



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1582165 B

(45) 授权公告日 2013. 05. 29

(21) 申请号 02824570. 9

(22) 申请日 2002. 11. 08

(30) 优先权数据

60/348, 980 2001. 11. 09 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2004. 06. 09

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2002/036107 2002. 11. 08

(87) PCT申请的公布数据

W02003/040170 EN 2003. 05. 15

(73) 专利权人 辉瑞产品公司

地址 美国康涅狄格州

专利权人 安进弗里蒙特公司

(72) 发明人 V · 贝迪安 R · P · 格拉迪尤

J · 科瓦兰 X-C · 佳 X · 冯

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 程泳

(51) Int. Cl.

C07K 16/28 (2006. 01)

C12N 5/10 (2006. 01)

C12N 15/00 (2006. 01)

C12N 15/11 (2006. 01)

C12N 15/12 (2006. 01)

C12N 15/63 (2006. 01)

A61K 39/395 (2006. 01)

A61P 37/00 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 6312693 B1, 2001. 11. 06, 全文.

审查员 田园

权利要求书3页 说明书92页

序列表102页 附图18页

(54) 发明名称

CD40 的抗体

(57) 摘要

本发明涉及一种特异性结合 CD40 (优选为人类 CD40) 且具有作为 CD40 激动剂功能的抗体及其抗原结合部分。本发明也涉及人类抗 -CD40 抗体及其抗原结合部分。本发明也涉及嵌合性、双特异性、衍生化的单链抗体或融合蛋白质的部份。本发明也涉及衍生自人类抗 -CD40 抗体的分离的重链与轻链免疫球蛋白及编码这些免疫球蛋白的核酸分子。本发明也涉及制造人类抗 -CD40 抗体的方法, 包含这些抗体的组合物, 及使用所述抗体与组合物进行诊断与治疗的方法。本发明也提供一种使用编码包含人类抗 -CD40 抗体的重链和 / 或轻链免疫球蛋白分子的核酸分子进行的基因疗法。本发明也涉及一种含有本发明核酸分子的转基因动物。

1. 特异性结合并活化 CD40 的人类单克隆抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体或其抗原结合部分包含含有抗体 21.4.1(ATCC 编号为 PTA-3605)之重链 CDR1、CDR2 和 CDR3 氨基酸序列的重链,以及含有抗体 21.4.1 之轻链 CDR1、CDR2 和 CDR3 氨基酸序列的轻链。

2. 权利要求 1 的单克隆抗体或其抗原结合部分,其中所述重链包含抗体 21.4.1(ATCC 编号为 PTA-3605)的重链可变区氨基酸序列,并且所述轻链包含抗体 21.4.1 的轻链可变区氨基酸序列。

3. 单克隆抗体,其中所述抗体包含:

- (a) 含有抗体 21.4.1(ATCC 编号为 PTA-3605)重链氨基酸序列的重链;和
- (b) 含有抗体 21.4.1 轻链氨基酸序列的轻链。

4. 特异性结合并活化 CD40 的人类单克隆抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体或其抗原结合部分含有重链和轻链,并且其中所述重链包含 SEQ ID NO:42 中的 CDR1、CDR2 和 CDR3 的氨基酸序列,所述轻链包含 SEQ ID NO:44 中的 CDR1、CDR2 和 CDR3 的氨基酸序列。

5. 根据权利要求 4 的单克隆抗体或抗原结合部分,其中所述抗体包含:

- (a) 含有氨基酸序列 SEQ ID NO:42 的重链可变区;和
- (b) 含有氨基酸序列 SEQ ID NO:44 的轻链可变区。

6. 权利要求 5 的单克隆抗体或抗原结合部分,其中所述抗体或部分包含:

- (a) SEQ ID NO:46 所示的不具有信号序列的氨基酸序列,和
- (b) SEQ ID NO:48 所示的不具有信号序列的氨基酸序列。

7. 单克隆抗体,其中所述抗体包含:

- (a) 由不具有信号序列的氨基酸序列 SEQ ID NO:46 组成的重链;和
- (b) 由不具有信号序列的氨基酸序列 SEQ ID NO:48 组成的轻链。

8. 权利要求 1 的单克隆抗体或抗原结合部分,其中所述抗体或部分具有选自下组的至少一种性质:

- a) 不与小鼠、大鼠、狗和 / 或兔子 B 细胞结合;
- b) 会与人类、猕猴和 / 或恒河猴 B 细胞结合;
- c) 其对 CD40 之选择性比其对核受体 κ -B(RANK)、4-1BB(CD 137)、肿瘤坏死因子受体 -1(TNFR-1) 及肿瘤坏死因子受体 -2(TNFR-2) 的受体活化子之选择性高出至少 100 倍;
- d) 其与 CD40 结合之 K_D 为 $4 \times 10^{-10}M$ 或以下;
- e) 其 K_{off} 为 $2 \times 10^{-4}/s$ 或以下;
- f) 可于活体内,于人类 T 细胞和 / 或人类树突细胞之存在下抑制肿瘤生长;
- g) 可于没有人类免疫细胞下,抑制 CD40- 阳性肿瘤生长;
- h) 提高人类 B- 细胞表面上 ICAM、MHC-II、B7-2、CD71、CD23 和 / 或 CD71 的表达;
- i) 提高人类树突细胞分泌 IL-12p40、IL-12p70 和 / 或 IL-8;
- j) 提高人类树突细胞表面上 ICAM、MHC-II、B7-2 和 / 或 CD83 的表达;
- k) 在同种异基因刺激作用期间,提高人类 T 细胞的干扰素 - γ 的表达;
- l) 可于人类 CD40L 存在下与人类 CD40 结合;及
- m) 会与 CD40 的细胞外结构域的结构域 1、结构域 2 或结构域 3 中所含的人类 CD40 的表位结合。

9. 权利要求 1、2、4、5 和 8 中任一项的单克隆抗体或抗原结合部分,它是 Fab 片段、

F(ab')₂ 片段、F_v 片段或单链抗体。

10. 一种药物组合物,其包含根据权利要求 1-9 中任意一项的单克隆抗体或抗原结合部分,以及药物可接受的载体。

11. 根据权利要求 1-9 中任意一项的单克隆抗体或抗原结合部分在制备药物中的用途,所述药物用于治疗对此需要的人类中的过度增生性病变。

12. 根据权利要求 1-9 中任意一项的抗体或抗原结合部分在制备药物中的用途,其中所述药物用于治疗有此需要的人类中的癌症,或增强有此需要的人类中的免疫反应。

13. 根据权利要求 1-9 中任意一项的单克隆抗体或抗原结合部分在制备用于治疗人类 CD40 阴性肿瘤的药物中的用途。

14. 一种分离的细胞系,其产生根据权利要求 1-9 中任意一项的抗体或抗原结合部分。

15. 一种分离的核酸分子,其包含编码根据权利要求 1-9 中任意一项的单克隆抗体或其抗原结合部分的重链或其抗原结合部分的核苷酸序列,以及编码根据权利要求 1-9 中任意一项的单克隆抗体或其抗原结合部分的轻链或其抗原结合部分的核苷酸序列。

16. 根据权利要求 15 的分离的核酸分子,其中该核酸分子包含选自下列的核苷酸序列:

(a) 编码包含抗体 21.4.1(ATCC 编号为 PTA-3605) 重链 CDR1、CDR2 和 CDR3 氨基酸序列的抗体的重链或其抗原结合部分的氨基酸序列的核苷酸序列,和编码包含抗体 21.4.1 轻链 CDR1、CDR2 和 CDR3 氨基酸序列的抗体的轻链或其抗原结合部分的氨基酸序列的核苷酸序列;

(b) 编码包含抗体 21.4.1 重链可变区氨基酸序列和轻链可变区氨基酸序列的核苷酸序列;

(c) 编码抗体 21.4.1 重链氨基酸序列和轻链氨基酸序列的核苷酸序列;

(d) 编码 SEQ ID NO:42 或 46 的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:44 或 48 的轻链氨基酸序列的核苷酸序列;或者,编码 SEQ ID NO:42 或 46 的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:44 或 48 的轻链氨基酸序列的核苷酸序列,如果所述氨基酸序列具有信号序列,则为编码缺乏信号序列的所述氨基酸序列的核苷酸序列;或

(e) SEQ ID NO:41 或 45 的重链核苷酸序列和 SEQ ID NO:43 或 47 的轻链核苷酸序列;或者,SEQ ID NO:41 或 45 的重链核苷酸序列和 SEQ ID NO:43 或 47 的轻链核苷酸序列,如果所述核苷酸序列具有信号序列编码核苷酸序列,则为缺乏信号序列编码核苷酸序列的所述核苷酸序列。

17. 一种载体,其包含编码根据权利要求 1-9 中任意一项的单克隆抗体或其抗原结合部分的重链或其抗原结合部分的核苷酸序列,以及编码根据权利要求 1-9 中任意一项的单克隆抗体或其抗原结合部分的轻链或其抗原结合部分的核苷酸序列。

18. 一种宿主细胞,其包含编码根据权利要求 1-9 中任意一项的单克隆抗体或其抗原结合部分的重链或其抗原结合部分的核苷酸序列,以及编码根据权利要求 1-9 中任意一项的单克隆抗体或其抗原结合部分的轻链或其抗原结合部分的核苷酸序列;或者包含根据权利要求 17 的载体。

19. 一种制造特异性结合并活化 CD40 的抗体或其抗原结合部分的方法,其包括使根据权利要求 18 的宿主细胞或根据权利要求 14 的细胞系于适当条件下培养,并回收该抗体或

抗原结合部分。

CD40 的抗体

[0001] 本申请主张 2001 年 11 月 9 日申请的美国临时申请 60/348,980 的权益。

[0002] 现有技术

[0003] CD40 抗原为属于肿瘤坏死因子受体 (TNF-R) 家族的 50kDa 细胞表面糖蛋白 (Stamenkovic 等人的 EMBOJ. 8 :1403-10(1989))。CD40 表达于许多正常及肿瘤细胞类型中,包括 B 淋巴细胞、树突细胞、单核细胞、巨噬细胞、胸腺表皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞、及平滑肌细胞 (Paule S. 等人的 Cancer Immunol. Immunother. 20 :23-8(1985); Banchereau J. 等人的 Adv. Exp. Med. & Biol. 378 :79-83(1995); Alderson M. R. 等人的 J. of Exp. Med. 178 :669-74(1993); Ruggiero G. 等人的 J. of Immunol. 156 :3737-46(1996); Hollenbaugh D. 等人的 J. of Exp. Med. 182 :33-40(1995); Yellin M. J. 等人的 J. of Leukocyte Biol. 58 :209-16(1995); 及 Lazaar A. L. 等人的 J. of Immunol. 161 :3120-7(1998))。CD40 表达在所有 B- 淋巴瘤及 70% 的所有实体瘤中。虽然为组成型表达,但 CD40 仍可在抗原呈递细胞中利用成熟信号 (如 :LPS、IL-1 β 、IFN- γ 及 GM-CSF) 增量调节其表达。

[0004] CD40 活化作用在调节体液与细胞免疫反应上扮演重要角色。没有 CD40 活化作用的抗原呈递,会造成耐受性,而 CD40 信号可以逆转此类耐受性,增强所有抗原呈递细胞 (APCs) 的抗原呈递作用,帮助分泌辅助细胞因子及趋化因子,提高共同刺激分子表达与信号传递,及刺激免疫细胞的溶胞活性。

[0005] CD40 在 B 细胞增殖作用、成熟及分类转型上扮演关键角色 (Foy T. M. 等人的 Ann. Rev. of Immunol. 14 :591-617(1996))。CD40 信号传递途径中断时,造成血清免疫球蛋白同种型异常分布、缺乏 CD4+T 细胞初始化、及第二体液反应缺陷。例如 :X- 连锁的过多-IgM 综合征是一种与人类 CD40L 基因的突变相关的疾病,且其特征为患者没有能力产生 IgM 同种型以外的抗体,这表示有效的免疫反应需要 CD40 与 CD40L 之间的生产性相互作用。

[0006] CD40 与 CD40L 的关联性造成 CD40 细胞质结构域与 TRAFs (TNF-R 相关因子) 的结合 (Lee H. H. 等人的 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96 :1421-6(1999); Pullen S. S. 等人的 Biochemistry 37 :11836-45(1998); Grammar A. C. 等人的 J. of Immunol. 161 :1183-93(1998); Ishida T. K. 等人的 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93 :9437-42(1996); Pullen S. S. 等人的 J. of Biol. Chem. 274 :14246-54(1999))。与 TRAFs 的相互作用最后可同时活化 NF κ B 与 Jun/AP1 途径 (Tsukamoto N. 等人的 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96 :1234-9(1999); Sutherland C. L. 等人的 J. of Immunol. 162 :4720-30(1999))。依细胞类型而定,此信号传递会加强细胞因子的分泌,如 :IL-6 (Jeppson J. D. 等人的 J. of Immunol. 161 :1738-42(1998); Uejima Y. 等人的 Int. Arch. of Allergy & Immunol. 110 :225-32, (1996))、IL-8 (Gruss H. J. 等人的 Blood 84 :2305-14(1994); von Leoprechting A. 等人的 Cancer Res. 59 :1287-94(1999); Denfeld R. W. 等人的 Europ. J. of Immunol. 26 :2329-34(1996))、IL-12 (Cella M. 等人的 J. of Exp. Med. 184 :747-52(1996); Ferlin W. G. 等人的 Europ. J. of Immunol. 28 :525-31(1998); Armant M. 等人的 Europ. J. of Immunol. 26 :1430-4(1996); Koch F. 等人的 J. of Exp. Med. 184 :741-6(1996); Seguin

R. 与 L.H.Kasper 的 J.of Infect.Diseases179 :467-74(1999) ;Chaussabel D. 等人的 Infection & Immunity67 :1929-34(1999))、IL-15(KuniyoshiJ.S. 等人的 Cellular Immunol.193 :48-58(1999)) 及趋化因子 (MIP1 α 、MIP1 β 、RANTES, 等等)(McDyer J.F. 等人的 J.of Immunol.162 :3711-7(1999) ;SchanielC. 等人的 J.of Exp.Med.188 :451-63(1998) ;Altenburg A. 等人的 J.of Immunol.162 :4140-7(1999) ;Deckers J.G. 等人的 J.of theAm.Society of Nephrology9 :1187-93(1998)) ;提高 I 与 II 类 MHC 的表达 (Santos-ArgumedoL. 等人的 CellularImmunol.156 :272-85(1994)) , 及提高粘着分子的表达 (例如 :ICAM) (LeeH.H. 等人的 Proc.Natl.Acad.Sci.USA.96 :1421-6(1999) ;GroussonJ. 等人的 Archives of Dermatol.Res.290 :325-30(1998) ;KatadaY. 等人的 Europ.J.of Immunol.26 :192-200(1996) ;Mayumi M. 等人的 J.of Allergy & Clin.Immunol.96 :1136-44(1995) ;Flores-Romo L. 等人的 Immunol.79 :445-51(1993)) 及提高共同刺激分子的表达 (例如 :B7) (Roy M. 等人的 Europ.J.of Immunol.25 :596-603(1995) ;Jones K.W. 与 C.J.Hackett 的 Cellular Immunol.174 :42-53(1996) ;Caux C. 等人的 Journal of Exp.Med.180 :1263-72(1994) ;KienerP.A. 等人的 J.of Immunol.155 :4917-25(1995))。由 CD40 参与作用诱发的细胞因子可加强 T 细胞存活及活化。

[0007] 除了加强细胞功能与免疫功能外, CD40 活化作用的影响还包括 :趋化因子与细胞因子的细胞募集作用与分化作用 ;活化单核细胞 ;提高溶胞性 T 淋巴细胞 (CTL) 与天然杀伤 (NK) 细胞的溶胞活性 ;诱发 CD40 阳性肿瘤中的细胞凋亡 ;加强 CD40 阳性肿瘤的免疫原性 ;及产生肿瘤特异性抗体。CD40 活化作用在细胞介导的免疫反应中的角色也已完全确认且已说明于 :Grewal 等人的 Ann. Rev. of Immunol.16 :111-35(1998) ;Mackey 等人的 J.of Leukocyte Biol.63 :418-28(1998) ;及 Noelle R.J., Agents&Actions-Suppl.49 :17-22, 1998)。

[0008] 使用交叉初始化模型系统的试验显示, APCs 的 CD40 活化作用可替代溶胞性 T 淋巴细胞 (CTL) 的形成过程中所需的辅助 T 细胞 (Bennett 等人的 Nature393 :478-480(1998))。由缺乏 CD40L 小鼠的证据可见, 辅助 T 细胞初始化时, 显然需要 CD40 信号传递。(Grewal I.S. 等人的 Science273 :1864-7(1996) ;Grewal I.S. 等人的 Nature378 :617-20(1995))。CD40 活化作用使可产生耐受性的带抗原的 B 细胞转化成有能力的 APCs (Buhlmann J.E. 等人的 Immunity2 :645-53(1995))。CD40 活化作用诱发脊索祖先血细胞成熟及分化成树突细胞 (Flores-Romo L. 等人的 J.of Exp.Med.185 :341-9(1997) ;Mackey M.F. 等人的 J.ofImmunol.161 :2094-8(1998))。CD40 活化作用也诱发单核细胞分化成功能性树突细胞 (Brossart P. 等人的 Blood92 :4238-47(1998))。此外, CD40 活化作用通过 APC-CD40 诱发的细胞因子加强 NK 细胞的溶胞活性 (CarboneE. 等人的 J.of Exp.Med.185 :2053-60(1997) ;Martin-Fontecha A. 等人的 J.of Immunol.162 :5910-6(1999))。此类观察结果显示, CD40 通过诱发 APCs 成熟、分泌辅助细胞因子、增量调节共同刺激分子及加强效应子功能而在开始及加强免疫反应的过程中扮演基本角色。

[0009] CD40 信号传递作用在体液与细胞毒性免疫反应的开始与成熟过程中的关键角色使得此系统成为加强免疫的理想目标。此类加强作用对产生针对肿瘤抗原的有效免疫反应特别重要, 此类肿瘤抗原通常通过活化的 APCs 的交叉初始化而呈递给免疫系统。(Huang A.Y. 等人的 Ciba Foundation Symp.187 :229-44(1994) ;ToesR.E.M. 等人的 Seminars in

Immunol. 10 :443-8(1998) ;Albert M. L. 等人的 Nature392 :86-9(1998) ;Bennett S. R. 等人的 J. of Exp. Med. 186 :65-70(1997))。

[0010] 有几个工作小组已证实 CD40 活化作用于体外及体内对于抗肿瘤反应的有效性 (Toes R. E. M. 等人的 Seminars in Immunol. 10 :443-8(1998))。其中有两个小组使用由病毒转化的细胞的肾细胞癌瘤与皮下肿瘤的肺转移模型,已分别证明 CD40 活化作用可逆转对肿瘤特异性抗原的耐受性,造成 T 细胞的有效抗肿瘤初始化 (prime) (Sotomayor E. M. 等人的 Nature Medicine 5 :780-787(1999) ;Diehl L. 等人的 Nature Medicine 5 :774-9(1999))。在 SCID 小鼠体内的人类乳腺癌细胞株模型中,CD40L 与抗 -CD40 抗体处理也证明其在没有免疫细胞下的抗肿瘤活性 (Hirano A. 等人的 Blood 93 :2999-3007(1999))。近来也在小鼠模型中证实抗 -CD40 抗体对 CD40 的活化作用可根除 CD40⁺ 与 CD40⁻ 淋巴瘤。(French R. R. 等人的 Nature Medicine 5 :548-53(1999))。此外,过去由 Glennie 等人进行的试验得到的结论为:抗 -CD40 抗体产生的信号传递活性在活体内诱发清除肿瘤的效果比可募集效应子的其它抗表面标记抗体更有效 (Tutt A. L. 等人的 J. of Immunol. 161 :3176-85(1998))。当于活体内测试抗 -CD40 抗体对抗 CD40⁺ 肿瘤细胞的活性时,同样也观察到大多数,但非所有抗肿瘤活性均与 CD40 信号传递相关,而非与 ADCC 相关 (Funakoshi S. 等人的 J. of Immunotherapy with Emphasis on Tumor Immunol. 19 :93-101(1996))。另一项试验中,使用多种试剂离体处理骨髓树突细胞,并测试其活体内抗肿瘤活性。此类试验证实,受 CD40L 刺激的 DCs 为可提供抗肿瘤反应的最成熟且最有效的细胞。

[0011] CD40 在抗肿瘤免疫性中的基本角色已在野生型与 CD40^{-/-} 小鼠对肿瘤疫苗反应的比较结果中证实。此类试验显示,CD40^{-/-} 小鼠无法达到正常小鼠所出现的肿瘤免疫性 (Mackey M. F. 等人的 Cancer Research 57 :2569-74(1997))。另一项试验中,从带肿瘤的小鼠取得的脾细胞用肿瘤细胞离体刺激,及使用活化性抗 -CD40 抗体处理,其显示具有加强的肿瘤特异性 CTL 活性 (Donepudi M. 等人的 Cancer Immunol. Immunother. 48 :153 ~ 164(1999))。此类试验证实,CD40 在抗肿瘤免疫性中均占有重要地位,不论 CD40 阳性或阴性肿瘤。由于 CD40 表达于淋巴瘤、白血病、多发性骨髓瘤、大多数鼻咽、膀胱、卵巢及肝的癌瘤,及有些乳腺癌与及结肠直肠癌中,因此 CD40 的活化作用可以有很广泛临床用途。

[0012] 抗 -CD40 活化性单克隆抗体可经多种重要机制根除肿瘤。其中主要为活化宿主树突细胞,以加强肿瘤抗原加工与呈递,并加强 CD40 阳性肿瘤细胞本身的抗原呈递或免疫原性,以活化肿瘤特异性 CD4⁺ 与 CD8⁺ 淋巴细胞。其它抗肿瘤活性可受 CD40 信号传递的其它免疫 - 加强效应介导 (产生趋化因子与细胞因子,募集与活化单核细胞,及加强 CTL 与 NK 溶胞活性),及通过诱发细胞凋亡或刺激针对 ADCC 的体液反应而直接消灭 CD40⁺ 肿瘤。凋亡及死亡的肿瘤细胞可成为肿瘤特异性抗原的重要来源,这些抗原被 CD40 活化的 APCs 处理及呈递。

[0013] 因此极需要医疗性的临床用相关抗 -CD40 激动剂抗体。

[0014] 附图简述

[0015] 图 1A-1H 显示所分离的抗 -CD40 单克隆抗体轻链与重链可变结构域的预测的氨基酸序列与相应轻链与重链基因的种系氨基酸序列的序列比对。克隆与种系序列之间的差异以阴影表示。种系 CDR1、CDR2、与 CDR3 序列以下划线表示。重链序列的比对中,CDR3 区域的明显插入片段以种系序列中的短折线 (-) 表示,CDR3 区域的明显删除位置则以克隆序列

中的短折线(-)表示。

[0016] 图 1A: $V_{\kappa} = A3/A19$ 及 $J = J_{\kappa 1}$ 基因种系氨基酸序列, 以及所预测的 mAbs 3.1.1 与 7.1.2 的 κ -轻链可变区氨基酸序列;

[0017] 图 1B: 来自克隆 15.1.1 的预测的 κ -轻链可变区氨基酸序列与种系氨基酸序列 ($V_{\kappa} = A3/A19$ 与 $J = J_{\kappa 2}$);

[0018] 图 1C: 来自 mAbs10.8.3 与 21.4.1 的预测的 κ -轻链可变区氨基酸序列及种系氨基酸序列 ($V_{\kappa} = L5(DP5)$ 与 $J = J_{\kappa 4}$);

[0019] 图 1D: 来自 mAb3.1.1 的预测的重链可变区氨基酸序列与种系氨基酸序列 ($V_H = 3-30+(DP-49)$, $D = D4+DIR3$ 与 $J = J_H6$);

[0020] 图 1E: 来自 mAb7.1.2 的预测的重链可变区氨基酸序列与种系氨基酸序列 ($V_H = 3-30+(DP-49)$, $D = DIR5+DI-26$ 与 $J = J_H6$);

[0021] 图 1F: 来自 mAb10.8.3 的预测的重链氨基酸序列与种系氨基酸序列 ($V_H = 4.35(VIV-4)$, $D = DIR3$ 与 $J = J_H6$);

[0022] 图 1G: 来自 mAb15.1.1 的预测的重链可变区氨基酸序列与种系氨基酸序列 ($V_H = 4-59(DP-71)$, $D = D4-23$ 与 $J = J_H4$); 及

[0023] 图 1H: 来自 mAb21.4.1 的预测的重链可变区氨基酸序列与种系氨基酸序列 ($V_H = 1-02(DP-75)$, $D = DLR1$ 与 $J = J_H4$)。

[0024] 图 2A-2H 显示所分离的抗-CD40 单克隆抗体中的轻链与重链可变结构域的氨基酸序列与相应轻链与重链基因的种系氨基酸序列的比对。克隆与种系序列之间的差异以黑体表示。种系 CDR1、CDR2、与 CDR3 序列以下划线表示。在重链序列的比对中, CDR3 区域中的明显插入片段以种系序列中的短折线(-)表示, CDR3 区域的明显删除位置则以克隆序列中的短折线(-)表示。

[0025] 图 2A: 来自 mAbs22.1.1、23.5.1 与 23.29.1 的预测的 κ -轻链氨基酸序列及种系氨基酸序列 ($V_{\kappa} = A3/A19$ 与 $J = J_{\kappa 1}$);

[0026] 图 2B: 来自 mAb21.2.1 的预测的 κ -轻链氨基酸序列与种系氨基酸序列 ($V_{\kappa} = A3/A19$ 与 $J = J_{\kappa 3}$);

[0027] 图 2C: 来自 mAbs23.28.1、23.28.1H-C92A 与 24.2.1 的预测的 κ -轻链氨基酸序列及种系氨基酸序列 ($V_{\kappa} = A27$ 与 $J = J_{\kappa 3}$);

[0028] 图 2D: 来自 mAb21.2.1 的预测的重链氨基酸序列与种系氨基酸序列 ($V_H = 3-30+$, $D = DIR3+D6-19$ 与 $J = J_H4$);

[0029] 图 2E: 来自 mAbs22.1.1、22.1.1H-C109A 的预测的重链氨基酸序列及种系氨基酸序列 ($V_H = 3-30+$, $D = D1-1$ 与 $J = J_H6$);

[0030] 图 2F: 来自 mAb23.5.1 的预测的重链氨基酸序列与种系氨基酸序列 ($V_H = 3-30+$, $D = D4-17$ 与 $J = J_H6$);

[0031] 图 2G: 来自 mAb23.29.1 的预测的重链氨基酸序列与种系氨基酸序列 ($V_H = 3-30.3$, $D = D4-17$ 与 $J = J_H6$); 及

[0032] 图 2H: 来自 mAb23.28.1、23.28.1H-D16E 与 24.2.1 的预测的重链氨基酸序列及种系氨基酸序列 ($V_H = 4-59$, $D = DIR1+D4-17$ 与 $J = J_H5$)。

[0033] 图 3 为剂量-反应曲线, 其说明本发明抗-CD40 抗体 (21.4.1) 加强人类树突细胞

产生 IL-12p40 的能力。

[0034] 图 4 为剂量-反应曲线,其说明本发明抗-CD40 抗体 (21.4.1) 加强人类树突细胞产生 IL-12p70 的能力。

[0035] 图 5 说明本发明抗-CD40 抗体 (21.4.1) 提高 Jy 刺激性细胞的免疫原性及加强 CTL 对抗 Jy 目标细胞的活性的能力。

[0036] 图 6 为肿瘤生长抑制曲线,其说明经本发明抗-CD40 抗体 (21.4.1) 处理的 SCID-米色小鼠中 CD40 阳性 Daudi 肿瘤的生长降低结果。

[0037] 图 7 为肿瘤生长抑制曲线,其说明经本发明抗-CD40 抗体 (21.4.1) 及人类树突细胞与 T 细胞处理的 SCID-米色小鼠中 CD40 阴性 K562 肿瘤的生长降低结果。

[0038] 图 8 说明经不同浓度抗-CD40 激动剂 mAb23.29.1 处理的 SCID 小鼠中 CD40 阴性 K562 肿瘤的生长抑制结果。

[0039] 图 9 显示经不同浓度抗-CD40 激动剂 mAb3.1.1 处理的 SCID 小鼠中 CD40 阴性 K562 肿瘤的生长抑制结果。

[0040] 图 10 显示于 T 细胞与树突细胞存在或不存在下经抗-CD40 激动剂 mAb 处理的 SCID 小鼠中 CD40 阳性 Raji 肿瘤的生长抑制结果。

[0041] 图 11 显示经抗-CD40 激动剂抗体处理的 SCID 小鼠中 CD40 阳性 Raji 肿瘤的生长抑制结果。

[0042] 图 12 显示经抗-CD40 激动剂抗体处理的 SCID-米色小鼠中 BT474 乳腺癌细胞的生长抑制结果。

[0043] 图 13 显示经抗-CD40 激动剂抗体处理的 SCID-米色小鼠中 PC-3 前列腺肿瘤的生长抑制结果。

[0044] 图 14 为经静脉接受 Daudi 肿瘤细胞注射 (iv) 并经抗-CD40 激动剂抗体处理的 SCID-米色小鼠的存活曲线。

[0045] 图 15 为针对还原 (R) 与未还原 (NR) 人类 CD40 的抗-CD40 激动剂抗体的蛋白质印迹分析。

[0046] 图 16 为小鼠与人类 CD40 的 D1-D4 结构域的比对。

[0047] 图 17 为小鼠与人类 CD40 氨基酸的比对,其中显示嵌合体的融合位置。

[0048] 图 18 为嵌合性 CD40 构建体图式。

[0049] 发明概述

[0050] 本发明提供一种可与 CD40 结合且可作为 CD40 激动剂的分离的抗体或其抗原结合部分。

[0051] 本发明提供一种组合物,其包含抗-CD40 抗体、或其抗原结合部分,及药物可接受的载体。该组合物可进一步包含另一种成分,如:抗肿瘤剂或显象剂。本发明也提供诊断及医疗方法。

[0052] 本发明提供一种分离的细胞系,如:可产生抗-CD40 抗体或其抗原结合部分的杂交瘤。

[0053] 本发明也提供一种编码抗-CD40 抗体的重链和/或轻链或其抗原结合部分的核酸分子。

[0054] 本发明提供包含该核酸分子的载体与宿主细胞,及重组产生该核酸分子所编码多

肽的方法。

[0055] 本发明也提供一种表达抗-CD40 抗体的重链和 / 或轻链,或其抗原结合部分的非人类转基因动物。

[0056] 本发明也提供一种使用有效量的编码该抗-CD40 抗体的重链和 / 或轻链或其抗原结合部分的核酸分子治疗有此需要的个体的方法。

[0057] 本发明的详细说明

[0058] 定义与一般技术

[0059] 除非另有说明,否则本文中所使用的科学与技术术语应具有那些本领域普通技术人员通常理解的含义。此外,除非本文中另有要求,否则单数术语应包括复数,且复数术语应包括单数。通常,本文中所描述的细胞及组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学及蛋白质与核酸化学,及杂交法所涉及的命名法与其技术均是本领域已知且常用的。

[0060] 本发明的方法与技术通常依据本领域已知的传统方法进行,且说明于本说明书所摘录和讨论的多种一般性及较专业性参考书中,除非另有说明。参见例如: Sambrook 等人的 Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第 2 版 (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989)) 及 Ausubel 等人的 Current Protocols in Molecular Biology (Greene Publishing Associates (1992)), 及 Harlow 与 Lane 的 Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1990)), 其内容已以引用的方式并入本文中。酶反应与纯化技术是根据制造商的说明书进行,通常可依本领域已知的方法或依本文说明的方法进行。与本文中描述的分析化学、合成有机化学、及医学与医药化学相关的命名法,及实验方法与技术是本领域已知且常用的。化学合成法、化学分析法、医药制法、调配法与传送法,及患者的治疗法均采用标准技术。

[0061] 除非另有说明,否则下列术语具有如下定义:

[0062] "多肽"一词包含天然或人造蛋白质、蛋白质片段及蛋白质序列的多肽类似物。多肽可为单体或聚合体。

[0063] "分离的蛋白质"、"分离的多肽"或"分离的抗体"一词指该蛋白质、多肽或抗体的衍生来源基本 (1) 未与其天然状态下所伴随出现的天然联结成分联结,(2) 不含来自相同物种的其它蛋白质,(3) 由不同物种的细胞表达,或 (4) 不会天然发生。因此,若该多肽是经化学合成或于不同于其天然细胞来源的细胞系统中合成时,则该多肽可认为是与其天然联结成分"分离"的。蛋白质也可使用本领域已知的蛋白质纯化技术分离,而使其实质上不含天然联结成分。

[0064] 分离的抗体的实例包括已经使用 CD40 进行亲和性纯化的抗-CD40 抗体,于活体外使用杂交瘤或其它细胞系合成的抗-CD40 抗体,及衍生自转基因小鼠的人类抗-CD40 抗体。

[0065] 蛋白质或多肽为"实质上纯的"、"实质上均质"或"实质上已纯化"是指该样品中至少约 60 至 75% 为单一种类的多肽。多肽或蛋白质可为单体或多聚体。实质上纯的多肽或蛋白质典型地构成约 50%、60%、70%、80% 或 90% W/W 蛋白质样品,更常为约 95%,优选为纯度 99% 以上。蛋白质纯度或均质性可依本领域已知的多种方法判定,如:由蛋白质样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳后,使用本领域已知的染料为凝胶染色,检查单一多肽条带。为了有些目的,可能使用 HPLC 或其它本领域已知的手段提供较高分辨率的纯化。

[0066] 本文所使用“多肽片段”一词指删除氨基末端和/或羧基末端,但其余氨基酸序列仍与该天然序列的相应位置相同的多肽。有些实施方案中,片段长度至少为 5、6、8 或 10 个氨基酸。其它实施方案中,片段至少为 14 个、至少 20 个、至少 50 个、至少 70、80、90、100、150 或 200 个氨基酸。

[0067] 本文中所使用“多肽类似物”一词指这样一种多肽,其包含的片段实质上与氨基酸序列的一部分相同且具有下列性质:(1) 在适宜结合条件下,与 CD40 特异性结合,(2) 有能力活化 CD40,(3) 有能力增量调节细胞表面分子(如:ICAM、MHC-II、B7-1、B7-2、CD71、CD23 与 CD83)的表达,或(4) 有能力加强分泌细胞因子,如:IFN- β 1、IL-2、IL-8、IL-12、IL-15、IL-18 与 IL-23。典型地,多肽类似物相对于天然序列,包含保守性氨基酸取代(或插入或删除)。类似物典型地长为至少 20 或 25 个氨基酸,优选为至少 50、60、70、80、90、100、150 或 200 个氨基酸或更长,且经常长达天然多肽的全长度。

[0068] 优选氨基酸取代为:(1) 降低对蛋白质水解作用的敏感性,(2) 降低对氧化作用的敏感性,(3) 改变形成蛋白质复合物的结合亲合性,及(4) 赋予或修改此类类似物的其它生理化学或功能性质。类似物可包括序列不同于天然肽序列的多种突变蛋白质。例如:可在天然序列中(优选为形成分子间接触的结构域外围的多肽部份中)进行单一或多重氨基酸取代(优选为保守性氨基酸取代)。保守性氨基酸取代实质上不应改变亲本序列的结构特性(例如:替代的氨基酸不应有打破亲本序列螺旋或瓦解亲本序列特有的二级结构的倾向)。本领域已知的多肽二级与三级结构实例说明于 Creighton 编辑的 *Proteins, Structures and Molecular Principles* (W. H. Freeman and Company, New York (1984)); C. Branden 与 J. Tooze 编辑的 *Introduction to Protein Structure* (Garland Publishing, New York, N. Y. (1991)); 及 Thornton 等人的 *Nature* 354:105 (1991), 其内容已以引用的方式并入本文中。

[0069] 非肽类似物具有类似肽模板的性质,因此常于制药界中用为药物。此类类型的非肽化合物称为“肽模拟物”。Fauchere 的 *J. Adv. Drug Res.* 15:29 (1986); Veber 与 Freidinger 的 *TINS*, p. 392 (1985); 及 Evans 等人的 *J. Med. Chem.* 30:1229 (1987), 其内容已以引用的方式并入本文中。此类化合物经常藉助于计算机化分子建模开发出来。肽模拟物在结构上类似具有医疗用途的肽,可用于产生同等医疗效力或预防效力。通常,肽模拟物在结构上类似模范多肽(也即具有所需生化性质或医药活性的多肽),如:人类抗体,但其中一个或多个肽联结可选地利用本领域已知的方法,被选自下列的联结置换: $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{S}-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ (顺式与反式)、 $-\text{COCH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 、与 $-\text{CH}_2\text{SO}-$ 。一致序列中一个或多个氨基酸用相同种类型的 D-氨基酸(例如:以 D-赖氨酸置换 L-赖氨酸)进行系统性取代时,可产生更稳定的肽。此外,包含一致序列或实质上相同一致序列变化的受限的肽可依本领域已知的方法产生(Rizo 与 Gierasch 的 *Ann. Rev. Biochem.* 61:387 (1992), 其内容已以引用的方式并入本文中);例如:添加可以形成分子内二硫键而使肽环化的内部半胱氨酸残基。

[0070] “抗体”指完全抗体或其抗原结合部分,所述抗原结合部分会与完整抗体竞争特异性结合。其一般说明参见 *Fundamental Immunology*, 第 7 章 (Paul, W. 编辑, 第 2 版, Raven Press, N. Y. (1989)) (其内容已以引用的方式完全并入本文中,供所有目的用)。抗原结合部分可利用重组 DNA 技术或酶性或化学性裂解完整抗体而产生。抗原结合部分包括:Fab、

Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv、dAb、与补体决定区(CDR)片段、单链抗体(scFv)、嵌合抗体、双重抗体(diabodies)与多肽,所述多肽包含足以赋予与特异性抗原与多肽的结合性的抗体的至少一部份。

[0071] 从N-末端至C-末端,轻链与重链可变结构域均包含FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3与FR4区。各结构域的氨基酸分配是根据Kabat的"Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)),或Chothia与Lesk的J. Mol. Biol. 196:901-917(1987);Chothia等人的Nature 342:878-883(1989)中的定义。

[0072] 本文中以数字表示的抗体是指得自相同编号的杂交瘤的单克隆抗体。例如:单克隆抗体3.1.1得自杂交瘤3.1.1。

[0073] 本文中所使用Fd片段指该由VH与CH1结构域组成的抗体片段;Fv片段由抗体的单臂中VL与VH结构域组成;及dAb片段(Ward等人的Nature 341:544-546(1989))由VH结构域组成。

[0074] 有些实施方案中,抗体为单链抗体(scFv),其中VL与VH结构域经由合成的连接体配对形成单价分子,该连接体使所述结构域得以形成单一蛋白质链。(Bird等人的Science 242:423-426(1988)与Huston等人的Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883(1988))。有些实施方案中,抗体为双重抗体(diabodies),也即VH与VL结构域均表达在单一多肽链上的二价抗体,但其中使用的连接体太短,无法在同一条链上两个结构域之间形成配对,以致迫使结构域必需与另一条链上的互补结构域配对,从而创造出两个抗原结合位置。(参见例如:Holliger P.等人的Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448(1993),及Poljak R. J.等人的Structure 2:1121-1123(1994))。有些实施方案中,可将来自本发明抗体的一个或多个CDRs,经由共价性或非共价性方式引进分子中,形成可特异性结合CD40的免疫粘附素。此类实施方案中,CDR(s)可作为较大多肽链的一部分引进,可与另一条多肽链共价联结,或可以非共价性方式引进。

[0075] 具有一个或多个结合位置的实施方案中,此类结合位置可相同或相异。

[0076] 本文所使用"人类抗体"一词指其中所有可变性及恒定性结构域序列均为人类序列的任何抗体。此类抗体可依下文中说明的多种方式制备。

[0077] 本文所使用"嵌合抗体"一词指包含来自两种或多种不同抗体的区段的抗体。在一项实施方案中,一个或多个CDRs衍生自人类抗-CD40抗体。另一项实施方案中,所有CDRs均衍生自人类抗-CD40抗体。另一项实施方案中,于嵌合抗体中组合来自一种以上人类抗-CD40抗体的CDRs。例如:嵌合抗体可包含来自第一种人类抗-CD40抗体中轻链的CDR1、来自第二种人类抗-CD40抗体中轻链的CDR2、与来自第三种人类抗-CD40抗体中轻链的CDR3与CDR3,且来自重链的CDRs可衍生自一种或多种其它抗-CD40抗体。此外,构架区可衍生自相同抗-CD40抗体或衍生自一个或多个不同人体。

[0078] 本文所使用"活化型抗体"(本文中也称为"激动剂抗体")指该抗体当加至表达CD40的细胞、组织或生物体中时,可使一种或多种CD40活性提高至少约20%。有些实施方案中,抗体活化CD40活性达至少40%、50%、60%、70%、80%、85%。有些实施方案中,于CD40L的存在下添加活化型抗体。有些实施方案中,使用全血表面分子增量调节分析法测定活化型抗体的活性。参见实例VII。另一项实施方案中,使用树突细胞分析法测定IL-12

的释出,来测定活化型抗体的活性。参见实例 VIII。另一项实施方案中,使用活体内肿瘤模型测定活化型抗体的活性。参见实例 X。

[0079] 抗体或免疫球蛋白分子的片段或类似物很容易由本领域普通技术人员依据本说明书的教导制备。片段或类似物的优选氨基-与羧基-末端出现在功能性结构域的临界处。结构性与功能性结构域可经由比对核苷酸和/或氨基酸序列数据与已公开或专有的序列数据库来判别。优选采用计算机化比对法来判别序列基元或预测出现在其它已知结构和/或功能的蛋白质中的蛋白质构象结构域。可采用已知方法判别折叠成已知三维结构的蛋白质序列。参见 Bowie 等人的 Science 253:164(1991)。

[0080] 本文所使用“表面胞质团共振(surface plasmon resonance)”指可经由检测生物感应器基质中蛋白质浓度的变化,来分析实时生物特异性相互作用的光学现象,例如:使用 BIAcore 系统进行(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N. J.)。进一步的说明可参见 Jonsson U. 等人的 Ann. Biol. Clin. 51:19-26(1993); Jonsson U. 等人的 Biotechniques 11:620-627(1991); Jonsson B. 等人的 J. Mol. Recognit. 8:125-131(1995);及 Johnsson B. 等人的 Anal. Biochem. 198:268-277(1991)。

[0081] “ K_D ”一词指特定抗体-0 抗原相互作用的平衡解离常数。

[0082] “表位”一词包括任何可特异性结合免疫球蛋白或 T-细胞受体的蛋白质决定簇。表位决定簇通常由化学活性表面分子群组成,如:氨基酸或糖侧链,且通常具有特定三维结构特性,及特定电荷特性。当抗体的平衡解离常数 $\leq 1 \mu M$,优选为 $\leq 100nM$,最优选为 $\leq 10nM$ 时,可认为抗体与抗原特异性结合。

[0083] 本文所采用的 20 种常见氨基酸与其缩写是依其常见用法。参见 Immunology-A Synthesis(第二版,E. S. Golub 与 D. R. Gren 编辑,Sinauer Associates,Sunderland,Mass.(1991)),其内容已以引用的方式并入本文中。

[0084] “多核苷酸”一词在本文中至少长 10 个碱基的聚合型核苷酸,其可为核糖核苷酸或脱氧核苷酸或此两种型式核苷酸的修饰型。此术语包括单链与双链。

[0085] 本文所采用的“分离的多核苷酸”一词指基因组、cDNA 或合成的多核苷酸,或其某些组合,“分离的多核苷酸”基本(1)不与天然发现的“分离的多核苷酸”相关联的多核苷酸的全部或部分结合,(2)与原本非天然联结的多核苷酸进行可操作性连接,或(3)不会在自然界中以较大序列的一部份出现。

[0086] 本文所使用“寡核苷酸”一词包括利用天然与非天然寡核苷酸键共同联结的天然与经修饰的核苷酸。寡核苷酸为多核苷酸子序列,通常长度包含 200 个碱基或更少。优选寡核苷酸为长 10 至 60 个碱基,最优选为长 12、13、14、15、16、17、18、19、或 20 至 40 个碱基。寡核苷酸通常为单链,例如:引物与探针,但寡核苷酸也可双链,例如:用于构建基因突变体时。本发明寡核苷酸可为有义或反义寡核苷酸。

[0087] 本文所使用“天然核苷酸”一词包括脱氧核糖核苷酸与核糖核苷酸。本文所使用“经修饰的核苷酸”一词包括具有经修饰或经取代糖基等等的核苷酸。“寡核苷酸联结”在本文中包括这样一些寡核苷酸联结,如:硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、二硒代磷酸酯、硫代苯氨基磷酸酯、苯氨基磷酸酯、氨基磷酸酯,等等。参见例如:LaPlanche 等人的 Nucl. Acids Res. 14:9081(1986); Stec 等人的 J. Am. Chem. Soc. 106:6077(1984); Stein 等人的 Nucl. Acids Res. 16:3209(1988); Zon 等人的 Anti-Cancer Drug Design 6:

539(1991);Zon 等人的 Oligonucleotides and Analogues:A Practical Approach, pp. 87-108(F.Eckstein编辑,Oxford University Press,OxfordEngland)(1991));美国专利 No. 5, 151, 510;Uhlmann 与 Peyman 的 Chemical Reviews90 :543(1990),其内容已以引用的方式并入本文中。若需要时,寡核苷酸可包括检测标记。

[0088] “可操作性连接”序列包括紧邻目标基因的表达控制序列及具有反向作用或与目标基因具有一段距离的表达控制序列。本文中所使用“表达控制序列”指其连接的编码序列为了进行表达及处理而必需的多核苷酸序列。表达控制序列包括适当的转录开始、终止、启动子与增强子序列;有效的 RNA 处理信号如:剪接与聚腺苷酸化信号;稳定细胞质 mRNA 的序列;加强翻译效率的序列(也即 Kozak 一致序列);加强蛋白质稳定性的序列;及若需要时,促进蛋白质分泌的序列。此类控制序列的性质差异依宿主生物体而定;在原核生物中,此类控制序列通常包括启动子、核糖体结合位置、及转录终止序列;在真核生物中,此类控制序列通常包括启动子与转录终止序列。“控制序列”一词应至少包括所有为了表达与加工处理所必要的成分,也可包括其它有益的成分,例如:前导序列与融合对象序列(fusion partner sequence)。

[0089] 本文所使用“载体”一词指可运送与其连接的另一种核酸的核酸分子。有些实施方案中,载体为质粒,也即环形双链 DNA,其中可连接其它 DNA 节段。有些实施方案中,载体为病毒载体,其中外加的 DNA 节段可连接至病毒基因组中。有些实施方案中,载体可于其所引入的宿主细胞中(例如:具有细菌性复制起点的细菌性载体与游离型哺乳动物载体)进行自主性复制。其它实施方案中,载体(例如:非游离型哺乳动物载体)可于引进宿主细胞中后整合入宿主细胞的基因组中,藉以与宿主基因组一起复制。此外,某些载体可指导其所操纵性联结的基因表达。此类载体在本文中称为“重组表达载体”(或简称“表达载体”)。

[0090] 本文所使用“重组宿主细胞”(或简称“宿主细胞”)一词指其中已引进重组表达载体的细胞。应了解,“重组宿主细胞”与“宿主细胞”不仅指特定的某个体细胞,也指此类细胞的子代。由于某些修饰可能因突变或环境影响而发生在下一代中,此类子代事实上不一定与母细胞相同,但仍包括在本文所使用的“宿主细胞”一词的范围内。

[0091] “选择性杂交”在本文中指可检测到的特异性结合。根据本发明多核苷酸、寡核苷酸与其片段可于尽可能降低与非特异性核酸产生可检测到的结合作用的杂交及洗涤条件下,与核酸链进行选择性杂交。“高严格性”或“高度严格”条件可用于达到本领域已知且将于本文中讨论的选择性杂交条件。“高严格性”或“高度严格”条件的一项实例为由多核苷酸与另一种多核苷酸孵育,其中一种多核苷酸可固定在固体表面上(如:膜),于杂交缓冲液中(6X SSPE 或 SSC、50%甲酰胺、5XDenhardt's 试剂、0.5% SDS、100 μg/ml 变性鲑鱼精子 DNA 片段),于 42℃ 杂交温度下培养 12-16 小时后,随后于 55℃ 下,使用洗涤缓冲液(1X SSC、0.5% SDS)洗涤 2 次。也参见如上述 Sambrook 等人的文献,pp. 9. 50-9. 55。

[0092] 核酸序列说明中的“序列同一性百分比”一词指两种序列进行最大相关性比对时,为相同的残基。序列同一性比较的长度至少约 9 个核苷酸,通常至少约 18 个核苷酸,更通常至少约 24 个核苷酸,典型为至少约 28 个核苷酸,更典型为至少约 32 个核苷酸,优选为至少约 36、48 或更多个核苷酸。本领域已知有多种不同算法可用于测量核苷酸序列同一性。例如:可使用 FASTA、Gap 或 Bestfit 比对多核苷酸序列,其是威斯康星州麦迪逊

市遗传计算机小组 (GCG) 的 WisconsinPackage10.0 版程序。FASTA 包括例如 :FASTA2 与 FASTA3 程序,提供疑问序列 (query sequence) 与搜寻序列 (search sequence) 之间最优化重迭区的排列及同一性百分比 (Pearson, Methods Enzymol. 183 :63-98(1990) ;Pearson, MethodsMol.Biol. 132 :185-219(2000) ;Pearson, Methods Enzymol. 266 :227-258(1996) ; Pearson, J. Mol. Biol. 276 :71-84(1998) ;其内容已以引用的方式并入本文中)。除非另有说明,否则特定程序或算法使用默认参数。例如 :核酸序列之间的序列同一性百分比可使用 FASTA,以其默认参数测定 (字长为 6,计分矩阵中使用 NOPAM 因子) 或使用 GCG6.1 版所提供的 Gap,以其默认参数测定,其内容已以引用的方式并入本文中。

[0093] 除非另有说明,否则所提及的核苷酸序列包含其互补链。因此,应了解,所提及的具有特定序列的核酸应包含其具有互补序列的互补链。

[0094] 分子生物学领域中,研究者可互换使用 " 序列同一性百分比 " 、 " 序列相似性百分比 " 及 " 序列同源性百分比 " 等术语。本申请案中,此类术语仅用在核酸序列时具有相同含义。

[0095] 当提及核酸或其片段时, " 实质相似性 " 或 " 实质序列相似性 " 指当经过适当插入或删除后,与另一种核酸 (或其互补链) 进行最优比对时,依任何已知的序列同一性算法 (如 :上述 FASTA、BLAST 或 Gap) 测定的核苷酸序列同一性为至少约 85%,优选为至少约 90%,更优选为至少约 95%、96%、97%、98%或 99%。

[0096] 应用在多肽上时, " 实质同一性 " 一词指当经过最适比对后,如 :采用 GAP 或 BESTFIT 程序,使用默认缺口值测定两种肽序列之间具有至少 70、75 或 80%序列同一性,优选为至少 90 或 95%序列同一性,更优选为至少 97、98 或 99%序列同一性。优选的,不相同的残基位置的差异最好为保守性氨基酸取代。" 保守性氨基酸取代 " 指其中氨基酸残基被另一种具有化学性质 (例如 :电荷或亲水性) 类似的侧链 R 基的氨基酸残基取代。通常,保守性氨基酸取代实质上不会改变蛋白质的功能性质。若其中两种或多种氨基酸序列的差异在于保守性取代时,可使序列同一性百分比或相似度上调,以校正取代作用的保守性质。参见例如 :Pearson, Methods Mol. Biol. 243 :307-31(1994)。具有相似化学性质的侧链的氨基酸基团实例包括 :1) 脂肪族侧链 :甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、与异亮氨酸 ;2) 脂肪族 - 羟基侧链 :丝氨酸与苏氨酸 ;3) 含酰胺侧链 :天冬酰胺与谷氨酰胺 ;4) 芳香族侧链 :苯丙氨酸、酪氨酸、与色氨酸 ;5) 碱性侧链 :赖氨酸、精氨酸、与组氨酸 ;6) 酸性侧链 :天冬氨酸与谷氨酸 ;及 7) 含硫侧链 :半胱氨酸与甲硫氨酸。优选保守性氨基酸取基组为 :缬氨酸 - 亮氨酸 - 异亮氨酸、苯丙氨酸 - 酪氨酸、赖氨酸 - 精氨酸、丙氨酸 - 缬氨酸、谷氨酸 - 天冬氨酸、及天冬酰胺 - 谷氨酰胺。

[0097] 或者,保守性置换为在 Gonnet 等人的 Science256 :1443-45(1992) (其内容已以引用的方式并入本文中) 所揭示的 PAM250 对数 - 近似值矩阵中得到正值的任何变化。" 适度保守性 " 置换为在 PAM250 对数 - 近似值矩阵中得到非负值的任何变化。

[0098] 多肽的序列相似性 (也称为序列同一性) 典型地是使用序列分析软件测定。蛋白质分析软件依据不同取代、删除及其它修饰 (包括保守性氨基酸取代) 指定的相似性测定值,将相似的序列配对。例如 :GCG 包含的程序如 : " Gap " 与 " Bestfit " 可利用默认参数来确定极相关的多肽之间的序列同源性或序列同一性 (如 :来自不同生物品种的同源肽) 或野生型蛋白质与其突变蛋白质之间的序列同源性或序列同一性。参见例如 :6.1 版 GCG。

多肽序列也可利用 FASTA (6.1 版 GCG 程序), 使用默认参数或推荐参数进行比对。FASTA (例如 :FASTA2 与 FASTA3) 提供疑问序列与搜寻序列之间最优重叠区的比对及序列同一性百分比 (Pearson, Methods Enzymol. 183 :63-98 (1990) ;Pearson, Methods Mol. Biol. 132 :185-219 (2000))。当用本发明序列与含有大量来自不同生物体的序列的数据库进行比对时, 另一项优选算法为计算机程序 BLAST, 尤指 blastp 或 tblastn, 其使用默认参数测定。参见例如 :Altschul 等人的 J. Mol. Biol. 215 :403-410 (1990) ;Altschul 等人的 Nucleic Acids Res. 25 :3389-402 (1997) ;其内容已以引用的方式并入本文中。

[0099] 用于比对同源性的多肽序列长度通常为至少约 16 个氨基酸残基, 通常至少约 20 个残基, 更通常为至少约 24 个残基, 典型为至少约 28 个残基, 优选为超过约 35 个残基。当搜寻含有来自大量多种不同生物体的序列的数据库时, 最好比对氨基酸序列。

[0100] 本文所使用“标记”或“标记的”术语指将另一种分子整合入抗体中。一项实施方案中, 标记为可检测的标记, 例如 :整合入放射性标记的氨基酸或附接在生物素化部份的多肽上, 其可利用标记的抗生物素蛋白检测 (例如 :含荧光标记的链霉抗生物素或可使用光学或比色法检测的酶活性)。另一项实施方案中, 标记可为医疗性的, 例如 :药物缀合物或毒素。本领域已知有多种标记多肽与糖蛋白的方法可以使用。多肽的标记实例包括 (但不限于) 下列 :放射性同位素或放射性核素 (例如 : ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I)、荧光标记 (例如 :FITC、罗丹明、镧系无机发光材料)、酶标记 (例如 :辣根过氧化酶、 β -半乳糖苷酶、荧光素酶、碱性磷酸酶)、化学发光标记、生物素基团、可由第二报导体识别的预定多肽表位 (例如 :亮氨酸拉链型配对序列, 第二抗体的结合位置、金属结合性结构域、表位标签), 磁性试剂, 如 :钆螯合物、毒素如百日咳毒素、紫杉醇、细胞松弛素 B、短杆菌素 D、溴乙啶、吐根碱、丝裂霉素、鬼臼亚乙苷、丹特赛 (tenoposide)、长春花新碱、长春花碱、秋水仙素、阿霉素、道诺红菌素、dihydroxyanthracin dione、mitoxantrone、光神霉素、放线菌素 D、1-去氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛尔与嘌呤霉素及其类似物或同源物。有些实施方案中, 标记是利用不同长度的间隔臂连接的, 以降低潜在的空间位阻。

[0101] 患者一词包括人类及动物受试者。

[0102] 本说明书与权利要求全文中, “包括”或其变体如“包含”意指包括所述实体或一群实体, 但不排除任何其它实体或实体群。

[0103] 人类抗-CD40 抗体与其表征

[0104] 人类抗体可避免某些与具有非-人类 (例如 :啮齿类动物) 可变区或恒定区的抗体相关的问题。此类问题包括抗体的快速清除或对抗抗体的免疫反应。因此, 在一项实施方案中, 本发明提供人源化的抗-CD40 抗体。另一项实施方案中, 本发明提供人类抗-CD40 抗体。有些实施方案中, 人类抗-CD40 抗体是由其基因组中包含人类免疫球蛋白基因的啮齿类动物经免疫接种而产生人类抗体。人类抗-CD40 抗体应可使原本对非人类单克隆抗体或非人类衍生的单克隆抗体 (Mabs) 的免疫原性及过敏反应降至最低, 因此可提高所施用抗体的效力与安全性。完全人类抗体应可用在治疗慢性及复发的人类疾病上以提供实质优点, 如 :可能需要重复施用抗体的发炎与癌症上。

[0105] 本发明提供 11 种活化型人类抗-CD40 单克隆抗体 (mAbs) 及产生此类抗体的杂交瘤细胞系。表 A 列出编码全长重链与轻链 (包括前导序列) 的核酸、推导的相应全长氨

基酸序列、及重链与轻链可变区的核苷酸与推导的氨基酸序列的序列号 (SEQ ID NOS:)。

[0106] 表 A

[0107]

MAb	人类抗-CD40 抗体							
	SEQUENCE IDENTIFIER (SEQ ID NO:)							
	可变区				全长			
	重链		轻链		重链		轻链	
	DNA	蛋白质	DNA	蛋白质	DNA	蛋白质	DNA	蛋白质
3.1.1	1	2	3	4	5	6	7	8
7.1.2	9	10	11	12	13	14	15	16
10.8.3	17	18	19	20	21	22	23	24
15.1.1	25	26	27	28	29	30	31	32
21.2.1	33	34	35	36	37	38	39	40
21.4.1	41	42	43	44	45	46	47	48
22.1.1	49	50	51	52	53	54	55	56
23.5.1	57	58	59	60	61	62	63	64
23.28.1	65	66	67	68	69	70	71	72
23.29.1	73	74	75	76	77	78	79	80
24.2.1	81	82	83	84	85	86	87	88

[0108] 本发明进一步提供人类抗-CD40mAb23. 25. 1 及产生该抗体的杂交瘤细胞系。

[0109] 本发明进一步提供某些上述人类抗-CD40mAbs 的重链和 / 或轻链变体, 其包含一个或多个氨基酸取代。本发明提供 mAb3. 1. 1. 的两种重链变体。其中一种中, 残基 78 上的丙氨酸换成苏氨酸。第二种变体中, 残基 78 上的丙氨酸换成苏氨酸, 且残基 88 与 97 上的缬氨酸换成丙氨酸。本发明也提供 mAb3. 1. 1 的一种轻链变体, 其中残基 4 上的亮氨酸与残基 83 上的亮氨酸分别换成甲硫氨酸与缬氨酸。重链或轻链变体分别与野生型轻链或重链的组合称为突变链。因此, 含野生型轻链与其中残基 78 上的丙氨酸突变成苏氨酸的重链的抗体即指定为 3. 1. 1H-A78T。然而, 本发明其它实施方案中, 包括含 3. 1. 1 的重链与轻链变体的任何组合的抗体。

[0110] 此外, 本发明提供 mAb22. 1. 1 的重链变体, 其中残基 109 上的半胱氨酸换成丙氨酸。包含该重链变体与 22. 1. 1 轻链的单克隆抗体指定为 mAb22. 1. 1H-C109A。本发明并提供 mAb23. 28. 1. 的两种重链变体及一种轻链变体。其中一种重链变体中, 残基 16 上的天冬氨酸换成谷氨酸。包含该重链变体与 23. 28. 1 轻链的 mAb 指定为 23. 28. 1H-D16E。本发明也包括 23. 28. 1 轻链变体, 其中残基 92 上的半胱氨酸换成丙氨酸。包含 23. 28. 1 重链与此轻链变体的 mAb 抗体指定为 23. 28. 1L C92A。本发明也提供含有 23. 28. 1 重链变体与 23. 28. 1 轻链变体的 mAbs。

[0111] 由杂交瘤 23. 29. 1 产生的轻链于恒定区中残基 174 含有一处突变。由此杂交瘤产生的轻链中, 此位置原有的赖氨酸改为精氨酸。因此, 本发明也提供含有残基 174 上原有赖氨酸的 23. 29. 1 轻链, 及含有 23. 29. 1 重链与轻链变体的 mAb, 称为 23. 29. 1L-R174K。

[0112] 在一项优选实施方案中, 抗-CD40 抗体为 3. 1. 1、3. 1. 1H-A78T、3. 1. 1H-A78T-V88A-V97A、3. 1. 1L-L4M-L83V、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、22. 1. 1H-C109A、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 28. 1H-D16E、23. 28. 1L-C92A、

23. 29. 1、23. 29. 1L-R174K 与 24. 2. 1。有些实施方案中, 抗-CD40 抗体包含一条轻链, 该轻链包含选自下列的氨基酸序列: SEQ ID NO: 8、16、24、32、40、48、56、64、72、80、88、94、100 或 102 或其可变区, 或由选自下列核酸序列所编码: SEQ ID NO: 7、15、23、31、39、47、55、63、71、79、87、93、99 或 101。有些实施方案中, 抗-CD40 抗体包含一条轻链, 其至少包含来自上列抗体之一的 CDR2、上列氨基酸序列之一 (如图 1A-1C 与 2A-2C 所示) 或由上列核酸序列之一编码。另一项实施方案中, 轻链还包含分别独立选自轻链可变区的 CDR1 与 CDR3, 其中该轻链可变区包含不超过 10 个来自种系 V_K A3/A19、L5 或 A27 基因编码的氨基酸序列中的氨基酸, 或包含分别独立选自下列的 CDR1 与 CDR3 之一的 CDR1 与 CDR3: (1) 选自下列的抗体: 3. 1. 1、3. 1. 1L-L4M-L83V、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 28. 1L-C92A、23. 29. 1、23. 29. 1L-R174K 或 24. 2. 1; (2) 氨基酸序列 SEQ ID NO: 4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、94、100 或 102, 或 (3) 由下列核酸序列编码: SEQ ID NO: 3、11、19、27、35、43、51、59、67、75、83、93、99 或 101。

[0113] 另一项优选实施方案中, 抗-CD40 抗体包含一条重链, 该重链包含选自下列的氨基酸序列: SEQ ID NO: 6、14、22、30、38、46、54、62、70、78 或 86 或其可变区, 或由选自下列的核酸序列编码: SEQ ID NOS: 5、13、21、29、37、45、53、61、69、77 或 85。有些实施方案中, 抗-CD40 抗体包含一条重链, 其中该重链至少包含上列抗体之一的 CDR3, 上列氨基酸序列之一 (如图 1A-1C 与 2A-2C 所示) 或由上列核酸序列之一编码。另一项实施方案中, 重链还包含独立选自重链可变区的 CDR1 与 CDR2, 其中该重链可变区包含不超过 18 个来自种系 VH3-30+, 4-59、1-02、4. 35 或 3-30. 3 基因所编码的氨基酸序列中的氨基酸, 或包含独立选自下列的 CDR1 与 CDR2 中之一的 CDR1 与 CDR2: (1) 选自下列的抗体: 3. 1. 1、3. 1. 1H-A78T、3. 1. 1H-A78T-V88A-V97A、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、22. 1. 1H-C109A、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 28. 1H-D16E、23. 29. 1 与 24. 2. 1; (2) 氨基酸序列 SEQ ID NO: 2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、92、96 或 98; 或 (3) 由下列核酸序列编码: SEQ ID NO: 1、9、17、25、33、41、49、57、65、73、81、89、91、95 或 97。另一项实施方案中, 抗-CD40 抗体包含如上述定义的重链与轻链。

[0114] 本文所使用抗体 3. 1. 1H-A78T 与 3. 1. 1 相同, 但其中重链中残基 78 的丙氨酸改为苏氨酸。同样地, 抗体 3. 1. 1H-A78T-V88A-V97A 的重链中, 残基 78 改为 A, 残基 88 与 97 的缬氨酸改为丙氨酸。抗体 3. 1. 1L-L4M-L83V 与 3. 1. 1 相同, 但其中轻链上残基 4 的亮氨酸改为甲硫氨酸, 残基 83 上的亮氨酸改为缬氨酸。抗体 22. 1. 1H-C109A 与 22. 1. 1 相同, 但其中重链上残基 109 的半胱氨酸改为丙氨酸。抗体 23. 28. 1H-D16E 与 23. 28. 1L-C92A 与 23. 28. 1 相同, 但其中重链上残基 16 的天冬氨酸改为谷氨酸, 轻链上残基 92 的半胱氨酸改为丙氨酸。抗体 23. 29. 1L-R174K 与 23. 29. 1 相同, 但其中轻链上残基 174 的精氨酸改为赖氨酸。

[0115] 抗-CD40 抗体类型与亚型

[0116] 抗-CD40 抗体类型与亚型可由本领域已知的任何方式确定。通常, 抗体类型与亚型可使用特异于特定抗体类型与亚型的抗体确定。此类抗体可购买得到。类型与亚型可使用 ELISA、或蛋白质印迹分析法及其它技术确定。或者, 类型与亚型可经由分析抗体的重链和 / 或轻链的所有或一部份恒定结构域的序列后, 将其氨基酸序列与来自多种不同已知免疫球蛋白类型与亚型的氨基酸序列比较, 并确定该抗体之类型与亚型。

[0117] 有些实施方案中,抗-CD40 抗体为单克隆抗体。该抗-CD40 抗体可为 IgG、IgM、IgE、IgA 或 IgD 分子。优选实施方案中,抗-CD40 抗体为 IgG,且为 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 亚型。另一项优选实施方案中,抗-CD40 抗体为 IgG2 亚型。

[0118] 物种与分子选择性

[0119] 本发明另一方面,抗-CD40 抗体显示物种与分子选择性。有些实施方案中,抗-CD40 抗体与灵长类及人类 CD40 结合。有些实施方案中,抗-CD40 抗体与人类、猕猴或恒河猴 CD40 结合。其它实施方案中,抗-CD40 抗体不与小鼠、大鼠、狗或兔子 CD40 结合。依据本说明书的教导,即可采用本领域已知的方法判断抗-CD40 抗体的物种选择性。例如:可采用蛋白质印迹分析法、FACS、ELISA 或 RIA 确定物种选择性。(参见例如:实施例 IV)。

[0120] 有些实施方案中,抗-CD40 抗体对 CD40 的选择性比对 RANK(核因子- κ B 的受体活化物)、4-1BB(CD137)、TNFR-1(肿瘤坏死因子受体-1)及 TNFR-2(肿瘤坏死因子受体-2)的选择性高 100 倍以上。有些实施方案中,抗-CD40 抗体对 CD40 以外的任何其它蛋白质不具有任何明显的特异性结合。可采用本领域已知的方法,依本说明书的教导,确定抗-CD40 抗体对 CD40 的选择性。例如:可采用蛋白质印迹分析法、FACS、ELISA 或 RIA 确定选择性(参见例如:实施例 V)。

[0121] 抗-CD40 抗体所识别的 CD40 表位的鉴定法

[0122] 此外,本发明提供与 CD40 结合的人类抗-CD40 单克隆抗体,其会与选自下列人类抗-CD40 抗体交叉竞争结合和/或结合相同表位和/或结合 CD40 时具有相同的 K_D : 抗体 3.1.1、3.1.1H-A78T、3.1.1H-A78T-V88A-V97A、3.1.1L-L4M-L83V、7.1.2、10.8.3、15.1.1、21.4.1、21.2.1、22.1.1、22.1.1H-C109A、23.5.1、23.25.1、23.28.1、23.28.1H-D16E、23.28.1L-C92A、23.29.1、23.29.1L-R174K 或 24.2.1;或人类抗-CD40 抗体,其中所包含的重链可变区具有下列氨基酸序列 SEQ ID NO: 2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、92、96 或 98;或人类抗-CD40 抗体,其中所包含的轻链可变区具有下列氨基酸序列 SEQ ID NO: 4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、94、100 或 102。

[0123] 可采用本领域已知的任何方法确定抗体是否会与抗-CD40 抗体的结合相同的表位或与抗-CD40 抗体交叉竞争结合。在一项实施方案中,可使本发明抗-CD40 抗体于饱和条件下与 CD40 结合,然后测定试验抗体与 CD40 结合的能力。若试验抗体可与抗-CD40 抗体在相同的时间内结合 CD40,则该试验抗体结合相同的表位、重叠表位、或与人类抗-CD40 抗体结合的表位非常临近的表位。此实验可采用 ELISA、FACS 或表面胞质团共振法进行(参见例如:实施例 VI)。优选实施方案中,该实验是采用表面胞质团共振法进行。更优选实施方案中,是采用 BIAcore。

[0124] 抗-CD40 抗体与 CD40 的结合亲和性

[0125] 本发明有些实施方案中,抗-CD40 抗体以极高亲和性与 CD40 结合。有些实施方案中,抗-CD40 抗体与 CD40 结合的 K_D 为 2×10^{-8} M 或更低。另一项优选实施方案中,抗体与 CD40 结合的 K_D 为 2×10^{-9} 、 2×10^{-10} 、 4.0×10^{-11} M,或更低。甚至更优选实施方案中,抗体与 CD40 结合的 K_D 为 2.5×10^{-12} M,或更低。有些实施方案中,抗体与 CD40 结合的 K_D 实质上与选自下列抗体的 K_D 相同: 3.1.1、3.1.1H-A78T、3.1.1H-A78T-V88A-V97A、3.1.1L-L4M-L83V、7.1.2、10.8.3、15.1.1、21.4.1、21.2.1、22.1.1、22.1.1H-C109A、23.5.1、23.25.1、23.28.1、23.28.1H-D16E、23.28.1L-C92A、23.29.1、23.29.1L-R174K 或 24.2.1。另一项优选实施方

案中,抗体与 CD40 结合的 KD 实质上与包含来自下列抗体中轻链的 CDR2 和 / 或重链的 CDR3 的抗体 KD 相同:3.1.1、3.1.1H-A78T、3.1.1H-A78T-V88A-V97A、3.1.1L-L4M-L83V、7.1.2、10.8.3、15.1.1、21.4.1、21.2.1、22.1.1、22.1.1H-C109A、23.5.1、23.25.1、23.28.1、23.28.1H-D16E、23.28.1L-C92A、23.29.1、23.29.1L-R174K 和 24.2.1。另一项优选实施方案中,抗体与 CD40 结合的 K_D 实质上与包含具有下列氨基酸序列 SEQ ID NO:2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、92、96 或 98 的重链可变区,或包含具有下列氨基酸序列 SEQ ID NO:4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、94、100 或 102 的轻链可变区的抗体的 KD 相同。另一项优选实施方案中,抗体与 CD40 结合的 KD 实质上与包含具有下列氨基酸序列 SEQ ID NO:4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、94、100 或 102 的轻链可变区的 CDR2 或包含具有下列氨基酸序列 SEQ ID NO:2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、92、96 或 98 的重链可变区的 CDR3 的抗体的 KD 相同。

[0126] 有些实施方案中,抗-CD40 抗体的解离速率低。有些实施方案中,抗-CD40 抗体的 K_{off} 为 2.0×10^{-4} , 或更低。有些实施方案中, K_{off} 为 2.0×10^{-7} 或更低。有些实施方案中, K_{off} 实质上与本文所述的抗体相同,包括选自下列的抗体:3.1.1、3.1.1H-A78T、3.1.1H-A78T-V88A-V97A、3.1.1L-L4M-L83V、7.1.2、10.8.3、15.1.1、21.4.1、21.2.1、22.1.1、22.1.1H-C109A、23.5.1、23.25.1、23.28.1、23.28.1H-D16E、23.28.1L-C92A、23.29.1、23.29.1L-R174K 和 24.2.1。有些实施方案中,抗体与 CD40 结合的 K_{off} 实质上与包含来自下列抗体中重链的 CDR3 或轻链的 CDR2 的抗体 K_{off} 相同:3.1.1、3.1.1H-A78T、3.1.1H-A78T-V88A-V97A、3.1.1L-L4M-L83V、7.1.2、10.8.3、15.1.1、21.4.1、21.2.1、22.1.1、22.1.1H-C109A、23.5.1、23.25.1、23.28.1、23.28.1H-D16E、23.28.1L-C92A、23.29.1、23.29.1L-R174K 和 24.2.1。有些实施方案中,抗体与 CD40 结合的 K_{off} 实质上与包含具有下列氨基酸序列 SEQ ID NO:2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、92、96 或 98 的重链可变区,或包含具有下列氨基酸序列 SEQ ID NO:4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、94、100 或 102 的轻链可变区的抗体的 K_{off} 相同。另一项优选实施方案中,抗体与 CD40 结合的 K_{off} 实质上与包含具有下列氨基酸序列 SEQ ID NO:4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、94、100 或 102 的轻链可变区的 CDR2 或包含具有下列氨基酸序列 SEQ ID NO:6、14、22、30、38、46、54、62、70、78、86、90、92、96 或 98 的重链可变区的 CDR3 的抗体的 K_{off} 相同。

[0127] 抗-CD40 抗体与 CD40 的结合亲和性及解离速率可采用本领域已知的方法确定。结合亲和性可采用竞争性 ELISAs、RIAs 或表面胞质团共振法进行,如:BIACore。也可采用表面胞质团共振法测定解离速率。优选为采用表面胞质团共振法测定结合亲和性及解离速率。更优选为采用 BIACore™ 测定结合亲和性及解离速率。参见例如:实施例 XIV。轻链与重链基因利用

[0128] 本发明抗-CD40 抗体可包含人类 κ -或人类 λ -轻链或其衍生的氨基酸序列。有些实施方案包含 κ -轻链,该轻链可变结构域 (VL) 由人类 A3/A19(DPK-15)、L5(DP5) 或 A27(DPK-22)VK 基因部分编码。

[0129] 有些实施方案中,抗-CD40 抗体的 VL 包含相对于种系氨基酸序列的一个或多个氨基酸取代。有些实施方案中,抗-CD40 抗体的 VL 包含相对于种系氨基酸序列的 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个氨基酸取代。有些实施方案中,那些种系氨基酸取代中的一个或多个出现在轻链的 CDR 区中。有些实施方案中,相对于种系的氨基酸取代位置与抗体 3.1.1、

3. 1. 1L-L4M-L83V、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 28. 1L-C92A、23. 29. 1、23. 29. 1L-R174K 和 24. 2. 1 的任何一个或多个 VL 中相对于种系的一个或多个取代位置相同。例如：抗 -CD40 抗体的 VL 可包含抗体 21. 4. 1 中相对于种系的一个或多个氨基酸取代，及抗体 10. 8. 3 中的其它相对于种系的氨基酸取代，其中，所述抗体 10. 8. 3 与抗体 21. 4. 1 使用相同的 VK 基因。有些实施方案中，氨基酸变化出现在一个或多个相同位置，但涉及不同于参考抗体的突变。

[0130] 有些实施方案中，相对于种系，出现氨基酸变化的位置与下列任一种抗体 3. 1. 1、3. 1. 1L-L4M-L83V、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 28. 1L-C92A、23. 29. 1、23. 29. 1L-R174K 与 24. 2. 1 的 VL 中的一个或多个变化位置相同，但此类变化可能表示在此类位置上相对于参考抗体中氨基酸的保守性氨基酸取代。例如：若其中一种抗体在特定位置相对于种系发生了改变并且为谷氨酸时，则可在该位置上以天冬氨酸进行保守性取代。同样地，若相对于种系，氨基酸取代为丝氨酸时，则可在该位置上以苏氨酸保守性取代丝氨酸。保守性氨基酸取代已于上文中讨论。

[0131] 有些实施方案中，人类抗 -CD40 抗体的轻链包含的氨基酸序列与抗体 3. 1. 1 (SEQ. ID NO :4)、3. 1. 1L-L4M-L83V (SEQ. ID NO :94)、7. 1. 2 (SEQ. ID NO :12)、10. 8. 3 (SEQ. ID NO :20)、15. 1. 1 (SEQ. ID NO :28)、21. 4. 1 (SEQ. ID NO :)、21. 2. 1 (SEQ. ID NO :36)、21. 4. 1 (SEQ. ID NO :44)、22. 1. 1 (SEQ. ID NO :52)、23. 5. 1 (SEQ. ID NO :60)、23. 28. 1 (SEQ. ID NO :68)、23. 28. 1L-C92A (SEQ. ID NO :100)、23. 29. 1 (SEQ. ID NO :76)、23. 29. 1L-R174K (SEQ. ID NO :102) 或 24. 2. 1 (SEQ. ID NO :84) 的 VL 的氨基酸序列，或具有至多 1、2、3、4、6、8 或 10 个保守性氨基酸取代和 / 或总共至多 3 个非保守性氨基酸取代的所述氨基酸序列相同，。

[0132] 有些实施方案中，抗 -CD40 抗体的轻链至少包含轻链 CDR2，且也可包含如本文中说明的种系序列的 CDR1 与 CDR3 区。另一项实施方案中，轻链可包含独立选自下列抗体的 CDR1 与 CDR2 :3. 1. 1、3. 1. 1L-L4M-L83V、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 28. 1L-C92A、23. 29. 1 与 24. 2. 1，或各具有 8 个以下，6 个以下，4 个以下，或 3 个以下保守性氨基酸取代和 / 或共有 3 个或更少个非保守性氨基酸取代的 CDR 区。其它实施方案中，抗 -CD40 抗体的轻链至少包含轻链 CDR2，也可包含 CDR1 与 CDR3 区，所述 CDR1 和 CDR3 独立选自具有包含选自 SEQ. ID NOS :4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、94 或 100 的氨基酸序列的轻链可变区的抗体中的 CDR1 与 CDR3，或由选自 SEQ. ID NOS :3、11、19、27、35、43、51、59、67、75、83、93 或 99 的核酸分子编码。

[0133] 在重链方面，有些实施方案中，重链氨基酸序列的可变区是部分由人类 V_H3-30+、V_H4-59、V_H1-02、V_H4. 35 或 V_H3-30. 3 基因编码。有些实施方案中，抗 -CD40 抗体的 VH 包含相对于种系氨基酸序列的一个或多个氨基酸取代、删除或插入（添加）。有些实施方案中，重链的可变结构域包含相对于种系氨基酸序列的 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17 或 18 个突变。有些实施方案中，突变为相对于种系氨基酸序列的非保守性取代。有些实施方案中，突变位在重链的 CDR 区中。有些实施方案中，氨基酸的变化位置与下列抗体的任一种或多种 V_H 中相对于种系的一处或多处突变位置相同：3. 1. 1、3. 1. 1H-A78T、3. 1. 1H-A78T-V88A-V97A、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、22. 1. 1H-C109A、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 28. 1H-D16E、23. 29. 1 与 24. 2. 1。其它实施方案中，氨基酸变化与参考抗体发生在一个或多个相同位置，但涉及不同的突变。

[0134] 有些实施方案中,重链包含下列抗体的可变结构域(VH)的氨基酸序列:抗体3.1.1(SEQ ID NO:2)、3.1.1H-A78T(SEQ ID NO:90)、3.1.1H-A78T-V88A-V97A(SEQ ID NO:92)、7.1.2(SEQ ID NO:10)、10.8.3(SEQ ID NO:18)、15.1.1(SEQ ID NO:26)、21.2.1(SEQ ID NO:34)、21.4.1(SEQ ID NO:42)、22.1.1(SEQ ID NO:50)、22.1.1H-C109A(SEQ ID NO:96)、23.5.1(SEQ ID NO:58)、23.28.1(SEQ ID NO:66)、23.28.1H-C48G(SEQ ID NO:98)、23.29.1(SEQ ID NO:74)与24.2.1(SEQ ID NO:82),或包含具有至多1、2、3、4、6、8或10个保守性氨基酸取代和/或总共至多3个非保守性氨基酸取代的上述氨基酸序列。

[0135] 有些实施方案中,重链包含下列抗体的重链CDR1、CDR2与CDR3区:抗体3.1.1、3.1.1H-A78T、3.1.1H-A78T-V88A-V97A、7.1.2、10.8.3、15.1.1、21.4.1、21.2.1、22.1.1、22.1.1H-C109A、23.5.1、23.25.1、23.28.1、23.28.1H-D16E、23.29.1与24.2.1(如图1D-1H或2D-2H所示),或各含有8个以下,6个以下,4个以下,或3个以下保守性氨基酸取代和/或共有3个或更少个非保守性氨基酸取代的上述CDR区。

[0136] 有些实施方案中,重链包含CDR3,且也可包含如上述的种系序列的CDR1与CDR2区,或可包含抗体的CDR1与CDR2,其独立选自包含选自下列抗体的重链的抗体:3.1.1、3.1.1H-A78T、3.1.1H-A78T-V88A-V97A、7.1.2、10.8.3、15.1.1、21.4.1、21.2.1、22.1.1、22.1.1H-C109A、23.5.1、23.25.1、23.28.1、23.28.1H-D16E、23.29.1与24.2.1。另一项实施方案中,重链包含CDR3,且也可包含CDR1与CDR2区,其是分别选自包含选自下列氨基酸序列SEQ ID NOS:2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、92、96或98(如图1D-1H或图2D-2H所示)的重链可变区的CDR1与CDR2区,或是由选自下列的核酸序列编码:SEQ ID NOS:1、9、17、25、33、41、49、57、65、73、81、89、91、95或97。另一项实施方案中,抗体包含如上述的重链及如上述的轻链。

[0137] 有一种可进行的氨基酸取代为改变抗体中一个或多个半胱氨酸(其可以是化学反应性的)为另一种残基,如(但不限于):丙氨酸或丝氨酸。在一项实施方案中,半胱氨酸取代发生于抗体的可变结构域的构架区中或恒定结构域中。另一项实施方案中,半胱氨酸在抗体的非典型区(non-canonical region)。另一种可进行的氨基酸取代为改变抗体中任何可能进行蛋白质水解的位置,特别是那些位于可变结构域的构架区中、抗体的恒定结构域中、或抗体的非典型区中的位置。半胱氨酸残基取代及去除蛋白质水解位置可降低抗体产物中出现任何不均质性的危险性,并因此提高其均质性。另一种可进行的氨基酸取代为通过改变可能形成去酰胺化位置的天冬酰胺-甘氨酸对中一个或两个残基,以消去成对的天冬酰胺-甘氨酸。此过程最好在抗体的构架区中、恒定结构域或非典型区中进行。

[0138] 抗-CD40抗体对CD40的活化作用

[0139] 本发明另一方面涉及的抗-CD40抗体为一种活化型抗体,也即CD40激动剂。活化型抗体可扩大或取代CD40L对CD40的效应。有些实施方案中,活化型抗体基本上为CD40L的模拟物,且与CD40L竞争结合CD40。有些实施方案中,抗体不会与CD40L竞争结合CD40,但会扩大CD40L结合CD40的效应。有些实施方案中,于CD40L存在或不存在下,抗-CD40抗体均会活化CD40。

[0140] 抗-CD40抗体于活体内抑制肿瘤生长

[0141] 根据有些实施方案,本发明提供一种可于活体外抑制肿瘤细胞增生或于活体内抑制肿瘤生长的抗-CD40抗体。

[0142] 有些实施方案中,抗体抑制肿瘤生长至少达 50%、55%、60%、65%、70%、75%。有些实施方案中,抗体抑制肿瘤生长达 75%。在一项实施方案中,在初次接受抗体处理后 14 天即可检测到抑制肿瘤生长的情形。其它实施方案中,在初次接受抗体处理后 7 天即可检测到抑制肿瘤生长的情形。有些实施方案中,由另一种抗肿瘤剂与抗-CD40 抗体一起施用给动物。有些实施方案中,抗肿瘤剂可进一步抑制肿瘤生长。有些实施方案中,抗肿瘤剂为阿霉素或紫杉醇。有些实施方案中,共同施用抗肿瘤剂与抗-CD40 抗体时,可在初次处理后 22-24 天期间,相对于未处理的动物抑制肿瘤生长达至少 50%。

[0143] 抗-CD40 抗体诱发细胞凋亡

[0144] 本发明另一方面提供一种可诱发 CD40 阳性细胞死亡的抗-CD40 抗体。有些实施方案中,抗体可于活体内或于活体外引起 CD40 阳性细胞的细胞凋亡。

[0145] 加强细胞表面分子的表达

[0146] 有些实施方案中,抗-CD40 抗体加强 B 细胞表面分子的表达,包括(但不限于): ICAM、MHC-II、B7-2、CD71、CD23 与 CD83。有些实施方案中,在全血 B- 细胞表面分子增量调节分析法中,1 μ g/ml 抗体可加强 ICAM 表达至少 2 倍,更优选为至少 4 倍。有些实施方案中,在全血 B- 细胞表面分子增量调节分析法中,1 μ g/ml 抗体可加强 MHC-II 表达至少 2 倍,或更优选为至少 3 倍。有些实施方案中,在全血 B- 细胞表面分子增量调节分析法中,1 μ g/ml 抗体可加强 CD23 表达至少 2 倍,或更优选为至少 5 倍。参见例如:实施例 VII,表 25。

[0147] 有些实施方案中,抗-CD40 抗体可加强树突细胞表面分子的表达,包括(但不限于):MHC-II、ICAM、B7-2、CD83 与 B7-1。有些实施方案中,增量调节的范围类似 B 细胞所观察到的增量调节范围。参见例如:下文中表 25 与 26。有些实施方案中,相对于如:B7-2 与 MHC-II 等细胞表面分子的 B 细胞表达,抗体优先增量调节此类分子的树突细胞表面分子表达。参见例如:表 27。

[0148] 加强细胞的细胞因子分泌

[0149] 有些实施方案中,抗体加强细胞分泌细胞因子,包括(但不限于):IL-8、IL-12、IL-15、IL-18 与 IL-23。

[0150] 有些实施方案中,抗体加强树突细胞与附着性单核细胞的细胞因子分泌。有些实施方案中,进一步由 LPS、IFN- γ 或 IL-1 β 中一种或多种共同刺激下,加强产生细胞因子。本发明另一方面,抗体与 LPS 共同刺激作用可在树突细胞分析法中加强 IL-12p70 生产, EC_{50} 为约 0.48 μ g/ml。有些实施方案中,抗体在树突细胞中加强 IL-12p40 生产, EC_{50} 为约 0.21g/ml。(参见例如:实施例 VIII)。

[0151] 有些实施方案中,抗体在同种异基因的 T 细胞/树突细胞分析法中加强 IFN- γ 分泌,其说明于实例 VIII 中。有些实施方案中,抗体在同种异型的 T 细胞/树突细胞分析法中加强 IFN- γ 分泌,其 EC_{50} 约 0.3 μ g/ml。有些实施方案中,抗体在同种异型的 T 细胞/树突细胞分析法中加强 IFN- γ 分泌,其 EC_{50} 约 0.2g/ml。在一项实施方案中,抗体在同种异型的 T 细胞/树突细胞分析法中加强 IFN- γ 分泌,其 EC_{50} 约 0.03g/ml。

[0152] 生产抗体的方法及产生抗体的细胞系

[0153] 免疫法

[0154] 有些实施方案中,人类抗体是由其基因组中包含部份或所有人类免疫球蛋白重链与轻链座位的非人类动物接种 CD40 抗原后产生。优选实施方案中,该非人类动物为

XenoMouse™ 动物。

[0155] XenoMouse™ 小鼠为经过基因工程处理的小鼠品种,其中包含人类免疫球蛋白重链与轻链座位的大型片段,且无法产生小鼠抗体。参见例如:Green 等人的 Nature Genetics 7:13-21(1994) 及 美国 专 利 5,916,771、5,939,598、5,985,615、5,998,209、6,075,181、6,091,001、6,114,598、6,130,364、6,162,963 及 6,150,584。也参见 W091/10741、W094/02602、W096/34096、W096/33735、W098/16654、W098/24893、W098/50433、W099/45031、W099/53049、W000/09560 与 W000/037504。

[0156] 本发明另一方面提供一种由非人类、非小鼠动物制造抗-CD40 抗体的方法,其是对包含人类免疫球蛋白座位的该非人类转基因动物接种 CD40 抗原。此类动物可采用上述文献中所说明的方法制造。此类文献中揭示的方法可依美国专利 5,994,619 所述进行修正。优选实施方案中,非人类动物为大鼠、绵羊、猪、山羊、牛或马。

[0157] XenoMouse™ 小鼠可产生类似成年人类的完整人类抗体,并产生抗原特异性人类抗体。有些实施方案中,XenoMouse™ 小鼠经由引进人类重链座位与 κ -轻链座位的百万碱基大小的种系构型的酵母人造染色体(YAC)片段而含有约 80% 人类抗体 V 基因库。参见 Mendez 等人的 Nature Genetics 15:146-156(1997)、Green 与 Jakobovits 的 J. Exp. Med. 188:483-495(1998)、及 W098/24893,其内容已以引用的方式并入本文中。

[0158] 有些实施方案中,包含人类免疫球蛋白基因的非人类动物为含有人类免疫球蛋白"迷你座位(minilocus)"的动物。迷你座位法中,通过包含来自 Ig 座位的单个基因来模仿外源性 Ig 座位。因此,在构建体中形成一个或多个 V_H 基因、一个或多个 D_H 基因、一个或多个 JH 基因、 μ -恒定结构域、及第二恒定结构域(优选为 γ -恒定结构域),以嵌入动物体中。此方法说明于美国专利 Nos. 5,545,807、5,545,806、5,569,825、5,625,126、5,633,425、5,661,016、5,770,429、5,789,650、5,814,318、5,591,669、5,612,205、5,721,367、5,789,215、及 5,643,763,其内容已以引用的方式并入本文中。

[0159] 迷你座位法的优点为可快速产生含有 Ig 座位部份的构建体并引入动物体中。然而,迷你座位法的潜在缺点为可能没有足够的免疫球蛋白多样性来支持 B-细胞完全发育,因此抗体的产量可能较低。

[0160] 本发明另一方面,本发明提供一种制造人源化抗-CD40 抗体的方法。有些实施方案中,依下文中说明的方法,于可以产生抗体的条件下给非人类动物接种 CD40 抗原。自动物体中分离出产生抗体的细胞,与骨髓瘤融合,产生杂交瘤,并分离出编码目的抗-CD40 抗体的重链与轻链的核酸。此类核酸随后采用本领域已知的技术和下文中说明的方法进行处理,并降低非人类序列的含量,即使抗体人源化,以降低在人体中的免疫反应。

[0161] 有些实施方案中,CD40 抗原为分离的及/或纯化的 CD40。优选实施方案中,CD40 抗原为人类 CD40。有些实施方案中,CD40 抗原为 CD40 的片段。有些实施方案中,CD40 片段为 CD40 的细胞外结构域。有些实施方案中,CD40 片段包含 CD40 的至少一个表位。其它实施方案中,CD40 抗原为在其表面上表达或过度表达 CD40 或其免疫原性片段的细胞。有些实施方案中,CD40 抗原为 CD40 融合蛋白质。

[0162] 动物的免疫法可采用本领域已知的任何方法进行。参见例如:Harlow 与 Lane 的 Antibodies: A Laboratory Manual, New York: ColdSpring Harbor Press, 1990。非人类动物如:小鼠、大鼠、绵羊、猪、山羊、牛与马的免疫法是本领域已知的。参见例如:Harlow 与

Lane 的如上述文献,及美国专利 5,994,619。优选实施方案中,CD40 抗原是与佐剂一起给药以刺激免疫反应。佐剂实例包括完全或不完全弗氏佐剂、RIBI(胞壁酰二肽)或 ISCOM(免疫刺激性复合物)。此类佐剂可将多肽螯合于局部位点中,以保护多肽免于快速分散,或可包含会刺激宿主分泌巨噬细胞的趋化性因子及其它免疫系统的成分的物质。优选的,若施用多肽时,免疫方案将包括在数周内施用两次或多次多肽。

[0163] 实例 I 说明抗-CD40 单克隆抗体的制法。

[0164] 抗体与产生抗体的细胞系的制法

[0165] 动物接种 CD40 抗原后,可自动物体内得到抗体和/或产生抗体的细胞。有些实施方案中,利用抽血法或杀死动物后,得到含抗-CD40 抗体的血清。自动物体得到的血清即可使用,或者从血清中得到免疫球蛋白部分,或自血清中纯化得到抗-CD40 抗体。本领域普通技术人员知道依此方法得到的血清或免疫球蛋白将为多克隆抗体。使用由血清制备的多克隆抗体的缺点为所得到的抗体量会受到限制,且多克隆抗体呈现不一致的性质。

[0166] 有些实施方案中,产生抗体的永生化细胞系是由经免疫的动物体中分离出的细胞制备的。免疫接种后,杀死动物,取淋巴节和/或脾脏 B 细胞进行永生化处理。细胞永生化的方法包括(但不限于)利用癌基因转移细胞,用致癌病毒转染细胞,于可选拔永生化细胞的条件下培养,经过致癌性化合物及诱变化合物处理,与永生化细胞(例如:骨髓瘤细胞)融合,去除肿瘤抑制基因的活性。参见例如:Harlow 与 Lane 的如上述文献。若使用骨髓瘤细胞进行融合时,该骨髓瘤细胞最好不分泌免疫球蛋白多肽(非分泌性细胞系)。使用 CD40、其部份或表达 CD40 的细胞筛选永生化细胞。优选实施方案中,初次筛选是利用酶联免疫分析法(ELISA)或放射性免疫分析法进行。ELISA 筛选法的一项实例提供于 W000/37504 中,其内容已以引用的方式并入本文中。

[0167] 选取产生抗-CD40 抗体的细胞,例如:杂交瘤,进行克隆,再进一步筛选所需的特性,包括生长良好、抗体产量高、及具有所需抗体特性,其将说明于下文中。杂交瘤可于同基因动物体活体内,在缺乏免疫系统的动物中,例如:裸鼠,或于活体外的细胞培养物中进行扩增。杂交瘤的筛选、克隆及扩增方法是本领域普通技术人员熟知的。

[0168] 优选实施方案中,经免疫接种的动物为可表达人类免疫球蛋白基因的非人类动物,其中脾脏 B 细胞与来自与该非人类动物相同物种的骨髓瘤细胞系融合。更优选实施方案中,该经免疫接种的动物为 XENOMOUSE™ 动物且骨髓瘤细胞系为非分泌性小鼠骨髓瘤。甚至更优选实施方案中,骨髓瘤细胞系为 P3-X63-AG8.653。参见例如:实施例 I。

[0169] 本发明另一方面提供可产生人类抗-CD40 抗体的杂交瘤。优选实施方案中,该杂交瘤为如上述的小鼠杂交瘤。其它实施方案中,杂交瘤于非人类、非小鼠物种如:大鼠、绵羊、猪、山羊、牛或马体内产生。另一项实施方案中,杂交瘤为人类杂交瘤。

[0170] 制造抗体的核酸、载体、宿主细胞与重组法

[0171] 核酸

[0172] 本发明也包括编码抗-CD40 抗体的核酸分子。有些实施方案中,编码抗-CD40 免疫球蛋白的重链与轻链的核酸分子不同。其它实施方案中,编码抗-CD40 免疫球蛋白的重链与轻链的核酸分子相同。

[0173] 有些实施方案中,编码轻链中可变结构域的核酸分子包含人类 A3/A19(DPK-15)、L5(DP5)或 A27(DPK-22) V_K 基因序列或其所衍生的序列。有些实施方案中,核酸分子包含

A3/A19V κ 基因及 J κ 1、J

[0174] κ 2 或 J κ 3 基因的核苷酸序列或其所衍生的序列。有些实施方案中,核酸分子包含 L5V κ 基因及 J κ 4 基因的核苷酸序列。有些实施方案中,核酸分子包含 A27V κ 基因及 J κ 3 基因的核苷酸序列。

[0175] 有些实施方案中,编码轻链的核酸分子所编码的氨基酸序列包含相对于种系氨基酸序列的 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个突变。有些实施方案中,核酸分子包含的核苷酸序列所编码的 VL 氨基酸序列包含相对于种系序列的 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个非保守性氨基酸取代和 / 或 1、2 或 3 个非保守性取代。可于 CDR 区、构架区、或恒定结构域进行取代。

[0176] 有些实施方案中,编码轻链 (VL) 的可变结构域的核酸分子所编码的 VL 氨基酸序列相对于种系序列,包含一个或多个突变,此类突变与下列抗体之一的 VL 中的突变相同: 3. 1. 1、3. 1. 1L-L4M-L83V、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 28. 1L-C92A、23. 29. 1 及 24. 2. 1。有些实施方案中,该核酸分子编码至少 3 个相对于种系序列的氨基酸突变,所述氨基酸突变可发现于下列抗体之一的 VL 中: 3. 1. 1、3. 1. 1L-L4M-L83V、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 28. 1L-C92A、23. 29. 1 与 24. 2. 1。

[0177] 有些实施方案中,核酸分子所包含的核苷酸序列编码下列单克隆抗体的 VL 氨基酸序列,或其一部份: 3. 1. 1 (SEQ ID NO :4)、3. 1. 1L-L4M-L83V (SEQ ID NO :94)、7. 1. 2 (SEQ ID NO :12)、10. 8. 3 (SEQ ID NO :20)、15. 1. 1 (SEQ ID NO :28)、21. 2. 1 (SEQ ID NO :36)、2. 1. 4. 1 (SEQ ID NO :44)、22. 1. 1 (SEQ ID NO :52)、23. 5. 1 (SEQ ID NO :60)、23. 28. 1 (SEQ ID NO :68)、23. 28. 1L-C92A (SEQ ID NO :100)、23. 29. 1 (SEQ ID NO :76) 或 24. 2. 1 (SEQ ID NO :84)。有些实施方案中,该部份至少包含 CDR3 区。有些实施方案中,核酸编码该抗体的轻链 CDRs 的氨基酸序列。有些实施方案中,该部份为包含 CDR1-CDR3 的连续部份。

[0178] 有些实施方案中,核酸分子所包含的核苷酸序列编码 SEQ ID NOS :4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、94 或 100 氨基酸序列,或缺乏信号序列的该序列。有些优选实施方案中,核酸分子包含核苷酸序列 SEQ ID NOS :3、11、19、27、35、43、51、59、67、75、83、93 或 99,或其一部份,该序列可选地缺乏信号序列。

[0179] 有些实施方案中,该部份编码 VL 区。有些实施方案中,该部份至少编码 CDR2 区。有些实施方案中,核酸编码该抗体的轻链 CDRs 的氨基酸序列。有些实施方案中,该部份编码 CDR1-CDR3 的连续区。

[0180] 有些实施方案中,核酸分子所编码的 VL 氨基酸序列与抗体 3. 1. 1、3. 1. 1L-L4M-L83V、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 28. 1L-C92A、23. 29. 1 或 24. 2. 1 中任一种的 VL 氨基酸序列,或与 SEQ ID NOS :4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、94 或 100 中任一种的 VL 氨基酸序列具有至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 同一性。本发明的核酸分子所包括的核酸在高度严格条件 (如上述) 下与编码 SEQ ID NOS :4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、94 或 100 的氨基酸序列的核酸杂交,或与具有 SEQ ID NOS :3、11、19、27、35、43、51、59、67、75、83、93 或 99 的核酸序列杂交。

[0181] 另一项实施方案中,核酸编码抗体 3. 1. 1、3. 1. 1L-L4M-L83V、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 28. 1L-C92A、23. 29. 1、

23. 29. 1L-R174K 或 24. 2. 1 的全长轻链, 或编码包含 SEQ ID NOS :8、16、24、32、40、48、56、64、72、80、88、94、100 或 102 的氨基酸序列的轻链, 或编码包含如本文所述突变的轻链。此外, 核酸可包含核苷酸序列 SEQ ID NOS :7、15、23、31、39、47、55、63、71、79 或 87, 或编码包含如本文所述突变的轻链的核酸分子。

[0182] 另一项优选实施方案中, 核酸分子所编码的重链 (VH) 的可变结构域包含人类 3-30+、4-59、1-02、4. 35 或 3-30. 3VH 基因序列或其衍生的序列。多种实施方案中, 核酸分子包含人类 3-30+V_H 基因、D4(DIR3) 基因及人类 J_H6 基因; 人类 3-30+V_H 基因、人类 D1-26(DIR5) 基因及人类 J_H6 基因; 人类 4. 35V_H 基因、人类 DIR3 基因、及人类 J_H6 基因; 人类 4-59V_H 基因、人类 D4-23 基因及人类 J_H4 基因; 人类 1-02V_H 基因、人类 DLR1 基因与人类 J_H4 基因; 人类 3-30+V_H 基因、人类 D6-19(DIR3) 基因及人类 J_H4 基因; 人类 3-30+V_H 基因、人类 D1-1 基因及人类 J_H6 基因; 人类 3-30+V_H 基因、人类 D4-17 基因及人类 J_H6 基因; 人类 3-30. 3VH 基因、人类 D4-17 基因及人类 J_H6 基因; 人类 4-59V_H 基因、人类 D4-17(DIR1) 基因及人类 J_H5 基因, 或衍生自此类人类基因的序列。

[0183] 有些实施方案中, 核酸分子所编码的氨基酸序列相对于人类 V、D 或 J 基因的种系氨基酸序列, 包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17 或 18 个突变。有些实施方案中, 该突变出现在 V_H 区中。有些实施方案中, 该突变出现在 CDR 区中。

[0184] 有些实施方案中, 相对于种系序列, 核酸分子编码一个或多个氨基酸突变, 此类突变与出现在单克隆抗体 3. 1. 1、3. 1. 1H-A78T、3. 1. 1H-A78T-V88A-V97A、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、22. 1. 1H-C109A、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 28. 1H-D16E、23. 29. 1 或 24. 2. 1 的 V_H 中的氨基酸突变相同。有些实施方案中, 相对于种系序列, 核酸编码至少 3 个氨基酸突变, 此类突变与出现在上列单克隆抗体之一中的至少 3 个氨基酸突变相同。

[0185] 有些实施方案中, 核酸分子所包含的核苷酸序列编码抗体 3. 1. 1(SEQ ID NO :2)、3. 1. 1H-A78T(SEQ ID NO :90)、3. 1. 1H-A78T-V88A-V97A(SEQ ID NO :92)、7. 1. 2(SEQ ID NO :10)、10. 8. 3(SEQ ID NO :18)、15. 1. 1(SEQ ID NO :26)、21. 2. 1(SEQ ID NO :34)、21. 4. 1(SEQ ID NO :42)、22. 1. 1(SEQ ID NO :50)、22. 1. 1H-C109A(SEQ ID NO :96)、23. 5. 1(SEQ ID NO :58)、23. 28. 1(SEQ ID NO :66)、23. 28. 1H-D16E(SEQ ID NO :98)、23. 29. 1(SEQ ID NO :74) 或 24. 2. 1(SEQ ID NO :82) 的至少一部份 VH 氨基酸序列, 或具有保守性氨基酸取代和 / 或共 3 个或更少个非保守性氨基酸取代的该等序列。不同的实施方案中, 序列编码一个或多个 CDR 区, 优选为 CDR3 区, 所有 3 个 CDR 区, 包括 CDR1-CDR3 的连续部份, 或整个 VH 区, 其中含或不含信号序列。

[0186] 有些实施方案中, 核酸分子所包含的核苷酸序列编码 SEQ ID NOS :2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、92、96 或 98 的氨基酸序列, 或缺乏信号序列的该序列。优选实施方案中, 核酸分子包含核苷酸序列 SEQ ID NO :1、9、17、25、33、41、49、57、65、73、81、89、91、95 或 97, 或缺乏信号序列的该序列的至少一部份。有些实施方案中, 该部份编码 V_H 区 (含或不含信号序列)、CDR3 区、所有 3 个 CDR 区、或包括 CDR1-CDR3 的连续区域。

[0187] 有些实施方案中, 核酸分子所编码的 VH 氨基酸序列与图 1A-1C 或 2A-2C 所示的 V_H 氨基酸序列或与 SEQ ID NOS :2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、92、96 或 98 中任一种的 V_H 氨基酸序列呈至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 同一性。本

发明的核酸分子所包括的核酸在高度严格条件（如上述）下与编码 SEQ ID NOS :2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、92、96、或 98 的氨基酸序列的核酸序列杂交，或与核酸序列 SEQ ID NOS :1、9、17、25、33、41、49、57、65、73、81、89、91、95、或 97 杂交。本发明的核酸分子包括可于高度严格条件（如上述）下与编码前述 VH 的核酸序列杂交的核酸。

[0188] 另一项实施方案中，核酸编码抗体 3.1.1、3.1.1H-A78T、3.1.1H-A78T-V88A-V97A、7.1.2、10.8.3、15.1.1、21.4.1、21.2.1、22.1.1、22.1.1H-C109A、23.5.1、23.25.1、23.28.1、23.28.1H-D16E、23.29.1 与 24.2.1 的全长重链，或具有氨基酸序列 SEQ ID NOS :6、14、22、30、38、46、54、62、70、78 或 86 的重链，或包含如本文所讨论的突变的重链。此外，核酸可包含核苷酸序列 SEQ ID NOS :5、13、21、29、37、45、53、61、69、77、85 或 89，或编码包含如本文所讨论的突变的重链的核酸分子。

[0189] 编码抗 -CD40 抗体或其一部份的重链或整个轻链的核酸分子可自任何可产生此类抗体的来源分离。不同的实施方案中，核酸分子是自己接种 CD40 免疫处理的动物的 B 细胞分离出的，或自衍生自此类 B 细胞的可表达抗 -CD40 抗体的永生化细胞中分离出的。分离编码抗体的 mRNA 的方法是本领域已知的。参见例如：Sambrook 等人的文献。mRNA 可用于制造 cDNA，用于聚合酶链式反应 (PCR) 或抗体基因的 cDNA 克隆法。优选实施方案中，核酸分子分离自杂交瘤，该杂交瘤含有来自非人类转基因动物体中产生人类免疫球蛋白的细胞作为其融合对象之一。甚至更优选的实施方案中，产生人类免疫球蛋白的细胞是自 XenoMouseTM 动物中分离出的。另一项实施方案中，产生人类免疫球蛋白的细胞是来自如上述的非人类、非小鼠的转基因动物。另一项实施方案中，核酸分离自非人类、非转基因动物。分离自非人类、非转基因动物的核酸分子可用于例如人源化抗体。

[0190] 有些实施方案中，编码本发明抗 -CD40 抗体的重链的核酸可包含编码本发明 VH 结构域的核苷酸序列，该核苷酸序列按读码区与任何来源的编码重链恒定结构域的核苷酸序列连接。同样地，编码本发明抗 -CD40 抗体的轻链的核酸分子可包含编码本发明 VL 结构域的核苷酸序列，该核苷酸序列按读码区与任何来源的编码轻链恒定结构域的核苷酸序列连接。

[0191] 本发明另一方面，编码重链 (V_H) 与轻链 (V_L) 的可变结构域的核酸分子“转化”成全长抗体基因。在一项实施方案中，编码 VH 或 VL 结构域的核酸分子经由插入已分别编码重链恒定或轻链恒定结构域的表达载体中而转化成全长抗体基因，因此 VH 节段与载体内的 CH 节段操纵性连接，且 V_L 节段与载体内的 C_L 节段操纵性连接。另一项实施方案中，编码 V_H 和 / 或 V_L 结构域的核酸分子经由标准分子生物技术，连接编码 VH 和 / 或 VL 结构域的核酸分子与编码 C_H 和 / 或 C_L 结构域的核酸分子而转化成全长抗体基因。人类重链与轻链免疫球蛋白恒定结构域基因的核酸序列是本领域已知的。参见例如：Kabat 等人的 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第 5 版, NIH 出版, No. 91-3242, 1991。编码全长重链和 / 或轻链的核酸分子随后可由其所引入的细胞表达，并分离出抗 -CD40 抗体。

[0192] 核酸分子可用于重组表达大量抗 -CD40 抗体。核酸分子也可用于产生嵌合抗体、双特异性抗体、单链抗体、免疫粘附素、双重抗体、突变抗体及抗体衍生物，其将说明于下文中。若核酸分子衍生自非人类、非转基因动物时，该核酸分子可用于进行抗体人源化处理，其也说明于下文中。

[0193] 另一项实施方案中，使用本发明核酸分子作为特异性抗体序列的探针或 PCR 引

物。例如：核酸可用作诊断法的探针或作为扩增可使用的 DNA 区的 PCR 引物，以用于分离其它编码抗-CD40 抗体的可变结构域的核酸分子。有些实施方案中，核酸分子为寡核苷酸。有些实施方案中，寡核苷酸来自目标抗体的重链与轻链的高度可变区。有些实施方案中，寡核苷酸编码抗体 3.1.1、3.1.1H-A78T、3.1.1H-A78T-V88A-V97A、3.1.1L-L4M-L83V、7.1.2、10.8.3、15.1.1、21.4.1、21.2.1、22.1.1、22.1.1H-C109A、23.5.1、23.25.1、23.28.1、23.28.1H-D16E、23.28.1L-C92A、23.29.1、或 24.2.1 中一个或多个 CDRs 的所有或一部份。

[0194] 载体

[0195] 本发明提供的载体包含可编码本发明抗-CD40 抗体的重链或其抗原结合部分的核酸分子。本发明也提供包含可编码此类抗体的轻链或其抗原结合部分的核酸分子的载体。本发明还提供包含编码融合蛋白质、修饰抗体、抗体片段及其探针的核酸分子的载体。

[0196] 有些实施方案中，本发明抗-CD40 抗体或其抗原结合部分的表达是通过编码部份或全长轻链与重链的 DNAs（其制法已说明于上文中）插入表达载体中，从而该基因与必要的表达控制序列（如：转录与翻译控制序列）操纵性连接来实现的。表达载体包括：质粒、反转录病毒、腺病毒、腺伴随病毒（AAV）、植物病毒如：花椰菜花叶病毒、烟草花叶病毒、粘粒、YACs、EBV 衍生的基因副体，等等。抗体基因连接至载体中，使载体内的转录与翻译控制序列进行其调节抗体基因的转录与翻译的功能。所选用的表达载体与表达控制序列应与所使用的表达宿主细胞兼容。抗体轻链基因与抗体重链基因可插入分开的载体中。优选实施方案中，此两种基因均插入同一个表达载体中。抗体基因利用标准方法插入表达载体中（例如：于抗体基因片段与载体的互补限制性酶切位点上连接，或若没有限制性酶切位点时，则以平末端连接）。

[0197] 方便的载体可编码功能完整的人类 CH 或 CL 免疫球蛋白序列，其经过处理而具有适当的限制性酶切位点，因此任何 VH 或 VL 序列很容易插入及表达，此点已如上述说明。此类载体中，通常在所插入 J 区的剪接供体位置与人类 C 结构域前的剪接受体位置之间进行剪接，且也在人类 CH 外显子内的剪接区进行。聚腺苷化反应与转录终止反应是在编码区下游的天然染色体位置进行。重组表达载体也可编码信号肽，促进宿主细胞分泌抗体链。可克隆抗体链基因至载体中，使信号肽按读码框与免疫球蛋白链的氨基末端连接。信号肽可为免疫球蛋白信号肽或异源信号肽（即来自非免疫球蛋白蛋白质的信号肽）。

[0198] 除了抗体链基因外，本发明重组表达载体还可带有可控制抗体链基因在宿主细胞中表达的调节序列。本领域技术人员应了解，表达载体的设计，包括调节序列的选择可根据所选用的用来转化的宿主细胞、所需蛋白质的表达程度等等因素而定。哺乳动物宿主细胞表达的优选调节序列包括可于哺乳动物细胞中指导蛋白质高度表达的病毒元件，如衍生自下列病毒的启动子和/或增强子：反转录病毒 LTRs、巨细胞病毒（CMV）（如：CMV 启动子/增强子）。猿猴病毒 40（SV40）（如：SV40 启动子和/或增强子）、腺病毒（例如：腺病毒主要晚期启动子（AdMLP）），多瘤病毒与哺乳动物强启动子，如：天然免疫球蛋白与肌动蛋白启动子。涉及病毒调节元件及其序列的进一步说明可参见例如：美国专利 No. 5,168,062、美国专利 No. 4,510,245 及美国专利 No. 4,968,615。于植物中表达抗体的方法包括启动子与载体的说明，及植物的转化均是本领域已知。参见例如：美国专利 6,517,529，其内容已以引用的方式并入本文中。于细菌细胞或真菌细胞（例如：酵母细胞）中表达多肽的方法也是本领域已知的方法。

[0199] 除了抗体链基因与调节序列外,本发明的重组表达载体可包含其它序列,如:调节载体在宿主细胞中复制的序列(例如:复制起点)及选择性标记基因。选择性标记基因有助于选择已引进载体的宿主细胞(参见美国专利 Nos. 4, 399, 216、4, 634, 665 与 5, 179, 017)。例如:选择性标记基因通常在已引进该载体的宿主细胞上赋与药物抗性,如:G418、潮霉素或氨甲蝶呤。优选的选择性标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用于 dhfr- 宿主细胞中氨甲蝶呤筛选/扩增),neo 基因(用于 G418 选择),及谷氨酸合成酶基因。

[0200] 非杂交瘤宿主细胞及重组产生蛋白质的方法

[0201] 编码抗-CD40 抗体的核酸分子及包含此类核酸分子的载体可用于转染适宜的哺乳动物、植物、细菌或酵母宿主细胞。转化法可为任何已知可引进多核苷酸至宿主细胞中的方法。将异源多核苷酸引进至哺乳动物细胞中的方法是本领域已知的,且包括葡聚糖介导的转染法、磷酸钙沉淀法、polybrene 介导的转染法、原生质体融合法、电穿孔法、于脂质体中包裹多核苷酸、及直接显微注射 DNA 至细胞核中。此外,可利用病毒载体将核酸分子引进哺乳动物细胞中。细胞转化法是本领域已知。参见例如:美国专利 Nos. 4, 399, 216、4, 912, 040、4, 740, 461、及 4, 959, 455(该专利的内容已以引用的方式并入本文中)。植物细胞转化法是本领域已知,包括例如:农杆菌介导的转化法、生物弹果转化法(biolistic transformation)、直接注射法、电穿孔法与病毒转化法。细胞与酵母细胞的转化法是本领域已知。

[0202] 可用作表达宿主的哺乳动物细胞系是本领域已知,且包括来自美国典型培养物保藏中心(the American Type Culture Collection(ATCC))的多种永生化细胞系。其中包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、NS0、SP2 细胞、HeLa 细胞、幼仓鼠肾(BHK)细胞、猴肾细胞(COS)、人类肝细胞瘤细胞(例如:Hep G2)、A549 细胞、及多种其它细胞系。特别优选的细胞系是经测定为高度表达的细胞系。其它可使用的细胞系为昆虫细胞系,如:Sf9 细胞。当将编码重组表达载体的抗体基因引进哺乳动物宿主细胞中时,培养宿主细胞一段充分时间,使抗体足以在宿主细胞中表达,以产生抗体,或更优选者,分泌抗体至宿主细胞所生长的培养基中。采用标准蛋白质纯化法,自培养基中回收抗体。植物宿主细胞包括例如:烟草(Nicotiana)、鼠耳芥(Arabidopsis)、浮萍(duckweed)、玉米、小麦、马铃薯,等等。细菌性宿主细胞包括大肠杆菌(E. coli)与链霉菌属(Streptomyces species)。酵母宿主细胞包括栗酒裂殖酵母(Schizosaccharomyces pombe)、酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)与巴斯德毕赤酵母(Pichia pastoris)。

[0203] 此外,可采用许多已知技术加强生产细胞系表达本发明抗体(或其所衍生的其它部份)。例如:谷氨酰胺合成酶基因表达系统(GS 系统)为常用于在某些条件下加强表达的方法。涉及 GS 系统的所有或部份内容已讨论于欧洲专利 Nos. 0216846、0256055、及 0323997 中,及欧洲专利申请 No. 89303964. 4 中。

[0204] 由不同细胞系或转基因动物表达的抗体似乎具有彼此不同的糖基化反应。然而,所有由本文所提供的核酸分子编码的抗体或包含本文所提供的氨基酸序列的抗体,均成为本发明的一部份,而不管其糖基化反应如何。

[0205] 转基因动物与植物

[0206] 本发明抗-CD40 抗体也可由转基因法产生,即,经转基因法将所需的免疫球蛋白重链与轻链序列转入哺乳动物或植物体中,并产生可回收形式的抗体。使用哺乳动物进行

转基因生产时,抗-CD40 抗体可由山羊、奶牛或其它哺乳动物的乳汁中产生及回收。参见例如:美国专利 Nos. 5, 827, 690、5, 756, 687、5, 750, 172、及 5, 741, 957。有些实施方案中,包含人类免疫球蛋白座位的非人类转基因动物接受如上述 CD40 或其免疫原性部份免疫接种。于植物中制造抗体的方法说明于例如:美国专利 6, 046, 037 与 US5, 959, 177 中。

[0207] 有些实施方案中,非人类转基因动物或植物的制法为采用标准转基因技术,将编码本发明抗-CD40 抗体的一种或多种核酸分子引进动物或植物体内。参见如上述的 Hogan 与美国专利 6, 417, 429 的文献。用于制造转基因动物的转基因细胞可为胚胎干细胞或体细胞。转基因的非人类生物体可为嵌合性、非嵌合性、杂合子及非嵌合性纯合子。参见例如:Hogan 等人的 Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual 第 2 版, Cold Spring Harbor Press(1999); Jackson 等人的 Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach, Oxford University Press(2000); 及 Pinkert 的 Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook, Academic Press(1999)。有些实施方案中,转基因的非人类动物被编码所需重链和 / 或轻链的导向构建体定向打断 (disruption) 与置换。优选实施方案中,转基因动物包含及表达编码特异性结合 CD40 (优选人类 CD40) 的重链与轻链的核酸分子。有些实施方案中,转基因动物包含编码经修饰的抗体 (如:单链抗体、嵌合抗体或人源化抗体) 的核酸分子。抗-CD40 抗体可于任何转基因动物体内制造。优选实施方案中,非人类动物为小鼠、大鼠、绵羊、猪、山羊、牛或马。非人类转基因动物以血液、乳汁、尿液、唾液、眼泪、黏液及其它体液表达所编码的多肽。噬菌体展示文库

[0208] 本发明提供一种制造抗-CD40 抗体或其抗原结合部分的方法,其包括的步骤为于噬菌体中合成人类抗体文库,使用 CD40 或其一部份筛选该文库,分离与 CD40 结合的噬菌体,由该噬菌体得到抗体。例如:一种制备供噬菌体展示技术用的抗体文库的方法包括的步骤为使用 CD40 或其抗原性部份对包含人类免疫球蛋白座位的非人类动物进行免疫接种,产生免疫反应,自己免疫的动物体中提取产生抗体的细胞,自所提取的细胞中分离出 RNA,此 RNA 经反转录产生 cDNA,使用引物扩增 cDNA,并将 cDNA 插入噬菌体展示载体中,从而使抗体表达在噬菌体上。依此方式即可得到本发明的重组抗-CD40 抗体。

[0209] 本发明的重组抗-CD40 人类抗体可通过筛选重组组合抗体文库而分离出。该文库最好为 scFv 噬菌体展示文库,其是使用由 B 细胞中所分离的 mRNA 制成的人类 VL 与 VHcDNAs 产生的。制备及筛选此类文库的方法是本领域已知。市面上有供应用于产生噬菌体展示文库的试剂盒 (例如:Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, 产品编号 27-9400-01; 及 Stratagene SurfZAP™ 噬菌体展示试剂盒,产品编号 240612)。也可采用其它方法与试剂来产生及筛选抗体展示文库 (参见例如:美国专利 No. 5, 223, 409; PCT 公告案 Nos. W092/18619、W091/17271、W092/20791、W092/15679、W093/01288、W092/01047、W092/09690; Fuchs 等人的 Bio/Technology9 :1370-1372(1991); Hay 等人的 Hum. Antibod. Hybridomas3 :81-85(1992); Huse 等人的 Science246 :1275-1281(1989); McCafferty 等人的 Nature348 :552-554(1990); Griffiths 等人的 EMBOJ. 12 :725-734(1993); Hawkins 等人的 J. Mol. Biol. 226 :889-896(1992); Clackson 等人的 Nature352 :624-628(1991); Gram 等人的 Proc. Natl. Acad. Sci. USA89 :3576-3580(1992); Garrad 等人的 Bio/Technology9 :1373-1377(1991); Hoogenboom 等人的 Nuc. Acid Res. 19 :4133-4137(1991); 和 Barbas 等人的 Proc. Natl. Acad. Sci. USA88 :7978-7982(1991)。

[0210] 一项实施方案中,要分离具有所需特性的人类抗-CD40 抗体时,先使用本文所说明的人类抗-CD40 抗体,采用 PCT 公告案 No. W093/06213 说明的表位印记方法 (epitope imprinting method),来选择对 CD40 具有相似结合活性的人类重链与轻链序列。此方法所使用的抗体文库最好为依 PCT 公告案 No. W092/01047、McCafferty 等人的 Nature 348 : 552-554 (1990) ;及 Griffiths 等人的 EMBO J. 12 : 725-734 (1993) 所述的方法制备及筛选的 scFv 文库。scFv 抗体文库最好使用人类 CD40 作为抗原进行筛选。

[0211] 一旦选出初步的人类 V_L 与 V_H 结构域后,即进行“混合与配对”实验,其中根据 CD40 结合性筛选初步选择的 V_L 与 V_H 节段的不同配对,以选择优选的 V_L/V_H 组合。此外,为了进一步改善抗体的品质,优选的 V_L/V_H 配对的 V_L 与 V_H 节段可进行随机突变,最好在 V_L 和 / 或 V_H 的 CDR3 区中进行,其过程类似于在天然免疫反应期间,负责抗体的亲和性成熟作用的活体内体细胞突变过程。此活体外亲和性成熟作用可使用分别与 V_H CDR3 或 V_L CDR3 互补的 PCR 引物扩增 V_H 与 V_L 结构域来完成,该引物的某些位置已用 4 种核苷酸碱基的随机混合物进行了“掺杂 (spiked)”,因此所得的 PCR 产物所编码的 V_H 与 V_L 节段中已将随机突变引进 V_H 和 / 或 V_L CDR3 区中。此类随机突变 V_H 与 V_L 节段可再度筛选其与 CD40 的结合性。

[0212] 自重组免疫球蛋白展示文库中筛选及分离本发明抗-CD40 抗体后,可自展示群 (例如:来自噬菌体基因组) 中回收编码所选抗体的核酸,并采用标准重组 DNA 技术亚克隆至其它表达载体中。若需要时,核酸可再经处理形成下文将说明的本发明其它抗体形式。经筛选组合文库而分离出的重组人类抗体要进行表达时,克隆编码抗体的 DNA 至重组表达载体中,并引入如上述哺乳动物宿主细胞中。

[0213] 分类转型

[0214] 本发明另一方面提供一种转化抗-CD40 抗体之类型或亚型成为另一种类型或亚型的方法。有些实施方案中,编码 V_L 或 V_H 但不包括任何编码 C_L 或 C_H 的核酸序列的核酸分子是采用本领域已知的方法分离。该核酸分子随后可与来自所需免疫球蛋白类型或亚型的编码 C_L 或 C_H 的核酸序列操纵性连接。此过程可使用如上述包含 C_L 或 C_H 链的载体或核酸分子完成。例如:原来为 IgM 的抗-CD40 抗体可转型成 IgG。此外,分类转型法可用于转化一种 IgG 亚型成为另一种亚型,例如:由 IgG1 形成 IgG2。另一种产生含有所需同种型的本发明抗体的方法包括的步骤为分离编码抗-CD40 抗体的重链的核酸及编码抗-CD40 抗体的轻链的核酸,分离编码 V_H 区的序列,连接 V_H 序列与编码所需同种型的重链恒定结构域的序列,于细胞中表达轻链基因与重链构建体,及收集含有所需同种型的抗-CD40 抗体。

[0215] 去免疫性的 (deimmunized) 抗体

[0216] 制造降低免疫原性的抗体的另一种方法为去除抗体的免疫性。本发明另一方面,可使用说明于例如:PCT 公告案 Nos. W098/52976 与 W000/34317 (其内容已以引用的方式完全并入本文中) 的技术去除抗体的免疫性。

[0217] 突变抗体

[0218] 另一项实施方案中,可使用核酸分子、载体及宿主细胞制造突变抗-CD40 抗体。该抗体可于重链和 / 或轻链的可变结构域中突变,例如:改变抗体的结合性。例如:可在一个或多个 CDR 区进行突变,以提高或降低抗体对 CD40 的 K_D , 提高或降低 K_{off} , 或改变抗体的结合特异性。定点诱变的技术是本领域已知。参见例如:Sambrook 等人与 Ausubel 等人的上述文献。优选实施方案中,是在抗-CD40 抗体的可变结构域中相对于种系待改

变的氨基酸残基上进行突变。另一项实施方案中,是在单克隆抗体 3.1.1、3.1.1H-A78T、3.1.1H-A78T-V88A-V97A、3.1.1L-L4M-L83V、7.1.2、10.8.3、15.1.1、21.4.1、21.2.1、22.1.1、22.1.1H-C109A、23.5.1、23.25.1、23.28.1、23.28.1H-D16E、23.28.1L-C92A、23.29.1、23.29.1L-R174K 与 24.2.1 的可变结构域的 CDR 区或构架区中,或在恒定结构域中,相对于种系待发生改变的氨基酸残基上进行一个或多个突变。另一项实施方案中,是在选自 SEQID NOS:4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、94、100、102、2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、92、96、98、100 或 102 的氨基酸序列,或其核酸序列为 SEQ ID NOS:3、11、19、27、35、43、51、59、67、75、83、93、99、101、1、9、17、25、33、41、49、57、65、73、81、89、91、95、97、99 或 101 的可变结构域的 CDR 区或构架区中,相对于种系待改变的氨基酸残基上进行一个或多个突变。

[0219] 一项实施方案中,构架区经过突变,以致所形成的构架区具有相应于种系基因的氨基酸序列。突变可在构架区或恒定结构域中进行,以延长抗-CD40 抗体的半衰期。参见例如:PCT 公告案 No. W000/09560,其内容已以引用的方式并入本文中。也可在构架区或恒定结构域进行突变,以改变抗体的免疫原性,提供与另一个分子进行共价或非共价结合的位置,或改变如:补体固定性、FcR 结合性及 ADCC 等性质。根据本发明,单一抗体可于构架区、恒定结构域及可变区中任一处或多处进行突变。

[0220] 有些实施方案中,相对于突变前的抗-CD40 抗体,突变的抗-CD40 抗体的 V_H 或 V_L 结构域有 1 至 18 个(包括此两数之间的任何数目)氨基酸突变。上述任一个突变均可能出现在一个或多个 CDR 区中。此外,任何突变均可能为保守性氨基酸取代。有些实施方案中,恒定结构域中的氨基酸变化不超过 5、4、3、2 或 1 个。

[0221] 经修饰的抗体

[0222] 另一项实施方案中,所制造的融合抗体或免疫粘附素可包含本发明抗-CD40 抗体的全长或一部份,并与另一种多肽连接。优选实施方案中,只有抗-CD40 抗体的可变结构域与多肽连接。另一项优选实施方案中,抗-CD40 抗体的 V_H 结构域与第一多肽连接,而抗-CD40 抗体的 V_L 结构域则与第二多肽连接,其中第二多肽与第一多肽组合的方式使得 V_H 与 V_L 结构域得以相互作用,形成抗体结合位置。另一项优选实施方案中, V_H 结构域与 V_L 结构域相隔一个连接体,以使 V_H 与 V_L 结构域得以相互作用(参见下文中“单链抗体”的说明)。随后使 V_H -连接体- V_L 抗体连接目的多肽。此融合抗体适用于使多肽导向至 CD40-表达细胞或组织。该多肽可为治疗剂,如:毒素、生长因子或其它调节性蛋白质,或可为诊断剂,如:容易目视检查的酶,如:辣根过氧化物酶。此外,可形成这样的融合抗体,其中两个(或更多个)单链抗体互相连接。其适用于在单一多肽链上制造出双价或多价抗体或用于制造双特异性抗体。

[0223] 制造单链抗体时,使(scFv) V_H -与 V_L -编码 DNA 片段与编码弹性连接体的另一个片段(例如:编码氨基酸序列 $(Gly_4-Ser)_3$ 的片段)操纵性连接,因此 V_H 与 V_L 序列可呈连续性单链蛋白质表达,其中 V_L 与 V_H 结构域是利用该弹性连接体连接的。参见例如:Bird 等人的 Science242:423-426(1988);Huston 等人的 Proc.Natl.Acad.Sci.USA85:5879-5883(1988);McCafferty 等人的 Nature348:552-554(1990)。若使用单一 V_H 与 V_L 时,单链抗体可为单价,若使用两条 V_H 与 V_L 时,单链抗体可为双价,若使用两条以上的 V_H 与 V_L 时,单链抗体则为多价。可产生特异性结合 CD40 与另一个分子的双特异性或多价抗体。

[0224] 其它实施方案中,可使用编码抗-CD40 抗体的核酸分子制备其它经修饰的抗体。例如: "κ-体(kappa bodies)" (I11 等人的 Protein Eng. 10:949-57(1997)), "迷你体(Minibodies)" (Martin 等人的 EMBO J. 13:5303-9(1994)), "双重抗体(diabodies)" (Holliger 等人的 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448(1993)), 或"Janusins" (Traunecker 等人的 EMBO J. 10:3655-3659(1991) 及 Traunecker 等人的 Int. J. Cancer (Suppl.) 7:51-52(1992)) 均可使用标准生物技术,依本说明书的教导制备。

[0225] 双特异性抗体或抗原结合性片段可依多种方法制造,包括杂交瘤融合法或 Fab' 片段连接法。参见例如: Songsivilai 与 Lachmann 的 Clin. Exp. Immunol. 79:315-321(1990), Kostelny 等人的 J. Immunol. 148:1547-1553(1992)。此外,双特异性抗体可形成"双重抗体"或"Janusins"。有些实施方案中,双特异性抗体结合 CD40 的两个不同表位。有些实施方案中,双特异性抗体具有来自单克隆抗体 3.1.1、3.1.1H-A78T、3.1.1H-A78T-V88A-V97A、3.1.1L-L4M-L83V、7.1.2、10.8.3、15.1.1、21.4.1、21.2.1、22.1.1、22.1.1H-C109A、23.5.1、23.25.1、23.28.1、23.28.1H-D16E、23.28.1L-C92A、23.29.1、23.29.1L-R174K 与 24.2.1 的第一条重链及第一条轻链,及其它抗体重链与轻链。有些实施方案中,所述其它轻链与重链也可来自上述单克隆抗体,但不同于第一条重链与轻链。

[0226] 有些实施方案中,上述经修饰的抗体是使用来自本文所提供的人类抗 CD40 单克隆抗体、该单克隆抗体的氨基酸序列或由编码该单克隆抗体的核酸序列所编码的重链或轻链中一个或多个可变结构域或 CDR 区制备。

[0227] 经衍生化及标记的抗体

[0228] 本发明抗-CD40 抗体或其抗原结合部分可经过衍生化或连接至另一种分子(例如:另一种肽或蛋白质)。通常,抗体或其一部份经过衍生化后,使得 CD40 结合性不受衍生化反应或标记的负面影响。因此,本发明抗体及抗体部份应包括本文所说明的人类抗-CD40 抗体的完整型与修饰型。例如:本发明抗体及抗体部份可功能性连接(利用化学偶联法、基因融合法、非共价连接法或其它方法)至一个或多个其它分子实体,如:另一种抗体(例如:双特异性抗体或双重抗体)、检测剂、细胞毒性剂、药剂、和/或可介导抗体或抗体部份与另一种分子(如:链霉抗生物素核心区或聚组氨酸标签)结合的蛋白质或肽。

[0229] 有一种经衍生化的抗体是由两个或多个抗体(同一种或不同种抗体,例如:形成双特异性抗体)交联产生的。适宜的交联物包括那些具有两个由适当间隔物分隔的独立反应基的杂双功能性交联物(例如:间-马来酰亚氨基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯)或同双功能性交联物(例如:二琥珀酰亚氨基辛二酸酯)。此类连接体可自 Pierce Chemical Company (Rockford, Ill.) 取得。

[0230] 另一种经衍生化的抗体为有标记的抗体。适用于衍生化本发明抗体或抗原结合部分的检测剂包括荧光化合物,其包括荧光素、荧光素异硫氰酸、罗丹明、5-二甲氨基-1-萘磺酰氯、藻红蛋白、镧系无机发光材料,等等。抗体可使用适用于检测的酶标记,如:辣根过氧化物酶、β-半乳糖苷酶、荧光素酶、碱性磷酸酶、葡萄糖氧化酶,等等。当使用可检测的酶标记抗体时,可添加其它可用于产生供识别的反应产物的酶进行检测。例如:当含有辣根过氧化物酶制剂时,添加过氧化氢及二氨基联苯胺则产生可检测的有色反应产物。也可使用生物素标记抗体,并间接测定抗生物素蛋白或链霉抗生物素的结合性来检测。也可使用预先测

定的多肽表位标记抗体,使用第二报导子(例如:亮氨酸拉链型配对序列、第二抗体的结合位置、金属结合性结构域、表位标签)识别该多肽表位。有些实施方案中,标记物是利用各种不同长度的间隔臂连接,以降低可能的空间位阻。

[0231] 也可使用放射性标记的氨基酸标记抗-CD40 抗体。放射性标记物可用于诊断及医疗用途。例如:放射性标记物可用于利用 X-射线或其它诊断技术检测表达 CD40 的肿瘤。此外,放射性标记物可用于医疗上,作为癌细胞或肿瘤的毒素。多肽的标记物实例包括(但不限于)下列放射性同位素或放射性核素: ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 。

[0232] 抗-CD40 抗体也可经化学基团衍生化,如:聚乙二醇(PEG)、甲基或乙基、或碳水化合物基团。此类基团适用于改善抗体的生物特性,例如:延长血清半衰期或提高组织结合性。

[0233] 药物组合物与试剂盒

[0234] 本发明也涉及一种组合物,其包含人类抗-CD40 激动剂抗体,供治疗需要刺激免疫力的个体。此类组合物适用于为哺乳动物(包括人类)治疗、预防、降低感染的频率或严重性,包括病毒与细菌感染,治疗过度增生性病变,包括癌症与癌症前的病症,治疗遗传性免疫缺乏病症,如:过多-IgM 综合征,及治疗原发性或综合性免疫缺乏病症,包括出现嗜中性白血球减少症。可使用激动剂抗-CD40 抗体疗法治疗的个体包括任何需要加强免疫力的个体,包括(但不限于)免疫力受抑制(例如:因化疗法所致)的老年人及个人。

[0235] 可使用本发明激动剂抗-CD40 抗体治疗的过度增生性病变可涉及任何组织或器官,包括(但不限于)脑、肺、鳞状细胞、膀胱、胃、胰、乳房、头、颈、肝、肾、卵巢、前列腺、结肠直肠、食道、妇科、咽喉、或甲状腺等癌症,黑色素瘤、淋巴瘤、白血病或多发性骨髓瘤。特别的,本发明的人类激动剂抗-CD40 抗体适用于治疗乳房、前列腺、结肠与肺的癌瘤。

[0236] 治疗法涉及施用一种或多种本发明激动剂抗-CD40 单克隆抗体或其抗原结合性片段,可单独投药或并用药物可接受的载体投药。本文所使用“药物可接受的载体”是指任何及所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂与抗真菌剂、等渗剂与延迟吸收剂等等生理上可兼容的物质。药物可接受的载体的一些实例为水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、右旋糖、甘油、乙醇,等等,及其组合。在许多情况下,组合物中最好包含等渗剂,例如:糖类、多元醇(如:甘露糖醇、山梨糖醇)或氯化钠。药物上可接受的物质的其它实例为湿化剂或少量辅助物质,如:湿化剂或乳化剂、防腐剂或缓冲剂,其可加强抗体的保存期限或有效性。

[0237] 本发明激动剂抗-CD40 抗体与包含它们的组合物可与一种或多种其它治疗剂、诊断剂或预防剂组合投药。其它治疗剂包括其它抗肿瘤药、抗肿瘤剂、抗血管生成剂或化疗剂。所述其它制剂可包括在同一组合物中或可分开投药。有些实施方案中,可使用一种或多种本发明激动剂抗-CD40 抗体作为疫苗或作为疫苗的佐剂。

[0238] 本发明组合物可呈多种不同种形式,例如:液体、半固体、及固体剂型,如:液体溶液(例如:注射液与输液)、分散液或悬浮液、片剂、丸剂、粉剂、脂质体与栓剂。优选形式依投药模式及医疗用途而定。典型的优选组合物呈注射液或输液形式,如:类似那些用于人体被动免疫法的组合物。优选投药模型为肠外的(例如:静脉内、皮下、腹膜内、肌内)。优选实施方案中,经静脉内输液或注射法施用抗体。另一项优选实施方案中,经肌内或皮下注射法施用抗体。

[0239] 医疗性组合物典型地必需无菌且于制造及储存的条件下稳定。组合物可调配成溶

液、微乳液、分散液、脂质体、或其它适宜高药物浓度的有序结构。无菌注射液的制法为：将所需量的抗-CD40 抗体，依需要与一种或多种前述成分一起加至适当溶剂中，然后进行过滤杀菌。通常，分散液的制法为：添加活性化合物至含有基本分散介质及前述所需其它成分的无菌介质中。用于制备无菌注射液的无菌粉剂的优选制法为真空干燥法及冷冻干燥法，产生活性成分粉末与来自前述经无菌过滤的溶液中的任何其它所需成分。溶液的适当流动性可利用下述方式来维持，例如：使用包衣，如卵磷脂，若为分散液时，则维持所需粒子大小，及使用表面活性剂。组合物中包含延缓吸收剂（例如：单硬脂酸盐及明胶）时，可延缓注射组合物的吸收。

[0240] 本发明抗体可依本领域已知的多种方法投药，但对许多医疗用途而言，优选投药途径 / 模型仍为皮下、肌内、或静脉内输液。本领域技术人员应了解，投药途径 / 模型将依所需结果而定。

[0241] 某些实施方案中，抗体组合物活性化合物可使用可防止抗体快速释出的载体制备，如：控释制剂，包括植入物、经皮式贴剂、及微胶囊的传送系统。可使用生物可降解的生物相容性聚合物，如：乙烯基乙酸乙酸酯、聚酸酐、聚二醇酸、胶原、聚原酸酯、及聚乳酸。此类制剂的多种制法已有专利权或是本领域技术人员熟知的。参见例如：Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems (J. R. Robinson 编辑, Marcel Dekker, Inc., New York, 1978)。

[0242] 某些实施方案中，本发明抗-CD40 抗体可经口投药，例如：使用惰性稀释剂或可同化的可食性载体投药。化合物（若需要时可使用其它成分）也可包埋在硬式或软式明胶囊中，压缩成片剂，或直接加至患者的饮食中。经口投药时，抗-CD40 抗体可添加入赋形剂，呈可食入的片剂、口腔片剂、药片、胶囊、酏剂、悬浮液、糖浆、扁片，等等形式使用。采用肠外途径以外的方式施用本发明化合物时，可能必需以防止其失去活性的物质包覆化合物或与化合物共同投药。

[0243] 其它活性化合物也可加至组合物中。某些实施方案中，本发明抗-CD40 抗体与一种或多种其它治疗剂共同调配和 / 或共同投药。此类药剂包括（但不限于）：结合其它目标的抗体（例如：结合一种或多种生长因子或细胞因子或其细胞表面受体的抗体，如：抗-CTL4- 抗体）、抗肿瘤药、抗肿瘤剂、化疗剂、可活化 CD40 的肽类似物、可溶性 CD40L、一种或多种可活化 CD40 的化学剂，和 / 或本领域已知可加强对抗肿瘤细胞的免疫反应的制剂（例如：IFN- β 1、IL-2、IL-8、IL-12、IL-15、IL-18、IL-23、IFN- γ 及 GM-CSF）。此类组合疗法可能需要较低剂量的抗-CD40 抗体及共同投药的药剂，因此可避免产生与各种单一疗法相关的毒性或并发症。

[0244] 本发明激动剂抗-CD40 抗体及包含它们的组合物也可与其它治疗方案组合进行，特别是与放射疗法组合进行。

[0245] 本发明组合物可包括“治疗有效量”或预防有效量”的本发明抗体或其抗原结合部分。”治疗有效量”是指在使用剂量及必要的时间期内，可达到所需医疗结果的用量。抗体或抗体部份的治疗有效量可依多项因素变化如：疾病状态、个体的年龄、性别与体重，及抗体或抗体部份于个体内诱发所需反应的能力。治疗有效量也指其中抗体或抗体部份的有利的医疗效应超过任何毒性或有害效应时的用量。”预防有效量”是指在使用剂量及必要的时间期内，可达到所需预防结果的用量。典型地，由于个体是在发病前或疾病早期使用

预防剂量,预防有效量将低于治疗有效量。

[0246] 剂量方案可以调整,以提供最适的所需反应(例如:医疗性或预防性反应)。例如:可施用单一大丸剂,在一段时间内施用数次分开的小剂量,或可随医疗情形的紧迫程度,按比例降低或提高剂量。特别有利的作法为将肠外施用的组合物调配成方便投药且剂量均一的单位剂型。本文所使用的单位剂型是指适宜作为待治疗的哺乳动物个体的单位剂量的物理性分离单位;各单位包括经计算可产生所需医疗效果的预定量活性化合物以及所需的医药载体。本发明明确的单位剂型直接依下列而定:(a)抗-CD40抗体或其部份的独特性质及所要达到的特定医疗或预防效果,及(b)制备此类抗体的技艺本身受到个体治疗敏感性的限制。

[0247] 本发明抗体或抗体部份的治疗或预防有效量的实例为0.025至50mg/kg,更优选为0.1至50mg/kg,更优选为0.1-25、0.1至10或0.1至3mg/kg。应注意,此剂量可以随所要减轻的病症类型与严重性而定。也应了解,对任何特定患者而言,特定的剂量方案应随时间,依个体需要及投药者或监督组合物投药者的专业判断来调整,且本文所指示的剂量范围仅供示例,并无意限制所申请专利权的组合物的范围或实施。

[0248] 本发明另一方面提供一种试剂盒,其包含本发明抗-CD40抗体或抗体部份,或含此类抗体的组合物。除了抗体或组合物外,试剂盒中可另包含诊断剂或治疗剂。试剂盒中也可包含指示其诊断或医疗方法的说明书。优选实施方案中,试剂盒包括抗体或含该抗体的组合物,及可用于下文所述方法的诊断剂。另一项优选实施方案中,试剂盒包括抗体或含该抗体的组合物,一种或多种可用于下文所述方法的治疗剂。

[0249] 本发明也涉及于哺乳动物体内抑制异常细胞生长的组合物,其包含一定量的本发明抗体与一定量的化疗剂的组合,其中一定量的化合物、盐、溶剂化物、或前药,与一定量的化疗剂一起可有效抑制异常细胞生长。本领域已知有许多种化疗剂。有些实施方案中,化疗剂是选自下列:有丝分裂抑制剂、烷化剂、抗代谢物、插入性抗生素、生长因子抑制剂、细胞循环抑制剂、酶、拓扑异构溶合物抑制剂、生物反应修饰剂、抗激素剂,例如:抗雄激素及抗血管生成剂。

[0250] 抗血管生成剂,如:MMP-2(基质金属蛋白酶2)抑制剂、MMP-9(基质金属蛋白酶9)抑制剂及COX-II(环氧酶II)抑制剂可与本发明的抗-CD40抗体组合使用。适用的COX-II抑制剂实例包括CELEBREXTM(艾克希(alecoxib))、伐地考昔与罗非考昔。适用的基质金属蛋白酶抑制剂说明于W096/33172(1996年10月24日公告)、W096/27583(1996年3月7日公告)、欧洲专利申请案No. 97304971.1(1997年7月8日申请)、欧洲专利申请案No. 99308617.2(1999年10月29日申请)、W098/07697(1998年2月26日公告)、W098/03516(1998年1月29日公告)、W098/34918(1998年8月13日公告)、W098/34915(1998年8月13日公告)、W098/33768(1998年8月6日公告)、W098/30566(1998年7月16日公告)、欧洲专利公告案606,046(1994年7月13日公告)、欧洲专利公告案931,788(1999年7月28日公告)、W090/05719(1990年5月31日公告)、W099/52910(1999年10月21日公告)、W099/52889(1999年10月21日公告)、W099/29667(1999年6月17日公告)、PCT国际申请案No. PCT/IB98/01113(1998年7月21日申请)、欧洲专利申请案No. 99302232.1(1999年3月25日申请)、英国专利申请案No. 9912961.1(1999年6月3日申请)、美国临时申请案No. 60/148,464(1999年8月12日申请)、美国专利5,863,949(1999

年 1 月 26 日发证)、美国专利 5,861,510(1999 年 1 月 19 日发证)、及欧洲专利公告案 780,386(1997 年 6 月 25 日公告),其内容已以引用的方式完全并入本文中。优选 MMP 抑制剂为那些经证实不会造成关节痛的。更优选为那些可相对于其它基质金属蛋白酶(也即 MMP-1、MMP-3、MMP-4、MMP-5、MMP-6、MMP-7、MMP-8、MMP-10、MMP-11、MMP-12、及 MMP-13)而选择性抑制 MMP-2 和/或 MMP-9 的。有些适用于本发明的 MMP 抑制剂的特定实例为 AG-3340、R032-3555、RS13-0830 及下列化合物:3-[[4-(4-氟-苯氧基)-苯磺酰基]-(1-羟基氨基甲酰基-环戊基)-氨基]-丙酸;3-侧挂-3-[4-(4-氟-苯氧基)-苯磺酰氨基]-8-氧杂-双环[3.2.1]辛烷-3-羧酸羟基酰胺;(2R,3R)1-[4-(2-氯-4-氟-苯甲氧基)-苯磺酰基]-3-羟基-3-甲基-哌啶-2-羧酸羟基酰胺;4-[4-(4-氟-苯氧基)-苯磺酰基氨基]-四氢-吡喃-4-羧酸羟基酰胺;3-[[4-(4-氟-苯氧基)-苯磺酰基]-(1-羟基氨基甲酰基-环丁基)-氨基]-丙酸;4-[4-(4-氯-苯氧基)-苯磺酰基氨基]-四氢-吡喃-4-羧酸羟基酰胺;(R)3-[4-(4-氯-苯氧基)-苯磺酰基氨基]-四氢-吡喃-3-羧酸羟基酰胺;(2R,3R)1-[4-(4-氟-2-甲基-苯甲氧基)-苯磺酰基]-3-羟基-3-甲基-哌啶-2-羧酸羟基酰胺;3-[[4-(4-氟-苯氧基)-苯磺酰基]-(1-羟基氨基甲酰基-1-甲基-乙基)-氨基]-丙酸;3-[[4-(4-氟-苯氧基)-苯磺酰基]-(4-羟基氨基甲酰基-四氢-吡喃-4-基)-氨基]-丙酸;3-侧挂-3-[4-(4-氯-苯氧基)-苯磺酰基氨基]-8-氧杂-双环[3.2.1]辛烷-3-羧酸羟基酰胺;3-桥环-3-[4-(4-氟-苯氧基)-苯磺酰基氨基]-8-氧杂-双环[3.2.1]辛烷-3-羧酸羟基酰胺;及(R)3-[4-(4-氟-苯氧基)-苯磺酰基氨基]-四氢-呋喃-3-羧酸羟基酰胺;及该化合物的药物可接受的盐及溶剂化物。

[0251] 本发明化合物也可与信号转导抑制剂并用,如:可抑制 EGF-R(表皮生长因子受体)反应的制剂,如:EGF-R 抗体、EGF 抗体、及作为 EGF-R 抑制剂的分子;VEGF(血管内皮生长因子)抑制剂,如:VEGF 受体与可抑制 VEGF 的分子;及 erbB2 受体抑制剂,如:可结合 erbB2 受体的有机分子或抗体,例如:HERCEPTINTM(Genentech, Inc.)。EGF-R 抑制剂说明于例如:W095/19970(1995 年 7 月 27 日公告)、WO

[0252] 98/14451(1998 年 4 月 9 日公告)、W098/02434(1998 年 1 月 22 日公告)及美国专利 5,747,498(1998 年 5 月 5 日发证),且此类物质可如本文所说明用于本发明。EGFR-抑制剂包括(但不限于):单克隆抗体 C225 与抗-EGFR22Mab(ImClone Systems Incorporated)、ABX-EGF(Abgenix/Cell Genesys)、EMD-7200(Merck KgaA)、EMD-5590(MerckKgaA)、MDX-447/H-477(Medarex Inc. 及 Merck KgaA),及化合物 ZD-1834、ZD-1838 及 ZD-1839(AstraZeneca)、PKI-166(Novartis)、PKI-166/CGP-75166(Novartis)、PTK787(Novartis)、CP701(Cephalon)、来氟米特(Pharmacia/Sugen)、CI-1033(WarnerLambert Parke Davis)、CI-1033/PD183,805(Warner Lambert ParkeDavis)、CL-387,785(Wyeth-Ayerst)、BBR-1611(BoehringerMannheim GmbH/Roche)、Naamidine A((Bristol Myers Squibb)、RC-3940-II(Pharmacia)、BIBX-1382(Boehringer Ingelheim)、OLX-103(Merck&Co.),VRCTC-310(Ventech Research)、EGF 融合毒素(Seragen Inc.)、DAB-389(Seragen/Lilgand)、ZM-252808(Imperial Cancer Research Fund)、RG-50864(INSERM)、LFM-A12(Parker Hughes Cancer Center)、WHI-P97(Parker Hughes CancerCenter)、GW-282974(Glaxo)、KT-8391(Kyowa Hakko)及 EGF-R 疫苗(York Medical/Centro de Immunologia Molecular(CIM))。此类及其它 EGF-R-抑制剂均可用于本发明。

[0253] VEGF 抑制剂,例如:SU-5416 与 SU-6668(Sugen Inc.)、SH-268(Schering)、与 NX-1838(NeXstar) 也可与本发明化合物组合使用。VEGF 抑制剂已说明于例如:W099/24440(1999 年 5 月 20 日公告)、PCT 国际申请案 PCT/IB99/00797(1999 年 5 月 3 日申请)、W095/21613(1995 年 8 月 17 日公告)、W099/61422(1999 年 12 月 2 日公告)、美国专利 5,834,504(1998 年 11 月 10 日发证)、W098/50356(1998 年 11 月 12 日公告)、美国专利 5,883,113(1999 年 3 月 16 日发证)、美国专利 5,886,020(1999 年 3 月 23 日发证)、美国专利 5,792,783(1998 年 8 月 11 日发证)、W099/10349(1999 年 3 月 4 日公告)、W097/32856(1997 年 9 月 12 日公告)、W097/22596(1997 年 6 月 26 日公告)、W098/54093(1998 年 12 月 3 日公告)、W098/02438(1998 年 1 月 22 日公告)、W099/16755(1999 年 4 月 8 日公告)及 W098/02437(1998 年 1 月 22 日公告),其内容已以引用的方式完全并入本文中。有些适用于本发明的其它特异性 VEGF 抑制剂实例为 IM862(CytranInc.);抗 VEGF 单克隆抗体(Genentech Inc.);及 angiozyme,是一种来自 Ribozyme and Chiron 的合成核糖酶。此类及其它 VEGF 抑制剂均可如本文所说明用于本发明中。本发明化合物也可与 ErbB2 受体抑制剂,如:GW-282974(Glaxo Wellcome plc),及单克隆抗体 AR-209(Aronex Pharmaceuticals Inc.)及 2B-1(Chiron) 组合使用,例如:那些说明于 W098/02434(1998 年 1 月 22 日公告)、W099/35146(1999 年 6 月 15 日公告)、W099/35132(1999 年 6 月 15 日公告)、W098/02437(1998 年 1 月 22 日公告)、W097/13760(1997 年 4 月 17 日公告)、W095/19970(1995 年 6 月 27 日公告)、美国专利 5,587,458((1996 年 12 月 24 日发证)、及美国专利 5,877,305((1999 年 3 月 2 日发证)中的,其内容已以引用的方式完全并入本文中。适用于本发明的 ErbB2 受体抑制剂也说明于 1999 年 1 月 27 日申请的美国临时申请案 No. 60/117,341、1999 年 1 月 27 日申请的美国临时申请案 No. 60/117,346,此二者的内容已以引用的方式完全并入本文中。erbB2 受体抑制剂化合物及上述 PCT 申请案、美国专利、与美国临时申请案所说明的物质,及其它可抑制 erbB2 受体的化合物与物质均可根据本发明与本发明化合物组合使用。

[0254] 抗-残留剂(anti-survival agents)包括抗 IGF-IR 抗体与抗整合蛋白制剂,如:抗-整合蛋白抗体。

[0255] 诊断法与用途

[0256] 本发明另一方面提供一种诊断法。抗-CD40 抗体可用于活体外或活体内检测生物样品中的 CD40。一项实施方案中,本发明提供一种为有需要的个体诊断表达 CD40 的肿瘤的存在或位置的方法,其包括的步骤为将抗体注射至该个体内,测定抗体的结合位置来判断 CD40 的表达,并与正常参考个体或标准物的表达比较,诊断肿瘤的存在或位置。

[0257] 抗-CD40 抗体可用于传统的免疫分析法中,包括(但不限于):ELISA、RIA、FACS、组织免疫组织化学法、蛋白质印迹法、或免疫沉淀法。本发明抗-CD40 抗体可用于检测来自人体的 CD4。本发明另一项实施方案中,抗-CD40 抗体可用于检测来自古老世界的灵长类动物如:猕猴与恒河猴、黑猩猩与猿的 CD40。本发明提供一种检测生物样品中 CD40 的方法,其包括的步骤为将生物样品与本发明抗-CD40 抗体接触,并检测结合的抗体。在一项实施方案中,在抗-CD40 抗体上直接标记可检测的标记物。另一项实施方案中,抗-CD40 抗体(第一抗体)未标记,可结合抗-CD40 抗体的第二抗体或其它分子则有标记。本领域技术人员已知,所选用的第二抗体应特异性结合第一抗体的特定物种与类型。例如:若抗-CD40 抗体

为人类 IgG 时,则第二抗体可为抗人类 -IgG。其它可结合抗体的分子包括(但不限于):蛋白质 A 与蛋白质 G,此二者均可自商品取得,例如:来自 Pierce Chemical Co.。

[0258] 抗体或第二抗体的适宜标记物已揭示于上述文献中,且包括多种酶、辅基、荧光材料、发光材料及放射活性材料。适宜酶的实例包括辣根过氧化酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、或乙酰胆碱酯酶;适宜的辅基复合物实例包括链霉抗生物素/生物素及抗生物素蛋白/生物素;适宜荧光材料实例包括伞形酮、荧光素、荧光异硫氰酸、罗丹明、二氯三嗪基荧光素、丹磺酰氯、或藻红蛋白;发光材料实例包括鲁米诺;及适宜的放射活性材料实例包括 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 或 ^3H 。

[0259] 其它实施方案中,生物样品中 CD40 的分析法可利用标记可检测的物质的 CD40 标准物与未标记的抗 -CD40 抗体进行竞争免疫分析法测定。此分析法中,组合生物样品、有标记的 CD40 标准物及抗 -CD40 抗体,并测定有标记的 CD40 标准物与未标记的抗体的结合量。生物样品中 CD40 含量会与结合抗 -CD40 抗体的有标记的 CD40 标准物含量呈反比。

[0260] 上文所揭示免疫分析法可用于多种目的。例如:可使用抗 -CD40 抗体来检测细胞培养物中细胞中的 CD40。优选实施方案中,使用抗 -CD40 抗体测定经过多种不同化合物处理的细胞表面上的 CD40 含量。此方法可用于判别化合物是否适用于活化或抑制 CD40。根据本发明,可使用试验化合物处理一个细胞样品一段时间,而另一个样品则保留不处理。若要测定 CD40 总量时,则溶解细胞,使用上述一种免疫分析法测定 CD40 总量。比较处理组与未处理组的 CD40 总量,确定试验化合物的效力。

[0261] 测定 CD40 总量的优选免疫分析法为 ELISA 或蛋白质印迹分析法。若要测定细胞表面的 CD40 含量时,则不溶解细胞,并使用上述一种免疫分析法测定细胞表面的 CD40 含量。测量细胞表面 CD40 含量的优选免疫分析法包括的步骤为在细胞表面蛋白质上标记可检测的标记物,如:生物素或 ^{125}I ,使 CD40 与抗 -CD40 抗体进行免疫沉淀后,检测有标记的 CD40。另一项测定 CD40 位置(例如:细胞表面含量)的优选免疫分析法为采用免疫组织化学法。如:ELISA、RIA、蛋白质印迹法、免疫组织化学法、以整合型膜蛋白质标记细胞表面的方法,及免疫沉淀法均是本领域已知的。参见例如:Harlow 与 Lane 的上述文献。此外,免疫分析法可放大规模,用于高通量筛选,以测试大量化合物是否可活化或抑制 CD40。

[0262] 本发明抗 -CD40 抗体也可用于测定组织或衍生自组织的细胞中的 CD40 含量。有些实施方案中,组织为疾病组织。有些实施方案中,组织为肿瘤或其活检组织样品。该方法的有些实施方案中,组织或其活检组织样品是自患者体内切下的。该组织或其活检组织样品则用于免疫分析法中,采用上述方法来测定例如:CD40 总量、细胞表面 CD40 含量、或 CD40 位置。

[0263] 上述诊断法可用于测定肿瘤是否表达大量 CD40,此点可作为该肿瘤是否为抗 -CD40 抗体的治疗目标的指针。此外,同样的方法也可检测肿瘤中细胞死亡,以追踪抗 -CD40 抗体的治疗效力。诊断法也可用于测定组织或细胞是否表达不足量 CD40 或活化 CD40,因此可决定其是否为可接受活化型抗 -CD40 抗体、CD40L 和/或其它用于提高 CD40 含量或活性的治疗剂治疗的候选目标。

[0264] 本发明抗体也可用于活体内来判别表达 CD40 的组织与器官。有些实施方案中,使用抗 -CD40 抗体来判别表达 CD40 的肿瘤。使用本发明人类抗 -CD40 抗体的一项优点为其可于活体内安全使用,不会在投药时对抗体引发免疫反应,此点不同于非人类来源的抗体

或人源化抗体。

[0265] 本方法包括的步骤为施用已标记可检测物的抗-CD40 抗体或含此抗体的组合物给需要此种诊断试验法的患者,使患者接受显影分析法,以测定表达 CD40 的组织位置。显影法是医学领域已知的,其包括(但不限于)X-射线分析法、磁共振显影法(MRI)或计算机断层摄影(CE)。抗体上可标记适宜于活体内显影的任何试剂,例如:反差试剂(contrast agent),如:钆,其可用于X-射线分析法,或磁反差试剂,如:钆螯合剂,其可用于MRI或CE。其它标记试剂包括(但不限于)放射性同位素,如:⁹⁹Tc。另一项实施方案中,抗-CD40 抗体没有标记,且是经施用第二抗体或其它可检测且可结合抗-CD40 抗体的分子来显影。一项实施方案中,活检组织样品得自患者体内,以确定目标组织是否表达 CD40。

[0266] 医疗用途

[0267] 本发明另一方面提供使用本发明抗-CD40 抗体的医疗法。

[0268] 本发明人类激动剂抗-CD40 抗体可施用于表达交叉反应的 CD40 的人类或非人类哺乳动物。施用抗体于此类非人类哺乳动物(也即灵长类、猕猴或恒河猴)是供兽医学用途或作为人类疾病的动物模型。此类动物模型适用于评估本发明抗体的医疗效力。

[0269] 有些实施方案中,抗-CD40 抗体施用于患有原发性和/或复合性免疫缺乏症的患者,包括出现过多 IgM 综合征的依赖 CD40 的免疫缺乏症、一般多变性免疫缺乏症、Bruton's 血丙种球蛋白缺乏症、IgG 亚型缺乏症及X-连锁的 SCID(一般 γ -链突变)。有些实施方案中,所施用的抗-CD40 抗体用来治疗免疫抑制的患者,例如:因化疗法所致,或患有免疫虚弱症者,包括任何获得性免疫缺乏症,如:HIV。有些实施方案中,施用抗-CD40 抗体来加强老年人的免疫力。有些实施方案中,施用抗-CD40 抗体来治疗患有细菌性、病毒性、真菌性、或寄生性感染的患者。有些实施方案中,本发明人类激动剂抗-CD40 抗体可预防性施用于那些因年龄、疾病、或身体一般状况不佳而容易感染的个体,以预防或降低感染次数或严重性。

[0270] 有些实施方案中,施用抗-CD40 抗体给患有过度增生性病变的患者。

[0271] 有些实施方案中,施用抗-CD40 抗体来治疗患有肿瘤的个体。有些实施方案中,该肿瘤为 CD40 阳性。有些实施方案中,该肿瘤为 CD40 阴性。肿瘤可为实体瘤,或非实体瘤,如:淋巴瘤。有些实施方案中,抗-CD40 抗体施用于患有癌性肿瘤的患者。有些实施方案中,抗体可抑制癌细胞增生,抑制或预防肿瘤重量或体积增加,和/或降低肿瘤重量或体积。

[0272] 可接受本发明抗-CD40 抗体或抗体部份治疗的患者包括(但不限于)经诊断患有下列疾病的患者:脑癌、肺癌、骨癌、胰癌、皮肤癌、头与颈癌、皮肤或眼内黑色素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛门区癌、胃癌、结肠直肠癌、结肠癌、乳腺癌、妇科肿瘤(例如:子宫肉瘤、面神经管癌瘤、子宫内膜癌瘤、子宫颈癌瘤、阴道癌瘤、或外阴癌瘤)、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌(例如:甲状腺癌、甲状旁腺癌或肾上腺癌)、软组织肉瘤、白血病、骨髓瘤、多发性骨髓瘤、尿道癌、阴茎癌、前列腺癌、慢性或急性白血病、幼儿的实体瘤、何杰金病(Hodgkin's disease)、淋巴细胞性淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤、膀胱癌、肝癌、肾癌、肾或输尿管癌(例如:肾细胞癌瘤、肾盂癌瘤)、或中枢神经系统的癌瘤(例如:原发性 CNS 淋巴瘤、脊柱肿瘤、脑干神经胶质瘤或脑下垂体腺瘤)、神经胶质瘤或纤维肉瘤。

[0273] 抗体可一天施用 3 次至每 6 个月施用 1 次,且最好经口、黏膜、口腔、鼻内、吸入、静脉内、皮下、肌内、肠外、肿瘤内、穿皮式或局部途径投药。抗体也可利用微型泵连续投药。在

抗体导致肿瘤或癌停止生长或降低重量或体积的情况下,抗体的投药时间通常维持消失为止。抗体剂量范围通常为 0.025 至 50mg/kg,更优选为 0.1 至 50mg/kg,更优选为 0.1-20mg/kg、0.1-10mg/kg,0.1-5mg/kg 或甚至更优选为 0.1-2mg/kg。抗体也可预防性投药。

[0274] 有些实施方案中,抗-CD40 抗体作为包括另一种或多种抗细胞增生性药物或分子的治疗方案的一部份投药给患有过度增生性病变的患者,如:癌症或肿瘤。抗肿瘤剂实例包括(但不限于):有丝分裂抑制剂、烷化剂、抗代谢物、插入性试剂、生长因子抑制剂、细胞循环抑制剂、酶、拓扑异构酶抑制剂、生物反应修饰剂、抗激素剂、激酶抑制剂、基质金属蛋白酶抑制剂、遗传治疗剂与抗雄激素。更优选实施方案中,抗-CD40 抗体与抗肿瘤药一起投药,如:多柔比星或紫杉醇。有些优选实施方案中,抗-CD40 疗法是与放射疗法、化疗法、光动能疗法、外科手术或其它免疫疗法一起进行。有些实施方案中,抗-CD40 抗体与一种或多种其它抗体一起投药。例如:抗-CD40 抗体可与已知可抑制肿瘤或癌细胞增生的抗体一起投药。此类抗体包括(但不限于):抑制 CTLA4、erbB2 受体、EGF-R、IGF-1R、CD20 或 VEGF 的抗体。

[0275] 有些实施方案中,抗-CD40 抗体上标记一种放射性标记物、免疫毒素或毒素、或为包含毒性肽的融合蛋白质。抗-CD40 抗体或抗-CD40 抗体融合蛋白质可引导该放射性标记物、免疫毒素、毒素、或毒性肽到达肿瘤或癌细胞。优选实施方案中,待抗-CD40 抗体与细胞表面上 CD40 结合后,放射性标记物、免疫毒素、毒素、或毒性肽即被肿瘤或癌细胞内化。

[0276] 本发明另一方面,抗-CD40 抗体可用于医疗上,以诱发患者特定细胞的细胞凋亡。许多情况下,待细胞凋亡的目标细胞为癌或肿瘤细胞。因此,本发明提供一种诱发细胞凋亡的方法,其是对有此需要的患者施用抗-CD40 抗体。

[0277] 本发明另一方面提供一种对患者施用活化型抗-CD40 抗体的方法,以提高 CD40 活性。抗-CD40 抗体与其它一种或多种可提高 CD40 活性的因子共同投药。此类因子包括 CD40L,和/或可活化 CD40 的 CD40L 类似物。

[0278] 有些实施方案中,抗-CD40 抗体与一种或多种免疫增强剂共同投药,其包括(但不限于):IFN- β 1、IL-2、IL-8、IL-12、IL-15、IL-18、IL-23、IFN- γ 、及 GM-CSF。

[0279] 有些实施方案中,本发明人类激动剂抗-CD40 抗体用作加强疫苗效力的佐剂。当依此方式使用时,抗-CD-40 抗体会活化抗原呈递细胞上的 CD40,包括 B 细胞、树突细胞与单核细胞,并加强产生免疫调节分子,如:细胞因子与趋化因子。抗体的免疫刺激性效应可加强已免疫接种的个体对疫苗抗原的免疫反应。

[0280] 本发明另一方面提供一种产生用于癌症或树突细胞免疫疗法的树突细胞疫苗的方法。根据本方法,使取自癌症患者的树突细胞与肿瘤溶胞物或均浆液、经照射法或其它方法杀死的肿瘤细胞、或肿瘤特异性抗原(例如:个体独特型肽)及 1-10 μ g/ml 抗-CD40 抗体一起培养 1-5 天。再度将经肿瘤抗原脉冲处理的树突细胞注射至患者体内,以刺激抗肿瘤免疫反应,特别是抗肿瘤 CTL 反应。本方法所使用衍生自单核细胞的树突细胞可经由外周血液样品于 IL-4 与 GM-CSF 中培养后制得。树突细胞也可自患者的骨髓经过磁纯化法或筛检 CD34 阳性细胞,然后于 IL-4 与 GM-CSF 中培养后得到。

[0281] 基因疗法

[0282] 本发明的核酸分子可利用基因疗法施用于有此需要的患者。该疗法可于活体内或离体进行。优选实施方案中,可对患者施用编码重链与轻链的核酸分子。更优选实施方案

中,所施用的核酸分子稳定整合入 B 细胞的染色体中,因为此类细胞已专一化生产抗体。优选实施方案中,前体 B 细胞离体转染或感染,然后再次转入至有此需要的患者体内。另一项实施方案中,前体 B 细胞或其它细胞于活体内使用已知可感染目标细胞类型的病毒进行感染。用于基因疗法的典型载体包括脂质体、质粒与病毒载体。病毒载体实例为反转录病毒、腺病毒与腺伴随病毒。于活体内或离体感染后,自接受处理的患者体内取样,采用本领域已知或本文曾讨论的任何免疫分析法追踪抗体表达程度。

[0283] 优选实施方案中,基因疗法包括的步骤为施用编码抗-CD40 抗体的重链或其抗原结合部分的分离核酸分子并表达该核酸分子。另一项实施方案中,基因疗法包括的步骤为施用编码抗-CD40 抗体的轻链或其抗原结合部分的分离核酸分子并表达该核酸分子。更优选方法中,基因疗法包括的步骤为施用编码本发明抗-CD40 抗体的重链或其抗原结合部分的分离核酸分子及编码其轻链或其抗原结合部分的分离核酸分子并表达该核酸分子。基因疗法也包括的步骤为施用另一种抗癌剂,如:紫杉醇或多柔比星。

[0284] 为了进一步了解本发明,因此出示下列实施例。这些实施例仅仅是说明性的,而不应被解释为限制本发明的范围。

[0285] 实施例 I

[0286] 生产抗-CD40 抗体的杂交瘤的形成法

[0287] 依下列方法制备、选择及分析本发明抗体:

[0288] 免疫法与杂交瘤形成法

[0289] 取 8-10 周大的 XenoMice™ 小鼠经腹膜内或在其后爪上接种 CD40-IgG 融合蛋白质 (10 µg/剂/只) 或接种 300. 19-CD40 细胞 (10×10⁶ 个细胞/剂/只), 其是一种于细胞膜上表达人类 CD40 的转染细胞系。在 3-8 周内,重复此剂量 5-7 次。进行融合前 4 天,为小鼠注射最后一剂含于 PBS 中的人类 CD40 的细胞外结构域。使来自经免疫接种的小鼠的脾与淋巴节的淋巴细胞与非分泌性骨髓瘤 P3-X63-Ag8. 653 细胞系融合,依过去文献的说明,对融合的细胞进行 HAT 选择 (Galfre 与 Milstein 的 Methods Enzymol. 73 :3-46,1981)。回收一组均分泌 CD40 特异性人类 IgG_{2k} 抗体的杂交瘤。其中选出 11 株杂交瘤进一步研究,且指定为 3. 1. 1、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 29. 1 及 24. 2. 1。

[0290] 申请人依据布达佩斯条约,于 2001 年 8 月 6 日,将 3. 1. 1、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1 及 21. 4. 1 保藏在美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection (ATCC), 10801 University Boulevard, Manassas, VA20110-2209)。于 2002 年 7 月 16 日,将杂交瘤 21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1、23. 25. 1、23. 28. 1、23. 29. 1 与 24. 2. 1 保藏在 ATCC。所述杂交瘤的保藏编号如下:

[0291] 杂交瘤

保藏编号

[0292]	3. 1. 1 (LN15848)	PTA-3600
[0293]	7. 1. 2 (LN15849)	PTA-3601
[0294]	10. 8. 3 (LN15850)	PTA-3602
[0295]	15. 1. 1 (LN15851)	PTA-3603
[0296]	21. 4. 1 (LN15853)	PTA-3605
[0297]	21. 2. 1 (LN15874)	PTA-4549

[0298]	22. 1. 1 (LN15875)	PTA-4550
[0299]	23. 5. 1 (LN15855)	PTA-4548
[0300]	23. 25. 1 (LN15876)	PTA-4551
[0301]	23. 28. 1 (LN15877)	PTA-4552
[0302]	23. 29. 1 (LN15878)	PTA-4553
[0303]	24. 2. 1 (LN15879)	PTA-4554

[0304] 实施例 II

[0305] 根据本发明制备的抗-CD40-抗体的序列

[0306] 为了分析根据本发明所产生抗体的结构,我们自生产抗-CD40 单克隆抗体的杂交瘤中克隆出编码重链与轻链片段的核酸。克隆与序列分析方法如下:

[0307] 自己如实施例 I 所述经免疫接种人类 CD40 的 XenoMouse™ 小鼠所衍生的约 2×10^5 个杂交瘤细胞中,使用 Fast-Track 试剂盒 (Invitrogen) 分离出聚 (A)⁺mRNA。随后进行 PCT 产生随机引物化的 (random primed) 的 cDNA。采用人类 V_H 或人类 V_K 家族的特异性可变区引物 (Marks 等人的 "Oligonucleotide primers for polymerase chain reaction amplification of human immunoglobulin variable genes and design of family-specific oligonucleotide probes." Eur. J. Immunol. 21 :985-991 (1991)) 或通用的人类 V_H 引物, MG-30, CAGGTGCAGCTGGAGCAGTCIGG (SEQ ID NO :118), 与特异于人类 Cj2 恒定区的引物, MG-40d, 5' -GCTGAGGGAGTAGAGTCCTGAGGA-3' (SEQ ID NO :119) 或 C_K 恒定区 (h_KP2 ;如前述 Green 等人, 1994 的文献)。因此得到来自产生抗 CD40 的杂交瘤中编码人类重链与 κ-轻链转录本的核酸分子,其方法为对采用上述引物从聚 (A)⁺RNA 所产生的 PCR 产物进行直接测序。也采用 TA 克隆试剂盒 (Invitrogen) 克隆 PCR 产物至 pCRII 中,使用 Prism 染料-终止子序列分析试剂盒 (dye-terminator sequencing kits) 及 ABI377 测序仪分析两链的序列。采用 MacVector 和 Geneworks 软件程序,与 "VBASE sequence directory" (Tomlinson 等人, MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, UK.) 排列比对,分析所有序列。

[0308] 此外,对单克隆抗体 3. 1. 1、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1、23. 28. 1、23. 29. 1 与 24. 2. 1 进行全长 DNA 克隆与测序。对于此类测序,采用 QIAGEN RNeasy RNA 分离试剂盒 (QIAGEN),自约 4×10^6 个杂交瘤细胞中分离 RNA。使用寡-dT (18) 及 Advantage RT/PCR 试剂盒 (Clontech),对 mRNA 进行反转录。使用 VBase 设计正向扩增引物,其中包括限制性酶切位点、最适当 Kozak 序列、ATG 起始位点及重链的一部份信号序列。表 1 列出了用于分析抗体克隆序列的正向扩增引物。

[0309] 表 1

[0310]

克隆	正向引物重链
3. 1. 1	5' -TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTT GGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO :120)
7. 1. 2	5' -TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTT GGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO :121)
10. 8. 3	5' -TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGAAACAC CTGTGGTTCTTCC-3' (SEQ ID NO :122)

15. 1. 1	5' -TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGAAACAT CTGTGGTTCTTCC3' (SEQ ID NO :123)
21. 4. 1	5' -TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGGACTGG ACCTGGAGGATCC-3' (SEQ ID NO :124)
21. 2. 1	5' -TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGA GTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO :128)
22. 1. 1	5' -TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAG TTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO :129)
23. 5. 1	5' -TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAG TTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO :130)
23. 28. 1	5' -TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGAAA CATCTGTGGTTCTTCC-3' (SEQ ID NO :131)
23. 29. 1	5' -TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAG TTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO :132)
24. 2. 1	5' -TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGAA ACATCTGTGGTTCTTCC-3' (SEQ ID NO :133)

[0311]

[0312] 采用相同方法来设计引物,其中包括 3' 编码序列、IgG2 恒定区的终止密码子 (5' -TTCTCTGATCAGAATTTCCTATCATTTACCCGAGACAGGGAGAG-3') (SEQ ID NO :125) 及限制性酶切位点。

[0313] 也采用相同方法设计 κ -链的 ATG 起始位点周围的引物:(5' -CTTCAAGCTTACC CGGGCCACCATGAGGCTCCCTGCTCAGC-3') (SEQ ID NO :126)。在 ATG 起始位置的 5' 端添加最适 Kozak 序列 (CCGCCACC)。此引物是用于 PCR 中,以克隆下列抗体克隆的轻链:3. 1. 1、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1 与 23. 29. 1。使用第二正向扩增引物 5' -TCTTCAAGCTTGCCCGGGCCCGCCACCATGGAAACCCAGCGCAG-3' (SEQ ID NO. 134) 来克隆克隆 23. 28. 1 与 24. 2. 1. 的轻链。也使用相同方法设计 κ -恒定区的终止密码子周围的引物 (5' -TTCTTTGATCAGAATTCTCACTAACACTCTCCCCTGTTGAAGC-3') (SEQ ID NO :127)。采用 Advantage High Fidelity PCR 试剂盒 (Clonetech),使用此引物对扩增 cDNAs。依标准技术 (例如:引物步移法 (primerwalking),使用染料-终止子测序试剂盒及 ABI 测序仪器,直接分析 PCR 产物的序列。将 PCR 产物克隆至哺乳动物表达载体中,分析克隆的序列,以确认体细胞突变。每株克隆均至少进行 3 次反应,以确认其两链的序列。

[0314] 基因利用分析

[0315] 表 2 列出了根据本发明选择的抗体杂交瘤克隆证实的基因利用情况。

[0316] 表 2

[0317] 重链与轻链基因利用情况

[0318]

克隆	重链				κ 轻链	
	VH	D	JH		VK	JK
3.1.1	(3-30+) DP-49	D4+ DIR3	JH6		A3/A19 (DPK-15)	JK1
7.1.2	(3-30+) DP-49	DIR5+ D1-26	JH6		A3/A19 (DPK-15)	JK1
10.8.3	(4.35) VIV-4	DIR3	JH6		L5 (DP5)	JK4
15.1.1	(4-59) DP-71	D4-23	JH4		A3/A19 (DPK-15)	JK2
21.4.1	(1-02) DP-75	DLR1	JH4		L5 (DP5)	JK4
21.2.1	(3-30+) DP-49	DIR3+ D6-19	JH4		A3/A19 (DPK-15)	JK3
22.1.1	(3-30+) DP-49	D1-1	JH6		A3/A19 (DPK-15)	JK1
23.5.1	(3-30+) DP-49	D4-17	JH6		A3/A19 (DPK-15)	JK1
23.28.1	(4-59) DP-71	DIR1+ D4-17	JH5		A27 (DPK-22)	JK3
23.29.1	(3-30.3) DP-46	D4-17	JH6		A3/A19 (DPK-15)	JK1
24.2.1	(4-59) DP-71	DIR1+ D4-17	JH5		A27 (DPK-22)	JK3

[0319] 序列与突变分析法

[0320] 应了解,基因利用分析仅提供抗体结构的有限概况。由于 XenoMouse™ 动物中的 B- 细胞随机产生 V-D-J 重链或 V-J κ 轻链转录本,因此会出现许多二级反应,包括(但不限于)体细胞超突变、删除、N- 添加、与 CDR3 延伸。参见例如:Mendez 等人的 Nature Genetics15:146-156(1997) 及国际专利公告案 W098/24893。因此,为了进一步检测抗体结构,由得自克隆的 cDNAs 预测抗体的氨基酸序列。表 A 提供各核苷酸的序列代号及已测序的抗体所预测的氨基酸序列。

[0321] 表 3-7 提供抗体 3.1.1(表 3)、7.1.2(表 4)、10.8.3(表 5)、15.1.1(表 6) 与 21.4.1(表 7) 中重链与 κ- 轻链的核苷酸与预测的氨基酸序列。

[0322] 表 8-13 提供抗体 21.2.1(表 8)、22.1.1(表 9)、23.5.1(表 10)、23.28.1(表 11)、23.29.1(表 12) 及 24.2.1(表 13) 的重链与 κ- 轻链的可变结构域的核苷酸与预测的氨基酸序列。

[0323] 来自自己分析全长序列的单克隆抗体 23.28.1 的 DNA 序列不同于 PCR 初产物中 V_H 区的测序所得的 DNA 序列之处只在于一对碱基(C 换成 G),以致天然重链的残基 16 由 D 换成 E。

[0324] 表 14-19 提供抗体 21.2.1(表 14)、22.1.1(表 15)、23.5.1(表 16)、23.28.1(表 17)、23.29.1(表 18) 与 24.2.1(表 19) 的重链与 κ- 轻链的核苷酸与预测的氨基酸序列。表中,信号肽序列(或其编码碱基)以下划线表示。

[0325] 申请人产生两种突变抗体 22.1.1 与 23.28.1。抗体 22.1.1 的重链中位置 109 的半胱氨酸残基突变成丙氨酸残基。此突变的克隆称为 22.1.1H-C019A。抗体 23.28.1 的轻链中位置 92 的半胱氨酸残基也突变成丙氨酸残基。此突变的克隆称为 23.28.1L-C92A。

[0326] 进行特定残基的诱变法时,是设计引物,并根据制造商的指示,使用 QuickChange 定点诱变试剂盒 (Stratagene) 进行的。以自动测序法确认突变,取已突变的插入片段亚克隆至表达载体中。

[0327] 表 20 提供抗体 22.1.1H-C109A 中突变重链的核苷酸与氨基酸序列。表 21 提供抗体 23.28.1 中突变轻链的核苷酸与氨基酸序列。突变的 DNA 密码子以斜体字表示。突变的氨基酸残基以粗字体表示。

[0328] 表 3:抗体 3.1.1 的 DNA 和蛋白质序列

[0329]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGC TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT <u>CAGGTGCAGCTG</u>
DNA 序列	GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCAGTAGTTATGGCATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC AGTTATATCAAAGGATGGAGGTAATAAATACCAT GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAATGCGCTGTATCTGCAAAT GAATAGCCTGAGAGTTGAAGACACGGCTGTGTAT TACTGTGTGAGAAGAGGGCATCAGCTGGTTCTGG GATACTACTACTACAACGGTCTGGACGTCTGGGG CCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCC ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCT GCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCT GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG GTGACGGTGTCTGTGGAACTCAGGCGCTCTGACCA GCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTC CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACA CCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAATGTTGTGTC GAGTGCCCAACCGTGCCAGCACCACTGTGGCAG GACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAA GGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCG TGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGG AGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCTGTGGTCAG CGTCCTCACCCTGTGTGCACCAGGACTGGCTGAAC GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GGCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAACCAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAA GAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC TTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCA CACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC CTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGAT GCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG AGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

[0330]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 蛋白质序列	MEFGLSWVFLVALLRGVQCQQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA VISKDGGNKYHADSVKGRFTISRDNKNALYLQMN SLRVEDTAVYYCVRRGHQLVLGYYYNGLDVWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVPSNFGTQYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPAIEKTKISKKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PMLDSDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
轻链 DNA 序列	ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA <u>TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT</u> GCTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG TCAGAGCCTCTTGTATAGTAATGGATACAACTTTT TGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCC ACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCT CCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATC AGGCACAGATTTTAACTGAAAATCAGCAGATTG GAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGC AAGCTCTACAACTCCTCGGACGTTTCGGCCAAGG GACCAAGGTGGAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGC AGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCCTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT GTTAG
轻链 蛋白质序列	MRLPAOLLGLLMLWVSGSSGDIVLTQSPLSLPVTGP EPASISCRSSQSLLYSNGYNFLDWYLQKPGQSPQLLI YLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRLEAEDVG VYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

[0331]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 DNA 序列 的成熟可变结构域	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGTTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCAAAGGATGGAGGT AATAAATACCATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAATGCGCT GTATCTGCAAATGAATAGCCTGAGAGTTGAAGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGTGAGAAGAGGGCATC AGCTGGTTCTGGGATACTACTACTACAACGGTCT GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA
重链蛋白质序列 的成熟可变结构域	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAVISKDGGNKYHADS VKGRFT ISRDN SKNALYLQMNSLRVEDTAVYYCVRRGHQL VLGYYYNGLDVWGQGT TTVTSS
轻链 DNA 序列 的成熟可变结构域	GATATTGTGCTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCA CCCCTGGAGAGCCGGCCTCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCTTGTATAGTAATGGAT ACAACTTTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCA GTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGATTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAATCAAA
轻链蛋白质序列 的成熟可变结构域	DIVLTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLLYSNGYNFL DWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGST DFTLKISRLEAEDVG VYYCMQALQTPRTFGQGTKV EIK
重链 DNA （可变结构域） （3. 1. 1H-A78T） SEQ ID NO :89	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGTTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCAAAGGATGGAGGT AATAAATACCATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAATaCGCT GTATCTGCAAATGAATAGCCTGAGAGTTGAAGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGTGAGAAGAGGGCATC AGCTGGTTCTGGGATACTACTACTACAACGGTCT GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA

[0332]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链蛋白质 （可变结构域） (3. 1. 1H-A78T) SEQ ID NO :90	QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKLEWVAVISKDGGNKYHADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRVEDTAVYYCVRRGHLV LGYYYYNGLDVWGQGTITVTVSS
重链 DNA （可变结构域） (3. 1. 1H-A78T- V88A-V97A) SEQ ID NO :91	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGTTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCAAAGGATGGAGGT AATAAATACCATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAATaCGCT GTATCTGCAAATGAATAGCCTGAGAGcTGAAGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGcGAGAAGAGGGCATC AGCTGGTTCTGGGATACTACTACTACAACGGTCT GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA
重链蛋白质 （可变结构域） (3. 1. 1H-A78T- V88A-V97A) SEQ ID NO :92	QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKLEWVAVISKDGGNKYHADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGHLV LGYYYYNGLDVWGQGTITVTVSS
轻链 DNA （可变结构域） (3. 1. 1L-L4M- L83V) SEQ ID NO :93	GATATTGTGaTGA ^c CTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCTGTATAGTAATGGAT ACAAC ^c TTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGTCCCTGACAGGTTCA ^c GTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGA ^c gTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
轻链蛋白质 （可变结构域） (3. 1. 1L-L4M- L83V) SEQ ID NO :94	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNF LDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGV ^c PD ^c RFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK

[0333] 表 4 : 抗体 7. 1. 2 的 DNA 和蛋白质序列

[0334]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGC
DNA 序列	<u>TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT</u> CAGGTGCAGCTG GTGGAGTCTGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC AGTTATATCAAATGATGGAGATAATAAATACCAT GCAGACTCCGTGTGGGGCCGATTACCATCTCCA GAGACAATTCCAGGAGCACGCTTTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTATAT TACTGTGCGAGAAGAGGCATGGGGTCTAGTGGG AGCCGTGGGGATTACTACTACTACTACGGTTTGG ACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCA CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT CCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAATCAGGC GCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCAGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACC CAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCA AATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCAGCACC ACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCC CAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC CCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACG TGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCC GTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGT CTCCAACAAAGGCTCCCAGCCCCATCGAGAAA ACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCT GGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTA CACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA TGA

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 蛋白质序列	MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA VISNDGDNKYHADS VWGRFTISRDNRSSTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARRGMGSSGSRGDYYYYYGLDV WGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSNFGTQYTCNVDHKPSNTKVD KTVKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPETCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTFRVSVLT VVHQDWLNGKEYKC KVSNGKLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPMLDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
轻链 DNA 序列	ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG TCAGAGCCTCTTGTATAGTAATGGATACAACTTT TGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCAGTCTCC ACAGCTCCTGATCTATTTGGGTCTAATCGGGCCT CCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATC AGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTG GAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGC AAGCTCTACAACTCCTCGGACGTTCCGGCCAAGG GACCAAGGTGGAAATCAAACGAAGTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGC AGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT CTACGCCTGCGAAGTCACCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCCGTCAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT GTTAG
轻链 蛋白质序列	MRLPAQLLGLLMLWVSGSGDIVMTQSPLSLPVTP GEPASISCRSSQSLLYSNGYNFLDWYLQKPGQSPQL LIYLGSRASGVPRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDV GVYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

[0336]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 DNA 序列 的成熟可变结构域	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCAAATGATGGAGATA ATAAATACCATGCAGACTCCGTGTGGGGCCGATT CACCATCTCCAGAGACAATCCAGGAGCACGCTT TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTATATTACTGTGCGAGAAGAGGCATGGG GTCTAGTGGGAGCCGTGGGGATTACTACTACTAC TACGGTTTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGG TCACCGTCTCCTCA
重链蛋白质序列 的成熟可变结构域	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAVISNDGDNKYHADS VWGRF TISRDNRSSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGMGS SGSRGDY YYYGLDVWGQGT TTVTVSS
轻链 DNA 序列 的成熟可变结构域	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCTGTATAGTAATGGAT ACAACTTTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCA GTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
轻链蛋白质序列 的成熟可变结构域	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNF LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK

[0337] 表 5 : 抗体 10.8.3 的 DNA 和蛋白质序列

[0338]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链	ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGC
DNA 序列	<u>AGCTCCCAGATGGGTCTCTCC</u> CAGGTGCAGCTG CAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGC TCCATCAGTAGTTACTACTGGATCTGGATCCGGC AGCCCGCCGGAAGGGACTGGAATGGATTGGGC GTGTCTATACCAGTGGGAGCACCAACTACAACCC CTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATGTCAGTAGAC ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCT CTGTGACCGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATGGTCTTTACAGGGGTACGGTATG GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT CCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCC CCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGC ACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAG CGCTCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCAGCT GTCTTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCAC CCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGC AAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCAGCAC CACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCC CCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAAGACCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA AAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTC CGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTTGTGCACCAGG ACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCATCGAGAA AACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGA ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAG GAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCC TGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA CTACAAGACCACACCTCCCATGTGGACTCCGAC GGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGTGG ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCT CATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA CTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT AAATGA

[0339]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 蛋白质序列	<u>MKHLWFFLLLVAA</u>PRWVLSQVQLQESGPGLVKPSSE TSLTCTVSGGSISSYYWIWIRQPAGKGLEWIGRVY TSGSTNYPNPSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCARDGLYRGYGMVWGQGTTVTVSSAS TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVY VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPC PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR VVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDLAWEWESNGQPENNYKTPPMLDSGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
轻链 DNA 序列	<u>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGCTCCTGC</u> <u>TGCTCTGGTTCCCAGGTTCCAGATGCGACATCCA</u> GATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCTGGGCGAG TCAGCCTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAG CAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAACTCCTGATTT ATTCTGCCTCCGGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATC AAGGTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTC ACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATT TTGCAACTTACTATTGTCAACAGACTGACAGTTTC CCGCTCACTTTCGGCGGCGGGACCAAGGTGGAGA TCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCAT CTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA TCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGA TAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
轻链 蛋白质序列	<u>MRLPAQLLGLLLLWF</u>PGSRCDIQMTQSPSSVSASVG DRVTITCRASQPISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSAS GLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QTDSFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSPVTKSFNRGEC

[0340]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 DNA 序列 的成熟可变结构域	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTTACTACTGG ATCTGGATCCGGCAGCCCGCCGGAAGGGACTG GAATGGATTGGGCGTGTCTATACCAGTGGGAGCA CCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCAC CATGTCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCC CTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGG CCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGTCTTTACAG GGGTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGAC CACGGTCACCGTCTCCTCA
重链蛋白质序列 的成熟可变结构域	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGISISSYWIWI RQPAGKGLEWIGRVYTSGSTNYPNPSLKSRTMSVD TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDGLYRGYGM DVWGQGTTTVTVSS
轻链 DNA 序列 的成熟可变结构域	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG TCGGGCGAGTCAGCCTATTAGCAGCTGGTTAGCC TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAGCCCTAAA CTCCTGATTTATTCTGCCTCCGTTTGCAAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTACAGCGCAGTGGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGC CTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGAC TGACAGTTTCCCGCTCACTTTCGGCGGCGGGACC AAGGTGGAGATCAAA
轻链蛋白质序列 的成熟可变结构域	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQPISSWLAWY QQKPGKAPKLLIYSASGLQSGVPSRFSGSGSGTDF LTISSLQPEDFATYYCQQTDSFPLTFGGGTKVEIK

[0341] 表 6 : 抗体 15.1.1 的 DNA 和蛋白质序列

[0342]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链	ATGAAACATCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGC
DNA 序列	AGCTCCCAGATGGGTCTCTCCAGGTGCAGCTG
	CAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG
	AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGC
	TCCATCAGAAGTTACTACTGGACCTGGATCCGGC
	AGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGAT
	ATATCTATTACAGTGGGAGCACCAACTACAATCC
	CTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC
	ATGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTT
	CTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTTTATTACTG
	TGCGAGAAAGGGTGACTACGGTGGTAATTTTAAC
	TACTTTCACCAGTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCA
	CCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGT
	CTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCC
	GAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG
	GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGA
	ACTCAGGCGCTCTGACCAGCGCGTGCACACCTT
	CCCAGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC
	TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTT
	CGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC
	AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTT
	GAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCC
	CAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCT
	CTTCCCCCAAACCAAGGACACCCCTCATGATC
	TCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGG
	ACGTGAGTCACGAAGACCCGAGGTCCAGTTCAA
	CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC
	AAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGC
	ACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTTGTGC
	ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT
	GCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCAT
	CGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCC
	CCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCC
	CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG
	ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACA
	TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG
	AGAACAACCTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGA
	CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCA
	CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG
	TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC
	AACCACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC
	CGGGTAAATGA

[0343]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 蛋白质序列	<u>MKHLWFFLLLVAA</u> PRWVLSQVQLQESGPGLVKPS TLSLTCTVSGGSIRSYYWTWIRQPPGKLEWIGYIY YSGSTNYPNPSLKSRTISVDMSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCARKGDYGGNFNYFHQWGQGT ₁ LVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SNFGTQTYTCNV ₂ DKPSNTKVDK ₃ TV ₄ ERKCCVECPP CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQD ₅ WLN ₆ GKEYCK ₇ VS ₈ NKGLPAP ₉ IEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV ₁₀ FSCSV ₁₁ MHEALHNHYTQKS LSLSPGK
轻链 DNA 序列	<u>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA</u> <u>TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT</u> GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG TCAGAGCCTCCTACATACTAATGGATACAACTAT TTCGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAACCTCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCA ₁₂ GTGGCAGTGGAT CAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATG CAAGCTCTACAACTCCGTACAGTTTGGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAAGT CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT GTTAG
轻链 蛋白质序列	<u>MRLPAOLLGLLMLWVSGSSG</u> DIVMTQSPLSLPVTP GEPASISCRSSQSL ₁₃ LHTNGYNYFDWYLQKPGQSPQL LIYLGSNRASGV ₁₄ PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV GVYYCMQALQTPY ₁₅ SFGQGT ₁₆ LEIKRTVAAPS ₁₇ VFIFP PSDEQLKSGTASV ₁₈ VCLLN ₁₉ FYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSK ₂₀ STYLSSTLTLSKADYEKH K ₂₁ YACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

[0344]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 DNA 序列 的成熟可变结构域	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGAAGTTACTACTG GACCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGATATATCTATTACAGTGGGAGC ACCAACTACAATCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCA CCATATCAGTAGACATGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCTGCGGACACG GCCGTTTATTACTGTGCGAGAAAGGGTACTACG GTGTAATTTTAACTACTTTCACCAGTGGGGCCA GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
重链蛋白质序列 的成熟可变结构域	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIKSYWY IRQPPGKLEWIGYIYSGSTNYPNPSLKRVTISVD MSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARKGDYGGNFN YFHQWGQGLTVSS
轻链 DNA 序列 的成熟可变结构域	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTACATACTAATGGAT ACAACTATTTGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAACCTCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCGTACAGTTT TGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
轻链蛋白质序列 的成熟可变结构域	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHTNGYNY FDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVNDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYSFGQGTK LEIK

[0345] 表 7 : 抗体 21.4.1 的 DNA 和蛋白质序列

[0346]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链	<u>ATGGACTGGACCTGGAGGATCCTCTTCTTGGTGG</u>
DNA 序列	<u>CAGCAGCCACAGGAGCCCACTCCCAGGTGCAGCT</u> GGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGG GGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGA TACACCTTCACCGGCTACTATATGCACTGGGTGC GACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGG GATGGATCAACCCTGACAGTGGTGGCACAACCTA TGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACC AGGGACACGTCCATCAGCACAGCCTACATGGAGC TGAACAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTA TTACTGTGCGAGAGATCAGCCCCTAGGATATTGT ACTAATGGTGTATGCTCCTACTTTGACTACTGGG GCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTC CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCC TGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCC TGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCTGTGGAATCAGGCGCTCTGACC AGCGGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCTACAGT CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTAC ACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGT CGAGTGCCCAACCGTGCCAGCACCACTGTGGCA GGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCA AGGACACCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGT CACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA CCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGG GAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCA GCGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAA CGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAA AGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG TACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGG CTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACC ACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGG TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAA GAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

[0347]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 蛋白质序列	MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSKASGYTFTGYMHVVRQAPGQGLEWM GWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMEL NRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWG QGTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPAPIEKTISKTKGQPREPVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PMLDSGSEFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLSPGK
轻链 DNA 序列	ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGC TGCTCTGGTTCCCAGGTTCCAGATGCGACATCCA GATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTGCGGCGAG TCAGGGTATTTACAGCTGGTAGCCTGGTATCAG CAGAAACCAGGGAAAGCCCTAACCTCCTGATCT ATACTGCATCCACTTTACAAAGTGGGGTCCCATC AAGGTTCAAGCGCAGTGGATCTGGGACAGATTTC ACTCTACCATCAGCAGCCTGCAACCTGAAGATT TTGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTAACATTTTC CCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGA TCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCAT CTTCCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA TCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGA TAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
轻链 蛋白质序列	MRLPAQLLGLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVG DRVTTTCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTA STLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQANIFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0348]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 DNA 序列 的成熟可变结构域	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGA AGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAA GGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATG CACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTG AGTGGATGGGATGGATCAACCCTGACAGTGGTGG CACAACTATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTC ACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCCT ACATGGAGCTGAACAGGCTGAGATCTGACGACA CGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGCCCCT AGGATATTGTACTAATGGTGTATGCTCCTACTTTG ACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTC CTCA
重链蛋白质序列 的成熟可变结构域	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGYM HWVRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPL GYCTNGVCSYFDYWGQGLTVSS
轻链 DNA 序列 的成熟可变结构域	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG TCGGGCGAGTCAGGGTATTACAGCTGGTTAGCC TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAGCCCCTAAC CTCCTGATCTATACTGCATCCACTTTACAAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAC CTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGC TAACATTTTCCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACC AAGGTGGAGATCAAA
轻链蛋白质序列 的成熟可变结构域	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSWLAWY QQKPGKAPNLLIYTA STLQSGVPSRFSGSGTDF LTISLQPEDFATYYCQANIFPLTFGGGTKVEIK

[0349] 表 8 : 抗体 21. 2. 1 的成熟可变结构域的 DNA 和蛋白质序列

[0350]

说明：	序列
重链 DNA 序列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGTCATG CACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGG AGTGGGTGGCAGTTATGTCATATGATGGAAGTAG TAAATACTATGCAAACTCCGTGAAGGGCCGATTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAAATAAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGGGTAA AGCAGTGCCTGGTCCTGACTACTGGGGCCAGGGA ATCCTGGTCACCGTCTCCTCAG

重链 蛋白质序列	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYVMH WVRQAPGKGLEWVAVMSYDGSSKYYANSVKGRF TISRDN SKNTLYLQINSLRAEDTAVYYCARDGGKA VPGPDYWGQGILVTVSS
轻链 DNA 序列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGTGTTCTGTATAGTAATGGAT ACAAC TATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCA GTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGTTTACAACTCCATTCACTTTC GGCCCTGGGACCAAAGTGATATCAAAC
轻链 蛋白质序列	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSVLYSNGYNY LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVG VYYCMQVLQTPFTFGPGTK VDIK

[0351] 表 9 : 抗体 22. 1. 1 的成熟可变结构域的 DNA 和蛋白质序列

[0352]

说明 :	序列
重链 DNA 序列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTCGCTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCATCTGATGGAGGTA ATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTGTATTACTGTACGAGAAGAGGGACTGG AAAGACTTACTACCACTACTGTGGTATGGACGTC TGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAG
重链 蛋白质序列	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYGMH WVRQAPGKGLEWVAVISSDGGNKYYADSVKGRFT ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRGTGKT YYHYCGMDVWGQGTITVTVSS

轻链 DNA 序列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGTATAGTAATGGAT ATAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACACCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGG CAGTGGTTCAGGCACTGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC
轻链 蛋白质序列	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLYSNGYNY LDWYLQKPGQSPHLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK

[0353] 表 10 : 抗体 23.5.1 的成熟可变结构域的 DNA 和蛋白质序列

[0354]

说明 :	序列
重链 DNA 序列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG TAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAACTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAATTATATCATATGATGGAAGTA ATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATGTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGACGCGTCACT ACGGGAGGGATTACTACTCCTACTACGGTTTGGG CGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCC TCAG
重链 蛋白质序列	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSNYGMH WVRQAPGKLEWVAIIISYDGSNKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYVQMNSLRAEDTAVYYCARRGHYGR DYYSYYGLDVWGQGTITVTVSS
轻链 DNA 序列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGAT ACAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

轻链 蛋白质序列	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLLPGNGYNY LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK
-------------	---

[0355] 表 11 : 抗体 23. 28. 1 的成熟可变结构域的 DNA 和蛋白质序列

[0356]

说明 :	序列
重链 DNA 序列	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGACACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGAGTTACTACTG GAGCTGGATCCGGCAGCCCCCTGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGAGC ACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCA CCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAACTCTGTGACCGCTGCGGACACG GCCGTGTATTATTGTGCGAGAAAGGGGGCCTCT ACGGTGACTACGGCTGGTTCGCCCCCTGGGGCCA GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG
重链 蛋白质序列	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGGSIRGYYS WIRQPPGKLEWIGYIYSGSTNYNPSLSKRVITISV DTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARKGGLYGDY GWFAPWGQGLVTVSS
轻链 DNA 序列	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCGACTTA GCCTGGCACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCA GACTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCAC TGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCT GGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGG AGCCTGAAGATTTTGAGTGTATTACTGTCAGCA CTGTCGTAGCTTATTCATTTCGGCCCTGGGACCA AAGTGGATATCAAAC
轻链 蛋白质序列	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSDLAWH QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQHCRLFTFGPGTKVDIK

重链 DNA (可变结构域) (23. 28. 1H-D16E) (SEQ ID NO :97)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGAGTTACTACTG GAGCTGGATCCGGCAGCCCCCTGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGAGC ACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCA CCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAACTCTGTGACCGCTGCGGACACG GCCGTGTATTATTGTGCGAGAAAGGGGGCCTCT ACGGTGACTACGGCTGGTTCGCCCCCTGGGGCCA GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG
---	---

[0357]

说明：	序列
重链蛋白质 (可变结构域) (23. 28. 1H-D16E) (SEQ ID NO :98)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIRGYYS WIRQPPGKLEWIGYIYSGSTNYPNPSLRSRVITISV DTSKNQFSKLNSVTAADTAVYYCARKGGGLYGDY GWFAPWGQGTLLTVSS

[0358] 表 12 : 抗体 23. 29. 1 的成熟可变结构域的 DNA 和蛋白质序列

[0359]

说明：	序列
重链 DNA 序列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGCCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGTA ATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT CACCATCTACAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTGTATTACTGTGCGAGACGCGGTCAC CGGAATAATTACTACTCTATTACGGTTTGGAC GTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCT CAG
重链 蛋白质序列	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFT IYRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGHY NNYYSYYGLDVWGQGTLLTVSS

轻链 DNA 序列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGAT ACAAC TATT TGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATT TGGGTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCA GTGG CAGTGGCTCAGGCACAGATTTTACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAATCAAAC
轻链 蛋白质序列	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLPGNGYNY LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGV PDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK

[0360] 表 13 : 抗体 24. 2. 1 的成熟可变结构域的 DNA 和蛋白质序列

[0361]

说明 :	序列
重链 DNA 序列	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGAGGTTACTACTG GAGCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGAGC ACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCA CCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCTGCGGACACG GCCGTGTATTACTGTGCGAGAAGGGGGGGCCTCT ACGGTGACTACGGCTGGTTCGCCCCCTGGGGCCA GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG
重链 蛋白质序列	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIRGYYS WIRQPPGKLEWIGYIYSGSTNYPNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARRGGLYGDY GWFAPWGQGLTVTVSS
轻链 DNA 序列	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCACCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCA GGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCAC TGGCATCCCAGACAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCT GGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGG AGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCA GTATAGTAGCTTATTCATTTTCGGCCCTGGGACC AAAGTGGATATCAAAC
轻链 蛋白质序列	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSTYLAWY QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQYSSLFTFGPGTKVDIK

[0362] 表 14 : 抗体 21.2.1 的 DNA 和蛋白质序列

[0363]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGC
DNA 序列	~TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCAAGTGCAGCTG
	GTGGAGTCTGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG
	AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT
	TCACCTTCAGTAGCTATGTCATGCACTGGGTCCG
	CCAGGCTCCAGGCAAGGGCTGGAGTGGGTGGC
	AGTTATGTCATATGATGGAAGTAGTAAATACTAT
	GCAAACCTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCA
	GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT
	AAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTAT
	TACTGTGCGAGAGATGGGGTAAAGCAGTGCCTG
	GTCCTGACTACTGGGGCCAGGGAATCCTGGTCAC
	CGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTC
	TTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCG
	AGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG
	ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGGAA
	CTCAGGCGCTCTGACCAGCGCGTGCACACCTTC
	CCAGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCT
	CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTC
	GGCACCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACA
	AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTG
	AGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGGCCACCGTGCCC
	AGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTC
	TTCCCCCAAACCCAAGGACACCTCATGATCT
	CCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGA
	CGTGAGCCACGAAGACCCGAGGTCCAGTTCAAC
	TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA
	AGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCA
	CGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACC GTTGTGCAC
	CAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGC
	AAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCATCG
	AGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCC
	GAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCG
	GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGAC
	CTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATC
	GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG
	AACAACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACT
	CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACC
	GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTC
	TTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA
	ACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCC
	GGGTAAATGA

[0364]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 蛋白质序列	MEFGLSWVFLVALLRGVQCQQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFSSYVMHWVRQAPGKGLEWVA VMSYDGSSKYYANSVKGRFTISRDN SKNTLYLQINS LRAEDTAVYYCARDGGKAVPGPDYWGQILVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVP SSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDNLNGKEYCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSG SFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKS LSLSPGK
轻链 DNA 序列	ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC CTGGAGAGCCGCGCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG TCAGAGTGTCTGTATAGTAATGGATACAACTAT TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC TCCGGGGTCCCTGACAGGTCAGTGGCAGTGGAT CAGGCACAGATTTTAACTGAAAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATG CAAGTTTTACAACTCCATTCACTTTCGGCCCTGG GACCAAAGTGATATCAAACGAACTGTGGCTGCA CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGC TGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGC TGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCT ACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTG TTAG
轻链 蛋白质序列	MRLPAOLLGLLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVTP GEPASISCRSSQSVLYSNGYNYLDWYLQKPGQSPQL LIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV GVYYCMQVLQTPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

[0365] 表 15 : 抗体 22. 1. 1 的 DNA 和蛋白质序列

[0366]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGC
DNA 序列	TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT <u>CAGGTGCAACTG</u> GTGGAGTCTGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCAGTCGCTATGGCATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGCAAGGGCTGGAGTGGGTGGC AGTTATATCATCTGATGGAGGTAATAAATACTAT GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTAT TACTGTACGAGAAGAGGGACTGGAAAGACTTACT ACCACTACTGTGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGG GACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCA GGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCT GCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC GGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCTCTGACCAGCGGC GTGCACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTCCTCAG GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCC CTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGC AACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCTGAGT GCCCACCGTGCCCAGCACCACTGTGGCAGGACC GTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCG AGGTCCAGTTCACTGGTACGTGGACGGCGTGGA GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGA GCAGTTCAACAGCACGTTCGGTGTGGTCAGCGTC CTCACCCTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCA AGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCC TCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAAC CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACAC CCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAAC CAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT ACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACACAAGACCACAC CTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGG CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGA GCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

[0367]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 蛋白质序列	MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFSRYGMHWVRQAPGKGLEWVA VISSDGGNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRRGTGKTYHYCGMDVWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERK CCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTFRVVS VLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKG LPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHN HYTQKSLSLSPGK
轻链 DNA 序列	ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCC GTCACCC CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG TCAGAGCCTCCTGTATAGTAATGGATATAACTAT TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACACCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC TCCGGGGTCCCTGACAGGTT CAGTGGCAGTGGTT CAGGCACTGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATG CAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAG GGACCAAGGTGGAATCAAACGA ACTGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCYTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCCGTACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT GTTAG
轻链 蛋白质序列	MRLPAQLLGLLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVT GEPASISCRSSQSLLYNGYNYLDWYLQKPGQSPHL LIYLGSNRASGV PDRFSGSGSDFTL KISRVEAEDV GVYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

[0368] 表 16 : 抗体 23.5.1 的 DNA 和蛋白质序列

[0369]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGC
DNA 序列	TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT <u>CAGGTGCAGCTG</u> GTGGAGTCTGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGATT CACCTTCAGTAACATATGGCATGCACTGGGTCCGC CAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCA ATTATATCATATGATGGAAGTAATAAATACTATG CAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAG AGACAATTCCAAGAACACGCTGTATGTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATT ACTGTGCGAGACGCGTCACTACGGGAGGGATTA CTACTCCTACTACGGTTTGGACGTCTGGGGCCAA GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTC CAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG ACGGTGTCTGTGAACTCAGGCGCTCTGACCAGCG GCGTGACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCTC AGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG CCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCT GCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCTGA GTGCCACCGTGCCAGCACCACCTGTGGCAGGA CCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGG ACACCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTAC GTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCC GAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGG AGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGT CCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGC CTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAA CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACA CCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAA CCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGAGAACAACACAAGACCACA CCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCT CTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGA GCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

[0370]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 蛋白质序列	MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCVASGFTFSNYGMHWVRQAPGKLEWVA IISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYVQMNS LRAEDTAVYYCARRGHYGRDYYSYYGLDVWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERK CCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKG LPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHN HYTQKSLSLSPGK
轻链 DNA 序列	ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCCGTCACCC CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG TCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGATACAACTAT TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCA GTGGCAGTGGAT CAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATG CAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAG GGACCAAGGTGGAATCAAACGAACTGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTSTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCYTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCCGCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT GTAA
轻链 蛋白质序列	MRLPAOLLGLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVTP GEPASISCRSSQSLLPNGNYLDWYLQKPGQSPQL LIYLGSNRASGV PDRFSGSGSDFTLKISRVEAEDV GVYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTAXVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0371] 表 17 : 抗体 23. 28. 1 的 DNA 和蛋白质序列

[0372]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链	ATGAAACATCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGC
DNA 序列	AGCTCCCAGATGGGTCCTGTCCCAGGTGCAGCTG
	CAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG
	AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGC
	TCCATCAGAGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGGC
	AGCCCCCTGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGT
	ATATCTATTACAGTGGGAGCACCAACTACAACCC
	CTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC
	ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAACT
	CTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTATTG
	TGCGAGAAAGGGGGCCTCTACGGTGACTACGG
	CTGGTTCGCCCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTC
	ACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG
	TCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCC
	GAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG
	GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGA
	ACTCAGGCGCTCTGACCAGCGCGTGCACACCTT
	CCCAGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC
	TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTT
	CGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC
	AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTT
	GAGCGCAAATGTTGTGTGCGAGTGCCACCGTGCC
	CAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCT
	CTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATC
	TCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGG
	ACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAA
	CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC
	AAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGC
	ACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTTGTGC
	ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT
	GCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCAT
	CGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCC
	CCGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCCATCC
	CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCCTG
	ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACA
	TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG
	AGAACAACCTACAAGACCACCTCCCATGCTGGA
	CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCA
	CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG
	TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC
	AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC
	CGGGTAAATGA

[0373]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 蛋白质序列	<u>MKHLWFFLLLVAA</u> PRWVLSQVQLQESGPGLVKPS E TSLTCTVSGGSIRGYYSWIRQPPGKGLEWIGYIY YSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAA DTAVYYCARKGGLYGDYGFAPWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPP CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKS LSLSPGK
轻链 DNA 序列	<u>ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCT</u> <u>ACTCTGGCTCCCAGAATCCACCGAGAAATTGTG</u> TTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCC AGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGT CAGAGTGTTAGCAGCAGCGACTTAGCCTGGCACC AGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGACTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCA GACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT TCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGA TTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCACTGTCGTAGCT TATTCATTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATAT CAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA CTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAATTCTAT CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGAT AACGCCCTCCAATCGGGTAACCCCAGGAGAGTG TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAG ACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
轻链 蛋白质序列	<u>METPAOLLFLLLLWL</u> PESTGEIVLTQSPGTLSPGE RATLSCRASQSVSSDLAWHQKPGQAPRLLIYGA SSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QHCRSLFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0374] 表 18 : 抗体 23. 29. 1 的 DNA 和蛋白质序列

[0375]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGC
DNA 序列	TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCAAGTGCAACTG GTGGAGTCTGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCAGTAGCTATGCCATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC AGTTATATCATATGATGGAAGTAATAAACTAT GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCCTCTACA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTAT TACTGTGCGAGACGCGTCACTACGGGAATAATT ACTACTCCTATTACGGTTTGGACGTCTGGGGCCA AGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACC AAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCT CCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT GACGGTGTCTGTGAACTCAGGCGCTCTGACCAGC GGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTCCT CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC TGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCG AGTGCCACCGTGCCAGCACCACTGTGGCAGG ACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCA CGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC CGAGGTCCAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAG GAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGG CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGG CCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA ACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC ACCCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGA ACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTT CTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACA CCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCT CTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGA GCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

[0376]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 蛋白质序列	MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVA VISYDGSNKYYADSVKGRFTIYRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARRGHYGNYYSYGLDVWGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSNFGTQTYTCNV D HKPSNTKVDKTVR KCCVECP PCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVVHQD <u>W</u> L N G K E Y K C K V S N K GLPAIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPM LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV F S C S V M H E A L HNHYTQKSLSLSPGK
轻链 DNA 序列	<u>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA</u> <u>TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT</u> GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG TCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGATACTAACTAT TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTCTAATCGGGCC TCCGGGGTCCCTGACAGGTTAGTGGCAGTGGCT CAGGCACAGATTTTACACTGAAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAGGATGTTGGGATTATTACTGCATG CAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTTCCGGCCAAG GGACCAAGGTGGAATCAAACGAACTGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTT CAGTGGAGGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT CTACGCCTGCGAAGTCACCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT GTTAG
轻链 蛋白质序列	<u>MRLPAQLLGLLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVTP</u> GEPASISCRSSQSLLPNGYNYLDWYLQKPGQSPQL LIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV GIYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWRVDNA LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

[0377]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
轻链 DNA (23. 29. 1LR174K) (SEQ ID NO :101)	<u>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA</u> <u>TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGATATTGT</u> GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG TCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGATACAACTAT TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGCT CAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTATTACTGCATG CAAGCTCTACAAACTCCTCGGACGTTGCGCCAAG GGACCAAGGTGGAATCAAACGAACTGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTT CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCCGCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT GTTAG
轻链 蛋白质序列 (23. 29. 1LR174K) (SEQ ID NO :101)	<u>MRLPAQLLGLLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVTP</u> GEPASISCRSSQSLLPGNGYNYLDWYLQKPGQSPQL LIYLGSNRASGVPDRFSGSGSDFTLKISRVEADV GTYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0378] 表 19 :抗体 24. 2. 1 的 DNA 和蛋白质序列

[0379]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链	ATGAAACATCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGC
DNA 序列	AGCTCCCAGATGGGTCTCTCCAGGTGCAGCTG
	CAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG
	AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGC
	TCCATCAGAGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGGC
	AGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGT
	ATATCTATTACAGTGGGAGCACCAACTACAACCC
	CTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC
	ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTT
	CTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTG
	TGCGAGAAGGGGGGCCTCTACGGTGA CTACGG
	CTGGTTCGCCCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTC
	ACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG
	TCTTCCCCCTGGCGCCTGCTCCAGGAGCACCTCC
	GAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG
	GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGA
	ACTCAGGCGCTCTGACCAGCGCGTGCACACCTT
	CCCAGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC
	TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTT
	CGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC
	AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTT
	GAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCC
	CAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCT
	CTTCCCCCAAACCAAGGACACCTCATGATC
	TCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGG
	ACGTGAGCCACGAAGACCCGAGGTCCAGTTCAA
	CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC
	AAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGC
	ACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTTGTGC
	ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT
	GCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCCAT
	CGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCC
	CCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCC
	CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG
	ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACA
	TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG
	AGAACA ACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGA
	CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCA
	CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG
	TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC
	AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC
	CGGGTAAATGA

[0380]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 蛋白质序列	<u>MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPS</u> E TSLTCTVSGGSIRGYYSWIRQPPGKLEWIGYIY YSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCARRGGLYGDYGFAPWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPP CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
轻链 DNA 序列	<u>ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTCCTCCTGCT</u> <u>ACTCTGGCTCCCAGATACCACCGAGAAATTGTG</u> TTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCC AGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGT CAGAGTGTTAGCAGCACCTACTTAGCCTGGTACC AGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCA GACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT TCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGA TTTTGCACTGTATTACTGTCTAGCAGTATAGTAGCT TATTCACCTTCGCCCCTGGGACCAAAGTGGATAT CAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA CTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTAT CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGAT AACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTG TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAG ACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
轻链 蛋白质序列	<u>METPAOLLFLLLLWLPD</u> TGEIVLTQSPGTLSPGE RATLSCRASQSVSSTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA SSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYSSLFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSPVTKSFNRGEC

[0381] 表 20 : 抗体 22.1.1H-C109A 的成熟可变结构域的 DNA 和蛋白质序列

[0382]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
重链 DNA 序列 (SEQ ID NO :95)	CAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTCGCTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCATCTGATGGAGGTA ATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTGTATTACTGTACGAGAAGAGGGACTGG AAAGACTTACTACCACTACGCCGGTATGGACGTC TGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAG
重链 蛋白质序列 (SEQ ID NO :96)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYGMH WVRQAPGKGLEWVAVISSDGGNKYYADSVKGRFT ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRGTGKT YYHYAGMDVWGQGTITVTVSS

[0383] 表 21 :抗体 23. 28. 1L-C92A 的成熟可变结构域的 DNA 和蛋白质序列

[0384]

说明：	序列（下划线表示信号序列）：
轻链 DNA (SEQ ID NO :99)	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCGACTTA GCCTGGCACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCA GACTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCAC TGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCT GGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGG AGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCA CGCCCGTAGCTTATTCACCTTCGGCCCTGGGACC AAAGTGGATATCAAAC
轻链 蛋白质序列 (SEQ ID NO :100)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSDLAWH QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQHARSLFTFGPGTKVDIK

[0385] 实施例 III

[0386] 重链与轻链氨基酸取代的分析

[0387] 图 1D-1H 及 2D-2H 提供单克隆抗体 3. 1. 1、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、22. 1. 1H-C109A、23. 5. 1、23. 28. 1、23. 28. 1H-D16E、23. 29. 1 与 24. 2. 1 抗体的预测的重链可变结构域氨基酸序列与其相应基因的种系氨基酸序列之间的序列比对。大多数重链 CDR3 区含有氨基酸插入。

[0388] 抗体 21. 4. 1 的 VH 结构域中使用的 DLR1 基因编码两个半胱氨酸 (Cys) 残基。质谱分析法与同源性模型证明两个 Cys 残基利用二硫键连接, 此二硫键连接不会瓦解抗体结构。

[0389] 图 1A-1C 与 2A-2C 提供单克隆抗体 3. 1. 1、7. 1. 2、10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1、21. 2. 1、22. 1. 1、23. 5. 1、23. 28. 1、23. 28. 1L-C92A、23. 29. 1 与 24. 2. 1 克隆中预测的轻链可变氨基

酸序列与其相应基因的种系氨基酸序列之间的序列比对。此类抗体的轻链衍生自 3 种不同 V κ 基因。此 11 种抗体中有 7 种使用 A3/A19V κ 基因,其中 6 种的 CDR1 区中有两处突变。此外,此 7 种使用 A3/A19V κ 基因的抗体中有 5 种也使用 J κ 1 基因;所有此类抗体中,第一个衍生自 J κ 1 基因的氨基酸均一致由 W 换成 R。

[0390] 应了解,上述许多氨基酸取代或插入出现在极邻近 CDR 处或在 CDR 中。此类取代似乎对抗体与 CD40 分子的结合性有一些影响,此外,此类取代对抗体的亲和性将有显著影响。

[0391] 实施例 IV

[0392] 本发明抗体的物种交叉反应性

[0393] 申请人进行 FACS 分析法来测定本发明抗体对来自不同物种(特别是某些古老世界的猴类)的 CD40 的结合性与亲和性。取人类与猴子全血的等分试样与逐渐提高浓度的本文所列举的抗-CD40 抗体或与作为阴性对照组的抗钥孔血蓝蛋白(KLH)抗体,于冰上培养 1 小时。然后于冰上,使样品与抗人类 IgG2-缀合 RPE(藻红蛋白)培养 30 分钟。采用细胞流式计测定 CD19/CD20 阳性 B 细胞从而测定结合性,并使用 CellQuest 软件分析荧光强度(F12-H)相对于细胞数(Counts)的直方图。根据荧光强度平均值相对于抗体浓度的值,预估各抗体的结合性(K_D)。测定一段细胞浓度范围内结合性的变化,来控制抗体的消耗情形。

[0394] 测试抗体 3.1.1、7.1.2、10.8.3、15.1.1 与 21.4.1 与人类、恒河猴、与猕猴 B 细胞的结合性。也测试抗体 21.2.1、22.1.1、23.5.1、23.25.1、23.28.1、23.29.1 与 24.2.1 与人类及恒河猴 B 细胞的结合性。

[0395] 申请人观察到与猴细胞结合的最高信号及最高结合浓度的一半值相对于人类 B 细胞的相应参数的因子为 2 以内。使用小鼠、大鼠、兔子、及狗的血液进行的类似实验则未观察到结合性。

[0396] 实施例 V

[0397] 抗体对 CD40 的选择性

[0398] 申请人进一步进行另一种活体外分析法来测定本发明抗体对 CD40 的选择性。

[0399] CD40 选择性 ELISA :材料与方法

[0400] 在 96 孔 FluroNUNC 板(Nunc 登录号 475515)上涂覆 4 种抗原:CD40/Ig、CD44/Ig、RANK/Ig、4-1BB/Ig、TNFR-1/Ig 及 TNFR-2/Ig(于实验室内产生的抗原),依 1 μ g/ml 的浓度,于 0.1M 碳酸氢钠缓冲液, pH9.6 中(100 μ l/孔),4 $^{\circ}$ C 下培养一夜。然后以 PBST(PBS+0.1% Tween-20)洗涤 3 次,以 PBST+0.5% BSA(150 μ l/孔)封闭培养板。培养板于室温下保持 1 小时后,以 PBST 洗涤 3 次。随后,将实施例 I 所产生的抗-CD40 抗体稀释成 1 μ g/ml,添加稀释的抗体至培养板中。培养板于室温下培养 1 小时后,以 PBST 洗涤 3 次。然后以稀释 1 : 4000 的抗人类 IgG2-HRP(SouthernBiotech 登录号 9070-05)(100ml/孔)处理含有实施例 I 所产生抗体的孔。也使用稀释至 1 : 5000 的抗人类 IgG(Jackson 登录号 209-035-088)处理其中一排孔,每孔添加 100 μ l,以对培养板涂覆进行标准化。也使用稀释至 0.05 μ g/ml 的抗人类 CD40-HRP(Pharmlingen 登录号 345815/Custom HRP 缀合物)处理其中一排孔作为阳性对照组。培养板于室温下培养 1 小时后,以 PBST 洗涤 3 次。添加 TMB 底物(K & P Labs),每孔 100 μ l,培养 5-10 分钟。然后使用 Spectra-MaxTM 读板

器读取培养板的数据。其结果显示,抗体对 CD40 的选择性比其对 RANK、4-1BB、TNFR-1 与 TNFR-2 的选择性至少高出 100 倍,其中 CD4 特异性信号(减去背景的 CD40 信号)比对其分子的相应信号高出至少 100 倍。

[0401] 实施例 VI

[0402] 表位分类试验

[0403] 证明本发明抗体对 CD40 有选择性后,采用 BIAcore 与 FACS 进行竞争结合分析法。

[0404] BIAcore 竞争试验

[0405] 进行 BIAcore 竞争试验来确定本发明人类抗 -CD40 抗体是否结合在 CD40 分子上的相同或不同位置。

[0406] 此类实验是使用 BIAcore2000 仪器,依据制造商的指示进行。使蛋白质 -A 固定在 BIAcore 的感应芯片表面上。使饱和浓度的包含 CD40 的细胞外结构域的 CD40-Ig 结合在感应芯片上。然后用本发明第一人类激动剂抗 -CD40 抗体、市售抗 -CD40 抗体或 CD40L 与已结合在感应芯片上的 CD40 于饱和条件下结合。然后测定本发明第二人类激动剂抗 -CD40 抗体与第一抗体、市售抗体或 CD40L 竞争结合 CD40 的能力。此技术可以将抗体分成不同结合群。与 CD40 结合则表示可识别独立的表位。没有结合则表示所识别的表位相同或重迭。

[0407] FACS 试验

[0408] 进行 FACS 试验来确定本发明人类抗 -CD40 抗体是否结合在 CD40 分子上的相同或不同位置,并确定其在 CD40 分子上的结合位置是否与市售抗 -CD40 抗体 EA5(Alexis 登录号 ANC-300-050)、LOB7/6(SerotecMCA/590PE) 与 5C3(Pharmingen#555458(未标记)及 555460(标记 PE 用于 FACS)) 的结合位置相同或不同。

[0409] 使用标记 PE 的 EA5 或标记 PE 的 LOB7/6 抗体与已经过本发明抗 -CD40 抗体处理的树突细胞进行对比染色,于冰上孵育 30 分钟。经过洗涤后,于 B-D 细胞计数器(caliber cytometer)上分析细胞染色度。市售抗体商品的结合性下降时,表示其所结合的表位与试验抗体相同或重迭。

[0410] BIAcore 与 FACS 的竞争结合分析法显示,由 mAb21.4.1 抗体识别的表位与由 EA5 抗体识别的表位重迭,但未与市售 LOB7/6 抗体商品所识别的表位重迭,其与 CD40L 的结合位置也未重迭。其余抗体所识别的表位则与结合 CD40L 的位置重迭。

[0411] 表 22 总结说明此类表位分类试验的结果。

[0412] 表 22

[0413] 本发明某些抗 -CD40 抗体的 BIAcore 竞争表位分类试验结果

[0414]

	EA5	5C3	LOB7/ 6	3.1.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.29.1	21.4.1	23.25.1, 23.28.1, 24.2.1	CD40 L
EA5	X	X			X		X
5C3	X	X			X	X	X
LOB7/6			X	X		X	X

3.1.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.29.1			X	X			X
21.4.1	X	X			X		
23.25.1, 23.28.1, 24.2.1		X	X			X	X
CD40L	X	X	X	X		X	X

[0415] 实施例 VII

[0416] 抗-CD40 抗体对表面分子的增量调节试验

[0417] 申请人进行全血分析法来测定本发明人类抗-CD40 抗体是否增量调节 B 细胞上表面分子的表达。

[0418] 取人类或灵长类全血,使用 RPMI 培养基稀释 1 : 1,与不同浓度的 CD40 激动剂抗体或对照组培养 24 小时。使用市售标记荧光色素的抗体试剂为细胞的 HLA-DR、ICAM、B7-1、B7-2、CD19/CD20、CD40、CD23 及 CD71 染色 30 分钟(于冰上,黑暗中进行)。然后于 FACS-Caliber(Becton-Dickinson)上分析细胞。于 CD19 或 CD20 阳性细胞上筛选(gating)以判别 B- 细胞,并对该筛选确定活化标记物。

[0419] 使用本发明申请专利权的一种抗-CD40 抗体(21.4.1)所得荧光中值($\leq 1 \mu\text{g/ml}$ 抗体)的最高增加倍数及平均 EC_{50} 值示于表 23 中。

[0420] 表 23

[0421] 本发明抗-CD40 抗体对 B- 细胞表面分子的增量调节结果

[0422]

	最大增加倍数	$\text{EC}_{50}(\text{ng/ml})$
	平均值 $\pm$ St. Dev.	平均值 $\pm$ St. Dev.
MHCII	4.50 $\pm$ 0.52	3.85 $\pm$ 0.35
CD71	2.30 $\pm$ 0.77	0.73 $\pm$ 0.28
ICAM	4.52 $\pm$ 2.42	15.3 $\pm$ 7.3
CD23	69.9 $\pm$ 25.8	19.0 $\pm$ 4.4
B7-2	2.74 $\pm$ 0.14	16.0 $\pm$ 21.9

[0423] 申请人也进行实验来确定本发明人类抗-CD40 抗体是否增量调节单核细胞所衍生树突细胞的表面分子的表达。

[0424] 单核细胞所衍生树突细胞的制法

[0425] 自正常志愿者人体收集外周血液。使用 Sigma Accuspin 试管(St.Louis, MO)分离单核细胞,以 RPMI 培养基(Gibco BRL, Rockville, MD)洗涤,置入含有完全 RPMI 培养基(含有 100U/ml 青霉素/链霉素、10mM HEPES 缓冲液、2mM 谷氨酰胺、0.1mM 非必需氨基酸;均来自 GibcoBRL);及 10%胎牛血清(Hyclone, Logan, Utah)的组织培养烧瓶中,浓度为 5×10^6 个细胞/ml。于 37°C (5% CO_2) 下培养 3 小时后,排除未附着细胞,使用选择管柱(R & D systems, Minneapolis, MN)分离 T 细胞。附着的细胞经 RPMI 培养基洗涤,于补充 10ng/ml IL-4(R & D systems)与 100ng/ml GM-CSF(R & D systems)的完全 RPMI 培养基中培养 7 天。然后分离未附着的细胞,洗涤后,作为衍生自单核细胞的树突细胞(mDCs),供

所有实验使用。其余附着细胞则使用胰蛋白酶/EDTA 除去,用于使用附着的单核细胞的实验中。

[0426] 为了测定本发明抗-CD40 抗体是否增量调节细胞表面标记的表达,使单核细胞衍生的树突细胞与不同浓度的激动剂抗体培养 48-72 小时,然后使用市售标记荧光色素的抗体试剂对 HLA-DR、ICAM、B7-1、B7-2、CD40 与 CD83 染色(于冰上,黑暗中进行 30 分钟)。然后于 FACS-Caliber (Becton-Dickinson) 上分析细胞。

[0427] 使用本发明申请专利权的抗-CD40 抗体(21.4.1)所得荧光中值($\leq 1 \mu\text{g/ml}$ 抗体)的最高增加倍数及平均 EC_{50} 值示于表 24 中。

[0428] 表 24

[0429] 本发明抗-CD40 抗体对树突细胞表面分子的增量调节结果

[0430]

	最大增加倍数	$\text{EC}_{50}(\text{ng/ml})$
	平均值 $\pm$ St. Dev.	平均值 $\pm$ St. Dev.
MHCII	7.7 $\pm$ 5.6	252 $\pm$ 353
CD83	36.3 $\pm$ 42.2	233 $\pm$ 262
ICAM	10.4 $\pm$ 4.8	241 $\pm$ 140
B7-2	21.9 $\pm$ 9.4	71.4 $\pm$ 44.4

[0431] 使用 B 细胞与 mDCs,及本发明抗-CD40 抗体与其它标记进行类似实验。依上述测定 B 细胞表面分子(MHC-II, ICAM, B7-1, B7-2 与 CD23)的表达,但其中改用 $1 \mu\text{g/ml}$ 抗-CD40 抗体。此实验结果示于表 25。72 小时后,依上述测定树突细胞表面分子(MHC-II, ICAM, B7-1, B7-2 与 CD83)的表达,但其中改用 $1 \mu\text{g/ml}$ 抗-CD40 抗体。此实验结果示于表 26。表 25-26 显示其中间值强度 $\pm$ 标准偏差的提高倍数。

[0432] 表 25

[0433] 本发明抗-CD40 抗体对 B-细胞表面分子的增量调节结果

[0434]

	MHC Class II	ICAM (CD54)	B7-1 (CD 80)	B7-2 (CD86)	CD23
	B cell	B cell	B cell	B cell	B cell
3.1.1	3.2 $\pm$ 2.6	1.3 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.2	1.2 $\pm$ 0.4	5.6 $\pm$ 4.8
21.2.1	1.2 $\pm$ 0.2	1.3 $\pm$ 0.9	0.9 $\pm$ 0.5	1.0 $\pm$ 0.04	1.0 $\pm$ 0.1
21.4.1	3.6 $\pm$ 3.0	5.0 $\pm$ 3.0	1.9 $\pm$ 0.8	1.8 $\pm$ 0.7	21.5 $\pm$ 34.8
22.1.1	1.4 $\pm$ 0.5	1.1 $\pm$ 0.2	1.2 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.1	1.3 $\pm$ 0.2
23.5.1	1.4 $\pm$ 0.5	1.1 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.6	1.0 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.2
23.25.1	2.5 $\pm$ 1.1	2.5 $\pm$ 0.9	1.6 $\pm$ 0.4	1.3 $\pm$ 0.2	4.3 $\pm$ 2.3
23.28.1	1.1 $\pm$ 0.2	1.1 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.6	1.0 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.4
23.29.1	1.2 $\pm$ 0.2	1.0 $\pm$ 0.2	1.3 $\pm$ 0.6	0.9 $\pm$ 0.2	1.1 $\pm$ 0.1
24.2.1	1.8 $\pm$ 1.0	1.6 $\pm$ 0.8	1.1 $\pm$ 0.4	1.1 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.6

[0435] 表 26

[0436] 本发明抗-CD40 抗体对树突细胞表面分子的增量调节结果

[0437]

	MHC Class II	ICAM (CD54)	B7-1 (CD 80)	B7-2 (CD86)	CD83
	DC	DC	DC	DC	DC
3.1.1	4.4 +/- 2.4	1.5 +/- 0.7	1.8 +/- 0.9	23.7 +/- 33.5	15.2 +/- 18.2
21.2.1	1.8 +/- 1.3	1.5 +/- 0.9	0.9 +/- 0.4	7.4 +/- 10.5	10.8 +/- 16.5
21.4.1	5.0 +/- 3.8	3.7 +/- 1.4	1.5 +/- 1.1	12.9 +/- 13.3	48.6 +/- 49.5
22.1.1	2.3 +/- 1.2	1.6 +/- 0.7	1.4 +/- 1.0	16.3 +/- 25.5	12.0 +/- 17.0
23.5.1	2.3 +/- 1.8	1.2 +/- 0.5	1.1 +/- 0.6	10.7 +/- 17.5	9.2 +/- 11.1
23.25.1	2.1 +/- 1.8	2.4 +/- 1.0	1.1 +/- 0.5	3.3 +/- 4.2	13.6 +/- 28.9
23.28.1	2.4 +/- 1.7	2.7 +/- 2.1	1.3 +/- 0.6	10.6 +/- 17.5	18.3 +/- 22.6
23.29.1	2.0 +/- 1.5	1.2 +/- 0.4	0.9 +/- 0.5	8.4 +/- 10.6	10.6 +/- 13.1
24.2.1	4.7 +/- 3.0	2.1 +/- 1.2	3.8 +/- 3.8	56.6 +/- 95.8	31.2 +/- 28.4

[0438] 表 27 以树突细胞的细胞表面分子表达平均提高倍数与 B 细胞上的表达平均提高倍数的比例来比较树突细胞与 B 细胞中细胞表面分子增量调节表达的结果。

[0439] 表 27

[0440] 树突细胞与 B 细胞上表面分子增量调节表达的比较结果

[0441]

	B7-1 (CD80)	B7-2 (CD86)	MHCClassII	ICAM(CD54)
3. 1. 1	1. 08	19. 40	1. 38	1. 15
21. 2. 1	1. 01	7. 37	1. 49	1. 12
21. 4. 1	0. 77	7. 04	1. 37	0. 74
22. 1. 1	1. 18	16. 36	1. 61	1. 44
23. 5. 1	0. 83	10. 54	1. 59	1. 06
23. 25. 1	0. 66	2. 57	0. 85	0. 98
23. 28. 1	0. 71	10. 81	2. 16	2. 57
23. 29. 1	0. 73	9. 07	1. 66	1. 23
24. 2. 1	3. 48	52. 30	2. 64	1. 35

[0442] 实施例 VIII

[0443] 细胞因子分泌的加强作用

[0444] 进行单核细胞衍生的树突细胞分析法, 来确定本发明人类抗 -CD40 抗体是否加强分泌 IL-12p40、IL-12p70 与 IL-8。

[0445] 如上述制备单核细胞衍生的树突细胞及附着的单核细胞。细胞于本发明抗 -CD40 抗体 (21. 4. 1) 的存在下培养或使用抗钥孔血蓝蛋白 (KLH) 抗体为阴性对照进行培养。24 小时后, 以 ELISA (R & D systems) 测定上清液中的细胞因子。有些试验中 (见表 28), 经抗体处理的单核细胞衍生的树突细胞也接受 100ng/ml LPS (Sigma)、1000U/ml IFN γ (R & D systems) 或 25ng/ml IL-1 β (R & D systems) 共同刺激。

[0446] 抗 -CD40 抗体在单核细胞衍生的树突细胞与附着性单核细胞中均加强产生

IL-12p40、IL-12p70 与 IL-8。LPS 的存在进一步加强产生 IL-12p40 与 IL-12p70。与同种型对照抗体（抗-KLH）培养的树突细胞的上清液中仅检测到最少量的细胞因子。其代表性结果示于表 28 及图 3 与 4 中。表 28 总结说明树突细胞或附着性单核细胞经 $1 \mu\text{g/ml}$ 本发明抗-CD40 抗体 (21.4.1) $\pm$ 100ng/ml LPS 处理后所产生的主要细胞因子。如图 3 所示，抗-CD40 抗体加强人类树突细胞产生 IL-12p40。图 4 说明人类树突细胞在抗体与 100ng/ml LPS 的存在下加强产生 IL-12p70。

[0447] 表 28

[0448] 本发明抗-CD40 抗体对分泌 IL-12p40、IL-12p70 与 IL-8 的加强作用

[0449]

细胞类型	处理		诱导的细胞因子		
	抗体 $1 \mu\text{g/ml}$	LPS 100 ng/ml	IL-12p40 pg/ml	IL-12p70 pg/ml	IL-8 pg/ml
树突细胞	21.4.1	+	32252	1000	ND
	21.4.1	-	1200	76	1200
	抗-KLH	+	14280	352	ND
	抗-KLH	-	200	4	150
粘着性 单核细胞	21.4.1	-	ND	ND	7000
	21.4.1	+	ND	425	ND
	抗-KLH	-	ND	ND	400
	抗-KLH	+	ND	30	ND

[0450] ND = 未确定

[0451] 使用多种本发明抗-CD40 抗体进行类似实验。依上述制备单核细胞衍生的树突细胞，于不同浓度抗-CD40 抗体的存在下培养，并使用 100ng/ml LPS (Sigma) 共同刺激。24 小时后，以 ELISA (R & D systems) 测定上清液中的 IL-12p70，并确定各抗体 EC_{50} 。实验结果示于表 29。

[0452] 表 29

[0453] 于树突细胞中对分泌 IL-12p70 的加强作用

[0454]

抗体克隆	DCIL-12p70	
	EC_{50} $\mu\text{g/ml}$	Max pg/ml

21. 4. 1	0. 3	1796-7004
22. 1. 1	0. 1	720-1040
23. 25. 1	0. 2	540-960
23. 5. 1	0. 1	676-1112
24. 2. 1	0. 2	754-3680
3. 1. 1	0. 2	668-960
23. 28. 1	0. 2	1332-1404
23. 29. 1	0. 1	852-900
21. 2. 1	0. 03	656-872

[0455] 也在同种异基因 T- 细胞 / 树突细胞分析法中, 测试本发明抗 -CD40 抗体加强 T 细胞分泌 IFN- γ 的能力。为了进行本分析法, 自健康志愿者的外周血液分离出 T 细胞与单核细胞。依上述方法, 使单核细胞分化成树突细胞。取自个体的 1×10^5 个 T 细胞与来自不同个体的 1×10^5 个树突细胞, 于本发明抗 -CD40 抗体的存在下或于对照抗体的存在下培养。培养 4 天后, 以 ELISA 法分析上清液中 IFN- γ 的分泌。此分析法的结果示于表 30。

[0456] 表 30

[0457] 本发明抗 -CD40 抗体对分泌 IFN- γ 的加强作用

[0458]

抗体克隆	A11oDC/TIFN γ	
	<u>EC₅₀</u> μ g/ml	<u>Max</u> pg/ml
21. 4. 1	0. 3	212
22. 1. 1	0. 3	110-180
23. 25. 1	0. 3	180-232
23. 5. 1	0. 2	150-240
24. 2. 1	0. 2	111-194
3. 1. 1	0. 1	100-195
23. 28. 1	0. 2	120-190
23. 29. 1	0. 3	134-150
21. 2. 1	0. 03	230-256

[0459] 实施例 IX

[0460] 本发明抗 -CD40 抗体诱导炎性细胞因子

[0461] 依 Wing 等人述于 Therapeutic. Immunol. 2 :183-90 (1995) 的全血细胞因子释出分析法测试抗体 10. 8. 3、15. 1. 1、21. 4. 1 与 3. 1. 1, 以判断抗体在 1、10 与 100 μ g/ml 浓度下是否可诱发炎性细胞因子。由 10 位正常捐血者的血液中发现, 在指定浓度下的抗体并未显著释出 TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 或 IL-6。

[0462] 实施例 X

[0463] 本发明抗 -CD40 抗体对细胞系 Jy 的免疫原性的加强作用

[0464] 于 RPMI 培养基中培养 CD40 阳性 JIYOYE 细胞 (ATCC CCL87) (" Jy 细胞") 并维持。JIYOYE 细胞是与本发明抗 -CD40 抗体 (21. 4. 1) 或与同种型相应抗体 (抗 -KLH), 于完全 RPMI 培养基中培养 24 小时。然后洗涤细胞, 以 25mg 丝裂霉素 C (Sigma)/7ml 培养基培养 60 分钟。此类细胞再与分离的人类 T 细胞, 依 1 : 100 的比例, 于 37 $^{\circ}$ C (5% CO₂) 下培养 6 天。然后收集 T 细胞, 洗涤, 相对于标记新鲜铬 51 (New England Nuclear, Boston, MA) 的

J1Y0YE 细胞测定 CTL 活性程度。CTL 比活性的算法为比溶胞率% = (溶胞 Jy (cpm) - 自发性溶胞 (cpm)) / (总溶胞 (cpm) - 自发性溶胞 (cpm))。

[0465] 如图 5 所示,本发明抗 -CD40 抗体 (21. 4. 1) 显著加强经抗体处理的 Jy 细胞的免疫原性。

[0466] 实施例 XI

[0467] 动物肿瘤模型

[0468] 为了进一步探讨本发明制造的抗 -CD40 抗体的抗肿瘤活性,申请人设计了一种 SCID- 米色小鼠模型,来测试抗体于活体内对肿瘤生长的影响。

[0469] SCID- 米色小鼠来自 Charles River,使用前先使小鼠适应一周。取肿瘤细胞 (Daudi 细胞 (ATCC CCL213)、CD40 (-) K562 细胞 (ATCC CCL243) 与 CD40 (+) Raji 细胞 (ATCC CCL86)、BT474 乳腺癌细胞 (ATCC HTB20) 或 PC-3 前列腺细胞 (ATCC CRL1435)) 经皮下注射,浓度为 1×10^7 个细胞 / 只动物。有些例子中,将来自同一人类供体的 T 细胞 (5×10^5 个) 与树突细胞 (1×10^5 个) 与肿瘤细胞一起注射。也在即将注射肿瘤 (仅注射一次) 之前,经腹膜内注射本发明抗 -CD40 抗体或同种型相应的对照抗体 (抗 -KLH)。然后测定肿瘤生长。具体的实验说明于下文中。

[0470] 在一项实验中,在即将注射肿瘤 (仅注射一次) 之前,经腹膜内注射本发明抗 -CD40 抗体 (21. 4. 1) 或同种型相应的对照抗体 (抗 -KLH),剂量为 10mg/kg。经皮下注射肿瘤细胞 (Daudi 细胞),浓度为 1×10^7 个细胞 / 只动物。使用测径器,于植入后 17、19、20、21、25、26、27 与 28 天时,在人类 T 细胞与树突细胞的存在下测量肿瘤的生长。如图 6 所示,抗 -CD40 抗体抑制肿瘤生长达约 [60] %。

[0471] 另一项实验中,在即将注射肿瘤 (仅注射一次) 之前,经腹膜内注射本发明抗 -CD40 抗体 (21. 4. 1),或同种型相应的对照抗体 (抗 -KLH),剂量为 0. 1mg/kg、1mg/kg 或 10mg/kg。经皮下注射肿瘤细胞 (K562 细胞),浓度为 1×10^7 个细胞 / 只动物。此实验中,将来自同一人类供体的 T 细胞 (5×10^5 个) 与树突细胞 (1×10^5 个) 与肿瘤细胞一起注射。使用测径器,于植入后 17、19、20、21、25、26、27 与 28 天时测量肿瘤的生长。如图 7 所示,抗 -CD40 抗体抑制肿瘤生长达 60-85 %。

[0472] 另一项实验中,在即将注射肿瘤 (仅注射一次) 之前,经腹膜内注射本发明抗 -CD40 抗体 (21. 4. 1、23. 29. 1 或 3. 1. 1),或同种型相应的对照抗体 (抗 -KLH)。同种型相应的对照抗体与抗体 21. 4. 1 的注射剂量为 1mg/ml。抗体 23. 29. 1 与 3. 1. 1 的注射剂量为 1、0. 1、0. 01、0. 001 或 0. 0001mg/kg。经皮下注射肿瘤细胞 (K562 细胞),浓度为 1×10^7 个细胞 / 只动物。此实验中,将来自同一人类供体的 T 细胞 (5×10^5 个) 与树突细胞 (1×10^5 个) 与肿瘤细胞一起注射。使用测径器,于植入后 28 天时测量肿瘤的生长。此实验结果示于图 8 与 9 中。图中每一点表示来自单个动物的测定值。

[0473] 另一项实验中,在即将注射肿瘤 (仅注射一次) 之前,经腹膜内注射本发明抗 -CD40 抗体 (21. 4. 1),或同种型相应的对照抗体 (抗 -KLH)。抗体剂量为 1、0. 1、0. 01、0. 001 或 0. 0001mg/kg。经皮下注射肿瘤细胞 (Raji 细胞),浓度为 1×10^7 个细胞 / 只动物。此某些动物中,将来自同一人类供体的 T 细胞 (5×10^5 个) 与树突细胞 (1×10^5 个) 与肿瘤细胞一起注射。使用测径器,于植入后 28 天时测量肿瘤的生长。此实验结果示于图 10 中。图中每一点表示来自单个动物的测定值。

[0474] 另一项实验中,在即将注射肿瘤(仅注射一次)之前,经腹膜内注射本发明抗-CD40 抗体(21.4.1、23.28.1、3.1.1 或 23.5.1),或同种型相应的对照抗体(抗-KLH)。抗体的注射剂量为 1 或 0.1mg/kg。经皮下注射肿瘤细胞(Raji 细胞),浓度为 1×10^7 个细胞/只动物。使用测径器,于植入后 28 天时测量肿瘤的生长。此实验结果示于图 11 中。图中每一点表示来自单个动物的测定值。

[0475] 另一项实验中,在即将注射肿瘤(仅注射一次)之前,经腹膜内注射本发明抗-CD40 抗体(21.4.1、23.29.1 或 3.1.1),或同种型相应的对照抗体(抗-KLH)。抗体的注射剂量为 1mg/kg。经皮下注射肿瘤细胞(BT474 乳腺癌细胞),浓度为 1×10^7 个细胞/只动物。将来自同一位人类供体的 T 细胞(5×10^5 个)与树突细胞(1×10^5 个)与肿瘤细胞一起注射。使用测径器,于植入后 39 天时测量肿瘤的生长。如图 12 所示,所有抗体均抑制乳腺癌肿瘤生长。图中每一点表示来自单个动物的测定值。

[0476] 另一项实验中,在即将注射肿瘤(仅注射一次)之前,经腹膜内注射本发明抗-CD40 抗体(3.1.1),或同种型相应的对照抗体(抗-KLH)。抗体的注射剂量为 1mg/kg。经皮下注射肿瘤细胞(PC-3 前列腺细胞),浓度为 1×10^7 个细胞/只动物。使用测径器,于植入后 41 天时测量肿瘤的生长。如图 13 所示,抗-CD40 抗体抑制前列腺肿瘤生长达约 60%。图中每一点表示来自单个动物的测定值。

[0477] 实施例 XII

[0478] 经注射 Daudi 肿瘤细胞及经本发明抗-CD40 抗体处理的 SCID-米色小鼠的存活性

[0479] 另一项实验中,在即将注射肿瘤之前,经腹膜内注射本发明抗-CD40 抗体,或同种型相应的对照抗体(仅注射一次)。抗体的注射剂量为 1 或 0.1mg/ml。经静脉内注射肿瘤细胞(Daudi 细胞),剂量为 5×10^6 个细胞/只动物。然后追踪动物的存活。如图 14 所示,所有试验的抗-CD40 抗体均可使接受肿瘤注射的小鼠延长存活至少 6 天。

[0480] 表 31 列出实施例 XI 所述不同实体瘤模型中,抗-CD40 抗体的 ED_{50} 。表 31 综合说明有些本发明抗-CD40 抗体于 SCID 小鼠体内的活体内抗肿瘤活性。此外,表中出示抗-CD40 抗体在实施例 XII 所述 Daudi 全身肿瘤模型中的 ED_{50} 。

[0481] 表 31

[0482] 本发明抗-CD40 抗体于 SCID 小鼠中使用不同活体内肿瘤模型的 ED_{50}

[0483]

抗体	CD40(-) K562 &T/DC 皮下 (mg/kg)	CD40(+)Raji &T/DC 皮下 (mg/kg)	CD40(+)RajiCD40(+) Daudi 皮下 (mg/kg)	静脉内 (mg/kg)
----	---	---------------------------------------	--	----------------

21.4.1	0.005	0.0008	0.016	0.1
22.1.1	0.01	ND	>1.0	0.1
23.25.1	≥ 1.0	ND	>1.0	ND
23.5.1	>1.0	ND	≥ 1.0	ND
24.2.1	>1.0	ND	>1.0	ND
3.1.1	0.02	ND	≥ 0.1	≤ 0.1
23.28.1	>1.0	ND	≥ 1.0	0.1
23.29.1	0.009	ND	>1.0	≤ 0.1
21.2.1	≤ 1.0	ND	ND	ND

[0484] ND = 未作

[0485] 实施例 XIII

[0486] 以 BIAcore 测定完全人类抗 -CD40 抗体的亲和常数 (K_D)

[0487] 采用 BIAcore3000 仪器,依制造商的指示,由表面胞质团共振法测定纯化抗体的亲和性。

[0488] 生物感应器生物特异性相互作用分析仪器(The Biosensorbiospecificinteraction analysisinstrument(BIAcore))使用表面胞质团共振法来测定 CM5 感应芯片上的分子相互作用。测定分子与感应芯片的葡聚糖面的相互作用所引致的两种介质(玻璃与羧甲基化葡聚糖)之间折射率的变化,作为自由反射单位(arbitraryreflectance units)(RU)的变化,此点已详细说明于制造商的用途说明中。

[0489] 感应芯片上流体室的羧甲基化葡聚糖表面是经 0.05MN- 羟基琥珀酰亚胺,于 0.2MN- 乙基 -N' -(二甲氨基丙基)碳二亚胺的媒介下衍生化 7 分钟而活化。CD40-Ig 融合蛋白质(述于实施例 I)含于 10mM 乙酸钠, pH3.5 中,浓度 5g/ml,手动注射至流体室中,注射速度为 5 μ l/ 分钟,且经共价固定于含有所需量 RU 的流体室表面上。使用 1M 乙醇胺盐酸盐, pH8.5, 去除未反应的 N- 羟基琥珀酰亚胺酯的活性。固定后,注射 5 次各 5 μ l 150mM NaOH,直到达到稳定基线为止,以清除流体室中任何未反应或结合不良的物质。流体室 2 为高密度表面,经表面处理后,测得约 300RU,及流体室 3 为低密度表面,测得约 150RU。流体室 1 为活化的空白表面,在固定期间注射 35 μ l 110mM 乙酸钠缓冲液替代抗原。流体室 4 含有约 450RU 的固定化 CTLA4-Ig,是一种不相关的抗原对照。

[0490] 制备一系列稀释的各抗体,其半对数(halflog)浓度范围为 100 μ g/ml 至 0.1 μ g/ml。流速设定在 5 μ l/ 分钟,每种浓度的样品取 25 μ l 注射至感应芯片上,,每种浓度抗体注射之间注射 5 μ l 150mM NaOH。采用 BIA 分析软件 3.0 分析数据。

[0491] 在逆向动力实验(reverse orientation kinetic experiments)中,抗体 21.4.1 是依上述方法固定在感应芯片表面上。使用抗 -KHL 作为对照抗体表面。抗原 CD40-Ig 融合蛋白质的注射浓度范围为 100 μ g/ml 至 0.1 μ g/ml。

[0492] 表 32 列出本发明代表性抗 -CD40 抗体的亲和性测定值:

[0493] 表 32

[0494] 本发明抗 -CD40 抗体的亲和性测定值

[0495]

抗体	K_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)	K_D (M)
3.1.1	1.12×10^6	3.31×10^{-5}	3.95×10^{-11}
10.8.3	2.22×10^5	4.48×10^{-7}	2.23×10^{-12}

D1-D3 结构域的 3' 引物为 :5' -TCAGTGATGGTGTGTTGGGACAGGCTCGCGATGGTAT-3' (SEQIDNO:137)。用于克隆人类 CD40 的 D1-D2 结构域的 3' 引物为 :5' -TCAGTGATGGTGTGTTGGTATGACAGGTGCAGATGGTGTCTGTT-3' (SEQIDNO:138)。所有此类截短的 CD40cDNA 的构建体形成后,则于 293F 细胞系中,使用 pCR3.1 载体 (Invitrogen) 进行表达。CD40-6XHis 融合蛋白质经镍柱洗脱纯化。

[0506] 此 4 种删除突变体的氨基酸序列示于表 33。

[0507] 表 33

[0508] CD40His- 标签融合蛋白质

[0509]

删除突变体	氨基酸序列 (下划线表示前导序列)
人类 CD40-6XHis (全长细胞外结构域)	MVRLPLOCVLWGCLLTAVHPEPPTACREKQYLINS QCCSLCQPGQKLVS DCTEFTETEC LPC GESEFLDTWNRETHCHQHKYCDPNLGLRVQQKGT SETDTICTCEEWHCTSEACESCVLHRS CSPGFGVKQIATGVSDTICEPCPVGFFSNVSSAFEK CHPWTSCETKDLVVQQAGTNKTDVVC GPQDRHHHHHHH (SEQ ID NO:139)
人类 CD40 (D1-D3)-6xHis	MVRLPLOCVLWGCLLTAVHPEPPTACREKQYLINS QCCSLCQPGQKLVS DCTEFTETEC LPC GESEFLDTWNRETHCHQHKYCDPNLGLRVQQKGT SETDTICTCEEWHCTSEACESCVLHRS CSPGFGVKQIATGVSDTICEPCPHHHHHH (SEQ ID NO:140)
删除突变体	氨基酸序列 (下划线表示前导序列)
人类 CD40 (D1-D2)-6Xhis	MVRLPLOCVLWGCLLTAVHPEPPTACREKQYLINS QCCSLCQPGQKLVS DCTEFTETEC LPC GESEFLDTWNRETHCHQHKYCDPNLGLRVQQKGT SETDTICTCHHHHHH (SEQ ID NO:141)

[0510] 为了表达此类人类 CD40 删除构建体,将构建体克隆至 pCR3.1 载体中 (Invitrogen),于多种不同的稳定转染及瞬时转染的 293F 细胞系中分析其表达。取来自瞬时转染的 293F 细胞系的上清液,以 ELISA 与蛋白质印迹法分析其与抗体 21.4.1、23.25.1、23.29.1 及 24.2.1 的结合性。

[0511] 取来自经不同 CD40 构建体转染的 293F 细胞的上清液进行 ELISA 分析法。在 ELISA 分析板上涂覆已于 ELISA 分析板涂覆缓冲液中稀释至 1 μ g/ml 的山羊抗人类 CD40 多克隆抗体 (R&D, 登录号 AF632) 或山羊抗小鼠 CD40 多克隆抗体 (R&D 登录号 AF440)。使用生物素化的山羊抗人类 CD40 (R&D 登录号 BAF632)、山羊抗小鼠 CD40 (R&D 登录号 BAF440)、或 HRP- 缀合抗 His (C 末端) 抗体 (Invitrogen, 登录号 46-0707) 检测,以确认 CD40 构建体于 293F 细胞中的表达。使用稀释至 1 : 2000 的 HRP 缀合山羊抗人类 IgG (FC 特异性 Caltag H10507) 检测抗 CD40 人类抗体的结合性。其结果示于表 34,其显示, mAbs21.4.1、23.28.1 与 23.29.1 所识别的大多数 (若非全部) 表位位于 CD40 的 D1-D2 区中,而 mAb24.2.1 的表位至少部份位于结构域 D3-D4 中。使用人类 CD40- 兔子 Fc 融合蛋白质作为对照组,以确认抗体结合性的特异性。

[0512] 表 34

[0513] ELISA :抗体与 CD40 删除突变体的结合性

[0514]

	人类 CD40 (D1-D2)-6Xhis	人类 CD40 (D1-D3)-6XHis	人类 CD40-6XHis
21. 4. 1	+	+	+
23. 25. 1	+	+	+
23. 29. 1	+	+	+
24. 2. 1		+	+
抗 -His	+	+	+
抗 -RbIg	ND	ND	ND

[0515] 也使用蛋白质印迹分析法分析 CD40 删除构建体。其结果示于表 35。ELISA 结果显示, 抗体 21. 4. 1、23. 25. 1、23. 29. 1 与 24. 2. 1 的结合位置涉及结构域 D1-D3。其结果也显示抗体 21. 4. 1、23. 25. 1 与 23. 29. 1 的结合位置涉及结构域 D1-D2, 且抗体 24. 2. 1 的结合位置涉及结构域 D3。

[0516] 表 35

[0517] 蛋白质印迹分析法 :抗体与 CD40 删除突变体的结合性

[0518]

	人类 CD40 (D1-D3)-6Xhis	人类 CD40-6Xhis
21. 4. 1	+	+
23. 25. 1	+	+
23. 29. 1	+	+
24. 2. 1	+	+
-His	+	+
-RbIg	ND	ND

[0519] 抗 -CD40 抗体与小鼠 CD40 的结合性 :

[0520] 确定抗体 21. 4. 1、23. 25. 1、23. 29. 1 与 24. 2. 1 结合小鼠 CD40 的能力。

[0521] 此实验中, 由小鼠 B 细胞 cDNA 扩增小鼠 CD40。克隆小鼠 CD40 (D1-D3)-6xHis 融合蛋白质至 pCR3. 1 中, 其利用 CMV 启动子驱动转录作用。用于克隆小鼠 CD40 的细胞外结构域的 5' 引物为 :5' -TGCAAGCTTCACCATGGTGTCTTTGCCTCGGCTGTG-3'。用于克隆小鼠 CD40 的 D1-D3 结构域的 3' 引物为 :5' -GTCCTCGAGTCAGTGATGGTGTGATGTGGGCAGGGATGACAGAC-3'。用小鼠与人类 cDNA 构建体瞬时转染至 293F 细胞中。采用 ELISA 法, 使用针对小鼠与人类 CD40 的多克隆抗体、抗 His 抗体与抗 -CD40 抗体 21. 4. 1、23. 25. 1、23. 29. 1 及 24. 2. 1 检测重组 CD40 的表达。此类实验结果示于表 36。此实验显示, 所有抗体均特异性针对人类 CD40, 并未与小鼠 CD40 交叉反应。

[0522] 表 36

[0523] 小鼠与人类 CD40 的交叉反应性

[0524]

	小鼠 CD40 (D1-D3)-6Xhis	人类 CD40 (D1-D3)-6XHis
21. 4. 1	No	Yes
23. 25. 1	No	Yes

23. 29. 1	No	Yes
24. 2. 1	No	Yes
山羊抗人 CD40CD40	No	Yes
山羊抗小鼠 CD40CD40	Yes	No
抗-His	Yes	Yes

[0525] 抗-CD40 体与人类 / 小鼠嵌合性 CD40 的结合性

[0526] 由于抗体 21. 4. 1、23. 25. 1、23. 29. 1 及 24. 2. 1 不会结合小鼠 CD40, 因此构筑人类 / 小鼠嵌合性 CD40 蛋白质, 以更确定地对此类抗体的表位的进行作图。

[0527] 为了构建人类与鼠类 CD40 嵌合性蛋白质的按读码框的融合体, 使用人类与小鼠 CD40 两种 cDNA 上相同位置上的 CD40 结构域边界处唯一的限制性酶切位点。使用结构域 1 的末端 (核苷酸 244, 氨基酸 64) EcoRI 限制性酶切位点, 及结构域 2 的末端 (核苷酸 330, 氨基酸 94) BanI 限制性酶切位点, 产生不同 cDNA 构建体 (图 17)。

[0528] 采用 PCR 扩增不同 CD40 结构域, 并连接。此方法可以将小鼠 CD40 的各种不同结构域换成来自人类 CD40 的同源性结构域。所得构建体示于图 18。

[0529] 然后利用 ELISA 测定抗体 21. 4. 1、23. 25. 1、23. 29. 1 与 24. 2. 1 是否可以结合小鼠 / 人类嵌合性 CD40 蛋白质。实验结果示于表 37。由表 37 可见, mAbs21. 4. 1 与 23. 25. 1 可识别的表位部份位于 D1, 部份位于 D2 ; mAb23. 29. 1 所识别的表位大部份 (若非全部) 位于 D2 ; 及 mAb24. 2. 1 所识别的表位位于 D2 及 D3。

[0530] 表 37

[0531] 与嵌合性 CD40 蛋白质结合的抗体

[0532]

抗体	HuD1	HuD2	HuD3	HuD1, D2	HuD2, D3	HuD1, D3
21. 4. 1	No	No	No	Yes	No	No
23. 25. 1	No	No	No	Yes	No	No
23. 29. 1	No	Yes	No	Yes	Yes	No
24. 2. 1	No	No	No	No	Yes	No

[0533] 本说明书所摘录的所有公开案与专利申请案的内容已以引用的方式并入本文中, 该引用的程度就如同已特定地及个别地将各个公开案或专利申请案的内容以引用的方式并入本文中一般。虽然上述本发明已利用实施例详细说明, 供进一步了解, 但本领域技术人员应了解, 可依据本发明的教导, 在不偏离本发明精神或范围内, 进行某些改变与修改。

[0001]

序列表

<110> ABGENIX, INC.

PFIZER PRODUCTS INC.

<120> CD40 的抗体

<130> ABX-PF/3 PCT

<140> PCT/US02/36107

<141> 2002-11-08

<150> 60/348,980

<151> 2001-11-09

<160> 147

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 378

<212> DNA

<213> 智人

<400> 1

```
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcaaagg atggaggtaa taaataccat 180
gcagactccg tgaaggcccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa tgcgctgtat 240
ctgcaaatga atagcctgag agttgaagac acggctgtgt attactgtgt gagaagaggg 300
catcagctgg ttctgggata ctactactac aacgggtctgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acggtcaccg tctcctca                                     378
```

<210> 2

<211> 126

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
      1              5              10              15
```

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
```

[0002]

	20	25	30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ala Val Ile Ser Lys Asp Gly Gly Asn Lys Tyr His Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ala Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Val Arg Arg Gly His Gln Leu Val Leu Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Gly			
100	105	110	
Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser			
115	120	125	

<210> 3

<211> 336

<212> DNA

<213> 智人

<400> 3

```

gatattgtgc tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtc gagcctcttg tatagtaatg gatacaactt tttggattgg 120
tacctgcaga agccaggga gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccggggctcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagattgg aggtgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300
cggacgttcg gccaggga caaggtggaa atcaaa 336

```

<210> 4

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<400> 4

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

[0003]

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 5

<211> 1416

<212> DNA

<213> 智人

<400> 5

```
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagagggtg ccagtgtcag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtcct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagt tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tcaaaggatg gaggttaata ataccatgca 240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaatgc gctgtatctg 300
caaatgaata gcctgagagt tgaagacacg gctgtgtatt actgtgtgag aagagggcac 360
cagctgggtc tgggatacta ctactacaac ggtctggacg tctggggcca agggaccacg 420
gtcacctct cctcagctc caccaagggc ccacgggtct tccccctggc gccctgctcc 480
aggagcacct ccgagagcac agcggccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa 540
ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgct ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccagct 600
gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcaac 660
ttcggcacc agacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 720
aagacagttg agcgcaaatg ttgtgtcgag tgcccaccgt gccagcacc acctgtggca 780
ggaccgtcag tcttctcttt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccgacc 840
cctgaggtea cgtgcgtggg ggtggacgtg agccacgaag accccgaggt ccagttcaac 900
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccacggga ggagcagttc 960
aacagcacgt tccgtgtggg cagcgtcctc accgttgtgc accaggactg gctgaacggc 1020
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa ggcctcccag ccccatcga gaaaaccatc 1080
tccaaaacca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca cctgcccc atccggggag 1140
```

[0004]

gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctgggtca aagccttcta cccagcgcac 1200
 atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag cgggagaaca actacaagac cacacctccc 1260
 atgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1320
 tggcagcagg ggaacgtctt ctcattgctc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1380
 acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 1416

<210> 6
 <211> 471
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 6

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
 20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Lys Asp Gly Gly Asn Lys Tyr His Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95

Ala Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Val Arg Arg Gly His Gln Leu Val Leu Gly Tyr Tyr Tyr
 115 120 125

Tyr Asn Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 130 135 140

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
 145 150 155 160

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp

[0005]

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

[0006]

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
405 410 415

Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
420 425 430

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
435 440 445

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
450 455 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 7

<211> 720

<212> DNA

<213> 智人

<400> 7

atgaggetcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtggg 60
gatattgtgc tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120
atctcctgca ggtctagtca gacccctctg tatagtaatg gatacaactt tttggattgg 180
tacctgcaga agccaggcca gtctccacag ctctctgatct atttgggttc taatcgggcc 240
tccggggctc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300
agcagattgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360
cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480
ctgaataact tctateccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgcctccaa 540
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600
agcagcacc ctgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 8

<211> 239

<212> PRT

<213> 智人

<400> 8

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

[0007]

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

[0008]

<210> 9
 <211> 387
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 9
 cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcaaag atggagataa taaataccat 180
 gcagactccg tgtggggccg attcaccatc tccagagaca attccaggag cacgctttat 240
 ctgcāaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtat attactgtgc gagaagaggc 300
 atgggggtcta gtgggagccg tggggattac tactactact acggtttgga cgtctggggc 360
 caagggacca cggtcaccgt ctcctca 387

<210> 10
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 10
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Asn Asp Gly Asp Asn Lys Tyr His Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Trp Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Ser Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Gly Met Gly Ser Ser Gly Ser Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125

[0009]

Ser

<210> 11

<211> 336

<212> DNA

<213> 智人

<400> 11

```
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcttg tataagtaatg gatacaactt tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300
cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaa 336
```

<210> 12

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<400> 12

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

```
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
          20             25             30
```

```
Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
          35             40             45
```

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

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

```
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
          85             90             95
```

```
Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100            105            110
```

[0010]

<210> 13
 <211> 1425
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 13

```

atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagagggtg ccagtgtcag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggagggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagc tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcaattata tcaaatgatg gagataataa ataccatgca 240
gactccgtgt ggggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaggagcac gctttatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtatatt actgtgcgag aagaggcatg 360
gggtctagtg ggagccgtgg ggattactac tactactacg gtttggacgt ctggggccaa 420
gggaccacgg tcaccgtctc ctcagcctcc accaagggcc catcggtctt ccccttggcg 480
cctgtctcca ggagcacctc cgagagcaca gcggccctgg gctgcctggt caaggactac 540
ttccccgaac cggtagcggg gtcgtggaac tcaggcgctc tgaccagcgg cgtgcacacc 600
ttccagctg tcctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc 660
tccagcaact tcggcaccca gacctacacc tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc 720
aaggtggaca agacagttga gcgcaaatgt tgtgtcgagt gccaccgtg cccagcacca 780
cctgtggcag gaccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgac 840
tcccggaacc ctgaggtcac gtgcgtgggt gtggacgtga gccacgaaga ccccgaggtc 900
cagtcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccacgggag 960
gagcagttca acagcacgtt ccgtgtgggt agcgtcctca ccgtttgtga ccaggactgg 1020
ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccagc ccccatcgag 1080
aaaaccatct ccaaaaccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca 1140
tcccgaggag agatgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggtttctac 1200
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1260
acacctccca tgctggactc cgacggctcc ttcttctct acagcaagct caccgtggac 1320
aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 1380
aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aatga 1425

```

<210> 14
 <211> 474
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 14

```

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
  1             5             10             15

```

```

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln

```

[0011]

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

[0012]

Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
260	265	270
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
275	280	285
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp		
290	295	300
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
305	310	315
Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val		
325	330	335
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
340	345	350
Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly		
355	360	365
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
370	375	380
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
385	390	395
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
405	410	415
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
420	425	430
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
435	440	445
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
450	455	460
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
465	470	

<210> 15

[0013]

<211> 720

<212> DNA

<213> 智人

<400> 15

```

atgaggctcc ctgtcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctg atccagtggg 60
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtea cccctggaga gccggcctcc 120
atctcctgca ggtctagtc gagcctcttg tataagtaatg gatacaactt ttgtgattgg 180
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 240
tccggggtec ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360
cggacgttcg gcccaaggac caagggtgaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 540
tcgggtaact ccagagagag tgcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600
agcagcaccg tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa 660
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

```

<210> 16

<211> 239

<212> PRT

<213> 智人

<400> 16

```

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser
  1             5             10             15

Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
      20             25             30

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
      35             40             45

Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys
      50             55             60

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala
      65             70             75             80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
      85             90             95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr

```

[0014]

100	105	110
Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr	Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys	
115	120	125
Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro		
130	135	140
Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu		
145	150	155
		160
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp		
165	170	175
Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp		
180	185	190
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys		
195	200	205
Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln		
210	215	220
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
225	230	235

<210> 17

<211> 357

<212> DNA

<213> 智人

<400> 17

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttactact ggatctggat cggcagccc 120
gccgggaagg gactggaatg gattgggcgt gtctatacca gtgggagcac caactacaac 180
ccctccctca agagtcgagt caccatgtca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag agatggtctt 300
tacagggggt acggtatgga cgtctggggc caagggacca cggtcaccgt ctcctca 357

```

<210> 18

<211> 119

<212> PRT

[0015]

<213> 智人

<400> 18

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Gly Leu Tyr Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 19

<211> 321

<212> DNA

<213> 智人

<400> 19

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gctattagc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatttattct gcctccggtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actgacagtt tcccgctcac tttcggcggc 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 20

<211> 107

[0016]

<212> PRT
<213> 智人

<400> 20

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

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

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

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

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

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

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

<210> 21
<211> 1395
<212> DNA
<213> 智人

<400> 21

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120
tgcaactgtct ctggtggctc catcagtagt tactactgga tctggatccg gcagcccgcc 180
gggaagggac tggaatggat tgggcgtgtc tataccagtg ggagcaccaa ctacaacccc 240
tccctcaaga gtcgagtcac catgtcagta gacacgtcca agaaccagtt ctccctgaag 300
ctgagctctg tgaccgccgc ggacacggcc gtgtattact gtgcgagaga tggctctttac 360
aggggggtacg gtatggacgt ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc ctcagcctcc 420
accaagggcc catcggtctt ccccctggcg cctgtctcca ggagcacctc cgagagcaca 480
gcgcccttgg gctgcctggc caaggactac ttccccgaac cggtagcggg gtcgtggaac 540
tcaggcgtc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccagctg tctacagtc ctcaggactc 600
tactccctca gcagcgtggg gaccgtgccc tccagcaact tcggcaccca gacctacacc 660
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agacagttga gcgcaaatgt 720

[0017]

```

tgtgtcgagt gccaccgtg cccagcacca cctgtggcag gaccgtcagt cttcctcttc 780
cccccacaaac ccaaggacac cctcatgata tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtgggtg 840
gtggacgtga gccacgaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 900
gtgcataatg ccaagacaaa gccacgggag gagcagttca acagcacgtt ccgtgtggtc 960
agcgtcctca ccgttgtgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc 1020
tccaacaaag gcctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa agggcagccc 1080
cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc 1140
agcctgacct gcctgtgcaa agccttctac cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc 1200
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acacctccca tgctggactc cgacggctcc 1260
ttcttctctt acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc 1320
tcatgtctcg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg 1380
tctccgggta aatga 1395

```

<210> 22

<211> 464

<212> PRT

<213> 智人

<400> 22

```

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
  1             5             10             15

```

```

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
          20             25             30

```

```

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile
          35             40             45

```

```

Ser Ser Tyr Tyr Trp Ile Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu
          50             55             60

```

```

Glu Trp Ile Gly Arg Val Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro
          65             70             75             80

```

```

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
          85             90             95

```

```

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
          100            105            110

```

```

Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Leu Tyr Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp
          115            120            125

```

[0018]

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

[0019]

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 23

<211> 705

<212> DNA

<213> 智人

<400> 23

```
atgaggctcc ctgctcagct cctggggctc ctgctgctct ggttcccagg ttccagatgc 60
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120
atcacttgtc gggcgagtca gcctattagc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 180
gggaaagccc ctaaactcct gatttattct gcctccggtt tgcaaagtgg ggtcccatca 240
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 300
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actgacagtt tcccgtcac ttccggcggc 360
gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 420
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgcc tccaatcggg taactcccag 540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705
```

<210> 24

<211> 234

<212> PRT

<213> 智人

[0020]

<400> 24

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Phe Pro
 1 5 10 15

Gly Ser Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser
 20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Pro
 35 40 45

Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asp
 100 105 110

Ser Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220

[0021]

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 25

<211> 363

<212> DNA

<213> 智人

<400> 25

```
cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcaga agttactact ggacctggat ccggcagccc 120
ccaggaagg gactggagtg gattggatat atctattaca gtgggagcac caactacaat 180
cctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacatgt ccaagaacca gttctccctg 240
aagctgagtt ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtttatt actgtgcgag aaaggtgac 300
tacggtgga attttaacta ctttcaccag tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363
```

<210> 26

<211> 121

<212> PRT

<213> 智人

<400> 26

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Ser Tyr
      20           25           30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
      35           40           45

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
      50           55           60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Met Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
      65           70           75           80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
      85           90           95

Arg Lys Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Phe Asn Tyr Phe His Gln Trp Gly
```

[0022]

100	105	110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115	120	

<210> 27
 <211> 336
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 27
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtctagtca gagcctccta cataactaatg gatacaacta ttctgattgg 120
 tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
 tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
 tacagttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 28
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 28
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Phe Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95

[0023]

Leu Gln Thr Pro Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 29

<211> 1401

<212> DNA

<213> 智人

<400> 29

```

atgaaacatc tgtggttctt cttctctctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120
tgactgtct ctggtggctc catcagaagt tactactgga cctggatccg gcagccccc 180
gggaagggac tggagtggat tggatatac tattacagt ggagcaccaa ctacaatccc 240
tcctcaaga gtcgagtcac catatcagta gacatgtcca agaaccagtt ctccctgaag 300
ctgagttctg tgaccgtgc ggacacggcc gtttattact gtgcgagaaa gggtgactac 360
ggtgtaatt ttaactactt tcaccagtgg gccagggaa cctggtcac cgtctctca 420
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 480
agcacagcgg ccttgggtg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 540
tggaactcag gcgtctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtctca 600
ggactctact cctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc 660
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720
aaatgttggt tcgagtgcc accgtgcca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtctc 780
ctcttcccc caaaaccaa ggacacctc atgatctccc ggacctga ggtcacgtgc 840
gtggtggtgg acgtgagtc cgaagacccc gaggtccagt tcaactggt cgtggacggc 900
gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag caggttccgt 960
gtggtcagcg tctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020
aaggtctcca acaaaggcct cccagcccc atcgagaaa ccatctcaa aaccaaggg 1080
cagccccgag aaccacaggt gtacacctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaagc ttctaccca gcacatcgc cgtggagtgg 1200
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380
tcctgtctc cgggtaaatg a
1401

```

<210> 30

<211> 466

<212> PRT

<213> 智人

<400> 30

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

[0024]

245	250	255
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
260	265	270
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		
275	280	285
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
290	295	300
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg		
305	310	315 320
Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
325	330	335
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
340	345	350
Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
355	360	365
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
370	375	380
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
385	390	395 400
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met		
405	410	415
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
420	425	430
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
435	440	445
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
450	455	460
Gly Lys		
465		

[0026]

<210> 31
 <211> 720
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 31
 atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggtctctgg atccagtggg 60
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 120
 atctcctgca ggtctagtca gagcctccta catactaata gatacaacta ttctgattgg 180
 tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctctgatct atttgggttc taatcggggc 240
 tccggggctc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagatcttac actgaaaatc 300
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 360
 tacagttttg gccaggggac caagctggag atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420
 ttcactctcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 540
 tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600
 agcagcaccc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa 660
 gtcacccatc agggcctgag ctgccccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 32
 <211> 239
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 32
 Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15
 Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
 20 25 30
 Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
 35 40 45
 Leu Leu His Thr Asn Gly Tyr Asn Tyr Phe Asp Trp Tyr Leu Gln Lys
 50 55 60
 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala
 65 70 75 80
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 85 90 95

[0027]

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
 100 105 110
 Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 115 120 125
 Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 130 135 140
 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 145 150 155 160
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
 165 170 175
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
 180 185 190
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
 195 200 205
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
 210 215 220
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 33

<211> 361

<212> DNA

<213> 智人

<400> 33

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatgtca tgcactgggt ccgccagget 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atgtcatatg atggaagtag taaatactat 180
 gcaaactccg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgtgtat 240
 ctgcaaataa acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatggg 300
 ggtaaagcag tgcctgggcc tgactactgg ggccagggaa tcctgggtcac cgtctcctca 360
 g 361

[0028]

<210> 34

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<400> 34

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Val Met Ser Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asn Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Gly Lys Ala Val Pro Gly Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35

<211> 337

<212> DNA

<213> 智人

<400> 35

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagtgttctg tatagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagatittac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagtttt acaaaactcca 300
ttcactttcg gccctgggac caaagtggat atcaaac 337

[0029]

<210> 36

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<400> 36

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
 20 25 30

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

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

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

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

Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105 110

<210> 37

<211> 1398

<212> DNA

<213> 智人

<400> 37

atggagtttg ggctgagctg ggttttcttc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagc tatgtcatgc actgggtccg ccaggctcca 180
 ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttatg tcatatgatg gaagtagtaa atactatgca 240
 aactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
 caaataaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtgctgag agatgggggt 360
 aaagcagtgc ctggtcctga ctactggggc cagggaatcc tggtcaccgt ctctcagcc 420
 tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc 480
 acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

[0030]

```

aactcaggcg ctctgaccag cggcgtgcac accttcccag ctgtcctaca gtccctcagga 600
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccttccagca acttcggcac ccagacctac 660
acctgcaacg tagatcaciaa gcccagcaac accaaggtgg acaagacagt tgagcgcaaa 720
tggtgtgtcg agtgcaccac gtgcccagca ccacctgtgg caggaccgtc agtcttctc 780
ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg 840
gtggtggacg tgagccacga agaccccag gtccagttca actggtacgt ggacggcgtg 900
gaggtgcata atgccaagac aaagccacgg gaggagcagt tcaacagcac gttccgtgtg 960
gtcagcgtec tcaccgttgt gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgaag 1020
gtctccaaca aaggcctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaagggcag 1080
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatccggg aggagatgac caagaaccag 1140
gtcagcctga cctgcctggt caaagcttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgagg 1200
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacacctc ccatgctgga ctccgacggc 1260
tccttcttcc tctacagcaa gctcacctg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1320
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gaccccttcc 1380
ctgtctccgg gtaaatga 1398

```

<210> 38

<211> 465

<212> PRT

<213> 智人

<400> 38

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln

20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe

35 40 45

Ser Ser Tyr Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Val Ala Val Met Ser Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val

100 105 110

[0031]

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

[0032]

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
355 360 365

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
370 375 380

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
385 390 395 400

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
405 410 415

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
420 425 430

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
450 455 460

Lys
465

<210> 39
<211> 720
<212> DNA
<213> 智人

<400> 39
atgaggetcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggtctctgg atccagtggg 60
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 120
atctcctgca ggtctagtca gagtgttctg tatagtaatg gatacaacta tttggattgg 180
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctccctgatct atttgggttc taatcgggcc 240
tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagtttt acaaactcca 360
ttcactttcg gccctgggac caaagtggat atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 540
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600
agcagcaccc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660
gtcacccatc agggcctgag ctgcccgctc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

[0033]

<210> 40

<211> 239

<212> PRT

<213> 智人

<400> 40

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
 20 25 30

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
 35 40 45

Val Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys
 50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala
 65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
 100 105 110

Cys Met Gln Val Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys
 115 120 125

Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
 165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
 180 185 190

[0034]

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
 195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
 210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 41

<211> 378

<212> DNA

<213> 智人

<400> 41

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccctcacc ggctactata tgcaactgggt ggcacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaaccctg acagtgggtg cacaaactat 180
 gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
 atggagctga acaggtgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
 cccctaggat attgtactaa tgggtgatgc tcctactttg actactgggg ccaggggaacc 360
 ctggtcaccg tctcctca 378

<210> 42

<211> 126

<212> PRT

<213> 智人

<400> 42

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

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

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

[0035]

65	70	75	80
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr			
	100	105	110
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
	115	120	125

<210> 43

<211> 321

<212> DNA

<213> 智人

<400> 43

```

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggatattac agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctatact gcatccactt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacattt tcccgcacac ttctggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a                                     321

```

<210> 44

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 44

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

[0036]

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
85 90 95

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

<210> 45

<211> 1416

<212> DNA

<213> 智人

<400> 45

```

atggactgga cctggaggat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagctctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaaggtctcc 120
tgcaaggctt ctggatacac cttcacgggc tactatatgc actgggtgcg acaggcccct 180
ggacaagggc ttgagtggat gggatggatc aaccctgaca gtggtggcac aaactatgca 240
cagaagtttc agggcagggt caccatgacc agggacacgt ccatcagcac agcctacatg 300
gagctgaaca ggctgagatc tgacgacacg gccgtgtatt actgtgcgag agatcagccc 360
ctaggatatt gtactaatgg tgtatgtccc tactttgact actggggcca gggaaccctg 420
gtcacgctct cctcagcctc caccaagggc ccacggtct tccccctggc gccctgtccc 480
aggagcacct ccgagagcac agcggccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa 540
ccggtgacgg tgctgtggaa ctcaggcgtc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccagct 600
gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcaac 660
ttcggcaccc agacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 720
aagacagttg agcgcaaatg ttgtgtcgag tgcccaccgt gccagcacc acctgtggca 780
ggaccgtcag tcttctcttt cccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 840
cctgaggtca cgtgcgtggg ggtggacgtg agccacgaag accccgaggt ccagttcaac 900
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccacggga ggagcagttc 960
aacagcacgt tccgtgtggt cagcgtcctc accgttgtgc accaggactg gctgaacggc 1020
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa ggcctcccag ccccatcga gaaaaccatc 1080
tccaaaacca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca cctgcccc atcccgggag 1140
gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgctgtgta aaggettcta cccagcgac 1200
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacacctccc 1260
atgttggtact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1320
tggcagcagg ggaacgtctt ctcattgtcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1380
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 1416

```

<210> 46

<211> 471

[0037]

<212> PRT

<213> 智人

<400> 46

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
 1 5 10 15

Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val
 115 120 125

Cys Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 130 135 140

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
 145 150 155 160

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 165 170 175

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
 180 185 190

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
 195 200 205

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln

[0038]

210	215	220
Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp		
225	230	235 240
Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala		
	245	250 255
Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys		
	260	265 270
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
	275	280 285
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
	290	295 300
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe		
305	310	315 320
Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp		
	325	330 335
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu		
	340	345 350
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg		
	355	360 365
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys		
	370	375 380
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
385	390	395 400
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
	405	410 415
Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
	420	425 430
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser		
	435	440 445

[0039]

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
450 455 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 47

<211> 705

<212> DNA

<213> 智人

<400> 47

```
atgaggctcc ctgctcagct cctggggctc ctgctgctct ggttcccagg ttccagatgc 60
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120
atcacttgtc gggcgagtca gggatatttac agctggtttag cctgggtatca gcagaaacca 180
gggaaagccc ctaacctcct gatctatact gcacccactt tacaaagtgg ggtcccatca 240
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcaacct 300
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gtaacattt tcccgtcac tttcggcgga 360
gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcga 420
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705
```

<210> 48

<211> 234

<212> PRT

<213> 智人

<400> 48

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp Phe Pro
1 5 10 15

Gly Ser Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
35 40 45

Ile Tyr Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

[0040]

Asn Leu Leu Ile Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn
100 105 110

Ile Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 49

<211> 373

<212> DNA

<213> 智人

<400> 49

cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt cgctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatctg atggaggtaa taaatactat 180

[0041]

```
gcagactcgc tgaaggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtac gagaagaggg 300
actggaaaga cttactacca ctactgtggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
accgtctcct cag 373
```

<210> 50
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 智人

```
<400> 50
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
  1             5             10             15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
          20             25             30

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

Ala Val Ile Ser Ser Asp Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
          50             55             60

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

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

Thr Arg Arg Gly Thr Gly Lys Thr Tyr Tyr His Tyr Cys Gly Met Asp
          100            105            110

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

<210> 51
 <211> 337
 <212> DNA
 <213> 智人

```
<400> 51
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
```

[0042]

atctcctgca ggtctagtca ggcctcctg tatagtaatg gatataacta ttggattgg 120
 tacctgcaga agccaggga gtctccacac ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
 tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggttcaggca ctgattttac actgaaaatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300
 cggacgttcg gccaaaggac caagtgga atcaaac 337

<210> 52

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<400> 52

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30

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

Pro His Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

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

<210> 53

<211> 1410

<212> DNA

<213> 智人

<400> 53

atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagagggtg ccagtgtcag 60
 gtgcaactgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtcgc tatggcatgc actgggtccg ccaggtccca 180

[0043]

```

ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tcatctgatg gaggtaataa atactatgca 240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtacgag aagagggact 360
ggaaagactt actaccacta ctgtggtatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 420
gtctcctcag cctccaccaa gggcccatcg gtcttccccc tggcgccctg ctccaggagc 480
acctccgaga gcacagcggc cctgggctgc ctgggtcaagg actacttccc cgaaccggtg 540
acgggtgtcgt ggaactcagg cgctctgacc agcggcgtgc acaccttccc agctgtccta 600
cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtgggtgaccg tgccctccag caacttcggc 660
accagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaca 720
gttgagcgca aatgttgtgt cgagtgccca ccgtgcccg caccacctgt ggcaggaccg 780
tcagtcttcc tcttccccc aaaacccaag gacacctca tgatctccc gaccctgag 840
gtcacgtcgc tgggtgtgga cgtgagccac gaagaccccg aggtccagtt caactggtac 900
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccac gggaggagca gttcaacagc 960
acgttcctg tggtcagcgt cctcacggt gtgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 1020
tacaagtga aggtctccaa caaaggcctc ccagccccc tcgagaaaac catctccaaa 1080
accaaagggc agccccgaga accacaggtg tacacctgc cccateccg ggaggagatg 1140
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccagc cgacatcgcc 1200
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacacc tccatgctg 1260
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagtcaccg tggacaagag caggtggcag 1320
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380
aagagcctct cctgtctcc gggtaaataa 1410

```

<210> 54

<211> 469

<212> PRT

<213> 智人

<400> 54

```

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
  1             5             10             15

```

```

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
          20             25             30

```

```

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
          35             40             45

```

```

Ser Arg Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
          50             55             60

```

```

Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Ser Asp Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala
          65             70             75             80

```

[0044]

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

[0045]

Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu
325 330 335

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala
340 345 350

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
355 360 365

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
370 375 380

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
385 390 395 400

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
405 410 415

Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
420 425 430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 55

<211> 720

<212> DNA

<213> 智人

<400> 55

atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggtctcttg atccagtggg 60
gatatgtga tgactcagtc tccactctcc ctgccgtca ccctggaga gccggcctcc 120
atctcctgca ggtctagtca gaccctctg tatagtaatg gatataacta ttggattgg 180
tacctgcaga agccaggga gtctccacac ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 240
tccggggctc ctgacagggt cagtggcagt gggtcaggca ctgattttac actgaaaac 300
agcagagtgg aggtgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaaactct 360

[0046]

cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420
 ttcattcttc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa 540
 tcgggtaact ccagagagag tgacacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600
 agcagcaccy tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa 660
 gtcacccatc aggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 56

<211> 239

<212> PRT

<213> 智人

<400> 56

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
 20 25 30

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
 35 40 45

Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys
 50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro His Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala
 65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
 100 105 110

Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 115 120 125

Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 145 150 155 160

[0047]

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 57

<211> 376

<212> DNA

<213> 智人

<400> 57

caggtgcagc tggtagagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaatt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
gtgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacgcggt 300
cactacggga gggattacta ctcctactac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cctcag 376

<210> 58

<211> 125

<212> PRT

<213> 智人

<400> 58

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

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

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0048]

35	40	45
Ala Ile Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
		80
Val Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Arg Gly His Tyr Gly Arg Asp Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu		
100	105	110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser		
115	120	125

<210> 59

<211> 337

<212> DNA

<213> 智人

<400> 59

```

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtc gagcctcctg cctggtaatg gatacaacta ttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300
cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaac 337

```

<210> 60

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<400> 60

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

[0049]

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

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

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

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

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

<210> 61

<211> 1413

<212> DNA

<213> 智人

<400> 61

```
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagagggtg ccagtgctcag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtcct gagactctcc 120
tgtgtagcct ctggattcac cttcagtaac tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcaattata tcataatgat gaagtaataa atactatgca 240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatgtg 300
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag acgcggtcac 360
tacgggaggg attactactc ctactacggt ttggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 420
accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg 480
agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgccgtgtca aggactactt ccccgaaacc 540
gtgacggtgt cgtggaactc aggcgctctg accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc 600
ctacagtcc caggacteta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc 660
ggcaccaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 720
acagttgagc gcaaatgttg tgctgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 780
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaacce aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840
gaggtcacgt gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggcca gttcaactgg 900
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac 960
agcacgttcc gtgtggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag 1020
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aacctctcc 1080
aaaaccaaaag ggcagcccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggaggag 1140
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1200
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg 1260
ctggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320
```

[0050]

cagcagggga acgtcttctc atgtccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1380
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1413

<210> 62
 <211> 470
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 62
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
 20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ala Ile Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95

Thr Leu Tyr Val Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly His Tyr Gly Arg Asp Tyr Tyr Ser Tyr
 115 120 125

Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 145 150 155 160

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 165 170 175

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

[0051]

180	185	190
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
195	200	205
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr		
210	215	220
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
225	230	235 240
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro		
245	250	255
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		
260	265	270
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
275	280	285
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
290	295	300
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn		
305	310	315 320
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp		
325	330	335
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro		
340	345	350
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu		
355	360	365
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn		
370	375	380
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		
385	390	395 400
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		
405	410	415

[0052]

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 63
 <211> 720
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 63
 atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtggg 60
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttgaga gccggcctcc 120
 atctcctgca ggtctagtca gagcctctg cctggtaatg gatacaacta tttggattgg 180
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 240
 tccggggctc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420
 ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctstgt tgtgtgcctg 480
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 540
 tcgggtaact ccagagagag gtacacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600
 agcagcacccy tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660
 gtcacccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttaa 720

<210> 64
 <211> 239
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (156)
 <223> 可变氨基酸

<400> 64

[0053]

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

[0054]

<210> 65
 <211> 364
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 65
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggacac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcaga gggtactact ggagctggat ccggcagccc 120
 cctgggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caactacaac 180
 ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
 aagctgaact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt attgtgcgag aaaggggggc 300
 ctctacggtg actacggctg gttcgccccc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
 tcag 364

<210> 66
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 66
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Asp
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Lys Gly Gly Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Trp Phe Ala Pro Trp Gly
 100 105 110

[0055]

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 67
<211> 322
<212> DNA
<213> 智人

<400> 67
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagcgact tagcctggca ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cactgtcgta gcttattcac tttcgccct 300
gggaccaaag tggatatcaa ac 322

<210> 68
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 68
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Asp Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Cys Arg Ser Leu Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

[0056]

<210> 69

<211> 1401

<212> DNA

<213> 智人

<400> 69

```

atgaaacatc tgtggttctt ctttctcctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120
tgcaactgtc ctggtggctc catcagaggt tactactgga gctggatccg gcagccccct 180
gggaaggagc tggagtggat tgggtatata tattacagtg ggagcaccac ctacaacccc 240
tccctcaaga gtcgagtcac catacagta gacacgtcca agaaccagtt ctccctgaag 300
ctgaactctg tgaccgtgc ggacacggcc gtgtattatt gtgcgagaaa ggggggcctc 360
tacggtgact acggttggtt cgccccctgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 420
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 480
agcacagcgg ccttggtgct cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 540
tggaactcag gcgtctgac cagcggcgtg cacaccttc cagctgtcct acagtctc 600
ggactctact cctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcaacttcgg caccagacc 660
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720
aatgttgtg tcgagtgcc accgtgccc gaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc 840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 900
gtggaggtgc ataatgcca gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 960
gtggtcagcg tctcaccgt tgtgcaccag gactggtga acggcaagga gtacaagtgc 1020
aaggtctcca acaaaggcct cccagcccc atcgagaaaa ccatctcaa aaccaaaggg 1080
cagccccgag aaccacaggt gtacacctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140
caggtcagcc tgacctgct ggtcaaaggc ttctaccca gcgacatcg cgtggagtgg 1200
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 1260
ggctcttct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggaac 1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacagca gaagagcctc 1380
tccctgtctc cgggtaaag a

```

<210> 70

<211> 466

<212> PRT

<213> 智人

<400> 70

```

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
  1             5             10             15

```

```

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys

```

[0057]

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

[0058]

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460

Gly Lys
465

<210> 71

[0059]

<211> 705
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 71

```

atggaaaccc cagcgagct tctcttcctc ctgtactctt ggctcccaga atccaccgga 60
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagcgact tagcctggca ccagcagaaa 180
cctggccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 240
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 300
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cactgtcgta gcttattcac tticggccct 360
gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat ctccccgcca 420
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgcc tccaatcggg taactcccag 540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705
  
```

<210> 72
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 72

```

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
   1             5             10             15

Glu Ser Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
          20             25             30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
          35             40             45

Val Ser Ser Ser Asp Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
          50             55             60

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
          65             70             75             80

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
          85             90             95

Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Cys
  
```

[0060]

100	105	110
Arg Ser Leu Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg		
115	120	125
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln		
130	135	140
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr		
145	150	155
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser		
165	170	175
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr		
180	185	190
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys		
195	200	205
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro		
210	215	220
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
225	230	

<210> 73

<211> 376

<212> DNA

<213> 智人

<400> 73

```

cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatgcc a tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tacagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacgcggt 300
cactacggga ataattacta ctctattac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cctcag                                     376

```

<210> 74

<211> 125

[0061]

<212> PRT

<213> 智人

<400> 74

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20

25

30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50

55

60

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

65

70

75

80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Arg Gly His Tyr Gly Asn Asn Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu

100

105

110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

120

125

<210> 75

<211> 337

<212> DNA

<213> 智人

<400> 75

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctagtca gaggctcctg cctggtaatg gatacaacta tttggattgg 120

tacctgcaga agccaggga gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180

tccggggctc ctgacagggt cagtggcagt ggctcaggca cagatcttac actgaaaatc 240

agcagagtgg aggctgagga tgttgggatt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300

cggacgttcg gccagggaac caaggtggaa atcaaac 337

<210> 76

[0062]

<211> 112
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 76

```

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Pro Gly
              20              25              30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
              85              90              95

Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
              100             105             110
  
```

<210> 77
 <211> 1413
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 77

```

atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gtigctcttt taagagggtg ccagtgtcag 60
gtgcaactgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagc tatgccatgc actgggtccg ccaggctcca 180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tcatatgatg gaagtaataa atactatgca 240
gactccgtga agggccgatt caccatctac agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag acgcggtcac 360
tacgggaata attactactc ctattacggt ttggacgtct ggggcccaagg gaccacggtc 420
accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg 480
agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgcctggtea aggactactt ccccgaaacc 540
gtgacgggtg cgtggaactc aggcgtcttg accagcgcg tgcacacett cccagctgtc 600
ctacagtctc caggactcta ctccctcage agcgtgggtg ccggtgccctc cagcaacttc 660
  
```

[0063]

```

ggcaccaga cctacacctg caacgtatg cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 720
acagttgagc gcaaatgttg tgctgagtg ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 780
ccgtcagtct tctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct 840
gaggtcacgt gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 900
tacgtggagc gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac 960
agcacgttcc gtgtggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag 1020
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080
aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1200
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg 1260
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320
cagcagggga acgtcttctc atgtccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1380
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1413

```

<210> 78

<211> 470

<212> PRT

<213> 智人

<400> 78

```

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
  1             5             10            15

```

```

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
      20             25            30

```

```

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
    35             40            45

```

```

Ser Ser Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
    50             55            60

```

```

Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
    65             70            75            80

```

```

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Tyr Arg Asp Asn Ser Lys Asn
      85             90            95

```

```

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
    100            105            110

```

```

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly His Tyr Gly Asn Asn Tyr Tyr Ser Tyr
    115            120            125

```

[0064]

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

[0065]

355	360	365
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn		
370	375	380
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		
385	390	395 400
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		
405	410	415
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys		
420	425	430
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys		
435	440	445
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu		
450	455	460
Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
465	470	

<210> 79

<211> 720

<212> DNA

<213> 智人

<400> 79

```

atgaggetcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggtctcttg atccagtggg 60
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120
atctcctgca ggtctagtca gagectcctg cctggtaatg gatacaacta ttggattgg 180
tacctgcaga agccaggga gtcctcacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 240
tccggggctc ctgacaggtt cagtggcagt ggctcaggca cagattttac actgaaaatc 300
agcagagtgg aggtgagga tgttgggatt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360
cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtccagtgga ggggtggataa cgccctccaa 540
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600
agcagcacc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcttcgaa 660
gtcaccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

```

[0066]

<210> 80
<211> 239
<212> PRT
<213> 智人

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

[0067]

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 81
<211> 364
<212> DNA
<213> 智人

<400> 81

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcaga ggttactact ggagctggat ccggcagccc 120
ccagggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caactacaac 180
ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aagctgagtt ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgagag aagggggggc 300
ctctacggtg actacggctg gttcgccccc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tcag 364

<210> 82
<211> 121
<212> PRT
<213> 智人

<400> 82

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

[0068]

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Arg Gly Gly Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Trp Phe Ala Pro Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83

<211> 322

<212> DNA

<213> 智人

<400> 83

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagggttagc agcacctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatagta gcttattcac ttctggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa ac 322

<210> 84

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 84

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Thr
20 25 30

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

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

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

[0069]

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 85

<211> 1401

<212> DNA

<213> 智人

<400> 85

```
atgaacatc tgtggttctt cttctcctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg eccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120
tgcactgtct ctgggtggctc catcagaggt tactactgga gctggatccg gcagccccc 180
gggaaggga caggagtgat tgggtatata tattacagt ggagcaccac ctacaacccc 240
tccctcaaga gtcgagtcac catatcagta gacacgtcca agaaccagtt ctccctgaag 300
ctgagttctg tgaccgtgc ggacacggcc gtgtattact gtgcgagaag ggggggcctc 360
tacggtgact acggctggtt cgtccctgg ggccaggga ccctgggtcac cgtctcctca 420
gcctccacca agggcccatc ggtcttccc ctggcgccct gctccaggag caccctcgag 480
agcacagcgg ccctgggtcg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacgggtgtcg 540
tggaactcag gcgctctgac cagcggcggt cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca 600
ggactctact ccctcagcag cgtgggtgac gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc 660
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720
aatgttgtg tcgagtgcgc accgtgccc gacccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc 840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 900
gtggagggtc ataatgcaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 960
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactgggtga acggcaagga gtacaagtgc 1020
aaggtctcca acaaaggcct ccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg 1080
cagcccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctaoccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320
gtcttctcat gctcgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380
tccctgtctc cgggtaaatg a 1401
```

<210> 86

<211> 466

<212> PRT

<213> 智人

[0070]

<400> 86
 Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15
 Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile
 35 40 45
 Arg Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro
 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95
 Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110
 Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Gly Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Trp Phe Ala
 115 120 125
 Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
 145 150 155 160
 Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205
 Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
 210 215 220

[0071]

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg			
225	230	235	240
Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly			
245	250	255	
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
260	265	270	
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
275	280	285	
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His			
290	295	300	
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg			
305	310	315	320
Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
325	330	335	
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu			
340	345	350	
Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
355	360	365	
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
370	375	380	
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp			
385	390	395	400
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met			
405	410	415	
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp			
420	425	430	
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			
435	440	445	
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
450	455	460	

[0072]

Gly Lys

465

<210> 87

<211> 705

<212> DNA

<213> 智人

<400> 87

```

atggaaaccc cagcgagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60
gaaatttgtt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agcacctact tagcctggta ccagcagaaa 180
cctggccagg ctcccaggt cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 240
gacaggttca gtggcagtg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 300
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagtatagta gcttattcac tticggccct 360
gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccacca 420
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgcc tccaatcggg taactcccag 540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gtag                                     705

```

<210> 88

<211> 234

<212> PRT

<213> 智人

<400> 88

```

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
  1              5              10             15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
          20              25             30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
          35              40             45

Val Ser Ser Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
          50              55             60

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro

```

[0073]

65	70	75	80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile			
	85	90	95
Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr			
	100	105	110
Ser Ser Leu Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg			
	115	120	125
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln			
	130	135	140
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr			
145	150	155	160
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser			
	165	170	175
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr			
	180	185	190
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys			
	195	200	205
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro			
	210	215	220
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
225	230		

<210> 89

<211> 378

<212> DNA

<213> 智人

<400> 89

```

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcaaagg atggaggtaa taaataccat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa tacgctgtat 240
ctgcaaataa atagcctgag agtgaagac acggctgtgt attactgtgt gagaagaggg 300

```

[0074]

catcagctgg ttctgggata ctactactac aacggtctgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acggtcaccg tctcctca 378

<210> 90
<211> 126
<212> PRT
<213> 智人

<400> 90
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Lys Asp Gly Gly Asn Lys Tyr His Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Val Arg Arg Gly His Gln Leu Val Leu Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Gly
100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 91
<211> 378
<212> DNA
<213> 智人

<400> 91
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatggca tgcaactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcaaagg atggaggtaa taaataccat 180

[0075]

```
gcagactccg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa tacgctgtat 240
ctgcaaatga atagcctgag agctgaagac acggctgtgt attactgtgc gagaagaggg 300
catcagctgg ttctgggata ctactactac aacggtctgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acggtcaccg tctctca 378
```

<210> 92

<211> 126

<212> PRT

<213> 智人

<400> 92

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
  1             5             10             15
```

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
             20             25             30
```

```
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
             35             40             45
```

```
Ala Val Ile Ser Lys Asp Gly Gly Asn Lys Tyr His Ala Asp Ser Val
             50             55             60
```

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

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

```
Ala Arg Arg Gly His Gln Leu Val Leu Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Gly
             100            105            110
```

```
Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
             115            120            125
```

<210> 93

<211> 336

<212> DNA

<213> 智人

<400> 93

```
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
```

[0076]

```

atctcctgca ggtctagtca gagcctcttg tatagtaatg gatacaactt tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300
cggacgttcg gccaaaggac caaggaggaa atcaaa 336

```

<210> 94

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<400> 94

```

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

```

```

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
          20             25             30

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

<210> 95

<211> 373

<212> DNA

<213> 智人

<400> 95

```

cagggtgaac tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt cgctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatctg atggaggtaa taaatactat 180

```

[0077]

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgtgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtac gagaagagg 300
 actggaaaga cttactacca ctacgccggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
 accgtctcct cag 373

<210> 96

<211> 124

<212> PRT

<213> 智人

<400> 96

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Ser Asp Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Thr Arg Arg Gly Thr Gly Lys Thr Tyr Tyr His Tyr Ala Gly Met Asp
 100 105 110

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

<210> 97

<211> 364

<212> DNA

<213> 智人

<400> 97

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc ctteggagac cctgtccctc 60

[0078]

acctgcactg tctctggtgg ctccatcaga ggttactact ggagctggat cgggcagccc 120
cctgggaagg gactggagt gattgggtat atctattaca gtgggagcac caactacaac 180
ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aagctgaact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt attgtgagag aaaggggggc 300
ctctacggtg actacggctg gttcgcccc tggggccagg gaacctggt caccgtctcc 360
tcag 364

<210> 98

<211> 121

<212> PRT

<213> 智人

<400> 98

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Lys Gly Gly Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Trp Phe Ala Pro Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 99

<211> 322

<212> DNA

<213> 智人

[0079]

<400> 99

```

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagcgact tagcctggca ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagccccgta gcttattcac ttccggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa ac                                     322

```

<210> 100

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 100

```

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
  1             5             10             15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
      20             25             30

Asp Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
      35             40             45

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

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

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
      100             105

```

<210> 101

<211> 720

<212> DNA

<213> 智人

<400> 101

```

atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtggg 60

```

[0080]

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 120
 atctctcgca ggtctagta gagcctcctg cctggtaatg gatacaacta tttggattgg 180
 tacctgcaga agccaggga gtctccacag ctctgatct atttggttc taatcgggcc 240
 tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggctcaggca cagattttac actgaaaac 300
 agcagagtgg aggtgagga tgttgggatt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420
 ttcactctcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gttcagtggga aggtggataa cgccctccaa 540
 tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagctc 600
 agcagcaccg tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa 660
 gtcaccatc agggcctgag ctgcccgta acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 102

<211> 239

<212> PRT

<213> 智人

<400> 102

Met	Arg	Leu	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Met	Leu	Trp	Val	Ser
1				5					10					15	
Gly	Ser	Ser	Gly	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro
			20					25					30		
Val	Thr	Pro	Gly	Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser
			35				40						45		
Leu	Leu	Pro	Gly	Asn	Gly	Tyr	Asn	Tyr	Leu	Asp	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys
		50				55					60				
Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Gly	Ser	Asn	Arg	Ala
		65			70				75					80	
Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe
				85				90					95		
Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ile	Tyr	Tyr
			100					105					110		
Cys	Met	Gln	Ala	Leu	Gln	Thr	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys
			115					120					125		
Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro

[0081]

130	135	140	
Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu			
145	150	155	160
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp			
	165	170	175
Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp			
	180	185	190
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys			
	195	200	205
Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln			
	210	215	220
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
	225	230	235
<210> 103			
<211> 112			
<212> PRT			
<213> 智人			
<400> 103			
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly			
1	5	10	15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser			
	20	25	30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			
	35	40	45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro			
	50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
	65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala			
	85	90	95

[0082]

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

<210> 104
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 104
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 105
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 105
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

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

[0083]

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

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

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

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

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

<210> 106

<211> 124

<212> PRT

<213> 智人

<400> 106

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

[0084]

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

<210> 107

<211> 125

<212> PRT

<213> 智人

<400> 107

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Met Gly Ser Ser Gly Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 108

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<400> 108

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

[0085]

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Arg Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Tyr Cys Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 109
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 109
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

[0086]

85	90	95
Arg Asp Tyr Gly Gly Asn Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 110		
<211> 122		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 110		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
		15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr		
20	25	30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35	40	45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
		80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp		
100	105	110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115	120	
<210> 111		
<211> 112		
<212> PRT		
<213> 智人		

[0087]

<400> 111

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

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

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

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

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

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

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

<210> 112

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<400> 112

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

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

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

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

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

[0088]

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

Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105 110

<210> 113

<211> 108

<212> PRT

<213> 智人

<400> 113

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 114

<211> 122

<212> PRT

<213> 智人

<400> 114

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

[0089]

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Tyr Cys Gly Gly Asp Cys Tyr Gly Ile Ala Val Ala Gly Trp
100 105 110

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

<210> 115

<211> 123

<212> PRT

<213> 智人

<400> 115

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

[0090]

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

Ala Arg Gly Thr Thr Gly Thr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
100 105 110

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

<210> 116
<211> 123
<212> PRT
<213> 智人

<400> 116
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
100 105 110

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

<210> 117
<211> 123
<212> PRT

[0091]

<213> 智人

<400> 117

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
100 105 110

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

<210> 118

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<220>

<221> modified_base

<222> (21)

<223> i

<400> 118

caggtgcagc tggagcagtc ngg

23

[0092]

<210> 119

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<400> 119

gctgagggag tagagtcctg agga

24

<210> 120

<211> 49

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<400> 120

tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg

49

<210> 121

<211> 49

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<400> 121

tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg

49

<210> 122

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

[0093]

<400> 122
tatctaagct tctagactcg agcgccacca tgaaacacct gtggttcttc c 51

<210> 123
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 引物

<400> 123
tatctaagct tctagactcg agcgccacca tgaaacatct gtggttcttc c 51

<210> 124
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 引物

<400> 124
tatctaagct tctagactcg agcgccacca tggactggac ctggaggatc c 51

<210> 125
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 引物

<400> 125
ttctctgatc agaattccta tcatttacct ggagacaggg agag 44

<210> 126
<211> 41
<212> DNA

[0094]

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<400> 126

cttcaagctt acccgggcca ccatgaggct ccctgctcag c

41

<210> 127

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<400> 127

ttctttgatc agaattctca ctaacactct cccctgttga agc

43

<210> 128

<211> 49

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<400> 128

tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg

49

<210> 129

<211> 49

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<400> 129

tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg

49

[0095]

<210> 130

<211> 49

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<400> 130

tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg

49

<210> 131

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<400> 131

tatctaagct tctagactcg agcgccacca tgaacatct gtggttcttc c

51

<210> 132

<211> 49

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<400> 132

tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg

49

<210> 133

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

[0096]

<400> 133
tatctaagct tctagactcg agcgccacca tgaacatct gtggttcttc c 51

<210> 134
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 引物

<400> 134
tcttcaagct tgcccgggcc cgccaccatg gaaaccccag cgcag 45

<210> 135
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 引物

<400> 135
gcaagcttca ccaatggttc gtctgcctct gcagtg 36

<210> 136
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 引物

<400> 136
tcagtgatgg tgatggtgat gtctcagccg atcctgggga cca 43

<210> 137
<211> 43
<212> DNA

[0097]

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<400> 137

tcagtgatgg tgatggtgat gtgggcaggg ctcgcgatgg tat 43

<210> 138

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 引物

<400> 138

tcagtgatgg tgatggtgat gacaggtgca gatggtgtct gtt 43

<210> 139

<211> 197

<212> PRT

<213> 智人

<400> 139

Met Val Arg Leu Pro Leu Gln Cys Val Leu Trp Gly Cys Leu Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val His Pro Glu Pro Pro Thr Ala Cys Arg Glu Lys Gln Tyr Leu
20 25 30

Ile Asn Ser Gln Cys Cys Ser Leu Cys Gln Pro Gly Gln Lys Leu Val
35 40 45

Ser Asp Cys Thr Glu Phe Thr Glu Thr Glu Cys Leu Pro Cys Gly Glu
50 55 60

Ser Glu Phe Leu Asp Thr Trp Asn Arg Glu Thr His Cys His Gln His
65 70 75 80

Lys Tyr Cys Asp Pro Asn Leu Gly Leu Arg Val Gln Gln Lys Gly Thr
85 90 95

[0098]

Ser Glu Thr Asp Thr Ile Cys Thr Cys Glu Glu Gly Trp His Cys Thr
100 105 110

Ser Glu Ala Cys Glu Ser Cys Val Leu His Arg Ser Cys Ser Pro Gly
115 120 125

Phe Gly Val Lys Gln Ile Ala Thr Gly Val Ser Asp Thr Ile Cys Glu
130 135 140

Pro Cys Pro Val Gly Phe Phe Ser Asn Val Ser Ser Ala Phe Glu Lys
145 150 155 160

Cys His Pro Trp Thr Ser Cys Glu Thr Lys Asp Leu Val Val Gln Gln
165 170 175

Ala Gly Thr Asn Lys Thr Asp Val Val Cys Gly Pro Gln Asp Arg His
180 185 190

His His His His His
195

<210> 140

<211> 153

<212> PRT

<213> 智人

<400> 140

Met Val Arg Leu Pro Leu Gln Cys Val Leu Trp Gly Cys Leu Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val His Pro Glu Pro Pro Thr Ala Cys Arg Glu Lys Gln Tyr Leu
20 25 30

Ile Asn Ser Gln Cys Cys Ser Leu Cys Gln Pro Gly Gln Lys Leu Val
35 40 45

Ser Asp Cys Thr Glu Phe Thr Glu Thr Glu Cys Leu Pro Cys Gly Glu
50 55 60

Ser Glu Phe Leu Asp Thr Trp Asn Arg Glu Thr His Cys His Gln His
65 70 75 80

[0099]

Lys Tyr Cys Asp Pro Asn Leu Gly Leu Arg Val Gln Gln Lys Gly Thr
85 90 95

Ser Glu Thr Asp Thr Ile Cys Thr Cys Glu Glu Gly Trp His Cys Thr
100 105 110

Ser Glu Ala Cys Glu Ser Cys Val Leu His Arg Ser Cys Ser Pro Gly
115 120 125

Phe Gly Val Lys Gln Ile Ala Thr Gly Val Ser Asp Thr Ile Cys Glu
130 135 140

Pro Cys Pro His His His His His His
145 150

<210> 141

<211> 111

<212> PRT

<213> 智人

<400> 141

Met Val Arg Leu Pro Leu Gln Cys Val Leu Trp Gly Cys Leu Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val His Pro Glu Pro Pro Thr Ala Cys Arg Glu Lys Gln Tyr Leu
20 25 30

Ile Asn Ser Gln Cys Cys Ser Leu Cys Gln Pro Gly Gln Lys Leu Val
35 40 45

Ser Asp Cys Thr Glu Phe Thr Glu Thr Glu Cys Leu Pro Cys Gly Glu
50 55 60

Ser Glu Phe Leu Asp Thr Trp Asn Arg Glu Thr His Cys His Gln His
65 70 75 80

Lys Tyr Cys Asp Pro Asn Leu Gly Leu Arg Val Gln Gln Lys Gly Thr
85 90 95

Ser Glu Thr Asp Thr Ile Cys Thr Cys His His His His His His
100 105 110

[0100]

<210> 142

<211> 118

<212> PRT

<213> 智人

<400> 142

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 143

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 连接肽

<400> 143

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

[0101]

<210> 144
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成的寡核苷酸

<400> 144
tttttttttt tttttttt 18

<210> 145
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：6-His tag

<400> 145
His His His His His His
1 5

<210> 146
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：引物

<400> 146
tgcaagcttc accatggtgt ctttgccctcg gctgtg 36

<210> 147
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：引物

[0102]

<400> 147	
gtcctcgagt cagtgatggt gatggtgatg tgggcagggga tgacagac	48

图1

抗体可变结构域蛋白质序列与种系 (GL) 序列的比对 (CDRs用下划线表示; 相对于种系的突变用黑体/阴影表示)

图1A

种系: V=A3/A19, J=JK1
 3.1.1.1 DIVLTQSPLS LPVTGEPAS ISCRSSQSLL YSNGYNFLDW YLQKPGSPQ LLIYLGSNRA SCVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRLEAEDVG YTCMOALQTP RTFCQGTKE IK
 7.1.1.2 DIVMTQSPLS LPVTGEPAS ISCRSSQSLL YSNGYNFLDW YLQKPGSPQ LLIYLGSNRA SCVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRLEAEDVG YTCMOALQTP RTFCQGTKE IK
 GL DIVMTQSPLS LPVTGEPAS ISCRSSQSLL HSNGYNFLDW YLQKPGSPQ LLIYLGSNRA SCVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRLEAEDVG YTCMOALQTP RTFCQGTKE IK

图1B

种系: V=A3/A19, J=JK2
 15.1.1 DIVMTQSPLS LPVTGEPAS ISCRSSQSLL HTNGYNFLDW YLQKPGSPQ LLIYLGSNRA SCVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRLEAEDVG YTCMOALQTP YSFGQGTKE IK
 GL DIVMTQSPLS LPVTGEPAS ISCRSSQSLL HSNGYNFLDW YLQKPGSPQ LLIYLGSNRA SCVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRLEAEDVG YTCMOALQTP YSFGQGTKE IK

图1C

种系: V=L5, J=JK4
 10.8.3 DIQMTQSPSS VSASVGDRTV ITCRASQPI SWLANYQKP GKAPKLLIYS ASGLQSGVPSR FSGSGSGTD FTLTSSLOP EDFATYYCQ TDSFPLTFEGG GTKVEIK
 21.4.1 DIQMTQSPSS VSASVGDRTV ITCRASQGI SWLANYQKP GKAPNLLIYT ASLQSGVPSR FSGSGSGTD FTLTSSLOP EDFATYYCQ ANIFFPLTFEGG GTKVEIK
 GL DIQMTQSPSS VSASVGDRTV ITCRASQGIS SWLANYQKP GKAPKLLIYA ASLQSGVPSR FSGSGSGTD FTLTSSLOP EDFATYYCQ ANSFPLTFEGG GTKVEIK

图1D

种系: V=3-30+, D=D4+DIR3, J=JH6
 3.1.1 QVQLVESGGG VVQPGRSRL SCAASGETFS SYGNHWVRQA PGKGLEWVAV ISKDGKNKY ADSVKGRTI SRDNSKNALY LQNSLRVED TAVYYCVRRG HOLVLGYYNY NGLDVWGQGT TTVTVSS
 GL QVQLVESGGG VVQPGRSRL SCAASGETFS SYGNHWVRQA PGKGLEWVAV ISYDGSNKY ADSVKGRTI SRDNSKNALY LQNSLRVED TAVYYCAR--G HOL-LGYYY YGMDVWGQGT TTVTVSS

图1E

种系: V=3-30+, D=DIR5+D1-26, J=JH6
 7.1.1.2 QVQLVESGGG VVQPGRSRL SCAASGETFS SYGNHWVRQA PGKGLEWVAV ISNDGKNKY ADSVWGRFTI SRDNSRTLY LQNSLRVED TAVYYCARRG MGSSGSRGDY YYYVGLDVG QGTTVTSS
 GL QVQLVESGGG VVQPGRSRL SCAASGETFS SYGNHWVRQA PGKGLEWVAV ISYDGSNKY ADSVKGRTI SRDNSKNALY LQNSLRVED TAVYYCAR-- MGSSGS--DY YYYVGLDVG QGTTVTSS

图1F

种系: V=4.35, D=DIR3, J=JH6
 10.8.3 QVQLQESGPG LVKPSSETLSL TCTVSGGSIS SYTWNIQRP AGRGLEWIRG VYTSGSTNYN PSLKSRVTMS VDTSKNQFSL KLSSTAAAT AVYYCARDGL YRG----YGM DVMGQGT TTVTVSS
 GL QVQLQESGPG LVKPSSETLSL TCTVSGGSIS SYTWNIQRP AGRGLEWIRG IYTSGSTNYN PSLKSRVTMS VDTSKNQFSL KLSSTAAAT AVYYCAR-- YCGYYYIYGM DVMGQGT TTVTVSS

图1G

种系: V=4-59, D=D4-23, J=JH4
 15.1.1 QVQLQESGPG LVKPSSETLSL TCTVSGGSIR SYTWNIQRP PGKGLEWIRG IYYSGSTNYN PSLKSRVTIS VDMKNQFSL KLSSTAAAT AVYYCARRG YGNNFYTHQ WGQGT TTVTVSS
 GL QVQLQESGPG LVKPSSETLSL TCTVSGGSIS SYTWNIQRP PGKGLEWIRG IYYSGSTNYN PSLKSRVTIS VDTSKNQFSL KLSSTAAAT AVYYCAR--D YGNS--YEDY WGQGT TTVTVSS

图1H

种系: V=1-02, D=DIR1, J=JH4
 21.4.1 QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCRASGYTET GYTNHWVRQA PGQGLEWIRG INPDGGGTYN AOKTQGRVTM TRDTSISTAY MEINRLRSD TAVYYCARDQ PLGYCTNGVC SYFDYWGQGT LVTVSS
 GL QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCRASGYTET GYTNHWVRQA PGQGLEWIRG INPDGGGTYN AOKTQGRVTM TRDTSISTAY MEINRLRSD TAVYYCAR-- --GYCTNGVC YIFDYWGQGT LVTVSS

图2 抗体可变结构域蛋白质序列与种系 (GL) 序列的比对 (CDRs用下划线表示; 相对于种系的突变用黑体/阴影表示)

图2A

种系 V=A3/A19, J=JK1
 22.1.1 DIVMTQSPISLSPVTPGEPASISCRSSQSLIYNGNYLDWYLOKPGQSPHLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQALQTPRTFGQGTKVEIK
 23.5.1 DIVMTQSPISLSPVTPGEPASISCRSSQSLIPGNNGNYLDWYLOKPGQSPHLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQALQTPRTFGQGTKVEIK
 23.29.1 DIVMTQSPISLSPVTPGEPASISCRSSQSLIPGNNGNYLDWYLOKPGQSPHLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQALQTPRTFGQGTKVEIK
 Germ DIVMTQSPISLSPVTPGEPASISCRSSQSLIHSGNYLDWYLOKPGQSPHLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQALQTPRTFGQGTKVEIK

图2B

种系 V=A3/A19, J=JK3
 21.2.1 DIVMTQSPISLSPVTPGEPASISCRSSQSLIYNGNYLDWYLOKPGQSPHLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQALQTPRTFGQGTKVDIK
 Germ DIVMTQSPISLSPVTPGEPASISCRSSQSLIHSGNYLDWYLOKPGQSPHLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQALQTPRTFGQGTKVDIK

图2C

种系 V=A27, J=JK3
 23.28.1 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSDLAWHQORPGQAPRLIYGCASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHCRS-LFTEPGGTGVDIK
 23.28.1L-C92A EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSDLAWHQORPGQAPRLIYGCASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHCRS-LFTEPGGTGVDIK
 24.2.1 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQORPGQAPRLIYGCASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSPPFTFGPGTKVDIK
 Germ EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQORPGQAPRLIYGCASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSPPFTFGPGTKVDIK

图2D

种系 V=3-30+, D=DIR3+D6-19, J=JH4
 21.2.1 QVQLVESGGGVQPGKSLRLSCAASGFTFSYNNHVVROAPGKGLEWVAIVSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQNSLRAEDTAVYYCAR-DGCK-----AVPGEDYWGQGITLVTVSS
 Germ QVQLVESGGGVQPGKSLRLSCAASGFTFSYNNHVVROAPGKGLEWVAIVSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQNSLRAEDTAVYYCAR-DGCK-----AVPGEDYWGQGITLVTVSS

图2E

种系 V=3-30+, D=D1-1, J=JH6
 22.1.1 QVQLVESGGGVQPGKSLRLSCAASGFTFSRYGMHVVROAPGKGLEWVAIVSDGNNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQNSLRAEDTAVYYCTRGT-GKTYHYHCGMDVWGQGITLVTVSS
 22.1.1H-C109A QVQLVESGGGVQPGKSLRLSCAASGFTFSRYGMHVVROAPGKGLEWVAIVSDGNNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQNSLRAEDTAVYYCTRGT-GKTYHYHCGMDVWGQGITLVTVSS
 Germ QVQLVESGGGVQPGKSLRLSCAASGFTFSRYGMHVVROAPGKGLEWVAIVSDGNNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQNSLRAEDTAVYYCAR-GTTG-TYTYHYHCGMDVWGQGITLVTVSS

图2F

种系 V=3-30+, D=D4-17, J=JH6
 23.5.1 QVQLVESGGGVQPGKSLRLSCAASGFTFSYGMHVVROAPGKGLEWVAIVSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQNSLRAEDTAVYYCAR--DYGDYHYHCGMDVWGQGITLVTVSS
 Germ QVQLVESGGGVQPGKSLRLSCAASGFTFSYGMHVVROAPGKGLEWVAIVSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQNSLRAEDTAVYYCAR--DYGDYHYHCGMDVWGQGITLVTVSS

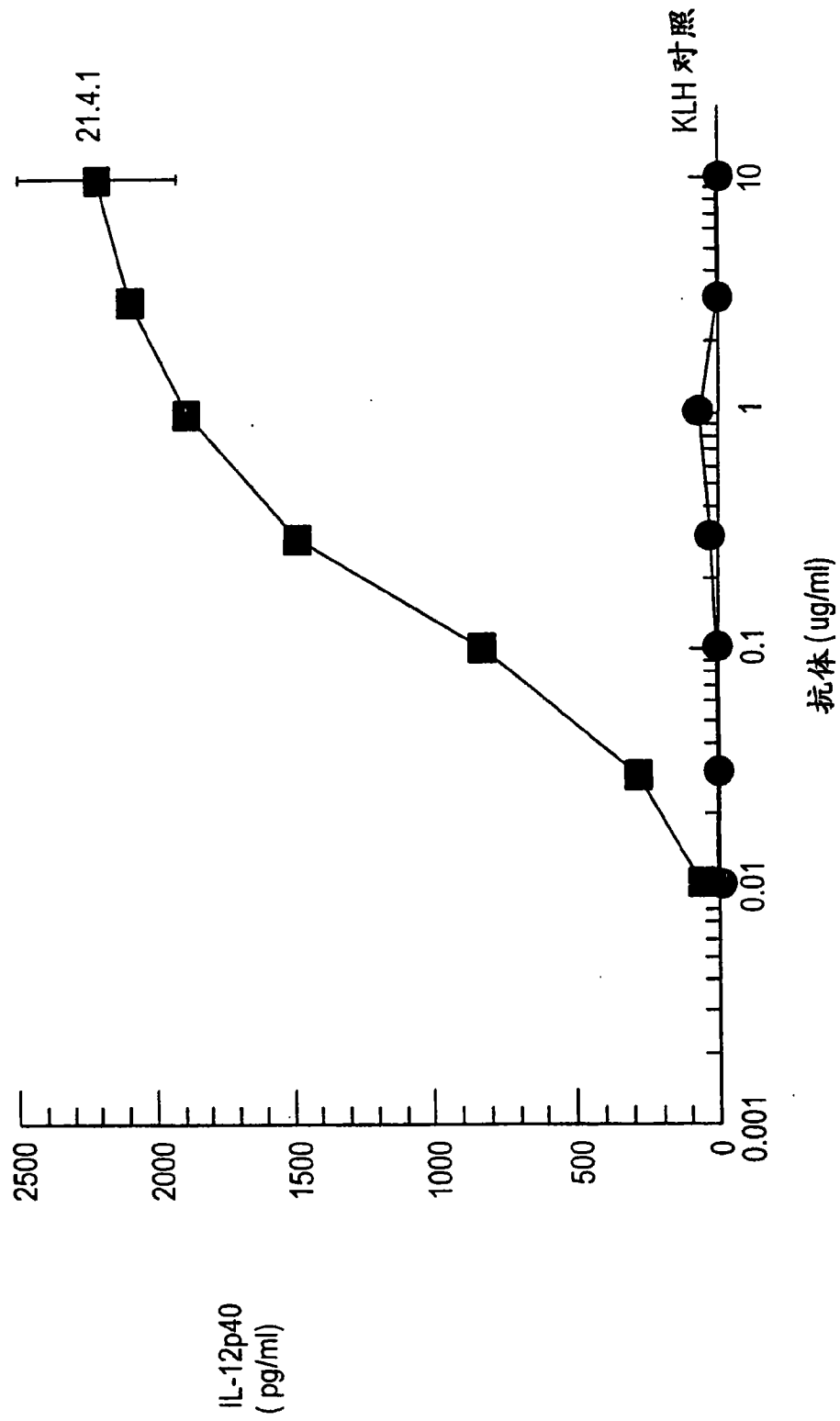
图2G

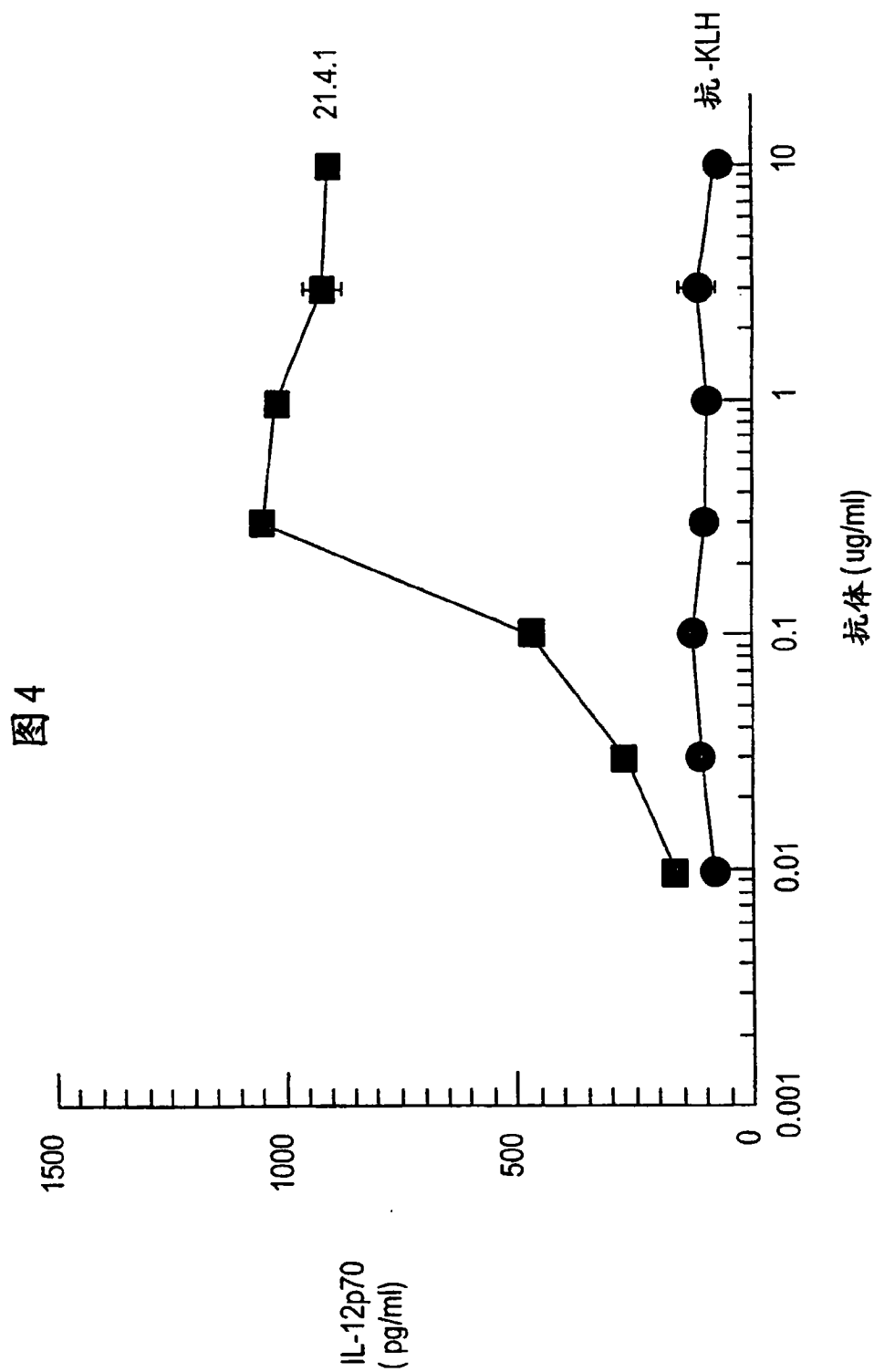
Figure 2G
 种系 V=3-30.3, D=D4-17, J=JH6
 23.29.1 QVQLVESGGGVQPGKSLRLSCAASGFTFSYGMHVVROAPGKGLEWVAIVSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQNSLRAEDTAVYYCAR--DYGDYHYHCGMDVWGQGITLVTVSS
 Germ QVQLVESGGGVQPGKSLRLSCAASGFTFSYGMHVVROAPGKGLEWVAIVSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQNSLRAEDTAVYYCAR--DYGDYHYHCGMDVWGQGITLVTVSS

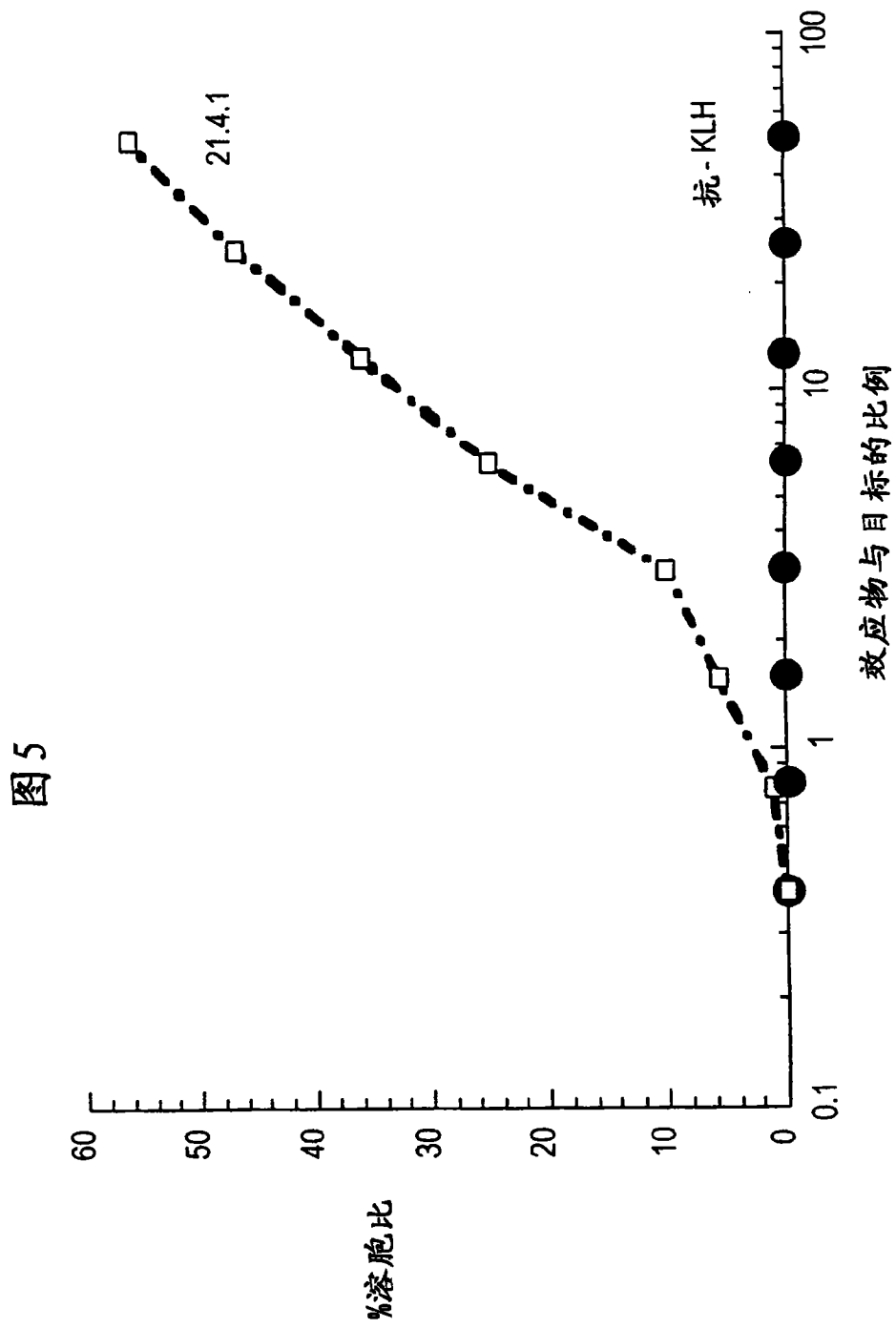
图2H

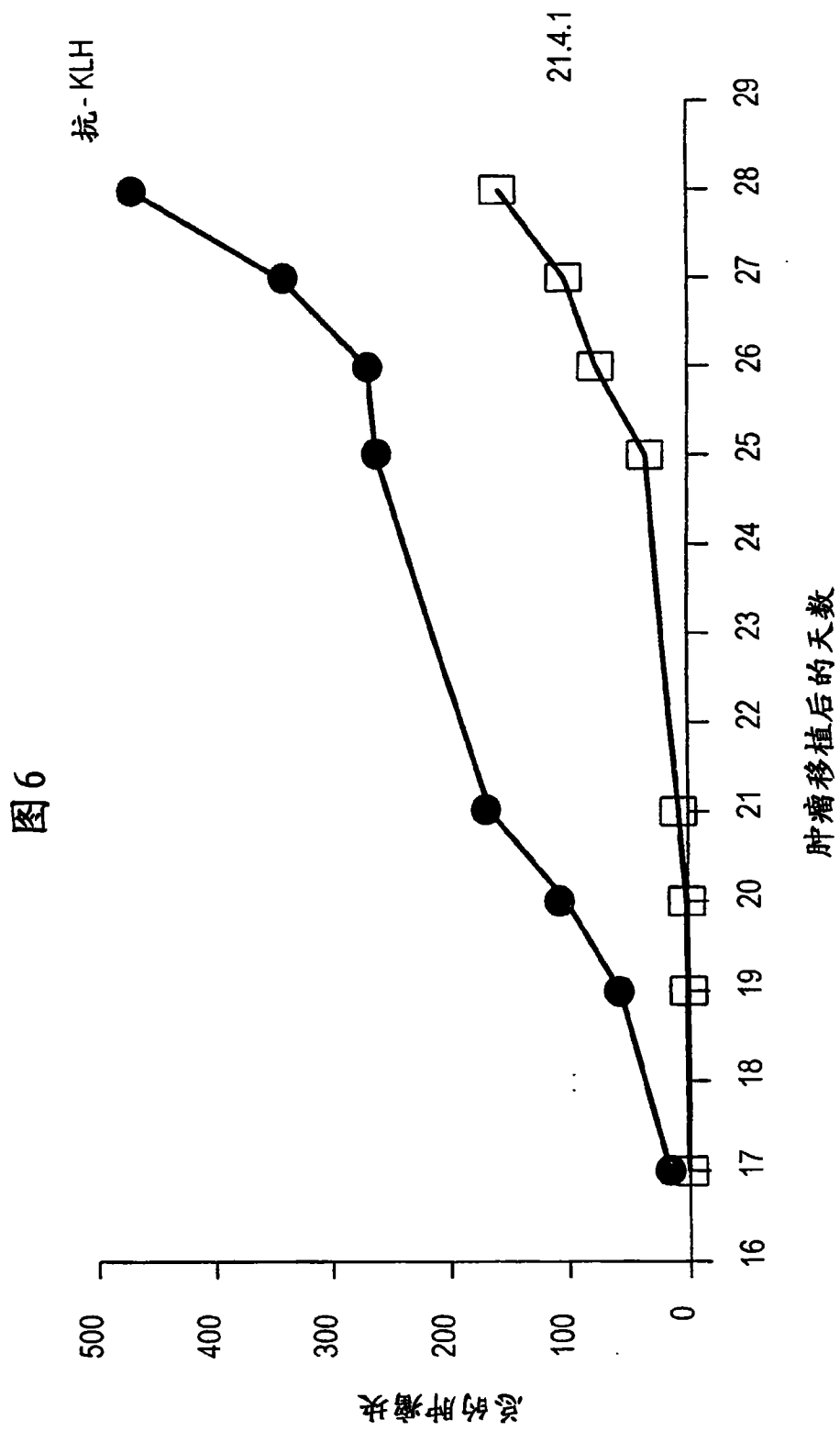
种系 V=4-16, D=DIR1+D4-17, J=JH5
 23.28.1 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGSINGYWSIRQPPGKGLEWIGIYISGNTNPNPSLKSRTVTSVDTSKNQPSLKNSTAAATAVYYCARKGGLYGDYGNFAPMGQGITLVTVSS
 23.28.1H-D16E QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGSINGYWSIRQPPGKGLEWIGIYISGNTNPNPSLKSRTVTSVDTSKNQPSLKNSTAAATAVYYCARKGGLYGDYGNFAPMGQGITLVTVSS
 24.2.1 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGSINGYWSIRQPPGKGLEWIGIYISGNTNPNPSLKSRTVTSVDTSKNQPSLKNSTAAATAVYYCARKGGLYGDYGNFAPMGQGITLVTVSS
 Germ QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGSINGYWSIRQPPGKGLEWIGIYISGNTNPNPSLKSRTVTSVDTSKNQPSLKNSTAAATAVYYCAR DYGDYHNFDPMGQGITLVTVSS

图 3









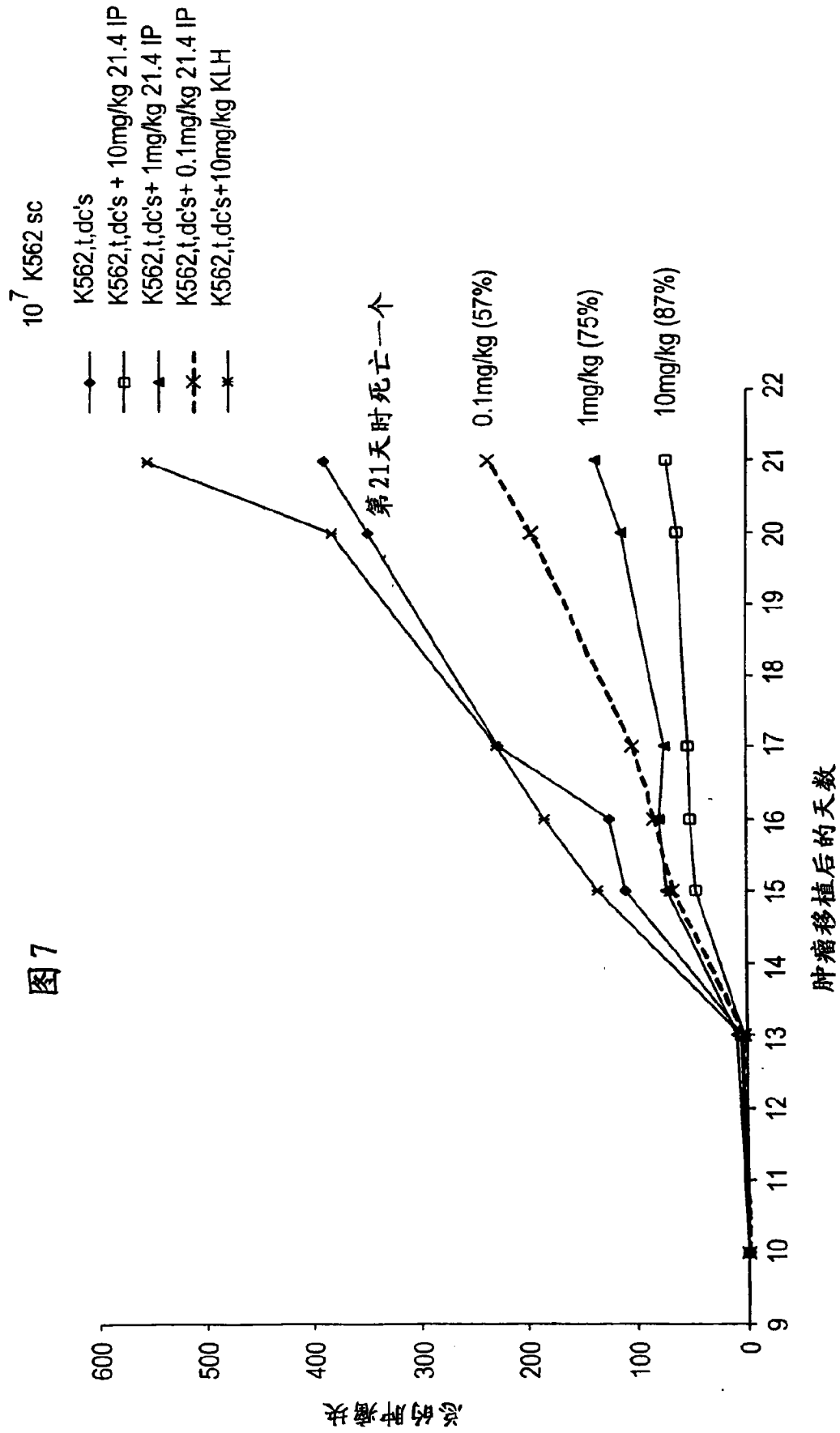


图 8

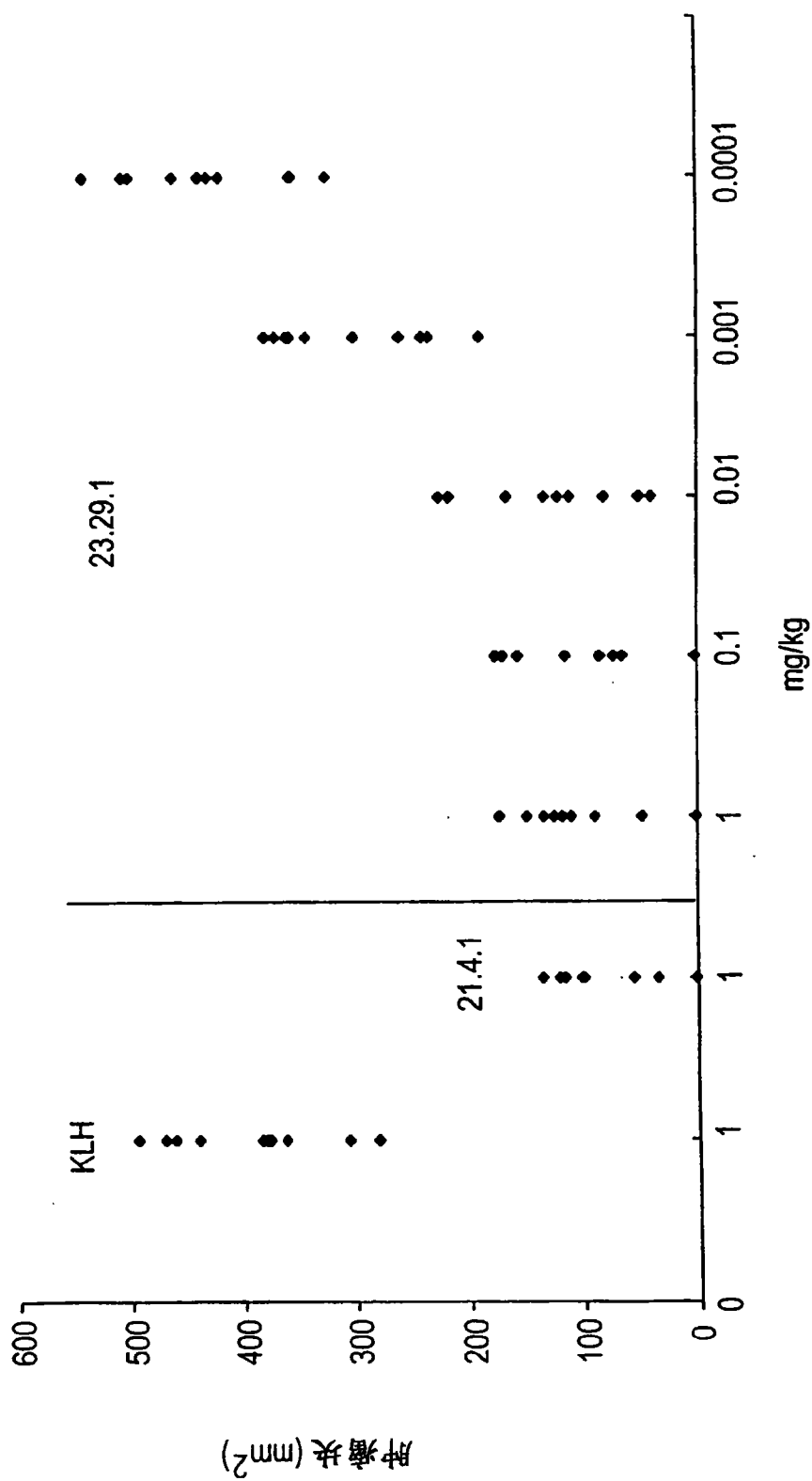


图9

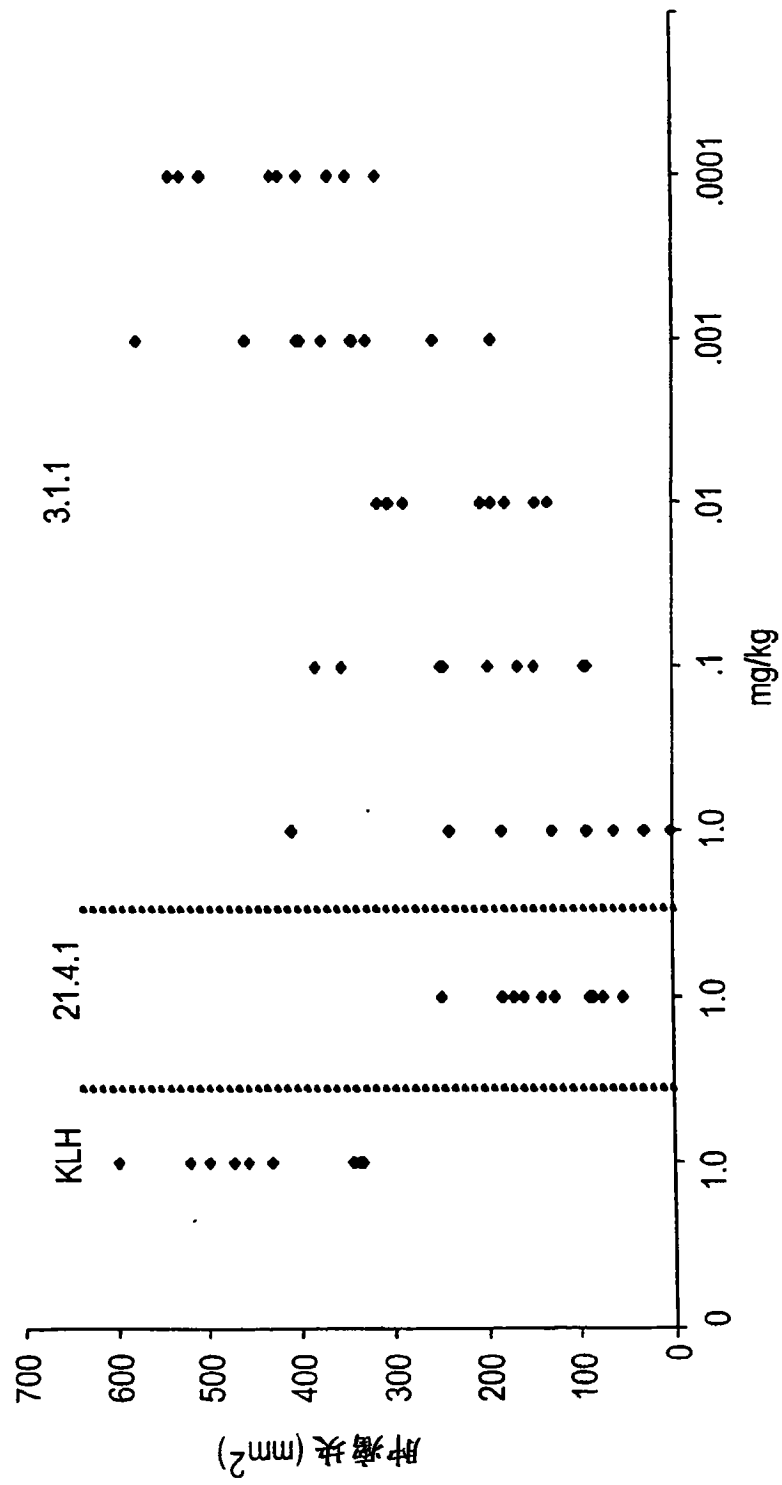


图10

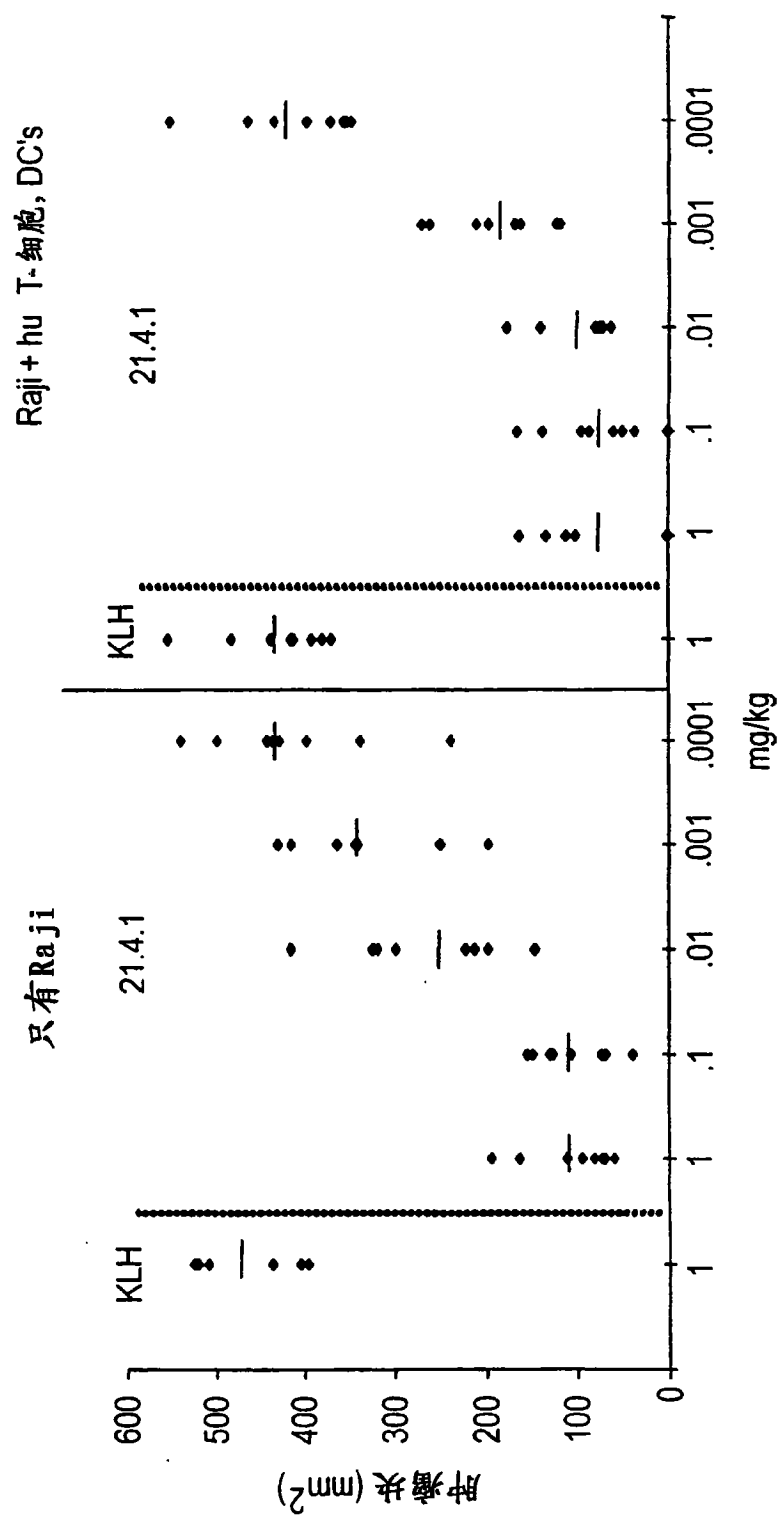


图11

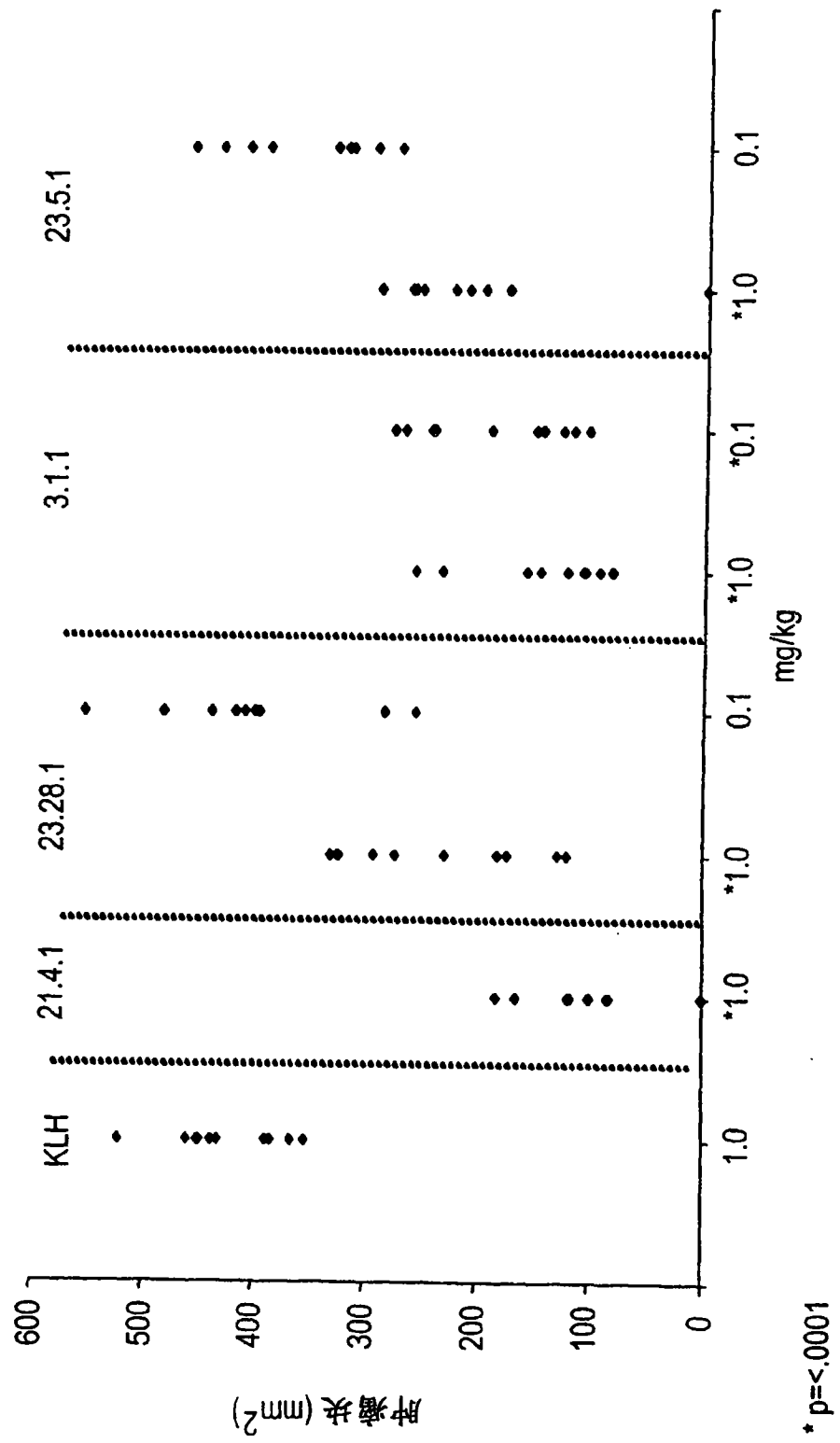


图12

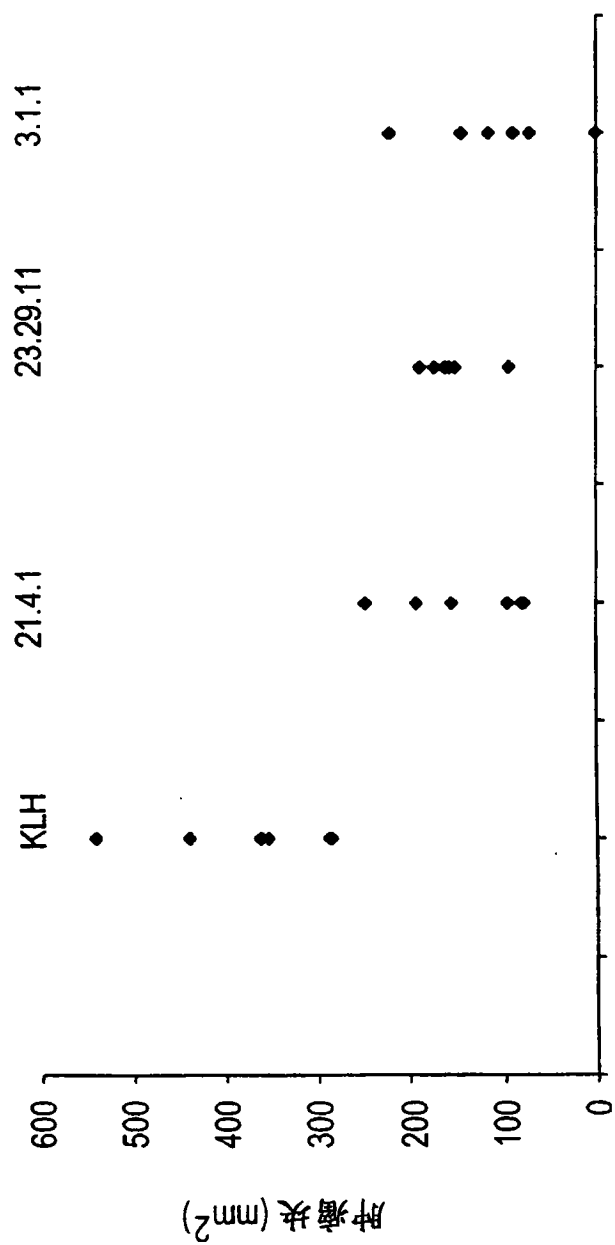


图13

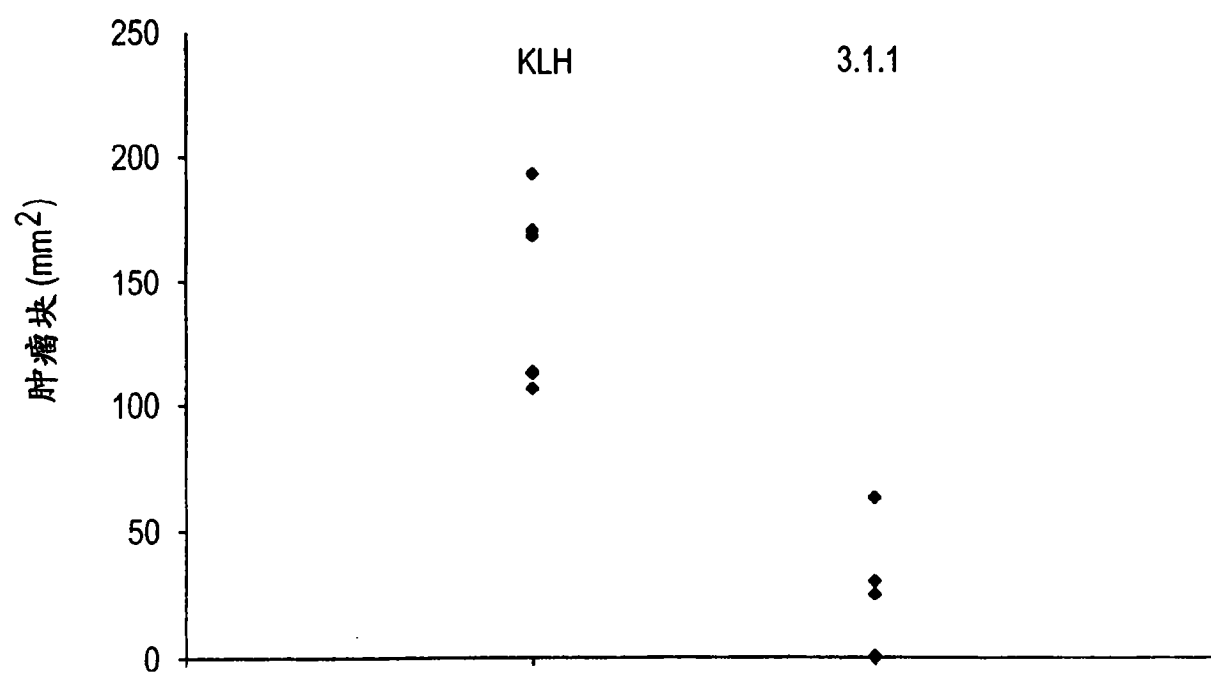


图14

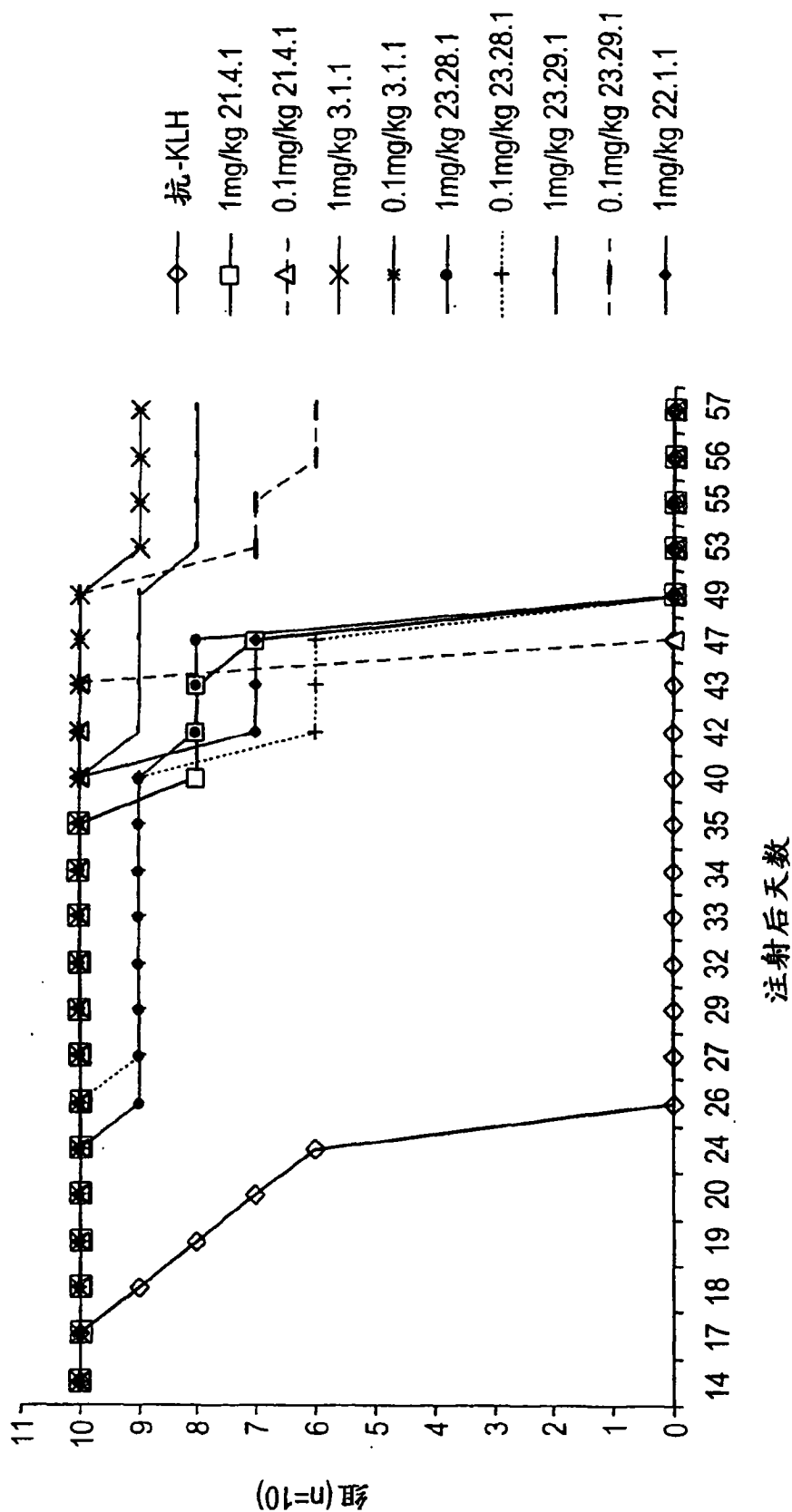


图15

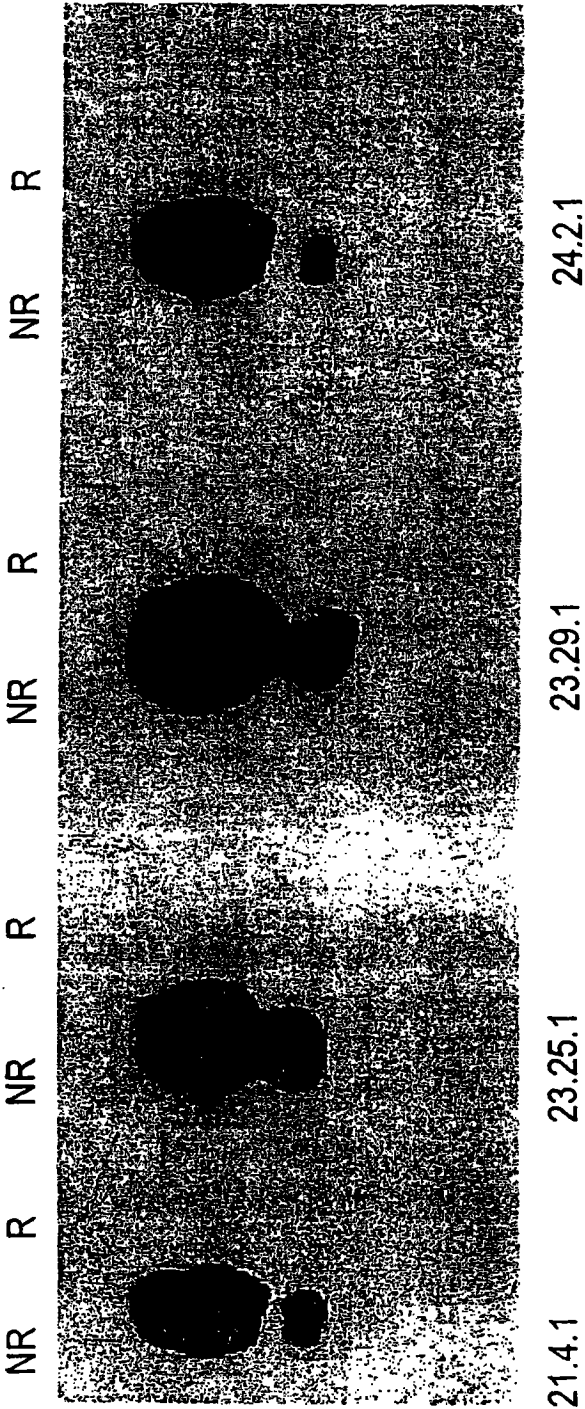


图16

D1

小鼠 VTCSDKQYLHDGQCCDLCQPGSRLTSHCTALEKTQCH
人类 TACREKQYLINSQCCSLCQPGQKLVSDCTEFTETECIL

D2

小鼠 PCDSGEFSAQWNREIRCHQHRHCEPNQGLRVKKEGTAESDTVCT
人类 PCGESEFLDTWNRETHCHQHKYCDPNLGLRVQQKGTSETDTICT

D3

小鼠 CKEGQHCTSKDCEACAQHTPCI PGFGVMEMATETTDTVCHP
人类 CEEGWHCTSEACESCVLHRSCSPGFGVKQIATGVSDTICEP

D4

小鼠 CPVGFFSNQSSLFEKCYPWTSCEDNLEVLQKGTSTNVICG
人类 CPVGFFSNVSSAFEKCHPWTSCETKDLVVQQAGTNKTDVVCG

图17

小鼠 MVSLPRLCALWGCLLTAVHLGQCVCSDKQYLHDGQCCDLCQPGSRLTSH
 人类 MVRPLQCVLWGCLLTAVHPEPTACREKQYLINSQCCSLCQPGQKLVSD

小鼠 ALEKTQCHPCDSGE|FSAQWNREIRCHQHRHCEPNQGLRVKKEGT|AESD
 人类 EFTETECCLPCGESE|FLDTWNRETHCHQHKKYCDPNLGLRVQKGT|SETD

EcoRI**BanI**

小鼠 TVCTCKEGQHCTSKDCEACAQHTPCIPGFGVMEMATETTDTVCHPCPHHHH
 人类 TICTCEEGWHCTSEACESCVLHRSCSPGFGVKQIATGVSDTICEPCPHHHH

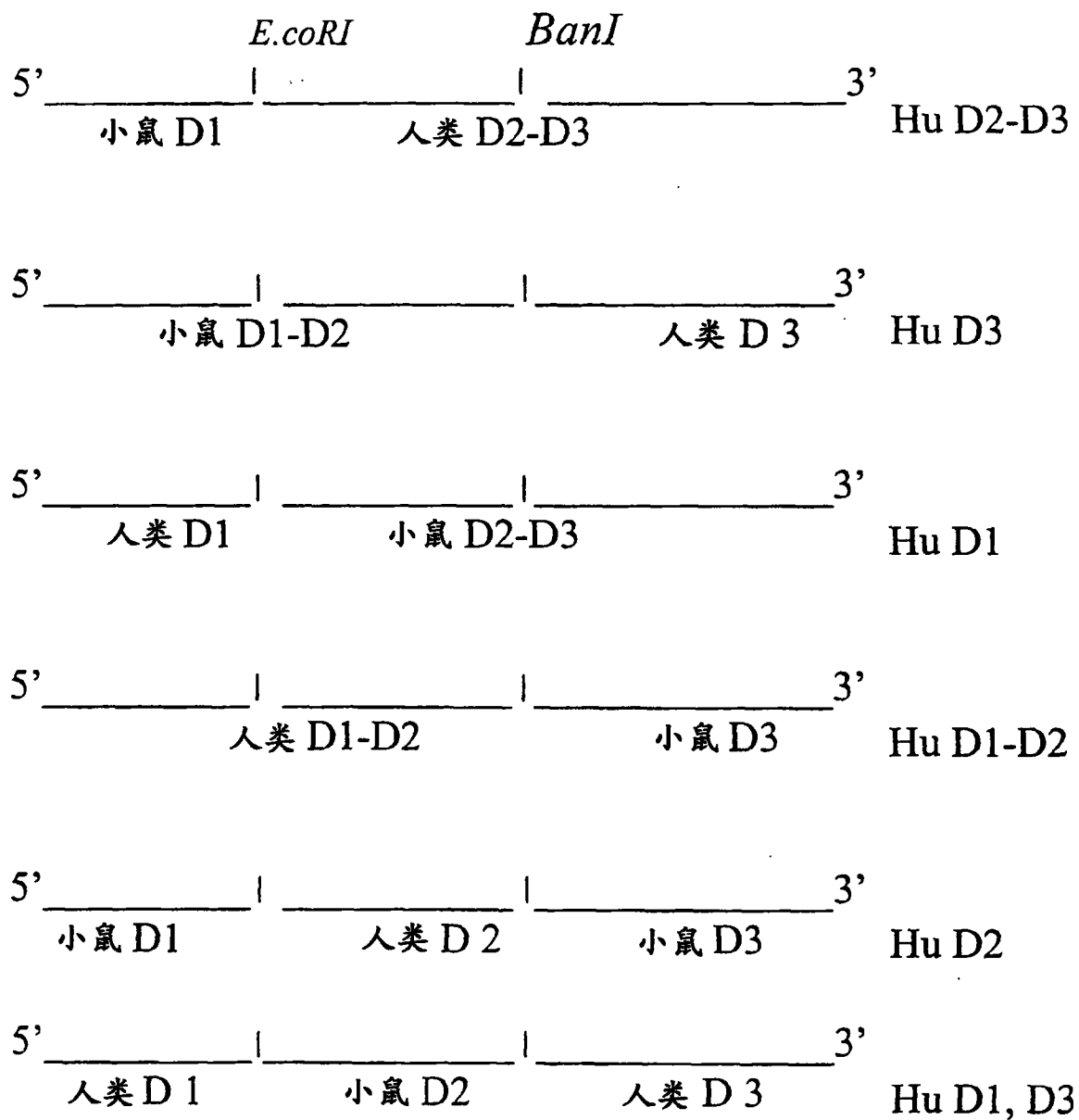


图 18