鏈、老鼠免疫球蛋白的重及輕鏈、或是嵌合免疫球蛋白的重及輕鏈之核酸(亦即，一或更多核酸)，具有對人類CD52結合專一性的該免疫球蛋白，或包含此種核酸的構成物(亦即，一或更多構成物，例如，亦即，一或更多載體)可藉由適合於所選擇宿主細胞的方法(例如，轉殖、轉染、電穿孔法、感染)引入合適宿主細胞，且核酸序列係，或變為，操作地連接至一或更多表現控制因子(例如，於載體，於由方法於細胞中產生的構成物，整合至宿主細胞基因體)，宿主細胞可維持在適合表現的條件下(例如，在誘導物、以適當鹽類補足的合適介質、生長因子、抗生素、營養補充物等的存在下)，由此製造所編碼多肽。若希望，可將所編碼蛋白(例如，人類化免疫球蛋白、老鼠免疫球蛋白、嵌合免疫球蛋白)分離，例如自宿主細胞、培養介質、或乳液中分離。此方法包含在基因轉

殖動物或植物(例如，菸草)的宿主細胞(例如，乳腺細胞)中的表現(參看，例如，WO 92/03918)。

可製造一種融合蛋白，其中免疫球蛋白(例如，人類化免疫球蛋白；免疫球蛋白鏈)係於N-端位置、C-端位置或融合蛋白內部連結至非-免疫球蛋白基團(亦即，在自然界不會存在於免疫球蛋白的基團)。例如，一些具體實施例可由插入編碼免疫球蛋白序列的核酸至合適表現載體，例如pET載體(例如，pET-15b, Novagen)、嗜菌體載體(例如，pCANTAB 5 E, Pharmacia)、或是其他載體(例如，pRIT2T蛋白A融合載體，Pharmacia)而製造。所得構成物可引入合適宿主細胞中以表現。在表現時，可藉由合適親合基質自細胞溶解產物分離或純化一些融合蛋白(參看，例如，Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel, F.M. 等，Eds., Vol. 2, Suppl. 26, pp. 16.4.1-16.7.8 (1991))。

本發明係關於一種宿主細胞，其包含編碼此處所提供免疫球蛋白(例如，本發明人類化免疫球蛋白、人類化輕鏈或人類化重鏈、老鼠免疫球蛋白、老鼠輕鏈或老鼠重鏈、嵌合免疫球蛋白、嵌合重鏈、或嵌合輕鏈)的重組核酸。本發明亦關於一種宿主細胞，其包含編碼免疫球蛋白的抗原-結合部分或其鏈的重組核酸。在一些具體實施例，該宿主細胞包含一種此處所提及本發明重組載體(例如，表現載體，哺乳動物細胞表現載體)。

本發明亦關於一種本發明免疫球蛋白或免疫球蛋白多肽鏈的製備方法，在一個具體實施例，該方法包含於適合免

疫球蛋白或多肽鏈表現的條件下培養此處所敘述本發明宿主細胞(例如，包含一或更多編碼免疫球蛋白或多肽鏈的經分離核酸(例如，本發明輕鏈及重鏈、僅輕鏈、或僅重鏈)，例如宿主細胞可培養於基質或於懸浮液。在一些具體實施例，該方法進一步包含純化或分離免疫球蛋白或多肽鏈的方法。

本發明亦關於一種經由嗜菌體呈現法的免疫球蛋白製備方法。例如，可選別於CD52抗原上的天然抗體嗜菌體呈現庫，或者，可使用經由導向選擇的免疫球蛋白製備方法(美國專利申請案US 2006-0251658 A1.)。可產生沿例如已知抗-CD52抗體的固定重鏈(及/或輕鏈) CDR3區域建立的訂製庫，重及輕鏈的CDR1及CDR2區域可得自天然來源(Osburn等，Methods, 36:61-68 (2005))。在一個具體實施例，抗-CD52 ScFvs可由ScFv naïve抗體庫產生，此抗體庫係用於得到具所欲結合性質的老鼠-人類嵌合抗體。可篩選這些抗體庫以得到具所欲結合性質的抗體。可使用ScFv嗜菌體庫。例如，如在Vaughan等(1996)所敘述，辨識人類CD52的ScFvs可基本上依循一系列於重組人類CD52的重複選擇循環而從scFv導向選擇庫分離。簡言之，依循抗體庫的培養，當未經結合嗜菌體被洗掉時，預先耦合至順磁珠的免疫化抗原，及經結合嗜菌體可由磁分離回復。接著將經結合嗜菌體如在Vaughan等(1996)所敘述回復並重複選擇過程。

在特別具體實施例，抗體庫係建構為由以單一鏈格式融

合至天然人類輕鏈變異區的老鼠抗-CD52抗體的整個重鏈變異區組成。在選擇之後，辨識互補於老鼠重鏈變異區的人類輕鏈變異區，接著建構抗體庫，其為由上文所選擇人類輕鏈變異區組成，該人類輕鏈變異區以單一鏈格式融合至由天然人類CDR1及CDR2區域及得自老鼠抗-CD52抗體的重鏈變異區的固定CDR3區域所組成的嵌合重鏈變異區。在選擇CD52結合物之後，選擇最佳結合細胞株。6個CDR區域中的五個起源為人類，然而重鏈變異區的CDR-3與老鼠重鏈變異區的原先CDR3相同。

根據製造商建議可使用耦合至Dynabeads M-270 胺(Dynal)的CD52執行選擇。或者是，使用生物素化CD52的選擇可使用一級胺特定藥劑琥珀醯亞胺基-6-(生物素醯胺)己酸酯依循製造商指南製備(EZ link NHS LC Biotin, Pierce)。

自選擇的輸出可基於競爭試驗於高速藥物篩選以細胞周質製備品測試，此競爭試驗測量存在於細胞周質製備品的scFvs競爭結合至CD52的能力。

能夠在高速藥物篩選競爭的樣品可進行DNA定序，如在Vaughan等(1996)及Osburn等(1996)所敘述。接著將選殖表現及純化為scFvs或IgGs及例如使用試驗如抗體-依賴細胞介導性細胞毒性(ADCC)試驗及補體依賴細胞毒性(CDC)試驗評估其結合CD52、中和CD52或其組合的能力。經純化scFv調製品可接著如WO 01/66754實例3所敘述製備，經純化scFv調製品的蛋白濃度可使用BCA方法(Pierce)決定。可

使用類似方法以篩選固定免疫球蛋白重或輕鏈(或 VH 或 VL)的最適配對者(相對鏈)。

在特別具體實施例，本發明係關於一種分泌具對人類 CD52 的特定結合性的單株抗體的融合瘤細胞之製造方法，其包含投藥 CD52 基因轉殖老鼠的淋巴細胞至具有與人類 CD52 基因轉殖老鼠相同品系(例如，CD1)的非-基因轉殖老鼠，由此產生免疫型，非-基因轉殖老鼠。該免疫型，非-基因轉殖老鼠的脾細胞與永生細胞接觸，由此產生融合細胞，及將該融合細胞維持在製造分泌具有對人類 CD52 的特定結合性的單株抗體的融合瘤細胞之條件下，由此產生分泌具有對人類 CD52 的特定結合性的單株抗體的融合瘤細胞。

包含毒素基團或毒素的免疫球蛋白

本發明亦關於一種包含毒素基團或毒素的免疫球蛋白，合適毒素基團包含毒素(例如，表面活性毒素，細胞毒素)。毒素基團或毒素可使用任何合適方法連結或共軛至免疫球蛋白。例如，毒素基團或毒素可直接或經由合適鍵合劑共價地連結至免疫球蛋白，合適鍵合劑可包含不可裂解或可裂解鍵合劑，例如，pH 可裂解鍵合劑或包含細胞酵素(例如，細胞酯酶、細胞阮酶例如組織蛋白酶 B)裂解部位的鍵合劑。此種可裂解鍵合劑可用於製備在免疫球蛋白內質化後會釋出毒素基團或毒素的免疫球蛋白。

可使用各種方法以連結或共軛毒素基團或毒素至免疫球蛋白，所選擇特別方法依據毒素基團或毒素及所要連結或

共軛的免疫球蛋白。若需要，可使用包含終端官能基的鍵合劑連結免疫球蛋白與毒素基團或毒素，一般，共軛係由將包含反應官能基(或是修飾以包含反應官能基)的毒素基團或毒素與鍵合劑或是直接與免疫球蛋白反應，共價鍵係藉由將包含(或是修飾以包含)反應基團或官能基(其在適當條件下可與第二化學基反應由此形成共價鍵)而形成。若需要，可使用任何合適方法可加入適當反應化學基至免疫球蛋白或至鍵合劑(參看，例如，Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996).)。許多合適反應化學基組合為該技藝所已知，例如胺基可與親電子基例如甲苯磺酸酯、甲磺酸酯、鹵素(氯、溴、氟、碘)、N-羥基琥珀醯亞胺酯(NHS)、及其類似物反應。硫代可與馬來醯亞胺、點乙醯基、丙烯醯、吡啶二硫物、5-硫代-2-硝基苯甲酸硫鈎(TNB-硫鈎)、及其類似物反應。醛官能基可耦合至含胺或含胍分子，及疊氮基可與三價磷反應以形成氮基磷酸酯或亞氮基磷酸酯鏈結。引入活化基至分子的合適方法為該技藝所已知(參看例如，Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996))。

合適毒素基團及毒素包含，例如，美登醇(例如，美登素醇，例如，DM1, DM4)、紫杉類、加利車黴素、倍癌黴素、或其衍生物。美登醇可為，例如，美登素醇或美登素醇類似物。美登素醇類似物的實例包含具修飾芳香環(例如，C-19-去氯基、C-20-去甲氧基、C-20-醯氧基)的類似

物及具在其他位置(例如，C-9-CH₃、C-14-烷氧甲基、C-14-羥甲基或乙醯氧甲基、C-15-羥基/醯氧基、C-15-甲氧基、C-18-N-去甲基、4,5-去氧基)修飾的類似物。美登素醇及美登素醇類似物係敘述於美國專利第5,208,020號及第6,333,410號，其內容係併入此處做為參考。美登素醇可使用例如，N-琥珀醯亞胺3-(2-吡啶二硫基)丙酸酯(亦已知為N-琥珀醯亞胺4-(2-吡啶二硫基)戊酸酯(或SPP))、4-琥珀醯亞胺-氧羥基-a-(2-吡啶二硫基)-甲苯(SMPT)、N-琥珀醯亞胺-3-(2-吡啶二硫基)丁酸酯(SDPB)、2亞氨基硫烷、或S-乙醯基丁二酸酐而耦合至抗體或抗體片段。紫杉類可為，例如，紫杉醇、剋癌易、或新穎紫杉類(參看例如，WO 01/38318)。加利車黴素可為，例如，一種溴-複合加利車黴素(例如， α 、 β 、或 γ 溴-複合)，一種碘-複合加利車黴素(例如， α 、 β 、或 γ 碘-複合)，或是其類似物及相似物。溴-複合加利車黴素包含I1-BR、I2-BR、I3-BR、I4-BR、J1-BR、J2-BR及K1-BR，碘-複合加利車黴素包含I1-I、I2-I、I3-I、J1-I、J2-I、L1-I及K1-BR。加利車黴素及其突變物、類似物、相似物係敘述於例如美國專利第4,970,198；5,264,586；5,550,246；5,712,374、及5,714,586號，其每一個內容係併入此處做為參考。倍癌黴素類似物(例如，KW-2189、DC88、DC89 CBI-TMI、及其衍生物)係敘述於，例如，美國專利第5,070,092號、美國專利第5,187,186號、美國專利第5,641,780號、美國專利第5,641,780號、美國專利第4,923,990號、及美國專利第5,101,038號，其每一

個內容係併入此處做為參考。

其他毒素實例包含，但不限於抗代謝物(例如，甲氫蝶呤、6-巯嘌呤、6-巯基鳥嘌呤、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶 decarbazine)，烷化劑(例如，雙氯乙基甲胺、thioepa chlorambucil、CC-1065 (參考美國專利第 5,475,092、5,585,499、5,846,545 號)、美法崙、卡莫司汀(BSNU)及洛莫司汀(CCNU)、環磷醯胺、白血福恩、二溴甘露糖醇、鏈佐菌素、絲裂黴素 C、及順式-二氯二氫鉑(II) (DDP)順鉑)、蔥環類(例如，柔紅黴素(先前為道諾黴素)及阿霉素)，抗生素(例如，更生黴素(先前為放線毒素)、博來黴素、光神黴素、絲裂黴素、嘌呤黴素安麴黴素(AMC))、倍癌黴素及其類似物或衍生物，及抗-分裂劑(例如，長春新鹼、長春花鹼、紫杉醇、auristatins (例如，auristatin E)及美登素類，及其類似物或同系物)。

毒素亦可為表面活性毒素，例如為自由基產生器(例如，含硒毒素基團)，或是含放射性核素基團的毒素。合適含放射性核素基團包含例如包含放射性碘(^{131}I 或 ^{125}I)、釷(^{90}Y)、鐳(^{177}Lu)、銦(^{225}Ac)、鐳、砒(^{211}At)、銦(^{186}Re)、鉍(^{212}Bi 或 ^{213}Bi)、銲(^{111}In)、鐳($^{99\text{m}}\text{Tc}$)、磷(^{32}P)、銻(^{188}Rh)、硫(^{35}S)、碳(^{14}C)、氫(^3H)、鉻(^{51}Cr)、氯(^{36}Cl)、鈷(^{57}Co 或 ^{58}Co)、鐵(^{59}Fe)、硒(^{75}Se)、或鎳(^{67}Ga)的基團。

毒素可為一種來自細菌來源的蛋白、多肽或肽，例如，白喉毒素、假單胞菌屬外毒素(PE)及植物蛋白(例如，蓖麻

毒素A鏈(RTA)、核糖體失活蛋白(RIPs)細胞毒素、商陸抗病毒蛋白、皂草毒蛋白、及dodecandron)係意欲用作毒素。

設計以結合、使無法、促進負責產生特定標的蛋白的mRNA的降解或是防止其生成的核酸反義化合物亦可用作毒素。反義化合物包含反義RNA或DNA，單或雙股的，寡核苷酸，或是其類似物，其可特定地雜交至個別mRNA物種或是防止mRNA物種的轉錄及/或RNA加工及/或經編碼多肽的轉譯，及由此造成個別經編碼多肽的量的減少。Ching 等 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86: 10006-10010 (1989)；Broder,等，Ann. Int. Med. 113: 604-618 (1990)；Loreau等., FEBS Letters 274: 53-56 (1990)。有用的反義療法包含例如：Veglin TM (VasGene)及OGX-011 (Oncogenix)。

毒素亦可為一種光活性劑，合適光活性劑包含樸淋-基底物質例如卟吩姆鈉、綠樸淋、二氫卟吩E6、血卟啉本身衍生物、酞花菁、etiopurpurins、替沙林、及其類似物。

毒素可為一種結合至細胞間標的的抗體或抗體片段，此種抗體或抗體片段可指向經定義亞細胞區間或標的，例如，抗體或抗體片段可結合至一種細胞間標的，其係由erbB2、EGFR、BCR-ABL、p21Ras、細胞凋亡蛋白酶3、細胞凋亡蛋白酶7、Bcl-2、p53、細胞週期素E、ATF-1/CREB、HPV16 E7、HP1、Type IV膠原酶、cathepsin L及其他敘述於Kontermann, R.E., Methods, 34:163-170 (2004)(其係以其全文併入做為參考)的細胞間標的。

治療方法及組合物

本發明抗體有用於免疫-抑制及免疫及免疫淨化。抗體標的CD52-表現細胞(例如，T及B細胞)並減少(當用於此處時亦或"消除")於需要個體中它們的族群。淋巴細胞消耗有用於治療各種疾病及情況，例如發炎、自體免疫疾病及癌症(例如，淋巴細胞(B或T細胞)惡性腫瘤)，參考例如，Reiff, A., Hematology, 10(2):79-93 (2005)。可使用本發明抗體或抗原-結合部份治療的疾病及情況之實例包含但不限於多發性硬化症、狼瘡、類風濕關節炎、移植體抗宿主疾病(GVHD)、炎症腸道疾病、血管炎、貝西氏病、韋格納肉芽腫病、修格蘭氏症候群、葡萄膜炎、乾癬、硬皮症、多發性肌炎、第I型(自體免疫-基底)糖尿病、自體免疫細胞減少症(例如，自體免疫粒細胞減少症、輸血-依賴難治型 PRCA、白血病及淋巴瘤例如具巨大腫瘤的非-何杰金氏淋巴瘤及B-細胞慢性淋巴性白血病)。

據此，本發明方向為淋巴細胞消耗方法，及藉由投要有效量的本發明抗體至需要的個體(例如，具自體免疫疾病、血癌的人類，或是要接受移植的病人)治療發炎、自體免疫疾病及癌症的方法。亦可預防性投藥抗體至病人以預防發炎開始或是自體免疫疾病或癌症的復發，例如，本發明抗體可施藥做為a調理療法的一部分以準備病人進行移植(例如，幹細胞移植、同種異體T細胞自體移植灌注、或固體器官移植)。

本發明一些抗-CD52抗體較佳為標的某些CD52+細胞族

群，一個可能解釋為這些抗體所結合的抗原決定區在CD52蛋白上包含一或更多碳水化合物基團，及此種碳水化合物基團較其他於表現一種細胞型式的CD52更為普遍，例如，我們發現抗體7F11、5F7、3G7、及11C11消耗T細胞較消耗B細胞更多，於是，這些抗體的人類化及嵌合抗體可用於治療T細胞惡性腫瘤且免疫抑制副作用較溫和。

因為本發明抗體標的CD52-表現細胞，抗體亦可用於消耗T細胞及B細胞之外的CD52+細胞型式，例如，研究已示出血管淋巴細胞(VLC)及表現高CD52-含量的Tie2+單核細胞-骨髓樣的細胞促進腫瘤血管新生及貢獻腫瘤抗性至抗-VEGF療法。Pulaski等，J. Translational Med. 7:49 (2009)。本發明抗-CD52抗體於是可藉由標的VLC及Tie2+單核細胞而用於抑制腫瘤血管新生。為此目的，抗-CD52抗體可在血管新生部位，例如腫瘤部位系統地，或局部地投藥，抗-CD52抗體療法可與照顧標準癌症治療例如化療、手術、或輻射，或是使用另一標的療法例如抗-VEGF抗體療法合併使用，抗-CD52抗體療法可用於治療，例如，乳癌、肺癌、神經膠質瘤、大腸癌、及任何其他抗-VEGF抗體的徵兆。抗-CD52抗體療法亦可用於其他血管新生情況，其包含非-腫瘤血管新生情況例如老年黃斑病變(AMD)及糖尿病視網膜病變。

可單獨投藥本發明抗體至個體(例如，人類)或是在合併治療中與其他藥劑(例如，免疫抑制劑)合併投藥，抗體

可在投藥額外藥劑之前，一起或之後投藥。在一些具體實施例，該額外藥劑為，例如，消炎化合物例如柳氮磺吡啶，另一種非類固醇消炎化合物，或是類固醇消炎化合物。在一些具體實施例，該額外藥劑為另一種淋巴-消耗抗體例如另一種抗-CD52抗體、抗-CD20抗體、抗-BAFF抗體、抗-BAFF-R抗體、及其類似抗體。在一些具體實施例，該額外藥劑為，例如，細胞介素、抗-細胞介素受體抗體，或可溶性受體，其扭轉、操作、及/或加強由抗-CD52抗體所媒介的淋巴消耗之後的再造過程(參看，例如，Sportes 等.,「Perspective on Potential Clinical Applications of Recombinant Human Interleukin-7,」Cytokine Therapies 1182:28-38 (2009))。在另一具體實施例，合成肽類似物可與本發明免疫球蛋白合併投藥。

研究已示出藉由阿來組單抗(alemtuzumab)的淋巴細胞消耗係由嗜中性球及NK細胞所媒介 (Hu等 Immunology 128:260-270 (2009))。於是，在合併治療的具體實施例，刺激嗜中性球及NK細胞的藥劑可在抗-CD52抗體療法之前，期間或之後投藥至病人，以增強抗體療法。刺激嗜中性球及/或NK細胞包含，但不限於(1)增加其分裂速率，(2)增加對應於抗-CD52抗體(例如，Fc γ RIIIa 及 Fc γ RIIIb、Fc γ RII、Fc γ RI、及Fc α RI)的同種型的Fc受體的細胞表面表現，(3)移動及增加循環細胞的數目，(4)補充細胞至標的部位(例如，腫瘤、發炎、或組織損傷部位)，(5)及增加其細胞毒性活性。刺激嗜中性球及/或NK細胞的藥劑實例包

含，例如，粒細胞-單核細胞集落刺激因子(GM-CSF) (例如，LEUKINE®或沙格司亭及莫拉司亭)；粒細胞集落刺激因子(G-CSF)(例如，NEUPOGEN®或非格司亭、聚乙二醇化非格司亭、及 lenograstim,)；CXC趨化激素受體4(CXCR4)拮抗劑(例如，Mozobil™或 plerixafor)；及CXC趨化激素受體2 (CXCR2) 拮抗劑。病人的嗜中性球數目可定期監測以確保最適治療效用，病人嗜中性球數目可在抗-CD52抗體治療開始之前測量，可基於病人的嗜中性球數目調整刺激物的數量，若病人具有較正常為低的嗜中性球數目，則可使用較高劑量的刺激物。在粒細胞減少症(其可由使用抗-CD52抗體治療而引起)期間，亦可使用較高劑量的嗜中性球刺激物以最大化抗-CD52抗體的效果。

因為嗜中性球及/或NK細胞改善抗-CD52抗體療法的效用，合併治療的此具體實施例使得我們可對病人使用較少的抗體並維持類似的治療效果。對病人使用較少的抗體並維持治療效果可幫助減少抗-CD52抗體的副作用，其包含病人中對經投藥抗體的免疫反應及繼發性免疫(在抗-CD52抗體治療期間或之後發生的自體免疫疾病)的發展。合併治療的此具體實施例亦有用於腫瘤，例如，當病人具有粒細胞減少症。

在合併治療的另一具體實施例，可使用調節T細胞的刺激物以增強抗-CD52抗體療法。我們的數據顯示相較其他CD4+ T細胞，抗-CD52抗體會消耗CD4+CD25+FoxP3+調節T細胞至遠遠為低的含量，調節T細胞(亦已知為

「Treg」或壓抑T細胞)為一種能夠經接觸依賴性或接觸獨立(例如，細胞介素製造)機制抑制其他淋巴細胞的增生及/或功能的細胞。已敘述數種形式的調節T細胞，其包含 $\gamma\delta$ T細胞、自然殺手T (NKT)細胞、CD8+T細胞、CD4+T細胞、及雙陰性CD4-CD8-T細胞。參看，例如，Bach等，Immunol. 3:189-98 (2003)。已稱 CD4+CD25+FoxP3+調節T細胞為「自然發生」調節T細胞；它們表現CD4、CD25及叉頭家族轉錄因子FoxP3 (叉頭盒p3)。於是，在合併治療的此具體實施例，我們可在抗-CD52抗體治療之前、期間或之後投藥刺激CD4+CD25+FoxP3+調節T細胞的藥劑，以在淋巴細胞-消耗之後扭轉免疫系統的組成。藥劑可，例如，活化那些T細胞，穩定及/或擴充細胞族群，移動及增加細胞循環，及/或吸收細胞至標的部位。此種藥劑的實例為雷帕黴素、活性或潛伏性TGF- β (例如，TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3、TGF- β 4、及TGF- β 5)、IL-10、IL-4、IFN- α 、維生素D3、迪皮、及mycophenolate mofetil (參看，例如，Barrat等., J. Exp. Med. 195:603-616 (2002); Gregori等., J Immunol. 167: 1945-1953 (2001); Battaglia 等，Blood 105: 4743-4748 (2005); Battaglia等，J. Immunol. 177:8338-8347 (2006))。

在此發明，治療一種疾病的有效量的抗-CD52抗體為一種幫助所治療個體一或更多所欲臨床終點的量例如，對狼瘡(其表現包含系統性紅斑狼瘡、狼瘡性腎炎、皮膚紅斑狼瘡、CNS狼瘡、心臟血管表現、肺表現、肝表現、血液

表現、胃腸表現、肌肉骨骼表現、新生兒紅斑狼瘡、兒童全身性紅斑狼瘡、藥物誘發紅斑性狼瘡、抗磷脂症候群、及造成狼瘡表現的補體缺乏症候群；參看，例如，Robert G. Lahita, Editor, Systemic Lupus Erythematosus, 4th Ed., Elsevier Academic Press, 2004)，臨床終點可由監控受影響器官系統(例如，狼瘡性腎炎的血尿及/或蛋白尿)及/或使用提供數個器官系統之間疾病嚴重性的綜合分數的疾病活動性指標(例如，BILAG、SLAM、SLEDAI、ECLAM)而測量，參看，例如，Mandl 等., "Monitoring patients with systemic lupus erythematosus" in Systemic Lupus Erythematosus, 4th edition, pp. 619-631, R.G. Lahita, Editor, Elsevier Academic Press, (2004)。

在自體免疫疾病、多發性硬化症(其包含復發型、後續惡化型、初發惡化型、及惡化復發型多發性硬化症((Lublin 等，Neurology 46 (4), 907-11 (1996))的另一實例，診斷係例如在測試例如核磁共振造影(MRI)、脊髓穿刺、誘發電位檢查、及血液樣品實驗室分析協助下由徵狀歷史及神經功能檢查而進行。在MS，治療目標為減少復發的頻率及嚴重性、預防因疾病發展所產生的障礙、及促進組織修復(Compston and Coles, 2008)。於是，幫助達到與該目標一致的臨床終點的抗-CD52抗體量為用於該治療的抗體的有效量。

為最小化致免疫性，較佳為於本發明的治療方法及組合物使用人類化抗體治療人類病患。在不需要重複投藥的情

況，投藥本發明的老鼠：人類嵌合抗體至人類病患亦為合適的。

本發明的抗體可以單一單位劑量或是多重劑量在健康照顧提供者認為合適的任何時間點投藥，劑量可由該技藝已知方法決定及可依據例如個體年齡、敏感性、耐受及整體情況而定。可使用各種投藥路徑，其包含，但不限於非腸道(例如，靜脈內、動脈內、肌肉內、胞囊內、腹腔內、皮下注射)、口服(例如，飲食中)、就當時部位、局部、吸入(例如，氣管內、鼻內或口部吸入、鼻內滴劑)、或直腸，依據要治療疾病或情況而定。非腸道投藥為一種較佳投藥模式。

配方可依據所選擇投藥路徑而異(例如，溶液、乳液)，包含要投藥抗體的適當組合物可於生理可接受媒劑或載體中製備。組合物可為多重劑量或為單一單位劑量組合物。對溶液或乳液，合適載體包含，例如，含水或醇類/水溶液、乳液或懸浮液，其包含鹽水或緩衝介質。非腸道媒劑可包含氯化鈉溶液、林格葡萄糖、葡萄糖與氯化鈉、丙醇酸酯化林格或不揮發油。靜脈內媒劑可包含各種添加劑、防腐劑、或流體、營養劑或電解質補充劑(參看，一般，Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th Edition, Mack Publishing Co., PA, 1985)。對吸入，化合物可為溶解的或是載至合適投藥用給藥器(例如，噴霧器、氣霧器或壓力噴霧器)。

診斷方法及組合物

本發明的免疫球蛋白亦有用於應用於研究及診斷的各種方法，例如，它們可用於偵測、分離、及/或純化人類CD52或其變化物(例如，藉由懸浮液中親合純化或是其他合適方法例如流式細胞計數法，例如，用於細胞，例如淋巴細胞)，及研究人類CD52結構(例如，構形)及功能。對於活體外應用，其中抗體的致免疫性不是考量的重點，除人類化抗體之外，本發明的老鼠及嵌合抗體將為有用的。

本發明免疫球蛋白可用於診斷應用(例如，活體外、體外)，例如，本發明人類化免疫球蛋白可用於偵測及/或量度樣品中(例如，於在組織或體液，如發炎滲出物、血液、血清、腸液、含人類CD52組織中表現人類CD52的細胞上)人類CD52的含量。樣品(例如，組織及/或體液)可來自個體及此處所敘述免疫球蛋白可用於合適免疫球蛋白方法以偵測及/或量度人類CD52表現，其包含方法例如流式細胞計數法(例如，用於懸浮液中的細胞，例如淋巴細胞)，酵素連結免疫吸附法(ELISA)，其包含化學發光法、放射免疫分析、及免疫組織。

在一個具體實施例，提供一種偵測樣品中人類CD52的方法，其包含在合適免疫球蛋白與人類CD52的特定結合之條件下將樣品與本發明免疫球蛋白接觸並偵測所形成的抗體-CD52複合物。在應用該方法時，此處所敘述免疫球蛋白可用於分析正常比上發炎組織(例如，來自人類)的人類CD52反應性及/或表現(例如，免疫組織地)，以偵測例如，炎性腸道疾病(IBD)、自體免疫疾病(例如多發性硬化

及狼瘡)、癌症(例如非-何杰金氏淋巴瘤及慢性淋巴性白血病)、或其他情況與增加的人類CD52表現(例如,於受感染組織)之間的關聯。於是,本發明免疫球蛋白允許進行評估人類CD52於正常及發炎組織之存在的免疫方法,經由此可評估疾病存在、疾病進程及/或抗-人類CD52療法於疾病(例如,發炎性疾病)治療的效用。

此外,在以消耗抗-CD52醫療抗體的治療之後免疫球蛋白可用於檢查組織以估量該消耗多有效及以決定CD52表現是否有任何向下調節 (Rawstrom等., Br. J. Heam., 107:148-153 (1999))。

除非另外定義,此處所使用所有技術及科學名稱具與熟知該技藝所普遍了解的相同意義。示例方法及物質係敘述於下文,類似或相當於此處所敘述方法及物質亦可用於本發明實務及測試。此處所提及所有出版品或其他參考文獻係以其全文併入做為參考,在衝突情況下,本專利說明書,包含定義,為優先。雖然本文引用數個文件,此引用並不構成任何這些文件形成該技藝常見一般之式的一部份之認知。在此專利說明書及申請專利範圍,要了解字眼「包含(comprise)」或變化例如「包含(comprises)」或「包含(comprising)」意味著包含所敘述整數或整數組但不排除任何其他整數或整數組。物質、方法、及實例僅為說明性及不欲為限制。

示例

實例1:老鼠抗-人類CD52抗體的產生

在下列實例的老鼠抗-人類CD52抗體係由免疫化CD1品系老鼠而產生(第1A圖)，所述CD1品系老鼠的脾細胞來自CD1背景的人類CD52基因轉殖老鼠，其中人類CD52於基因轉殖老鼠的老鼠B及T細胞的表面之顯示係由流式細胞計數法證實。因為基因轉殖老鼠與免疫化老鼠具有相同的背景(CD1)，來自基因轉殖老鼠的脾細胞以自然格式於細胞表面呈現人類CD52為唯一、非己抗原，及免疫化非基因轉殖老鼠表現主要朝人類CD52的抗體反應。

為收集人類CD52基因轉殖老鼠的脾細胞，將老鼠安樂死，取出脾臟並藉由通過注射器以製備單一細胞懸浮液。接著以每隻老鼠 5×10^6 的所收集人類CD52陽性脾細胞於100微升具有或不具有弗氏完全佐劑藉由腹膜內(i.p.)注射而免疫化CD1老鼠。在以每隻老鼠 5×10^6 的基因轉殖老鼠人類CD52陽性脾細胞於100微升具弗氏完全佐劑，腹膜內注射的第一次免疫化之後每兩週給予老鼠兩次追加劑量。

對於所有老鼠，在免疫化之前每隻老鼠收集其眼出血100-200微升於黃色蓋血清分離管以決定基礎位準反應性，並在第一輪免疫化之後一週決定抗-人類CD52特定免疫反應。於CHO K1細胞(設計為表現人類CD52蛋白)，而不是在親代CHO K1細胞上表現高位準抗-人類CD52反應性(如由FACS測量)的老鼠，在無菌條件下收集血液及收集脾臟以產生融合瘤細胞。融合瘤細胞係在免疫化之後3-4天由使用非分泌老鼠骨髓瘤細胞系SP2/0 Ag14或NS1骨髓瘤

細胞產生做為融合夥伴。將融合細胞放置於包含次黃嘌呤、胺基喋呤及胸腺嘧啶的完全生長培養基以產生融合瘤細胞。篩選後，許多融合瘤細胞上層清液，選擇許多選殖，其產生特定抗-人類CD52抗體及進一步次選殖以得到選殖族群。比例放大產生抗-人類CD52抗體的融合瘤細胞以進行進一步發展。

實例2：老鼠抗-人類CD52抗體的重及輕鏈的PCR分析

數個老鼠抗-人類CD52單株抗體(第1B圖)由測試融合瘤細胞上層清液抗-人類CD52反應性的存在而辨識。選擇個別細胞株及老鼠的重及輕鏈變異序列由PCR選殖及定序辨識。與YTH 34.5 HL (亦即，Campath IG κ (大鼠)及試劑抗體 CF1D12 (CF1D12 κ)(Invitrogen Life Science Technologies)比較的輕鏈序列示於第2圖。類似地，與YTH 34.5 HL及試劑抗體CF1D12比較的輕鏈序列示於第3圖。

辨識出總共10個獨特輕鏈變異序列及11個獨特重鏈變異序列。若一個包含Campath®及CF1D12，則在抗-人類CD52抗體的輕鏈內，7個獨特CDR-1區域(表1)，8個獨特CDR-2區域(表2)及7個獨特CDR-3區域(表3)被辨識。

表1：輕鏈CDR-1序列

輕鏈CDR-1	序列
A	KASQNIDKYLN (SEQ ID NO:27)
B	KSSQSLLESDGRTYLN (SEQ ID NO:28)
C	KSSQSLLDSDGKTYLN (SEQ ID NO:29)
D	KSSQSLLDSDGRTYLN (SEQ ID NO:30)

E	KSSQSLLYSNGKTYLN (SEQ ID NO:31)
F	RSSQSLVHTNGNSYLH (SEQ ID NO:32)
G	RSSQSLVHTNGNTYLH (SEQ ID NO:33)

表 2：輕鏈 CDR-2 序列

輕鏈CDR-2	序列
A	NTNNLQT (SEQ ID NO:34)
B	LVSNLDS (SEQ ID NO:35)
C	LVSKLDS (SEQ ID NO:36)
D	LVSNLGS (SEQ ID NO:37)
E	LVSALDS (SEQ ID NO:38)
F	LVSNLNS (SEQ ID NO:39)
G	LVSHLDS (SEQ ID NO:40)
H	MVSNRFS (SEQ ID NO:41)

表 3：輕鏈 CDR-3 序列

輕鏈 CDR-3	序列
A	LQHISRPRT (SEQ ID NO:42)
B	WQGTHFPWT (SEQ ID NO:43)
C	VQGSHFHT (SEQ ID NO:44)
D	VQGTRFHT (SEQ ID NO:45)
E	VQGTHLHT (SEQ ID NO:46)
F	SQSTHVPFT (SEQ ID NO:47)
G	SQSAHVPPLT (SEQ ID NO:48)

若一個包含 Campath®及 CF1D12，則在抗-人類 CD52 抗體的重鏈內總共 8 個獨特 CDR-1 區域(表 4)，10 個獨特 CDR-2 區域(表 5)及 8 個獨特 CDR-3 區域(表 6)以被辨識。

表 4：重鏈 CDR-1 序列

重鏈CDR-1	序列
A	GFTFTDFYMN (SEQ ID NO:49)
B	GFTFSDAWMD (SEQ ID NO:50)
C	RFTFSDAWMD (SEQ ID NO:51)
D	GLTFSDAWMD (SEQ ID NO:52)
E	GFPFSNYWMN (SEQ ID NO:53)

F	GFTFNKYWMN (SEQ ID NO:54)
G	GFTFNTYWMN (SEQ ID NO:55)
H	GFTFTDYYS (SEQ ID NO:56)

表 5：重鏈 CDR-2 序列

重鏈CDR-2	序列
A	FIRDKAKGYTTEYNPSVKG (SEQ ID NO:57)
B	EIRNKAKNHVAYYAESVKG (SEQ ID NO:58)
C	EIRNKANNHATYYAESVKG (SEQ ID NO:59)
D	EIRNKAKNHVKYYAESVKG (SEQ ID NO:60)
E	EIRNKAKNHATYYAESVKG (SEQ ID NO:61)
F	EIRKKVNNHATYYAESVKG (SEQ ID NO:62)
G	QIRLKSNNYATHYAESVKG (SEQ ID NO:63)
H	QIRLKSDNYATHYAESVKG (SEQ ID NO:64)
I	FIRNKANGYTTEYNASVKG (SEQ ID NO:65)
J	FIRNKANGYTTEYSASVKG (SEQ ID NO:66)

表 6：重鏈 CDR-3 序列

重鏈CDR-3	序列
A	AREGHTAAPFDY (SEQ ID NO:67)
B	TTLDS (SEQ ID NO:68)
C	TSLDY (SEQ ID NO:69)
D	TGLDY (SEQ ID NO:70)
E	TPIDY (SEQ ID NO:71)
F	TPVDF (SEQ ID NO:72)
G	TRYIFFDY (SEQ ID NO:73)
H	TRYIWFDY (SEQ ID NO:74)

在 13 個不同抗 - 人類 CD52 抗體內特定輕及重鏈 CDR 的
關係說明於表 7。

表 7：基於 CDR 組成抗 - 人類 CD52 抗體的分類

細胞株名稱	重鏈CDR-1			輕鏈		
	CDR-1	CDR-2	CDR-3	CDR-1	CDR-2	CDR-3
Campath	A	A	A	A	A	A
CF1D12	B	B	B	B	B	B
8G3.25.3.5	C	C	C	C	C	B

GMA 4G7.F3	B	D	C	C	D	B
GMA 9D9.A2	B	E	B	C	E	B
GMA 11C11.C5	B	E	C	C	C	B
GMA 3G7.E9	B	F	C	C	F	B
5F7.1.1.4	D	E	D	D	G	B
12G6.15.1.2	E	G	E	E	C	C
23E6.2.2.1	F	H	E	E	C	D
2C3.3.8.1	G	G	F	E	C	E
7F11.1.9.7	H	I	G	F	H	F
4B10.1.2.4	H	J	H	G	H	G

細胞株 8G3.25.3.5 、 4G7.F3 、 9D9.A2 、 11C11.C5 、 3G7.E9 、 5F7.1.1.4 、 12G6.15.1.2 、 23E6.2.2.1 、 2C3.3.8.1 、 7F11.1.9.7及4B10.1.2.4在後文係分別稱為8G3、4G7、9D9、11C11、3G7、5F7、12G6、23E6、2C3、7F11及4B10。

表 7.1：抗-人類CD52抗體 CDRs 的 SEQ ID NOs

細胞株名稱	重鏈			輕鏈		
	CDR-1	CDR-2	CDR-3	CDR-1	CDR-2	CDR-3
Campath	49	57	67	27	34	42
CF1D12	50	58	68	28	35	43
8G3	51	59	69	29	36	43
4G7	50	60	69	29	37	43
9D9	50	61	68	29	38	43
11C11	50	61	69	29	36	43
3G7	50	62	69	29	39	43
5F7	52	61	70	30	40	43
12G6	53	63	71	31	36	44
23E6	54	64	71	31	36	45
2C3	55	63	72	31	36	46
7F11	56	65	73	32	41	47
4B10	56	66	74	33	41	48

實例 3：從老鼠融合瘤細胞選殖老鼠 IgG 變異區基因以產生老鼠/人類嵌合 IgG1 抗體

主動增生及抗體分泌融合瘤細胞係用於依照製造商建議步驟流程使用 Trizol 試劑 (Gibco/BRL) 分離 RNA，使用 Nanodrop 測量 OD 以定量 RNA，及 RNA 的完整性係藉由使其在凝膠上移動或是藉由使用生物分析儀決定。總 RNA 反

轉錄為cDNA且重及輕鏈的變異區由聚合酶連鎖反應(PCR)放大。cDNA係使用BD Sprint PowerScript反轉錄酶(Clontech)以0.5微克/微升的Oligo(dT)引子(Invitrogen Cat# Y01212)及10微莫耳濃度的反向引子(位於重及輕鏈的恆定區)(於下文以數字列出)依照製造商建議步驟流程產生。特定言之，使用編號3 (SEQ ID NO: 77)、11 (SEQ ID NO: 85)、19 (SEQ ID NO: 93)、20 (SEQ ID NO: 94)及21 (SEQ ID NO: 95)的引子。使用如上文所敘述產生的cDNA執行重及輕鏈變異區的PCR放大，對重及輕鏈，皆將1微升cDNA與每一個皆10微莫耳濃度的順向引子及反向引子混合，並在2微升25毫莫耳濃度的MgCl₂存在下與PCR super mix (Invitrogen) 混合。PCR程序以下列步驟操作：1) 95°C進行2分鐘；2) 95°C進行30秒；3) 56°C進行30秒；4) 68°C進行45秒；5)重複步驟2至4 25次；6) 68°C進行10分鐘及維持於16°C。於2%凝膠分析PCR產物，以偵測約300-400 bp大小的變異區序列之存在，並依照製造商指南將適當條帶選殖至pCR2.1-TOPO TA選殖套組(Invitrogen)及使用M13引子確認經選殖序列。提供用於反轉錄及用於PCR放大輕鏈及重鏈序列的引子：

輕鏈引子

- 1) Lead-ML κ=5' ATGGGCWTCAARATGRARWCWCAT 3'
(於前導序列的順向引子) (SEQ ID NO:75)
- 2) FR1-ML κ=5' GAYATTGTGMTRACMCARKMTCAA 3'
(於骨架1的順向引子) (SEQ ID NO:76)

- 3) ML κ 恆定=5' ACTGGATGGTGGGAAGATGGA 3' (於恆定區的反向引子) (SEQ ID NO:77)
- 4) VK-MK=5' GAYATTGTGMTSACMCARWCTMCA 3' (於骨架1的順向引子) (SEQ ID NO:78)
- 5) MKC-Const=5' GGATACAGTTGGTGCAGCATC 3' (於恆定區的反向引子) (SEQ ID NO:79)

重鏈引子

- 6) MH-SP-ALT1=5' ATGRASTTSKGGYTMARCTKGRTT 3' (於前導序列的順向引子) (SEQ ID NO:80)
- 7) MH-SP-ALT2=5' ATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCT 3' (於前導序列的順向引子) (SEQ ID NO:81)
- 8) MH-FR1=5' SAGGTSMARCTGCAGSAGTCT 3' (於骨架1的順向引子) (SEQ ID NO:82)
- 9) MH-FR1-1=5' SAGGTGMAGCTCSWRSARYCSGGG 3' (於骨架1的順向引子) (SEQ ID NO:83)
- 10) MH-J2=5' TGAGGAGACTGTGAGAGTGGTGCC 3' (於J區域的反向引子) (SEQ ID NO:84)
- 11) MH-gamma-const=5' AYCTCCACACACAGGRRCCAGTGG ATAGAC 3' (於恆定區的反向引子) (SEQ ID NO:85)
- 12) VH MH1=5' SARGTNMAGCTGSAGSAGTC 3' (於骨架1的順向引子) (SEQ ID NO:86)
- 13) VH MH2=5' SARGTNMAGCTGSAGSAGTCWGG 3' (於骨架1的順向引子) (SEQ ID NO:87)
- 14) VH MH3=5' CAGGTTACTCTGAAAGWGTSTG 3' (於骨

架1的順向引子)(SEQ ID NO:88)

15) VH MH4=5' GAGGTCCARCTGCAACARTC 3'(於骨架1的順向引子)(SEQ ID NO:89)

16) VH MH5=5' CAGGTCCAACTVCAGCARCC 3'(於骨架1的順向引子)(SEQ ID NO:90)

17) VH MH6=5' GAGGTGAASSTGGTGGGAATC 3'(於骨架1的順向引子)(SEQ ID NO:91)

18) VH MH7=5' GATGTGAACTTGGAAGTGTC 3'(於骨架1的順向引子)(SEQ ID NO:92)

19) IgG1=5' ATAGACAGATGGGGGGTGTCGTTTTGGC 3' (於老鼠IgG1 CH1恆定區的反向引子)(SEQ ID NO:93)

20) IgG2A=5' CTTGACCAGGCATCCTAGAGTCA 3' (於老鼠 IgG2A CH1恆定區的反向引子)(SEQ ID NO:94)

21) IgG2B=5' AGGGGCCAGTGGATAGAGTGATGG 3' (於老鼠IgG2B CH1恆定區的反向引子)(SEQ ID NO:95)

退化引子導致在重鏈及輕鏈骨架1區域的5'端的一些退化。來自許多獨立重鏈變異區細胞株及來自輕鏈變異區細胞株的一致性DNA序列係用於得到胺基酸序列。

功能性嵌合抗-CD52抗體係由結合重鏈及輕鏈變異區至編碼分別人類IgG1重鏈(與在Campath-1H[®]發現的序列相同)及人類κ輕鏈恆定區(與在Campath-1H[®]發現的序列相同)的DNA製造。為產生編碼CD52抗體輕鏈的pCEP4(Invitrogen)輕鏈載體，將輕鏈變異區以PCR放大及由連接酶獨立選殖至pCEP4 LIC輕鏈載體以使人類κ鏈信號序列在

5'端及使輕鏈恆定區在3'端。類似地，為產生pCEP4重鏈載體，重鏈序列的變異區係由連接酶獨立選殖至pCEP4 LIC重鏈載體以使人類 κ 鏈信號序列在5'端及使包含CH1、樞紐區(hinge)、CH2及CH3區域的重鏈恆定區在3'端。重鏈及輕鏈的恆定區的胺基酸序列與存在於Campath1H抗體的恆定區胺基酸序列相同。

簡言之，pCEP4 LIC載體係依照製造商建議於合適緩衝液以BfuA1(New England Biolabs-NEB)消化及在消化完成後，使用PureLink PCR純化套組 (Invitrogen)純化載體。接著將線性質粒以T4 DNA聚合酶(New England Biolabs)處理以產生單-股端及用於選殖變異區片段。重鏈特定pCEP4 LIC載體係用於選殖重鏈變異區及輕鏈特定pCEP4 LIC載體係用於選殖輕鏈變異區。變異區插入物係由PCR產生，其中使用包含變異區特定序列及載體懸突(overhang)的包含pCR2.1-TOPO重鏈變異區的質粒或包含pCR2.1-TOPO輕鏈變異區的質粒作為模版及引子。VENT DNA聚合酶(New England Biolabs)係用於插入物的PCR放大，以凝膠純化經PCR放大的插入物及使用T4 DNA聚合酶處理以產生單股端。將重鏈及輕鏈的經製備載體與個別變異區插入物的片段合併並於室溫培養10分鐘以用於轉殖TOPO10細胞(Invitrogen)，挑選抗安比西寧細胞株及驗證其序列。將具有插入於骨架中的正確重鏈及輕鏈序列的pCEP4重鏈及pCEP4輕鏈選殖株放大及用於蛋白製造，使用陽離子脂質LipofectamineTM 2000 (Invitrogen)將重鏈構築與相對應輕

鏈構築以1:1的比例共轉染至HEK293細胞(Invitrogen)。轉染後三天收集經調節介質，並使用蛋白A層析純化嵌合抗體。為進行此層析方法，將介質加入蛋白A，並以50管柱體積的PBS清洗，使用5管柱體積的12.5毫莫耳濃度檸檬酸，pH 3.0沖提嵌合抗體，經沖提抗體的pH藉由加入0.5毫耳濃度HEPES中和，藉由使用PD-10凝膠過濾管柱交換使緩衝液為 PBS。

實例4：嵌合抗-人類CD52單株抗體的抗原決定區專一性分析

細胞株抗原決定區的專一性係由評估嵌合抗體結合至設計以表現由丙胺酸掃描突變誘發技術所產生的人類CD52的突變的細胞株組織能力而決定(第4圖)。CD52的12個胺基酸細胞外區域中的前10個胺基酸的抗體取代係使用STRATAGENE QUIKCHANGE II XL定點突變誘發套組於pcDNA3.1表現載體(Invitrogen)中的人類CD52 cDNA上執行。編碼野生型或突變CD52序列的pcDNA3.1載體的序列被證實，及使用Lipofectamine™轉染至CHO細胞，及藉由在包含G418的介質選擇以產生表現野生型或丙胺酸突變CD52的CHO細胞株。抗-人類CD52嵌合抗體的抗原決定區特定結合係藉由以FACS測量抗體對野生型及突變CD52表現細胞的結合而決定。FACS分析係藉由使用PE-共軛羊抗-人類二級抗體(Jackson ImmunoResearch Labs)偵測嵌合抗-CD52抗體的結合而執行。第5A-5C圖顯示抗-CD52單株抗體至野生型及突變CD52表現細胞株的平均螢光強度(MFI)，即使CD52為非常短的，12個胺基酸，GPI錨定蛋

白，FACS結果清楚定義有三組抗體：(1) N-端結合基團(例如 4B10)；(2)中間結合基團(例如 4G7、9D9及 11C1)與(3) C-端結合基團(例如 23E6、12G6、及 2C3)。抗-人類CD52單株抗體(由在實例2最後所敘述的簡寫名稱所辨識)的抗原決定區專一性係摘要於表8。

表8：11個老鼠抗-人類CD52單株抗體的特性

細胞株	同種型	抗原決定區專一性
大鼠YTH34.5HL	IgG2a	9-10-11-12
小鼠CF1D12	IgG3	3-4-5-6-7
8G3.25.3.5	IgG3	未確認
4G7.F3	IgG3	3-4-5-6-7
9D9.A2	IgG3	3-4-5-6-7
11C11.C5	IgG3	1-3-4-5-6-7
3G7.E9	IgG2b	1-3-4-5-6-7
5F7.1.1.4	IgG3	1-3-4-5-6-7-10
12G6.15.1.2	IgG3	7-8-9
23E6.2.2.1	IgG3	7-8-9
2C3.3.8.1	IgG3	7-8-9-10
7F11.1.9.7	IgG1	1-2-3-4-5
4B10.1.2.4	IgG2a	1-2-3-4-5

CD52為一種極小的抗原但擁有相當大的，親水性N-連結糖基團及疏水性GPI-錨定。為探測糖可能構成所有或部分由抗-CD52抗體所辨識的抗原決定區之可能性，得自CHO-CD52細胞的經親合純化CD52樣品以內切糖苷酶、PNGase-F處理，以自抗原完全移除N-連結糖。接著將經處理及模擬-處理控制樣品以SDS-PAGE解析，轉漬至聚偏二氟乙烯(PVDF)薄膜(Invitrogen)，以每一個3微克/毫升的抗-CD52嵌合單株抗體探測，及接著根據標準西方轉漬法步驟使用增強化學發光偵測發展，使用 Campath-1H®

(C1H)及單獨使用(2° Alone)的轉漬係分別操作以作為陽性及陰性對照，及使用每一個單株抗體(第5D圖)探測。結果顯示抗體間對醣化比上去-醣化CD52的不同結合偏好。此特性使得將十一個抗體分類為四種形式的結合組：

1. 顯現對醣化比去-醣化CD52沒有明顯偏好之結合的抗體(4G7, 9D9)
2. 顯現對醣化CD52結合特定的抗體(7F11, 4B10)
3. 顯現對去-醣化CD52結合特定的抗體(8G3)
4. 顯現與醣化相較具去-醣化CD52偏好結合的抗體(12G6, 5F7, 23E6, 2C3, 11C11, 3G7)

實例5：嵌合抗-CD52抗體的CDC活性

如下文所敘述執行補體依賴細胞毒性(CDC)檢測，簡言之，設計為表現CD52蛋白(CHO-CD52)的CHO K1細胞係用作標的細胞及以 $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ (New England Nuclear, Boston, MA)於37°C標記1-2小時。洗滌細胞，使用X-Vivo介質再懸浮，及與抗-人類CD52抗體混合至2.2微克/毫升的最終濃度，加入人類補體(Sigma)至實驗孔以達10%的最終濃度，在1-5-小時培養之後，自每一孔收集25微升不含細胞的上層清液及以MICROBETA TRILUX閃爍計數器(Wallac, Gaithersburg, MD)計數。自發釋出的 ^{51}Cr 量係由單獨在介質中培養標的細胞而得到。自標的細胞的自發釋出典型上小於20%。所併入 ^{51}Cr 總量係由加入1% Triton X-100至蒸餾水中而決定，且裂解百分率係如下計算：[(樣品計數每分鐘 (c.p.m.)-自發c.p.m.)/(總c.p.m.-自發c.p.m.)] X 100。

十二個不同的嵌合抗-CD52抗體(老鼠變異區及人類IgG1恆定區)係於具有人類補體的CHO-CD52細胞上在CDC分析中測試。Campath-1H®人類化抗體係用作陽性對照，陰性對照為Campath-1H® null (一種Campath-1H®的非-細胞-結合最少突變-於H2迴路-重鏈CDR2區域的兩點突變(K52bD及K53D；Gilliland LK 等，*Journal of Immunology*, 162:3663-3671 (1999))。結果顯示嵌合抗體能夠於CD52-表現細胞媒介CDC殺傷。一些嵌合抗體媒介強健殺傷，相當於Campath®或較之為佳 (第6圖)。

實例6：嵌合抗-CD52抗體的ADCC活性

如下文所敘述執行抗體依賴細胞毒性(ADCC)檢測，簡言之，設計為表現CD52蛋白(CHO-CD52)的CHO K1細胞係用作標的細胞及以 $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ (New England Nuclear, Boston, MA)於37°C標記1-2小時。洗滌細胞，使用X-Vivo介質再懸浮，及與抗-人類CD52抗體混合至1.1微克/毫升的最終濃度，人類PBMC係用作效應細胞，並以1:100標的-對-效應細胞的比例加入，在6小時隔夜培養之後，自每一孔收集25微升不含細胞的上層清液及以MICROBETA TRILUX閃爍計數器(Wallac, Gaithersburg, MD)計數。自發釋出的 ^{51}Cr 量係由單獨在介質中培養標的細胞而得到。自標的細胞的自發釋出典型上小於20%。所併入 ^{51}Cr 總量係由加入1% Triton X-100至蒸餾水中而決定，且裂解百分率係如下計算：[(樣品 c.p.m.-自發 c.p.m.)/(總 c.p.m.-自發 c.p.m.)] X 100。

十二個不同的嵌合抗-CD52抗體(老鼠變異區及人類IgG1恆定區)係於使用人類PBMC作為效應細胞的ADCC分析中測試。Campath-1H®人類化抗體係用作陽性對照，用作陰性對照的是Campath-1H® null (一種Campath-1H®的非-細胞-結合最少突變-於H2迴路-重鏈CDR2區域的兩點突變(K52bD及K53D；Gilliland, 1999, *supra*)。結果顯示嵌合抗體能夠於CD52-表現細胞媒介ADCC殺傷。一些嵌合抗體媒介強健殺傷，相當於Campath-1H®或較之為佳(第7圖)。

實例7：結合嵌合抗-CD52抗體至經定義淋巴細胞族群之評估

使用下列螢光染劑共軛抗體於流式細胞分析：抗-CD3-FITC、抗-CD27-PE、抗-CD62L-PE Cy5、抗-CD56-PE Cy7、抗-CD16-APC Cy7 (BD Biosciences, San Diego, CA)、抗-CD45RA-ECD (Beckman Coulter)、抗-CD19-太平洋藍、抗-CD4-APC Cy5.5及抗-CD8 太平洋橙(Invitrogen, CA)。所有老鼠嵌合抗-人類CD52抗體及人類化Campath-1H®都共軛至Alexa fluor 647 (BD Pharmingen)。健康人類週邊血液單核細胞係得自冷藏保存白血球衣或是得自商業廠商(Bioreclamation, NY, USA)所提供正常捐贈者的血液分離的單核細胞。為進行單核細胞的增長，使用磷酸生理食鹽水(PBS)以1:1稀釋人類週邊血液及小心地分層置於聚蔗糖-泛影葡胺(GE Healthcare Bio-Sciences, Uppsala, Sweden)上及於室溫離心30分鐘。取出單核細胞的中間相層及於包含5%胎牛血清(FACS緩衝液)的PBS中洗滌。汙染

的紅血球細胞(RBCs)以RBC裂解溶液(Sigma, St. Louis, MO, USA)裂解，將細胞再懸浮於冷FACS緩衝液及使用40微米過濾器移除碎屑，執行十色流式細胞分析以評估9個嵌合抗-人類 CD52抗體(4B10、7F11、9D9、5F7、2C3、4G7、23E6、8G3、3G7)與Campath-1H®比較的結合能力。

簡言之， 1×10^6 PBMC's於FACS緩衝液的重複物使用對CD3、CD27、CD45RA、CD62L、CD56、CD19、CD8、CD4、CD16的抗體與9個嵌合抗-人類 CD52抗體(4B10、7F11、9D9、5F7、2C3、4G7、23E6、8G3、3G7)其中一個的預先-滴定稀釋液之混合物於4°C培養30分鐘。洗滌細胞及固定於包含1%多聚甲醛的PBS。100,000個染色細胞於BD LSR-II (BD Biosciences, San Jose, CA)上得到，及使用FlowJo 7.2版軟體(Tree Star, Inc, Oregon, USA)分析數據。具不同表現型特徵的多個子集已在B及T淋巴細胞之間定義且已顯示CD52要表現於所有人類淋巴細胞。執行十色流式細胞分析以辨識淋巴細胞子集，及以評估抗-CD52抗體與在所定義子集上細胞表面CD52的結合特徵之相似點及不同點。使用標記組合，對應於B、T及NK細胞系的11個表現型不同細胞族群先自淋巴球路徑(lymphocyte gate)定義出。接著評估對應於抗-CD52抗體偵測CD52表現的能力之染色強度。統計表(第8A-8C圖)顯示個別淋巴細胞族群上以每一個抗體偵測CD52的程度之比較。數據顯示抗體在結合至CD52方面展現顯著不同。4B10、9D9、

7F11及Campath-1H®的偵測程度為可比較的，於幾乎所有檢查的細胞子集，雖然4B10一致地顯示較包含Campath-1H®的其他抗體為最高的偵測程度。另一方面，使用3G7、4G7、8G3及23E6抗體的CD52偵測程度顯著為低。結果顯示在抗體之間相關於辨識不同細胞族群上CD52的能力之層次，4B10為最高及3G7為最低。令人有興趣地是，於CD4效應細胞，這些差別較不明顯，及在NK細胞子集較明顯，於此CD52顯示出在相當較低位準表現。在結合特徵的差異顯示嵌合抗體的性質不僅與Campath-1H®顯著不同，亦反應在抗體之間性質的差別。

實例8：人類CD52基因轉殖老鼠中嵌合抗-CD52抗體之分析(7F11、8G3、23E6、12G6、4B10及5F7)

以 Campath®或嵌合抗-CD52抗體(7F11、8G3、23E6、12G6、4B10及5F7)投藥至人類CD52基因轉殖老鼠，以檢查淋巴細胞消耗的程度。將100微升體積的Campath®或嵌合抗-CD52抗體以 1毫克/公斤的劑量腹膜內注射至老鼠。三天之後殺死老鼠並收集血液及脾臟以決定B及T-細胞消耗的位準。利用流式細胞計數法評估存在於huCD52基因轉殖老鼠的循環週邊血液或脾臟的總T輔助細胞、細胞毒性T細胞、及B細胞之絕對數。這些淋巴細胞族群係由其下列蛋白抗原的表面表現而定義：CD4表現辨識T輔助細胞族群，CD8表現辨識細胞毒性T細胞族群及CD19表現辨識所有成熟B細胞族群。顯著位準的T及B-細胞消耗於12G6及4B10抗體皆可觀察到，其可與使用Campath®所觀察到的

消耗相較。使用 Campath®、嵌合 12G6 或嵌合 4B10 抗體的處理顯著降低在此劑量位準經處理老鼠的血液及脾臟中的 T 及 B 細胞，7F11 及 5F7 嵌合抗體造成血液及脾臟中顯著位準的 T 細胞消耗位準但是在消耗血液及脾臟中 B 細胞為較不有效的。以 23E6 抗體處理產生在此劑量的中等位準的消耗，然而使用較低親合 8G3 抗體會觀察到些微甚至沒有消耗。

第 9A-9C 圖顯示在使用嵌合抗體給藥之後 72 小時的血液中 CD4 T 細胞、CD8 T 細胞及 CD19 B 細胞的含量。第 10A-10C 圖顯示在給藥之後 72 小時脾臟中 CD4 T 細胞、CD8 T 細胞及 CD19 B 細胞的含量。

實例 9：人類 CD52 基因轉殖老鼠中嵌合抗-CD52 抗體之分析 (2C3、3G7、4B10、9D9、及 11C11)

將 Campath® 或嵌合抗-CD52 抗體 (2C3、3G7、4B10、9D9 及 11C11) 投藥至人類 CD52 基因轉殖老鼠以檢查淋巴細胞消耗的程度。將 100 微升體積的 Campath® 或嵌合抗-CD52 抗體以 1 毫克/公斤的劑量腹膜內注射至老鼠。三天之後殺死老鼠及收集血液及脾臟以決定 B 及 T-細胞消耗的位準。利用流式細胞計數法評估存在於 huCD52 基因轉殖老鼠的循環週邊血液的總 T 輔助細胞、細胞毒性 T 細胞、及 B 細胞之絕對數。這些淋巴細胞族群係由其下列蛋白抗原的表面表現而定義：CD4 表現辨識 T 輔助細胞族群，CD8 表現辨識細胞毒性 T 細胞族群及 CD19 表現辨識所有成熟 B 細胞族群。顯著位準的 T 及 B-細胞消耗於血液及脾臟抗體皆觀

察到，2C3及9D9的消耗活性可與使用 Campath®所觀察到的消耗為比較的且顯著位準的CD4及CD8 T細胞及CD19 B細胞被消耗。使用嵌合4B10的處理亦產生基因轉殖老鼠中淋巴細胞數目的顯著降低，然而使用嵌合抗體3G7或11C11抗體的處理顯著消耗血液中T細胞，所存在B細胞的位準於此劑量並未受顯著影響。

第11A-11C圖顯示在給藥嵌合抗體之後72小時血液中CD4 T細胞、CD8 T細胞及CD19 B細胞的含量。

實例10：抗-CD52抗體效用之分析(7F11、4B10及12G6)

將100微升體積的 1×10^6 B104腫瘤細胞注射至四十隻SCID老鼠(每組 $n=8$)的右側腹。腫瘤細胞注射後第11天，開始使用Campath®、7F11、4B10或12G6嵌合抗體處理。將抗體在剩餘實驗全程以10毫克/公斤每週一次腹膜內注射投藥，在未經處理組的所有老鼠腫瘤持續成長，在29天的中間存活期後死掉，較未經處理組，Campath®的處理造成統計上顯著增加的存活(中間存活期(MS)50天及 $p<0.0001$)，嵌合抗-CD52抗體的處理亦較未經處理老鼠產生統計上顯著增加的存活(7F11與4B10的 $p<0.0001$ 及12G6的 $p=0.0020$)。基於存活率，7F11與4B10抗體的活性顯然皆較Campath®為大(7F11的63%存活率及4B10的75%存活率相較於Campath®的50%存活率)。第12圖顯示處理後老鼠的存活百分率。

實例11：抗-CD52抗體效用之分析(2C3、8G3以及23E6)

將100微升體積的 1×10^6 B104腫瘤細胞注射至四十隻

SCID 老鼠 (每組 $n=8$) 的右側腹。腫瘤細胞在注射後第 11 天，開始以 Campath®、2C3、8G3 或 23E6 嵌合抗體處理。將抗體在剩餘實驗全程以 10 毫克/公斤每週一次腹膜內注射投藥，在未經處理組的所有老鼠的腫瘤持續成長，在 26 天的中間存活期後死掉，以 Campath®、23E6、及 2C3 抗體的處理產生統計上顯著增加的存活 (分別為 $p=0.0025$ 、 $p=0.0007$ 、及 $p=0.0002$)。第 13 圖顯示處理後老鼠的存活百分率。

實例 12：異種移植腫瘤模型中嵌合抗-CD52 抗體效用之分析 (9D9 及 4B10)

將 100 微升體積的 1×10^6 B104 腫瘤細胞注射至四十隻 SCID 老鼠 (每組 $n=8$) 的右側腹。腫瘤細胞在注射後第 11 天，開始以 Campath®、9D9 或 4B10 嵌合抗體處理。將抗體在剩餘實驗全程以 10 毫克/公斤每週一次腹膜內注射投藥，在未經處理組的所有老鼠的腫瘤持續成長，在 27 天的中間存活期後死掉。以 Campath® 的處理產生較未經處理組統計上顯著增加的存活 (中間存活期未達到及 $p<0.0001$)，以嵌合抗-CD52 抗體處理亦產生較未經處理老鼠統計上顯著增加的存活 (9D9 及 4B10 的 $p<0.0001$)。存活曲線的統計分析透露在此實驗中 9D9 嵌合抗體顯示可與 Campath® 比較的活性 ($p=0.0675$)。第 14 圖顯示處理後老鼠的存活百分率。

實例 13：異種移植腫瘤模型中嵌合抗-CD52 抗體效用之分析 (2C3 及 11C11)

將 100 微升體積的 1×10^6 B104 腫瘤細胞注射至四十隻 SCID 老鼠 (每組 $n=8$) 的右側腹。注射後第 11 天，開始以 Campath®、2C3 或 11C11 嵌合抗體處理腫瘤細胞。將抗體在剩餘實驗全程以 10 毫克/公斤每週一次腹膜內注射投藥，在未經處理組的所有老鼠的腫瘤持續成長，在 32 天的中間存活期後死掉，以 Campath® 的處理產生較未經處理組統計上顯著增加的存活 (中間存活期未達到及 $p < 0.0001$)，以嵌合抗-CD52 抗體的處理亦產生較未經處理老鼠統計上顯著增加的存活 (2C3 的 $p < 0.0001$ 及 11C11 的 $p = 0.0004$)。存活曲線的統計分析透露 2C3 及 11C11 嵌合抗體顯示可與 Campath® 相較的活性 (2C3 的 $p = 0.3173$ 及 11C11 的 $p = 0.9703$)。第 15 圖顯示使用 Campath®、2C3 嵌合抗體或 11C11 嵌合抗體處理後老鼠的存活百分率。

實例 14：人類化抗-CD52 抗體 4B10 的生成及分析

人類化抗人類-CD52 抗體 4B10 係由移植老鼠 4B10 抗體的 CDR 區域至人類抗體變異區骨架而產生。老鼠 4B10 重鏈及輕鏈序列係由基於網路的序列排列評估以辨識用作 CDR 移植合適受體的人類細胞株重鏈及輕鏈骨架序列 (第 16 圖)。由 Kabat 及 IMGT® 定義 CDR 區域的殘基係疊合至具高序列相似度的人類骨架區域，以產生人類化重鏈及輕鏈序列，執行經疊合 4B10 重鏈及輕鏈序列的目視檢查及序列分析以辨識最合適的受體序列。在所有具高相似性的細胞株序列中，重鏈的 VH3-72 細胞株序列及輕鏈的 VK2-A18b (人類細胞株序列可於 Tomlinson, IM, 等, EMBO J., 14(18):4628-

4638 (1995); Cook, GP., 等 Nature Genetics, 7:162-168 (1994)出版品中敘述的網站發現)係因其與老鼠骨架區域有高度同源性及序列相似度，及做為CDR受體序列的最少CDR迴路結構分裂而被選擇。4B10重鏈及輕鏈的CDR1、2、及3序列係分別移植至VH3-72及VK2-A18b人類骨架區域4B10以產生人類化重鏈及輕鏈序列(說明於第17圖；第110圖)。

實例15：嵌合及人類化4B10單株抗體結合活性之評估

嵌合及人類化4B10抗體係如在實例3所敘述製造及純化並分析其結合至B細胞株B104的能力，B細胞株內源地藉由FACS表現CD52。簡言之， 2×10^5 B104細胞係於包含5%胎牛血清及5%羊血清的PBS中和抗體(0.02微克/毫升至16.7微克/毫升)一起培養。所結合抗體以FITC標記的羊抗-人類二級抗體(其偵測嵌合或人類化抗-CD52抗體)偵測，經標記細胞係使用FACSCalibur系統(Becton Dickinson)分析。第18圖顯示每一個正常化(經分裂)的幾何平均螢光強度較僅-2°樣品的倍數增加。用於該檢測的該11個不同濃度(於X軸的第12個點為僅二級)的人類化及嵌合抗體係示於X軸，及幾何平均倍數增加於平均螢光的幾何平均倍數增加係示於Y軸。結果顯示相較於嵌合4B10抗體，所結合人類化4B10抗體結合至CD52表現細胞的能力一樣好或些微更佳。

實例16：嵌合及人類化4B10單株抗體ADCC活性之評估

評估嵌合及人類化4B10抗體媒介CD52-表現細胞的

ADCC殺傷之能力。ADCC檢測係如在上文實例 6所敘述執行。簡言之，設計為表現CD52蛋白(CHO-CD52)的CHO K1細胞係用作標的細胞並以Na²⁵¹CrO₄ (New England Nuclear, Boston, MA)於37°C標記1-2小時。洗滌細胞，再懸浮於具10% FCS的RPMI 1640介質中，及與嵌合或人類化4B10抗體以範圍自10 微克/毫升至0.01微克/毫升的各種濃度混合。人類 PBMC係用作效應細胞並以1:50標的-對-效應細胞比例加入，在6小時隔夜培養之後，自每一孔收集25微升不含細胞的上層清液，並以MicroBeta Trilux閃爍計數器(Wallac, Gaithersburg, MD)計數。自發釋出的⁵¹Cr量係由單獨在介質中培養標的細胞而得到。自標的細胞的自發釋出典型上小於20%。所併入⁵¹Cr總量係由加入1% Triton X-100至蒸餾水而決定，而裂解百分率係如下計算：
$$\left[\frac{\text{樣品 c.p.m.} - \text{自發 c.p.m.}}{\text{總 c.p.m.} - \text{自發 c.p.m.}} \right] \times 100。$$

第19圖說明用於檢測中對照、嵌合及人類化4B10抗體的濃度(X軸)，Y軸顯示%特定殺傷。結果顯示相較於嵌合4B10抗體，人類化4B10抗體媒介相當或些微更佳的ADCC殺傷。IgG1同種型對照於所測試濃度顯示僅低位準的背景殺傷。

實例17：嵌合及人類化4B10單株抗體CDC活性之評估

評估嵌合及人類化4B10抗體在人類補體存在下對內源地表現CD52的B104細胞媒介細胞毒效應之能力。使用CellTiter Glo套組(Promega)決定殘基在試驗的活細胞。簡

言之，B104細胞(標的細胞)係以 2.5×10^4 細胞/孔置於96孔培養盤中，與嵌合或人類化4B10抗體以範圍自1微克/毫升至25微克/毫升的各種濃度混合，並加入人類補體至10%的最終濃度。僅補體而無抗體及僅抗體而無補體係用作對照以決定背景。在於 37°C 培養三小時後，以每分鐘1500轉離心培養盤3分鐘，而存在於沉澱細胞團塊的活細胞係使用CellTiter Glo分析決定。以Envision機器讀取培養盤。第20圖顯示使用CellTiter Glo分析測量的存在於試驗的活細胞。再次，隨著人類化及嵌合4B10抗體的濃度增加，活細胞數目減少。這些結果建議在B104細胞的CDC媒介殺傷中，人類化抗體較嵌合4B10抗體表現一樣好或些微更佳。

實例 18：於CD52基因轉殖老鼠中嵌合及人類化抗-CD52抗體的藥物動力數據之分析(12G6、7F11、嵌合及人類化4B10)

以Campath®、12G6、7F11、及嵌合及人類化4B10抗-CD52抗體其中一個投藥至人類CD52基因轉殖老鼠，以檢查淋巴細胞消耗位準。取這些抗體其中一個100微升體積，以1毫克/公斤的劑量靜脈內注射至老鼠，為分析抗-抗體反應，於抗體注射後2小時、1、2、4、7、及10天後經由眼窩後叢內穿刺收集100微升血液至血清分離管。使用ELISA分析決定每一個血清樣本中循環人類IgG1的含量。基於抗體循環位準，Campath®、7F11、及4B10的嵌合及人類化形式之間存在些微或沒有任何差異。注射後12G6抗體顯現較低 $c_{\max}$ 值，其暗示此抗體可能快速退化。第21圖

顯示 Campath®、12G6 (嵌合)、7F11 (嵌合)、4B10 (嵌合) 及 4B10 (人類化) 抗體的藥物動力數據。

實例 19：於 CD52 基因轉殖老鼠中嵌合及人類化抗-CD52 抗體的消耗活性之分析(嵌合及人類化 4B10)

將 Campath® 或嵌合或人類化 4B10 抗-人類 CD52 抗體投藥至人類 CD52 基因轉殖老鼠，以檢查淋巴細胞消耗量。將 100 微升體積嵌合或人類化 4B10 抗-人類 CD52 抗體以 1 毫克/公斤的劑量靜脈內注射至老鼠。三天之後殺死老鼠及收集血液及脾臟以決定 B 及 T-細胞消耗的位準。利用流式細胞計數法評估存在於 huCD52 基因轉殖老鼠的循環週邊血液的總 T 輔助細胞、細胞毒性 T 細胞、及 B 細胞之絕對數。這些淋巴細胞族群係由其下列蛋白抗原的表面表現而定義：CD4 表現辨識 T 輔助細胞族群，CD8 表現辨識細胞毒性 T 細胞族群及 CD19 表現辨識所有成熟 B 細胞族群。脾臟中消耗活性的比較顯示在投藥 Campath® 或嵌合或人類化形式的 4B10 之後所消耗 T 細胞位準沒有任何差別。因為所使用的低劑量，於脾臟中觀察到僅中度位準的 B 細胞消耗。於每動物基準，顯然在媒介淋巴細胞消耗上人類化 4B10 抗體與 Campath® 為一樣好或是些微更佳。第 22A-22C 圖顯示在使用嵌合及人類化抗體投藥之後 72 小時血液中 CD4 T 細胞、CD8 T 細胞及 CD19 B 細胞的位準。

實例 20：抗-人類 CD52 抗體的相對結合效率

使用設計為表現 CD52 的 CHO 細胞評估所選擇抗-CD52 抗體的 EC50 值。CHO-CD52 細胞係於 0.25% 胰蛋白酶胰蛋白

化，收集，及使用PBS/5% FBS潤洗。接著將細胞以每孔1E5細胞沉積至圓底96孔培養盤。初級抗體染色係使用每一個抗-CD52嵌合抗體以起始濃度50微克/毫升的12點連續稀釋(1:2)而完成。使用於10微克/毫升(Jackson 109-096-098)二級的抗-人類Fcγ的FITC-共軛羊FAB2片段，將細胞在每一次培養前及後於冰-冷PBS/5% FBS洗滌3次，將細胞固定於包含2%不含甲醇多聚甲醛的PBS及由流式細胞計數法評估，流式細胞數據係使用Graph pad Prism軟體分析以決定95%信賴區間的EC50值。

結合數據(第23圖)顯示該新的CD52抗體不僅具如先前所敘述不同的抗原決定區專一性，亦具如下表所顯示不同的結合特徵。Campath-1H®、7F11、4B10、2C3及12G6嵌合抗體顯示在0.5至2.5微克/毫升之間相當類似的EC 50值。9D9嵌合抗體顯示些微不同的結合特徵，其EC50值在約5至7微克/毫升。4B10人類化抗體顯示與嵌合4B10抗體類似的結合特徵，其顯示人類化抗體保留嵌合4B10抗體的結合特徵。

表9：EC50 (微克/毫升)

細胞株 ID	平均	STDEV
C1H*	1.36	0.46
2C3-Chi	1.32	0.33
4B10-Chi	2.18	0.33
4B10-H1/K1	2.23	0.50

7F11-Chi	2.22	0.29
9D9-Chi	6.05	1.18
12G6-Chi	0.95	0.21

C1H 表示 *Campath-1H*®.

實例 21：抗-CD52 抗體細胞株 7F11 的人類化

抗-人類 CD52 抗體細胞株 7F11 的人類化係由自老鼠 7F11 抗體移植 CDR 區域至人類抗體變異區骨架如在實例 14 對 4B10 抗體人類化所敘述。7F11 重鏈及輕鏈 CDR-1、CDR-2、及 CDR-3 序列係分別移植至 VH3-72 及 VK2 A18b 人類骨架區。人類 JH6 (WGQGTTVTVSS: SEQ ID NO: 133) 及 JK2 (FGQGTKLEIK: SEQ ID NO: 134) 序列係分別選擇為人類化重鏈及輕鏈的 C-端肽，以產生 7F11 的人類化重鏈 (7F11-SFD1 及 7F11-SFD2) 及人類化輕鏈 (7F11-VK2) 變異區序列 (第 24 圖)。該兩個人類化重鏈變異區序列 (7F11-SFD1 及 7F11-SFD2) 差別在於在 CDR-3 區域的一個胺基酸序列，7F11-SFD1 版本在位置 93 是蘇胺酸 (由 Kabat 編號系統表示)，然而 7F11-SFD2 版本於此位置是丙胺酸，在第 24 圖 7F11-SFD1 及 7F11-SFD2 的位置 93 皆加底線。

7F11-SFD1 (SEQ ID NO: 274) 的全長重鏈胺基酸序列及 7F11-K2 (SEQ ID NO: 275) 的全長輕鏈胺基酸序列係示於第 107 圖。

實例 22：嵌合及人類化 7F11 單株抗體結合活性之評估

嵌合及人類化 7F11 抗體 (7F11-SFD1/K2 及 7F11-SFD2/K2)

係使用在實例3所敘述方法製造及純化，並藉由流式細胞計數法分析其結合至於CHO-CD52細胞表面表現的CD52 (CHO細胞係設計為表現人類CD52)之能力。簡言之， 2×10^5 個CHO-CD52細胞於包含5%胎牛血清及5%羊血清的PBS中與10微克/毫升的抗體一起培養。所結合抗體是以FITC 標記的羊抗-人類二級抗體(其偵測嵌合或人類化抗-CD52抗體)偵測，經標記細胞係使用FACSCalibur 系統 (Becton Dickinson)分析及數據係使用FlowJo version 7.2軟體 (Tree Star, Inc, Oregon, USA)分析。在第25圖的統計表比較使用嵌合及人類化7F11抗體所偵測的CD52含量。結果顯示所結合人類化7F11抗體較嵌合7F11抗體結合至CD52表現細胞的能力一樣好或些微更佳。

實例23：抗-CD52抗體細胞株2C3的人類化

抗-人類CD52抗體細胞株2C3的人類化係由自老鼠2C3抗體移植CDR區域至人類抗體變異區骨架如在實例14對細胞株4B10抗體人類化所敘述而執行。2C3重鏈及輕鏈CDR-1、CDR-2、及CDR-3序列係分別移植至VH3-72及VK2 A18b人類骨架區。人類JH6 (WGQGTTVTVSS: SEQ ID NO: 133)及JK5 (FGQGTRLEIK: SEQ ID NO: 135)序列係分別選擇為人類化重鏈及輕鏈的C-端肽，以產生2C3的人類化重鏈(2C3-SFD1)及輕鏈(2C3-VK1)變異區序列(第26A及B圖)。不像人類化細胞株4B10及7F11，經CDR-移植的人類化2C3抗體的結合親合性大為降低，結合親合性係由引入回復突變至經CDR-移植結構而恢復，且在限制回復突

變數目為最小的目的下，以儘可能保持重新成型抗體為「人類」，由此降低致免疫性的可能性。將單一或多個回復突變併入人類化重及輕鏈變異區序列，回復突變位置(如由Kabat編號系統表示)係描述於下表10及表11。評估使用這些回復突變所產生的抗體的經回復結合親合性。三個輕鏈變異物(2C3-VK1(L46R)，亦稱為2C3-VK11；2C3-VK1(Y36L-L46R)，亦稱為2C3-VK12；及2C3-VK1(M4I-A19V-Y36L-Q45K-L46R)，亦稱為2C3-VK13)及5個重鏈變異物(2C3-SFD1(L78V)，亦稱為2C3-VH12；2C3-SFD1(G49A)，亦稱為2C3-VH15；2C3-SFD1(G49A-L78V)，亦稱為2C3-VH16；2C3-SFD1(L18M-G49A-L78V)，亦稱為2C3-VH17；及2C3-SFD1(L18M-G42E-G49A-L78V)，亦稱為2C3-VH19)係使用標準生物技術產生。經CDR-移植重鏈變異區序列2C3-SFD1及回復突變物2C3-VH12、2C3-VH15、2C3-VH16、2C3-VH17、及2C3-VH19的胺基酸序列係示於第26A圖且經回復突變胺基酸加底線及CDRs為粗體。類似地，對輕鏈序列，經CDR-移植變異區序列2C3-VK1及回復突變物2C3-VK11、2C3-VK12、及2C3-VK13係示於第26B圖且經回復突變胺基酸加底線及CDRs為粗體。

2C3-SFD1 (SEQ ID NO: 272)的全長重鏈胺基酸序列及2C3-K12 (SEQ ID NO: 273) 的全長輕鏈胺基酸序列係示於第106圖。

表 10：2C3細胞株重鏈回復突變

細胞株 ID	突變(Kabat編碼位置)
2C3-VH12	L至V (78)
2C3-VH15	G至A (49)
2C3-VH16	G至A (49)、L至V (78)
2C3-VH17	L至M (18)、G至A (49)、L至V (78)
2C3-VH19	L至M (18)、G至E (42)、G至A (49)、 L至V (78)

表 11：2C3細胞株輕(κ)鏈回復突變

細胞株ID	突變(Kabat編碼位置)
2C3-VK11	L至R (46)
2C3-VK12	Y至L (36) 以及 L至R (46)
2C3-VK13	M至I (4)、A至V (19)、Y至L (36)、 QL至KR (45,46)

實例 24：嵌合及人類化2C3單株抗體結合活性之評估

嵌合及人類化2C3抗體係使用在實例3所敘述方法製造及純化，數種由配對重鏈突變物及輕鏈突變物而產生的人類化抗體，及相對應嵌合抗體係使用在實例22所敘述方法藉由流式細胞計數法分析其結合至在CHO-CD52細胞表面表現的CD52之能力。結合數據暗示由配對重鏈變異與輕鏈變異2C3-VK1或2C3-VK11所產生的細胞株具減少的結合能力，然而由配對重鏈變異與2C3-VK12或2C3-VK13所產生的細胞株顯示與嵌合2C3抗體相當或較之為佳的結合。所選擇細胞株的代表性統計表(第27A圖)比較由嵌合及人類化2C3抗體所偵測的CD52位準。與相對應嵌合抗體相較，2C3-SFD1/K1的結合顯著降低。當與重鏈2C3-SFD1配對以製造抗體2C3-SFD1/K11時，併入單一老鼠殘基於輕鏈的位置46(白胺酸白胺酸至精胺酸)(產生2C3-VK11)不會恢

復結合。而且，結合不會因併入三個回復突變於重鏈（產生2C3-VH17）以製造抗體2C3-H17/K11而恢復。然而，當2C3-SFD1重鏈與2C3-VK12配對時，其具兩個回復突變，以製造抗體2C3-SFD1/K12時，結合完全恢復，此暗示必須併入特定回復突變以恢復結合活性。第27B顯示一種證實結合為相當於嵌合2C3抗體結合的所選擇人類化細胞株的統計表。這些結果顯示2C3-VK12輕鏈中兩個胺基酸殘基的回復突變族以完全恢復抗體活性。當與幾乎任何重鏈變異配對時，在殘基36（Y至L）及46（L至R）的變化能夠恢復結合。如此，顯示具最少衍生自原始老鼠抗體的骨架殘基的經恢復結合的人類化2C3細胞株係為2C3-SFD1/K12。

實例 25：抗-CD52抗體細胞株12G6的人類化

抗-人類CD52抗體細胞株12G6的人類化係由自老鼠12G6抗體移植CDR區域至人類抗體變異區骨架如在實例14對細胞株4B10抗體人類化所敘述而執行。12G6重鏈及輕鏈CDR-1、CDR-2、及CDR-3序列係分別移植至VH3-72及VK2 A18b人類骨架區。人類JH6 (WGQGTTVTVSS: SEQ ID NO: 133)及JK2 (FGQGTKLEIK: SEQ ID NO: 134)序列係分別選擇為人類化重鏈及輕鏈的C-端肽，以產生12G6的人類化重鏈(12G6-SFD1)及輕鏈(12G6 -VK1)變異區序列(第28A及28B圖)。當12G6-SFD1重鏈變異區及12G6-VK1輕鏈變異區合併於人類化12G6-SFD1/K1抗體時，CD52的結合親合性大為降低，結合親合性係由引入回復突變至經CDR-移植結構而恢復，將單一或多個回復突變併入人類

化重及輕鏈變異區序列，這些回復突變的位置(如由Kabat編號系統表示)係描述於下表12及表13。評估使用這些回復突變所產生的抗體的經回復結合親合性。四個輕鏈變異(12G6-VK1(Y36V)，亦稱為12G6-VK10；12G6-VK1(Y36V-Q45K-L46R)，亦稱為12G6-VK11；12G6-VK1(Y36V-L46R)，亦稱為12G6-VK12；及12G6-VK1(L46R)，亦稱為12G6-VK13)及三個重鏈變異(12G6-SFD1(L78V)，亦稱為12G6-VH10；12G6-SFD1(G49A)，亦稱為12G6-VH11；及12G6-SFD1(G49A-L78V)，亦稱為12G6-VH12)係使用標準分子生物技術產生。經CDR-移植重鏈變異區序列12G6-SFD1及回復突變12G6-VH10、12G6-VH11、及12G6-VH12的胺基酸序列係示於第28A圖且經回復突變胺基酸加底線及CDRs為粗體。類似地，對輕鏈序列，經CDR-移植變異區序列12G6-VK1及回復突變12G6-VH10、12G6-VH11、12G6-VK12、及12G6-VK13係示於第28B圖且經回復突變胺基酸加底線及CDRs為粗體。

12G6-SFD1 (SEQ ID NO: 279)的全長重鏈胺基酸序列及12G6-K12 (SEQ ID NO: 280) 的全長輕鏈胺基酸序列係示於第109圖。

表 12：12G6細胞株重鏈回復突變

細胞株 ID	突變 (Kabat編碼位置)
12G6-VH10	L至V (78)
12G6-VH11	G至A (49)
12G6-VH12	G至A (49)及 L至V (78)

表 13：12G6細胞株輕(κ)鏈回復突變

細胞株ID	突變 (Kabat編碼位置)
12G6-VK10	Y至V (36)
12G6-VK11	Y至V (36), QL至KR (45,46)
12G6-VK12	Y至V (36) , L至R (46)
12G6-VK13	L至R (46)

實例 26：嵌合及人類化12G6單株抗體結合活性之評估

嵌合及人類化12G6抗體係使用在實例3所敘述方法製造及純化，數種由配對重鏈變異及輕鏈變異而產生的人類化抗體，及相對應嵌合抗體，係使用在實例22所敘述方法藉由流式細胞計數法分析其結合至於CHO-CD52細胞表面表現的CD52之能力。結合數據暗示由配對重鏈變異與輕鏈變異12G6-VK1、12G6-VK10、或12G6-VK11所產生的細胞株具減少的結合能力，然而由配對重鏈變異與12G6-VK11或12G6-VK12所產生的細胞株顯示與相對應嵌合12G6抗體相當或較之為佳的結合。所選擇細胞株的代表性統計表(第29圖)比較由嵌合及人類化12G6抗體所偵測的CD52位準。這些結果顯示12G6輕鏈變異區(細胞株12G6-VK12)中兩個胺基酸殘基的回復突變足以完全恢復抗體活性。當與幾乎任何重鏈變異配對時，在Kabat編碼殘基36 (Y至L)及46(L至R)的變化能夠恢復結合。如此，顯示具最少衍生自原始老鼠抗體的骨架殘基的經恢復結合的人類化12G6細胞株係為12G6-SFD1/K12。

實例 27：抗-CD52抗體細胞株9D9的人類化

抗-人類CD52抗體細胞株9D9的人類化係由自老鼠9D9抗

體移植CDR區域至人類抗體變異區骨架如在實例14對細胞株4B10抗體人類化所敘述而執行。9D9重鏈及輕鏈的CDR-1、CDR-2、及CDR-3序列係分別移植至VH3-23及VK2A18b人類骨架區。人類JH6 (WGQGTTVTVSS: SEQ ID NO: 133)及JK2 (FGQGTKLEIK: SEQ ID NO: 134)序列係分別選擇為人類化重鏈及輕鏈的C-端肽，以產生人類化重鏈(9D9-VH10)及輕鏈(9D9-VK2)變異區序列(第30A及30B圖)。當9D9-VH10重鏈變異區及9D9-VK2輕鏈變異區合併於人類化9D9-H10/K2抗體時，CD52的結合親合性大為降低，結合親合性係由引入回復突變至經CDR-移植結構而恢復，將單一或多個回復突變併入人類化重及輕鏈變異區序列，這些回復突變的位置(如由Kabat編號系統表示)係描述於下表14及表15。評估使用這些回復突變所產生的抗體的經回復結合親合性。四個輕鏈變異(9D9-VK2(Y36L-Q45K-L46R)，亦稱為9D9-VK12；9D9-VK2(Y36L-L46R)，亦稱為9D9-VK13；9D9-VK2(L46R)，亦稱為9D9-VK14；及9D9-VK2(Q45K-L46R)，亦稱為9D9-VK15)及五個重鏈變異(9D9-VH10(W47L-V48T-S49A-N76S-L78V)，亦稱為9D9-VH11；9D9-VH10(W47L-V48T-S49A)，亦稱為9D9-VH15；9D9-VH10(W47L)，亦稱為9D9-VH16；9D9-VH10(W47L-V48T)，亦稱為9D9-VH17；及9D9-VH10(W47L-S49A)，亦稱為9D9-VH18)係使用標準分子生物技術產生。經CDR-移植重鏈變異區序列9D9-VH10及回復突變9D9-VH11、9D9-VH15、9D9-VH16、9D9-VH17、及9D9-VH18的胺基酸序

列係示於第30A圖且經回復突變胺基酸加底線及CDRs為粗體。類似地，對輕鏈序列，經CDR-移植變異區序列9D9-VK2及回復突變9D9-VK12、9D9-VK13、9D9-VK14、及9D9-VK15係示於第30B圖且經回復突變胺基酸加底線及CDRs為粗體。

9D9-H16 (SEQ ID NO: 276)及9D9-H18 (SEQ ID NO: 277)的全長重鏈胺基酸序列，及9D9-K13 (SEQ ID NO: 278)的全長輕鏈胺基酸序列係示於第108圖。

表 14：9D9細胞株重鏈回復突變

細胞株 ID	突變 (Kabat編碼位置)
9D9-VH11	WVS至LTA (47-49)、 N至S (76), L至V (78)
9D9-VH15	WVS至LTA (47-49)
9D9-VH16	W至L (47)
9D9-VH17	WV至LT (47,48)
9D9-VH18	W至L (47) 及 S至A (49)

表 15：9D9細胞株輕(κ)鏈回復突變

細胞株 ID	突變 (Kabat編碼位置)
9D9-VK12	Y至L (36)及QL至KR (45,46)
9D9-VK13	Y至L (36) 及 L至R (46)
9D9-VK14	L至R (46)
9D9-VK15	QL至KR (45,46)

實例 28：嵌合及人類化9D9單株抗體結合活性之評估

嵌合及人類化9D9抗體係使用在實例3所敘述方法製造及純化，數種由配對重鏈變異及輕鏈變異而產生的人類化抗體，及相對應嵌合抗體，係使用在實例22所敘述方法藉由流式細胞計數法分析其結合至於CHO-CD52細胞(CHO細胞係設計為表現人類CD52)表面表現的CD52之能力。結合數

據暗示由配對重鏈變異與輕鏈變異 9D9-VK2、9D9-VK14、或 9D9-VK15 所產生的細胞株具減少的結合能力，然而由配對 9D9-VK12 或 9D9-VK13 輕鏈變異與經回復突變重鏈變異 9D9-VH11、9D9-VH15、9D9-VH16、及 9D9-VH18 所產生的細胞株顯示與嵌合 9D9 抗體相當或較之為佳的結合。當輕鏈變異 9D9-VK12 及 9D9-VK13 與母體經 CDR 移植重鏈 9D9-VH10 或經回復突變 9D9-VH17 序列配對時，結合顯著降低，暗示對人類化 9D9 細胞株，重鏈及輕鏈序列皆必須設計具回復突變以恢復結合能力。所選擇細胞株的代表性統計表(第 31 圖)比較由嵌合及人類化 9D9 抗體所偵測的 CD52 位準。這些結果顯示在 9D9 輕鏈變異區(細胞株 9D9-VK13)兩個胺基酸殘基(例如，Y 至 L 於位置 36，及 L 至 R 於位置 46)的回復突變為必要的以恢復抗體專一性，當與在一個位置(例如，W 至 L，於位置 47)或在兩個位置(例如，W 至 L 於位置 47 及 S 至 A 於位置 49)突變的重鏈配對時。如此，顯示具最少衍生自原始老鼠抗體的骨架殘基的經恢復結合的人類化 9D9 細胞株係為 9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13。

實例 29：人類化抗-人類 CD52 抗體的相對結合效率之決定

嵌合及人類化抗-CD52 抗體的 EC50 值係使用得自自商業來源(Bioreclamation, NY, USA)所提供健康捐贈者分離的 CD4+ T 細胞估計，CD4+ T 細胞係使用 EasySep 套組(Stem Cell Technologies)藉由負面篩選而分離。由 huCD52 基因轉殖 CD1 老鼠脾臟細胞分離的 CD4+ T 細胞亦可根據在實例 20

對 CHO-CD52 細胞所敘述方法使用(幹細胞計數法)。簡言之，人類 CD4+ T 細胞係得自健康捐贈者(Bioreclamation)的 50 毫升週邊血液分離，及 huCD52 基因轉殖老鼠 CD4+ T 細胞係自脾臟組織分離，將細胞以 PBS/5% FBS 潤洗及以每孔 1×10^5 細胞沉積至圓底 96 孔培養盤。初級抗體染色係使用每一個抗-CD52 嵌合及人類化抗體以起始濃度 100 微克/毫升的 8 點連續稀釋(1:3)而完成。使用於 10 微克/毫升 (Jackson 109-096-098) 二級抗體的抗-人類 Fc γ 的 FITC-共軛羊 F(ab')₂ 片段，將細胞在每一次培養前及後於冰-冷 PBS/5% FBS 洗滌 3 次，將細胞固定於包含 2% 不含甲醇多聚甲醛的 PBS 及以流式細胞計數法評估，流式細胞數據係使用 Graph pad Prism 軟體分析以決定 95% 信賴區間的 EC₅₀ 值。基於抗-CD52 抗體至由人類 PBMCs 分離的 CD4+ T 細胞及至由人類 CD52 基因轉殖老鼠分離的 CD4+ T 細胞之結合，得到結合曲線(第 32A、32B、32C 圖)及估計 EC₅₀ 值及示於第 33 圖，所有抗體顯示至人類 CD4+ T 細胞及至由人類 CD52 基因轉殖老鼠分離的 CD4+ T 細胞的類似結合特性。結合數據顯示人類化抗體具與母體嵌合抗體相當或更佳的結合親合性，此暗示在人類化時結合親合性經保留或改善。人類化 2C3 及 12G6 抗體具較 Campath-1H® 抗體低至少兩倍的 EC₅₀ 值，如由此細胞結合分析所決定。

實例 30：結合人類化抗-CD52 抗體至經定義之淋巴細胞族群的評估

使用於以上實例 7 針對嵌合抗-CD52 抗體所敘述的方法來

評估正常提供者PBMCs中Campath-1H® (C1H)及人類化2C3 (2C3-SFD1/K12)、9D9 (9D9-H16/ K13 及9D9-H18/K13)、及12G6 (12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12)抗體之結合至各種PBMC子集。使用多種螢光染劑共軛抗體進行流式細胞分析。抗-CD27-PE、抗-CD19及抗-CD11c-PE Cy5、抗-CD56及抗-CD123-PE Cy7、抗-CD16-APC Cy7、及CD4-APC係得自BD Biosciences (San Diego, CA)，而抗-CD54RA-ECD及抗-HLA-DR-ECD係得自Beckman Coulter。抗-CD3-太平洋藍、抗-CD8及抗-CD14-太平洋橙、及抗-CD4-APC cy5.5係得自Invitrogen (CA)。所有人類化抗-人類CD52抗體(9D9-H18/K13、9D9-H16/K13、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、及2C3-SFD1/K12)與Campath-1H®都共軛至FITC。健康人類週邊血液單核細胞係得自冷藏保存白血球衣或是得自來自於商業廠商(Bioreclamation, NY, USA)所提供之正常捐贈者的血液所分離的單核細胞，如同在以上實例7所敘述的。為進行單核細胞的增長，使用無菌磷酸生理食鹽水(PBS)以1:1稀釋人類週邊血液及小心地分層置於聚蔗糖-泛影葡胺(GE Healthcare Bio-Sciences, Uppsala, Sweden)上，並於室溫離心30分鐘。抽出單核細胞的中間相層並於包含5%胎牛血清(FACS緩衝液)的PBS中沖洗，污染的紅血球細胞(RBCs)以RBC裂解溶液(Sigma, St. Louis, MO, USA)裂解。將細胞再懸浮於冷的FACS緩衝液及使用40微米過濾器移除碎屑。執行多色流式細胞分析以評估人類化抗-人類CD52

抗體 2C3 (2C3-SFD1/K12)、9D9 (9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13)及 12G6 (12G6-SFD1/K11及 12G6-SFD1/K12)相較於 Campath-1H®的結合能力。

簡言之， 1×10^6 PBMCs於FACS緩衝液的重複物使用抗體的預先-滴定稀釋液之混合物培養，以檢查淋巴細胞或骨髓樣的衍生細胞。淋巴細胞混合物包含對CD3、CD27、CD45RA、CD56、CD19、CD8、CD4、及CD16的抗體。抗體混合物係定義骨髓細胞族群，其包含對HLA-DR、CD11c、CD123、CD4、及CD14的抗體。在每一個混合物中，抗-CD52抗體中的一個以10微克/毫升得濃度培養，將細胞於4°C染色30分鐘，並沖洗及固定於包含1%多聚甲醛的PBS。100,000個染色細胞於BD LSR-II流式細胞儀(BD Biosciences, San Jose, CA)上得到，及使用FlowJo 7.2版軟體(Tree Star, Inc, Oregon, USA)分析數據。具不同表現型特徵的多個子集已在B及T淋巴細胞之間被定義，且已顯示CD52被表現於所有人類淋巴細胞。執行多色流式細胞分析以辨識淋巴細胞子集，及以評估人類化抗-CD52抗體與在所定義子集上細胞表面CD52的結合特徵之相似點及不同點。使用標記組合，先定義出對應於B、T、NK及抗原存在細胞系的表現型不同細胞族群。評估對應於人類化抗-CD52抗體偵測於每一個經定義細胞族群上CD52表現的能力之染色強度，並將其與Campath-1H®染色強度相較。統計表(第34圖)比較由在個別族群上每一個抗體所偵測的CD52程度，結果顯示所有人類化抗-CD52抗體以類似

程度結合至細胞表面CD52。而且，在Campath-1H®及人類化抗-CD52抗體之間在細胞表面CD52偵測位準方面沒有觀察到任何差別。於六個不同供體上執行分析，使用衍生自一個供體的細胞所產生的代表性數據示於第34圖，使用自其他供體的細胞觀察到類似結合形式。

實例31：嵌合及人類化7F11單株抗體ADCC活性之評估

評估人類化及嵌合7F11抗體於媒介CD52表現細胞的ADCC殺傷之能力。ADCC試驗係使用如在上文實例6所敘述的方法執行。簡言之，設計為表現CD52蛋白(CHO-CD52)的CHO K1細胞係被用來做為標的細胞，該標的細胞以 $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ (New England Nuclear, Boston, MA)於37°C標記2-3小時。沖洗該細胞，將其懸浮於具10% FCS的RPMI 1640介質，並與IgG控制抗體、嵌合7F11抗體、或人類化7F11抗體(7F11-SFD1/K2或7F11-SFD2/K2)以範圍自5微克/毫升至0.01微克/毫升的各種濃度混合。使用NK細胞分離套組(Stem Cell Technologies)自PBMCs分離的人類NK細胞被用來做為效應細胞，並以1:5標的-對-效應細胞之比例加入。在2-6小時培養之後，自每一孔收集25微升不含細胞上層清液及於MicroBeta Trilux閃爍計數器(Wallac, Gaithersburg, MD)計數。自發釋出的 ^{51}Cr 的量係由單獨在介質中培養的標的細胞得到。自標的細胞的自發釋出典型地小於20%。所併入 ^{51}Cr 總量係由加入於蒸餾水中的1% Triton X-100而決定，而裂解百分率係如下計算： $[(\text{樣品 c.p.m.} - \text{自發 c.p.m.}) / (\text{總 c.p.m.} - \text{自發 c.p.m.})] \times 100$ 。第35圖

說明用於試驗中對照IgG、嵌合7F11抗體、及人類化7F11抗體的濃度(X軸)相對於% 特定裂解(Y軸)。結果顯示人類化7F11抗體(7F11-SFD1/K2及7F11-SFD2/K2)媒介較嵌合7F11抗體相當或些微更佳的ADCC殺傷。對照IgG1同種型抗體於所測試濃度顯示僅低位準的背景殺傷。

實例32：嵌合及人類化7F11單株抗體CDC活性之評估

評估人類化及嵌合7F11抗體於媒介CD52-表現細胞的補體依賴細胞毒性(CDC)之能力。CDC試驗係使用如在上文實例5對嵌合抗-CD52抗體所敘述的方法執行。簡言之，設計為表現CD52蛋白(CHO-CD52)的CHO K1細胞被用來做為標的細胞，並以 $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ (New England Nuclear, Boston, MA)於37°C標記2-3小時。沖洗該細胞，將其懸浮於RPMI 1640介質，並與IgG控制抗體、嵌合7F11抗體、或人類化7F11抗體(7F11-SFD1/K2或7F11-SFD2/K2)以範圍自20微克/毫升至500奈克/毫升的各種濃度混合。加入人類捕體(Sigma)至實驗孔至達到10%的最終濃度。在1-5小時培養之後，自每一孔收集25微升不含細胞上層清液並於MicroBeta Trilux閃爍計數器(Wallac, Gaithersburg, MD)計數。自發釋出的 ^{51}Cr 的量係自單獨在介質中培養的標的細胞得到。自標的細胞的自發釋出典型地小於20%。所併入 ^{51}Cr 總量係由加入於蒸餾水中的1% Triton X-100而決定，且裂解百分率係如下計算： $[(\text{每分鐘樣品計數(c.p.m.)} - \text{自發c.p.m.}) / (\text{總c.p.m.} - \text{自發c.p.m.})] \times 100$ 。第36圖說明用於試驗中對照IgG、嵌合7F11抗體、及人類化7F11抗體

(7F11-SFD1/K2及7F11-SFD2/K2)的濃度(X軸)相對於%特定裂解(Y軸)。結果顯示嵌合7F11抗體與人類化抗體7F11-SFD1/K2媒介相當的殺傷，然而人類化抗體7F11-SFD2/K2媒介較嵌合7F11抗體顯著更佳的CDC殺傷。對照IgG1同種型抗體於所測試濃度顯示僅低位準的背景殺傷。

實例33：嵌合及人類化2C3單株抗體ADCC活性之評估

評估人類化及嵌合2C3抗體於媒介CD52表現細胞的ADCC殺傷之能力。ADCC試驗係使用如在上文實例6所敘述的方法加以些微修改而執行。簡言之，使用CD4⁺ T細胞分離套組(Stem Cell Technologies)自健康捐贈者PBMCs分離的T細胞被用來做為標的細胞，該標的細胞以Na₂⁵¹CrO₄ (New England Nuclear, Boston, MA)於37°C過夜標記2-3小時。沖洗該細胞，將其懸浮於具10% FCS的RPMI 1640介質，並與IgG控制抗體、嵌合2C3抗體、或人類化2C3抗體(2C3-SFD1/K12)以範圍自10微克/毫升至100微微克/毫升的各種濃度混合，自PBMCs分離的人類NK細胞(使用Stem Cell Technologies的NK細胞分離套組)被用來做為效應細胞，並以1:5標的-對-效應細胞的比例加入。在2-6小時培養之後，自每一孔收集25微升不含細胞上層清液及於MicroBeta Trilux閃爍計數器(Wallac, Gaithersburg, MD)計數。自發釋出的⁵¹Cr的量係自單獨在介質中培養標的細胞得到。自標的細胞的自發釋出典型地小於20%，所併入⁵¹Cr總量係由加入於蒸餾水中的1% Triton X-100而決定，且裂解百分率係如下計算：[(樣品

$\text{c.p.m.} - \text{自發 c.p.m.}) / (\text{總 c.p.m.} - \text{自發 c.p.m.})] \times 100$ 。第37圖說明用於試驗中對照IgG、嵌合2C3抗體、及人類化2C3抗體(2C3-SFD1/K12)的濃度(X軸)相對於%特定裂解(Y軸)。結果顯示人類化2C3抗體2C3-SFD1/K12媒介較2C3嵌合抗體相當的ADCC殺傷。IgG1同種型對照物於所測試濃度顯示僅低位準的背景殺傷。

實例34：嵌合及人類化2C3單株抗體CDC活性之評估

評估人類化及嵌合2C3抗體於媒介CD52表現細胞的補體依賴細胞毒性(CDC)之能力。CDC試驗係使用如在上文實例5所敘述方法加以些微修改而執行。簡言之，自健康捐贈者PBMCs分離的T細胞被用來做為標的細胞，並以 $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ (New England Nuclear, Boston, MA)於37°C過夜標記。過夜標記之後，沖洗該細胞，將其懸浮於包含10% FCS的RPMI 1640介質，並與IgG控制抗體、嵌合2C3抗體、或人類化2C3抗體(2C3-SFD1/K12)以範圍自10微克/毫升至10奈克/毫升的各種濃度混合。加入人類捕體(Sigma)至實驗孔至達到10%的最終濃度。在1-5小時培養之後，自每一孔收集25微升不含細胞上層清液並於MicroBeta Trilux閃爍計數器(Wallac, Gaithersburg, MD)計數。自發釋出的 ^{51}Cr 的量係自單獨在介質中培養的標的細胞得到。自標的細胞的自發釋出典型地小於20%。所併入 ^{51}Cr 總量係由加入於蒸餾水中1% Triton X-100而決定，且裂解百分率係如下計算： $[(\text{每分鐘樣品計數(c.p.m.)} - \text{自發 c.p.m.}) / (\text{總 c.p.m.} - \text{自發 c.p.m.})] \times 100$ 。第38圖說明用於試驗中對照IgG、嵌

合 2C3 抗體、及人類化 2C3 抗體 (2C3-SFD1/K12) 的濃度 (X 軸) 相對於 % 特定裂解 (Y 軸)。結果顯示嵌合 2C3 抗體及人類化 2C3 抗體 (2C3-SFD1/K12) 媒介相當的裂解。對照 IgG1 同種型抗體於所測試濃度顯示僅低位準的背景殺傷。

實例 35：嵌合及人類化 12G6 單株抗體 ADCC 活性之評估

評估人類化及嵌合 12G6 抗體於媒介 CD52 表現細胞的 ADCC 殺傷之能力。ADCC 試驗係使用如在上文實例 31 所敘述的方法，使用自健康捐贈者 PBMCs 分離的 T 細胞做為標的細胞並藉由鉻釋出試驗而執行。第 39 圖說明用於此試驗中對照 IgG、嵌合 12G6 抗體、及人類化 12G6 抗體 (12G6-SFD1/K11 或 12G6-SFD1/K12) 的濃度 (X 軸) 相對於 % 特定裂解 (Y 軸)。結果顯示人類化 12G6 抗體 12G6-SFD1/K11 及 12G6-SFD1/K12 媒介與 12G6 嵌合抗體相當的 ADCC 殺傷。IgG1 同種型對照物於所測試濃度顯示僅低位準的背景殺傷。

實例 36：嵌合及人類化 12G6 單株抗體 CDC 活性之評估

評估人類化及嵌合 12G6 抗體於媒介 CD52 表現細胞的補體依賴細胞毒性 (CDC) 之能力。CDC 試驗係如在上文實例 32 所敘述，使用自健康捐贈者 PBMCs 分離的 T 細胞做為標的細胞並藉由鉻釋出試驗而執行。第 40 圖說明用於此試驗中對照 IgG、嵌合 12G6 抗體、及人類化 12G6 抗體 (12G6-SFD1/K11 及 12G6-SFD1/K12) 的濃度 (X 軸) 相對於 % 特定裂解 (Y 軸)。結果顯示嵌合 12G6 抗體媒介較人類化 12G6 抗體 (12G6-SFD1/K11 及 12G6-SFD1/K12) 為相當的裂解。對照

IgG1同種型抗體於所測試濃度顯示僅低位準的背景殺傷。

實例 37：嵌合及人類化 9D9 單株抗體 ADCC 活性之評估

評估人類化及嵌合 9D9 抗體於媒介 CD52 表現細胞的 ADCC 殺傷之能力。ADCC 試驗係如在上文實例 31 所敘述，使用自健康捐贈者 PBMCs 分離的 T 細胞做為標的細胞並藉由鉻釋出試驗而執行。第 41 圖說明用於此試驗中對照 IgG、嵌合 9D9 抗體、及人類化 9D9 抗體 (9D9-H10/K13、9D9-H11/K13、9D9-H16/K13、及 9D9-H18/K13) 的濃度 (X 軸) 相對於 % 特定裂解 (Y 軸)。結果顯示嵌合及人類化 9D9 抗體 (9D9-H10/K13 為例外) 媒介相當的 ADCC 殺傷。IgG1 同種型對照物於所測試濃度顯示僅低位準的背景殺傷。

實例 38：嵌合及人類化 9D9 單株抗體 CDC 活性之評估

評估人類化及嵌合 9D9 抗體於媒介 CD52 表現細胞的補體依賴細胞毒性 (CDC) 之能力。CDC 試驗係如在上文實例 32 所敘述，使用自健康捐贈者 PBMCs 分離的 T 細胞做為標的細胞並藉由鉻釋出試驗而執行。第 42 圖說明用於此試驗中對照 IgG、嵌合 9D9 抗體、及人類化 9D9 抗體 (9D9-H10/K13、9D9-H11/K13、9D9-H16/K13、及 9D9-H18/K13) 的濃度 (X 軸) 相對於 % 特定裂解 (Y 軸)。結果顯示嵌合 9D9 抗體媒介較人類化 9D9 抗體 (9D9-H10/K13 為例外) 為相當的裂解。對照 IgG1 同種型抗體於所測試濃度顯示僅低位準的背景殺傷。

實例 39：Campath-1H® 及人類化抗-CD52 抗體於初生 T 細胞的 ADCC 活性之評估

評估 Campath-1H® 及人類化抗-CD52 抗體於媒介 CD52 表

現細胞的ADCC殺傷之能力。ADCC試驗係如在上文實例31所敘述，使用自健康捐贈者PBMCs分離的T細胞做為標的細胞並藉由鉻釋出試驗而執行。第43圖說明用於此試驗中對照IgG、Campath-1H®、及人類化2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13、9D9-H18/K13、12G6-SFD1/K11、及12G6-SFD1/K12抗體的濃度(X軸)相對於%特定裂解(Y軸)。結果顯示上述人類化2C3、9D9及12G6抗體在超過10奈克/毫升的濃度媒介與Campath-1H®相當的ADCC殺傷。IgG1同種型對照於所測試濃度顯示僅低位準的背景殺傷。

實例40：Campath-1H®及人類化抗-CD52抗體於初生T細胞的CDC活性之評估

評估Campath-1H®及人類化抗-CD52抗體於媒介CD52表現細胞的補體依賴細胞毒性(CDC)之能力。CDC試驗係如在上文實例32所敘述，使用自健康捐贈者PBMCs分離的T細胞做為標的細胞並藉由鉻釋出試驗而執行。第44圖說明用於此試驗中對照IgG、Campath-1H®、及人類化2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13、9D9-H18/K13、12G6-SFD1/K11、及12G6-SFD1/K12抗體的濃度(X軸)相對於%特定裂解(Y軸)。結果顯示人類化2C3及12G6抗體媒介與Campath-1H®相當的CDC殺傷，然而人類化9D9抗體證實顯著減少的CDC活性，類似於其相對應嵌合抗體。IgG1同種型對照物於所測試濃度顯示僅低位準的背景殺傷。

實例41：包含抗-Campath-1H®中和抗體的血清樣品阻擋人類化2C3、12G6、及9D9抗-CD52抗體活性的中和能力之評估

為評估在抗 Campath-1H® 的中和抗體存在下人類化抗體結合至 CD52 表現細胞的能力，將抗-CD52 抗體 (Campath-1H®、2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 12G6-SFD1/K12) 與包含抗-Campath-1H® 抗體反應性的人類血清反應，並評估其至 CD52 表現 Raji 細胞之結合。自加入 CAMMS223 研究 (The CAMMS223 Trial Investigators, "Alemtuzumab vs. interferon Beta-1a in early multiple sclerosis," *N Engl J Med* 359:1786-1801 (2008)) 的復發型多發性硬化症病人所得到的血清樣品被用於此試驗中。在大多數病人中，Campath-1H® 抗體的重複投藥造成抗-Campath-1H® 抗體反應的產生。在大多數病人中，抗-Campath-1H® 抗體滴度於第 12 個月為非常低的，並在第二循環的 Campath-1H® 投藥時顯著增加，在第 13 個月於血清中產生高滴度抗-Campath-1H® 反應。使用得自五個不同 MS 病人 (MS-1 至 MS-5) (其已在 CAMMS223 步驟流程下使用 Campath-1H® 治療) 第 12 個月及第 13 個月的血清樣品進行抗-CD52 抗體中和試驗，在得自己使用 Campath-1H® 治療的病人的一範圍內的血清稀釋液的存在或不存在下，FITC-共軛抗-CD52 抗體 Campath-1H®、2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K12、及 9D9-H16/K13 (用於實例 30 及顯示會結合至 CD52 表現細胞) 被用於染色表現人類 CD52 的 Raji 細胞。簡言之，將 MS 病人血清樣品 (第 12 個月及第 13 個月) 製成 6 倍連續稀釋，並使用 10 微克/毫升的 FITC-共軛抗-CD52 抗體 (Campath-1H®、2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K12、及 9D9-H16/K13) 於 37°C 培養

1小時。將Raji細胞以包含HBSS、5% FBS、及0.1%疊氮化物的染色緩衝液的潤洗，及接著以每孔 1×10^5 細胞沉積至圓底96孔培養盤。使用10微克/毫升的人類IgG Fc片段在染色緩衝液中於冰上阻擋細胞30分鐘，接著將細胞以染色緩衝液洗並再懸浮於100微升的上述抗體-血清混合物。在於冰上30分鐘之後，沖洗細胞及以BD Cytotfix固定並使用FACSCalibur系統(Becton Dickinson)分析經FITC-標記抗體塗佈的細胞，之後使用FlowJo version 7.2軟體(Tree Star, Inc, Oregon, USA)分析數據，在抗-Campath-1H®中和抗體存在下，血清中FITC-共軛抗-CD52抗體的結合係由流式細胞計數法評估並相對於對照組的%結合，其為抑制的量度並以 $X \ 100$ 計算($MFI_{\text{具血清}}/MFI_{\text{對照組(無血清)}}$)。得自提供者(MS-1)其中一個的代表性數據示於第45圖，X軸表示血清稀釋因子及Y軸表示%對照結合做為抗體中和活性之量度。數據清楚證實第12個月血清樣品於Campath-1H®或其他抗-CD52抗體不具任何抑制作用，其表示血清中為低或不存在抗-Campath-1H®阻斷抗體。第13個月血清樣品即使在1:1000稀釋的血清中仍媒介Campath-1H®結合的完全抑制，但即使在所測試最高濃度(1:24稀釋)仍不會媒介2C3、12G6、及9D9人類化抗-CD52抗體的抑制。五個病人中的兩個發展出 $>1:1000$ 的抗-Campath-1H®中和抗體滴度，然而其他三個病人具約1:100 Campath-1H®中和抗體滴度。即使這些病人中的兩個於第13個月血清具相當高的、 $>1:1000$ 的抗-Campath-1H®中和抗體滴度，這些血清

不會抑制人類化2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K12、及9D9-H16/K13抗體的結合，其表示在使用Campath-1H®治療的病人中抗-Campath-1H®抗體反應性不會阻擋這些人類化抗體至存在於細胞的CD52之結合。

實例42：huCD52基因轉殖老鼠中抗-CD52抗體消耗及再增殖之分析(4B10-H1/K1)

於huCD52基因轉殖老鼠中檢視Campath-1H®及人類化抗-CD52抗體(4B10-H1/K1)於不同給藥位準下的消耗活性。將老鼠靜脈內注射0.1、0.5、1.0或5.0毫克/公斤的每一抗體，給藥後兩小時，收集血清以檢查循環細胞介素位準。給藥後三天，殺死老鼠，及從每一隻老鼠(N=5)收集血液及脾臟以使用流式細胞計數法分析來測定細胞消耗位準。評估樣品以測定存在於huCD52基因轉殖老鼠的循環週邊血液或脾臟的總T輔助細胞(CD4+)、細胞毒性T細胞(CD8+)、B細胞(B220+)及骨髓樣的細胞子族群之相對數目。此外，執行T及B細胞子組分析以測定總消耗作用。保持老鼠(N=5)子組活著以監控再增殖動力。在T細胞部份消耗最大，且CD4+ T細胞消耗最多，接著為CD8+ T細胞、B細胞、NK細胞、及其他骨髓樣的細胞。在CD4+ T細胞部份內，自然(naïve) CD4+ T細胞消耗最多，接著為CD4+ 中樞記憶性(CM)、CD4+效應記憶性(EM)、及CD4+ 調節T細胞(Treg)。類似形式亦於CD8+ T細胞(Naïve>CM>EM)觀察到，相反地，成熟B細胞較不成熟B細胞消耗程度為大。經Campath-1H®治療之老鼠與經4B10-H1/K1治療之老

鼠的比較證實於每一個所測試的劑量血液及脾臟兩者中細胞皆具類似型式。

血清細胞介素分析證實對TNF α 、IL-6及MCP-1劑量相依增加，相較於未經治療之老鼠，在0.5及0.1毫克/公斤劑量下這些細胞介素的循環位準也維持升高。在三個最高劑量下在經Campath-1H®治療的群組中觀察到IL-10也些微增加，但對於經人類化4B10-H1/K1治療群組僅對最高劑量觀察到些微增加。在循環IL-12或IFN γ （未示出）位準沒有注意到任何顯著增加。

給藥後50-60天，除了1.0毫克/公斤組，在所有經Campath-1H®給藥組中淋巴細胞位準回到未經治療老鼠的位準。在1.0毫克/公斤組，給藥後80天淋巴細胞回到正常位準。類似再增殖動力亦於經人類化4B10-H1/K1抗體治療之老鼠觀察到，在所有經4B10-H1/K1治療組在給藥後50天，除了0.5毫克/公斤位準，淋巴細胞回到對照組位準。於0.5毫克/公斤組，循環淋巴細胞位準經過監控期間的過程維持減少。針對血液中再增殖而監控總淋巴細胞。

第46A-46E圖顯示在使用Campath-1H®（「Campath」）及人類化4B10-H1/K1（「4B10」）抗體投藥後72小時血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及B220+ B細胞的含量。第47A-47E圖顯示在使用Campath-1H®（「Campath」）及人類化4B10-H1/K1（「4B10」）抗體投藥後72小時脾臟中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及B220+ B細胞的含量。第48A-48E圖顯示在使用Campath-1H®（「Campath」）及人類化

4B10-H1/K1 (「4B10」)抗體投藥後2小時循環細胞介素位準。第49A-49B圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)及人類化4B10-H1/K1 (「4B10」)抗體投藥後循環淋巴細胞隨時間的再增殖。

實例43：huCD52基因轉殖老鼠中抗-CD52抗體的消耗及再增殖之分析(7F11-SFD1/K2及 7F11-SFD2/K2)

於huCD52基因轉殖老鼠中檢視人類化抗體(7F11-SFD1/K2及7F11-SFD2/K2)於不同劑量位準的消耗活性。將老鼠靜脈內注射0.1、0.5、1.0或5.0毫克/公斤的每一抗體，給藥後兩小時，收集血清以檢查循環細胞介素位準。給藥後三天，殺死老鼠，及從每一隻老鼠(N=5)收集血液及脾臟以使用流式細胞計數法分析來測定細胞消耗位準。評估樣品以測定存在於huCD52基因轉殖老鼠的循環週邊血液或脾臟的總T輔助細胞(CD4+)、細胞毒性T細胞(CD8+)、B細胞(B220+)及骨髓樣的細胞子族群之相對數目。此外，執行T及B細胞子組分析以測定總消耗作用，保持老鼠(N=5)子組活著以監控再增殖動力。以所有劑量投藥每一人類化7F11抗體(7F11-SFD1/K2及7F11-SFD2/K2)產生血液中顯著數目的T細胞及B細胞的消耗，這些數據亦證實各種T及B細胞子組依據所使用抗體劑量不同程度而被消耗。自然T細胞(CD4與CD8兩者)證實為最大消耗且其他細胞族群(包含記憶性及T調節細胞)較少程度地消耗。在B細胞部份，成熟B細胞較不成熟B細胞消耗更快速。在脾臟中，觀察到隨著於5及1毫克/公斤劑量位準所觀察到的

淋巴細胞的顯著消耗之劑量相依消耗。類似於在血液的情況，自然T細胞較記憶性細胞消耗更快速。使用人類化7F11細胞株(7F11-SFD1/K2及7F11-SFD2/K2)的每一個，B細胞較T細胞消耗程度較少。在任何注射劑量於血液或脾臟中對NK細胞或嗜中性球沒有觀察到任何消耗。血清細胞介素分析證實對TNF及IL-6兩者的劑量相依，相較於未經治療老鼠，在0.5及0.1毫克/公斤劑量這些細胞介素的位準也維持升高。亦觀察到於循環MCP-1位準的劑量相依增加。

給藥後30天，在0.5及0.1毫克/公斤給藥組中淋巴細胞位準回到未經治療老鼠的位準。在1.0及5.0毫克/公斤組，針對細胞株7F11-SFD1/K2，分別給藥50及80天淋巴細胞回到正常位準，及對細胞株7F11-SFD2/K2的1.0及5.0毫克/公斤組為給藥後80天。針對血液中再增殖而監控總淋巴細胞。

第50A-50E圖顯示在使用人類化7F11-SFD1/K2(「7F11 SFD1」)及7F11-SFD2/K2(「7F11 SFD2」)抗體投藥後72小時血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及B220+ B細胞的含量。第51A-51E圖顯示在使用人類化7F11-SFD1/K2(「7F11 SFD1」)及7F11-SFD2/K2(「7F11 SFD2」)抗體投藥後72小時脾臟中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及B220+ B細胞的含量。第52A-52F圖顯示在使用人類化7F11-SFD1/K2(「7F11 SFD1」)及7F11-SFD2/K2(「7F11 SFD2」)抗體投藥後2小時循環細胞介素位準。第53A-53B圖顯示在使用人類化7F11-SFD1/K2(「7F11 SFD1」)及

7F11-SFD2/K2 (「7F11 SFD2」)抗體投藥後循環淋巴細胞隨時間的再增殖。

實例 44：CD52基因轉殖老鼠中7F11人類化抗-CD52抗體之分析(7F11-SFD1/K2及7F11-SFD2/K2)

於huCD52基因轉殖老鼠中檢視嵌合7F11抗體及人類化7F11-SFD1/K2及7F11-SFD2/K2抗體與Campath-1H®相較之消耗活性。將老鼠靜脈內注射1.0毫克/公斤的每一抗體。給藥後三天，殺死老鼠，及從每一隻老鼠(N=5)收集血液及脾臟以使用流式細胞計數法分析來測定細胞消耗位準。評估樣品以測定存在於huCD52基因轉殖老鼠的循環週邊血液或脾臟的總T輔助細胞(CD4+)、細胞毒性T細胞(CD8+)、B細胞(B220+)及骨髓樣的細胞子族群之相對數目。投藥Campath-1H®造成血液及脾臟中顯著數目的T細胞及B細胞之消耗，雖然對嵌合及人類化7F11抗體(7F11-SFD1/K2及7F11-SFD2/K2)觀察到血液中相當位準的T細胞消耗，B細胞為較少程度地消耗。此觀察在脾臟中亦為明顯，於此注意到顯著T細胞消耗，但使用7F11抗體(7F11-SFD1/K2及7F11-SFD2/K2)僅達到中度量的B細胞消耗。

第54A-54B圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)、7F11-嵌合抗體、及人類化7F11-SFD1/K2與7F11-SFD2/K2抗體投藥後72小時，血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及B220+ B細胞的含量。

實例 45：CD52基因轉殖老鼠中抗-CD52抗體之PK數據分析(7F11-SFD1/K2及7F11-SFD2/K2)

為確保人類化製程不會變更抗體的清除速率，嵌合 7F11 抗-CD52 抗體及人類化 7F11-SFD1/K2 與 7F11-SFD2/K2 抗-CD52 抗體的藥物動力數據係於 huCD52 基因轉殖老鼠中測定。將老鼠靜脈內注射 5 毫克/公斤的抗體及在給藥後兩小時開始於各種時間點收集血液，每一個抗體的循環位準係使用抗-人類 IgG ELISA 評估。針對每一個人類化細胞株，在給藥後兩小時觀察的 Cmax 中存在些微差別。在實驗進行期間，嵌合 7F11 抗體及人類化 7F11-SFD1/K2 與 7F11-SFD2/K2 抗體的清除速率為彼此類似並與 Campath-1H® 類似，其顯示人類化製程不會顯著變更抗體的藥物動力數據。

第 55 圖顯示於給藥後血液中 Campath-1H® (「Campath」)、7F11-嵌合抗體及人類化 7F11-SFD1/K2 與 7F11-SFD2/K2 抗體隨時間的含量。

實例 46：huCD52 基因轉殖老鼠中抗-CD52 抗體的消耗及再增殖之分析 (2C3-SFD1/K12)

於 huCD52 基因轉殖老鼠中檢視 2C3-SFD1/K12 細胞株於不同劑量位準的消耗活性。將老鼠靜脈內注射 0.1、0.5、1.0 或 5.0 毫克/公斤抗體，給藥後兩小時，收集血清以潛在地檢查循環細胞介素位準。給藥後三天，殺死老鼠，及從每一隻老鼠 (N=5) 收集血液及脾臟，以使用流式細胞計數法分析來測定細胞消耗位準。評估樣品以測定存在於 huCD52 基因轉殖老鼠的循環週邊血液或脾臟的總 T 輔助細胞 (CD4+)、細胞毒性 T 細胞 (CD8+)、B 細胞 (B220+) 及骨髓

樣的細胞子族群之相對數目。此外，執行T及B細胞子組分析以決定總消耗作用，保持老鼠(N=5)子組活著以監控再增殖動力。在5、1、及0.5毫克/公斤劑量投藥2C3-SFD1/K12導致消耗血液中顯著數目的T細胞及B細胞。觀察到於0.1毫克/公斤劑量時血液中各種淋巴細胞消耗位準，且CD4+ T細胞及B細胞較CD8+ T細胞有較大消耗程度。這些數據亦證實各種T及B細胞子組依據所使用抗體劑量有不同程度的消耗。自然T細胞(CD4與CD8兩者)與其他細胞族群(包含記憶性及T調節細胞)相較被證實為最大消耗，這些細胞族群係為較少程度地消耗。在B細胞部份，成熟B細胞較不成熟B細胞消耗更快速。在脾臟，觀察到於5及1毫克/公斤劑量位準時，淋巴細胞的顯著消耗之劑量相依消耗。類似於Campath-1H®，自然T細胞較記憶性細胞消耗更快速。在任何注射劑量時，於血液中對NK細胞或嗜中性球觀察到消耗，但是在脾臟中觀察到些微或沒有任何消耗。血清細胞介素分析證實對TNF α 及IL-6的劑量相依增加，且5毫克/公斤劑量誘發最高位準的每一個細胞介素。在0.5及0.1毫克/公斤劑量位準針對TNF α ，以及在0.1毫克/公斤劑量位準針對IL-6，觀察到可與未經治療老鼠比較的位準。亦觀察到於循環MCP-1位準的劑量相依增加。

給藥後30天，在0.1及0.5毫克/公斤組中淋巴細胞位準回到未經治療老鼠的位準。在1.0及5.0毫克/公斤組，給藥後80天淋巴細胞回到正常位準。針對血液中再增殖而監控總

淋巴細胞。

第56A-56E圖顯示在使用2C3-SFD1/K12抗體投藥後72小時血液中CD4⁺ T細胞、CD8⁺ T細胞及B220⁺ B細胞的含量。第57A-57E圖顯示在使用2C3-SFD1/K12抗體投藥後72小時脾臟中CD4⁺ T細胞、CD8⁺ T細胞及 B220⁺ B細胞的含量。第58A-58F圖顯示在使用2C3-SFD1/K12抗體投藥後2小時循環細胞介素位準。第59圖顯示在使用2C3-SFD1/K12抗體投藥後循環淋巴細胞隨時間的再增殖。

實例47：huCD52基因轉殖老鼠中抗-CD52抗體的消耗及再增殖之分析 (12G6-SFD1/K11)

於huCD52基因轉殖老鼠中檢視12G6-SFD1/K11細胞株於不同劑量位準的消耗活性。將老鼠靜脈內注射0.1、0.5、1.0或5.0毫克/公斤抗體，給藥後兩小時，收集血清以潛在地檢查循環細胞介素位準。給藥後三天，殺死老鼠，及從每一隻老鼠(N=5)收集血液及脾臟，以使用流式細胞計數法分析測定細胞消耗位準。評估樣品以測定存在於huCD52基因轉殖老鼠的循環週邊血液或脾臟的總T輔助細胞(CD4⁺)、細胞毒性T細胞(CD8⁺)、B細胞(B220⁺)及骨髓樣的細胞子族群之相對數目。此外，執行T及B細胞子組分析以測定總消耗作用，保持老鼠(N=5)子組活著以監控再增殖動力。在5、1、及0.5毫克/公斤劑量投藥12G6-SFD1/K11導致消耗血液中顯著數目的T細胞及 B細胞，於0.1毫克/公斤劑量時，觀察到血液中各種淋巴細胞消耗位準，且CD4⁺ T細胞及B細胞較CD8⁺ T細胞有較大消耗程

度。這些數據亦證實各種T及B細胞子組依據所使用的抗體劑量不同程度地消耗。自然T細胞(CD4與CD8兩者)與其他細胞族群(包含記憶性及T調節細胞)相較被證實為最大消耗，這些細胞族群係為較少程度地消耗。在B細胞部份，成熟B細胞較不成熟B細胞消耗更快速。在脾臟，觀察到在5及1毫克/公斤劑量位準時淋巴細胞的顯著消耗之劑量相依消耗。類似於Campath-1H®，自然T細胞較記憶性細胞消耗更快速。在任何注射劑量，於血液中對NK細胞或嗜中性球觀察到消耗，但是在脾臟中觀察到些微或沒有任何消耗。血清細胞介素分析證實對TNF α 及IL-6兩者的劑量相依增加，且5毫克/公斤劑量誘發最高位準的每一個細胞介素。在0.5及0.1毫克/公斤劑量位準針對TNF α ，以及在0.1毫克/公斤劑量位準針對IL-6，觀察到可與未經治療老鼠比較的位準。亦觀察到於循環MCP-1位準的劑量相依增加。

給藥後30天，淋巴細胞位準回到未經治療老鼠的位準。在1.0及5.0毫克/公斤組，給藥後80天淋巴細胞回到正常位準。針對血液中再增殖而監控總淋巴細胞。

第60A-60E圖顯示在使用12G6-SFD1/K11抗體投藥後72小時血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及B220+ B細胞的含量。第61A-61E圖顯示在使用12G6-SFD1/K11抗體投藥後72小時脾臟中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及B220+ B細胞的含量。第62A-62F圖顯示在使用12G6-SFD1/K11 (「12G6 hu」)抗體投藥後2小時循環細胞介素位準。第63圖顯示在

使用 12G6-SFD1/K11 抗體投藥後循環淋巴細胞隨時間的再增殖。

實例 48：CD52 基因轉殖老鼠中抗-CD52 抗體之 PK 數據分析 (2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11 及 9D9-H10/K12)

抗-CD52 抗體的藥物動力數據係於 huCD52 基因轉殖老鼠中測定，此實驗比較抗體的人類化及嵌合形式，以確保人類化製程不會變更抗體的清除速率。所述比較包含嵌合 2C3、12G6、及 9D9 抗體及人類化 2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、及 9D9-H10/K12 抗體。將老鼠靜脈內注射 5 毫克/公斤的抗體及在給藥後兩小時開始於各種時間點收集血液，每一個抗體的循環位準係使用抗-人類 IgG ELISA 評估。對所分析的每一個嵌合/人類化抗體對，在給藥後兩小時注意到於 C_{max} 中有些微差別。對 2C3 及 12G6 抗體，人類化抗體(亦即，2C3-SFD1/K12 及 12G6-SFD1/K11)的 C_{max} 些微較高，然而對 9D9 對而言嵌合抗體些微較高。在實驗進行期間抗體對的清除速率為類似的，其顯示人類化製程不會顯著變更抗體的藥物動力數據。

第 64A-64C 圖顯示給藥後血液中 2C3-嵌合、2C3-SFD1/K12、12G6-嵌合、12G6-SFD1/K11、9D9-嵌合、及 9D9-H10/K12 抗體隨時間的含量。

實例 49：huCD52 基因轉殖老鼠中抗-CD52 抗體的消耗及再增殖之分析 (9D9-H10/K12)

於 huCD52 基因轉殖老鼠中檢視 9D9-H10/K12 細胞株於不同劑量位準的消耗活性。將老鼠靜脈內注射 0.1、0.5、

1.0或5.0毫克/公斤抗體，給藥後兩小時，收集血清以潛在
地檢查循環細胞介素位準。給藥後三天，殺死老鼠，及從
每一隻老鼠(N=5)收集血液及脾臟，以使用流式細胞計數
法分析來測定細胞消耗位準。評估樣品以測定存在於
huCD52基因轉殖老鼠的循環週邊血液或脾臟的總T輔助細
胞(CD4+)、細胞毒性T細胞(CD8+)、B細胞(B220+)及骨髓
樣的細胞子族群之相對數目。此外，執行T及B細胞子組分
析以測定總消耗作用。保持老鼠(N=5)子組活著以監控再
增殖動力。在5、1、及0.5毫克/公斤劑量投藥9D9-
H10/K12導致消耗血液中顯著數目的T細胞及B細胞。觀察
到於0.1毫克/公斤劑量血液中僅中度的淋巴細胞消耗位
準，這些數據亦證實各種T及B細胞子組依據所使用抗體劑
量而不同程度地消耗。自然T細胞(CD4與CD8兩者)與其他
細胞族群(包含記憶性及T調節細胞)相較被證實為最大消
耗，這些細胞族群係為較少程度地消耗。在B細胞部份，
成熟B細胞較不成熟B細胞消耗更快速。在脾臟，這些細
胞的顯著消耗僅在5及1毫克/公斤劑量位準觀察到。類似
於Campath-1H®，自然T細胞較記憶性細胞消耗更快速。
在任何注射劑量，於血液中對NK細胞或嗜中性球觀察到
消耗，但是在脾臟中觀察到些微或沒有任何消耗。血清細
胞介素分析證實對TNF或IL-6在所分析的任何劑量位準
沒有顯著增加，然而，注意到在循環MCP-1位準的劑量相
依增加。

此實驗的再增殖部分係於淋巴細胞50-80%再增殖(依據

劑量而定)時提早結束，淋巴細胞再增殖係基於總淋巴細胞量監控而非以T及B細胞為基準。

第65A-65E圖顯示在使用9D9-H10/K12 (「9D9」)抗體投藥後72小時血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及B220+ B細胞的含量。第66A-66E圖顯示在使用9D9-H10/K12 (「9D9」)抗體投藥後72小時脾臟中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及B220+ B細胞的含量。第67A-67F圖顯示在使用9D9-H10/K12 (「9D9」)抗體投藥後2小時循環細胞介素位準。第68圖顯示在使用9D9-H10/K12 (「9D9」)抗體投藥後循環淋巴細胞隨時間的再增殖。

實例50：huCD52基因轉殖老鼠中抗-CD52抗體的消耗及再增殖之分析(2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11及9D9-H10/K12)

於huCD52基因轉殖老鼠中檢視Campath-1H®及人類化2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11及9D9-H10/K12細胞株於不同劑量位準的消耗活性。將老鼠靜脈內注射0.1或1.0毫克/公斤抗體，給藥後兩小時，收集血清以潛在地檢查循環細胞介素位準。給藥後三天，殺死老鼠，及從每一隻老鼠收集血液及脾臟，以使用流式細胞計數法分析來測定細胞消耗位準。評估樣品以測定存在於huCD52基因轉殖老鼠的循環週邊血液或脾臟的總T輔助細胞(CD4+)、細胞毒性T細胞(CD8+)、B細胞(B220+)及骨髓樣的細胞子族群之相對數目。此外，執行T及B細胞子組分析以測定總消耗作用。當與經PBS治療之動物相較時，所有人類化抗體(2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11及9D9-H10/K12)媒介脾臟及血

液內的淋巴細胞消耗。對所有抗體而言，於血液中較於脾臟中的消耗更為穩健，且於兩種組織中的消耗為劑量相依的。對CD4及CD8+ T細胞而言消耗最顯著，且在B細胞部分係為較少的消耗。各種T及B細胞子組不同程度地消耗。自然T細胞(CD4與CD8兩者)與其他細胞族群（包含記憶性及T調節細胞)相較被證實為最大消耗，這些細胞族群係為較少程度地消耗。在B細胞部份，成熟B細胞較不成熟B細胞消耗更快速。血清細胞介素分析顯示在投藥後2小時IL-6、MCP-1及TNF 的位準顯著增加。對所有抗體(包含Campath-1H®)皆觀察到上升，且為劑量相依增加(亦即對1.0毫克/公斤劑量位準所觀察到的細胞介素位準較0.1毫克/公斤劑量為高)。與Campath-1H®相較，2C3-SFD1/K12及12G6-SFD1/K11誘發類似的IL-6位準，而9D9-H10/K12誘發IL-6至顯著較低位準。對MCP-1而言，12G6-SFD1/K11抗體誘發較低位準，及與Campath-1H®相較而言，12G6-SFD1/K11與9D9-H10/K12兩者皆降低TNF 位準。

第69A-69D圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12 (「2C3」)、12G6-SFD1/K11 (「12G6」)、及9D9-H10/K12 (「9D9」)抗體投藥後72小時，血液中總體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及 B220+ B細胞)及CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及B220+ B/NK細胞子型的含量。第70A-70D圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12 (「2C3」)、12G6-SFD1/K11 (「12G6」)、及9D9-H10/K12 (「9D9」)抗體投藥後72小時，脾臟中總

體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及 B220+ B細胞)及CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及 B220+ B/NK細胞子型的含量。第71A-71F圖顯示在使用 Campath-1H®、2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、及9D9-H10/K12抗體投藥後2小時循環細胞介素位準。

實例 51：huCD52基因轉殖老鼠中抗-huCD52人類化9D9細胞株之直接比較(9D9 H10/K12及9D9 H11/K12)

於huCD52基因轉殖老鼠中檢視兩種人類化抗-CD52 9D9細胞株(9D9-H10/K12及9D9-H11/K12)的消耗活性。將老鼠靜脈內注射0.1或1.0毫克/公斤抗體。給藥後三天，殺死老鼠，及從每一隻老鼠收集血液及脾臟，以使用流式細胞計數法分析來測定細胞消耗位準。評估樣品以測定存在於huCD52基因轉殖老鼠的循環週邊血液或脾臟的總T輔助細胞(CD4+)、細胞毒性T細胞(CD8+)、B細胞(B220+)及骨髓樣的NK細胞子族群之相對數目。以任一種抗體的治療於血液及脾臟中產生類似的淋巴細胞消耗，且淋巴細胞消耗於血液中較為穩健。而且，在兩者組織中CD4及CD8+ T細胞較B細胞及NK細胞更強烈消耗。儘管使用9D9-H10/K12細胞株的消耗較使用9D9-H11/K12細胞株的消耗似乎較不穩健，此差別並非統計上有意義的。

第72圖顯示在使用9D9-H10/K12及9D9-H11/K12抗體投藥後72小時血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞及NK細胞的含量。第73圖顯示在使用9D9-H10/K12及9D9-H11/K12抗體投藥後72小時脾臟中CD4+ T細胞、

CD8+ T細胞、B220+ B細胞及NK細胞的含量。

實例 52：huCD52 基因轉殖老鼠中抗-huCD52 人類化 12G6 細胞株之直接比較 (12G6-SFD1/K11 及 12G6-SFD1-K12)

於 huCD52 基因轉殖老鼠中檢視兩種人類化抗-CD52 12G6 細胞株 (12G6-SFD1/K11 及 12G6-SFD1/K12) 的消耗活性。將老鼠靜脈內注射 0.1 或 1.0 毫克/公斤抗體。給藥後兩小時，收集血清以潛在地檢查循環細胞介素位準。給藥後三天，殺死老鼠，及從每一隻老鼠收集血液及脾臟以使用流式細胞計數法分析測定細胞消耗位準。評估樣品以測定存在於 huCD52 基因轉殖老鼠的循環週邊血液或脾臟的總 T 輔助細胞 (CD4+)、細胞毒性 T 細胞 (CD8+)、B 細胞 (B220+) 及骨髓樣的細胞子族群之相對數目。此外，執行 T 及 B 細胞子組分析以測定總消耗作用。投藥 12G6-SFD1/K11 抗體或 12G6-SFD1/K12 抗體導致血液內顯著位準的淋巴細胞消耗。該兩個細胞株的淋巴細胞消耗活性存在些微或是沒有任何差異。淋巴細胞消耗的形式為使得自然 CD4 及 CD8+ T 細胞較記憶 T 細胞或 T 調節細胞更高程度地消耗。骨髓樣的不管細胞株 (12G6-SFD1/K11 或 12G6-SFD1/K12) 或是劑量，骨髓樣的細胞族群係為較少程度地消耗。此實驗未執行血清細胞介素分析。

第 74A-74D 圖顯示在使用 12G6-SFD1/K11 (「12G6 K11」) 及 12G6-SFD1/K12 (「12G6 K12」) 抗體投藥後 72 小時血液中 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、B220+ B/NK 細胞、及骨髓樣的細胞的含量。第 75A-75D 圖顯示在使用

12G6-SFD1/K11 (「12G6 K11」) 及 12G6-SFD1/K12 (「12G6 K12」) 抗體投藥後 72 小時脾臟中 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、B220+ B/NK 細胞、及骨髓樣的細胞的含量。

實例 53：huCD52 基因轉殖老鼠中抗-huCD52 人類化 9D9 細胞株之直接比較 (9D9 H11/K12、9D9 H16/K13、及 9D9 H18/K13)

三種人類化 9D9 抗體(9D9 H11/K12、9D9 H16/K13、及 9D9 H18/K13)的消耗活性係於 huCD52 基因轉殖老鼠中比較。人類 CD52 基因轉殖老鼠以 PBS 處理而作為溶劑對照組，或是以 1 毫克/公斤或 0.1 毫克/公斤的每一個抗體注射。給藥後兩小時，收集血清以測定循環細胞介素位準。給藥後三天，殺死老鼠，並收集和處理週邊血液與脾臟，以進行流式細胞計數法分析。評估樣品以測定存在於 huCD52 基因轉殖老鼠的循環週邊血液或脾臟的總 T 輔助細胞(CD4+)、細胞毒性 T 細胞(CD8+)、B 細胞(B220+)及骨髓樣的細胞子族群之相對數目。此外，執行 T 及 B 細胞子組分析以測定總消耗作用。所有 9D9(9D9 H11/K12、9D9 H16/K13、及 9D9 H18/K13)抗體媒介血液及脾臟中淋巴細胞及骨髓樣的細胞族群的細胞消耗至相似程度。觀察到血液中淋巴細胞及骨髓樣的細胞的消耗較在脾臟中更為穩健，9D9 細胞株(9D9 H11/K12、9D9 H16/K13、及 9D9 H18/K13)的消耗活性之比較證實 9D9-H16/K13 導致更穩健的消耗，接著為 9D9-H18/K13 及 9D9-H11/K12。此對於脾

臟中淋巴細胞於1毫克/公斤劑量最為明顯，其中9D9-H16/K13治療較其他細胞株(9D9-H18/K13及9D9-H11/K12)產生更高程度的消耗，而且，消耗之形式使得自然CD4及CD8+ T細胞較記憶T細胞或T調節細胞更高程度地消耗，及使用9D9-H16/K13時B細胞族群有更高位準的消耗。骨髓樣的細胞族群較不受抗-CD52處理的影響，無論抗體(9D9-H11/K12、9D9-H16/K13、或9D9-H18/K13)細胞株或劑量。所分析的細胞介素中，於IL-6、TNF及MCP-1觀察到上升。注射後，對所有9D9細胞株(9D9-H11/K12、9D9-H16/K13、及9D9-H18/K13)在0.1及1.0毫克/公斤的劑量位準皆觀察到類似的IL6及MCP-1循環位準。使用循環TNF位準觀察到些微差別，其中9D9-H16/K13細胞株的注射於1.0毫克/公斤劑量產生中度增加。

第76圖顯示在使用9D9-H11/K12、9D9-H16/K13、及9D9-H18/K13抗體投藥後72小時血液中總體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及B220+ B細胞)的含量。第77A-77D圖顯示在使用9D9-H11/K12、9D9-H16/K13、及9D9-H18/K13抗體投藥後72小時血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B/NK細胞及骨髓樣的細胞子類型的含量。第78圖顯示在使用9D9 H11/K12、9D9 H16/K13、及9D9 H18/K13抗體投藥後72小時脾臟中總體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及 B220+ B細胞)的含量。第79A-79D圖顯示在使用9D9-H11/K12、9D9-H16/K13、及9D9-H18/K13抗體投藥後72小時脾臟中CD4+ T細胞、

CD8⁺ T細胞、B220⁺ B/NK細胞及骨髓樣的細胞子類型的含量。第80A-80F圖顯示在使用9D9-H11/K12、9D9-H16/K13、及9D9-H18/K13抗體投藥後2小時循環細胞介素位準。

實例54：CD52基因轉殖老鼠中自2C3、12G6、及9D9家族之抗-CD52抗體的PK數據之分析

人類化2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13及9D9-H18/K13的藥物動力數據係於huCD52基因轉殖老鼠中測定。將老鼠靜脈內注射1毫克/公斤的抗體，並在給藥後兩小時開始於各種時間點收集血液，每一個抗體的循環位準係使用抗-人類IgG ELISA評估。所計算半衰期為：2C3-SFD1/K12 79.0 ± 23.9 小時，12G6-SFD1/K11 49.0 ± 14.4 小時，12G6-SFD1/K12 75.1 ± 28.5 小時，9D9-H16/K13 59.8 ± 26.6 小時及9D9-H18/K13 42.2 ± 15.7 小時。

整體而言，在這些研究中揭露了顯著的動物間變異性。2C3-SFD1/K12及12G6-SFD1/K12的末相清除半衰期為類似的，儘管12G6-SFD1/K11的半衰期較短但沒有顯著差別。2C3-SFD1/K12的清除作用為最快速的，接著為12G6-SFD1/K11及12G6-SFD1/K12。對大部分所測量時間點而言，該兩個12G6處理為彼此相映的，而2C3-SFD1/K12顯示較少暴露及較快速清除。針對所有所測量PK參數，9D9-H16/K13及9D9-H18/K13為相當類似的。

第81A-81B圖顯示給藥後血液中2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13及9D9-H18/K13

抗體隨時間變化的位準。

表16

PK 參數	2C3-SFD1/K12	12G6-SFD1/K11	12G6-SFD1/K12	9D9-H16/K13	9D9-H18/K13
t _{1/2} (hr)	79.0 ± 23.9	49.0 ± 14.4	75.1 ± 28.5	59.8 ± 26.6	42.2 ± 15.7
Cl (ml/hr/kg)	20.3 ± 2.9	10.6 ± 1.69	7.08 ± 1.80	5.64 ± 1.73	6.65 ± 3.02
V _z (ml/kg)	2251 ± 539	770 ± 294	721 ± 224	445 ± 133	366 ± 100
AUC (ug*hr/ml)	251 ± 37.2	485 ± 104	747 ± 188	196 ± 70.2	174 ± 65.2
C _{max} (ug/ml)	4.22 ± 0.54	7.12 ± 1.97	8.96 ± 2.33	3.58 ± 2.16	4.35 ± 1.54

實例 55：因使用抗-CD52抗體治療造成之細胞介素暴發之評估

使用抗-CD52抗體治療之後血清細胞介素之釋出係於 huCD52 基因轉殖老鼠中評估。將動物以 1 毫克/公斤的 Campath-1H®、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13 或 9D9-H18/K13 治療。一組動物以 5 毫克/公斤的 2C3-SFD1/K12 治療，鑑於先前結果顯示以 2C3-SFD1/K12 注射相較於其他抗體會造成較低的消耗位準，於是基於達到類似消耗位準所需劑量來正常化該組動物。在治療後 1、2、4、24 及 48 小時，將所有群組放血及進行發炎細胞介素的 CBA 分析。在治療後 3 天殺死所有群組，並藉由流式細胞計數法針對脾臟中淋巴細胞的消耗而評估脾臟。以每一種抗體的治療產生各種標地物的消耗係類似於對 Campath-1H® 所觀察到的。此對 2C3-SFD1/K12 亦為真，其中 5 毫克/公斤劑量係用於得到類似消耗。使用 12G6-SFD1/K12 及 9D9-H16/K13 觀察到於消耗的一些變化性，其大部分可能是因為動物的重複出血以得到為了細胞介素分析的血清。然而，對來自 12G6 (12G6-SFD1/K11 及 12G6-SFD1/K12) 及 9D9 (9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13) 家族成

員的抗體而言，細胞介素表現減少，此在早期1及2小時時間點IL-6、MCP-1及TNF 的釋出係為最顯著的。

第82A-82F圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13或9D9-H18/K13抗體給藥後於48-小時期間血液中細胞介素隨時間之含量。第83A-83E圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13或9D9-H18/K13抗體給藥後72小時於脾臟中總體淋巴細胞、CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B/NK細胞、及骨髓樣的細胞的含量。

實例56：使用抗-CD52抗體的治療後的CD52基因轉殖老鼠血液中再增殖動力之評估

血液中許多細胞型式的再增殖動力於投藥人類化抗-CD52 2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12抗體之後予以評估。將老鼠靜脈內注射2毫克/公斤的每一抗體，以確保穩健的消耗位準，在注射後各種時間點，收集血液以進行流式細胞分析以測定血液中循環淋巴細胞位準，包含CD4+及CD8+ T細胞、調節T細胞、B細胞、NK細胞、嗜中性球及巨噬細胞。於注射後第3天，確認對每一個抗體在初始消耗活性未觀察到任何差別，於第一個月將老鼠每週抽血及之後每兩週抽血以監控再增殖動力。與Campath-1H®相較，淋巴細胞再增殖動力與抗-CD52 (2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12)抗體中的任一個類似。到第57天，B細胞回到血液中基礎線而T細胞到第

84天接近基礎線位準。到第116天，CD8+ T細胞尚未回到對照位準，但是隨著使用抗-CD52 (2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12)抗體及Campath-1H®的每一個，對所有被監控的其他細胞型式皆觀察到類似的再增殖動力。

第84A-84G圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12抗體投藥之後，循環CD4+與CD8+ T細胞、調節T細胞、B細胞、NK細胞、嗜中性球及巨噬細胞隨時間的再增殖。

實例 57：使用抗-CD52抗體之CD52基因轉殖老鼠中CD52表現之評估

使用人類化抗-CD52抗體評估huCD52的表現以測定是否可於huCD52基因轉殖老鼠的成熟及發展中細胞族群觀察到類似的染色模式。2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13、及9D9-H18/K13抗體與FITC共軛以用於流式細胞染色。收集得自huCD52基因轉殖老鼠的組織並以染色處理。類似於Campath-1H®，2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13、及9D9-H18/K13抗體染色來自基因轉殖老鼠之脾臟表現huCD52的淋巴細胞。該染色模式係為被發現於其他淋巴器官（例如胸腺及骨髓）的淋巴細胞族群及子組的代表。

第85圖顯示FITC-標記Campath-1H®、2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13、及9D9-H18/K13抗體特定地結合至脾臟中huCD52淋巴細胞族

群之能力。

實例 58：huCD52 基因轉殖老鼠中使用抗-huCD52 的單一劑量治療之直接比較

數種人類化抗-CD52 抗體 (2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13) 的消耗活性於 huCD52 基因轉殖老鼠中比較。將老鼠靜脈內注射 1 毫克/公斤抗體。給藥後兩小時，收集血清以進行細胞介素分析。三天後，殺死老鼠及收集血液和脾臟以比較淋巴細胞消耗位準。對所有抗-CD52 抗體 (2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13) 都觀察到 B 及 T 細胞消耗的顯著位準，及與 Campath-1H® 投藥之後所觀察到的那些係為可相比的。子組分析亦顯示在血液或脾臟中每一個抗體 (2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13) 的消耗位準沒有顯著差別。在注射 Campath-1H® 之後，在 IL-6 及 TNF 兩者的循環位準有顯著增加。雖然每一個抗-CD52 抗體 (2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13) 的注射產生較 Campath-1H® 為顯著減少的 TNF 位準，IL-6 的位準則為相似的。

第 86A-86E 圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13 抗體投藥後 72 小時血液中總體淋巴細胞族群 (CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞及 B220+ B 細胞) 及

CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B/NK細胞及骨髓樣的細胞子類型的含量。第87A87E圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13及9D9-H18/K13抗體投藥後72小時脾臟中總體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及B220+ B細胞)及CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B/NK細胞及骨髓樣的細胞子類型的含量。第88A-88C圖顯示在使用 Campath-1H®、2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13及9D9-H18/K13抗體投藥後2小時循環細胞介素位準。

實例 59：使用抗-huCD52抗體單一劑量治療之後 huCD52 基因轉殖老鼠中淋巴細胞的深度消耗

深度消耗分析係於使用抗-CD52 2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12抗體之huCD52基因轉殖老鼠中執行。將老鼠(N=4)靜脈內注射每一種抗體1毫克/公斤的單一劑量。三天後，殺死老鼠，並收集血液、脾臟、淋巴結及胸腺以使用多色流式細胞分析來比較淋巴細胞消耗位準。對所有抗-CD52 2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12抗體都觀察到顯著位準的B及T細胞消耗，且在所檢查的每一組織中，與那些在Campath-1H®投藥之後所觀察到的係為可相比較的。子組分析亦顯示於在血液或脾臟中每一個抗體的消耗位準沒有顯著差別。於老鼠的淋巴結中亦觀察到顯著的淋巴細胞消耗位準，然而，在抗體活性方面顯示出有一些變異性，特別是當注意中樞性及

效應記憶性T細胞子集時。因為關於LSR-II及CD8染色的技術議題，胸腺無法評估。

第89A-89D圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12抗體投藥後72小時血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、及NK/骨髓樣的細胞子類型的含量。第90A-90D圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12抗體投藥後72小時脾臟中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞及NK/骨髓樣的細胞子類型的含量。第91A-91D圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12抗體投藥後72小時淋巴結中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞及NK/骨髓樣的細胞子類型的含量。

實例 60：huCD52基因敲入/基因剔除(KI/KO) 基因轉殖老鼠於C57BL/6背景之產生及評估

一種新的人類CD52基因敲入/基因剔除老鼠模型於C57BL/6背景產生。為產生此老鼠，將老鼠CD52基因序列以人類CD52基因序列取代，使用標的策略以進行使用人類序列取代老鼠序列同時保持外顯子-內含子結構。使用一選擇標記以辨識包含新基因序列的後代。最終的對偶基因係由移除該選擇標記僅留下人類CD52基因序列而產生。

huCD52 KI/KO老鼠模型的基本特徵化涉及測定於淋巴

細胞上人類CD52表現的程度，將自huCD52-KI/KO基因轉殖老鼠(N=4)及C57BL/6老鼠(N=2)的血液染色以進行hCD52表現，以及CD52分子/細胞的數目係使用Bang's labs Simply Cellular抗-人類抗體試驗計算之。自huCD52-KI/KO基因轉殖老鼠的週邊血液細胞之染色證實huCD52的表現於得自這些動物的淋巴細胞大多數係非常高的。表現位準類似於那些在人類CD4、CD8、及B細胞族群所觀察到的。於NK細胞及巨噬細胞的表現位準較對T細胞及B細胞所觀察到的為低。於這些老鼠的嗜中性球偵測到huCD52表現的增加位準，此與在人類嗜中性球或是來自於CD-1背景的原先基因轉殖老鼠系的類似細胞中減少的表現位準相反。類似的CD52表現位準於來自原先huCD52 CD1基因轉殖老鼠及huCD52 KI/KI老鼠的T及B細胞觀察到。

第92A圖顯示huCD52-KI/KO及非-基因轉殖對照老鼠中於CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、及NK/骨髓樣的細胞子形式的huCD52表現位準。第92B圖顯示huCD52-KI/KO及huCD52 CD1基因轉殖老鼠中於CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、及B細胞的huCD52表現位準。

實例61：12G6及2C3的小及大規模批次之間消耗特性的直接比較

將huCD52 KI/KO基因轉殖老鼠以12G6-SFD1/K12或2C3-SFD1/K12投藥以測定消耗活性。此外，使用Genzyme自兩個不同來源(小規模及大規模批次)產生的抗體檢查活性。

將老鼠靜脈內注射每一種抗體1毫克/公斤，注射三天後，殺死老鼠，並收集血液以進行流式細胞分析以測定循環CD4+及CD8+ T細胞、B細胞、NK細胞、嗜中性球及巨噬細胞的位準。於CD4 T細胞、CD8+ T細胞、B細胞、及NK細胞的消耗在小規模及大規模批次衍生抗體未觀察到有顯著差別。

亦藉由流式細胞計數法評估各種批次的12G6-SFD1/K12及2C3-SFD1/K12抗體，以比較於得自huCD52-KI/KO基因轉殖老鼠的脾細胞上的染色強度。12G6-SFD1/K12及2C3-SFD1/K12抗體於經分離的脾細胞上皆顯現與Campath-1H®相同程度地辨識人類CD52。此外，在抗體的兩個來源(小規模及大規模批次)之間的辨識位準沒有任何差別。

第93A-93B圖顯示與Campath-1H®對照組相較之結合至12G6-SFD1/K12與2C3-SFD1/K12抗體(來自各種製造來源)的huCD52。第94圖顯示在使用來自各種製造來源的12G6-SFD1/K12及2C3-SFD1/K12抗體投藥之後72小時血液中整體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、及B220+ B細胞)的含量。

實例 62：huCD52-KI/KO 基因轉殖老鼠中抗-CD52抗體之PK數據分析

人類化2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12抗體的藥物動力數據係於huCD52 KI/KO基因轉殖老鼠中測定。將老鼠靜脈內注射1毫克/公斤的抗體，及在給藥後兩小時開始於各種時間點收集血液，每一個抗體的循環位

準係使用抗-人類IgG ELISA評估。對每一個人類化抗-CD52 2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12抗體而言，整體清除速率為類似，且2C3-SFD1/K12顯現潛在地較快速動力，而12G6-SFD1/K12存在於血清中最長的時間。

第95A-95B圖顯示在投藥後血液中2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12抗體隨時間之位準。

實例 63：huCD52-KI/KO基因轉殖老鼠中12G6及 2C3於EAE上預處理之評估

抗-CD52抗體治療對於減少整體的疾病發生及實驗性自體免疫腦脊髓炎(EAE)的嚴重性之效果係於huCD52 KI/KO老鼠中評估。huCD52-KI/KO老鼠以2C3-SFD1/K12或12G6-SFD1/K12於第-5至-1天的期間處理。EAE (一種多發性硬化的模型)係經由使用於CFA 中乳化的MOG35-55肽的免疫化而被誘發，及使用百日咳毒素於第0及2天處理。經媒劑處理的老鼠於注射後第10天開始顯示癱瘓徵狀，其發展為嚴重的惡化型疾病。相反地，使用2C3-SFD1/K12或12G6-SFD1/K12抗體預處理的老鼠延緩了疾病的開始並使整體疾病嚴重性降低。

第96圖說明隨疾病惡化時間2C3-SFD1/K12及12G6-SFD1/K12的EAE臨床評分。

實例 64：抗體的Fc修飾以變更抗-CD52抗體的藥物動力數據

抗體的Fc區域的改變係1)藉由變更與Fc受體的交互作用而影響抗體的生物活性，及/或2)藉由變更與FcRn新生受

體的交互作用而影響抗體的藥物動力數據。FcRn分子係表現於血管內皮神經及被相信係為IgG循環的主要部位。FcRn結合至抗體Fc部份，其接著變成內化於細胞中。具有與FcRn高親和力交互作用的抗體會循環回到細胞表面及釋出回到循環，具低親和力交互作用的抗體在細胞內離解及最終降解。增加與FcRn交互作用的定點突變誘發產生與未經修飾抗體相較可維持在循環中較長時間的抗體。相反地，減少FcRn結合的抗體之Fc區域內的突變會縮短抗體的循環半衰期，已被敘述為會減少結合至FcRn造成較短循環半衰期的突變包含His435Ala單一突變及His310Ala/His435Gln雙突變（參考，例如，Kim等，"Mapping the site on human IgG for binding of the MHC class I-related receptor, FcRn," *Eur. J. Immunol.*, 29:2819-2825 (1999) and Kenanova等，「Tailoring the Pharmacokinetics and Positron Emission Tomography Imaging Properties of Anti-Carcinoembryonic Antigen Single-Chain Fv-Fc Antibody Fragments,」 *Cancer. Res.* 65(2):622-631 (2005))。

2C3-SFD1/K12抗體突變以產生具有經變更之PK數據的His435Ala 2C3-SFD1/K12 (「2C3-SFD1/K12-修飾1」)及His310Ala/His435Gln 2C3-SFD1/K12 (「2C3-SFD1/K12-修飾2」)抗體。進行Biacore分析以確認至老鼠及人類FcRn分子的減少結合。Campath-1H®及2C3-SFD1/K12抗體兩者以類似動力結合至每一個老鼠及人類FcRn分子。相反地，His435Ala 2C3-SFD1/K12抗體在低位準結合至老鼠FcRn但

不結合至人類FcRn，His310Ala/His435Gln 2C3-SFD1/K12抗體並未結合至老鼠或人類FcRn分子，此顯示併入單或雙突變至2C3-SFD1/K12 Fc區域顯著地影響至老鼠及人類FcRn的結合。

第97A及97B圖說明Campath1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12 (「2C3」)、His435Ala 2C3-SFD1/K12 (「H435A 2C3」)及His310Ala/His435Gln 2C3-SFD1/K12 (「H310A/H435Q 2C3」)結合至老鼠及人類FcRn分子之能力。

實例 65：C57BL/6 老鼠中靜脈內投藥之後經Fc修飾抗-CD52抗體的半衰期之評估

Fc修飾係併入2C3-SFD1/K12背脊骨以產生2C3-SFD1/K12-修飾1及2C3-SFD1/K12-修飾2抗體，所述抗體顯現出減少至負責維持抗體於循環中的FcRn受體的結合。測定2C3-SFD1/K12抗體及具減少的FcRn結合之2C3-SFD1/K12-修飾1及2C3-SFD1/K12-修飾2抗體的藥物動力數據。C57BL/6老鼠係用於在標的抗原(2C3-SFD1/K12結合至人類CD52但不與老鼠CD52交互反應)不存在下評估藥物動力數據。將老鼠靜脈內注射1毫克/公斤的抗體，於各種時間點收集血液以藉由ELISA分析老鼠血清中的循環人類IgG1位準。2C3-SFD1/K12-修飾1及2C3-SFD1/K12-修飾2抗體皆較2C3-SFD1/K12抗體快速地自血液中被清除。2C3-SFD1/K12具半衰期403小時，而2C3-SFD1/K12-修飾1具半衰期51小時及2C3-SFD1/K12-修飾2具半衰期8小時。

SFD1/K12-修飾1、或2C3-SFD1/K12-修飾2抗體處理及在72小時之後評估CD4 T細胞、CD8+ T細胞、B細胞及NK細胞的存在。與投藥2C3-SFD1/K12抗體相較，投藥2C3-SFD1/K12-修飾1或2C3-SFD1/K12-修飾2抗體產生血液及脾臟中減少的消耗位準。而且，於血液及脾臟中2C3-SFD1/K12-修飾1皆顯示較2C3-SFD1/K12-修飾2為大的消耗。

第100A及100B圖顯示在使用2C3-SFD1/K12 (「2C3」)、2C3-SFD1/K12-修飾1 (「2C3-Fc突變體1」)及2C3-SFD1/K12-修飾2 (「2C3-Fc突變體2」)抗體投藥之後72小時，血液及脾臟中整體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、及NK細胞)的含量。

實例68：人類化抗-CD52抗體的詳細抗原決定區專一性

使用Biacore T100儀器決定人類化12G6-SFD1/K12、2C3-SFD1/K12、及9D9-H16/K13抗體的詳細抗原決定區專一性。做為對照，使用相同方法評估細胞株097 (經純化之抗-人類CD52抗體，Biolegend)的抗原決定區專一性，先前已使用肽ELISA方法特徵化細胞株097的抗原決定區專一性(Hale G, "Synthetic peptide mimotype of the CAMPATH-1 (CD52) antigen, a small glycosylphosphatidylinositol-anchored glycoprotein," *Immunotechnology*, 1:175-187 (1995))。在此Biacore T100試驗中，使用胺耦合直接固定抗體於Biacore CM5 Series S羧甲基葡聚糖感測晶片(GE #BR-1006-68)上，羧甲基葡聚糖表面係使用0.1莫耳濃度的N-羥基琥珀鹽亞胺(NHS)及0.4莫耳濃度的N-乙基-N'-(3-二

甲基胺基丙基)碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC)的1:1混合物活化，使該表面可結合在抗體上的反應性胺基。因為與IgGs相較，IgM抗體傾向於具較高位準的非-特定結合，故同時研究老鼠IgM κ (mIgM κ)同種型對照(Biolegend clone #MM-30)的結合。抗體固定化之後，反應感測晶片表面係使用1莫耳濃度乙醇胺鹽酸鹽/NaOH pH 8.5淬熄，在每一個晶片上的一個流動室為空白參考表面，後續流動室以10,000 RU的抗體固定化。

合成一系列包含人類CD52序列(MUT 1-MUT 12 (分別為 SEQ ID NOS: 169-180)，表 21) (參見，例如，Hale G, "Synthetic peptide mimotype of the CAMPATH-1 (CD52)抗原、小糖基磷脂醯肌醇-錨定糖蛋白," *Immunotechnology*, 1:175-187 (1995))的丙胺酸掃描突變肽。結合至這些突變CD52肽及結合至野生型CD52 肽的抗體係於濃度500奈莫耳濃度、100奈莫耳濃度、50奈莫耳濃度、及0奈莫耳濃度測試。將肽稀釋至試驗流動緩衝液，HBS-EP+ (10毫莫耳濃度HEPES、150毫莫耳濃度NaCl、0.05% P20表面活化劑、3毫莫耳濃度EDTA，pH 7.4)。亦包含100奈莫耳濃度樣品的複製。亦包含輕(κ)鏈特定鼠抗-老鼠IgM抗體(Southern Biotech Clone #1B4B1)做為IgM對照。T100儀器樣品室及試驗溫度係分別設定為4°C及25°C。人類CD52肽樣品以50微升/分鐘流速注入五分鐘以測量關聯性，及以50微升/分鐘流速於HBS-EP+中沖洗五分鐘以測量離解。抗體表面係使用10毫莫耳濃度甘胺酸-HCl pH 2.0於50微升/

分鐘流速的六十秒注射剝除任何殘基的結合肽。分析係使用 Biacore T100 Kinetics Evaluation 軟體 v2.0 (GE Healthcare)執行，使用參考流動室及0奈莫耳濃度濃度差減(雙-參考差減)將數據相合至1:1模型。12G6-SFD1/K12抗體陰性((-)，MUT 8)及陽性((+)，MUT 9)肽抗原決定區辨識的代表性感應圖譜係分別示於第101A及第101B圖。所收編的肽結合數據係摘要於表21。

細胞株 097 的先 前 特 徵 化 結 合 專 一 性 (Hale G, "Synthetic peptide mimotype of the CAMPATH-1 (CD52) antigen, a small glycosylphosphatidylinositol-anchored glycoprotein," *Immunotechnology*, 1:175-187 (1995))係由以包含人類CD52的C-端部分的六個殘基的肽塗佈ELISA培養盤以及接著測量抗體至該被固定肽的結合而測定。每一個殘基係由所有20個胺基酸所取代。因為在此ELISA中這些肽係接附於固體表面，所以該試驗較此處所敘述Biacore T100試驗(其使用固定於表面的抗體，且所述肽於該表面上流動)可能更受抗體親抗原性作用影響。在ELISA研究中，發現在成熟型式的人類CD52的位置11及12 (分別為野生型殘基脯氨酸及絲氨酸)的丙氨酸取代會降低細胞株097至肽的強健結合，在此Biacore T100研究中，發現於位置11及12 (及位置7、8、9、及10)的丙氨酸取代會廢去細胞株097的結合。ELISA試驗的假設性抗體親抗原性作用有可能是為何由ELISA方法所測定的細胞株097的對映抗原決定區較所敘述Biacore T100 試驗所測定的為小之原因。

2C3-SFD1/K12及12G6-SFD1/K12人類化抗體兩者至人類CD52肽序列的結合於位置7、8、及11對丙胺酸取代係為敏感的，以及人類化9D9-H16/K13的結合於位置4及11對丙胺酸取代係為敏感的。這些被定義的抗原決定區專一性與在實例4所觀察之結果重疊(摘要於表8)。不預期提供在結果之間的些微變化，因為在本個案中用於測量結合的Biacore T100方法與在實例4所使用方法顯著不同。與本個案相反，在實例4，所設計CHO細胞係用於表現人類CD52的野生型或丙胺酸-取代突變體。於此種哺乳動物細胞表現的人類CD52可為糖化的而影響結合，此並非用於在Biacore T100試驗中所使用的人類CD52之個案。

表21：至丙胺酸掃描突變hCD52肽的結合

肽	肽序列	2C3-SFD1/K12 結合	9D9-H16/K13 結合	12G6-SFD1/K12 結合	097 結合	對照 mIgM 結合
MUT 1	AQNDTSQTSSPSADC	+	+	+	+	-
MUT 2	GANDTSQTSSPSADC	+	+	+	+	-
MUT 3	GQADTSQTSSPSADC	+	+	+	+	-
MUT 4	GQNA ^T TSQTSSPSADC	+	-	+	+	-
MUT 5	GQND ^A SQTSSPSADC	+	+	+	+	-
MUT 6	GQNDT ^A QTSSPSADC	+	+	+	+	-
MUT 7	GQNDTS ^A TSSPSADC	-	+	-	-	-
MUT 8	GQNDTSQ ^A SSPSADC	-	+	-	-	-
MUT 9	GQNDTSQT ^A SPSADC	+	+	+	-	-
MUT 10	GQNDTSQTSA ^P SADC	+	+	+	-	-
MUT 11	GQNDTSQTSS ^A SADC	-	-	-	-	-
MUT 12	GQNDTSQTSSP ^A ADC	+	+	+	-	-
對照						
WT 1	GQNDTSQTSSPSADK- 生物素	+	+	+	+	-
WT 2	生物素- GQNDTSQTSSPSAD	+	-	+	+	-
老鼠抗- mIgM	N/A	N/A	N/A	N/A	+	+

(+) 所偵測結合：最大回應(R_{max}) > 2RUs，針對500奈莫耳濃度肽注射

(-) 沒有偵測到結合：最大回應(R_{max}) < 2RUs，針對500奈莫耳濃度肽注射

實例 69：Campath-1H®或 12G6-SFD1/K12所誘發的 CD4+ T細胞反應之評估

CD4+ T細胞增生反應係在使用預先置入一組重疊15-mer 肽(包含得自Campath-1H®或人類化12G6-SFD1/K12抗體的變異區的序列)的自體移植樹突狀細胞(DC)的重複活體外刺激之後加以評估。這些實驗利用正常人類供給者T細胞及DCs，結果之測量係經由定量氙化胸腺嘧啶核苷合併響應經自體移植肽脈衝的抗原呈獻細胞(APC)而增生的人類CD4+ T細胞。

細胞製備：將PBMCs自得自BioMed Supplies (Carlsbad, CA)的正常人類供給者分離術產品分離，供給者血液的HLA單倍型篩選係由Key Biologics, LLC (Memphis, TN)執行(表 22)。PBMCs係使用Ficoll-Paque PLUS密度梯度(GE Healthcare)及一系列使用磷酸生理食鹽水(PBS, Invitrogen, Carlsbad, CA)沖洗而分離，依循製造商建議流程使用Dyna Bead CD4+珠基底陽性分離套組(Invitrogen)將CD4+ T細胞自PBMC分離，將經分離CD4+ T細胞冷凍於回收細胞培養冷凍介質(Invitrogen)並儲存於液態氮。樹突狀細胞(DC)係藉由使用GM-CSF (Leukine, Bayer, Leverkusen, Germany) 及IL-4 (Peprotech, Rocky Hill, NJ)析出附著性細胞六天而自PBMCs誘發，以GM-CSF及IL-4補充的介質於第4天置換，接著將DCs自燒瓶分離並冷凍於冷凍介質，接著轉移至液態氮儲存槽。

表 22：供給者血液的HLA單倍型

Donor	HLA DR haploypete		peptide set
BMS170	DRB1_0701	DRB1_1503	Campath
BMS154	DRB1_0301	DRB1_0302	Campath
BMS150	DRB1_1101	DRB1_1302	Campath
BMS167	DRB1_0701	DRB1_1503	Campath
BMS200	DRB1_0804	DRB1_1202	Campath
BMS301	DRB1_1401	DRB1_1503	Campath
BMS352	DRB1_0301	DRB1_1101	Campath
BMS362	DRB1_0302	DRB1_0302	Campath
BMS484	DRB1_0103	DRB1_1201	Campath/GLD52
BMS486	DRB1_1302	DRB1_1303	Campath/GLD52
BMS640	DRB1_0301	DRB1_1302	GLD52
BMS656	DRB1_301	DRB1_1101	GLD52
BMS902	DRB1_0302	DRB1_0804	GLD52
BMS928	DRB1_1001	DRB1_1503	GLD52
BMS927	DRB1_1001	DRB1_1503	GLD52
BMS963	DRB1_0302	DRB1_1401	GLD52
BMS361	DRB1_1102	DRB1_1401	GLD52
BMS165	DRB1_1102	DRB1_1501	GLD52

「Donor」譯為「供給者」

「haplotype」譯為「單倍型」

「peptide set」譯為「肽組」

肽：包含 Campath-1H® 及 12G6-SFD1/K12 的重及輕鏈變異區的肽係使用利用標準 Fmoc-化學於 CLEAR 樹脂 (Peptides International, Louisville, KY) 的 Rainin Symphony 自動化肽合成器來合成。胺基酸 (EMD Biosciences, San Diego, CA 或 Anaspec, San Jose, Ca) 係以第三-丁氧羰基 (BOC)、第三-丁基 (tBu)、2,2,4,6,7-五甲基二氫-苯並呋喃-5-磺醯基 (Pbf)、或三苯甲基 (Trt) 族群正交地保護。使用具莫耳比 6:6:3:12:1 的胺基酸/HCTU/HOBt/DIEA/樹脂執行耦合。在每一個循環期間，

使用於DMF中的20%哌啶及2.5% 1,8-二氮雜雙環[5.4.0]十一-7-烯(DBU)溶液將 Fmoc 自胺基端移除，使用2.5%水的15毫升/0.1毫莫耳濃度樹脂/2.5% TIS/5%苯甲醚/90% TFA體積比的混合物執行自樹脂的去保護/裂解3小時，沉澱上層清液於二乙醚(-80℃)及於3000轉每分鐘製粒10分鐘，傾析乙醚及再次沖洗顆粒，接著冷凍乾燥粗肽。使用分析型HPLC (XBridge C18 4.5 x 100mm, Waters Corp., Milford, MA)及MALDI-TOF質譜儀(Synapt, Waters Corp., Milford, MA)驗證序列及評估純度，所有試劑為HPLC級(EMD Biosciences, San Diego, Ca or Sigma Aldrich, St. Louis, MO)。將經冷凍乾燥的肽再次懸浮於100% DMSO (Sigma)。將四十三個 Campath-1H®肽合併至11個直鏈組，每一組包含3或4個肽(表23：從上到下，輕鏈肽以SEQ ID NOs: 187-206表示，以及重鏈肽以SEQ ID NOs: 207-229表示)。42個 12G6-SFD1/K12肽合併至8個直鏈組，每一組包含五或六個肽(表24：從上到下，輕鏈肽以SEQ ID NOs: 230-250表示，以及重鏈肽以SEQ ID NOs: 251-271表示)。

表 23：43個 Campath-1H® 15-mer輕鏈及重鏈肽，每一個重疊10個胺基酸

Campath-1H® 肽

light chain		heavy chain	
Peptide	ID#	Peptide	ID#
DIQMTQSPSSLSASV	978	QVQLQESGPGGLVRPS	998
QSPSSLSASVGDRV	979	ESGPGGLVRPSQTL	999
LSASVGDRVITCKA	980	LVRPSQTL	1000
GDRVITCKASQNI	981	QTL	1001
ITCKASQNI	982	TCTVSGFTFTDFYMN	1002
SQNI	983	GFTFTDFYMNWVRQP	1003
KYLNWYQQKPGKAPK	984	DFYMNWVRQPPGRGL	1004
YQQKPGKAPKLLIYN	985	WVRQPPGRGLEWIGF	1005
GKAPKLLIYNTNNLQ	986	PGRGLEWIGFIRDKA	1006
LLIYNTNNLQ	987	EWIGFIRDKAKGYTT	1007
TNNLQ	988	IRDKAKGYTTEYNPS	1008
TGVPSRFS	989	KGYTTEYNPSVKGRV	1009
RFSGSGSGTDFTFTI	990	EYNPSVKGRVTMLVD	1010
SGSGTDFTFTIS	991	VKGRVTMLVDTSKNQ	1011
FTFTIS	992	TMLVDTSKNQFSLRL	1012
SSLQ	993	TSKNQFSLRLSSVTA	1013
EDIATYYCLQHISRP	994	FSLRLSSVTAADTAV	1014
YYCLQHISRPRTFGQ	995	SSVTAADTAVYYCAR	1015
HISRPRTFGQGTKVE	996	ADTAVYYCAREGHTA	1016
RTFGQGTKVEIKRTV	997	YYCAREGHTAAPFDY	1017
		EGHTAAPFDYWGQGS	1018
		APFDYWGQGS	1019
		WGQGS	1020

「light chain」譯為「輕鏈」

「heavy chain」譯為「重鏈」

「Peptide」譯為「肽」

表 24：42個 12G6-SFD1/K12 15-mer輕鏈及重鏈肽，每一個重疊10個胺基酸

12G6-SFD1/K12 肽

light chain		heavy chain	
Peptide	ID#	Peptide	ID#
DIVMTQTPLSLSVTP	1027	EVQLVESGGGLVQPG	1048
QTPLSLVTPGQPAS	1028	ESGGGLVQPGGSLRL	1049
LSVTPGQPASISCKS	1029	LVQPGGSLRLSCAAS	1050
GQPASISCKSSQSL	1030	GSLRLSCAASGFPFS	1079
ISCKSSQSLLYSNGK	1031	SCAASGFPFSNYWMN	1080
SQSLLYSNGKTYLNW	1032	GFPFSNYWMNWVRQA	1081
YSNGKTYLNWVLQKP	1072	NYWMNWVRQAPGKGL	1082
TYLNWVLQKPGQSPQ	1073	WVRQAPGKGLEWVGQ	1055
VLQKPGQSPQRLIYL	1074	PGKGLEWVGQIRLKS	1056
GQSPQRLIYLVSKLD	1036	EWVGQIRLKSNNYAT	1060
RLIYLVSKLD SGVPD	1037	IRLKSNNYATHYAES	1061
VSKLD SGVPDRFSGS	1038	NNYATHYAESVKGRF	1062
SGVPDRFSGSGSGTD	1039	HYAESVKGRFTISR	1063
RFSGSGSGTDFTLKI	1040	VKGRFTISRDDSKNS	1064
GSGTDFTLKISRVEA	1041	TISRDDSKNSLYLQM	1065
FTLKISRVEAEDVGV	1042	DSKNSLYLQMNSLKT	1066
SRVEAEDVGVYYCVQ	1043	LYLQMNSLKTEDTAV	1067
EDVGVYYCVQGSHFH	1075	NSLKTEDTAVYYCTP	1068
YYCVQGSHFHTFGQG	1076	EDTAVYYCTPIDYWG	1083
GSHFHTFGQGTKLEI	1077	YYCTPIDYWGQGT	1084
TFGQGTKLEIKRTVA	1078	IDYWGQGT TVTVSSA	1085

'peptide」譯為「肽」

「light chain」譯為「輕鏈」

「heavy chain」譯為「重鏈」

活體外刺激

DC抗原脈衝及成熟：在以肽處理前，將DCs融解，沖洗及析出於以5% 人類血清(HS, Sigma, St. Louis, MO)、1% 盤尼西尼-鏈黴素(Invitrogen, Carlsbad, CA)、100奈克/毫升 GM-CSF、及20奈克/毫升IL-4補充的RPMI (Invitrogen, Carlsbad, CA)，將DCs以 2×10^5 細胞/毫升在6-孔組織培養盤培養於4毫升介質，並使之於37°C 附著1小時。在細胞附著之後，將10微克/毫升(總共40微克)的每一個肽加至包含

DCs的孔，關聯於120微克或160微克的總肽加至每一個孔(Campath-1H® 3-肽或4-肽群組)，或200微克或240微克的總肽加至每一個孔(12G6-SFD1/K12 5-肽或6-肽群組)。將40微克的泛-DR結合抗原決定區(PADRE)加至DCs的一個孔並用做陽性對照，因為其可結合至大多數HLA-DR分子(Alexander J, 等, "Development of high potency universal DR-restricted helper epitopes by modification of high affinity DR-blocking peptides," *Immunity*, 1:751-761 (1994))。同樣地，將每一種都40微克的三種HLA-DR結合破傷風類毒素肽(DTIMMEPPYCKGLDIYYKA (SEQ ID NO: 183)、SAMLTNLIIFGPGPVLNKNEV (SEQ ID NO: 184)、及NNFTVSFWLRVPKVSASHLE (SEQ ID NO: 185))加至DCs的一個孔。類似地，熱滅活腺病毒係用做陽性抗原來源並將其以1微克/毫升加至DCs的一個孔。最後，DCs的一組維持不以抗原脈衝並用以做為「零」培育組。與各種抗原脈衝的DCs於37°C培養至少三小時，接著將DCs以包含50奈克/毫升TNF- α 、10奈克/毫升IL-6, 25奈克/毫升IL-1 β (Peprotech, Rocky Hill, NJ)及500奈克/毫升PGE-2(Sigma Aldrich, St. Louis, MO)的'成熟細胞介素混合物'處理，接著使抗原脈衝DCs於37°C過夜成熟。

共-培養的建立：在肽裝載及成熟化之後，使用PBS洗DCs兩次，並使用以10% HS補充的4毫升RPMI再補足。融解自體移植CD4+ T細胞並將其以 2×10^6 細胞/毫升再懸浮於以10% HS、盤尼西尼、及鏈黴素補充的RPMI，接著

將DCs以10:1 T細胞：DC比值(8×10^6 T細胞： 8×10^5 DCs)於8毫升介質中使用自然CD4+ T細胞培養。接著於37°C共-培養7天。在共-培養開始後約72小時，將細胞以25 IU重組IL-2 (Peprotech, Rocky Hill, NJ)補充，及之後每3-4天進一步以25 IU重組IL-2於新介質中補充。

共-培養的再刺激：在第7天(Stim #2)及第14天(Stim #3)，共-培養依循下列步驟再刺激。

增生試驗：於 5×10^5 細胞/毫升於1毫升介質在24-孔低結合培養盤中，如上文所敘述析出、抗原脈衝及成熟DCs以易於細胞至U-底試驗培養盤的後續轉移。一種無關的HLA_DR結合肽，CS 378-398 (肽序列DIEKKIAKMEKASSVFNVNS (SEQ ID NO: 186))，係用做陰性對照(Alexander J, 等, "Development of high potency universal DR-restricted helper epitopes by modification of high affinity DR-blocking peptides," *Immunity*, 1:751-761 (1994))。在24小時DC熟化之後，使用冰冷PBS洗液將細胞自培養盤脫離，將DCs以1:1 T細胞：DC比值(2.5×10^4 DC/孔)與經抗原刺激T細胞培養於U-型底96孔培養盤，每一個T細胞群組使用以培育肽(特定反應)脈衝的DC及以不關連肽(非特定反應)脈衝的DC，以及僅T細胞及僅DC對照重覆試驗三次。在每孔加入1微Ci氘化胸腺嘧啶核苷(Perkin Elmer, Waltham, MA)之前進行試驗72小時，細胞於96孔培養盤收集器(Perkin Elmer)收集及所併入之氘化胸腺嘧啶核苷的量係經由Wallac Microbeta Trilux計數器(Perkin Elmer)上測量CPM而定量。刺激指數係由將特定CPM除以非特定CPM而計算之。

T細胞受體(TCR) V β 用途：將增生試驗建立後所留下的任何CD4+ T細胞冷凍以進行T細胞受體V β 鏈表現的最後測定，融解細胞並依照製造商指示於IO Test Beta 標示套組(Beckman Coulter, France)以辨識24種共軛V β 族成員的抗體染色30分鐘，在以PBS沖洗及以1%甲醛補充之後，於FACScalibur (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)分析細胞，計算表現每一個被偵測的V- β 鏈的細胞之百分率，如於第102圖及第103圖所摘要。

Campath-1H®致免疫性評估

Campath-1H®肽的致免疫性評估係如上文所敘述使用得自BioMedSupply (BMS)的十個正常供給者的PBMCs來執行，由刺激指數所顯示的反應摘要係描述於表25A。每一個供給者列於一行，及每一列列出用於刺激CD4+ T細胞的肽群組。刺激指數(SI)係經由將對培育肽群組的特定免疫反應除以非關連反應來測定，SI值< 2.0則未列出。摘要於表25A的十個供給者中每一個的增生數據係報告於第104A-J圖。六個供給者顯現大於2.0的刺激指數，及結果稱之為「Campath-1H®反應者」。當使用兩個不同肽群組進行試驗時，自反應者其中一個的培育CD4+ T細胞，BMS352，顯現特定免疫反應。第七個供給者，BMS486，亦被分類為「反應者」，在此供給者，刺激指數為背景的1.7倍，其係以輕鏈肽群組986-989記錄。當評估此供給者內經培育T細胞培養的V β 向上調節時，其顯示986-989經培育T細胞顯現單一V β (V β 3)的高度向上調節(第102圖)。單一V β 的

向上調節及特定增生反應顯示BMS486為Campath-1H®反應者，三個未-反應供給者，BMS200、BMS154、及BMS167，未顯示出增生數據或Vβ向上調節，此顯示肽特定免疫反應未發生。Campath-1H®數據係定量為70% (7/10)反應者速率。引出免疫反應的肽群組總數為八，這八個免疫原性肽群組中的三個於具刺激指數3.0或更高的個別供給者引出強烈反應(表26)。

表25：刺激指數數據摘要

表25A. Campath-1H®刺激指數

Campath-1H® Stimulation Index	BMS200	BMS301	BMS154	BMS484	BMS362	BMS486	BMS150	BMS167	BMS170	BMS352
982, 983, 984 & 987										
988, 989 & 990										
985, 986, 991 & 992		2.6								
993, 994, 995 & 996										
997, 998 & 999										
978, 979, 980, 981										
982, 983, 984, 985									2.0	
986, 987, 988, 989				2.1		1.7				
990, 991, 992, 993										
994, 995, 996, 997										2.1
998, 999, 1000, 1001										
1002, 1003, 1004, 1005										
1006, 1007, 1008, 1009							4.2			5.4
1010, 1011, 1012, 1013					3.0					
1014, 1015, 1016, 1017										
1018, 1019, 1020										
PADRE	2.0			2.0		2.5	2.5	2.8	10.5	2.6
Tetanus	11.2					2.3	4.5		2.3	25.9
Ad-Bgal-HI	27.6	4.5	2.6	3.1	13.0	3.8	24.2	44.5	46.6	3.2
Null										

表25B：12G6-SFD1/K12刺激指數

12G6-SFD1/K12 Stimulation Index	BMS484	BMS486	BMS656	BMS640	BMS361	BMS165	BMS902	BMS928	BMS927	BMS963
1027, 1028, 1029, 1030, 1031										
1032, 1072, 1073, 1074, 1036	2.1								2.5	
1037, 1038, 1039, 1040, 1041										
1042, 1043, 1075, 1076, 1077, 1078										
1048, 1049, 1050, 1079, 1080										
1081, 1082, 1055, 1056, 1060	2.1									
1061, 1062, 1063, 1064, 1065	2.0									
1066, 1067, 1068, 1083, 1084, 1085								2.0	nd	
PADRE		3.6	2.2	9.8	2.4		2.3		4.7	
TT-974, 975, 976	2.9	5.2		3.2	5.7	12.9	3.7	4.3	22.4	
Ad-Bgal	17.6	11.0	10.9	31.7	29.1		29.3	10.3	8.4	6.3
Null										

實例70：由12G6-SFD1/K12所誘發CD4+ T細胞反應之評估

12G6-SFD1/K12變異區的致免疫性評估及Vβ分析係如在實例69對Campath-1H®所敘述的來執行，其使用得自十個

正常供給者的細胞。摘要於表 25B 的該十個供給者中每一個的增生數據係報告於第 105A-J 圖。這十個供給者中的兩個亦用於上文所敘述之 Campath-1H® 評估 (BMS486 及 BMS484)，而其餘八個僅以 12G6-SFD1/K12 肽測試。一個供給者，BMS484，對三個肽群組反應並被分類為「12G6-SFD1/K12 反應者」(表 25B)。兩個供給者，BMS927 及 BMS928，每一者皆對一個肽群組反應，而因此亦被分類為「反應者」。供給者 BMS928 對包含重鏈肽 1066、1067、1068、1083、1084、及 1085 的群組顯示 2.0 的弱刺激指數，此反應可由分析增生 T 細胞對 V β 用途而確認。反應的 BMS928 T 細胞顯現單一 V β (V β 20) 的向上調節 (第 103 圖)。供給者 BMS927 於使用一組輕鏈肽培育的 T 細胞中顯示 2.5 的刺激指數，反應的 BMS927 T 細胞的 V β 分析並未顯示相對於背景的單一 V β 向上調節。然而，此供給者保留在「反應者」類別，因為 V β 套組僅代表 70% 的所有可能 V β 用途。在這 10 個供給者的致免疫性的 12G6-SFD1/K12 速率為 30% (3/10)，少於 Campath-1H® 反應者速率的一半 (70%)，總共五個肽群組引出反應，然而五個群組中沒有一個產生大於 3.0 的刺激指數 (表 26)。

表 26：Campath-1H® 及 12G6-SFD1/K12 免疫反應之摘要

	Campath-1H®	12G6-SFD1/K12
反應者百分率	70% (7/10)	30% (3/10)
引出反應的肽群組數目	8	5
具刺激指數 ≥ 3.0 的反應肽群組	3/8 (38%)	0/3 (0%)

總結

本文所引用的所有專利、公開申請案及參考文獻之意旨係以其全文併入做為參考。

儘管本發明已經由參考其實例具體實施例而特別地示出及敘述，熟知該技藝者將了解可進行各種型式和細節的變化而不偏離由所附申請專利範圍所包含的本發明範圍。

【圖式簡單說明】

第1A-1B圖為一種新穎抗-CD52單株抗體的發展之示意表示。一般方案係說明於第1A圖及老鼠抗-人類CD52抗體株及其同種型的名稱係顯示於第1B圖。

第2圖為許多老鼠抗-人類CD52 κ 輕鏈序列(SEQ ID NOS:1-13)的胺基酸序列之排列。Campath-1G為一種老鼠單株抗體，由此得到人類化Campath-1H抗體。

第3圖為許多老鼠抗-人類CD52重鏈序列(SEQ ID NOS:14-26)的胺基酸序列之排列。Campath-1G為一種老鼠單株抗體，由此得到人類化Campath-1H抗體。

第4圖為野生型CD52及10種突變體CD52蛋白(SEQ ID NOS: 104-114，自上到下)之排列。

第5A圖說明抗體4B10及7F11於表現CD52丙胺酸掃描突變體的細胞的基於-FACS的N-端結合數據。

第5B圖說明抗體CF1D12、3G7、9D9、5F7、4G7及11C11於表現CD52丙胺酸掃描突變體的細胞的基於-FACS的中間區域結合數據。

第5C圖說明抗體Campath-1H® ("Campath 1H")、2C3、12G6、及23E6於表現CD52丙胺酸掃描突變體的細胞的基

於-FACS的結合數據。

第5D圖說明使用嵌合單株抗體組探查的CD52 +/- N-鏈結糖化的免疫墨點。

第6圖為一種顯示於在CHO-K1 CD52 #67細胞上篩選的各種嵌合抗-CD52抗體的1.5小時CDC試驗的結果之圖。結果顯示嵌合抗體4B10及7F11與Campath-1H® ("Campath 1H")相匹配或更佳。

第7圖為一種顯示於在CHO-K1 CD52 #67細胞上篩選的各種CD52上嵌合IgG1抗體的14小時ADCC試驗的結果之圖。結果顯示嵌合抗體2C3及12G6與Campath-1H® ("Campath 1H")相匹配或更佳。

第8A-8C圖說明替代抗-CD52 抗體及Campath-1H® ("C-1H")抗體至經定義人類淋巴細胞族群的比較結合。這些圖顯示由FACS試驗所篩選的嵌合抗體的結合能力之層系。至最右端的曲線證實最高結合能力，然而至最左端的曲線以較低親合力結合。

第9A-9C圖為說明在以嵌合抗體 7F11、8G3、23E6、12G6、4B10、或5F7、或是Campath-1H® ("Cam")投藥之後72小時血液中CD4 T細胞(第9A圖)、CD8 T細胞(第9B圖)及CD19 B細胞(第9C圖)的含量的圖。

第10A-10C圖為說明在以嵌合抗體7F11、8G3、23E6、12G6、4B10、或5F7、或是Campath-1H® ("Cam")投藥之後72小時脾臟中CD4 T細胞(第10A圖)、CD8 T細胞(第10B圖)及CD19 B細胞(第10C圖)的含量的圖。

第 11A-11C 圖為顯示在以嵌合抗體 2C3、9D9、4B10、3G7、或 11C11、或是 Campath-1H® ("Cam") 投藥之後 72 小時血液中 CD4 T 細胞 (第 11A 圖)、CD8 T 細胞 (第 11B 圖) 及 CD19 B 細胞 (第 11C 圖) 的含量的圖。

第 12 圖為一種說明在使用 7F11、4B10、或 12G6 嵌合單株抗體、或是 Campath-1H® ("Campath") 處理後存活老鼠百分率的 Kaplan Meier 存活圖。

第 13 圖為一種說明在使用 2C3、8G3、或 23E6 嵌合單株抗體、或是 Campath-1H® ("Campath") 處理後存活老鼠百分率的 Kaplan Meier 存活圖。

第 14 圖為一種說明在使用 9D9 或 4B10 嵌合單株抗體、或是 Campath-1H® ("Campath") 處理後存活老鼠百分率的 Kaplan Meier 存活圖。

第 15 圖為一種說明在使用 2C3 或 11C11 嵌合單株抗體、或是 Campath-1H® ("Campath") 處理後存活老鼠百分率的 Kaplan Meier 存活圖。

第 16 圖為一種具最符合人類生殖株序列 (SEQ ID NO: 97) 的老鼠抗-人類 CD52 抗體 4B10 重鏈變異區 (SEQ ID NO: 96) 序列及人類化重鏈變異區序列 (SEQ ID NO: 98) 之排列。亦示出的是具最符合人類生殖株序列 (SEQ ID NO: 100) 的老鼠抗-人類 CD52 抗體 4B10 輕鏈變異區 (SEQ ID NO: 99) 序列及人類化輕鏈變異區序列 (SEQ ID NO: 101) 之排列。

第 17 圖顯示人類化 4B10 重鏈 (SEQ ID NO: 103) 及輕鏈 (SEQ ID NO: 102) 變異區序列。

第18圖為一種顯示人類化抗體4B10-H1/K1("4B10-人類化")及嵌合抗體4B10相當地結合至表現CD52的細胞的圖。

第19圖為一種顯示人類化抗體4B10-H1/K1("4B10-人類化")及嵌合抗體4B10媒介相當ADCC活性於表現CD52的細胞的圖。

第20圖為一種顯示人類化抗體4B10-H1/K1 ("4B10-人類化")及嵌合抗體4B10媒介相當CDC活性於表現CD52的細胞的圖。

第21圖為一種說明嵌合抗-CD52抗體(12G6、7F11及4B10)、Campath-1H® ("Campath")、及人類化抗-CD52抗體4B10-H1/K1("4B10人類化(H1/K1)")於異型接合的huCD52基因轉殖老鼠的藥物動力數據的圖。

第22A-22C圖為一種顯示在使用嵌合抗體4B10或人類化抗體4B10-H1/K1 ("4B10-Hu")或Campath-1H® ("Campath")投藥之後72小時血液中CD4 T細胞(第22A圖)、CD8 T細胞(第22B圖)及CD19 B細胞(第22C圖)的含量的圖。

第23圖為一種顯示抗-CD52單株抗體的相對結合親合力之摘要的圖。

第24圖顯示人類化7F11重及輕(κ)鏈變異區序列。回復突變為老鼠殘基的胺基酸殘基加底線及CDR以粗體表示。

第25圖為一種顯示嵌合及人類化7F11抗體相當地結合至表現CD52的細胞的統計表。X軸表示由所結合抗-CD52抗體所放出的螢光，其中每一個峰的面積表示總細胞族群。

第26A圖顯示人類化2C3重鏈變異區序列。回復突變為

老鼠殘基的胺基酸殘基加底線及CDR以粗體表示的圖。第26B圖顯示人類化2C3輕(κ)鏈變異區序列。回復突變為老鼠殘基的胺基酸殘基加底線及CDR以粗體表示。

第27A圖為一種顯示人類化及嵌合2C3抗體結合至表現CD52的細胞的統計表。X軸表示由所結合抗-CD52抗體所放出的螢光，其中每一個峰的面積表示總細胞族群。第27B圖為一種顯示嵌合及人類化2C3抗體的子群相當地結合至表現CD52的細胞的統計表。X軸表示由所結合抗-CD52抗體所放出的螢光，其中每一個峰的面積表示總細胞族群。

第28A圖顯示人類化12G6重鏈變異區序列。回復突變為老鼠殘基的胺基酸殘基加底線及CDR以粗體表示。第28B圖顯示人類化12G6輕(κ)鏈變異區序列。回復突變為老鼠殘基的胺基酸殘基加底線及CDR以粗體表示。

第29圖為一種顯示嵌合及人類化12G6抗體的子群相當地結合至表現CD52的細胞的統計表。X軸表示由所結合抗-CD52抗體所放出的螢光，其中每一個峰的面積表示總細胞族群。

第30A圖顯示人類化9D9重鏈變異區序列。回復突變為老鼠殘基的胺基酸殘基加底線及CDR以粗體表示的圖。第30B圖顯示人類化9D9輕(κ)鏈變異區序列。回復突變為老鼠殘基的胺基酸殘基加底線及CDR以粗體表示。

第31圖為一種顯示嵌合及人類化9D9抗體的子群相當地結合至表現CD52的細胞的統計表。X軸表示由所結合

抗-CD52抗體所放出的螢光，其中每一個峰的面積表示總細胞族群。

第32A圖顯示Campath-1H® ("C1H")、嵌合2C3抗體、及人類化2C3-SFD1/K12抗體至初代人類T細胞及huCD52基因轉殖老鼠T細胞的結合曲線。第32B圖顯示Campath-1H® ("C1H")、嵌合9D9抗體、及人類化9D9抗體至初代人類T細胞及huCD52基因轉殖老鼠T細胞的結合曲線。第32C圖顯示Campath-1H® ("C1H")、嵌合12G6抗體及人類化12G6抗體至初代人類T細胞及huCD52基因轉殖老鼠T細胞的結合曲線。

第33圖為一種顯示Campath-1H®、嵌合2C3及12G6抗體及人類化2C3及12G6抗體至表現人類及基因轉殖老鼠T細胞的huCD52之相對結合效率的表。

第34圖藉由流式細胞計數法說明人類化抗-CD52Campath-1H®、2C3、12G6、及9D9抗體至人類週邊血液單核細胞族群的經定義子集之相對結合形式。這些統計表顯示人類化抗-CD52抗體結合係相當於Campath-1H®對各種表現CD52的人類PBMC子集的抗體結合。X軸表示由所結合抗-CD52抗體所放出的螢光，其中每一個峰的面積表示總細胞族群。

第35圖為顯示嵌合及人類化7F11抗體媒介相當ADCC活性於表現CD52的細胞的圖。

第36圖為顯示嵌合及人類化7F11抗體媒介CDC活性於表現CD52的細胞的圖。

第37圖為顯示嵌合及人類化2C3抗體媒介ADCC活性於表現CD52的細胞的圖。

第38圖為顯示嵌合及人類化2C3抗體媒介CDC活性於表現CD52的細胞的圖。

第39圖為顯示嵌合及人類化12G6抗體媒介ADCC活性於表現CD52的細胞的圖。

第40圖為顯示嵌合及人類化12G6抗體媒介CDC活性於表現CD52的細胞的圖。

第41圖為顯示嵌合及人類化9D9抗體媒介ADCC活性於表現CD52的細胞的圖。

第42圖為顯示嵌合及人類化9D9抗體媒介CDC活性於表現CD52的細胞的圖。

第43圖為一種顯示人類化抗-CD52抗體於初級T細胞的ADCC活性的圖。

第44圖為一種顯示人類化抗-CD52抗體於初級T細胞的CDC活性的圖。

第45圖為一種顯示Campath-1H而非其他抗-CD52抗體的中性化的圖，其係使用包含抗-Campath-1H®中和抗體的CAMMS223研究人類血清樣品。血清樣品係在第12個月(M12)及第13個月(M13)取自代表性病人(MS-1)。

第46A-46E圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)及人類化4B10-H1/K1 (「4B10」)抗體投藥之後72小時血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞、骨髓樣的細胞及嗜中性球的含量。

第47A-47E圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)及人類化4B10-H1/K1(「4B10」)抗體投藥之後72小時脾臟中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞、骨髓樣的細胞、嗜中性球及巨噬細胞的含量。

第48A-48E圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)及人類化4B10-H1/K1 (「4B10」)抗體投藥之後2小時循環細胞介素的含量。

第49A及49B圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)及人類化4B10-H1/K1 (「4B10」)抗體，(毫克/公斤)投藥之後循環細胞介素隨時間的再增殖。

第50A-50E圖顯示在使用人類化7F11-SFD1/K2 (「7F11 SFD1」)及7F11-SFD2/K2 (「7F11 SFD2」)抗體投藥之後72小時血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞、骨髓樣的細胞及嗜中性球的含量。

第51A-51E圖顯示在使用人類化7F11-SFD1/K2 (「7F11 SFD1」)及7F11-SFD2/K2 (「7F11 SFD2」)抗體投藥之後72小時脾臟中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞、骨髓樣的細胞及嗜中性球的含量。

第52A-52F圖顯示在使用人類化7F11-SFD1/K2 (「7F11 SFD1」)及7F11-SFD2/K2 (「7F11 SFD2」)抗體投藥之後2小時循環細胞介素的含量。

第53A及53B圖顯示在使用人類化7F11-SFD1/K2 (「7F11 SFD1」)及7F11-SFD2/K2 (「7F11 SFD2」)抗體投藥，(毫克/公斤)之後循環細胞介素隨時間的再增殖。

第 54A 及 54B 圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、7F11-嵌合抗體、及人類化 7F11-SFD1/K2 與 7F11-SFD2/K2 抗體投藥之後 72 小時血液中 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞及 B220+ B 細胞的含量。

第 55 圖顯示投藥之後血液中 Campath-1H® (「Campath」)、7F11-c 嵌合抗體及人類化 7F11-SFD1/K2 與 7F11-SFD2/K2 抗體隨時間的含量。

第 56A-56E 圖顯示使用 2C3-SFD1/K12 抗體投藥之後 72 小時血液中 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、B220+ B 細胞、NK 細胞及嗜中性球的含量。

第 57A-57E 圖顯示使用 2C3-SFD1/K12 抗體投藥之後 72 小時脾臟中 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、B220+ B 細胞、NK 細胞及嗜中性球的含量。

第 58A-58F 圖顯示使用 2C3-SFD1/K12("2C3") 抗體投藥之後 2 小時循環細胞介素的含量。

第 59 圖顯示在使用 2C3-SFD1/K12 抗體投藥，(毫克/公斤)之後循環細胞介素隨時間的再增殖。

第 60A-60E 圖顯示在使用 12G6-SFD1/K11 抗體投藥之後 72 小時血液中 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、B220+ B 細胞、NK 細胞、骨髓樣的細胞、巨噬細胞及嗜中性球的含量。

第 61A-61E 圖顯示在使用 12G6-SFD1/K11 抗體投藥之後 72 小時脾臟中 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、B220+ B 細胞、NK 細胞、巨噬細胞、嗜中性球及骨髓樣的細胞的含量。

第 62A-62F 圖顯示在使用 12G6-SFD1/K11 (「12G6 hu」)

抗體投藥之後2小時循環細胞介素的含量。

第63圖顯示在使用12G6-SFD1/K11抗體投藥，(毫克/公斤)之後循環淋巴細胞隨時間的再增殖。

第64A-64C圖顯示投藥之後血液中2C3-嵌合、2C3-SFD1/K12、12G6-嵌合、12G6-SFD1/K11、9D9-嵌合及9D9-H10/K12抗體隨時間的含量。

第65A-65E圖顯示在使用9D9-H10/K12 (「9D9」)抗體投藥之後72小時血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞、骨髓樣的細胞、巨噬細胞及嗜中性球的含量。

第66A-66E圖顯示在使用9D9-H10/K12 (「9D9」) 抗體投藥之後72小時脾臟中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞、骨髓樣的細胞、嗜中性球及巨噬細胞的含量。

第67A-67F圖顯示在使用9D9-H10/K12 (「9D9」) 抗體投藥之後2小時循環細胞介素的含量。

第68圖顯示在使用9D9-H10/K12 (「9D9」)抗體，(毫克/公斤)投藥之後循環淋巴細胞隨時間的再增殖。

第69A-69D圖顯示在使用Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12 (「2C3」)、12G6-SFD1/K11 (「12G6」)及9D9-H10/K12 (「9D9」)抗體投藥之後72小時血液中整體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、及B細胞)及CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞及NK細胞子形式的含量。

第70A-70D圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12 (「2C3」)、12G6-SFD1/K11 (「12G6」)、及9D9-H10/K12 (「9D9」)抗體投藥之後72小時脾臟中整體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、及B細胞)及CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞及NK細胞子形式的含量。

第71A-71F圖顯示在使用 Campath-1H®、2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、及9D9-H10/K12抗體投藥之後2小時循環細胞介素的含量。

第72圖顯示在使用9D9-H10/K12及9D9-H11/K12 抗體投藥之後72小時血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞及NK細胞的含量。

第73圖顯示在使用9D9-H10/K12及9D9-H11/K12抗體投藥之後72小時脾臟中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞及NK細胞的含量。

第74A-74D圖顯示在使用12G6-SFD1/K11 (「12G6 K11」)及12G6-SFD1/K12 (「12G6 K12」)抗體投藥之後72小時血液中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞及骨髓樣的細胞的含量。

第75A-75D圖顯示在使用12G6-SFD1/K11 (「12G6 K11」)及12G6-SFD1/K12 (「12G6 K12」)抗體投藥之後72小時脾臟中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞及骨髓樣的細胞的含量。

第76圖顯示在使用9D9-H11/K12、9D9-H16/K13及9D9-

H18/K13 抗體投藥之後 72 小時血液中整體淋巴細胞族群 (CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及 B220+ B細胞) 的含量。

第 77A-77D 圖顯示在使用 9D9-H11/K12、9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13 抗體投藥之後 72 小時血液中-CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞及骨髓樣的細胞子形式的含量。

第 78 圖顯示在使用 9D9-H11/K12、9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13 抗體投藥之後 72 小時脾臟中整體淋巴細胞族群 (CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及 B220+ B細胞) 的含量。

第 79A-79D 圖顯示在使用 9D9-H11/K12、9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13 抗體投藥之後 72 小時脾臟中 CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞及骨髓樣的細胞子形式的含量。

第 80A-80F 圖顯示在使用 9D9-H11/K12、9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13 抗體投藥之後 2 小時循環細胞介素的含量。

第 81A 及 81B 圖顯示投藥之後血液中 2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13 抗體隨時間的含量。

第 82A-82F 圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K11、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13 或 9D9-H18/K13 抗體投藥之後隨 48-小時時間期間血液中細胞介素的含量。

第 83A-83E 圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K11、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-

H16/K13 或 9D9-H18/K13 抗體投藥之後 72 小時脾臟中整體淋巴細胞、CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞及骨髓樣的細胞的含量。

第 84A-84G 圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 12G6-SFD1/K12 抗體投藥之後循環 CD4+ 與 CD8+ T細胞、調節 T細胞、B細胞、NK細胞、嗜中性球及巨噬細胞隨時間的再增殖。

第 85 圖顯示 FITC-標記 Campath-1H® ("Campath")、2C3-SFD1/K12 ("2C3 K12")、12G6-SFD1/K11 ("12G6 K11")、12G6-SFD1/K12 ("12G6 K12")、9D9-H16/K13 ("9D9 H16")、及 9D9-H18/K13 ("9D9 H18") 抗體特定地結合至脾臟中 huCD52 淋巴細胞族群之能力。

第 86A-86E 圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13、及 9D9-H18/K13 抗體投藥之後 72 小時血液中整體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及 B220+ B細胞)及 CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞及骨髓樣的細胞子形式的含量。

第 87A-87E 圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13 抗體投藥之後 72 小時脾臟中整體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及 B220+ B細胞)及 CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞、NK細胞及骨髓樣的細胞子形式的含量。

第 88A-88F 圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、12G6-SFD1/K11、12G6-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 9D9-H18/K13 抗體投藥之後 2 小時循環細胞介素的含量。

第 89A-89D 圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 12G6-SFD1/K12 抗體投藥之後 72 小時血液中 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、B220+ B 細胞、及 NK/骨髓樣的細胞子形式的含量。

第 90A-90D 圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 12G6-SFD1/K12 抗體投藥之後 72 小時脾臟中 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、B220+ B 細胞、及 NK/骨髓樣的細胞子形式的含量。

第 91A-91D 圖顯示在使用 Campath-1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13 及 12G6-SFD1/K12 抗體投藥之後 72 小時淋巴結中 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、B220+ B 細胞、及 NK/骨髓樣的細胞子形式的含量。

第 92A 圖顯示 huCD52-KI/KO 及 非-基因轉殖對照老鼠中於 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、B220+ B 細胞、及 NK/骨髓樣的細胞子形式的 huCD52 表現位準。第 92B 圖顯示 huCD52-KI/KO 及 huCD52 CD1 基因轉殖老鼠中於 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、及 B 細胞的 huCD52 表現位準。

第 93 圖顯示與 Campath-1H® 對照組相較來自各種製造來源 ("小規模" 及 "大規模") 的 12G6-SFD1/K12 與 2C3-SFD1/K12 抗體的 huCD52 之結合。

第94圖顯示在使用來自各種製造來源("小規模"及"大規模")的12G6-SFD1/K12及2C3-SFD1/K12抗體投藥之後72小時血液中整體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、B220+ B細胞及NK細胞)的含量。

第95圖顯示在投藥之後血液中2C3-SFD1/K12、9D9-H16/K13及12G6-SFD1/K12抗體隨時間的含量。

第96圖證明隨疾病惡化時間2C3-SFD1/K12及12G6-SFD1/K12的EAE臨床評分。

第97A及97B圖證明Campath1H® (「Campath」)、2C3-SFD1/K12 (「2C3」)、His435Ala 2C3-SFD1/K12 (「H435A 2C3」)及His310Ala/His435Gln 2C3-SFD1/K12 (「H310A/H435Q 2C3」)結合至老鼠及人類FcRn分子之能力。

第98圖顯示在非基因轉殖老鼠中2C3-SFD1/K12 (「2C3未修飾」)、2C3-SFD1/K12-修飾1 (「2C3-Fc突變體1」)及2C3-SFD1/K12-修飾2 (「2C3-Fc突變體2」)的本體內清除作用。

第99圖顯示在huCD52基因轉殖老鼠中2C3-SFD1/K12 (「2C3」)、2C3-SFD1/K12-修飾1 (「2C3-Fc突變體1」)及2C3-SFD1/K12-修飾2 (「2C3-Fc突變體2」)的本體內清除作用。

第100A及100B圖顯示在使用2C3-SFD1/K12 (「2C3」)、2C3-SFD1/K12-修飾1 (「2C3-Fc突變體1」)及2C3-SFD1/K12-修飾2 (「2C3-Fc突變體2」)抗體投藥之後72小時血液及脾臟中整體淋巴細胞族群(CD4+ T細胞、CD8+

T細胞、B220+ B細胞及NK細胞)的含量。

第101A及101B圖為Biacore T100試驗的代表性感應圖譜以決定人類化12G6-SFD1/K12抗體及由丙胺酸掃描產生的突變肽的抗原決定區特異性。第101A圖顯示在12G6-SFD1/K12及MUT 8肽之間沒有任何結合，且第101B圖顯示在12G6-SFD1/K12及MUT 9肽之間存在結合。

第102圖顯示授予體BMS486的TCR V β 分析。使用Campath-1H® 肽族群986-989教育的CD4+ T細胞顯現單一V β (V β 3)的優先膨脹。

第103圖顯示授予體BMS928的TCR V β 分析。使用12G6-SFD1/K12 肽族群1066-67-68及1083-84-85教育的CD4+ T細胞顯現單一V β (V β 20)的優先膨脹。

第104A-104J圖顯示Campath-1H®致免疫性評估。增生反應示於個別授予體A-J 的CPM。X軸說明用於刺激自體移植CD4+ T細胞三次的肽族群。每一組T細胞使用以教育抗原/肽族群脈衝的自體移植DC(特異性反應，左邊條狀物，白色)、不相關的DR結合肽(中間條狀物，細條)、或是介質(右邊條狀物，黑色)重複分析三次。

第105A-105J圖顯示12G6-SFD1/K12致免疫性評估。增生反應示於個別授予體A-J的CPM。X軸說明用於刺激自體移植CD4+ T細胞三次的肽族群。每一組T細胞使用以教育肽族群脈衝的自體移植DC(特異性反應，左邊條狀物，白色)、不相關的DR結合肽(中間條狀物，細條)、或是介質(右邊條狀物，黑色)重複分析三次。在沒有介質控制試驗

的族群中，左邊條狀物(白色)表示以教育肽脈衝的DC，及右邊條狀物(細條)表示以不相關肽脈衝的DC。

第106圖顯示2C3-SFD1 (SEQ ID NO: 272)的全長度人類化重鏈胺基酸序列及2C3-K12 (SEQ ID NO: 273)的全長度人類化輕鏈胺基酸序列。信號序列以粗體及斜體表示及CDR加底線。

第107圖顯示7F11-SFD1 (SEQ ID NO: 274)的全長度人類化重鏈胺基酸序列及7F11-K2 (SEQ ID NO: 275)的全長度人類化輕鏈胺基酸序列。信號序列以粗體及斜體表示及CDR加底線。

第108圖顯示9D9-H16 (SEQ ID NO: 276)及9D9-H18 (SEQ ID NO: 277)的全長度人類化重鏈胺基酸序列，及9D9-K13 (SEQ ID NO: 278)的全長度人類化輕鏈胺基酸序列。信號序列以粗體及斜體表示及CDR加底線。

第109圖顯示12G6-SFD1 (SEQ ID NO: 279)的全長度人類化重鏈胺基酸序列及12G6-K12 (SEQ ID NO: 280)的全長度人類化輕鏈胺基酸序列。信號序列以粗體及斜體表示及CDR加底線。

第110圖顯示4B10-H1 (SEQ ID NO: 281)的全長度人類化重鏈胺基酸序列及4B10-K1 (SEQ ID NO: 282)的全長度人類化輕鏈胺基酸序列。信號序列以粗體及斜體表示及CDR加底線。

第111圖顯示2C3-SFD1 (SEQ ID NO: 283)的全長度人類化重鏈核酸序列及2C3-K12 (SEQ ID NO: 284)的全長度人

類化輕鏈核酸序列。信號序列加底線，變異區為粗體，及固定區為斜體。

第112圖顯示7F11-SFD1 (SEQ ID NO: 285)的全長度人類化重鏈核酸序列及7F11-K2 (SEQ ID NO: 286)的全長度人類化輕鏈核酸序列。信號序列加底線，變異區為粗體，及固定區為斜體。

第113圖顯示9D9-H16 (SEQ ID NO: 287)及9D9-H18 (SEQ ID NO: 288)的全長度人類化重鏈核酸序列。信號序列加底線，變異區為粗體，及固定區為斜體。

第114圖顯示9D9-K13 (SEQ ID NO: 289)的全長度人類化輕鏈核酸序列。信號序列加底線，變異區為粗體，及固定區為斜體。

第115圖顯示12G6-SFD1 (SEQ ID NO: 290)的全長度人類化重鏈核酸序列及12G6-K12 (SEQ ID NO: 291)的全長度人類化輕鏈核酸序列。信號序列加底線，變異區為粗體，及固定區為斜體。

第116圖顯示4B10-H1 (SEQ ID NO: 292)的全長度人類化重鏈核酸序列及4B10-K1 (SEQ ID NO: 293)的全長度人類化輕鏈核酸序列。信號序列加底線，變異區為粗體，及固定區為斜體。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號： 99115371

※申請日： 99.5.13

※IPC 分類：

一、發明名稱：(中文/英文)

抗人類CD52免疫球蛋白

ANTI-HUMAN CD52 IMMUNOGLOBULINS

C12N 15/13 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

二、中文發明摘要：

本發明係關於一種具對人類CD52結合專一性的人類化免疫球蛋白、老鼠單株抗體及嵌合抗體，本發明進一步係關於一種人類化免疫球蛋白輕鏈及人類化免疫球蛋白重鏈，本發明亦關於包含編碼人類化免疫球蛋白或免疫球蛋白輕鏈或重鏈的序列的分離核酸、重組載體及宿主細胞，及關於一種製備人類化免疫球蛋白的方法。該人類化免疫球蛋白可用於醫療應用以治療，例如，自體免疫疾病、癌症、非-何杰金氏淋巴瘤、多發性硬化症及慢性淋巴性白血病。

三、英文發明摘要：

The present invention relates to humanized immunoglobulins, mouse monoclonal antibodies and chimeric antibodies that have binding specificity for human CD52. The present invention further relates to a humanized immunoglobulin light chain and a humanized immunoglobulin heavy chain. The invention also relates to isolated nucleic acids, recombinant vectors and host cells that comprise a sequence which encodes a humanized immunoglobulin or immunoglobulin light chain or heavy chain, and to a method of preparing a humanized immunoglobulin. The humanized immunoglobulins can be used in therapeutic applications to treat, for example, autoimmune disease, cancer, non-Hodgkin's lymphoma, multiple sclerosis and chronic lymphocytic leukemia.

老鼠抗-人類CD52抗體輕鏈序列

輕鏈(L)序列

1) Campath 1G K (大鼠)	(-----FR1-----){-----COR1-----}{-----FR2-----}{-----FR3-----}{-----CDR3-----}{JREGION-}	(SEQ ID NO:1)
2) Cf1D12 K	DIKNTQSFSELSASVGRVTLNCRASQNIIDK...YLNWYQOKLGESPKLLIYNTNLTQGIPIRFSGSGSDFTLTISLQPEDVATYFCLOHISRP..ATFTGTGKLELK	(SEQ ID NO:2)
3) 老鼠 8C3.25.3.5 K	DVMTQTPLALSVTIGHPASISCKSSQSLASSDGRTYLNWLFQRPQSPKRLIYLVSNLDSGVDPDRFSGSGSDFTLKI SRVEAEDLGVIYCHQGTHTP..WTFGGGTKLEIK	(SEQ ID NO:3)
4) 老鼠 GNA 4G7.F3 K	DIVLTQSTLSVLTIGUPASISCKSSQSLDSDGKTYLNNKLQRPQSPKRLIYLVSKLDSGVDPDRFTGSGSGDFTLKI SRVEAEDLGVIYCHQGTHTP..WTFGGGTKLEIK	(SEQ ID NO:4)
5) 老鼠 GNA 9D9.A2 K	DIVITQSTLTLSVTIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNNLLQRPQSPKRLIYLVSKLDSGVDPDRFTGSGSGDFTLKV SRVEAEDLGVIYCHQGTHTP..WTFGGGTKLEII	(SEQ ID NO:5)
6) 老鼠 GNA 11C11.C5 K	DIVMTQTPLTSLVTIGQPASITCKSSQSLDSDGKTYLNNLLQRPQSPKRLIYLVSNLNSGLPDRFTGSGSGDFTLKI SRVEAEDLGVIYCHQGTHTP..WTFGGGTKLEIK	(SEQ ID NO:6)
7) 老鼠 GNA 3G7.E9 K	DIVMTQSPPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNNLLQRPQSPKRLIYLVSNLNSGLPDRFTGSGSGDFTLKI SRVEAEDLGVIYCHQGTHTP..WTFGGGTKLEIK	(SEQ ID NO:7)
8) 老鼠 5P7.1.1.4 K	DIVLTQTTLTSLVTIGQPASISCKSSQSLDSDGRTYLNWLFQRPQSPKRLIYLVSNLNSGLPDRFTGSGSGDFTLKI SRVEAEDLGVIYCHQGTHTP..WTFGGGTKLEIK	(SEQ ID NO:8)
9) 老鼠 12G6.15.1.2 K	DIVMTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLYSNCKTYLNNVLQRPQSPKRLIYLVSKLDSGVDPDRFTGSGSGDFTLKI SRVEAEDLGVIYCHQGSHTP...TFCAGTKLELK	(SEQ ID NO:9)
10) 老鼠 2JEG.2.2.1 K	DIVLTQTPRTLSTIGQPASISCKSSQSLLYSNCKTYLNNLLQRPQSPKRLIYLVSKLDSGVDPDRFAGSGSGDFTLKI SRVEAEDLGVIYCHQGTHTP...TFCAGTKLELK	(SEQ ID NO:10)
11) 老鼠 2C3.3.8.1 K	DIVLTQTPRLTSLVTIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNNLLQRPQSPKRLIYLVSKLDSGVDPDRFTGSGSGDFTLKI SRVEAEDLGVIYCHQGTHTP...TFCAGTKLELK	(SEQ ID NO:11)
12) 老鼠 7F11.1.9.7 K	DIVMTQTPLSLPSLGDQASISCKSSQSLVHTNGNSYLHWYLOKRPQSPKRLIYLVSNRFSGVDPDRFTSGIGSGDFTLKI SRVEAEDLGVIYCHQGTHTP..FTYCSGTAKLEIK	(SEQ ID NO:12)
13) 老鼠 4B10.1.2.4 K	DIVMTQSPLSLTVSLGDQASISCKSSQSLVHTNGNTYLHWYLOKRPQSPKRLIYLVSNRFSGVDPDRFTSGSGSGDFTLKI SRVEAEDLGVIYCHQGTHTP..FTYCSGTAKLELK	(SEQ ID NO:13)

第2圖

老鼠抗-人類CD52抗體重鍵序列

重鍵序列

1) Campath 1G 重的 (小鼠)	(SEQ ID NO:14)
2) CP1D12 IgG3 重的	(SEQ ID NO:15)
3) 老鼠 8G3.25.3.5 IgG3 重的	(SEQ ID NO:16)
4) 老鼠 4G7.F3 IgG3 重的	(SEQ ID NO:17)
5) 老鼠 9D9.A2 IgG3 重的	(SEQ ID NO:18)
6) 老鼠 11C11.C5 IgG3 重的	(SEQ ID NO:19)
7) 老鼠 3G7.E9 IgG2b 重的	(SEQ ID NO:20)
8) 老鼠 5P7.1.1.4 IgG3 重的	(SEQ ID NO:21)
9) 老鼠 12G6.15.1.2 IgG3 重的	(SEQ ID NO:22)
10) 老鼠 23E6.2.2.1 IgG3 重的	(SEQ ID NO:23)
11) 老鼠 2C3.3.8.1 IgG3 重的	(SEQ ID NO:24)
12) 老鼠 7F11.1.9.7 IgG1 重的	(SEQ ID NO:25)
13) 老鼠 4B10.1.2.4 IgG2a 重的	(SEQ ID NO:26)

1) EVKLBESGGGLVQPGGSMRLSCAGSGFTFTDFYMWIRQAGKAPWLGPIRDKAGYTYTEYNPSVKGRFTISRDNLTQNMVLYQWNTLRABDTATYYCAREGHTAAPDPYWGQVMTVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]
2) EVKLBESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAMDMVVRQSPKGLBHWABIRNKAKNHVAYVAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQWNNLRABDTGIYYC..TTL.....DSHGQGTALTIVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]
3) EVKLBESGGGLVQPGGSMKLSCAVSRFTFSDAMDMVVRQSPKGLBHWABIRNKAKNHATYYABSVKGRFTISRDDSKSRVFLQWNNLRABDTGIYYC..TSL.....DYGQGTTLTVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]
4) EVKLBESGGGLVQPGGSMKLSCAVSGFTFSDAMDMVVRQSPKGLBHWABIRNKAKNHVKYYABSVKGRFTISRDDSKSSVYLQWNNLRABDTGIYYC..TSL.....DYGQGTALTIVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]
5) EVKLBESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAMDMVVRQSPKGLBHWABIRNKAKNHATYYABSVKGRFTISRDDSKSRVYLQWNNLRABDTGIYYC..TTL.....DSHGQGTSTVTVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]
6) EVKLBESGGGLVQPGGSMKLSCAVSGFTFSDAMDMVVRQSPKGLBHWABIRNKAKNHATYYABSVKGRFTISRDDSKSSVYLQWNNLRABDTGIYYC..TSL.....DYGQGTSTLTIVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]
7) EVKLBESGGGLVQPGGSMKLSCTASGFTFSDAMDMVVRQSPKGLBHWABIRKKNVNNHATYYABSVKGRFTISRDDSKSSVYLQWNNLRABDTGIYYC..TSL.....DYGQGTTLTVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]
8) EVKLBESGGGLVQPGGSMKLSCAVSGLTFTFSDAMDMVVRQSPKGLBHWABIRNKAKNHATYYABSVKGRFTISRDDSKSGVYLQWNNLRABDTGIYYC..TGL.....DYGKGTSTVTVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]
9) EVQLBESGGGLVQPGGSMKLS'CVASGPPFSNYMWVVRQSPKGLBHWABIRKSNVYATHYABSVKGRFTIARDDSKSSVYLQWNNLRABDTGIYYC..TPI.....DYGQGTTLTVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]
10) EVKLBESGGGLVQPGGSMKLS'CVASGFTFNKYMMVVRQSPDKGLB'CAQIRLKS'DNYATHYABSVKGRFTISRDDSKSSVYLQWNNLRABDTGIYYC..TPV.....DFWGQGTTLTVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]
11) EVKLBESGGGLVQPGGSMKLS'CVASGFTFNTYMMVVRQSPKGLBHWABIRKSNVYATHYABSVKGRFTISRDDSKSNVYLQWNNLRABDTGIYYC..TPV.....DFWGQGTTLTVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]
12) EVKLBESGGGLVQPGGSLSLSCV'ASGFTFTDYMSHWVRPPGKALEHWLGP'IRNKANGYTTTEYNASVKGRFTISRDIYSOSILY'QWNNLRABDSATYYC..TRYIPF..DYGQGTTLTVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]
13) EVQLBESGGGLVQPGGALSLS'CAAGSGFTFTDYMSHWVRPPGKALEHWLGP'IRNKANGYTTTEYSASVKGRFTISRDDSQSILY'QWNNLRABDSATYYC..TRYINF..DYGQGTTLTVSS	[-----FR1-----] [---CDR1---] [-----FR2-----] [-----CDR2-----] [-----FR3-----] [---JREGION---]

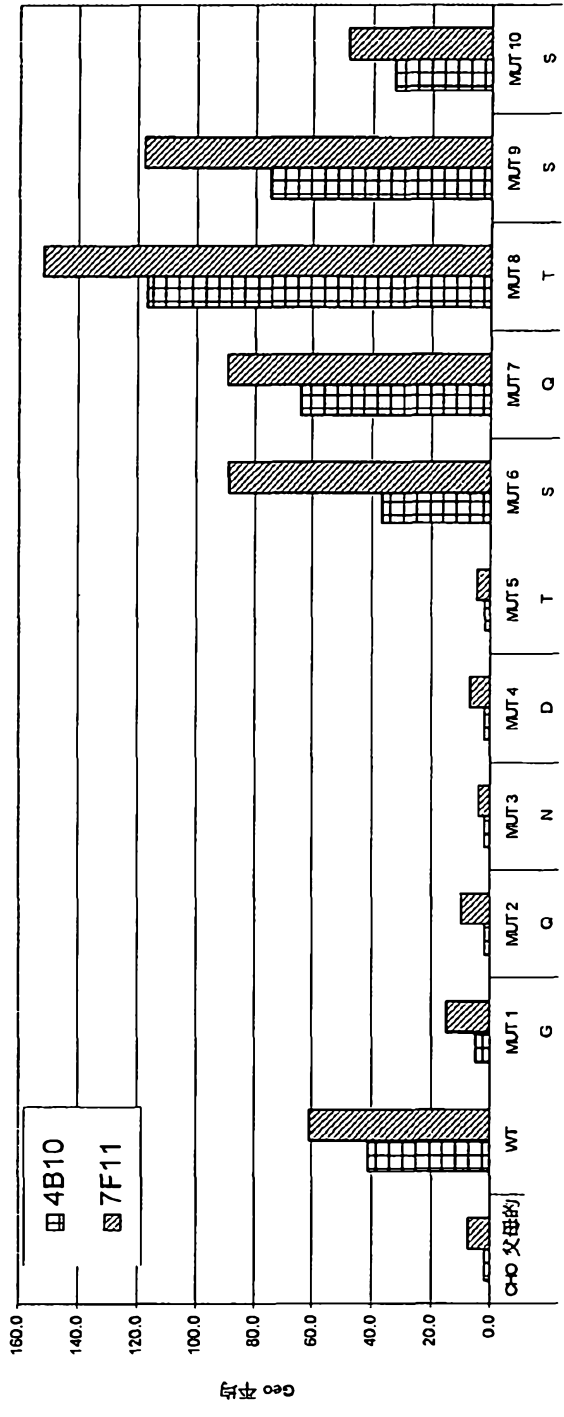
第3圖

CD52蛋白內的點突變

WT	GQNDTSQTSSPS
MUT 1	<u>A</u> QNDTSQTSSPS
MUT 2	G <u>A</u> NDTSQTSSPS
MUT 3	GQ <u>A</u> DTSTSSPS
MUT 4	GQNA <u>T</u> SQTSSPS
MUT 5	GQND <u>A</u> SQTSSPS
MUT 6	GQNDTA <u>A</u> QTSSPS
MUT 7	GQNDTS <u>A</u> TSSPS
MUT 8	GQNDTSQA <u>S</u> SSPS
MUT 9	GQNDTSQT <u>A</u> SSPS
MUT 10	GQNDTSQTS <u>A</u> PS

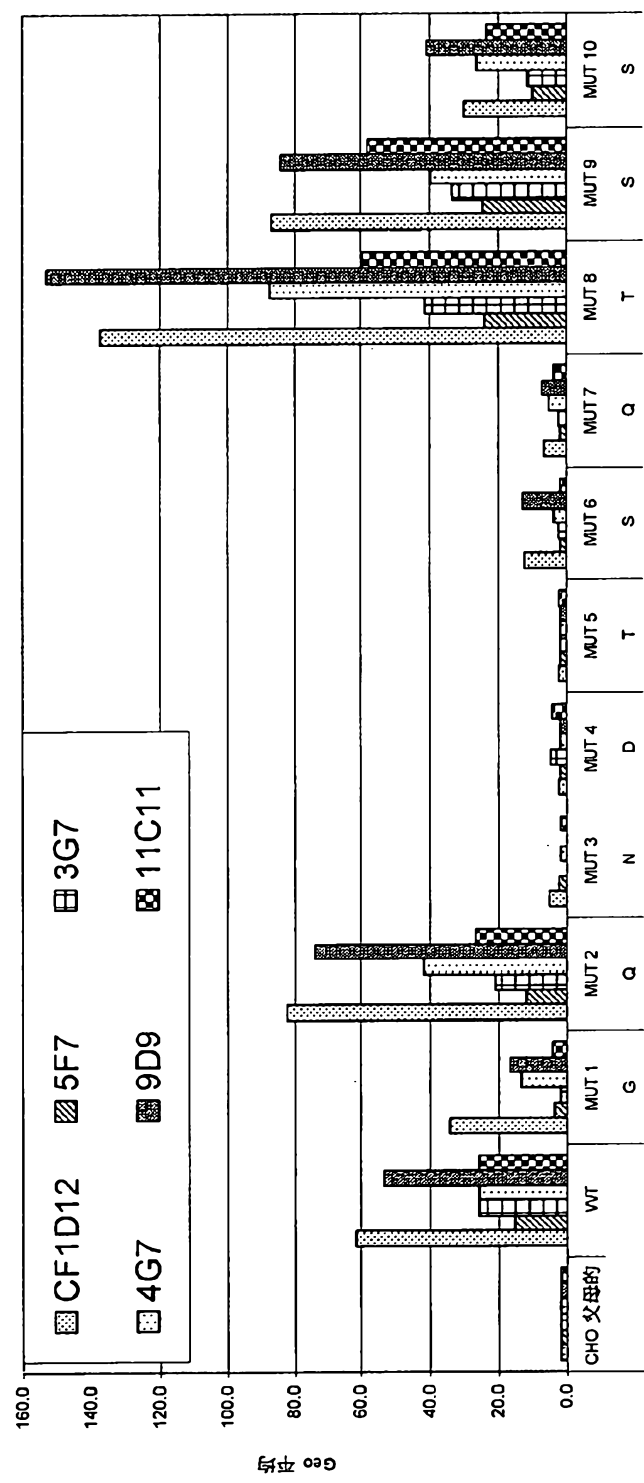
第4圖





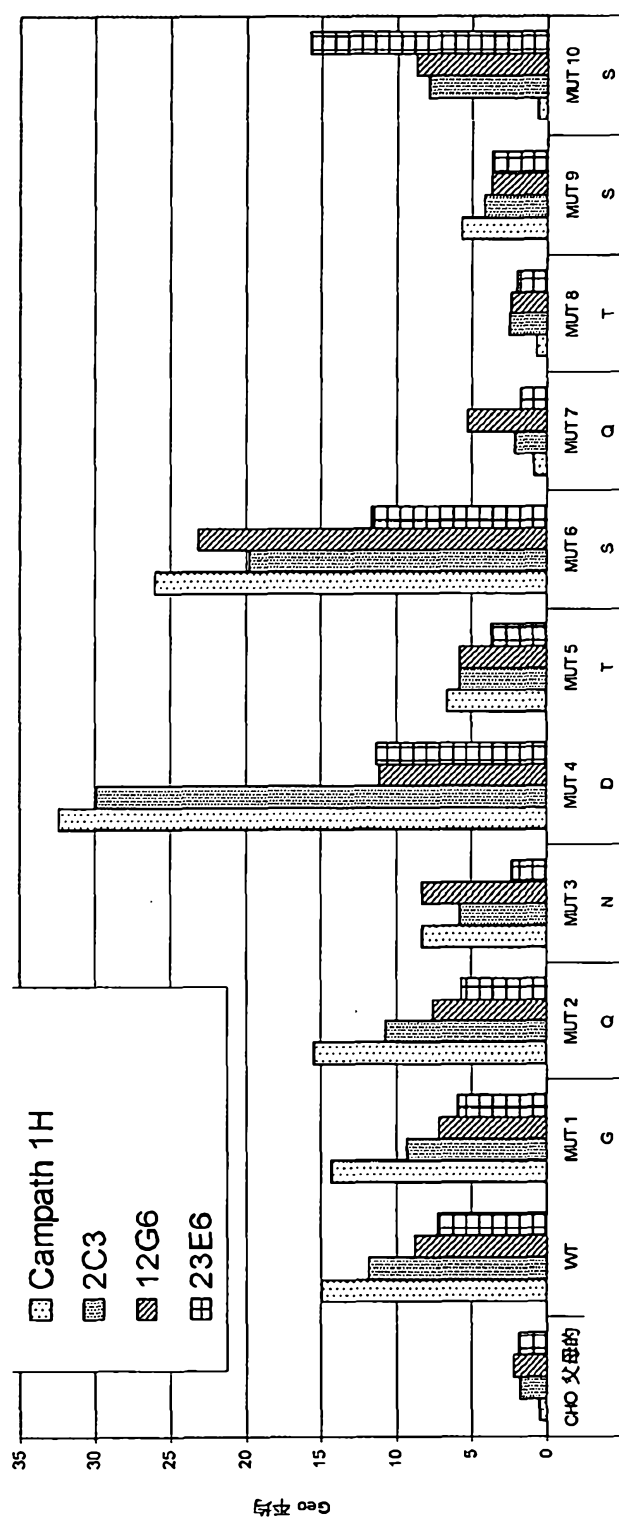
N 端結合

第5A圖

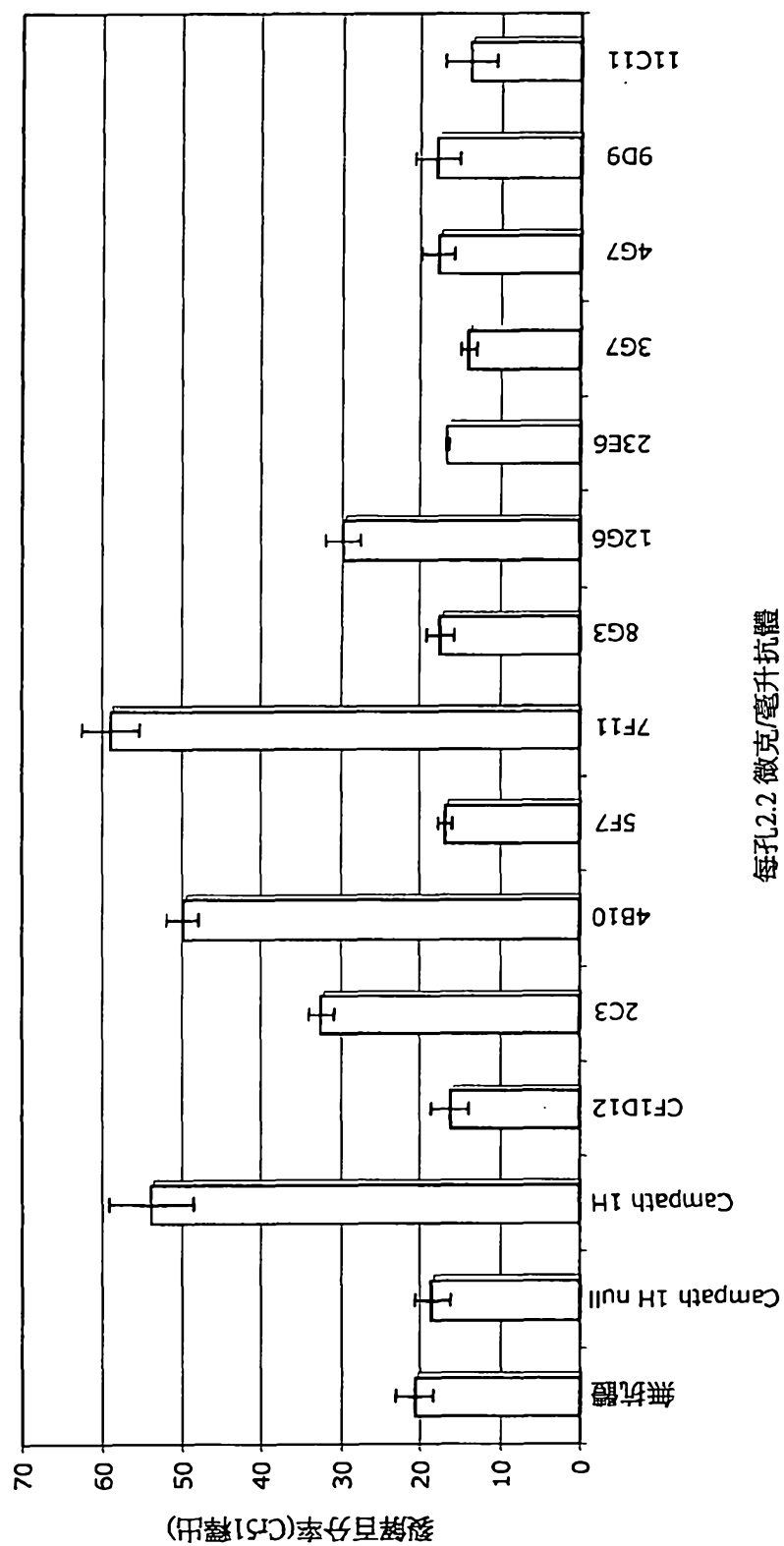


中間區域結合

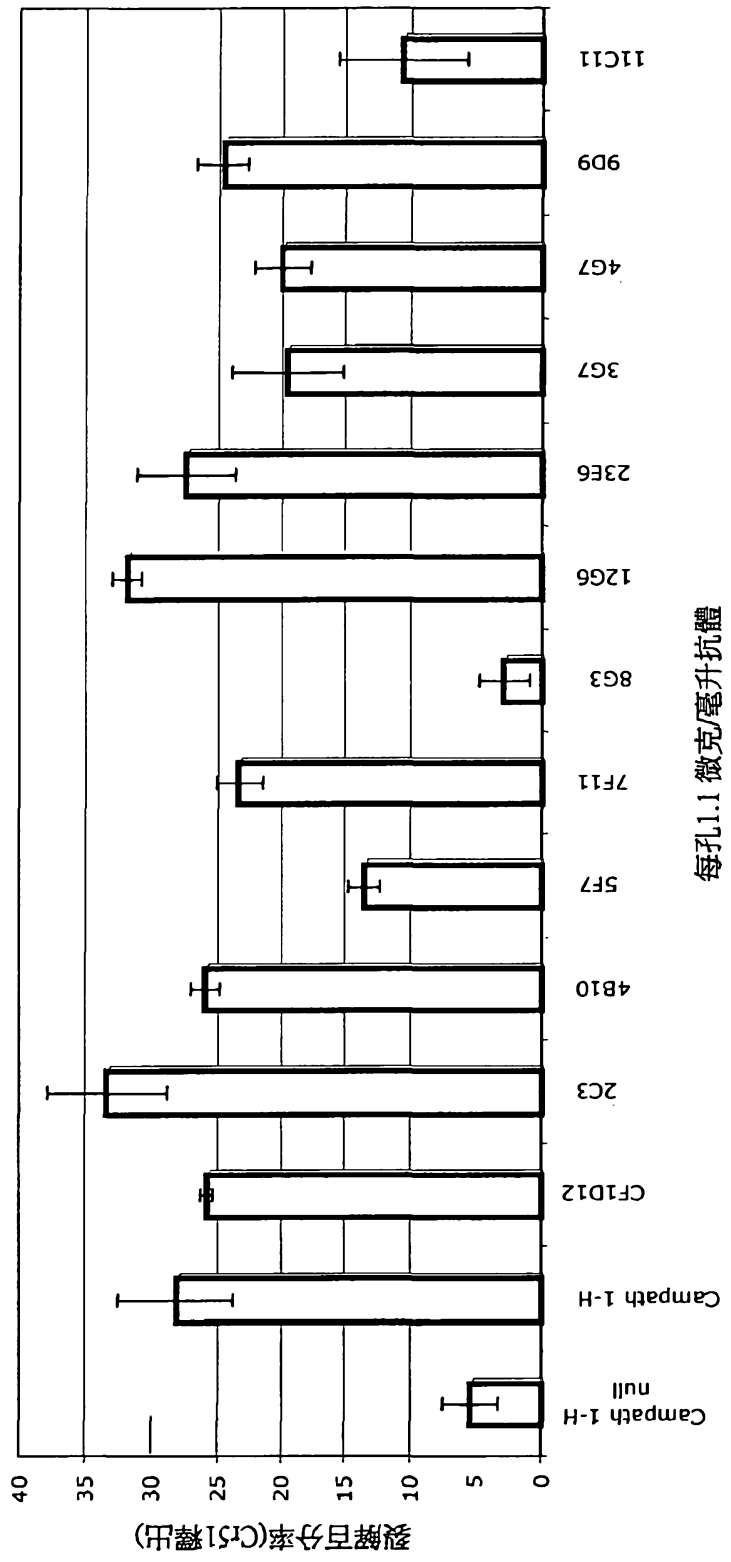
第5B圖



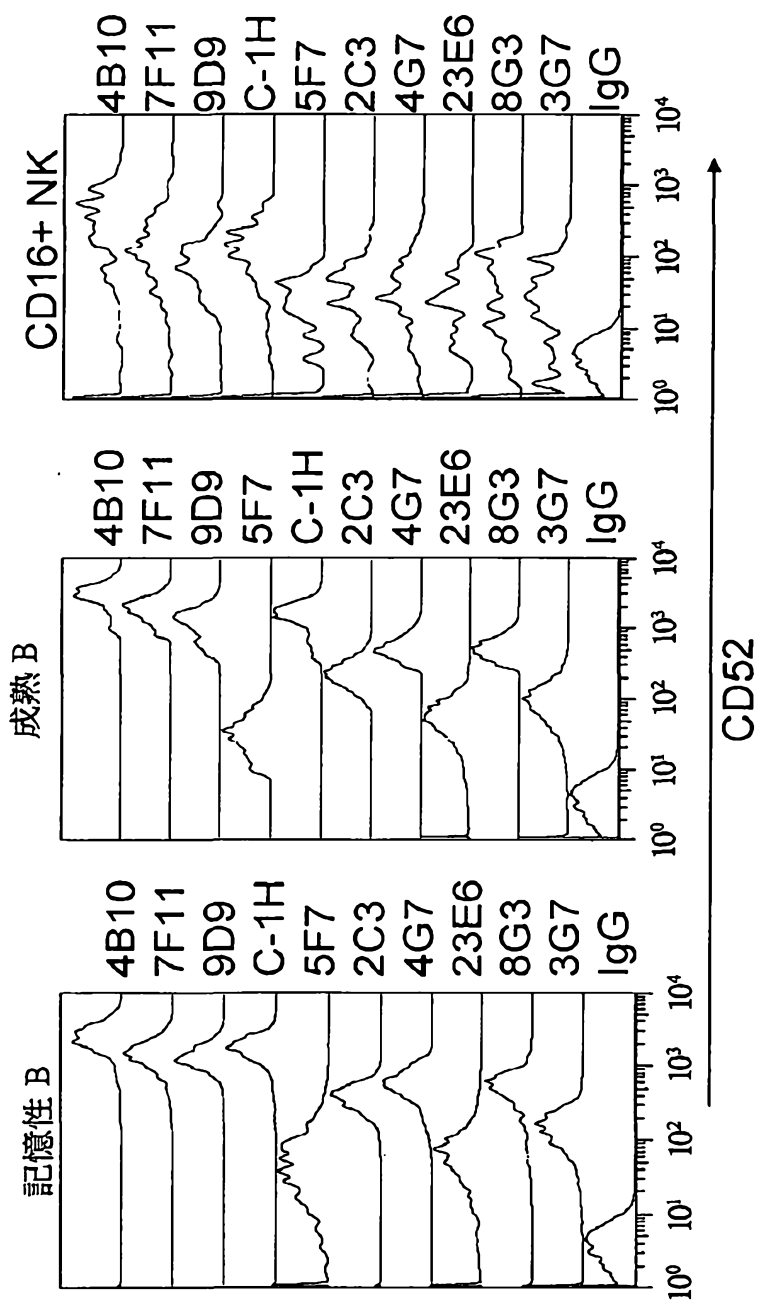
第5C圖



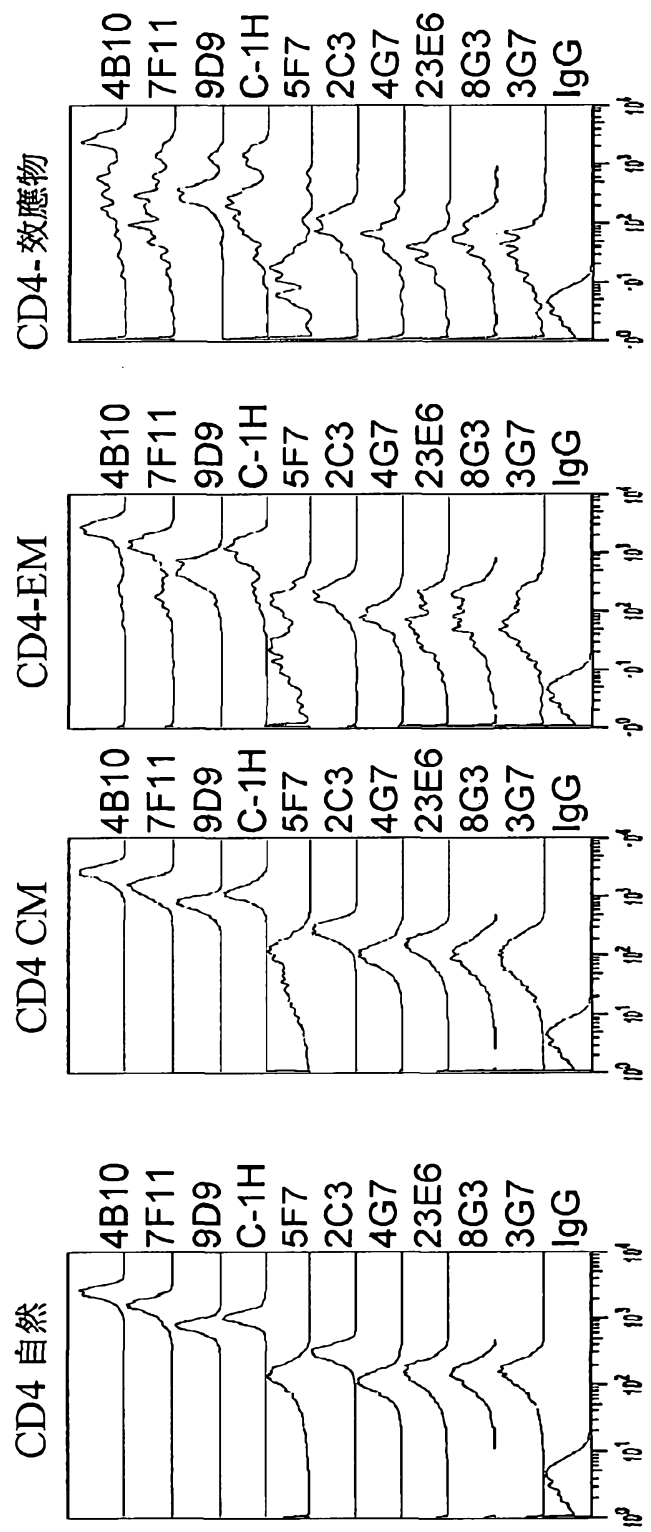
第6圖



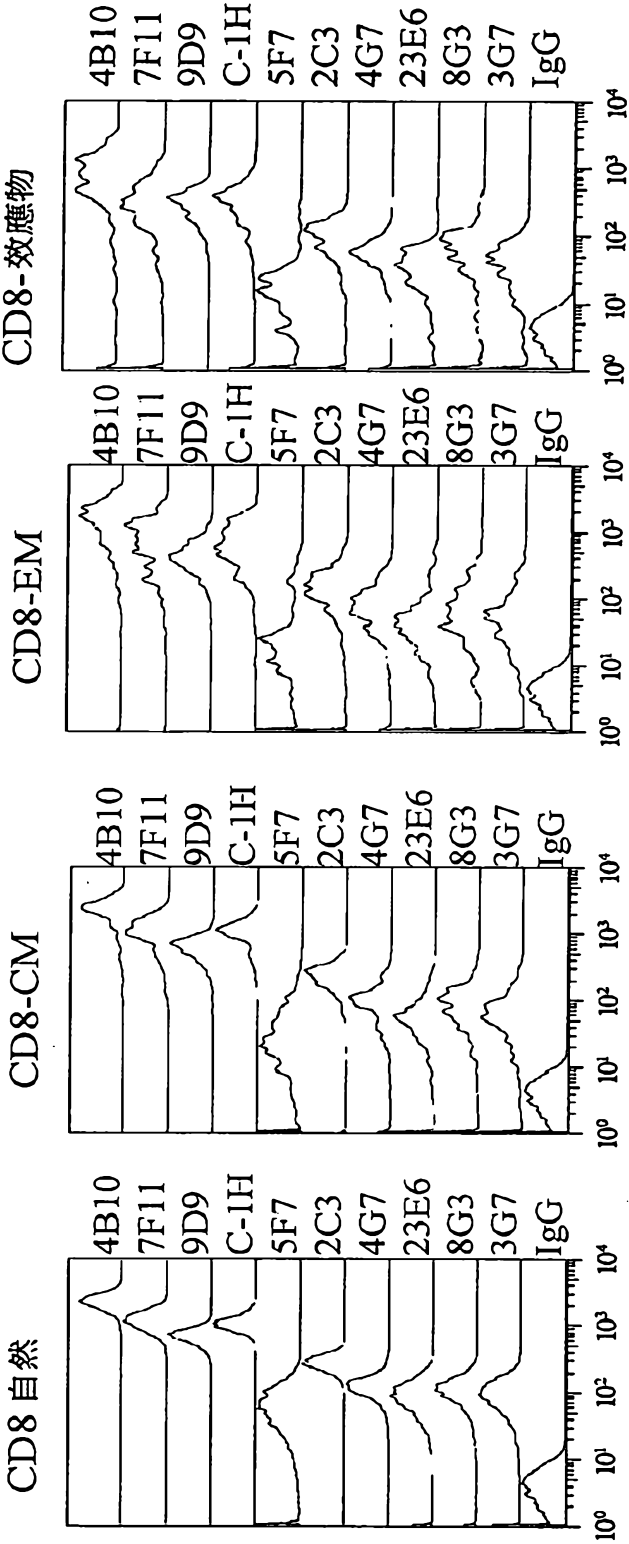
第7圖



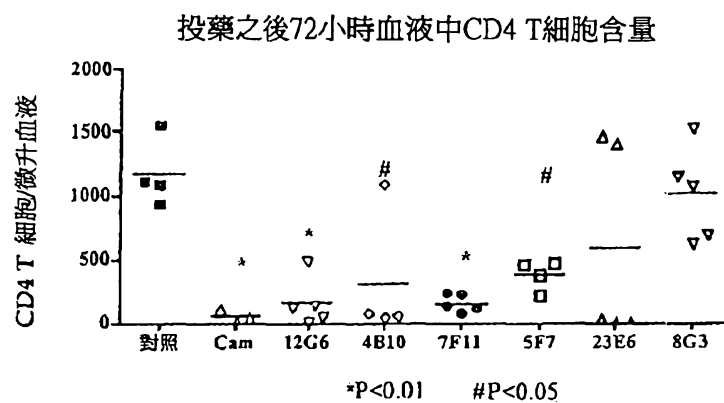
第8A圖



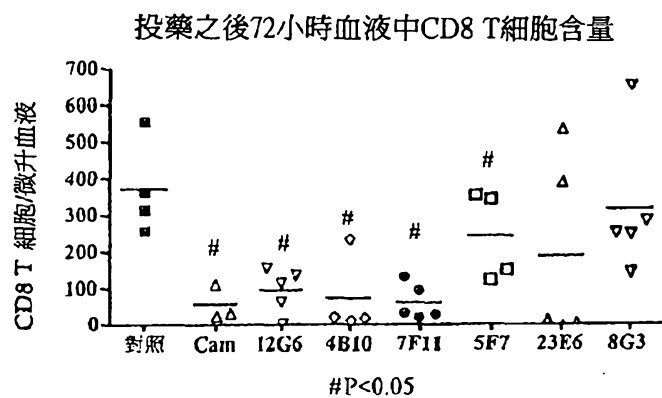
第8B圖



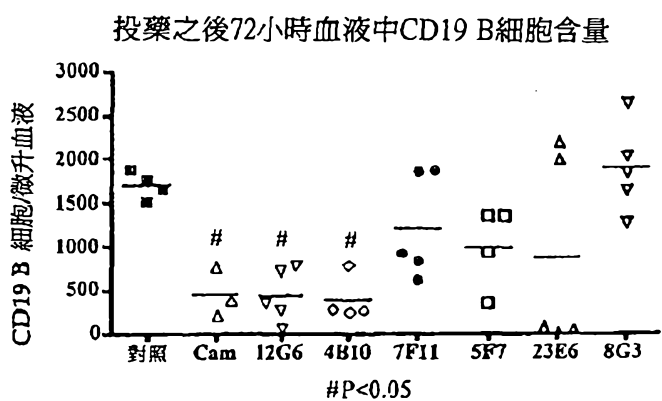
第8C圖



第9A圖

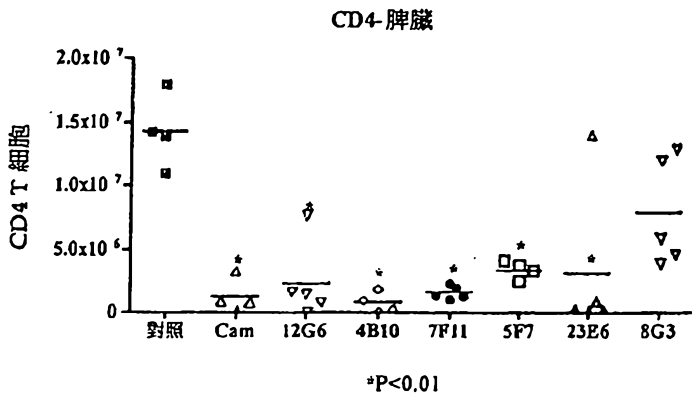


第9B圖

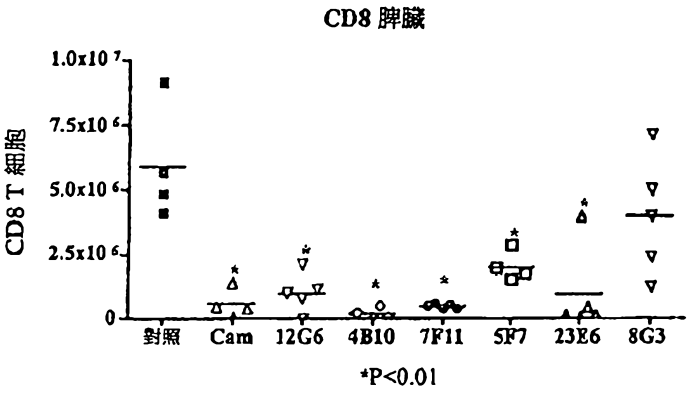


第9C圖

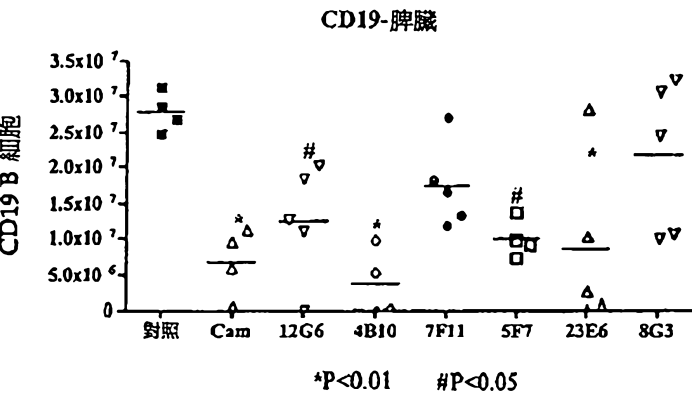
第9A-9C圖



第10A圖

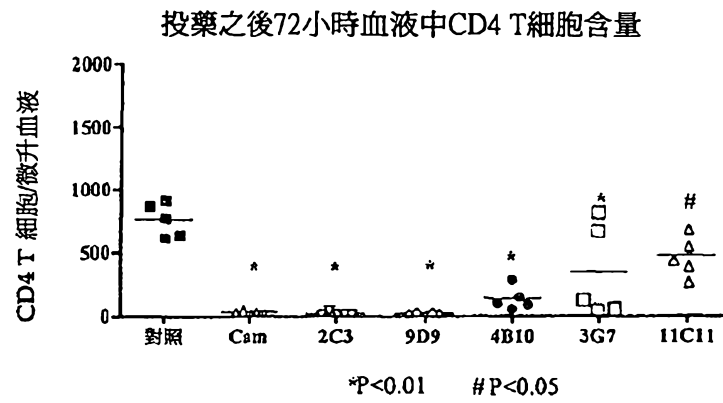


第10B圖

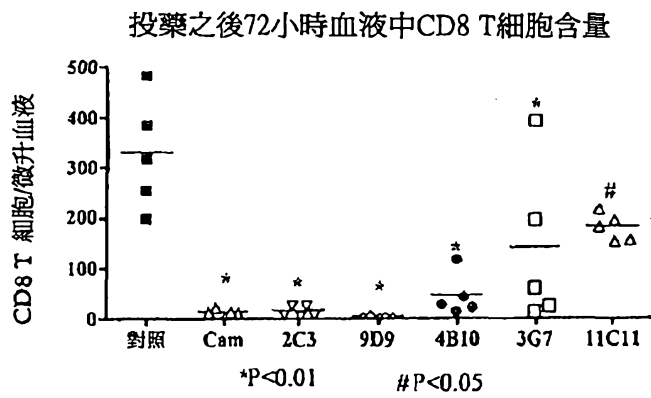


第10C圖

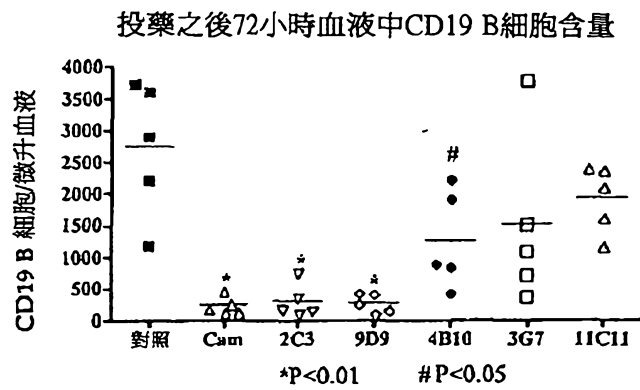
第10A-10C圖



第11A圖

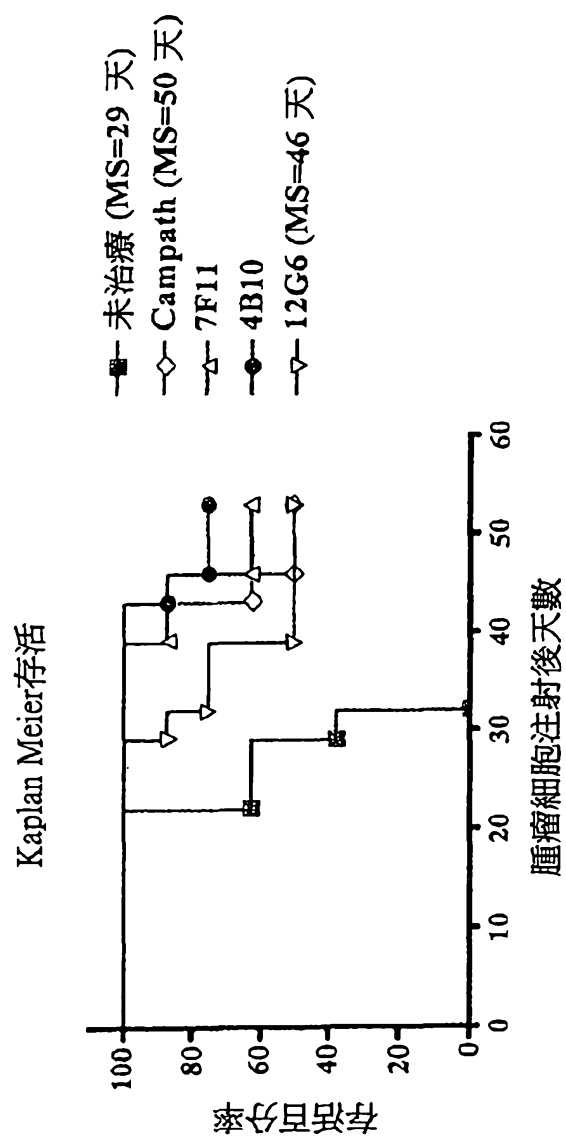


第11B圖

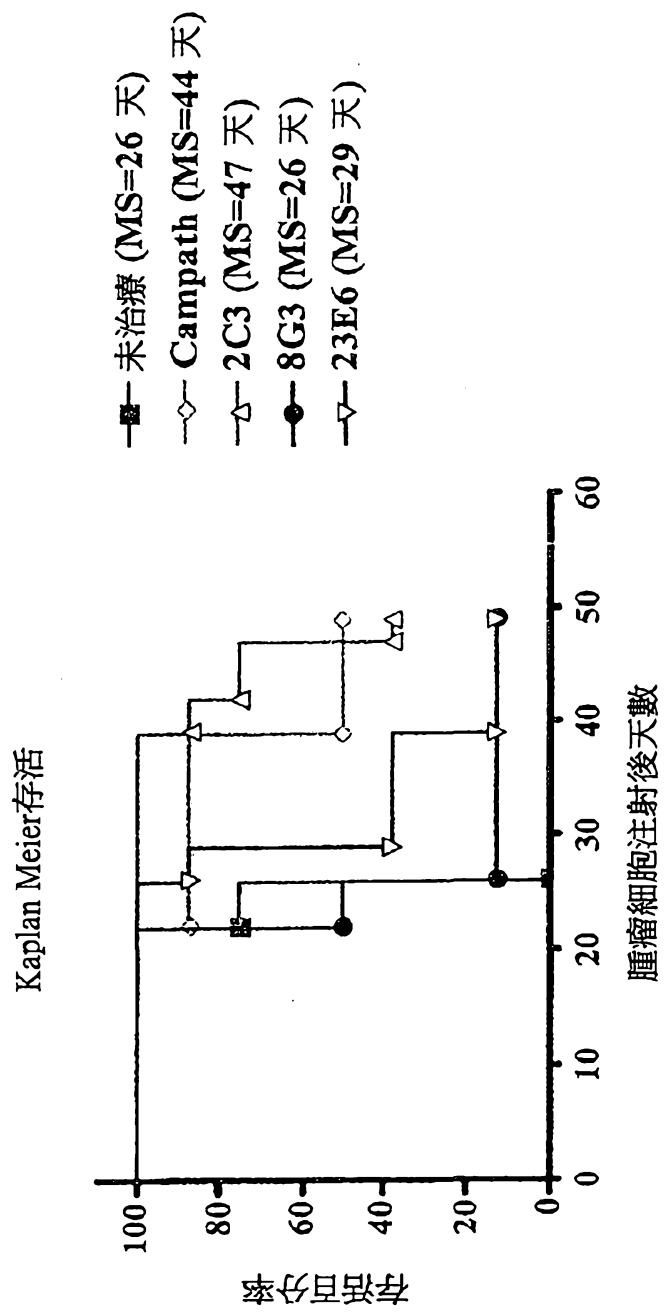


第11C圖

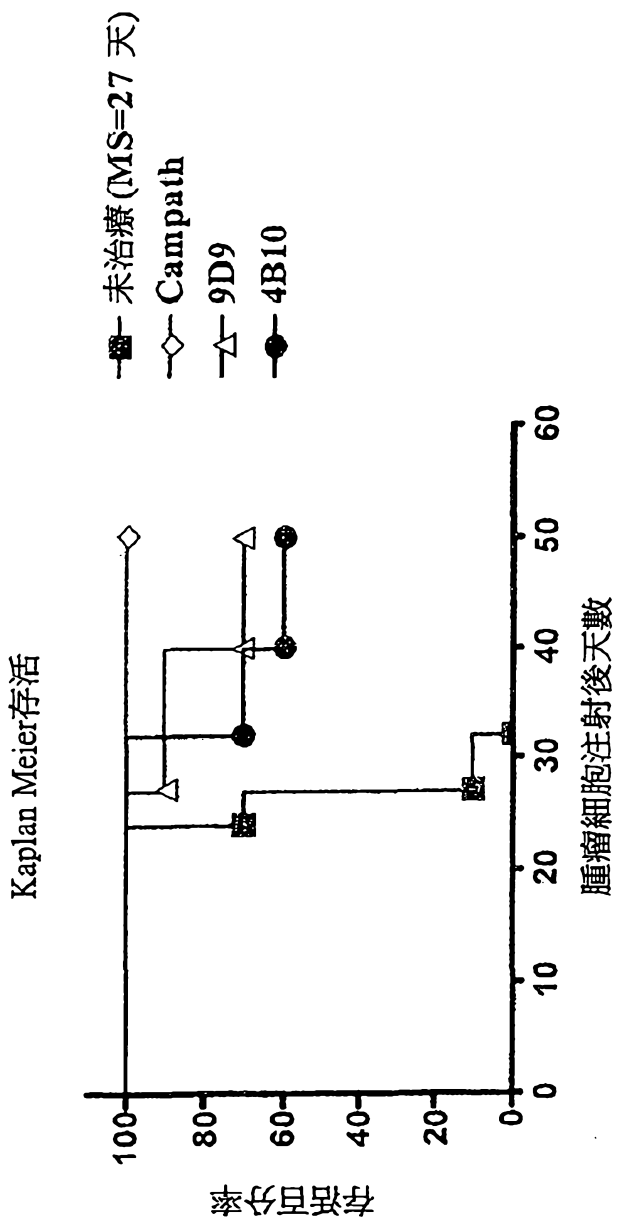
第11A-11C圖



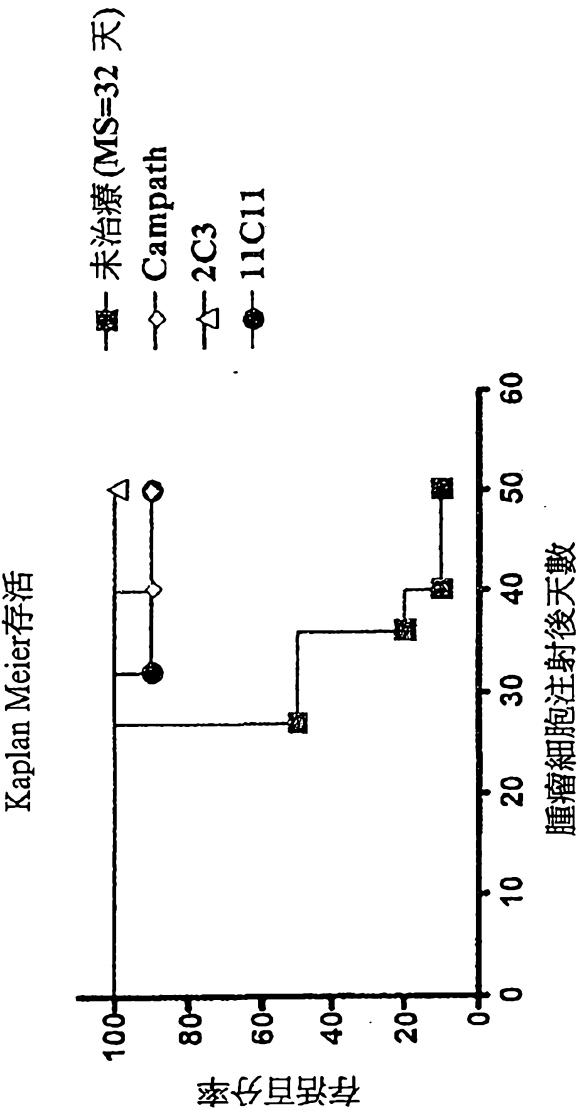
第12圖



第13圖



第14圖



第15圖

具人類生殖株的抗-人類CD52老鼠抗體V區域
及人類化抗-CD52 V區域序列之排列

4B10 重鏈 V 區域		
4B10 重鏈 (m)	1 EVQLEESGGGLVQPGGALSLSCAGSGFTFTDYMSWVRQPPGKALEWLGF	(SEQ ID NO:96)
VH3-72 生殖株 (h)	1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDHYMDWVRQAPGKLEWVGR	(SEQ ID NO:97)
4B10 人類化 HC	1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYMSWVRQAPGKLEWVGF	(SEQ ID NO:98)

4B10 重鏈 (m)	51 IRNKANGYTTTEYSASVKGRFTISRDDSQSILYLQMNALRAEDSATYYCTR	
VH3-72 生殖株 (h)	51 TRNKANSYTTTEYAAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR	
4B10 人類化 HC	51 IRNKANGYTTTEYSASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR	

4B10 輕鏈 V 區域		
4B10 輕鏈 (m)	1 DIVMTQSPPLSLTSLVDQASISCRSSQSLVHTNGNTYLVHWYLOKPGQSPK	(SEQ ID NO:99)
VK2-A18b 生殖株 (h)	1 DIVMTQTPLSLVTGQFASISCKSSQSLHSDGKTYLYWYLOKPGQSPQ	(SEQ ID NO:100)
4B10 人類化 LC	1 DIVMTQTPLSLVTGQFASISCRSSQSLVHTNGNTYLVHWYLOKPGQSPQ	(SEQ ID NO:101)

4B10 輕鏈 (m)	51 LLIYMVSNRFSGVPRFSGSGGTFTLKISRVEAEDLGIYFCQSQAHP	
VK2-A18b 生殖株 (h)	51 LLIYEVSSRFSGVPRFSGSGGTFTLKISRVEAEDVGVYVCMQGIHLP	
4B10 人類化 LC	51 LLIYMVSNRFSGVPRFSGSGGTFTLKISRVEAEDVGVYVCSQAHP	

第16圖

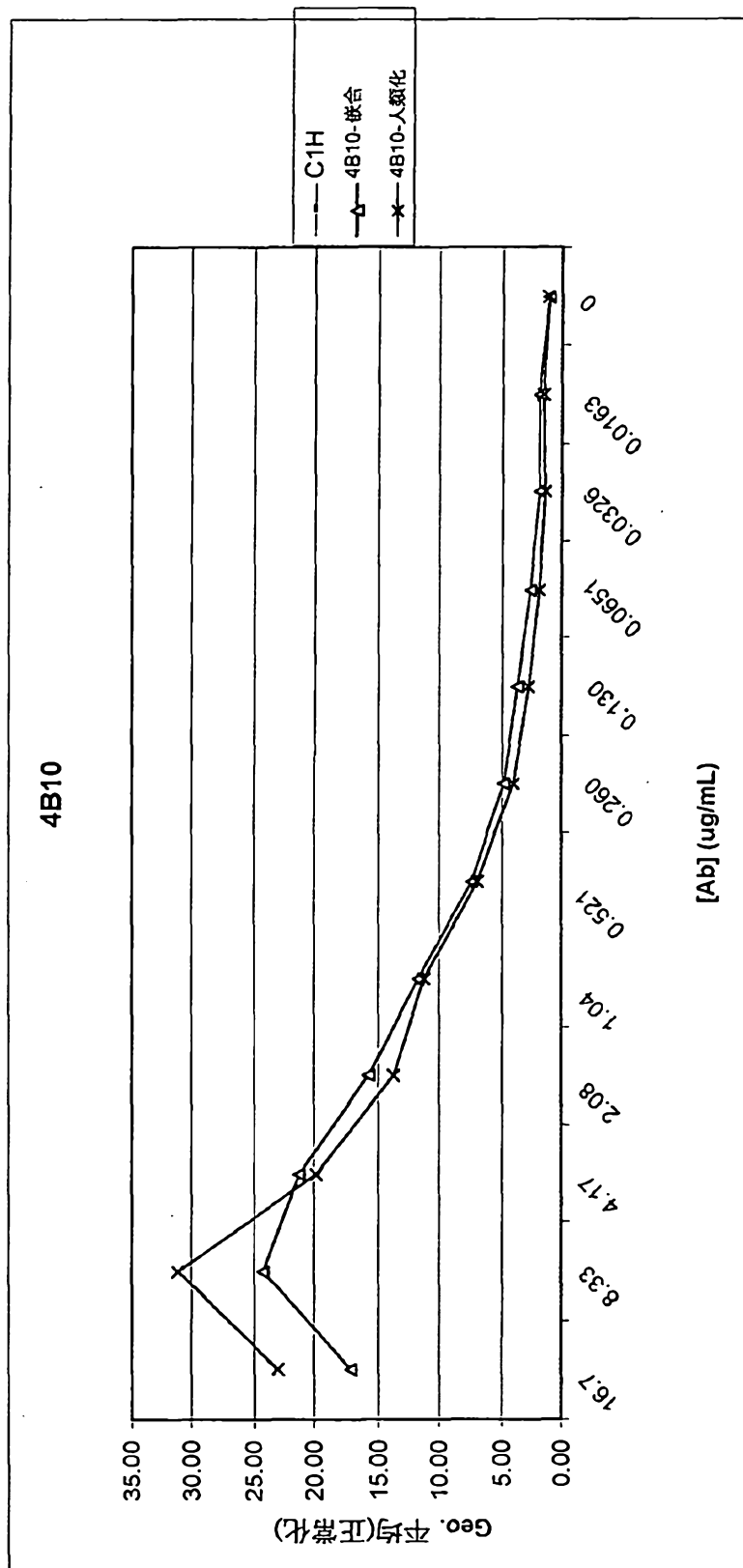
人類化4B10 κ (輕鏈)變異區

DIVMTQTPLSLSVTPCQPASISCRSSQSLVHTNGNTYHLHWYLQKPGQSPQLLIYMVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC
SQSAHVPPLTFGQGTREIK
(SEQ ID NO:102)

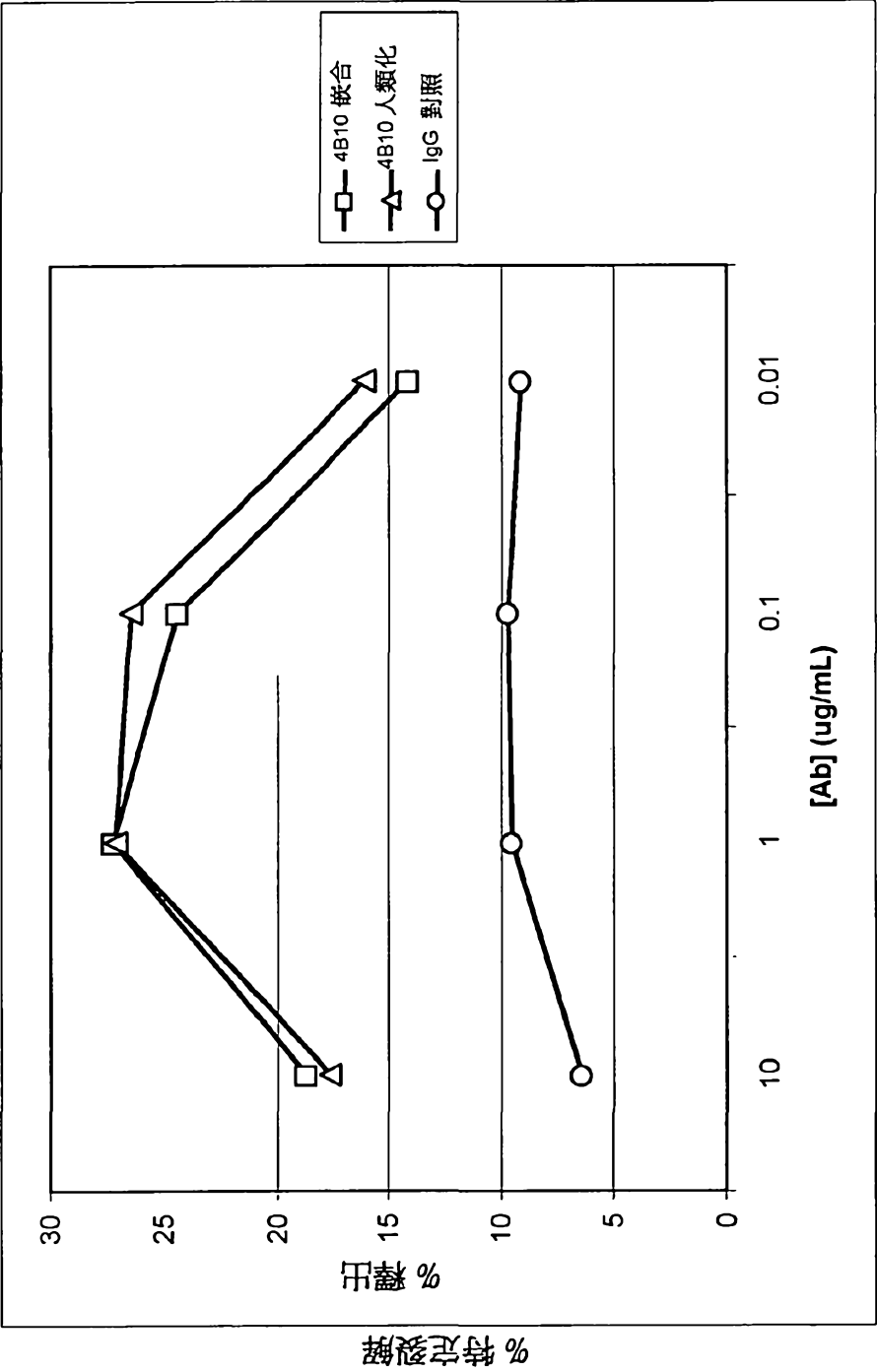
人類化4B10重鏈變異區

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRNKANGYTTYEYSASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDT
AVYYCARYINFDYWGQGTTVTVSS
(SEQ ID NO:103)

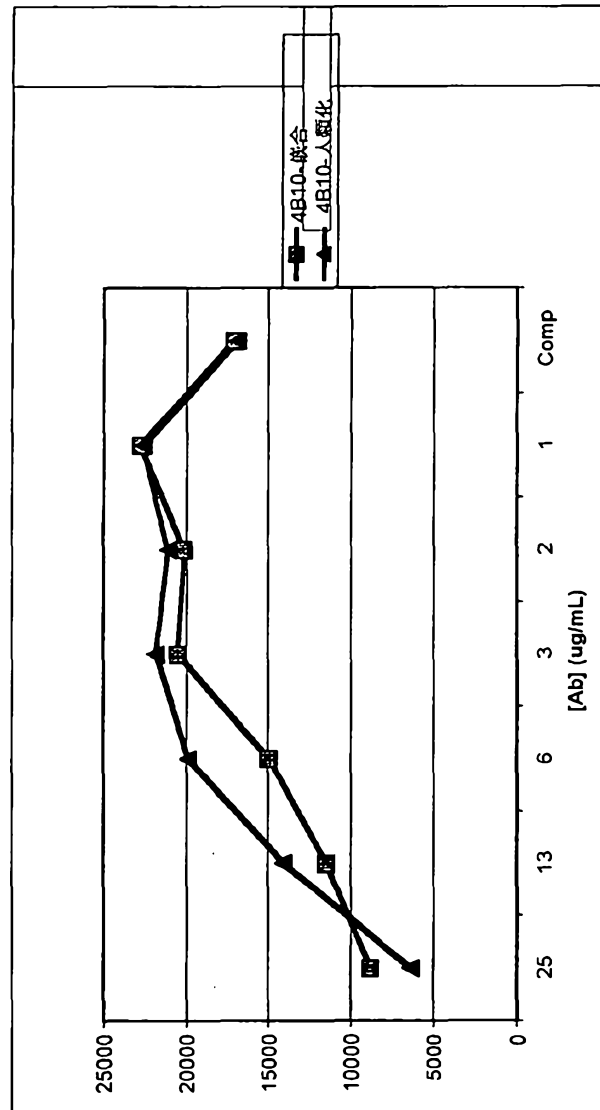
第17圖



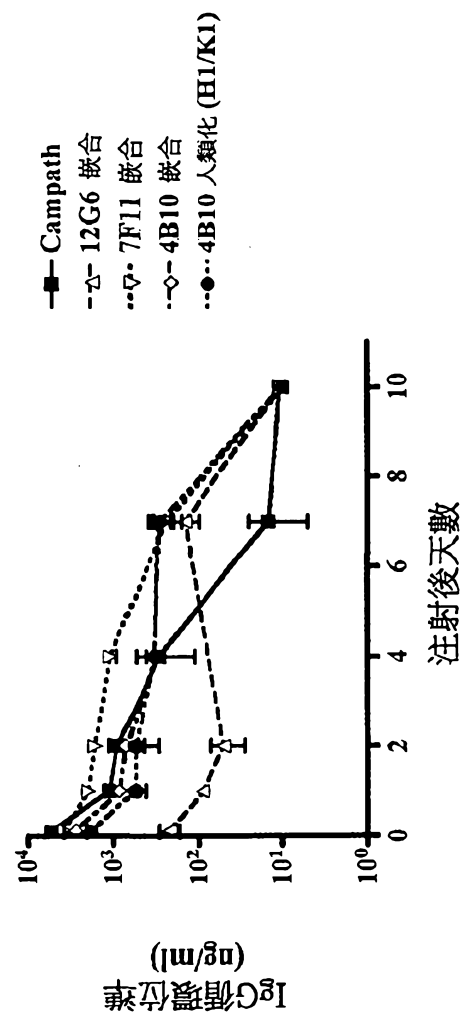
第18圖



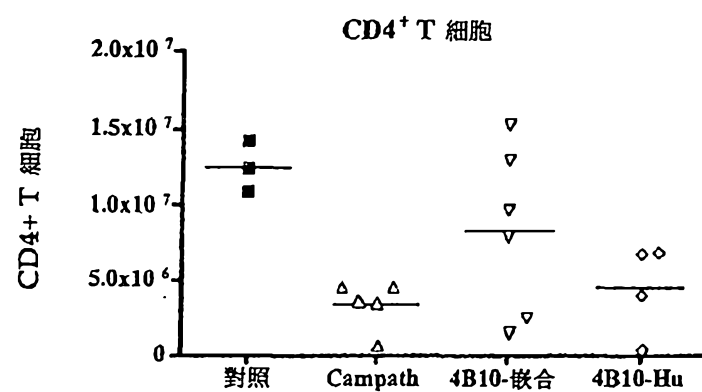
第19圖



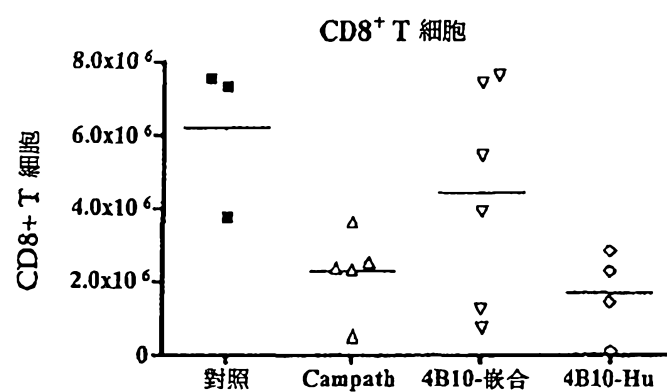
第20圖



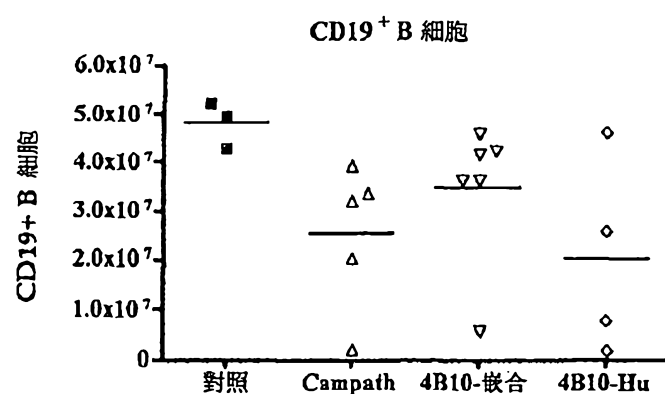
第21圖



第22A圖

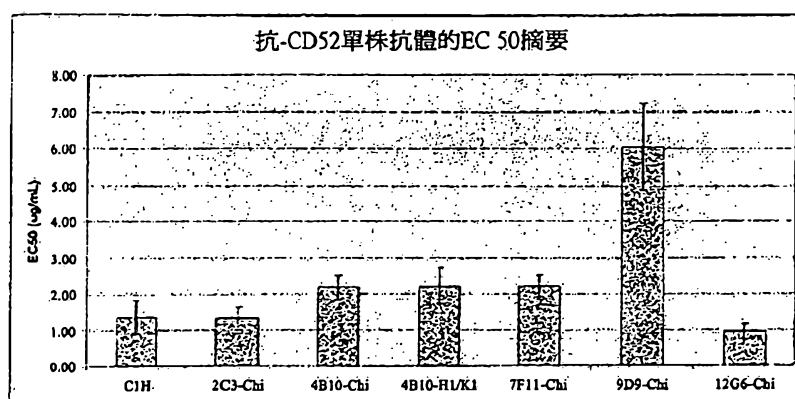


第22B圖



第22C圖

第22A-22C圖



第23圖

人類化7F11選殖重鏈變異區序列

7F11-SFD1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRNK
ANGYTTTEYNASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCTRYIFFDYWG
QGTTVTVSS (SEQ ID NO: 136)

7F11-SFD2

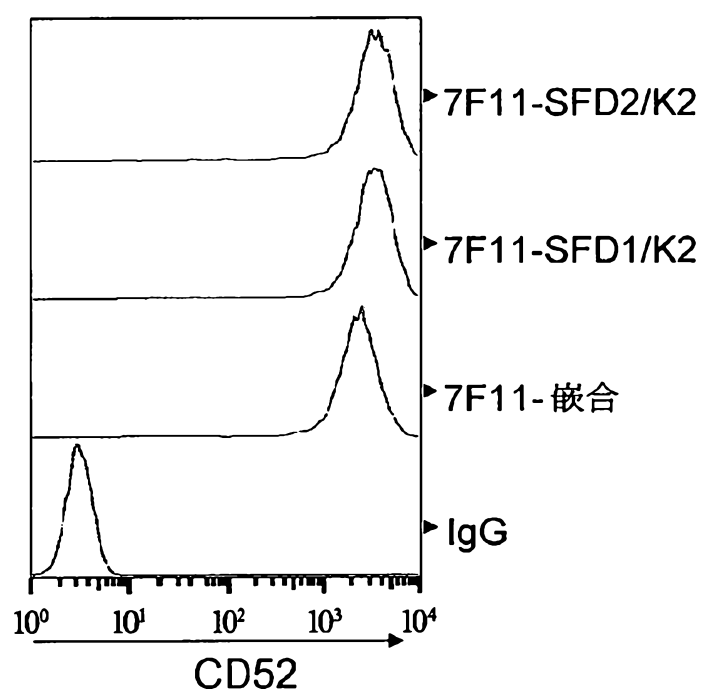
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRNK
ANGYTTTEYNASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARYIFFDYWG
QGTTVTVSS (SEQ ID NO: 137)

人類化7F11選殖輕(κ)鏈變異區序列

7F11-VK2

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVHTNGNSYLHWYLQKPGQSPQLLIYMV
SNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPFTFGQGTKLEIK
(SEQ ID NO: 138)

第24圖



第25圖

人類化2C3選殖重鏈變異區序列

2C3-SFD1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYWMNWRQAPGKGLEWVGQIRLKSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNSLYLQM
NSLKTEDTAVYYCTPVD¹³⁹FWGQGTTVTSS (SEQ ID NO: 139)

2C3-VH 12

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYWMNWRQAPGKGLEWVGQIRLKSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNSVYLQ
MNSLKTEDTAVYYCTPVD¹⁴⁰FWGQGTTVTSS (SEQ ID NO: 140)

2C3-VH 15

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYWMNWRQAPGKGLEWVQIRLKSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNSLYLQM
NSLKTEDTAVYYCTPVD¹⁴¹FWGQGTTVTSS (SEQ ID NO: 141)

2C3-VH16

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYWMNWRQAPGKGLEWVQIRLKSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNSVYLQ
MNSLKTEDTAVYYCTPVD¹⁴²FWGQGTTVTSS (SEQ ID NO: 142)

2C3-VH17

EVQLVESGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTNTYWMNWRQAPGKGLEWVQIRLKSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNSVYLQ
MNSLKTEDTAVYYCTPVD¹⁴³FWGQGTTVTSS (SEQ ID NO: 143)

2C3-VH19

EVQLVESGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTNTYWMNWRQAPGKGLEWVQIRLKSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNSVYLQ
MNSLKTEDTAVYYCTPVD¹⁴⁴FWGQGTTVTSS (SEQ ID NO: 144)

第26A圖

人類化2C3選殖輕(κ)鏈變異區序列

2C3-VK1

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE
DVGYYVCVQGGTHLHTFGQGRLEIK (SEQ ID NO: 145)

2C3-VK11

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWYLQKPGQSPQRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE
DVGYYVCVQGGTHLHTFGQGRLEIK (SEQ ID NO: 146)

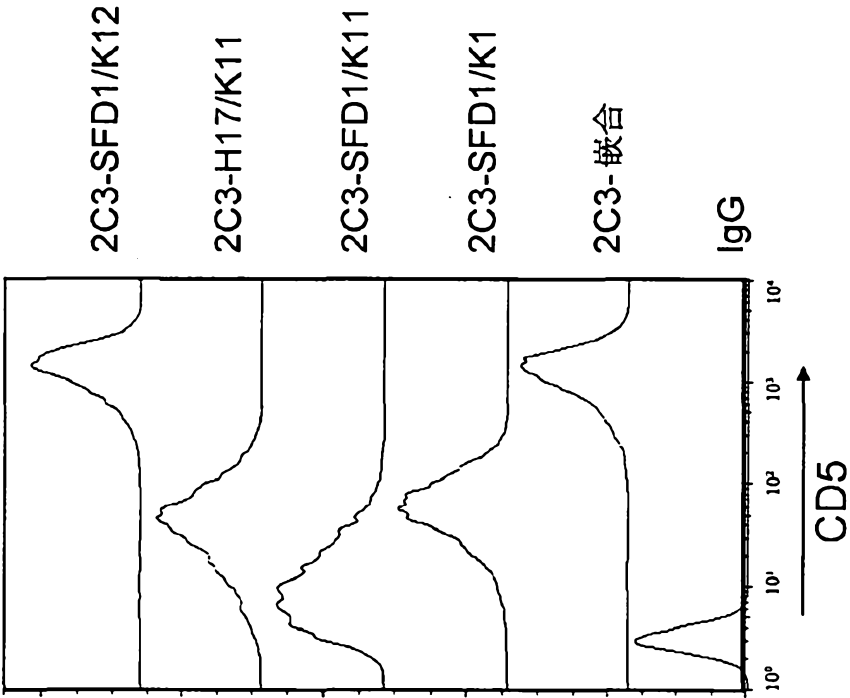
2C3-VK12

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLLQKPGQSPQRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE
DVGYYVCVQGGTHLHTFGQGRLEIK (SEQ ID NO: 147)

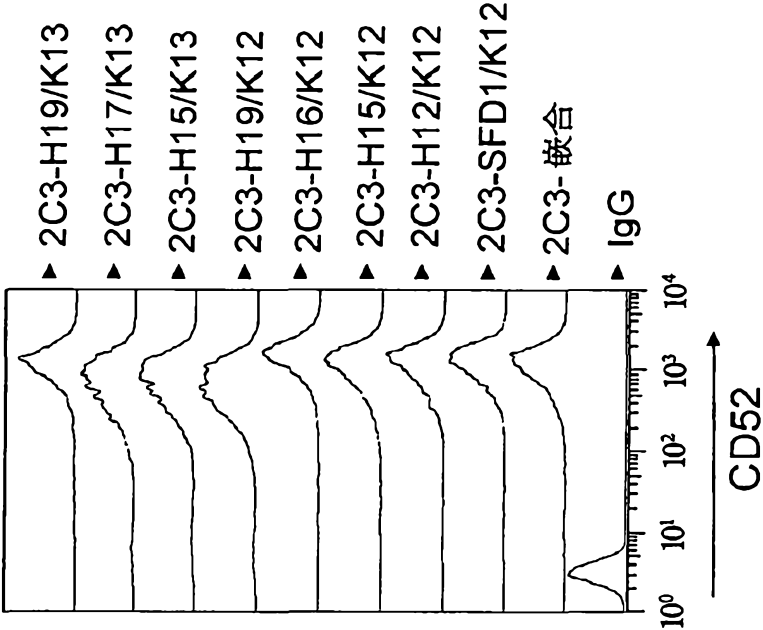
2C3-VK13

DIVTQTPLSLSVTPGQPVISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLLQKPGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE
DVGYYVCVQGGTHLHTFGQGRLEIK (SEQ ID NO: 148)

第26B圖



第27A圖



第27B圖

人類化12G6選殖重鍵變異區序列

12G6-SFD1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVGQIRLK
SNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCTPIDYWGQGTT
VTVSS (SEQ ID NO: 149)

12G6-VH 10

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVGQIRLK
SNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNSYYLQMNSLKTEDTAVYYCTPIDYWGQGTT
VTVSS (SEQ ID NO: 150)

12G6-VH 11

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAQIRLK
SNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCTPIDYWGQGTT
VTVSS (SEQ ID NO: 151)

12G6-VH12

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAQIRLK
SNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNSYYLQMNSLKTEDTAVYYCTPIDYWGQGTT
VTVSS (SEQ ID NO: 152)

第28A圖

人類化12G6選殖輕(κ) 鏈變異區序列

12G6-VK1

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIY
LVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGSHFHTFGQGTK
LEIK (SEQ ID NO: 153)

12G6-VK10

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWVLQKPGQSPQLLIY
LVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGSHFHTFGQGTK
LEIK (SEQ ID NO: 154)

12G6-VK11

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWVLQKPGQSPKRLIY
LVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGSHFHTFGQGTK
LEIK (SEQ ID NO: 155)

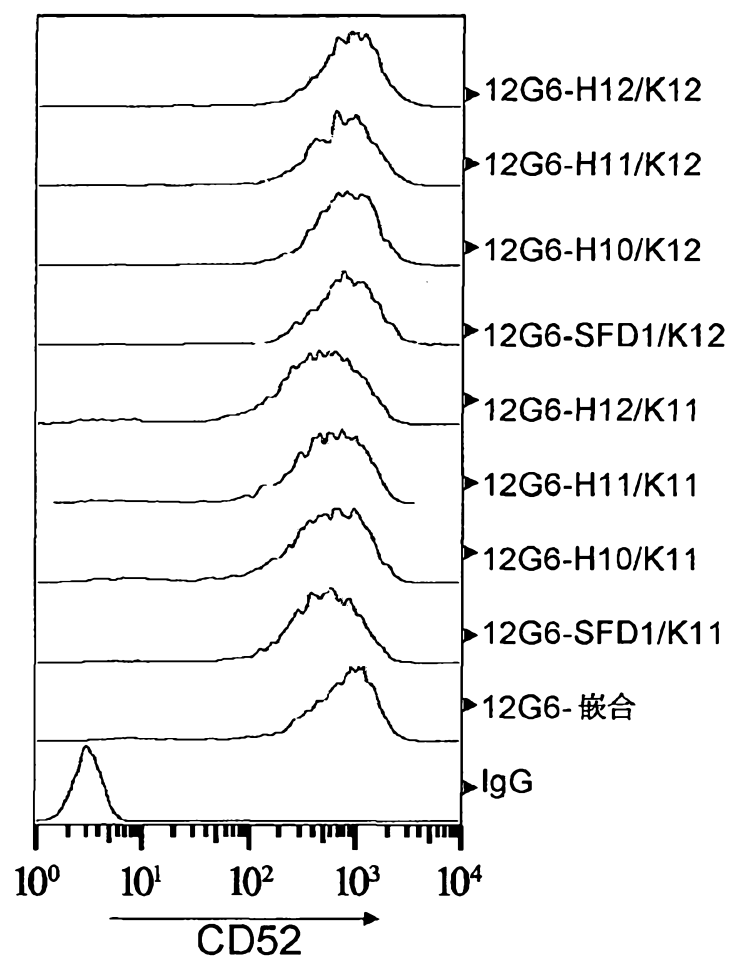
12G6-VK12

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWVLQKPGQSPQRLIY
LVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGSHFHTFGQGTK
LEIK (SEQ ID NO: 156)

12G6-VK13

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWYLQKPGQSPQRLIY
LVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGSHFHTFGQGTK
LEIK (SEQ ID NO: 157)

第28B圖



第29圖

人類化9D9選殖重鏈變異區序列

9D9-VH10

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVSEIRNKA
KNHATYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTLDSWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 158)

9D9-VH11

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLELTAEIRNK
AKNHATYYAESVKGRFTISRDNSKSTVYLQMNSLRAEDTAVYYCTTLDSWGQGT
TVTVSS (SEQ ID NO: 159)

9D9-VH15

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLELTAEIRNK
AKNHATYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTLDSWGQGT
TVTVSS (SEQ ID NO: 160)

9D9-VH 16

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLELVSEIRNK
AKNHATYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTLDSWGQGT
TVTVSS (SEQ ID NO: 161)

9D9-VH 17

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLELTSEIRNK
AKNHATYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTLDSWGQGT
TVTVSS (SEQ ID NO: 162)

9D9-VH 18

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLELVAEIRNK
AKNHATYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTLDSWGQGT
TVTVSS (SEQ ID NO: 163)

第30A圖

人類化9D9選殖輕(κ) 鏈變異區序列

9D9-VK2

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYL
VSALDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPWTFGQGTK
LEIK (SEQ ID NO: 164)

9D9-VK12

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQKPGQSPKRLIYL
VSALDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPWTFGQGTK
LEIK (SEQ ID NO: 165)

9D9-VK13

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQKPGQSPQRLLIYL
VSALDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPWTFGQGTK
LEIK (SEQ ID NO: 166)

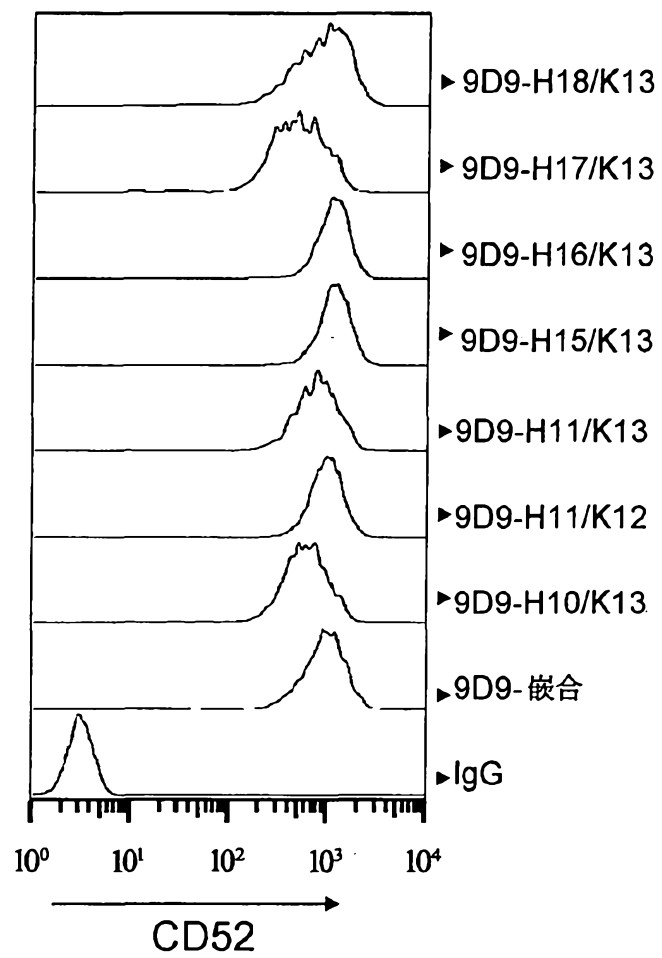
9D9-VK14

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWYLQKPGQSPQRLLIYL
VSALDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPWTFGQGTK
LEIK (SEQ ID NO: 167)

9D9-VK15

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWYLQKPGQSPKRLIYL
VSALDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPWTFGQGTK
LEIK (SEQ ID NO: 168)

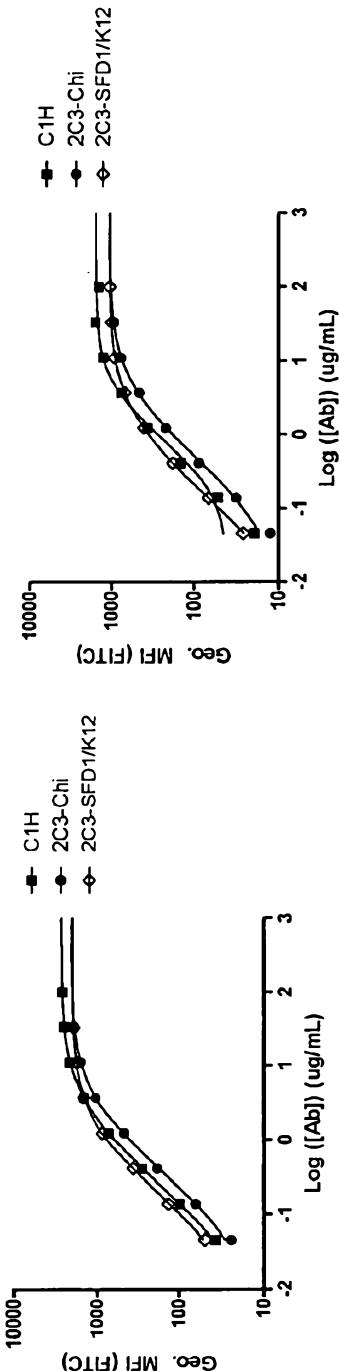
第30B圖



第31圖

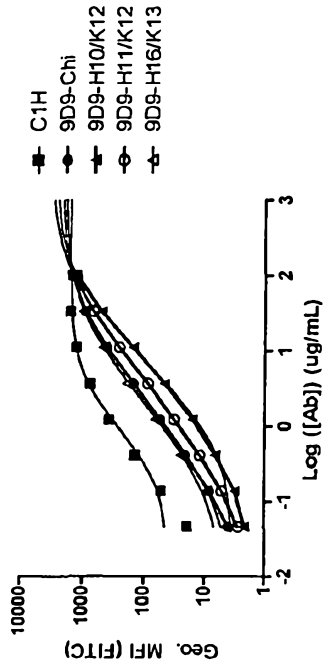
人類 CD4+ T 細胞

hCD52 Tg 老鼠 CD4+ T

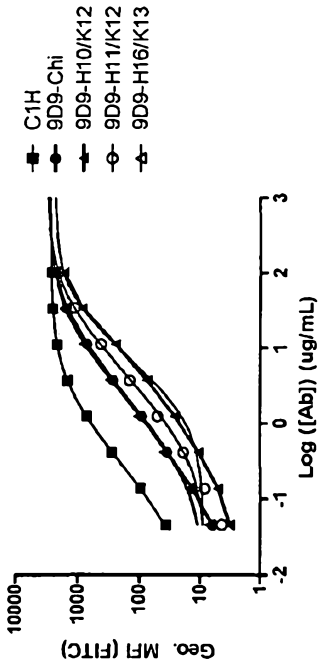


第32A圖

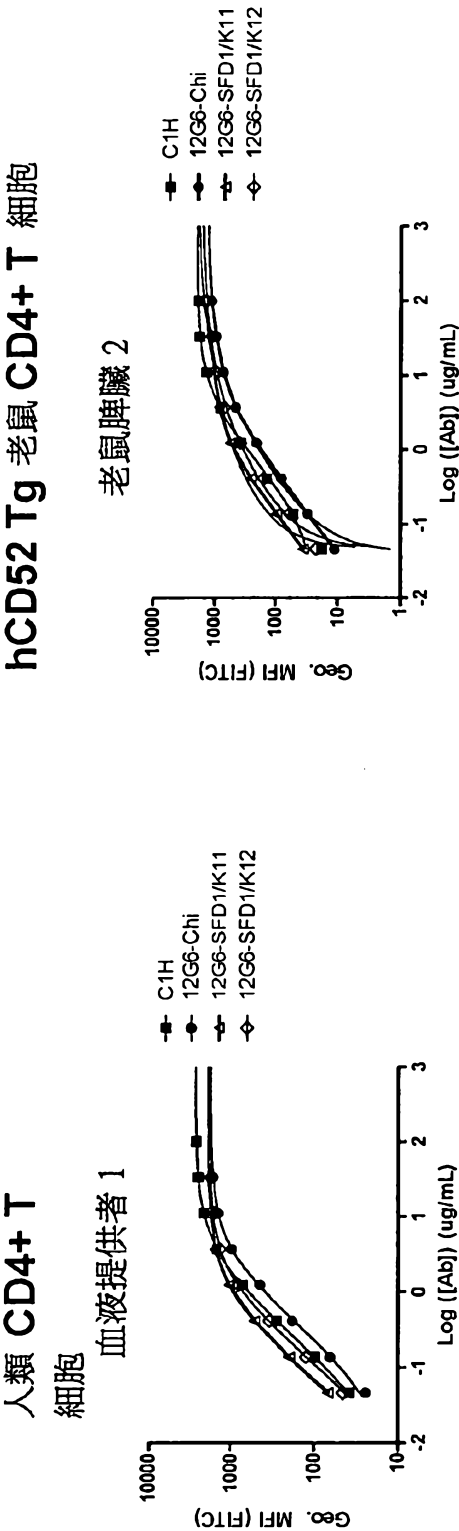
hCD52 Tg 老鼠 CD4+ T 細胞



人類 CD4+ T 細胞



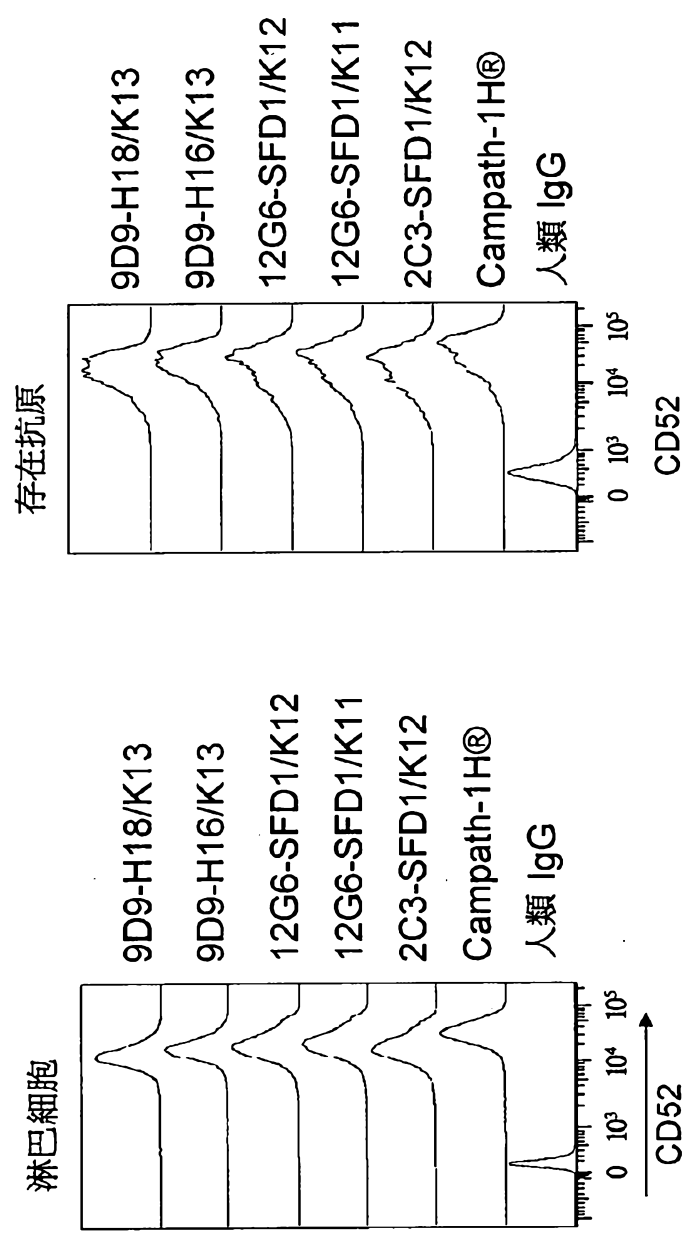
第32B圖



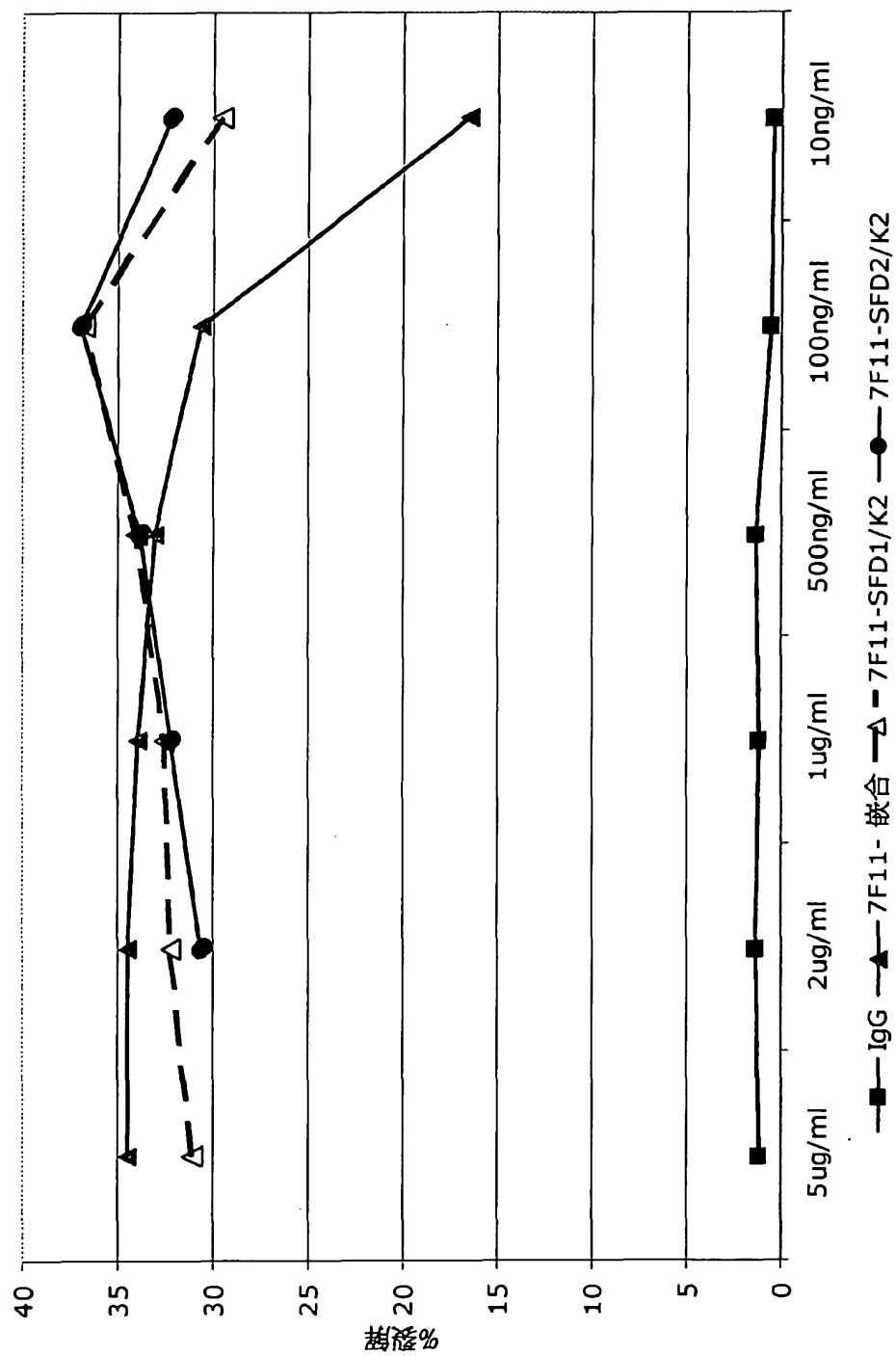
第32C圖

	EC ₅₀ (nM)	
	人類 CD4+ T 細胞	huCD52 基因轉殖老鼠 CD4+ T 細胞
Campath-1H®	21.91	25.08
2C3- 嵌合	25.93	30.81
2C3-SFD1/K12	11.00	13.61
12G6- 嵌合	22.41	34.42
12G6-SFD1/K11	7.30	13.17
12G6-SFD1/K12	10.58	

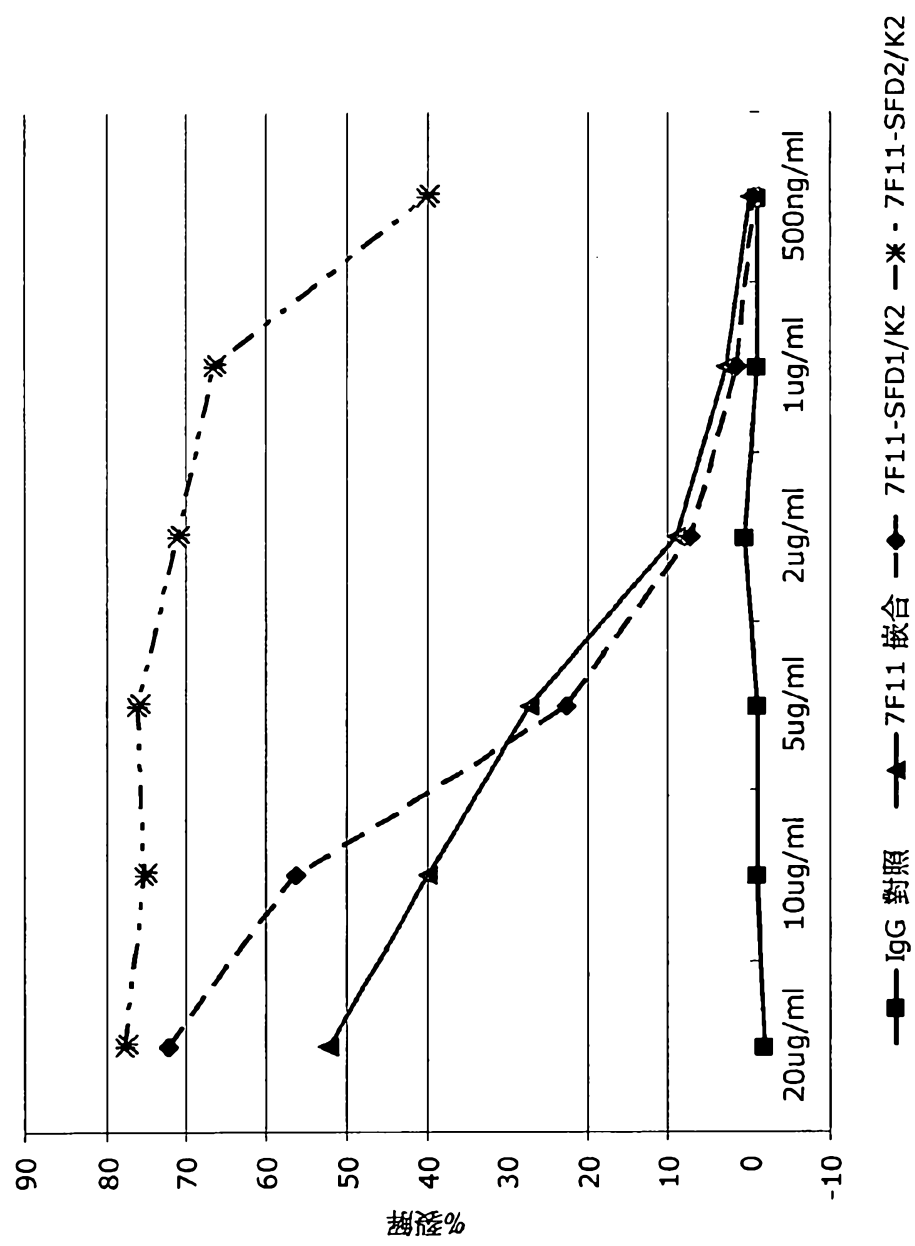
第33圖



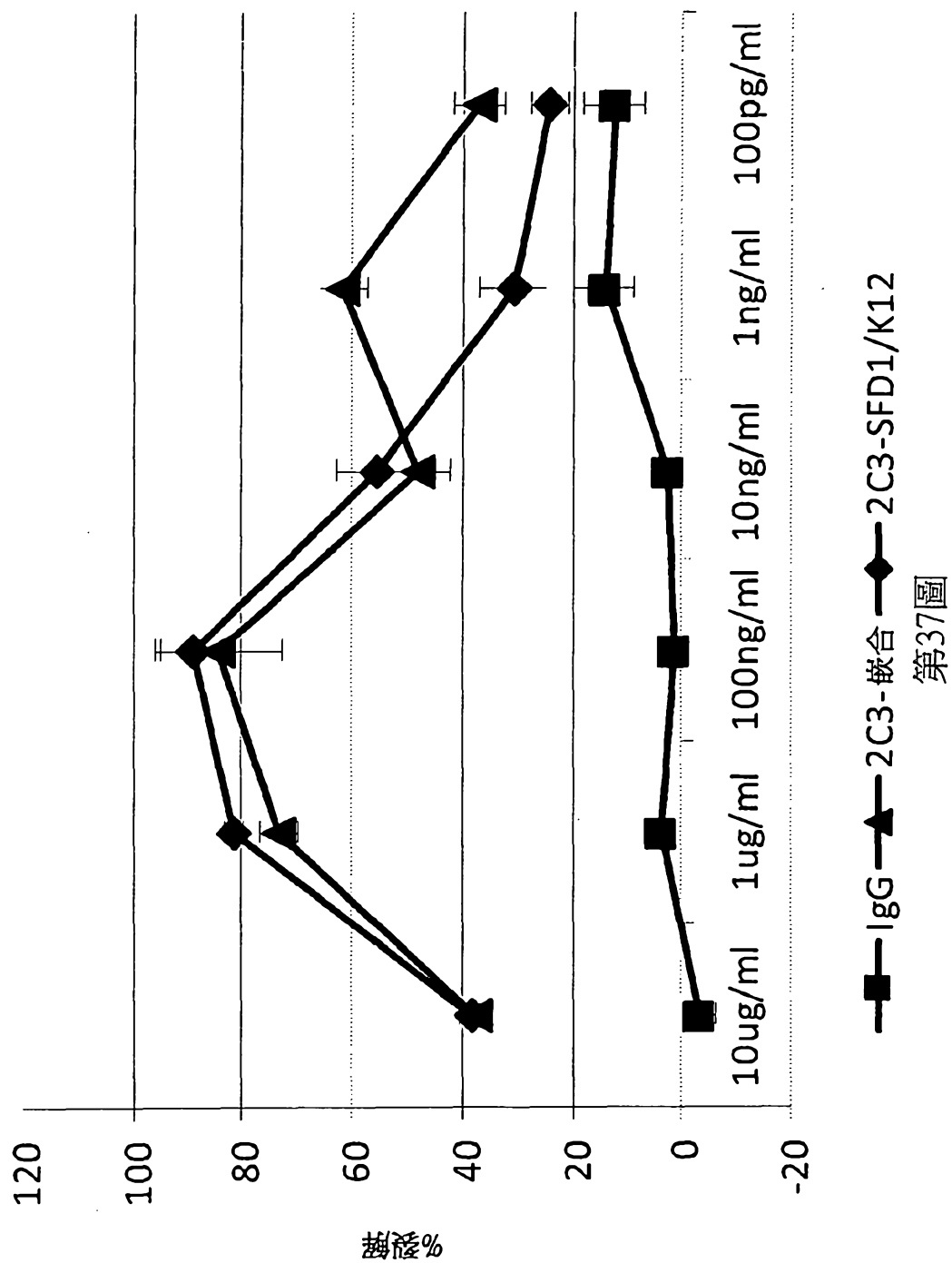
第34圖



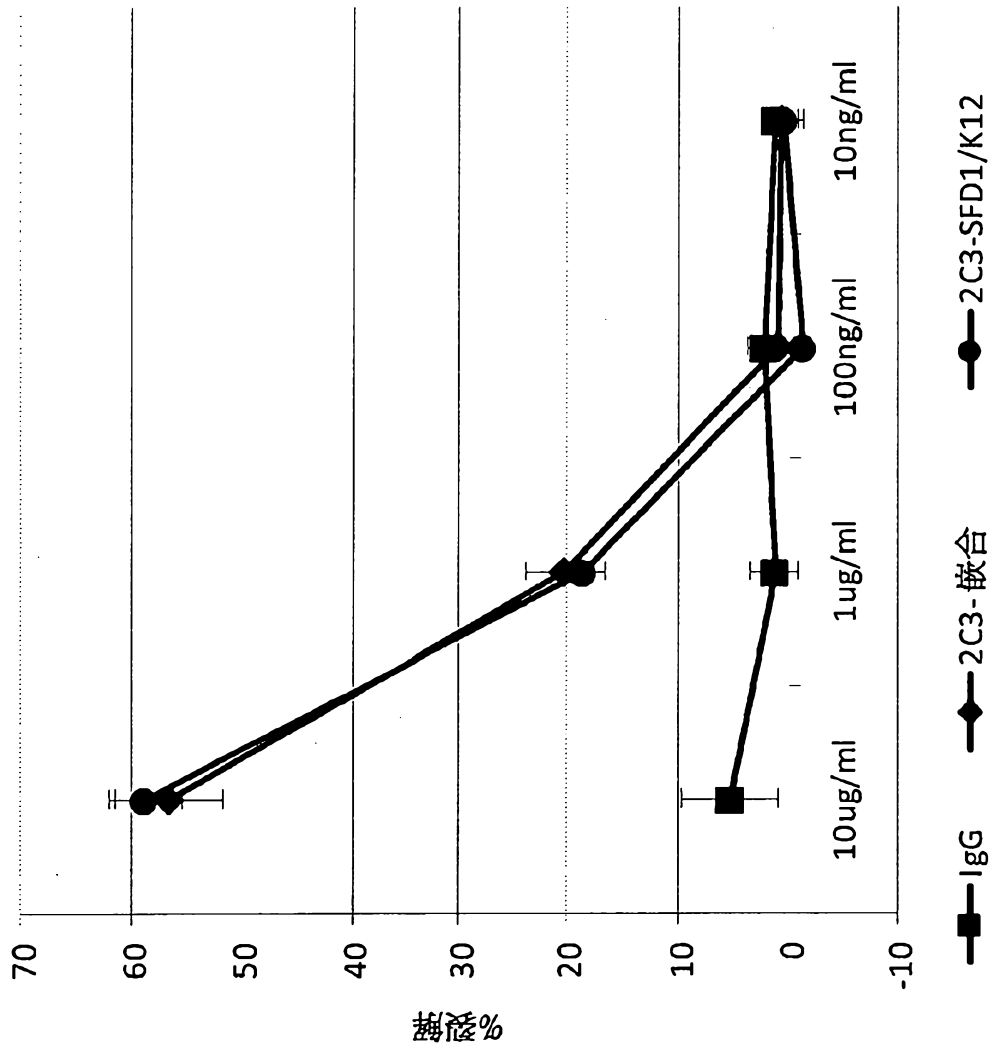
第35圖



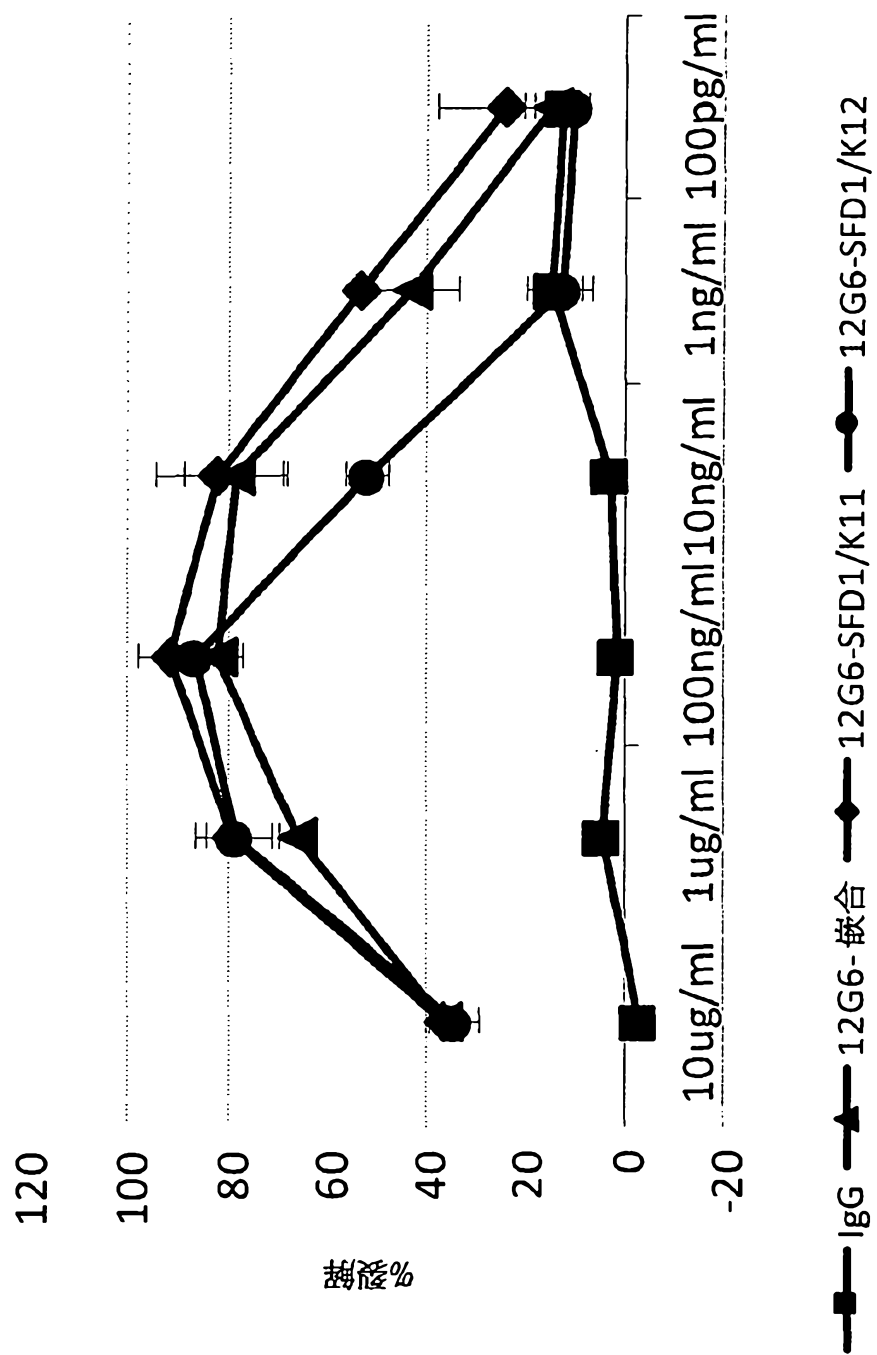
第36圖



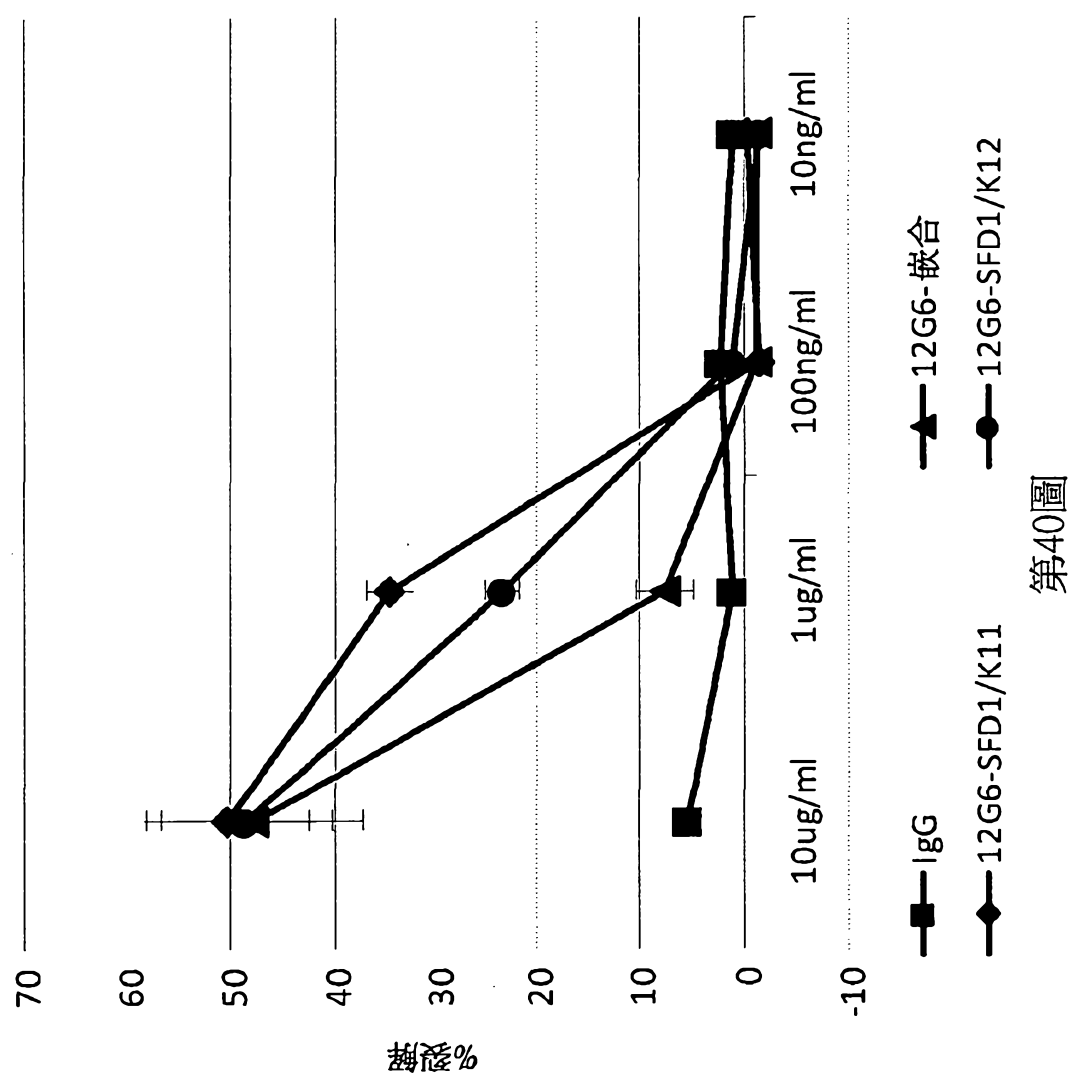
第37圖

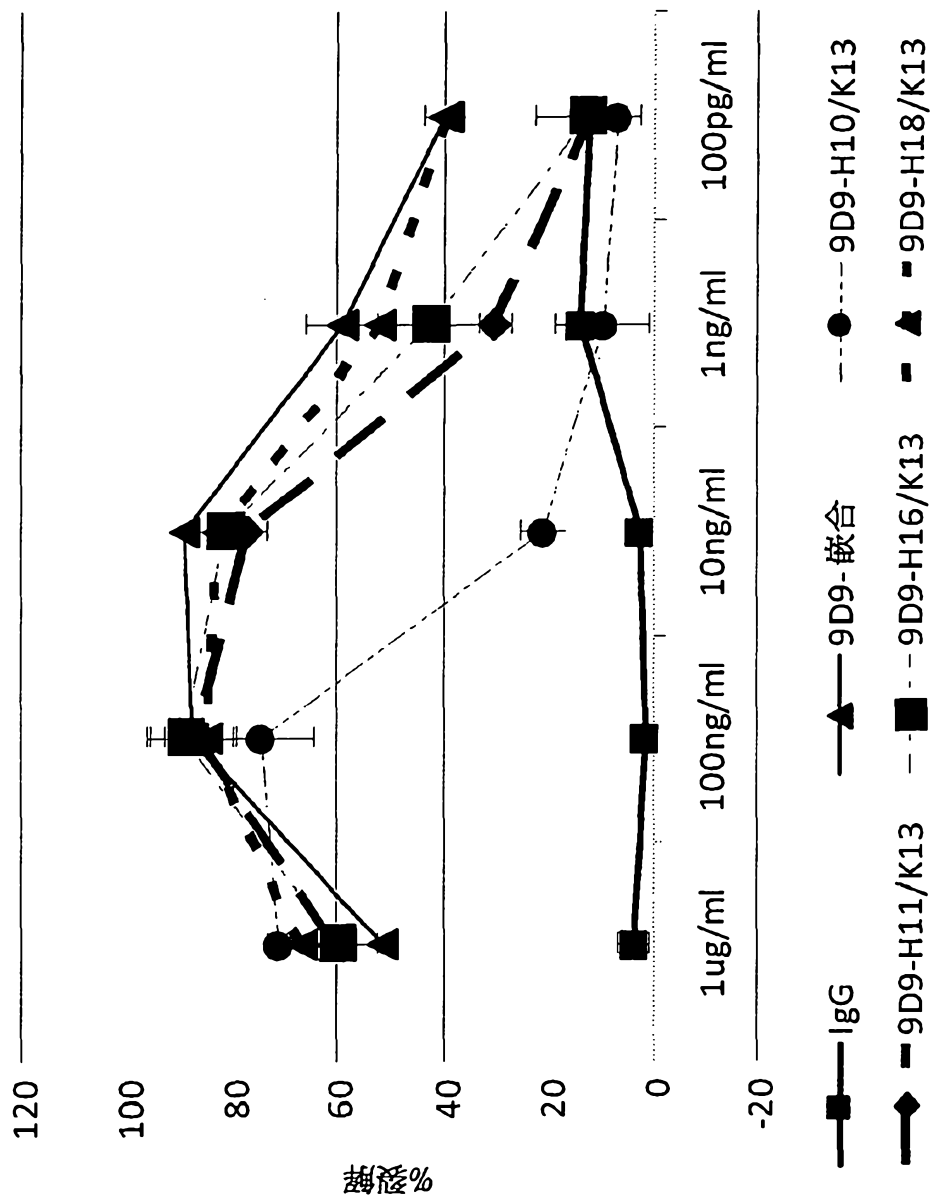


第38圖

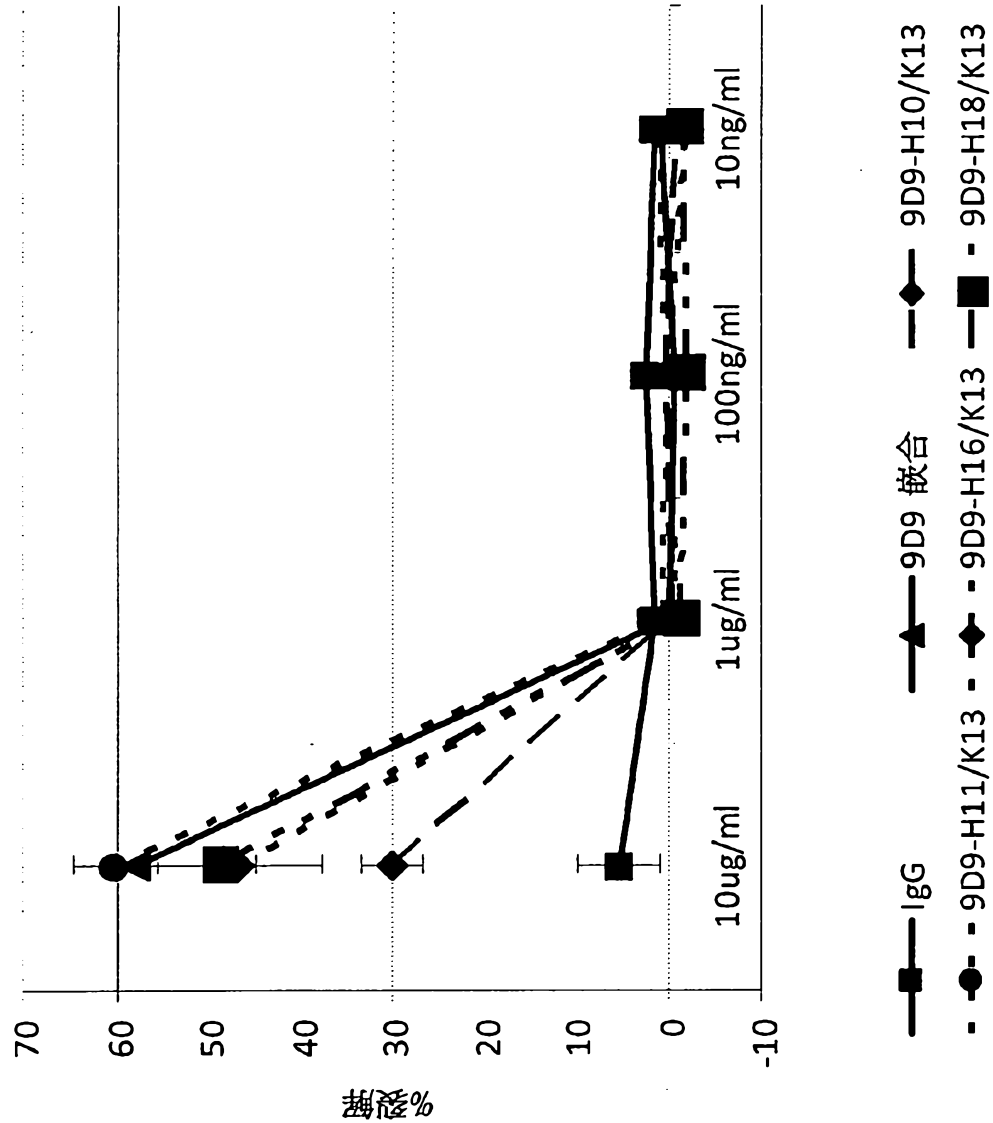


第39圖

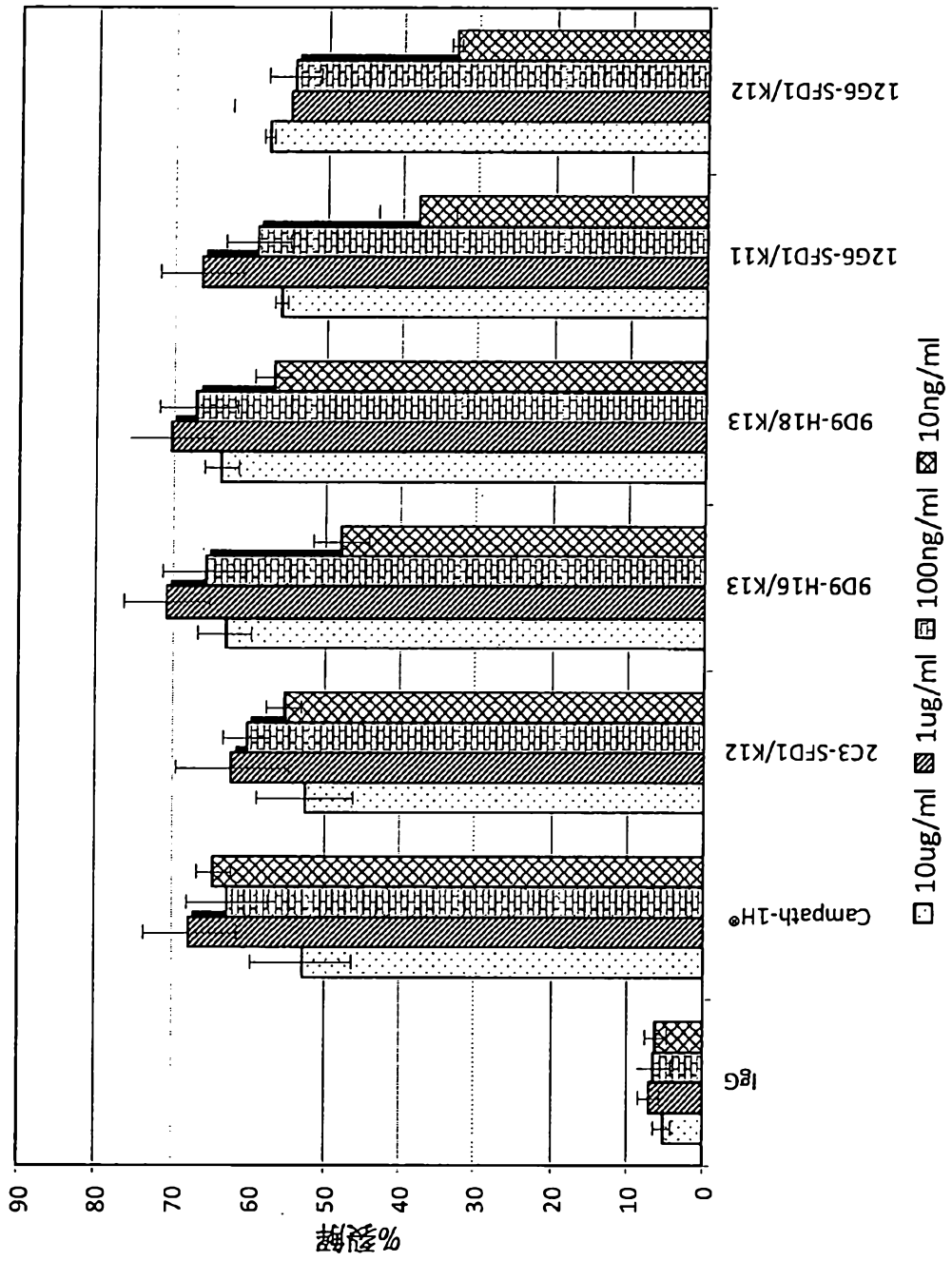




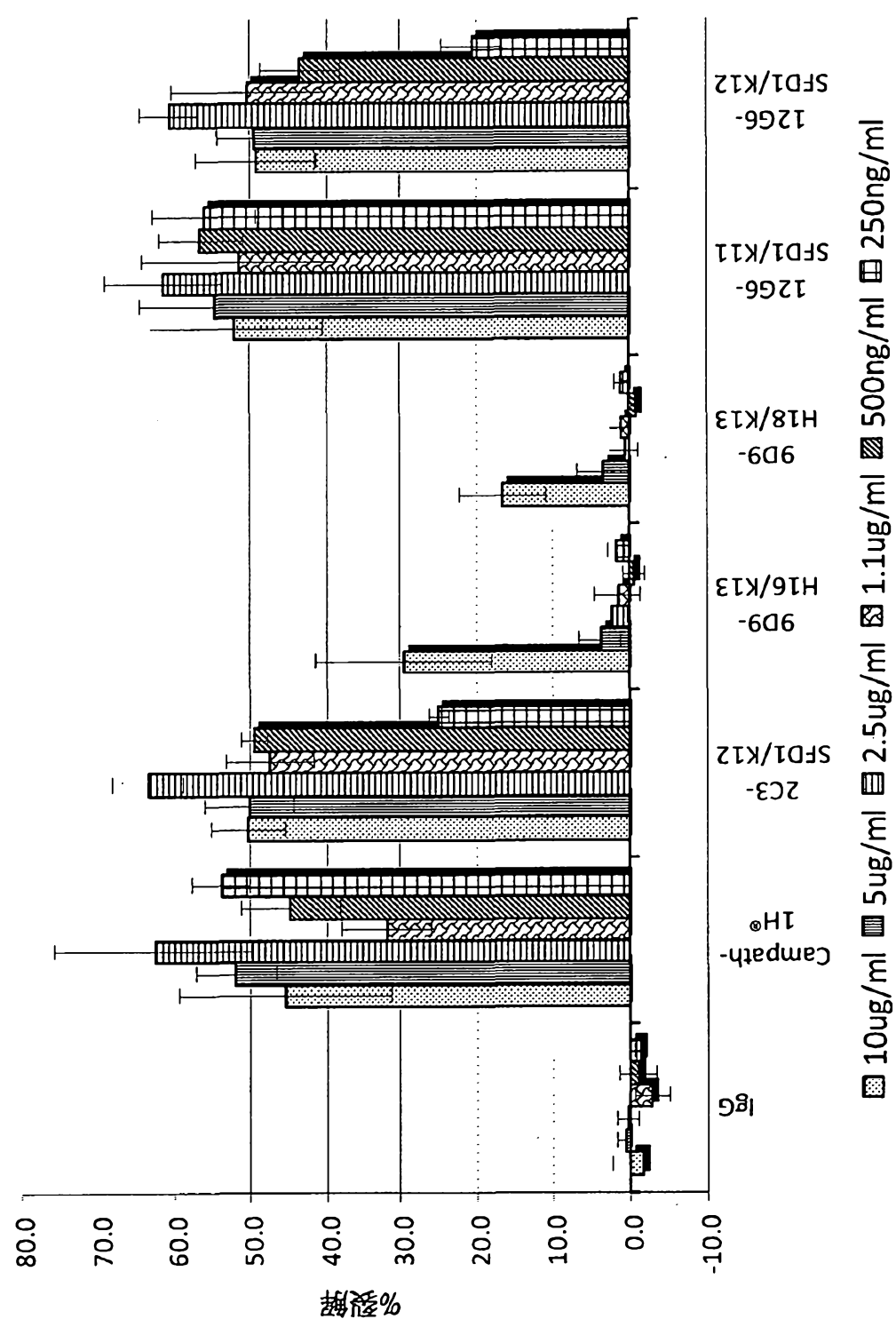
第41圖



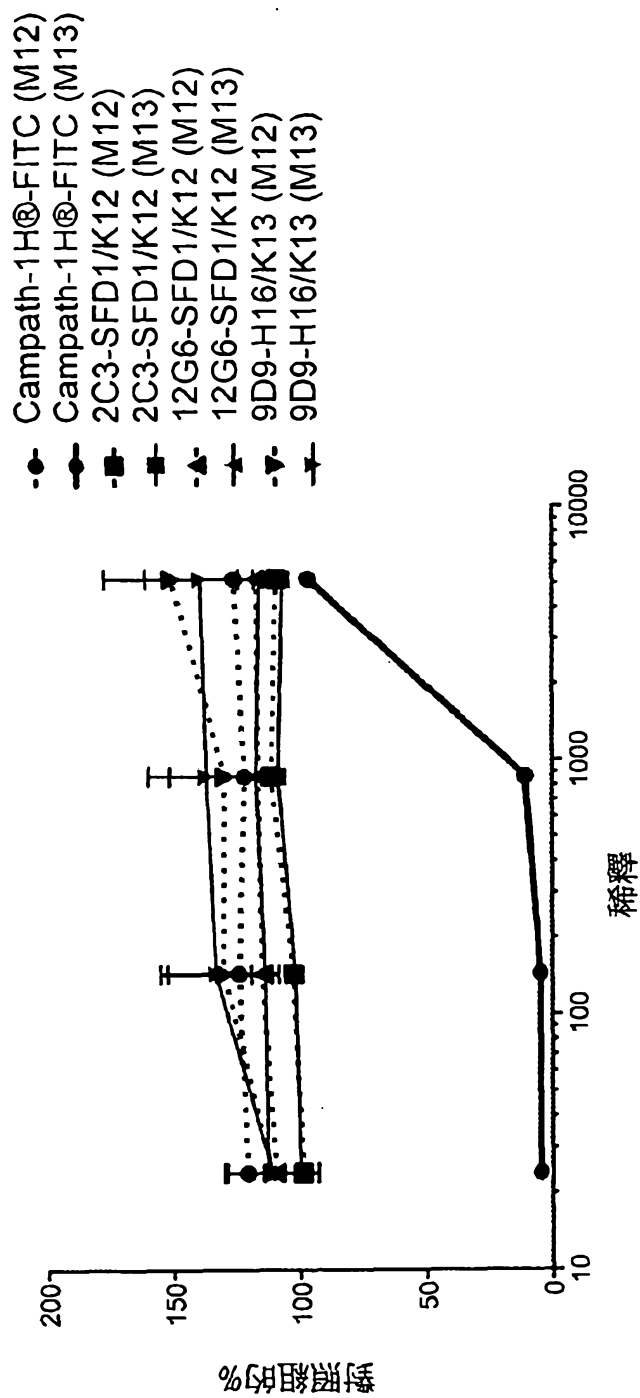
第42圖



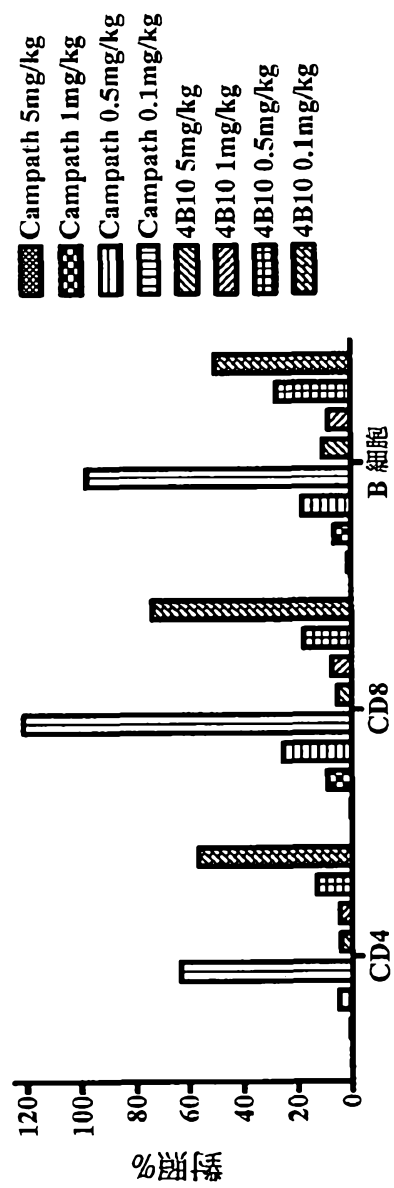
第43圖



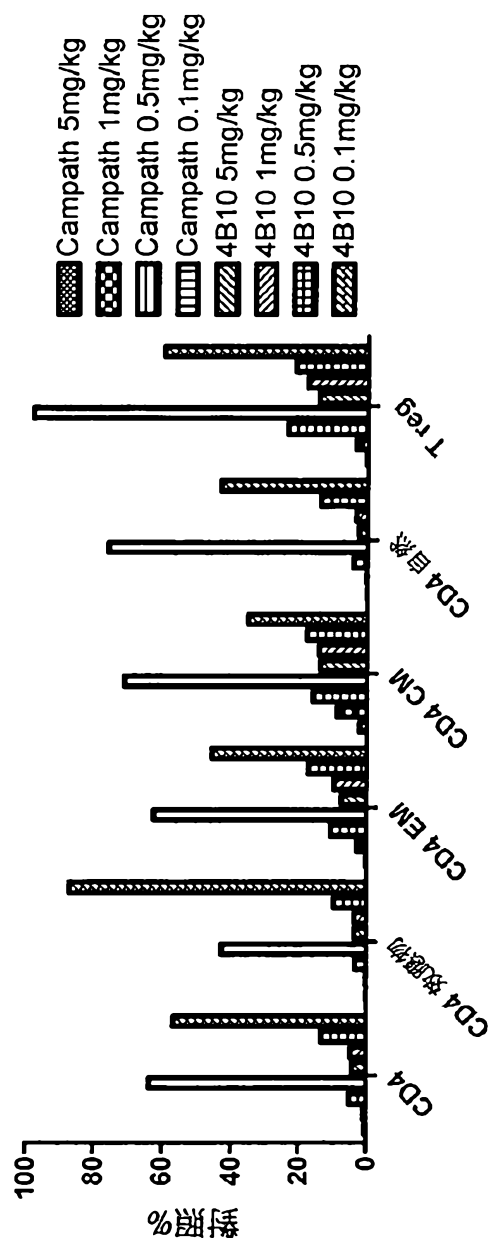
第44圖



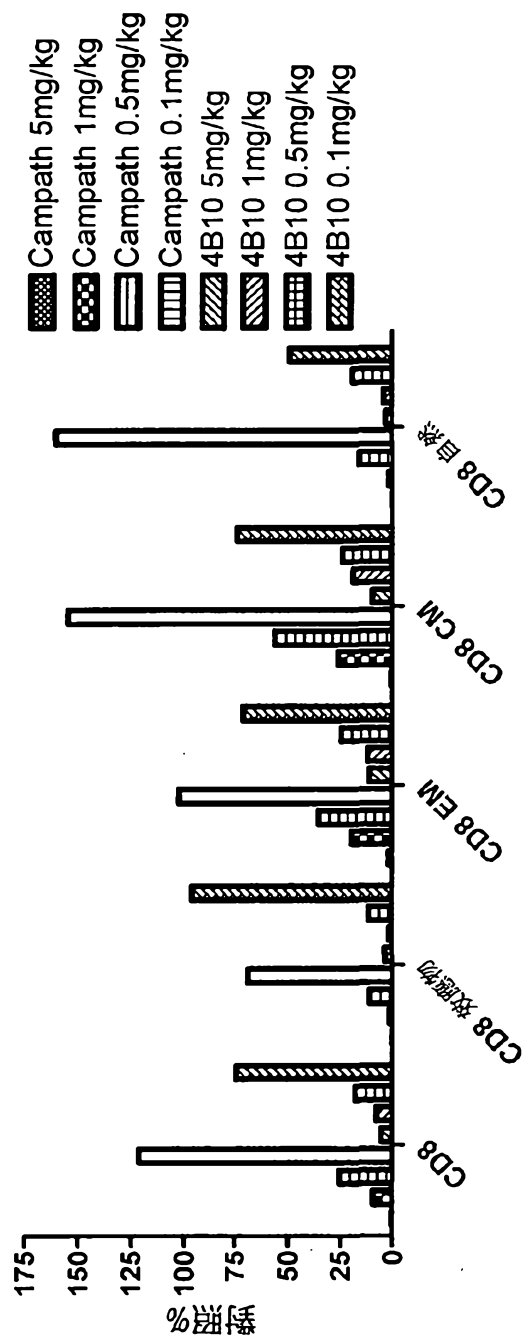
第45圖



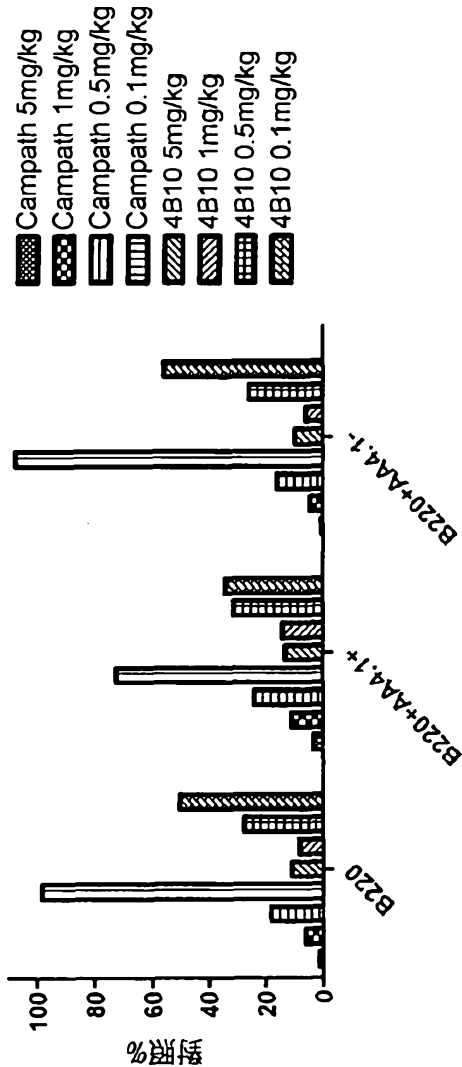
第46A圖



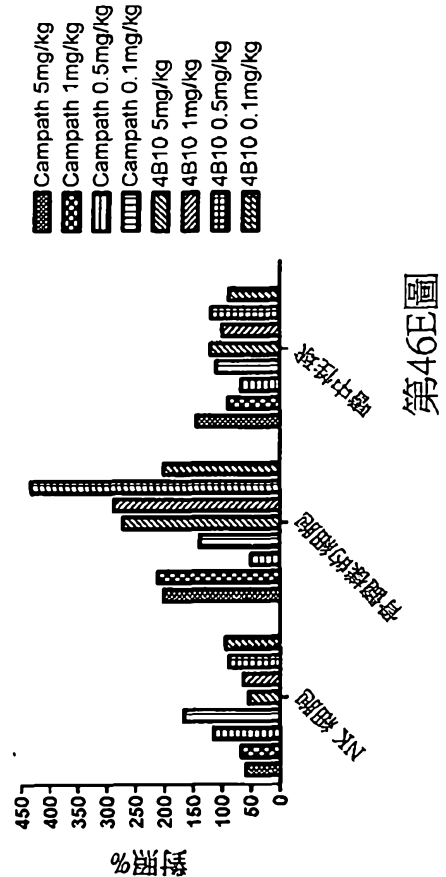
第46B圖



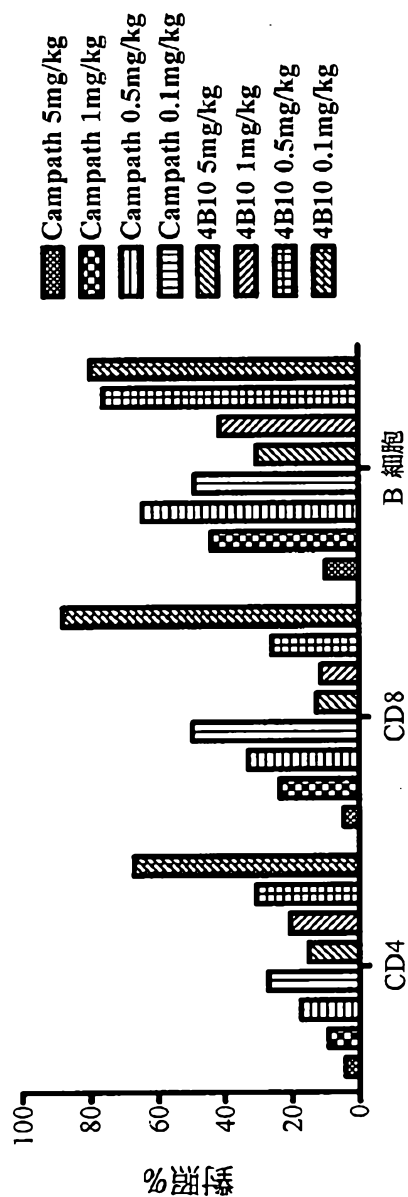
第46C圖



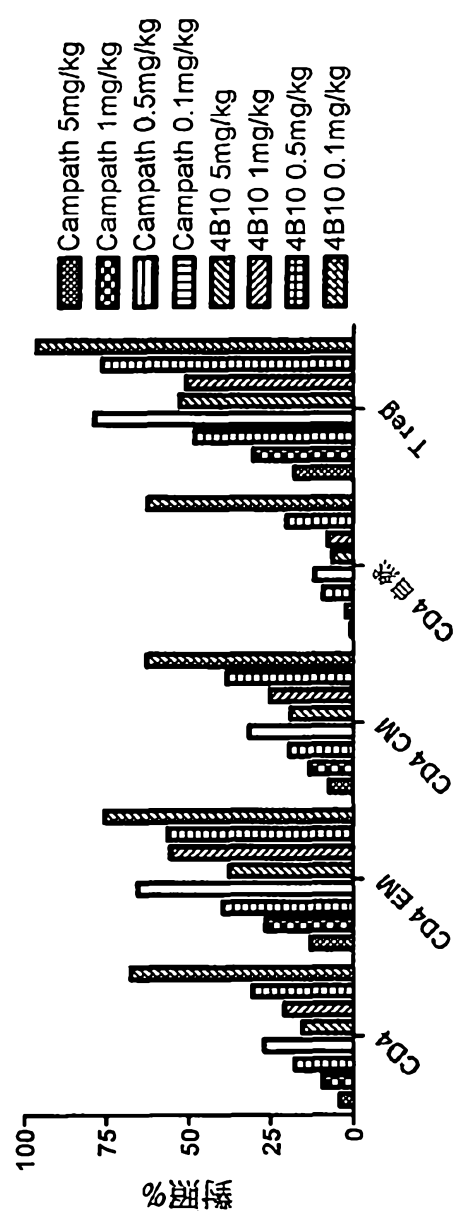
第46D圖



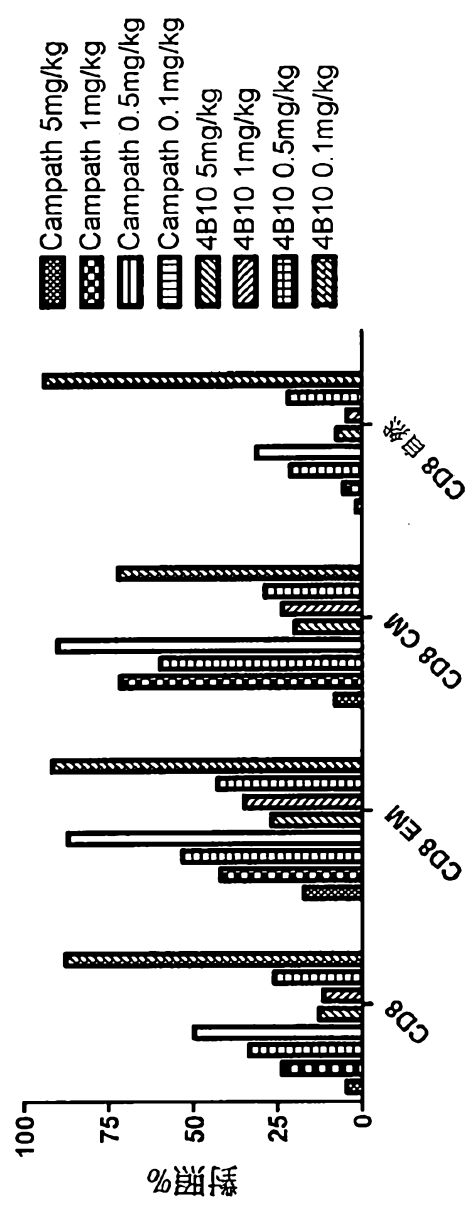
第46E圖



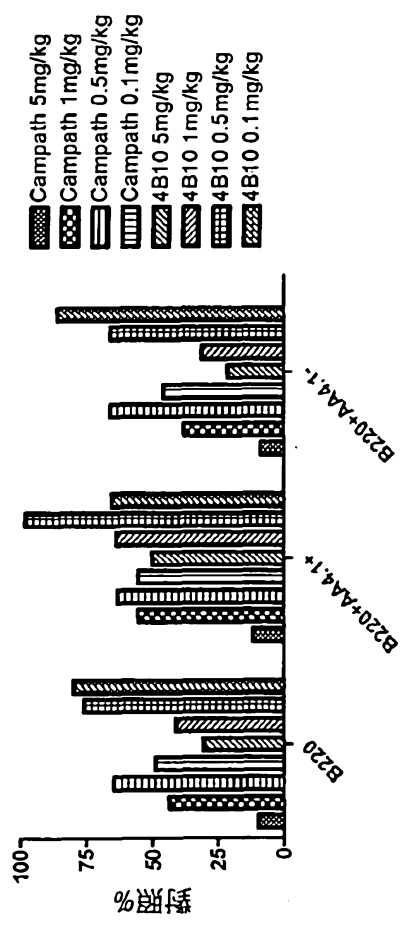
第47A圖



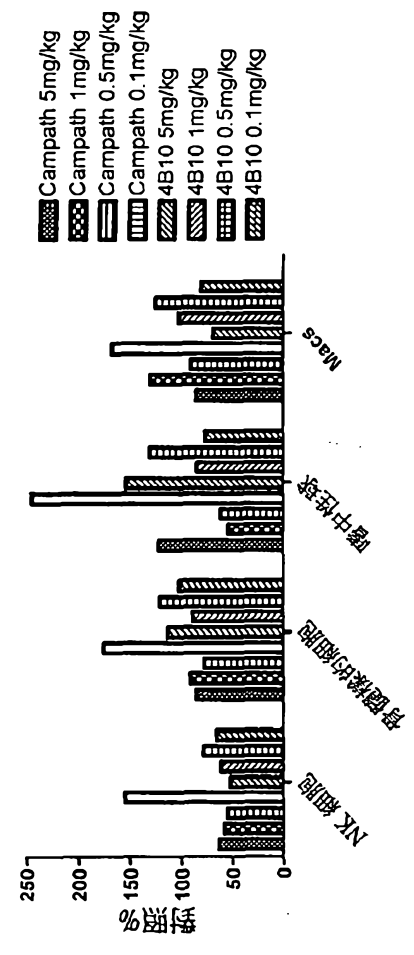
第47B圖



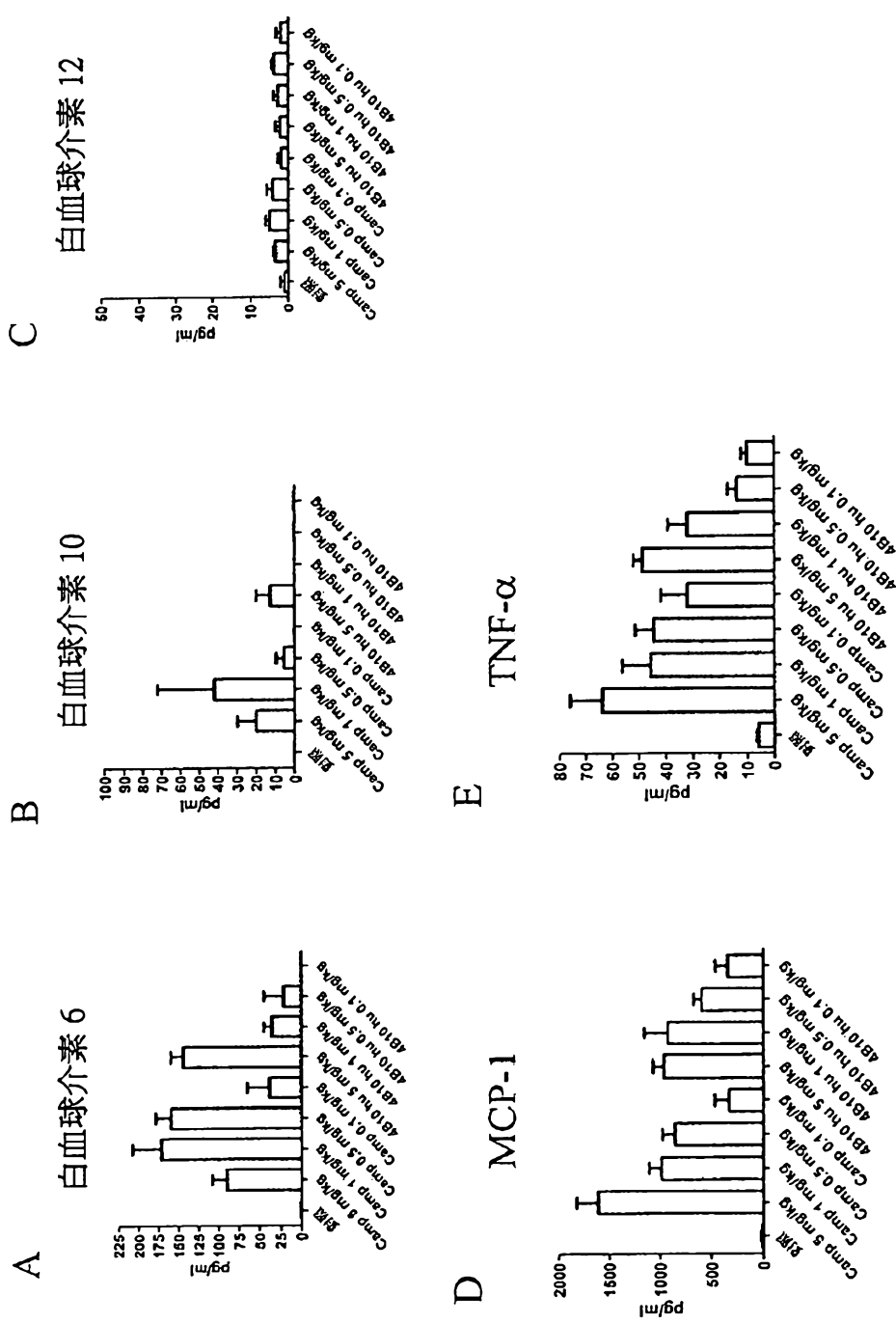
第47C圖



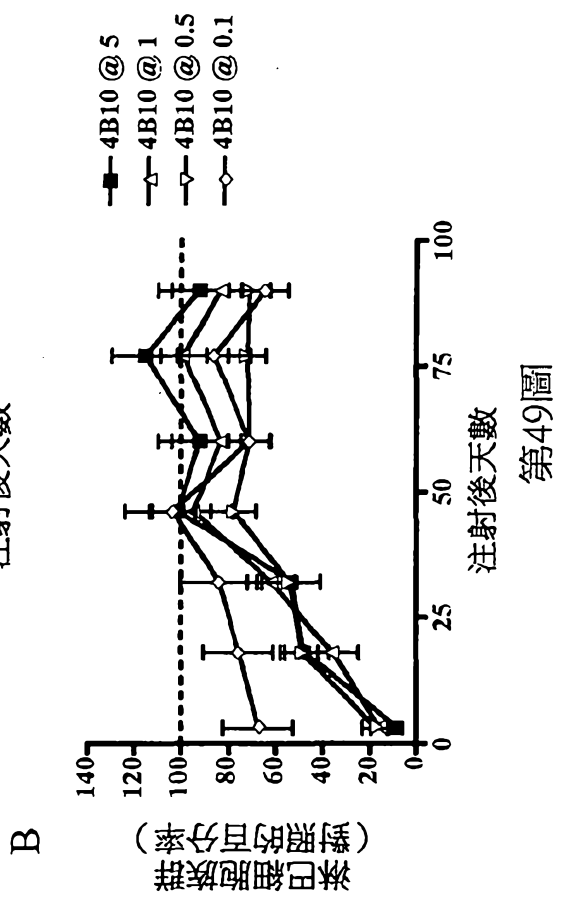
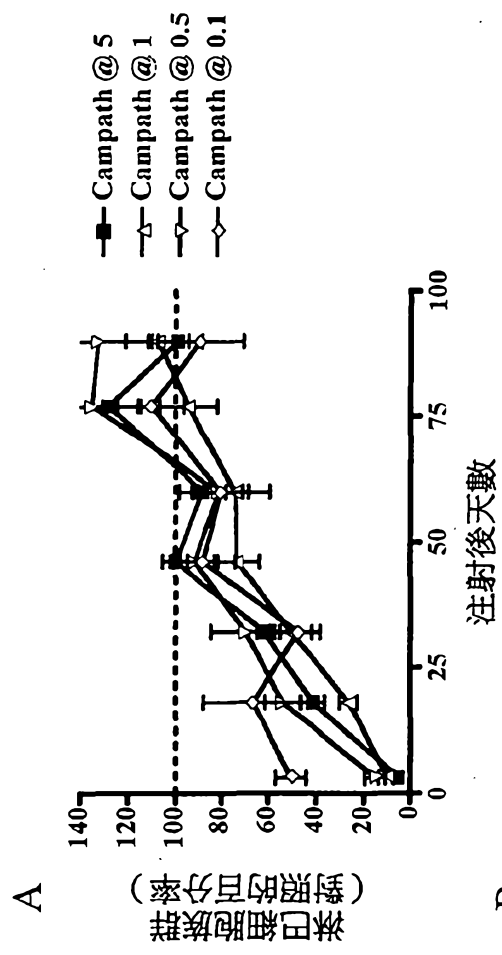
第47D圖



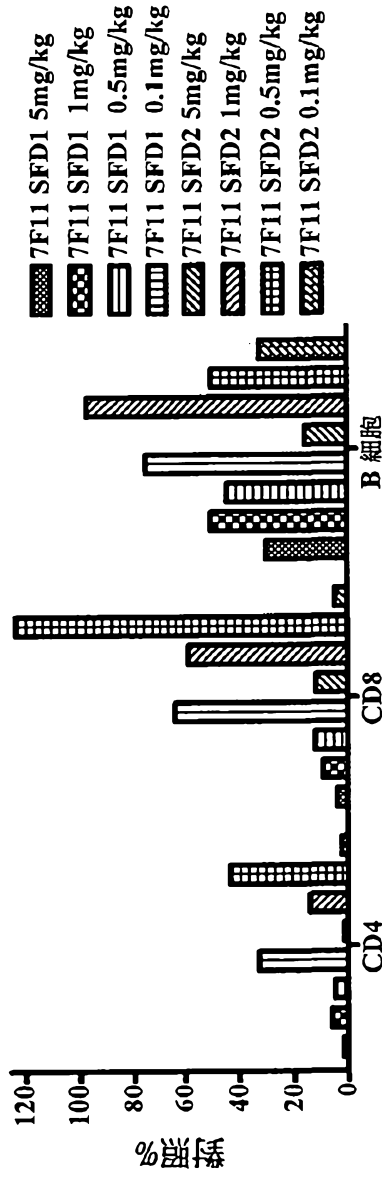
第47E圖



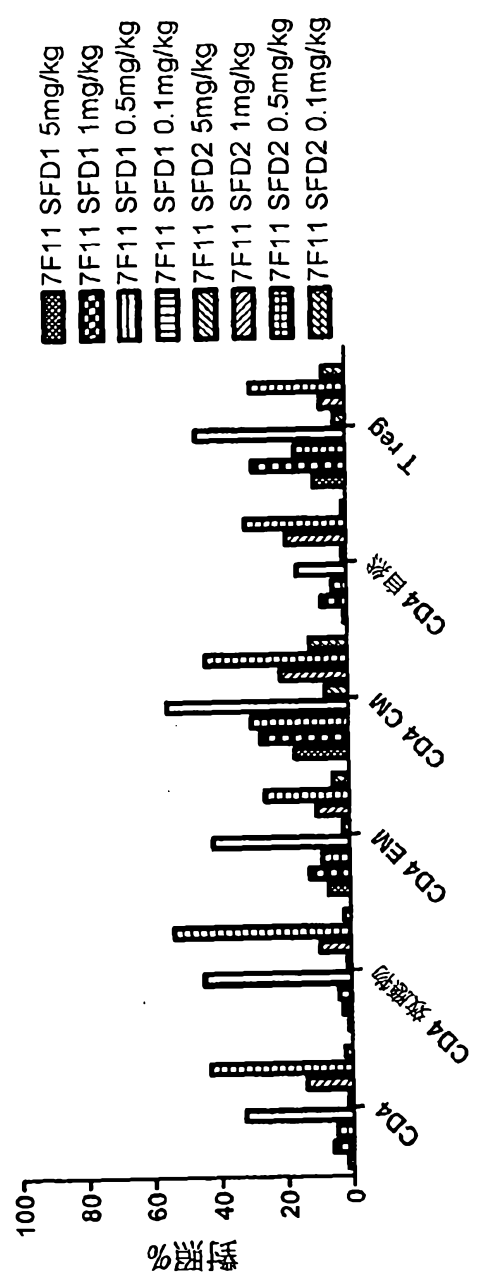
第48圖



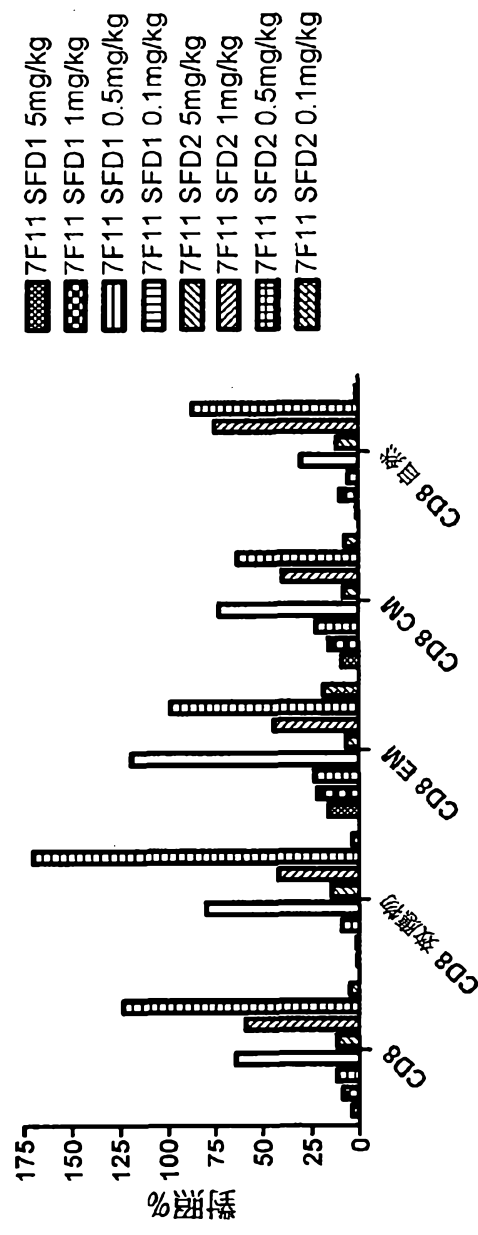
第49圖



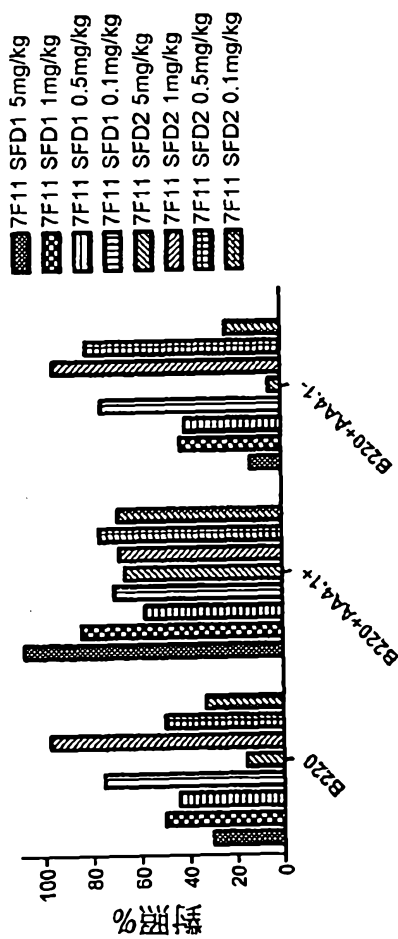
第50A圖



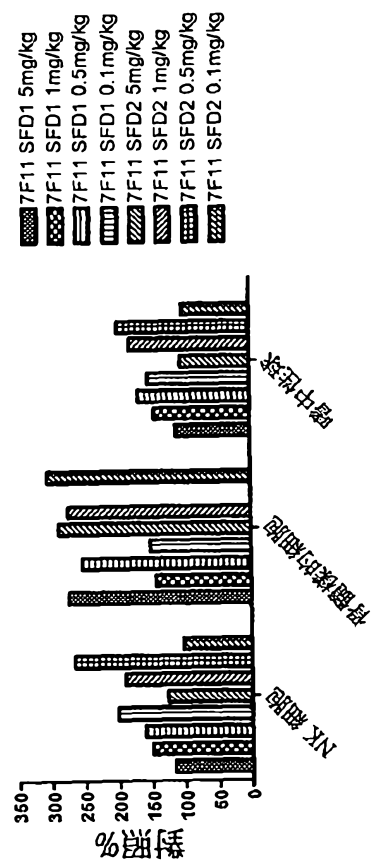
第50B圖



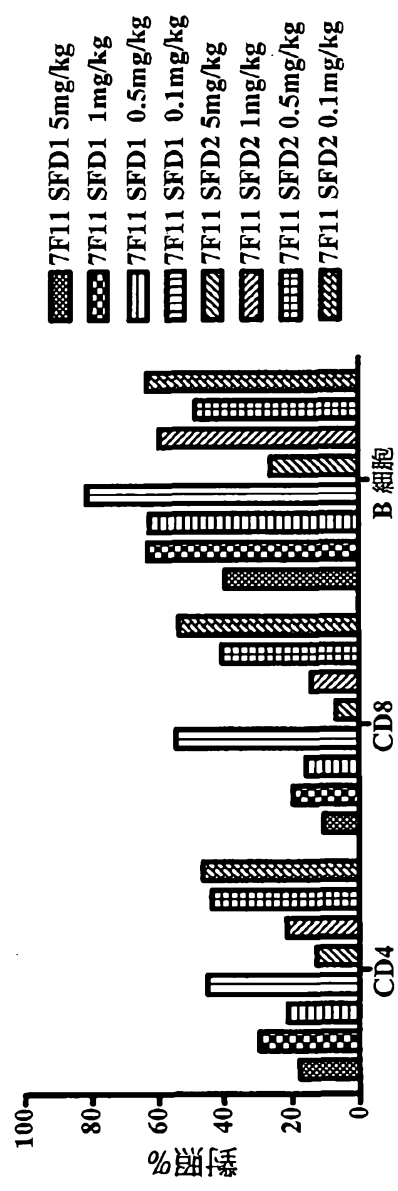
第50C圖



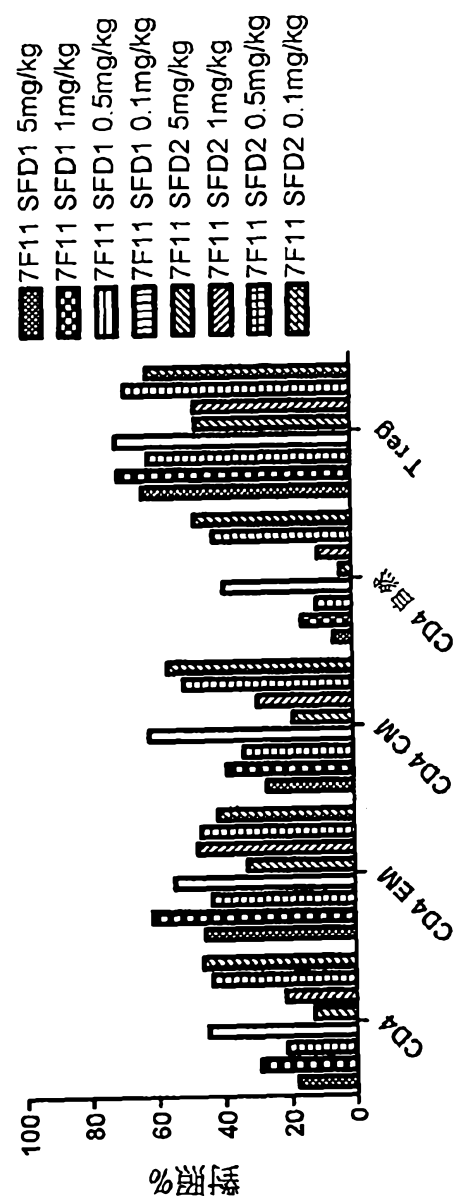
第50D圖



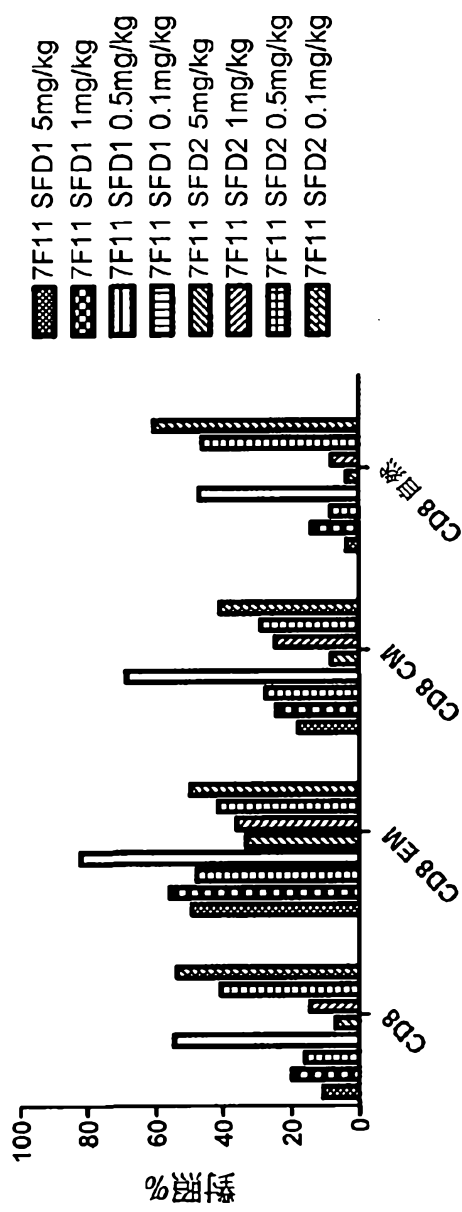
第50E圖



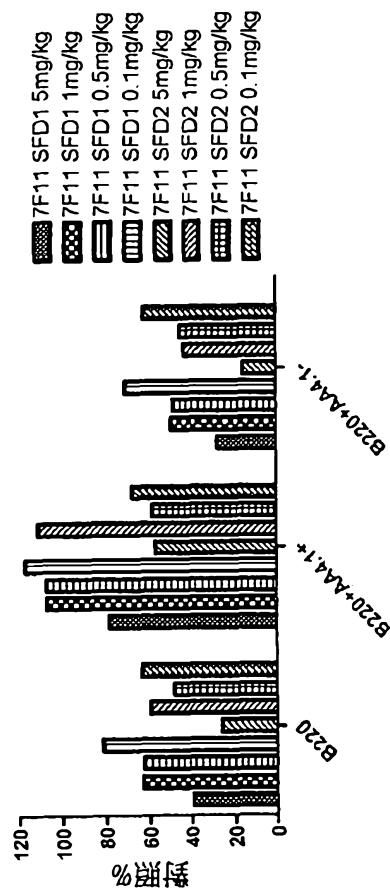
第51A圖



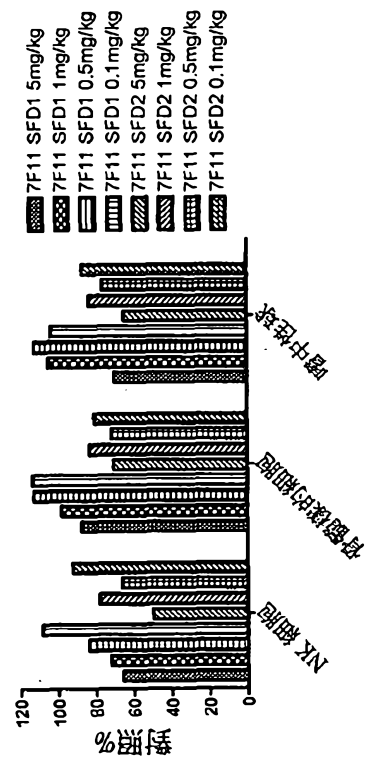
第51B圖



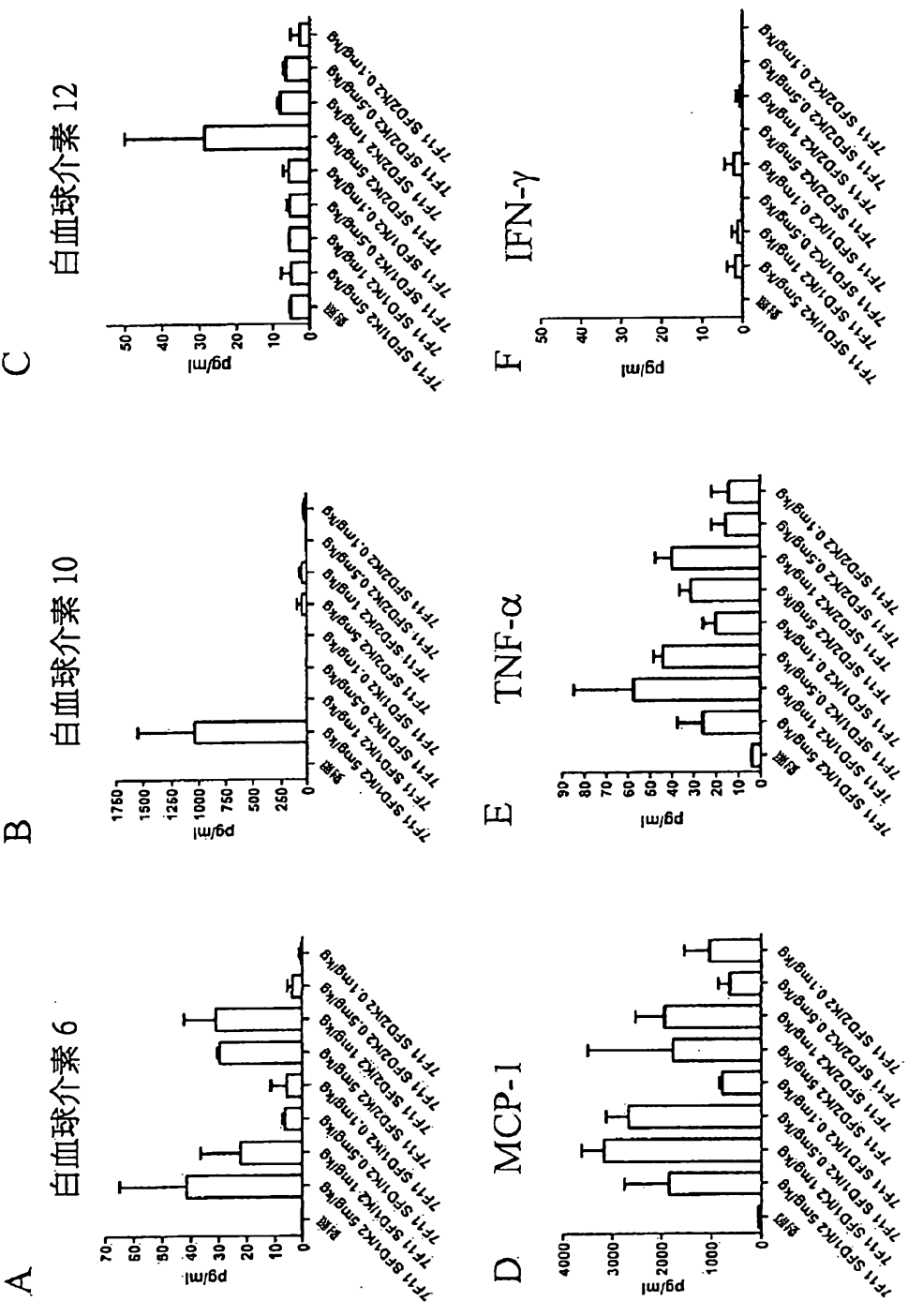
第51C圖



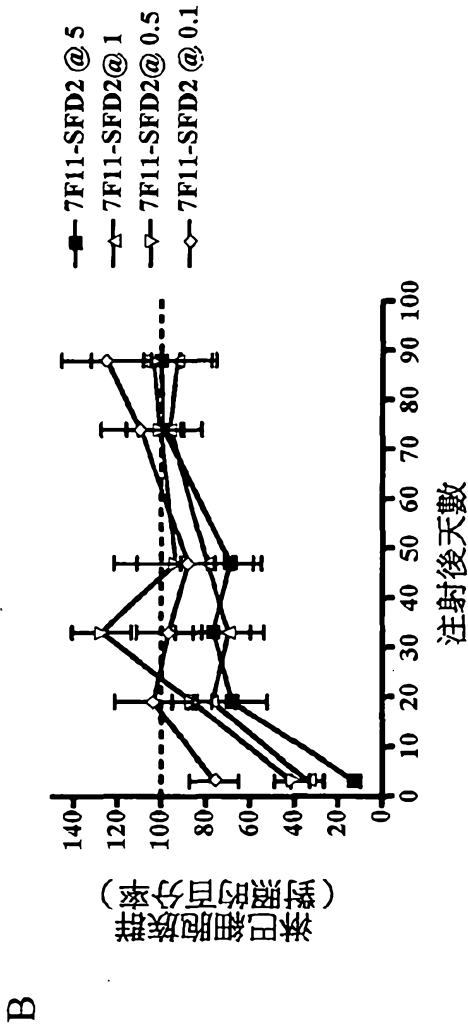
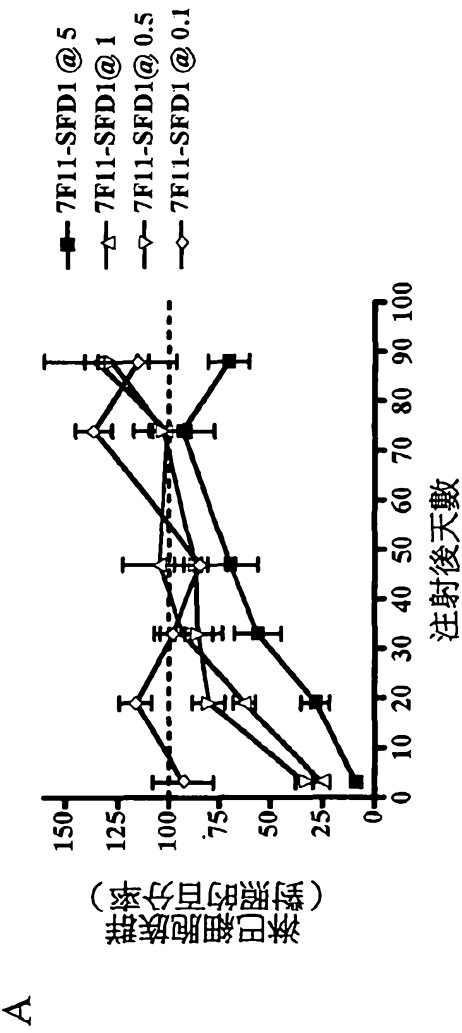
第51D圖



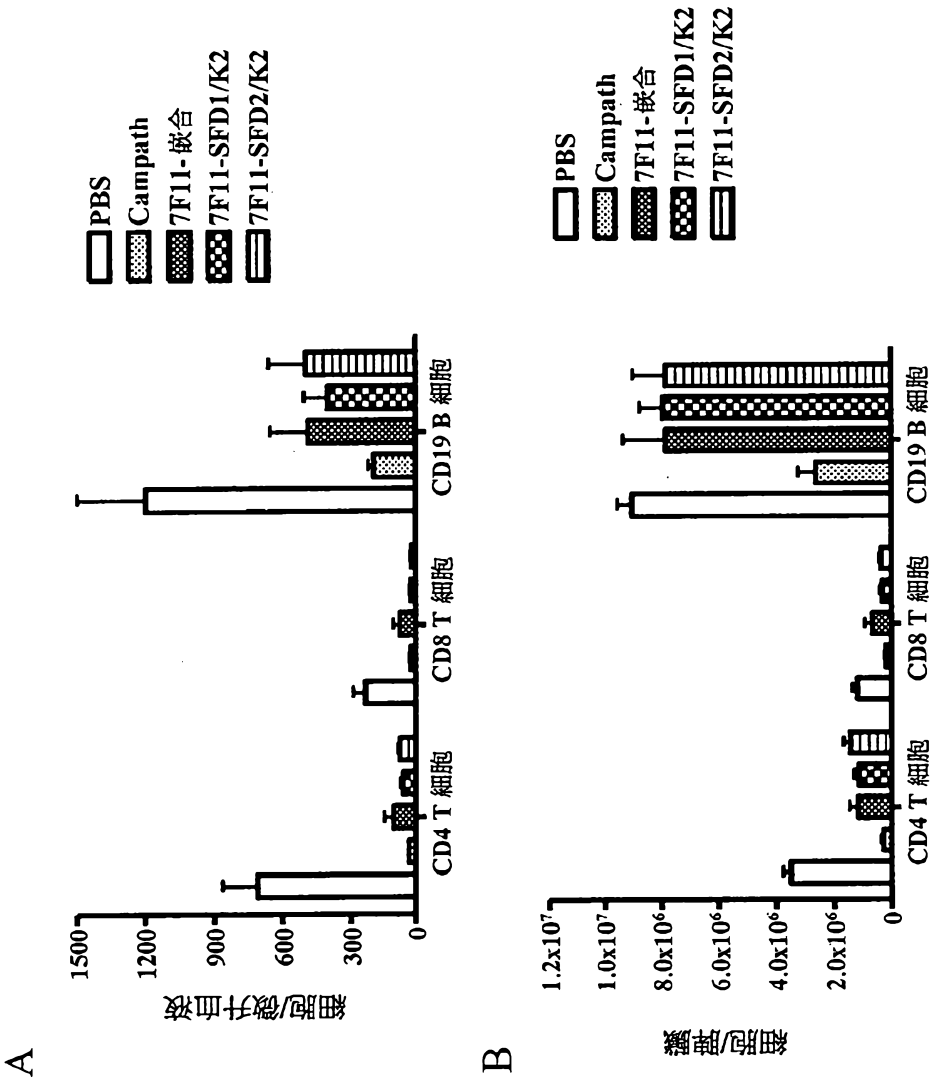
第51E圖



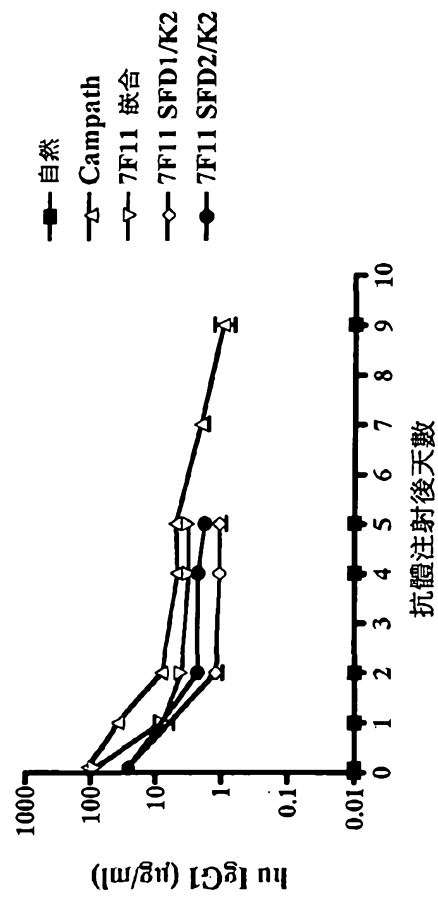
第52圖



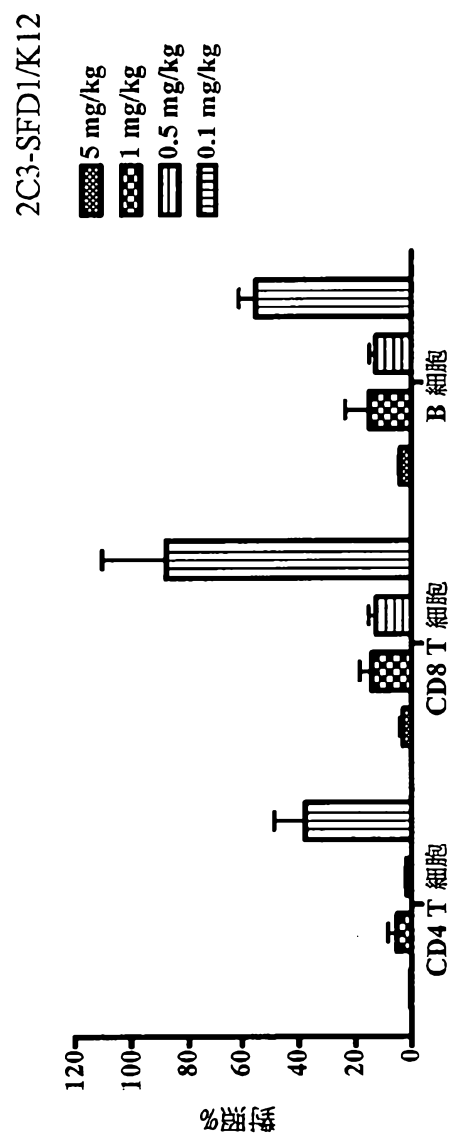
第53圖



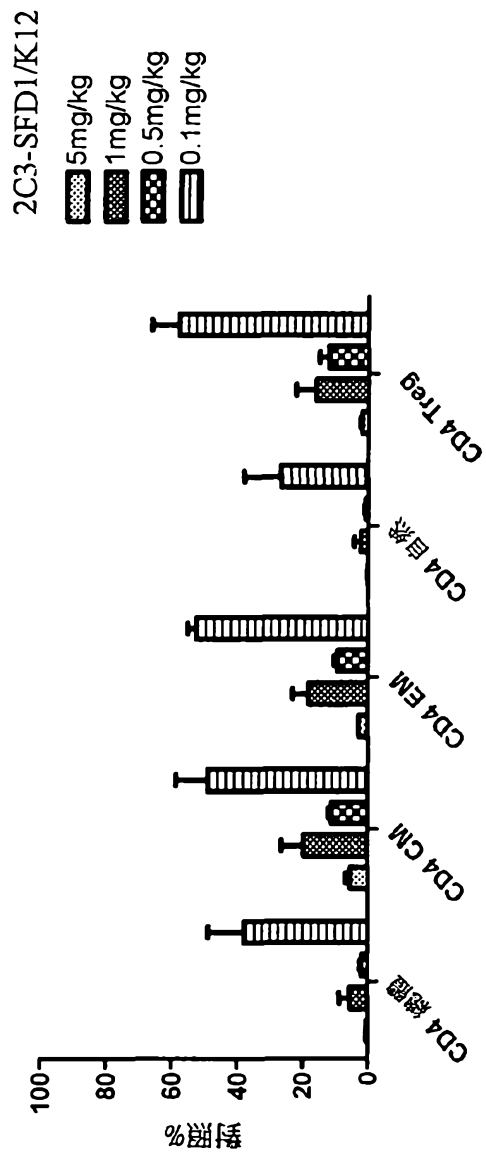
第54圖



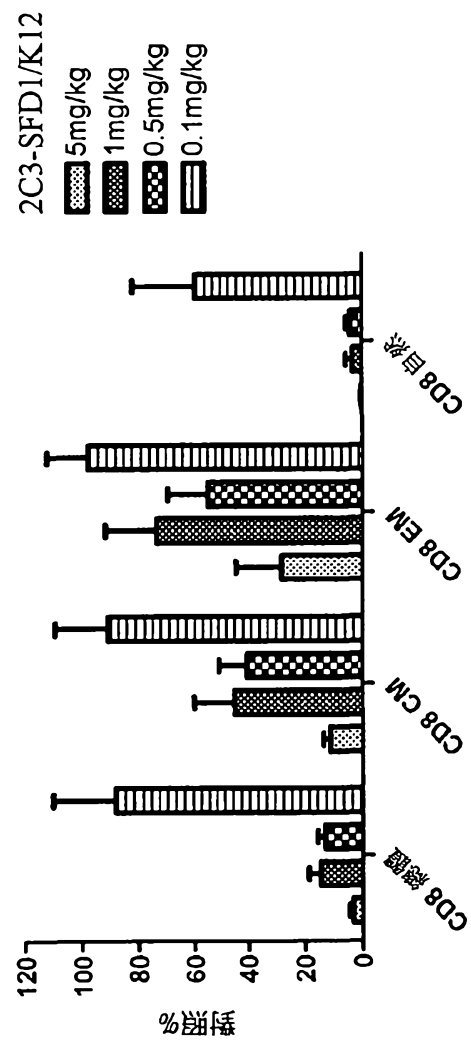
第55圖



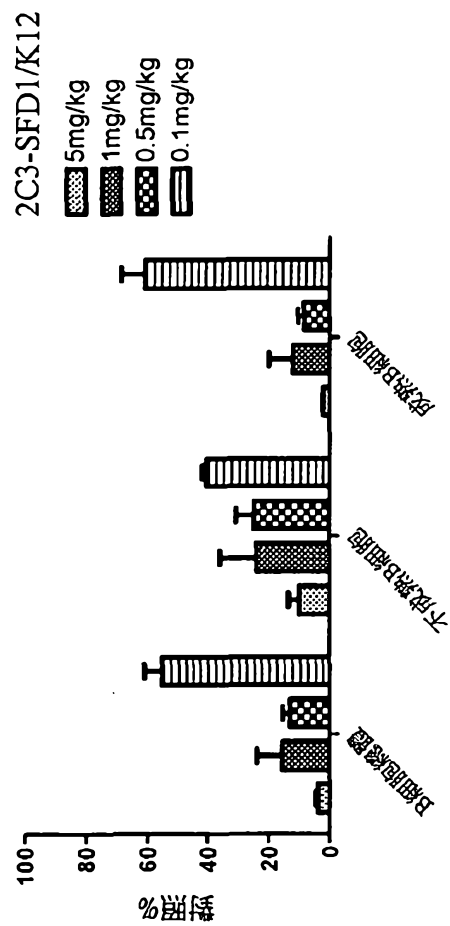
第56A圖



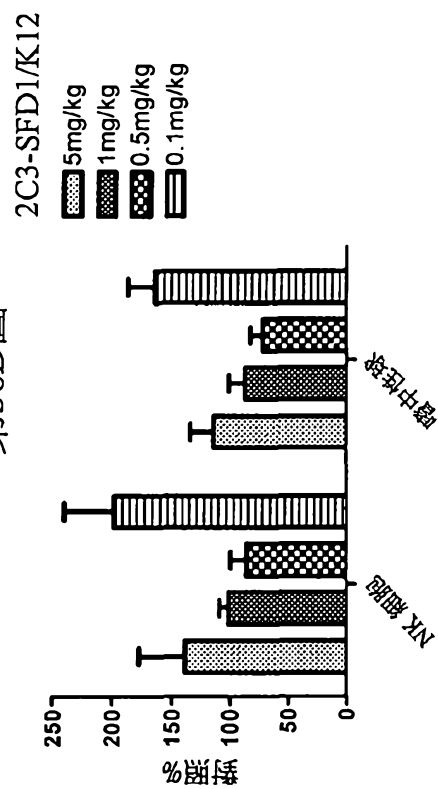
第56B圖



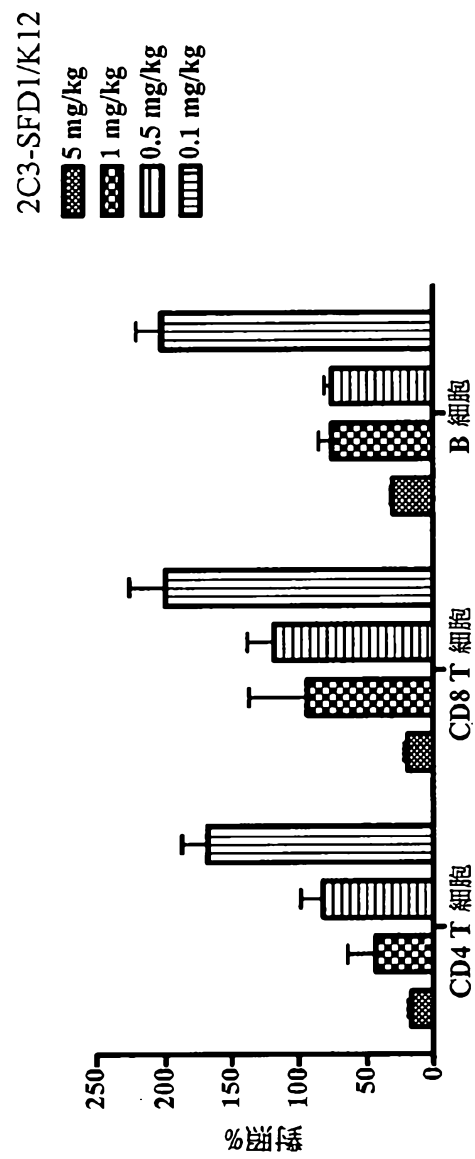
第56圖



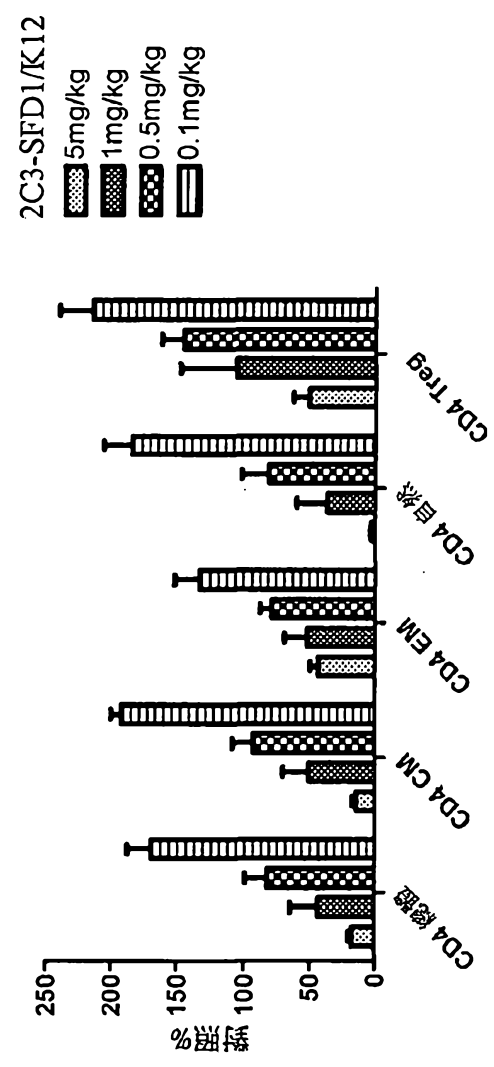
第56D圖



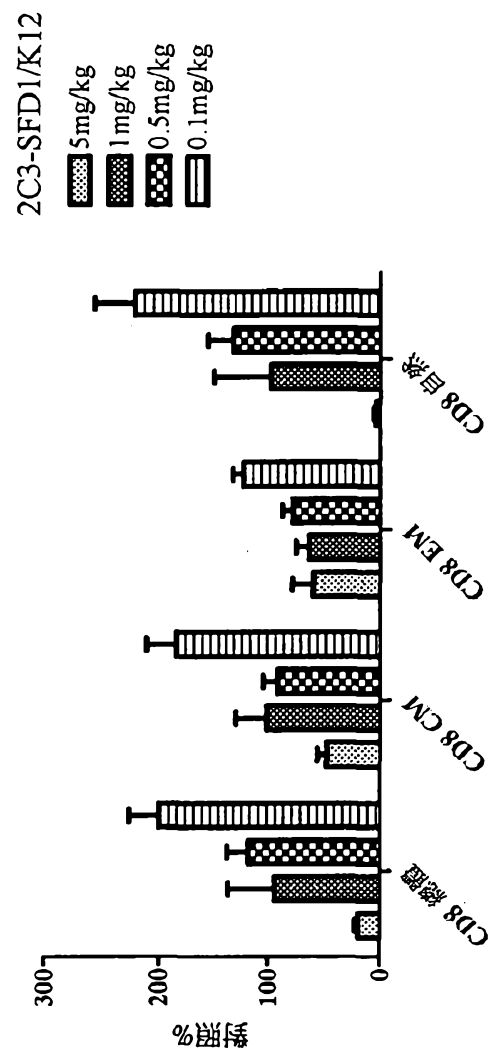
第56E圖



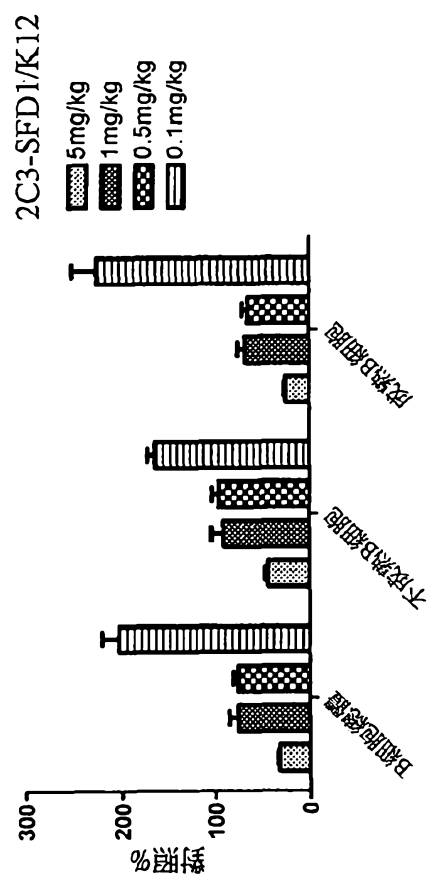
第57A圖



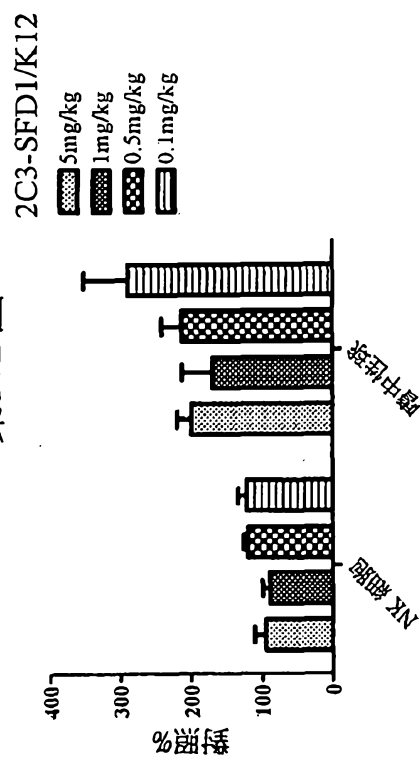
第57B圖



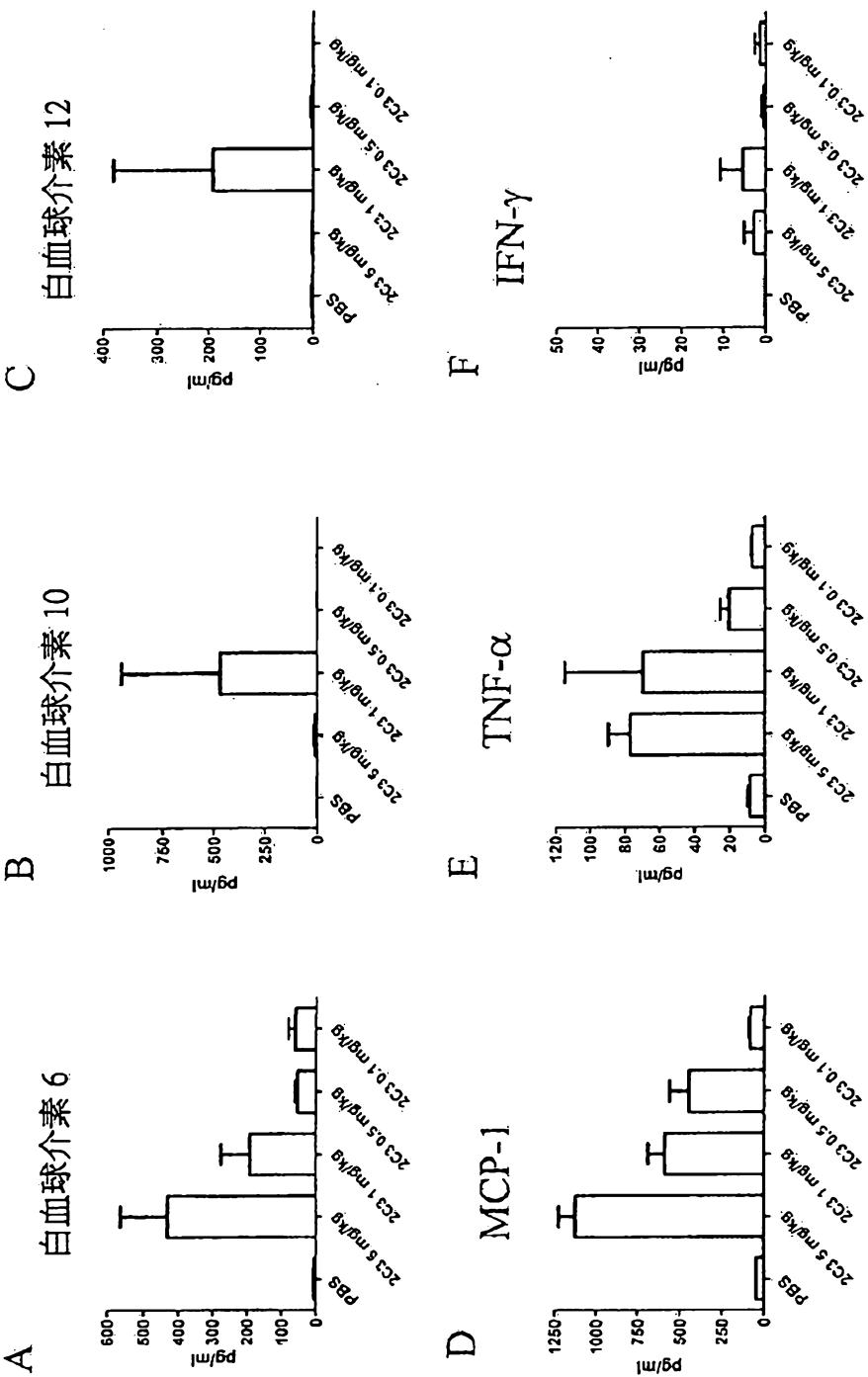
第57C圖



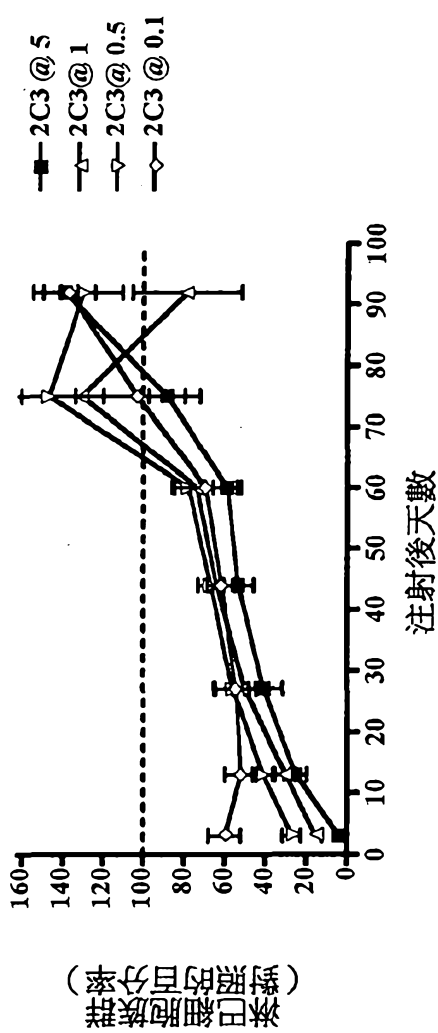
第57D圖



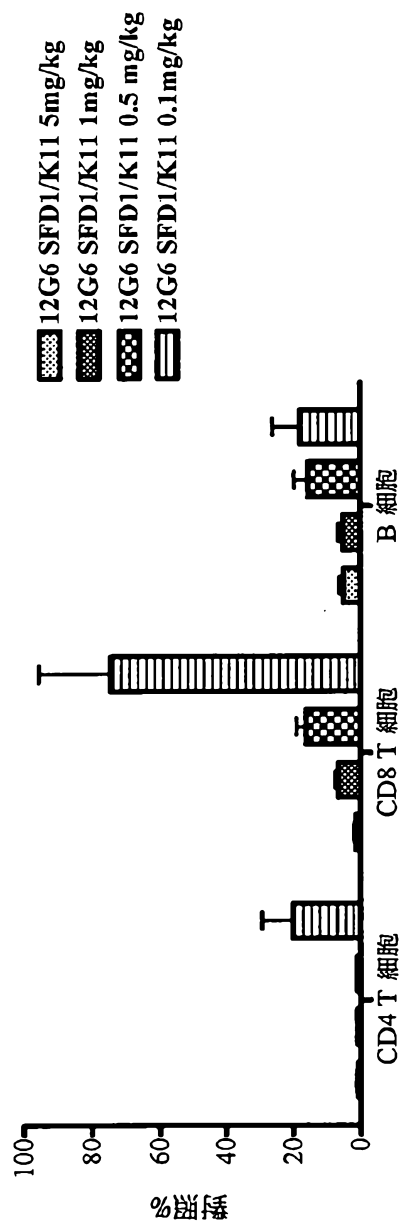
第57E圖



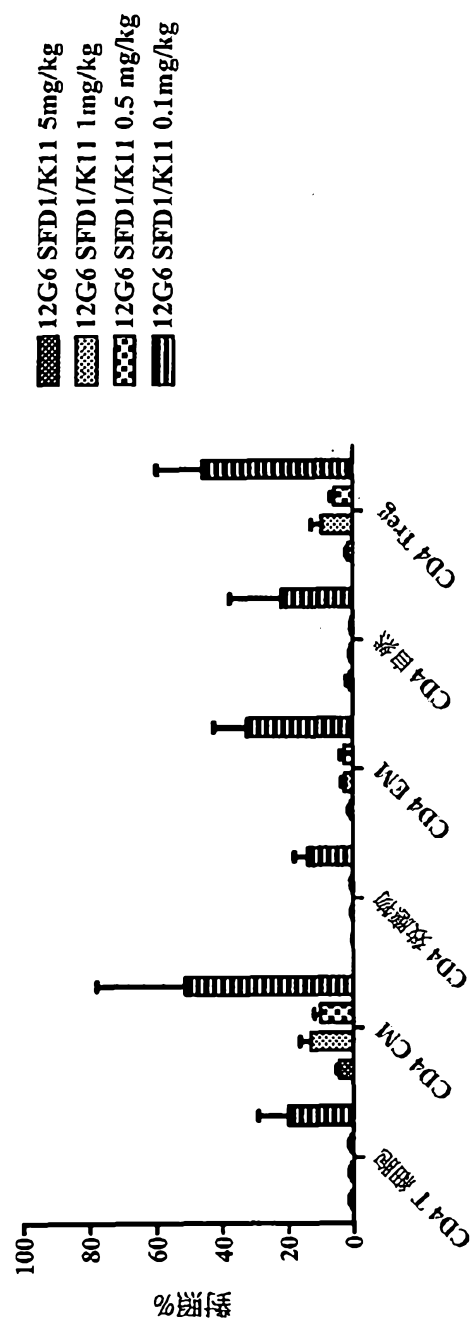
第58圖



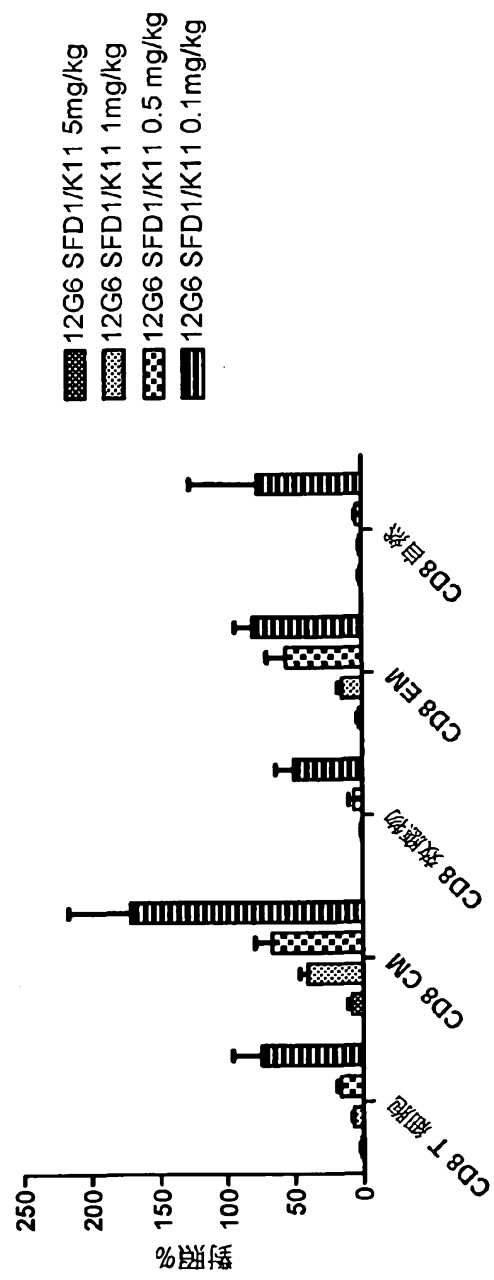
第59圖



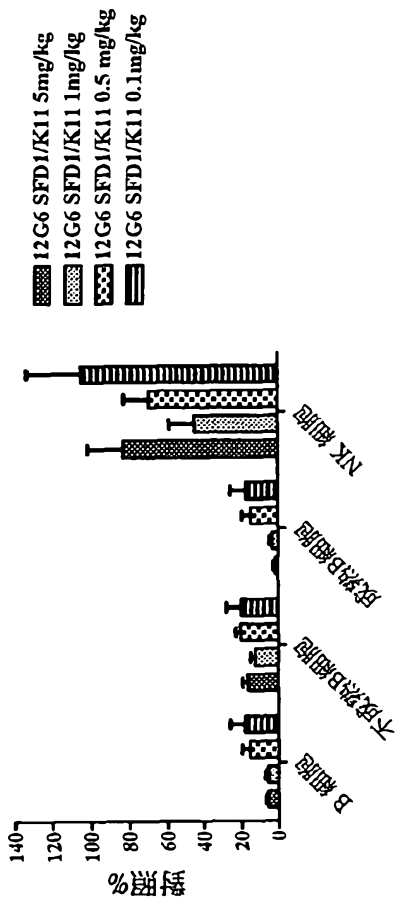
第60A圖



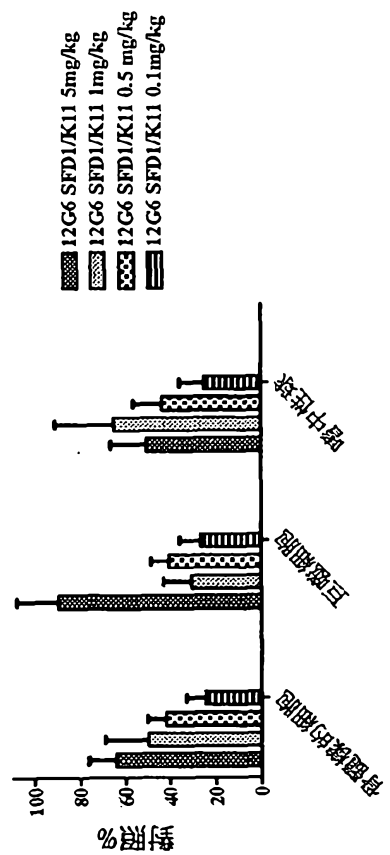
第60B圖



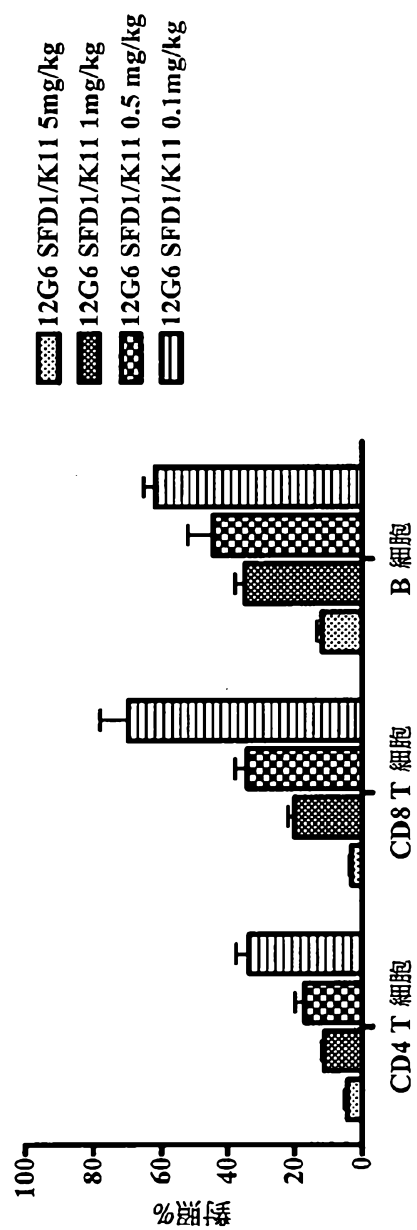
第60C圖



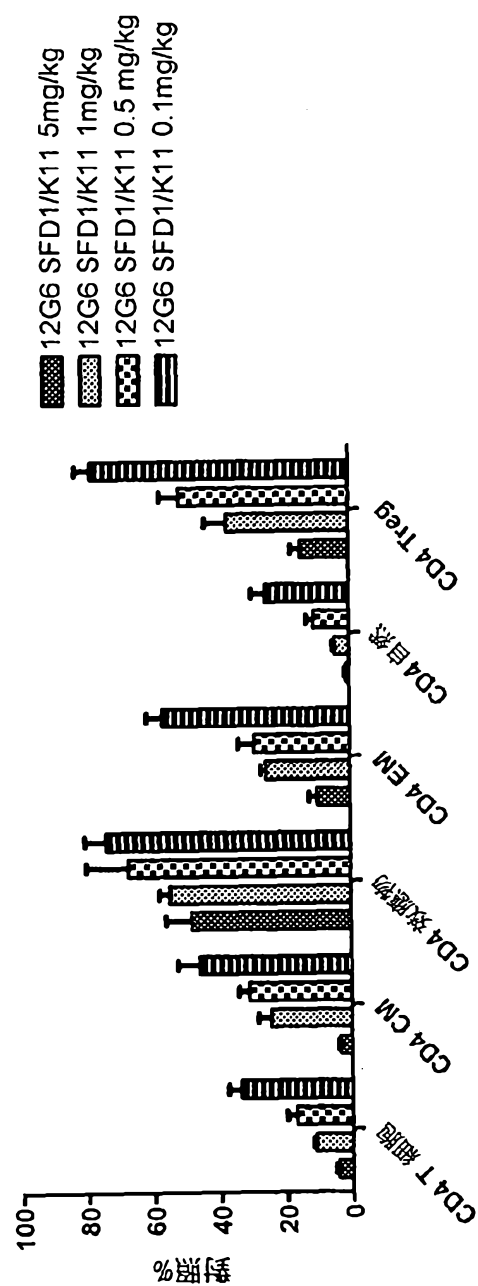
第60D圖



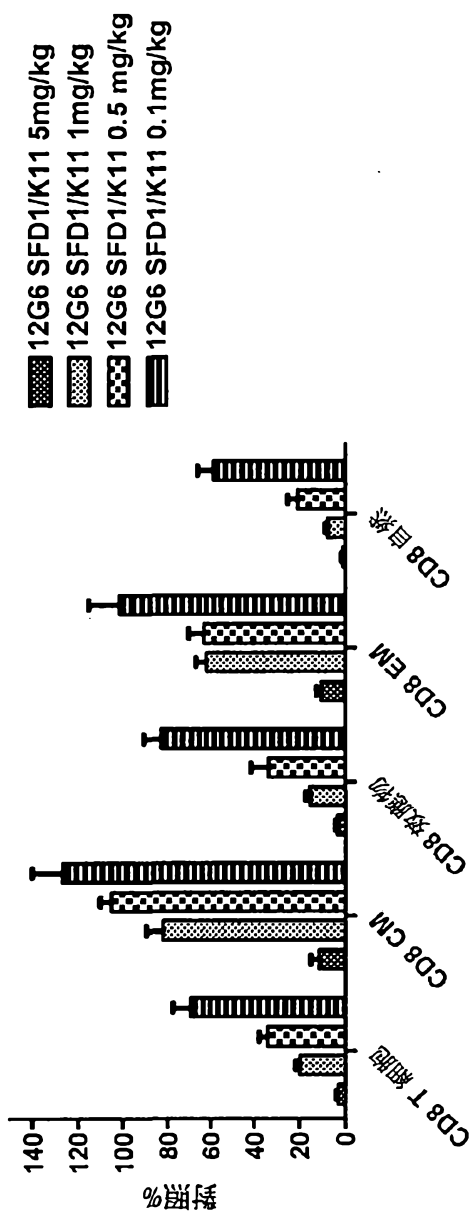
第60E圖



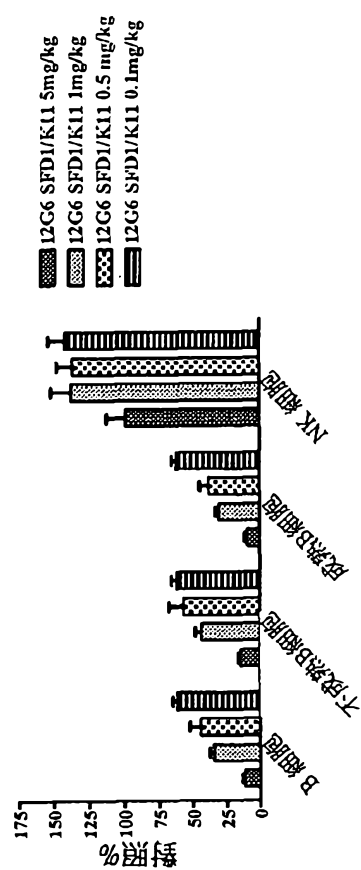
第61A圖



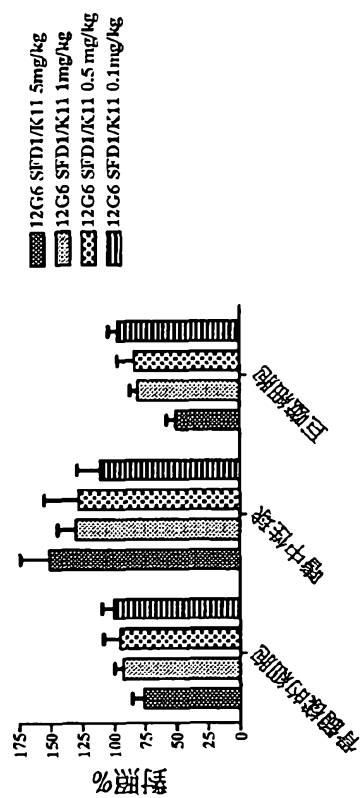
第61B圖



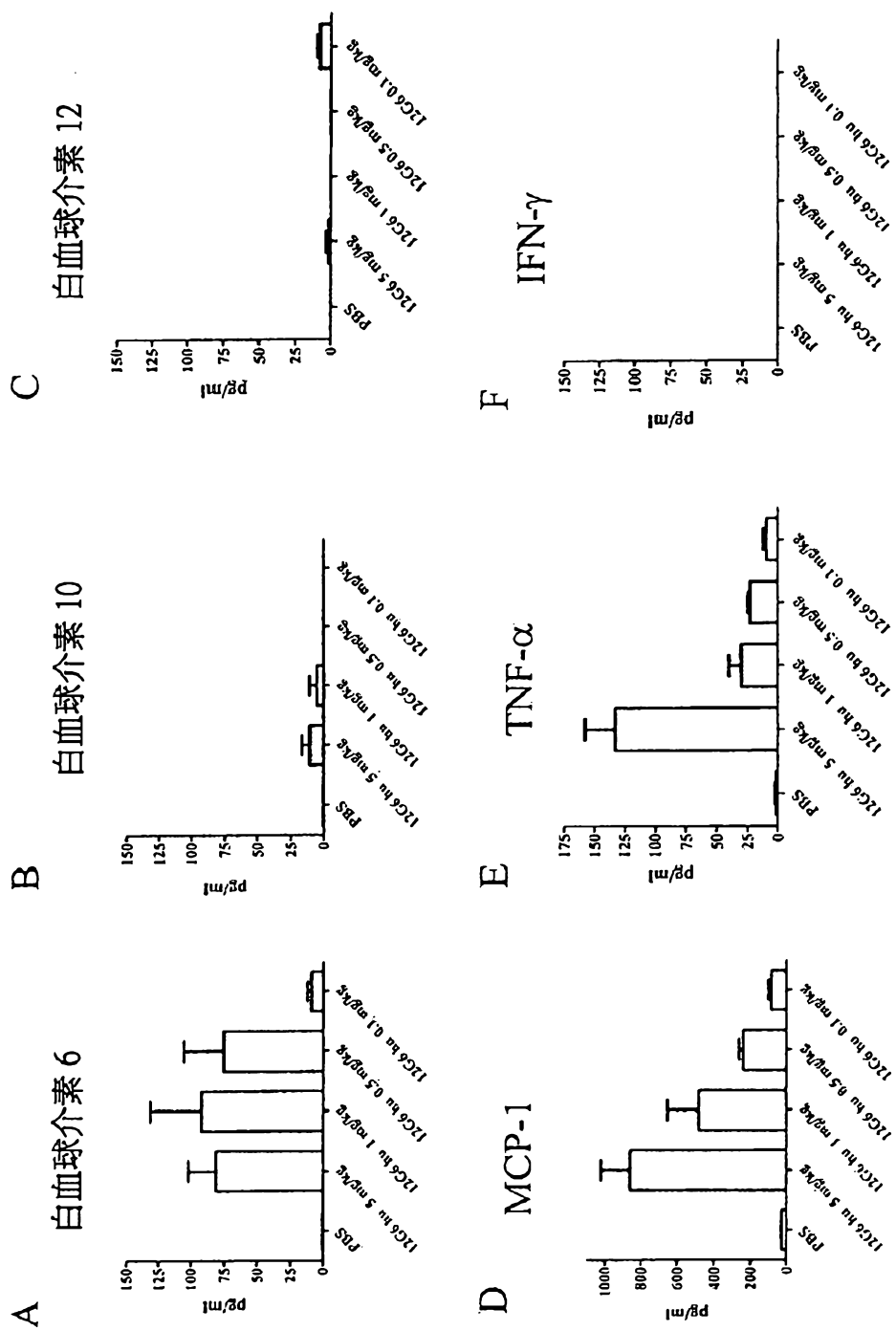
第61C圖



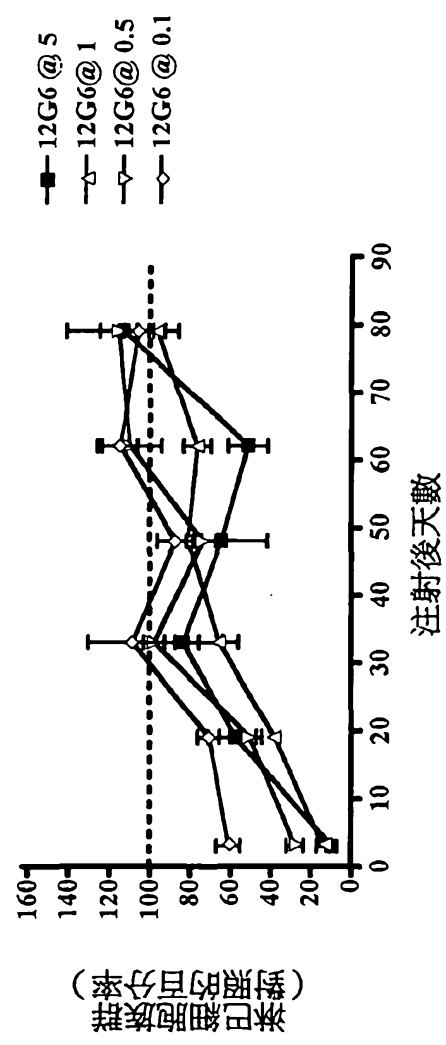
第61D圖



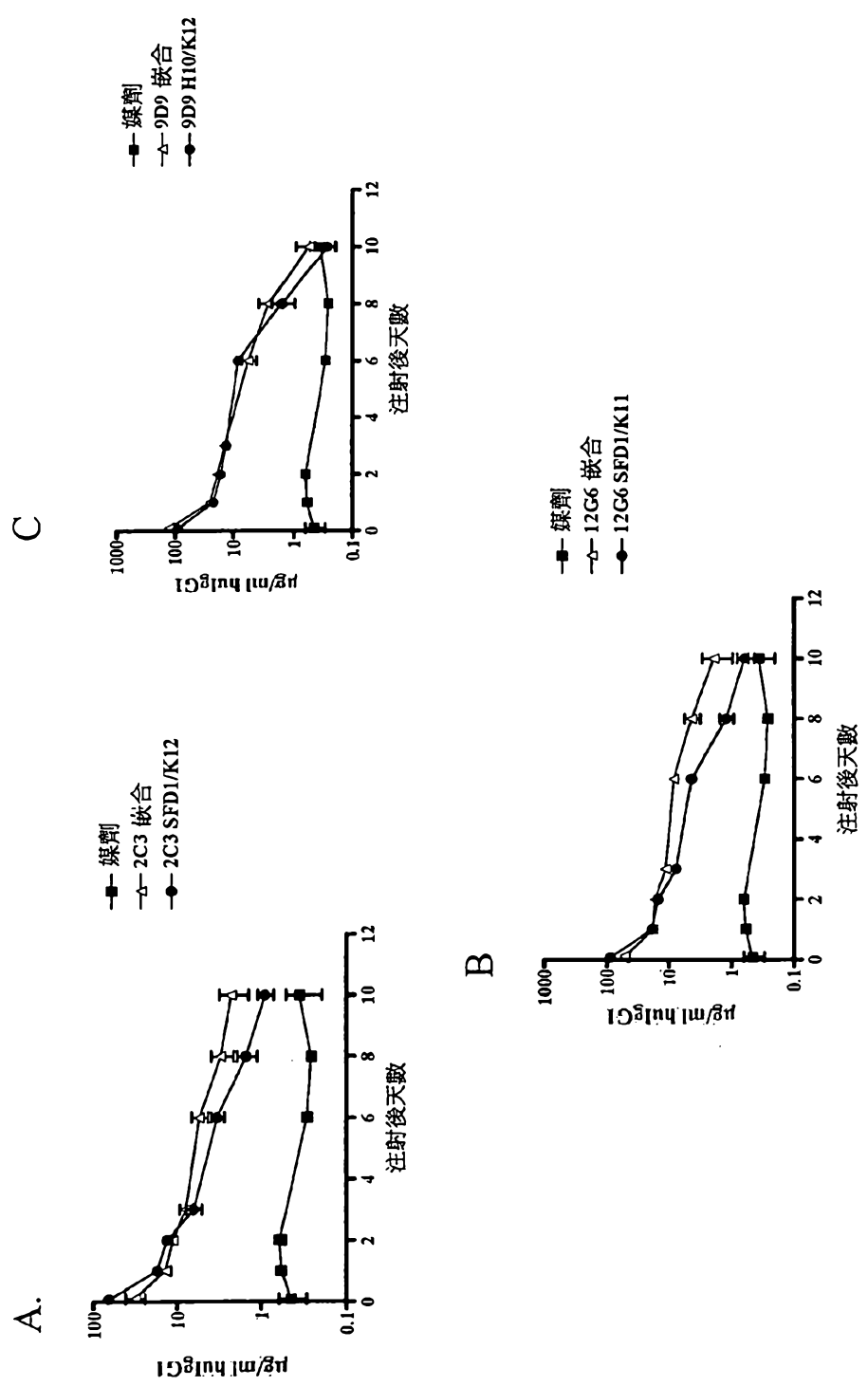
第61E圖



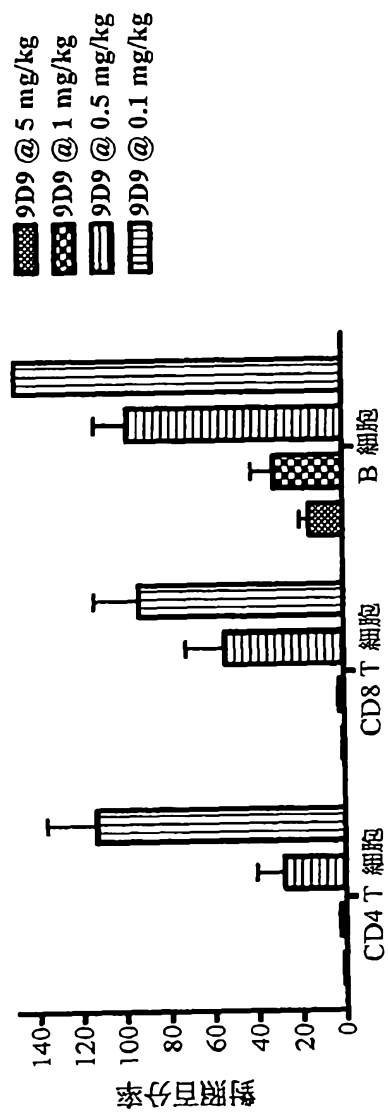
第62圖



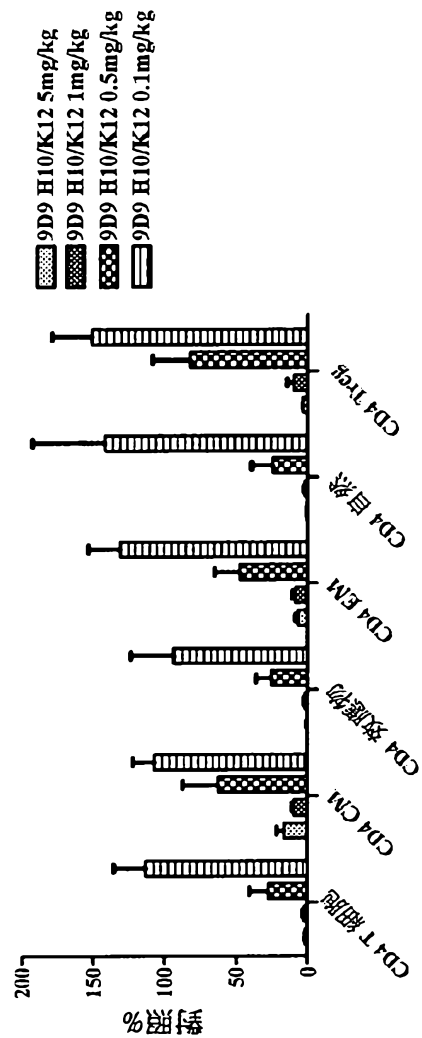
第63圖



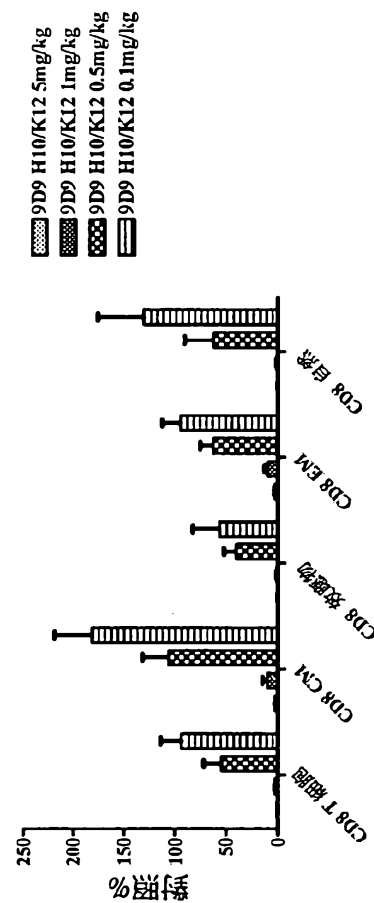
第64圖



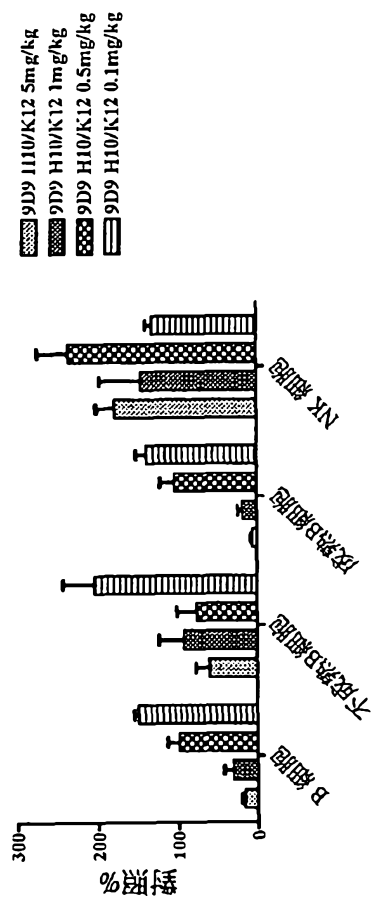
第65A圖



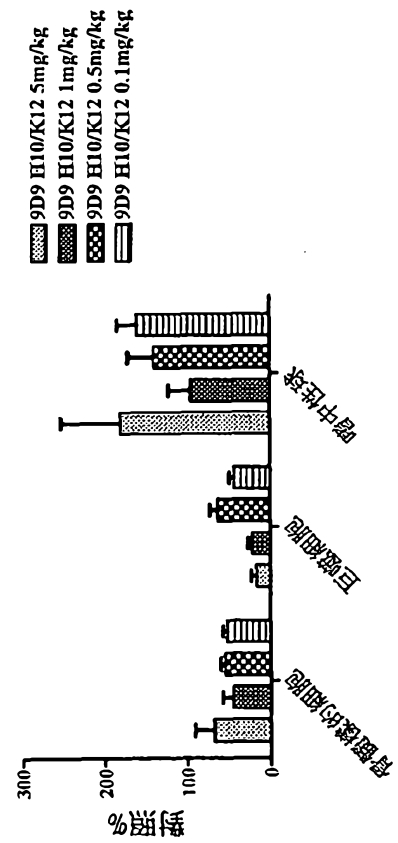
第65B圖



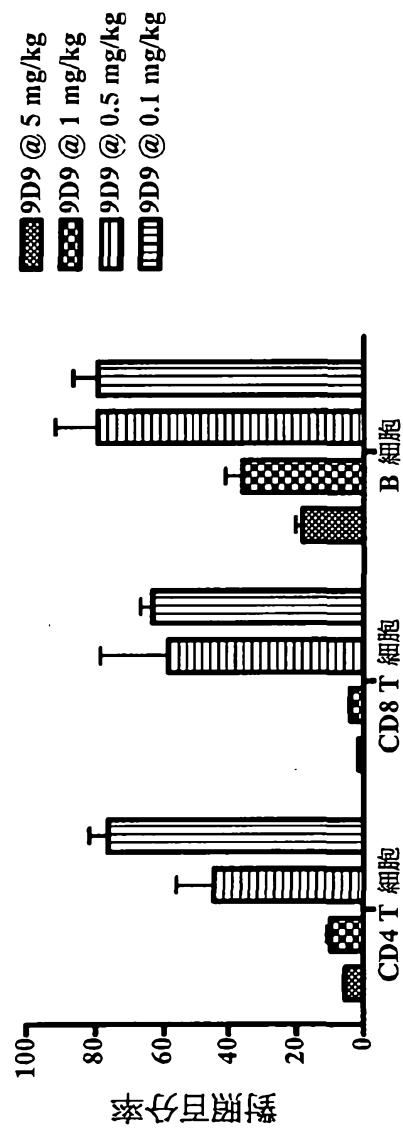
第65C圖



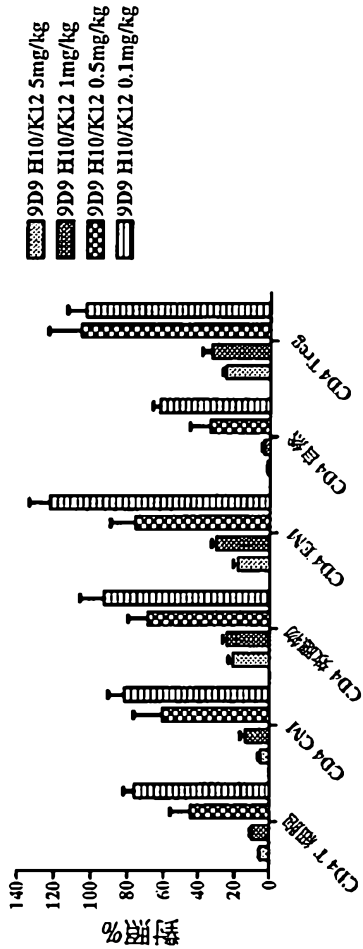
第65D圖



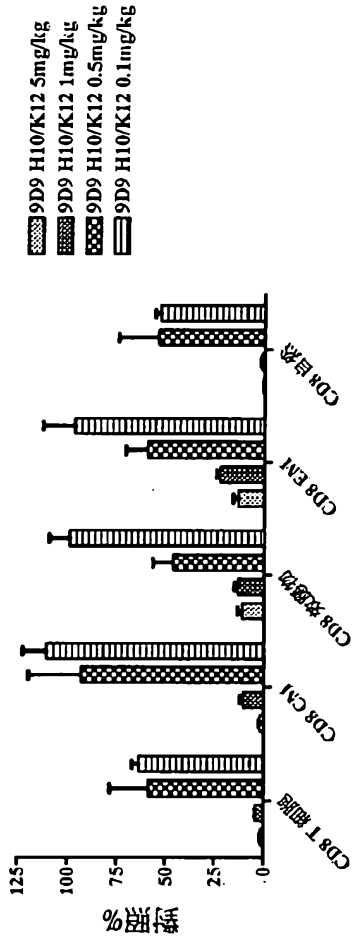
第65E圖



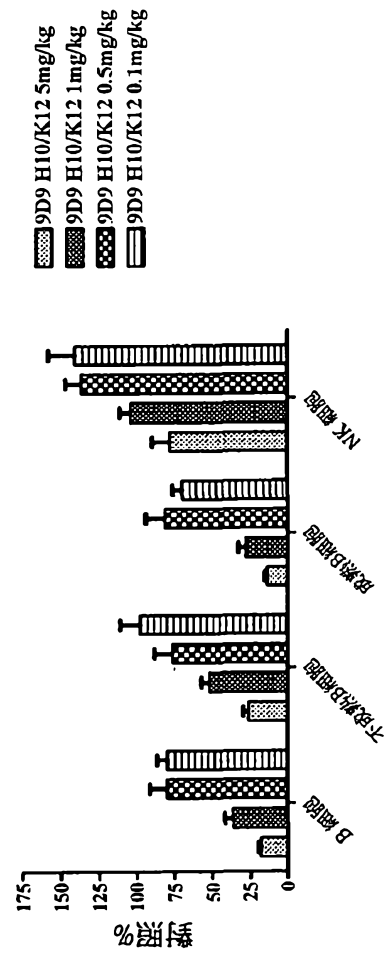
第66A圖



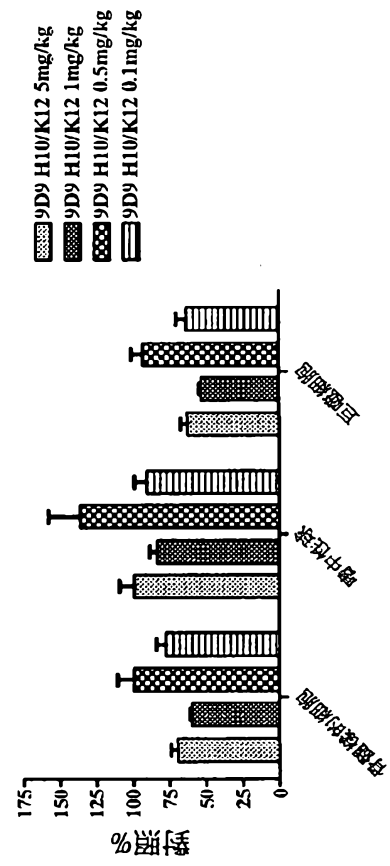
第66B圖



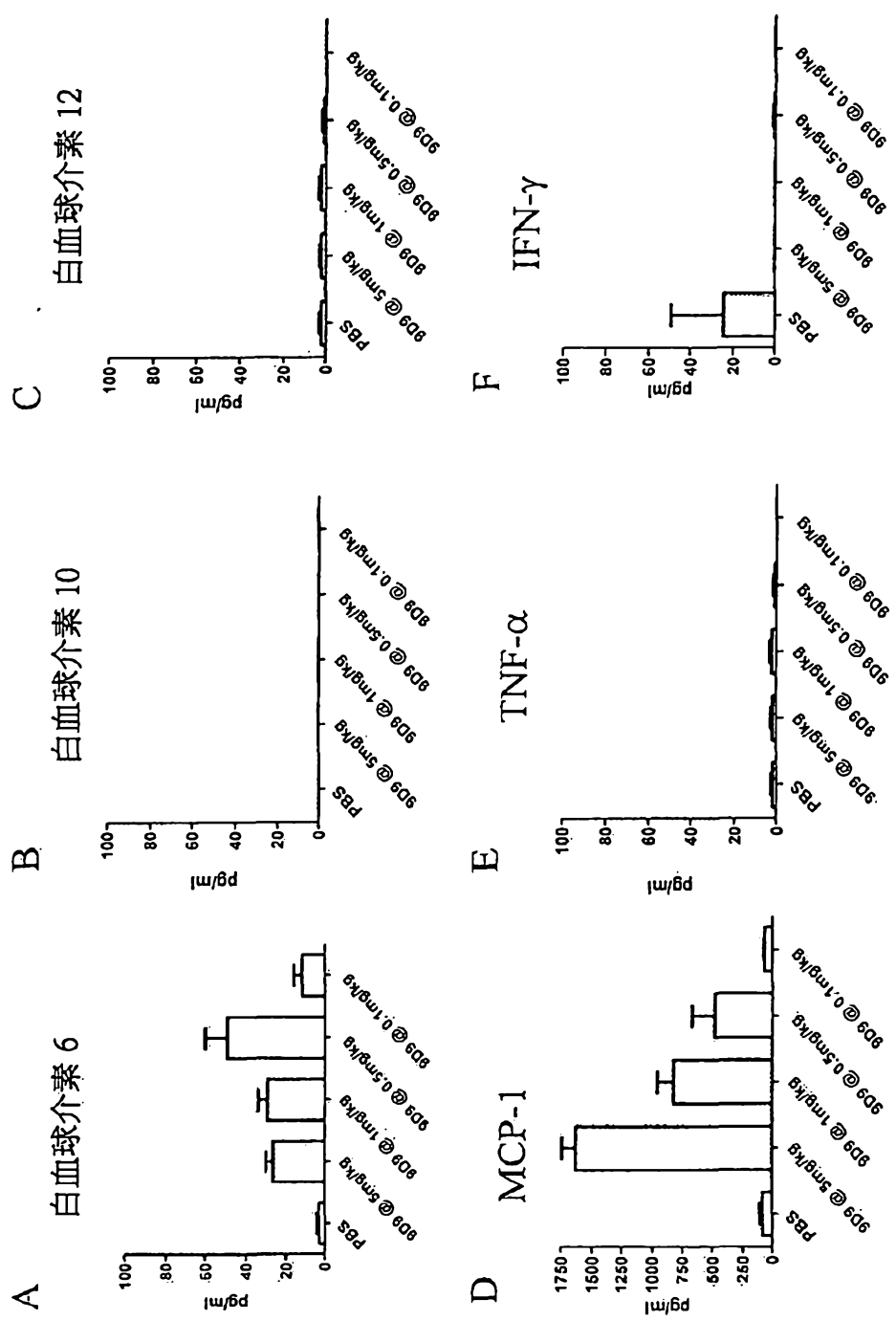
第66C圖



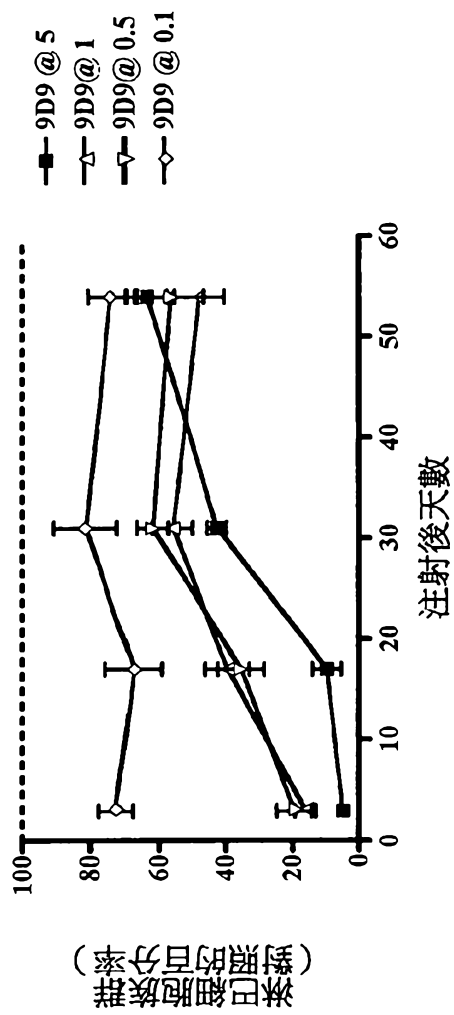
第66D圖



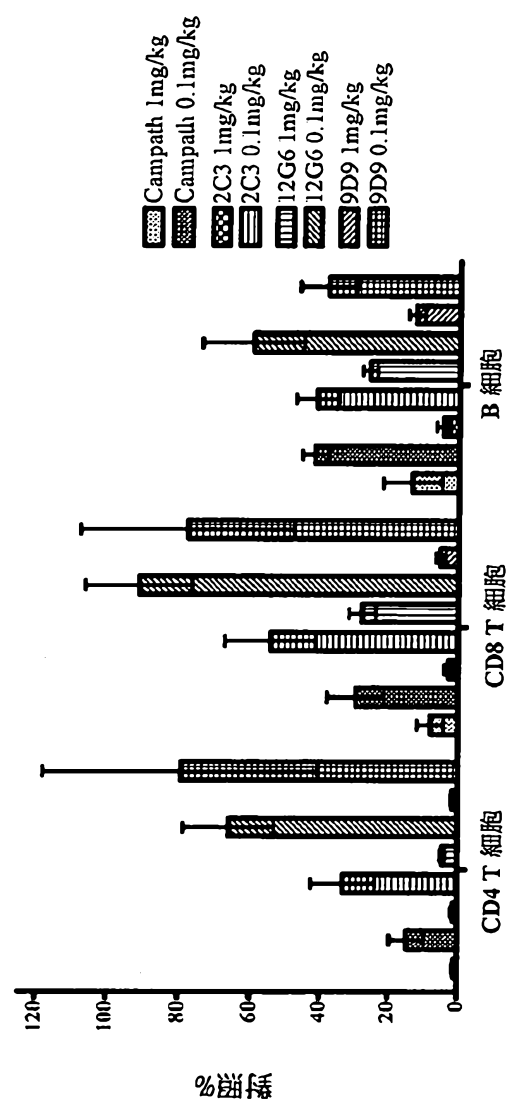
第66E圖



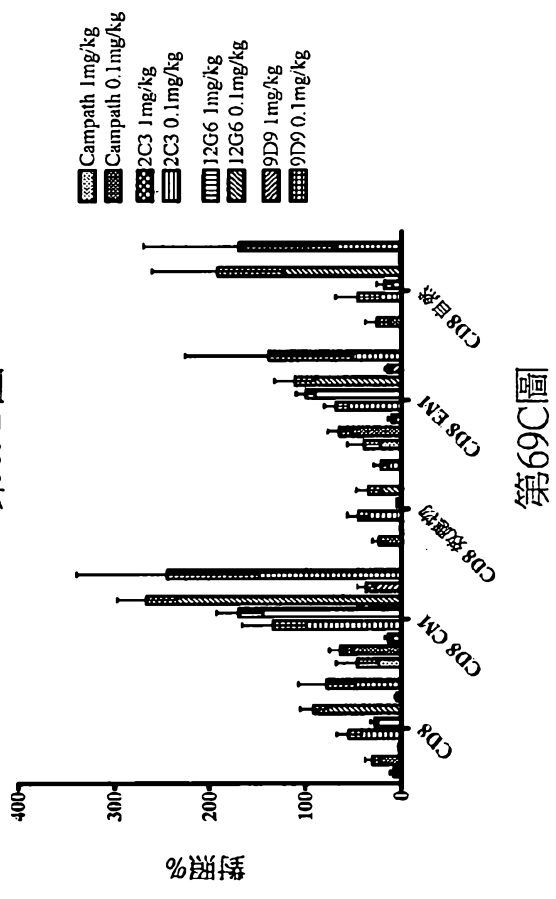
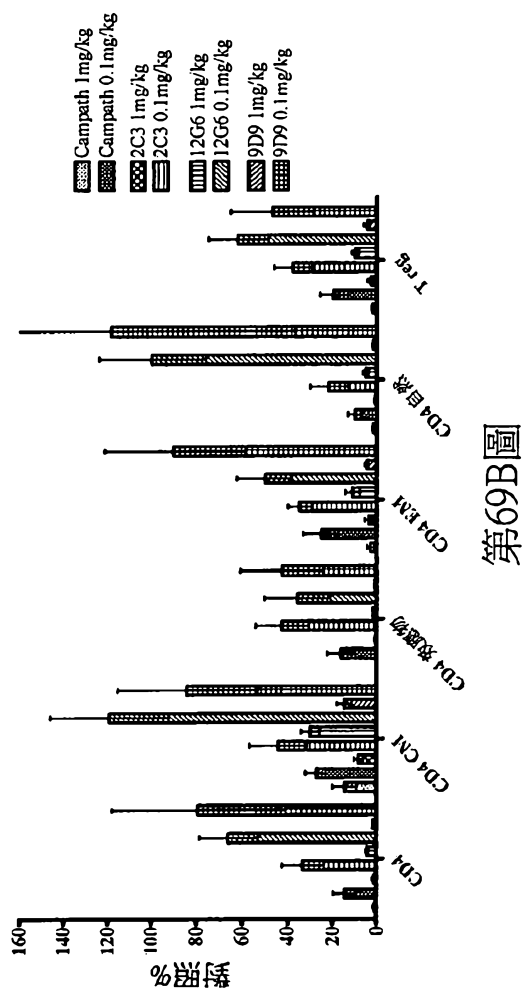
第67圖

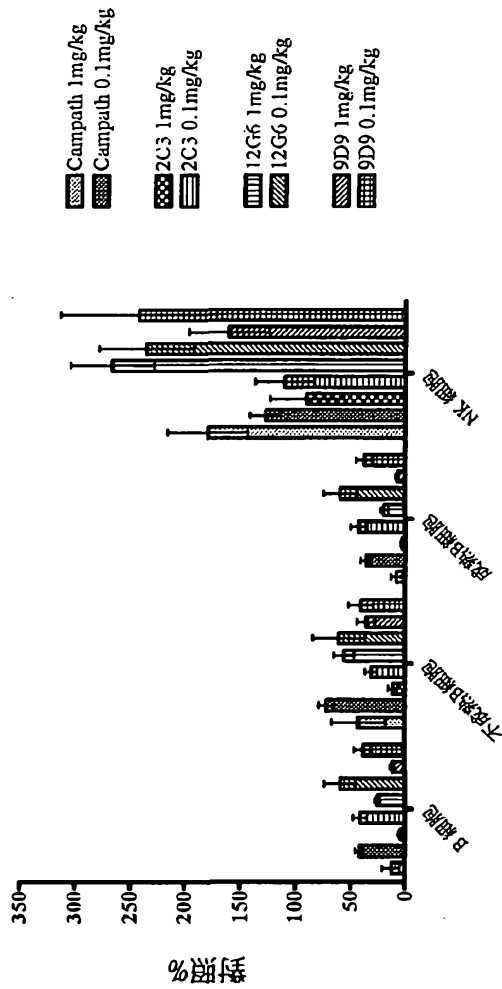


第68圖

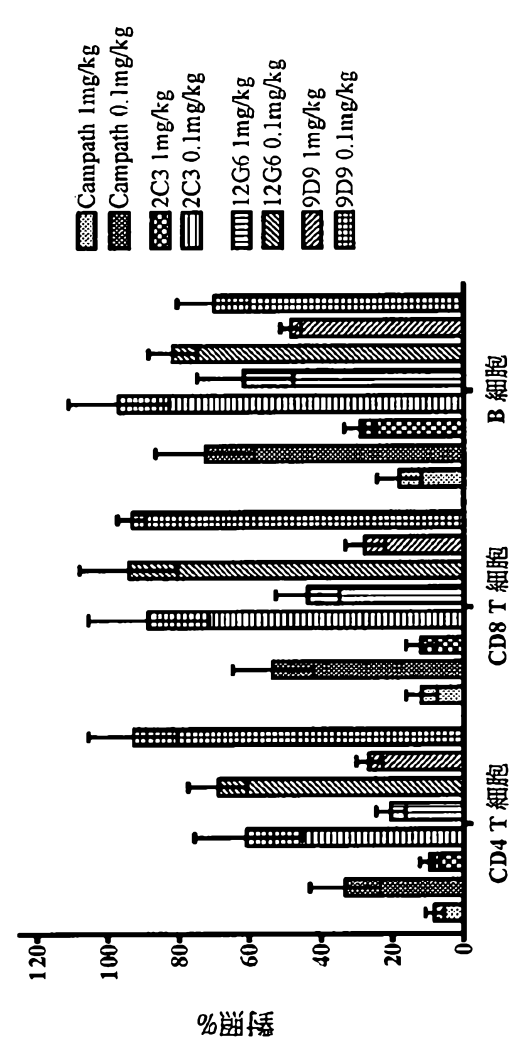


第69A圖

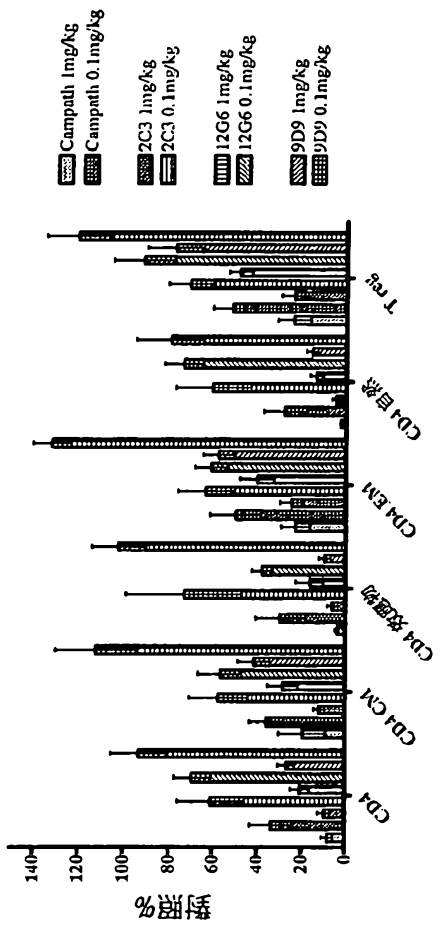




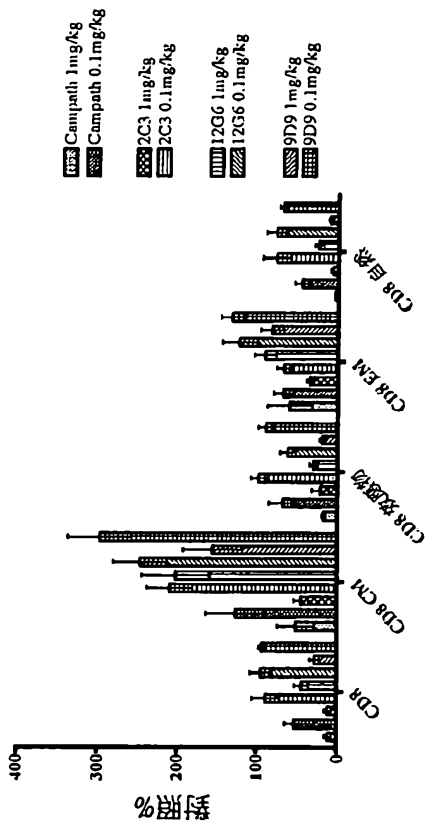
第69D圖



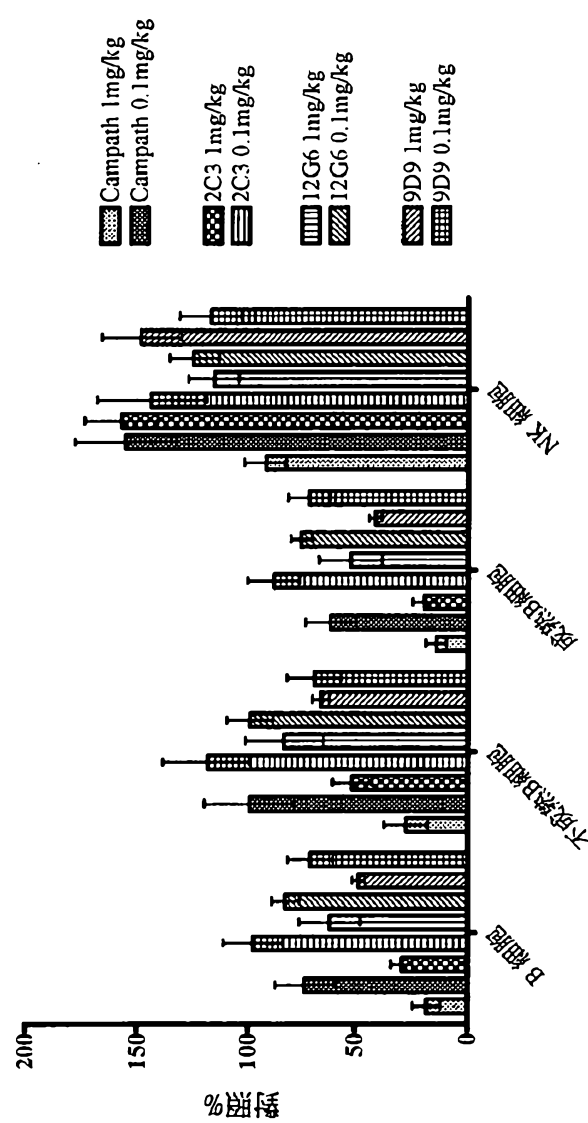
第70A圖



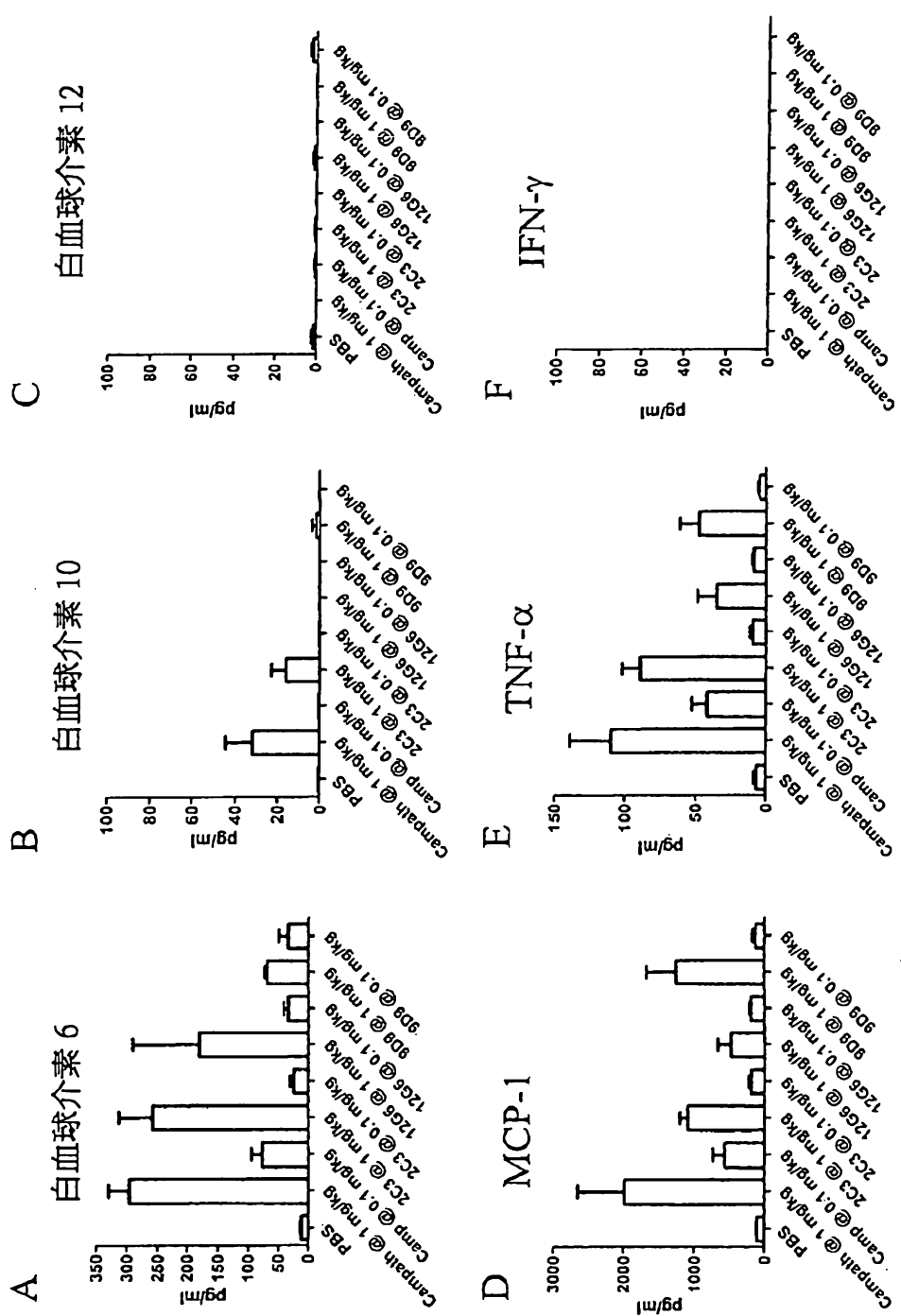
第70B圖



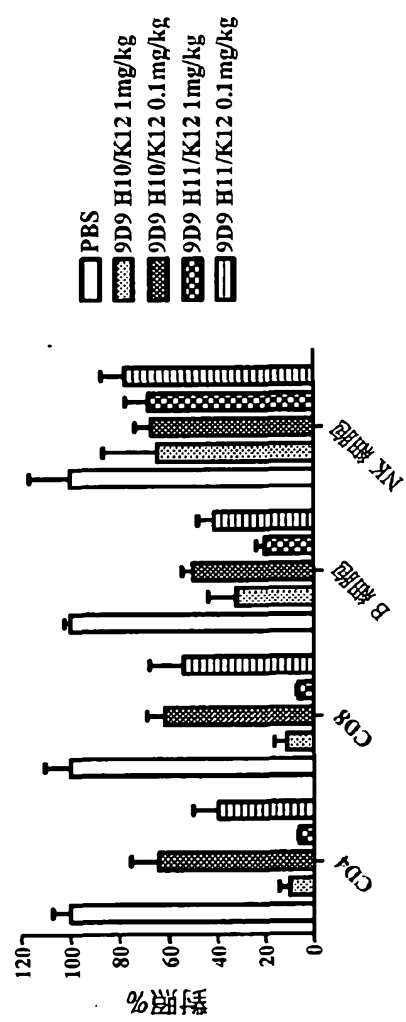
第70C圖



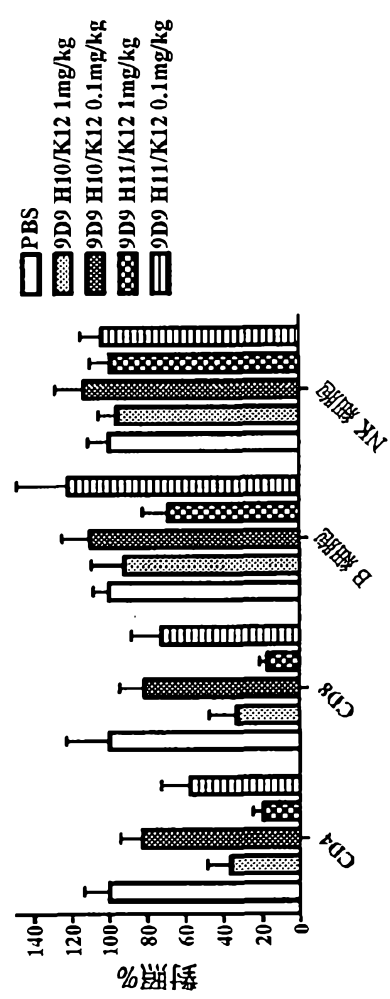
第70D圖



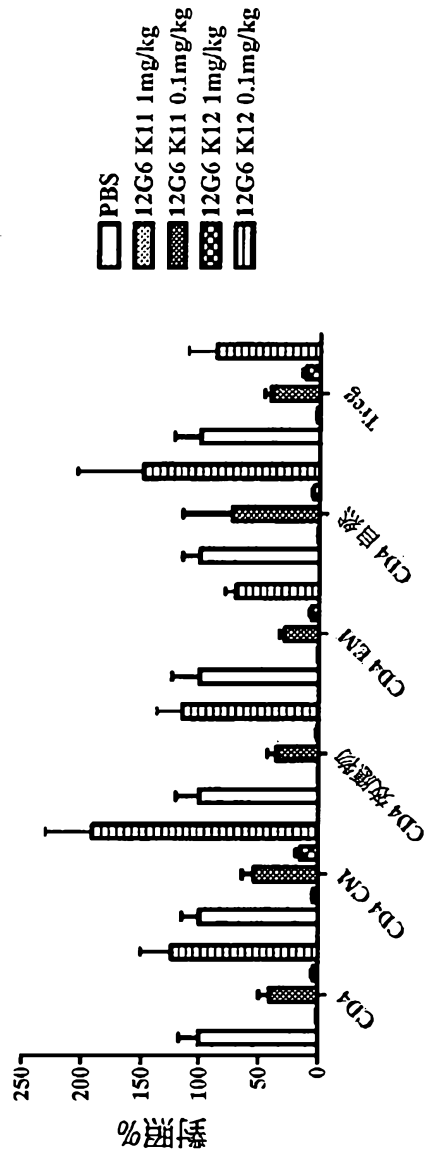
第71圖



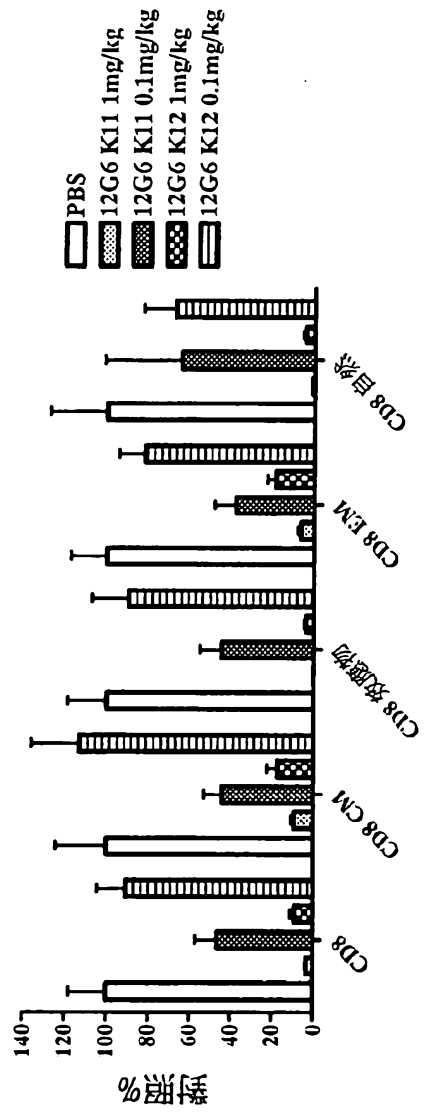
第72圖



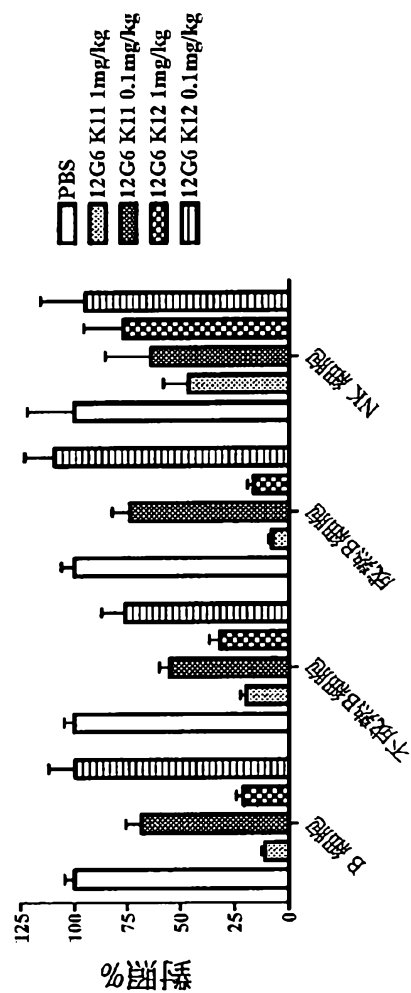
第73圖



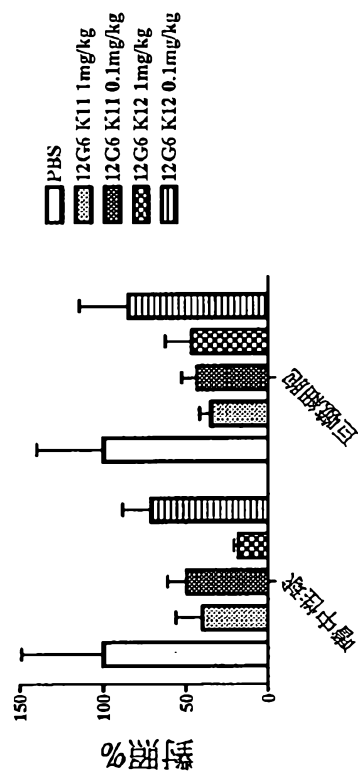
第74A圖



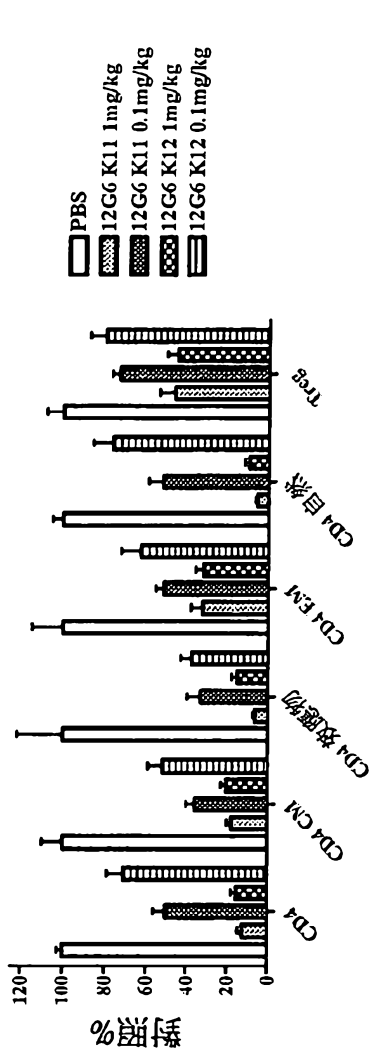
第74B圖



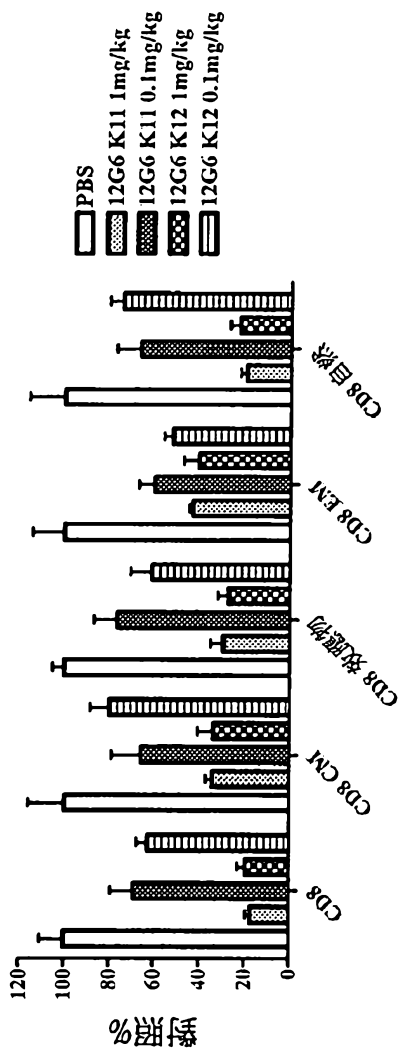
第74C圖



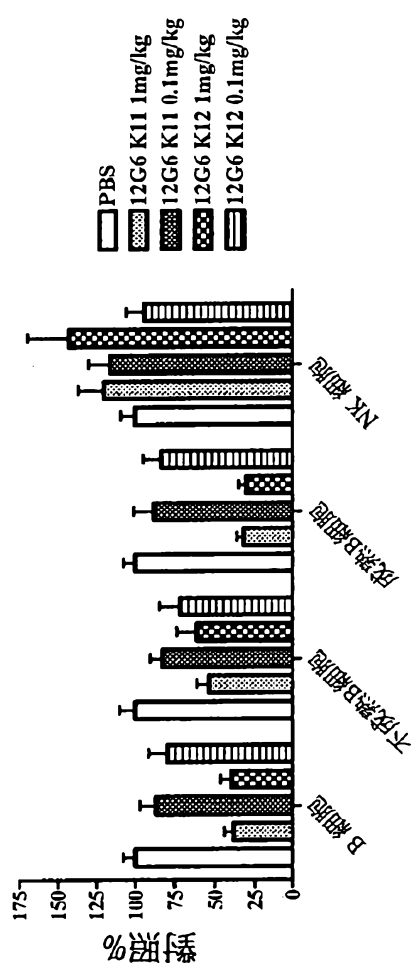
第74D圖



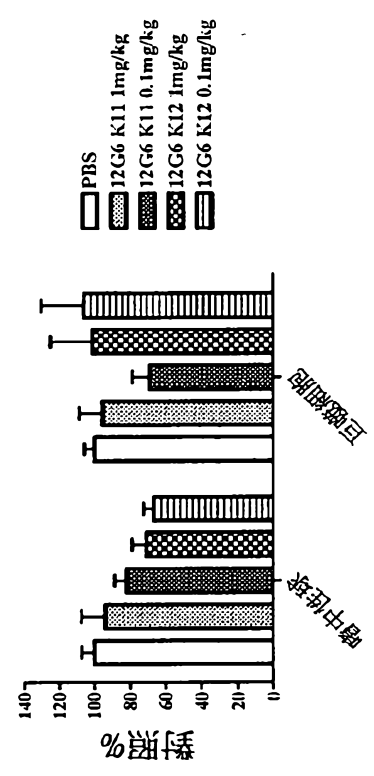
第75A圖



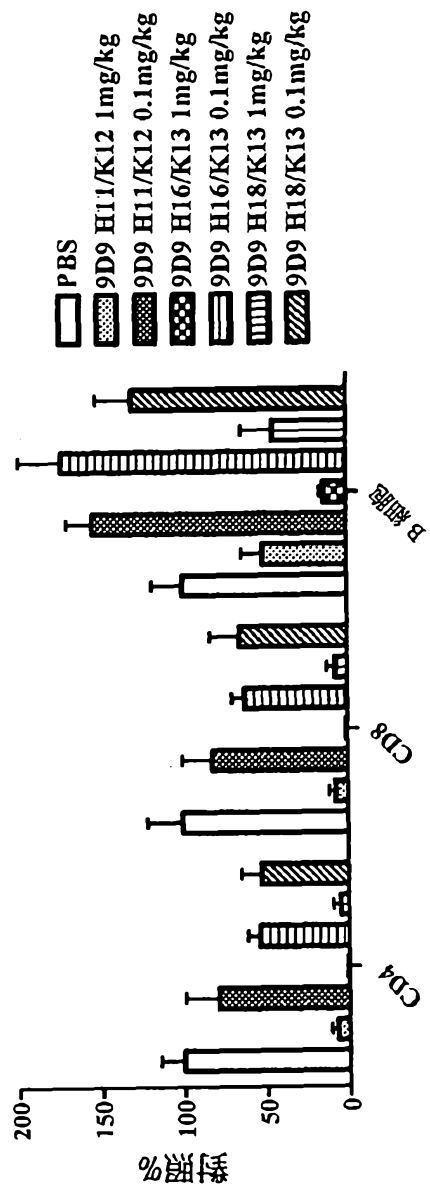
第75B圖



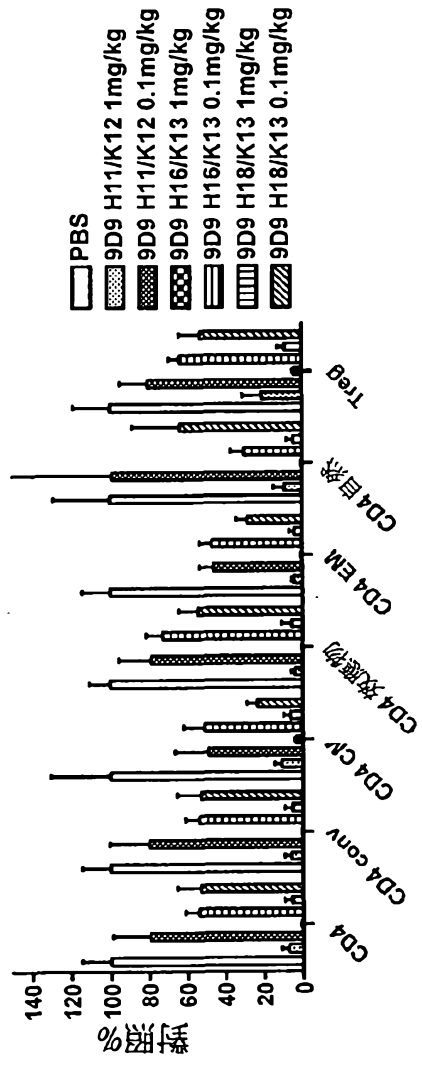
第75C圖



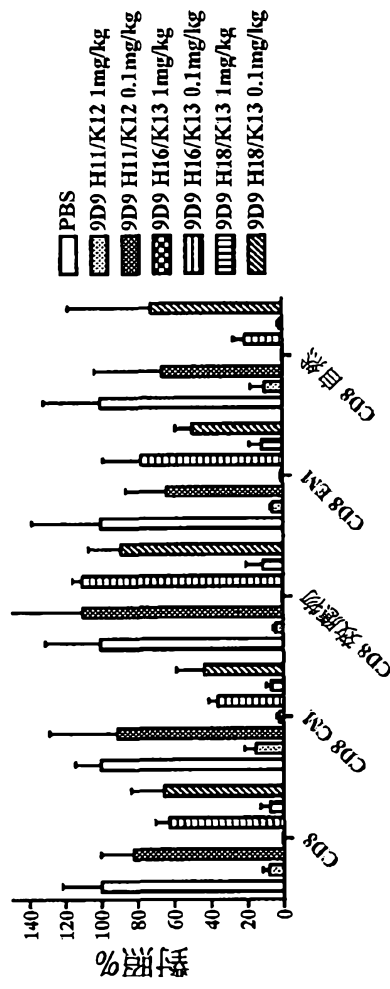
第75D圖



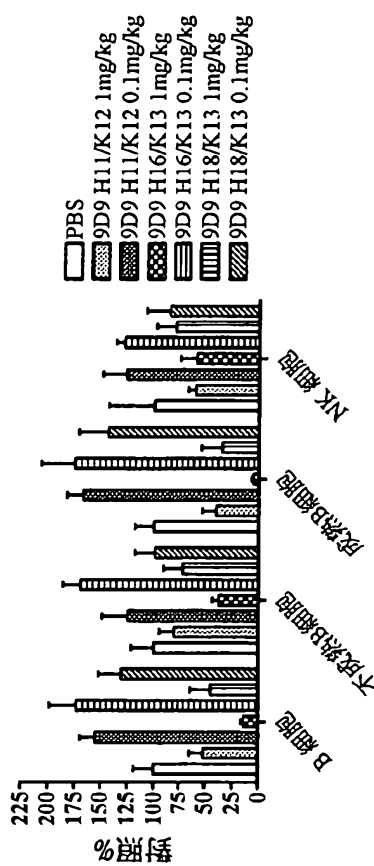
第76圖



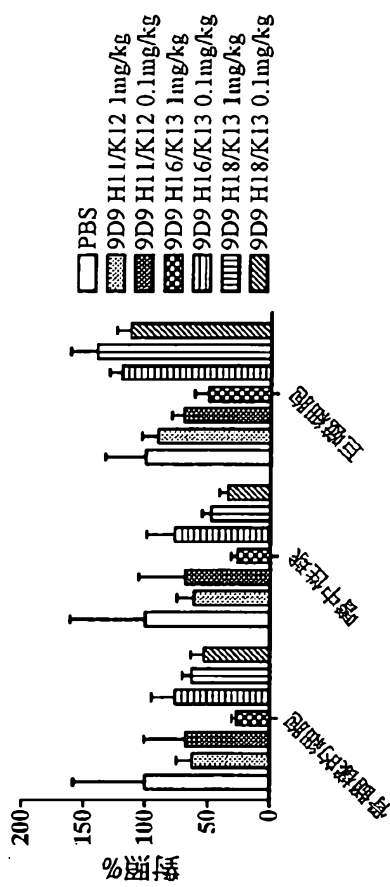
第77A圖



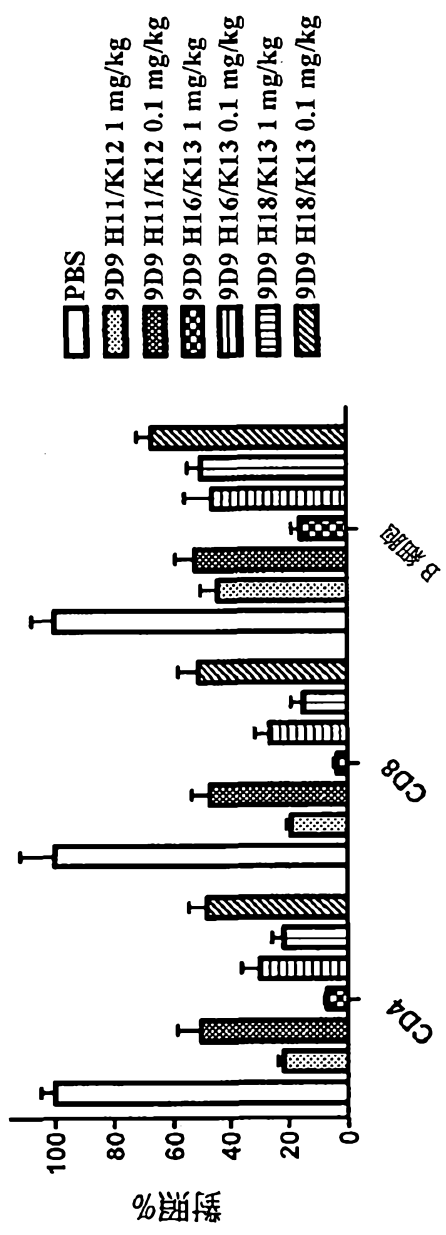
第77B圖



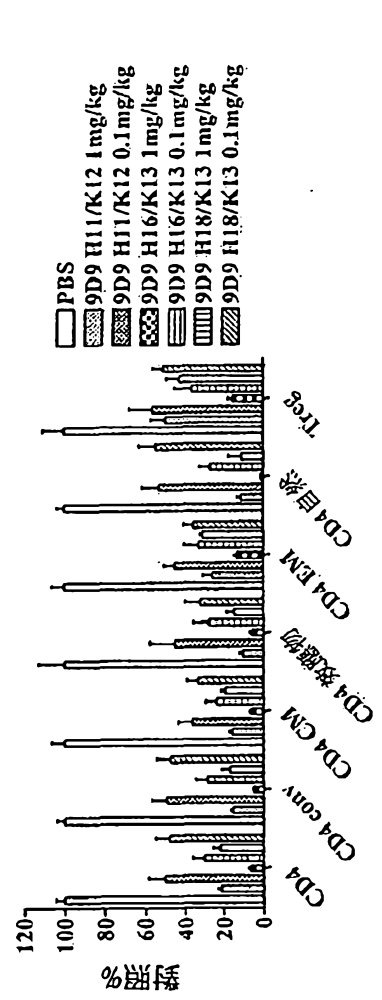
第77C圖



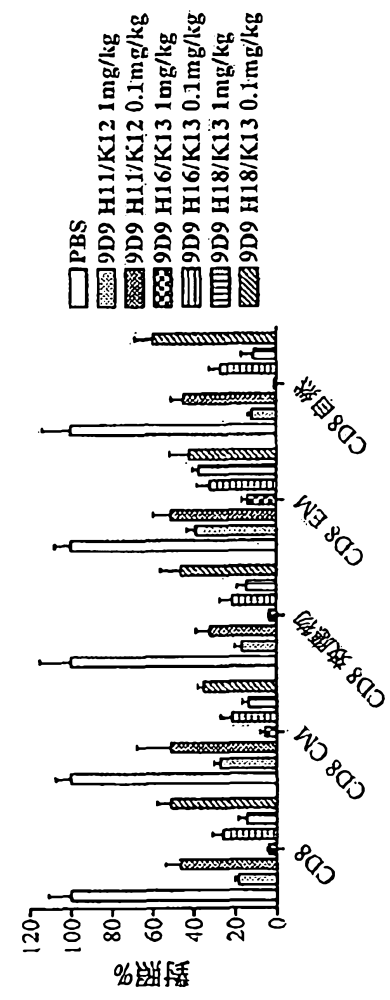
第77D圖



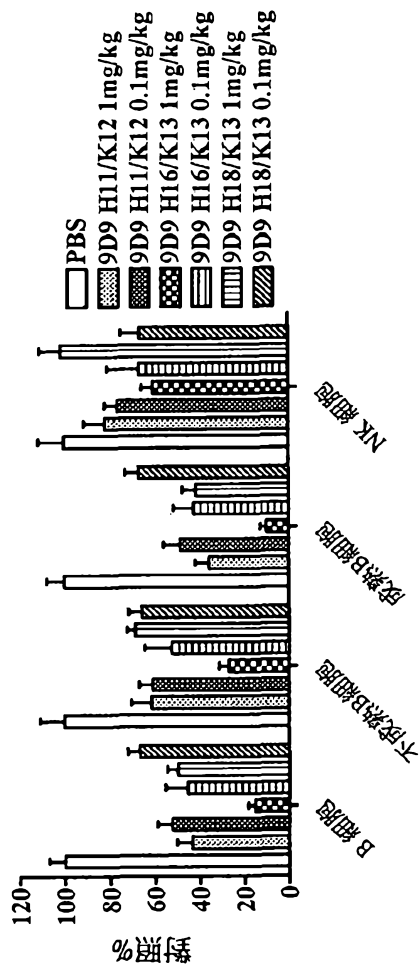
第78圖



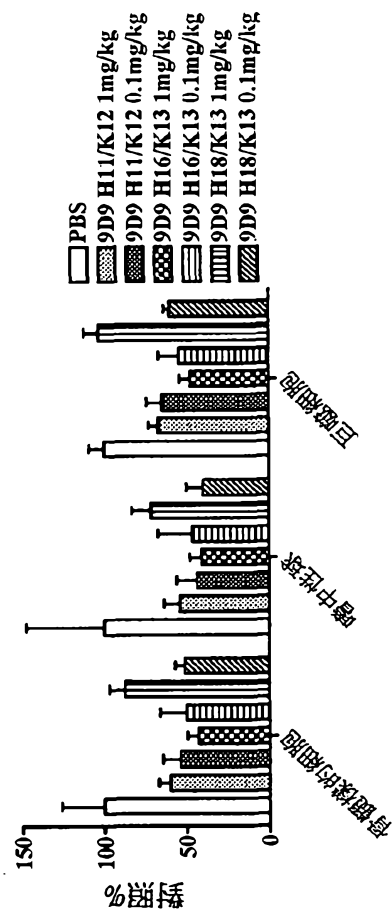
第79A圖



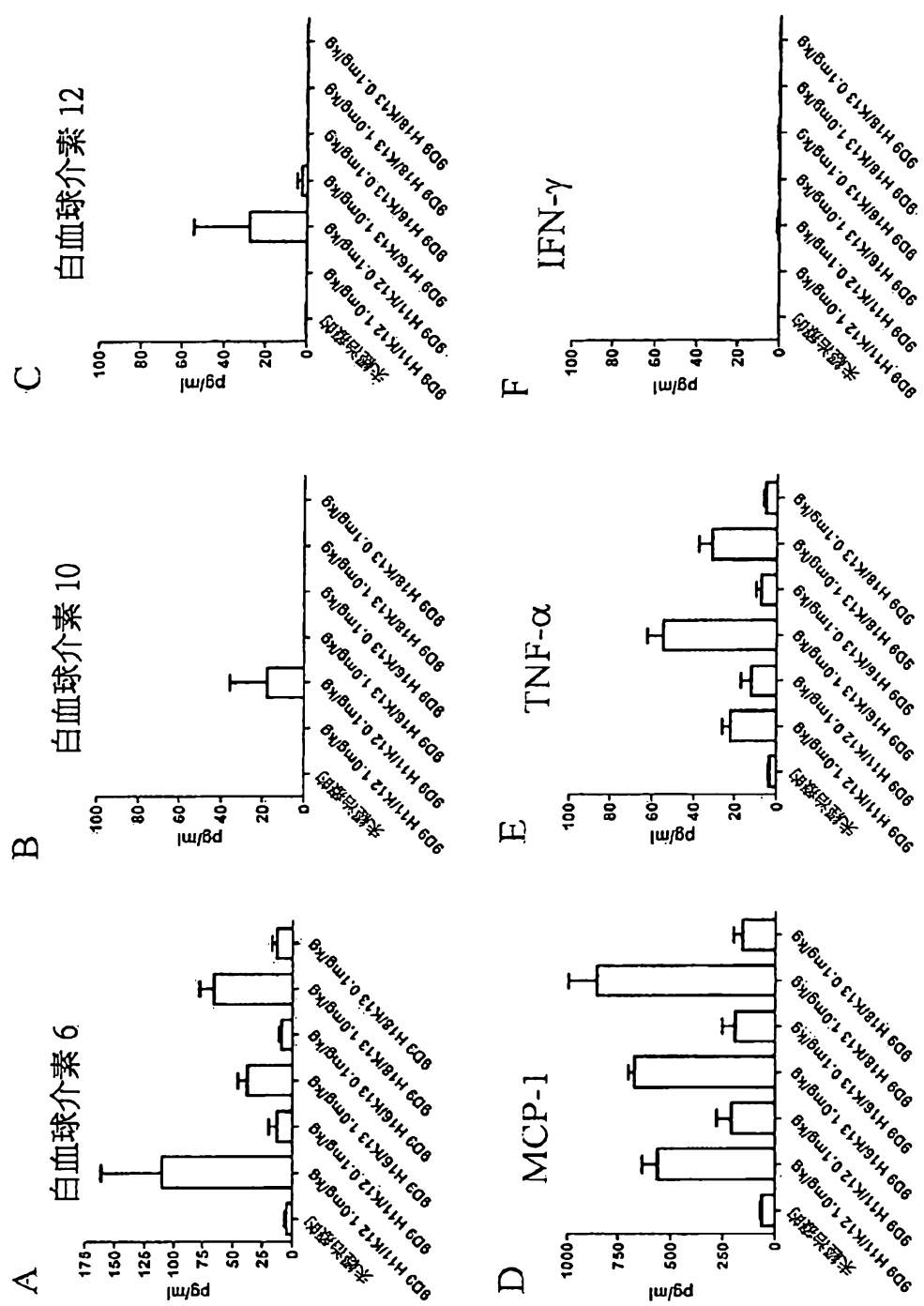
第79B圖



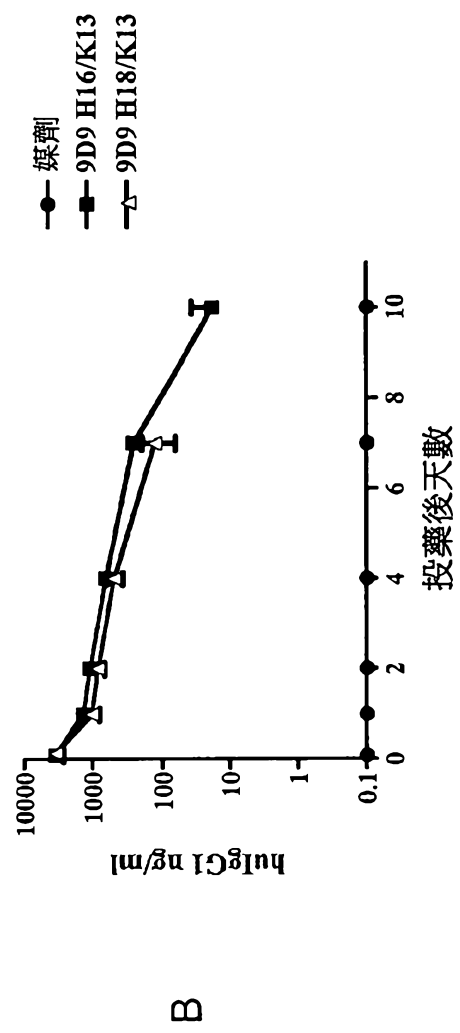
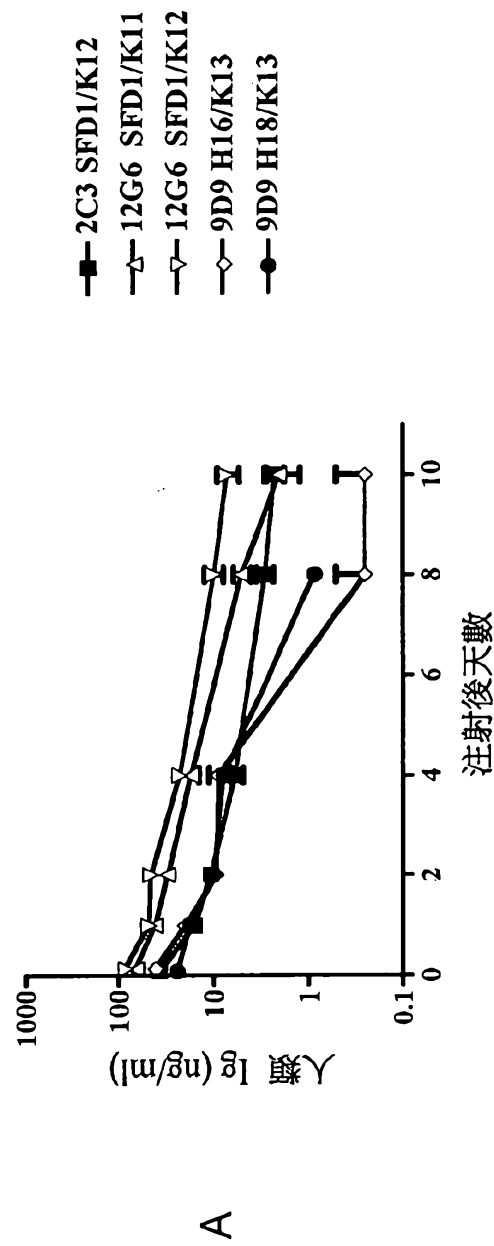
第79C圖



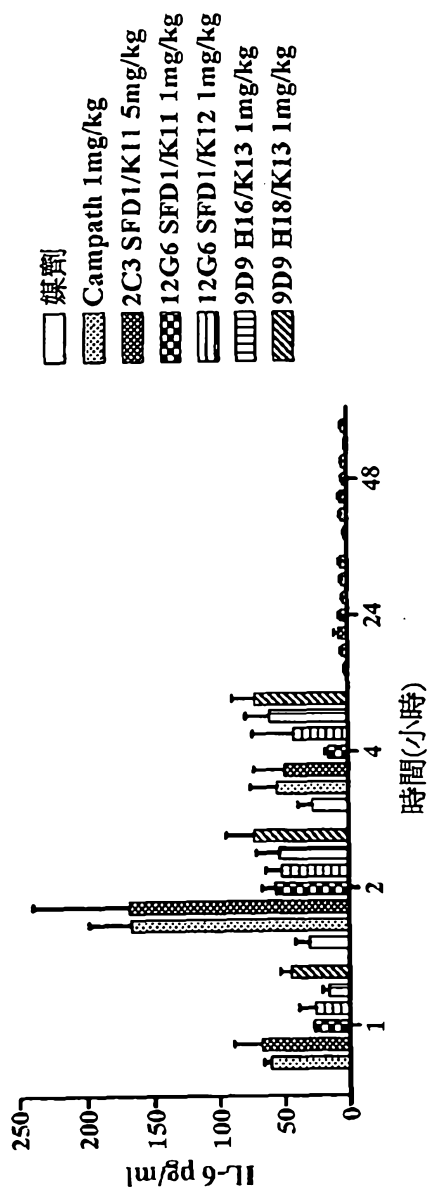
第79D圖



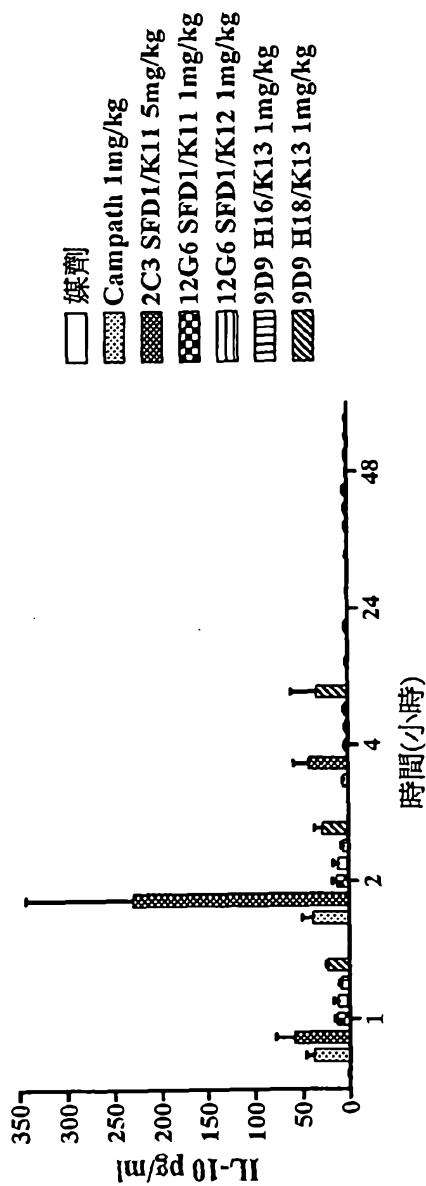
第80圖



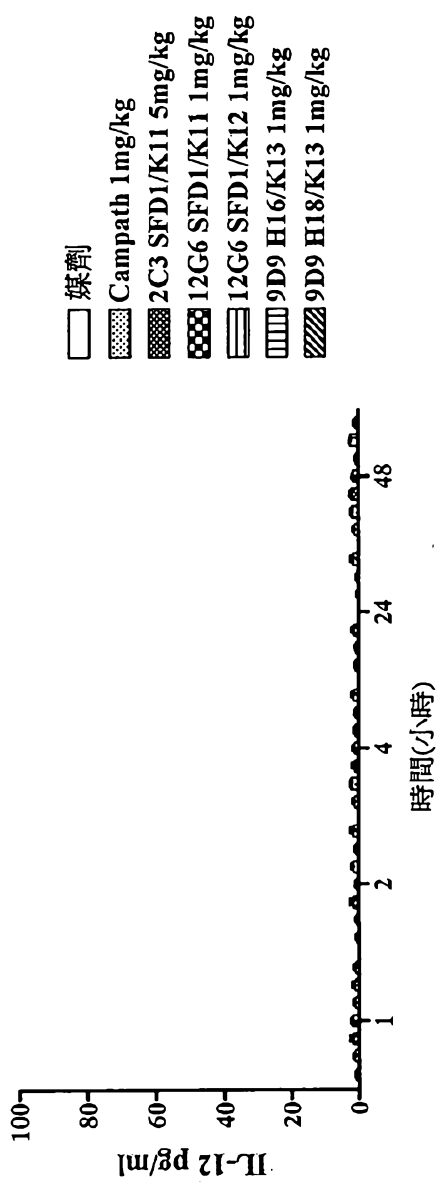
第81圖



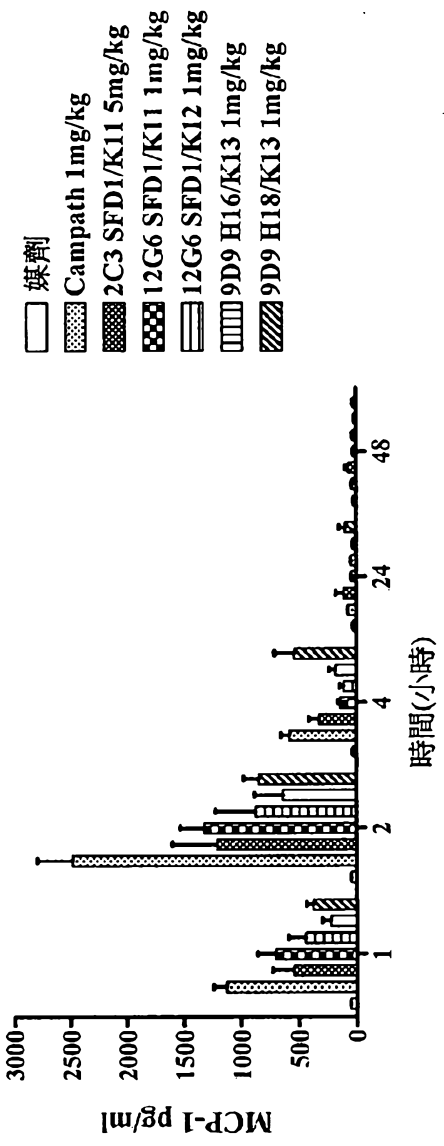
第82A圖



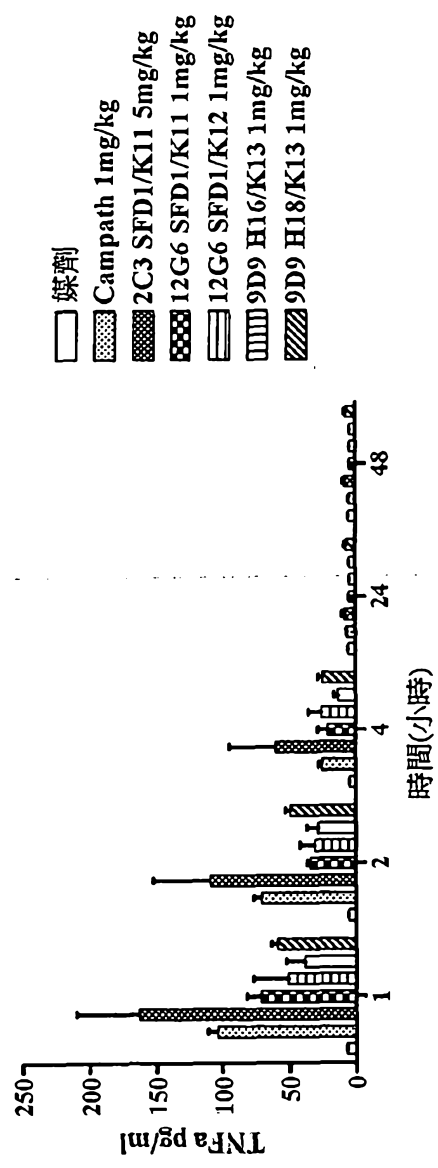
第82B圖



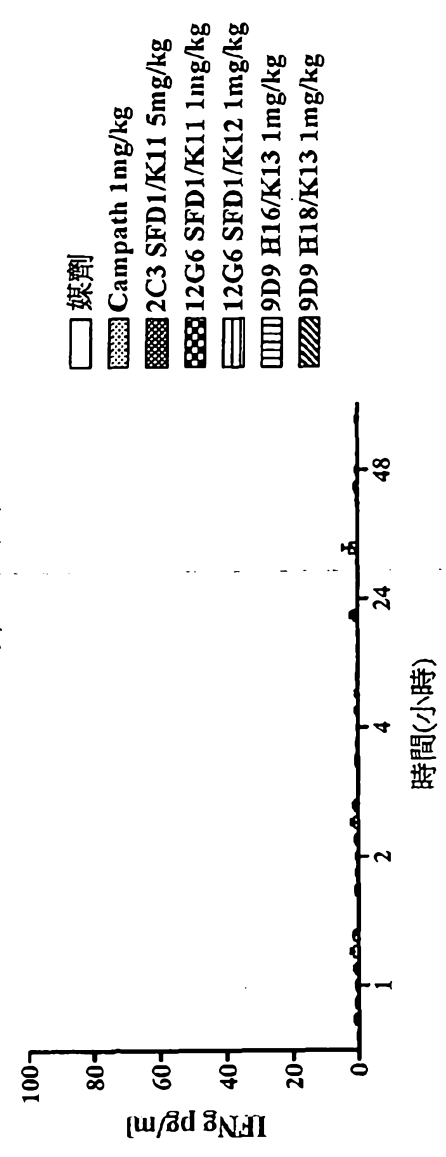
第82C圖



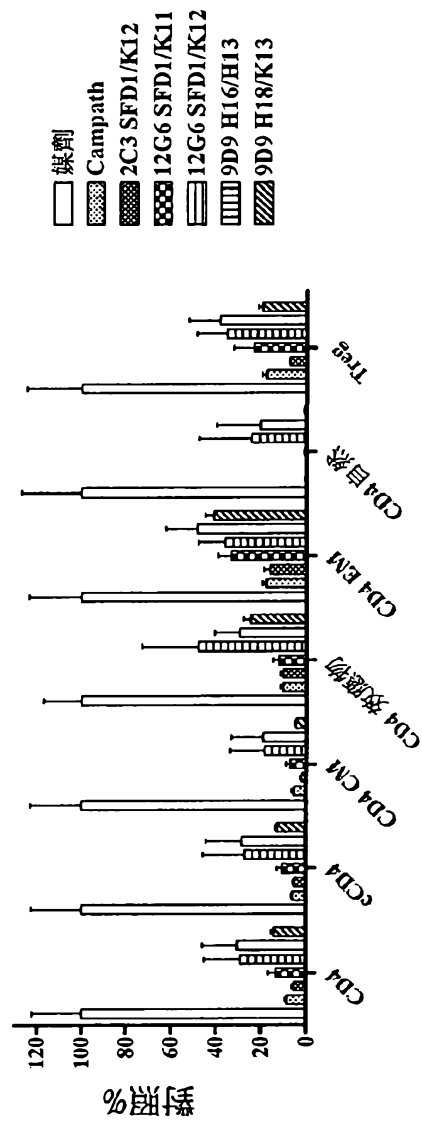
第82D圖



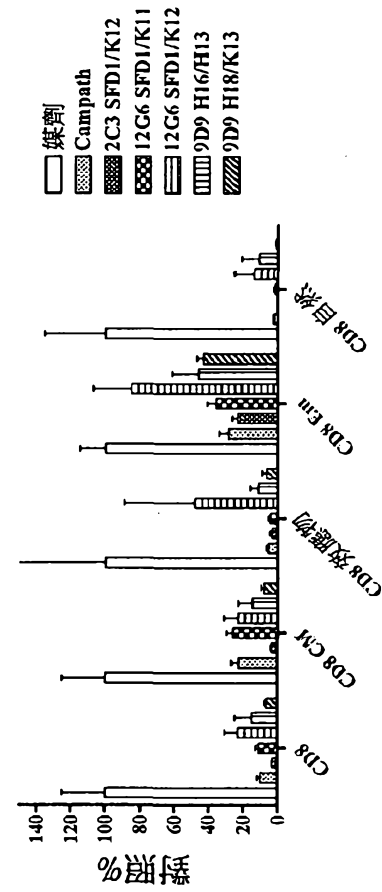
第82E圖



第82F圖



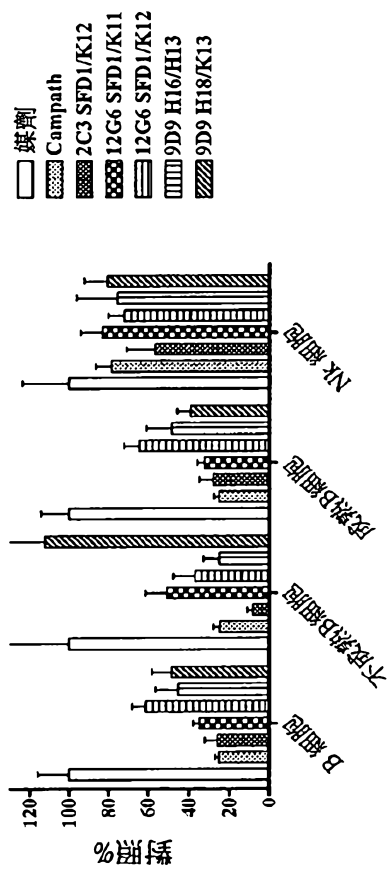
第83A圖



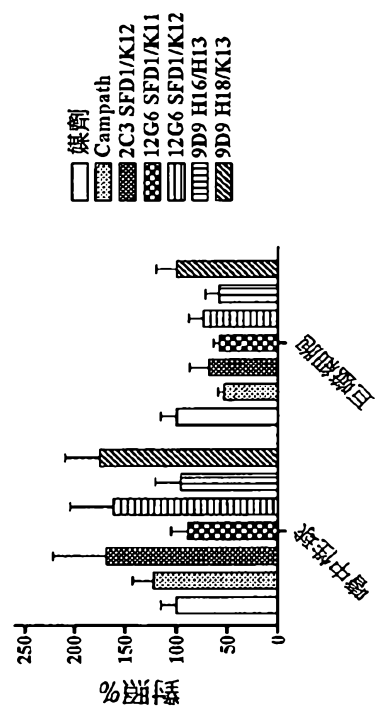
第83B圖



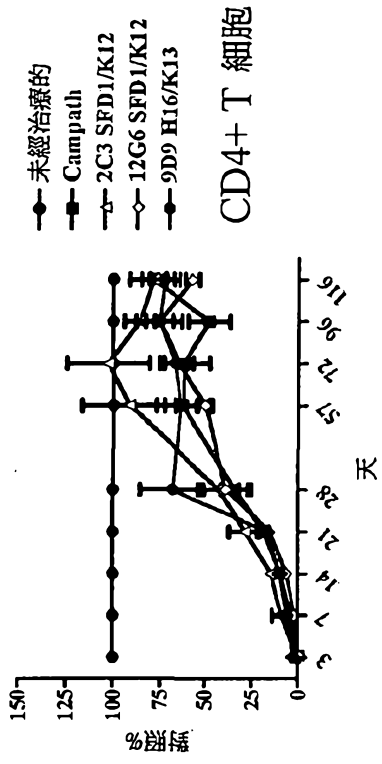
第83C圖



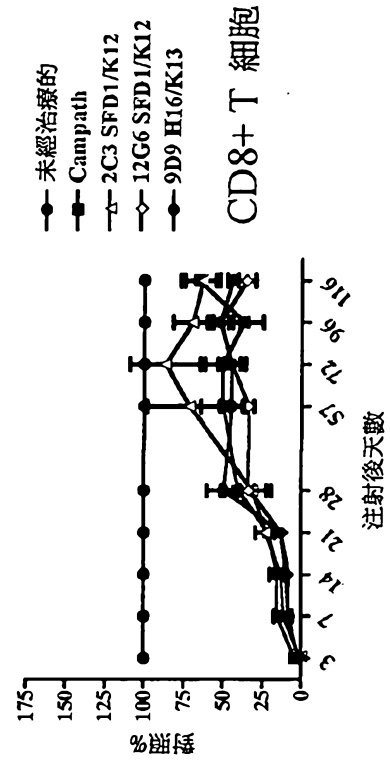
第83D圖



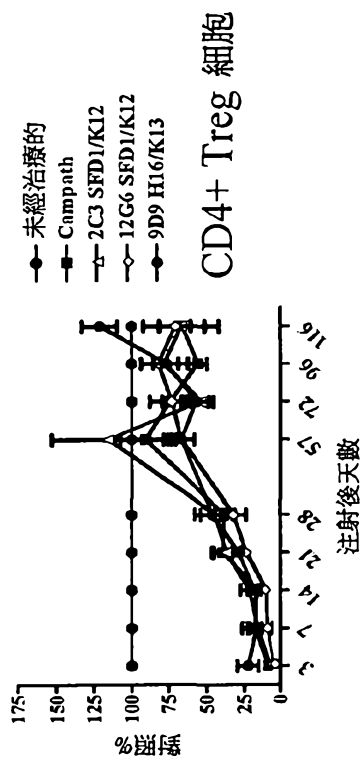
第83E圖



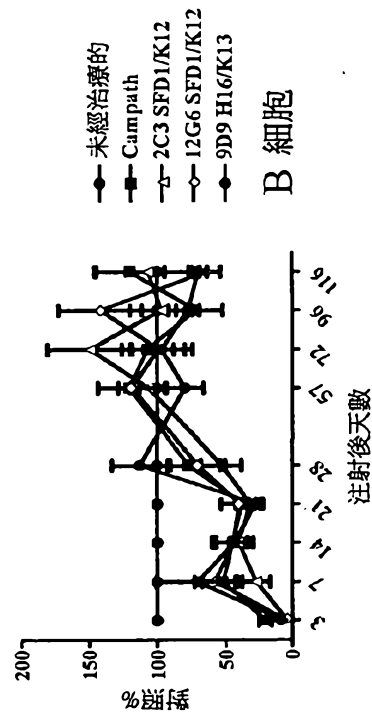
第84A圖



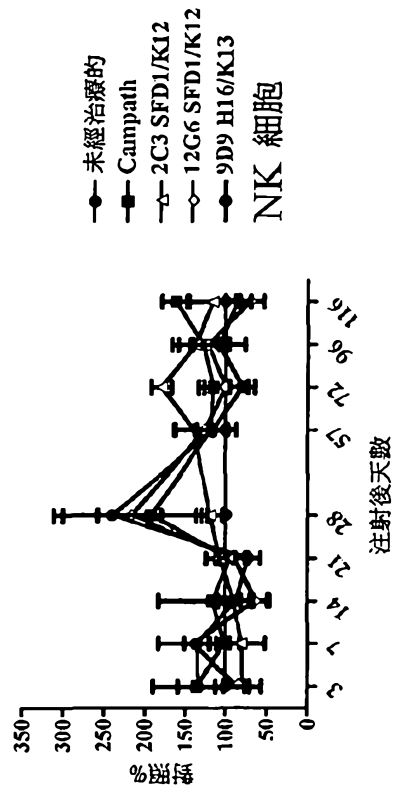
第84B圖



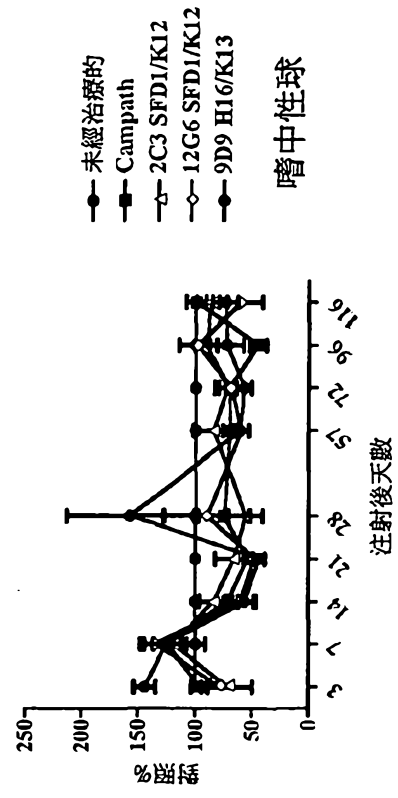
第84C圖



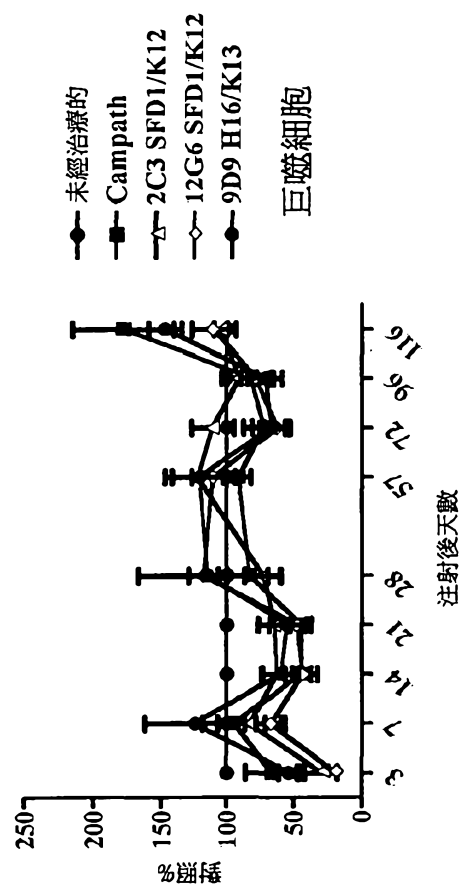
第84D圖



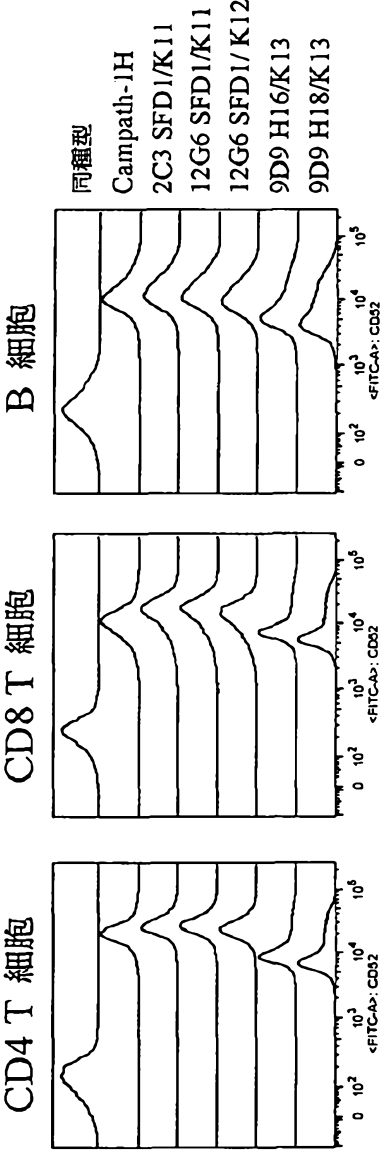
第84E圖



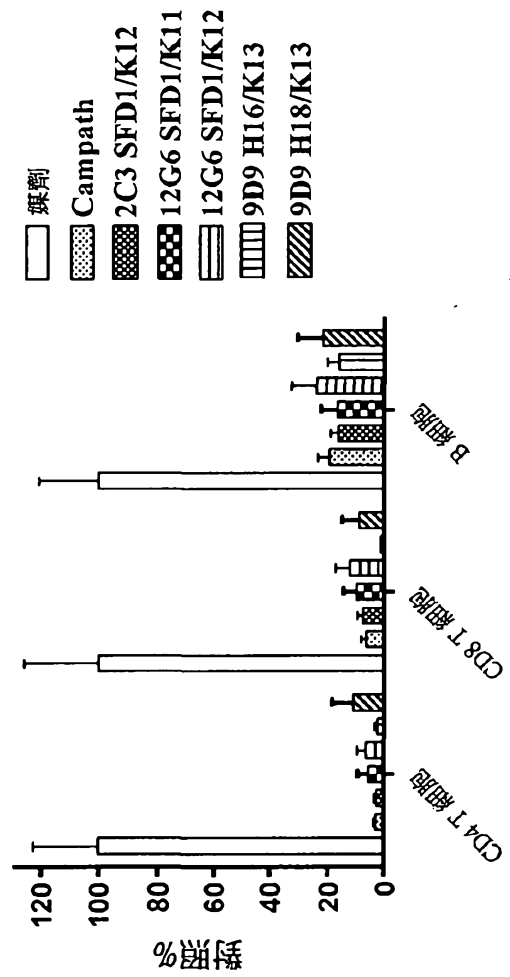
第84F圖



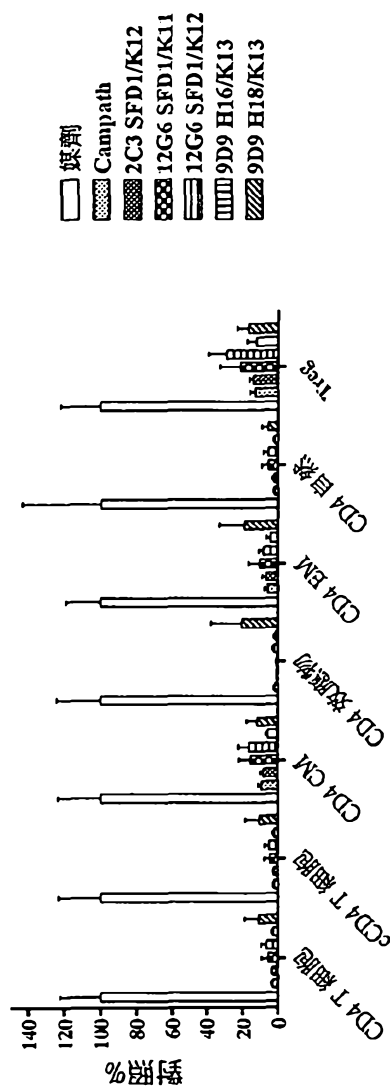
第84G圖



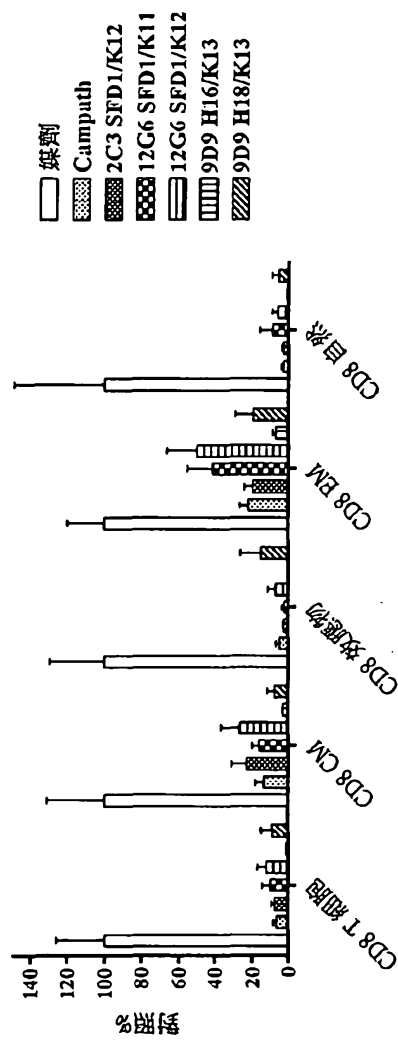
第85圖



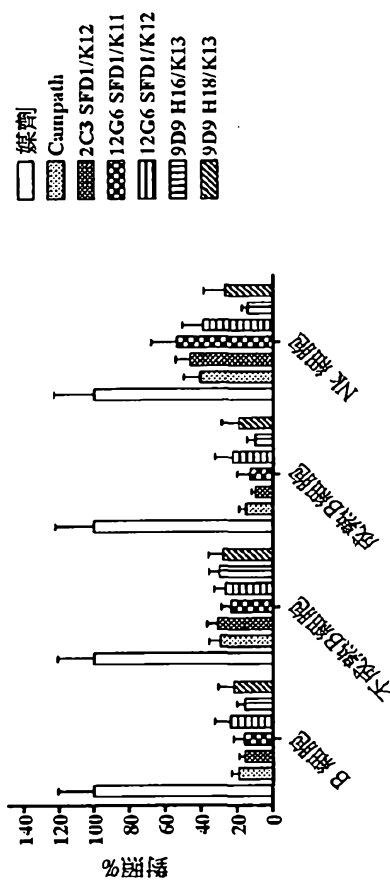
第86A圖



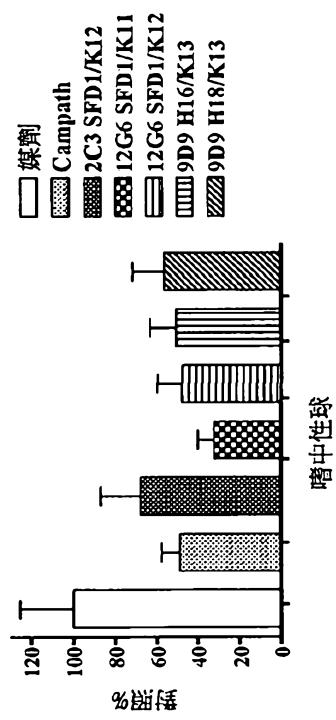
第86B圖



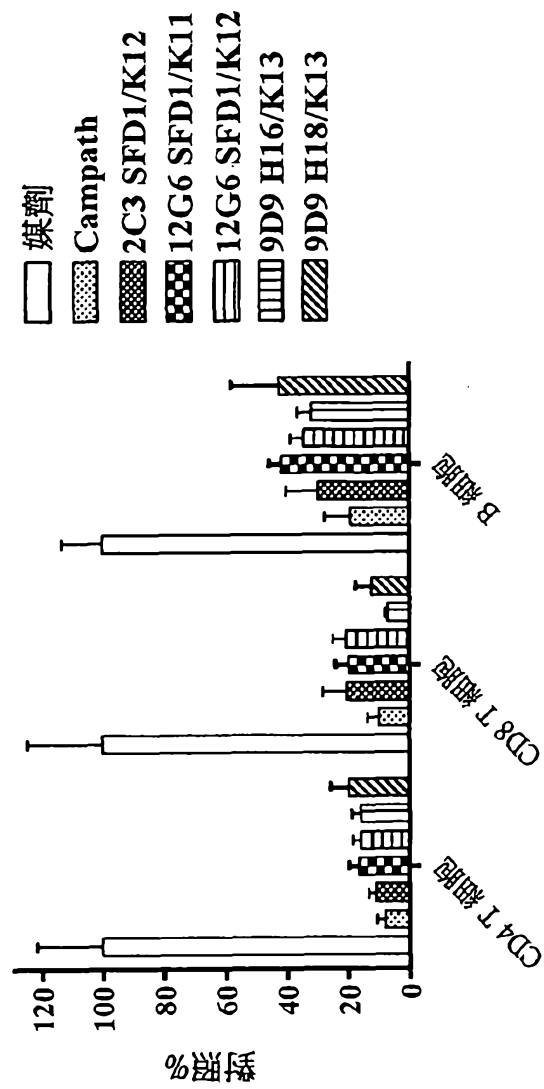
第86C圖



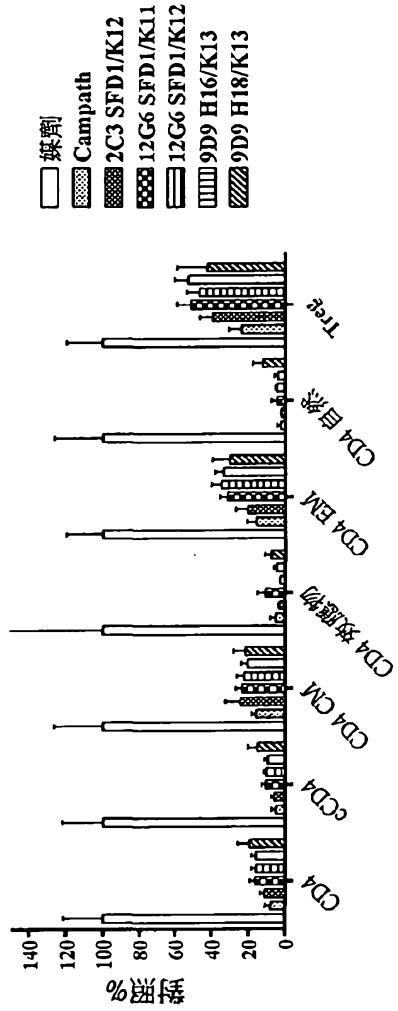
第86D圖



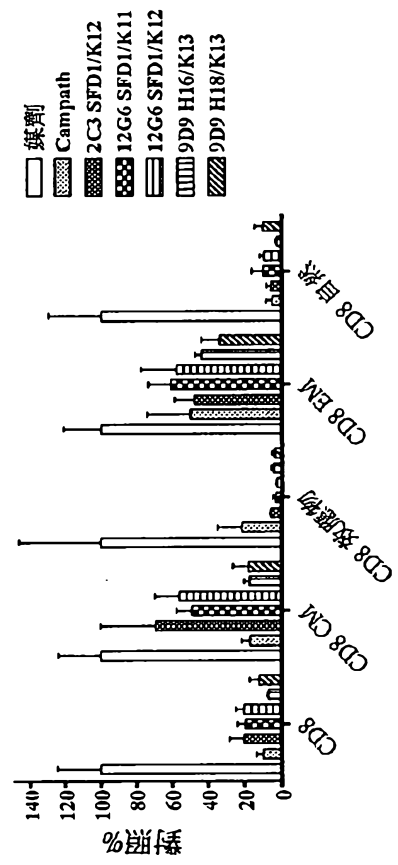
第86E圖



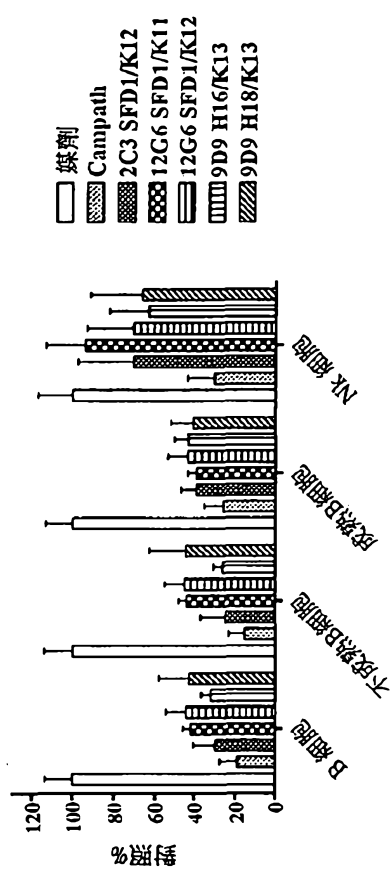
第87A圖



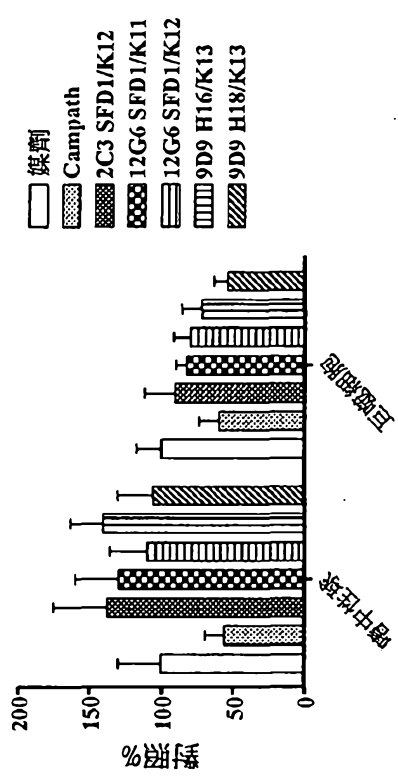
第87B圖



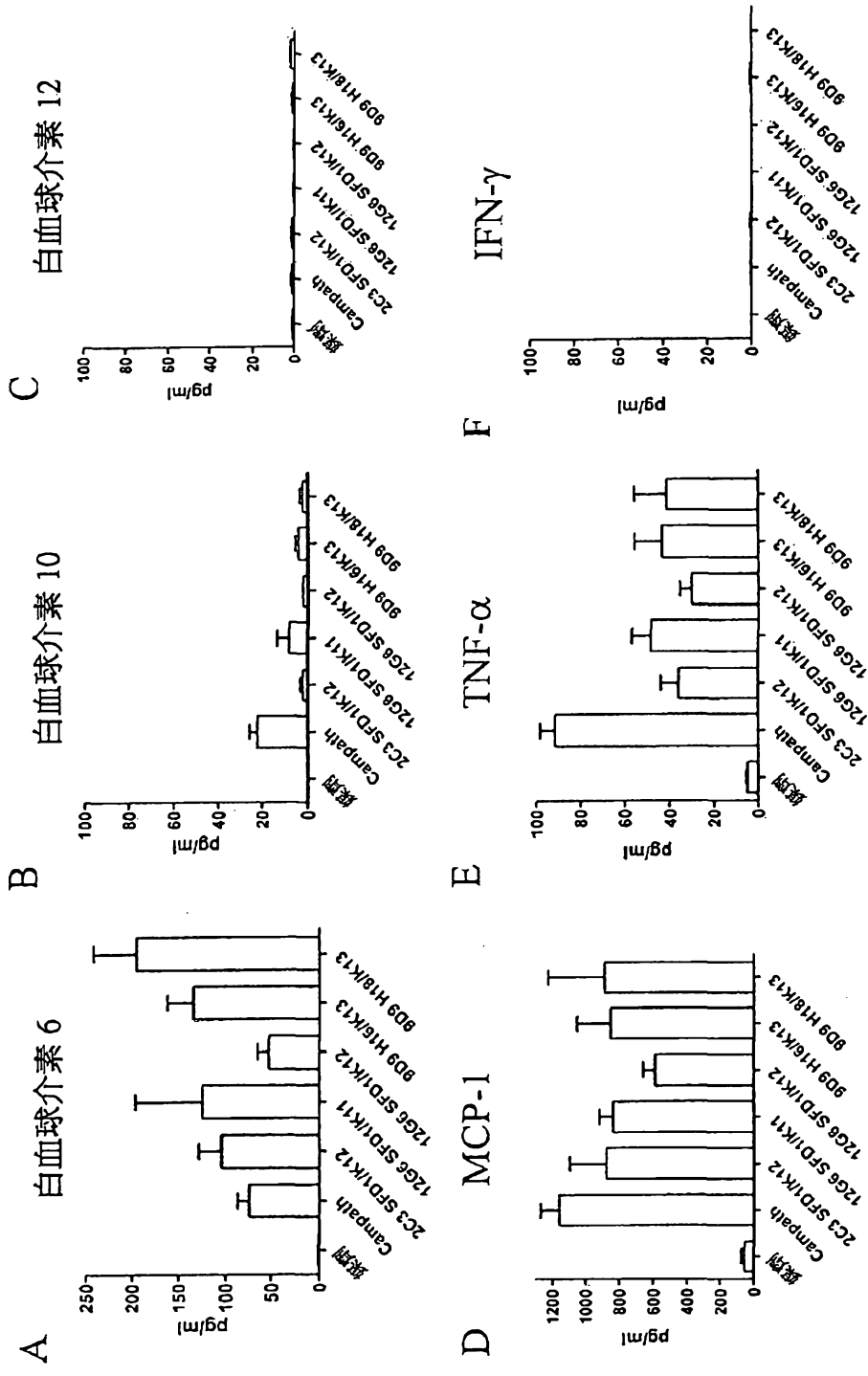
第87C圖



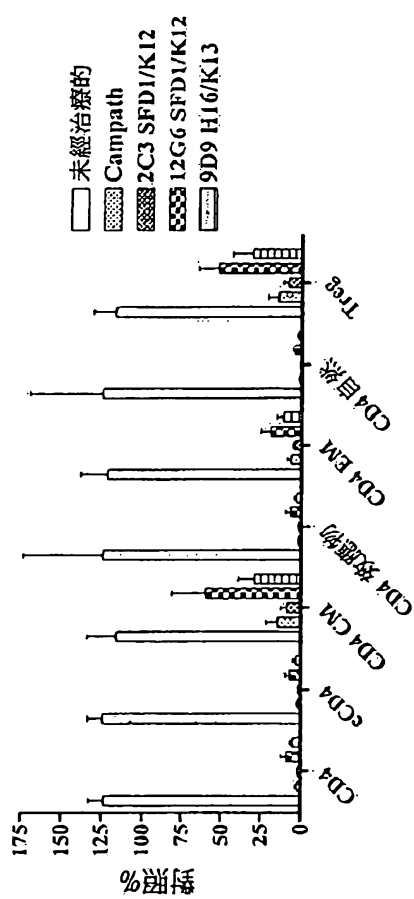
第87D圖



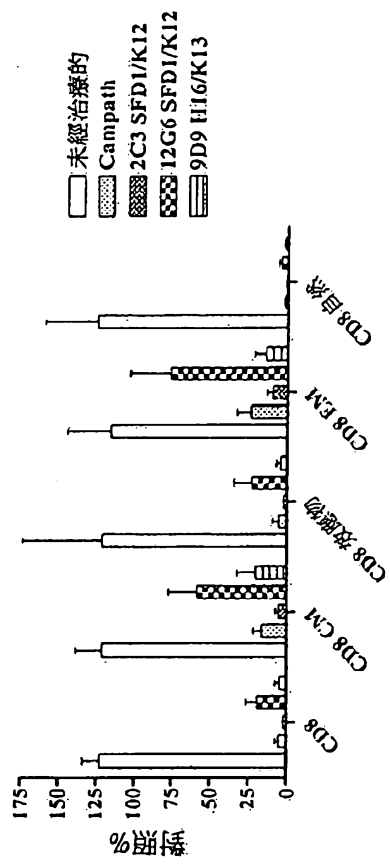
第87E圖



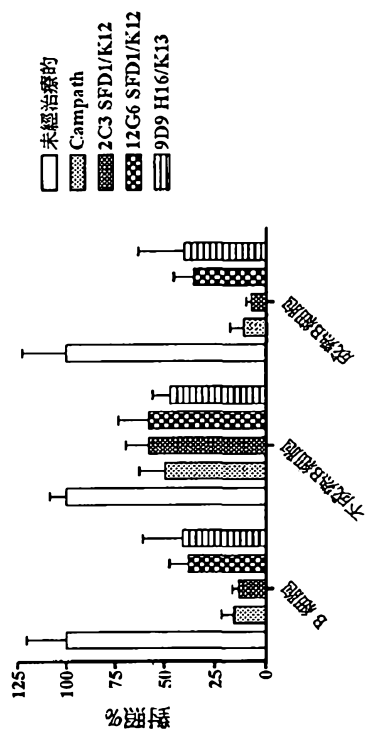
第88圖



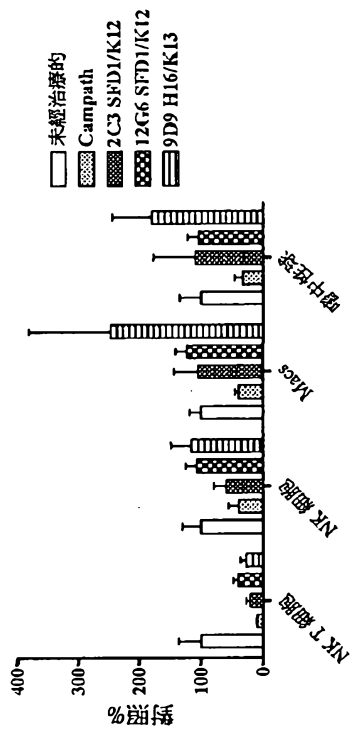
第89A圖



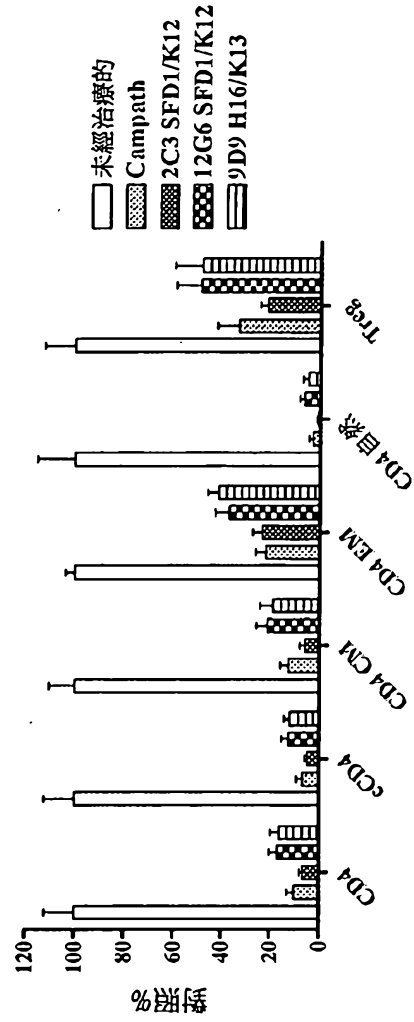
第89B圖



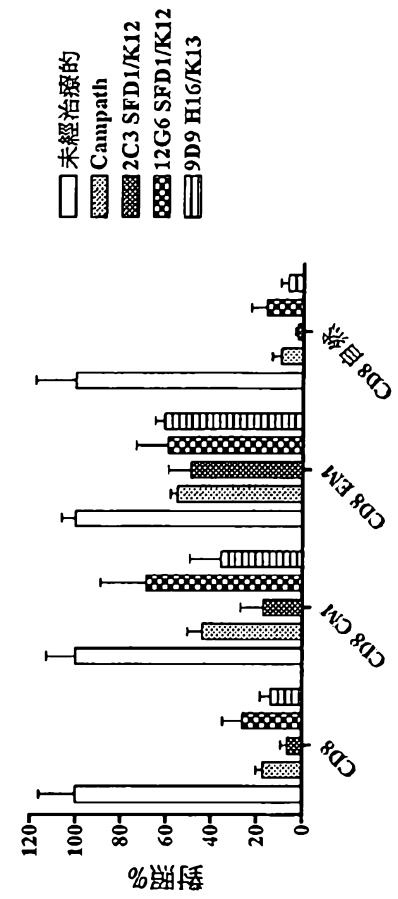
第89C圖



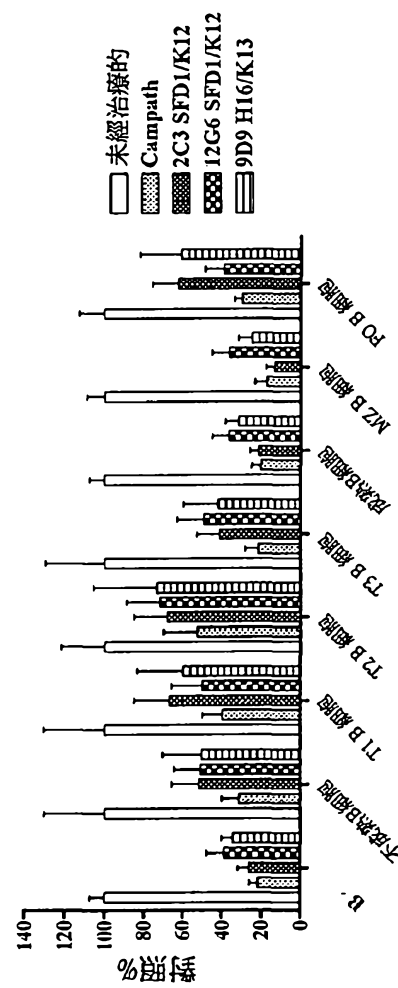
第89D圖



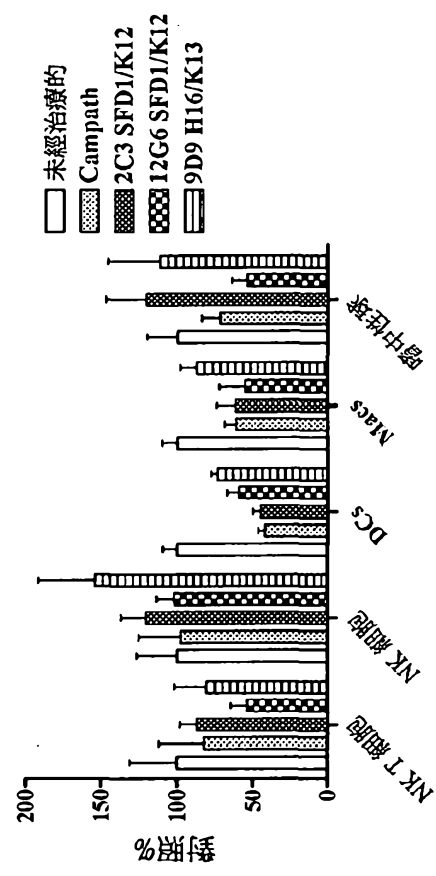
第90A圖



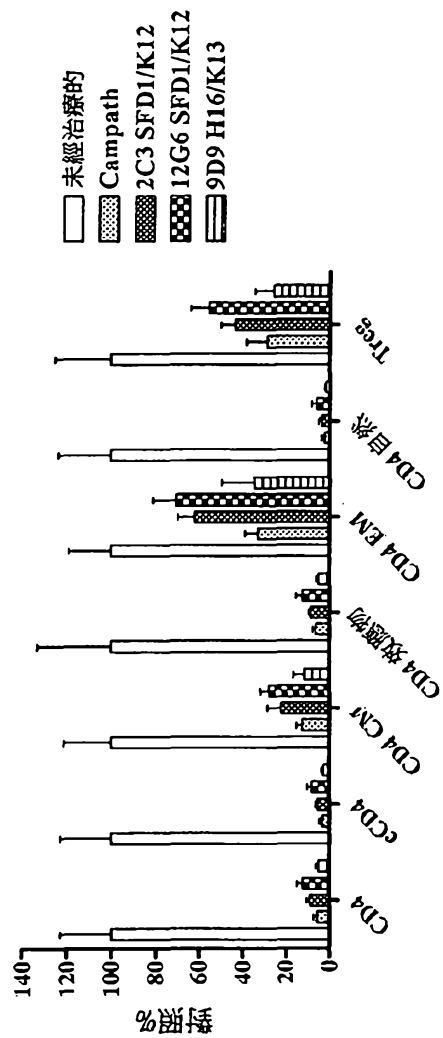
第90B圖



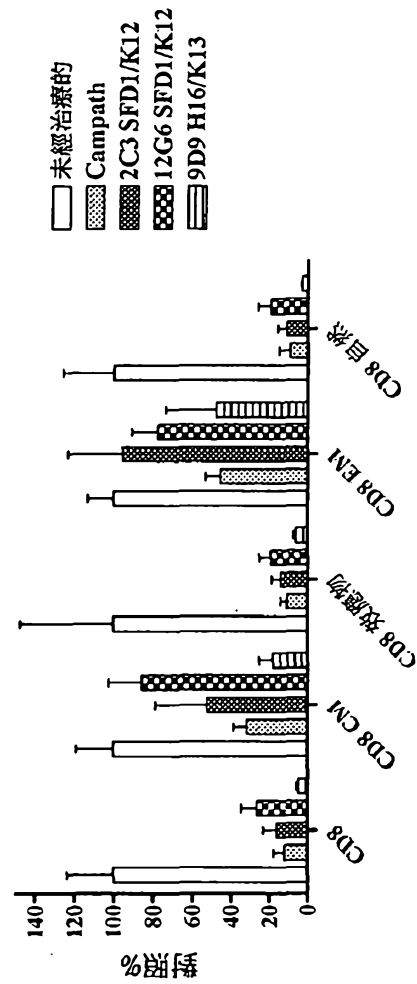
第90C圖



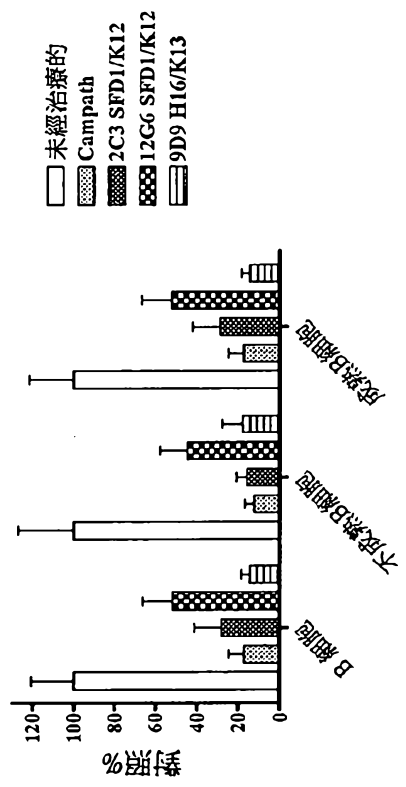
第90D圖



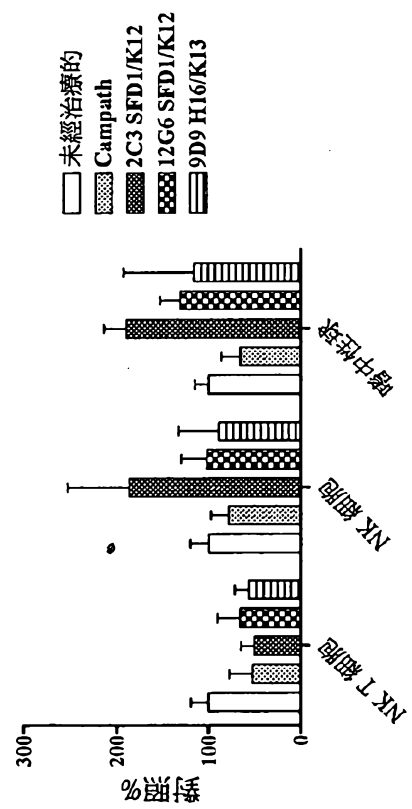
第91A圖



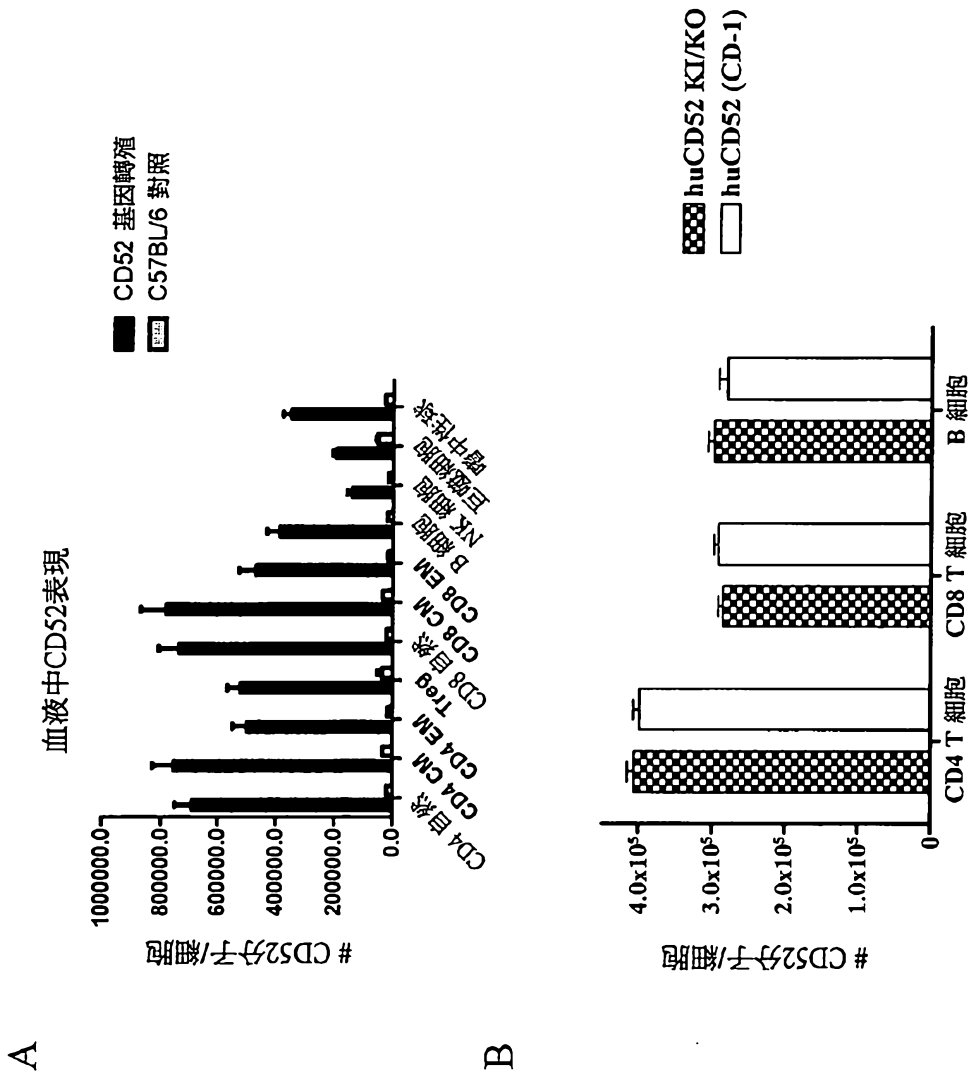
第91B圖



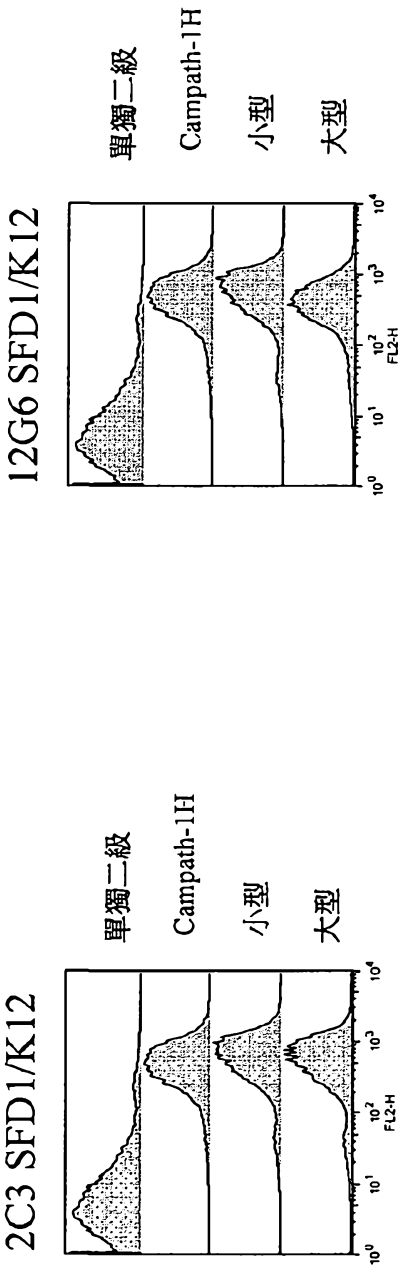
第91C圖



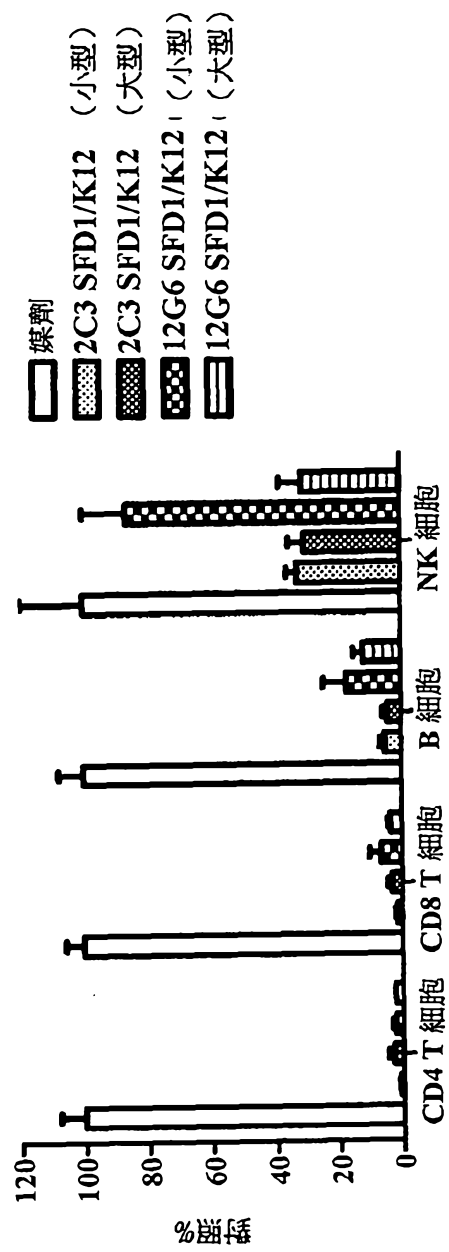
第91D圖



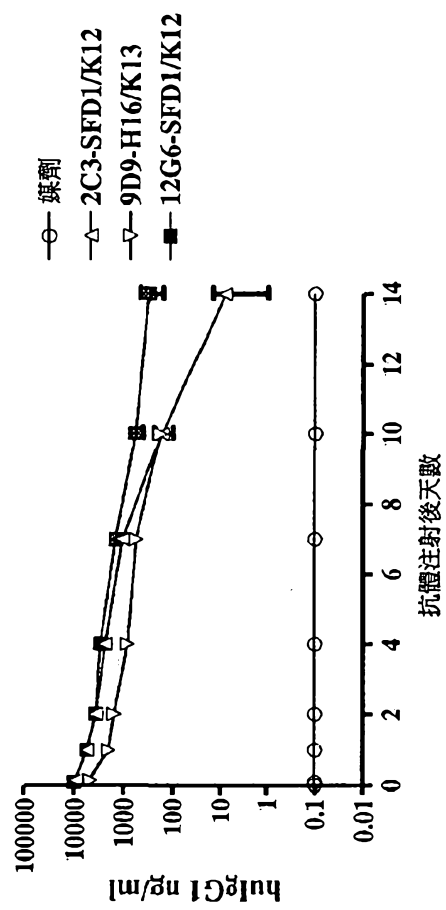
第92圖



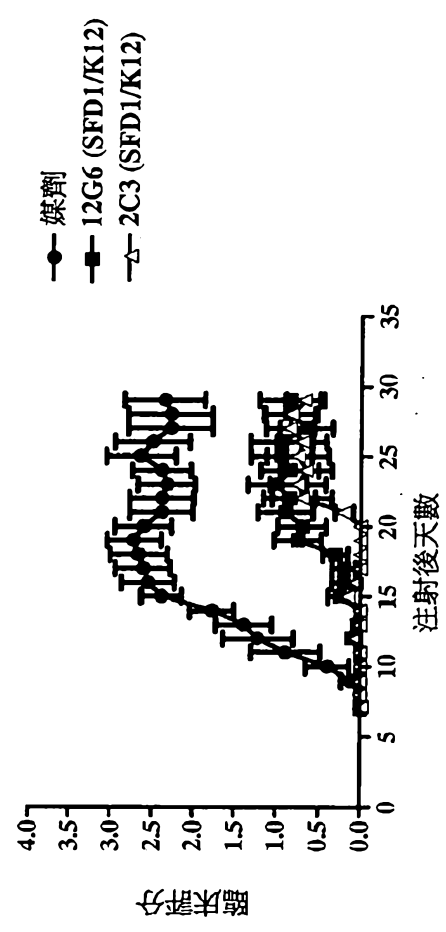
第93圖



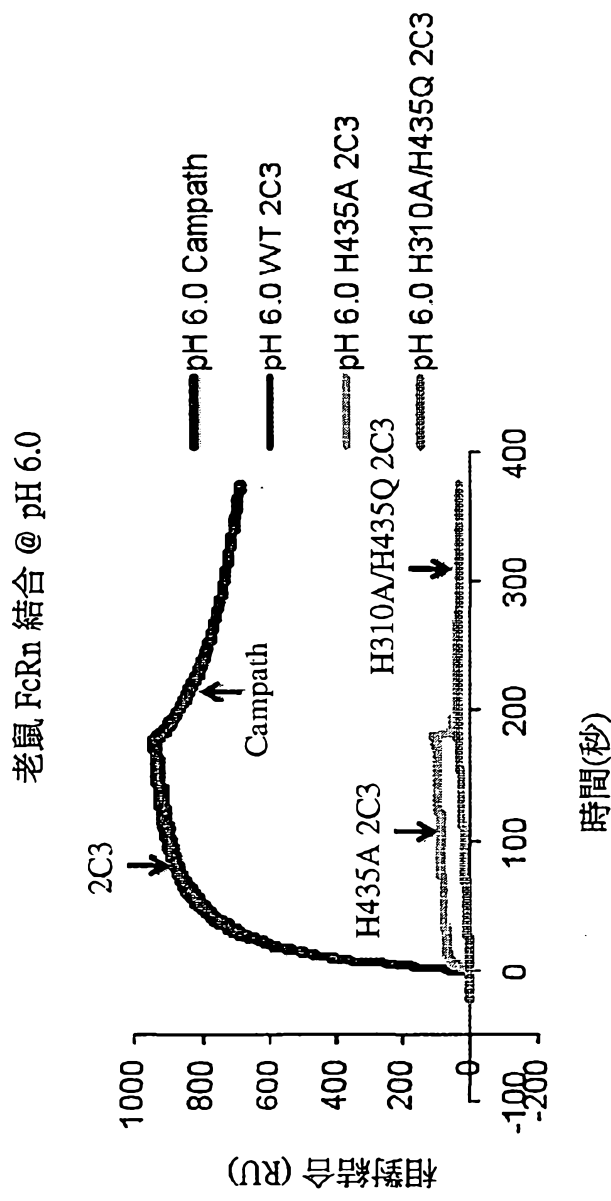
第94圖



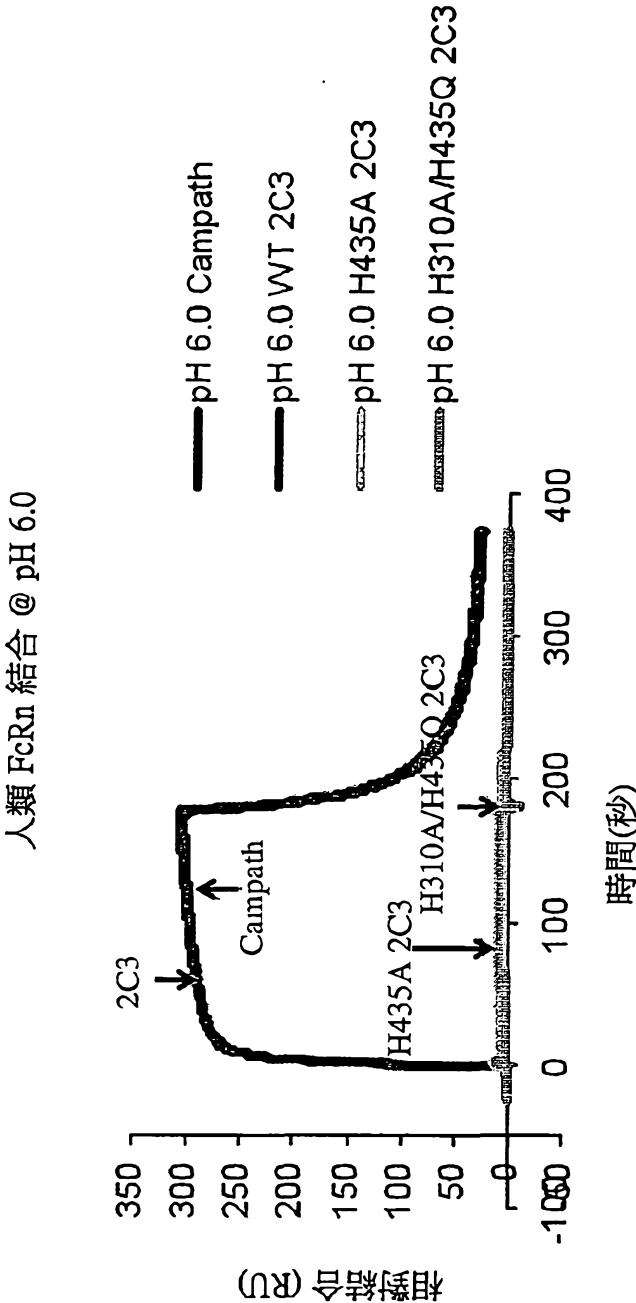
第95圖



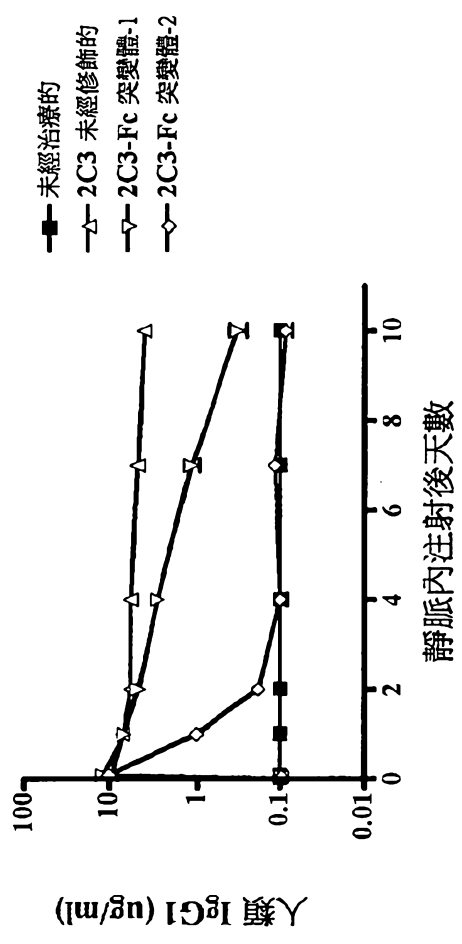
第96圖



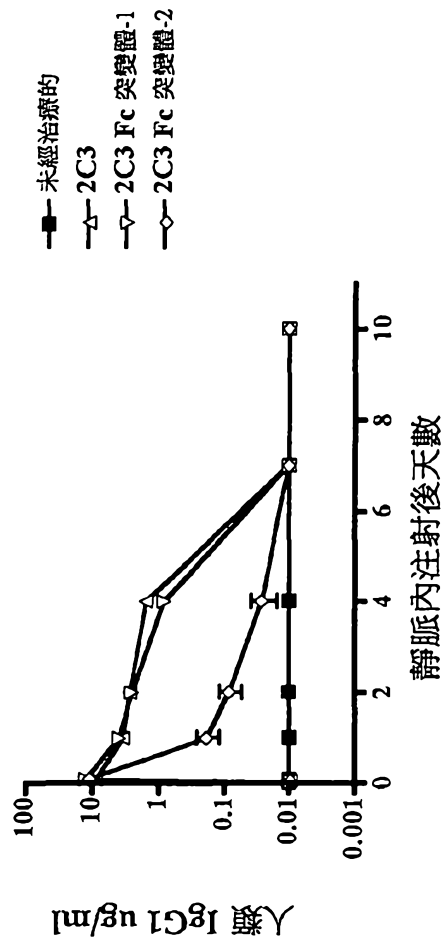
第97A圖



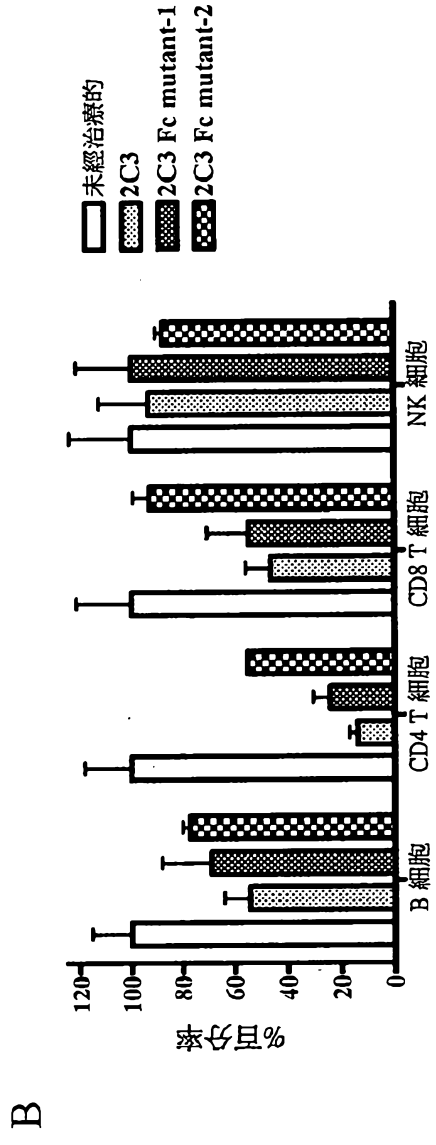
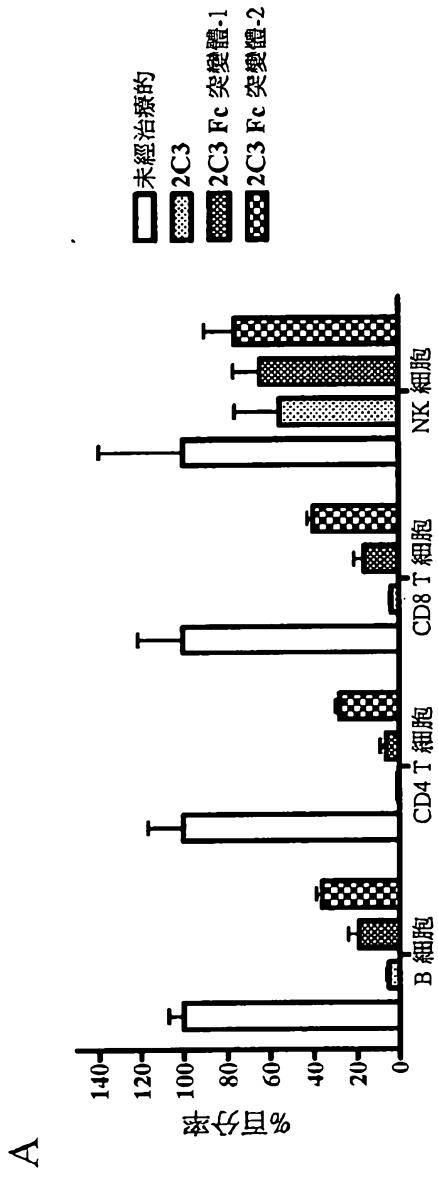
第97B圖



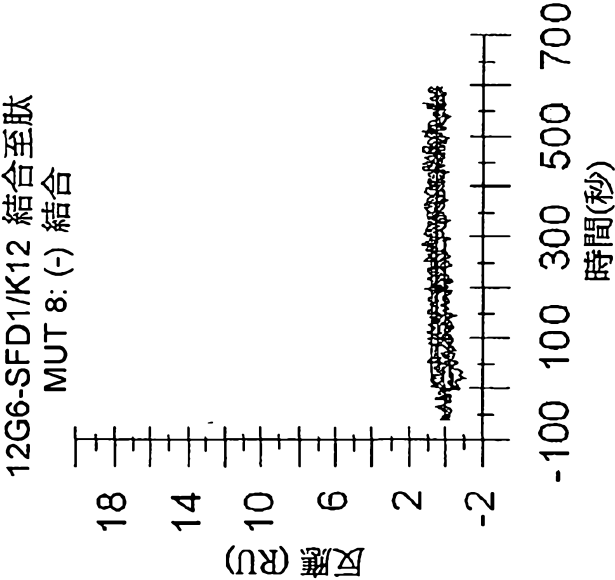
第98圖



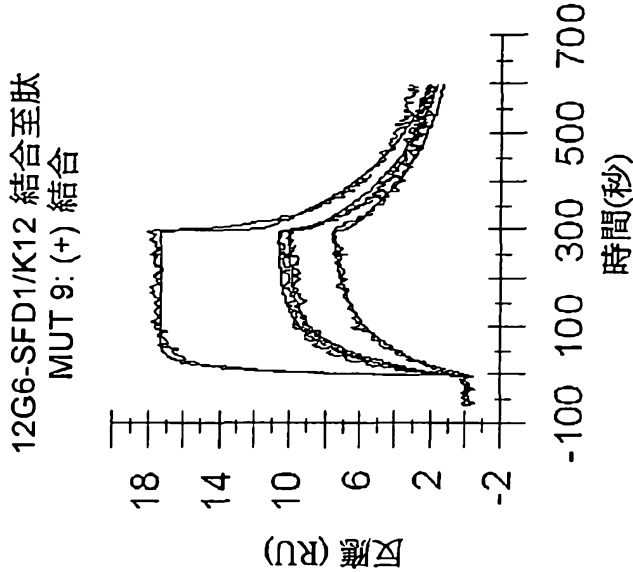
第99圖



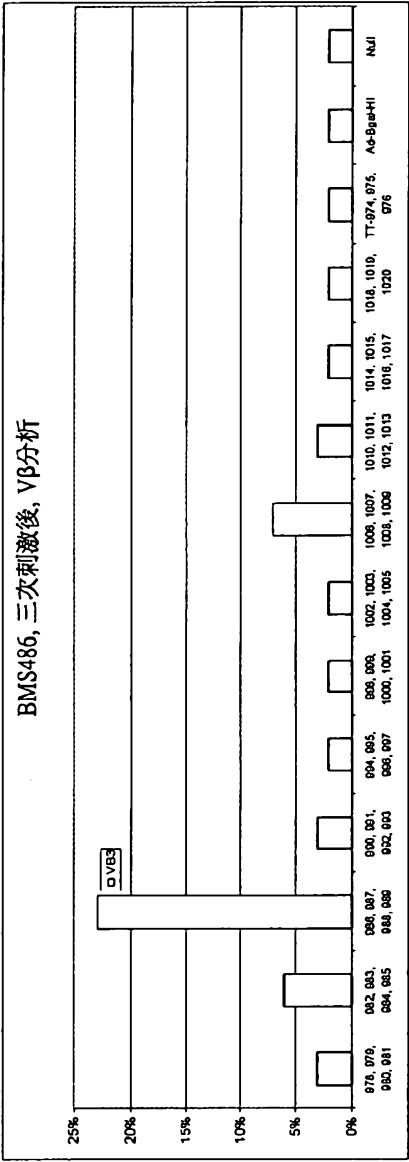
第100圖



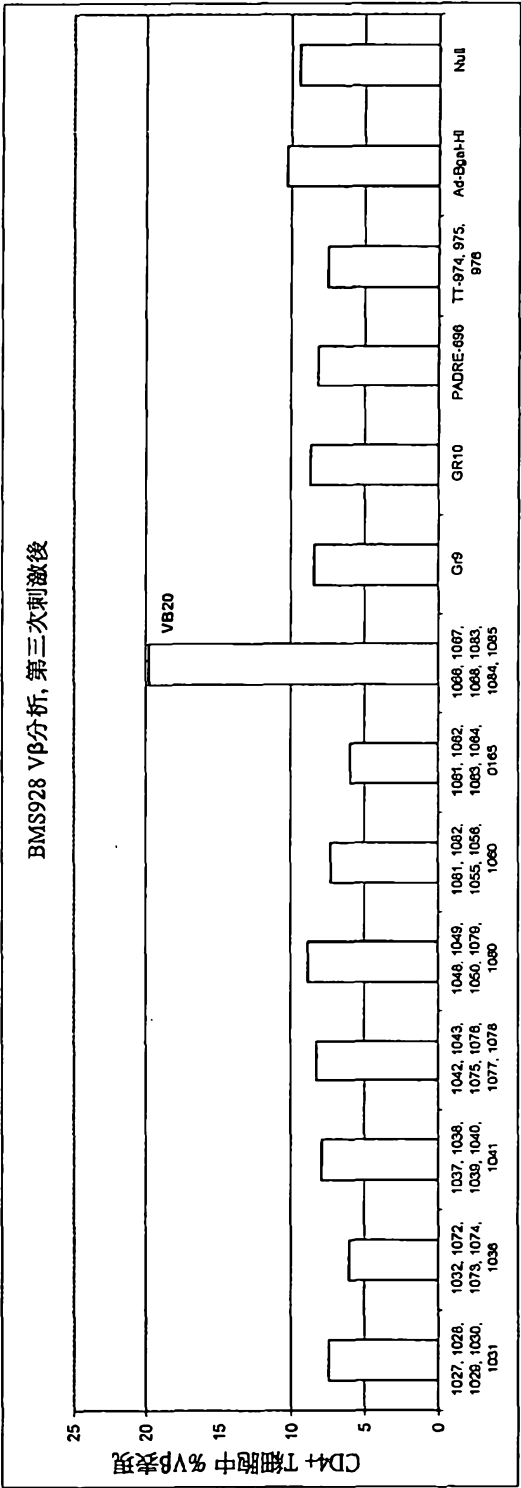
第101A圖



第101B圖

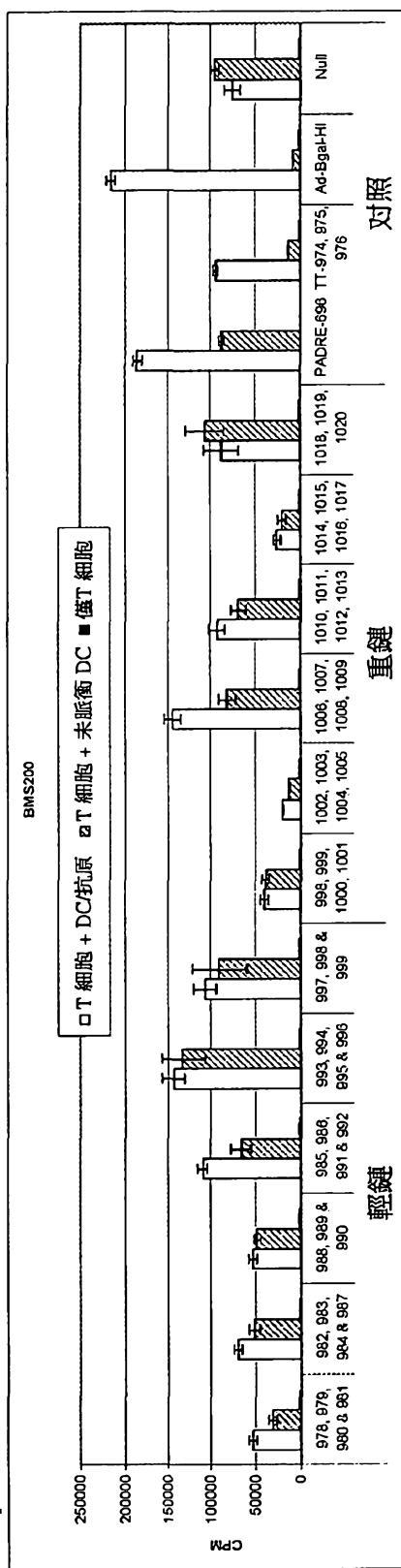


第102圖



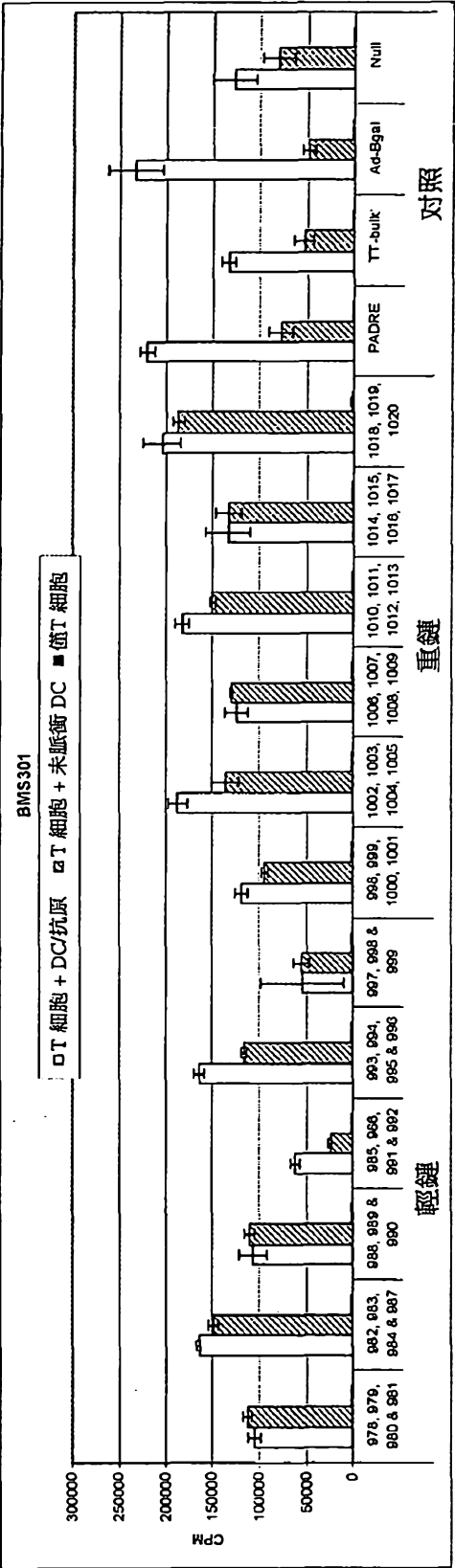
第103圖

Campath-1H® 分析: 提供者 BMS200



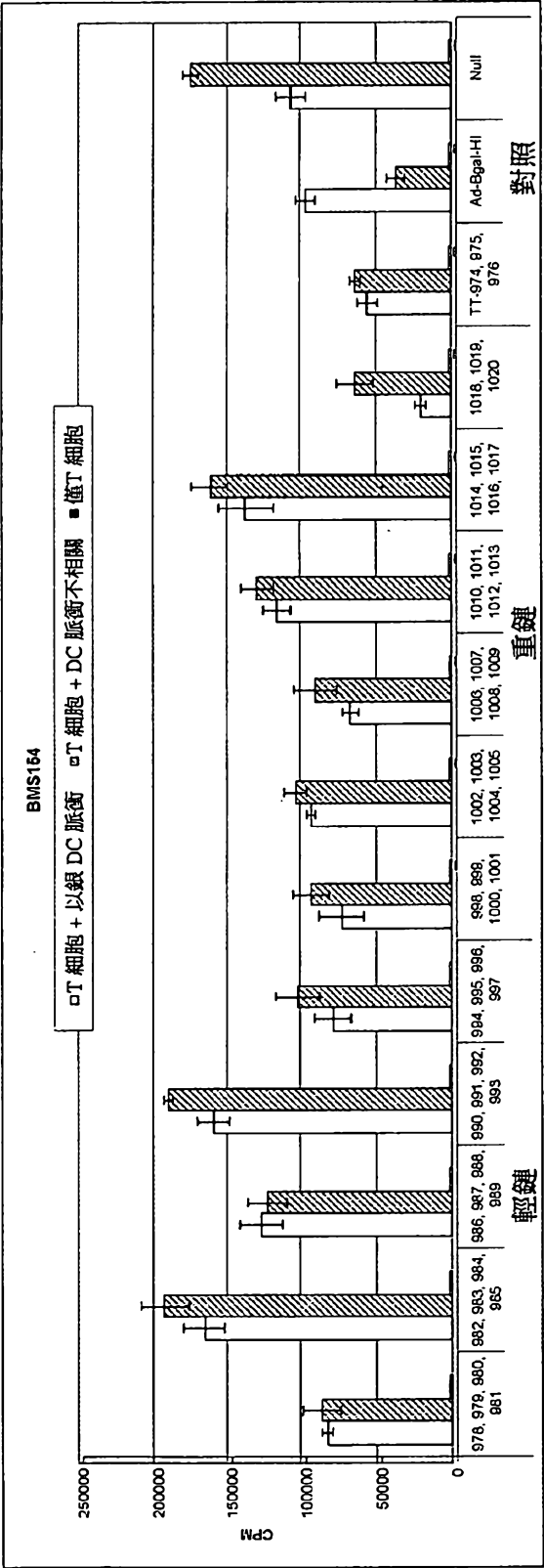
第104A圖

Campath-1H® 分析: 提供者 BMS301



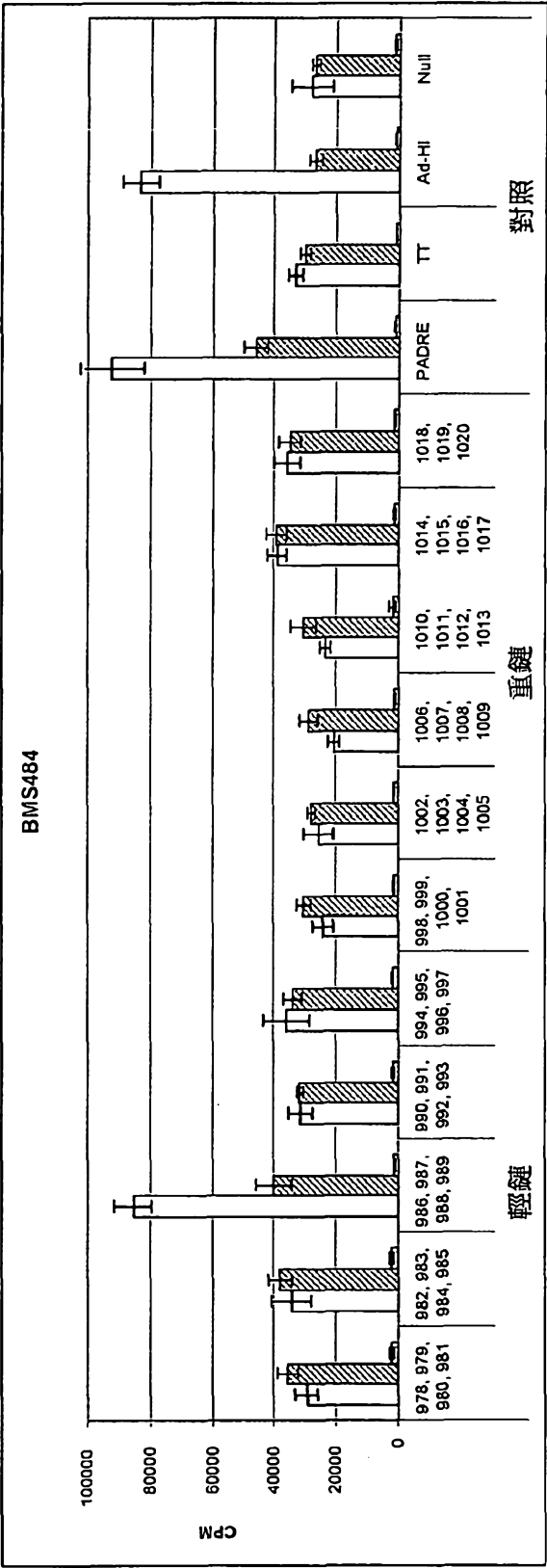
第104B圖

Campath-1H® 分析: 提供者BMS154



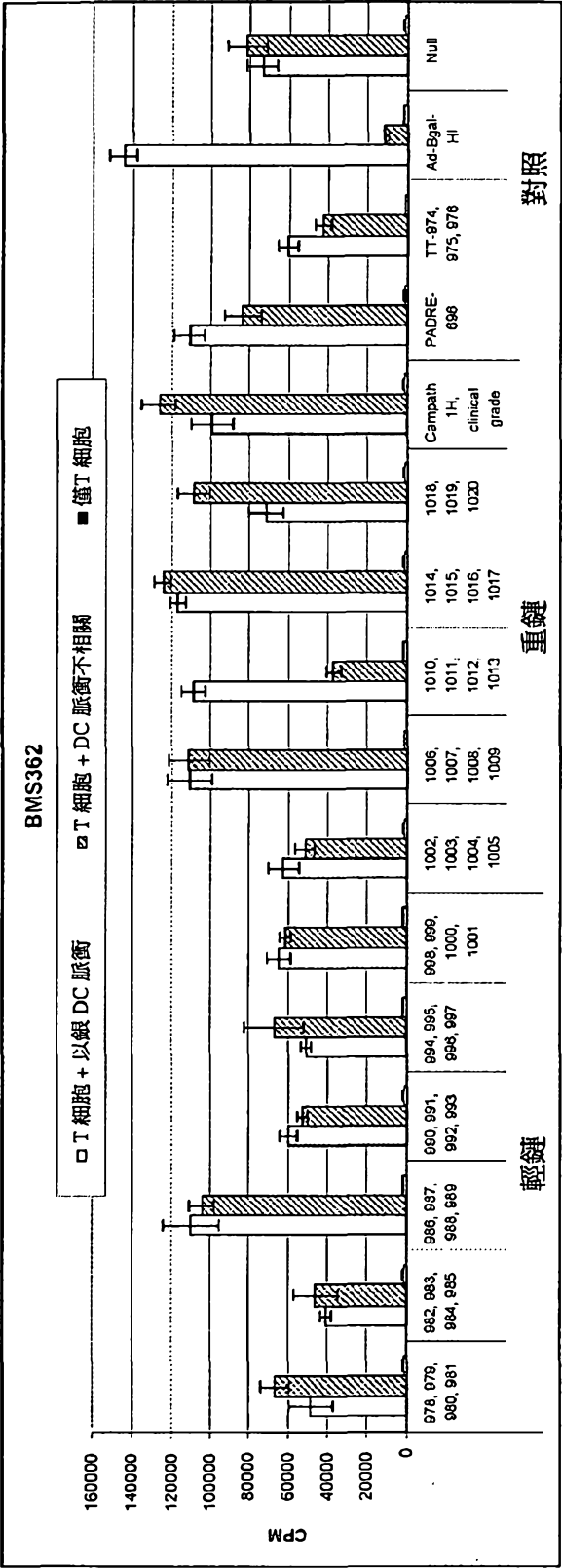
第104C圖

Campath-1H® 分析: 提供者BMS484



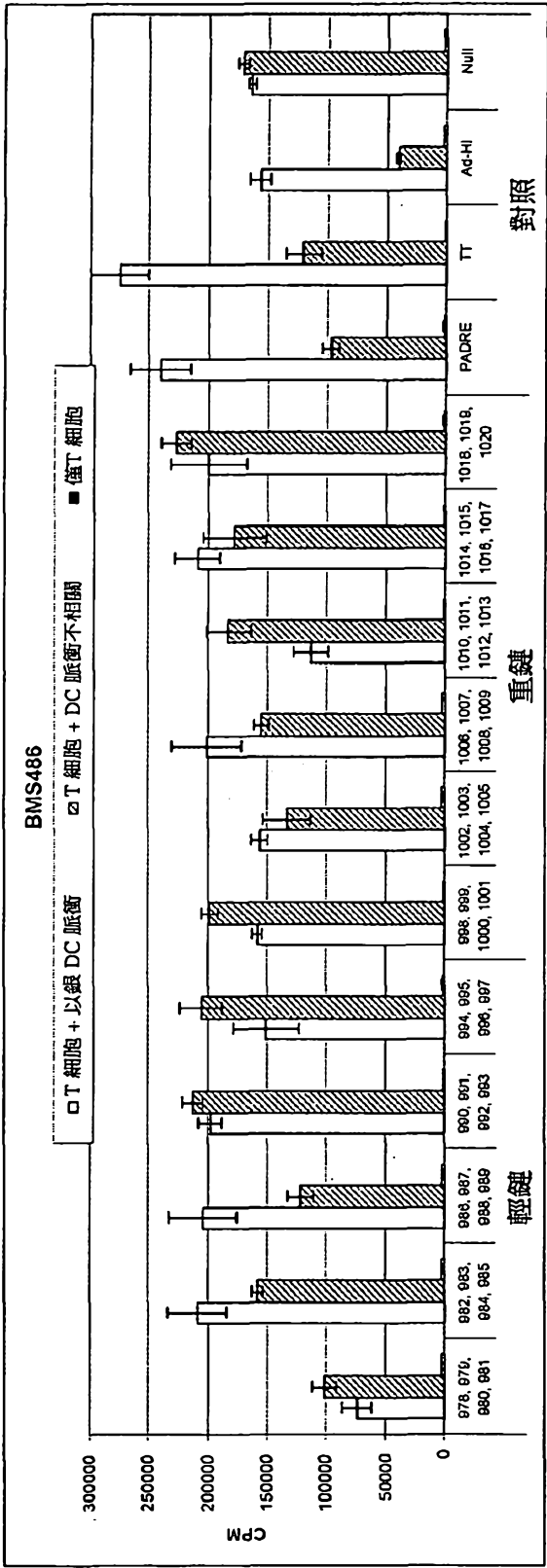
第104D圖

Campath-1H® 分析: 提供者BMS362



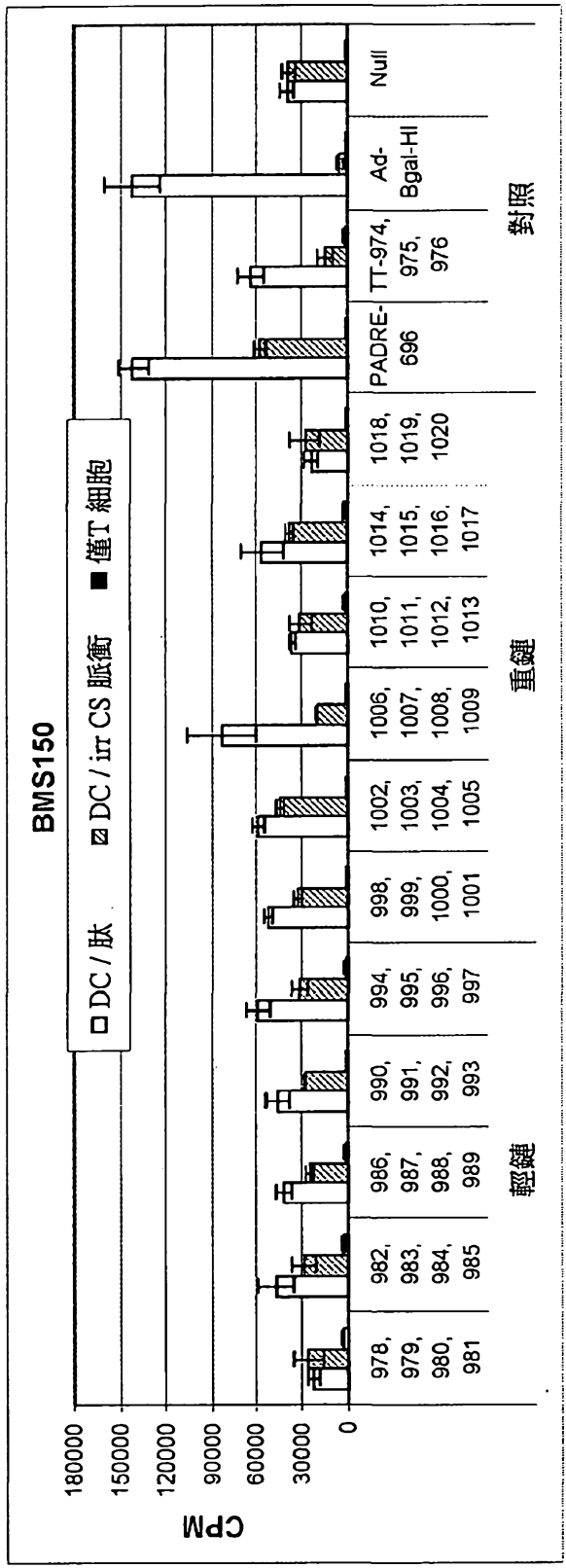
第104E圖

Campath-1H® 分析: 提供者BMS486



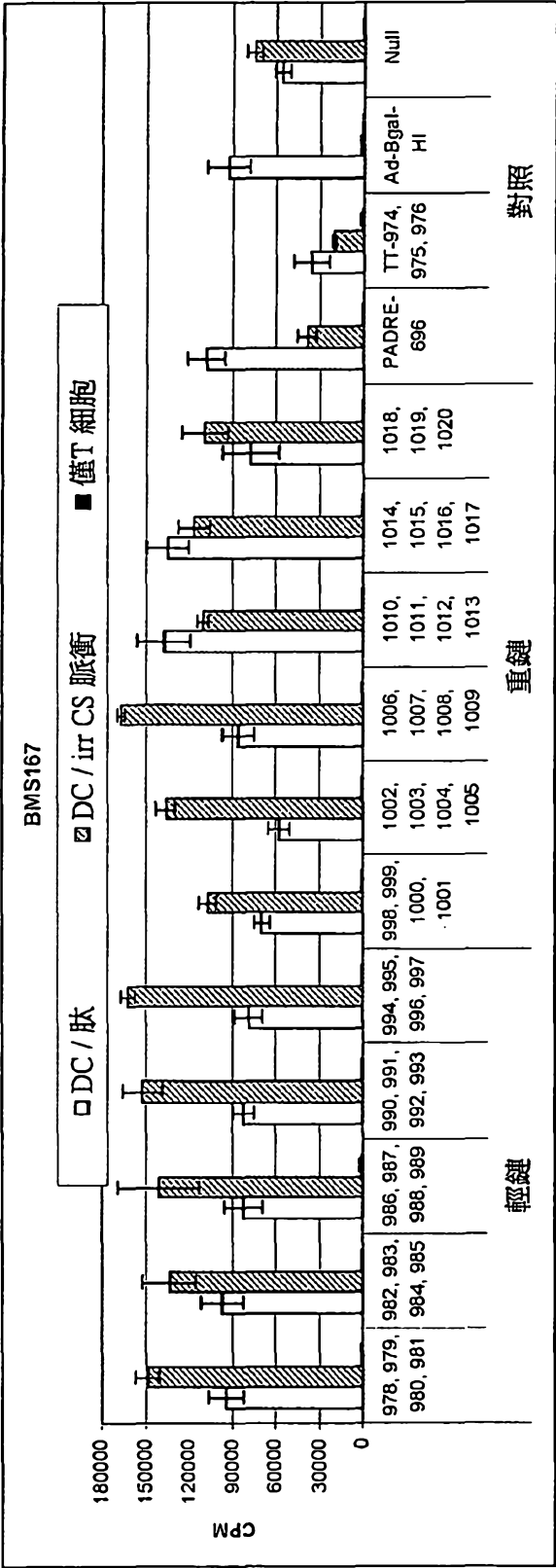
第104F圖

Campath-1H® 分析: 提供者 BMS150



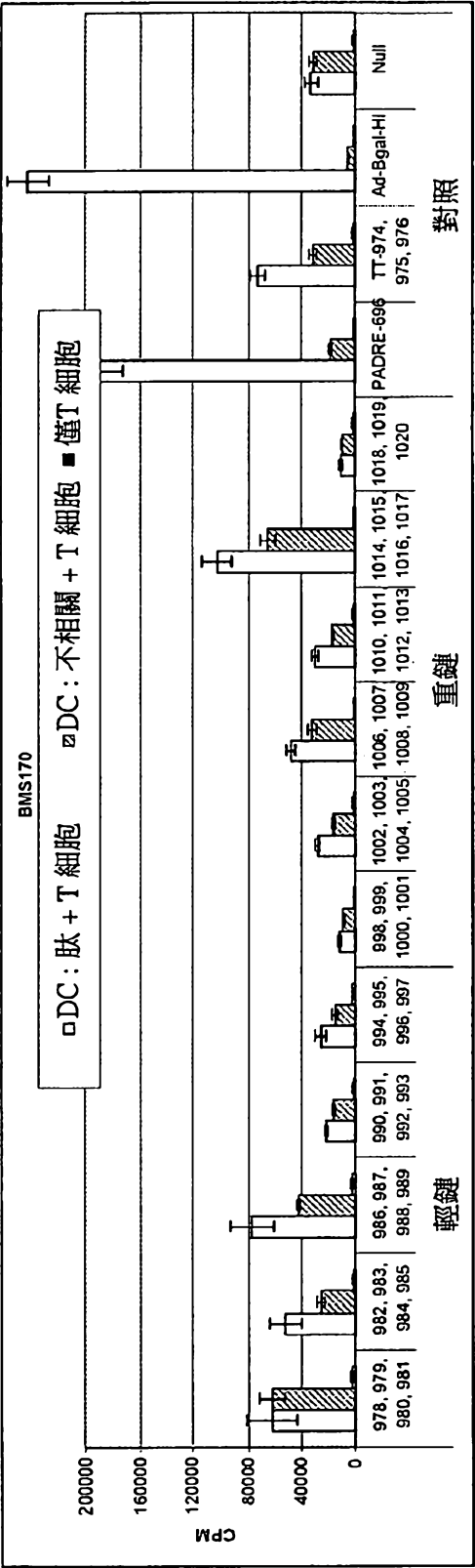
第104G圖

Campath-1H® 分析: 提供者BMS167



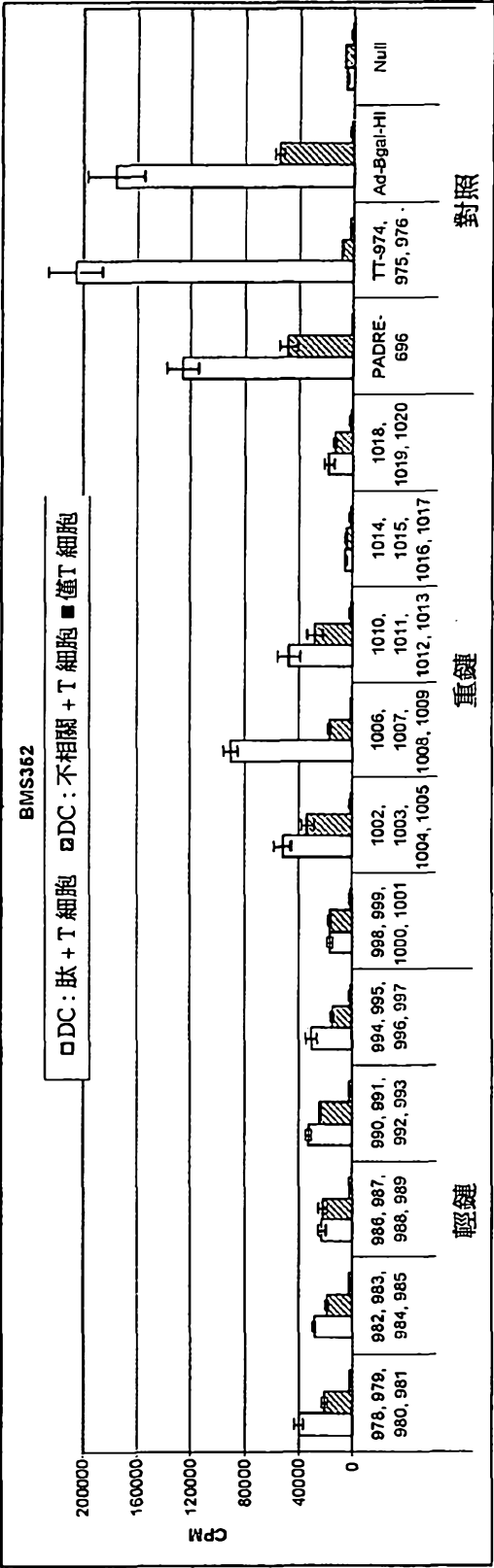
第104H圖

Campath-1H® 分析: 提供者 BMS170



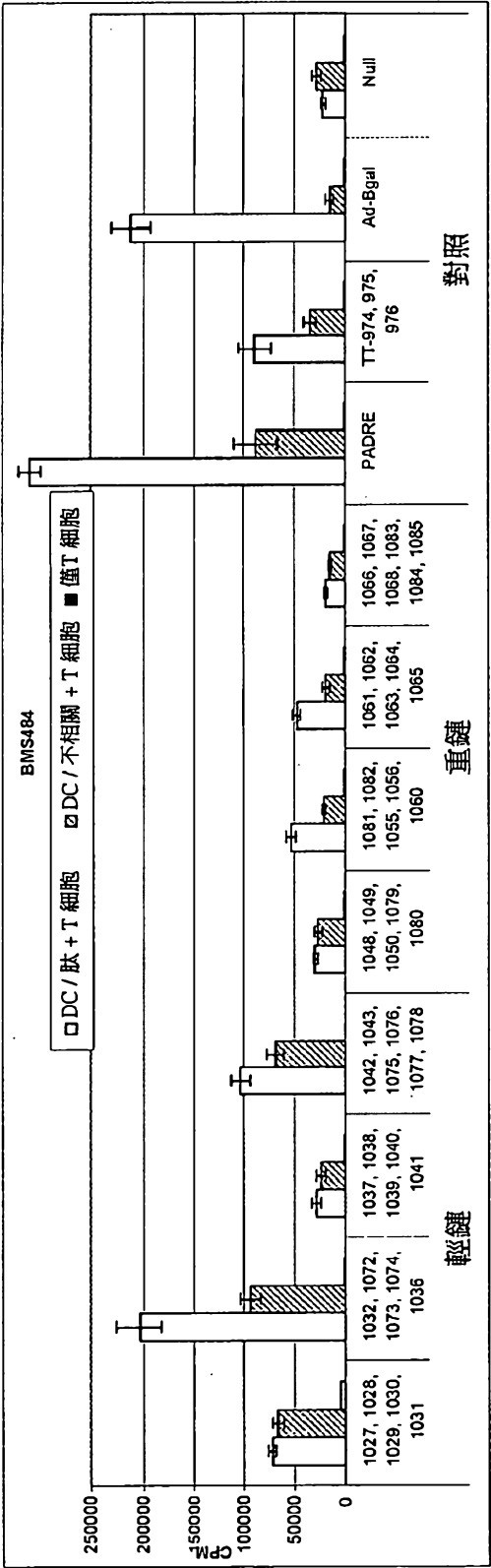
第104I圖

Campath-1H® 分析: 提供者BMS352



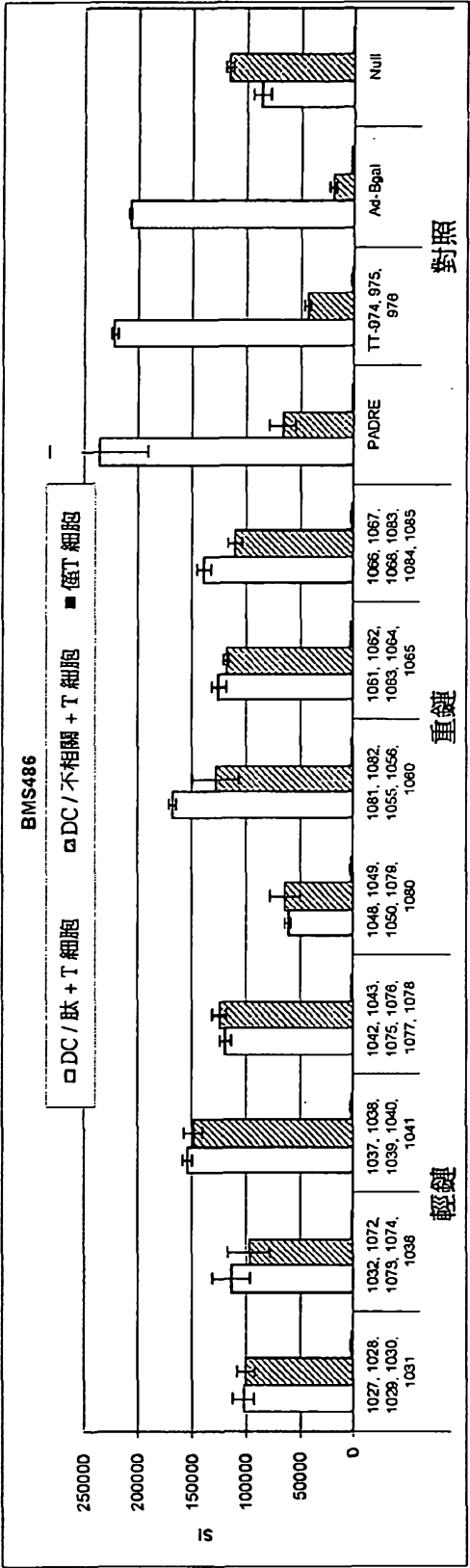
第104J圖

12G6-SFD1/K12 分析: 提供者BMS484



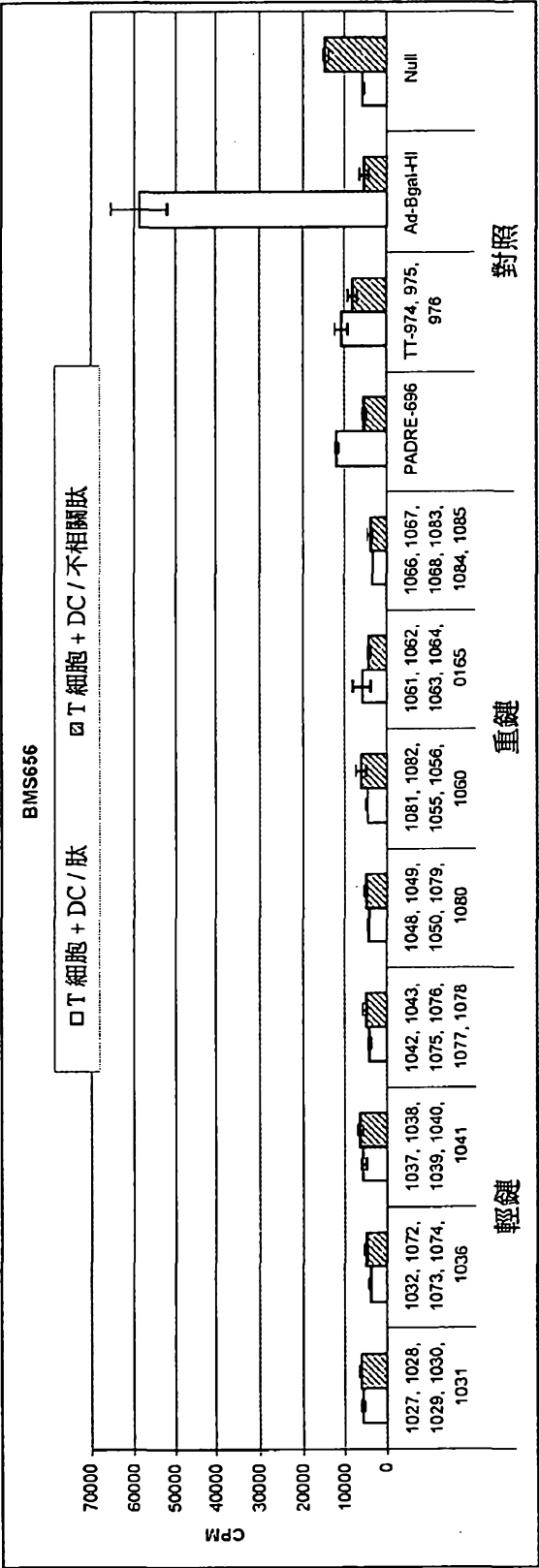
第105A圖

12G6-SFD1/K12 分析: 提供者BMS486



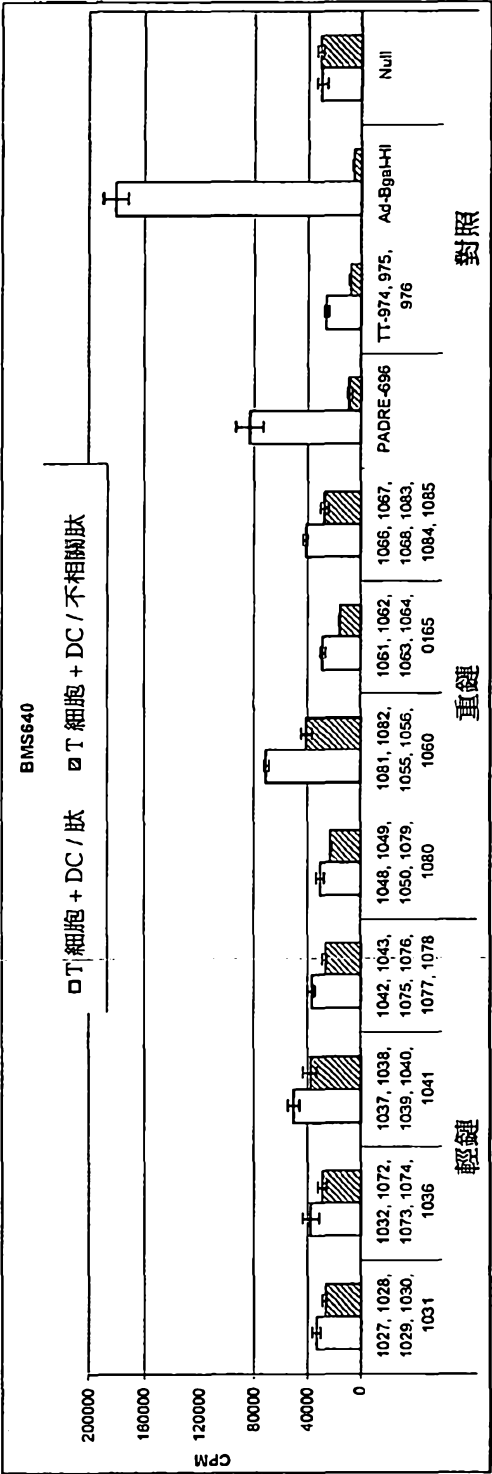
第105B圖

12G6-SFD1/K12 分析: 提供者BMS656



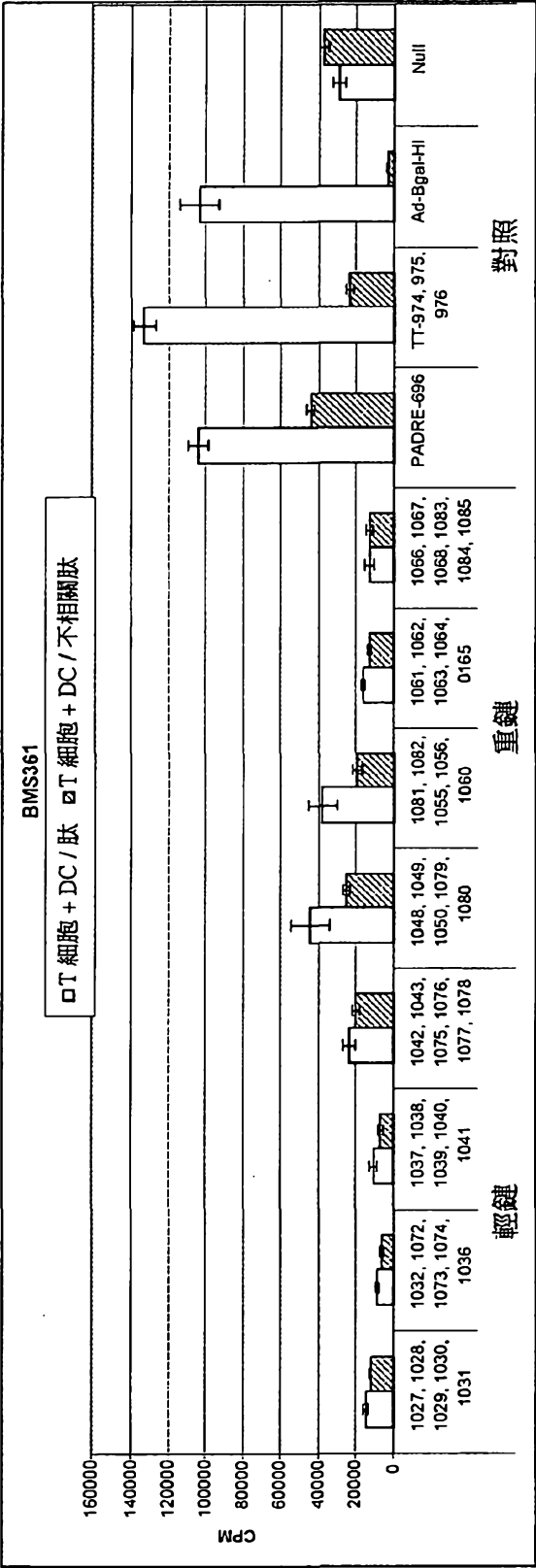
第105C圖

12G6-SFD1/K12 分析: 提供者BMS640



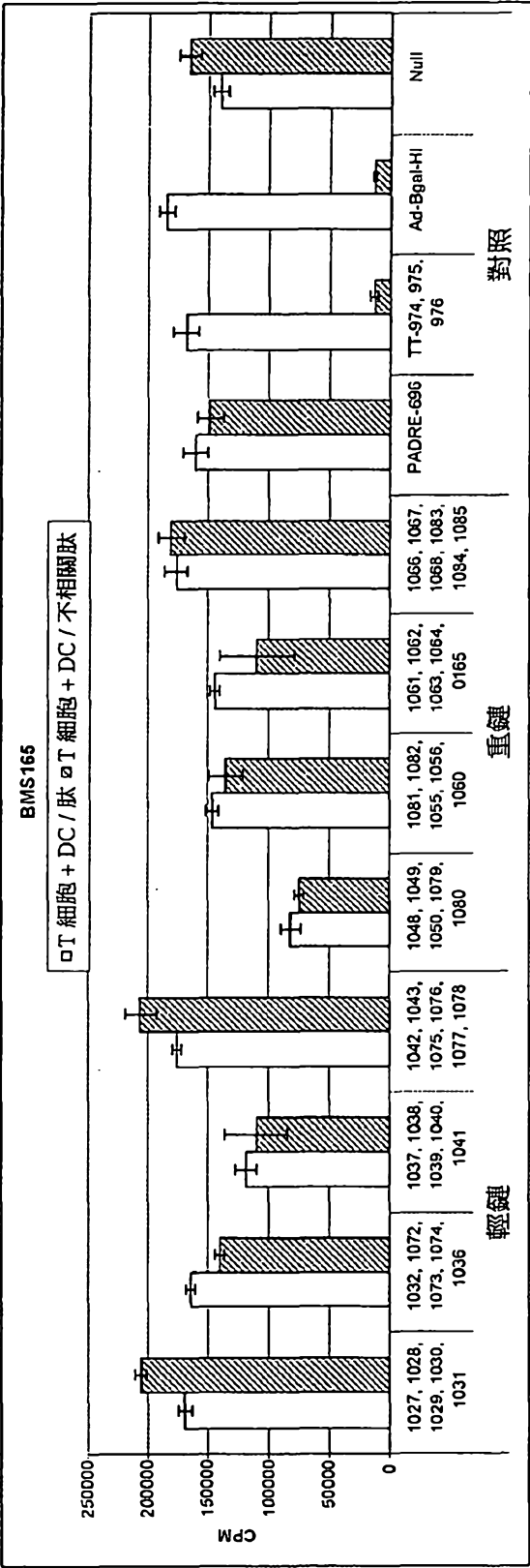
第105D圖

12G6-SFD1/K12 分析: 提供者BMS361



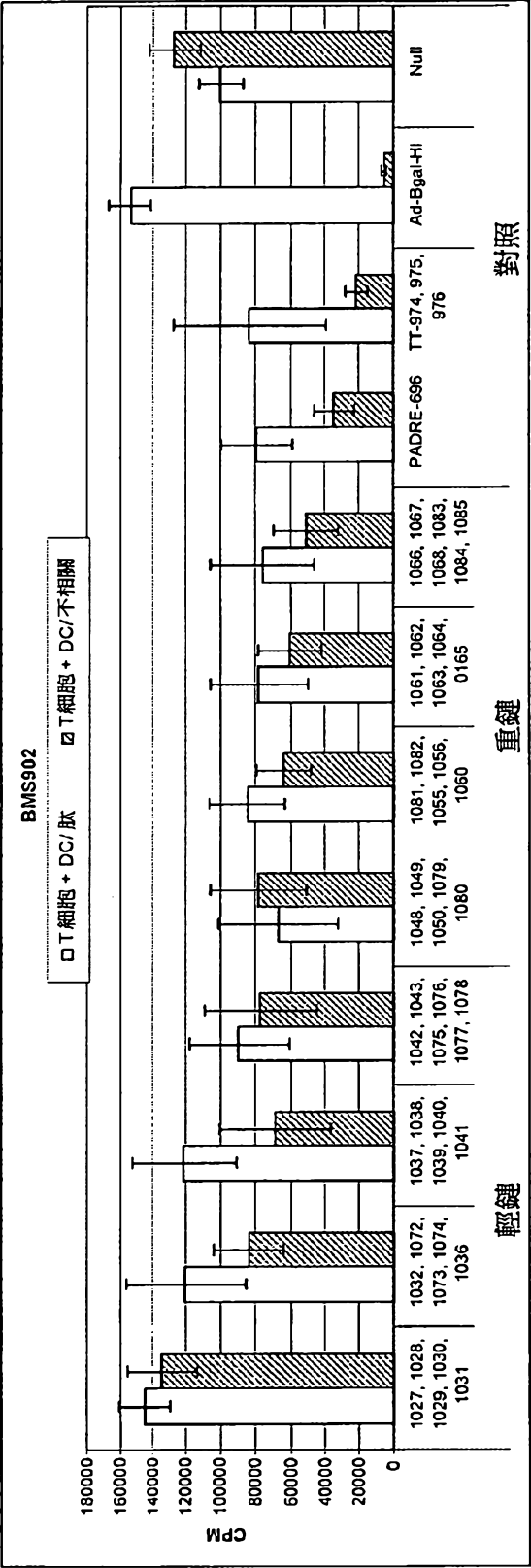
第105E圖

12G6-SFD1/K12 分析: 提供者BMS165



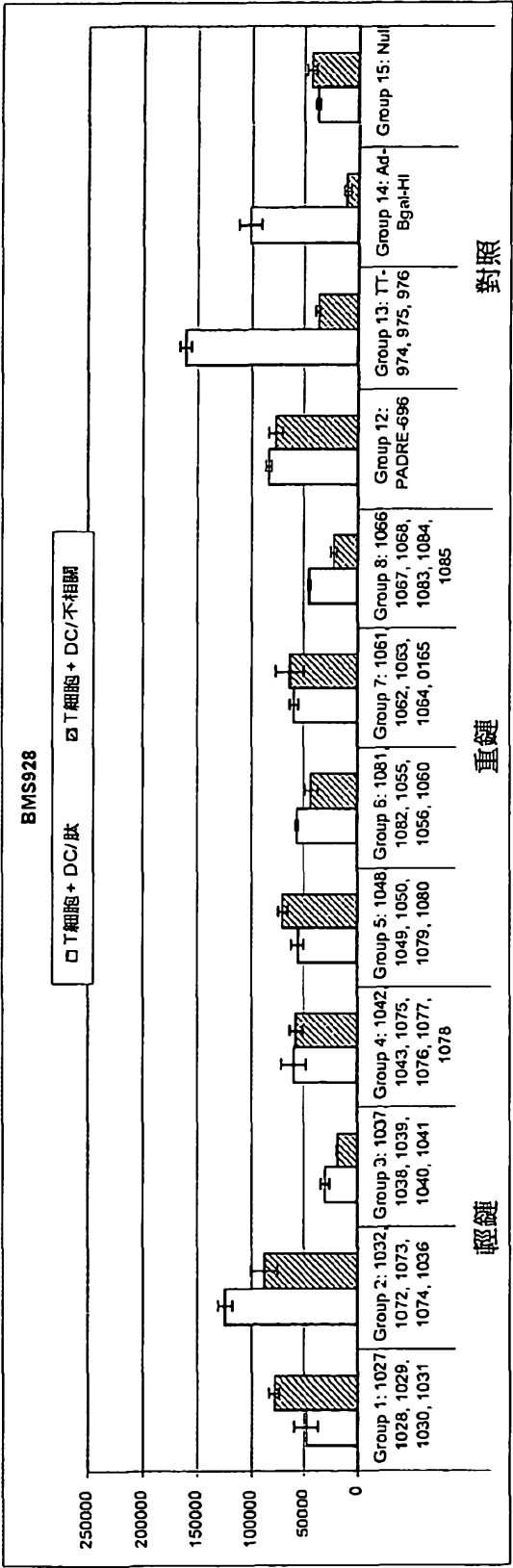
第105F圖

12G6-SFD1/K12 分析：提供者 BMS902



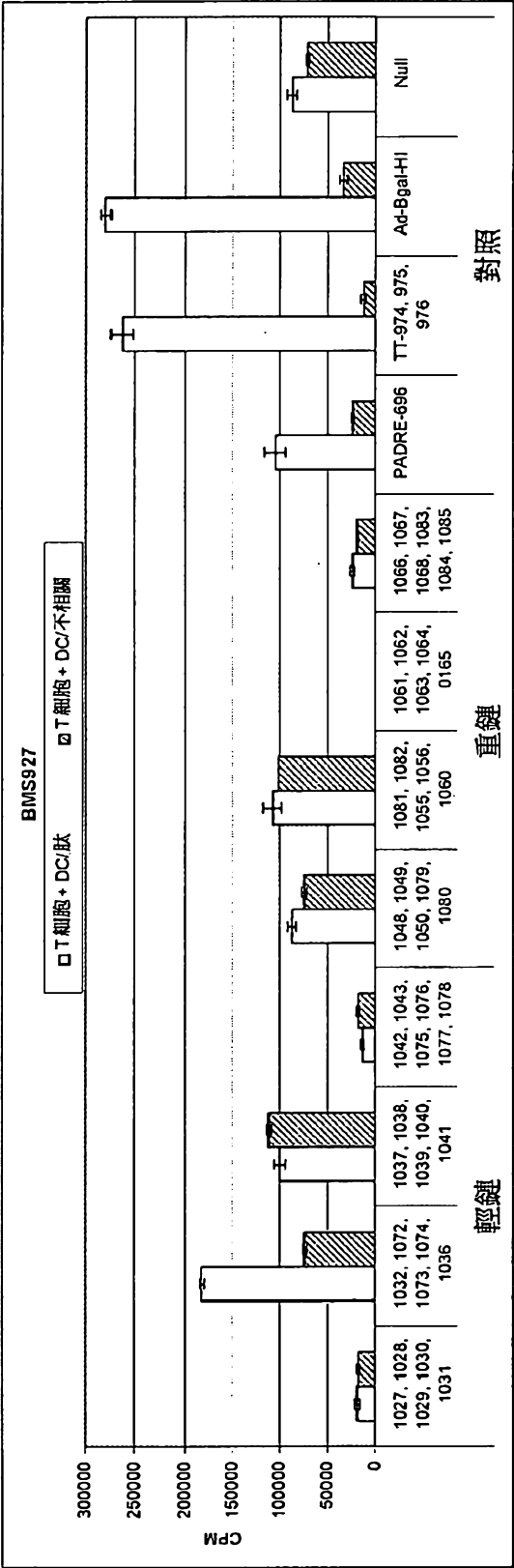
第105G圖

12G6-SFD1/K12 分析：提供者BMS928



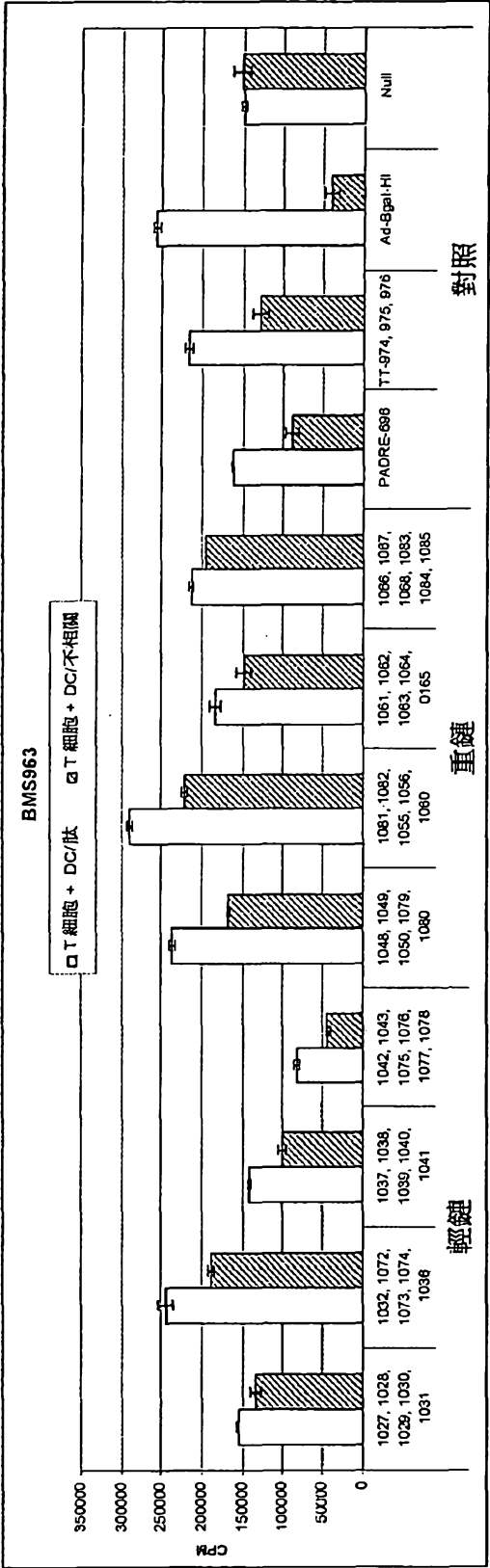
第105H圖

12G6-SFD1/K12 分析：提供者 BMS927



第105I圖

12G6-SFD1/K12 分析：提供者BMS963



第105J圖

人類化2C3選殖全長度重鍵序列

2C3-SFD1

MEAPAQLLFLLLWLPDTTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYWMNWV
RQAPGKGLEWVGQIRLKSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAV
YYCTPVDFWQGQTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 272)

人類化2C3選殖全長度輕鍵序列

2C3-K12

MEAPAQLLFLLLWLPDTTGDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSOSLLYSNGKTYLNW
LLQKPGQSPQRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHL
HTFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL
QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C (SEQ ID NO: 273)

第106圖

人類化7F11選殖全長度重鍵序列

7F11-SFD1

MEAPAQLLFLLLLWLPDITGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYYMSWV
RQAPGKGLEWVGFIRNKANGYTTEYNASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTA
VYYCTRYIFFDYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV
DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK (SEQ ID NO: 274)

人類化7F11選殖全長度輕鍵序列

7F11-K2

MEAPAQLLFLLLLWLPDITGDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVHTNGNSYLH
WYLQKPGQSPQLLIYMVSNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTH
VPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC (SEQ ID NO: 275)

第107圖

人類化9D9選殖全長度重鏈序列

9D9-H16

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWV
 RQAPGKGLELVSEIRNKAKNHATYYAESVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV
 YYCTTLDSWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
 PKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
 WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
 KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
 TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMIEALINIIYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO: 276)

9D9-H18

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWV
 RQAPGKGLELVAEIRNKAKNHATYYAESVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV
 YYCTTLDSWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
 PKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
 WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
 KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
 TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO: 277)

人類化9D9選殖全長度輕鏈序列

9D9-K13

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNW
 LLQKPGQSPQRLIYLVSAALDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHF
PWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
 LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
 EC (SEQ ID NO: 278)

第108圖

人類化12G6選殖全長度重鍵序列

12G6-SFD1

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFSNYWMN
WVRQAPGKGLEWVGQIRLKSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTE
DTAVYYCTPIDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
 EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
 KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
 KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
 EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNH
 YTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 279)

人類化12G6選殖全長度輕鍵序列

12G6-K12

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYL
NWVLQKPGQSPQRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQ
GSHFHTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK
 VDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVT
 KSFNRGEC (SEQ ID NO: 280)

第109圖

人類化4B10選殖全長度重鍵序列

4B10-H1

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSW
VRQAPGKGLEWVGFI**R**NKANGYTTEYSASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTED
TAVYYCARYI**W**FDYWGQGT**T**TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEK**T**ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYK**T**TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV**F**SCSV**M**HEAL
HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 281)

人類化4B10選殖全長度輕鍵序列

4B10-K1

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVHTNGNTYL
HWYLQKPGQSPQ**L**LIY**M**VSNR**F**SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQ
SAHVPPLTFGQGT**R**LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADY**E**KHKVYACEVTHQGLSS
PVT**K**SFNRGEC (SEQ ID NO: 282)

第110圖

人類化2C3選殖全長度重鏈核酸序列

2C3-SFD1

ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCTGCTACTCTGGCTCCCTGATACCACCGGA
GAGGTACAGCTGGTGGAGTCGGGAGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTTCTCTGA
GACTCTCTGTGCAGCTTCTGGATTCACTTTCAATACCTACTGGATGAACTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGACTTGAGTGGGTGGGTCAAATTAGATTGAAATCTAAT
AATTATGCAACACATTATGCGGAGTCTGTGAAAGGGCGGTTACCATCTCCAGAGA
TGATTCCAAAAACAGCCTCTATCTTCAAATGAATTCCCTGAAAACTGAAGACACTGC
CGTTTATTACTGTACCCAGTTGACTTTTGGGGCCAAGGCACCACTGTACAGTCTC
CTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG
GGGGTACAGCGGCCCTGGGCTGCCGTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG
TGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTTACAGG
ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT
CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTGAAGCCAAATCTTG
TGACAAAACACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAATCTCTGGGGGACCGTCAGTCTT
CCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT
GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG
AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC
AGCGTCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCC
AACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCTGAC
ATGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC
CGGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTCATGCTCCGTGATG
CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA
(SEQ ID NO: 283)

人類化2C3選殖全長度輕鏈核酸序列

2C3-K12

ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCTGCTACTCTGGCTCCCTGATACCACCGGA
GACATTGTGATGACCCAGACTCCACTCAGTTTGTGAGTTACCCCTGGACAACCAGC
CTCAATCTCTTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTATATAGTAATGGAAAAACCTATTT
GAACTGGTTATTACAGAAGCCAGGCCAGTCTCCACAGCGCCTAATCTATCTGGTGT
CTAAATTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGAACAGAT
TTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGAGTTTATTACTGCGT
GCAAGGTACACATCTGCACACGTTCCGGTCAAGGGACCAGGCTGGAGATAAAACGAA
CTGTGGCAGCACCAAGCGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGC
CTCTGTTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGAT
AACGCCCTCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC
CTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGC
CTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT
GTTAG (SEQ ID NO: 284)

第111圖

人類化7F11選殖全長度重鏈核酸序列

7F11-SFD1

ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCTGATACCACCGGA
GAGGTACAGCTGGTGGAGTCGGGAGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTTCTCTGA
GACTCTCTGTGCAGCTTCTGGCTTACATTCACCGACTATTACATGAGCTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGACTTGAGTGGGTGGGTTTCATAAGGAACAAGGCTAA
CGGTTATACAACCGAGTACAACGCTTCCGTTAAAGGCCGGTTCACCATCTCCAGAG
ATGATTCCAAAAACAGCCTCTATCTTCAAATGAATTCCCTGAAAACTGAAGACACTG
CCGTTTATTACTGTACCAGGTATATCTTTTTCGATTACTGGGGCCAAGGCACCACTG
TCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCAA
GAGCACCTCTGGGGGTACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGG
TGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTA
CAGTCTCAGGACTCTACTCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC
CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAG
CCCAAATCTTGTGACAAAATCACACATGCCACCCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGA
CCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG
GTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG
GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA
CCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGT
GCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGC
AGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAG
GTACGCCTGACATGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG
CAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCT
TCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT
GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCTGTCTCCGG
GTAAATGA (SEQ ID NO: 285)

人類化7F11選殖全長度輕鏈核酸序列

7F11-K2

ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCTGATACCACCGGA
GATATTGTAATGACCCAAACACCCCTCTCTTTTTCAGTCACACCTGGACAGCCAGCG
TCCATCTCCTGCAGGTCTCTACAGAGTCTCGTGACACCAATGGCAATTCCTACCTG
CATTGGTACCTGCAGAAGCCCGGGCAGAGCCCCAGTTGCTGATCTATATGGTGTG
TAATCGGTTCTCCGGAGTCCCCGACAGATTTTCTGGTTCAGGGTCTGGAAGTGAATTT
TACACTGAAGATTAGTCGGGTGAGAGCCGAGGATGTAGGCGTGTATTACTGCTCAC
AAAGCACACATGTGCCGTTCACTTTTCGGCCAAGGAACAAAGCTCGAAATCAAGCGAA
CTGTGGCAGCACCAAGCGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGC
CTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGAT
AACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC
CTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGC
CTGCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT
GTTAG (SEQ ID NO: 286)

第112圖

人類化9D9選殖全長度重鏈核酸序列

9D9-H16

ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCTGCTACTCTGGCTCCCTGATACCAACCGGAGAG
GTACAGCTTCTTGAAGTGGAGGTGGCCTTGTCCAACCCGGAGGGTCATTGCGGTTGAG
CTGTGCGGCAAGTGGCTTCACTTCTCTGACGCTTGGATGGACTGGGTGAGACAAGCCC
CCGGTAAGGGAAGTGGAGTTGGTTTCTGAAATCAGGAACAAGGCCAAGAACCATGCAAC
ATATTATGCCGAAAGTGTGAAGGGAAAGGTTCACAATCAGTAGAGATAACAGCAAGAACA
CACTGTACCTCCAGATGAACAGCCTCAGAGCTGAGGACACCGCCGTCTATTATTGTACC
ACTCTCGATTTCATGGGGGCAGGGTACCACCGTTACAGTCAGCAGCGCCTCCACCAAGGGC
CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGTACAGCGGCCCTGGGCTG
CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGCGCCCTGACCAGCG
GCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCG
TGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAACACCA
AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCAC
CTGAATCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCT
CCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTC
AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAA
CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGACACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT
ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAG
GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAG
GTCAGCCTGACATGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT
GGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTC
TACAGCAAGTCAACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG
CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ
ID NO: 287)

9D9-H18

ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCTGCTACTCTGGCTCCCTGATACCAACCGGAGAG
GTACAGCTTCTTGAAGTGGAGGTGGCCTTGTCCAACCCGGAGGGTCATTGCGGTTGAG
CTGTGCGGCAAGTGGCTTCACTTCTCTGACGCTTGGATGGACTGGGTGAGACAAGCCC
CCGGTAAGGGAAGTGGAGTTGGTTGCTGAAATCAGGAACAAGGCCAAGAACCATGCAAC
ATATTATGCCGAAAGTGTGAAGGGAAAGGTTCACAATCAGTAGAGATAACAGCAAGAACA
CACTGTACCTCCAGATGAACAGCCTCAGAGCTGAGGACACCGCCGTCTATTATTGTACC
ACTCTCGATTTCATGGGGGCAGGGTACCACCGTTACAGTCAGCAGCGCCTCCACCAAGGGC
CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGTACAGCGGCCCTGGGCTG
CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGCGCCCTGACCAGCG
GCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCG
TGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCA
AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCAC
CTGAATCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCTCATGATCT
CCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTC
AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAA
CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT
ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAG
GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAG
GTCAGCCTGACATGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT
GGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTC
TACAGCAAGTCAACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG
CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ
ID NO: 288)

第113圖

人類化9D9選殖全長度輕鏈核酸序列

9D9-K13

ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCTGATACCACCGGA
GATATCGTGATGACACAAACTCCCCTGTCTCTGTCTGTAACTCCAGGT CAGCCCCG
GAGTATTTTCATGTAAGAGCAGCCAATCCCTGCTGGACAGCGACGGGAAGACCTACC
TGAAGTGGTTACTCCAAAAGCCAGGACAAAGTCCCCAACGCCTTATTTACCTGGTGT
CAGCCCTGGACTCTGGCGTGCCCGATCGATTTAGCGGCAGCGGGAGT GGCACAGAT
TTCACCCTGAAAATATCCCGCGTCGAGGCCGAAGATGTGGGCGTGTA TACTGCTG
GCAGGGCACACATTTCCTGGACATTTGGTCAGGGGACAAAGCTGGAAATTAAC
GAAGTGTGGCAGCACCAAGCGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC
TGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTG
GATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG
CACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTA
CGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAG
AGTGITAG (SEQ ID NO: 289)

第114圖

人類化12G6選殖全長度重鏈核酸序列

12G6-SFD1

ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCTGATACCACCGGA
GAGGTACAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTTCTCTGA
GACTCTCCTGTGCAGCTTCTGGATTCCCATTCACTAGTAACTACTGGATGAACTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGAAGTGGTGGGTGGGTCAAATTAGATTGAAATCTAAT
AATTATGCAACACATTATGCGGAGTCTGTGAAAGGGCGGTTACCATCTCCAGAGA
TGATTCCAAAAACAGCCTCTATCTTCAAATGAATTCCCTGAAAACTGAAGACACTGC
CGTTTATTACTGTACCCCAATTGACTATTGGGGCCAAGGCACCACTGTCACAGTCTC
CTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCTCAAGAGCACCTCTG
GGGGTACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG
TGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCAGG
ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT
CTGCAACGTGAATACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTG
TGACAAAACACACATGCCCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTT
CCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGT
GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG
AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGT
AGCGTCTCACCCTCCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCC
AACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACAGCTGAC
ATGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC
CGGAGAACAACATAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG
CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA
(SEQ ID NO: 290)

人類化12G6選殖全長度輕鏈核酸序列

12G6-K12

ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCTGATACCACCGGA
GACATTGTGATGACCCAGACTCCACTCAGTTTGTGAGTTACCCCTGGGCAACCAGC
CTCTATCTCTTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTATATAGTAATGGAAAAACCTATTT
GAACTGGGTTTTACAGAAGCCAGGCCAGTCTCCACAGCGCCTAATCTATCTGGTGT
CTAAACTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTCTCTGGCAGTGGATCAGGAACAGAT
TTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGAGTTTATTACTGCGT
GCAAGGTTACATTTTCACACGTTCCGGTCAAGGGACCAAGCTGGAGATTAAACGAAC
TGTTGGCAGCACCAAGCGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTCC
TCTGTTGTGTGCTGTGAATACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATA
ACGCCCCTCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC
TACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCC
TGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTG
TTAG (SEQ ID NO: 291)

第115圖

人類化4B10選殖全長度重鏈核酸序列

4B10-H1

ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCTGATACCACCGGA
 GAGGTACAGCTGGTGGAGTCGGGAGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTTCTCTGA
 GACTCTCCTGTGCAGCTTCTGGATTACCTTTTCTGATTACTACATGAGCTGGGTCC
 GCCAGGCTCCAGGGAAGGGACTTGAGTGGGTGGGTTTTATTAGAAAACAAAGCTAAT
 GGTACACAACAGAGTACAGTGCATCTGTGAAGGGTCGGTTCACCATCTCCAGAGA
 TGATTCCAAAAACAGCCTCTATCTTCAAATGAATTCCCTGAAAACCTGAAGACACTGC
 CGTTTTATTACTGTGCAAGATATATCTGGTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTGT
 CACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAG
 AGCACCTCTGGGGGTACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT
 GACGGTGTGCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTAC
 AGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCC
 AGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGC
 CCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAATCCTGGGGGGAC
 CGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG
 TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG
 ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC
 CGTGTGGTCAGCGTCTCAACGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG
 CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCA
 GCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGG
 TCAGCCTGACATGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA
 ATGGGCGAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCT
 TCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCT
 CCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA
 ATGA (SEQ ID NO: 292)

人類化4B10選殖全長度輕鏈核酸序列

4B10-K1

ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCTGATACCACCGGA
 GACATTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGTCTGTCACTCCTGGACAACCAGCC
 TCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGACACACTAATGGAAACACCTATTTA
 CATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATTTATATGGTTTCC
 AACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTT
 CAACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGAGTTTATTACTGCTCTC
 AAAGTGACATGTTCTCCTCCGCTCACGTTCCGTCAAAGGACCAGGCTGGAGATTAAA
 CGAACTGTGGCAGCACCAAGCGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA
 CTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGT
 GGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACA
 GCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAAGCAGACTACGAGAAAACACAAAGTCT
 ACGCCTGCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA
 GAGTGTTAG (SEQ ID NO: 293)

第116圖

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (105A) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

【補充序列表】

104年9月30日修正替換頁
第1-136頁

<110> 建新公司

<120> 抗人類 CD52 免疫球蛋白

<130> 001662-0029-W01

<140> PCT/US2010/034704

<141> 2010-05-13

<150> 61/177,837

<151> 2009-05-13

<160> 294

<170> 版本 3.5

<210> 1

<211> 107

<212> PRT

<213> 大鼠類

<400> 1

Asp	Ile	Lys	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Phe	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	

Asp	Arg	Val	Thr	Leu	Asn	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Ile	Asp	Lys	Tyr
			20					25					30		

Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Leu	Gly	Glu	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			

Tyr	Asn	Thr	Asn	Asn	Leu	Gln	Thr	Gly	Ile	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	Val	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Leu	Gln	His	Ile	Ser	Arg	Pro	Arg
				85					90					95	

Thr	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys
			100					105		

<210> 2

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 2

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

His Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser
20 25 30

Asp Gly Arg Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Phe Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn 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 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 3

<211> 112

<212> PRT

<213> 小鼠類

<400> 3

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Thr Leu Ser Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15

Gln 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 Met Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 4

<211> 112

<212> PRT

<213> 小鼠類

<400> 4

Asp Ile Val Ile Thr Gln Ser Thr Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15

Gln 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 Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Met Tyr Leu Val Ser Asn Leu Gly Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Val
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Ile
100 105 110

<210> 5

<211> 112

<212> PRT

<213> 小鼠類

<400> 5

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

15

10

5

1

Gln Pro Ala Ser Ile Phe Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Ala Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 6
<211> 112
<212> PRT
<213> 小鼠類

<400> 6
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15

Gln 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 Ser Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 7
<211> 112
<212> PRT
<213> 小鼠類

<400> 7
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15

Gln 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 Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn Leu Asn Ser Gly Leu Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 8
<211> 112
<212> PRT
<213> 小鼠類

<400> 8
Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Thr Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15

Gln 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 Phe Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Phe Leu Val Ser His Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 9
<211> 111
<212> PRT
<213> 小鼠類

<400> 9
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Val Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
85 90 95

Ser His Phe His Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 10
<211> 111

<212> PRT

<213> 小鼠類

<400> 10

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ala Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
85 90 95

Thr Arg Phe His Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 11

<211> 111

<212> PRT

<213> 小鼠類

<400> 11

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

Gln Pro Val Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Met Val Ser Asn Arg Phe 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 Leu Gly Ile Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Ala His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110

Lys

<210> 14

<211> 121

<212> PRT

<213> 大鼠類

<400> 14

Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Ala Pro Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Lys Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Gln Asn Met
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr

85

90

95

Tyr Cys Ala Arg Glu Gly His Thr Ala Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 15
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 15
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Val Ala Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Ala Leu Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 16
<211> 114

<212> PRT

<213> 小鼠類

<400> 16

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Val Ser Arg Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg
65 70 75 80

Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 17

<211> 114

<212> PRT

<213> 小鼠類

<400> 17

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Val Lys Tyr Tyr Ala Glu

50

55

60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ala Leu Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 18
<211> 114
<212> PRT
<213> 小鼠類

<400> 18
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Leu Thr
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 19
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 小鼠類

<400> 19
 Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
 20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
 65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ser Thr Leu Thr Val
 100 105 110

Ser Ser

<210> 20
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 小鼠類

<400> 20
 Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
 20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Ala Glu Ile Arg Lys Lys Val Asn Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Ser Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 21

<211> 114

<212> PRT

<213> 小鼠類

<400> 21

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Leu Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Gly
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr Ser Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 22
<211> 114
<212> PRT
<213> 小鼠類

<400> 22
Glu Val Gln Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Pro Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 23
<211> 114
<212> PRT
<213> 小鼠類

<400> 23
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr

20

25

30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Asp Lys Gly Leu Glu Cys Ile

354045

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu

505560

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

65707580

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr

859095

Tyr Cys Thr Pro Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val

100105110

Ser Ser

<210> 24
<211> 114
<212> PRT
<213> 小鼠類

<400> 24

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

151015

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr

202530

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val

354045

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu

505560

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

65707580

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr

859095

Tyr Cys Thr Pro Val Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 25
<211> 117
<212> PRT
<213> 小鼠類

<400> 25
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Tyr Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Tyr Ile Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 26
<211> 117
<212> PRT
<213> 小鼠類

<400> 26
Glu Val Gln Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

151051

Ala Leu Ser Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
202530

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu
354045

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
505560

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65707580

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr Tyr
859095

Tyr Cys Thr Arg Tyr Ile Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100105110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 27
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 27
Lys Ala Ser Gln Asn Ile Asp Lys Tyr Leu Asn
1510

<210> 28
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 28

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser Asp Gly Arg Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 29
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 29
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 30
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 30
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Arg Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 31
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 31
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 32
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 32
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr Asn Gly Asn Ser Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 33
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 33
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 34
Asn Thr Asn Asn Leu Gln Thr
1 5

<210> 35
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 35
Leu Val Ser Asn Leu Asp Ser
1 5

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 36
Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5

<210> 37
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 37
Leu Val Ser Asn Leu Gly Ser
1 5

<210> 38
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 38
Leu Val Ser Ala Leu Asp Ser
1 5

<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 39
Leu Val Ser Asn Leu Asn Ser
1 5

<210> 40
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 40
Leu Val Ser His Leu Asp Ser
1 5

<210> 41
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 41
Met Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 42
Leu Gln His Ile Ser Arg Pro Arg Thr
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 43
Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Trp Thr
1 5

<210> 44
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 44
Val Gln Gly Ser His Phe His Thr
1 5

<210> 45
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 45
Val Gln Gly Thr Arg Phe His Thr
1 5

<210> 46
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 46
Val Gln Gly Thr His Leu His Thr
1 5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 47
Ser Gln Ser Thr His Val Pro Phe Thr
1 5

<210> 48
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 48

Ser	Gln	Ser	Ala	His	Val	Pro	Pro	Leu	Thr
1				5					10

<210> 49

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 49

Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe	Tyr	Met	Asn
1				5					10

<210> 50

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 50

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Ala	Trp	Met	Asp
1				5					10

<210> 51

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 51

Arg	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Ala	Trp	Met	Asp
1				5					10

<210> 52

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 52

Gly	Leu	Thr	Phe	Ser	Asp	Ala	Trp	Met	Asp
1				5					10

<210> 53

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 53

Gly	Phe	Pro	Phe	Ser	Asn	Tyr	Trp	Met	Asn
1				5					10

<210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 54

Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Trp	Met	Asn
1				5					10

<210> 55

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 55

Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Thr	Tyr	Trp	Met	Asn
1				5					10

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 56

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Ser
1 5 10

<210> 57

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 57

Phe Ile Arg Asp Lys Ala Lys Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 58

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 58

Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Val Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 59

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 59
Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 60
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

● <400> 60
Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Val Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 61
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

● <400> 61
Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 62
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 62
Glu Ile Arg Lys Lys Val Asn Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 63
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 63
Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 64
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 64
Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 65
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 65

Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 66
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 66
Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 67
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 67
Ala Arg Glu Gly His Thr Ala Ala Pro Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 68
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 68
Thr Thr Leu Asp Ser
1 5

<210> 69

<211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 69
 Thr Ser Leu Asp Tyr
 1 5

<210> 70
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 70
 Thr Gly Leu Asp Tyr
 1 5

<210> 71
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 71
 Thr Pro Ile Asp Tyr
 1 5

<210> 72
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 72
 Thr Pro Val Asp Phe
 1 5

<210> 73
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 73
Thr Arg Tyr Ile Phe Phe Asp Tyr
1 5

<210> 74
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 74
Thr Arg Tyr Ile Trp Phe Asp Tyr
1 5

<210> 75
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 75
atgggcwtca aratgrarwc wcat 24

<210> 76
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 76
gayatttgtgm tracmcarkm tcaa 24

<210> 77

<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 77
actggatggt gggaagatgg a 21

<210> 78
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 78
gayattgtgm tsacmcarwc tmca 24

<210> 79
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 79
ggatacagtt ggtgcagcat c 21

<210> 80
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 80
atgrasttsk ggytmarctk grtt 24

<210> 81
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 81
atgraatgsa sctgggtywt yctct 25

<210> 82
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

● <400> 82
saggtsmarc tgcagsagtc t 21

<210> 83
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 83
saggtgmagc tcswrsaryc sggg 24

● <210> 84
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 84
tgaggagact gtgagagtgg tgcc 24

<210> 85
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 85
ayctccacac acaggrrrcca gtggatagac 30

<210> 86
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<220>
<221> 修飾鹼基
<222> (6)..(6)
<223> a, c, t, g, 未知或其他

<400> 86
sargtnmagc tgsagsagtc 20

<210> 87
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<220>
<221> 修飾鹼基
<222> (6)..(6)
<223> a, c, t, g, 未知或其他

<400> 87
sargtnmagc tgsagsagtc wgg 23

<210> 88
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 88
caggttactc tgaaagwgts tg 22

<210> 89
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 89
gaggtccarc tgcaacartc 20

<210> 90
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 90
caggtccaac tvcagcarcc 20

<210> 91
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 91
gaggtgaass tgggtggaatc 20

<210> 92
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 92
gatgtgaact tggaagtgtc 20

<210> 93

<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 93
atagacagat gggggtgtcg ttttggc 27

<210> 94
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 94
cttgaccagg catcctagag tca 23

<210> 95
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 95
aggggccagt ggatagagtg atgg 24

<210> 96
<211> 100
<212> PRT
<213> 小鼠類

<400> 96
Glu Val Gln Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ala Leu Ser Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg
100

<210> 97
<211> 100
<212> PRT
<213> 智人

<400> 97
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His
20 25 30

Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg
100

<210> 98
<211> 100
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 98

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg
100

<210> 99

<211> 100

<212> PRT

<213> 小鼠類

<400> 99

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Met Val Ser Asn Arg Phe 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 Leu Gly Ile Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Ala His Val Pro
100

<210> 100

<211> 100

<212> PRT

<213> 智人

<400> 100

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Ser Arg Phe 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

Ile His Leu Pro
100

<210> 101

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 101

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Met Val Ser Asn Arg Phe 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 Ser Gln Ser
85 90 95

Ala His Val Pro
100

<210> 102

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 102

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Met Val Ser Asn Arg Phe 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 Ser Gln Ser
85 90 95

Ala His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

- <210> 103
- <211> 117
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 103
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Tyr Ile Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 104
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 104
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser
1 5 10

<210> 105
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 105
Ala Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser
1 5 10

<210> 106
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 106
Gly Ala Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser
1 5 10

<210> 107
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 107
Gly Gln Ala Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser
1 5 10

<210> 108
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 108
Gly Gln Asn Ala Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser
1 5 10

<210> 109
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 109
Gly Gln Asn Asp Ala Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser
1 5 10

<210> 110
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 110
Gly Gln Asn Asp Thr Ala Gln Thr Ser Ser Pro Ser
1 5 10

<210> 111
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 111
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Ala Thr Ser Ser Pro Ser
1 5 10

<210> 112
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 112
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Ala Ser Ser Pro Ser
1 5 10

<210> 113
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 113
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ala Ser Pro Ser
1 5 10

<210> 114
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 114
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ala Pro Ser
1 5 10

<210> 115
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>

<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Lys or Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Leu, Val or Ile

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> Ser or Thr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
<223> 任何氨基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
<223> Ser or Thr

<400> 116
Xaa Ser Ser Gln Ser Leu Xaa His Xaa Asn Gly Xaa Xaa Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 117
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
<223> Ser or Thr

<400> 117
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr Asn Gly Asn Xaa Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 118
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(6)
<223> 任何胺基酸

<400> 118
Xaa Val Ser Xaa Xaa Xaa Ser
1 5

<210> 119
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> 任何胺基酸

<400> 119
Xaa Val Ser Xaa Arg Xaa Ser
1 5

<210> 120
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 任何胺基酸

<400> 120

Met Val Ser Xaa Arg Phe Ser

1 5

<210> 121

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 任何胺基酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> 任何胺基酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 任何胺基酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> His, Arg or Lys

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Phe, Leu, Val or Ile

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(8)

<223> 任何胺基酸

<400> 121
Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 122
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> His, Arg or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> Phe, Leu, Val or Ile

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> 任何胺基酸

<400> 122
Ser Gln Ser Xaa Xaa Xaa Pro Xaa
1 5

<210> 123
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> 任何胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Phe or Pro

 <400> 123
 Ser Gln Ser Xaa His Val Pro Xaa
 1 5

<210> 124
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> 任何胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(6)
 <223> 任何胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Trp or Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> 任何胺基酸

<400> 124
 Gly Phe Xaa Phe Xaa Xaa Tyr Xaa Met Xaa
 1 5 10

<210> 125
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(6)
<223> 任何氨基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> Trp or Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (10)..(10)
<223> 任何氨基酸

<400> 125
Gly Phe Thr Phe Xaa Xaa Tyr Xaa Met Xaa
1 5 10

<210> 126
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> Trp or Tyr

<400> 126
Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Xaa Met Ser
1 5 10

<210> 127
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 任何氨基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> 任何氨基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> 任何氨基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> 任何氨基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (10)..(10)
<223> 任何氨基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
<223> 任何氨基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(15)
<223> 任何氨基酸

<400> 127
Xaa Ile Arg Xaa Lys Xaa Asx Xaa Tyr Xaa Thr Xaa Tyr Xaa Xaa Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 128
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 任何氨基酸

<220>

<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> 任何氨基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> 任何氨基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> 任何氨基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(15)
<223> 任何氨基酸

<400> 128
Xaa Ile Arg Xaa Lys Xaa Asn Xaa Tyr Thr Thr Glu Tyr Xaa Xaa Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 129
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(15)
<223> 任何氨基酸

<400> 129
Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Xaa Xaa Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 130
<211> 5
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(4)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Tyr, Phe or Trp

<400> 130
Thr Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 131
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Tyr, Phe or Trp

<400> 131
Thr Arg Tyr Xaa Xaa Phe Asp Tyr
1 5

<210> 132
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Phe or Trp

<400> 132
Thr Arg Tyr Ile Xaa Phe Asp Tyr
1 5

<210> 133
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 133
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 134
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 134
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 135
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 135
Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 136
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 136
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Tyr Ile Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 137

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 137

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Tyr Ile Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 138

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 138

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr
20 25 30

Asn Gly Asn Ser Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Met Val Ser Asn Arg Phe 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 Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 139

<211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 139
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
 20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Thr Pro Val Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
 100 105 110

Ser Ser

<210> 140
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 140
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Pro Val Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

- <210> 141
- <211> 114
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 141
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

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

65707580

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
859095

Tyr Cys Thr Pro Val Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100105110

Ser Ser

<210> 142
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 142

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
151015

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
202530

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
354045

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
505560

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65707580

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
859095

Tyr Cys Thr Pro Val Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100105110

Ser Ser

<210> 143
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 143
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Met Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
 20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Thr Pro Val Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
 100 105 110

Ser Ser

<210> 144
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 144
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly



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 Val Gln Gly
85 90 95

Thr His Leu His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 146

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 146

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr 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 Val Gln Gly
85 90 95

Thr His Leu His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 147

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 147

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asn 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 Val Gln Gly
85 90 95

Thr His Leu His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 148

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 148

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

Gln Pro Val Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys 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 Val Gln Gly
85 90 95

Thr His Leu His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 149

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 149

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Pro Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 150
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 150
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Pro Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 151
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 151

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Pro Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 152

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 152

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Pro Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 153
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 153
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu 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 Val Gln Gly
85 90 95

Ser His Phe His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 154
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 154
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Val Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu 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 Val Gln Gly
85 90 95

Ser His Phe His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 155
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 155
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Val Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys 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 Val Gln Gly
85 90 95

Ser His Phe His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 156
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 156
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Val 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 Val Gln Gly
85 90 95

Ser His Phe His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 157
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 157
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr 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 Val Gln Gly
85 90 95

Ser His Phe His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 158
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 158

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 Asp Ala
20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Leu Asp Ser Trp Gly Gln Thr Thr Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 159

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 159

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 Asp Ala
20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Thr
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser Thr
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

- <210> 160
- <211> 114
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 160
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 Asp Ala
20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Thr
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val

100

105

110

Ser Ser

<210> 161
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 161
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 Asp Ala
 20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val
 35 40 45

Ser Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
 100 105 110

Ser Ser

<210> 162
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 162

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 Asp Ala
20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Thr
35 40 45

Ser Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 163

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 163

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 Asp Ala
20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val

35

40

45

Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 164
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 164
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln 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 Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Ala 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 Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 165
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 165
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln 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 Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Ala 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 Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 166
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 166
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly

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 Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 168
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 168
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln 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 Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Ala 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 Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 169
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 169
Ala Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 170
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 170
Gly Ala Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 171
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 171
Gly Gln Ala Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 172
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 172
Gly Gln Asn Ala Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 173
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 173
Gly Gln Asn Asp Ala Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 174
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 174
Gly Gln Asn Asp Thr Ala Gln Thr Ser Ser Pro Ser Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 175
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 175
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Ala Thr Ser Ser Pro Ser Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 176
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 176
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Ala Ser Ser Pro Ser Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 177
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 177
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ala Ser Pro Ser Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 178
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 178
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ala Pro Ser Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 179
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 179
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Ala Ser Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 180
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 180
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ala Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 181
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 181
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Ala Ser Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 182
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 182
Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ala Ala Asp Cys
1 5 10 15

<210> 183
<211> 19
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：破傷風類毒素胜肽

<400> 183
Asp Thr Ile Met Met Glu Pro Pro Tyr Cys Lys Gly Leu Asp Ile Tyr
1 5 10 15

Tyr Lys Ala

<210> 184
<211> 21
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：破傷風類毒素胜肽

<400> 184
Ser Ala Met Leu Thr Asn Leu Ile Ile Phe Gly Pro Gly Pro Val Leu
1 5 10 15

Asn Lys Asn Glu Val
20

<210> 185
<211> 20
<212> PRT
<213> 未知

<220>

<223> 未知之描述：破傷風類毒素胜肽

<400> 185

Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val Ser Ala
1 5 10 15

Ser His Leu Glu
20

<210> 186

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 186

Asp Ile Glu Lys Lys Ile Ala Lys Met Glu Lys Ala Ser Ser Val Phe
1 5 10 15

Asn Val Val Asn Ser
20

<210> 187

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 187

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

<210> 188

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 188

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr

1 5 10 15

<210> 189
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 189
Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala
1 5 10 15

<210> 190
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 190
Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Asp
1 5 10 15

<210> 191
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 191
Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Asp Lys Tyr Leu Asn Trp
1 5 10 15

<210> 192
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 192

Ser Gln Asn Ile Asp Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
1 5 10 15

<210> 193
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 193
Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
1 5 10 15

<210> 194
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 194
Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asn
1 5 10 15

<210> 195
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 195
Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Asn Leu Gln
1 5 10 15

<210> 196
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 196

Leu Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser
1 5 10 15

<210> 197

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 197

Thr Asn Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
1 5 10 15

<210> 198

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 198

Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
1 5 10 15

<210> 199

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 199

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
1 5 10 15

<210> 200

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 200

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
1 5 10 15

<210> 201

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 201

Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr
1 5 10 15

<210> 202

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 202

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
1 5 10 15

<210> 203

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 203

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Ile Ser Arg Pro
1 5 10 15

<210> 204

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 204
Tyr Tyr Cys Leu Gln His Ile Ser Arg Pro Arg Thr Phe Gly Gln
1 5 10 15

<210> 205
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 205
His Ile Ser Arg Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
1 5 10 15

<210> 206
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 206
Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
1 5 10 15

<210> 207
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 207
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser
1 5 10 15

<210> 208
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 208

Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Arg	Pro	Ser	Gln	Thr	Leu	Ser	Leu
1				5				10					15	

<210> 209

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 209

Leu	Val	Arg	Pro	Ser	Gln	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser
1				5				10					15	

<210> 210

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 210

Gln	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr
1				5				10					15	

<210> 211

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 211

Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe	Tyr	Met	Asn
1				5				10					15	

<210> 212

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 212

Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe	Tyr	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Pro
1				5					10				15	

<210> 213

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 213

Asp	Phe	Tyr	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu
1				5					10				15	

<210> 214

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 214

Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Phe
1				5					10				15	

<210> 215

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 215

Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Phe	Ile	Arg	Asp	Lys	Ala
1				5					10				15	

<210> 216

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 216

Glu	Trp	Ile	Gly	Phe	Ile	Arg	Asp	Lys	Ala	Lys	Gly	Tyr	Thr	Thr
1				5					10					15

<210> 217

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 217

Ile	Arg	Asp	Lys	Ala	Lys	Gly	Tyr	Thr	Thr	Glu	Tyr	Asn	Pro	Ser
1				5					10					15

<210> 218

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 218

Lys	Gly	Tyr	Thr	Thr	Glu	Tyr	Asn	Pro	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Val
1				5					10					15

<210> 219

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 219

Glu	Tyr	Asn	Pro	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Leu	Val	Asp
1				5					10					15

<210> 220

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 220

Val Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
1 5 10 15

<210> 221

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 221

Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Arg Leu
1 5 10 15

<210> 222

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 222

Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala
1 5 10 15

<210> 223

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 223

Phe Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
1 5 10 15

<210> 224

<211> 15

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 224
Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
1 5 10 15

<210> 225
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 225
Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly His Thr Ala
1 5 10 15

<210> 226
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 226
Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly His Thr Ala Ala Pro Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 227
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 227
Glu Gly His Thr Ala Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ser
1 5 10 15

<210> 228

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 228
Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser
1 5 10 15

<210> 229
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 229
Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
1 5 10 15

<210> 230
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 230
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro
1 5 10 15

<210> 231
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 231
Gln Thr Pro Leu Ser Leu Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser
1 5 10

<210> 232
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 232
Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser
1 5 10 15

<210> 233
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 233
Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu
1 5 10 15

<210> 234
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 234
Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys
1 5 10 15

<210> 235
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 235
Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp
1 5 10 15

<210> 236
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 236
Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Val Leu Gln Lys Pro
1 5 10 15

<210> 237
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 237
Thr Tyr Leu Asn Trp Val Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln
1 5 10 15

<210> 238
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 238
Val Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu
1 5 10 15

<210> 239
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 239
Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp
1 5 10 15

<210> 240
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 240
Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro Asp
1 5 10 15

<210> 241
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 241
Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
1 5 10 15

<210> 242
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 242
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
1 5 10 15

<210> 243
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 243
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

1 5 10 15

<210> 244
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 244
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala
1 5 10 15

<210> 245
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 245
Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val
1 5 10 15

<210> 246
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 246
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln
1 5 10 15

<210> 247
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 247

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly Ser His Phe His
1 5 10 15

<210> 248
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 248
Tyr Tyr Cys Val Gln Gly Ser His Phe His Thr Phe Gly Gln Gly
1 5 10 15

<210> 249
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 249
Gly Ser His Phe His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
1 5 10 15

<210> 250
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 250
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
1 5 10 15

<210> 251
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 251
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

<210> 252
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 252
Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
1 5 10 15

<210> 253
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 253
Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
1 5 10 15

<210> 254
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 254
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser
1 5 10 15

<210> 255
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 255

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn
1 5 10 15

<210> 256

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 256

Gly Phe Pro Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala
1 5 10 15

<210> 257

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 257

Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
1 5 10 15

<210> 258

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 258

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Gln
1 5 10 15

<210> 259

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 259

Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Gly	Gln	Ile	Arg	Leu	Lys	Ser
1				5				10					15	

<210> 260

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 260

Glu	Trp	Val	Gly	Gln	Ile	Arg	Leu	Lys	Ser	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr
1				5				10					15	

<210> 261

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 261

Ile	Arg	Leu	Lys	Ser	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	His	Tyr	Ala	Glu	Ser
1				5				10					15	

<210> 262

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 262

Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	His	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe
1				5				10					15	

<210> 263

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 263
His Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
1 5 10 15

<210> 264
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 264
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
1 5 10 15

<210> 265
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 265
Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met
1 5 10 15

<210> 266
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 266
Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
1 5 10 15

<210> 267
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 267
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
1 5 10 15

<210> 268
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 268
Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Pro
1 5 10 15

<210> 269
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 269
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Pro Ile Asp Tyr Trp Gly
1 5 10 15

<210> 270
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 270
Tyr Tyr Cys Thr Pro Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
1 5 10 15

<210> 271
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 271

Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
1 5 10 15

<210> 272

<211> 464

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 272

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
20 25 30

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
35 40 45

Phe Asn Thr Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Val Gly Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr
65 70 75 80

His Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
85 90 95

Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Pro Val Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 273

<211> 238

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 273

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys
50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp
65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Val Gln Gly Thr His Leu His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 274
<211> 467
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 274
Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 20 25 30

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
 35 40 45

Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
 50 55 60

Leu Glu Trp Val Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr
 65 70 75 80

Glu Tyr Asn Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
 85 90 95

Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp
 100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Tyr Ile Phe Phe Asp Tyr Trp Gly
 115 120 125

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 275
<211> 239
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 275
Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Val His Thr Asn Gly Asn Ser Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys
50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Met Val Ser Asn Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
115 120 125

Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 276

<211> 464

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 276

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
20 25 30

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
35 40 45

Phe Ser Asp Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Leu Val Ser Glu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Asn His Ala Thr
65 70 75 80

Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
85 90 95

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

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 277
<211> 464
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 277
Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
20 25 30

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

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 278

<211> 239

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 278

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
 20 25 30

Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
 35 40 45

Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys
 50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Ala Leu Asp
 65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
 100 105 110

Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 115 120 125

Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
 165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
 180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 279

<211> 464

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 279

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
20 25 30

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro
35 40 45

Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Val Gly Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr
65 70 75 80

His Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
85 90 95

Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Pro Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

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

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 280
<211> 238
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 280
Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Val Leu Gln Lys
50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp
65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Val Gln Gly Ser His Phe His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 281

<211> 467

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 281

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro

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

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 225 230 235 240
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 245 250 255
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 275 280 285
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 290 295 300
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 305 310 315 320
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 325 330 335
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 340 345 350
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 355 360 365
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 370 375 380
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 385 390 395 400
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 405 410 415
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 420 425 430
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 282
<211> 240
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 282
Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Val His Thr Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys
50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Met Val Ser Asn Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Ser Gln Ser Ala His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
130 135 140

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
145 150 155 160

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
165 170 175

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
180 185 190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
195 200 205

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
210 215 220

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235 240

<210> 283
<211> 1395
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<400> 283

atggaagccc cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctccctga taccaccgga 60

gaggtaacagc tggtagagtc gggaggaggc ttggtacagc ctgggggttc tctgagactc 120

tcctgtgcag ctcttggtatt cactttcaat acctactgga tgaactgggt ccgccaggct 180

ccagggaagg gacttgagtg ggtgggtcaa attagattga aatctaataa ttatgcaaca 240

cattatgcgg agtctgtgaa agggcggttc accatctcca gagatgattc caaaaacagc 300

ctctatcttc aaatgaattc cctgaaaact gaagacactg ccgtttatta ctgtacccca 360

gttgactttt ggggccaagg caccactgtc acagtctcct cagcctccac caagggccca 420

tgggtcttcc ccctggcacc ctctccaag agcacctctg ggggtacagc ggccctgggc 480

tgccctgggtca aggactactt ccccgaaccg gtgacggtgt cgtggaactc aggcgccttg 540

accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc 600

agcgtgggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat 660

cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagttgagc ccaaattctg tgacaaaact	720
cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa ctccctggggg gaccgtcagt ctccctcttc	780
ccccaaaaac ccaaggacac cctcatgata tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg	840
gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag	900
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc	960
agcgtcttca ccgtcttgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc	1020
tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag aaaaccaatc ccaaagccaa agggcagccc	1080
cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc	1140
agcctgacat gcctgggtcaa aggcttctat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc	1200
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgccctccc tgctggactc cgacggctcc	1260
ttcttctctt acagcaagct caccgtggac aagtccaggt ggcagcaggg gaacgtcttc	1320
tcatgtctcg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg	1380
tctccgggta aatga	1395

<210> 284

<211> 717

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<400> 284

atggaagccc cagcgcagct tctcttcttc ctgctactct ggctccctga taccaccgga	60
gacatttgtga tgaccagac tccactcagt ttgtcagta cccctggaca accagcctca	120
atctcttgca agtcaagtca gagcctctta tatagtaatg gaaaaaccta tttgaactgg	180
ttattacaga agccaggcca gtctccacag cgcctaactc atctgggtgc taaattggac	240
tctggagtcc ctgacagggt cagtggcagt ggaacaggaa cagattttac actgaaaac	300
agcagagtgg aggctgagga tgtgggagtt tattactgcg tgcaaggtac acatctgcac	360
acgttcgggtc aagggaccag gctggagata aaacgaactg tggcagcacc aagcgtcttc	420
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaaactg cctctgttgt gtgcctgctg	480
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtgggaagg tggataacgc cctccaatcg	540

ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc	600
agcaccttga cgctgagcaa agcagactac gagaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc	660
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag	717

<210> 285

<211> 1404

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<400> 285

atggaagccc cagcgcagct tctcttcttc ctgctactct ggctccctga taccaccgga	60
gaggtacagc tgggtggagtc gggaggaggc ttggtacagc ctgggggttc tctgagactc	120
tcctgtgcag cttctggctt cacattcacc gactattaca tgagctgggt ccgccaggct	180
ccaggaagg gacttgagt ggtgggtttc ataaggaaca aggctaacgg ttatacaacc	240
gagtacaacg cttccgttaa aggccggttc accatctcca gagatgattc caaaaacagc	300
ctctatcttc aaatgaattc cctgaaaact gaagacactg ccgtttatta ctgtaccagg	360
tatatctttt tcgattactg gggccaaggc accactgtca cagtctcttc agcctccacc	420
aagggcccat cggtcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggtacagcg	480
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca	540
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac	600
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc	660
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt	720
gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc	780
ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca	840
tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac	900
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac	960
cgtgtgggtc gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag	1020
tgcaaggctc ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1080
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag	1140

aaccaggtca gccctgacatg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag	1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc	1260
gacggctcct tcttccctcta cagcaagctc accgtggaca agtccagggtg gcagcagggg	1320
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc	1380
ctctccctgt ctccgggtaa atga	1404

<210> 286
 <211> 720
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<400> 286	
atggaagccc cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctccctga taccaccgga	60
gatattgtaa tgacccaaac acccctctct ctttcagtca cacctggaca gccagcgtcc	120
atctcctgca ggtcctcaca gagtctcgtg cacaccaatg gcaattccta cctgcattgg	180
tacctgcaga agcccgggca gagccccag ttgctgatct atatggtgtc taatcggttc	240
tccggagtcc ccgacagatt ttctggttca gggctctggaa ctgattttac actgaagatt	300
agtcgggtcg aggccgagga tgtaggcgtg tattactgct cacaaagcac acatgtgccg	360
ttcactttcg gccaaaggaac aaagctcgaa atcaagcgaa ctgtggcagc accaagcgtc	420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg	480
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa	540
tcgggtaact ccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	600
agcagcagcc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa	660
gtcaccatc agggcctgag ctgccccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag	720

<210> 287
 <211> 1395
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<220>

<221> 修飾鹼基

<222> (1398)..(1398)

<223> a, c, t, g, 未知或其他

<400> 287

atggaagccc cagcgcagct tctcttccctc ctgctactct ggctccctga taccaccgga	60
gaggtacagc ttcttgaaag tggaggtggc ctgttccaac ccggagggtc attgcggttg	120
agctgtgcgg caagtggctt caccttctct gacgcttggg tggactgggt gagacaagcc	180
cccggttaagg gactggagtt ggtttctgaa atcaggaaca aggccaagaa ccatgcaaca	240
tattatgccg aaagtgtgaa gggaagggtt acaatcagta gagataacag caagaacaca	300
ctgtacctcc agatgaacag cctcagagct gaggacaccg ccgtctatta ttgtaccact	360
ctcgattcat gggggcaggg taccaccgtt acagtcagca gcgcctccac caagggccca	420
tgggtcttcc ccttggcacc ctcttccaag agcacctctg ggggtacagc ggccctgggc	480
tgcctgggtca aggactactt ccccgaaccg gtgacggtgt cgtggaactc aggcgccctg	540
accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc	600
agcgtgggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcaccacaga cctacatctg caacgtgaat	660
cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagttagag ccaaactctg tgacaaaact	720
cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa ctcttggggg gaccgtcagt ctctctcttc	780
ccccaaaac ccaaggacac cctcatgata tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtgggtg	840
gtggacgtga gccacgaaga ccttgaggtc aagtccaact ggtacgtgga cggcgtggag	900
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc	960
agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc	1020
tccaacaaaag ccttcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc	1080
cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc	1140
agcctgacat gcctgggtcaa aggcttctat cccagcgcaca tcgccgtgga gtgggagagc	1200
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc	1260
ttcttccctct acagcaagct caccgtggac aagtccaggt ggcagcaggg gaacgtcttc	1320
tcatgtccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg	1380
tctccgggta aatga	1395

<210> 288
 <211> 1395
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<220>
 <221> 修飾鹼基
 <222> (1398)..(1398)
 <223> a, c, t, g, 未知或其他

<400> 288
 atggaagccc cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctccctga taccaccgga 60
 gaggtacagc ttcttgaaag tggaggtggc cttgtccaac ccggagggtc attgcggttg 120
 agctgtgcgg caagtggctt cacccttctct gacgcttggg tggactgggt gagacaagcc 180
 cccggttaagg gactggagtt ggttgctgaa atcaggaaca aggccaagaa ccatgcaaca 240
 tattatgccg aaagtgtgaa gggaagggtc acaatcagta gagataacag caagaacaca 300
 ctgtacctcc agatgaacag cctcagagct gaggacaccg ccgtctatta ttgtaccact 360
 ctcgattcat gggggcaggg taccaccgtt acagtcagca ggcctccac caagggccca 420
 tcggtcttcc ccctggcacc ctccctccaag agcacctctg ggggtacagc ggccctgggc 480
 tgccctggtca aggactactt ccccgaaccg gtgacgggtg cgtggaactc aggcgccctg 540
 accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc 600
 agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcaccacaga cctacatctg caacgtgaat 660
 cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagttgagc ccaaattctg tgacaaaact 720
 cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa ctccctggggg gaccgtcagt cttcctcttc 780
 cccccaaaac ccaaggacac cctcatgac tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg 840
 gtggacgtga gccacgaaga ccctgagggtc aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 900
 gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagta acagcacgta ccgtgtggtc 960
 agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc 1020
 tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1080
 cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc 1140

agcctgacat gcctgggtcaa aggctttctat cccagcgcaca tcgccgtgga gtgggagagc 1200
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctccccg tgctggactc cgacggctcc 1260
ttctttcctct acagcaagct caccgtggac aagtccaggt ggcagcaggg gaacgtcttc 1320
tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg 1380
tctccgggta aatga 1395

<210> 289
<211> 720
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<400> 289
atggaagccc cagcgcagct tctcttcttc ctgctactct ggctccctga taccaccgga 60
gatatcgtga tgacacaaac tccccgtgtct ctgtctgtaa ctccagggtca gcccgcgagt 120
atttcatgta agagcagcca atccctgctg gacagcgacg ggaagacctt cctgaactgg 180
ttactccaaa agccaggaca aagtcctccaa cgccttattt acctgggtgc agccctggac 240
tctggcgtgc ccgatcgatt tagcggcagc gggagtggca cagatttcac cctgaaaata 300
tcccgcgtcg aggccgaaga tgtgggcgtg tactactgct ggcagggcac acatttcccc 360
tggacatttg gtcaggggac aaagctggaa attaaacgaa ctgtggcagc accaagcgtc 420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggga aggtggataa cgccctccaa 540
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600
agcagcaccg tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660
gtcacccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 290
<211> 1395
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<400> 290
atggaagccc cagcgcagct tctcttccctc ctgctactct ggctccctga taccaccgga 60
gaggtacagc tgggtggagtc gggaggaggc ttggtacagc ctgggggttc tctgagactc 120
tcctgtgcag ctcttgatt cccattcagt aactactgga tgaactgggt ccgccaggct 180
ccagggaagg gacttgagtg ggtgggtcaa attagattga aatctaataa ttatgcaaca 240
cattatgcgg agtctgtgaa agggcggttc accatctcca gagatgattc caaaaacagc 300
ctctatcttc aaatgaattc cctgaaaact gaagacactg ccgtttatta ctgtacccca 360
attgactatt ggggccaaagg caccactgtc acagtctcct cagcctccac caagggccca 420
tcggtcttcc ccctggcacc ctctccaag agcacctctg ggggtacagc ggccctgggc 480
tgccctggta aggactactt ccccgaaccg gtgacgggtg cgtggaactc aggcgcctg 540
accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc 600
agcgttggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcaccacaga cctacatctg caacgtgaat 660
cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagttgagc ccaaactctg tgacaaaact 720
cacacatgcc caccgtgcc agcacctgaa ctctggggg gaccgtcagt ctctctctc 780
ccccaaaac ccaaggacac cctcatgac tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg 840
gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc aagtccaact ggtacgtgga cggcgtggag 900
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc 960
agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc 1020
tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1080
cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc 1140
agcctgacat gcctggtcaa aggccttctat ccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc 1200
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc 1260
ttcttctct acagcaagct caccgtggac aagtcagggt ggcagcaggg gaacgtcttc 1320
tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg 1380
tctccgggta aatga 1395

<210> 291
<211> 717
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<400> 291

atggaagccc cagcgagct tctcttccctc ctgctactct ggctccctga taccaccgga	60
gacattgtga tgaccagac tccactcagt ttgtcagtta cccctgggca accagcctct	120
atctcttgca agtcaagtca gagcctctta tatagtaatg gaaaaacctt tttgaactgg	180
gttttacaga agccaggcca gtctccacag cgcctaactct atctgggtgc taaactggac	240
tctggagtcc ctgacagggt ctctggcagt ggatcaggaa cagatcttac actgaaaatc	300
agcagagtgg aggctgagga tgtgggagtt tattactgctg tgcaagggtc acattttcac	360
acgttcggtc aagggacca gctggagatt aaacgaactg tggcagcacc aagcgtcttc	420
atcttcccgct catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg	480
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtgggaagg tggataacgc cctccaatcg	540
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc	600
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagctctacgc ctgcgaagtc	660
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag	717

<210> 292

<211> 1404

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<400> 292

atggaagccc cagcgagct tctcttccctc ctgctactct ggctccctga taccaccgga	60
gaggtacagc tgggtggagtc gggaggaggc ttggtacagc ctgggggttc tctgagactc	120
tcctgtgcag ctctctggatt caccctttct gattactaca tgagctgggt ccgccaggct	180
ccagggaagg gacttgagtg ggtgggtttt attagaaaca aagctaattg ttacacaaca	240
gagtacagtg catctgtgaa gggctcggttc accatctcca gagatgattc caaaaacagc	300
ctctatcttc aaatgaattc cctgaaaact gaagacactg ccgtttatta ctgtgcaaga	360
tatatctggt ttgactactg gggccaaggc accactgtca cagtctcctc agcctccacc	420

aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggtacagcg	480
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca	540
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac	600
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc	660
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt	720
gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc	780
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca	840
tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac	900
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac	960
cgtgtgggtca gcgtccctac cgtccctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag	1020
tgcaagggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1080
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag	1140
aaccagggtca gcctgacatg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag	1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc	1260
gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agtccagggtg gcagcagggg	1320
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc	1380
ctctccctgt ctccgggtaa atga	1404

<210> 293

<211> 723

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<400> 293

atggaagccc cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctccctga taccaccgga	60
gacatttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgtctgtca ctctggaca accagcctcc	120
atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacactaatg gaaacaccta ttacattgg	180
tacctgcaga agccaggcca gtctccacag ctctgattt atatggtttc caaccgattt	240
tctgggggtcc cagacagggt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc	300

agcagagtgg aggctgagga tgtgggagtt tattactgct ctcaaagtgc acatgttcct	360
ccgctcacgt tcgggtcaagg gaccaggctg gagattaaac gaactgtggc agcaccaagc	420
gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgtttgtgtgc	480
ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtga taacgccctc	540
caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc	600
ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc	660
gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt	720
tag	723

<210> 294
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成胜肽

<400> 294
Ala Arg Tyr Ile Phe Phe Asp Tyr
1 5

104年9月30日修正替換頁
第1-5頁

七、申請專利範圍：

1. 一種單株抗-人類CD52抗體或結合人類CD52的抗原-結合部份，其中該抗體之重鏈(H)-CDR1、H-CDR2、H-CDR3及輕鏈(L)-CDR1、L-CDR2、及L-CDR3分別包含SEQ ID NOs: 53、63、71、31、36及44之胺基酸序列。
2. 一種單株抗-人類CD52抗體或結合人類CD52的抗原-結合部份，其中該抗體的重鏈及輕鏈分別包含SEQ ID NOs: 279及280的胺基酸序列，且無信號序列。
3. 如請求項1之單株抗-人類CD52抗體或抗原-結合部份，其中該抗體的輕鏈包含自SEQ ID NOs: 153-157所組成的群組中選出的胺基酸序列。
4. 如請求項1之單株抗-人類CD52抗體或抗原-結合部份，其中該抗體的輕鏈包含SEQ ID NO: 280的胺基酸序列，且無信號序列。
5. 如請求項1之單株抗-人類CD52抗體或抗原-結合部分，其中該抗體的重鏈包含自SEQ ID NOs: 149-152所組成的群組中選出的胺基酸序列。
6. 如請求項1之單株抗-人類CD52抗體或抗原-結合部份，其中該抗體的重鏈包含SEQ ID NO: 279的胺基酸序列，且無信號序列。
7. 如請求項1-6中任一項之單株抗-人類CD52抗體或抗原-結合部份，其中該抗體係為人類化抗體、老鼠抗體或嵌合抗體。
8. 如請求項1-6中任一項之單株抗-人類CD52抗體或抗原-結

合部份，其中該重鏈的骨架區使用 VH3-72 或 VH3-23 人類生殖株序列，且其中該輕鏈的骨架區使用 VK2 A18b 人類生殖株序列。

9. 如請求項 1-6 中任一項之單株抗-人類 CD52 抗體或抗原-結合部份，其中該抗體的輕鏈及重鏈分別包含 SEQ ID NOs: 9 及 22 之胺基酸序列。
10. 如請求項 1-6 中任一項之單株抗-人類 CD52 抗體或抗原-結合部份，其中該重鏈及輕鏈包含胺基酸序列
 - a) 分別為 SEQ ID NOs: 149 及 155；或
 - b) 分別為 SEQ ID NOs: 149 及 156。
11. 如請求項 1、3 及 5 中任一項的單株抗-人類 CD52 抗體或抗原-結合部份，其中該抗體為 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 分子。
12. 如請求項 1、3 及 5 中任一項的單株抗-人類 CD52 抗體或抗原-結合部份，其中該部份係為單鏈抗體、Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、單鏈 Fv 分子(scFv)、雙特定單鏈 Fv 二聚體、雙鏈抗體、區域缺失抗體或單域抗體(dAb)。
13. 如請求項 1-6 中任一項之單株抗-人類 CD52 抗體或抗原-結合部份，其中所述抗體或部份係結合至包含 SEQ ID NO: 104 的胺基酸序列，且視情況，該抗體或部分至 SEQ ID NO: 104 的結合係由在 SEQ ID NO: 104 的殘基殘基 4、7、8 或 11 的丙胺酸取代所還原。
14. 如請求項 1-6 中任一項的單株抗-人類 CD52 抗體或抗原-結合部份，其中該抗體或抗原-結合部份具有自下列所組成

的群組中選出的一或更多性質：

- a) 消耗T或B淋巴細胞，或二者；
- b) 與B淋巴細胞相較，優先地消耗T淋巴細胞；
- c) 增加TNF- α 、IL-6、或MCP-1的循環血清含量；
- d) 介導CD52-表現細胞的抗體-依賴細胞介導性細胞毒性(ADCC)；
- e) 介導CD52-表現細胞的補體依賴細胞毒性(CDC)；
- f) 於阿來組單抗(alemtuzumab)中和抗體存在下結合人類CD52；及
- g) 促進人類T及/或B細胞的細胞內發信號，或二者。

15. 一種組合物，其包含如請求項1-14中任一項的單株抗-人類CD52抗體或抗原-結合部分，以及醫藥上可接受媒劑或載劑。

16. 一種經分離核酸，其編碼如請求項1-14中任一項的單株抗-人類CD52抗體或抗原-結合部分的重鏈或輕鏈或兩者。

17. 如請求項16的經分離核酸，其中該經分離核酸係包含：

- a) SEQ ID NO: 290的重鏈核苷酸序列，或是該核苷酸序列不具編碼信號胜肽的序列；
- b) SEQ ID NO: 291的輕鏈核苷酸序列，或是該核苷酸序列不具編碼信號胜肽的序列；或是
- c) a) 及 b)兩者的核苷酸序列。

18. 如請求項17的經分離核酸，其中該經分離核酸包含分別為SEQ ID NO: 290及SEQ ID NO: 291的重鏈核苷酸序列

與輕鏈核苷酸序列，兩者皆不具編碼信號胜肽的序列。

19. 一種宿主細胞，其包含編碼如請求項1-14中任一項的單株抗-人類CD52抗體或抗原-結合部分的重鏈的第一核酸序列，該第一核酸序列係操作地鏈結至表現控制因子，以及編碼所述單株抗體或抗原-結合部分的輕鏈的第二核酸序列，該第二核酸序列係操作地鏈結至表現控制因子。
20. 一種表現抗-人類CD52抗體或結合人類CD52的抗原-結合部分的方法，其包含在適合所述抗體或部分表現的條件下培養請求項19的該宿主細胞，及表現該抗體或部分。
21. 一種如請求項1-14中任一項的單株抗-人類CD52抗體或抗原-結合部分之用途，其係用於製備在需要的病人中誘發免疫抑制的藥物。
22. 如請求項21之用途，其中該病人係具自體免疫疾病。
23. 一種如請求項1-14中任一項的單株抗-人類CD52抗體或抗原-結合部分之用途，其係用於製備在癌症病人中靶向CD52⁺細胞的藥物。
24. 一種如請求項1-14中任一項的單株抗-人類CD52抗體或抗原-結合部分之用途，其係用於製備在需要的病人中抑制血管生成的藥物。
25. 如請求項21的用途，其中該病人係接受移植。
26. 如請求項22之用途，其中該自體免疫疾病係為多發性硬化症、風濕性關節炎、系統性紅斑狼瘡或血管炎。
27. 如請求項23之用途，其中該癌症病人係具白血病。

28. 如請求項23之用途，其中該癌症病人係具淋巴瘤。
29. 如請求項23之用途，其中該癌症病人係具T細胞惡性腫瘤，且與B細胞相較，該抗體或部分優先地消耗T細胞。
30. 如請求項23之用途，其中該癌症病人係具實體腫瘤。
31. 如請求項21之用途，其中該藥物進一步包含嗜中性球或NK細胞刺激劑。
32. 如請求項23之用途，其中該藥物進一步包含嗜中性球或NK細胞刺激劑。
33. 如請求項21之用途，其中該藥物進一步包含T調節細胞刺激劑
34. 如請求項23之用途，其中該藥物進一步包含T調節細胞刺激劑。
35. 如請求項24的用途，其中該病人係具實體腫瘤。
36. 如請求項24的用途，其中該病人係具血管新生。