



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 109071647 B

(45) 授权公告日 2022. 11. 22

(21) 申请号 201780024573.X	(72) 发明人 R·S·斯特里珀 S·W·哈姆 陈红 浜松典郎 R·乔普拉 徐梅
(22) 申请日 2017.04.26	
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 109071647 A	(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247 专利代理师 柴云峰 黄革生
(43) 申请公布日 2018.12.21	
(30) 优先权数据 62/328,564 2016.04.27 US	(51) Int.Cl. C07K 16/22 (2006.01) C12N 15/13 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2018.10.19	
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2017/029636 2017.04.26	(56) 对比文件 GB 201405477 D0,2014.05.07 US 2014193427 A1,2014.07.10 US 2010272734 A1,2010.10.28
(87) PCT国际申请的公布数据 W02017/189724 EN 2017.11.02	审查员 戎晓媛
(73) 专利权人 诺华股份有限公司 地址 瑞士巴塞尔	权利要求书2页 说明书119页 序列表74页 附图8页

(54) 发明名称
抗生长分化因子15的抗体及其用途

(57) 摘要
本文提供了与人生长分化因子15蛋白结合的单克隆抗体(例如,人抗体)(下文中,有时称为“GDF15”),以及包含其的药物组合物 and 治疗方法。

1. 一种结合人生长分化因子-15 (GDF15) 的抗体或其抗原结合片段, 包含:

(i) 根据Kabat定义的重链可变区 (VH) CDR1 (HCDR1), 其由SEQ ID NO:6的氨基酸序列组成,

VH CDR2 (HCDR2), 其由SEQ ID NO:7的氨基酸序列组成,

VH CDR3 (HCDR3), 其由SEQ ID NO:8的氨基酸序列组成,

轻链可变区 (VL) CDR1 (LCDR1), 其由SEQ ID NO:19的氨基酸序列组成,

VL CDR2 (LCDR2), 其由SEQ ID NO:20的氨基酸序列组成, 和

VL CDR3 (LCDR3), 其由SEQ ID NO:21的氨基酸序列组成, 或者

(ii) 根据Chothia定义的VH CDR1 (HCDR1), 其由SEQ ID NO:9的氨基酸序列组成,

VH CDR2 (HCDR2), 其由SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成,

VH CDR3 (HCDR3), 其由SEQ ID NO:11的氨基酸序列组成,

VL CDR1 (LCDR1), 其由SEQ ID NO:22的氨基酸序列组成,

VL CDR2 (LCDR2), 其由SEQ ID NO:23的氨基酸序列组成, 和

VL CDR3 (LCDR3), 其由SEQ ID NO:24的氨基酸序列组成, 或者

(iii) 根据Kabat和Chothia组合定义的VH CDR1 (HCDR1), 其由SEQ ID NO:3的氨基酸序列组成,

VH CDR2 (HCDR2), 其由SEQ ID NO:4的氨基酸序列组成,

VH CDR3 (HCDR3), 其由SEQ ID NO:5的氨基酸序列组成,

VL CDR1 (LCDR1), 其由SEQ ID NO:16的氨基酸序列组成,

VL CDR2 (LCDR2), 其由SEQ ID NO:17的氨基酸序列组成, 和

VL CDR3 (LCDR3), 其由SEQ ID NO:18的氨基酸序列组成。

2. 根据权利要求1的抗体或其抗原结合片段, 其包含:

由SEQ ID NO:12的氨基酸序列组成的VH; 和

由SEQ ID NO:25的氨基酸序列组成的VL。

3. 根据权利要求1的抗体或其抗原结合片段, 具有两种, 三种, 四种, 五种, 六种, 七种, 八种或所有下列性质:

(i) 特异性结合GDF15的指关节结构域中的一个或多个氨基酸;

(ii) 具有Biacore确定的小于或等于150pM的 K_D 值;

(iii) 与人GDF15, 食蟹猴GDF15, 小鼠GDF15或大鼠GDF-15中的两种, 三种或全部交叉反应;

(iv) 具有8到10之间的等电点 (pI);

(v) 降低受试者中GDF15水平;

(vi) 减少GDF-15介导的抑制食物摄入;

(vii) 减少GDF-15介导的抑制体重减轻;

(viii) 减轻GDF-15介导的厌食症; 或

(ix) 与ABGDF15-A、ABGDF15-B、ABGDF15-C、ABGDF15-D、ABGDF15-E、ABGDF15-F或ABGDF15-G中的任一种的抗体竞争结合, 其中所述ABGDF15-A包含SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:25所示氨基酸序列的VL, 所述ABGDF15-B包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:77所示氨基酸序列的VL, 所述ABGDF15-C包含SEQ ID NO:90所

示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:103所示氨基酸序列的VL,所述ABGDF15-D包含SEQ ID NO:116所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:129所示氨基酸序列的VL,所述ABGDF15-E包含SEQ ID NO:142所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:155所示氨基酸序列的VL,所述ABGDF15-F包含SEQ ID NO:168所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:181所示氨基酸序列的VL,所述ABGDF15-G包含SEQ ID NO:38所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:51所示氨基酸序列的VL。

4. 根据权利要求1的抗体或其抗原结合片段,其具有通过Biacore测量的对人GDF15小于或等于115pM的 K_D ,或通过溶液平衡滴定测定法测量的小于或等于120pM的 K_D 。

5. 根据权利要求1的抗体或其抗原结合片段,其结合SEQ ID NO:1的氨基酸231至294内的一个或多个氨基酸。

6. 根据权利要求5的抗体或其抗原结合片段,其结合SEQ ID NO:1的氨基酸231、285或294中的一个,两个或全部。

7. 根据权利要求6的抗体或其抗原结合片段,其结合SEQ ID NO:1的氨基酸285和294,或SEQ ID NO:1的氨基酸231和285。

8. 根据权利要求1-7中任一项的抗体或其抗原结合片段,其结合人GDF15蛋白并与ABGDF15-A、ABGDF15-D、ABGDF15-G、ABGDF15-B、ABGDF15-C、ABGDF15-F或ABGDF15-E中的任一种抗体竞争,其中所述ABGDF15-A包含SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:25所示氨基酸序列的VL,所述ABGDF15-B包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:77所示氨基酸序列的VL,所述ABGDF15-C包含SEQ ID NO:90所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:103所示氨基酸序列的VL,所述ABGDF15-D包含SEQ ID NO:116所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:129所示氨基酸序列的VL,所述ABGDF15-E包含SEQ ID NO:142所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:155所示氨基酸序列的VL,所述ABGDF15-F包含SEQ ID NO:168所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:181所示氨基酸序列的VL,所述ABGDF15-G包含SEQ ID NO:38所示氨基酸序列的VH和SEQ ID NO:51所示氨基酸序列的VL。

9. 药物组合物,其包含权利要求1-8中任一项的抗体或其片段和药学上可接受的载体。

10. 权利要求1-8中任一项的抗体或片段、或权利要求9的药物组合物的用途,用于制备治疗GDF15相关病症的药物,其中所述病症是厌食症,少肌症或恶病质。

11. 根据权利要求10所述的用途,其中所述恶病质是与衰老,癌症,心力衰竭,COPD,肾衰竭和/或消耗性病症相关的恶病质。

12. 权利要求1-8中任一项的抗体或其片段、或权利要求9的药物组合物的用途,用于制备增加食欲和/或食物摄入、或增加受试者中的体重的药物。

13. 权利要求1-8中任一项的抗体或其片段、或权利要求9的药物组合物的用途,用于制备抑制或减少以下一种或多种的药物:受试者中的体重减少、食欲减少或食物摄入量减少。

14. 根据权利要求12或13所述的用途,其中所述受试者患有消耗性病症,癌症,慢性心力衰竭,慢性肾病,COPD,AIDS,多发性硬化,类风湿性关节炎,败血症,或结核病。

抗生长分化因子15的抗体及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2016年4月27日提交的美国临时申请号62/328,564的权益。上述申请的内容通过引用整体并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含序列表,该序列表已经以ASCII格式电子提交,并且其全部内容通过引用并入本文。2017年4月26日创建的所述ASCII拷贝命名为N2067-7107W0_SL.txt,大小为139,611字节。在本申请的全文中,如果说明书的文本(例如表1)与序列表之间存在差异,则以说明书的文本为准。

[0005] 背景

[0006] 食欲减退和体重减轻与多种疾病的不良后果相关,包括神经性厌食症,人类衰老,癌症,心力衰竭,慢性阻塞性肺病和肾衰竭。厌食症通常与恶病质有关:一种复杂的代谢综合征,其特征在于肌肉量的过度丧失,伴有或不伴有脂肪量的减少,这比能量摄入减少的预期更多。这种使人衰弱的状况大大缩短了寿命并降低了生活质量。

[0007] 在正常情况下,动物和人类对营养不良的反应会产生复杂的神经内分泌反应,最终导致食欲增加,瘦体质相对减少,脂肪储存燃烧,和基础代谢率整体下降(Webber & Macdonald, 1994, Brit. J. Nutr. 71:437-447; Ahima et al., 1996, Nature 382:250-252)。相反,在一些疾病中,由食欲下降和代谢率增加以及脂肪和瘦体质代谢的组合引起的称为恶病质的营养不良的破坏性病理状态升高,从而产生瘦体质的相对消耗(Tisdale, 1997, J. Natl. Cancer Inst. 89:1763-1773; Inui, 1999, Cancer Res. 59:4493-4501; Fong et al., 1989, Amer. J. Phys. 256:R659-R665; Bruera, 1997, Brit. Med. J. 315:1219-1222; Emery, 1999, Nutrition 15:600-603)。这种组合存在于许多病症中,包括癌症,囊性纤维化,AIDS,类风湿性关节炎,ALS,肾衰竭,消耗性疾病和髌部骨折(Tisdale, 1997, 同上)。

[0008] 许多疾病中恶病质的严重程度可能是生活质量和最终死亡率的决定因素(Tisdale, 1997, 同上; Larkin, 1998, Lancet 351:1336)。实际上,艾滋病患者的体重保持与存活的相关性高于该疾病任何其他当前的测量(Kotler et al., 1989, Amer. J. Clin. Nutr. 50:444-447)。已经研究了许多不同的肿瘤类型,并且常见的发现是携带肿瘤的动物死于恶病质和代谢燃料的耗尽,而不是死于转移或感染(Svaninger et al., 1987, J. Natl. Cancer Inst. 78:943-950; Emery, 1999, Nutrition 15:600-603; Svaninger et al., 1989, Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 25:1295-1302; Emery et al., 1984, Cancer Res. 44:2779-2784)。恶病质常见于癌症患者,特别是儿童和老年人(Bruera, 1997, 同上)。由此导致的营养不良和瘦体质的减少降低了受影响个体的生活质量,并通过降低对治疗的耐受性和增加手术后并发症而损害了恢复(Larkin, 1998, 同上; Inui, 1999, 同上)。厌食症的一个例子发生在人类衰老中。在禁食和餐后期间,老年体弱患者通常表现出几乎没有饥饿(Serra-Prat et al., 2013, Neurogastroenterol Motil. 25(4):291-e245)。

[0009] 肿瘤生长与深刻的代谢和神经化学改变相关,这可导致厌食恶病质综合征的发作。厌食症与进食欲望的丧失有关,而恶病质是由骨骼肌质量的逐渐消耗和脂肪组织的较

小程度的逐渐消耗引起的,甚至在体重减轻变得明显之前就会发生。癌症厌食症-恶病质综合征在癌症患者中非常普遍,对发病率和死亡率具有很大影响,并且影响患者的生活质量。然而,其临床相关性经常被忽视,并且通常仅在疾病的晚期阶段尝试治疗(Laviano A. et al, Nat. Clin. Pract. Oncol. 3:158-65 (2005))。

[0010] 生长分化因子15 (GDF15) 是TGF β 超家族的不同成员,并且也称为巨噬细胞抑制性细胞因子1 (MIC1) (Bootcov MR, 1997, Proc Natl Acad Sci 94:11514-9), 胎盘骨形态发生因子 (PLAB) (Hromas R 1997, Biochim Biophys Acta. 1354:40-4), 胎盘转化生长因子 β (PTGFB) (Lawton LN 1997, Gene. 203:17-26), 前列腺衍生因子 (PDF) (Paralkar VM 1998, J Biol Chem. 273:13760-7) 和非甾体抗炎药物活化基因 (NAG-1) (Baek SJ 2001, J Biol Chem. 276:33384-92)。成熟的GDF15肽与其他家族成员具有低同源性 (Kato M 2006, Int J Mol Med. 17:951-5)。GDF15被合成为大的前体蛋白,其在二碱基切割位点被切割以释放羧基末端成熟肽。人全长前体含有308个氨基酸,并在RGRRRAR (SEQ ID NO:185) 切割位点切割以产生成熟GDF肽。天然存在的GDF15是通过一个链间二硫键共价连接的成熟肽的25KD同型二聚体。

[0011] 据报道,GDF15与许多不同的生理和病理状况有关。例如,GDF15敲除和转基因小鼠的研究表明GDF15可以保护免受缺血/再灌注或过载诱导的心脏损伤 (Kempf T, 2006, Circ Res. 98:351-60; Xu J, 2006, Circ Res. 98:342-50), 预防与衰老相关的运动神经元和感觉神经元损失 (Strelau J, 2009, J Neurosci. 29:13640-8), 对肾脏代谢性酸中毒有轻度保护作用,并可能导致癌症患者的恶病质 (Johnen H 2007 Nat Med. 11:1333-40)。还报道了GDF15对肠和肺中的致癌物或Apc突变诱导的瘤形成具有保护作用 (Baek SJ 2006, Gastroenterology. 131:1553-60; Cekanova M 2009, Cancer Prev Res 2:450-8)。

[0012] GDF15具有食欲减退作用,特别是在癌症中 (Brown D.A. Clinical Cancer Res 2003; 9:2642-2650; Koopmann J. Clinical Cancer Res 2006; 12:442-446)。癌症和其他疾病 (如慢性肾脏或心力衰竭) 中循环MIC-1/GDF15水平的显著升高与较低的体重指数相关 (Breit S.N. et al, Growth factors 2011; 29:187-195; Johnen H. et al, Nat Med. 2007; 13:1333-1340), 表明除了疾病中炎症的任何作用外, MIC-1/GDF15也可能在体重调节中起作用。在正常和致肥胖的饮食条件下, MIC-1/GDF15在小鼠中的长期升高的表达导致食物摄入、体重和肥胖的减少,伴随着葡萄糖耐量的改善 (Macia L. et al, PloS One 2012; 7 (4): e34868)。食物摄入和体重受各种中心和外围因素控制,但这些过程背后的确切机制仍未完全了解。

[0013] 需要用于治疗恶病质的新治疗剂。特别需要改进的抗GDF15抗体,其具有活性并具有改善的治疗性质。

[0014] 概述

[0015] 本文公开了以高亲和力和特异性结合人生长分化因子15蛋白 (下文中,有时称为“GDF15”) 的抗体 (例如,单克隆抗体)。以下用于指本文提供的抗GDF15抗体的术语“抗体”包括全长抗体及其抗原结合片段。

[0016] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体能够结合GDF15的C末端区域,例如GDF15的指关节结构域。不希望受理论束缚,据信在某些实施方案中,与GDF15的C末端区域 (例如,指关节结构域) 的特异性结合至少部分地赋予如本文所述的抗GDF15抗体的生物学功能和/或临床

效果。

[0017] 还提供了编码抗体的核酸分子,表达载体,宿主细胞和制备抗体的方法。还提供了免疫缀合物,多特异性或双特异性抗体和包含所述抗体的药物组合物。本文公开的抗GDF15抗体可以(单独或与其他药剂或治疗方式组合)用于治疗,预防和/或诊断GDF15相关病症或状况,包括那些涉及消耗病症如厌食症或恶病质的病症或状况。因此,公开了用于检测GDF15的组合物和方法,以及使用抗GDF15抗体治疗各种GDF15相关病症或状况的方法。

[0018] 因此,在一个方面,本文提供了一种或多种以下性质或特征的结合GDF15(例如人GDF15)的抗体(例如,分离的或重组的抗体或其抗原结合片段)。

[0019] 在一些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段结合GDF15,平衡解离常数(K_D)小于或等于150nM。在一些实施方案中,抗GDF15抗体或抗原结合片段结合人GDF15或其片段,例如具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列,或由SEQ ID NO:2的核苷酸序列编码的人GDF15。例如,本文所述的抗体或抗原结合片段可以与人GDF15结合, K_D 小于或等于100nM,小于或等于50nM,小于或等于10nM,小于或等于1nM,小于或等于750pM,小于或等于600pM,小于或等于500pM,小于或等于400pM,小于或等于300pM,小于或等于200pM,小于或等于150pM,小于或等于100pM,小于或等于75pM,小于或等于65pM,小于或等于60pM,小于或等于55pM,小于或等于50pM,小于或等于45pM,小于或等于40pM,小于或等于35pM,小于或等于30pM,小于或等于25pM,小于或等于至20pM,小于或等于15pM,小于或等于10pM,小于或等于5pM,小于或等于2pM,小于或等于1pM,小于或等于0.5pM,小于或等于0.2pM,或小于或等于0.1pM。

[0020] 在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段(例如ABGDF15-A)结合人GDF15的 K_D 如通过Biacore测量小于或等于11pM,或通过溶液平衡滴定测定法(SET)测量小于或等于1pM。在另一个实施方案中,抗体或抗原结合片段,例如ABGDF15-B,结合人GDF15,其如通过Biacore测量的 K_D 小于或等于115pM,或如通过SET测量的小于或等于120pM。在另一个实施方案中,抗体或抗原结合片段,例如ABGDF15-C,结合人GDF15,如通过Biacore测量,其 K_D 小于或等于66pM,或如通过SET测量,小于或等于120pM。在另一个实施方案中,抗体或抗原结合片段,例如ABGDF15-D,结合人GDF15,如通过Biacore测量,其 K_D 小于或等于19pM,或如通过SET测量,小于或等于0.16pM。在另一个实施方案中,抗体或抗原结合片段,例如ABGDF15-E,结合人GDF15,如通过Biacore测量,其 K_D 小于或等于39pM,或如通过SET测量,小于或等于2.3pM。在另一个实施方案中,抗体或抗原结合片段,例如ABGDF15-F,结合人GDF15,如通过Biacore测量,其 K_D 小于或等于37pM,或如通过SET测量,小于或等于4.4pM。在另一个实施方案中,抗体或抗原结合片段,例如ABGDF15-G,结合人GDF15,如通过Biacore测量,其 K_D 小于或等于20pM。

[0021] 本文所述的抗体或抗原结合片段可与人GDF15,食蟹猴GDF15,小鼠GDF15或大鼠GDF-15结合,具有表2中所述的 K_D ,例如,如通过Biacore所测定。在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段结合人GDF15(例如,天然人GDF15),其 K_D 小于或等于120pM,小于或等于100pM,小于或等于80pM,小于或等于60pM,小于或等于40pM,小于或等于20pM,小于或等于15pM,或小于或等于10pM。在另一个实施方案中,抗体或抗原结合片段结合人GDF(例如,人His-GDF15),其 K_D 小于或等于150pM,小于或等于100pM,小于或等于80pM,小于或等于60pM,小于或等于40pM,小于或等于20pM,小于或等于10pM,小于或等于5pM,或小于或等于2pM。在

另一个实施方案中,抗体或抗原结合片段结合食蟹猴GDF(例如,食蟹猴His-GDF15),其 K_D 小于或等于120pM,小于或等于100pM,小于或等于80pM,小于或等于60pM,小于或等于40pM,小于或等于20pM,或小于或等于10pM。在另一个实施方案中,抗体或抗原结合片段结合小鼠GDF(例如,小鼠His-GDF15),其 K_D 小于或等于250pM,小于或等于200pM,小于或等于150pM,小于或等于100pM,小于或等于80pM,小于或等于60pM,或小于或等于40pM。在另一个实施方案中,抗体或抗原结合片段结合小鼠GDF(例如,大鼠His-GDF15), K_D 小于或等于150pM,小于或等于100pM,小于或等于80pM,小于或等于60pM,小于或等于40pM,或小于或等于20pM。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段与人GDF15,食蟹猴GDF15,小鼠GDF15或大鼠GDF-15中的一种,两种,三种或全部交叉反应。例如,本文所述的抗体或抗原结合片段可与人GDF15和食蟹猴GDF15交叉反应。

[0022] 在一些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段具有8至10的等电点(pI),例如8.2到9.8之间,8.4到9.6之间,8.6到9.4之间,8.8到9.2之间,8到8.5之间,8到9之间,8到9.5之间,8.5到10之间,9到10之间,或9.5到10之间。在一个实施方案中,抗GDF15抗体(例如,ABGDF15-A),或抗原结合片段的pI为8.7(作为IgG)或9.1(作为Fab)。在另一个实施方案中,抗GDF15抗体(例如ABGDF15-B)或抗原结合片段的pI为8.9(作为IgG)或9.3(作为Fab)。在另一个实施方案中,抗GDF15抗体(例如ABGDF15-C)或抗原结合片段的pI为8.3(作为IgG)或8.8(作为Fab)。在另一个实施方案中,抗GDF15抗体(例如ABGDF15-D)或抗原结合片段的pI为8.6(作为IgG)或9(作为Fab)。在另一个实施方案中,抗GDF15抗体(例如ABGDF15-E或ABGDF15-F)或抗原结合片段的pI为8.9(作为IgG)或9.2(作为Fab)。在另一个实施方案中,抗GDF15抗体(例如ABGDF15-G)或抗原结合片段的pI为9.3(作为IgG)或9.6(作为Fab)。在某些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段具有如表4中所述的等电点(pI)。

[0023] 在一些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段显示与表1所述的抗体分子(例如,重链可变区和轻链可变区)例如,ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E或ABGDF15-D相同或相似的结合亲和力或特异性或两者。在实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段显示与具有表1中所示的氨基酸序列或由表1所示的核苷酸序列编码的抗体分子相同或相似的结合亲和力或特异性,或两者。

[0024] 在一些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段与表1中所述的抗体例如ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E或ABGDF15-D竞争结合。

[0025] 在实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段抑制,例如竞争性抑制第二抗体分子与GDF15的结合,其中第二抗体是表1中描述的抗体,例如,选自例如,ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E或ABGDF15-D的抗体。

[0026] 在一些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段与表1中所述的抗体(例如ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E,或ABGDF15-D)结合相同的表位或基本上相同的表位(例如,重叠表位)。在一些实施方案中,抗GDF15抗体或抗原结合片段结合GDF15的C末端区域中的一个或多个氨基酸,例如GDF15,例如人GDF15的指关节结构域(例如,Mueller,T.D.et al.FEBS Letters 586(2012):1846-1859中描述的指关节区域)的一个或多个氨基酸。在实施方案中,抗GDF15抗体或抗原结合片段结合SEQ

ID NO:1的氨基酸231至294内的一个或多个氨基酸。在一个实施方案中,抗GDF15抗体或抗原结合片段结合GDF15例如人GDF15(例如,SEQ ID NO:1)的氨基酸231,285或294中的一个,两个或全部。在一个实施方案中,抗GDF15抗体或抗原结合片段结合GDF15,例如人GDF15(例如,SEQ ID NO:1)的氨基酸285和294,和任选地231。在一个实施方案中,抗GDF15抗体或抗原结合片段结合GDF15,例如人GDF15(例如,SEQ ID NO:1)的氨基酸231和285以及任选的294。在一个实施方案中,抗GDF15抗体或抗原结合片段与ABGDF15-A,ABGDF15-D,ABGDF15-E,ABGDF15-F或ABGDF15-G结合相同或基本相同的表位,例如,结合至包括GDF15,例如人GDF15的氨基酸285或294之一或两者的表位。在一个实施方案中,抗GDF15抗体或抗原结合片段与ABGDF15-A,ABGDF15-D,ABGDF15-E,ABGDF15-F或ABGDF15-G结合相同或基本相同的表位,例如,其中结合被GDF15,例如人GDF15的氨基酸285和/或294处的突变(例如,SEQ ID NO:1的I285R和/或L294R的突变)阻断。在一个实施方案中,抗GDF15抗体或抗原结合片段与ABGDF15-B或ABGDF15-C结合相同或基本相同的表位,例如,其中结合被GDF15,例如人GDF15的氨基酸231和/或285处的突变(例如,SEQ ID NO:1的S231R和/或I285R的突变)阻断。

[0027] 本文所述的抗体和抗原结合片段的结合亲和力和特异性可通过溶液平衡滴定(SET)确定。SET的方法在本领域中是已知的,并在下面进一步详细描述。或者,可通过Biacore测定法测定本文所述的抗体或片段的结合亲和力。用于Biacore动力学测定的方法是本领域已知的,并在下面进一步详细描述。

[0028] 在一些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段具有表1中所述的抗体,例如选自ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E,或ABGDF15-D的抗体的一种或多种生物学特性。示例性的生物学特性包括以下一种,两种,三种,四种或更多种:(i)抑制GDF15与受体的结合;(ii)减少(例如消耗)循环GDF15的水平;(iii)减少,例如阻断,GDF-15介导的食物摄入的抑制;(iv)减少,例如阻断GDF-15介导的体重减轻的抑制;或(v)减少,例如逆转GDF-15介导的厌食症或恶病质。在具体的实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段增加食物摄入。在具体的实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段增加体重。

[0029] 在一些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段抑制GDF15与受体的结合,例如, EC_{50} 小于或等于100nM,小于或等于50nM,小于或等于35nM,小于或等于25nM,小于或等于10nM,或小于或等于3nM。

[0030] 在一些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段减少(例如耗尽)循环GDF15的水平。

[0031] 在一些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段减少(例如阻断)受试者(例如动物模型)中食物摄入和/或体重减轻的GDF-15介导的抑制,例如,如图1A-1B所示。

[0032] 在一些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段减少例如逆转受试者,例如动物模型中GDF-15介导的厌食症,例如,如图2A-3B所示。

[0033] 在一些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段降低受试者,例如动物模型中GDF-15介导的体重减轻,例如,如图4-5所示。

[0034] 在一些实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体或抗原结合片段结合人GDF15并且与食蟹猴GDF15交叉反应。

[0035] 如本文所述的分离的抗GDF15抗体或其抗原结合片段可以是单克隆抗体,人或人源化抗体,嵌合抗体,单链抗体,Fab片段,Fv片段,F(ab')₂片段或scFv片段,和/或IgG同种型,例如,如本文所述。

[0036] 本文提供的任何抗体或其抗原结合片段可以是单克隆抗体(例如,单克隆人抗体或单克隆人源化抗体)或其抗原结合片段。在其他实施方案中,抗体或抗原结合片段是多特异性抗体,例如双特异性抗体。如本文所述的分离的抗GDF15抗体或其抗原结合片段还可以包括构架,其中来自各自的人VH或VL种系序列的氨基酸已经被取代到抗体构架中。

[0037] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括表1中描述的抗体的全长重链和/或全长轻链。在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包括ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E或ABGDF15-D的重链氨基酸序列和/或轻链氨基酸序列,或与其基本相同的氨基酸序列(例如,与其具有至少80%,85%,90%,92%,95%,97%,98%,99%或更多同一性,或与ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E或ABGDF15-D的重链和/或轻链氨基酸序列相比具有至少30,20,15,10,5或的更少的变化(例如,取代,例如,保守取代)。在另一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段由ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E,或ABGDF15-D的重链核苷酸序列和/或轻链核苷酸序列或与其基本相同的核苷酸序列(例如,与其具有至少80%,85%,90%,92%,95%,97%,98%,99%或更高同一性或ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E或ABGDF15-D的重链和/或轻链核苷酸序列相比较具有至少90,60,45,30,15或更少的变化(例如,取代))编码。在实施方案中,任何前述序列包括来自ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E或ABGDF15-D的重链的一个,两个或三个互补决定区(CDR),和/或来自轻链的一个,两个或三个CDR。

[0038] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括表1中描述的抗体的一个或两个重链可变结构域的和/或一个或两个轻链可变结构域。在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包括ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E,或ABGDF15-D的一个或两个重链可变结构域氨基酸序列和/或一个或两个轻链可变结构域氨基酸序列,或与其基本相同的氨基酸序列(与其具有至少80%,85%,90%,92%,95%,97%,98%,99%或更高同一性或ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E或ABGDF15-D的重链和/或轻链可变结构域氨基酸序列相比较具有至少20,15,10,5或更少的变化(例如,取代,例如保守取代))。在另一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段由ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E,或ABGDF15-D的重链可变结构域核苷酸序列和/或轻链可变结构域核苷酸序列或与其基本相同的核苷酸序列(例如,与其具有至少80%,85%,90%,92%,95%,97%,98%,99%或更高同一性或ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E或ABGDF15-D的重链可变结构域和/或轻链可变结构域核苷酸序列相比较具有至少60,45,30,15或更少的变化(例如,取代)的核苷酸序列编码。在实施方案中,任何前述序列包括来自ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E,或ABGDF15-D的重链可变结构域的一个,两个或三个CDR,和/或来自轻链可变结构域的一个,两个或三个CDR。

[0039] 在另一个实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括来自表1中描述的抗体

的至少一个抗原结合区,例如可变区或其抗原结合片段,所述抗体为例如选自ABGDF15-A, ABGDF15-G, ABGDF15-B, ABGDF15-C, ABGDF15-F, ABGDF15-E或ABGDF15-D中的任何一种;或由表1中的核苷酸序列或者与任何上述序列基本相同(例如,至少80%,85%,90%,92%,95%,97%,98%,99%或更高的同一性)的序列编码。在一些实施方案中,任何前述序列包括来自ABGDF15-A, ABGDF15-G, ABGDF15-B, ABGDF15-C, ABGDF15-F, ABGDF15-E或ABGDF15-D的重链可变结构域的一个,两个或三个CDR,和/或来自轻链可变结构域的一个,两个或三个CDR。

[0040] 在另一个实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包含来自表1中描述的抗体的重链可变区的至少一个,两个或三个CDR,和/或来自轻链可变区的至少一个,两个或三个CDR,所述抗体为例如选自ABGDF15-A, ABGDF15-G, ABGDF15-B, ABGDF15-C, ABGDF15-F, ABGDF15-E或ABGDF15-D中的任一种的抗体;或由表1中的核苷酸序列;或者与任何上述序列基本相同(例如,至少80%,85%,90%,92%,95%,97%,98%,99%或更高的同一性)的序列编码。在一个实施方案中,一个或多个CDR(或共同的所有CDR)相对于表1所示的氨基酸序列具有一个,两个,三个,四个,五个,六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失,或由表1中所示的核苷酸序列编码。在一个实施方案中,抗-GDF15抗体或其抗原结合片段的CDR(或共同的所有CDR)中的一个,两个,三个,四个,五个或更多个是根据Kabat等人(例如,如表1中列出的根据Kabat定义的至少一个,两个或三个CDR)。在其他实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段的CDR(或共同的所有CDR)中的一个,两个,三个,四个,五个或更多个是根据Chothia等人的(例如,根据Chothia定义如表1中列出的至少一个,两个或三个CDR)。在另一个实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段的CDR(或共同的所有CDR)中的一个,两个,三个,四个,五个或更多个是根据Kabat和Chothia组合的定义,如表1所示。

[0041] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括选自SEQ ID NOs:3,29,55,81,107,133,或159的重链CDR1;选自SEQ ID NOs:4,30,56,82,108,134或160的重链CDR2;和/或选自SEQ ID NOs:5,31,57,83,109,135或161的重链CDR3(根据组合的Kabat和Chothia CDR定义)。在一个实施方案中,相对于任何前述氨基酸序列,一个或多个CDR(或统称为所有CDR)具有一个,两个,三个,四个,五个,六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失。

[0042] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括选自SEQ ID NO:6,32,58,84,110,136或162的重链CDR1;选自SEQ ID NOs:7,33,59,85,111,137或163的重链CDR2;和/或选自SEQ ID NOs:8,34,60,86,112,138或164的重链CDR3(根据Kabat CDR定义)。在一个实施方案中,相对于任何前述氨基酸序列,一个或多个CDR(或统称为所有CDR)具有一个,两个,三个,四个,五个,六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失。

[0043] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括选自SEQ ID NO:9,35,61,87,113,139或165的重链CDR1;选自SEQ ID NOs:10,36,62,88,114,140或166的重链CDR2;和/或选自SEQ ID NO:11,37,63,89,115,141或167的重链CDR3(根据Chothia CDR定义)。在一个实施方案中,相对于任何前述氨基酸序列,一个或多个CDR(或统称为所有CDR)具有一个,两个,三个,四个,五个,六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失。

[0044] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括选自SEQ ID NO:16,42,68,94,120,146或172的轻链CDR1;选自SEQ ID NOs:17,43,69,95,121,147或173的轻链

CDR2;和/或选自SEQ ID NO:18,44,70,96,122,148或174的轻链CDR3(根据组合的Kabat和Chothia CDR定义)。在一个实施方案中,相对于任何前述氨基酸序列,一个或多个CDR(或统称为所有CDR)具有一个,两个,三个,四个,五个,六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失。

[0045] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括选自SEQ ID NO:19,45,71,97,123,149或175的轻链CDR1;选自SEQ ID NOs:20,46,72,98,124,150或176的轻链CDR2;和/或选自SEQ ID NOs:21,47,73,99,125,151或177的轻链CDR3(根据Kabat CDR定义)。在一个实施方案中,相对于任何前述氨基酸序列,一个或多个CDR(或统称为所有CDR)具有一个,两个,三个,四个,五个,六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失。

[0046] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括选自SEQ ID NO:22,48,74,100,126,152或178的轻链CDR1;选自SEQ ID NOs:23,49,75,101,127,153或179的轻链CDR2;和选自SEQ ID NOs:24,50,76,102,128,154或180的轻链CDR3(根据Chothia CDR定义)。在一个实施方案中,相对于任何前述氨基酸序列,一个或多个CDR(或统称为所有CDR)具有一个,两个,三个,四个,五个,六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失。

[0047] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括:

[0048] (i) 选自SEQ ID NOs:3,29,55,81,107,133或159的重链CDR1;选自SEQ ID NO:4,30,56,82,108,134或160的重链CDR2;和选自SEQ ID NOs:5,31,57,83,109,135或161的重链CDR3;和

[0049] (ii) 选自SEQ ID NO:16,42,68,94,120,146或172的轻链CDR1;选自SEQ ID NOs:17,43,69,95,121,147或173的轻链CDR2;选自SEQ ID NO:18,44,70,96,122,148或174的轻链CDR3(根据组合的Kabat和Chothia CDR定义)。

[0050] 在一个实施方案中,相对于任何上述氨基酸序列,(i)和/或(ii)中的一个或多个CDR(或共同的所有CDR)具有一个,两个,三个,四个,五个,六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失。

[0051] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括:

[0052] (i) 选自SEQ ID NO:6,32,58,84,110,136,162的重链CDR1;选自SEQ ID NOs:7,33,59,85,111,137或163的重链CDR2;和选自SEQ ID NOs:8,34,60,86,112,138或164的重链CDR3;和

[0053] (ii) 选自SEQ ID NO:19,45,71,97,123,149,175的轻链CDR1;选自SEQ ID NOs:20,46,72,98,124,150,176的轻链CDR2;和选自SEQ ID NOs:21,47,73,99,125,151,177的轻链CDR3(根据Kabat CDR定义)。

[0054] 在一个实施方案中,(i)和/或(ii)中的一个或多个CDR(或总体上所有CDR)相对于任何上述氨基酸序列具有一个,两个,三个,四个,五个,六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失。

[0055] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括:

[0056] (i) 选自SEQ ID NO:9,35,61,87,113,139或165的重链CDR1;选自SEQ ID NOs:10,36,62,88,114,140或166的重链CDR2;和选自SEQ ID NOs:11,37,63,89,115,141或167的重链CDR3;和

[0057] (ii) 选自SEQ ID NOs:22,48,74,100,126,152或178的轻链CDR1;选自SEQ ID

NOs:23,49,75,101,127,153或179的轻链CDR2;和选自SEQ ID NOs:24,50,76,102,128,154或180的轻链CDR3(根据Chothia CDR定义)。

[0058] 在一个实施方案中,(i)和/或(ii)中的一个或多个CDR(或总体上所有CDR)相对于任何上述氨基酸序列具有一个,两个,三个,四个,五个,六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失。

[0059] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括:一种,两种,三种,四种,五种或全部的:

[0060] 重链可变区CDR1(HCDR1),其包含G-X2-X3-F-X5-X6-X7-X8-X9-X10(SEQ ID NO:188)的氨基酸序列,其中X2是Y或G;X3是S或T;X5是R,T或S;X6是S或D;X7是Y或H;X8是A,W或Y;X9是V或I;X10是S,G或N,

[0061] 重链可变区CDR2(HCDR2),其包含X1-I-X3-P-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Y-X12-X13-X14-F-Q-G(SEQ ID NO:189)的氨基酸序列,其中X1是G,I或V;X3是I或D;X5是I,S,G,A或D;X6是F或G;X7是G或S;X8是T,Y或G;X9是A或T;X10是N或I;X12是A或S;X13是Q或P;和X14是K或S,

[0062] 重链可变区CDR3(HCDR3),其包含X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-D-X17(SEQ ID NO:190)的氨基酸序列,其中X1是G,V,Y或F;X2是P,S或G;X3是I,Y,R或S;X4是I,Y或V;X5是M,G或Y;X6是G,T或V;X7是Y或S;X8是Q,F或R;X9是F,Y或不不存在;X10是G,S或不不存在;X11为L,S或不不存在;X12是F,Y或不不存在;X13是Y或不不存在;X14为H或不不存在;X15是M或不不存在;X17是H,I,Y或V,

[0063] 轻链可变区CDR1(LCDR1),其包含X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13(SEQ ID NO:191)的氨基酸序列,其中X1是S或R;X2是G或A;X3是D或S;X4是N,Q或S;X5是I,S或T;X6是G,I或N;X7是S,I或Y;X8是G或不不存在;X9为V或不不存在;X10是H,N,L或R;X11是I,N,Y或S;X12是V或L;X13是S,N或A,

[0064] 轻链可变区CDR2(LCDR2),其包含X1-X2-X3-X4-X5-X6-S(SEQ ID NO:192)的氨基酸序列,其中X1为D,A,S或G;X2是K,A或N;X3是S或D;X4是N或I;X5是R或L;X6是P或Q,或

[0065] 轻链可变区CDR3(LCDR3),其包含X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10(SEQ ID NO:193)的氨基酸序列,其中X1为Q,F或L;X2是T,Q或S;X3是W,L或R;X4是D或Y;X5是S,H或T;X6是I或S;X7是G,P或S;X8是S,N或不不存在;X9是V,F或Y;X10是V或T。

[0066] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括HCDR1,HCDR2和HCDR3以及LCDR1,LCDR2和LCDR3,其中:

[0067] (i)HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:3,4和5,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:16,17和18;或

[0068] (ii)HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:29,30和31,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NOs:42,43和44;或

[0069] (iii)HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:55,56和57,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NOs:68,69和70;或

[0070] (iv)HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NOs:81,82和83,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NOs:94,95和96;或

[0071] (v)HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:107,108和109,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3

包含SEQ ID NO:120,121和122;或

[0072] (vi) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:133,134和135,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:146,147和148;或

[0073] (vii) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:159,160和161,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:172,173和174。

[0074] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括HCDR1,HCDR2和HCDR3以及LCDR1,LCDR2和LCDR3,其中:

[0075] (i) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:6,7和8,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:19,20和21;或

[0076] (ii) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:32,33和34,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:45,46和47;或

[0077] (iii) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:58,59和60,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:71,72和73;或

[0078] (iv) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NOs:84,85和86,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NOs:97,98和99;或

[0079] (v) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:110,111和112,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:123,124和125;或

[0080] (vi) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:136,137和138,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:149,150和151;或

[0081] (vii) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:162,163和164,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:175,176和177。

[0082] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括HCDR1,HCDR2和HCDR3以及LCDR1,LCDR2和LCDR3,其中:

[0083] (i) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:9,10和11,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:22,23和24;或

[0084] (ii) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:35,36和37,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:48,49和50;或

[0085] (iii) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:61,62和63,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:74,75和76;或

[0086] (iv) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:87,88和89,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:100,101和102;或

[0087] (v) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:113,114和115,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:126,127和128;或

[0088] (vi) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:139,140和141,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:152,153和154;或

[0089] (vii) HCDR1,HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:165,166和167,并且LCDR1,LCDR2,LCDR3包含SEQ ID NO:178,179和180。

[0090] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:12,38,64,90,116,142或168的可变重链的HCDR1,HCDR2和HCDR3,和SEQ ID NO:25,51,77,103,129,

155或181的可变轻链的LCDR1,LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:12的可变重链的HCDR1,HCDR2和HCDR3,以及SEQ ID NO:25的可变轻链的LCDR1,LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:38的可变重链的HCDR1,HCDR2和HCDR3,以及SEQ ID NO:51的可变轻链的LCDR1,LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:64的可变重链的HCDR1,HCDR2和HCDR3,以及SEQ ID NO:77的可变轻链的LCDR1,LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:90的可变重链的HCDR1,HCDR2和HCDR3,以及SEQ ID NO:103的可变轻链的LCDR1,LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:116的可变重链的HCDR1,HCDR2和HCDR3,以及SEQ ID NO:129的可变轻链的LCDR1,LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:142的可变重链的HCDR1,HCDR2和HCDR3,以及SEQ ID NO:155的可变轻链的LCDR1,LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:168的可变重链的HCDR1,HCDR2和HCDR3,以及SEQ ID NO:181的可变轻链的LCDR1,LCDR2和LCDR3。

[0091] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:12,38,64,90,116,142或168的可变重链的HCDR1,HCDR2和HCDR3,和SEQ ID NO:25,51,77,103,129,155或181的可变轻链的LCDR1,LCDR2和LCDR3,如Chothia所定义。

[0092] 在一些实施方案中,抗GDF15抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:12,38,64,90,116,142或168的重链可变结构域序列的HCDR1,HCDR2和HCDR3和SEQ ID NO:25,51,77,103,129,155,181的轻链可变结构域序列的LCDR1,LCDR2和LCDR3,如Kabat所定义。

[0093] 在其他实施方案中,抗体或抗原结合片段包括SEQ ID NO:12,38,64,90,116,142,168的重链可变结构域序列的HCDR1,HCDR2和HCDR3和SEQ ID NOs:25,51,77,103,129,155,181的轻链可变结构域序列的LCDR1,LCDR2和LCDR3,如Kabat和Chothia的组合所定义。

[0094] 在其他实施方案中,抗体或抗原结合片段包括选自SEQ ID NO:12,38,64,90,116,142或168的重链可变结构域序列。分离的抗体或抗原结合片段还可包含轻链可变结构域序列,其中重链可变结构域和轻链可变结构域组合形成GDF15的抗原结合位点。在一个实施方案中,轻链可变结构域序列选自SEQ ID NO:25,51,77,103,129,155或181,其中所述分离的抗体或其抗原结合片段结合GDF15。

[0095] 在其他实施方案中,抗体或抗原结合片段包括选自SEQ ID NO:25,51,77,103,129,155或181的轻链可变结构域序列,其中所述抗体或其抗原结合片段与人GDF15结合。抗体或抗原结合片段可以进一步包含重链可变结构域序列,其中轻链可变结构域和重链可变结构域组合以形成GDF15的抗原结合位点。

[0096] 在一些实施方案中,结合GDF15的抗体或其抗原结合片段包括重链和轻链可变结构域,所述结构域分别包含SEQ ID NO:12和25;38和51;64和77;90和103;116和129;142和155;或168和181的序列。

[0097] 在其他实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含与选自SEQ ID NO:12,38,64,90,116,142或168的序列具有至少90%序列同一性的重链可变域,其中所述抗体与GDF15结合。在一个方面,分离的抗体或其抗原结合片段还包括轻链可变结构域,其与选自SEQ ID NO:25,51,77,103,129,155或181的序列具有至少90%的序列同一性。在实施方案中,抗体或抗

原结合片段具有如Kabat所定义并如表1中所述的HCDR1,HCDR2,HCDR3,LCDR1,LCDR2和LCDR3。

[0098] 在其他实施方案中,抗体或其抗原结合片段包括与选自SEQ ID NO:25,51,77,103,129,155,181或181的序列具有至少90%序列同一性的轻链可变结构域,其中所述抗体结合GDF15。

[0099] 在另一个实施方案中,与GDF15结合的分离的抗体或其抗原结合片段可以具有包含SEQ ID NO:14,40,66,92,118,144或170的序列的重链。所述分离的抗体可以还包括可与重链结合形成人GDF15的抗原结合位点的轻链。特别地,轻链可以具有包含SEQ ID NO:27,53,79,105,131,157或183的序列。特别地,结合GDF15的分离的抗体或其抗原结合片段可以具有重链和轻链,它们分别包含SEQ ID NO:14和27;40和53;66和79;92和105;118和131;144和157;或170和183的序列。

[0100] 本文提供的其他实施方案包括分离的抗体或其抗原结合片段,其包含与选自SEQ ID NO:14,40,66,92,118,144,170的序列具有至少90%序列同一性的重链,其中所述抗体结合GDF15。在一个方面,分离的抗体或其抗原结合片段还包括与选自SEQ ID NO:27,53,79,105,131,157,183的序列具有至少90%序列同一性的轻链。

[0101] 在其他实施方案中,抗体或其抗原结合片段包括与选自SEQ ID NO:27,53,79,105,131,157,183的序列具有至少90%序列同一性的轻链,其中所述抗体结合GDF15。

[0102] 另一方面,本文提供了包含本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段的组合物。以及与药学上可接受的载体组合的抗体组合物。具体地,本文提供了包含表1的抗体或其抗原结合片段,例如抗体ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E,或ABGDF15-D的药物组合物。本文还提供了药物组合物,其包含表1中的两种或更多种分离的抗体或其抗原结合片段的组合。

[0103] 另一方面,本文提供了核酸分子,其包含编码如本文所述的抗GDF15抗体的重链和轻链,重链和轻链可变区,重链和轻链CDR的一个或两个核苷酸序列。在某些实施方案中,编码抗GDF15抗体的核苷酸序列是密码子优化的。在一个实施方案中,本文提供分别编码抗GDF15抗体的重链和轻链可变区的第一和第二核酸,所述抗GDF15抗体选自例如,如表1中总结的ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E,或ABGDF15-D中的一种或多种,例如任一种,或与其基本相同的序列。例如,核酸可以包含表1中列出的核苷酸序列,或与其基本相同的序列(例如,与其有至少约85%,90%,95%,99%或更高同一性的序列,或者与表1中所示序列相差不超过3,6,15,30或45个核苷酸)。

[0104] 在其他实施方案中,核酸分子包含编码包含如表1所述ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E,或ABGDF15-D的氨基酸序列的重链可变结构域和/或重链恒定区的核苷酸序列,或如表1所述;或表1中的核苷酸序列;或者与任何上述序列基本相同的序列(例如,至少约85%,90%,95%,99%或更高同一性的序列)。

[0105] 在其他实施方案中,核酸分子包含编码包含ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E,或ABGDF15-D的氨基酸序列的轻链可变结构域和/或轻链恒定区的核苷酸序列;或如表1所述;或表1中的核苷酸序列;或者与任何上述序列基本相同的序列(例如,至少约85%,90%,95%,99%或更高同一性的序列)。

[0106] 编码抗GDF15重链和轻链可变结构域和恒定区的上述核苷酸序列可以存在于单独

的核酸分子中,或存在于相同的核酸分子中。在某些实施方案中,核酸分子包含编码前导序列的核苷酸序列。

[0107] 在某些实施方案中,核酸分子包含编码来自重链可变区的至少一个,两个或三个CDR的核苷酸序列,所述重链可变区具有表1中列出的氨基酸序列,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%,90%,95%,99%或更高同一性,和/或具有一个,两个,三个或更多个取代,插入或缺失,例如保守取代的序列)。

[0108] 在另一个实施方案中,核酸分子包含编码来自轻链可变区的至少一个,两个或三个CDR的核苷酸序列,所述轻链可变区具有表1中列出的氨基酸序列,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%,90%,95%,99%或更高同一性,和/或具有一个,两个,三个或更多个取代,插入或缺失,例如保守取代的序列)。

[0109] 在另一个实施方案中,核酸分子包含编码来自重链和轻链可变区的至少一个,两个,三个,四个,五个或六个CDR或高变环的核苷酸序列,所述重链和轻链可变区具有表1中列出的氨基酸序列,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%,90%,95%,99%或更高同一性,和/或具有一个,两个,三个或更多个取代,插入或缺失,例如保守取代的序列)。

[0110] 在其他实施方案中,本文提供了编码重链可变区的分离的核酸序列,所述重链可变区具有选自SEQ ID NO:12,38,64,90,116,142或168的序列。在实施方案中,所述核酸包括与选自SEQ ID NO:13,39,65,91,117,143或169的序列具有至少90%的序列同一性的核苷酸序列。在某些实施方案中,该序列包括SEQ ID NO:13,39,65,91,117,143或169的核苷酸。

[0111] 在实施方案中,编码轻链可变区的分离的核酸序列包括选自SEQ ID NO:25,51,77,103,129,155或182的序列。特别地,所述核酸包括与选自SEQ ID NO:26,52,78,104,130,156或183的序列具有至少90%序列同一性的核苷酸序列。在某些实施方案中,该序列是SEQ ID NO:26,52,78,104,130,156,或183。

[0112] 在其他实施方案中,编码重链的分离的核酸具有选自SEQ ID NO:14,40,66,92,118,144或170的氨基酸序列,或与其基本相同,例如至少90%同一性的核苷酸序列。在其他实施方案中,编码重链的分离的核酸具有选自SEQ ID NO:15,41,67,93,119,145或171的核苷酸序列,或与其基本相同,例如至少90%同一性的核苷酸序列。

[0113] 在其他实施方案中,编码轻链的分离的核酸具有选自SEQ ID NO:27,53,79,105,131,157或183的氨基酸序列,或与其基本相同,例如至少90%同一性的核苷酸序列。在其他实施方案中,编码轻链的分离的核酸具有选自SEQ ID NOs:28,54,80,106,132,158或184的核苷酸序列,或与其基本相同,例如至少90%同一性的核苷酸序列。

[0114] 本文提供了分离的核酸,其包含编码多肽的核苷酸序列,所述多肽包含与选自SEQ ID NO:28,54,80,106,132,158或184的序列具有至少90%序列同一性的轻链可变结构域。

[0115] 本文还提供了包含一种或多种本文所述核酸分子的载体。重链和轻链区可以存在于相同的载体或分开的载体中。

[0116] 本文还提供了分离的宿主细胞,其包含编码上述抗体重链的重组DNA序列,和编码上述抗体轻链的第二重组DNA序列,其中所述DNA序列与启动子有效连接并且能够在宿主细胞中表达。核酸可以存在于单个载体中,或存在于相同宿主细胞或分开的宿主细胞中的分

开的载体中。宿主细胞可以是真核细胞,例如哺乳动物细胞,昆虫细胞,酵母细胞或原核细胞,例如大肠杆菌。例如,哺乳动物细胞可以是培养的细胞或细胞系。示例性哺乳动物细胞包括淋巴细胞系(例如,NSO),中国仓鼠卵巢细胞(CHO),COS细胞,卵母细胞和来自转基因动物的细胞(例如乳腺上皮细胞)。抗体可以是人抗体。宿主细胞可以是非人哺乳动物细胞。

[0117] 在实施方案中,细胞是人细胞。细胞可以在受试者中。在一个实施方案中,细胞是内皮细胞。在其他实施方案中,细胞可以是脂肪,肌肉和肝细胞中的一种或多种。在实施方案中,受试者是人。

[0118] 在另一方面,公开了提供本文所述抗体的方法。该方法包括:提供GDF15抗原(例如,包含至少一部分GDF15表位的抗原);获得特异性结合GDF15多肽的抗体分子;并评估抗体分子是否特异性结合GDF15多肽,或评估抗体分子调节(例如抑制)GDF15活性的功效。该方法可以进一步包括将抗体分子施用于受试者,例如人或非人动物。

[0119] 另一方面,本文提供了治疗,改善或预防受试者(例如患者)中GDF15相关病症的方法。该方法包括向受试者施用有效量的包含本文所述的抗体或其抗原结合片段的组合物。在一个实施方案中,GDF15相关病症与消耗性疾病相关,例如厌食恶病质,老年人厌食症,神经性厌食症,与癌症相关的恶病质,与AIDS相关的恶病质,与心力衰竭相关的恶病质,与囊性纤维化相关的恶病质,与类风湿性关节炎相关的恶病质,与肾病相关的恶病质,与COPD相关的恶病质,与ALS相关的恶病质,与肾衰竭相关的恶病质或与髌部骨折相关的恶病质等。在其他实施方案中,GDF15相关病症与少肌症,饥饿和与异常食欲,脂肪量,能量平衡和/或无意识体重减轻相关的病症,以及危重病人的死亡率和发病率降低相关。

[0120] 在一个方面,本文提供了增加受试者(例如,有此需要的受试者)的食欲和/或食物摄入的方法。该方法包括向受试者施用有效量的如本文所述的抗GDF15抗体或其片段。

[0121] 在另一个方面,本文提供了增加受试者(例如,有此需要的受试者)的体重的方法。该方法包括向受试者施用有效量的如本文所述的抗GDF15抗体或其片段。

[0122] 另一方面,本文提供了抑制或减少受试者(例如,有此需要的受试者)中的以下一种或多种:体重、肌肉量、食欲或食物摄入的减少的方法。该方法包括向受试者施用有效量的如本文所述的抗GDF15抗体或其片段。

[0123] 在一些实施方案中,受试者是哺乳动物,例如人。在一个实施方案中,受试者患有消耗性疾病,例如恶病质或少肌症,或两者。在其他实施方案中,受试者患有癌症,慢性心力衰竭,慢性肾病,COPD,AIDS,多发性硬化,类风湿性关节炎,败血症或结核病。抗GDF15抗体或其片段可以全身(例如,口服,肠胃外,皮下,静脉内,直肠,肌肉内,腹膜内,鼻内,透皮,或通过吸入或腔内安装),局部或通过应用于粘膜施用于受试者。

[0124] 在一个方面,本文提供了本文所述的抗GDF15抗体或其片段,其用作药物。

[0125] 另一方面,本文提供了本文所述的抗GDF15抗体或其片段,其用于治疗,改善或预防受试者,例如本文所述的受试者中GDF15相关病症(例如,本文所述的GDF15相关病症,例如,消耗性疾病,例如,恶病质或少肌症,癌症,慢性心力衰竭,慢性肾病,COPD,AIDS,多发性硬化,类风湿性关节炎,败血症或肺结核)。

[0126] 在一个方面,本文提供了本文所述的抗GDF15抗体或其片段,其用于增加受试者(例如,本文所述的受试者)的食欲和/或食物摄入。

[0127] 另一方面,本文提供了本文所述的抗GDF15抗体或其片段,其用于增加受试者(例

如本文所述的受试者)的体重。

[0128] 在另一个实施方案中,本文提供了抗GDF15抗体或其片段,其抑制或减少受试者(例如本文所述的受试者)中的一种或多种:体重,肌肉量,食欲或食物摄入的减少。

[0129] 在一个实施方案中,提供了抗GDF15抗体或其片段,用于治疗消耗性病症,例如恶病质或少肌症,癌症,慢性心力衰竭,慢性肾病,COPD,AIDS,多发性硬化,类风湿性关节炎,败血症,或结核病。

[0130] 另一方面,本文提供了本文所述的抗GDF15抗体或其片段在制备用于治疗,改善或预防受试者,例如本文所述的受试者中GDF15相关病症(例如,本文所述的GDF15相关病症)的药物中的用途。

[0131] 在一个方面,本文提供了本文所述的抗GDF15抗体或其片段在制备用于增加受试者(例如,本文所述的受试者)的食欲和/或食物摄入的药物中的用途。

[0132] 另一方面,本文提供了本文所述的抗GDF15抗体或其片段在制备用于增加受试者(例如本文所述的受试者)体重的药物中的用途。

[0133] 在另一个实施方案中,本文提供了本文所述的抗GDF15抗体或其片段在抑制或减少受试者(例如本文所述的受试者)以下一种或多种:体重,肌肉量,食欲或食物摄入减少的方法中的用途。

[0134] 在一个实施方案中,提供了本文所述的抗GDF15抗体或其片段在制备用于治疗消耗性病症,例如恶病质或少肌症,癌症,慢性心力衰竭,慢性肾病,COPD,AIDS,多发性硬化,类风湿性关节炎,败血症,或结核病的药物中的用途。

[0135] 抗GDF15抗体的剂量和治疗方案可由技术人员确定。在某些实施方案中,抗GDF15抗体通过注射(例如,皮下或静脉内)以约1至30mg/kg,例如约5至25mg/kg,约10至20mg/kg或约1至5mg/kg的剂量施用。给药方案可以从例如每周一次到每2,3或4周一次变化。

[0136] 本文描述的方法和组合物可以与其他药剂或治疗方式组合使用。在一个实施方案中,本文所述的方法包括以有效治疗或预防病症的量向受试者施用如本文所述的抗GDF15抗体与药剂或治疗程序或方式的组合。抗GDF15抗体和药剂或治疗程序或方式可以以任何顺序同时或依次施用。可以使用抗GDF15抗体分子和其他治疗剂,程序或方式(例如,如本文所述)的任何组合和序列。抗体分子和/或其他治疗剂,程序或方式可以在活动性病症期间,或在缓解期或活动性较低的疾病期间施用。抗体可以在其他治疗之前,与治疗同时,治疗后或在病症缓解期间施用。

[0137] 另一方面,本文提供了用于例如体外或体内(例如,生物样品,例如血清,精液或尿液,或组织活检)检测样品中GDF15的存在的方法。主题方法可用于评估(例如,监测受试者中本文所述的病症的治疗或进展,诊断和/或阶段)。该方法包括:(i)使样品与(和任选的参考,例如对照样品)接触,或在允许相互作用发生的条件下向受试者施用如本文所述的抗体分子,和(ii)检测抗体与样品(和任选的参考,例如对照样品)之间的复合物的形成。复合物的形成指示GDF15的存在,并且可以指示本文所述治疗的适合性或需要。该方法可涉及免疫组织化学,免疫细胞化学,FACS,抗体分子复合磁珠,ELISA测定,PCR技术(例如,RT-PCR)。

[0138] 通常,体内和体外诊断方法中使用的抗体用可检测物质直接或间接标记,以便于检测结合或未结合的结合剂。合适的可检测物质包括各种生物活性酶,辅基,荧光材料,发光材料,顺磁性(例如,核磁共振活性)材料和放射性材料。

[0139] 另一方面,本文提供了诊断或治疗试剂盒,其包括本文所述的抗体和使用说明书。

[0140] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。尽管与本文描述的那些类似或等同的方法和材料可以用于本公开的实践或测试,但是下面描述了合适的方法和材料。本文提及的所有出版物,专利申请,专利和其他参考文献都通过引用整体并入。在冲突的情况下,以本说明书,包括定义为准。另外,材料,方法和实施例仅是说明性的,而不是限制性的。

[0141] 根据说明书和附图以及权利要求,本公开的其他特征,目的和优点将是显而易见的。

[0142] 术语

[0143] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。某些术语在下面和整个申请中定义。如这里所使用的,冠词“一”,“一个”和“该”指的是该冠词的一个或多于一个(例如,至少一个)语法对象。

[0144] 除非上下文另有明确说明,否则术语“或”在本文中用于表示术语“和/或”并且可与术语“和/或”互换使用。

[0145] 在将元素呈现为列表的情况下,例如,以马库什组形式或“选自”列表的情况下,还公开了元素的每个子群,并且可以从群组中移除任何元素。

[0146] 通常,在本发明或本发明的方面被称为包括特定元素和/或特征的情况下,本发明的某些实施方案或本发明的方面由或基本上由这些元素和/或特征组成。出于简化的目的,这些实施方案未在本文中具体阐述。还应注意,术语“包含”和“包括”旨在是开放性的并且允许包括额外的元素或步骤。

[0147] 在给出范围的情况下,包括端点。此外,除非从本领域普通技术人员的上下文和理解中另外指出或以其他方式显而易见,则表示为范围的值可以在本发明的不同实施方案中的所述范围内呈现任何特定值或子范围,除非上下文另有明确规定,至该范围下限单位的十分之一。

[0148] “约”和“近似”通常表示在考虑测量的性质或精度的情况下,测量的量的可接受的误差程度。示例性误差程度在给定值或值范围的20%(%)内,通常在10%内,更典型地,在5%内。

[0149] 术语“GDF15蛋白”或“GDF15抗原”或“GDF15”可互换使用,并且指不同物种中的生长分化因子15(GDF15)蛋白。例如,如表1中所示的SEQ ID NO:1(NCBI参考序列:NP_004855.2)提供了人GDF15蛋白的示例性氨基酸序列,如表1中所示的SEQ ID NO:2(NCBI参考NM_004864.2)提供了编码人GDF15的示例性核酸序列,并且人GDF15已在先前的报道和文献中描述,其中它通常被称为MIC-1,PLAB,TGF-PL,PTGFB,PDF和NAG-1。术语“GDF15”包括来自哺乳动物物种例如人,食蟹猴,啮齿动物和其他物种的天然存在的分子。

[0150] 本文描述的抗体可以结合GDF15变体或突变体。术语“GDF15变体或突变体”包括天然GDF15蛋白的突变体,其具有与本文所述的天然一级结构(氨基酸序列)基本相同的氨基酸序列。本文中,术语“具有基本相同的氨基酸序列的天然人生长分化因子15(GDF15)蛋白质的突变体”是指这样的突变蛋白。

[0151] 如本文所用的术语“抗体”是指包含至少一种免疫球蛋白可变结构域序列的蛋白

质,例如免疫球蛋白链或其片段。术语“抗体”包括,例如,单克隆抗体(包括具有免疫球蛋白Fc区的全长抗体)。在一个实施方案中,抗体包含完整抗体或全长免疫球蛋白链。在另一个实施方案中,抗体包含抗原结合片段(即“抗原结合部分”)或全长抗体的功能片段,或全长免疫球蛋白链。

[0152] 在实施方案中,完整抗体是糖蛋白,其包含通过二硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链。每条重链由重链可变区(本文中缩写为VH)和重链恒定区组成。术语“重链可变区”和“重链可变结构域”在本文中可互换使用。重链恒定区由三个结构域CH1,CH2和CH3组成。每条轻链由轻链可变区(本文中缩写为VL)和轻链恒定区组成。术语“轻链可变区”和“轻链可变结构域”在本文中可互换使用。轻链恒定区由一个结构域CL组成。VH和VL区可以进一步细分为高变区,称为互补决定区(CDR),散布有更保守的区域,称为构架区(FR)。每个VH和VL由以下列顺序从氨基末端到羧基末端排列的三个CDR和四个FR组成:FR1,CDR1,FR2,CDR2,FR3,CDR3,FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)和经典补系统的第一组分(C1q)。

[0153] 在一个实施方案中,抗体是单特异性抗体并结合单个表位。例如,具有多个免疫球蛋白可变结构域序列的单特异性抗体,每个免疫球蛋白可变结构域序列结合相同的表位。

[0154] 在一个实施方案中,抗体是多特异性抗体,例如,其包含多个免疫球蛋白可变结构域序列,其中所述多个免疫球蛋白可变结构域序列的第一免疫球蛋白可变结构域序列对第一表位具有结合特异性,并且所述多个免疫球蛋白可变结构域序列的第二免疫球蛋白可变结构域序列对第二表位具有结合特异性。在一个实施方案中,第一和第二表位在相同的抗原上,例如相同的蛋白质(或多聚体蛋白质的亚基)上。在一个实施方案中,第一和第二表位重叠。在一个实施方案中,第一和第二表位不重叠。在一个实施方案中,第一和第二表位在不同的抗原上,例如,不同的蛋白质(或多聚体蛋白质的不同亚基)。在一个实施方案中,多特异性抗体分子包含第三,第四或第五免疫球蛋白可变结构域。在一个实施方案中,多特异性抗体是双特异性抗体,三特异性抗体或四特异性抗体。

[0155] 在一个实施方案中,多特异性抗体分子是双特异性抗体分子。双特异性抗体对不超过两种抗原具有特异性。双特异性抗体分子的特征在于对第一表位具有结合特异性的第一免疫球蛋白可变结构域序列和对第二表位具有结合特异性的第二免疫球蛋白可变结构域序列。

[0156] 如本文所用,术语抗体的“抗原结合部分”或“抗原结合片段”是指抗体的一个或多个片段,其保留特异性结合给定抗原(例如,人GDF15)的能力)。抗体的抗原结合功能可以通过完整抗体的片段进行。包含在术语抗原结合部分或抗体的抗原结合片段内的结合片段的实例包括(i) Fab片段,由VL,VH,CL和CH1结构域组成的单价片段;(ii) F(ab')₂片段,包含两个Fab片段的二价片段,所述Fab片段在铰链区通过二硫键连接;(iii) 由VH和CH1结构域组成的Fd片段;(iv) 由抗体单臂的VL和VH结构域组成的Fv片段,(v) 双抗体(dAb)片段,其由VH结构域组成;(vi) 骆驼科动物或骆驼化可变结构域;(vii) 单链Fv(scFv),参见例如Bird et al. (1988) Science 242:423-426;和Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883);(viii) 单结构域抗体(dAb)片段(Ward等,1989 Nature 341:544-546),其由VH结构域或VL结构域组成;(ix) 分离的互补决定区(CDR)。可以使用本领域技术人员已知的常

规技术获得这些抗体片段,并以与完整抗体相同的方式筛选片段的效用。

[0157] 此外,虽然Fv片段的两个结构域VL和VH由不同的基因编码,但它们可以使用重组方法通过人工肽接头连接,所述接头使得它们能够作为单个蛋白质链制备,其中VL和VH区配对形成单价分子(称为单链Fv(scFv);参见例如Bird et al.,1988Science 242:423-426;和Huston et al.,1988Proc.Natl.Acad.Sci.85:5879-5883)。此类单链抗体包括抗体的一个或多个抗原结合部分或片段。使用本领域技术人员已知的常规技术获得这些抗体片段,并以与完整抗体相同的方式筛选片段的效用。

[0158] 抗原结合片段也可以掺入单结构域抗体,大抗体,微抗体,胞内抗体,双抗体,三抗体,四抗体,v-NAR和bis-scFv中(参见,例如,Hollinger and Hudson,2005,Nature Biotechnology,23,9,1126-1136)。可以基于诸如纤连蛋白III型(Fn3)的多肽将抗体的抗原结合部分移植到支架中(参见美国专利号6,703,199,其描述了纤连蛋白多肽单抗体)。

[0159] 抗原结合片段可以掺入单链分子中,该单链分子包含一对串联Fv区段(VH-CH₁-VH-CH₁),其与互补的轻链多肽一起形成一对抗原结合区(Zapata et al.,1995Protein Eng.8(10):1057-1062;和美国专利号5,641,870)。

[0160] 在一个实施方案中,抗体包含双抗体和单链分子,以及抗体的抗原结合片段(例如,Fab,F(ab')₂和Fv)。例如,抗体可包括重(H)链可变结构域序列(本文中缩写为VH)和轻(L)链可变结构域序列(本文缩写为VL)。在一个实施方案中,抗体包含重链和轻链或由重链和轻链组成。在另一个实例中,抗体包括两个重(H)链可变域序列和两个轻(L)链可变域序列,从而形成两个抗原结合位点,例如Fab,Fab',F(ab')₂,Fc,Fd,Fd',Fv,单链抗体(例如scFv),单可变结构域抗体,双抗体(Dab)(二价和双特异性)和嵌合(例如人源化)抗体,其可通过修饰完整抗体产生或者使用重组DNA技术从头合成的那些。这些功能性抗体片段保留了与其各自的抗原或受体选择性结合的能力。抗体和抗体片段可以来自任何类别的抗体,包括但不限于IgG,IgA,IgM,IgD和IgE,以及抗体的任何亚类(例如,IgG1,IgG2,IgG3和IgG4)。抗体制剂可以是单克隆抗体或多克隆抗体。抗体也可以是人,人源化,CDR移植的或体外产生的抗体。抗体可具有选自例如IgG1,IgG2,IgG3或IgG4的重链恒定区。抗体还可以具有选自例如κ或λ的轻链。术语“免疫球蛋白”(Ig)与本文的术语“抗体”可互换使用。

[0161] 如本文所用,术语“亲和力”是指抗原和抗原在单个抗原位点处的相互作用的强度。在每个抗原位点内,抗体“臂”的可变区在许多位点通过弱非共价力与抗原相互作用;相互作用越多,亲和力越强。如本文所用,术语抗体或其抗原结合片段(例如Fab片段)的“高亲和力”通常是指K_D为10⁻⁹M或更低的抗体或抗原结合片段。

[0162] 术语“氨基酸”是指天然存在的和合成的氨基酸,以及以与天然存在的氨基酸类似的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的氨基酸,以及后来被修饰的那些氨基酸,例如羟脯氨酸,γ-羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指与天然存在的氨基酸具有相同的基本化学结构的化合物,即与氢,羧基,氨基和R基团结合的α碳,例如高丝氨酸,正亮氨酸,蛋氨酸亚砷,蛋氨酸甲基硫。此类类似物具有修饰的R基团(例如正亮氨酸)或修饰的肽主链,但保留与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指具有与氨基酸的一般化学结构不同的结构但是以与天然存在的氨基酸类似的方式起作用的化学化合物。

[0163] 如本文所用的术语“结合特异性”是指单个抗体结合位点仅与一种抗原决定簇反

应的能力。

[0164] 短语“特异性(或选择性地)结合”抗体(例如,结合GDF15的抗体)是指结合反应,其决定同源抗原(例如,人GDF15或食蟹猴GDF15)在蛋白质和其他生物制剂的异质性群体中的存在。短语“识别抗原的抗体”和“对抗原特异的抗体”在本文中可与术语“与抗原特异性结合的抗体”互换使用。

[0165] 术语“GDF15介导的”是指GDF15已知为TGF β 超家族的食欲调节成员,并且GDF15水平升高与消耗性病症例如厌食症(例如,厌食恶病质)相关这一事实。

[0166] 本文所用的“GDF15相关病症”,“GDF15相关状况”或类似术语是指寻求降低GDF15水平和/或生物活性的任何数量的病症或疾病。这些病症包括但不限于涉及消耗性病症的那些,例如厌食恶病质,老年人厌食症,神经性厌食症,与癌症相关的恶病质,与AIDS相关的恶病质,与心力衰竭相关的恶病质,与囊性纤维化相关的恶病质,与类风湿性关节炎相关的恶病质,与肾病相关的恶病质,与COPD相关的恶病质,与ALS相关的恶病质,与肾衰竭相关的恶病质或与髋部骨折相关的恶病质等。

[0167] 与GDF15水平升高相关或由其引起的其他GDF15相关疾病或病症包括少肌症,例如与恶病质相关的临床病症,其特征不在于骨骼肌质量和肌肉力量的丧失;和饥饿。由于饮食和/或营养摄取不足,饥饿通常导致体脂和非脂肪量的损失(Thomas (2007) *Clinical Nutrition* 26:389-399)。饥饿的影响通常通过改善饮食和营养来逆转,例如蛋白质摄取。

[0168] 与GDF15水平升高相关或由其引起的其他GDF15相关疾病或病症包括但不限于与异常食欲,脂肪量,能量平衡和/或无意识体重减轻相关的病症,以及危重病患者的降低的死亡率和发病率。

[0169] 如本文所用,“恶病质”是指与潜在疾病相关的代谢综合征,其特征不在于肌肉质量的无意识丧失。恶病质通常伴随着无意识的体重减轻,脂肪量减少,厌食,炎症,胰岛素抵抗,疲劳,虚弱,食欲显著丧失和/或肌肉蛋白质分解增加。恶病质不同于饥饿,年龄相关的肌肉量减少,吸收不良和甲状腺机能亢进。与恶病质相关的潜在疾病包括癌症,慢性心力衰竭,慢性肾病,COPD,AIDS,多发性硬化,类风湿性关节炎,败血症和结核病。

[0170] 如本文所用,“少肌症”应理解为主要表征为骨骼肌质量和肌肉力量丧失的病症。少肌症通常与衰老有关。参见 Ruegg and Glass (2011) *Annual Rec.Pharmacol.Toxicol.*51:373-395。在一种方法中,如果受试者的附肢骨骼肌质量的值除以受试者的身高(以米为单位)的值低于年轻正常平均值的两个以上标准差,则可以在受试者中鉴定少肌症。(Thomas (2007) *Clin Nutr.*26 (4):389-99;Baumgartner et al. (1999) *Mech.Aging Dev.*147:755-763)。

[0171] 术语“嵌合抗体”是抗体分子,其中(a)恒定区或其部分被改变,替换或交换,使得抗原结合位点(可变区)连接到不同或改变的类别、效应子功能和/或种类的恒定区,或赋予嵌合抗体新特性的完全不同的分子,例如酶,毒素,激素,生长因子,药物等;或(b)可变区或其部分用具有不同或改变的抗原特异性的可变区改变,替换或交换。例如,可以通过用来自人免疫球蛋白的恒定区替换其恒定区来修饰小鼠抗体。由于用人恒定区替换,嵌合抗体可以保持其识别抗原的特异性,同时与原始小鼠抗体相比在人中具有降低的抗原性。

[0172] 术语“保守修饰的变体”适用于氨基酸和核酸序列。关于特定的核酸序列,保守修饰的变体是指编码相同或基本相同的氨基酸序列的核酸,或者核酸不编码氨基酸序列时,

指基本上相同的序列。由于遗传密码的简并性,大量功能相同的核酸编码任何给定的蛋白质。例如,密码子GCA,GCC,GCG和GCU都编码氨基酸丙氨酸。因此,在密码子指定丙氨酸的每个位置,密码子可以改变为所述的任何相应密码子而不改变编码的多肽。这种核酸变异是“沉默变异”,其是保守修饰变异的一种。本文中编码多肽的每个核酸序列也描述了核酸的每种可能的沉默变异。技术人员将认识到,核酸中的每个密码子(除了AUG,其通常是甲硫氨酸的唯一密码子,和TGG,其通常是色氨酸的唯一密码子)可以被修饰以产生功能相同的分子。因此,编码多肽的核酸的每个沉默变异隐含在每个所描述的序列中。

[0173] 对于多肽序列,“保守修饰的变体”包括对多肽序列的单独取代,缺失或添加,其导致氨基酸用化学上相似的氨基酸取代。提供功能相似的氨基酸的保守取代是本领域熟知的。此类保守修饰的变体是对本公开的多态变体,种间同源物和等位基因的补充,并且不排除。以下八组含有彼此保守取代的氨基酸:1) 丙氨酸(A),甘氨酸(G);2) 天冬氨酸(D),谷氨酸(E);3) 天冬酰胺(N),谷氨酰胺(Q);4) 精氨酸(R),赖氨酸(K);5) 异亮氨酸(I),亮氨酸(L),甲硫氨酸(M),缬氨酸(V);6) 苯丙氨酸(F),酪氨酸(Y),色氨酸(W);7) 丝氨酸(S),苏氨酸(T);8) 半胱氨酸(C),甲硫氨酸(M)(参见,例如,Creighton,Proteins(1984))。在一些实施方案中,术语“保守序列修饰”用于指不显著影响或改变含有氨基酸序列的抗体的结合特征的氨基酸修饰。

[0174] 术语“表位”意指能够特异性结合抗体的蛋白质决定簇。表位通常由分子的化学活性表面基团组成,例如氨基酸或糖侧链,并且通常具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。构象和非构象表位的区别在于,在变性溶剂的存在下,与前者的结合而非后者的结合丧失。

[0175] 如本文所用,术语“人抗体”旨在包括具有可变区的抗体,其中构架区和CDR区均源自人源序列。此外,如果抗体含有恒定区,则恒定区也衍生自此类人序列,例如人种系序列,或人种系序列的突变形式。本文所述的人抗体可包括不由人序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。

[0176] “人源化”抗体是保留非人抗体(例如小鼠单克隆抗体)的抗原特异性反应性的抗体,而当作为治疗剂施用于人类时具有较低的免疫原性。参见,例如,Robello et al.,Transplantation,68:1417-1420。例如,这可以通过保留非人抗原结合区并用其对应物替换抗体的其余部分(即恒定区以及不参与结合的可变区的部分)来实现。参见,例如,Morrison et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855,1984;Morrison and Oi,Adv.Immunol.,44:65-92,1989;Verhoeyen et al.,Science,239:1534-1536,1988;Padlan,Molec.Immun.,28:489-498,1991;和Padlan,Molec.Immun.,31:169-217,1994。人工程化技术的其他实例包括但不限于US 5,766,886中公开的Xoma技术。

[0177] 在两个或更多个核酸或多肽序列的上下文中,术语“同一的”或“同一性”百分比是指两个或更多个相同的序列或子序列。当比较并比对以在比较窗口或指定区域上进行最大对应时,如使用以下序列比较算法之一或通过手动比对和目视检查测量,如果两个序列具有指定百分比的相同氨基酸残基或核苷酸(即,在指定区域内,或者,如果未指定,则在整个序列上60%同一性,任选65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,或99%同一性),那么这两个序列“基本同一”。任选地,同一性存在于长度为至少约50个核苷酸(或10个氨基酸)的区域上,或更优选地在100至500或1000或更多个核苷酸(或20,50,200或更多个氨基)的区

域上。

[0178] 对于序列比较,通常一个序列充当参考序列,测试序列与其比较。当使用序列比较算法时,将测试和参考序列输入计算机,如果需要,指定子序列坐标,并指定序列算法程序参数。可以使用默认程序参数,也可以指定替代参数。然后,序列比较算法基于程序参数计算测试序列相对于参考序列的序列同一性百分比。

[0179] 如本文所用,“比较窗口”包括提及选自20至600,通常约50至约200,更通常约100至约150的多个邻接位置中的任何一个的片段,其中在两个序列最佳比对后,可以将序列与相同数量的连续位置的参考序列进行比较。用于比较的序列的比对方法是本领域熟知的。用于比较的序列的最佳比对可以例如通过Smith and Waterman(1970) *Adv. Appl. Math.* 2: 482c的局部同源性算法,Needleman and Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443, 1970的同源性比对算法, Pearson and Lipman, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 85:2444, 1988的相似性搜索方法,通过这些算法的计算机化实现(威斯康星遗传学软件包中的GAP, BESTFIT, FASTA和TFASTA, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI),或通过手动校准和目视检查(参见,例如, Brent et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc. (Ringbom ed., 2003))进行。

[0180] 适用于确定序列同一性百分比和序列相似性的算法的两个实例是BLAST和BLAST 2.0算法,其分别描述于Altschul et al., *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402, 1977;和Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410, 1990。用于进行BLAST分析的软件可通过国家生物技术信息中心公开获得。该算法涉及首先通过识别查询序列中长度为W的短字来识别高评分序列对(HSP),当与数据库序列中的相同长度的字比对时,该短字匹配或满足一些正值阈值分数T。T被称为邻域字得分阈值(Altschul等,同上)。这些最初的邻居单词命中作为种子,用于启动搜索以找到包含它们的更长的HSP。只要可以增加累积比对得分,单词命中就沿着每个序列在两个方向上延伸。对于核苷酸序列,使用参数M(一对匹配残基的奖励得分;总是>0)和N(错配残基的罚分;总是<0)计算累积得分。对于氨基酸序列,使用评分矩阵来计算累积分数。在以下情况下,停止每个方向上的单词命中的延伸:累积比对分数从其最大实现值下降数量X;由于一个或多个负评分残基比对的累积,累积得分为零或低于零;或达到任一序列的结尾。BLAST算法参数W, T和X确定比对的灵敏度和速度。BLASTN程序(对于核苷酸序列)使用字长(W)为11,期望值(E)为10, M=5, N=-4以及两条链的比较作为默认值。对于氨基酸序列, BLASTP程序使用字长为3,期望值(E)为10,以及BLOSUM62评分矩阵(参见Henikoff和Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915, 1989)比对(B)为50,期望值(E)为10, M=5, N=-4,以及两条链的比较作为默认值。

[0181] BLAST算法还对两个序列之间的相似性进行统计学分析(参见,例如, Karlin and Altschul, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5787, 1993)。BLAST算法提供了一种相似性度量是最小和概率(P(N)),其提供了两个核苷酸或氨基酸序列之间偶然发生匹配的概率的指标。例如,如果在测试核酸与参考核酸的比较中的最小总和概率小于约0.2,更优选地小于约0.01,并且最优选地小于约0.001,则认为核酸与参考序列相似。

[0182] 两个氨基酸序列之间的同一性百分比也可以使用E. Meyers and W. Miller (*Comput. Appl. Biosci.*, 4:11-17, 1988)的算法确定,该算法已被并入ALIGN程序(版本2.0),使用PAM120重量残基表,空位长度罚分为12,空位罚分为4。此外,可以使用Needleman

and Wunsch (J.Mol.Biol.48:444-453,1970) 算法使用Blossom 62矩阵或PAM250矩阵,空位权重为16,14,12,10,8,6,或4,长度权重为1,2,3,4,5或6确定两个氨基酸序列之间的百分比同一性,所述算法已经并入GCG软件包中的GAP程序(可在万维网上在gcg.com获得)。

[0183] 除了上面提到的序列同一性百分比之外,两个核酸序列或多肽基本上相同的另一个指标是由第一核酸编码的多肽与针对由第二核酸编码的多肽产生的抗体在免疫学上交叉反应,如下面所描述的。因此,多肽通常与第二多肽基本上相同,例如,其中两种肽仅通过保守取代而不同。两个核酸序列基本相同的另一个指标是两个分子或它们的互补物在严格条件下彼此杂交,如下所述。两个核酸序列基本相同的另一个指标是相同的引物可用于扩增序列。

[0184] 术语“分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如,特异性结合GDF15的分离的抗体基本上不含特异性结合除GDF15之外的抗原的抗体)。然而,特异性结合GDF15的分离的抗体可能与其他抗原具有交叉反应性。此外,分离的抗体可以基本上不含其他细胞物质和/或化学物质。

[0185] 术语“同种型”是指由重链恒定区基因提供的抗体类别(例如,IgM,IgE,IgG,例如IgG1或IgG4)。同种型还包括这些类别之一的修饰形式,其中已经进行了修饰以改变Fc功能,例如,增强或降低效应子功能或对Fc受体的结合。

[0186] 如本文所用,术语“ k_{assoc} ”或“ k_a ”意指特定抗体-抗原相互作用的结合速率,而本文所用的术语“ k_{dis} ”或“ k_d ”意指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。如本文所用,术语“ K_D ”意指解离常数,其由 k_d 与 k_a 的比率(即 k_d/k_a)获得,并表示为摩尔浓度(M)。可以使用本领域中良好建立的方法测定抗体的 K_D 值。确定抗体 K_D 的方法包括使用生物传感器系统(例如 **Biacore®** 系统) 测量表面等离子体共振,或通过溶液平衡滴定(SET) 测量溶液中的亲和力。

[0187] 如本文所用的术语“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”是指单分子组成的抗体分子的制剂。单克隆抗体组合物显示对一个特定表位的单一结合特异性和亲和力。

[0188] 术语“核酸”在本文中与术语“多核苷酸”可互换使用,并且是指单链或双链形式的脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及其聚合物。该术语包括含有已知核苷酸类似物或修饰的骨架残基或连接的核酸,其是合成的,天然存在的和非天然存在的,其具有与参考核酸相似的结合特性,并且以类似于参考核苷酸的方式代谢。此类类似物的实例包括但不限于硫代磷酸酯,氨基磷酸酯,甲基磷酸酯,手性-甲基磷酸酯,2-0-甲基核糖核苷酸,肽-核酸(PNA)。

[0189] 除非另有说明,否则特定核酸序列也隐含地包括其保守修饰的变体(例如简并密码子取代)和互补序列,以及明确指出的序列。具体地,如下所述,简并密码子取代可以通过产生其中一个或多个选定(或所有)密码子的第三位置被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代的序列来实现(Batzer et al.,Nucleic Acid Res.19:5081,1991;Ohtsuka et al.,J.Biol.Chem.260:2605-2608,1985;and Rossolini et al.,Mol.Cell.Probes 8:91-98,1994)。

[0190] 术语“有效连接”是指两个或更多个多核苷酸(例如DNA)区段之间的功能关系。通常,该术语是指转录调节序列与转录的序列的功能关系。例如,如果启动子或增强子序列在合适的宿主细胞或其他表达系统中刺激或调节编码序列的转录,则其与编码序列有效连接。通常,与转录序列有效连接的启动子转录调节序列与转录的序列在物理上相邻,即它们

是顺式作用的。然而,一些转录调节序列,例如增强子,不需要在物理上连续或位于与增强其转录的编码序列非常接近的位置。

[0191] 如本文所用,术语“优化的”是指使用在生产细胞或生物体中优选的密码子改变核苷酸序列以编码氨基酸序列,所述生产细胞或生物体通常是真核细胞,例如毕赤酵母的细胞,中国仓鼠卵巢细胞(CHO)或人细胞。优化的核苷酸序列经工程改造以完全或尽可能多地保留最初由起始核苷酸序列编码的氨基酸序列,其也称为“亲本”序列。本文优化的序列已被改造成具有在哺乳动物细胞中优选的密码子。然而,本文还设想了这些序列在其他真核细胞或原核细胞中的优化表达。由优化的核苷酸序列编码的氨基酸序列也被称为优化的。

[0192] 术语“多肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用,指氨基酸残基的聚合物。该术语适用于氨基酸聚合物,其中一个或多个氨基酸残基是相应天然存在的氨基酸的人工化学模拟物,以及天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。除非另有说明,否则特定多肽序列也隐含地包括其保守修饰的变体。

[0193] 如本文所用,术语“重组人抗体”包括通过重组方式制备,表达,产生或分离的所有人抗体,例如从动物(例如小鼠)分离的抗体,其对于人免疫球蛋白基因或由其制备的杂交瘤是转基因或转染色体的,从转化以表达人抗体的宿主细胞分离的抗体,例如来自转染瘤,从重组、组合人抗体文库分离的抗体,以及通过任何其他方式制备,表达,产生或分离的抗体,其中所述方式涉及将全部或部分人免疫球蛋白基因序列剪接成其他DNA序列。此类重组人抗体具有可变区,其中构架区和CDR区衍生自人种系免疫球蛋白序列。然而,在某些实施方案中,可以对这种重组人抗体进行体外诱变(或者,当使用对人Ig序列转基因的动物时,进行体内体细胞诱变),因此,重组抗体的VH和VL区的氨基酸序列是这样的序列,其尽管衍生自人种系VH和VL序列并与其相关,但是在体内可能不天然存在于人抗体种系库中。

[0194] 术语“重组宿主细胞”(或简称“宿主细胞”)是指已导入重组表达载体的细胞。应当理解,这些术语不仅意指特定的主题细胞,而且意指这种细胞的后代。因为某些修饰可能由于突变或环境影响而在后代中发生,所以这些后代事实上可能与亲本细胞不同,但仍包括在本文所用的术语“宿主细胞”的范围内。

[0195] 术语“受试者”包括人和非人动物。非人动物包括所有脊椎动物(例如哺乳动物和非哺乳动物),例如非人灵长类动物(例如食蟹猴),绵羊,狗,奶牛,鸡,两栖动物和爬行动物。除非另有说明,否则术语“患者”或“受试者”在本文中可互换使用。如本文所用,术语“cyno”或“食蟹猴”是指食蟹猴(*Macaca fascicularis*)。

[0196] 如本文所用,术语“治疗”或“治疗”任何疾病或病症(例如,GDF15相关病症)是指改善疾病或病症(即,减缓或阻止或减少疾病或至少一种其临床症状的发展)。在另一个实施方案中,“治疗”或“治疗”是指减轻或改善至少一种物理参数,包括患者可能无法辨别的物理参数。在另一个实施方案中,“治疗”或“治疗”是指在身体上(例如,可辨别的症状的稳定),生理学上(例如,身体参数的稳定化)或两者来调节疾病或病症。在另一个实施方案中,“治疗”或“治疗”是指预防或延迟疾病或病症的发作或发展或进展。

[0197] 与本文所述适应症有关的“预防”,包括例如GDF15相关病症,是指在具有所述恶化风险的患者中防止或减缓例如GDF15相关疾病参数恶化的任何作用,如下所述。

[0198] 术语“载体”意指能够转运与其连接的另一多核苷酸的多核苷酸分子。一种类型的载体是“质粒”,其是指环状双链DNA环,其中可以连接额外的DNA区段。另一种类型的载体是

病毒载体,例如腺伴随病毒载体(AAV或AAV2),其中额外的DNA区段可以连接到病毒基因组中。某些载体能够在引入它们的宿主细胞中自主复制(例如,具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体)。其他载体(例如,非附加型哺乳动物载体)可以在引入宿主细胞后整合到宿主细胞的基因组中,从而与宿主基因组一起复制。此外,某些载体能够指导它们有效连接的基因的表达。此类载体在本文中称为“重组表达载体”(或简称为“表达载体”)。通常,在重组DNA技术中有用的表达载体通常是质粒的形式。在本说明书中,“质粒”和“载体”可互换使用,因为质粒是最常用的载体形式。然而,本公开内容旨在包括其他形式的表达载体,例如病毒载体(例如,复制缺陷型逆转录病毒,腺病毒和腺伴随病毒),它们具有相同的功能。

[0199] 附图的简要说明

[0200] 图1A-1B描绘了ABGDF15-A在饮食诱导的肥胖(DIO)小鼠中阻断食物摄入和体重减轻的GDF15介导的抑制中的作用的时间过程。在施用抗GDF15抗体之前(图中第0天),通过人全长GDF15表达载体的DNA动力进样(HDI)在肝脏中表达人GDF15,在第7天导致约10%的体重减轻。一组小鼠注射空载体作为阴性对照(载体)。测定个体小鼠的体重和血浆人GDF15水平,并基于可比较的平均体重和GDF15水平将动物分成两组。以10mg/kg静脉内施用Abs(ABGDF15-A或无关对照Ab),并监测食物摄入和体重。图1A是描绘注射后数天(1,3,5,7,10,11和15天)后每日食物摄入量(克)的条形图。每次抗体注射后,从左到右提供三组的测量:载体+运载体;hGDF15+对照IgG;和hGDF15+ABGDF15-A。图1B是描绘注射后数天(1,3,5,7,10,11和15天)体重变化百分比的线性图。每次测试的注射后提供三组测量:载体+运载体;hGDF15+对照IgG;和hGDF15+ABGDF15-A。使用斯氏t-检验对两项研究进行统计学分析,其中*,**: $p < 0.05$ 和 0.01 ,ABGDF15-A对比运载体;[&],^{&&},^{&&&}: $p < 0.05$, 0.01 和 0.001 ,ABGDF15-A对比对照IgG。

[0201] 图2A-2B描绘了亲本抗体对ABGDF15-B和-C的作用在HD1模型中阻断GDF15介导的厌食症的时间过程和剂量反应性。在施用抗GDF15抗体(图中第0天)之前,通过HDI注射在肝脏中表达人GDF15,第7天导致约10%的体重减轻。以指定浓度注射亲本抗体或阴性对照抗体;监测食物摄入量和体重。图2A-2B是描绘抗体注射后数天(1,4,8,12和16天)的累积食物摄入量(克)和体重百分比变化的线性图。以下处理组示于图2A-2B中:载体+运载体;hGDF15+对照IgG;hGDF15+亲本抗体(30mg/kg);hGDF15+亲本抗体(10mg/kg);hGDF15+亲本抗体(3mg/kg);和hGDF15+亲本抗体(1mg/kg)。亲本抗体剂量依赖性地逆转GDF15介导的厌食作用。

[0202] 图3A-3B描绘了ABGDF15-D在HD1模型中阻断人GDF15介导的厌食症的作用的时间过程。在施用抗GDF15抗体之前(图中第0天),通过HDI注射在肝脏中表达人GDF15,第7天导致约10%的体重减轻。ABGDF15-D或阴性对照Ab以20mg/kg注射;监测食物摄入量和体重。图3A-3B是线性图和条形图,分别描绘了注射后数天的每日食物摄入量(克)和体重变化百分比。以下组示于图3A-3B:对于每个时间点载体+运载体;hGDF15+对照IgG;hGDF15+ABGDF15-D。ABGDF15-D逆转GDF15介导的厌食作用。

[0203] 图4是描绘ABGDF15-B和-C在阻断DIO小鼠中人GDF15介导的体重减轻中的作用的时间过程的线性图。在DIO小鼠中通过HDI注射过表达GDF15。以20mg/kg静脉内施用抗GDF15抗体,并监测体重。对每个时间点比较以下组:载体+运载体;hGDF15+对照IgG;hGDF15+

ABGDF15-B和hGDF15+ABGDF15-C。ABGDF15-B和-C均逆转GDF15介导的体重减轻。

[0204] 图5是描绘ABGDF15-G在DIO小鼠中阻断人GDF15介导的体重减轻的作用的时间过程的线性图。在DIO小鼠中通过HDI注射连续过表达GDF15。以20mg/kg静脉内施用ABGDF15-G,并监测体重。以下组说明了:对于每个时间点,载体+运载体;hGDF15+对照IgG;和hGDF15+ABGDF15-G。ABGDF15-G逆转GDF15介导的体重减轻。

[0205] 图6是使用ELISA基于对某些GDF15片段和突变的结合丧失或部分抑制的结合的抗GDF15抗体的表位作图的概述。测试的抗体是ABGDF15-A,-B,-C,-D,-E,-F和-G,以及第一栏中显示的Hu01G06(人源化形式的抗GDF15抗体01G06)。测试了以下野生型和突变体GDF15变体:野生型人GDF15,啮齿动物GDF15,食蟹猴GDF15,N-末端截短的hGDF15(具有氨基酸211-308),在指关节区域具有突变的GDF15突变体(L294R,I285R或S231R),腕部区域(Q247R,W228R或M253R),指尖区域(D289R)和手背(S278R)。“指关节”,“手腕”,“指尖”和“手背”是三维结构域,基于所有TGF β 家族蛋白的同源晶体结构命名(参考Mueller and Nickel (2012) Promiscuity and specificity in BMP receptor activation.FEBS Letters 586:1846-1859)。ABGDF15-A,-B,-C,-D,-E,-F和-G都与指关节结构域结合。结合丧失,部分抑制结合(“抑制”),和没有突变的影响,由不同的条纹区域描绘。

[0206] 图7是重链和轻链CDR的氨基酸序列的比对(分别为SEQ ID NO 194,194和195-199,按出现的顺序)。

[0207] 表格简述

[0208] 表1总结了抗GDF15抗体分子的氨基酸和核苷酸序列。重链和轻链CDR的氨基酸和核苷酸序列,重链和轻链可变区的氨基酸和核苷酸序列,以及重链和轻链的氨基酸和核苷酸序列示于该表中。

[0209] 表2总结了本文所述的抗GDF15抗体的结合特征。对于每种抗体,提供以下参数:对于鉴定的每种配体, k_a (1/Ms), k_d (1/s), K_D (M) 和 R_{max} (RU)。

[0210] 表3是通过SET或Biacore测定的ABGDF-A至ABGDF-G的 K_D 值的总结。

[0211] 表4是ABGDF-A至ABGDF-G的pI值的总结。

[0212] 详述

[0213] 本公开内容部分基于发现特异性结合GDF15并抑制其消耗相关和病理作用,水平和/或活性,例如其在疾病状态下降低食欲;和/或减少食物摄入,体重和/或脂肪量的能力的抗体分子。本文提供了完整IgG形式的抗体(例如,人抗体),以及其抗原结合片段,例如Fab片段(例如,抗体ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E,和ABGDF15-D)。

[0214] 本文所述的抗GDF15抗体分子能够结合GDF15的C末端区域,例如GDF15的指关节结构域。如实施例5中所公开的,ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E和ABGDF15-D与人GDF15的指关节结构域结合。图6显示当存在指关节结构域突变L294R或I285R时,ABGDF15-A,ABGDF15-D,ABGDF15-E,ABGDF15-F或ABGDF15-G与人GDF15的结合丧失。类似地,图6显示当存在指关节结构域突变I285R或S231R时,ABGDF15-B或ABGDF15-C与人GDF15的结合丧失。相比之下,人类GDF15的N-末端截短和腕结构域中的突变(Q247R,W228R,M253R和Q295R),指尖区域中的突变(D289R)和手背结构域中的突变(S278R)对示例性的抗GDF15抗体分子的结合没有影响。

[0215] 不希望受理论束缚,据信在某些实施方案中,与GDF15的C末端区域(例如,指关节结构域)的特异性结合至少部分地赋予本文所述的抗GDF15抗体分子生物学功能和/或临床效果。

[0216] 如实施例6中所示,指关节结构域结合抗体分子,即ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E和ABGDF15-D,逆转GDF15介导的体重减轻,如小鼠厌食模型所示。本文所述的抗GDF15抗体分子可用于例如治疗GDF15相关病症,增加食欲和/或食物摄入,增加体重,或抑制或减少以下一种或多种:体重,肌肉质量,食欲或食物摄入量的减轻。例如,具有与衰老,癌症,心力衰竭,COPD和/或肾衰竭相关的厌食、少肌症或恶病质中的一种或多种的受试者,或具有消耗性病症的受试者,可用本文所述的抗体分子治疗。本文所述的抗体分子也适用于治疗患有癌症,慢性心力衰竭,慢性肾病,COPD,AIDS,多发性硬化,类风湿性关节炎,败血症或结核病的受试者。

[0217] 因此,本文提供了特异性结合GDF15(例如,人GDF15)的抗体,药物组合物,生产方法,以及这些抗体和组合物的使用方法。

[0218] GDF15蛋白质

[0219] 本文提供了特异性结合GDF15并抑制其生物活性和/或消耗来自循环的游离GDF15的抗体。

[0220] 生长分化因子15(GDF15)是TGF β 超家族的不同成员,并且也称为巨噬细胞抑制性细胞因子1(M1C1)(Bootcov MR,1997,Proc Natl Acad Sci 94:11514-9),胎盘骨形态发生因子(PLAB)(Hromas R 1997,Biochim Biophys Acta.1354:40-4),胎盘转化生长因子 β (PTGFB)(Lawton LN 1997,Gene.203:17-26),前列腺衍生因子(PDF)(Paralkar VM 1998,J Biol Chem.273:13760-7)和非甾体抗炎药物活化基因(NAG-1)(Baek SJ 2001,J Biol Chem.276:33384-92)。成熟的GDF15肽与其他家族成员具有低同源性(Katoh M 2006,Int J Mol Med.17:951-5)。GDF15被合成为大的前体蛋白,其在二碱基切割位点被切割以释放羧基末端成熟肽。人全长前体含有308个氨基酸,并在RGRRRRAR(SEQ ID NO:185)切割位点切割以产生成熟GDF肽。天然存在的GDF15是通过一个链间二硫键共价连接的成熟肽的25KD同型二聚体。据报道,GDF15与许多不同的生理和病理状况有关。例如,GDF15敲除和转基因小鼠的研究表明GDF15可以保护免受缺血/再灌注或过载诱导的心脏损伤(Kempf T,2006,Circ Res.98:351-60)(Xu J,2006,Circ Res.98:342-50),对衰老相关的运动神经元和感觉神经元损失有保护作用(Strelau J,2009,J Neurosci.29:13640-8),对肾脏代谢性酸中毒有轻度保护作用,可能导致癌症患者恶病质(Johnen H 2007Nat Med.11:1333-40)。还报道了GDF15对肠和肺中的致癌物或Apc突变诱导的瘤形成具有保护作用(Baek SJ 2006,Gastroenterology.131:1553-60;Cekanova M 2009,Cancer Prev Res 2:450-8)。

[0221] GDF15包含多个结构域,包括例如指结构域,指关节结构域,腕结构域,N-末端环结构域和手背结构域。设计一系列结构引导的定点突变体以阐明功能所必需的结构域和残基(参见例如国际申请号WO 2015198199)。

[0222] 破坏GDF15的氨基末端区域的GDF15类似物,例如小鼠血清白蛋白(MSA)-GDF15(211-308)和MSA-GDF15(C203S,C210S)仍然保留生物活性,表明该环不是活性所需的。

[0223] 已知TGF β 超家族成员的指关节,手指和手腕区域对于受体结合和信号传导是重要的。为了确定GDF15的这些区域对于活性是否重要,关键表面残基已经突变为含有氨基

酸精氨酸的大侧链,以试图诱导功能丧失(参见例如W02015198199)。产生含有GDF15残基亮氨酸294(指关节),天冬氨酸289(手指),谷氨酰胺247(手腕)和丝氨酸278(手背)中突变的MSA-GDF15融合蛋白,然后皮下给予肥胖小鼠(例如,皮下3mg/kg)。与载体对照相比,单次皮下注射MSA-GDF15在7天的过程中减少了30%的食物摄入。相对于手指区域突变体(D289R),手腕突变体(Q247R)和手背突变体(S278R)的对照,食物摄入也分别降低了22%,14%和24%。相比之下,指关节区突变体(L294R)相对于对照增加了17%的食物摄入量。在7天的过程中,运载体和L294R处理的小鼠体重增加(分别为2.2%和6.3%),而体重在MSA-GDF15,MSA-GDF15(D289R),MSA-GDF15(Q247R),和MSA-GDF15(S278R)处理的小鼠中分别降低了6,6,5.7,5.7,和5.4%。这些数据表明GDF15的指关节区域(如L294)对活性很重要。GDF15的其他区域的突变通常是耐受的。

[0224] GDF15具有食欲减退作用,特别是在癌症中(Brown D.A.Clinical Cancer Res 2003;9:2642-2650;Koopmann J.Clinical Cancer Res 2006;12:442-446)。癌症和其他疾病(如慢性肾脏或心力衰竭)中循环MIC-1/GDF15水平的显著升高与较低的体重指数相关(Breit S.N.et al,Growth factors 2011;29:187-195;Johnen H.et al,Nat Med.2007;13:1333-1340),表明除了疾病中炎症的任何作用外,MIC-1/GDF15也可能在体重调节中起作用。在正常和致肥胖的饮食条件下,MIC-1/GDF15在小鼠中的长期升高的表达导致食物摄入,体重和肥胖的减少,伴随着葡萄糖耐量的改善(Macia L.et al,PloS One 2012;7(4):e34868)。食物摄入和体重受各种中心和外围因素控制,但这些过程背后的确切机制仍未完全了解。

[0225] 尽管恶病质是一种复杂且不完全了解的综合征,但很明显GDF15是各种疾病中恶病质的重要介质(Tsai等,同上)。至少一些肿瘤过度表达和分泌GDF15,并且升高的血清GDF15水平与各种癌症相关(Johnen et al.(2007)Nat.Med.13:1333-1340;Bauskin et al.(2006)Cancer Res.66:4983-4986)。抗GDF15的单克隆抗体已被认为是潜在的抗恶病质治疗剂。参见,例如,美国专利号8,192,735。

[0226] 在某些方面,循环GDF15水平在人类的许多厌食-恶病质状态中显著升高。在特定实施方案中,GDF15水平的正常生理范围的非限制性实例是~150-1150pg/mL(6-50pM)。在具体的实施方案中,用本文所述的抗GDF15抗体治疗的受试者具有大于150pg/mL,或大于1000pg/mL,或大于1150pg/mL的GDF15水平。在具体的实施方案中,社区老年人(例如,65岁或更高)人群中位数的非限制性实例是大约1370(55pM):CVM中位数约为1740(70pM)。在某些实施方案中,孕妇(例如,孕妇的采样或群体)中的示例性GDF15水平高达约15,000pg/mL(600pM)。在某些实施方案中,患有(i)β-地中海贫血的受试者具有高达约60,000pg/mL(2,400pM)的非限制性示例性GDF15水平;(ii)肺栓塞具有高达约48000pg/mL(1,900pM)的非限制性的示例性GDF15水平;(iii)结肠直肠癌具有约10,000pg/mL(400pM)的非限制性示例性GDF15水平;(iv)严重的慢性肾病具有平均约8400pg/mL(360pM)的非限制性的示例性GDF15水平;(v)胰腺癌具有约5388pg/mL(220pM)的非限制性示例性平均GDF15水平;(vi)神经性厌食症具有高达约2000pg/mL(80pM)的非限制性示例性GDF15水平;(vi)2型糖尿病具有约1200pg/mL(50pM)的非限制性示例性平均GDF15水平;(vii)肥胖症具有约500pg/mL(20pM)的非限制性示例性平均GDF15水平。

[0227] 在特定实施方案中,患有慢性心力衰竭的受试者具有高达约1,082(802-1,502)

(50pM)的非限制性示例性GDF15水平,例如,在幸存者的情况下,而非幸存者具有约为1,900 (1,357-2,671) pg/mL (80pM) 的非限制性示例性GDF15水平。在具体的实施方案中,前列腺癌受试者具有平均约12,416pg/mL (500pM) 的非限制性示例性GDF15水平,并且在不经恶病质的前列腺癌受试者的情况下,非限制性示例性平均GDF15水平约为3,265pg/mL (130pM)。

[0228] 在具体的实施方案中,本文所述的抗GDF15抗体和抗原结合片段降低GDF15的水平和/或生物活性,例如通过结合并中和GDF15。在具体的实施方案中,预期本文所述的抗GDF15抗体预防和改善以升高的GDF15水平为特征的疾病的急性和慢性表现,例如恶病质,少肌症等。在某些实施方案中,抗GDF15抗体(例如,ABGDF15-A,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-D,ABGDF15-E,ABGDF15-F或ABGDF15-G)和本文所述的抗原结合片段增加受试者中食欲或食物摄入量,例如,增加至少1%,2%,3%,4%,5%,6%,7%,8%,9%,10%,11%,12%,13%,14%,15%,16%,17%,18%,19%或20%。在具体的实施方案中,抗GDF15抗体(例如,ABGDF15-A,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-D,ABGDF15-E,ABGDF15-F或ABGDF15-G)和本文所述的抗原结合片段增加受试者中体重,例如,增加至少1%,2%,3%,4%,5%,6%,7%,8%,9%,10%,11%,12%,13%,14%,15%,16%,17%,18%,19%或20%。本文所述的抗GDF15抗体和抗原结合片段降低GDF15的水平和/或生物活性,例如通过结合并中和GDF15。预期这些抗体可预防和改善以升高的GDF15水平为特征的疾病的急性和慢性表现,例如恶病质,少肌症等。

[0229] GDF15抗体和抗原结合片段

[0230] 公开了特异性结合GDF15,例如人GDF15的抗体。所述抗体包括但不限于如实施例中所述分离的人单克隆抗体和Fab。

[0231] 在一个方面,本文提供了特异性结合GDF15蛋白(例如,人GDF15)的抗体,其中所述抗体包含具有SEQ ID NOs:12,38,64,90,116,142,或168的氨基酸序列的VH结构域。还提供了特异性结合GDF15蛋白的抗体,其中所述抗体包含VH CDR,所述VH CDR具有下表1中列出的任一VH CDR的氨基酸序列。在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15蛋白(例如,人GDF15)的抗体,其中所述抗体包含(或备选地,组成为)具有下表1中列出的任何VH CDR的氨基酸序列的一个,两个,三个或更多个VH CDR。

[0232] 在一些实施方案中,提供了特异性结合GDF15蛋白的抗体,所述抗体包含具有SEQ ID NOs:25,51,77,103,129,155或181的氨基酸序列的VL结构域。还提供了特异性结合GDF15蛋白(例如,人GDF15)的抗体,所述抗体包含VL CDR,所述VL CDR具有下表1中列出的任一VL CDR的氨基酸序列。特别地,公开了特异性结合GDF15蛋白(例如,人GDF15)的抗体,所述抗体包含(或任选地组成为)具有下表1中列出的任何VL CDR的氨基酸序列的一个,两个,三个或更多个VL CDR。

[0233] 其他抗体包括已突变的氨基酸,但在CDR区具有至少60%,70%,80%,85%,90%或95%的同源性,其中CDR区描述于表1中所述的序列中。在一些实施方案中,其包括突变氨基酸序列,其中与表1中所述序列中描述的CDR区相比,CDR区中突变了不超过1,2,3,4或5个氨基酸。

[0234] 还提供了编码特异性结合GDF15蛋白(例如人GDF15)的抗体的VH,VL,全长重链和全长轻链的核酸序列。可优化此类核酸序列以在哺乳动物细胞中表达(例如,表1显示本文所述抗体的重链和轻链的优化核酸序列)。

[0235] 表1.GDF15抗体,重链和轻链序列和GDF15蛋白的实例

序列标识符 (SEQ ID NO.)	序列描述	氨基酸或核苷酸序列
1	人 GDF15 氨基酸序列 (NCBI 参考序列 : NP_004855.2)	MPGQELRTVN GSQMLLVLLV LSWLPHGGAL SLAEASRASf PGPSELHSED SRFRELKRKY EDLLTRLRAN QSWEDSNTDL VPAPAVRILT PEVRLGSGGH LHLRISRAAL PEGLP EASRL HRALFRLSPT ASRSWDVTRP LRRQLSLARP QAPALHLRLS PPPSQSDQLL AESSSARPQL ELHLRPQAAR GRRRARARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS LHRLKPDTVP APCCVPASYN PMVLIQKTDt GVSLQTYDDL LAKDCHCI
2	人 GDF15 核酸序列 (NCBI 参考 NM_004864.2)	agteccagct cagagecgca acctgcacag ccatgcccgg gcaagaactc aggacgggtga atggetctca gatgtctctg gtgttgettg tgetctctgtg gctgcegcacat gggggcgccc tgtctctggtc cgagggcgagc cgcgcaagtt tcccgggacc ctcagagttg cactccgaag actccagatt ccgagagttg cggaaacgct acgaggacct gctaaccagg ctgcgggcca

[0236]

[0237]

accagagctg	ggaagattcg	aacaccgacc
tcgctccggc	ccctgcagtc	cggatactca
cgccagaagt	gcggctggga	tccggcggcc
acctgcacct	gcgtatctct	cgggccgccc
ttcccgaggg	gctcccgag	gcctcccgcc
ttcacccggc	tctgttcgg	ctgtcccgca
cggcgtaag	gtcgtgggac	gtgacacgac
cgtcgcggcg	tcagctcage	cttgcaagac
cccaggcgcc	cgcgtgcac	ctgcgactgt
cgcgcgcgc	gtcgcagtcg	gaccaactgc
tggcagaatc	ttcgtccgca	cggccccagc
tggagttgca	cttgcggcgc	caagecgcca
gggggcgccg	cagagcgct	gcgcgcaacg
gggaccactg	tccgcteggg	cccgggcgtt
gctgccgtct	gcacacggtc	cgcgcgtcgc
tggaagacct	gggctgggcc	gattgggtgc
tgtegccacg	ggaggtgcaa	gtgacatgt
gcatcggegc	gtgcccgcgc	cagtccggg
cggcaaacat	gcacgcgcag	atcaagacga
gcctgcaccg	cctgaagccc	gacacgggtc
cagcgccctg	ctgcgtgccc	gccagctaca
atcccatggt	gtcattcaa	aagaccgaca
ccgggggtgc	gtccagacc	tatgatgact
tgtagccaa	agactgccac	tgcatatgag
cagtctggt	ccttcactg	tgcacctgcg
cggaggacgc	gacctcagtt	gtcctgcct
gtggaatggg	ctcaagggtc	ctgagacacc
cgattctgc	ccaaacagct	gtatttatat

[0238]

		aagtetgtta tttattatta atttattggg gtgaccttct tggggactcg ggggctggtc tgatggaact gtgtatttat ttaaaactct ggtgataaaa ataaagctgt ctgaactgtt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
ABGDF15-A		
SEQ ID NO: 3	HCDR1 (组合的)	GYSFTDYWIS
SEQ ID NO: 4	HCDR2 (组合的)	IIDPSGSYTIYSPSFQG
SEQ ID NO: 5	HCDR3 (组合的)	VSYYGGYFDI
SEQ ID NO: 6	HCDR1 (Kabat)	DYWIS
SEQ ID NO: 7	HCDR2 (Kabat)	IIDPSGSYTIYSPSFQG
SEQ ID NO: 8	HCDR3 (Kabat)	VSYYGGYFDI
SEQ ID NO: 9	HCDR1 (Chothia)	GYSFTDY
SEQ ID NO: 10	HCDR2 (Chothia)	DPSGSY
SEQ ID NO: 11	HCDR3 (Chothia)	VSYYGGYFDI
SEQ ID NO: 12	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKG SGYSFTDYWISWVRQMPGKGLEW MGIIDPSGSYTIYSPSFQGQVTISAD KSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCA RVSYGGYFDIWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO:13	DNA VH	GAAGTGCAACTCGTGCAGTCCGG AGCCGAAGTGAAAAAGCCAGGA

[0239]

		<p> GAGTCCCTGAAGATCAGCTGCAA GGGATCCGGATACTCCTTCACCG ACTACTGGATTTCGTGGGTCCGC CAGATGCCCCGGGAAGGGCCTGG AGTGGATGGGGATCATCGATCCG TCTGGTTCCTACACTATCTACTC GCCGTCGTTCCAAGGACAGGTCA CCATCTCCGCCGACAAGTCCATT AGCACCGCGTATCTGCAGTGGAG CTCACTGAAGGCCTCCGACACCG CAATGTACTACTGCGCGCGGGTG TCATACTACGGCGGTACTTTGA TATTTGGGGCCAGGGGACTCTGG TCACTGTGTCGTCC </p>
SEQ ID NO: 14	重链	<p> EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKG SGYSFTDYWISWVRQMPGKGLEW MGIIDPSGSYTIYSPSFQGQVTISAD KSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCA RVSYYGGYFDIWGQGLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYPPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI </p>

[0240]

		SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEHA LHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 15	DNA 重链	GAAGTGCAACTCGTGCAGTCCGG AGCCGAAGTGAAAAAGCCAGGA GAGTCCCTGAAGATCAGCTGCAA GGGATCCGGATACTCCTTCACCG ACTACTGGATTTCGTGGGTCCGC CAGATGCCCCGGGAAGGGCCTGG AGTGGATGGGGATCATCGATCCG TCTGGTTCCTACACTATCTACTC GCCGTCGTTCCAAGGACAGGTCA CCATCTCCGCCGACAAGTCCATT AGCACCGCGTATCTGCAGTGGAG CTCACTGAAGGCCTCCGACACCG CAATGTACTACTGCGCGCGGGTG TCATACTACGGCGGTACTTTGA TATTTGGGGCCAGGGGACTCTGG TCACTGTGTCGTCCGCTAGCACC AAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCT GGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTT CCGGCGGAACTGCTGCCCTGGGT TGCCTGGTGAAGGACTACTTCCC CGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGG ACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGC GTGCACACCTTCCCCGCCGTGCT

[0241]

GCAGAGCAGCGGCCTGTACAGC
CTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCC
CTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGA
CCTATATCTGCAACGTGAACCAC
AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA
CAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGC
TGCGACAAGACCCACACCTGCCC
CCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGC
TGGGAGGGCCTTCCGTGTTCTG
TTCCCCCACAAGCCCAAGGACAC
CCTGATGATCAGCAGGACCCCCG
AGGTGACCTGCGTGGTGGTGA
CGTGTCCCACGAGGACCCAGAG
GTGAAGTTCAACTGGTACGTGGA
CGGCGTGGAGGTGCACAACGCC
AAGACCAAGCCCAGAGAGGAGC
AGTACAACAGCACCTACAGGGTG
GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA
CCAGGACTGGCTGAACGGCAAA
GAATACAAGTGCAAAGTCTCCAA
CAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCG
AAAAGACAATCAGCAAGGCCAAG
GGCCAGCCACGGGAGCCCCAGG
TGTACACCCTGCCCCCAGCCGG
GAGGAGATGACCAAGAACCAGG
TGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAG
GGCTTCTACCCCAGCGATATCGC
CGTGGAGTGGGAGAGCAACGGC

[0242]

		CAGCCCGAGAACAACACTACAAGAC CACCCCCCAGTGCTGGACAGCG ACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC AAGCTGACCGTGGACAAGTCCAG GTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGC CCTGCACAACCACTACACCCAGA AGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGC AAG
SEQ ID NO: 16	LCDR1 (组合的)	RASQISISNNLN
SEQ ID NO: 17	LCDR2 (组合的)	AASNLQS
SEQ ID NO: 18	LCDR3 (组合的)	FQLDHSPFT
SEQ ID NO: 19	LCDR1 (Kabat)	RASQISISNNLN
SEQ ID NO: 20	LCDR2 (Kabat)	AASNLQS
SEQ ID NO: 21	LCDR3 (Kabat)	FQLDHSPFT
SEQ ID NO: 22	LCDR1 (Chothia)	SQISISNN
SEQ ID NO: 23	LCDR2 (Chothia)	AAS
SEQ ID NO: 24	LCDR3 (Chothia)	LDHSPF
SEQ ID NO: 25	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA SQISISNNLNWYQQKPGKAPKLLIY AASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYCFQLDHSPFTFG QGTVKVEIK
SEQ ID NO: 26	DNA VL	GACATTCAGATGACCCAGAGCCC TTCCTCCCTGTCCGCCTCCGTGG

[0243]

		GAGATCGCGTGACCATCACTTGC CGGGCCAGCCAGTCGATTTCAAA CAACCTGAACTGGTACCAGCAGA AACCGGGAAAGGCCCCCAAGCT GTTGATCTACGCGGCCAGCAATC TCCAGTCCGGCGTGCCGTCAAGA TTCTCCGGGAGCGGTTCGGGCAC TGACTTCACCCTGACCATCTCCT CGCTGCAACCCGAAGATTTGCA ACCTACTACTGTTTCCAAGTGA CCACTCTCCATTCACATTTGGGC AGGGCACCAAGGTCGAGATCAA G
SEQ ID NO:27	轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA SQSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIY AASNLSQGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCFQLDHSPFTFG QGTEKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVCLLNNFYPRKAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO:28	DNA 轻链	GACATTCAGATGACCCAGAGCCC TTCCTCCCTGTCCGCCTCCGTGG GAGATCGCGTGACCATCACTTGC CGGGCCAGCCAGTCGATTTCAAA CAACCTGAACTGGTACCAGCAGA AACCGGGAAAGGCCCCCAAGCT

[0244]

		GTTGATCTACGCGGCCAGCAATC TCCAGTCCGGCGTGCCGTCAAGA TTCTCCGGGAGCGGTTCTGGGCAC TGA CTTCACCCTGACCATCTCCT CGCTGCAACCCGAAGATTTTCGCA ACCTACTACTGTTTCCA ACTGGA CCACTCTCCATTACATTTGGGC AGGGCACCAAGGTCGAGATCAA GCGTACGGTGGCCGCTCCCAGC GTGTT CATCTTCCCCCCCAGCGA CGAGCAGCTGAAGAGCGGCACC GCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAA CAACTTCTACCCCCGGGAGGCCA AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAA CGCCCTGCAGAGCGGCAACAGC CAGGAGAGCGTCACCGAGCAGG ACAGCAAGGACTCCACCTACAGC CTGAGCAGCACCTGACCCTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCATA AGGTGTACGCCTGCGAGGTGACC CACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGT GACCAAGAGCTTCAACAGGGGC GAGTGC
ABGDF15-G		
SEQ ID NO: 29	HCDR1 (组合的)	GGTFSSHYIN
SEQ ID NO: 30	HCDR2 (组合的)	GIIPAFGGANYAQKFQG

[0245]

SEQ ID NO: 31	HCDR3 (组合的)	FGSVYVSRYSYYHMDV
SEQ ID NO: 32	HCDR1 (Kabat)	SHYIN
SEQ ID NO: 33	HCDR2 (Kabat)	GIIPAFGGANYAQKFQG
SEQ ID NO: 34	HCDR3 (Kabat)	FGSVYVSRYSYYHMDV
SEQ ID NO: 35	HCDR1 (Chothia)	GGTFSSH
SEQ ID NO: 36	HCDR2 (Chothia)	IPAFGG
SEQ ID NO: 37	HCDR3 (Chothia)	FGSVYVSRYSYYHMDV
SEQ ID NO: 38	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGGTFSSHYNWVRQAPGQGLE WMGGIIPAFGGANYAQKFQGRVTI TADSTSTAYMELSSLRSEDYAVY YCARFGSVYVSRYSYYHMDVWG QGTLVTVSS
SEQ ID NO: 39	DNA VH	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCGGG AGCCGAAGTCAAGAAGCCGGGG AGCTCGGTGAAAGTGTCTGCAA GGCCTCCGGGGGAACTTTCAGCT CCCACTACATCAACTGGGTCAGA CAGGCGCCCGGACAGGGGTTGG AATGGATGGGCGGAATCATCCCG GCGTTTGGCGGCGCGAACTACGC CCAGAAGTTCCAGGGTCGGGTCA CCATTACCGCCGACGAGTCCACT TCCACTGCATACATGGAGCTGTC

[0246]

		CTCACTGCGGAGCGAAGATACCG CCGTGTATTACTGCGCCCGCTTC GGATCTGTGTACGTGTCCCGCTA CTCCTCATACTACCATATGGACG TCTGGGGACAGGGCACCCCTGGTC ACGGTGTCGTCC
SEQ ID NO:40	重链	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGGTFSSHYINWVRQAPGQGLE WMGGIIPAFGGANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDVAVY YCARFGSVYVSRYSSYYHMDVWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLS PGK
SEQ ID NO:41	DNA 重链	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCGGG AGCCGAAGTCAAGAAGCCGGGG

[0247]

AGCTCGGTGAAAGTGTCTGCAA
GGCCTCCGGGGGAACTTTCAGCT
CCCACTACATCAACTGGGTCAGA
CAGGCGCCCGGACAGGGGTTGG
AATGGATGGGCGGAATCATCCCG
GCGTTTGGCGGCGGAAGTACGC
CCAGAAGTTCCAGGGTCTGGGTCA
CCATTACCGCCGACGAGTCCACT
TCCACTGCATACATGGAGCTGTC
CTCACTGCGGAGCGAAGATACCG
CCGTGTATTACTGCGCCCGCTTC
GGATCTGTGTACGTGTCCCGCTA
CTCCTCATACTACCATATGGACG
TCTGGGGACAGGGCACCCCTGGTC
ACGGTGTCGTCCGCTAGCACCAA
GGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGG
CCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCC
GGCGGAACTGCTGCCCTGGGTTG
CCTGGTGAAGGACTACTTCCCCG
AGCCCGTGACAGTGTCTGGAAC
TCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGT
GCACACCTTCCCCGCCGTGCTGC
AGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTG
AGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTC
CAGCTCTCTGGGAACCCAGACCT
ATATCTGCAACGTGAACCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAA
GAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGC

[0248]

GACAAGACCCACACCTGCCCCC
CTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGG
GAGGGCCTTCCGTGTTCTGTTC
CCCCCAAGCCCAAGGACACCCT
GATGATCAGCAGGACCCCCGAG
GTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT
GTCCCACGAGGACCCAGAGGTG
AAGTTCAACTGGTACGTGGACGG
CGTGGAGGTGCACAACGCCAAG
ACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGT
ACAACAGCACCTACAGGGTGGTG
TCCGTGCTGACCGTGCTGCACCA
GGACTGGCTGAACGGCAAAGAAT
ACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAG
GCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAA
GACAATCAGCAAGGCCAAGGGC
CAGCCACGGGAGCCCCAGGTGT
ACACCCTGCCCCCAGCCGGGAG
GAGATGACCAAGAACCAGGTGTC
CCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCT
TCTACCCCAGCGATATCGCCGTG
GAGTGGGAGAGCAACGGCCAGC
CCGAGAACAACCTACAAGACCACC
CCCCAGTGCTGGACAGCGACG
GCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAG
CTGACCGTGGACAAGTCCAGGTG
GCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCT
GCAGCGTGATGCACGAGGCCCT

[0249]

		GCACAACCACTACACCCAGAAGT CCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 42	LCDR1 (组合的)	RASQTIYRSLA
SEQ ID NO: 43	LCDR2 (组合的)	GASILQS
SEQ ID NO: 44	LCDR3 (组合的)	LQRYTSPFT
SEQ ID NO: 45	LCDR1 (Kabat)	RASQTIYRSLA
SEQ ID NO: 46	LCDR2 (Kabat)	GASILQS
SEQ ID NO: 47	LCDR3 (Kabat)	LQRYTSPFT
SEQ ID NO: 48	LCDR1 (Chothia)	SQTIYRS
SEQ ID NO: 49	LCDR2 (Chothia)	GAS
SEQ ID NO: 50	LCDR3 (Chothia)	RYTSPF
SEQ ID NO: 51	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA SQTIYRSLAWYQQKPGKAPKLLIY GASILQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQRYTSPFTFGQ GTKVEIK
SEQ ID NO: 52	DNA VL	GACATTCAGATGACCCAGTCACC CTCCTCTCTCTCCGCATCCGTGG GCGATCGCGTGACCATCACCTGT CGGGCCAGCCAGACCATCTATAG AAGCCTGGCCTGGTACCAGCAGA AACCGGGAAAGGCCCCCAAAGCT GCTGATCTACGGCGCCAGCATTC TGCAGTCCGGGGTGCCTTCGAGG TTCTCCGGATCCGGGTCTGGGAAC

[0250]

		TGACTTCACCTTGACCATCTCGA GCCTGCAGCCGGAGGACTTCGC GACTTACTACTGCCTGCAACGGT ACACCTCACCCCTTTACCTTCGGA CAAGGCACAAAGGTCGAAATCAA G
SEQ ID NO: 53	轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA SQTIRSLAWYQQKPGKAPKLLIY GASILQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQRYTSPFTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 54	DNA 轻链	GACATTCAGATGACCCAGTCACC CTCCTCTCTCTCCGCATCCGTGG GCGATCGCGTGACCATCACCTGT CGGGCCAGCCAGACCATCTATAG AAGCCTGGCCTGGTACCAGCAGA AACCGGGAAAGGCCCCCAAAGCT GCTGATCTACGGCGCCAGCATTC TGCAGTCCGGGGTGCCTTCGAGG TTCTCCGGATCCGGGTGCGGAAC TGACTTCACCTTGACCATCTCGA GCCTGCAGCCGGAGGACTTCGC GACTTACTACTGCCTGCAACGGT ACACCTCACCCCTTTACCTTCGGA

[0251]

		CAAGGCACAAAGGTCGAAATCAA GCGTACGGTGGCCGCTCCCAGC GTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGA CGAGCAGCTGAAGAGCGGCACC GCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAA CAACTTCTACCCCCGGGAGGCCA AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAA CGCCCTGCAGAGCGGCAACAGC CAGGAGAGCGTCACCGAGCAGG ACAGCAAGGACTCCACCTACAGC CTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCATA AGGTGTACGCCTGCGAGGTGACC CACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGT GACCAAGAGCTTCAACAGGGGC GAGTGC
ABGDF15-B		
SEQ ID NO: 55	HCDR1 (组合的)	GGTFRSYAVS
SEQ ID NO: 56	HCDR2 (组合的)	GIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 57	HCDR3 (组合的)	GPIIMGYQFGLFDH
SEQ ID NO: 58	HCDR1 (Kabat)	SYAVS
SEQ ID NO: 59	HCDR2 (Kabat)	GIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 60	HCDR3 (Kabat)	GPIIMGYQFGLFDH
SEQ ID NO: 61	HCDR1 (Chothia)	GGTFRSY

[0252]

SEQ ID NO: 62	HCDR2 (Chothia)	IPIFGT
SEQ ID NO: 63	HCDR3 (Chothia)	GPIIMGYQFGLFDH
SEQ ID NO: 64	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGGTFRSYAVSWVRQAPGQGLE WMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDNAVY YCARGPIIMGYQFGLFDHWGQGT LVTVSS
SEQ ID NO: 65	DNA VH	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCGGG GGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGC TCGTCCGTGAAAGTGTCCTGCAA GGCTCCGGAGGAACTTCCGGT CATACGCCGTGTCCTGGGTCAGA CAGGCCCCAGGACAGGGATTGG AGTGGATGGGAGGCATCATCCCG ATTTTGGCACCGCGAACTACGC CCAGAAGTTCCAGGGCCGCGTGA CCATCACTGCCGACGAAAGCACC TCCACGGCATACATGGAAGTGTG AAGCCTGCGGTCCGAAGATACCG CGGTGTACTATTGCGCAAGGGGT CCGATTATCATGGGGTACCAGTT CGGGCTGTTCGACCACTGGGGAC AGGGAACCCTGGTCACTGTGTGCG TCC
SEQ ID NO: 66	重链	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK

[0253]

		<p> ASGGTFRSYAVSWVRQAPGQGLE WMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDNAVY YCARGPIIMGYQFGLFDHWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK </p>
SEQ ID NO: 67	DNA 重链	<p> CAAGTGCAACTCGTGCAAGTCGGG GGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGC TCGTCCGTGAAAGTGTCTGCAA GGCCTCCGGAGGAACTTTCCGGT CATACGCCGTGTCCTGGGTCAGA CAGGCCCCAGGACAGGGATTGG AGTGGATGGGAGGCATCATCCCG ATTTTGGCACCGCGAACTACGC CCAGAAGTTCCAGGGCCGCGTGA CCATCACTGCCGACGAAAGCACC </p>

[0254]

		<p>TCCACGGCATACATGGAAGTGTG AAGCCTGCGGTCCGAAGATACCG CGGTGTACTATTGCGCAAGGGGT CCGATTATCATGGGGTACCAGTT CGGGCTGTTCGACCACTGGGGAC AGGGAACCCTGGTCACTGTGTGCG TCCGCTAGCACCAAGGGCCCAAG TGTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCA GCAAGTCTACTTCCGGCGGAACT GCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAA GGACTACTTCCCCGAGCCCGTGA CAGTGTCCTGGAAGTCTGGGGCT CTGACTTCCGGCGTGCACACCTT CCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGC GGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGT GGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTC TGGGAACCCAGACCTATATCTGC AACGTGAACCACAAGCCCAGCAA CACCAAGGTGGACAAGAGAGTG GAGCCCAAGAGCTGCGACAAGA CCCACACCTGCCCCCCCCTGCCCA GCTCCAGAACTGCTGGGAGGGC CTTCGGTGTTCCCTGTTCCCCCCC AAGCCCAAGGACACCCTGATGAT CAGCAGGACCCCCGAGGTGACCT GCGTGGTGGTGGACGTGTCCAC GAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAG</p>
--	--	---

[0255]

		GTGCACAACGCCAAGACCAAGCC CAGAGAGGAGCAGTACAACAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCT GACCGTGCTGCACCAGGACTGGC TGAACGGCAAAGAATACAAGTGC AAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCC AGCCCCAATCGAAAAGACAATCA GCAAGGCCAAGGGCCAGCCACG GGAGCCCCAGGTGTACACCCTGC CCCCCAGCCGGGAGGAGATGAC CAAGAACCAGGTGTCCCTGACCT GTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCC AGCGATATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAACGGCCAGCCCGAGAA CAACTACAAGACCACCCCCCAG TGCTGGACAGCGACGGCAGCTTC TTCCTGTACAGCAAGCTGACCGT GGACAAGTCCAGGTGGCAGCAG GGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGC CTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 68	LCDR1 (组合的)	SGDNIGSHIVS
SEQ ID NO: 69	LCDR2 (组合的)	DKSNRPS
SEQ ID NO: 70	LCDR3 (组合的)	QWDSIGSVV
SEQ ID NO: 71	LCDR1 (Kabat)	SGDNIGSHIVS
SEQ ID NO: 72	LCDR2 (Kabat)	DKSNRPS
SEQ ID NO: 73	LCDR3 (Kabat)	QWDSIGSVV

[0256]

SEQ ID NO: 74	LCDR1 (Chothia)	DNIGSHI
SEQ ID NO: 75	LCDR2 (Chothia)	DKS
SEQ ID NO: 76	LCDR3 (Chothia)	WDSIGSV
SEQ ID NO: 77	VL	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGD NIGSHIVSWYQQKPGQAPVLVIYD KSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTIS RAQAGDEADYYCQTWDSIGSVVF GGGTKLTVL
SEQ ID NO: 78	DNA VL	TCATATGAACTCACCCAACCCCT GTCCGTGTCCGTGGCCCTGGGTC AGACTGCCCCGGATTACCTGTTCG GGAGACAACATCGGAAGCCACAT CGTGTCGTGGTACCAGCAGAAAC CCGGCCAGGCGCCAGTGCTGGT CATCTACGATAAGTCCAACCGCC CGTCCGGAATCCCGGAGAGGTTC AGCGGGTCCAATAGCGGCAACAC CGCAACCCTGACCATCTCAAGAG CTCAGGCCGGGGATGAGGCCGA CTACTACTGCCAAACTTGGGACT CGATTGGCTCCGTGGTGTTCGGC GGCGGAACTAAGCTCACGGTCCT G
SEQ ID NO: 79	轻链	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGD NIGSHIVSWYQQKPGQAPVLVIYD

[0257]

		KSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTIS RAQAGDEADYYCQTWDSIGSVVF GGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVT VAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 80	DNA 轻链	TCATATGAACTCACCCAACCCCT GTCCGTGTCCGTGGCCCTGGGTC AGACTGCCCCGGATTACCTGTTCG GGAGACAACATCGGAAGCCACAT CGTGTCGTGGTACCAGCAGAAAC CCGGCCAGGCGCCAGTGCTGGT CATCTACGATAAGTCCAACCGCC CGTCCGGAATCCCGGAGAGGTTC AGCGGGTCCAATAGCGGCAACAC CGCAACCCTGACCATCTCAAGAG CTCAGGCCGGGGATGAGGCCGA CTACTACTGCCAACTTGGGACT CGATTGGCTCCGTGGTGTTCGGC GGCGGAACTAAGCTCACGGTCCT GGGTCAGCCTAAGGCTGCCCCCA GCGTGACCCTGTTCCCCCCCAGC AGCGAGGAGCTGCAGGCCAACA AGGCCACCCTGGTGTGCCTGATC AGCGACTTCTACCCAGGCGCCGT GACCGTGGCCTGGAAGGCCGAC AGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCG

[0258]

		TGGAGACCACCACCCCCAGCAAG CAGAGCAACAACAAGTACGCCGC CAGCAGCTACCTGAGCCTGACCC CCGAGCAGTGGAAGAGCCACAG GTCCTACAGCTGCCAGGTGACCC ACGAGGGCAGCACCGTGGA AAA GACCGTGGCCCCAACCGAGTGCA GC
ABGDF15-C		
SEQ ID NO: 81	HCDR1 (组合的)	GGTFRSYAVS
SEQ ID NO: 82	HCDR2 (组合的)	GIIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 83	HCDR3 (组合的)	GPIIMGYQFGLFDH
SEQ ID NO: 84	HCDR1 (Kabat)	SYAVS
SEQ ID NO: 85	HCDR2 (Kabat)	GIIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 86	HCDR3 (Kabat)	GPIIMGYQFGLFDH
SEQ ID NO: 87	HCDR1 (Chothia)	GGTFRSY
SEQ ID NO: 88	HCDR2 (Chothia)	IPIFGT
SEQ ID NO: 89	HCDR3 (Chothia)	GPIIMGYQFGLFDH
SEQ ID NO: 90	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGGTFRSYAVSWVRQAPGQGLE WMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSED TAVY

[0259]

		YCARGPIIMGYQFGLFDHWGQGT LVTVSS
SEQ ID NO: 91	DNA VH	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCGGG GGCCGAGGTCAAGAAGCCCCGGC TCGTCCGTGAAAGTGTCTTGCAA GGCCTCCGGAGGAACTTTCCGGT CATACGCCGTGTCTTGGGTCAGA CAGGCCCCAGGACAGGGATTGG AGTGGATGGGAGGCATCATCCCC ATTTTGGCACCGCGAACTACGC CCAGAAGTTCCAGGGCCGCGTGA CCATCACTGCCGACGAAAGCACC TCCACGGCATACTGGAAGTGTCT AAGCCTGCGGTCCGAAGATACCG CGGTGTACTATTGCGCAAGGGGT CCGATTATCATGGGGTACCAGTT CGGGCTGTTCGACCACTGGGGAC AGGGAACCCTGGTCACTGTGTCTG TCC
SEQ ID NO: 92	重链	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGGTFRSYAVSWVRQAPGQGLE WMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDNAVY YCARGPIIMGYQFGLFDHWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK

[0260]

		<p> VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK </p>
SEQ ID NO: 93	DNA 重链	<p> CAAGTGCAACTCGTGCAAGTCGGG GGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGC TCGTCCGTGAAAGTGTCCTGCAA GGCCTCCGGAGGAACTTTCCGGT CATACGCCGTGTCCTGGGTCAGA CAGGCCCCAGGACAGGGATTGG AGTGGATGGGAGGCATCATCCCG ATTTTGGCACCGCGAACTACGC CCAGAAGTTCCAGGGCCGCGTGA CCATCACTGCCGACGAAAGCACC TCCACGGCATACATGGAAGTGTG AAGCCTGCGGTCCGAAGATACCG CGGTGTACTATTGCGCAAGGGGT CCGATTATCATGGGGTACCAGTT CGGGCTGTTCGACCACTGGGGAC AGGGAACCCTGGTCACTGTGTGCG TCCGCTAGCACCAAGGGCCCAAG TGTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCA </p>

[0261]

GCAAGTCTACTTCCGGCGGAACT
GCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAA
GGACTACTTCCCCGAGCCCGTGA
CAGTGTCCTGGAACCTCTGGGGCT
CTGACTTCCGGCGTGCACACCTT
CCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGC
GGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGT
GGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTC
TGGGAACCCAGACCTATATCTGC
AACGTGAACCACAAGCCCAGCAA
CACCAAGGTGGACAAGAGAGTG
GAGCCCAAGAGCTGCGACAAGA
CCCACACCTGCCCCCCCCTGCCCA
GCTCCAGAACTGCTGGGAGGGC
CTTCCGTGTTCCCTGTTCCCCCCC
AAGCCCAAGGACACCCTGATGAT
CAGCAGGACCCCCGAGGTGACCT
GCGTGGTGGTGGACGTGTCCAC
GAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAA
CTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
GTGCACAACGCCAAGACCAAGCC
CAGAGAGGAGCAGTACAACAGC
ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCT
GACCGTGCTGCACCAGGACTGGC
TGAACGGCAAAGAATACAAGTGC
AAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCC
AGCCCAATCGAAAAGACAATCA
GCAAGGCCAAGGGCCAGCCACG

[0262]

		GGAGCCCCAGGTGTACACCCTGC CCCCCAGCCGGGAGGAGATGAC CAAGAACCAGGTGTCCCTGACCT GTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCC AGCGATATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAACGGCCAGCCCGAGAA CAACTACAAGACCACCCCCCAG TGCTGGACAGCGACGGCAGCTTC TTCCTGTACAGCAAGCTGACCGT GGACAAGTCCAGGTGGCAGCAG GGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGC CTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 94	LCDR1 (组合的)	SGDNIGSHIVS
SEQ ID NO: 95	LCDR2 (组合的)	DKSNRPS
SEQ ID NO: 96	LCDR3 (组合的)	QTWDSIGSVV
SEQ ID NO: 97	LCDR1 (Kabat)	SGDNIGSHIVS
SEQ ID NO: 98	LCDR2 (Kabat)	DKSNRPS
SEQ ID NO: 99	LCDR3 (Kabat)	QTWDSIGSVV
SEQ ID NO: 100	LCDR1 (Chothia)	DNIGSHI
SEQ ID NO: 101	LCDR2 (Chothia)	DKS
SEQ ID NO: 102	LCDR3 (Chothia)	WDSIGSV
SEQ ID NO: 103	VL	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGD NIGSHIVSWYQQKPGQSPVLVIYD

[0263]

		KSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTIS GTQAMDEADYYCQTWDSIGSVVF GGGTKLTVL
SEQ ID NO: 104	DNA VL	TCATACGAGCTTACCCAGCCACC TAGCGTGTCAGTCAGCCCCGGGC AGACCGCCTCCATCACTTGCTCG GGAGACAACATCGGCTCCCACAT CGTGTCGTGGTATCAGCAGAAGC CGGGCCAGTCGCCGGTGCTCGT GATCTACGACAAATCCAATCGCC CGTCCGGAATCCCCGAACGGTTC AGCGGATCCAACCTCCGGAAACAC TGCCACCCTGACTATTAGCGGCA CCCAAGCGATGGATGAGGCTGAC TACTACTGCCAAACCTGGGATTTC CATTGGGTCCGTGGTGTTCCGGTG GAGGAACGAAGCTGACCGTGCT G
SEQ ID NO: 105	轻链	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGD NIGSHIVSWYQQKPGQSPVLVIYD KSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTIS GTQAMDEADYYCQTWDSIGSVVF GGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVT VAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID	DNA 轻链	TCATACGAGCTTACCCAGCCACC

[0264]

NO:106	<p>TAGCGTGTCAGTCAGCCCCGGGC AGACCGCCTCCATCACTTGCTCG GGAGACAACATCGGCTCCCACAT CGTGTCGTGGTATCAGCAGAAGC CGGGCCAGTCGCCGGTGCTCGT GATCTACGACAAATCCAATCGCC CGTCCGGAATCCCCGAACGGTTC AGCGGATCCAACTCCGGAAACAC TGCCACCCTGACTATTAGCGGCA CCCAAGCGATGGATGAGGCTGAC TACTACTGCCAAACCTGGGATTTC CATTGGGTCCGTGGTGTTCGGTG GAGGAACGAAGCTGACCGTGCT GGGCCAGCCTAAGGCTGCCCCCA GCGTGACCCTGTTCCCCCCCAGC AGCGAGGAGCTGCAGGCCAACA AGGCCACCCTGGTGTGCCTGATC AGCGACTTCTACCCAGGCGCCGT GACCGTGGCCTGGAAGGCCGAC AGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCG TGGAGACCACCACCCCAGCAAG CAGAGCAACAACAAGTACGCCGC CAGCAGCTACCTGAGCCTGACCC CCGAGCAGTGGAAGAGCCACAG GTCCTACAGCTGCCAGGTGACCC ACGAGGGCAGCACCGTGGA AAA GACCGTGGCCCCAACCGAGTGCA GC</p>
--------	---

[0265]

ABGDF15-D		
SEQ ID NO: 107	HCDR1 (组合的)	GYSFTSYWIG
SEQ ID NO: 108	HCDR2 (组合的)	VIDPDGSYTIYSPSFQG
SEQ ID NO: 109	HCDR3 (组合的)	YGRYGTIFYDY
SEQ ID NO: 110	HCDR1 (Kabat)	SYWIG
SEQ ID NO: 111	HCDR2 (Kabat)	VIDPDGSYTIYSPSFQG
SEQ ID NO: 112	HCDR3 (Kabat)	YGRYGTIFYDY
SEQ ID NO: 113	HCDR1 (Chothia)	GYSFTSY
SEQ ID NO: 114	HCDR2 (Chothia)	DPDGSY
SEQ ID NO: 115	HCDR3 (Chothia)	YGRYGTIFYDY
SEQ ID NO: 116	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKG SGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEW MGVIDPDGSYTIYSPSFQGGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCY ARYGRYGTIFYDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 117	DNA VH	GAAGTCCAACCTCGTGCAGTCCGG AGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGC GAATCGCTGAAGATTAGCTGCAA AGGCTCCGGTTACTCCTTCACCT

[0266]

		<p>CTTACTGGATTGGCTGGGTCCGG CAGATGCCAGGGAAGGGATTGG AGTGGATGGGAGTGATCGACCC GGACGGATCATAACCATCTACT CGCCGAGCTTTCAAGGACAGGTC ACCATCTCCGCCGACAAGTCCAT CTCCACTGCGTATCTGCAGTGGA GCTCACTGAAGGCCTCCGATACG GCAATGTACTACTGCGCGAGATA CGGACGCTACGGGACTTACTTCG ATTACTGGGGCCAGGGGACCCTC GTGACTGTGTCGTCC</p>
SEQ ID NO: 118	重链	<p>EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKG SGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEW MGVIDPDGSYTIYSPSFQGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYC ARYGRYGTYFDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE</p>

[0267]

			SNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ NO:119	ID	DNA 重链	GAAGTCCAACCTCGTGCAGTCCGG AGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGC GAATCGCTGAAGATTAGCTGCAA AGGCTCCGGTTACTCCTTCACCT CTTACTGGATTGGCTGGGTCCGG CAGATGCCAGGGAAGGGATTGG AGTGGATGGGAGTGATCGACCC GGACGGATCATACACCATCTACT CGCCGAGCTTTCAAGGACAGGTC ACCATCTCCGCCGACAAGTCCAT CTCCACTGCGTATCTGCAGTGGA GCTCACTGAAGGCCTCCGATACG GCAATGTACTACTGCGCGAGATA CGGACGCTACGGGACTTACTTCG ATTACTGGGGCCAGGGGACCCTC GTGACTGTGTCGTCCGCTAGCAC CAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCC TGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACT TCCGGCGGAACTGCTGCCCTGGG TTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGG AACTCTGGGGCTCTGACTTCCGG CGTGACACCTTCCCCGCCGTGC TGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGC CTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCC

[0268]

		<p>CTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGA CCTATATCTGCAACGTGAACCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGC TGCGACAAGACCCACACCTGCCC CCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGC TGGGAGGGCCTTCCGTGTTCCTG TTCCCCCACAAGCCCAAGGACAC CCTGATGATCAGCAGGACCCCCG AGGTGACCTGCGTGGTGGTGGGA CGTGTCCACGAGGACCCAGAG GTGAAGTTCAACTGGTACGTGGA CGGCGTGGAGGTGCACAACGCC AAGACCAAGCCCAGAGAGGAGC AGTACAACAGCACCTACAGGGTG GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA CCAGGACTGGCTGAACGGCAAA GAATACAAGTGCAAAGTCTCCAA CAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCG AAAAGACAATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCACGGGAGCCCCAGG TGTACACCCTGCCCCCAGCCGG GAGGAGATGACCAAGAACCAGG TGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAG GGCTTCTACCCCAGCGATATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAACGGC CAGCCCGAGAACAACCTACAAGAC CACCCCCCAGTGCTGGACAGCG</p>
--	--	--

[0269]

		ACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC AAGCTGACCGTGGACAAGTCCAG GTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGC CCTGCACAACCACTACACCCAGA AGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGC AAG
SEQ ID NO: 120	LCDR1 (组合的)	SGSSSNIGVLYVN
SEQ ID NO: 121	LCDR2 (组合的)	SNDNRPS
SEQ ID NO: 122	LCDR3 (组合的)	QSWDSSSNYV
SEQ ID NO: 123	LCDR1 (Kabat)	SGSSSNIGVLYVN
SEQ ID NO: 124	LCDR2 (Kabat)	SNDNRPS
SEQ ID NO: 125	LCDR3 (Kabat)	QSWDSSSNYV
SEQ ID NO: 126	LCDR1 (Chothia)	SSSNIGVLY
SEQ ID NO: 127	LCDR2 (Chothia)	SND
SEQ ID NO: 128	LCDR3 (Chothia)	WDSSSNY
SEQ ID NO: 129	VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGS SSNIGVLYVNWYQQLPGTAPKLLI YSNDNRPSGVPDRFSGSKSGTSASL

[0270]

			AITGLQAEDEADYYCQSWDSSSNY VFGGGTKLTVL
SEQ ID NO:130	DNA VL		CAATCGGTGCTGACCCAGCCCCC TTCGGTGTCCGGAGCCCCGGGCC AGAGAGTGACCATCAGCTGCTCG GGTTCCTCTAGCAACATCGGGGT GCTCTACGTGAACTGGTACCAGC AGCTGCCGGGCACCGCCCCAAA GCTGCTGATCTATAGCAATGATA ACCGGCCGTCCGGAGTGCCCGA CCGGTTCTCCGGATCAAAGAGCG GCACCTCCGCATCCTTGGCCATT ACGGGGCTGCAGGCGGAGGACG AAGCTGATTACTACTGTCAATCG TGGGACTCCTCATCCAACTACGT GTTCCGGCGGAGGCACCAAACCTGA CTGTCCTG
SEQ ID NO:131	轻链		QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGS SSNIGVLYVNWYQQLPGTAPKLLI YSNDNRPSGVPDRFSGSKSGTSASL AITGLQAEDEADYYCQSWDSSSNY VFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFP PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAV TVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO:132	DNA 轻链		CAATCGGTGCTGACCCAGCCCCC TTCGGTGTCCGGAGCCCCGGGCC

[0271]

		AGAGAGTGACCATCAGCTGCTCG GGTTCCTCTAGCAACATCGGGGT GCTCTACGTGAACTGGTACCAGC AGCTGCCGGGCACCGCCCCAAA GCTGCTGATCTATAGCAATGATA ACCGGCCGTCCGGAGTGCCCGA CCGGTTCTCCGGATCAAAGAGCG GCACCTCCGCATCCTTGGCCATT ACGGGGCTGCAGGCGGAGGACG AAGCTGATTACTACTGTCAATCG TGGGACTCCTCATCCAACCTACGT GTTCGGCGGAGGCACCAAACCTGA CTGTCCTGGGTCAGCCTAAGGCT GCCCCAGCGTGACCCTGTTCCC CCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAG GCCAACAAGGCCACCCTGGTGTG CCTGATCAGCGACTTCTACCCAG GCGCCGTGACCGTGGCCTGGAA GGCCGACAGCAGCCCCGTGAAG GCCGGCGTGGAGACCACCACCC CCAGCAAGCAGAGCAACAACAAG TACGCCGCCAGCAGCTACCTGAG CCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGA GCCACAGGTCCTACAGCTGCCAG GTGACCCACGAGGGCAGCACCG TGGAAAAGACCGTGGCCCCAACC GAGTGCAGC
ABGDF15-E		

[0272]

SEQ ID NO: 133	HCDR1 (组合的)	GYSFTSYWIG
SEQ ID NO: 134	HCDR2 (组合的)	VIDPGGSYTIYSPSFQG
SEQ ID NO: 135	HCDR3 (组合的)	YGRYGTYFDY
SEQ ID NO: 136	HCDR1 (Kabat)	SYWIG
SEQ ID NO: 137	HCDR2 (Kabat)	VIDPGGSYTIYSPSFQG
SEQ ID NO: 138	HCDR3 (Kabat)	YGRYGTYFDY
SEQ ID NO: 139	HCDR1 (Chothia)	GYSFTSY
SEQ ID NO: 140	HCDR2 (Chothia)	DPGGSY
SEQ ID NO: 141	HCDR3 (Chothia)	YGRYGTYFDY
SEQ ID NO: 142	VH	EVQLVQSGAEVKKPAGESLKISCKG SGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEW MGVIDPGGSYTIYSPSFQGGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCY ARYGRYGTYFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 143	DNA VH	GAAGTGCAACTCGTGCAGTCCGG AGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGA GAGTCCCTGAAGATCAGCTGCAA AGGATCCGGCTACTCCTTCACTT CATACTGGATCGGTTGGGTCCGG

[0273]

		<p> CAGATGCCGGGAAAGGGGCTGG AATGGATGGGCGTGATTGACCCC GGGGGCTCCTACACGATCTACTC CCCGTCGTTCCAAGGACAGGTCA CCATTTCGGCCGATAAGAGCATC TCCACTGCGTATCTGCAGTGGTC AAGCCTGAAGGCCTCTGACACCG CAATGTACTACTGCGCGAGATAC GGCCGCTACGGGACTTACTTTGA CTACTGGGGACAGGGTACCCTCG TGACCGTGTCCTCG </p>
SEQ ID NO: 144	重链	<p> EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKG SGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEW MGVIDPGGSYTIYSPSFQGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCY ARYGRYGTYFDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFEL </p>

[0274]

		YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ NO:145	ID DNA 重链	GAAGTGCAACTCGTGCAGTCCGG AGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGA GAGTCCCTGAAGATCAGCTGCAA AGGATCCGGCTACTCCTTCACTT CATACTGGATCGGTTGGGTCCGG CAGATGCCGGGAAAGGGGCTGG AATGGATGGGCGTGATTGACCCC GGGGGCTCCTACACGATCTACTC CCCGTCGTTCCAAGGACAGGTCA CCATTTCGGCCGATAAGAGCATC TCCACTGCGTATCTGCAGTGGTC AAGCCTGAAGGCCTCTGACACCG CAATGTACTACTGCGCGAGATAC GGCCGCTACGGGACTTACTTTGA CTACTGGGGACAGGGTACCCTCG TGACCGTGTCCCTCGGCTAGCACC AAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCT GGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTT CCGGCGGAACTGCTGCCCTGGGT TGCCTGGTGAAGGACTACTTCCC CGAGCCCGTGACAGTGTCCCTGGA ACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGC GTGCACACCTTCCCCGCCGTGCT GCAGAGCAGCGGCCTGTACAGC CTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCC CTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGA

[0275]

CCTATATCTGCAACGTGAACCAC
AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA
CAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGC
TGCGACAAGACCCACACCTGCCC
CCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGC
TGGGAGGGCCTTCCGTGTTCCTG
TTCCCCCACAAGCCCAAGGACAC
CCTGATGATCAGCAGGACCCCCG
AGGTGACCTGCGTGGTGGTGGGA
CGTGTCCCACGAGGACCCAGAG
GTGAAGTTCAACTGGTACGTGGA
CGGCGTGGAGGTGCACAACGCC
AAGACCAAGCCCAGAGAGGAGC
AGTACAACAGCACCTACAGGGTG
GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA
CCAGGACTGGCTGAACGGCAAA
GAATACAAGTGCAAAGTCTCCAA
CAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCG
AAAAGACAATCAGCAAGGCCAAG
GGCCAGCCACGGGAGCCCCAGG
TGTACACCCTGCCCCCAGCCGG
GAGGAGATGACCAAGAACCAGG
TGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAG
GGCTTCTACCCCAGCGATATCGC
CGTGGAGTGGGAGAGCAACGGC
CAGCCCGAGAACAACACTACAAGAC
CACCCCCCAGTGCTGGACAGCG
ACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC

[0276]

		AAGCTGACCGTGGACAAGTCCAG GTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGC CCTGCACAACCACTACACCCAGA AGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGC AAG
SEQ ID NO: 146	LCDR1 (组合的)	SGSSSNIGVLYVN
SEQ ID NO: 147	LCDR2 (组合的)	SNDNRPS
SEQ ID NO: 148	LCDR3 (组合的)	QSWDSSSNYV
SEQ ID NO: 149	LCDR1 (Kabat)	SGSSSNIGVLYVN
SEQ ID NO: 150	LCDR2 (Kabat)	SNDNRPS
SEQ ID NO: 151	LCDR3 (Kabat)	QSWDSSSNYV
SEQ ID NO: 152	LCDR1 (Chothia)	SSSNIGVLY
SEQ ID NO: 153	LCDR2 (Chothia)	SND
SEQ ID NO: 154	LCDR3 (Chothia)	WDSSSNY
SEQ ID NO:155	VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCSGS SSNIGVLYVNWYQQLPGTAPKLLI YSNDNRPSGVPDRFSGSKSGTSASL AITGLQAEDEADYYCQSWDSSSNY

[0277]

		VFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 156	DNA VL	CAATCGGTGCTGACCCAGCCCCC TTCGGTGTCCGGAGCCCCGGGCC AGAGAGTGACCATCAGCTGCTCG GGTTCCTCTAGCAACATCGGGGT GCTCTACGTGAACTGGTACCAGC AGCTGCCGGGCACCGCCCCAAA GCTGCTGATCTATAGCAATGATA ACCGGCCGTCCGGAGTGCCCGA CCGGTTCTCCGGATCAAAGAGCG GCACCTCCGCATCCTTGGCCATT ACGGGGCTGCAGGCGGAGGACG AAGCTGATTACTACTGTCAATCG TGGGACTCCTCATCCAACCTACGT GTTCCGGCGGAGGCACCAAACCTGA CTGTCCTG
SEQ ID NO: 157	轻链	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGS SSNIGVLYVNWYQQLPGTAPKLLI YSNDNRPSGVPDRFSGSKSGTSASL AITGLQAEDEADYYCQSWDSSSNY VFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLP PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAV TVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 158	DNA 轻链	CAATCGGTGCTGACCCAGCCCCC TTCGGTGTCCGGAGCCCCGGGCC AGAGAGTGACCATCAGCTGCTCG

[0278]

		GGTTCCTCTAGCAACATCGGGGT GCTCTACGTGAACTGGTACCAGC AGCTGCCGGGCACCGCCCCAAA GCTGCTGATCTATAGCAATGATA ACCGGCCGTCCGGAGTGCCCGA CCGGTTCTCCGGATCAAAGAGCG GCACCTCCGCATCCTTGGCCATT ACGGGGCTGCAGGCGGAGGACG AAGCTGATTACTACTGTCAATCG TGGGACTCCTCATCCAACCTACGT GTTTCGGCGGAGGCACCAAACCTGA CTGTCCTGGGTCAGCCTAAGGCT GCCCCAGCGTGACCCTGTTCCC CCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAG GCCAACAAGGCCACCCTGGTGTG CCTGATCAGCGACTTCTACCCAG GCGCCGTGACCGTGGCCTGGAA GGCCGACAGCAGCCCCGTGAAG GCCGGCGTGGAGACCACCACCC CCAGCAAGCAGAGCAACAACAAG TACGCCGCCAGCAGCTACCTGAG CCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGA GCCACAGGTCCTACAGCTGCCAG GTGACCCACGAGGGCAGCACCG TGGAAGAGACCGTGGCCCCAACC GAGTGCAGC
ABGDF15-F		
SEQ ID NO:	HCDR1 (组合	GYSFTSYWIG

[0279]

159	的)	
SEQ ID NO: 160	HCDR2 (组合 的)	VIDPSGSYTIYSPSFQG
SEQ ID NO: 161	HCDR3 (组合 的)	YGRYGTIFYDY
SEQ ID NO: 162	HCDR1 (Kabat)	SYWIG
SEQ ID NO: 163	HCDR2 (Kabat)	VIDPSGSYTIYSPSFQG
SEQ ID NO: 164	HCDR3 (Kabat)	YGRYGTIFYDY
SEQ ID NO: 165	HCDR1 (Chothia)	GYSFTSY
SEQ ID NO: 166	HCDR2 (Chothia)	DPSGSY
SEQ ID NO: 167	HCDR3 (Chothia)	YGRYGTIFYDY
SEQ ID NO: 168	VH	EVQLVQSGAEVKKPAGESLKISCKG SGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEW MGVIDPSGSYTIYSPSFQGGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYC ARYGRYGTIFYDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 169	DNA VH	GAAGTGCAACTCGTGCAAGTCCGG AGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGA GAATCCCTGAAGATTAGCTGCAA GGGCTCCGGATACTCATTCACTT CATATTGGATCGGCTGGGTCCGG CAGATGCCGGGGAAGGGGCTGG

[0280]

		AGTGGATGGGAGTGATCGACCC GTCCGGTTCCTACACCATCTACT CGCCAAGCTTCCAAGGACAGGTC ACCATCTCTGCCGATAAGTCGAT TTCCACGGCATACTTGCAGTGGT CGTCCCTGAAAGCGTCCGACACT GCGATGTACTACTGTGCCCCGCTA CGGAAGATACGGCACCTACTTTG ACTACTGGGGCCAGGGGACTCTC GTGACCGTGTCCAGC
SEQ ID NO: 170	重链	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKG SGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEW MGVIDPSGSYTIYSPSFQGGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCY ARYGRYGTYFDYWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH

[0281]

		EALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 171	DNA 重链	GAAGTGCAACTCGTGCAAGTCCGG AGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGA GAATCCCTGAAGATTAGCTGCAA GGGCTCCGGATACTCATTCACTT CATATTGGATCGGCTGGGTCCGG CAGATGCCGGGGAAGGGGCTGG AGTGGATGGGAGTGATCGACCC GTCCGGTTCCTACACCATCTACT CGCCAAGCTTCCAAGGACAGGTC ACCATCTCTGCCGATAAGTCGAT TTCCACGGCATACTTGCAGTGGT CGTCCCTGAAAGCGTCCGACACT GCGATGTACTACTGTGCCCCGCTA CGGAAGATACGGCACCTACTTTG ACTACTGGGGCCAGGGGACTCTC GTGACCGTGTCCAGCGCTAGCAC CAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCC TGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACT TCCGGCGGAACTGCTGCCCTGGG TTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGG AACTCTGGGGCTCTGACTTCCGG CGTGACACACCTTCCCCGCCGTGC TGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGC CTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCC CTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGA CCTATATCTGCAACGTGAACCAC

[0282]

AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA
CAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGC
TGCGACAAGACCCACACCTGCCC
CCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGC
TGGGAGGGCCTTCCGTGTTCTG
TTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACAC
CCTGATGATCAGCAGGACCCCCG
AGGTGACCTGCGTGGTGGTGGGA
CGTGTCCACAGAGGACCCAGAG
GTGAAGTTCAACTGGTACGTGGA
CGGCGTGGAGGTGCACAACGCC
AAGACCAAGCCCAGAGAGGAGC
AGTACAACAGCACCTACAGGGTG
GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA
CCAGGACTGGCTGAACGGCAAA
GAATACAAGTGCAAAGTCTCCAA
CAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCG
AAAAGACAATCAGCAAGGCCAAG
GGCCAGCCACGGGAGCCCCAGG
TGTACACCCTGCCCCCAGCCGG
GAGGAGATGACCAAGAACCAGG
TGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAG
GGCTTCTACCCCAGCGATATCGC
CGTGGAGTGGGAGAGCAACGGC
CAGCCCGAGAACAACACTACAAGAC
CACCCCCCAGTGCTGGACAGCG
ACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGTCCAG

[0283]

		GTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGC CCTGCACAACCACTACACCCAGA AGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGC AAG
SEQ ID NO: 172	LCDR1 (组合的)	SGSSSNIGVLYVN
SEQ ID NO: 173	LCDR2 (组合的)	SNDNRPS
SEQ ID NO: 174	LCDR3 (组合的)	QSWDSSSNYV
SEQ ID NO: 175	LCDR1 (Kabat)	SGSSSNIGVLYVN
SEQ ID NO: 176	LCDR2 (Kabat)	SNDNRPS
SEQ ID NO: 177	LCDR3 (Kabat)	QSWDSSSNYV
SEQ ID NO: 178	LCDR1	SSSNIGVLY
SEQ ID NO: 179	LCDR2	SND
SEQ ID NO: 180	LCDR3	WDSSSNY
SEQ ID NO: 181	VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCSGS SSNIGVLYVNWYQQLPGTAPKLLI YSNDNRPSGVPDRFSGSKSGTSASL AITGLQAEDEADYYCQSWDSSSNY VFGGGTKLTVL

[0284]

SEQ ID NO: 182	DNA VL	CAATCGGTGCTGACCCAGCCCCC TTCGGTGTCCGGAGCCCCGGGCC AGAGAGTGACCATCAGCTGCTCG GGTTCCTCTAGCAACATCGGGGT GCTCTACGTGAACTGGTACCAGC AGCTGCCGGGCACCGCCCCAAA GCTGCTGATCTATAGCAATGATA ACCGGCCGTCCGGAGTGCCCGA CCGGTTCTCCGGATCAAAGAGCG GCACCTCCGCATCCTTGGCCATT ACGGGGCTGCAGGCGGAGGACG AAGCTGATTACTACTGTCAATCG TGGGACTCCTCATCCAACCTACGT GTTCCGGCGGAGGCACCAAACCTGA CTGTCCTG
SEQ ID NO: 183	轻链	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGS SSNIGVLYVNWYQQLPGTAPKLLI YSNDNRPSGVPDRFSGSKSGTSASL AITGLQAEDEADYYCQSWDSSSNY VFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFP PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAV TVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[0285]

SEQ ID NO:	DNA 轻链	
184		CAATCGGTGCTGACCCAGCCCCC TTCGGTGTCCGGAGCCCCGGGCC AGAGAGTGACCATCAGCTGCTCG GGTTCCTCTAGCAACATCGGGGT GCTCTACGTGAACTGGTACCAGC AGCTGCCGGGCACCGCCCCAAA GCTGCTGATCTATAGCAATGATA ACCGGCCGTCCGGAGTGCCCGA CCGGTTCTCCGGATCAAAGAGCG GCACCTCCGCATCCTTGGCCATT ACGGGGCTGCAGGCGGAGGACG AAGCTGATTACTACTGTCAATCG TGGGACTCCTCATCCAACCTACGT GTTCCGGCGGAGGCACCAAACCTGA CTGTCCTGGGTCAGCCTAAGGCT GCCCCCAGCGTGACCCTGTTCCC CCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAG GCCAACAAGGCCACCCTGGTGTG CCTGATCAGCGACTTCTACCCAG GCGCCGTGACCGTGGCCTGGAA GGCCGACAGCAGCCCCGTGAAG GCCGGCGTGGAGACCACCACCC CCAGCAAGCAGAGCAACAACAAG TACGCCGCCAGCAGCTACCTGAG CCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGA GCCACAGGTCCTACAGCTGCCAG GTGACCCACGAGGGCAGCACCG TGGAAGAGACCGTGGCCCCAACC

[0286]

		GAGTGCAGC
--	--	------------------

[0287] 表2:抗GDF15抗体的结合特征

[0288]

抗体	配体 ID	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmax (RU)
ABGDF15-A	人 GDF15 天然	3.30E+07	3.74E-04	1.131E-11	8.19
	人 His-GDF15	9.42E+07	2.47E-04	2.624E-12	9.443
	食蟹猴 His-GDF15	2.07E+07	2.78E-04	1.338E-11	9.23
	小鼠 His-GDF15	1.08E+07	6.13E-04	5.681E-11	9.995
	大鼠 His-GDF15	1.95E+07	4.51E-04	2.318E-11	8.519
ABGDF15-G	人 GDF15 天然	5.80E+06	5.12E-04	8.822E-11	6.116
	人 His-GDF15	3.90E+06	5.33E-04	1.365E-10	7.62
	食蟹猴 His-GDF15	5.79E+06	6.94E-04	1.199E-10	5.627
	小鼠 His-GDF15	2.23E+06	3.43E-04	1.542E-10	4.271
	大鼠 His-GDF15	2.63E+06	3.65E-04	1.384E-10	3.977
ABGDF15-B	人 GDF15 天然	3.38E+06	3.89E-04	1.149E-10	7.109
	人 His-GDF15	8.80E+06	5.40E-04	6.137E-11	8.592
	食蟹猴 His-GDF15	5.52E+06	4.61E-04	8.358E-11	7.029
	小鼠 His-GDF15	2.64E+06	6.26E-04	2.368E-10	8.63

[0289]

	大鼠 His-GDF15	5.36E+06	5.20E-04	9.703E-11	9.086
ABGDF15-C	人 GDF15 天然	5.92E+06	3.88E-04	6.561E-11	7.519
	人 His-GDF15	1.11E+07	4.68E-04	4.217E-11	9.548
	食蟹猴 His-GDF15	4.96E+06	3.22E-04	6.498E-11	8.294
	小鼠 His-GDF15	4.37E+06	5.05E-04	1.156E-10	7.981
	大鼠 His-GDF15	7.81E+06	4.83E-04	6.18E-11	8.465
ABGDF15-D	人 GDF15 天然	1.71E+07	3.32E-04	1.939E-11	3.868
	人 His-GDF15	4.09E+07	2.61E-04	6.393E-12	4.938
	食蟹猴 His-GDF15	1.67E+07	2.36E-04	1.411E-11	4.516
	小鼠 His-GDF15	1.11E+07	5.09E-04	4.573E-11	8.519
	大鼠 His-GDF15	1.62E+07	4.56E-04	2.807E-11	7.898
ABGDF15-E	人 GDF15 天然	8.98E+06	3.50E-04	3.896E-11	5.293
	人 His-GDF15	4.63E+07	3.41E-04	7.356E-12	4.955
	食蟹猴 His-GDF15	1.26E+07	3.80E-04	3.029E-11	4.886
	小鼠 His-GDF15	6.78E+06	5.35E-04	7.897E-11	10.05
	大鼠 His-GDF15	1.08E+07	4.28E-04	3.957E-11	8.45
ABGDF15-F	人 GDF15 天然	1.89E+07	6.96E-04	3.681E-11	3.206
	人 His-GDF15	4.19E+07	4.80E-04	1.145E-11	4.366
	食蟹猴 His-GDF15	1.26E+07	4.40E-04	3.498E-11	4.07
	小鼠 His-GDF15	6.05E+06	5.84E-04	9.64E-11	11.14
	大鼠 His-GDF15	1.11E+07	5.38E-04	4.849E-11	9.183

[0290] 表2中提供的测量值是使用如实施例中所所述的Biacore分析获得的。如表2中所示，用每种抗体测试不同的配体。例如，测试以下配体：

[0291] 人GDF15天然：从Peprotech购买的天然产生的人GDF15；

[0292] 人His-GDF15：HIS标记的人GDF15；

[0293] 食蟹猴His-GDF15：HIS标记的食蟹猴GDF15；

[0294] 小鼠His-GDF15：HIS标记的小鼠GDF15；和

[0295] 大鼠GDF15HIS：HIS标记的大鼠GDF15。

[0296] 表3提供了根据SET和Biacore的所选抗GDF15抗体的结合亲和力（解离常数）。

[0297] 表3：根据SET和Biacore的抗GDF15抗体的Kd值

[0298]

候选者	SET Kd (nM)	Biacore Kd (nM)
ABGDF15-A	0.001	0.011
ABGDF15-B	0.12	0.115
ABGDF15-C	0.12	0.066

ABGDF15-D	0.00016	0.019
ABGDF15-E	0.0023	0.039
ABGDF15-F	0.0044	0.037
ABGDF15-G	0.02	0.088

[0299] 表4:抗GDF15抗体的等电点 (pI)

[0300]

	pI IgG			pI Fab		
候选者	重链	轻链	重链+轻链	重链	轻链	重链+轻链
ABGDF15-C	9.4	5.7	8.3	9.9	5.7	8.8
ABGDF15-B	9.4	6.8	8.9	9.9	6.8	9.3
ABGDF15-A	9	7.4	8.7	9.5	7.4	9.1
ABGDF15-F	9.3	5.8	8.9	9.7	5.8	9.2
ABGDF15-E	9.3	5.8	8.9	9.7	5.8	9.2
ABGDF15-G	9.3	9.4	9.3	9.8	9.4	9.6
ABGDF15-D	9.2	5.8	8.6	9.6	5.8	9

[0301] 其他抗体包括其中氨基酸或编码氨基酸的核酸已经突变但与表1中描述的序列具有至少60,65,70,75,80,85,90或95%同一性的抗体。实施方案包括突变氨基酸序列,其中与表1中描述的序列中描绘的可变区相比,在可变区中突变不超过1,2,3,4或5个氨基酸,同时保留基本相同的抗原结合活性。

[0302] 由于这些抗体中的每一种都可以与GDF15结合,因此VH,VL,全长轻链和全长重链序列(氨基酸序列和编码氨基酸序列的核苷酸序列)可以“混合并匹配”以产生本文描述的其他GDF15结合抗体。可以使用本领域已知的结合测定法(例如,ELISA和实施例部分中描述的其他测定法)测试这种“混合和匹配的”GDF15结合抗体。当这些链混合并匹配时,来自特定VH/VL配对的VH序列应当用结构上相似的VH序列替换。同样,来自特定全长重链/全长轻链配对的全长重链序列应当用结构相似的全长重链序列替换。同样,来自特定VH/VL配对的全长轻链序列应当用结构相似的全长轻链序列替换。

[0303] 因此,一方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其具有:包含选自SEQ ID NOs:12,38,64,90,116,142,168的氨基酸序列的重链可变结构域,和包含选自SEQ ID NOs:25,51,77,103,129,155和181的氨基酸序列的轻链可变结构域,其中所述抗体特异性结合GDF15(例如,人GDF15)。

[0304] 更具体地,在某些方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其具有重链可变结构域和轻链可变结构域,其包含分别选自SEQ ID NO:12和25;38和51;64和77;90和103;116和129;142和155;或168和181的氨基酸序列。在某些方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其具有包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的重链可变结构域(VH)和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的轻链可变结构域(VL)。在某些方面,本文提供了分离的抗体或其抗原

结合区,其具有包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的重链可变结构域(VH)和包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的轻链可变结构域(VL)。在某些方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其具有包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的重链可变结构域(VH)和包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的轻链可变结构域(VL)。在某些方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其具有包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列的重链可变结构域(VH)和包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列的轻链可变结构域(VL)。在某些方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其具有包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的重链可变结构域(VH)和包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的轻链可变结构域(VL)。在某些方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其具有包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的重链可变结构域(VH)和包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的轻链可变结构域(VL)。在某些方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其具有包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的重链可变结构域(VH)和包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列的轻链可变结构域(VL)。

[0305] 另一方面,本文提供了(i)分离的抗体,其具有:全长重链,其包含已经优化用于在哺乳动物细胞中表达的选自SEQ ID NOs:14,40,66,92,118,144,和170的氨基酸序列,以及全长轻链,其包含已经优化用于在哺乳动物细胞中表达的选自SEQ ID NOs:27,53,79,105,131,157,和183的氨基酸序列,或(ii)包含其抗原结合部分的功能性蛋白质。更具体地,在某些方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其具有重链和轻链,所述重链和轻链分别包含选自SEQ ID NO:14和27;40和53;66和79;92和105;118和131;144和157;或170和183的氨基酸序列。在特定方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其包含含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的轻链。在特定方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其包含含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的轻链。在特定方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的轻链。在特定方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其包含含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的轻链。在特定方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其包含含有SEQ ID NO:118的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:131的氨基酸序列的轻链。在特定方面,本文提供了分离的抗体或其抗原结合区,其包含含有SEQ ID NO:144的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的轻链。在特定方面,本文提供的是分离的抗体或其抗原结合区,其包含含有SEQ ID NO:170的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:183的氨基酸序列的轻链。

[0306] 如本文所用的术语“互补决定区”和“CDR”是指抗体可变区内的氨基酸序列,其赋予抗原特异性和结合亲和力。通常,每个重链可变区中有三个CDR(HCDR1,HCDR2,HCDR3),每个轻链可变区中有三个CDR(LCDR1,LCDR2,LCDR3)。

[0307] 给定CDR的精确氨基酸序列边界可以使用许多众所周知的方案中的任何一种容易地确定,包括Kabat et al.(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(“Kabat”编号方案),Al-Lazikani et al.,(1997)JMB 273,927-948(“Chothia”编号方案)描述的方案。

[0308] 例如,在Kabat下,重链可变结构域(VH)中抗体ABGDF15-A的CDR氨基酸残基编号为

31-35 (HCDR1), 50-66 (HCDR2) 和99-108 (HCDR3); 轻链可变结构域 (VL) 中的CDR氨基酸残基编号为24-34 (LCDR1), 50-56 (LCDR2) 和89-97 (LCDR3)。在Chothia下, VH中的CDR氨基酸编号为26-32 (HCDR1), 52-57 (HCDR2) 和99-108 (HCDR3); VL中的氨基酸残基编号为26-32 (LCDR1), 50-52 (LCDR2) 和91-96 (LCDR3)。通过结合Kabat和Chothia的CDR定义, CDR由人VH中的氨基酸残基26-35 (HCDR1), 50-66 (HCDR2) 和99-108 (HCDR3) 和人VL中的氨基酸残基24-34 (LCDR1), 50-56 (LCDR2) 和89-97 (LCDR3) 组成。

[0309] 另一方面, 本文提供了GDF15结合抗体, 其包含表1中所述的重链和轻链CDR1, CDR2和CDR3, 或其组合。抗体的VH CDR1的氨基酸序列显示在SEQ ID NOs: 6, 32, 58, 84, 110, 136, 162中。抗体的VH CDR2的氨基酸序列显示在SEQ ID NOs: 7, 33, 59, 85, 111, 137, 163中。抗体的VH CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NOs: 8, 34, 60, 86, 112, 138, 164。抗体的VL CDR1的氨基酸序列显示在SEQ ID NOs: 19, 45, 71, 97, 123, 149, 175中。抗体的VL CDR2的氨基酸序列显示在SEQ ID NOs: 20, 46, 72, 98, 124, 150, 176中。抗体的VL CDR3的氨基酸序列显示在SEQ ID NOs: 21, 47, 73, 99, 125, 151, 177中。这些CDR区使用Kabat系统描述。

[0310] 或者, 如使用Chothia系统 (Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273, 927-948) 所定义的, 抗体的VH CDR1的氨基酸序列显示在SEQ ID NOs: 9, 35, 61, 87, 113, 139, 165中。抗体的VH CDR2的氨基酸序列显示在SEQ ID NOs: 10, 36, 62, 88, 114, 140, 166中。抗体的VH CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NOs: 11, 37, 63, 89, 115, 141, 167。抗体的VL CDR1的氨基酸序列显示于SEQ ID NOs: 22, 48, 74, 100, 126, 152, 178。抗体的VL CDR2的氨基酸序列显示在SEQ ID NOs: 23, 49, 75, 101, 127, 153, 179中。抗体的VL CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NOs: 24, 50, 76, 102, 128, 154, 180。

[0311] 另一方面, 以组合Kabat和Chothia系统的编号为前提, 本文提供了GDF15结合抗体, 其包含表1中所述的重链和轻链CDR1, CDR2和CDR3, 或其组合。抗体的VH CDR1的氨基酸序列显示在SEQ ID NOs: 3, 29, 55, 81, 107, 133, 159中。抗体的VH CDR2的氨基酸序列显示在SEQ ID NOs: 4, 30, 56, 82, 108, 134, 160中。抗体的VH CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NOs: 5, 31, 57, 83, 109, 135, 161中。抗体的VL CDR1的序列显示在SEQ ID NOs: 16, 42, 68, 94, 120, 146, 172中。抗体的VL CDR2的氨基酸序列显示在SEQ ID NOs: 17, 43, 69, 95, 121, 147, 173中。抗体的VL CDR3的氨基酸序列显示在SEQ ID NOs: 18, 44, 70, 96, 122, 148, 174中。这些CDR区使用组合的系统描述。

[0312] 鉴于这些抗体中的每一种都可以结合GDF15并且抗原结合特异性主要由CDR1, 2和3区提供, VH CDR1, 2和3序列以及VL CDR1, 2和3序列可以“混合和匹配”(即, 来自不同抗体的CDR可以混合和匹配), 尽管每种抗体优选含有VH CDR1, 2和3以及VL CDR1, 2和3以产生本文所述的其他GDF15结合分子。可以使用本领域已知的结合测定和实施例中描述的那些结合测定(例如, ELISA, SET, Biacore)测试这种“混合和匹配的”GDF15结合抗体。当VH CDR序列混合并匹配时, 来自特定VH序列的CDR1, CDR2和/或CDR3序列应该用结构上相似的CDR序列替换。同样地, 当VL CDR序列混合并匹配时, 来自特定VL序列的CDR1, CDR2和/或CDR3序列应该用结构上相似的CDR序列替换。对于普通技术人员来说显而易见的是, 对于单克隆抗体, 可以通过用来自本文所示CDR序列的结构相似的序列取代一个或多个VH和/或VL CDR区序列来产生新的VH和VL序列。除了前述之外, 在一个实施方案中, 本文所述抗体的抗原结合片段可包含VH CDR1, 2和3, 或VL CDR1, 2和3, 其中所述片段作为单一可变结构域结合

GDF15。

[0313] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可具有表1中所述的Fab的重链和轻链序列。更具体地,抗体或其抗原结合片段可具有ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E,或ABGDF15-D的重和轻序列。在一个具体实施方案中,抗体或其抗原结合片段可以具有ABGDF15-A,ABGDF15-D,ABGDF15-E,或ABGDF15-F的重链和轻链序列。

[0314] 在某些实施方案中,特异性结合GDF15的抗体或抗原结合片段包含重链可变区CDR1,重链可变区CDR2,重链可变区CDR3,轻链可变区CDR1,轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3,如由组合的Kabat和Chothia定义并在表1中描述。在其他实施方案中,特异性结合GDF15的抗体或抗原结合片段包含重链可变区CDR1,重链可变区CDR2,重链可变区CDR3,轻链可变区CDR1,轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3,如Kabat所定义并描述于表1中。在其他实施方案中,特异性结合GDF15的抗体或抗原结合片段包含重链可变区CDR1,重链可变区CDR2,重链可变区CDR3,轻链可变区CDR1,轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3,如由Chothia定义并在表1中描述。

[0315] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含:

[0316] (i) SEQ ID NO:3的HCDR1;SEQ ID NO:4的HCDR2;SEQ ID NO:5的HCDR3;SEQ ID NO:16的LCDR1;SEQ ID NO:17的LCDR2;和SEQ ID NO:18的LCDR3;或

[0317] (ii) SEQ ID NO:6的HCDR1;SEQ ID NO:7的HCDR2;SEQ ID NO:8的HCDR3;SEQ ID NO:19的LCDR1;SEQ ID NO:20的LCDR2;和SEQ ID NO:21的LCDR3;或

[0318] (iii) SEQ ID NO:9的HCDR1;SEQ ID NO:10的HCDR2;SEQ ID NO:11的HCDR3;SEQ ID NO:22的LCDR1;SEQ ID NO:23的LCDR2;和SEQ ID NO:24的LCDR3。

[0319] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含:

[0320] (i) SEQ ID NO:107的HCDR1;SEQ ID NO:108的HCDR2;SEQ ID NO:109的HCDR3;SEQ ID NO:120的LCDR1;SEQ ID NO:121的LCDR2;和SEQ ID NO:122的LCDR3;或

[0321] (ii) SEQ ID NO:110的HCDR1;SEQ ID NO:111的HCDR2;SEQ ID NO:112的HCDR3;SEQ ID NO:123的LCDR1;SEQ ID NO:124的LCDR2;和SEQ ID NO:125的LCDR3;或

[0322] (iii) SEQ ID NO:113的HCDR1;SEQ ID NO:114的HCDR2;SEQ ID NO:115的HCDR3;SEQ ID NO:126的LCDR1;SEQ ID NO:127的LCDR2;和SEQ ID NO:128的LCDR3。

[0323] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含:

[0324] (i) SEQ ID NO:29的HCDR1;SEQ ID NO:30的HCDR2;SEQ ID NO:31的HCDR3;SEQ ID NO:42的LCDR1;SEQ ID NO:43的LCDR2;和SEQ ID NO:44的LCDR3;或

[0325] (ii) SEQ ID NO:32的HCDR1;SEQ ID NO:33的HCDR2;SEQ ID NO:34的HCDR3;SEQ ID NO:45的LCDR1;SEQ ID NO:46的LCDR2;和SEQ ID NO:47的LCDR3;或

[0326] (iii) SEQ ID NO:35的HCDR1;SEQ ID NO:36的HCDR2;SEQ ID NO:37的HCDR3;SEQ ID NO:48的LCDR1;SEQ ID NO:49的LCDR2;和SEQ ID NO:50的LCDR3。

[0327] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含:

[0328] (i) SEQ ID NO:55的HCDR1;SEQ ID NO:56的HCDR2;SEQ ID NO:57的HCDR3;SEQ ID NO:68的LCDR1;SEQ ID NO:69的LCDR2;和SEQ ID NO:70的LCDR3;或

[0329] (ii) SEQ ID NO:58的HCDR1;SEQ ID NO:59的HCDR2;SEQ ID NO:60的HCDR3;SEQ

ID NO:71的LCDR1;SEQ ID NO:72的LCDR2;和SEQ ID NO:73的LCDR3;或

[0330] (iii) SEQ ID NO:61的HCDR1;SEQ ID NO:62的HCDR2;SEQ ID NO:63的HCDR3;SEQ ID NO:74的LCDR1;SEQ ID NO:75的LCDR2;和SEQ ID NO:76的LCDR3。

[0331] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含:

[0332] (i) SEQ ID NO:81的HCDR1;SEQ ID NO:82的HCDR2;SEQ ID NO:83的HCDR3;SEQ ID NO:94的LCDR1;SEQ ID NO:95的LCDR2;和SEQ ID NO:96的LCDR3;或

[0333] (ii) SEQ ID NO:84的HCDR1;SEQ ID NO:85的HCDR2;SEQ ID NO:86的HCDR3;SEQ ID NO:97的LCDR1;SEQ ID NO:98的LCDR2;和SEQ ID NO:99的LCDR3;或

[0334] (iii) SEQ ID NO:87的HCDR1;SEQ ID NO:88的HCDR2;SEQ ID NO:89的HCDR3;SEQ ID NO:100的LCDR1;SEQ ID NO:101的LCDR2;和SEQ ID NO:102的LCDR3。

[0335] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含:

[0336] (i) SEQ ID NO:133的HCDR1;SEQ ID NO:134的HCDR2;SEQ ID NO:135的HCDR3;SEQ ID NO:146的LCDR1;SEQ ID NO:147的LCDR2;和SEQ ID NO:148的LCDR3;或

[0337] (ii) SEQ ID NO:136的HCDR1;SEQ ID NO:137的HCDR2;SEQ ID NO:138的HCDR3;SEQ ID NO:149的LCDR1;SEQ ID NO:150的LCDR2;和SEQ ID NO:151的LCDR3;或

[0338] (iii) SEQ ID NO:139的HCDR1;SEQ ID NO:140的HCDR2;SEQ ID NO:141的HCDR3;SEQ ID NO:152的LCDR1;SEQ ID NO:153的LCDR2;和SEQ ID NO:154的LCDR3。

[0339] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含:

[0340] (i) SEQ ID NO:159的HCDR1;SEQ ID NO:160的HCDR2;SEQ ID NO:161的HCDR3;SEQ ID NO:172的LCDR1;SEQ ID NO:173的LCDR2;和SEQ ID NO:174的LCDR3;或

[0341] (ii) SEQ ID NO:162的HCDR1;SEQ ID NO:163的HCDR2;SEQ ID NO:164的HCDR3;SEQ ID NO:175的LCDR1;SEQ ID NO:176的LCDR2;和SEQ ID NO:177的LCDR3;或

[0342] (iii) SEQ ID NO:165的HCDR1;SEQ ID NO:166的HCDR2;SEQ ID NO:167的HCDR3;SEQ ID NO:178的LCDR1;SEQ ID NO:179的LCDR2;和SEQ ID NO:180的轻链可变区CDR3。

[0343] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:3的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:4的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:5的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:16的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:17的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:18的轻链可变区CDR3。

[0344] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:29的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:30的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:31的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:42的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:43的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:44的轻链可变区CDR3。

[0345] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:55的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:56的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:57的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:68的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:69的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:70的轻链可变区CDR3。

[0346] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:81的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:82的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:83的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:94的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:95的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:96的轻链可

变区CDR3。

[0347] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:107的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:108的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:109的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:120的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:121的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:122的轻链可变区CDR3。

[0348] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:133的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:134的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:135的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:146的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:147的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:148的轻链可变区CDR3。

[0349] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:159的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:160的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:161的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:172的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:173的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:174的轻链可变区CDR3。

[0350] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:6的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:7的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:8的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:19的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:20的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:21的轻链可变区CDR3。

[0351] 在一个实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:32的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:33的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:34的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:45的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:46的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:47的轻链可变区CDR3。

[0352] 在一个具体实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:58的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:59的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:60的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:71的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:72的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:73的轻链可变区CDR3。

[0353] 在一个具体实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:84的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:85的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:86的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:97的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:98的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:99的轻链可变区CDR3。

[0354] 在一个具体实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:110的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:111的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:112的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:123的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:124的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:125的轻链可变区CDR3。

[0355] 在一个具体实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:136的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:137的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:138的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:149的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:150的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:151的轻链可变区CDR3。

[0356] 在一个具体实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:162的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:163的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:164的重链可变区

CDR3;SEQ ID NO:175的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:176的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:177的轻链可变区CDR3。

[0357] 在一个具体实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:9的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:10的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:11的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:22的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:23的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:24的轻链可变区CDR3。

[0358] 在一个具体实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:35的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:36的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:37的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:48的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:49的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:50的轻链可变区CDR3。

[0359] 在一个具体实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:61的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:62的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:63的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:74的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:75的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:76的轻链可变区CDR3。

[0360] 在一个具体实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:87的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:88的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:89的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:100的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:101的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:102的轻链可变区CDR3。

[0361] 在一个具体实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:113的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:114的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:115的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:126的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:127的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:128的轻链可变区CDR3。

[0362] 在一个具体实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:139的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:140的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:141的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:152的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:153的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:154的轻链可变区CDR3。

[0363] 在一个具体实施方案中,本文提供了特异性结合GDF15的抗体,其包含SEQ ID NO:165的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:166的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:167的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:178的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:179的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:180的轻链可变区CDR3。

[0364] 在某些实施方案中,本文提供了如表1中所述的特异性结合GDF15的抗体或抗原结合片段。在特定实施方案中,结合GDF15的抗体或抗原结合片段是ABGDF15-A,ABGDF15-G,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-F,ABGDF15-E或ABGDF15-D。

[0365] 如本文所用,人抗体包含重链或轻链可变区或全长重链或轻链,如果从使用人种系免疫球蛋白基因的系统获得抗体的可变区或全长链,则所述重链或轻链可变区或全长重链或轻链是特定种系序列的“产物”或“衍生自”特定种系序列。此类系统包括用感兴趣的抗原免疫携带人免疫球蛋白基因的转基因小鼠或用感兴趣的抗原筛选展示在噬菌体上的人免疫球蛋白基因文库。通过比较人抗体的氨基酸序列与人种系免疫球蛋白的氨基酸序列并选择序列中与人抗体序列最接近(即,最大%同一性)的人种系免疫球蛋白,可以鉴定是人

种系免疫球蛋白序列的“产物”或“衍生自”人种系免疫球蛋白序列的人抗体。

[0366] 由于例如天然存在的体细胞突变或有意引入定点突变,与种系序列相比,作为特定人种系免疫球蛋白序列的“产物”或“衍生自”特定人种系免疫球蛋白序列的人抗体可含有氨基酸差异。然而,在VH或VL构架区中,当与其他物种的种系免疫球蛋白氨基酸序列(例如,鼠种系序列)比较时,选定的人抗体通常在氨基酸序列中与由人种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列有至少90%同一性并且包含将人抗体鉴定为人的氨基酸残基。在某些情况下,人抗体的氨基酸序列可以与由种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列有至少60%,70%,80%,90%,或至少95%,或甚至至少96%,97%,98%或99%同一性。

[0367] 通常,重组人抗体在VH或VL构架区中与由人种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列显示不超过10个氨基酸差异。在某些情况下,人抗体可以显示与种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列不超过5个,或甚至不超过4,3,2或1个氨基酸差异。人种系免疫球蛋白基因的实例包括但不限于下文描述的可变结构域种系片段。

[0368] 同源抗体

[0369] 在另一个实施方案中,本文提供抗体或其抗原结合片段,其包含与表1中描述的序列同源的氨基酸序列,并且所述抗体结合GDF15蛋白(例如,人GDF15),并保留表1中描述的那些抗体的所需功能特性。

[0370] 例如,本文提供了分离的抗体或其功能性抗原结合片段,其包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中重链可变结构域包含与选自SEQ ID NOs:12,38,64,90,116,142,168的氨基酸序列至少80%,至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;轻链可变结构域包含与选自SEQ ID NOs:25,51,77,103,129,155,181的氨基酸序列至少80%,至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;所述抗体特异性结合GDF15(例如人GDF15)。在某些实施方案中,重链和轻链序列还包含Kabat定义的HCDR1,HCDR2,HCDR3,LCDR1,LCDR2,和LCDR3序列,例如分别为SEQ ID NO:6,7,8和19,20,21。在某些其他实施方案中,重链和轻链序列还包含由Chothia编号定义的HCDR1,HCDR2,HCDR3,LCDR1,LCDR2,和LCDR3序列,例如分别是SEQ ID NO:9,10,11和22,23,24。在某些其他实施方案中,重链和轻链序列还包含通过组合Kabat和Chothia定义的HCDR1,HCDR2,HCDR3,LCDR1,LCDR2和LCDR3序列,例如分别为SEQ ID NO:3,4,5和16,17,18。

[0371] 在其他实施方案中,VH和/或VL氨基酸序列可以与表1中所示序列有50%,60%,70%,80%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一性。在其他实施方案中,VH和/或VL氨基酸序列可以是相同的,除了在不超过约1,2,3,4或5个氨基酸位置的氨基酸取代。与表1中描述的那些的VH和VL区具有高(即,80%或更高)同一性的VH和VL区的抗体可以通过分别编码SEQ ID NOs:13,39,65,91,117,143,169和SEQ ID NOs:26,52,78,104,130,156,182的核酸分子的诱变(例如,定点或PCR介导的诱变)获得,然后使用本文描述的功能测定法测试编码的改变的抗体的保留的功能。

[0372] 在其他实施方案中,全长重链和/或全长轻链氨基酸序列可以与表1中所示序列有50%,60%,70%,80%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一性。与SEQ ID NOs:14,40,66,92,118,144,170中的任一个的全长重链和SEQ ID NOs:27,53,79,105,131,157,183中任一个的全长轻链具有高(即,80%或更高)同一性的全长重链和/或全长轻链的抗体可以通过编码此类多肽的核酸分子的诱变(例如,定点或PCR介导的诱变)获得,然后使用本文所

述的功能测定法测试编码的改变的抗体的保留功能。

[0373] 在其他实施方案中,全长重链和/或全长轻链核苷酸序列可以与列于表1的序列有60%,70%,80%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一性。

[0374] 在其他实施方案中,重链可变区和/或轻链可变区核苷酸序列可以与列于表1的序列有60%,70%,80%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一性。

[0375] 如本文所用,两个序列之间的同一性百分比是序列共有的相同位置的数目的函数(即,%同一性等于相同位置的数量/位置总数 $\times 100$),考虑空位的数量和每个空位的长度,需要引入所述空位以便最佳比对两个序列。序列的比较和两个序列之间的同一性百分比的确定可以使用数学算法完成,如下面的非限制性实施例所述。

[0376] 另外或备选地,本文所述的蛋白质序列可进一步用作“查询序列”以对公共数据库进行搜索,以例如鉴定相关序列。例如,可以使用Altschul, et al., 1990 J. Mol. Biol. 215: 403-10的BLAST程序(版本2.0)进行这样的搜索。

[0377] 具有保守修饰的抗体

[0378] 在某些实施方案中,本文描述的抗体具有包含CDR1, CDR2和CDR3序列的重链可变区和包含CDR1, CDR2和CDR3序列的轻链可变区,其中这些CDR序列中的一个或多个具有基于本文所述的抗体指定的氨基酸序列或其保守修饰,其中所述抗体保留了本文所述的GDF15结合抗体的所需功能特性。

[0379] 因此,本文提供了抗体或其抗原结合片段,其由包含CDR1, CDR2和CDR3序列的重链可变区和包含CDR1, CDR2和CDR3序列的轻链可变区组成,其中:重链可变区CDR1氨基酸序列选自SEQ ID NO:3, 29, 55, 81, 107, 133和159,及其保守修饰;重链可变区CDR2氨基酸序列选自SEQ ID NO:4, 30, 56, 82, 108, 134和160,及其保守修饰;重链可变区CDR3氨基酸序列选自SEQ ID NO:5, 31, 57, 83, 109, 135和161,及其保守修饰;轻链可变区CDR1氨基酸序列选自SEQ ID NO:16, 42, 68, 94, 120, 146和172,及其保守修饰;轻链可变区CDR2氨基酸序列选自SEQ ID NOs:17, 43, 69, 95, 121, 147和173,及其保守修饰;CDR3氨基酸序列的轻链可变区选自SEQ ID NO:18, 44, 70, 96, 122, 148和174,及其保守修饰;抗体或其抗原结合片段与GDF15特异性结合。

[0380] 因此,本文提供了抗体或其抗原结合片段,其由包含CDR1, CDR2和CDR3序列的重链可变区和包含CDR1, CDR2和CDR3序列的轻链可变区组成,其中:重链可变区CDR1氨基酸序列选自SEQ ID NO:6, 32, 58, 84, 110, 136和162,及其保守修饰;重链可变区CDR2氨基酸序列选自SEQ ID NO:7, 33, 59, 85, 111, 137和163,及其保守修饰;重链可变区CDR3氨基酸序列选自SEQ ID NO:8, 34, 60, 86, 112, 138和164,及其保守修饰;轻链可变区CDR1氨基酸序列选自SEQ ID NO:19, 45, 71, 97, 123, 149和175,及其保守修饰;轻链可变区CDR2氨基酸序列选自SEQ ID NO:20, 46, 72, 98, 124, 150和176,及其保守修饰;CDR3氨基酸序列的轻链可变区选自SEQ ID NO:21, 47, 73, 99, 125, 151和177,及其保守修饰;抗体或其抗原结合片段与GDF15特异性结合。

[0381] 因此,本文提供了抗体或其抗原结合片段,其由包含CDR1, CDR2和CDR3序列的重链可变区和包含CDR1, CDR2和CDR3序列的轻链可变区组成,其中:重链可变区CDR1氨基酸序列选自SEQ ID NO:9, 35, 61, 87, 113, 139和165,及其保守修饰;重链可变区CDR2氨基酸序列选自SEQ ID NO:10, 36, 62, 88, 114, 140和166,及其保守修饰;重链可变区CDR3氨基酸序列选

自SEQ ID NO:11,37,63,89,115,141和167,及其保守修饰;轻链可变区CDR1氨基酸序列选自SEQ ID NO:22,48,74,100,126,152和178,及其保守修饰;轻链可变区CDR2氨基酸序列选自SEQ ID NO:23,49,75,101,127,153和179,及其保守修饰;CDR3氨基酸序列的轻链可变区选自SEQ ID NO:24,50,76,102,128,154和180,及其保守修饰;所述抗体或其抗原结合片段与GDF15特异性结合。

[0382] 在其他实施方案中,本文所述的抗体被优化用于在哺乳动物细胞中表达,具有全长重链序列和全长轻链序列,其中这些序列中的一个或多个具有基于本文所述抗体的特定氨基酸序列或其保守修饰,并且其中抗体保留了本文所述的GDF15结合抗体的所需功能特性。因此,本文提供了分离的抗体,其经优化用于在哺乳动物细胞中表达,所述抗体由全长重链和全长轻链组成,其中全长重链具有选自SEQ ID NOs:14,40,66,92,118,144,和170的氨基酸序列,及其保守修饰;全长轻链具有选自SEQ ID NOs:27,53,79,105,131,157,和183的氨基酸序列及其保守修饰;所述抗体特异性结合GDF15(例如人GDF15)。

[0383] 结合相同表位的抗体

[0384] 本文提供了与表1中描述的GDF15结合抗体结合相同表位的抗体。因此,可以基于它们在GDF15结合测定(例如实施例中描述的那些)中竞争(例如,以统计学上显著的方式竞争性地抑制)与本文所述的其他抗体的结合的能力来鉴定另外的抗体。测试抗体抑制本文所述抗体与GDF15蛋白结合的能力表明测试抗体可与该抗体竞争结合GDF15;根据非限制性理论,这种抗体可以与其竞争的抗体结合GDF15蛋白质上相同或相关(例如,结构上相似或空间上接近)的表位。在某个实施方案中,与本文所述抗体结合GDF15上相同表位的抗体是人单克隆抗体。可如本文所述制备和分离此类人单克隆抗体。如本文所用,在等摩尔浓度的竞争抗体存在下,当竞争抗体抑制本文所述抗体或抗原结合片段的GDF15结合超过50%(例如,80%,85%,90%,95%,98%或99%)时,抗体“竞争”结合。

[0385] 工程化和经修饰的抗体

[0386] 本文所述的抗体还可以使用具有一种或多种本文所示的VH和/或VL序列的抗体作为起始材料来制备,以改造经修饰抗体,该经修饰的抗体可以具有与起始抗体相比改变的特性。可以通过修饰一个或两个可变区(即VH和/或VL)内,例如在一个或多个CDR区内和/或在一个或多个构架区内的一个或多个残基来改造抗体。另外或备选地,可以通过修饰恒定区内的残基来工程化抗体,例如以改变抗体的效应子功能。

[0387] 可以进行的一种可变区工程化是CDR移植。抗体主要通过位于六个重链和轻链互补决定区(CDR)中的氨基酸残基与靶抗原相互作用。因此,CDR内的氨基酸序列在各个抗体之间比CDR之外的序列更加多样化。因为CDR序列负责大多数抗体-抗原相互作用,所以可以通过构建表达载体来表达模拟特定天然存在抗体的性质的重组抗体,所述表达载体包括来自特定天然存在的抗体的CDR序列,所述CDR序列被移植到来自具有不同特性的不同抗体的构架序列上(参见,例如,Riechmann,L.et al.,1998 Nature 332:323-327;Jones,P.et al.,1986Nature 321:522-525;Queen,C.et al.,1989Proc.Natl.Acad.,U.S.A.86:10029-10033;Winter的美国专利号5,225,539,和Queen等的美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,762和6,180,370)。

[0388] 因此,本公开的另一个实施方案涉及分离的抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区分别包含具有选自SEQ ID NOs:6,32,58,84,110,

136,和162的氨基酸序列的CDR1序列;具有选自SEQ ID NOs:7,33,59,85,111,137,和163的氨基酸序列的CDR2序列;具有选自SEQ ID NOs:8,34,60,86,112,138,164的氨基酸序列的CDR3序列;所述轻链可变区分别具有选自SEQ ID NOs:19,45,71,97,123,149,和175的氨基酸序列的CDR1序列,具有选自SEQ ID NOs:20,46,72,98,124,150和176的氨基酸序列的CDR2序列;和由选自SEQ ID NOs:21,47,73,99,125,151和177的氨基酸序列组成的CDR3序列。因此,此类抗体含有单克隆抗体的VH和VL CDR序列,但可含有来自这些抗体的不同构架序列。

[0389] 此类构架序列可以从公共DNA数据库或包括种系抗体基因序列的公开参考文献获得。例如,人类重链和轻链可变区基因的种系DNA序列可以在“VBase”人种系序列数据库中找到(可在万维网mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase上找到),以及例如,Kabat,E.A.,et al.,1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242;Tomlinson,I.M.,et al.,1992J.Mol.Biol.227:776-798;和Cox,J.P.L.et al.,1994Eur.J Immunol.24:827-836;其中的每一个的内容通过引用明确地并入本文。

[0390] 用于本文描述的抗体的构架序列的实例是在结构上类似于本文所述的选定抗体所用的构架序列的那些,例如本文所述的单克隆抗体使用的共有序列和/或构架序列。可以将VH CDR1,2和3序列以及VL CDR1,2和3序列移植到构架区上,所述构架区具有与构架序列所来源的种系免疫球蛋白基因中发现的序列相同的序列,或CDR序列可以移植到构架区上,所述构架区与种系序列相比,含有一个或多个突变。例如,已经发现在某些情况下,突变构架区内的残基以维持或增强抗体的抗原结合能力是有益的(参见例如,Queen等的美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,762和6,180,370)。可用作构建本文所述抗体和抗原结合片段的支架的构架包括但不限于VH1A,VH1B,VH3,Vk1,V12和Vk2。其他构架在本领域中是已知的,并且可以在例如在万维网上在vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/index.php?&MMN_position=1:1的vBase数据库中找到。

[0391] 因此,本公开的一个实施方案涉及分离的GDF15结合抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变区,所述重链可变区包含选自SEQ ID NOs:12,38,64,90,116,142,和168的氨基酸序列,或在这些序列的构架区中具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列,并且还包含轻链可变区,其具有选自SEQ ID NOs:25,51,77,103,129,155和181的氨基酸序列,或在这些序列的构架区中具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列。

[0392] 另一种类型的可变区修饰是突变VH和/或VL CDR1,CDR2和/或CDR3区内的氨基酸残基,从而改善目标抗体的一种或多种结合特性(例如,亲和力),称为“亲和力成熟”。可以进行定点诱变或PCR介导的诱变以引入突变,并且可以在如本文所述和在实施例中提供的体外或体内测定中评估对抗体结合或其他感兴趣的功能性质的影响。可以引入保守修饰(如上所述)。突变可以是氨基酸取代,添加或缺失。此外,通常CDR区内不超过一个,两个,三个,四个或五个残基被改变。

[0393] 因此,在另一个实施方案中,本文提供了GDF15结合抗体或其抗原结合片段,其由重链可变区和轻链可变区组成,所述重链可变区具有由选自SEQ ID NOs:3,29,55,81,107,133和159的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3,29,55,81,107,133和159相比具有一个,两个,三

个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VH CDR1区;具有选自SEQ ID NOs:4,30,56,82,108,134,和160的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:4,30,56,82,108,134,和160相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VH CDR2区;具有选自SEQ ID NOs:5,31,57,83,109,135,和161的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:5,31,57,83,109,135,和161相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VH CDR3区;所述轻链可变区具有选自SEQ ID NOs:16,42,68,94,120,146,和172的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:16,42,68,94,120,146,和172相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VL CDR1区;具有选自SEQ ID NOs:17,43,69,95,121,147,和173的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:17,43,69,95,121,147,和173相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VL CDR2区;具有选自SEQ ID NOs:18,44,70,96,122,148,和174的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:18,44,70,96,122,148,和174相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VL CDR3区。

[0394] 因此,在另一个实施方案中,本文提供了GDF15结合抗体或其抗原结合片段,其由重链可变区和轻链可变区组成,所述重链可变区具有由选自SEQ ID NOs:6,32,58,84,110,136,和162的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:6,32,58,84,110,136,和162相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VH CDR1区;具有由选自SEQ ID NOs:7,33,59,85,111,137,和163的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:7,33,59,85,111,137,和163相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VH CDR2区;具有由选自SEQ ID NOs:8,34,60,86,112,138,和164的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:8,34,60,86,112,138,和164相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VH CDR3区;所述轻链可变区具有由选自SEQ ID NOs:19,45,71,97,123,149,和175的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:19,45,71,97,123,149,和175相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VL CDR1区;具有由选自SEQ ID NOs:20,46,72,98,124,150,和176的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:20,46,72,98,124,150,和176相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VL CDR2区;具有由选自SEQ ID NOs:21,47,73,99,125,151,和177的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:21,47,73,99,125,151,和177相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VL CDR3区。

[0395] 因此,在另一个实施方案中,本文提供了GDF15结合抗体或其抗原结合片段,其由重链可变区和轻链可变区组成,所述重链可变区具有由选自SEQ ID NOs:9,35,61,87,113,139,和165的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:9,35,61,87,113,139,和165相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VH CDR1区;具有由选自SEQ ID NOs:10,36,62,88,114,140,和166的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:10,36,62,88,114,140,和166相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VH CDR2区;具有由选自SEQ ID NOs:11,37,63,89,115,141,和167的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:11,37,63,89,115,141,和167相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VH CDR3区;所述轻链可变区具有由选自SEQ ID NOs:22,48,74,100,126,152,178的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:22,48,74,100,126,152,

178相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VL CDR1区;具有由选自SEQ ID NOs:23,49,75,101,127,153,179的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:23,49,75,101,127,153,179相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VL CDR2区;具有由选自SEQ ID NOs:24,50,76,102,128,154,和180的氨基酸序列或与SEQ ID NOs:24,50,76,102,128,154,和180相比具有一个,两个,三个,四个或五个氨基酸取代,缺失或添加的氨基酸序列组成的VL CDR3区。

[0396] 将抗原结合结构域移植到备选构架或支架中

[0397] 可以使用多种抗体/免疫球蛋白构架或支架,只要所得多肽包含至少一个特异性结合GDF15的结合区即可。此类构架或支架包括人免疫球蛋白的5种主要独特型或其片段,并且包括其他动物物种的免疫球蛋白,优选具有人源化方面。在这方面,单个重链抗体,例如在骆驼科动物中鉴定的那些,是特别令人感兴趣的。新的构架,支架和片段继续被本领域技术人员发现和开发。

[0398] 在一个方面,本公开内容涉及使用非免疫球蛋白支架产生基于非免疫球蛋白的抗体,所述支架上可以移植本文所述的CDR。可以使用已知的或未来的非免疫球蛋白构架和支架,只要它们包含对靶GDF15蛋白特异的结合区即可。已知的非免疫球蛋白构架或支架包括但不限于纤连蛋白(Compound Therapeutics, Inc., Waltham, MA), 锚蛋白(Molecular Partners AG, Zurich, Switzerland), 结构域抗体(Domantis, Ltd., Cambridge, MA, and Ablynx nv, Zwijnaarde, Belgium), 脂质运载蛋白((Pieris Proteolab AG, Freising, Germany), 小型模块化免疫药物(Trubion Pharmaceuticals Inc., Seattle, WA), maxybody (Avidia, Inc., Mountain View, CA), 蛋白A(Affibody AG, Sweden) 和affilin(γ -晶状体蛋白或遍在蛋白)(Scil Proteins GmbH, Halle, Germany)。

[0399] 纤连蛋白支架基于纤连蛋白III型结构域(例如,III型纤连蛋白的第10个模块(10Fn3结构域))。纤连蛋白III型结构域具有7或8个 β 链,其分布在两个 β 折叠之间,其本身彼此包装以形成蛋白质的核心,并且还包含将 β 链彼此连接的环(类似于CDR)并且是溶剂暴露的。在 β 折叠夹层的每个边缘处存在至少三个这样的环,其中边缘是垂直于 β 链方向的蛋白质的边界(参见US 6,818,418)。这些基于纤连蛋白的支架不是免疫球蛋白,尽管整体折叠与最小功能性抗体片段重链可变区的总体折叠密切相关,重链可变区包含骆驼和美洲驼IgG中的完整抗原识别单元。由于这种结构,非免疫球蛋白抗体模拟抗原结合特性,其性质和亲和力与抗体的相似。这些支架可在体外用于环随机化和改组策略,其类似于体内抗体亲和力成熟的过程。这些基于纤连蛋白的分子可以用作支架,其中分子的环区域可以使用标准克隆技术用本文所述的CDR替换。

[0400] 锚蛋白技术基于使用具有锚蛋白衍生的重复模块的蛋白质作为支架,用于承载可变区域,所述可变区域可用于结合不同的靶标。锚蛋白重复模块是33个氨基酸的多肽,由两个反平行的 α -螺旋和 β -转角组成。可变区的结合主要通过使用核糖体展示来优化。

[0401] Avimers衍生自含有天然A结构域的蛋白质,例如LRP-1。这些结构域本质上用于蛋白质-蛋白质相互作用,并且在人类中超过250种蛋白质在结构上基于A结构域。Avimers由通过氨基酸接头连接的许多不同的“A-结构域”单体(2-10)组成。可以使用例如美国专利申请公开号20040175756;20050053973;20050048512;和20060008844中描述的方法产生可以与靶抗原结合的Avimers。

[0402] 亲和体(Affibody)亲和配体是由基于蛋白A的IgG结合结构域之一的支架的三螺旋束组成的小而简单的蛋白质。蛋白A是来自金黄色葡萄球菌的表面蛋白。该支架结构域由58个氨基酸组成,其中13个被随机化以产生具有大量配体变体的亲和体文库(参见例如US 5,831,012)。亲和体分子模拟抗体,与抗体的分子量(150kDa)相比,它们的分子量为6kDa。尽管其尺寸小,但是亲和体分子的结合位点与抗体的结合位点相似。

[0403] Anticalins是由Pieris ProteoLab AG公司开发的产品。它们来自脂质运载蛋白,脂质运载蛋白是一组广泛的小而稳健的蛋白质,通常参与化学敏感或不溶性化合物的生理运输或储存。几种天然脂质运载蛋白存在于人体组织或体液中。蛋白质结构让人联想到免疫球蛋白,在刚性构架上有高变环。然而,与抗体或其重组片段相反,脂质运载蛋白由具有160至180个氨基酸残基的单个多肽链组成,仅略微大于单个免疫球蛋白结构域。构成结合口袋的四个环组显示出明显的结构可塑性并且容许多种侧链。因此,结合位点可以在专有过程中重新成形,以便以高亲和力和特异性识别不同形状的预先准备的靶分子。脂质运载蛋白家族的一种蛋白质:Pieris Brassicae的后胆色素结合蛋白(BBP)已被用于通过诱变四个环的组来开发anticalins。描述anticalins的专利申请的一个实例是PCT公开号W0 199916873。

[0404] Affilin分子是小的非免疫球蛋白蛋白质,其针对蛋白质和小分子的特异性亲和力而设计。可以从两个文库中非常快速地选择新的affilin分子,每个文库基于不同的人源支架蛋白。Affilin分子与免疫球蛋白蛋白质没有任何结构同源性。目前,使用两种affilin支架,其中一种是 γ 晶体,一种人结构性眼晶状体蛋白质,另一种是“遍在蛋白”超家族蛋白质。两种人支架都非常小,显示出高温稳定性并且几乎抵抗pH变化和变性剂。这种高稳定性主要是由于蛋白质的扩大的 β 片层结构。W0200104144中描述了 γ 晶体衍生蛋白的实例,W02004106368中描述了“遍在蛋白样”蛋白的实例。

[0405] 蛋白质表位模拟物(PEM)是中等大小的环状肽类分子(MW 1-2kDa),模拟蛋白质的 β -发夹二级结构——涉及蛋白质-蛋白质相互作用的主要二级结构。

[0406] 本文提供了特异性结合GDF15蛋白的完全人抗体。与嵌合或人源化抗体相比,本文所述的人GDF15结合抗体在施用于人受试者时具有进一步降低的抗原性。

[0407] 骆驼抗体

[0408] 从骆驼和单峰骆驼(Camelus bactrianus和Camelus dromaderius)家族成员(包括新世界成员,如美洲驼物种(Lama paccos,Lama glama和Lama vicugna))获得的抗体蛋白质就其大小,结构复杂性和对人类受试者的抗原性进行了表征。来自如自然界中发现的哺乳动物家族的某些IgG抗体缺乏轻链,因此在结构上不同于来自其他动物的抗体的具有两条重链和两条轻链的典型四链四级结构。参见PCT/EP93/02214(1994年3月3日公布的W0 94/04678)。

[0409] 通过基因工程可以获得骆驼抗体的区域,其是被鉴定为VHH的小的单可变结构域,以产生对靶标具有高亲和力的小蛋白质,产生称为“骆驼纳米颗粒”的低分子量抗体衍生蛋白。参见1998年6月2日出版的美国专利号5,759,808;还参见Stijlemans,B.et al.,2004J Biol Chem 279:1256-1261;Dumoulin,M.et al.,2003Nature 424:783-788;Pleschberger,M.et al.2003Bioconjugate Chem 14:440-448;Cortez-Retamozo,V.et al.2002Int J Cancer 89:456-62;和Lauwereys,M.et al.1998EMBO J 17:3512-3520。骆

驼科动物抗体和抗体片段的工程化文库可商购获得,例如,来自Ablynx,Ghent,Belgium。与非人源的其他抗体一样,可以重组改变骆驼抗体的氨基酸序列以获得更接近人类序列的序列,即纳米抗体可以是“人源化的”。因此,骆驼抗体对人类对天然的低抗原性可以进一步降低。

[0410] 骆驼纳米抗体的分子量约为人IgG分子量的十分之一,蛋白质的物理直径仅为几纳米。小尺寸的一个结果是骆驼纳米抗体结合抗原位点的能力,所述抗原位点对于较大的抗体蛋白质是功能上不可见的,即,骆驼纳米抗体可用作检测抗原的试剂和作为可能的治疗剂,所述抗原否则使用经典免疫学技术是隐蔽。因此,小尺寸的另一个结果是骆驼纳米抗体可以通过结合靶蛋白的凹槽或狭窄裂缝中的特定位点而抑制,因此,可以以比经典抗体更接近类似于经典低分子量药物的功能的能力起作用。

[0411] 低分子量和紧凑的尺寸进一步导致骆驼纳米抗体具有极高的热稳定性,对极端pH和蛋白水解消化稳定,并且抗原性差。另一个结果是骆驼纳米抗体容易从循环系统移动到组织中,甚至穿过血脑屏障并且可以治疗影响神经组织的病症。纳米抗体可以进一步促进跨越血脑屏障的药物转运。参见2004年8月19日公开的美国专利申请20040161738。这些特征与对人的低抗原性相结合表明了巨大的治疗潜力。此外,这些分子可以在原核细胞如大肠杆菌中完全表达,并且表达为与噬菌体的融合蛋白并且是功能性的。

[0412] 因此,本公开的一个特征是对GDF15具有高亲和力的骆驼抗体或纳米抗体。在本文的某些实施方案中,骆驼抗体或纳米抗体是在骆驼科动物中天然产生的,即,使用本文所述的用于其他抗体的技术,在用GDF15或其肽片段免疫后,由骆驼科动物产生。或者,GDF15结合骆驼纳米抗体被工程化,例如使用淘选程序,用GDF15作为靶标,如本文实施例中所述通过例如从噬菌体展示文库中选择产生适当诱变的骆驼纳米抗体蛋白而产生。通过基因工程可以进一步定制工程纳米抗体,使受体受试者中的半衰期为45分钟至两周。在一个具体实施方案中,骆驼抗体或纳米抗体是通过将本文所述的人抗体的重链或轻链的CDR序列移植到纳米抗体或单结构域抗体构架序列中而获得的,如例如在公开为W094/04678的PCT/EP93/02214中所述。

[0413] 双特异性分子和多价抗体

[0414] 在另一个方面,本公开内容的特征在于双特异性或多特异性分子,其包含本文所述的GDF15结合抗体或其片段。本文描述的抗体或其抗原结合区可以衍生化或连接至另一种功能分子,例如另一种肽或蛋白质(例如,另一种抗体或受体的配体)以产生结合至少两种不同的结合位点或靶分子的双特异性分子。本文描述的抗体实际上可以衍生化或与一种以上的其他功能分子连接,以产生结合多于两个不同结合位点和/或靶分子的多特异性分子;这些多特异性分子也意在包括在本文所用的术语“双特异性分子”中。为了产生本文所述的双特异性分子,本文描述的抗体可以与一种或多种其他结合分子(例如另一种抗体,抗体片段,肽或结合模拟物)功能性连接(例如,通过化学偶联,遗传融合,非共价结合或其他),从而产生双特异性分子。

[0415] 因此,本公开包括双特异性分子,其包含对GDF15的至少一种第一结合特异性和对第二靶表位的第二结合特异性。例如,第二靶表位是不同于第一靶表位的GDF15的另一表位。

[0416] 另外,对于其中双特异性分子是多特异性的公开内容,除了第一和第二靶表位之

外,该分子还可以包括第三结合特异性。

[0417] 在一个实施方案中,本文所述的双特异性分子包括作为结合特异性的至少一种抗体或其抗体片段,包括例如Fab,Fab',F(ab')₂,Fv或单链Fv。抗体也可以是轻链或重链二聚体,或其任何最小片段,如Ladner等人美国专利号4,946,778所述的Fv或单链构建体。

[0418] 双抗体是二价双特异性分子,其中VH和VL结构域在单个多肽链上表达,通过接头连接,所述接头太短而不允许在同一链上的两个结构域之间配对。VH和VL结构域与另一条链的互补结构域配对,从而产生两个抗原结合位点(参见例如Holliger et al., 1993Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448;Poljak et al.,1994Structure 2:1121-1123)。可以通过在同一细胞内表达具有结构VHA-VLB和VHB-VLA(VH-VL构型)或VLA-VHB和VLB-VHA(VL-VH构型)的两条多肽链来产生双抗体。它们中的大多数可以在细菌中以可溶形式表达。单链双抗体(scDb)通过将两个形成双抗体的多肽链与约15个氨基酸残基的接头连接而产生(参见Holliger and Winter,1997 Cancer Immunol.Immunother.,45(3-4):128-30;Wu et al.,1996 Immunotechnology,2(1):21-36)。scDb可以以可溶的活性单体形式在细菌中表达(参见Holliger and Winter,1997 Cancer Immunol.Immunother.,45(34):128-30;Wu et al.,1996 Immunotechnology,2(1):21-36;Pluckthun and Pack,1997 Immunotechnology,3(2):83-105;Ridgway et al.,1996 Protein Eng.,9(7):617-21)。双抗体可以与Fc融合以产生“二-双抗体”(参见Lu et al.,2004J.Biol.Chem.,279(4):2856-65)。

[0419] 可用于本文所述双特异性分子的其他抗体是鼠,嵌合和人单克隆抗体。

[0420] 双特异性分子可以通过使用本领域已知的方法缀合组分结合特异性来制备。例如,双特异性分子的每种结合特异性可以单独产生,然后彼此缀合。当结合特异性是蛋白质或肽时,多种偶联剂或交联剂可用于共价缀合。交联剂的实例包括蛋白A,碳二亚胺,N-琥珀酰亚胺基-S-乙酰基-硫代乙酸酯(SATA),5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB),邻苯二甲酰亚胺(oPDM),N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP)和磺基琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸酯(sulfo-SMCC)(参见例如Karpovsky et al., 1984 J.Exp.Med.160:1686;Liu,MA et al.,1985 Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82:8648)。其他方法包括Paulus,1985 Behring Ins.Mitt.No.78,118-132;Brennan et al.,1985Science 229:81-83),和Glennie et al.,1987 J.Immunol.139:2367-2375)中所述的那些。缀合剂是SATA和磺基-SMCC,两者均可从Pierce Chemical Co.(Rockford,IL)获得。

[0421] 当结合特异性是抗体时,它们可以通过两条重链的C末端铰链区的巯基键合而缀合。在一个特别的实施方案中,铰链区被修饰为在缀合之前含有奇数个巯基残基,例如一个。

[0422] 或者,两种结合特异性可以在同一载体中编码,并在同一宿主细胞中表达和组装。当双特异性分子是mAb x mAb,mAb x Fab,Fab x F(ab')₂或配体x Fab融合蛋白时,该方法特别有用。本文描述的双特异性分子可以是包含一个单链抗体和结合决定簇的单链分子,或包含两个结合决定簇的单链双特异性分子。双特异性分子可包含至少两个单链分子。制备双特异性分子的方法描述于例如美国专利号5,260,203;美国专利号5,455,030;美国专利号4,881,175;美国专利号5,132,405;美国专利号5,091,513;美国专利号5,476,786;美国专利号5,013,653;美国专利号5,258,498;和美国专利号5,482,858。

[0423] 双特异性分子与其特异性靶标的结合可以通过例如酶联免疫吸附测定 (ELISA), 放射免疫测定 (REA), FACS 分析, 生物测定 (例如生长抑制) 或蛋白质印迹测定来确认。这些测定中的每一种通常通过使用对目标复合物特异的标记试剂 (例如, 抗体) 来检测特别感兴趣的蛋白质-抗体复合物的存在。

[0424] 另一方面, 本文提供了多价化合物, 其包含与 GDF15 结合的本文所述抗体的至少两个相同或不同的抗原结合部分。抗原结合部分可以通过蛋白质融合或共价或非共价连接连接在一起。或者, 已经描述了双特异性分子的连接方法。四价化合物可以例如通过将本文所述抗体的抗体与结合本文所述抗体的恒定区 (例如 Fc 或铰链区) 的抗体交联而获得。

[0425] 三聚结构域描述于例如 Boreau 专利 EP 1012280B1 中。五聚模块描述于例如 PCT/EP97/05897, 公开为 WO 98/18973。

[0426] 具有延长半衰期的抗体

[0427] 本文提供了特异性结合 GDF15 蛋白的抗体, 其在体内具有延长的半衰期。

[0428] 许多因素可能会影响蛋白质在体内的半衰期。例如, 肾过滤, 肝脏代谢, 蛋白水解酶 (蛋白酶) 降解和免疫原性应答 (例如抗体的蛋白质中和和巨噬细胞和树突细胞摄取)。可以使用多种策略来延长本文所述抗体的半衰期。例如, 通过与聚乙二醇 (PEG), reCODE PEG, 抗体支架, 聚唾液酸 (PSA), 羟乙基淀粉 (HES), 白蛋白结合配体和碳水化合物屏蔽的化学连接; 通过遗传融合到结合血清蛋白 (如白蛋白, IgG, FcRn 和转铁蛋白) 的蛋白; 通过偶联 (遗传或化学) 结合血清蛋白的其他结合部分, 例如纳米抗体, Fab, DARPins, avimers, 亲和体和 anticalins; 通过与 rPEG, 白蛋白, 白蛋白结构域, 白蛋白结合蛋白和 Fc 的遗传融合; 或通过掺入纳米载体, 缓释制剂或医疗器械中。

[0429] 为了延长体内抗体的血清循环, 可以用或不用多功能接头, 通过 PEG 与抗体的 N-或 C-末端的位点特异性缀合或通过赖氨酸残基上存在的 ϵ -氨基, 将惰性聚合物分子 (例如高分子量 PEG) 连接到的抗体或其片段上。为了使抗体聚乙二醇化, 抗体或其片段通常在一个或多个 PEG 基团变得与抗体或抗体片段连接的条件与聚乙二醇 (PEG) (例如 PEG 的反应性酯或醛衍生物) 反应。聚乙二醇化可以通过酰化反应或与反应性 PEG 分子 (或类似的反应性水溶性聚合物) 的烷基化反应来进行。如本文所用, 术语“聚乙二醇”旨在涵盖已用于衍生其他蛋白质的任何形式的 PEG, 例如单 (C1-C10) 烷氧基-或芳氧基-聚乙二醇或聚乙二醇-马来酰亚胺。在某些实施方案中, 待聚乙二醇化的抗体是无糖基化的抗体。将使用导致生物活性最小损失的线性或分枝聚合物衍生化。可以通过 SDS-PAGE 和质谱法密切监测缀合程度, 以确保 PEG 分子与抗体的正确缀合。可以通过大小排阻或通过离子交换层析将未反应的 PEG 与抗体-PEG 缀合物分离。可以使用本领域技术人员熟知的方法, 例如通过本文所述的免疫测定, 测试 PEG 衍生的抗体的结合活性以及体内功效。聚乙二醇化蛋白质的方法是本领域已知的, 并且可以应用于本文所述的抗体。参见例如 Nishimura 等人的 EP 0 154 316 和 Ishikawa 等人的 EP 0 401 384。

[0430] 其他改良的聚乙二醇化技术包括重构化学正交定向工程化技术 (ReCODE PEG), 其通过包含 tRNA 合成酶和 tRNA 的重构系统将化学特异性侧链掺入到生物合成蛋白中。该技术能够将超过 30 种新氨基酸掺入大肠杆菌、酵母和哺乳动物细胞中的生物合成蛋白中。tRNA 在琥珀密码子定位的任何位置掺入非天然氨基酸, 将琥珀密码子从终止密码子转换成信令化学特定氨基酸掺入的密码子。

[0431] 重组聚乙二醇化技术(rPEG)也可用于血清半衰期延长。该技术涉及将300-600个氨基酸的非结构化蛋白质尾部与现有的药物蛋白质基因融合。因为这种非结构化蛋白质链的表观分子量比其实际分子量大约15倍,所以蛋白质的血清半衰期大大增加。与需要化学缀合和再纯化的传统PEG化相反,制造方法大大简化并且产品是均一的。

[0432] 聚唾液酸化是另一项技术,它使用天然聚合物聚唾液酸(PSA)来延长活性寿命并提高治疗性肽和蛋白质的稳定性。PSA是唾液酸(糖)的聚合物。当用于蛋白质和治疗性肽药物递送时,聚唾液酸在缀合时提供保护性微环境。这增加了治疗性蛋白质在循环中的活性寿命并防止其被免疫系统识别。PSA聚合物天然存在于人体中。它被某些细菌所采用,这些细菌已经进化了数百万年,用它来包被它们的细胞壁。然后,这些天然的聚唾液酸化细菌凭借分子模拟能够阻止身体的防御系统。PSA,大自然的终极隐形技术,可以很容易地从这些细菌中大量生产出来并具有预定的物理特性。即使与蛋白质偶联,细菌PSA也是完全无免疫原性的,因为它在化学上与人体中的PSA相同。

[0433] 另一种技术包括使用与抗体连接的羟乙基淀粉(“HES”)衍生物。HES是一种来自蜡质玉米淀粉的改性天然聚合物,可以通过人体的酶代谢。通常施用HES溶液以替代缺乏的血液体积并改善血液的流变学特性。抗体的羟乙基淀粉化(Hesylation)能够通过增加分子的稳定性以及通过降低肾清除率来延长循环半衰期,从而导致生物活性增加。通过改变不同的参数,例如HES的分子量,可以定制多种HES抗体缀合物。

[0434] 还可以产生具有增加的体内半衰期的抗体,其将一个或多个氨基酸修饰(即,取代,插入或缺失)引入IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选Fc或铰链Fc结构域片段)。参见,例如,国际公开号W0 98/23289;国际公开号W0 97/34631;和美国专利号6,277,375。

[0435] 此外,抗体可以与白蛋白(例如人血清白蛋白;HSA)缀合,以使抗体或抗体片段在体内更稳定或在体内具有更长的半衰期。这些技术在本领域中是公知的,参见例如国际公开号W0 93/15199,W0 93/15200和W0 01/77137;和欧洲专利号EP 413,622。另外,在如上所述的双特异性抗体的情况下,可以设计抗体的特异性,使得抗体的一个结合结构域结合GDF15,而抗体的第二结合结构域结合血清白蛋白,优选HSA。

[0436] 增加半衰期的策略在纳米抗体,基于纤连蛋白的结合剂和其他需要增加体内半衰期的抗体或蛋白质中特别有用。

[0437] 抗体缀合物

[0438] 本文提供了特异性结合GDF15蛋白的抗体或其片段,所述抗体或其片段重组融合或化学缀合(包括共价和非共价缀合)至异源蛋白质或多肽(或其片段,优选至少10,至少20,至少30,至少40,至少50,至少60,至少70,至少80,至少90或至少100个氨基酸的多肽)以产生融合蛋白。特别地,本文提供了融合蛋白,其包含本文所述抗体的抗原结合片段(例如,Fab片段,Fd片段,Fv片段,F(ab)2片段,VH结构域,VH CDR,VL结构域或VL CDR)和异源蛋白质,多肽或肽。将蛋白质,多肽或肽与抗体或抗体片段融合或缀合的方法是本领域已知的。参见,例如,美国专利号5,336,603,5,622,929,5,359,046,5,349,053,5,447,851和5,112,946;欧洲专利号EP 307,434和EP 367,166;国际公开号W0 96/04388和W0 91/06570;Ashkenazi et al.,1991,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:10535-10539;Zheng et al.,1995,J.Immunol.154:5590-5600;和Vil et al.,1992,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:11337-11341。

[0439] 可以通过基因改组,基序改组,外显子改组和/或密码子改组(统称为“DNA改组”)技术产生另外的融合蛋白。DNA改组可用于改变本文所述抗体或其片段的活性(例如,具有更高亲和力和更低解离速率的抗体或其片段)。通常参见美国专利号5,605,793,5,811,238,5,830,721,5,834,252,和5,837,458;Patten et al.,1997,Curr.Opinion Biotechnol.8:724-33;Harayama,1998,Trends Biotechnol.16(2):76-82;Hansson,et al.,1999,J.Mol.Biol.287:265-76;和Lorenzo and Blasco,1998,Biotechniques 24(2):308-313(这些专利和出版物中的每一个都通过整体引用并入本文)。可以通过在重组之前通过易错PCR,随机核苷酸插入或其他方法进行随机诱变来改变抗体或其片段,或编码的抗体或其片段。编码特异性结合GDF15蛋白的抗体或其片段的多核苷酸可以与一种或多种异源分子的一种或多种组分,基序,区段,部分,结构域,片段等重组。

[0440] 此外,可以将抗体或其片段与标记序列(例如肽)融合以促进纯化。在优选的实施方案中,标记氨基酸序列是六组氨酸肽,例如pQE载体(QIAGEN,Inc.,9259Eton Avenue,Chatsworth,CA,91311)中提供的标记等等,其中许多是商业上可获得的。如Gentz et al.,1989,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:821-824所述,六-组氨酸提供了融合蛋白的方便的纯化。用于纯化的其他肽标记包括但不限于血凝素(“HA”)标记,其对应于源自流感血凝素蛋白的表位(Wilson et al.,1984,Cell 37:767),以及“flag”标记。

[0441] 在其他实施方案中,本文描述的抗体或其片段与诊断或可检测的试剂缀合。此类抗体可用于监测或预后疾病或病症的发作,发展,进展和/或严重性,作为临床测试程序的一部分,例如确定特定疗法的功效。这种诊断和检测可以通过将抗体与可检测物质偶联来实现,所述可检测物质包括但不限于各种酶,例如但不限于辣根过氧化物酶,碱性磷酸酶, β -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;辅基,例如但不限于链霉抗生物素蛋白/生物素和抗生物素蛋白/生物素;荧光材料,例如但不限于,伞形酮,荧光素,异硫氰酸荧光素,罗丹明,二氯三嗪胺荧光素,丹磺酰氯或藻红蛋白;发光材料,例如但不限于鲁米诺;生物发光材料,例如但不限于荧光素酶,荧光素和水母发光蛋白;放射性物质,例如但不限于碘(^{131}I , ^{125}I , ^{123}I , 和 ^{121}I),碳(^{14}C),硫(^{35}S),氚(^3H),铟(^{115}In , ^{113}In , ^{112}In , 和 ^{111}In),铪(^{99}Tc),铪(^{201}Ti),镓(^{68}Ga , ^{67}Ga),钯(^{103}Pd),钼(^{99}Mo),氙(^{133}Xe),氟(^{18}F), ^{153}Sm , ^{177}Lu , ^{159}Gd , ^{149}Pm , ^{140}La , ^{175}Yb , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{47}Sc , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{142}Pr , ^{105}Rh , ^{97}Ru , ^{68}Ge , ^{57}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , ^{32}P , ^{153}Gd , ^{169}Yb , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{75}Se , ^{113}Sn , 和 ^{117}In ;和正电子发射金属,使用各种正电子发射断层扫描,和非放射性顺磁金属离子。

[0442] 本公开内容还包括与治疗部分缀合的抗体或其片段的用途。抗体或其片段可以与治疗部分(例如细胞毒素,例如细胞抑制剂或杀细胞剂,治疗剂或放射性金属离子,例如 α -发射体)缀合。细胞毒素或细胞毒性剂包括对细胞有害的任何物质。

[0443] 此外,抗体或其片段可以与修饰给定生物反应的治疗部分或药物部分缀合。治疗部分或药物部分不应解释为限于经典的化学治疗剂。例如,药物部分可以是具有所需生物活性的蛋白质,肽或多肽。这些蛋白质可包括,例如,毒素如相思豆毒蛋白,蓖麻毒蛋白A,假单胞菌外毒素,霍乱毒素或白喉毒素;一种蛋白质,如肿瘤坏死因子, α -干扰素, β -干扰素,神经生长因子,血小板衍生生长因子,组织纤溶酶原激活物,凋亡剂,抗血管生成剂;或者,生物反应调节剂,例如淋巴因子。

[0444] 此外,抗体可以与治疗部分例如放射性金属离子缀合,例如 α -发射体,例如 ^{213}Bi

或用于将放射性金属离子,包括但不限于 ^{131}In , ^{131}Lu , ^{131}Y , ^{131}Ho , ^{131}Sm 缀合到多肽的大环螯合剂。在某些实施方案中,大环螯合剂是1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(DOTA),其可以通过接头分子与抗体连接。此类接头分子是本领域公知的,并描述于Denardo et al.,1998,Clin Cancer Res.4(10):2483-90;Peterson et al.,1999,Bioconjug.Chem.10(4):553-7;和Zimmerman et al.,1999,Nucl.Med.Biol.26(8):943-50,各自通过引用整体并入。

[0445] 用于将治疗性部分与抗体缀合的技术是公知的,参见例如Arnon et al.,“Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy”,in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy,Reisfeld et al.(eds.),pp.243-56(Alan R.Liss,Inc.1985);Hellstrom et al.,“Antibodies For Drug Delivery”,in Controlled Drug Delivery(2nd Ed.),Robinson et al.(eds.),pp.623-53(Marcel Dekker,Inc.1987);Thorpe,“Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy:A Review”,in Monoclonal Antibodies 84:Biological And Clinical Applications,Pinchera et al.(eds.),pp.475-506(1985);“Analysis,Results,And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy”,in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy,Baldwin et al.(eds.),pp.303-16(Academic Press 1985),和Thorpe et al.,1982,Immunol.Rev.62:119-58。

[0446] 抗体也可以附着在固相支持体上,这对于免疫测定或靶抗原的纯化特别有用。这种固相支持体包括但不限于玻璃,纤维素,聚丙烯酰胺,尼龙,聚苯乙烯,聚氯乙烯或聚丙烯。

[0447] 产生抗体的方法

[0448] 编码抗体的核酸

[0449] 本文提供了基本上纯化的核酸分子,其编码包含上述GDF15结合抗体链的区段或结构域的多肽。本文所述的一些核酸包含编码SEQ ID NO:13,39,65,91,117,143或169中所示的重链可变区的核苷酸序列,和/或编码SEQ ID NO:26,52,78,104,130,156或182中所示的轻链可变区的核苷酸序列。在一个具体实施方案中,核酸分子是表1中鉴定的那些。本文所述的一些其他核酸分子包含与表1中鉴定的核苷酸序列基本相同(例如,至少65%,80%,95%或99%)的核苷酸序列。当从适当的表达载体表达时,由这些多核苷酸编码的多肽能够表现出GDF15抗原结合能力。

[0450] 本文还提供了编码至少一个CDR区,并且通常编码来自上述GDF15结合抗体的重链或轻链的所有三个CDR区的多核苷酸。一些其他多核苷酸编码上述GDF15结合抗体的重链和/或轻链的全部或基本上全部可变区序列。由于密码的简并性,多种核酸序列将编码每种免疫球蛋白氨基酸序列。

[0451] 本文描述的核酸分子可以编码抗体的可变区和恒定区。本文所述的一些核酸序列包含编码重链序列的核苷酸,所述重链序列与SEQ ID NO:14,40,66,92,118,144,170中所示的重链序列基本相同(例如,至少80%,90%或99%)。一些其他核酸序列包含编码轻链序列的核苷酸,所述轻链序列与SEQ ID NO:27,53,79,105,131,157,或183中所示的轻链序列基本相同(例如,至少80%,90%或99%)。

[0452] 多核苷酸序列可以通过从头固相DNA合成或通过PCR诱变编码GDF15结合抗体或其结合片段的现有序列(例如,如下文实施例中所述的序列)来产生。核酸的直接化学合成可以通过本领域已知的方法完成,例如Narang et al.,1979,Meth.Enzymol.68:90的磷酸三酯方法;Brown et al.,

[0453] Meth.Enzymol.68:109,1979的磷酸二酯方法;Beaucage et al.,Tetra.Lett.,22:1859,1981的二乙基亚磷酰胺方法;和美国专利号4,458,066的固相支持体方法。通过PCR向多核苷酸序列引入突变可以如例如PCR Technology:Principles and Applications for DNA Amplification,H.A.Erlich(Ed.),Freeman Press,NY,NY,1992;PCR Protocols:A Guide to Methods and Applications,Innis et al.(Ed.),Academic Press,San Diego,CA,1990;Mattila et al.,Nucleic Acids Res.19:967,1991;和Eckert et al.,PCR Methods and Applications 1:17,1991中所述进行。

[0454] 本文还提供了用于产生上述GDF15结合抗体的表达载体和宿主细胞。可以使用多种表达载体来表达编码GDF15结合抗体链或结合片段的多核苷酸。基于病毒的和非病毒的表达载体均可用于在哺乳动物宿主细胞中产生抗体。非病毒载体和系统包括质粒,附加型载体,通常具有用于表达蛋白质或RNA的表达盒,以及人工染色体(参见,例如,Harrington et al.,Nat Genet 15:345,1997)。例如,用于在哺乳动物(例如人)细胞中表达GDF15结合多核苷酸和多肽的非病毒载体包括pThioHis A,B&C,pcDNA3.1/His,pEBVHis A,B&C,(Invitrogen,San Diego,CA),MPSV载体和本领域已知的用于表达其他蛋白质的许多其他载体。有用的病毒载体包括基于逆转录病毒,腺病毒,腺伴随病毒,疱疹病毒,基于SV40的载体,乳头瘤病毒,HBP Epstein Barr病毒,痘苗病毒载体和Semliki Forest病毒(SFV)的载体。参见Brent et al.,同上;Smith,Annu.Rev.Microbiol.49:807,1995;和Rosenfeld et al.,Cell 68:143,1992。

[0455] 表达载体的选择取决于要在其中表达载体的预期宿主细胞。通常,表达载体含有启动子和其他调节序列(例如,增强子),其与编码GDF15结合抗体链或片段的多核苷酸有效连接。在一些实施方案中,除诱导条件下外,使用诱导型启动子来阻止插入序列的表达。诱导型启动子包括例如阿拉伯糖,lacZ,金属硫蛋白启动子或热激启动子。转化生物的培养物可以在非诱导条件下扩增,而不会使群体偏向编码序列,所述编码序列的表达产物被宿主细胞更好地耐受。除了启动子之外,还可能需要或期望其他调节元件以有效表达结合GDF15的抗体链或片段。这些元件通常包括ATG起始密码子和相邻的核糖体结合位点或其他序列。此外,通过包含适合于使用的细胞系统的增强子可以提高表达效率(参见,例如,Scharf et al.,Results Probl.Cell Differ.20:125,1994;和Bittner et al.,Meth.Enzymol.,153:516,1987)。例如,SV40增强子或CMV增强子可用于增加哺乳动物宿主细胞中的表达。

[0456] 表达载体还可提供分泌信号序列位置,以与插入的GDF15结合抗体序列编码的多肽形成融合蛋白。更常见的是,插入的GDF15结合抗体序列在包含在载体中之前与信号序列连接。用于接收编码GDF15结合抗体轻链和重链可变结构域的序列的载体有时也编码恒定区或其部分。此类载体允许可变区表达为与恒定区的融合蛋白,从而导致产生完整抗体或其片段。通常,这种恒定区域是人的。

[0457] 用于包含和表达GDF15结合抗体链的宿主细胞可以是原核的或真核的。大肠杆菌是一种原核宿主,可用于克隆和表达本文所述的多核苷酸。适合使用的其他微生物宿主包

括芽孢杆菌,例如枯草芽孢杆菌,和其他肠杆菌科,例如沙门氏菌属,沙雷氏菌属和各种假单胞菌属物种。在这些原核宿主中,还可以制备表达载体,其通常含有与宿主细胞相容的表达控制序列(例如,复制起点)。此外,将存在任何数量的各种熟知的启动子,例如乳糖启动子系统,色氨酸(trp)启动子系统, β -内酰胺酶启动子系统或来自 λ 噬菌体的启动子系统。启动子通常控制表达,任选地与操纵基因序列一起控制表达,并具有核糖体结合位点序列等,用于启动和完成转录和翻译。其他微生物,例如酵母,也可用于表达本文所述的GDF15结合多肽。也可以使用与杆状病毒载体组合的昆虫细胞。

[0458] 在一些优选的实施方案中,哺乳动物宿主细胞用于表达和产生本文所述的GDF15结合多肽。这些包括任何正常的必死的或正常或异常的永生动物或人类细胞。例如,已经开发了许多能够分泌完整免疫球蛋白的合适宿主细胞系,包括CHO细胞系,各种Cos细胞系,HeLa细胞,骨髓瘤细胞系和转化的B细胞。哺乳动物组织细胞培养物用于表达多肽的用途一般在例如Winnacker, FROM GENES TO CLONES, VCH Publishers, N.Y., N.Y., 1987中讨论。哺乳动物宿主细胞的表达载体可包括表达控制序列,例如复制起点,启动子和增强子(参见,例如,Queen, et al., Immunol. Rev. 89:49-68, 1986),以及必需的加工信息位点,例如核糖体结合位点, RNA剪接位点,多腺苷酸化位点和转录终止子序列。

[0459] 这些表达载体通常含有来自哺乳动物基因或哺乳动物病毒的启动子。合适的启动子可以是组成型的,细胞类型特异性的,阶段特异性的和/或可调控的或可调节的。有用的启动子包括但不限于金属硫蛋白启动子,组成型腺病毒主要晚期启动子,地塞米松诱导型MMTV启动子,SV40启动子,MRP polIII启动子,组成型MPSV启动子,四环素诱导型CMV启动子(如人类立即早期CMV启动子),组成型CMV启动子和本领域已知的启动子-增强子组合。

[0460] 用于引入含有目标多核苷酸序列的表达载体的方法根据细胞宿主的类型而变化。例如,氯化钙转染通常用于原核细胞,而磷酸钙处理或电穿孔可用于其他细胞宿主。(通常参见Sambrook等,同上)。其他方法包括例如电穿孔,磷酸钙处理,脂质体介导的转化,注射和显微注射,弹道方法,病毒体,免疫脂质体,聚阳离子:核酸缀合物,裸DNA,人工病毒体,与疱疹病毒结构蛋白VP22的融合(Elliot and O'Hare, Cell 88:223, 1997), DNA的试剂增强的摄取和离体转导。对于重组蛋白的长期高产量生产,通常需要稳定表达。例如,可以使用本文所述的表达载体制备稳定表达GDF15结合抗体链或结合片段的细胞系,所述表达载体含有病毒复制起点或内源表达元件和选择标记基因。在引入载体后,可以使细胞在富集培养基中生长1-2天,然后将它们转换为选择性培养基。选择标记的目的是赋予对选择的抗性,并且其存在允许细胞生长,所述细胞在选择性培养基中成功表达引入的序列。使用适合细胞类型的组织培养技术可以增殖抗性的、稳定转染的细胞。

[0461] 构架或Fc工程化

[0462] 本文描述的工程化抗体包括其中对VH和/或VL内的构架残基进行了修饰例如,以改善抗体的性质的抗体。通常进行这样的构架修饰以降低抗体的免疫原性。例如,一种方法是将一个或多个构架残基“回复突变”到相应的种系序列。更具体地,已经历体细胞突变的抗体可以含有与衍生抗体的种系序列不同的构架残基。可以通过将抗体构架序列与衍生抗体的种系序列进行比较来鉴定这些残基。为了使构架区序列恢复到其种系构型,可以通过例如定点诱变将体细胞突变“回复突变”至种系序列。此类“回复突变”抗体也旨在被本公开涵盖。

[0463] 另一种类型的构架修饰涉及突变构架区内或甚至在一个或多个CDR区内的一个或多个残基,以去除T细胞表位,从而降低抗体的潜在免疫原性。该方法也称为“去免疫化”,并且在Carr等人的美国专利申请公开号20030153043中进一步详细描述。

[0464] 除了在构架或CDR区内进行的修饰之外或备选地,本文描述的抗体可以被工程化以包括Fc区内的修饰,通常改变抗体的一种或多种功能特性,例如血清半衰期,补体结合,Fc受体结合和/或抗原依赖性细胞毒性。此外,本文描述的抗体可以是化学修饰的(例如,一个或多个化学部分可以与抗体连接)或者可以被修饰以改变其糖基化,再次改变抗体的一种或多种功能特性。以下更详细地描述这些实施方案中的每一个。Fc区中残基的编号是Kabat的EU索引的编号。

[0465] 在一个实施方案中,修饰CH1的铰链区,使得铰链区中半胱氨酸残基的数目改变,例如增加或减少。在Bodmer等人的美国专利号5,677,425中进一步描述了这种方法。改变CH1铰链区中半胱氨酸残基的数目,以便例如促进轻链和重链的装配或增加或降低抗体的稳定性。

[0466] 在另一个实施方案中,突变抗体的Fc铰链区以降低抗体的生物半衰期。更具体地,将一个或多个氨基酸突变引入Fc-铰链片段的CH2-CH3结构域界面区域,使得抗体相对于天然Fc-铰链结构域SpA结合具有受损的葡萄球菌蛋白A (SpA) 结合。在Ward等人的美国专利号6,165,745中进一步详细描述了该方法。

[0467] 在另一个实施方案中,修饰抗体以增加其生物半衰期。各种方法都是可能的。例如,可以引入一种或多种下列突变:T252L,T254S,T256F,如Ward的美国专利号6,277,375中所述。或者,为了增加生物半衰期,可以在CH1或CL区域内改变抗体,以包含取自IgG的Fc区的CH2结构域的两个环的补救受体结合表位,如Presta等人的美国专利5,869,046和6,121,022所述。

[0468] 在其他实施方案中,通过用不同的氨基酸残基取代至少一个氨基酸残基来改变Fc区,以改变抗体的效应子功能。例如,可以用不同的氨基酸残基替换一个或多个氨基酸,使得抗体对效应配体具有改变的亲和力,但保留亲本抗体的抗原结合能力。改变亲和力的效应配体可以是,例如,Fc受体或补体的C1组分。在Winter等人的美国专利号5,624,821和5,648,260中进一步详细描述了这种方法。

[0469] 在另一个实施方案中,选自氨基酸残基的一个或多个氨基酸可以用不同的氨基酸残基替换,使得抗体具有改变的C1q结合和/或减少或消除补体依赖性细胞毒性(CDC)。在Idusogie等人的美国专利号6,194,551中进一步详细描述了该方法。

[0470] 在另一个实施方案中,改变一个或多个氨基酸残基,从而改变抗体固定补体的能力。该方法在Bodmer等人的PCT公开W0 94/29351中进一步描述。

[0471] 在另一个实施方案中,修饰Fc区以增加抗体介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的能力和/或通过修饰一个或多个氨基酸来增加抗体对Fc γ 受体的亲和力。Presta在PCT公开W0 00/42072中进一步描述了该方法。此外,已经绘制了人IgG1上对Fc γ R1,Fc γ RII,Fc γ RIII和FcRn的结合位点,并且已经描述了具有改善的结合的变体(参见Shields,R.L.et al., 2001 J.Biol.Chen.276:6591-6604)。

[0472] 在另一个实施方案中,修饰抗体的糖基化。例如,可以制备无糖基化的抗体(即,抗体缺乏糖基化)。可以改变糖基化以例如增加抗体对“抗原”的亲和力。这种碳水化合物修饰

可以通过例如改变抗体序列内的一个或多个糖基化位点来实现。例如,可以进行一个或多个氨基酸取代,其导致消除一个或多个可变区构架糖基化位点,从而消除该位点的糖基化。这种去糖基化可以增加抗体对抗原的亲和力。在Co等人的美国专利号5,714,350和6,350,861中进一步详细描述了这种方法。

[0473] 另外或备选地,可以制备具有改变的糖基化类型的抗体,例如具有减少量的岩藻糖基残基的低岩藻糖基化抗体或具有增加的二等分GlcNac结构的抗体。已经证明这种改变的糖基化模式增加了抗体的ADCC能力。这种碳水化合物修饰可以通过例如在具有改变的糖基化机制的宿主细胞中表达抗体来实现。具有改变的糖基化机制的细胞已在本领域中描述,并且可用作宿主细胞,在其中表达本文所述的重组抗体,从而产生具有改变的糖基化的抗体。例如,Hang等人的EP 1,176,195描述了具有功能性破坏的FUT8基因的细胞系,所述基因编码岩藻糖基转移酶,使得在这种细胞系中表达的抗体表现出低岩藻糖基化。Presta的PCT公开W0 03/035835描述了变体CHO细胞系Lec13细胞,其具有岩藻糖与Asn(297)连接的碳水化合物的降低的附着能力,也导致在该宿主细胞中表达的抗体的低岩藻糖基化(也见Shields,R.L.et al.,2002J.Biol.Chem.277:26733-26740)。Umana等人的PCT公开W0 99/54342描述了经工程改造以表达糖蛋白修饰糖基转移酶(例如, $\beta(1,4)$ -N乙酰葡萄糖胺基转移酶III(GnTIII))的细胞系,使得在工程化细胞系中表达的抗体表现出增加的二等分GlcNac结构,其导致抗体增加的ADCC活性(也参见Umana et al.,1999Nat.Biotech.17:176-180)。

[0474] 工程化改变的抗体的方法

[0475] 如上所述,本文所示的具有VH和VL序列或全长重链和轻链序列的GDF15结合抗体可用于通过修饰全长重链和/或轻链序列,VH和/或VL序列,或与其连接的恒定区来产生新的GDF15结合抗体。因此,在另一方面,本文所述的结合GDF15的抗体的结构特征用于产生结构上相关的GDF15结合抗体,其保留本文所述抗体的至少一种功能特性,例如结合人GDF15并且还抑制GDF15的一种或多种功能特性(例如,抑制GDF15与GDF15受体的结合,从循环中消耗游离的GDF15)。

[0476] 例如,如上所述,本文所述抗体的一个或多个CDR区或其突变可以与已知的构架区和/或其他CDR重组组合以产生本文所述的另外的重组工程化的GDF15结合抗体。其他类型的修饰包括上一节中描述的修饰。用于工程化方法的起始材料是本文提供的一种或多种VH和/或VL序列,或其一个或多个CDR区。为了产生工程化抗体,不必实际制备(即,表达为蛋白质)具有本文提供的一种或多种VH和/或VL序列,或其一个或多个CDR区的抗体。相反,序列中包含的信息用作起始材料以产生从原始序列衍生的“第二代”序列,然后制备“第二代”序列并且表达为蛋白质。

[0477] 因此,在另一个实施方案中,本文提供了制备GDF15结合抗体的方法,所述抗体由重链可变区抗体序列和轻链可变区抗体序列组成,所述重链可变区抗体序列具有选自SEQ ID NOs:3,29,55,81,107,133,或159的CDR1序列,选自SEQ ID NOs:4,30,56,82,108,134,或160的CDR2序列,和/或选自SEQ ID NOs:5,31,57,83,109,135,或161的CDR3序列;所述轻链可变区抗体序列具有选自SEQ ID NOs:16,42,68,94,120,146,或172的CDR1序列,选自SEQ ID NO:17,43,69,95,121,147或173的CDR2序列,和/或选自SEQ ID NOs:18,44,70,96,122,148,或174的CDR3序列;改变重链可变区抗体序列和/或轻链可变区抗体序列中的至少一个氨基酸残基以产生至少一个改变的抗体序列;并将改变的抗体序列表达为蛋白质。

[0478] 因此,在另一个实施方案中,本文提供了制备结合GDF15的抗体的方法,所述抗体由重链可变区抗体序列和轻链可变区抗体序列组成,所述重链可变区抗体序列具有选自SEQ ID NOs:6,32,58,84,110,136,或162的CDR1序列,选自SEQ ID NOs:7,33,59,85,111,137,或163的CDR2序列,和/或选自SEQ ID NOs:8,34,60,86,112,138,或164的CDR3序列;所述轻链可变区抗体序列具有选自SEQ ID NOs:19,45,71,97,123,149,或175的CDR1序列,选自SEQ ID NOs:20,46,72,98,124,150,或176的CDR2序列,和/或选自SEQ ID NOs:21,47,73,99,125,151,或177的CDR3序列;改变重链可变区抗体序列和/或轻链可变区抗体序列中的至少一个氨基酸残基以产生至少一个改变的抗体序列;并将改变的抗体序列表达为蛋白质。

[0479] 因此,在另一个实施方案中,本文提供了制备结合GDF15的抗体的方法,所述抗体由重链可变区抗体序列和轻链可变区抗体序列组成,所述重链可变区抗体序列具有选自SEQ ID NOs:9,35,61,87,113,139,或165的CDR1序列,选自SEQ ID NOs:10,36,62,88,114,140,或166的CDR2序列,和/或选自SEQ ID NOs:11,37,63,89,115,141,或167的CDR3序列;所述轻链可变区抗体序列具有选自SEQ ID NOs:22,48,74,100,126,152,或178的CDR1序列,选自SEQ ID NOs:23,49,75,101,127,153,或179的CDR2序列,和/或选自SEQ ID NOs:24,50,76,102,128,154,或180的CDR3序列;改变重链可变区抗体序列和/或轻链可变区抗体序列中的至少一个氨基酸残基以产生至少一个改变的抗体序列;并将改变的抗体序列表达为蛋白质。

[0480] 因此,在另一个实施方案中,本文提供了制备GDF15结合抗体的方法,所述抗体被优化用于在哺乳动物细胞中表达,所述抗体由具有选自SEQ ID NOs:14,40,66,92,118,144,或170的序列的全长重链抗体序列和具有选自SEQ ID NOs:27,53,79,105,131,157,或183的序列的全长轻链抗体序列组成;改变全长重链抗体序列和/或全长轻链抗体序列中的至少一个氨基酸残基以产生至少一个改变的抗体序列;并将改变的抗体序列表达为蛋白质。在一个实施方案中,重链或轻链的改变在重链或轻链的构架区中。

[0481] 还可以通过筛选具有如US2005/025552中所述的固定的CDR3序列或最小必需结合决定簇以及CDR1和CDR2序列上的多样性的抗体文库来制备改变的抗体序列。筛选可以根据适合于筛选来自抗体文库的抗体的任何筛选技术进行,例如噬菌体展示技术。

[0482] 标准分子生物学技术可用于制备和表达改变的抗体序列。由改变的抗体序列编码的抗体是保留本文所述的GDF15结合抗体的一种,一些或全部功能性质的抗体,其功能性质包括但不限于特异性结合人,食蟹猴,大鼠和/或小鼠GDF15;所述抗体在F36E和/或Ba/F3-GDF15R细胞增殖试验中抑制GDF15依赖性细胞增殖。

[0483] 在本文所述的工程化抗体的方法的某些实施方案中,可以沿着GDF15结合抗体编码序列的全部或部分随机或选择性地引入突变,并且可以筛选所得的经修饰的GDF15结合抗体的结合活性和/或如本文所述的其他功能性质。本领域已经描述了突变方法。例如,Short的PCT公开W0 02/092780描述了使用饱和诱变,合成连接装配或其组合产生和筛选抗体突变的方法。或者,Lazar等人的PCT公开W0 03/074679描述了使用计算筛选方法来优化抗体的生理化学性质的方法。

[0484] 在某些实施方案中,已经工程化抗体以去除脱酰胺的位点。已知脱酰胺作用导致肽或蛋白质的结构和功能变化。脱酰胺可导致生物活性降低,以及蛋白质药物的药代动力

学和抗原性的改变(Anal Chem.2005Mar 1;77(5):1432-9)。

[0485] 在某些实施方案中,已经工程化抗体以增加pI并改善其药物样特性。蛋白质的pI是分子整体生物物理特性的关键决定因素。已知具有低pI的抗体溶解性较差,稳定性较差且易于聚集。此外,具有低pI的抗体的纯化是具有挑战性的,并且尤其在临床使用的放大期间可能是有问题的。增加本文所述的抗GDF15抗体或Fab的pI改善了它们的溶解度,使得抗体能够以更高的浓度(>100mg/ml)配制。高浓度(例如,>100mg/ml)的抗体的配制提供了能够通过玻璃体内注射向患者的眼睛施用更高剂量的抗体的优点,这反过来可以减少给药频率,这是治疗慢性病包括消耗性病症的显著优势。更高的pI还可以增加抗体IgG形式的FcRn介导的再循环,从而使药物在体内持续更长的持续时间,需要更少的注射。最后,由于更高的pI导致更长的保质期和体内生物活性,抗体的总体稳定性显著提高。优选地,pI大于或等于8.2。

[0486] 可以使用本领域可获得的和/或本文描述的标准测定法,例如实施列中列出的那些(例如,ELISA)评估改变的抗体的功能特性。

[0487] 预防和治疗用途

[0488] 通过向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗体或抗原结合片段,如本文所述结合GDF15的抗体(例如,ABGDF15-A,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-D,ABGDF15-E,ABGDF15-F,或ABGDF15-G)可以以治疗有用的浓度用来治疗与GDF15相关的疾病或病症。

[0489] 本文公开的抗体尤其可用于预防治疗,预防和改善GDF15相关状况或病症。这些状况包括但不限于涉及消耗性疾病的那些,例如厌食恶病质,老年人厌食症,神经性厌食症,与癌症相关的恶病质,与AIDS相关的恶病质,与心力衰竭相关的恶病质,与囊性纤维化相关的恶病质,与类风湿性关节炎相关的恶病质,与肾病相关的恶病质,与COPD相关的恶病质,与ALS相关的恶病质,与肾衰竭相关的恶病质或与髌部骨折相关的恶病质等。

[0490] 因此,本文提供了治疗GDF15相关病症,例如消耗性病症诸如恶病质或少肌症的方法,通过向有需要的受试者施用有效量的本文所述的抗体来实现所述方法。本文提供了通过向有需要的受试者施用有效量的本文所述抗体来治疗GDF15相关病症的方法。与GDF15水平升高相关或由其引起的其他GDF15相关疾病或病症包括少肌症,即与恶病质相关的临床病症,其特征在于骨骼肌质量和肌肉力量的损失;和饥饿。由于饮食和/或营养摄取不足,饥饿通常导致体脂和非脂肪量的损失(Thomas(2007)Clinical Nutrition 26:389-399)。饥饿的影响通常通过改善饮食和营养,例如蛋白质摄取来逆转。与升高的GDF15水平相关或来自升高的GDF15水平的仍然其他GDF15相关的疾病或病症包括但不限于,与异常食欲,脂肪质量,能量平衡,和/或不自主体重减轻和危重病人降低的死亡率和发病率相关的病症。

[0491] 在一些实施方案中,本文公开的抗体可用于治疗任何数量的状况或疾病,其中GDF15蛋白水平异常高和/或其中寻求降低GDF15蛋白水平。在实施方案中,受试者具有升高的GDF15循环水平,例如升高的血清GDF15水平。例如,可以治疗受过度表达和/或分泌GDF15的肿瘤折磨的受试者,和/或受与血清GDF15水平升高相关的癌症折磨的受试者。显示血清GDF15水平升高的示例性病症包括但不限于β-地中海贫血,肺栓塞,癌症,例如前列腺癌,结肠直肠癌,胰腺癌,严重慢性肾病,神经性厌食症,慢性心力衰竭,肥胖症,烧伤患者,和怀孕。在具体方面,本文提供了在有此需要的受试者中增加食欲,食物摄取,体重和/或肌肉质量的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的本文所述的抗GDF15抗体(例如,如表1给出

的ABGDF15-A,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-D,ABGDF15-E,ABGDF15-F,或ABGDF15-G)。在具体方面,受试者已被诊断患有消耗性病症(例如恶病质)。在特定的实施方案中,受试者已被诊断患有癌症,慢性心力衰竭,慢性肾病,COPD,AIDS,多发性硬化,类风湿性关节炎,败血症或结核病。在具体的实施方案中,所述状况/病症与GDF15水平升高相关,例如,与相对于健康受试者群体中的GDF15水平升高相关。

[0492] 在特定方面,本文提供了在有此需要的受试者中抑制或减少体重,肌肉量,食欲或食物摄入损失的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的本文所述抗GDF15抗体(例如,表1中列出的ABGDF15-A,ABGDF15-B,ABGDF15-C,ABGDF15-D,ABGDF15-E,ABGDF15-F,或ABGDF15-G)。在具体方面,受试者已被诊断患有消耗性病症(例如恶病质)。在特定的实施方案中,受试者已被诊断患有癌症,慢性心力衰竭,慢性肾病,COPD,AIDS,多发性硬化,类风湿性关节炎,败血症或结核病。在具体的实施方案中,所述状况/病症与GDF15水平升高相关,例如,相对于健康受试者群体中的GDF15水平升高。本文公开的抗体还可以与其他药剂组合用于预防,治疗或改善GDF15相关病症。例如,TNF α 和IL-1是已知参与促炎反应介导的细胞因子,并且还涉及肌肉耗竭,厌食和恶病质;因此,TNF α 和/或IL-1的抑制剂可以与本文所述的GDF15抗体和抗原结合片段组合使用,用于治疗患有GDF15相关病症(例如,消耗状况)的患者。

[0493] 以下更详细地描述示例性病症。

[0494] 本文公开的抗体可用于治疗多种病症,例如与无意识的体重或身体质量减轻相关的病症,例如消耗性病症。在一些实施方案中,该病症是代谢病症。在实施方案中,所述病症选自恶病质,少肌症或饥饿。在一些实施方案中,本文公开的抗体用于抑制肌肉质量的损失,例如,与潜在疾病相关的肌肉质量的损失。在实施方案中,与体重或身体质量减轻相关的病症包括但不限于癌症,心血管疾病(例如,慢性心力衰竭),肾病(例如,慢性肾病),COPD,AIDS,多发性硬化症,类风湿性关节炎,败血症或肺结核。在一个实施方案中,该病症是癌症厌食-恶病质综合症(CACS)。

[0495] 当施用于受试者时,本文公开的抗体可以抑制肌肉质量的损失,例如,与潜在疾病相关的肌肉质量的损失。潜在的疾病可选自癌症,慢性心力衰竭,慢性肾病,COPD,AIDS,多发性硬化,类风湿性关节炎,败血症和结核病。在一些实施方案中,肌肉质量的损失可能伴随着脂肪质量的损失。所公开的抗体还可用于抑制哺乳动物的无意识体重减轻。在一些实施方案中,所公开的抗体也可用于抑制器官质量的损失。此外,公开了一种治疗受试者的恶病质和/或少肌症的方法,包括向有此需要的受试者施用有效量的一种或多种所公开的抗体。

[0496] 在一些实施方案中,所公开的抗体抑制肌肉和/或脂肪质量的损失至少20%,30%,40%,50%,60%,70%,80%,90%,95%,98%,99%,或100%。在一些实施方案中,所公开的抗体抑制器官质量损失至少20%,30%,40%,50%,60%,70%,80%,90%,95%,98%,99%,或100%。在一些实施方案中,在心脏,肝脏,肾脏和/或脾脏中观察到器官质量的损失。在一些实施方案中,器官质量的损失伴随着肌肉质量的损失,脂肪质量的减少和/或无意识的体重减轻。

[0497] 无意识的体重减轻可分为三种主要病因,包括恶病质,少肌症和饥饿,如下所述。

[0498] 恶病质是一种消耗/代谢病症,涉及无意识的体重减轻,可能与多种疾病有关,包

括癌症,艾滋病,慢性心力衰竭(也称为充血性心力衰竭),慢性阻塞性肺病(COPD),慢性肾病,肺结核,败血症,全身性炎症和/或急性炎症反应(Thomas (2007) Clin.Nutr. 26:389-399)。恶病质的表现各不相同,但通常涉及骨骼肌质量的无意识损失和某种形式的潜在疾病(Evans et al. (2008) Clin.Nutr.27:793-799)。脂肪量和肌肉质量的损失是恶病质的突出临床特征。在一些情况下,恶病质进展到已经被指定为恶病质前期(precachexia),恶病质和难治性恶病质的阶段(Fearon et al. (2011) Lancet Onc.12:489-495)。两种不同但有时重叠的过程似乎与恶病质的发展和进展有关:(a)直接作用于肌肉,减少其质量和功能的代谢过程;(b)减少食物摄入,其导致脂肪和肌肉的损失(Tsai et al. (2012) J.Cachexia Sarcopenia Muscle 3:239-243)。恶病质导致的体重减轻与各种疾病的不良预后有关(Evans等,同上),并且恶病质及其后果被认为是约20%的癌症死亡的直接死亡原因(Tisdale (2002) Nat.Rev.Cancer 2:862-871)。

[0499] 少肌症是与恶病质相关的临床病症,其特征在于骨骼肌质量和肌肉力量的损失。肌肉质量的减少可导致功能障碍,强度下降,跌倒的可能性增加,以及丧失自主性。肺活量减少也可能导致呼吸功能受损。在代谢应激期间,肌肉蛋白质被快速动员以便为免疫系统,肝脏和肠道提供氨基酸,特别是谷氨酰胺。少肌症通常是老年人的疾病;然而,它的发展也可能与肌肉废用和营养不良有关,并可能与恶病质相吻合。少肌症可以基于功能观察来诊断,例如低肌肉重量和低步态速度。参见,例如,Muscaritoli et al. (2010) Clin.Nutrition 29:154-159。因此,在某些实施方案中,本文公开的一种或多种抗GDF抗体可用于治疗患有或已经被诊断患有少肌症,肌肉萎缩病症和/或显著肌肉重量减轻的受试者,无论受试者具有或已被诊断患有恶病质或食欲下降。这种方法包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的一种或多种本文公开的抗体。

[0500] 癌症

[0501] 在实施方案中,本文公开的抗体可用于治疗患有与进行性或无意识体重减轻相关的癌症的受试者。晚期癌症患者可以经历与厌食,营养不良,贫血,炎症和免疫功能抑制相关的进行性体重减轻。总的来说,这一系列复杂和相互关联的症状被描述为癌症厌食症-恶病质综合症(CACS)。CACS与肌肉和脂肪质量减少,生活质量下降,对抗癌疗法的反应降低,治疗毒性增加和存活率降低有关。此外,已经显示用于治疗各种癌症的某些化学治疗剂治疗诱导或促成恶病质。例如,用基于铂的疗法(例如卡铂和奥沙利铂)治疗的受试者可能经历剂量限制,有害且有时致命的恶病质。

[0502] 其治疗和效果可以从与一种或多种抗GDF15抗体组合受益的抗癌剂的实例是基于铂的治疗剂,例如顺铂,卡铂和奥沙利铂。其治疗和效果可以从与一种或多种抗GDF15抗体组合受益的其他抗癌剂包括:卡培他滨,多柔比星和吉西他滨。

[0503] 本文公开的方法还可用于增强治疗性治疗方案和/或增加用其他抗癌剂治疗的受试者的总体存活率,所述抗癌剂包括烷化剂,抗代谢物,抗肿瘤抗生素,拓扑异构酶抑制剂,有丝分裂抑制剂,皮质类固醇,靶向疗法,激素疗法,免疫疗法和癌症疫苗。

[0504] 因此,公开了抗GDF15抗体与一种或多种抗癌剂的组合的用途。示例性抗癌剂包括但不限于:阿那曲唑(Arimidex®),比卡鲁胺(Casodex®),硫酸博来霉素(Blenoxane®),白消安(Myleran®),白消安注射液(Busulfex®),卡培他滨(Xeloda®),N4-戊氧基羰

基-5-脱氧-5-氟胞苷,卡铂(**Paraplatin®**),卡莫司汀(**BiCNU®**),苯丁酸氮芥(**Leukeran®**),顺铂(**Platinol®**),克拉屈滨(**Leustatin®**),环磷酰胺(**Cytosan®**或**Neosar®**),阿糖胞苷,胞嘧啶阿糖核苷(**Cytosar-U®**),阿糖胞苷脂质体注射液(**DepoCyt®**),达卡巴嗪(**DTIC-Dome®**),放线菌素(放线菌素D,Cosmegen),盐酸柔红霉素(**Cerubidine®**),柠檬酸柔红霉素脂质体注射液(**DaunoXome®**),地塞米松,多西紫杉醇(**Taxotere®**),盐酸多柔比星(**Adriamycin®, Rubex®**),依托泊苷(**Vepesid®**),磷酸氟达拉滨(**Fludara®**),5-氟尿嘧啶(**Adrucil®, Efudex®**),氟他胺(**Eulexin®**),tezacitibine,吉西他滨(二氟脱氧胞苷),羟基脲(**Hydrea®**),伊达比星(**Idamycin®**),异环磷酰胺(**IFEX®**),伊立替康(**Camptosar®**),L-天冬酰胺酶(**ELSPAR®**),甲酰四氢叶酸钙,美法仑(**Alkeran®**),6-巯基嘌呤(**Purinethol®**),甲氨蝶呤(**Folex®**),米托蒽醌(**Novantrone®**),麦罗塔,紫杉醇(**Taxol®**),phoenix(Yttrium90/MX-DTPA),喷司他丁,聚苯丙生20与卡莫司汀植入物(**Gliadel®**),柠檬酸他莫昔芬(**Nolvadex®**),替尼泊苷(**Vumon®**),6-巯鸟嘌呤,噻替哌,替拉扎明(**Tirazone®**),托泊替康盐酸盐注射液(**Hycamptin®**),长春碱(**Velban®**),长春新碱(**Oncovin®**),长春瑞滨(**Navelbine®**),依鲁替尼,idelalisib和brentuximab vedotin。

[0505] 示例性的烷基化剂包括但不限于氮芥,乙烯亚胺衍生物,烷基磺酸盐,亚硝基脲和三氮烯):尿嘧啶氮芥(Aminouracil**Mustard®**,

Chlorethaminacil®, Demethyldopan®, Desmethyldopan®,

Haemanthamine®, Nordopan®, Uracil nitrogen mustard®, Uracillost®,

Uracilmostaza®, Uramustin®, Uramustine®),甲川氯(**Mustargen®**),环磷

酰胺(**Cytosan®, Neosar®, Clafen®, Endoxan®, Procytox®, Revimmune™**),

异环磷酰胺(**Mitoxana®**),美法仑(**Alkeran®**),苯丁酸氮芥(**Leukeran®**),哌泊溴

烷(**Amedel®, Vercyte®**),三亚乙基蜜胺(**Hemel®, Hexalen®, Hexastat®**),

三亚乙基硫代磷酰胺,替莫唑胺(**Temodar®**),噻替哌(**Thioplex®**),白消安

(**Busilvex®, Myleran®**),卡莫司汀(**BiCNU®**),罗氮芥(**CeeNU®**),链脲霉素

(**Zanosar®**)和达卡巴嗪(**DTIC-Dome®**)。另外的示例性烷化剂包括但不限于奥沙利

铂(**Eloxatin®**);替莫唑胺(**Temodar®**和**Temodal®**);放线菌素D(也称为放线菌素-

D, **Cosmegen®**); 美法仑 (也称为L-PAM, L-溶血素和苯丙氨酸氮芥, **Alkeran®**); 六甲蜜胺 (也称为六甲基三聚氰胺 (HMM), **Hexalen®**); 卡莫司汀(**BiCNU®**); 苯达莫司汀(**Treanda®**); 白消安 (**Busulfex®**和**Myleran®**); 卡铂(**Paraplatin®**); 罗氮芥 (也称为CCNU, **CeeNU®**); 顺铂 (也称为CDDP, **Platinol®**和**Platinol®-AQ**); 苯丁酸氮芥 (**Leukeran®**); 环磷酰胺 (**Cytosan®**和**Neosar®**); 达卡巴嗪 (也称为DTIC, DIC和咪唑羧酰胺, **DTIC-Dome®**); 六甲蜜胺 (也称为六甲基三聚氰胺 (HMM), **Hexalen®**); 异环磷酰胺(**Ifex®**); Prednumustine; 丙卡巴肼 (**Matulane®**); 氮芥 (也称为氮芥, 氮芥和盐酸氮芥, **Mustargen®**); 链脲霉素 (**Zanosar®**); 塞替派 (也称为硫代磷酰胺, TESP和TSPA, **Thioplex®**); 环磷酰胺(**Endoxan®, Cytosan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune®**); 和盐酸苯达莫司汀(**Treanda®**)。

[0506] 示例性的蒽环类包括例如多柔比星 (**Adriamycin®** 和 **Rubex®**); 博来霉素 (**lenoxane®**); 柔红霉素 (盐酸多柔比星, 道诺霉素和柔红霉素盐酸盐, **Cerubidine®**); 柔红霉素脂质体 (柠檬酸柔红霉素脂质体, **DaunoXome®**); 米托蒽醌 (DHAD, **Novantrone®**); 表柔比星 (Ellence™); 伊达比星 (**Idamycin®, IdamycinPFS®**); 丝裂霉素 C (**Mutamycin®**); 格尔德霉素; 除莠霉素; ravidomycin; 和 desacetylavidomycin。

[0507] 示例性长春花生物碱包括但不限于长春瑞滨酒石酸盐(**Navelbine®**), 长春新碱 (**Oncovin®**)和长春地辛 (**Eldisine®**); 长春碱 (也称为硫酸长春碱, 长春碱和VLB, **Alkaban-AQ®**和 **Velban®**); 和长春烯碱(**Navelbine®**)。

[0508] 示例性蛋白酶体抑制剂包括但不限于硼替佐米(**Velcade®**); 卡非佐米 (PX-171-007, (S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基环氧乙烷-2-基)-1-氧代戊-2-基)氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-吗啉代乙酰氨基)-4-苯基丁酰氨基)-戊酰胺); marizomib (NPI-0052); 枸橼酸伊沙唑嗪 (MLN-9708); delanzomib (CEP-18770); 和0-甲基-N-[(2-甲基-5-噻唑基)羰基]-L-丝氨酸-0-甲基-N-[(1S)-2-[(2R)-2-甲基-2-环氧乙烷基]-2-氧代-1-(苯基甲基)乙基]-L-丝氨酸酰胺 (ONX-0912)。

[0509] 示例性酪氨酸激酶抑制剂包括但不限于表皮生长因子 (EGF) 途径抑制剂 (例如, 表皮生长因子受体 (EGFR) 抑制剂), 血管内皮生长因子 (VEGF) 途径抑制剂 (例如, 血管内皮生长因子受体 (VEGFR) 抑制剂 (例如, VEGFR-1抑制剂, VEGFR-2抑制剂, VEGFR-3抑制剂)), 血小板衍生生长因子 (PDGF) 途径抑制剂 (例如血小板衍生生长因子受体 (PDGFR) 抑制剂 (例如, PDGFR-β抑制剂)), RAF-1抑制剂, KIT抑制剂和RET抑制剂。在一些实施方案中, 与hedgehog抑制剂组合使用的抗癌剂选自: 阿昔替尼 (AG013736), 波舒替尼 (SKI-606), cediranib (RECENTIN™, AZD2171), 达沙替尼 (**SPRYCEL®**, BMS-354825), 埃罗替尼

(**TARCEVA®**), 吉非替尼 (**IRESSA®**), 伊马替尼 (**Gleevec®**, CGP57148B, STI-571), 拉帕替尼 (**TYKERB®**, **TYVERB®**), lestaurtinib (CEP-701), neratinib (HKI-272), 尼洛替尼 (**TASIGNA®**), semaxanib (semaxinib, SU5416), 舒尼替尼 (**SUTENT®**, SU11248), toceranib (**PALLADIA®**), 凡德他尼 (**ZACTIMA®**, ZD6474), 伐他拉尼 (PTK787, PTK/ZK), 曲妥珠单抗 (**HERCEPTIN®**), 贝伐单抗 (**AVASTIN®**), 利妥昔单抗 (**RITUXAN®**), 西妥昔单抗 (**ERBITUX®**), 帕尼单抗 (**VECTIBIX®**), 雷珠单抗 (**Lucentis®**), 尼洛替尼 (**TASIGNA®**), 索拉非尼 (**NEXAVAR®**), 阿仑单抗 (**CAMPATH®**), 吉姆单抗奥佐米星 (**MYLOTARG®**), ENMD-2076, PCI-32765, AC220, 乳酸多韦尼酯 (TKI258, CHIR-258), BIBW 2992 (TOVOK™), SGX523, PF-04217903, PF-02341066, PF-299804, BMS-777607, ABT-869, MP470, BIBF 1120 (**VARGATEF®**), AP24534, JNJ-26483327, MGCD265, DCC-2036, BMS-690154, CEP-11981, tivozanib (AV-951), OSI-930, MM-121, XL-184, XL-647, XL228, AEE788, AG-490, AST-6, BMS-599626, CUDC-101, PD153035, pelitinib (EKB-569), 凡德他尼 (zactima), WZ3146, WZ4002, WZ8040, ABT-869 (linifanib), AEE788, AP24534 (ponatinib), AV-951 (tivozanib), 阿昔替尼, BAY73-4506 (regorafenib), brivanib alaninate (BMS-582664), brivanib (BMS-540215), 西地尼布 (AZD2171), CHIR-258 (多韦替尼), CP 673451, CYC116, E7080, Ki8751, 马西替尼 (AB1010), MGCD-265, motesanib diphosphate (AMG-706), MP-470, OSI-930, 盐酸帕唑帕尼, PD173074, 索拉非尼甲苯磺酸盐 (Bay 43-9006), SU 5402, TSU-68 (SU6668), 伐他拉尼, XL880 (GSK1363089, EXEL-2880)。选择的酪氨酸激酶抑制剂选自舒尼替尼, 埃罗替尼, 吉非替尼或索拉非尼。

[0510] 本文公开的方法的示例性适应症包括以下肿瘤和癌症: 乳腺癌; 肺癌 (包括小细胞和非小细胞肺癌); 肛门, 结肠, 直肠和结直肠癌; 肝癌; 肾和肾癌 (包括肾细胞癌); 头颈癌; 胰腺癌; 骨癌; 宫颈癌, 卵巢癌, 阴道癌和外阴癌; 前列腺癌, 阴茎癌和睾丸癌; 肛门癌; 膀胱癌; 白血病 (包括AML; CML; ALL和CLL); 胃癌 (包括胃肠道间质瘤) 和胃癌; 脑瘤; 神经胶质瘤; 成神经细胞瘤和视网膜母细胞瘤; 甲状腺癌; 皮肤癌 (包括黑色素瘤); 多发性骨髓瘤 (和其他浆细胞肿瘤); 淋巴瘤 (包括霍奇金和非霍奇金); 肉瘤; 骨髓增生性肿瘤; 恶性间皮瘤; 成人/儿童软组织肉瘤; 艾滋病相关的卡波西肉瘤; 子宫内膜癌; 妊娠滋养细胞疾病; 恶性间皮瘤; 多中心Castleman病; 骨髓增生性肿瘤; 横纹肌肉瘤; 基底细胞癌; 肾母细胞瘤和其他儿童肾癌。

[0511] 在某些实施方案中, 除了本文公开的抗体之外, 还可以使用一种或多种抗癌病质剂。可能有用的抗癌病质剂包括醋酸甲地孕酮 (Agiles et al. (2013) Clinical Nutrition 32:319-324); 皮质类固醇或糖皮质激素 (如地塞米松, 泼尼松, 甲基泼尼松龙); 大麻素 (如屈大麻酚); 生长素释放肽和anamorelin; 黑皮质素拮抗剂; 抗IL6单克隆抗体; 选择性雄激素受体调节剂 (SARS); 沙利度胺; 氧雄龙; 激活蛋白受体II; GDF8 (肌抑制素); 和IL-1 α 抑制剂。

[0512] 在某些实施方案中,用卡培他滨(例如,**Xeloda®**)治疗受试者用于已经扩散到身体的其他部分的结肠或直肠的癌症(转移性结肠直肠癌)或手术后结肠癌。在用卡培他滨治疗之前,同时或之后,用如本文所述的抗GDF15抗体治疗受试者。

[0513] 在其他实施方案中,用卡培他滨与多西紫杉醇(例如**Taxotere®**)组合,或用多西紫杉醇(例如**Taxotere®**)治疗后,用卡培他滨治疗受试者已经扩散至身体其他部位的乳腺癌(转移性乳腺癌)。在用卡培他滨治疗之前,同时或之后,用如本文所述的抗GDF15抗体治疗受试者。卡培他滨的剂量和给药可由熟练的临床医生确定。典型的方案可以包括每天两次口服施用1250mg/ml²两周,然后是一周休息期,作为三周循环。当与多西紫杉醇组合使用时,多西紫杉醇的典型方案是75mg/ml²,每3周静脉内输注1小时。

[0514] 在某些实施方案中,用吉西他滨(例如,**Gemzar®**)治疗受试者,用于胰腺癌;与卡铂组合用于卵巢;与紫杉醇组合用于乳腺癌;与顺铂组合用于非小细胞肺癌(NSCLC)。在用吉西他滨治疗之前,同时或之后,用如本文所述的抗GDF15抗体治疗受试者。吉西他滨的剂量和给药可由熟练的临床医生确定。典型的方案可以包括在每个21天周期的第1天和第8天,或每28天周期的第1,8和15天,在30分钟内静脉内施用给药1000到1250mg/ml²。

[0515] 在某些实施方案中,用阿霉素(例如,**Adriamycin®**)治疗受试者用于已经扩散到身体的其他部分的结肠或直肠的癌症(转移性结肠直肠癌)或手术后结肠癌。在用卡培他滨治疗之前,同时或之后,用如本文所述的抗GDF15抗体治疗受试者。

[0516] 多柔比星(例如**Doxil®**)也被批准用于治疗卵巢癌,艾滋病相关的卡波西肉瘤;和多发性骨髓瘤,联合硼替佐米,以及急性淋巴细胞性淋巴瘤(ALL);急性髓细胞性淋巴瘤(AML);成神经细胞瘤;乳腺癌;卵巢癌;霍奇金病;恶性淋巴瘤;支气管原癌,其中与其他细胞类型相比,小细胞类型最具响应性。在用多柔比星治疗之前,同时或之后,用如本文所述的抗GDF抗体治疗受试者。多柔比星的剂量和施用可由熟练的临床医生确定。典型的方案可包括每4周静脉内施用50mg/ml²的给药,最少4个疗程(卵巢癌);每三周静脉内施用20mg/ml²以治疗AIDS相关的卡波西肉瘤。在多发性骨髓瘤中,典型的方案是以1.3mg/ml²施用硼替佐米,在第1天,第4天,第8天和第11天每3周静脉推注一次施用,和以30mg/ml²施用阿霉素,在给予硼替佐米后第4天静脉内施用。

[0517] 在某些实施方案中,用卡铂例如**Paraplatin®**治疗受试者的卵巢癌。在其他实施方案中,用卡铂与环磷酰胺联合治疗或在环磷酰胺治疗后用卡铂治疗受试者的晚期卵巢癌。在用卡铂治疗之前,同时或之后,用本文所述的抗GDF15抗体治疗受试者。卡铂的剂量和给药可由熟练的临床医生确定。典型的方案可包括每4周在第1天静脉内施用300-360mg/ml²,持续约6个周期。当联合施用环磷酰胺时,典型的方案可以是每4周一天300mg/ml²静脉内输注卡铂,持续6个周期,联合600mg/ml²静脉内输注环磷酰胺,每4周一天,持续6个周期。

[0518] 在某些实施方案中,用顺铂(例如**Platinol®**)治疗受试者,用于治疗转移性睾丸肿瘤,转移性卵巢肿瘤或晚期膀胱癌。在其他实施方案中,用顺铂与环磷酰胺组合或在用环磷酰胺治疗后用顺铂治疗受试者。在用顺铂治疗之前,同时或之后,用如本文所述的抗GDF15抗体治疗受试者。顺铂的剂量和给药可由熟练的临床医生确定。典型的方案可包括每天静脉内施用20mg/ml²,每个周期5天,用于转移性睾丸肿瘤。对于晚期膀胱癌,顺铂的典型

方案可包括每3至4周一次50-70mg/ml²静脉内输注,这取决于先前暴露于放射疗法和/或先前化学疗法的程度。对于经过大量预治疗的患者,通常每4周静脉施用50mg/ml²剂量。对于转移性卵巢肿瘤的治疗,通常每4周一次静脉内注射75至100mg/ml²。当顺铂给药与环磷酰胺联合使用时,应顺序施用顺铂注射和环磷酰胺。典型的方案可以是每4周在第1天静脉内输注600mg/ml²环磷酰胺。

[0519] 在某些实施方案中,用奥沙利铂(例如**Eloxatin®**)与5-氟尿嘧啶和/或亚叶酸组合治疗受试者,用于治疗结肠癌或晚期结肠直肠癌或手术后结肠癌。在用奥沙利铂治疗之前,同时或之后,用本文所述的抗GDF15抗体治疗受试者。奥沙利铂的剂量和给药可由熟练的临床医生确定。典型的方案可包括在120分钟内静脉输注在250-500ml 5%葡萄糖中的85mg/ml²奥沙利铂,同时静脉输注200mg/ml²亚叶酸,然后4-6分钟内静脉推注400mg/ml² 5-氟尿嘧啶。

[0520] 心血管疾病

[0521] 恶病质,慢性肾病,贫血,缺铁和高血压可与充血性或慢性心力衰竭(CHF)相关。因此,本文描述的抗体可用于增加有此需要的受试者的心脏功能。在实施方案中,公开了包括施用有效量的抗GDF15抗体以增加受试者的心脏功能的方法。在一些实施方案中,所述受试者患有心脏功能障碍或CHF,并且可任选地表现出恶病质,慢性肾病,贫血,缺铁或高血压中的一种或多种。

[0522] 在其他实施方案中,本文提供了使用所公开的抗GDF15抗体治疗心血管疾病的方法。在一些实施方案中,心血管疾病包括但不限于充血性或慢性心力衰竭(CHF),心肌梗大或营养不良,急性冠状动脉综合征,心绞痛或其他心脏病症或状况。在一些实施方案中,所治疗的受试者患有心脏事件,例如心肌梗塞,或已经或被诊断为需要心脏介入,例如经皮冠状动脉介入治疗,冠状动脉旁路移植术,冠状动脉血管成形术或支架置入术。

[0523] 在某些实施方案中,本发明包括治疗表现出一种或多种心脏相关症状的受试者的方法,所述症状可以是心血管疾病或功能障碍的症状,充血性或慢性心力衰竭,心肌病,心脏肥大,缺血/再灌注损伤,呼吸困难,特发性肺动脉高压,ST段抬高心肌梗死(STEMI)或其他心脏病症或状况。这种心脏相关症状在WO 2015/196142中公开,其通过引用并入本文。在一些实施方案中,可以响应于如本文所述的GDF抗体的治疗来监测受试者,并且如果认为临床上合适,则修改给药方案。

[0524] 在某些实施方案中,患有心血管疾病或心脏病症,例如充血性或慢性心力衰竭(CHF)的受试者先前已经用已知的心脏治疗进行治疗,但仍然表现出一种或多种症状。因此,本文提供了用于避免或减少上述心脏相关症状中的至少一种的发生和/或严重性的方法和组合物,并且还可以避免或减少对上述心脏介入之一的需要。

[0525] 肾脏疾病

[0526] 本文公开的方法和组合物还可用于检测,预防和治疗涉及肾脏或肾组织的疾病,功能障碍,肥大或营养不良的状况和病症。这些状况包括但不限于慢性肾病或终末期肾衰竭,尿毒症综合征,贫血和/或由肾脏产生的促红细胞生成素减少,糖尿病,胰岛素抵抗和肾功能减退或肾脏尺寸减小。

[0527] 在一些实施方案中,受试者表现出慢性肾病(CKD)的一种或多种另外的症状。在实施方案中,受试者患有CKD,其具有厌食和/或GDF15的血浆水平升高。所述CKD症状可包括慢

性肾病、肾衰竭或肾功能障碍的一种或多种以下指标:血清肌酐水平升高,血清胆红素水平降低,尿白蛋白浓度增加,尿肌酐水平升高,尿白蛋白-肌酐比例增加(女性中白蛋白与肌酐比率为25mg/g或更高,男性为17mg/g或更高,30mg/g的值表示严重CKD),尿蛋白与肌酐比值增加(蛋白质与肌酐比值为200mg/g被认为过高且表明CKD),高血压(定义为收缩压140mm Hg或以上;舒张压90mm Hg或以上;或经历目前的抗高血压药物治疗),糖尿病(定义为空腹血糖水平为126mg/dL或更高;或使用胰岛素或口服降糖药物);在尿液或血浆中出现cystatin C,尿C-反应蛋白(uCRP),尿视黄醇结合蛋白(uRBP),hepcidin,血清肌酐水平升高,血幼素(hemojuvelin);尿酸和/或尿素; β 微量蛋白质;肾损伤分子-1(KIM-1);尿N-乙酰- β -(D)-氨基葡萄糖苷酶(NAG);尿白细胞介素-18(uIL-18);肝脏脂肪酸结合蛋白-1(L-FABP-1);血尿素氮(BUN);micro-RNA 21(miRNA-21);和电解质。

[0528] 可用于诊断和/或监测肾病的受试者的其他症状,生物化学和生理学参数公开在WO 2015/196145中,其通过引用并入本文。

[0529] 在实施方案中,本文所述的抗体可用于在治疗(例如透析)患有肾病的受试者期间减少,例如消耗GDF15。

[0530] 可用于用本文公开的抗体治疗病症的其他适应症和剂量描述于WO/2014/100689,WO 2016/049470,WO 2015/196142,和WO 2015/196145,所有这些内容都通过引用并入到本文中。

[0531] 药物组合物

[0532] 本文提供了包含与药学上可接受的载体一起配制的GDF15结合抗体(完整的或结合片段)的药物组合物。该组合物可另外含有一种或多种适用于治疗或预防例如消耗性病症的其它治疗剂。药学上可接受的载体增强或稳定组合物,或可用于促进组合物的制备。药学上可接受的载体包括生理上相容的溶剂,分散介质,包衣,抗菌剂和抗真菌剂,等渗剂和吸收延迟剂等。

[0533] 本文所述的药物组合物可通过本领域已知的多种方法给药。给药途径和/或方式根据所需结果而变化。优选的是,玻璃体内,静脉内,肌肉内,腹膜内或皮下给药,或在靶位点附近给药。药学上可接受的载体应适合于玻璃体内,静脉内,肌肉内,皮下,肠胃外,脊柱或表皮施用(例如,通过注射或输注)。取决于给药途径,活性化合物,即抗体,双特异性和多特异性分子,可以包被在材料中以保护化合物免受酸和其它可能使化合物失活的天然条件的作用。

[0534] 该组合物应该是无菌和流动的。例如,通过使用诸如卵磷脂的涂层,通过在分散的情况下维持所需的粒度和使用表面活性剂,可以保持适当的流动性。在许多情况下,优选在组合物中包含等渗剂,例如糖,多元醇如甘露醇或山梨糖醇和氯化钠。通过在组合物中包括延迟吸收的试剂,例如单硬脂酸铝或明胶,可以实现可注射组合物的长期吸收。

[0535] 本文所述的药物组合物可根据本领域熟知和常规实施的方法制备。参见,例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy,Mack Publishing Co.,20th ed.,2000;and Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems,J.R.Robinson,ed.,Marcel Dekker,Inc.,New York,1978。药物组合物优选在GMP条件下制备。通常,治疗有效剂量或有效剂量的GDF15结合抗体用于本文所述的药物组合物中。通过本领域技术人员已知的常规方法将GDF15结合抗体配制成药学上可接受的剂型。调整剂量方案以提供最

佳的所需反应(例如,治疗反应)。例如,可以施用单次推注,可以随时间施用几个分开的剂量,或者可以根据治疗情况的紧急程度按比例减少或增加剂量。以剂量单位形式配制肠胃外组合物以便于给药和剂量均一性是特别有利的。如本文所用的剂量单位形式是指适合作为待治疗受试者的单位剂量的物理上离散的单位;每个单位含有预定量的活性化合物,其经计算可与所需的药物载体一起产生所需的治疗效果。

[0536] 可改变本文所述药物组合物中活性成分的实际剂量水平,以获得有效实现特定患者、组合物和给药方式的所需治疗反应而对患者无毒性的活性成分的量。所选的剂量水平取决于多种药代动力学因素,包括使用的本文所述的特定组合物或其酯、盐或酰胺的活性,给药途径,给药时间,所用特定化合物的排泄速率,治疗的持续时间,与所用特定组合物组合使用的其他药物,化合物和/或材料,所治疗患者的年龄、性别、体重、状况、一般健康状况和既往病史,以及类似因素。

[0537] 医生或兽医可以以低于实现期望治疗效果所需的水平开始在药物组合物中使用的本文所述抗体的剂量,并逐渐增加剂量直至达到所需效果。通常,用于治疗本文所述的消耗性病症的本文所述组合物的有效剂量根据许多不同因素而变化,包括给药方式,靶位点,患者的生理状态,患者是人还是动物,施用的其他药物,以及治疗是预防性还是治疗性的。需要滴定治疗剂量以优化安全性和功效。对于用抗体全身给药,剂量范围为约0.0001至100mg/kg,更通常为0.01至15mg/kg宿主体重。对于用抗体进行玻璃体内给药,剂量可以为0.1mg/眼至5mg/眼。示例性治疗方案需要每两周一次或每月一次或每3至6个月一次全身给药。示例性治疗方案需要每两周一次或每月一次或每3至6个月一次或根据需要(PRN)进行一次全身给药。

[0538] 抗体通常多次给药。单个剂量之间间隔可以是每周,每月或每年。如通过测量患者中GDF15结合抗体的血液水平所指示的,间隔也可以是不规则的。另外,备选给药间隔可以由医生确定并且每月施用或根据需要施用以是有效的。在一些全身给药方法中,调节剂量以达到1-1000 μ g/ml的血浆抗体浓度,并且在一些方法中达到25-500 μ g/ml。或者,抗体可以作为持续释放制剂施用,在这种情况下需要较低频率的施用。剂量和频率取决于患者中抗体的半衰期。通常,人抗体显示出比嵌合抗体和非人抗体更长的半衰期。给药的剂量和频率可以根据治疗是预防性还是治疗性而变化。在预防性应用中,相对较低的剂量在较长时间内以相对不频繁的间隔施用。一些患者在余生中继续接受治疗。在治疗应用中,有时需要以相对短的间隔施用相对高的剂量直至疾病进展减少或终止,并且优选直至患者显示疾病症状的部分或完全改善。此后,可以给患者施用预防方案。

实施例

[0539] 提供以下实施例以进一步说明本公开但不限制其范围。本公开的其他变型对于本领域普通技术人员而言将是显而易见的,并且由所附权利要求涵盖。

[0540] 实施例1:用作抗原的纯化的重组His-GDF15的制备

[0541] 用His-GDF15构建体转化的大肠杆菌BL21(DE3)在Luria Broth培养基中生长。将含有His-GDF15的包含体(IBs)溶解在含有6M胍和20mM β -巯基乙醇的缓冲液中。将溶解的IB在Ni-NTA柱上进一步纯化,然后进行反相层析。将含有His-GDF15的池在重折叠缓冲液中稀释15-20倍,并在4 $^{\circ}$ C温和搅拌数天。通过制备型反相层析进一步纯化重折叠的His-GDF15。

将纯化的His-GDF15池冻干并在30mM乙酸钠缓冲液中重构。

[0542] 实施例2:人Fab噬菌体文库淘选

[0543] 对于噬菌体展示,将生物素化的人GDF15与MorphoSys的HuCAL (人组合抗体文库)噬菌体文库混合,使其结合1小时。在Dyna1 M280链霉抗生物素蛋白珠上捕获GDF15/噬菌体复合物10分钟。在迭代轮次的淘选后,纯化合并的质粒DNA并用限制酶EcoRI和XbaI消化。通过琼脂糖凝胶电泳分离质粒DNA,切下含有两个基因片段(免疫球蛋白重链(VH/CH)和轻链(VL/CL))的1.5kB插入片段并纯化。将该1.5kB片段(Fab插入片段)亚克隆到Morphosys表达载体pMORPHX9_FH中并转化到电感受态TG-1细胞中。挑取单个菌落并制备主平板。将从主平板接种的子平板在低葡萄糖培养基中再生长,并在IPTG存在下通过培养过夜诱导Fab表达。将细胞沉淀冷冻,用溶菌酶裂解,并通过ELISA在涂有PEO-生物素化的GDF15的平板上在中性抗生物素蛋白(neutravidin)包被的孔(仅阴性对照中性抗生物素蛋白)中评估澄清的裂解物。在将主平板重新划线到琼脂平板上并挑选3个单独的菌落用于重新测试后,重新测试ELISA阳性者。还制备了来自GDF15Fab克隆的质粒DNA用于DNA测序。来自独特克隆的Fab以用IPTG诱导的升规模培养物制备,然后通过IMAC和大小排阻层析依次纯化。通过A280nm处的吸光度与SDS-PAGE结合测定蛋白质浓度。

[0544] 实施例3:IgG表达和纯化

[0545] 将抗GDF15Fab的VH和VL结构域亚克隆到具有人IgG恒定区(CX28-98GC,pPL1551)的合适载体中。

[0546] 通过DNA测序验证所得克隆的完整性,并制备每种构建体的质粒DNA用于通过瞬时转染HEK-293T细胞表达完整的IgG。转染后第7天收获细胞培养物上清液,然后在HiTrap Protein A上纯化。

[0547] 实施例4:抗体工程化(种系化和翻译后修饰(PTM)位点去除

[0548] 通过选择与给定VH和VL结构域序列最接近的人种系序列进行计算机种系化(In silico germlining)。在给定抗体的构架区中看起来与最接近的人种系序列不同的位置已被人残基取代。然后重组产生种系化序列并使用标准分子生物学技术进行测试。

[0549] 通过PTM基序(例如NS,NG,DG或NxS/T)的存在扫描抗体的VH和VL结构域序列。可以通过突变NG基序中的关键残基(例如N或G)来去除鉴定的PTM。根据下列不同标准选择用于置换的残基,例如,同一家族的VH/VL序列中该特定位置中最常见残基或就生物物理学性质而言最接近的残基。然后重组产生变体并测试活性和结合。

[0550] 实施例5:抗体亲和力

[0551] Biacore测定基于表面等离子共振(SPR)并用于确定抗体与GDF15的结合亲和力。

[0552] 将抗人Fc捕获抗体以0.5μg/ml固定在所有四个流动池中的CM5芯片上,以在表面上实现8000至12,000个共振单位(RU)。在芯片上以10μl/sec,0.25至0.5μg/ml的流速捕获抗hGDF15抗体,在流动池2,3和4中获得约30RU。GDF15配体以45μl/秒流过捕获的抗体和参比流动池1持续600和1200秒接触时间。测试了连续稀释1至2的八个剂量,范围为20至0.156nM。所有循环重复两次,在循环之间用3M MgCl₂以10l/sec,20秒接触时间再生。通过减去参考流动池结果来归一化数据。数据用1:1动力学模型拟合,RI(体积折射率)设定常数为0。

[0553] Kd的结果如表2所示。

[0554] 实施例6:表位作图

[0555] 通过直接ELISA方法用GDF15突变体测定抗体表位。将白蛋白融合GDF15突变体包被在96孔EIA板的孔中。封闭后,将连续稀释的抗hGDF15人抗体加入到GDF15包被的孔中,然后在环境温度下温育几小时。使用与辣根过氧化物酶 (HRP) 缀合的抗人IgG抗体和HRP底物检测抗体结合。

[0556] 图6是使用ELISA基于与GDF15片段的结合丧失或部分抑制的结合和突变,抗GDF15抗体的表位作图的概述。测试的抗体是第一列中显示的ABGDF15-A, -B, -C, -D, -E, -F和-G, 和Hu01G06 (抗GDF15抗体01G06的人源化抗体 (参见W02014/100689));测试了以下野生型和突变体GDF15变体:野生型人GDF15,啮齿动物GDF15,食蟹猴GDF15,N-末端截短的hGDF15 (具有氨基酸211-308),在指关节区具有突变的GDF15突变体 (L294R, I285R, 或S231R),腕部区域 (Q247R, W228R或M253R),指尖区域 (D289R) 和手背 (S278R)。“指关节”,“手腕”,“指尖”和“手背”是三维结构域 (不是精确的线性AA肽),基于所有TGF β 家族蛋白的同源晶体结构命名 (参考Mueller and Nickel (2012) Promiscuity and specificity in BMP receptor activation. FEBS Letters 586:1846-1859)。ABGDF15-A, -B, -C, -D, -E, -F和-G都与指关节结构域结合,如指关节结构域相关突变如L294R, I285R和S231R导致结合丧失或部分抑制的结合。相反, L294R突变不影响Hu01G06的结合, Hu01G06是先前描述的人源化抗GDF15抗体。

[0557] 实施例7:抗GDF15抗体对体重的影响

[0558] 在小鼠厌食症模型中研究抗GDF15抗体对体重的影响。

[0559] 从Taconic购买十三周龄的DIO小鼠,并在整个研究期间保持高脂肪饮食。在ACUC方案下,将小鼠单个圈养,具有正常光周期 (06:00-18:00)。在研究开始时,将动物称重并基于体重分组,使得平均体重在阴性对照组和治疗组之间匹配。还记录了食物重量。在第0天,通过DNA流体动力学注射 (HDI),小鼠通过尾静脉注射0.3 μ g空载体作为阴性对照或人全长GDF15表达载体 (参考:Bonamassa et al. (2011) Hydrodynamic gene delivery and its applications in pharmaceutical research. Pharm Res:694-701)。HDI导致表达载体中目的基因的肝细胞的流体动力学转染。在第6天测定血浆hGDF15水平。在第7天记录体重和食物重量。基于可比较的平均hGDF15水平和BW对小鼠进行重新分组,并分别用治疗性抗体或作为阴性对照的无关抗体施用。每周记录几次体重和食物重量,并在研究结束时收集血浆。

[0560] ABGDF15-A在饮食诱导的肥胖 (DIO) 小鼠中阻断GDF15介导的食物摄入的抑制和体重减轻中的作用的时间过程示于图1A-1B中。通过人全长GDF15表达载体的流体动力学注射 (HDI) 在肝脏中表达人GDF15,在施用抗GDF15抗体之前第7天导致约10%的体重减轻 (图中第0天)。一组小鼠注射空载体作为阴性对照 (载体)。测定个体小鼠的体重和血浆人GDF15水平,并基于可比较的平均体重和GDF15水平将动物分成两组。以10mg/kg静脉内施用抗体 (ABGDF15-A或无关对照Ab),并监测食物摄取和体重。

[0561] 图1A是描绘注射后数天 (1, 3, 5, 7, 10, 11和15天) 后每日食物摄入量 (克) 的条形图。每次抗体注射后,从左到右提供三组的测量:载体+运载体;hGDF15+对照IgG;和hGDF15+ABGDF15-A。

[0562] 图1B是描绘注射后数天 (1, 3, 5, 7, 10, 11和15天) 体重变化百分比的线性图。为测

试的每次注射后提供三组测量:载体+运载体;hGDF15+对照IgG;和hGDF15+ABGDF15-A。

[0563] 使用斯氏t-检验对两项研究进行统计学分析,其中*,**: $p < 0.05$ 和 0.01 ,ABGDF15-A对比运载体;[&],^{&&},^{&&&}: $p < 0.05$, 0.01 和 0.001 ,ABGDF15-A vs.对照IgG。

[0564] 在图2A-2B中描述了ABGDF15-B在HD1模型中阻断GDF15介导的厌食症的作用的时间过程和剂量反应性。通过HDI注射在肝脏中表达人GDF15,在施用抗GDF15抗体之前(图中第0天)第7天导致约10%的体重减轻。ABGDF15-B和-C的亲本抗体,或阴性对照Ab以指定的浓度注射;监测食物摄入量和体重。图2A-2B是描绘抗体注射后数天(1,4,8,12和16天)的累积食物摄入量(克)和体重百分比变化的线性图。以下处理组示于图2A-2B:载体+运载体;hGDF15+对照IgG;hGDF15+亲本抗体(30mg/kg);hGDF15+亲本抗体(10mg/kg);hGDF15+亲本抗体(3mg/kg);和hGDF15+亲本抗体(1mg/kg)。亲本抗体剂量依赖性地逆转GDF15介导的厌食作用。

[0565] 测试的亲本抗体与ABGDF15-B和-C共有相同的重链和轻链CDR,在构架区中具有一些差异。亲本抗体轻链的氨基酸序列如下:

[0566] DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGSHIVSWYQQKPGQAPVLVIYDKSNRPSGIPERFSGSNSGN
TATLTISGTQAEDEADYYCQTWDSIGSVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA
VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID
NO:187)

[0567] ABGDF15-D在图3A-3B中的HD1模型中阻断天然GDF15介导的厌食症的作用的时间过程。通过HDI注射在肝脏中表达人GDF15,在施用抗GDF15抗体之前(图中第0天)第7天导致约10%的体重减轻。ABGDF15-D或阴性对照Ab以20mg/kg注射;监测食物摄入量和体重。图3A-3B是线性图和条形图,分别描绘了注射后数天的每日食物摄入量(克)和体重变化百分比。以下组示于图3A-3B:每个时间点的载体+运载体;hGDF15+对照IgG;hGDF15+ABGDF15-D。ABGDF15-D逆转GDF15介导的厌食作用。

[0568] 图4是描绘ABGDF15-B和-C在阻断DIO小鼠中人GDF15介导的体重减轻中的作用的时间过程的线性图。在DIO小鼠中通过HDI注射过表达GDF15。以20mg/kg静脉内施用抗GDF15抗体,并监测体重。比较以下组:每个时间点的载体+运载体;hGDF15+对照IgG;hGDF15+ABGDF15-B和hGDF15+ABGDF15-C。ABGDF15-B和-C均逆转GDF15介导的体重减轻。

[0569] 图5是描绘ABGDF15-G在DIO小鼠中阻断人GDF15介导的体重减轻的作用的时间过程的线性图。在DIO小鼠中通过HDI注射连续过表达GDF15。以20mg/kg静脉内施用ABGDF15-G,并监测体重。以下组说明了:每个时间点的载体+运载体;hGDF15+对照IgG;和hGDF15+ABGDF15-G。ABGDF15-G逆转GDF15介导的体重减轻。

[0570] 下表提供了在上述类似的HDI实验中,在抗体治疗后相对于小鼠中对照IgG的体重百分比变化和体重增加的头对头比较的总结。

[0571] 该体内模型用于比较抗GDF15抗体的活性。

[0572]

	体重变化 (%)	体重增加 vs GDF15+ctrl IgG (%)	SD
hGDF15 + ctrl IgG	-5.0		
hGDF15 + ABGDF15-A	9.0	14.0	4.8
hGDF15 + ABGDF15-D	4.2	9.2	2.8
hGDF15 + ABGDF15-C	2.4	7.4	2.9
hGDF15 + ABGDF15-B	1.3	6.3	4.3

[0573]

hGDF15 + ABGDF15-F	-0.5	4.5	2.9
hGDF15 + ABGDF15-G	-1.3	3.7	5.1
hGDF15 + ABGDF15-E	-1.4	3.6	4.4
n=6/组			
Ab 施用后第 7 天			

[0574] 总之，本文测试的抗GDF15抗体，例如ABGDF15-A，-B，-C，-D，-E，-F和-G，能够逆转在这些小鼠模型中GDF15介导的对食物摄入和体重减轻的抑制。

[0575] 并入作为参考

[0576] 本文引用的所有参考文献，包括专利，专利申请，论文，教科书等，以及其中引用的参考文献，在它们尚未并入本文作为参考的范围内，在此通过整体并入本文作为参考。

[0577] 等同方案

[0578] 前述书面说明书被认为足以使本领域技术人员能够实施本发明。前面的描述和实施例详述了本发明的某些优选实施方案。然而，应当理解，无论前述内容如何详细地出现在文本中，本发明也可以以多种方式实施，并且本发明应该根据所附权利要求及其任何等同方案来解释。

序列表

<110> 诺华股份有限公司

<120> 抗生长分化因子15的抗体及其用途

<130> N2067-7107W0

<140>

<141>

<150> 62/328,564

<151> 2016-04-27

<160> 199

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 308

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Met	Pro	Gly	Gln	Glu	Leu	Arg	Thr	Val	Asn	Gly	Ser	Gln	Met	Leu	Leu
1				5					10					15	

Val	Leu	Leu	Val	Leu	Ser	Trp	Leu	Pro	His	Gly	Gly	Ala	Leu	Ser	Leu
			20					25					30		

Ala	Glu	Ala	Ser	Arg	Ala	Ser	Phe	Pro	Gly	Pro	Ser	Glu	Leu	His	Ser
		35					40					45			

Glu	Asp	Ser	Arg	Phe	Arg	Glu	Leu	Arg	Lys	Arg	Tyr	Glu	Asp	Leu	Leu
	50					55					60				

[0001]

Thr	Arg	Leu	Arg	Ala	Asn	Gln	Ser	Trp	Glu	Asp	Ser	Asn	Thr	Asp	Leu
65					70					75					80

Val	Pro	Ala	Pro	Ala	Val	Arg	Ile	Leu	Thr	Pro	Glu	Val	Arg	Leu	Gly
				85					90					95	

Ser	Gly	Gly	His	Leu	His	Leu	Arg	Ile	Ser	Arg	Ala	Ala	Leu	Pro	Glu
			100					105					110		

Gly	Leu	Pro	Glu	Ala	Ser	Arg	Leu	His	Arg	Ala	Leu	Phe	Arg	Leu	Ser
		115					120					125			

Pro	Thr	Ala	Ser	Arg	Ser	Trp	Asp	Val	Thr	Arg	Pro	Leu	Arg	Arg	Gln
		130				135						140			

Leu	Ser	Leu	Ala	Arg	Pro	Gln	Ala	Pro	Ala	Leu	His	Leu	Arg	Leu	Ser
145					150					155					160

Pro	Pro	Pro	Ser	Gln	Ser	Asp	Gln	Leu	Leu	Ala	Glu	Ser	Ser	Ser	Ala
				165				170						175	

Arg	Pro	Gln	Leu	Glu	Leu	His	Leu	Arg	Pro	Gln	Ala	Ala	Arg	Gly	Arg
			180					185						190	

Arg	Arg	Ala	Arg	Ala	Arg	Asn	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly
		195					200					205			

Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

	210	215	220	
	Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys			
	225	230	235	240
	Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln			
	245	250		255
	Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro			
	260	265		270
	Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr			
	275	280		285
	Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp			
	290	295	300	
	Cys His Cys Ile			
	305			
	<210> 2			
	<211> 1220			
	<212> DNA			
	<213> 智人			
	<400> 2			
	agtcccagct cagagccgca acctgcacag ccatgcccgg gcaagaactc aggacggtga		60	
	atggctctca gatgctcctg gtgttgctgg tgcctcctgt gctgccgcat gggggcgccc		120	
[0002]	tgtctctggc cgagcgagc cgcgcaagtt tcccgggacc ctacagattg cactccgaag		180	
	actccagatt ccgagagttg cggaaacgct acgaggacct gctaaccagg ctgcgggcca		240	
	accagagctg ggaagattcg aacaccgacc tcgtcccggc cctgcagtc cggatactca		300	
	cgccagaagt gcggtctgga tccggcggcc acctgcacct gcgtatctct cgggccgccc		360	
	ttcccagggg gctccccgag gcctcccggc ttcaccgggc tctgttcgg ctgtccccga		420	
	cggcgtcaag gtctgtggac gtgacacgac cgctcggcg tcagctcagc ctgtcaagac		480	
	cccaggcgcc cgcgctgcac ctgcgactgt cgccggcgcc gtgcgagtc gaccaactgc		540	
	tggcagaate ttcttcgca cggccccagc tggagttgca ctgtcggcgg caagccgcca		600	
	ggggcgccg cagagcgct gcgcgcaacg gggaccactg tccgctcggg cccgggcgtt		660	
	gctgccgtct gcacacggtc cgcgctcgc tggaaacct gggctgggcc gattgggtgc		720	
	tgtgccacg ggaggtgcaa gtgacctgt gcatcggcgc gtgccgagc cagttccggg		780	
	cggcaaacat gcacgcgag atcaagacga gcctgcaccg cctgaagccc gacacggtgc		840	
	cagcgccctg ctgcgtgccc gccagctaca atccatggt gctcattcaa aagaccgaca		900	
	ccggggtgtc gctccagacc tatgatgact tgtagccaa agactgccac tgcataatgag		960	
	cagtcctggt cttccactg tgcacctgcg cggaggacgc gacctcagtt gtcctgccct		1020	
	gtggaatggg ctcaaggttc ctgagacacc cgattcctgc ccaaacagct gtatttatat		1080	
	aagtctgtta tttattatta atttattggg gtgaccttct tggggactcg ggggctggtc		1140	
	tgatggaact gtgtatttat ttaaaactct ggtgataaaa ataaagctgt ctgaactgtt		1200	
	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa		1220	

<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 3
Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Trp Ile Ser
1 5 10

<210> 4
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 4
Ile Ile Asp Pro Ser Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 5
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

[0003]

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 5
Val Ser Tyr Tyr Gly Gly Tyr Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 6
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 6
Asp Tyr Trp Ile Ser
1 5

<210> 7
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 7
Ile Ile Asp Pro Ser Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

[0004]

<210> 8
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 8
Val Ser Tyr Tyr Gly Gly Tyr Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 9
Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
1 5

<210> 10
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 10
Asp Pro Ser Gly Ser Tyr
1 5

<210> 11
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 11
Val Ser Tyr Tyr Gly Gly Tyr Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 12
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 12
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Asp Pro Ser Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Val Ser Tyr Tyr Gly Gly Tyr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 13
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

<400> 13
gaagtgaac tcgtgcagtc cggagccgaa gtgaaaaagc caggagagtc cctgaagatc 60
agctgcaagg gateccgata ctcttcacc gactactgga tttcgtgggt ccgccagatg 120
cccgggaagg gcctggagtg gatggggatc atcgatccgt ctggttccta cactatctac 180
tcgccgtcgt tccaaggaca ggtaaccatc tccgccgaca agtccattag caccgcgtat 240
ctgcagtgga gtcactgaa ggctecgac accgcaatgt actactgcgc gcgggtgtca 300
tactacggcg gttactttga tatttggggc caggggactc tggctactgt gtcgtcc 357

<210> 14
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 14
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Asp Pro Ser Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

[0005]

	Leu	Gln	Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95	
	Ala	Arg	Val	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Tyr	Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly
				100					105					110		
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
			115					120					125			
	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
		130					135					140				
	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
	145				150					155						160
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
					165					170					175	
	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
				180					185					190		
	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
			195					200					205			
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys
		210					215					220				
[0006]	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
	225					230					235					240
	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
					245					250					255	
	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp
				260					265						270	
	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
		275						280					285			
	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
		290					295					300				
	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
	305					310					315					320
	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys
					325					330					335	
	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr
				340					345					350		
	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr
		355						360					365			
	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu
		370					375					380				

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 15

<211> 1347

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述：合成的多核苷酸"

<400> 15

gaagtgaac tcgtgcagtc cggagccgaa gtgaaaaagc caggagagtc cctgaagatc 60
agctgcaagg gatccgata ctcttcacc gactactgga tttcgtgggt ccgccagatg 120
cccggaagg gcctggagtg gatggggatc atcgatccgt ctggttccta cactatctac 180
tcgccgtcgt tccaaggaca ggtcaccatc tccgccgaca agtccattag caccgcgtat 240
ctgcagtgga gtcactgaa ggctccgac accgcaatgt actactgcgc gcgggtgtca 300
tactacggcg gttactttga tatttggggc caggggactc tggtcactgt gtcgtccgct 360
agcaccaagg gcccaagtgt gtttccctg gccccagca gcaagtctac ttccggcgga 420
actgtgccc tgggttgctt ggtgaaggac tacttcccc agcccgtgac agtgtcctgg 480
aactctgggg ctctgacttc cggcgtgcac accttcccc ccgtgtgca gagcagcggc 540
ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgacagt ccctccagct ctctgggaac ccagacctat 600
atctgaacg tgaaccacaa gccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagcccaag 660
agctgcgaca agaccacac ctgcccccc tgcccagctc cagaactgct gggagggcct 720
tccgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagcag gacccccgag 780
gtgacctgcg tgggtgtgga cgtgtccac gaggaccag aggtgaagtt caactggtac 840
gtggacggcg tggagggtga caacgccaag accaagccca gagaggagca gtacaacagc 900
acctacaggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaagaa 960
tacaagtga aagtctccaa caagccctg ccagcccaa tcgaaaagac aatcagcaag 1020
gccaaaggcc agccacggga gcccaggtg tacacctgc ccccagccg ggaggagatg 1080
accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggt tctaccccag cgatategcc 1140
gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc ccagtgctg 1200
gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag 1260
cagggcaacg tgttcagctg cagcgtgatg cagaggccc tgcacaacca ctacaccag 1320
aagtcctga gctgagccc cggcaag 1347

[0007]

[0008]

<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 16
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn Leu Asn
1 5 10

<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 17
Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 18
Phe Gln Leu Asp His Ser Pro Phe Thr
1 5

<210> 19
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 19
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn Leu Asn
1 5 10

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 20
Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

	<div><220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述：合成的肽" <400> 21 Phe Gln Leu Asp His Ser Pro Phe Thr 1 5</div>
	<div><210> 22 <211> 7 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述：合成的肽" <400> 22 Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn 1 5</div>
	<div><210> 23 <211> 3 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述：合成的肽" <400> 23 Ala Ala Ser 1</div>
[0009]	<div><210> 24 <211> 6 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述：合成的肽" <400> 24 Leu Asp His Ser Pro Phe 1 5</div>
	<div><210> 25 <211> 107 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述：合成的多肽" <400> 25 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly 1 5 10 15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn 20 25 30 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile 35 40 45 Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly 50 55 60</div>

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Leu Asp His Ser Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 26
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

<400> 26
gacattcaga tgaccagag cccttcctcc ctgtccgect ccgtgggaga tcgcgtgacc 60
atcacttgcc gggccagcca gtcgatttca aacaacctga actggtacca gcagaaaccg 120
ggaaaggccc ccaagctgtt gatctacgcg gccagcaatc tccagtccgg cgtgccgtca 180
agattctccg ggagcgggtc gggcactgac ttcaccctga ccatctcttc gtgcaaccc 240
gaagatttcg caacctacta ctgtttccaa ctggaccact ctccattcac atttgggcag 300
ggcaccaagg tcgagatcaa g 321

[0010]

<210> 27
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 27
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Leu Asp His Ser Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

	115	120	125
	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala 130 135 140		
	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln 145 150 155 160		
	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser 165 170 175		
	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr 180 185 190		
	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser 195 200 205		
	Phe Asn Arg Gly Glu Cys 210		
	<210> 28 <211> 642 <212> DNA <213> 人工序列		
	<220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"		
[0011]	<400> 28 gacattcaga tgaccagag cccttcctcc ctgtccgct ccgtgggaga tcgcgtgacc atcatttgcc ggccagcca gtcgatttca aacaacctga actggtacca gcagaaaccg ggaaaggccc ccaagctgtt gatctacgcg gccagcaatc tccagtccgg cgtgccgtca agatttctccg ggagcggttc ggccactgac ttcacctga ccattctctc gctgcaacce gaagatttcg caacctacta ctgtttccaa ctggaccact ctccattcac atttgggcag ggaccaagg tcgagatcaa gcgtacgggtg gccgtcccca gcgtgttcat ctccccccc agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 60 120 180 240 300 360 420 480 540 600 642		
	<210> 29 <211> 10 <212> PRT <213> 人工序列		
	<220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"		
	<400> 29 Gly Gly Thr Phe Ser Ser His Tyr Ile Asn 1 5 10		
	<210> 30 <211> 17		

[0012]

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 30
Gly Ile Ile Pro Ala Phe Gly Gly Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 31
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 31
Phe Gly Ser Val Tyr Val Ser Arg Tyr Ser Ser Tyr Tyr His Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 32
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 32
Ser His Tyr Ile Asn
1 5

<210> 33
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 33
Gly Ile Ile Pro Ala Phe Gly Gly Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 34
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 34

Phe Gly Ser Val Tyr Val Ser Arg Tyr Ser Ser Tyr Tyr His Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 35

Gly Gly Thr Phe Ser Ser His
1 5

<210> 36

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 36

Ile Pro Ala Phe Gly Gly
1 5

[0013]

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 37

Phe Gly Ser Val Tyr Val Ser Arg Tyr Ser Ser Tyr Tyr His Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 38

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述：合成的多肽"

<400> 38

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

	Gly Gly Ile Ile Pro Ala Phe Gly Gly Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe 50 55 60	
	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80	
	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95	
	Ala Arg Phe Gly Ser Val Tyr Val Ser Arg Tyr Ser Ser Tyr Tyr His 100 105 110	
	Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 115 120 125	
	<210> 39 <211> 378 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"	
	<400> 39 caagtgaac tcgtgcagtc gggagccgaa gtcaagaagc cggggagctc ggtgaaagtg 60 tctgcaagg cctccggggg aactttcagc tccactaca tcaactgggt cagacaggcg 120 cccgacagg ggttggaatg gatggcgga atcatcccg cgtttgccg cgcgaactac 180 gcccagaagt tccagggtcg ggtcaccatt accgccgacg agtccacttc cactgcatac 240 atggagctgt cctcactgcg gagcgaagat accgccgtgt attactgcgc ccgcttcgga 300 tctgtgtacg tgtccccta ctctcatac taccatatgg acgtctgggg acagggcacc 360 ctggtcacgg tgtcgtcc 378	
	<210> 40 <211> 456 <212> PRT <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"	
	<400> 40 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser 1 5 10 15 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser His 20 25 30 Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met 35 40 45 Gly Gly Ile Ile Pro Ala Phe Gly Gly Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe 50 55 60 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	

[0014]

	85	90	95
	Ala Arg Phe Gly Ser Val Tyr Val	Ser Arg Tyr Ser Ser Tyr Tyr His	
	100	105	110
	Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser		
	115	120	125
	Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr		
	130	135	140
	Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro		
	145	150	155
	Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val		
	165	170	175
	His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser		
	180	185	190
	Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile		
	195	200	205
	Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val		
	210	215	220
	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala		
	225	230	235
[0015]	Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro		
	245	250	255
	Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val		
	260	265	270
	Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val		
	275	280	285
	Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
	290	295	300
	Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		
	305	310	315
	Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala		
	325	330	335
	Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro		
	340	345	350
	Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr		
	355	360	365
	Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser		
	370	375	380
	Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		

	385	390	395	400
	Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr	405	410	415
	Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe	420	425	430
	Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys	435	440	445
	Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	450	455	
	<210> 41			
	<211> 1368			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<221> 来源			
	<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"			
[0016]	<400> 41			
	caagtgaac tcgtgcagtc gggagccgaa gtcaagaagc cggggagctc ggtgaaagtg			60
	tcttgcaagg cctccggggg aactttcagc tccactaca tcaactgggt cagacaggcg			120
	cccgacagg ggttggaatg gatggcgga atcatcccgg cgtttggcgg cgcgaactac			180
	gcccagaagt tccagggtcg ggtcaccatt accgccgacg agtccacttc cactgcatac			240
	atggagctgt cctcactcg gagcgaagat accgccgtgt attactgcgc ccgcttcgga			300
	tctgtgtacg tgtccccta ctctcatac taccatatgg acgtctgggg acagggcacc			360
	ctggtcacgg tgtcgtccgc tagcaccaag ggccaagtg tgtttccct ggcgccagc			420
	agcaagtcta ctccggcg aactgtgcc ctgggttgcc tggtaagga ctacttccc			480
	gagcccgtga cagtgtctg gaactctgg gctctgactt ccggcgtgca caccttccc			540
	gccgtgtgc agagcagcg cctgtacagc ctgagcagcg tggtagacgt gccctccagc			600
	tctctgggaa ccagaccta tatctgcaac gtgaaccaca agcccagcaa caccaaggtg			660
	gacaagagag tggagccaa gagctgcgac aagaccaca cctgcccccc ctgccagct			720
	ccagaactgc tgggagggcc ttccgtgttc ctgttcccc ccaagccaa ggacacctg			780
	atgatcagca ggaccccga ggtgacctgc gtggtggtgg acgtgtcca cgaggacca			840
	gaggtgaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc acaacccaa gaccaagccc			900
	agagaggagc agtacaacag cacctacagg gtggtgtccg tctgaccgt gctgcaccag			960
	gactggctga acggcaaaga atacaagtgc aaagtctcca acaaggcct gccagccca			1020
	atcgaaaaga caatcagcaa ggccaaggcg cagccacggg agccccaggt gtacacctg			1080
	ccccccagcc gggaggagat gaccaagaac caggtgtccc tgacctgtct ggtgaaggcg			1140
	ttctaccca gcgatatcgc cgtggagtgg gagagcaac gccagccga gaacaactac			1200
	aagaccaccc cccagtgct ggacagcgac ggcagcttct tcctgtacag caagtgacc			1260
	gtggacaagt ccaggtggca gcagggaac gtgttcagct gcagcgtgat gcacaggcc			1320
	ctgcacaacc actacacca gaagtcctcg agcctgagcc ccggcaag			1368

<210> 42
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 42
Arg Ala Ser Gln Thr Ile Tyr Arg Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 43
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 43
Gly Ala Ser Ile Leu Gln Ser
1 5

<210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

[0017]

<400> 44
Leu Gln Arg Tyr Thr Ser Pro Phe Thr
1 5

<210> 45
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 45
Arg Ala Ser Gln Thr Ile Tyr Arg Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 46
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 46
Gly Ala Ser Ile Leu Gln Ser
1 5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 47
Leu Gln Arg Tyr Thr Ser Pro Phe Thr
1 5

<210> 48
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 48
Ser Gln Thr Ile Tyr Arg Ser
1 5

<210> 49
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 49
Gly Ala Ser
1

[0018]

<210> 50
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 50
Arg Tyr Thr Ser Pro Phe
1 5

<210> 51
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的多肽"

<400> 51
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ile Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Arg Tyr Thr Ser Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 52
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

<400> 52
gacattcaga tgaccagtc accctectct ctctccgcat ccgtgggcga tcgcgtgacc 60
atcacctgtc gggccagcca gaccatctat agaagcctgg cctggtacca gcagaaaccg 120
ggaaaggccc caaagctgct gatctacgac gccagcattc tgcagtcagg ggtgccttcg 180
aggttctccg gatccggggtc gggaactgac ttcaccttga ccattctcag cctgcagccg 240
gaggacttcg cgacttacta ctgcctgcaa cgttacacct caccctttac cttcggacaa 300
ggcacaaggg tcgaaatcaa g 321

[0019]

<210> 53
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 53
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ile Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Arg Tyr Thr Ser Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 54
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

<400> 54
gacattcaga tgaccagtc accctectct ctctccgcat ccgtgggcga tcgctgacc 60
atcacctgtc gggccagcca gaccatctat agaagcctgg cctggtacca gcagaaaccg 120
ggaaaggccc caaagctgct gatctacggc gccagcattc tgcagtccgg ggtgccttcg 180
aggttctccg gatccgggtc gggaactgac ttcacettga ccatctcgag cctgcagccg 240
gaggacttcg cgacttacta ctgcctgcaa cggtacacct caccctttac cttcggacaa 300
ggcacaagg tcgaaatcaa gcgtacgggt gccgtctccc gcgtgttcat cttccccccc 360
agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480
gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 642

<210> 55
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 55
Gly Gly Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Val Ser
1 5 10

<210> 56
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

[0020]

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 56
Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 57
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 57
Gly Pro Ile Ile Met Gly Tyr Gln Phe Gly Leu Phe Asp His
1 5 10

<210> 58
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

[0021]

<400> 58
Ser Tyr Ala Val Ser
1 5

<210> 59
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 59
Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 60
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 60
Gly Pro Ile Ile Met Gly Tyr Gln Phe Gly Leu Phe Asp His
1 5 10

<210> 61
<211> 7

[0022]

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 61
Gly Gly Thr Phe Arg Ser Tyr
1 5

<210> 62
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 62
Ile Pro Ile Phe Gly Thr
1 5

<210> 63
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 63
Gly Pro Ile Ile Met Gly Tyr Gln Phe Gly Leu Phe Asp His
1 5 10

<210> 64
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 64
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Arg Ser Tyr
20 25 30

Ala Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Pro Ile Ile Met Gly Tyr Gln Phe Gly Leu Phe Asp His
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 65

<211> 369

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述：合成的多核苷酸"

<400> 65

caagtgaac tcgtgcagtc gggggccgag gtcaagaagc ccggctcgtc cgtgaaagtg 60
tcctgcaagg cctccggagg aactttccgg tcatacgccg tgcctgggt cagacaggcc 120
ccaggacagg gattggagtg gatgggaggc atcatcccga tttttggcac cgcaactac 180
gccagaagt tccagggccg cgtgaccatc actgccgacg aaagcacctc cacggcatac 240
atggaactgt caagcctgcg gtccgaagat acccggtgt actattgcgc aaggggtccg 300
attatcatgg ggtaccagtt cgggctgttc gacctgtgg gacagggaac cctggtcact 360
gtgtcgtcc 369

<210> 66

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述：合成的多肽"

[0023]

<400> 66

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Arg Ser Tyr
20 25 30
Ala Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Pro Ile Ile Met Gly Tyr Gln Phe Gly Leu Phe Asp His
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	
	145					150					155					160	
	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	
					165					170					175		
	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	
				180					185						190		
	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	
			195					200					205				
	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	
		210					215					220					
	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	
	225					230					235					240	
	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	
					245					250					255		
	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	
				260					265						270		
	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	
			275					280					285				
[0024]	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	
		290					295					300					
	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	
	305					310					315					320	
	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	
				325						330					335		
	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	
				340					345						350		
	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	
		355						360					365				
	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	
		370					375					380					
	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	
	385					390					395					400	
	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	
					405					410					415		
	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	
				420					425						430		
	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	
			435					440					445				

147

<210> 69
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 69
Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 70
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 70
Gln Thr Trp Asp Ser Ile Gly Ser Val Val
1 5 10

<210> 71
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

[0026] <400> 71
Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser His Ile Val Ser
1 5 10

<210> 72
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 72
Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 73
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 73
Gln Thr Trp Asp Ser Ile Gly Ser Val Val
1 5 10

<210> 74
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

[0027]

<221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

 <400> 74
 Asp Asn Ile Gly Ser His Ile
 1 5

 <210> 75
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

 <400> 75
 Asp Lys Ser
 1

 <210> 76
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

 <400> 76
 Trp Asp Ser Ile Gly Ser Val
 1 5

 <210> 77
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述：合成的多肽"

 <400> 77
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Leu Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

 Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser His Ile Val
 20 25 30

 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

 Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ala Gln Ala Gly
 65 70 75 80

 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Asp Ser Ile Gly Ser Val
 85 90 95

 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

 <210> 78
 <211> 321

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

<400> 78
tcatatgaac tcaccaaac cctgtccgtg tccgtggccc tgggtcagac tgcccggatt 60
acctgttcgg gagacaacat cggaagccac atcgtgtcgt ggtaccagca gaaaccggc 120
caggcgccag tgctggtcat ctacgataag tccaaccgcc cgtccggaat cccggagagg 180
ttcagcgggt ccaatagcgg caacaccgca accctgacca tctcaagagc tcaggccggg 240
gatgaggccg actactactg ccaaacttgg gactcgattg gctccgttgt gttcggcggc 300
ggaactaagc tcacggtcct g 321

<210> 79
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 79
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Leu Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln 15
1 5 10

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser His Ile Val 30
20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr 45
35 40 45

Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser 60
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ala Gln Ala Gly 80
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Asp Ser Ile Gly Ser Val 95
85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala 110
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala 125
115 120 125

Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala 140
130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val 160
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser 175
165 170 175

Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr

[0028]

	180	185	190
	Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala 195 200 205		
	Pro Thr Glu Cys Ser 210		
	<210> 80 <211> 639 <212> DNA <213> 人工序列		
	<220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述：合成的多核苷酸"		
	<400> 80 tcatatgaac tcaccaacc cctgtccgtg tccgtggccc tgggtcagac tgcccggatt 60 acctgttcgg gagacaacat cggaagccac atcgtgtcgt ggtaccagca gaaaccggc 120 caggcgccag tgctgggtcat ctacgataag tccaaccgcc cgtccggaat cccggagagg 180 ttcagcgggt ccaatagcgg caacaccgca accctgacca tctcaagagc tcaggccggg 240 gatgaggccg actactactg ccaacttgg gactcgattg gtcctcgtgt gttcggcggc 300 ggaactaagc tcacggtcct gggtcagcct aaggctgccc ccagcgtgac cctgttcccc 360 cccagcagcg aggagctgca ggccaacaag gccaccctgg tgtgcctgat cagcgacttc 420 taccagggcg ccgtgaccgt ggcctggaag gccgacagca gccccgtgaa ggccggcgtg 480 gagaccacca ccccgagcaa gcagagcaac aacaagtacg ccgccagcag ctacctgagc 540 ctgacccccg agcagtggaa gagccacagg tcctacagct gccaggtgac ccacgagggc 600 agcaccgtgg aaaagaccgt ggccccaacc gagtgcagc 639		
[0029]	<210> 81 <211> 10 <212> PRT <213> 人工序列		
	<220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述：合成的肽"		
	<400> 81 Gly Gly Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Val Ser 1 5 10		
	<210> 82 <211> 17 <212> PRT <213> 人工序列		
	<220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述：合成的肽"		
	<400> 82 Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln 1 5 10 15		
	Gly		

<210> 83
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 83
Gly Pro Ile Ile Met Gly Tyr Gln Phe Gly Leu Phe Asp His
1 5 10

<210> 84
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 84
Ser Tyr Ala Val Ser
1 5

<210> 85
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

[0030] <400> 85
Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 86
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 86
Gly Pro Ile Ile Met Gly Tyr Gln Phe Gly Leu Phe Asp His
1 5 10

<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 87
Gly Gly Thr Phe Arg Ser Tyr
1 5

<210> 88
<211> 6

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 88
Ile Pro Ile Phe Gly Thr
1 5

<210> 89
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 89
Gly Pro Ile Ile Met Gly Tyr Gln Phe Gly Leu Phe Asp His
1 5 10

<210> 90
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 90
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Arg Ser Tyr
20 25 30

Ala Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Pro Ile Ile Met Gly Tyr Gln Phe Gly Leu Phe Asp His
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 91
<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

[0031]

<400> 91
 caagtgaac tcgtgcagtc gggggccgag gtcaagaagc ccggctcgtc cgtgaaagtg 60
 tcttgaagg cctccggagg aactttccgg tcatacgccg tgtcctgggt cagacaggcc 120
 ccaggacagg gattggagtg gatgggaggc atcatccga tttttggcac cgcgaaactac 180
 gcccagaagt tccagggccg cgtgaccatc actgccgacg aaagcacctc cacggcatac 240
 atggaactgt caagcctgcg gtccgaagat accgcggtgt actattgcgc aaggggtccg 300
 attatcatgg ggtaccagtt cgggctgttc gaccactggg gacagggaac cctggtcact 360
 gtgtcgtcc 369

<210> 92
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 92
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Arg Ser Tyr
 20 25 30

Ala Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

[0032]

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Pro Ile Ile Met Gly Tyr Gln Phe Gly Leu Phe Asp His
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val

	195	200	205
	Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys 210	215	220
	Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu 225	230	235 240
	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr 245	250	255
	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val 260	265	270
	Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val 275	280	285
	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser 290	295	300
	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu 305	310	315 320
	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala 325	330	335
	Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro 340	345	350
[0033]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln 355	360	365
	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala 370	375	380
	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr 385	390	395 400
	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu 405	410	415
	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser 420	425	430
	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser 435	440	445
	Leu Ser Pro Gly Lys 450		
	<210> 93 <211> 1359 <212> DNA <213> 人工序列		
	<220> <221> 来源 <223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"		

[0034]	<400> 93	
	caagtgaac tcgtgcagtc gggggccgag gtcaagaagc cggctcgtc cgtgaaagt	60
	tectgcaagg cctccggagg aactttccgg tcatacgccg tgcctgggt cagacaggcc	120
	ccaggacagg gattggagtg gatgggagc atcatcccg tttttggcac cgcgaactac	180
	gcccagaagt tccagggccg cgtgaccatc actgccgacg aaagcacctc cacggcatac	240
	atggaactgt caagcctgcg gtccgaagat accgcggtgt actattgcg aaggggtccg	300
	attatcatgg ggtaccagtt cgggctgttc gaccactggg gacagggaac cctggtcact	360
	gtgtcgtccg ctaggaccaa gggcccaagt gtgtttccc tggccccag cagcaagtct	420
	acttccggcg gaactgctgc cctgggttgc ctggtgaagg actacttccc cgagcccgtg	480
	acagtgtcct ggaactctgg ggctctgact tccggcgtgc acaccttccc cgccgtgctg	540
	cagagcagcg gcctgtacag cctgagcagc gtggtgacag tgccctccag ctctctggga	600
	accagacct atatctgcaa cgtgaaccac aageccagca acaccaaggt ggacaagaga	660
	gtggagccca agagctgcga caagaccac acctgcccc cctgcccagc tccagaactg	720
	ctgggagggc cttccgtgtt cctgttcccc cccaagccca aggacacct gatgatcagc	780
	aggaccccc aggtgacctg cgtggtgtg gacgtgtccc acgaggacct agaggtgaag	840
	ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggt cacaacgcca agaccaagcc cagagaggag	900
	cagtacaaca gcacctacag ggtggtgtcc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg	960
	aacggcaaag aatacaagtg caaagtctcc aacaaggccc tgccagcccc aatcgaaaag	1020
	acaatcagca aggccaaagg ccagccacgg gageccagg tgtacacct gcccccagc	1080
	cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtgtcc ctgacctgtc tggtaaggc cttctacccc	1140
	agcgatatcg ccgtggagtg ggagagcaac ggccagcccg agaacaacta caagaccacc	1200
	ccccagtg cttggacagc cggcagcttc ttcctgtaca gcaagctgac cgtggacaag	1260
	tccaggtggc agcagggcaa cgtgttcagc tgcagcgtga tgcacgaggc cctgcacaa	1320
	cactacccc agaagtcct gagcctgagc cccgcaag	1359
	<210> 94	
	<211> 11	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"	
	<400> 94	
	Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser His Ile Val Ser	
	1 5 10	
	<210> 95	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"	
	<400> 95	
	Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser	
	1 5	

<210> 96
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 96
Gln Thr Trp Asp Ser Ile Gly Ser Val Val
1 5 10

<210> 97
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 97
Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser His Ile Val Ser
1 5 10

<210> 98
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

[0035] <400> 98
Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 99
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 99
Gln Thr Trp Asp Ser Ile Gly Ser Val Val
1 5 10

<210> 100
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 100
Asp Asn Ile Gly Ser His Ile
1 5

<210> 101
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 101
Asp Lys Ser
1

<210> 102
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 102
Trp Asp Ser Ile Gly Ser Val
1 5

<210> 103
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 103
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

[0036]

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser His Ile Val
20 25 30

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

Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Asp Ser Ile Gly Ser Val
85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 104
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

<400> 104
tcatacgagc ttaccagccc acctagcgtg tcagtcagcc ccgggcagac cgctccatc 60
acttgctcgg gagacaacat cggtccccc atcgtgtcgt ggtatcagca gaagccgggc 120
cagtcgccgg tgctcgtgat ctacgacaaa tccaatcgcc cgtccggaat ccccgaaagg 180

	ttcagcggat ccaactccgg aaacactgcc accctgacta ttagcggcac ccaagcgatg	240
	gatgaggctg actactactg ccaaacctgg gattccattg ggtccgtggt gttcgggtgga	300
	ggaacgaagc tgaccgtgct g	321
	<210> 105	
	<211> 213	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"	
	<400> 105	
	Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln	
	1 5 10 15	
	Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser His Ile Val	
	20 25 30	
	Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr	
	35 40 45	
	Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser	
	50 55 60	
	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met	
	65 70 75 80	
[0037]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Asp Ser Ile Gly Ser Val	
	85 90 95	
	Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala	
	100 105 110	
	Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala	
	115 120 125	
	Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala	
	130 135 140	
	Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val	
	145 150 155 160	
	Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser	
	165 170 175	
	Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr	
	180 185 190	
	Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala	
	195 200 205	
	Pro Thr Glu Cys Ser	
	210	
	<210> 106	
	<211> 639	
	<212> DNA	

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述：合成的多核苷酸"

<400> 106

```
tcatacgagc ttaccagacc acctagcgtg tcagtcagcc ccgggcagac cgctccatc      60
acttgctcgg gagacaacat cggctccac atcgtgtcgt ggtatcagca gaagccgggc      120
cagtcgccgg tgctcgtgat ctacgacaaa tccaatcgcc cgtccggaat ccccgaaagg      180
ttcagcggat ccaactccgg aaacactgcc accctgacta ttagcggcac ccaagcgatg      240
gatgaggctg actactactg ccaaacctgg gattccattg ggtccgtggt gttcgggtga      300
ggaacgaagc tgaccgtgct gggccagcct aaggctgccc ccagcgtgac cctgttcccc      360
cccagcagcg aggagctgca ggccaacaag gccaccctgg tgtgcctgat cagcgacttc      420
taccagcgcg ccgtgaccgt ggcctggaag gccgacagca gccccgtgaa ggccggcgctg      480
gagaccacca cccccagcaa gcagagcaac aacaagtacg ccgccagcag ctacctgagc      540
ctgacccccg agcagtggaag gagccacagg tcctacagct gccaggtgac ccacgagggc      600
agcaccgtgg aaaagaccgt ggccccaacc gattgcagc      639
```

<210> 107

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 107

```
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly
1              5              10
```

<210> 108

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 108

```
Val Ile Asp Pro Asp Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1              5              10              15
```

Gly

<210> 109

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 109

```
Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr
1              5              10
```

[0038]

<210> 110
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 110
Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5

<210> 111
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 111
Val Ile Asp Pro Asp Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 112
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

[0039]

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 112
Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 113
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 113
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
1 5

<210> 114
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 114
Asp Pro Asp Gly Ser Tyr
1 5

<210> 115
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 115
Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 116
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 116
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Asp Pro Asp Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

[0040]

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 117
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

<400> 117
gaagtccaac tcgtgcagtc cggagccgag gtcaagaagc ccggcgaatc gctgaagatt 60
agctgcaaag gctccggtta ctcttcacc tcttactgga ttggctgggt ccggcagatg 120
ccagggaagg gattggagtg gatgggagtg atcgaccgg acggatcata caccatctac 180
tcgccgagct ttcaaggaca ggccaccatc tccgccgaca agtccatctc cactgcgtat 240
ctgcagtgga gtcactgaa ggcctccgat acggcaatgt actactgcgc gagatacggg 300
cgctacggga cttacttcga ttactggggc caggggaccc tcgtgactgt gtcgtcc 357

<210> 118
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

 <400> 118
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15

 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

 Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

 Gly Val Ile Asp Pro Asp Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60

 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

 Ala Arg Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220

 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240

 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255

 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

[0041]

260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn 275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val 290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu 305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys 325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr 340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr 355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu 370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu 385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys 405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu 420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly 435	440	445

[0042]

Lys

<210> 119
 <211> 1347
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

<400> 119	
gaagtccaac tcgtgcagtc cggagccgag gtcaagaagc ccggcgaatc gctgaagatt	60
agctgcaaag gctccgggta ctcttcacc tcttactgga ttggctgggt ccggcagatg	120
ccagggaagg gattggagtg gatgggagtg atcgaccggg acggatcata caccatctac	180
tcgccgagct ttcaaggaca ggtcaccatc tccgccgaca agtccatctc cactgcgtat	240
ctgcagtgga gctcactgaa ggccctccgat acggcaatgt actactgcgc gagatacggg	300
cgctacggga cttacttcga ttactggggc caggggaccc tcgtgactgt gtcgtccgct	360
agcaccaagg gcccaagtgt gtttccctg gccccagca gcaagtctac ttccggcgga	420
actgctgccc tgggttgccct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac agtgtcctgg	480


```

aactctgggg ctctgacttc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc      540
ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgacagtg ccctccagct ctctgggaac ccagacctat      600
atctgcaacg tgaaccacaa gccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagcccaag      660
agctgcgaca agaccacac ctgccccccc tgcccagctc cagaactgct gggagggcct      720
tccgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacacctga tgatcagcag gacccccgag      780
gtgacctgcg tgggtgttga cgtgtccac gaggaccag aggtgaagtt caactgttac      840
gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagccca gagaggagca gtacaacagc      900
acctacaggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaagaa      960
tacaagtgca aagtctcaa caaggccctg ccagcccaa tcgaaaagac aatcagcaag     1020
gccaagggcc agccacggga gccccaggtg tacacctgc ccccagccg ggaggagatg     1080
accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggt tctaceccag cgatatcgcc     1140
gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc cccagtgtctg     1200
gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag     1260
cagggcaacg tgttcagctg cagcgtgatg cagaggccc tgcacaacca ctacaccag      1320
aagtcctga gcctgagccc cggcaag                                     1347

```

<210> 120
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0043]

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 120
 Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu Tyr Val Asn
 1 5 10

<210> 121
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 121
 Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser
 1 5

<210> 122
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 122
 Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser Asn Tyr Val
 1 5 10

<210> 123
 <211> 13

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 123
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu Tyr Val Asn
1 5 10

<210> 124
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 124
Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 125
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 125
Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser Asn Tyr Val
1 5 10

[0044]

<210> 126
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 126
Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu Tyr
1 5

<210> 127
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 127
Ser Asn Asp
1

<210> 128
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 128
Trp Asp Ser Ser Ser Asn Tyr
1 5

<210> 129
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 129
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu
20 25 30

Tyr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser
85 90 95

[0045]

Asn Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 130
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

<400> 130
caatcggtgc tgaccagccc cccttcggtg tccggagccc cgggccagag agtgaccatc 60
agctgctcgg gttcctctag caacatcggg gtgctctacg tgaactggta ccagcagctg 120
ccgggcaccc ccccaaagct gctgatctat agcaatgata accggccgctc cggagtgc 180
gaccggttct ccgatcaaa gagcggcacc tccgcatcct tggecattac ggggctgcag 240
gcggaggacg aagctgatta ctactgtcaa tcgtgggact cctcatccaa ctacgtgttc 300
ggcggaggca ccaaactgac tgtcctg 327

<210> 131
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

	<400> 131	
	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
	1 5 10 15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu	
	20 25 30	
	Tyr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu	
	35 40 45	
	Ile Tyr Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser	
	50 55 60	
	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln	
	65 70 75 80	
	Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser	
	85 90 95	
	Asn Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro	
	100 105 110	
	Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu	
	115 120 125	
	Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro	
	130 135 140	
[0046]	Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala	
	145 150 155 160	
	Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala	
	165 170 175	
	Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg	
	180 185 190	
	Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr	
	195 200 205	
	Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser	
	210 215	
	<210> 132	
	<211> 645	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"	
	<400> 132	
	caatcggtgc tgaccagcc cccttcggtg tccggagccc cgggccagag agtgaccatc	60
	agctgctcgg gttcctctag caacatcggg gtgctctacg tgaactgta ccagcagctg	120
	ccgggcaccg ccccaaagct gctgatctat agcaatgata accggccgctc cggagtgcgc	180
	gaccggttct ccggatcaaa gagcggcacc tccgcatcct tggccattac ggggctgcag	240
	gcggaggacg aagctgatta ctactgtcaa tcgtgggact cctcatccaa ctacgtgttc	300

ggcggaggca ccaaactgac tgtcctgggt cagcctaagg ctgccccag cgtgaccctg 360
 ttcccccca gcagcgagga gctgcaggcc aacaaggcca ccctgggtgtg cctgatcagc 420
 gactttctacc caggcgccgt gaccgtggcc tgggaaggccg acagcagccc cgtgaaggcc 480
 ggcggtggaga ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca agtacgccgc cagcagctac 540
 ctgagcctga cccccgagca gtggaagagc cacaggtcct acagctgccca ggtgaccac 600
 gagggcagca ccgtggaaaa gaccgtggcc ccaaccgagt gcagc 645

<210> 133
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 133
 Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly
 1 5 10

<210> 134
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

[0047]

<400> 134
 Val Ile Asp Pro Gly Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 135
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 135
 Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 136
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 136
 Ser Tyr Trp Ile Gly
 1 5

<210> 137
 <211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 137
Val Ile Asp Pro Gly Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 138
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 138
Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 139
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

[0048]

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 139
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
1 5

<210> 140
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 140
Asp Pro Gly Gly Ser Tyr
1 5

<210> 141
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 141
Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 142
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

 <400> 142
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15

 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

 Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

 Gly Val Ile Asp Pro Gly Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60

 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

 Ala Arg Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

[0049]

<210> 143
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

 <400> 143
 gaagtgcac tcgtgcagtc cggagccgag gtcaagaagc ccggagagtc cctgaagatc 60
 agctgcaag gatccggcta ctcttctact tcatactgga tcggttgggt ccggcagatg 120
 ccgggaaagg ggctggaatg gatgggcgtg attgaccccg ggggctccta cacgatctac 180
 tccccgtcgt tccaaggaca ggtaaccatt tcggccgata agagcatctc cactgcgtat 240
 ctgcagtgt caagcctgaa ggcctctgac accgcaatgt actactgcgc gagatacggc 300
 cgctacggga cttactttga ctactgggga cagggtaccc tcgtgaccgt gtctctcg 357

 <210> 144
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

 <400> 144
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15

 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

	20	25	30
	Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met 35 40 45		
	Gly Val Ile Asp Pro Gly Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe 50 55 60		
	Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80		
	Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys 85 90 95		
	Ala Arg Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly 100 105 110		
	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe 115 120 125		
	Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu 130 135 140		
	Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp 145 150 155 160		
	Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu 165 170 175		
[0050]	Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser 180 185 190		
	Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro 195 200 205		
	Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys 210 215 220		
	Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro 225 230 235 240		
	Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser 245 250 255		
	Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp 260 265 270		
	Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn 275 280 285		
	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val 290 295 300		
	Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu 305 310 315 320		
	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		

	325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
	340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
	355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
	370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
	385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
	405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
	420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
	435	440	445

Lys

[0051]

<210> 145
 <211> 1347
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

<400> 145	
gaagtgaac tcgtgcagtc cggagccgag gtcaagaagc ccggagagtc cctgaagatc	60
agctgcaaag gatccggcta ctcttcaact tcatactgga tcggttgggt cgggcagatg	120
ccgggaaagg ggctggaatg gatgggcgtg attgaccccg ggggctccta cacgatctac	180
tccccgtcgt tccaaggaca ggtcaccatt tcggccgata agagcatctc cactgcgtat	240
ctgcagtggc caagcctgaa ggccctctgac accgcaatgt actactgcgc gagatacggc	300
cgtacggga ctactttga ctactgggga cagggtaccc tcgtgaccgt gtctctggct	360
agcaccaagg gcccaagtgt gtttccctg gccccagca gcaagtctac ttccggcgga	420
actgctgcc tgggttgccg gtgaaggac tacttccccg agcccgtgac agtgtctctgg	480
aactctgggg ctctgacttc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc	540
ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgacagtg ccctccagct ctctgggaac ccagacctat	600
atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaagggtg acaagagagt ggagcccaag	660
agctgcgaca agaccacac ctgccccccc tgcccagctc cagaactgct gggagggcct	720
tccgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacacctga tgatcagcag gacccccgag	780
gtgacctgcg tgggtgtgga cgtgtccac gaggaccag aggtgaagtt caactgttac	840
gtggacggcg tggaggtgca caacccaag accaagccca gagaggagca gtacaacagc	900
acctacaggg tgggtgccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaagaa	960

tacaagtga aagtctccaa caaggccctg ccagccccaa tcgaaaagac aatcagcaag 1020
 gccaaaggcc agccacggga gcccaggtg tacacctgc ccccagccg ggaggagatg 1080
 accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggt tctaccccag cgatatcgcc 1140
 gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc ccagtgctg 1200
 gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag 1260
 cagggcaacg tgttcagctg cagcgtgatg cagaggccc tgcacaacca ctacaccag 1320
 aagtcctga gcctgagccc cggcaag 1347

<210> 146
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 146
 Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu Tyr Val Asn
 1 5 10

<210> 147
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

[0052]

<400> 147
 Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser
 1 5

<210> 148
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 148
 Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser Asn Tyr Val
 1 5 10

<210> 149
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 149
 Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu Tyr Val Asn
 1 5 10

<210> 150
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 150
Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 151
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 151
Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser Asn Tyr Val
1 5 10

<210> 152
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 152
Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu Tyr
1 5

[0053]

<210> 153
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 153
Ser Asn Asp
1

<210> 154
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 154
Trp Asp Ser Ser Ser Asn Tyr
1 5

<210> 155
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的多肽"

<400> 155

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu
20 25 30

Tyr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser
85 90 95

Asn Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 156
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

[0054]

<400> 156
caatcggtgc tgaccagccc cccttcggtg tccggagccc cgggccagag agtgaccatc 60
agctgctcgg gticctctag caacatcggg gtgctctacg tgaactggta ccagcagctg 120
ccgggcacgc ccccaaagct gctgatttat agcaatgata accggccgctc cggagtgccc 180
gaccggttct ccggatcaaa gagcggcacc tccgcatcct tggccattac ggggctgcag 240
gcggaggacg aagctgatta ctactgtcaa tcgtgggact cctcatccaa ctacgtgttc 300
ggcggaggca ccaaactgac tgtcctg 327

<210> 157
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 157
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu
20 25 30

Tyr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser
 85 90 95
 Asn Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
 100 105 110
 Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
 115 120 125
 Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
 145 150 155 160
 Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
 165 170 175
 Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
 180 185 190
 Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
 195 200 205

[0055]

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215

<210> 158
 <211> 645
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述：合成的多核苷酸"

<400> 158
 caatcggtgc tgaccagacc cccttcggtg tccggagccc cgggccagag agtgaccatc 60
 agctgctcgg gttcctctag caacatcggg gtgctctacg tgaactggta ccagcagctg 120
 ccgggcaccg ccccaaagct gctgatctat agcaatgata accggccgtc cggagtgtcc 180
 gaccggttct cggatcaaa gagcggcacc tccgcatcct tggccattac ggggtgcag 240
 gcggaggacg aagctgatta ctactgtcaa tcgtgggact cctcatccaa ctacgtgttc 300
 ggcggaggca ccaactgac tgtcctgggt cagcctaagg ctgccccag cgtgaccctg 360
 ttcccccca gcagcgagga gctgcaggcc aacaaggcca ccctggtgtg cctgatcagc 420
 gacttctacc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaggccg acagcagccc cgtgaaggcc 480
 ggcgtggaga ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca agtacgccgc cagcagctac 540
 ctgagcctga cccccagca gtggaagagc cacaggtcct acagctgccca ggtgaccac 600
 gagggcagca ccgtggaaaa gaccgtggcc ccaaccgagt gcagc 645

<210> 159
 <211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 159
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 160
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 160
Val Ile Asp Pro Ser Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 161
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

[0056]

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 161
Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 162
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 162
Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5

<210> 163
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 163
Val Ile Asp Pro Ser Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

[0057]

<210> 164
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 164
Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 165
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 165
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
1 5

<210> 166
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 166
Asp Pro Ser Gly Ser Tyr
1 5

<210> 167
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 167
Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 168
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 168
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Asp Pro Ser Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 169
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

<400> 169
gaagtgaac tcgtgcagtc cggagccgag gtcaagaagc ccggagaatc cctgaagatt 60
agctgcaagg gctccggata ctcatctact icatattgga tcggctgggt ccggcagatg 120
ccggggaagg ggctggagtg gatgggagtg atcgaccgt ccggttccta caccatctac 180
tcgccaagct tccaaggaca ggtcaccatc tctgccgata agtcgatctt caccgcatac 240
ttgcagtgtt cgtccctgaa agcgtccgac actgcgatgt actactgtgc ccgctacgga 300
agatacgga cctactttga ctactggggc caggggactc tcgtgaccgt gtccagc 357

[0058]

<210> 170
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 170
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Asp Pro Ser Gly Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

	85	90	95
	Ala Arg Tyr Gly Arg Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly 100 105 110		
	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe 115 120 125		
	Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu 130 135 140		
	Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp 145 150 155 160		
	Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu 165 170 175		
	Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser 180 185 190		
	Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro 195 200 205		
	Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys 210 215 220		
	Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro 225 230 235 240		
[0059]	Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser 245 250 255		
	Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp 260 265 270		
	Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn 275 280 285		
	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val 290 295 300		
	Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu 305 310 315 320		
	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys 325 330 335		
	Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr 340 345 350		
	Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr 355 360 365		
	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu 370 375 380		
	Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		

	385	390	395	400
	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys	405	410	415
	Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu	420	425	430
	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly	435	440	445
	Lys			
	<210> 171			
	<211> 1347			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<221> 来源			
	<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"			
	<400> 171			
[0060]	gaagtgaac tcgtgcagtc cggagccgag gtcaagaagc ccggagaatc cctgaagatt			60
	agctgcaagg gctccggata ctcatctact tcatattgga tcggctgggt ccggcagatg			120
	ccggggaagg ggctggagtg gatgggagtg atcgaccctg ccggttccta caccatctac			180
	tcgccaagct tccaaggaca ggtcaccatc tctgccgata agtcgatttc caccgcatac			240
	ttgcagtggc cgtccctgaa agcgtccgac actgcgatgt actactgtgc ccgtacgga			300
	agatacggca cctactttga ctactggggc caggggactc tcgtgaccgt gtccagcgt			360
	agcaccaagg gcccaagtgt gtttccctg gccccagca gcaagtctac ttccggcgga			420
	actgctgccc tgggttgctt ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac agtgtcctgg			480
	aactctgggg ctctgacttc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc			540
	ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgacagtg ccctccagct ctctgggaac ccagacctat			600
	atctgcaacg tgaaccacaa gccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagcccaag			660
	agctgcgaca agaccacac ctgccccccc tgcccagctc cagaactgct gggagggcct			720
	tccgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacacctga tgatcagcag gacccccgag			780
	gtgacctgag tgggtgtgga cgtgtccac gaggaccag aggtgaagtt caactggtac			840
	gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagccca gagaggagca gtacaacagc			900
	acctacaggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaagaa			960
	tacaagtgea aagtctccaa caaggccctg ccagcccaaa tcgaaaagac aatcagcaag			1020
	gccaaaggcc agccacggga gcccaggtg tacaccctgc ccccagccg ggaggagatg			1080
	accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggtt tctaccccag cgatatcgcc			1140
	gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc ccagtgctg			1200
	gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag			1260
	cagggcaacg tgttcagctg cagcgtgatg cagcaggccc tgcacaacca ctacaccag			1320
	aagtccctga gcctgagccc cggcaag			1347

<210> 172
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 172
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu Tyr Val Asn
1 5 10

<210> 173
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 173
Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 174
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

[0061]

<400> 174
Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser Asn Tyr Val
1 5 10

<210> 175
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 175
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu Tyr Val Asn
1 5 10

<210> 176
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<400> 176
Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 177
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 177
Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser Asn Tyr Val
1 5 10

<210> 178
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 178
Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu Tyr
1 5

<210> 179
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 179
Ser Asn Asp
1

[0062]

<210> 180
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<400> 180
Trp Asp Ser Ser Ser Asn Tyr
1 5

<210> 181
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的多肽"

<400> 181
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu
20 25 30

Tyr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser
85 90 95

Asn Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 182
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

<400> 182
caatcgggtgc tgaccagcc cccttcggtg tccggagccc cgggccagag agtgaccatc 60
agctgctcgg gtctctctag caacatcggg gtgctctacg tgaactggta ccagcagctg 120
ccgggcacgc ccccaaagct gctgatttat agcaatgata accggccgctc cggagtgcgc 180
gaccggttct ccgatcaaa gacgggcacc tccgcatcct tggccattac ggggctgcag 240
gcggaggacg aagctgatta ctactgtcaa tcgtgggact cctcatccaa ctacgtgttc 300
ggcggaggca ccaaactgac tgtcctg 327

[0063]

<210> 183
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 183
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu
20 25 30

Tyr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser
85 90 95

Asn Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
 130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
 165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
 180 185 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
 195 200 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215

<210> 184
 <211> 645
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的多核苷酸"

[0064]

<400> 184
 caatcgggtgc tgaccagcc cccttcggtg tccggagccc cgggccagag agtgaccatc 60
 agctgctcgg gtctctctag caacatcggg gtgctctacg tgaactggta ccagcagctg 120
 ccgggcaccc ccccaaagct gctgatctat agcaatgata accggccgctc cggagtgtccc 180
 gaccggttct cggatcaaaa gagcggcacc tccgcatcct tggccattac ggggctgcag 240
 gcggaggacg aagctgatta ctactgtcaa tcgtgggact cctcatccaa ctacgtgttc 300
 ggcgagggca ccaaactgac tgtcctgggt cagcctaagg ctgccccag cgtgacctg 360
 ttccccccca gcagcgagga gctgcaggcc aacaaggcca ccctggtgtg cctgatcagc 420
 gacttctacc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaggccg acagcagccc cgtgaaggcc 480
 ggcggtgaga ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca agtacgccgc cagcagctac 540
 ctgagcctga cccccgagca gtggaagagc cacaggtcct acagctgtcca ggtgaccac 600
 gagggcagca ccgtggaaaa gaccgtggcc ccaaccgagt gcagc 645

<210> 185
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 185
 Arg Gly Arg Arg Arg Ala Arg
 1 5

<210> 186
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列描述: 合成的6xHis标签"

<400> 186
His His His His His His
1 5

<210> 187
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 187
Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser His Ile Val
20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Asp Ser Ile Gly Ser Val
85 90 95

[0065]

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala
195 200 205

Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 188
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<220>
<221> 变体
<222> (2)..(2)
<223> /替代="Gly"

<220>
<221> 变体
<222> (3)..(3)
<223> /替代="Thr"

<220>
<221> 变体
<222> (5)..(5)
<223> /替代="Thr"或"Ser"

<220>
<221> 变体
<222> (6)..(6)
<223> /替代="Asp"

<220>
<221> 变体
<222> (7)..(7)
<223> /替代="His"

<220>
<221> 变体
<222> (8)..(8)
<223> /替代="Trp"或"Tyr"

[0066] <220>
<221> 变体
<222> (9)..(9)
<223> /替代="Ile"

<220>
<221> 变体
<222> (10)..(10)
<223> /替代="Gly"或"Asn"

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(10)
<223> /注释="序列中给出的变体残基对于变体位置的注释中没有偏好"

<400> 188
Gly Tyr Ser Phe Arg Ser Tyr Ala Val Ser
1 5 10

<210> 189
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<220>
<221> 变体
<222> (1)..(1)
<223> /替代="Ile"或"Val"

<220>
<221> 变体
<222> (3)..(3)
<223> /替代="Asp"

<220>
<221> 变体
<222> (5)..(5)
<223> /替代="Ser"或"Gly"或"Ala"或"Asp"

<220>
<221> 变体
<222> (6)..(6)
<223> /替代="Gly"

<220>
<221> 变体
<222> (7)..(7)
<223> /替代="Ser"

<220>
<221> 变体
<222> (8)..(8)
<223> /替代="Tyr"或"Gly"

<220>
<221> 变体
<222> (9)..(9)
<223> /替代="Thr"

<220>
<221> 变体
<222> (10)..(10)
<223> /替代="Ile"

<220>
<221> 变体
<222> (12)..(12)
<223> /替代="Ser"

[0067] <220>
<221> 变体
<222> (13)..(13)
<223> /替代="Pro"

<220>
<221> 变体
<222> (14)..(14)
<223> /替代="Ser"

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(17)
<223> /注释="序列中给出的变体残基对于变体位置的注释中没有偏好"
<400> 189
Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 190
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<220>
<221> 变体
<222> (1)..(1)
<223> /替代="Val"或"Tyr"或"Phe"

<220>
<221> 变体
<222> (2)..(2)

<223> /替代="Ser"或"Gly"
 <220>
 <221> 变体
 <222> (3)..(3)
 <223> /替代="Tyr"或"Arg"或"Ser"
 <220>
 <221> 变体
 <222> (4)..(4)
 <223> /替代="Tyr"或"Val"
 <220>
 <221> 变体
 <222> (5)..(5)
 <223> /替代="Gly"或"Tyr"
 <220>
 <221> 变体
 <222> (6)..(6)
 <223> /替代="Thr"或"Val"
 <220>
 <221> 变体
 <222> (7)..(7)
 <223> /替代="Ser"
 <220>
 <221> 变体
 <222> (8)..(8)
 <223> /替代="Phe"或"Arg"
 <220>
 <221> 变体
 <222> (9)..(9)
 <223> /替代="Tyr"或" "
 [0068] <220>
 <221> 变体
 <222> (10)..(10)
 <223> /替代="Ser"或" "
 <220>
 <221> 变体
 <222> (11)..(11)
 <223> /替代="Ser"或" "
 <220>
 <221> 变体
 <222> (12)..(12)
 <223> /替代="Tyr"或" "
 <220>
 <221> 变体
 <222> (13)..(13)
 <223> /替代="Tyr"或" "
 <220>
 <221> 变体
 <222> (14)..(14)
 <223> /替代=" "
 <220>
 <221> 变体
 <222> (15)..(15)
 <223> /替代="Met"或" "
 <220>
 <221> 变体
 <222> (17)..(17)
 <223> /替代="Ile"或"Tyr"或"Val"
 <220>
 <221> MISC FEATURE
 <222> (1)..(17)
 <223> /注释="序列中给出的变体残基对于变体位置的注释中没有偏好"

<400> 190
Gly Pro Ile Ile Met Gly Tyr Gln Phe Gly Leu Phe Tyr His Met Asp
1 5 10 15

His

<210> 191
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<220>
<221> 变体
<222> (1)..(1)
<223> /替代="Arg"

<220>
<221> 变体
<222> (2)..(2)
<223> /替代="Ala"

<220>
<221> 变体
<222> (3)..(3)
<223> /替代="Ser"

[0069]

<220>
<221> 变体
<222> (4)..(4)
<223> /替代="Gln"或"Ser"

<220>
<221> 变体
<222> (5)..(5)
<223> /替代="Ser"或"Thr"

<220>
<221> 变体
<222> (6)..(6)
<223> /替代="Ile"或"Asn"

<220>
<221> 变体
<222> (7)..(7)
<223> /替代="Ile"或"Tyr"

<220>
<221> 变体
<222> (8)..(8)
<223> /替代=" "

<220>
<221> 变体
<222> (9)..(9)
<223> /替代=" "

<220>
<221> 变体
<222> (10)..(10)
<223> /替代="Asn"或"Leu"或"Arg"

<220>
<221> 变体
<222> (11)..(11)
<223> /替代="Asn"或"Tyr"或"Ser"

<220>

<221> 变体
<222> (12)..(12)
<223> /替代="Leu"

<220>
<221> 变体
<222> (13)..(13)
<223> /替代="Asn"或"Ala"

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(13)
<223> /注释="序列中给出的变体残基对于变体位置的注释中没有偏好"

<400> 191
Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser Gly Val His Ile Val Ser
1 5 10

<210> 192
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的肽"

<220>
<221> 变体
<222> (1)..(1)
<223> /替代="Ala"或"Ser"或"Gly"

<220>
<221> 变体
<222> (2)..(2)
<223> /替代="Ala"或"Asn"

[0070]

<220>
<221> 变体
<222> (3)..(3)
<223> /替代="Asp"

<220>
<221> 变体
<222> (4)..(4)
<223> /替代="Ile"

<220>
<221> 变体
<222> (5)..(5)
<223> /替代="Leu"

<220>
<221> 变体
<222> (6)..(6)
<223> /替代="Gln"

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(7)
<223> /注释="序列中给出的变体残基对于变体位置的注释中没有偏好"

<400> 192
Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 193
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述：合成的肽"

<220>
<221> 变体
<222> (1)..(1)
<223> /替代="Phe"或"Leu"

<220>
<221> 变体
<222> (2)..(2)
<223> /替代="Gln"或"Ser"

<220>
<221> 变体
<222> (3)..(3)
<223> /替代="Leu"或"Arg"

<220>
<221> 变体
<222> (4)..(4)
<223> /替代="Tyr"

<220>
<221> 变体
<222> (5)..(5)
<223> /替代="His"或"Thr"

<220>
<221> 变体
<222> (6)..(6)
<223> /替代="Ser"

<220>
<221> 变体
<222> (7)..(7)
<223> /替代="Pro"或"Ser"

[0071] <220>
<221> 变体
<222> (8)..(8)
<223> /替代="Asn"或" "

<220>
<221> 变体
<222> (9)..(9)
<223> /替代="Phe"或"Tyr"

<220>
<221> 变体
<222> (10)..(10)
<223> /替代="Thr"

<220>
<221> MISC FEATURE
<222> (1)..(10)
<223> /注释="序列中给出的变体残基对于变体位置的注释中没有偏好"

<400> 193
Gln Thr Trp Asp Ser Ile Gly Ser Val Val
1 5 10

<210> 194
<211> 69
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述：合成的多肽"

<400> 194
Gly Gly Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Val Ser Gly Ile Ile Pro Ile Phe
1 5 10 15

Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Gly Pro Ile Ile Met
20 25 30

Gly Tyr Gln Phe Gly Leu Phe Asp His Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser
35 40 45

His Ile Val Ser Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser Gln Thr Trp Asp Ser
50 55 60

Ile Gly Ser Val Val
65

<210> 195
<211> 64
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 195
Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Trp Ile Ser Ile Ile Asp Pro Ser Gly
1 5 10 15

Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Val Ser Tyr Tyr Gly
20 25 30

Gly Tyr Phe Asp Ile Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn Leu Asn
35 40 45

[0072]

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Phe Gln Leu Asp His Ser Pro Phe Thr
50 55 60

<210> 196
<211> 67
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 196
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Val Ile Asp Pro Ser Gly
1 5 10 15

Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Tyr Gly Arg Tyr Gly
20 25 30

Thr Tyr Phe Asp Tyr Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu Tyr
35 40 45

Val Asn Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser
50 55 60

Asn Tyr Val
65

<210> 197
<211> 67
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 197

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Val Ile Asp Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Tyr Gly Arg Tyr Gly
20 25 30

Thr Tyr Phe Asp Tyr Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu Tyr
35 40 45

Val Asn Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser
50 55 60

Asn Tyr Val
65

<210> 198

<211> 71

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 198

[0073] Gly Gly Thr Phe Ser Ser His Tyr Ile Asn Gly Ile Ile Pro Ala Phe
1 5 10 15

Gly Gly Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Phe Gly Ser Val Tyr
20 25 30

Val Ser Arg Tyr Ser Ser Tyr Tyr His Met Asp Val Arg Ala Ser Gln
35 40 45

Thr Ile Tyr Arg Ser Leu Ala Gly Ala Ser Ile Leu Gln Ser Leu Gln
50 55 60

Arg Tyr Thr Ser Pro Phe Thr
65 70

<210> 199

<211> 67

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列描述: 合成的多肽"

<400> 199

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Val Ile Asp Pro Asp Gly
1 5 10 15

Ser Tyr Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Tyr Gly Arg Tyr Gly
20 25 30

Thr Tyr Phe Asp Tyr Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Val Leu Tyr

35

40

45

[0074]

Val Asn Ser Asn Asp Asn Arg Pro Ser Gln Ser Trp Asp Ser Ser Ser
50 55 60

Asn Tyr Val
65

食物摄入

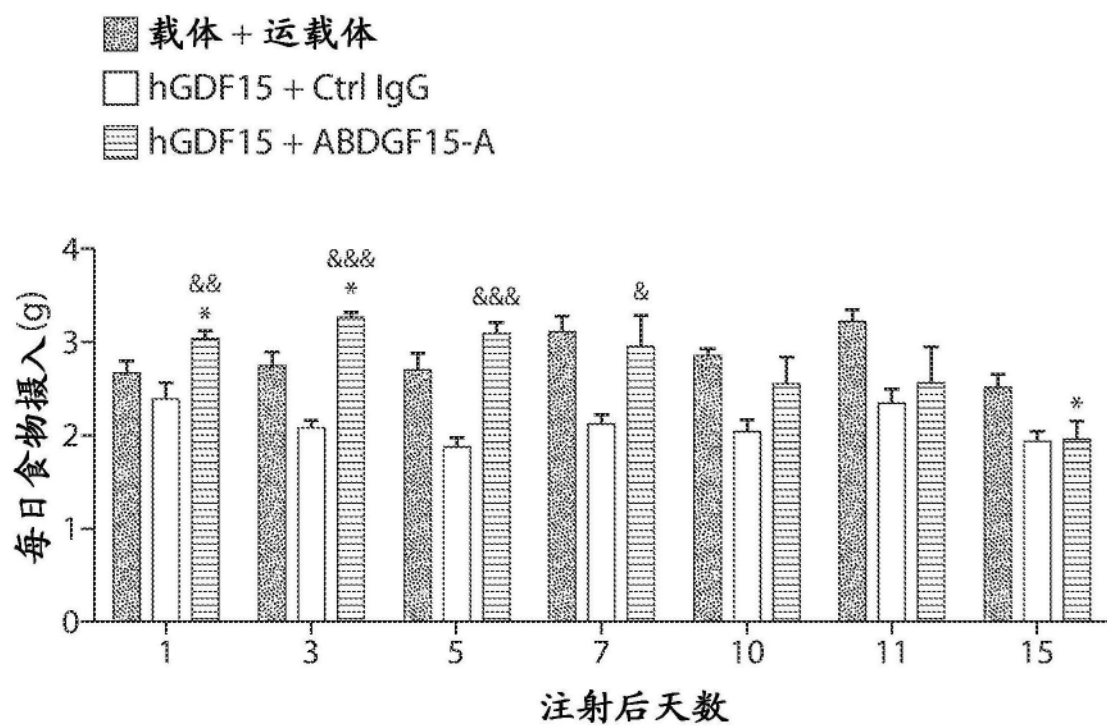


图1A

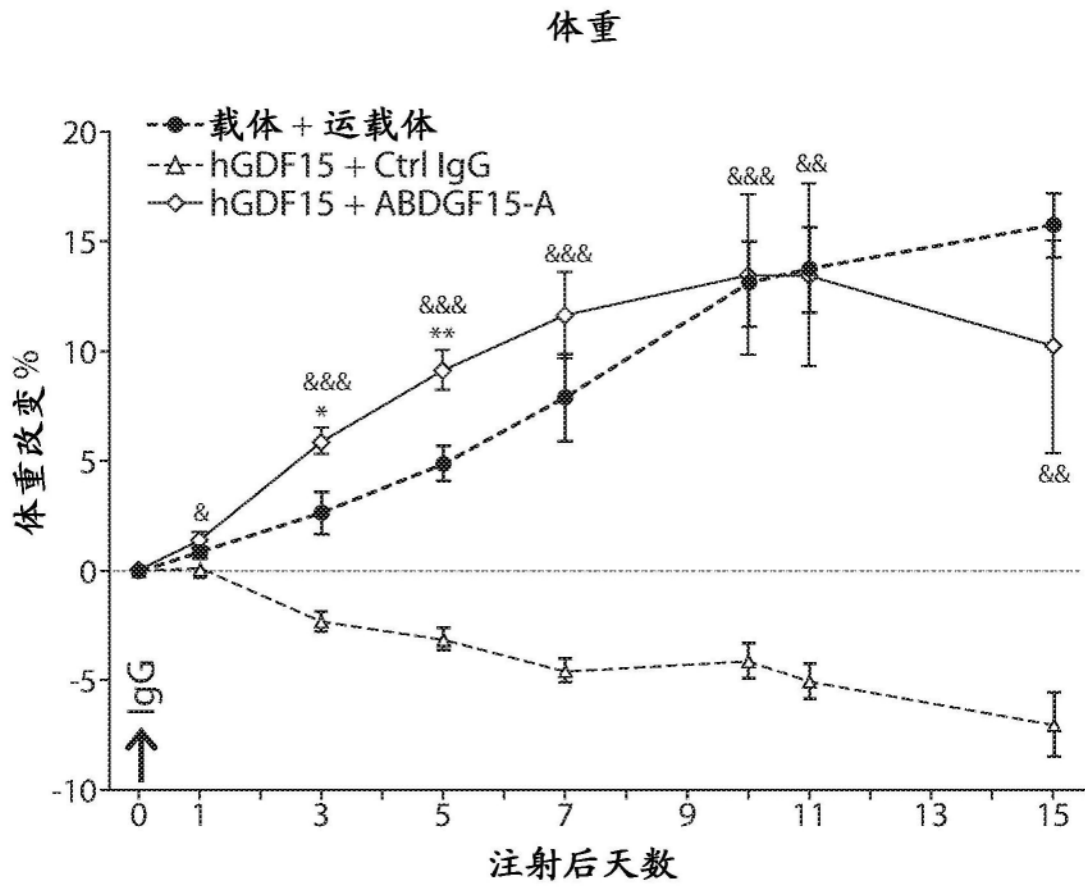


图1B

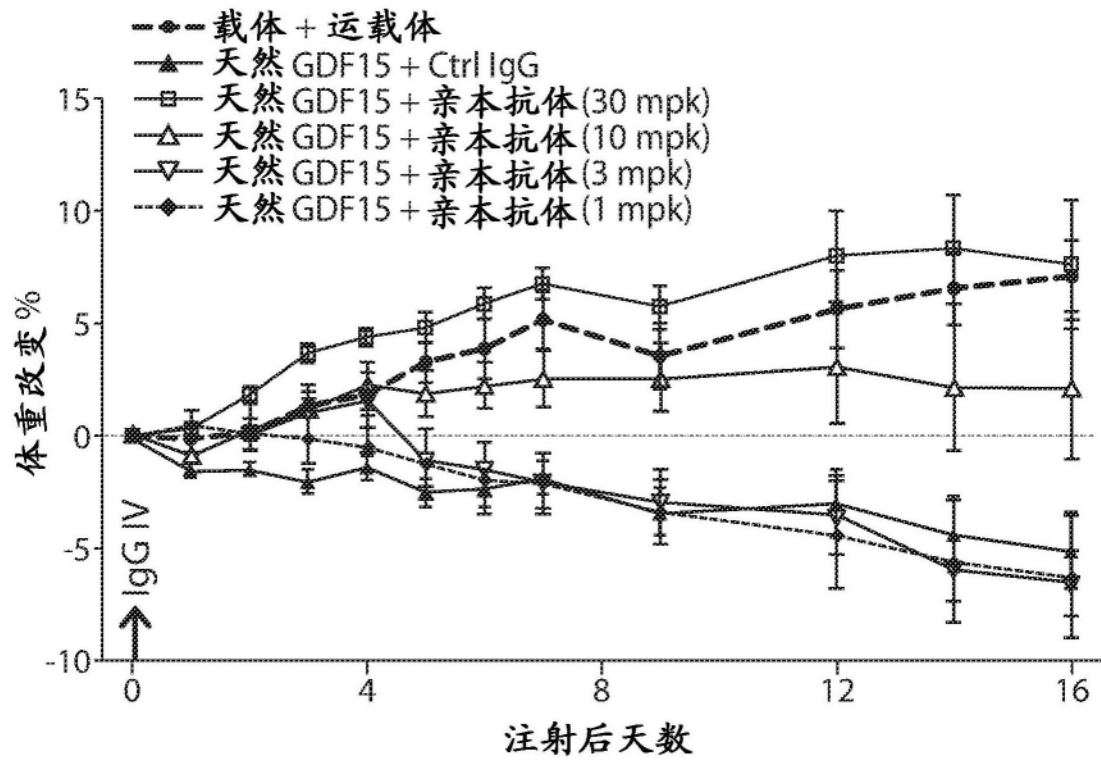


图2A

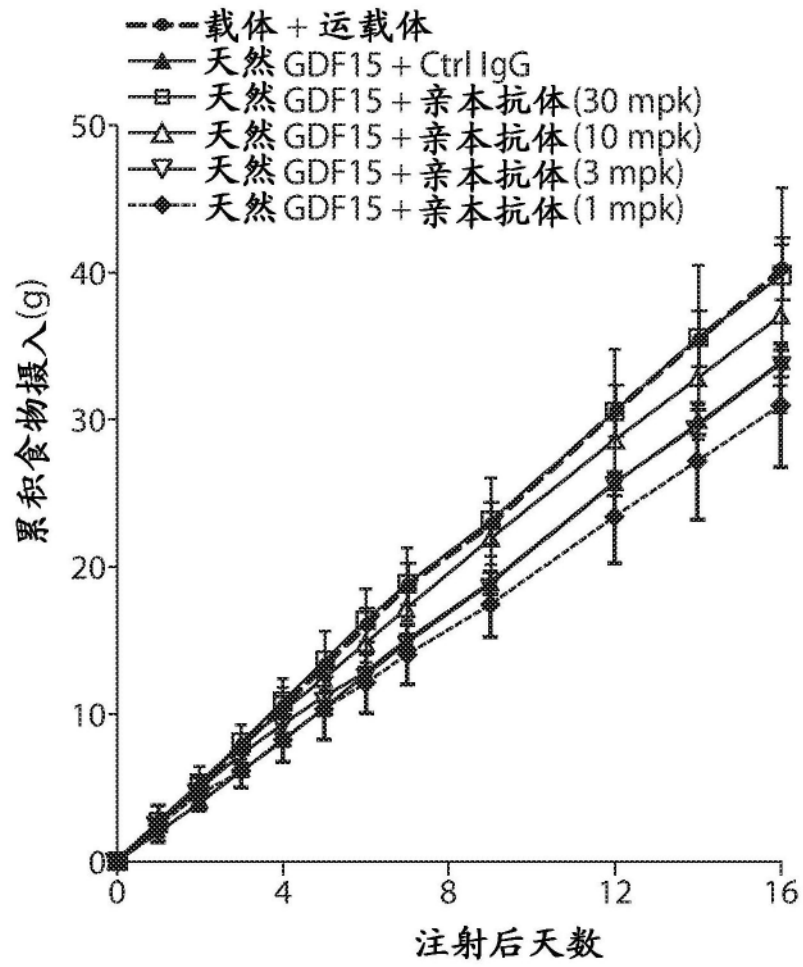


图2B

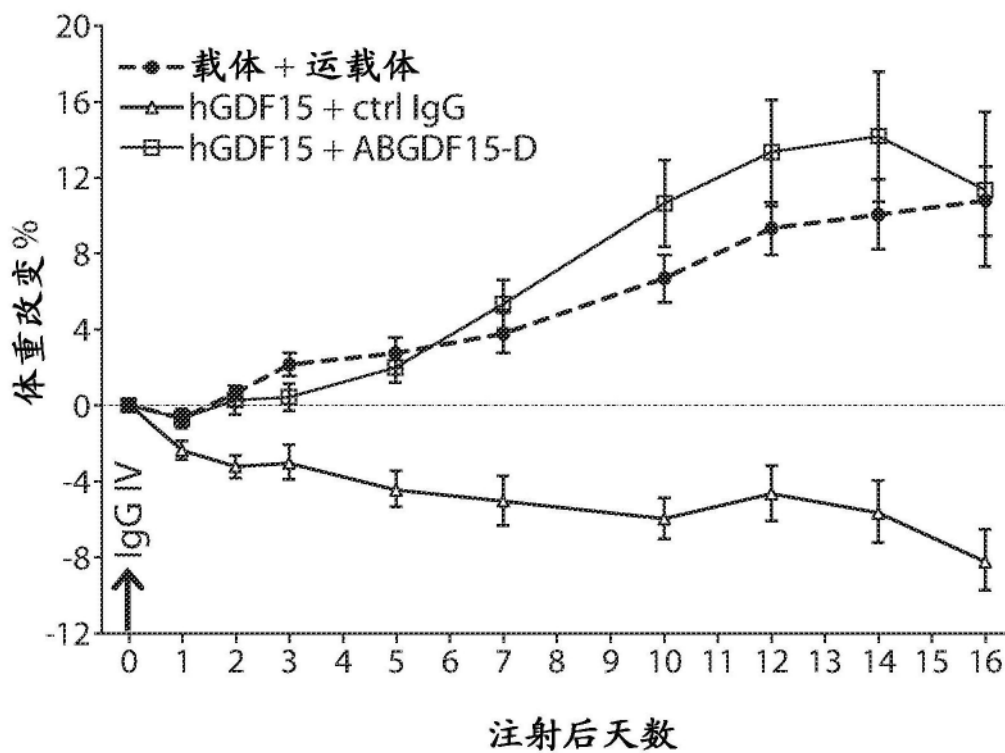


图3A

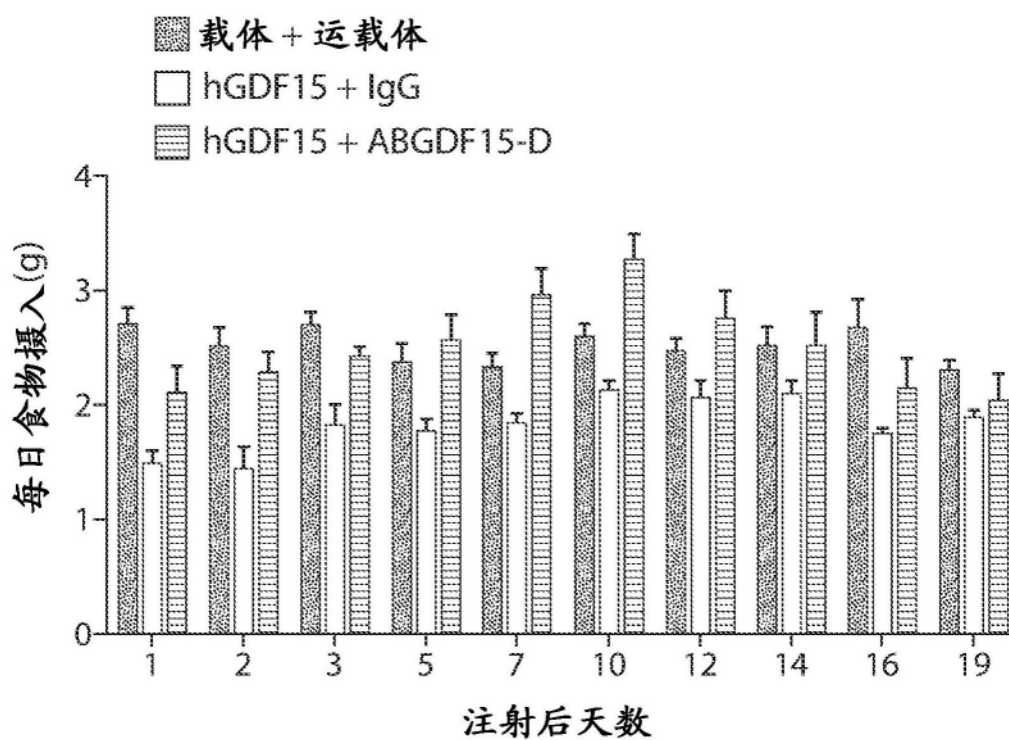


图3B

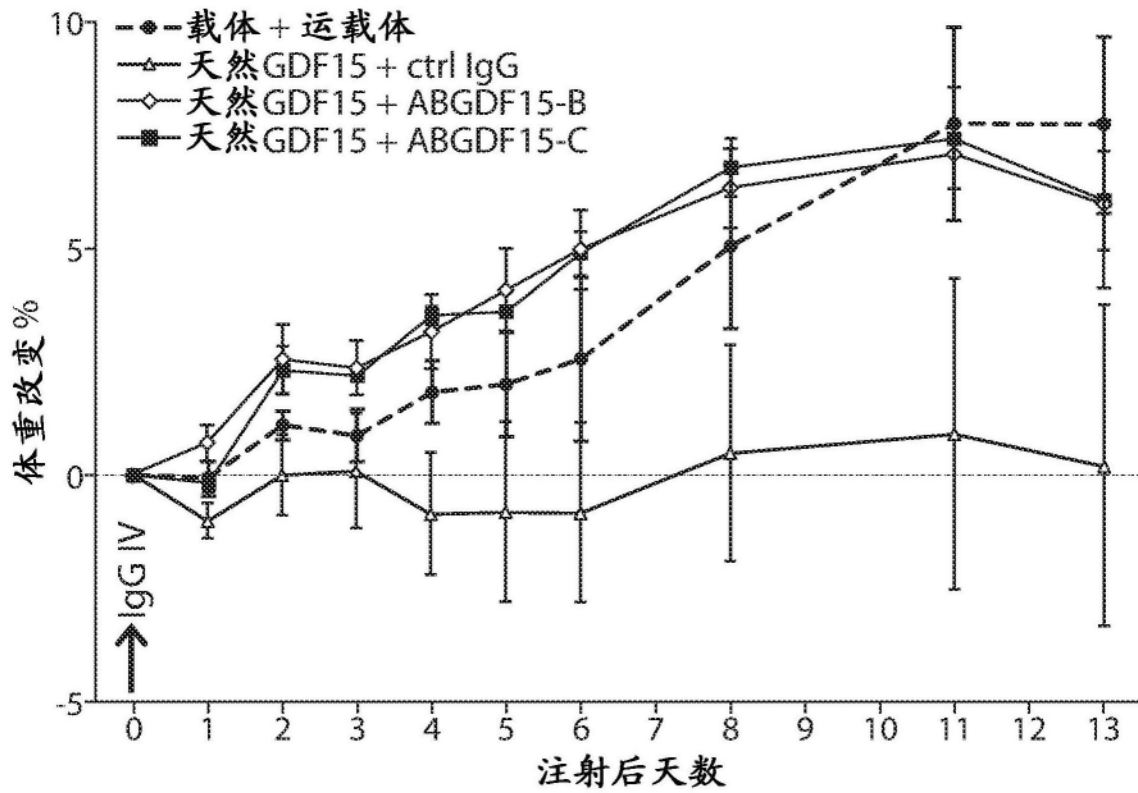


图4

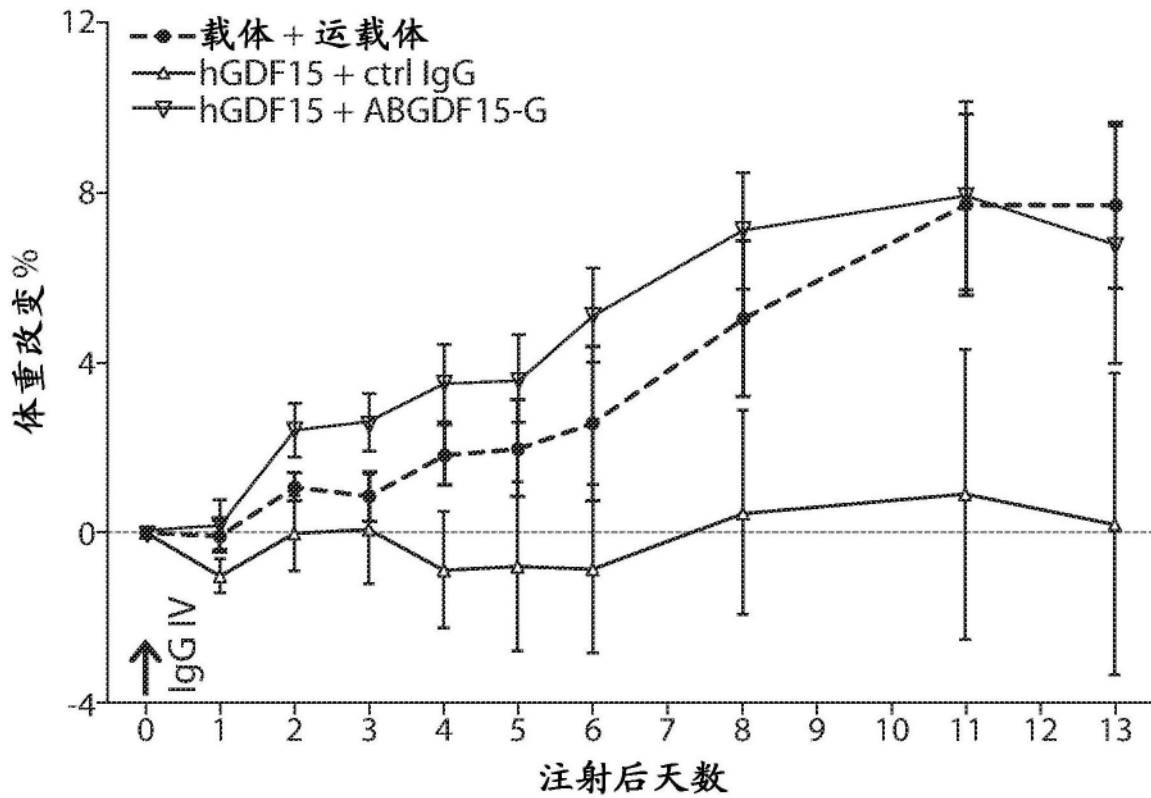


图5

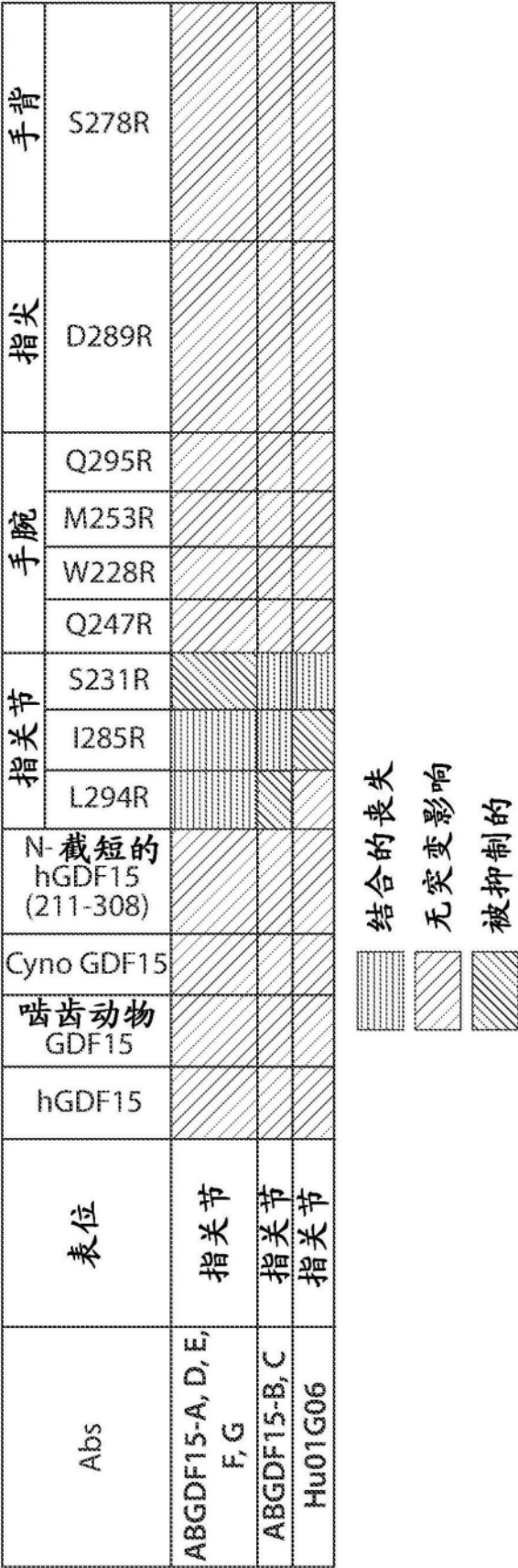


图6

候选者	种系VH	HCDR1	HCDR2	HCDR3
ABGDF15-C	VH1_1-69	GGTFRS- -YAVS	GIIPIFGTAN YAQKFQG	GPIIMGYQFGLF- -DH
ABGDF15-B	VH1_1-69	GGTFRS- -YAVS	GIIPIFGTAN YAQKFQG	GPIIMGYQFGLF- -DH
ABGDF15-A	VH5_5-51	GYSFTD- -YWIS	IIDPSGSYTI YSPSFQG	VSYGGYF- - -DI
ABGDF15-F	VH5_5-51	GYSFTS- -YWIG	VIDPSGSYTI YSPSFQG	YGRYGT YF- - -DY
ABGDF15-E	VH5_5-51	GYSFTS- -YWIG	VIDPSGSYTI YSPSFQG	YGRYGT YF- - -DY
ABGDF15-G	VH1_1-69	GGTFSS- -HYIN	GIIPAFGGAN YAQKFQG	FGSVYVSRYS SYHMDV
ABGDF15-D	VH5_5-51	GYSFTS- -YWIG	VIDPDGSYTI YSPSFQG	YGRYGT YF- - -DY

候选者	种系VL	LCDR1	LCDR2	LCDR3
ABGDF15-C	VL3_3r	SGDNIIGS- -HIVS	DKSNRPS	QTWDSIGSVV
ABGDF15-B	VL3_3j	SGDNIIGS- -HIVS	DKSNRPS	QTWDSIGSVV
ABGDF15-A	VK1_O12	RASQSIS- -NNLN	AASN LQS	FQLDHS P-FT
ABGDF15-F	VL1_1e	SGSSSNIIGVLYVN	SNDNRPS	QSWDSSSN YV
ABGDF15-E	VL1_1e	SGSSSNIIGVLYVN	SNDNRPS	QSWDSSSN YV
ABGDF15-G	VK1_O12	RASQTIY- -RSLA	GASILQS	LQRYTSP-FT
ABGDF15-D	VL_1e	SGSSSNIIGVLYVN	SNDNRPS	QSWDSSSN YV

图7