



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108431044 A

(43)申请公布日 2018.08.21

(21)申请号 201680059997.5

(74)专利代理机构 北京市铸成律师事务所

(22)申请日 2016.05.27

11313

代理人 郝名悦 张波

(30)优先权数据

62/241,007 2015.10.13 US

14/974,561 2015.12.18 US

(51)Int.Cl.

C07K 16/44(2006.01)

C07K 14/47(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.04.13

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/034880 2016.05.27

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/065837 EN 2017.04.20

(71)申请人 SIWA有限公司

地址 美国伊利诺伊州

(72)发明人 刘易斯·S·格鲁伯

权利要求书3页 说明书30页

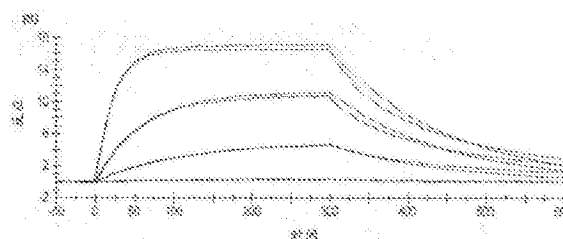
序列表37页 附图1页

(54)发明名称

抗AGE抗体及其使用方法

(57)摘要

本发明提供了一种抗AGE抗体,所述抗体包含蛋白质或肽,所述蛋白质或肽包含至少一个与特定氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列。所述抗AGE抗体结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽。所述抗AGE抗体可用于杀死衰老细胞、杀死部分功能或无功能的细胞、治疗肌肉减少症、促进组织或器官再生、促进再生过程或克服衰老效应、治疗动脉粥样硬化、预防或延迟白内障的发作、预防或延迟脂肪组织的损失的发作、增加健康寿命、预防或延迟脊椎弯曲的发作、治疗炎症或自身免疫性疾病、治疗神经退行性疾病或治疗癌症。



1. 一种抗AGE抗体,所述抗体包含蛋白质或肽,所述蛋白质或肽包含至少一个与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37以及SEQ ID NO:39,

其中所述抗体结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽。

2. 一种抗AGE抗体,所述抗体包含蛋白质或肽,所述蛋白质或肽包含至少一个与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27以及SEQ ID NO:28,

其中所述抗体结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽。

3. 一种抗AGE抗体,所述抗体包含
重链,以及
轻链,

其中所述重链包含与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31以及SEQ ID NO:33,或

所述轻链包含与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37以及SEQ ID NO:39;并且

所述抗体结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽。

4. 一种抗AGE抗体,所述抗体包含
重链,以及
轻链,

其中所述重链包含与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31以及SEQ ID NO:33,并且

所述轻链包含与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37以及SEQ ID NO:39;并且

所述抗体结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽。

5. 一种抗AGE抗体,所述抗体包含互补决定区,所述互补决定区包含至少一个与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27以及SEQ ID NO:28,

其中所述抗体结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽,并且

所述抗体对选自由以下各项组成的组的物种基本上无免疫原性:小鼠、大鼠、山羊、绵羊、牛、马、狗以及猫。

6. 一种抗体缀合物,所述抗体缀合物包含:

抗AGE抗体片段,所述抗AGE抗体片段包含蛋白质或肽,所述蛋白质或肽包含至少一个与选自以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37以及SEQ ID NO:39,以及

与所述抗AGE抗体片段缀合的药剂,所述药剂引起AGE修饰的细胞的破坏,

其中所述抗AGE抗体片段结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽。

7.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其用于杀死衰老细胞。

8.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其用于杀死部分功能或无功能的细胞。

9.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其用于通过杀死部分功能或无功能的细胞来治疗受试者的肌肉减少症。

10.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其用于通过杀死部分功能或无功能的细胞来促进受试者的组织或器官再生。

11.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其用于通过杀死部分功能或无功能的细胞来在受试者中促进再生过程或克服老化效应。

12.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其用于通过杀死部分功能或无功能的细胞来治疗受试者的动脉粥样硬化。

13.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其用于预防或延迟受试者的白内障的发作。

14.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其用于预防或延迟受试者的脂肪组织的损失的发作。

15.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其用于预防或延迟受试者的脊椎弯曲的发作。

16.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其用于治疗受试者的炎症或自身免疫性疾病。

17.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其用于治疗受试者的神经退行性疾病。

18.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其用于治疗受试者的癌症。

19.一种如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体的用途,所述抗体用于制造用于杀死衰老细胞的药物。

20.一种如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体的用途,所述抗体用于制造用于治疗肌肉减少症的药物。

21.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其中所述受试者患有选自以下各项组成的组的神经退行性疾病:AD、PD、路易体痴呆、MS、朊病毒病以及ALS。

22.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其中所述治疗包括向所述受试者的中枢神经系统施用所述抗AGE抗体。

23.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其中所述受试者患有ALS或MD,并且所述治疗包括向所述受试者的肌肉施用所述抗AGE抗体。

24.如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体,其中所述抗体对选自以下各项组成

的组的物种基本上无免疫原性：人、小鼠、大鼠、山羊、绵羊、牛、马、狗以及猫。

25. 如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体，其中所述抗体是人源化抗体。

26. 如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体，其中所述抗体是单克隆抗体。

27. 如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体，其中所述抗体对人基本上无免疫原性。

28. 如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体，其中所述抗体具有至多 $9 \times 10^{-3} \text{sec}^{-1}$ 的解离速率(kd)。

29. 如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体，其中所述抗体与引起AGE修饰的细胞破坏的药剂缀合。

30. 如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体，其中所述药剂是选自由以下各项组成的组：毒素、细胞毒性剂、磁性纳米颗粒以及磁性自旋涡旋盘。

31. 如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体，其中所述抗体包含恒定区，所述恒定区允许受试者的免疫系统破坏靶细胞。

32. 如前述权利要求中任一项所述的抗AGE抗体，其中所述抗体是双特异性抗体。

抗AGE抗体及其使用方法

[0001] 背景

[0002] 肌肉减少症是与衰老相关的肌肉质量、质量和强度的损失。在生命的第三个十年的某一时刻,人开始丧失肌肉质量和功能。肌肉质量的这种损失通常在75岁左右加速。肌肉减少症在身体活跃和身体不活跃的人群中发展。随着平均人寿命持续增长,肌肉减少症正成为重要的健康问题。由肌肉减少症所致的肌肉质量的损失可导致平衡不良、步速减慢和虚弱。患有肌肉减少症的个体更容易受伤和残疾,并且可能因此无法独立生活。肌肉减少症的传播将可能导致医疗保健和辅助生活费用的增加。

[0003] 肌肉减少症一直被认为是老化和随时间推移身体自然恶化的必然结果。肌肉减少症的主要治疗方法是运动。体育锻炼(特别是阻力训练或力量训练)可降低肌肉减少症的影响。已经研究或正在研究睾酮、合成代谢类固醇、生长素释放肽、维生素D、血管紧张素转化酶抑制剂(ACE抑制剂)、二十碳五烯酸(EPA)、肌肉生长抑制素、选择性雄激素受体调节剂(SARM)、尿皮素II(Ucn2)作为肌肉减少症的潜在治疗。尽管进行这项研究,但目前不存在美国食品与药品管理局(FDA)批准的用于治疗肌肉减少症的药剂。

[0004] 最近的研究已经鉴定了细胞衰老与年龄相关性病症(如肌肉减少症)之间的因果关系。明尼苏达州罗彻斯特(Rochester, Minnesota)的梅奥诊所(Mayo Clinic)的研究小组证明,可通过消除其脂肪和肌肉组织中的衰老细胞来延迟老化在小鼠中的影响而无明显副作用(Baker, D.J.等人., "Clearance of p16^{Ink4a}-positive senescent cells delays ageing-associated disorders", *Nature*, 第479卷, 第232-236页, (2011)). 显示在转基因小鼠中消除衰老细胞显著延迟肌肉减少症和白内障的发作,并且减少骨骼肌和眼睛中的衰老指示物。所述研究确立转基因小鼠的用于除去衰老细胞的终生治疗和晚期治疗没有不利副作用,并选择性地延迟依赖于细胞的年龄相关性表型(同上,第234页,第2栏,第16行至第235页,第1栏,第2行)。作者推论,除去衰老细胞可代表用于治疗或延迟人的年龄相关性疾病并改善健康人寿命的途径(同上,第235页,第2栏,第38-51行)。

[0005] 衰老细胞是部分功能或无功能的细胞并且处于不可逆的增殖停滞状态。衰老是细胞的独特状态,并且与生物标志物相关,如生物标志物p16^{Ink4a}的活化和β-半乳糖苷酶的表达。

[0006] 高级糖化终产物(AGE;也称为AGE修饰的蛋白或糖化终产物)来自老化细胞中糖与蛋白质侧链的非酶促反应(Ando, K.等人, *Membrane Proteins of Human Erythrocytes Are Modified by Advanced Glycation End Products during Aging in the Circulation*, *Biochem Biophys Res Commun.*, 第258, 123, 125卷(1999))。此过程以还原糖与氨基之间的可逆反应以形成席夫碱开始,其继续以形成共价键合的阿马多里重排产物。一旦形成,阿马多里产物经历进一步重排以产生AGE。由糖尿病(DM)引起的高血糖和氧化应激促进膜蛋白的这种翻译后修饰(Lindsey JB, 等人, "Receptor For Advanced Glycation End-Products (RAGE) and soluble RAGE (sRAGE): Cardiovascular Implications," *Diabetes Vascular Disease Research*, 第6(1)卷, 7-14, (2009))。AGE一直与若干病理病状相关,所述病理病状包括糖尿病并发症、炎症、视网膜病变、肾病、动脉粥样硬化、中风、内

皮细胞功能障碍以及神经退行性病症 (Bierhaus A, “AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept,” *Cardiovasc Res*, 第37 (3) 卷, 586-600 (1998))。

[0007] AGE修饰的蛋白也是衰老细胞的标志物。糖化终产物与衰老之间的这种关联是本领域中众所周知的。参见例如, Gruber, L. (WO 2009/143411, 2009年11月26日); Ando, K. 等人 (Membrane Proteins of Human Erythrocytes Are Modified by Advanced Glycation End Products during Aging in the Circulation, *Biochem Biophys Res Commun.*, 第258卷, 123, 125 (1999)); Ahmed, E.K. 等人 (“Protein Modification and Replicative Senescence of WI-38 Human Embryonic Fibroblasts” *Aging Cells*, 第9卷, 252, 260 (2010)); Vlassara, H. 等人 (Advanced Glycosylation Endproducts on Erythrocyte Cell Surface Induce Receptor-Mediated Phagocytosis by Macrophages, *J. Exp. Med.*, 第166卷, 539, 545 (1987)); 以及 Vlassara 等人 (“High-affinity-receptor-mediated Uptake and Degradation of Glucose-modified Proteins: A Potential Mechanism for the Removal of Senescent Macromolecules” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 第82卷, 5588, 5591 (1985))。此外, Ahmed, E.K. 等人表明糖化终产物是“对细胞和细胞外蛋白质的自发损伤的主要原因之一” (Ahmed, E.K. 等人, 参见上文, 第353页)。因此, 糖化终产物的累积与衰老和功能缺失相关。

[0008] 除了肌肉减少症和年龄相关性病症之外, 细胞衰老和AGE的累积还牵涉于许多疾病和病症中。中枢神经系统中的细胞如神经胶质细胞、星形胶质细胞和小神经胶质细胞的衰老一直与神经退行性病症相关。衰老星形胶质细胞的异常累积一直与阿尔茨海默病 (AD) 相关 (Bhat, R. 等人, “Astrocyte Senescence as a Component of Alzheimer’s Disease”, *PLOS ONE*, 第7 (9) 卷, e45069, 第1-10页 (2012年9月))。与正常老化相关的小神经胶质细胞衰老因指示AD的淀粉样蛋白斑的存在而加剧 (Flanary, B.E. 等人, “Evidence That Aging And Amyloid Promote Microglial Cell Senescence”, *Rejuvenation Research*, 第10 (1) 卷, 第61-74页 (2007年3月))。AD中具有星形胶质细胞和小神经胶质细胞的AGE的存在是衰老细胞存在的进一步证据 (Takeda, A., 等人 “Advanced glycation end products co-localize with astrocytes and microglial cells in Alzheimer’s disease brain”, *Acta Neuropathologica*, 第95卷, 第555-558页 (1998))。基于最近报道的发现, Chinta 等人提出与帕金森病 (PD) 相关的环境压力因素可部分通过引发非神经元胶质细胞内的衰老而起作用, 从而导致在这种病症中发生的神经元完整性的特征性下降 (Chinta, S.J. 等人 “Environmental stress, ageing and glial cell senescence: a novel mechanistic link to Parkinson’s disease?”, *J Intern Med*, 第273卷, 第429-436页 (2013))。星形胶质细胞衰老也与PD相关 (M. Mori, “The Parkinsonian Brain: Cellular Senescence and Neurodegeneration”, SAGE (2015年6月30日) (sage.buckinstitute.org/the-parkinsonian-brain-cellular-senescence-and-neurodegeneration/)。在过量表达突变型超氧化物歧化酶-1 (m-SOD1) 的家族性肌萎缩性侧索硬化 (ALS) 的啮齿动物模型中, 获得衰老表型的星形胶质细胞的速率加快 (Das, M.M. 和 Svendsen, C.N., “Astrocytes show reduced support of motor neurons with aging that is accelerated in a rodent model of ALS”, *Neurobiology of Aging*, 第36卷, 第

1130-1139页(2015))。即使在多发性硬化(MS)中,小神经胶质细胞和巨噬细胞也转向强烈促炎症表型,使人想起SASP,并且可通过释放促炎细胞因子和分子而加强神经元损伤(Luessi,F.,等人“Neurodegeneration in multiple sclerosis:novel treatment strategies”Expert Rev.Neurother.,第9卷,第1061-1077页(2012))。

[0009] 一些神经退行性病症与中枢神经系统外部的异常细胞衰老相关。存在于ALS患者的肌肉组织中的大多数卫星细胞(也称为肌卫星细胞)表现出异常的衰老样形态,但是它们可能能够在体外增殖(Pradat,P.-F.等人,“Abnormalities of satellite cells function in amyotrophic lateral sclerosis”Amyotrophic Lateral Sclerosis,第12卷,第264-271页(2011))。卫星细胞是在成熟肌肉中发现的小多能细胞,其能够产生额外的卫星细胞,或分化为成肌细胞以及提供额外的肌核。在杜氏肌营养不良症(MD)的动物模型中,观察到成肌细胞的增殖能力降低和过早衰老(Wright,W.E.,“Myoblast Senescence in Muscular Dystrophy”Exp Cell Res,第157卷,第343-354页(1985))。成肌细胞是分化成肌细胞(也称为肌肉细胞)的前体细胞。

[0010] 神经退行性病症也与异常蛋白质累积相关(King,O.D.,等人,“The tip of the iceberg:RNA-binding proteins with prion-like domains in neurodegenerative disease”Brain Res.第1462卷,第61-80页(2012))。PD和路易体痴呆的特征是在神经细胞内部形成的路易体的形成。路易体的主要结构组分是呈原纤维形式的 α -突触核蛋白。缠结和斑块的存在是AD的特征,其存在用于明确诊断所述病状。由 β -淀粉样蛋白(也称为淀粉样蛋白 β 、A β 或Abeta)组成的斑块在神经细胞之间累积。由tau蛋白组成的缠结在细胞内形成扭曲的纤维。朊病毒疾病(也称为传染性海绵状脑病(TSE))包括各种人和动物病症,如克罗伊茨费尔特-雅各布病、变异型克罗伊茨费尔特-雅各布病、牛海绵状脑病(“疯牛”病)、瘙痒症(绵羊和山羊中)、慢性消耗性疾病(鹿和麋鹿中)、库鲁病以及致死性家族性失眠症。朊病毒蛋白是错误折叠的蛋白质分子,其可通过传递错误折叠的蛋白质状态而繁殖,从而导致错误折叠蛋白质的累积并引起组织损伤和细胞死亡(Dobson,D.M.,“The structural basis of protein folding and its links with human disease”Phil.Trans.R.Soc.Lond.B,第356卷,第133-145页(2001))。在这些疾病中,据信蛋白质是错误折叠或形成异常聚集体的正常蛋白质。在一些患有家族性ALS患者的情况下,突变的超氧化物歧化酶-1(SOD1)形成内含物并累积(Kato,S.,等人“Advanced glycation endproduct-modified superoxide dismutase-1(SOD1)-positive inclusions are common to familial amyotrophic lateral sclerosis patients with SOD1 gene mutations and transgenic mice expressing human SOD1 with a G85R mutation”Acta Neuropathol,第100卷,第490-505页(2000))。

[0011] 衰老细胞还已知促进癌细胞的生长。衰老细胞与参与细胞间信号传导的许多因子(包括促炎因子)的分泌相关;这些因子的分泌被称为衰老相关分泌表型,或SASP。一项研究表明,衰老的间充质干细胞通过分泌IL-6促进乳腺癌细胞的增殖和迁移(Di,G-h.等人IL-6 Secreted from Senescent Mesenchymal Stem Cells Promotes Proliferation and migration of Breast Cancer Cells,PLoS One,第9卷,11,e113572(2014))。另一项研究表明,衰老的人成纤维细胞通过分泌基质金属蛋白酶而增加肿瘤的生长(Liu,D.等人 Senescent Human Fibroblasts Increase the Early Growth of Xenograft Tumors via

Matrix Metalloproteinase Secretion, Cancer Res, 第67卷, 3117-3126 (2007))。

[0012] 概述

[0013] 在第一方面, 本发明是一种抗AGE抗体, 所述抗体包含蛋白质或肽, 所述蛋白质或肽包含至少一个与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37以及SEQ ID NO:39。所述抗体结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽。

[0014] 在第二方面, 本发明是一种抗AGE抗体, 所述抗体包含蛋白质或肽, 所述蛋白质或肽包含至少一个与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27以及SEQ ID NO:28, 所述抗体结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽。

[0015] 在第三方面, 本发明是一种抗AGE抗体, 所述抗体包含重链和轻链。所述重链包含与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31以及SEQ ID NO:33, 或所述轻链包含与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37以及SEQ ID NO:39。所述抗体结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽。

[0016] 在第四方面, 本发明是一种抗AGE抗体, 所述抗体包含重链和轻链。所述重链包含与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31以及SEQ ID NO:33, 并且所述轻链包含与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37以及SEQ ID NO:39。所述抗体结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽。

[0017] 在第五方面, 本发明是一种抗AGE抗体, 所述抗体包含互补决定区, 所述互补决定区包含至少一个与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27以及SEQ ID NO:28。所述抗体结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽。所述抗体对选自由以下各项组成的组的物种基本上无免疫原性: 小鼠、大鼠、山羊、绵羊、牛、马、狗以及猫。

[0018] 在第六方面, 本发明是一种抗体缀合物, 所述抗体缀合物包含抗AGE抗体片段, 所述抗体片段包含蛋白质或肽, 所述蛋白质或肽包含至少一个与选自由以下各项组成的组的氨基酸序列具有至少90%序列同一性、优选至少95%序列同一性、更优选至少98%序列同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37以及SEQ ID NO:39, 以及引起AGE修饰的细胞破坏的药剂。所述引起AGE修饰的细胞破坏的药剂与所述抗AGE抗体片段

缀合。所述抗体结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽。

[0019] 定义

[0020] 术语“肽”是指由2-50个氨基酸组成的分子。

[0021] 术语“蛋白质”是指由超过50个氨基酸组成的分子。

[0022] 术语“肌肉减少症”是指以(1)低肌肉质量和(2)低肌肉功能(低肌肉强度或降低的体能)为特征的综合征。肌肉质量可以通过以下各项来测量:身体成像技术,如计算机断层摄影扫描(CT扫描)、磁共振成像(MRI)或双能X-射线吸光测定法(DXA或DEXA);生物阻抗分析(BIA);身体钾测量,如体内钾总量(TBK)或体内部分钾量(PBK);或人体测量学测量,如中上臂围、皮褶厚度或小腿围。优选地,肌肉质量是通过CT扫描、MRI或DXA来测量。肌肉强度可通过握力强度、膝屈曲/伸展或呼气流量峰值来测量。优选地,肌肉强度是通过握力强度来测量。体能可通过简易体能状况量表、步速测量、起立—行走计时测(TGUG)或楼梯爬升功率测试来测量。优选地,体能是通过步速测量来测量。如果(1)受试者至少25岁并且(2)他或她的测量的肌肉质量和测量的肌肉功能低于相同性别的健康25岁的平均值两个标准偏差或更多并且尚未鉴定替代病理学来说明肌肉质量减少和肌肉功能下降的原因,则可将受试者鉴定为患有肌肉减少症或需要治疗。优选地,正针对肌肉减少症进行治疗的受试者是至少40岁。更优选地,正针对肌肉减少症进行治疗的受试者是至少50岁。最优选地,正针对肌肉减少症进行治疗的受试者是至少60岁。或者,如果(1)他或她的步速在4m路程中小于1.0m/s,并且(2)他或她具有客观测量的低肌肉质量,例如像相对于高度的平方对于男性受试者小于或等于 7.23kg/m^2 或对于女性受试者小于或等于 5.67kg/m^2 的附肢质量,则可将受试者鉴定为患有肌肉减少症或需要治疗(Fielding, R.A., 等人., “Sarcopenia: an undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: prevalence, etiology, and consequences”, Journal of the American Medical Directors Association, 第12(4)卷, 第249-256页(2011年5月))。

[0023] 术语“神经退行性病症”是指导致在包括脑的中枢神经系统中神经元丧失功能和/或死亡的病症。此类病症包括中枢神经系统神经退行性病症,如AD、PD、路易体痴呆、MS、朊病毒疾病(也称为传染性海绵状脑病(TSE),包括克罗伊茨费尔特-雅各布病(Creutzfeldt-Jakob disease)、变异型克罗伊茨费尔特-雅各布病、牛海绵状脑病(“疯牛”病)、瘙痒症(绵羊和山羊中)、慢性消耗性疾病(鹿和麋鹿中)、库鲁病和致死性家族性失眠症)以及ALS。

[0024] “神经变性蛋白质”是在患有神经退行性病症的患者中累积并与神经退行性病症相关的蛋白质。实例包括 β -淀粉样蛋白斑块(与AD相关)、tau蛋白缠结(与AD相关)、突变的超氧化物歧化酶-1(与ALS相关)、朊病毒蛋白质聚集体(与TSE相关)以及 α -突触核蛋白原纤维(与PD和路易体痴呆相关)。“神经变性蛋白质”是在神经退行性病症期间累积的蛋白质形式,通常是突变或错误折叠形式。

[0025] 术语“高级糖化终产物”、“AGE”、“AGE修饰的蛋白或肽”、“糖化终产物”以及“AGE抗原”是指作为糖与进一步重排并形成不可逆的交联的蛋白质侧链的反应的结果而形成的修饰的蛋白质或肽。此过程以还原糖与氨基之间的可逆反应以形成席夫碱开始,其继续以形成共价键合的阿马多里重排产物。一旦形成,阿马多里产物经历进一步重排以产生AGE。AGE修饰的蛋白和针对AGE修饰的蛋白的抗体在Bucala (“Bucala”) 的U.S. 5,702,704和Al-Abed 等人(“Al-Abed”) 的U.S. 6,380,165中进行了描述。未经历必需重排以形成AGE的糖化蛋白

质或肽(如在糖化白蛋白上发现的N-脱氧果糖基赖氨酸)不是AGE。AGE可通过AGE修饰(也称为AGE表位或AGE部分),如2-(2-呋喃甲酰基)-4(5)-(2-呋喃基)-1H-咪唑(“FFI”);5-羟甲基-1-烷基吡咯-2-甲醛(“吡咯素(Pyrraline)”);1-烷基-2-甲酰基-3,4-二糖基吡咯(“AFGP”)(一种非荧光模型AGE);羧甲基赖氨酸;以及戊糖素的存在来鉴定。ALI(另一种AGE)在A1-Abed中进行了描述。

[0026] “与细胞上的AGE修饰的蛋白结合的抗体”、“抗AGE抗体”或“AGE抗体”是指与AGE修饰的蛋白或肽结合的抗体、抗体片段或其他蛋白质或肽,所述AGE修饰的蛋白或肽优选包含抗体的恒定区,其中已被AGE修饰的蛋白或肽是通常发现的结合在细胞表面上的蛋白质或肽,所述细胞优选哺乳动物细胞,更优选人、猫、狗、马、骆驼科动物(例如骆驼或羊驼)、牛、绵羊或山羊细胞。“与细胞上的AGE修饰的蛋白质结合的抗体”、“抗AGE抗体”或“AGE抗体”不包括以相同的特异性和选择性结合至AGE修饰的蛋白质或肽的抗体或其他蛋白质,以及相同的未经AGE修饰的蛋白质或肽(即,AGE修饰的存在不会增加结合)。AGE修饰的白蛋白不是细胞上的AGE修饰的蛋白,因为白蛋白不是通常发现的结合在细胞表面上的蛋白质。“与细胞上的AGE修饰的蛋白结合的抗体”、“抗AGE抗体”或“AGE抗体”仅包括导致细胞除去、破坏或死亡的那些抗体。还包括例如与毒素、药物或其他化学品或颗粒缀合的抗体。优选地,所述抗体是单克隆抗体,但多克隆抗体也是可能的。

[0027] 术语“衰老细胞”是指处于不可逆的增殖停滞状态并表达一种或多种衰老生物标志物如p16^{Ink4a}的活化或衰老相关β-半乳糖苷酶表达的细胞。还包括表达一种或多种衰老生物标志物、不会在体内增殖、但可在某些条件下在体外增殖的细胞,如在ALS患者的肌肉中发现的一些卫星细胞。

[0028] 术语“增加健康寿命”是指减少年龄相关性表型。年龄相关性表型包括例如肌肉减少症、白内障、脂肪组织的损失以及脊椎弯曲。

[0029] 术语“变体”是指与具体鉴定的序列不同的核苷酸、蛋白质或氨基酸序列,其中一个或多个核苷酸、蛋白质或氨基酸残基被缺失、取代或添加。变体可以是天然存在的等位基因变体或非天然存在的变体。所鉴定序列的变体可保留所鉴定序列的一些或全部功能特征。

[0030] 术语“序列同一性百分比(%)”被定义为在比对序列并且必要时引入空位以实现最大序列同一性百分比,并且不考虑任何保守性取代作为序列同一性的一部分之后,候选序列中与参照多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于测定氨基酸序列同一性百分比的目的的比对可使用可公开获得的计算机软件,诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件以各种方式来实现。优选地,使用序列比较计算机程序ALIGN-2来产生序列同一性%值。ALIGN-2序列比较计算机程序可从Genentech, Inc. (South San Francisco, CA) 公开获得,或者可从源代码编译,所述源代码已经在美国版权局的用户文档中提交并且在美国版权登记号TXU510087下登记。ALIGN-2程序应被编译以在UNIX操作系统(包括数字UNIX V4.0D)上使用。所有序列比较参数都由ALIGN-2程序设置且不改变。

[0031] 在采用ALIGN-2用于氨基酸序列比较的情况下,给定氨基酸序列A与(to、with或against)给定氨基酸序列B的序列同一性%(可以可替代地被表述为给定氨基酸序列A具有或包括与(to、with或against)给定氨基酸序列B的某一%的氨基酸序列同一性)如下计算: $100 \times \text{分数} X/Y$,其中X是通过序列比对程序ALIGN-2在A与B的所述程序比对中被计分为相同

匹配的氨基酸残基的数目,并且其中Y是B中的氨基酸残基的总数目。在氨基酸序列A的长度不等于氨基酸序列B的长度的情况下,A与B的氨基酸序列同一性%将不等于B与A的氨基酸序列同一性%。除非另外具体地说明,否则在本文中使用的所有氨基酸序列同一性%值是使用ALIGN-2计算机程序获得。

[0032] 附图简述

[0033] 图1是抗体结合实验中反应对时间的图。

[0034] 详述

[0035] 细胞衰老与肌肉减少症之间的联系鉴定允许新的治疗可能性。例如,如果将抗AGE抗体施用至受试者,则所述抗体将特异性地且选择性地靶向衰老细胞,并杀死表达AGE修饰的蛋白或肽的此类细胞或诱导此类细胞中的细胞凋亡。

[0036] 本发明利用以下发现:表达AGE修饰的蛋白或肽的细胞(AGE修饰的细胞)的清除增强有益于治疗或改善肌肉减少症。这可通过向受试者施用抗AGE抗体来完成。

[0037] 向受试者施用抗AGE抗体也可用于增加健康寿命。健康寿命可通过减少年龄相关性表型而增加。例如,施用抗AGE抗体可用于例如预防或延迟白内障、脊椎弯曲或脂肪组织的损失的发作。

[0038] 与细胞衰老相关的其他疾病或病症也可用抗AGE抗体治疗或改善。例如,抗AGE抗体可治疗性地用于治疗神经退行性病症或癌症。

[0039] 与细胞上的AGE修饰的蛋白结合的抗体(“抗AGE抗体”或“AGE抗体”)是本领域中已知的。实例包括U.S.5,702,704(Bucala)和U.S.6,380,165(A1-Abed等人)中所描述的那些。实例包括结合至一种或多种具有AGE修饰的AGE修饰的蛋白的抗体,所述AGE修饰如FFI、吡咯素、AFGP、ALI、羧甲基赖氨酸、羧乙基赖氨酸和戊糖素;以及此类抗体的混合物。优选地,所述抗体结合羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质。优选地,所述抗体对将使用其的动物无免疫原性,如对人无免疫原性;伴侣动物,包括猫、狗和马;以及商业上重要的动物,如骆驼(或羊驼)、牛(牛)、绵羊和山羊。更优选地,所述抗体具有与动物的抗体相同的物种恒定区,以降低针对所述抗体的免疫应答,所述抗体如被人源化(针对人)、猫源化(针对猫)、犬源化(针对狗)、马源化(针对马)、骆驼源化(针对骆驼或羊驼)、牛源化(针对牛)、绵羊化(针对绵羊)或山羊化(针对山羊)。最优选地,所述抗体与将使用其的动物的抗体,如人抗体、猫抗体、狗抗体、马抗体、骆驼抗体、牛抗体、绵羊抗体或山羊抗体相同(除了可变区)。下文描述这些动物的抗体的恒定区和其他部分的细节。优选地,所述抗体是单克隆抗体。

[0040] 特别优选的抗AGE抗体是结合至显示羧甲基赖氨酸修饰的蛋白质或肽的抗体。羧甲基赖氨酸(也称为CML、N(ε)-(羧甲基)赖氨酸、N(6)-羧甲基赖氨酸或2-氨基-6-(羧甲基氨基)己酸)是作为氧化应激和化学糖化的结果在蛋白质或肽和脂质上发现的,并且一直与衰老相关。CML修饰的蛋白质或肽由在各种细胞上表达的受体RAGE识别。CML已被充分研究并且CML相关产品是可商购的。例如,Cell Biolabs公司销售CML-BSA抗原、CML多克隆抗体、CML免疫印迹试剂盒和CML竞争性ELISA试剂盒(www.cellbiolabs.com/cml-assays)。特别优选的抗体包括可商购的小鼠抗糖化终产物抗体的可变区,所述小鼠抗糖化终产物抗体针对与钥孔虫凝集素蛋白缀合的羧甲基赖氨酸产生,所述羧甲基赖氨酸MAb(克隆318003)可从R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN; 目录号MAB3247)获得;被修饰成具有人恒定区(或将其施用于其中的动物的恒定区)。可商购的抗体,如来自R&D Systems, Inc.的对应于目录

号MAB3247的羧甲基赖氨酸抗体可意图用于诊断目的,并且可含有不适合用于动物或人的材料。优选地,可商购的抗体在用于动物或人之前被纯化和/或分离以除去毒素或其他潜在有害物质。

[0041] 所述抗AGE抗体具有从抗体-抗原复合物的低解离速率或 k_d (也称为 $k_{反向}$ 或解离速率),优选至多 9×10^{-3} 、 8×10^{-3} 、 7×10^{-3} 或 6×10^{-3} (sec^{-1})。所述抗AGE抗体对细胞的AGE修饰的蛋白具有高亲和力,其可表示为至多 9×10^{-6} 、 8×10^{-6} 、 7×10^{-6} 、 6×10^{-6} 、 5×10^{-6} 、 4×10^{-6} 或 3×10^{-6} (M)的低解离常数 K_D 。优选地,所述抗AGE抗体的结合性质与图1中所示的可从R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN; 目录号MAB3247)获得的羧甲基赖氨酸MAB(克隆318003)相似、相同或优于其。

[0042] 所述抗AGE抗体可通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)破坏AGE修饰的细胞。ADCC是细胞介导的免疫防御机制,其中免疫系统的效应细胞主动溶解膜表面抗原已被特异性抗体结合的靶细胞。ADCC可由天然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞或嗜酸性粒细胞介导。效应细胞结合至结合的抗体的Fc部分。

[0043] 所述抗AGE抗体可与引起AGE修饰的细胞的破坏的药剂缀合。此类药剂可以是毒素、细胞毒性剂、磁性纳米颗粒以及磁性自旋-涡旋盘。

[0044] 与抗AGE抗体缀合的毒素,如成孔毒素(PFT)(Aroian R.等人,“Pore-Forming Toxins and Cellular Non-Immune Defenses(CNIDs),”Current Opinion in Microbiology,10:57-61(2007))可被注射到患者体内以选择性地靶向并除去AGE修饰的细胞。所述抗AGE抗体识别并结合至AGE修饰的细胞。然后,毒素在细胞表面引起孔形成,且随后通过渗透性溶解除去细胞。

[0045] 与抗AGE抗体缀合的磁性纳米颗粒可被注射到患者体内以靶向并除去AGE修饰的细胞。磁性纳米颗粒可通过施加磁场来加热以便选择性地除去AGE修饰的细胞。

[0046] 作为替代方案,仅在施加磁场时磁化以避免可堵塞血管的自聚集的磁性自旋-涡旋盘在施加磁场时开始自旋,从而引起靶细胞的膜破坏。与抗AGE抗体缀合的磁性自旋-涡旋盘特异性地靶向AGE修饰的细胞类型,而不除去其他细胞。

[0047] 抗体通常包含多肽的连接以形成“Y”形分子的两条重链和两条轻链。恒定区决定用于靶向抗原的机制。“Y”的末端中的氨基酸序列(可变区)在不同的抗体之间变化。这种变化给予抗体其对结合抗原的特异性。包括轻链和重链末端的可变区被进一步细分为高变区(HV-有时也称为互补决定区或CDR)和框架区(FR)。当重组制备抗体时,还有可能具有单一抗体,所述单一抗体具有结合至两种不同抗原的可变区(或互补决定区),其中“Y”的每个末端对每种抗原都具有特异性;这些被称为双特异性抗体。

[0048] 根据本发明的人源化抗AGE抗体可具有SEQ ID NO:22中所示的氨基酸的人恒定区序列。人源化抗AGE抗体的重链互补决定区可具有SEQ ID NO:23(CDR1H)、SEQ ID NO:24(CDR2H)和SEQ ID NO:25(CDR3H)中所示的蛋白质序列中的一个或多个。人源化抗AGE抗体的轻链互补决定区可具有SEQ ID NO:26(CDR1L)、SEQ ID NO:27(CDR2L)和SEQ ID NO:28(CDR3L)中所示的蛋白质序列中的一个或多个。

[0049] 人(智人)抗体免疫球蛋白G1的重链可具有或可包含SEQ ID NO:1的蛋白质序列。重链的可变结构域可具有或可包含SEQ ID NO:2的蛋白质序列。重链的可变结构域(SEQ ID NO:2)的互补决定区在SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:43中示出。人(智人)抗体

免疫球蛋白G1的 κ 轻链可具有或可包含SEQ ID NO:3的蛋白质序列。 κ 轻链的可变结构域可具有或可包含SEQ ID NO:4的蛋白质序列。任选地,SEQ ID NO:4的位置128处的精氨酸(Arg或R)残基可被省略。轻链的可变结构域(SEQ ID NO:4)的互补决定区在SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45和SEQ ID NO:46中示出。可变区可以是密码子优化的、合成的并克隆到含有人免疫球蛋白G1恒定区的表达载体中。此外,可变区可用于非人抗体的人源化。

[0050] 抗体重链可由SEQ ID NO:12的DNA序列(鼠抗AGE免疫球蛋白G2b重链)编码。由SEQ ID NO:12编码的鼠抗AGE免疫球蛋白G2b重链的蛋白质序列在SEQ ID NO:16中示出。鼠抗体的可变区在SEQ ID NO:20中示出,其对应于SEQ ID NO:16的位置25-142。抗体重链可以可替代地由SEQ ID NO:13的DNA序列(嵌合抗AGE人免疫球蛋白G1重链)编码。由SEQ ID NO:13编码的嵌合抗AGE人免疫球蛋白G1重链的蛋白质序列在SEQ ID NO:17中示出。嵌合抗AGE人免疫球蛋白包含位置25-142中SEQ ID NO:20的鼠可变区。抗体轻链可由SEQ ID NO:14的DNA序列(鼠抗AGE κ 轻链)编码。由SEQ ID NO:14编码的鼠抗AGE κ 轻链的蛋白质序列在SEQ ID NO:18中示出。鼠抗体的可变区在SEQ ID NO:21中示出,其对应于SEQ ID NO:18的位置21-132。抗体轻链可以可替代地由SEQ ID NO:15的DNA序列(嵌合抗AGE人 κ 轻链)编码。由SEQ ID NO:15编码的嵌合抗AGE人 κ 轻链的蛋白质序列在SEQ ID NO:19中示出。嵌合抗AGE人免疫球蛋白包含位置21-132中SEQ ID NO:21的鼠可变区。

[0051] 根据本发明的人源化抗AGE抗体可具有或可包含一个或多个个人源化重链或人源化轻链。人源化重链可由SEQ ID NO:30、32或34的DNA序列编码。由SEQ ID NO:30、32和34编码的人源化重链的蛋白质序列在SEQ ID NO:29、31和33中示出。人源化轻链可由SEQ ID NO:36、38或40的DNA序列编码。由SEQ ID NO:36、38和40编码的人源化轻链的蛋白质序列在SEQ ID NO:35、37和39中示出。优选地,人源化抗AGE抗体使人序列的量最大化,同时保留原始抗体特异性。可构建完整的人源化抗体,所述人源化抗体含有重链,所述重链具有选自SEQ ID NO:29、31和33的蛋白质序列;以及轻链,所述轻链具有选自SEQ ID NO:35、37和39的蛋白质序列。

[0052] 来自非人物种的抗体的蛋白质序列可被修饰为包含具有SEQ ID NO:2中所示的序列的重链的可变结构域或具有SEQ ID NO:4中所示的序列的 κ 轻链。非人物种可以是伴侣动物,如家猫或家狗;或家畜,如牛、马或骆驼。优选地,非人物种不是小鼠。马(家马)抗体免疫球蛋白 γ 4的重链可具有或可包含SEQ ID NO:5 (EMBL/GenBank登录号AY445518)的蛋白质序列。马(家马)抗体免疫球蛋白 δ 的重链可具有或可包含SEQ ID NO:6 (EMBL/GenBank登录号AY631942)的蛋白质序列。狗(家犬)抗体免疫球蛋白A的重链可具有或可包含SEQ ID NO:7 (GenBank登录号L36871)的蛋白质序列。狗(家犬)抗体免疫球蛋白E的重链可具有或可包含SEQ ID NO:8 (GenBank登录号L36872)的蛋白质序列。猫(家猫)抗体免疫球蛋白G2的重链可具有或可包含SEQ ID NO:9 (DDBJ/EMBL/GenBank登录号KF811175)的蛋白质序列。

[0053] 骆驼科的动物,如骆驼(单峰驼和双峰驼)、美洲驼(大羊驼、羊驼(Lama pacos)和小羊驼)、羊驼(alpacas)(羊驼(Vicugna pacos))以及原驼(guanacos)(原驼(Lama guanicoe))具有未在其他哺乳动物中发现的独特抗体。除了由重链和轻链四聚体组成的常规免疫球蛋白G抗体外,骆驼科动物还具有不含轻链并以重链二聚体形式存在的重链免疫球蛋白G抗体。这些抗体被称为重链抗体、HCAb、单结构域抗体或sdAb,并且骆驼科动物重链抗体的可变结构域被称为VHH。骆驼科动物重链抗体缺乏重链CH1结构域并具有未在其他物

种中发现的铰链区。阿拉伯骆驼(单峰驼)单结构域抗体的可变区可具有或可包含SEQ ID NO:10 (GenBank登录号AJ245148)的蛋白质序列。阿拉伯骆驼(双峰驼)四聚体免疫球蛋白的重链的可变区可具有或可包含SEQ ID NO:11 (GenBank登录号AJ245184)的蛋白质序列。

[0054] 除了骆驼科动物外,重链抗体也在软骨鱼类中发现,如鲨鱼、鳐鱼和魮鱼。这种类型的抗体被称为免疫球蛋白新抗原受体或IgNAR,并且IgNAR的可变结构域被称为VNAR。IgNAR作为两种相同的重链二聚体存在,所述重链二聚体各自由一个可变结构域和五个恒定结构域组成。像骆驼科动物一样,不存在轻链。

[0055] 另外的非人物种的蛋白质序列可在在线数据库中容易地找到,如国际免疫遗传学信息系统(www.imgt.org)、欧洲生物信息学研究所(www.ebi.ac.uk)、日本的DNA数据库(ddbj.nig.ac.jp/arsa)或国家生物技术信息中心(www.ncbi.nlm.nih.gov)。

[0056] 抗AGE抗体或其变体可包含与SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变区,包括其翻译后修饰。具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的可变区可相对于参考序列含有取代(例如保守取代)插入或缺失,但包含所述序列的抗AGE抗体保留与AGE结合的能力。取代、插入或缺失可发生在可变区域之外的区域。

[0057] 抗AGE抗体或其变体可包含与SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:21的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变区,包括其翻译后修饰。具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的可变区可相对于参考序列含有取代(例如保守取代)插入或缺失,但包含所述序列的抗AGE抗体保留与AGE结合的能力。取代、插入或缺失可发生在可变区域之外的区域。

[0058] 或者,所述抗体可具有针对与钥孔虫凝集素蛋白缀合的羧甲基赖氨酸(CML-KLH)产生的可商购的小鼠抗糖化终产物抗体的互补决定区,所述羧甲基赖氨酸MAb(克隆318003)可从R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN; 目录号MAB3247)获得。

[0059] 所述抗体可具有或可包含允许受试者的免疫系统破坏靶细胞的恒定区。

[0060] 也可以使用与AGE修饰的蛋白的多于一种类型AGE结合的抗体的混合物。

[0061] 也可使用双特异性抗体,其是针对两种不同表位的抗AGE抗体。此类抗体将具有来自一种抗AGE抗体的那些的可变区(或互补决定区)和来自不同抗体的可变区(或互补决定区)。

[0062] 可使用抗体片段来代替完整抗体。例如,免疫球蛋白G可通过用酶消化分解成更小的片段。木瓜蛋白酶消化裂解重链间二硫桥键的N末端侧以产生Fab片段。Fab片段包含轻链和重链的两个N末端结构域中的一个(也称为Fd片段)。胃蛋白酶消化裂解重链间二硫桥键的C末端侧以产生F(ab')₂片段。F(ab')₂片段包含轻链和通过二硫桥键连接的两个N末端结构域。胃蛋白酶消化也可形成Fv片段(可变片段)和Fc片段(可结晶片段)。Fv片段含有两个N末端可变结构域。Fc片段含有与细胞上的免疫球蛋白受体和补体级联的初始元件相互作用的结构域。胃蛋白酶还可裂解在重链的第三恒定结构域(C_H3)之前的免疫球蛋白G以产生大片段F(abc)和小片段pFc'。抗体片段可以可替代地重组产生。

[0063] 如果需要额外的抗体,则可使用众所周知的方法来产生它们。例如,可通过一次或

多次注射免疫原并且如果需要佐剂来在哺乳动物宿主中产生多克隆抗体 (pAb)。通常,免疫原(和佐剂)通过皮下或腹膜内注射注射在哺乳动物中。所述免疫原可以是细胞的AGE修饰的蛋白,如AGE-抗凝血酶III、AGE-钙调蛋白、AGE-胰岛素、AGE-血浆铜蓝蛋白、AGE-胶原、AGE-组织蛋白酶B、AGE-白蛋白、AGE-晶状体蛋白、AGE-纤维酶原激活物、AGE-内皮质膜蛋白、AGE-醛还原酶、AGE-转铁蛋白、AGE-纤维蛋白、AGE-铜/锌SOD、AGE-apo B、AGE-纤连蛋白、AGE-胰核糖、AGE-apo A-I和II、AGE-血红蛋白、AGE- Na^+/K^+ -ATP酶、AGE-纤溶酶原、AGE-髓磷脂、AGE-溶菌酶、AGE-免疫球蛋白、AGE-红细胞Glu转运蛋白、AGE- β -N-乙酰己糖激酶、AGE-apo E、AGE-红细胞膜蛋白、AGE-醛糖还原酶、AGE-铁蛋白、AGE-红细胞血影蛋白、AGE-醇脱氢酶、AGE-触珠蛋白、AGE-微管蛋白、AGE-甲状腺激素、AGE-纤维蛋白原、AGE- β_2 -微球蛋白、AGE-山梨醇脱氢酶、AGE- α_1 -抗胰蛋白酶、AGE-碳酸脱水酶、AGE-RNA酶、AGE-低密度脂蛋白、AGE-己糖激酶、AGE-apo C-I、AGE-RNA酶、AGE-血红蛋白如AGE-人血红蛋白、AGE-白蛋白如AGE-牛血清白蛋白(AGE-BSA)和AGE-人血清白蛋白、AGE-低密度脂蛋白(AGE-LDL)以及AGE-胶原蛋白IV。AGE修饰的细胞,如AGE修饰的红细胞(完整的、溶解的或部分消化的)也可用作AGE抗原。佐剂的实例包括弗氏完全佐剂、单磷酸脂质A、合成海藻糖二霉菌酸酯、氢氧化铝(明矾)、热休克蛋白HSP 70或HSP96、含单磷酸脂质A的角鲨烯乳剂、 α_2 -巨球蛋白和表面活性物质,包括油乳剂、复合多元醇、聚阴离子以及二硝基苯酚。为了改善免疫应答,可将免疫原缀合至宿主中具有免疫原性的多肽,如钥孔虫血蓝蛋白(KLH)、血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白、霍乱毒素、不稳定肠毒素、二氧化硅颗粒或大豆胰蛋白酶抑制剂。或者,可在鸡中制备pAb,从而产生IgY分子。

[0064] 单克隆抗体 (mAb) 也可通过对宿主或来自宿主的淋巴细胞免疫、收获分泌(或可能分泌)mAb的淋巴细胞、将那些淋巴细胞融合至永生化细胞(例如骨髓瘤细胞)并且选择那些分泌所需mAb的细胞来制备。可使用其他技术,如EBV-杂交瘤技术。通过将编码抗体的可变结构域的基因与人(或其他动物)免疫球蛋白的恒定结构域的基因拼接而产生嵌合抗体的技术产生在氨基酸水平下基本上为人(人源化)或基本上“源化”为另一种动物(如猫、狗、马、骆驼或羊驼、牛、绵羊或山羊)的“嵌合抗体”。如果需要,可通过常规程序如蛋白A-琼脂糖凝胶、羟基磷灰石色谱法、凝胶电泳、渗析、硫酸铵沉淀或亲和色谱法来从培养基或腹水中纯化mAb。另外,可通过对含有第三拷贝IgG人转基因座和沉默的内源小鼠Ig基因座的转基因小鼠免疫或使用人转基因小鼠来产生人单克隆抗体。人源化单克隆抗体及其片段的产生也可通过噬菌体展示技术产生。

[0065] “药学上可接受的载体”包括可与药物施用相容的任何及所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。此类载体或稀释剂的优选实例包括水、盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液。补充活性化合物也可并入组合物中。用于肠胃外施用的溶液或悬浮液可包括无菌稀释剂,如注射用水、盐水溶液、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂;抗菌剂,如苄醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;缓冲剂,如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐;以及用于调节张力的试剂,如氯化钠或葡萄糖。可用酸或碱,如盐酸或氢氧化钠调节pH。胃肠外制剂可封闭在安瓿、一次性注射器或由玻璃或塑料制成的多剂量小瓶中。

[0066] 适合注射的药物组合物包括用于临时制备无菌注射溶液或分散体的无菌水性溶液或分散体。各种赋形剂可包含在适于注射的抗体的药物组合物中。对于静脉内施用,合适

的载体包括生理盐水、抑菌水、CREMOPHOR EL® (BASF; Parsippany, NJ) 或磷酸盐缓冲盐水 (PBS)。在所有情况下,所述组合物必须为无菌的且应为流体,以便使用注射器施用。此类组合物应在制造和储存期间稳定并且必须将其保藏以免受诸如细菌和真菌的微生物污染。例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸和硫柳汞的各种抗菌剂和抗真菌剂可含有微生物污染。诸如糖的等渗剂,诸如甘露醇、山梨糖醇的多元醇和氯化钠可包含于所述组合物中。可延迟吸收的组合物包含诸如单硬脂酸铝和明胶的试剂。无菌可注射溶液可通过将抗体和任选的其他治疗性组分以需要的量与根据需要的一种成分或多种成分的组合并入适当的溶剂中、随后进行灭菌来制备。用于制备无菌注射溶液的无菌固体的制备方法包括真空干燥和冷冻干燥,以产生固体。

[0067] 对于通过吸入施用,抗体可作为来自喷雾器或含有合适推进剂(例如气体如二氧化碳)的加压容器的气溶胶喷雾剂递送。抗体也可经由吸入作为干粉递送,例如使用 iSPERSE™吸入药物递送平台(PULMATRIX, Lexington, Mass.)。当通过吸入施用时,为鸡抗体(IgY)的抗AGE抗体的使用在各种动物(包括人)中可以是非免疫原性的。

[0068] 每种类型的抗体的适当剂量水平通常将是每kg患者体重约0.01至500mg。优选地,所述剂量水平将是约0.1至约250mg/kg;更优选约0.5至约100mg/kg。合适的剂量水平可以是约0.01至250mg/kg、约0.05至100mg/kg或约0.1至50mg/kg。在此范围内,剂量可以是0.05至0.5、0.5至5或5至50mg/kg。尽管每种类型的抗体可按每天1至4次的方案施用,如每天一次或两次,但抗体通常具有较长的体内半衰期。因此,每种类型的抗体可每天一次、每周一次、每两周或三周一次、每月一次或每60至90天一次施用。

[0069] 通过测量肌肉质量随时间推移的变化,可对接受抗AGE抗体施用的受试者进行测试以确定其是否有效治疗肌肉减少症。例如,可测量受试者的基线肌肉质量,随后施用抗AGE抗体。治疗的有效性可通过定期测量受试者的肌肉质量并将后续测量值与基线测量值进行比较来确定。如果受试者在后续测量之间或随时间推移未显示肌肉质量损失,则可认为受试者具有肌肉减少症的有效治疗。或者,也可监测脂肪或肌肉组织中衰老细胞的浓度和/或数量。可重复施用抗体和随后的测试,直到实现所需的治疗结果。

[0070] 可创建单位剂型以促进施用和剂量均匀性。单位剂型是指适合作为用于待治疗受试者的单一剂量的物理离散单位,其含有治疗有效量的一种或多种类型的抗体以及所需的药物载体。优选地,单位剂型是在密封容器中并且是无菌的。

[0071] 可发展与细胞衰老相关的肌肉减少症或其他疾病或病症的任何哺乳动物可通过本文所述的方法治疗。人是用于治疗的优选哺乳动物。可治疗的其他哺乳动物包括小鼠、大鼠、山羊、绵羊、牛、马和伴侣动物,如狗或猫。需要治疗的受试者可通过诊断已知引起AGE水平升高的疾病或病症(例如像糖尿病(1型和2型)或与AGE相关的病理病状(例如动脉粥样硬化、炎症、视网膜病变、肾病、中风、内皮细胞功能障碍、神经退行性病症或癌症)的存在来鉴定。此外,受试者可被鉴定以基于其年龄进行治疗。例如,75岁以上的人可针对肌肉减少症而被治疗,而30岁以下的人可能不会被鉴定为需要针对肌肉减少症的治疗。或者,可将以上鉴定的任何哺乳动物或受试者从需要针对肌肉减少症的治疗的患者群体中排除。

[0072] 如果(1)受试者至少25岁并且(2)他或她的测量的肌肉质量和测量的肌肉功能低于相同性别的健康25岁的平均值两个标准偏差或更多并且尚未鉴定替代病理学来说明肌肉质量减少和肌肉功能下降的原因,则可将受试者鉴定为患有肌肉减少症或需要治疗。优

选地,正针对肌肉减少症进行治疗的受试者是至少40岁。更优选地,正针对肌肉减少症进行治疗的受试者是至少50岁。最优选地,正针对肌肉减少症进行治疗的受试者是至少60岁。或者,如果(1)他或她的步速在4m路程中小于1.0m/s,并且(2)他或她具有客观测量的低肌肉质量,例如像相对于高度的平方对于男性受试者小于或等于 7.23kg/m^2 或对于女性受试者小于或等于 5.67kg/m^2 的附肢质量,则可将受试者鉴定为患有肌肉减少症或需要治疗。

[0073] 在中枢神经系统神经退行性病症的情况下,可能优选将含有抗AGE抗体的组合物直接施用至中枢神经系统。这种施用的实例包括鞘内施用;例如通过导管或永久分流器或可在脑室造瘘术期间放置的其他施用装置施用至脑的脑室系统(脑室内施用)(参见例如, Takami,

[0074] A.等人“Treatment of primary central nervous system lymphoma with induction of complement-dependent cytotoxicity by intraventricular administration of autologous-serum-supplemented rituximab”,Cancer Sci.第97卷,第80-83页(2006年1月));以及通过对流增强的递送(CED)而施用(参见例如,Chen,K.S.,等人“MONOCLONAL ANTIBODY THERAPY FOR MALIGNANT GLIOMA”Glioma:Immunotherapeutic Approaches的第10章,第132-141页(R.Yamanaka编辑;Landes Bioscience and Springer Science+Business Media,2012))。所有这种中枢神经系统施用可任选地还包括施用血清补充物(如自体血清)以增强AGE抗体的细胞杀伤性质;血清补充物的施用可在施用AGE抗体之前、同时或之后进行。任选地,本文所述的含有AGE抗体的任何组合物还可含有血清补充物(如自体血清补充物)。代替血清补充物或除血清补充物外,也可使用纯化的免疫系统细胞(自体免疫系统细胞或来自供体的免疫系统细胞);此类细胞的实例包括天然杀伤细胞。除了患者或供体的天然杀伤细胞之外或代替患者或供体的天然杀伤细胞,人工天然杀伤细胞(如NANTKWEST®的那些)被工程化为直接结合至抗体,或工程化为直接结合至AGE抗原(如羧甲基赖氨酸)(参见www.nantkwest.com)。

[0075] 在癌症的情况下,可发展转移性癌症的哺乳动物可通过本文所述的方法治疗。人是用于治疗的首选哺乳动物。可治疗的其他哺乳动物包括小鼠、大鼠、山羊、绵羊、牛、马和伴侣动物,如狗或猫。需要治疗的受试者可通过癌症的诊断来鉴定。特别易于转移的癌症包括肺癌、黑色素瘤、结肠癌、肾细胞癌、前列腺癌、宫颈癌、膀胱癌、直肠癌、食道癌、肝癌、口腔和喉癌、多发性骨髓瘤、卵巢癌以及胃癌。治疗可以是经历转移性癌症的患者。治疗也可被施用至患有癌症的患者,但在任何鉴定的转移之前以便防止转移。接受抗AGE抗体施用的受试者可通过检查患者癌症向身体的不同部位,特别是在淋巴结中的扩散来测试所述抗AGE抗体是否有效治疗癌症。可重复施用抗体和随后的测试,直到实现所需的治疗结果。

[0076] 所述抗AGE抗体可用于细胞纯化过程,如免疫淘选和免疫吸附。纯化过程适用于从组织培养物、细胞培养物或血液中分离合乎需要或不想要的细胞。细胞纯化可用于移植,如骨髓移植;或输血(transfusions),如输血(blood transfusion)。细胞纯化尤其适用于化疗期间的自体干细胞移植以除去恶性细胞并浓缩有益干细胞,如表达CD34蛋白的造血细胞(CD34⁺细胞)。使用抗AGE抗体的免疫淘选或免疫吸附可从组织培养物、细胞培养物或血液样品中分离部分功能或无功能的细胞,如衰老细胞。例如,免疫淘选过程可涉及将抗AGE抗体固定在表面,如细胞培养板上。然后可将组织培养物或细胞培养物施加至所述表面上。存在于组织培养物或细胞培养物中的任何衰老细胞都将与抗AGE抗体结合,从而留下不含衰

老细胞的纯化的组织培养物或细胞培养物。类似地,免疫吸附过程可涉及将抗AGE抗体结合至细胞培养物中的衰老细胞。然后可使所述细胞通过填充有珠粒的柱,所述珠粒涂覆有结合至抗AGE标记的衰老细胞的蛋白质。通过柱的没有结合的细胞将是不表达AGE的细胞,如完全功能性细胞。免疫吸附过程可用CEPRATE SC干细胞浓缩系统(CellPro, Inc., Bothell, WA)或类似设备进行。

[0077] 以下显示对应于SEQ ID NO:1的单字母氨基酸序列:

```

      10      20      30      40      50
MNLILLITFV AAAVAQVQLL QPGAELVKPG ASVKLACKAS GYLFTTYWMH
      60      70      80      90
WLKQRPGQGL EWIGEISPTN GRAYYNARFK SEATLTVDKS
     100     110     120     130
SNTAYMQLSS LTSEASAVYY CARAYGNYEF AYWGGQGTLV
     140     150     160     170
VSVASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV
     180     190     200     210     220
TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH
     230     240     250     260
[0078] KPSNTKVDKK VEPKSCDKTH TCPFCPAPEL LGGPSVFLFP
     270     280     290     300
PKPKDTLMIS RTPEVTCVWV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV
     310     320     330     340
HNAKTKPREE QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS
     350     360     370     380     390
NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPOVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP
     400     410     420     430
SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSGGSF FLYSKLTVDK
     440     450     460
SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLG PGK
```

[0079] 以上氨基酸序列的位置16-133对应于SEQ ID NO:2。以上氨基酸序列的位置46-50对应于SEQ ID NO:41。以上氨基酸序列的位置65-81对应于SEQ ID NO:42。以上氨基酸序列的位置114-122对应于SEQ ID NO:43。

[0080] 以下显示对应于SEQ ID NO:3的单字母氨基酸序列:

10 20 30 40 50
MNLILLITFV AAVADVMT QTPLSLPVSL GDQASISCRS RQSLVNSNGN
60 70 80 90 100
TFLQWYLQKP GQSPKLLIYK VSLRFSGVDP RFSGSGSGTD FTLKISRVEA
[0081] 110 120 130 140 150
EDLGLYFCSQ STHVPPTFGG GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA
160 170 180 190
SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD
200 210 220 230
STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RSEC

[0082] 以上氨基酸序列的位置16-128对应于SEQ ID NO:4。任选地,SEQ ID NO:4的位置128处的精氨酸(Arg或R)残基可被省略。以上氨基酸序列的位置39-54对应于SEQ ID NO:44。以上氨基酸序列的位置70-76对应于SEQ ID NO:45。以上氨基酸序列的位置109-117对应于SEQ ID NO:46。

[0083] 以下显示对应于SEQ ID NO:12的DNA序列:

[0084] ATGGACCCCAAGGGCAGCCTGAGCTGGAGAATCCTGCTGTTCTGAGCCTGGCCTTCGAGCTGAGCTAC
GGCCAGGTGCAGCTGCTGCAGCCAGGTGCCGAGCTCGTGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGGCCTGCAAGGCTTC
CGGCTACCTGTTACACCACTACTGGATGCACTGGCTGAAGCAGAGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCGAGA
TCTCCCCACCAACGGCAGAGCCTACTACAACGCCCGGTTCAAGTCCGAGGCCACCCTGACCGTGGACAAGTCTCTCC
AACACCGCTACATGCAGCTGTCTCTCCCTGACCTCTGAGGCCTCCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGCTTACGGCAA
CTACGAGTTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACAGTGTCTGTGGCTAAGACCACCCCTCCCTCCGTGTACC
CTCTGGCTCCTGGCTGTGGCGACACCACCGGATCCTCTGTGACCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGGCTACTTCCCTGAG
TCCGTGACCGTGACCTGGAATCCGGCTCCCTGTCTCTCCGTGCACACCTTCCAGCCCTGCTGCAGTCCGGCCT
GTACACCATGTCTCCAGCGTGACAGTGCCCTCCTCCACCTGGCCTTCCCAGACCGTGACATGCTCTGTGGCCCACC
CTGCCTCTTCCACCACCGTGGAACAAGCTGGAACCCCTCCGGCCCCATCTCCACCATCAACCCTTGCCCTCCCTGC
AAAGAATGCCACAAGTGCCCTGCCCCAACCTGGAAGGCGGCCCTTCCGTGTTTCATCTTCCCACCCAACATCAAGGA
CGTGCTGATGATCTCCCTGACCCCCAAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCGAGGACGACCCTGACGTGCAGA
TCAGTTGGTTTCGTGAACAACGTGGAAGTGACACCCGCCAGACCCAGACACACAGAGAGGACTACAACAGCACCATC
AGAGTGGTGTCTACCCTGCCATCCAGCACCAGGACTGGATGTCCGGCAAAGAATTCAAGTGCAAAGTGAACAACAA
GGACCTGCCCAGCCCCATCGAGCGGACCATCTCCAAGATCAAGGGCCTCGTGCGGGCTCCCCAGGTGTACATTCTGC
CTCCACCAGCCGAGCAGCTGTCCCGGAAGGATGTGTCTCTGACATGTCTGGTCGTGGGCTTCAACCCCGGCGACATC
TCCGTGGAATGGACCTCCAACGGCCACACCGAGGAAAACTACAAGGACACCGCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTC
CTACTTCATCTACTCCAAGCTGAACATGAAGACCTCCAAGTGGGAAAAGACCGACTCCTTCTCTGCAACGTGCGGC
ACGAGGGCCTGAAGAACTACTACCTGAAGAAAACCATCTCCCGGTCCCCGGCTAG

[0085] 以下显示对应于SEQ ID NO:13的DNA序列:

[0086] ATGGACCCCAAGGGCAGCCTGAGCTGGAGAATCCTGCTGTTCTGAGCCTGGCCTTCGAGCTGAGCTAC
GGCCAGGTGCAGCTGCTGCAGCCAGGTGCCGAGCTCGTGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGGCCTGCAAGGCTTC
CGGCTACCTGTTACCACTACTGGATGCACTGGCTGAAGCAGAGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCGAGA

TCTCCCCACCAACGGCAGAGCCTACTACAACGCCCGTTCAAGTCCGAGGCCACCCTGACCGTGGACAAGTCTCC
AACACCGCTACATGCAGCTGTCTCCCTGACCTCTGAGGCCTCCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGCTTACGGCAA
CTACGAGTTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACCTCGTGACAGTGTCTGTGGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC
CTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAG
CCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGG
CCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACC
ACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGC
CCCGCCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCG
CACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG
GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTG
ACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGTCCCAT
CGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGGTGTACACCTGCCCCCAGCCGCGACGAGC
TGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC
AACGGCCAGCCTGAGAACAATAACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAA
GCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC
ACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGGATAG

[0087] 以下显示对应于SEQ ID NO:14的DNA序列:

[0088] ATGGAGACCGACACCCTGCTGCTCTGGGTGCTGCTGCTCTGGGTGCCCGGCTCCACCGGAGACGTGCTG
ATGACCCAGACCCCTCTGTCCCTGCCTGTGTCTCTGGGCGACCAGGCCTCCATCTCCTGCCGGTCTAGACAGTCCCT
CGTGAACCTCCAACGGCAACACCTTCCTGCAGTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTACA
AGGTGTCCCTGCGTTTCTCCGGCGTGCCCGACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGAAGATC
TCCCGGGTGGAAGCCGAGGACCTGGGCCTGTACTTCTGCAGCCAGTCCACCCACGTGCCCCCTACATTTGGCGGAGG
CACCAAGCTGGAAATCAAACGGGCAGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACAT
CTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACCTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAGATTGATGGC
AGTGAACGACAAAATGGCGTCTGAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCAC
CCTCACGTTGACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCAC
CCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTTGA

[0089] 以下显示对应于SEQ ID NO:15的DNA序列:

[0090] ATGGAGACCGACACCCTGCTGCTCTGGGTGCTGCTGCTCTGGGTGCCCGGCTCCACCGGAGACGTGCTG
ATGACCCAGACCCCTCTGTCCCTGCCTGTGTCTCTGGGCGACCAGGCCTCCATCTCCTGCCGGTCTAGACAGTCCCT
CGTGAACCTCCAACGGCAACACCTTCCTGCAGTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTACA
AGGTGTCCCTGCGTTTCTCCGGCGTGCCCGACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGAAGATC
TCCCGGGTGGAAGCCGAGGACCTGGGCCTGTACTTCTGCAGCCAGTCCACCCACGTGCCCCCTACATTTGGCGGAGG
CACCAAGCTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGT
CTGGCACC GCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC
GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCAC
CCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCC
CCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA

[0091] 以下显示对应于SEQ ID NO:16的单字母氨基酸序列:

[0092]

MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLLQPGAELVKPGASVKLACKASGYLFTTYWMHWLKQRPQGGLWIGEISP
TNGRAYYNARFKSEATLTVDKSSNTAYMQLSSLTSEASAVYYCARAYGNYEFAYWGQGLTVTVSVAKTTPPSVYPLA
PGCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPESTVTWNSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSTWPSQTVTCSVAHPAS
STTVDDKKLEPSGPISTINPCPPCKECKCPAPNLEGGPSVFIFPPNIKDVLMISLTPKVTCTVVDVSEDDPDVQISW
FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTIRVVSTLPIQHQQDWMMSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKIKGLVRAPQVYILPPP
AEQLSRKDVSLTCLVVGFNPGDISVEWTSNGHTEENYKDTAPVLDSDGSYFIYSKLNMKTSKWEKTDSFSCNVRHEG
LKNYYLKKTISRSPG *

[0093] 以上氨基酸序列的阴影区对应于SEQ ID NO:20。

[0094] 以下显示对应于SEQ ID NO:17的单字母氨基酸序列:

[0095]

MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLLQPGAELVKPGASVKLACKASGYLFTTYWMHWLKQRPQGGLWIGEISP
TNGRAYYNARFKSEATLTVDKSSNTAYMQLSSLTSEASAVYYCARAYGNYEFAYWGQGLTVTVSVASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRVQQGNVFCFSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPG *

[0096] 以下显示对应于SEQ ID NO:18的单字母氨基酸序列:

[0097]

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSRQSLVNSNGNTFLQWYLQKPGQSPKLLIYKVS
LRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGLYFCSQSTHPVPTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGG
ASVVCFLNNFYPKDINVKKWIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV
KSFNRNEC *

[0098] 以上氨基酸序列的阴影区对应于SEQ ID NO:21。

[0099] 以下显示对应于SEQ ID NO:19的单字母氨基酸序列:

[0100]

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSRQSLVNSNGNTFLQWYLQKPGQSPKLLIYKVS
LRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGLYFCSQSTHPVPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT
KSFNRGEC *

[0101] 以下显示对应于SEQ ID NO:22的单字母氨基酸序列:

```

      10      20      30      40      50      60
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS

      70      80      90     100     110     120
GLYSLSSVVT VFSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCCVECPCP APPVAGPSVF

      130     140     150     160     170     180
LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP RREQFNSTFR

[0102]

      190     200     210     220     230     240
VVSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVSNGKLPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN

      250     260     270     280     290     300
QVSLTCLVKQ FYPSDISVEW ESNQGPENNY KTFPMLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN

      310     320
VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGX

```

[0103] 对应于SEQ ID NO:23的单字母氨基酸序列是SYTMGVS。

[0104] 对应于SEQ ID NO:24的单字母氨基酸序列是TISSGGGSTYYPDSVKG。

[0105] 对应于SEQ ID NO:25的单字母氨基酸序列是QGGWLPPFAX,其中X可以是任何天然存在的氨基酸。

[0106] 对应于SEQ ID NO:26的单字母氨基酸序列是RASKSVSTSSRGYSYMH。

[0107] 对应于SEQ ID NO:27的单字母氨基酸序列是LVSNNLES。

[0108] 对应于SEQ ID NO:28的单字母氨基酸序列是QHIRELTRS。

[0109] 对应于SEQ ID NO:29的单字母氨基酸序列是MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLVQS
 GAEVKKPGASVKVSKASGYLFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMGEISPTNGRAYYNQKFQGRVTMTVDKSTNTVYMELS
 SLRSEDTAVYYCARAYGNFYFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
 ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPELLGGPS
 VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG。

[0110] 对应于SEQ ID NO:30的DNA序列是ATGGACCCCAAGGGCAGCCTGAGCTGGAGAATCCTGCTGT
 TCCTGAGCCTGGCCTTCGAGCTGAGCTACGGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGC
 GCCTCCGTGAGGTGTCTCTGCAAGGCTTCCGGCTACCTGTTCAACACCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCT
 GGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGATCTCCCCTACCAACGGCAGAGCCTACTACAACAGAAATTCCAGGGCAGA
 GTGACCATGACCGTGGAACAAGTCCACCAACACCGTGTACATGGAAGTGTCTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGT
 GTACTACTGCGCTAGAGCCTACGGCAACTACGATTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACAGTGTCTCTGCG
 TAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCT
 GCCTGGGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCT
 TCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCC
 AGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGAC

AAGACCCACACCTGCCCTCCCTGCCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCTCCCAAGCCC
AAGGACACCCTGATGATCAGCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGT
GAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAGCAGTACAACCTCCAC
CTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAA
CAAGGCCCTGCCCCGCTCCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGGTGTACACCC
TGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGACA
TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGCA
GCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATG
CACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCGGATAGTAA。

[0111] 对应于SEQ ID NO:31的单字母氨基酸序列是MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLVQS
GAEVKKPGASVKVSKASGYLFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMGEISPTNGRAYYNAKFQGRVTMTVDKSTNTAYMELS
SLRSEDTAVYYCARAYGNYFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPG。

[0112] 对应于SEQ ID NO:32的DNA序列是ATGGACCCCAAGGGCAGCCTGAGCTGGAGAATCCTGCTGT
TCCTGAGCCTGGCCTTCGAGCTGAGCTACGGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGC
GCCTCCGTGAGGTGTCTGCAAGGCTTCCGGCTACCTGTTACACCACTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCCT
GGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGATCTCCCCTACCAACGGCAGAGCCTACTACAACCAAAAATTCAGGGCAGA
GTGACCATGACCGTGGACAAGTCCACCAACACCGCTTACATGGAAGTGTCTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGT
GTACTACTGCGCTAGAGCCTACGGCAACTACGATTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACAGTGTCTCTGC
TAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGCGGAACCGCCGCCCTGGGCT
GCCTGGGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGACACCT
TCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCC
AGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGAC
AAGACCCACACCTGCCCTCCCTGCCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCTCCCAAGCCC
AAGGACACCCTGATGATCAGCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGT
GAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAGCAGTACAACCTCCAC
CTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAA
CAAGGCCCTGCCCCGCTCCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGGTGTACACCC
TGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGACA
TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGCA
GCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATG
CACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCGGATAGTAA。

[0113] 对应于SEQ ID NO:33的单字母氨基酸序列是MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLVQS
GAEVKKPGASVKVSKASGYLFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMGEISPTNGRAYYNAKFQGRVTMTVDKSINTAYMELS
RLRSDDTAVYYCARAYGNYFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPPELLGGPS

VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPG。

[0114] 对应于SEQ ID NO:34的DNA序列是ATGGACCCCAAGGGCAGCCTGAGCTGGAGAATCCTGCTGT
TCCTGAGCCTGGCCTTCGAGCTGAGCTACGGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGC
GCCTCCGTGAGGTGTCCTGCAAGGCTTCCGGCTACCTGTTACCCACCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCCT
GGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGATCTCCCTACCAACGGCAGAGCCTACTACAACCAAAATTCCAGGGCAGA
GTGACCATGACCGTGGACAAGTCCATCAACACCGCTTACATGGAAGTGTCCAGACTGCGGAGCGATGACACCGCCGT
GTACTACTGCGCTAGAGCCTACGGCAACTACGATTCGCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACAGTGTCTCTGCG
TAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCT
GCCTGGGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGACACCT
TCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAATCCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCC
AGACCTACATCTGCAACGTGAACCAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGTGGAGCCTAAGAGCTGCGAC
AAGACCCACACCTGCCCTCCCTGCCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCC
AAGGACACCCTGATGATCAGCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGT
GAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAGCAGTACAACCTCCAC
CTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAA
CAAGGCCCTGCCGCTCCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGGTGTACACCC
TGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGACA
TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGCA
GCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGAACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTACAGCTGCAGCGTGATG
CACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCGGATAGTAA。

[0115] 对应于SEQ ID NO:35的单字母氨基酸序列是METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMTQSPLSL
PVTLGQPASISCRSSQSLVNSNGNTFLQWYQQRPQGQSPRLLIYKVSRLRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDV
GVYYCSQSTHVPPTFGGGTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC。

[0116] 对应于SEQ ID NO:36的DNA序列是ATGGAGACCGACACCCTGCTGCTCTGGGTGCTGCTGCTCT
GGGTGCCCCGGCTCCACCGGAGACGTCGTGATGACCCAGTCCCCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTGGGACAGCCTGCC
TCCATCTCCTCAGATCCTCCCAGTCCCTCGTGAACCTCCAACGGCAACACCTTCTGTCAGTGGTATCAGCAGCGGCCT
GGCCAGAGCCCCAGACTGCTGATCTACAAGGTGTCCCTGCGGTTCTCCGGCGTGCCCGACGATTTTCCGGCTCTGGC
TCTGGCACCGACTTACCCCTGAAGATCTCCCGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTAATACTGCTCCCAGAGCAC
CCACGTGCCCCCTACATTTGGCGGAGGCACCAAGTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTT
CCCTCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCCGCGAGG
CCAAGGGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGG
ACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGACAAGGTGTACGCCTGCGAGG
TGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA。

[0117] 对应于SEQ ID NO:37的单字母氨基酸序列是METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMTQSPLSL
PVTLGQPASISCRSRQSLVNSNGNTFLQWYQQRPQGQSPRLLIYKVSRLRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDV
GVYYCSQSTHVPPTFGGGTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE

SVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC。

[0118] 对应于SEQ ID NO:38的DNA序列是ATGGAGACCGACACCCTGCTGCTCTGGGTGCTGCTGCTCTGGGTGCCCCGGCTCCACCGGAGACGTCGTGATGACCCAGTCCCCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTGGGACAGCCTGCCATCTCTCTCAGATCCAGGCAGTCCCTCGTGAACCTCCAACGGCAACACCTTCCTGCAGTGGTATCAGCAGCGGCCTGGCCAGAGCCCCAGACTGCTGATCTACAAGGTGTCCCTGCGGTTCTCCGGCGTGCCCGACGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCCCGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTAATACTGCTCCCAGAGCACCCAGTGCCCCCTACATTTGGCGGAGGCACCAAGTGGAATCAAGCGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA。

[0119] 对应于SEQ ID NO:39的单字母氨基酸序列是METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMQSPSSPVTLGQPASISCRSSQSLVNSNGNTFLQWYHQRPQGPPRLLIYKVSRLRSGVPDRFSGSGAGKDFTLKISRVEAEDVGVIYCSQSTHVPPTFGQGTLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC。

[0120] 对应于SEQ ID NO:40的DNA序列是ATGGAGACCGACACCCTGCTGCTCTGGGTGCTGCTGCTCTGGGTGCCCCGGCTCCACCGGAGACGTCGTGATGACCCAGTCCCCTCTGTCCAGTCCCTGTGACCCTGGGACAGCCTGCCATCTCTCTCAGATCCTCCCAGTCCCTCGTGAACCTCCAACGGCAACACCTTCCTGCAGTGGTATCACCAGCGGCCTGGCCAGCCTCCCAGACTGCTGATCTACAAGGTGTCCCTGCGGTTCTCCGGCGTGCCCGACGATTTTCCGGCTCTGGCGCTGGCAAGGACTTCACCCTGAAGATCTCCCGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTAATACTGCTCCCAGAGCACCCAGTGCCCCCTACATTTGGCCAGGGCACCAACTGGAATCAAGCGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA。

实施例

[0121] 实施例1:抗糖化终产物抗体的施用的体内研究

[0122] 为了检查抗糖化终产物抗体的作用,将所述抗体每日两次通过静脉内注射施用于老年CD1 (ICR) 小鼠(查尔斯河实验室),每周一次持续三周(第1天、第8天和第15天),然后是10周无处理期。测试抗体是针对与钥孔虫血蓝蛋白缀合的羧甲基赖氨酸产生的可商购的小鼠抗糖化终产物抗体,所述羧甲基赖氨酸MAb(克隆318003)可从R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN; 目录号MAB3247) 获得。生理盐水的对照参考用于对照动物中。

[0123] 被称为“幼龄”的小鼠是8周龄,而被称为“老龄”的小鼠是88周(±2天) 龄。从施用抗体未观察到不良事件。表1中示出研究中使用的不同动物组。

[0124] 表1:研究中使用的不同动物组

组编号	测试材料	小鼠	剂量水平 ($\mu\text{g/gm/BID/周}$)	动物的数量		
				主要研究	无处理	
				雌性	雌性	
[0125]	1	盐水	幼龄	0	20	-
	2	盐水	老龄	0	20	20
	3	抗体	老龄	2.5	20	20
	4	无	老龄	0	20	pre
	5	抗体	老龄	5.0	20	20

[0126] - = 不适用, Pre = 在处理开始之前安乐死以收集脂肪组织的动物的子集。

[0127] 通过实时-qPCR在所述组的脂肪组织中定量P16^{Ink4a} mRNA (衰老细胞的标志物)。结果在表2中示出。在所述表中, $\Delta \Delta \text{Ct}$ = 对照组 (2) ΔCt 平均值 - 实验组 (1或3或5) ΔCt 平均值; 倍数表达 = $2^{-\Delta \Delta \text{Ct}}$ 。

[0128] 表2: 在脂肪组织中定量的P16^{Ink4a} mRNA

计算(未针对组4调节: 5.59)	组2对比组1		组2对比组3		组2对比组5	
	组2	组1	组2	组3	组2	组5
[0129] 平均 ΔCt	5.79	7.14	5.79	6.09	5.79	7.39
$\Delta \Delta \text{Ct}$	-1.35		-0.30		-1.60	
倍数表达	2.55		1.23		3.03	

[0130] 以上表指示, 与未处理的幼龄小鼠 (对照组1) 相比, 未处理的老龄小鼠 (对照组2) 表达多2.55倍的p16^{Ink4a} mRNA, 如所预期。当将在恢复第85天结束时安乐死的第2组未处理的老龄小鼠与在第22天治疗结束时安乐死的第1组未处理的幼龄小鼠比较时, 观察到了这种情况。当将来自第2组未处理的老龄小鼠的结果与来自第85天安乐死的第3组处理的老龄小鼠进行比较时, 观察到p16^{Ink4a} mRNA在第2组中比在第3组中高1.23倍。因此, 当用2.5 $\mu\text{g/克/BID/周}$ 的抗体处理老龄小鼠时, p16^{Ink4a} mRNA表达的水平较低。

[0131] 当将来自第2组 (对照) 未处理的老龄小鼠的结果与来自第22天安乐死的第5组 (5 $\mu\text{g/克}$) 处理的老龄小鼠进行比较时, 观察到p16^{Ink4a} mRNA在第2组 (对照) 中比在第5组 (5 $\mu\text{g/克}$) 中高3.03倍。此比较表明, 当以5.0 $\mu\text{g/克/BID/周}$ 处理第5组动物时, 它们具有较低的p16^{Ink4a} mRNA表达水平, 从而提供与幼龄未处理的小鼠 (即第1组) 相当的p16^{Ink4a} mRNA表达水平。与在恢复第85天结束时被安乐死的第3组 (2.5 $\mu\text{g/克}$) 小鼠不同, 第5组小鼠在处理第22天结束时被安乐死。

[0132] 这些结果表明所述抗体施用导致衰老细胞的杀死。

[0133] 还测量了腓肠肌的质量, 以确定抗体施用对肌肉减少症的作用。结果提供在表3中。结果表明, 与对照相比, 施用所述抗体增加肌肉质量, 但仅在5.0 $\mu\text{g/gm/BID/周}$ 的较高剂量下。

[0134] 表3: 抗体施用对腓肠肌质量的影响

组	概要 信息	腓肠肌 的绝对重量	相对于腓肠肌的体重 的重量
[0135]	1 平均值	0.3291	1.1037
	SD	0.0412	0.1473
	N	20	20
	2 平均值	0.3304	0.7671
	SD	0.0371	0.1246
	N	20	20
	3 平均值	0.3410	0.7706
	SD	0.0439	0.0971
	N	19	19
	5 平均值	0.4074	0.9480
	SD	0.0508	0.2049
	N	9	9

[0136] 实施例2:测试抗体的亲和力和动力学

[0137] 使用Na,Na-双(羧甲基)-L-赖氨酸三氟乙酸盐(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)作为细胞的AGE修饰的蛋白的模型底物对实施例1中使用的测试抗体的亲和力和动力学进行分析。使用系列S传感器芯片CM5(GE Healthcare,Pittsburgh,PA)在BIAcore™ T200(GE Healthcare,Pittsburgh,PA)上进行无标记的相互作用分析,其中Fc1设定为空白,并且Fc2用测试抗体(分子量为150,000Da)固定。运行缓冲液是25℃温度下的HBS-EP缓冲液(10mM HEPES,150mM NaCl,3mM EDTA和0.05%P-20,pH 7.4)。软件是BIAcore™ T200评估软件,版本2.0。在分析中使用双参考(Fc2-1和仅缓冲液注射),并将数据拟合至Langmuir 1:1结合模型。

[0138] 表4:亲和力和动力学分析的实验设置

[0139]	缔合和解离	
	流动路径	Fc1 和 Fc2
	流速(μl/min.)	30
	缔合时间(s)	300
	解离时间(s)	300
	样品浓度(μM)	20 – 5 – 1.25 (x2) – 0.3125 – 0.078 – 0

[0140] 反应对时间的图在图1中示出。从所述分析中确定以下值: $k_a(1/Ms) = 1.857 \times 10^3$;

$k_d (1/s) = 6.781 \times 10^{-3}$; $K_D (M) = 3.651 \times 10^{-6}$; $R_{max} (RU) = 19.52$; 并且 $Chi^2 = 0.114$. 由于拟合的 Chi^2 值小于 R_{max} 的 10%, 所以所述拟合是可靠的。

[0141] 实施例3: 鼠抗AGE IgG2b抗体和嵌合抗AGE IgG1抗体的构建和产生

[0142] 制备了鼠和嵌合人抗AGE抗体。鼠抗AGE抗体IgG2b重链的DNA序列在SEQ ID NO:12中示出。嵌合人抗AGE抗体IgG1重链的DNA序列在SEQ ID NO:13中示出。鼠抗AGE抗体 κ 轻链的DNA序列在SEQ ID NO:14中示出。嵌合人抗AGE抗体 κ 轻链的DNA序列在SEQ ID NO:15中示出。合成了所述基因序列并将其克隆到高表达哺乳动物载体中。对所述序列进行了密码子优化。在进行转染之前, 对完成的构建体进行序列确认。

[0143] 在转染前一天将HEK293细胞接种在摇瓶中, 并使用无血清的化学成分确定的培养基生长。将DNA表达构建体瞬时转染到0.03升悬浮HEK293细胞中。在20小时后, 对细胞取样以获得存活力和活细胞计数, 并测量滴度 (Octet QKe, ForteBio)。在整个瞬时转染产生运行中取得另外的读数。在第5天收获培养物, 并测量各自的另外样品的细胞密度、存活力和滴度。

[0144] 收获鼠和嵌合抗AGE抗体的条件培养基, 并通过离心和过滤从瞬时转染产生运行中澄清。将上清液在蛋白A柱上运行并用低pH缓冲液洗脱。在等分前进行使用0.2 μ m膜过滤器的过滤。在纯化和过滤后, 根据OD280和消光系数计算蛋白质浓度。表5中示出产量和等分部分的总结:

[0145] 表5: 产量和等分部分

[0146]	蛋白质	浓度(mg/mL)	体积 (mL)	小瓶的数 量	总产量 (mg)
	鼠抗-AGE	0.08	1.00	3	0.24
	嵌合抗-AGE	0.23	1.00	3	0.69

[0147] 使用LabChip®GXII, (PerkinElmer) 通过毛细管电泳十二烷基硫酸钠(CE-SDS)分析来评估抗体纯度。

[0148] 实施例4: 鼠(亲本)和嵌合抗AGE抗体的结合

[0149] 通过直接结合ELISA对实施例3中描述的鼠(亲本)和嵌合抗AGE抗体的结合进行了研究。使用抗羧甲基赖氨酸(CML)抗体(R&D Systems, MAB3247)作为对照。将CML与KLH(CML-KLH)缀合, 并将CML和CML-KLH两者过夜涂覆到ELISA板上。使用HRP-山羊抗小鼠Fc来检测对照和鼠(亲本)抗AGE抗体。使用HRP-山羊抗人Fc来检测嵌合抗AGE抗体。

[0150] 在pH 6.5的1x磷酸盐缓冲液中将抗原稀释至1 μ g/mL。将96孔微量滴定ELISA板用100 μ L/孔的稀释抗原涂覆, 并使其在4 $^{\circ}$ C下静置过夜。用1x PBS、2.5%BSA封闭板, 并在室温下在第二天早上放置1-2小时。用1x PBS、1%BSA以50 μ g/mL的起始浓度连续稀释来制备抗体样品。将第二抗体以1:5,000稀释。将100 μ L抗体稀释液施加至每个孔。将板在微板振荡器上在室温下孵育0.5-1小时。将所述板用1x PBS洗涤3次。将100 μ L/孔稀释的HRP缀合的山羊抗人Fc第二抗体施加至孔中。将板在微板振荡器上孵育1小时。然后将板用1x PBS洗涤3次。向每个孔中加入100 μ L HRP底物TMB以使板显影。在3-5分钟过后, 通过加入100 μ L的1N HCl终止反应。仅用CML涂覆进行第二直接结合ELISA。使用酶标仪读取OD450处的吸光度。

[0151] CML和CML-KLH ELISA的OD450吸光度原始数据在以下板图中示出。使用孔板中的

96个孔中的48个。版图中的空白孔表示未使用的孔。

[0152] CML和CML-KLH ELISA的版图：

[0153]

浓度 (ug/ml)	1	2	3	4	5	6	7
50	0.462	0.092	0.42		1.199	0.142	1.852
16.67	0.312	0.067	0.185		0.31	0.13	0.383
5.56	0.165	0.063	0.123		0.19	0.115	0.425
1.85	0.092	0.063	0.088		0.146	0.099	0.414
0.62	0.083	0.072	0.066		0.108	0.085	0.248
0.21	0.075	0.066	0.09		0.096	0.096	0.12
0.07	0.086	0.086	0.082		0.098	0.096	0.098
0	0.09	0.085	0.12		0.111	0.083	0.582
	R&D 阳性对照	亲本抗 AGE	嵌合抗 AGE		R&D 阳性对照	亲本抗 AGE	嵌合抗 AGE

CML-KLH 涂覆

CML 涂覆

[0154] 以下板图中示出仅CML ELISA的OD450吸光度原始数据。使用孔板中的96个孔中的24个。版图中的空白孔表示未使用的孔。

[0155] 仅CML ELISA的版图：

[0156]

浓度 (ug/ml)	1	2	3	4	5	6	7
50	1.913	0.165	0.992				
16.66667	1.113	0.226	0.541				
5.555556	0.549	0.166	0.356				
1.851852	0.199	0.078	0.248				
0.617284	0.128	0.103	0.159				
0.205761	0.116	0.056	0.097				
0.068587	0.073	0.055	0.071				
0	0.053	0.057	0.06				
	R&D 阳性对照	亲本抗 AGE	嵌合抗 AGE				

[0157] 对照和嵌合抗AGE抗体显示与CML和CML-KLH两者的结合。鼠(亲本)抗AGE抗体显示与CML或CML-KLH的非常弱的结合至无结合。来自重复ELISA的数据证实了对照和嵌合抗AGE与CML的结合。所有缓冲液对照均显示负信号。

[0158] 实施例5:人源化抗体

[0159] 通过产生将亲本(小鼠)抗体序列的选择部分与人框架序列融合的多个杂交序列来设计人源化抗体。基于整个框架中的总体序列同一性、匹配界面位置、类似分类的CDR规范位置以及必须除去的N-糖基化位点的存在来鉴定受体框架。基于两种不同的重链和轻链人受体框架设计了三条人源化轻链和三条人源化重链。重链的氨基酸序列在SEQ ID NO: 29、31和33中示出,它们分别由SEQ ID NO: 30、32和34中所示的DNA序列编码。轻链的氨基酸序列在SEQ ID NO: 35、37和39中示出,它们分别由SEQ ID NO: 36、38和40中所示的DNA序列

编码。通过眼睛和计算机建模对人源化序列进行系统地分析,以分离最有可能保留抗原结合的序列。目标是使最终人源化抗体中人序列的量最大化,同时保留原始抗体特异性。轻和重人源化链可组合以产生九种变体完全人源化抗体。

[0160] 对三条重链和三条轻链进行了分析以确定它们的人性。根据Gao,S.H.,等人,“Monoclonal antibody humanness score and its applications”,BMC Biotechnology, 13:55 (2013年7月5日)中所描述的方法来计算抗体人性得分。人性得分表示人样抗体可变区序列的样子。对于重链,79或更高的得分表示看起来人样;对于轻链,86或更高的得分表示看起来人样。以下表6中示出三条重链、三条轻链、亲本(小鼠)重链和亲本(小鼠)轻链的人性:

[0161] 表6:抗体人性

[0162]

抗体	人性 (框架+CDR)
亲本(小鼠)重链	63.60
重链1 (SEQ ID NO:29)	82.20
重链2 (SEQ ID NO:31)	80.76
重链3 (SEQ ID NO:33)	81.10
亲本(小鼠)轻链	77.87
轻链1 (SEQ ID NO:35)	86.74
轻链2 (SEQ ID NO:37)	86.04
轻链3 (SEQ IN NO:39)	83.57

[0163] 通过首先合成可变区序列构建了全长抗体基因。对所述序列进行优化以用于在哺乳动物细胞中表达。然后将这些可变区序列克隆到已含有人Fc结构域的表达载体中;对于重链,使用IgG1。

[0164] 通过在不存在血清的情况下使用化学成分确定的培养基将重链和轻链的质粒转染到悬浮HEK293细胞中来进行人源化抗体的小批量生产。使用MabSelect SuRe蛋白A培养基(GE Healthcare)纯化条件培养基中的完整抗体。

[0165] 从具有SEQ ID NO:29、31和33中所示的氨基酸序列的三条重链和具有SEQ ID NO:35、37和39中所示的氨基酸序列的三条轻链的每种组合产生了九种人源化抗体。还制备了比较嵌合亲本抗体。以下表7中示出所述抗体和它们各自的滴度:

[0166] 表7:抗体滴度

[0167]

抗体	滴度 (mg/L)
嵌合亲本	23.00
SEQ ID NO:29+SEQ ID NO:35	24.67
SEQ ID NO:29+SEQ ID NO:37	41.67
SEQ ID NO:29+SEQ ID NO:39	29.67
SEQ ID NO:31+SEQ ID NO:35	26.00
SEQ ID NO:31+SEQ ID NO:37	27.33
SEQ ID NO:31+SEQ ID NO:39	35.33

SEQ ID NO:33+SEQ ID NO:35	44.00
SEQ ID NO:33+SEQ ID NO:37	30.33
SEQ ID NO:33+SEQ ID NO:39	37.33

[0168] 例如,可通过剂量依赖性结合ELISA或基于细胞的结合测定来评估所述人源化抗体的结合。

[0169] 参考文献

[0170] 1.International Application Pub.No.WO 2009/143411 to Gruber (26Nov.2009) .

[0171] 2.U.S.Patent No.5,702,704 to Bucala(issued December 30,1997) .

[0172] 3.U.S.Patent No.6,380,165 to Al-Abed et al.(issued April 30,2002) .

[0173] 4.U.S.Patent No.6,387,373 to Wright et al.(issued May 14,2002) .

[0174] 5.U.S.Patent No.4,217,344 to Vanlerberghe et al.(issued August 12, 1980) .

[0175] 6.U.S.Patent No.4,917,951 to Wallach(issued April 17,1990) .

[0176] 7.U.S.Patent No.4,911,928 to Wallach(issued March 27,1990) .

[0177] 8.U.S.Patent Application Publication Pub.No.US 2010/226932 to Smith et al.(September 9,2010) .

[0178] 9.Ando K,et al.,“Membrane Proteins of Human Erythrocytes Are Modified by Advanced Glycation End Products During Aging in the Circulation,” Biochemical and Biophysical Research Communications,Vol.258,123-27(1999) .

[0179] 10.Lindsey JB,et al.,“Receptor For Advanced Glycation End-Products (RAGE)and soluble RAGE(sRAGE) :Cardiovascular Implications,”Diabetes Vascular Disease Research,Vol.6(1) ,7-14, (2009) .

[0180] 11.Bierhaus A,“AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus.I.The AGE concept,”Cardiovasc Res, Vol.37(3) ,586-600(1998) .

[0181] 12.Meuter A.,et al.“Markers of cellular senescence are elevated in murine blastocysts cultured in vitro:molecular consequences of culture in atmospheric oxygen”J Assist Reprod Genet.2014 Aug 10.[Epub ahead of print].

[0182] 13.Baker,D.J.et al.,“Clearance of p 16lnk4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders”,Nature,vol.479,pp.232-236, (2011) .

[0183] 14.Jana Hadrabová,et al.“Chicken immunoglobulins for prophylaxis: Effect of inhaled antibodies on inflammatory parameters in rat airways” Journal of Applied Biomedicine(in press;Available online 5May 2014) .

[0184] 15.Vlassara,H.et al.,“High-affinity-receptor-mediated Uptake and Degradation of Glucose-modified Proteins:A Potential Mechanism for the Removal of Senescent Macromolecules”,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,Vol.82,5588,5591 (1985) .

[0185] 16.Roll,P.et al.,“Anti-CD20 Therapy in Patients with Rheumatoid

Arthritis”, *Arthritis&Rheumatism*, Vol.58, No.6, 1566-1575 (2008).

[0186] 17. Kajstura, J. et al., “Myocyte Turnover in the Aging Human Heart”, *Circ.Res.*, Vol.107 (11), 1374-86, (2010).

[0187] 18. de Groot, K. et al., “Vascular Endothelial Damage and Repair in Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis”, *Arthritis and Rheumatism*, Vol.56 (11), 3847, 3847 (2007).

[0188] 19. Manesso, E. et al., “Dynamics of β -Cell Turnover: Evidence for β -Cell Turnover and Regeneration from Sources of β -Cells other than β -cell Replication in the HIP Rat”, *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab.*, Vol.297, E323, E324 (2009).

[0189] 20. Kirstein, M. et al., “Receptor-specific Induction of Insulin-like Growth Factor I in Human Monocytes by Advanced Glycosylation End Product-modified Proteins”, *J.Clin.Invest.*, Vol.90, 439, 439-440 (1992).

[0190] 21. Murphy, J.F., “Trends in cancer immunotherapy”, *Clinical Medical Insights:Oncology*, Vol.14 (4), 67-80 (2010).

[0191] 22. Virella, G. et al., “Autoimmune Response to Advanced Glycosylation End-Products of Human LDL”, *Journal of Lipid Research*, Vol.44, 487-493 (2003).

[0192] 23. Ameli, S. et al., “Effect of Immunization With Homologous LDL and Oxidized LDL on Early Atherosclerosis in Hypercholesterolemic Rabbits”, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, Vol.16, 1074 (1996).

[0193] 24. “Sarcopenia”, available online at en.wikipedia.org/wiki/Sarcopenia (November 14, 2014).

[0194] 25. “What is sarcopenia?”, available online at www.iofbonehealth.org/what-sarcopenia (2014).

[0195] 26. Blahd, W., “Sarcopenia with aging”, available online at www.webmd.com/healthy-aging/sarcopenia-with-aging (August 3, 2014).

[0196] 27. “Keyhole limpet hemocyanin”, available online at en.wikipedia.org/wiki/Keyhole_limpet_hemocyanin (April 18, 2014).

[0197] 28. “CML-BSA Product Data Sheet”, available online at www.cellbiolabs.com/sites/default/files/STA-314-cml-bsa.pdf (2010).

[0198] 29. “CML (N-epsilon- (Carboxymethyl) Lysine) Assays and Reagents”, available online at www.cellbiolabs.com/cml-assays (Accessed on December 15, 2014).

[0199] 30. Cruz-Jentoft, A.J. et al., “Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis”, *Age and Ageing*, Vol.39, pp.412-423 (April 13, 2010).

[0200] 31. Rolland, Y. et al., “Sarcopenia: its assessment, etiology, pathogenesis, consequences and future perspectives”, *J.Nutr.Health Aging*, Vol.12 (7), pp.433-450 (2008).

[0201] 32. Mera, K. et al., “An autoantibody against N^ε-(carboxyethyl) lysine

(CEL):Possible involvement in the removal of CEL-modified proteins by macrophages”,Biochemical and Biophysical Research Communications,Vol.407, pp.420-425 (March 12,2011) .

[0202] 33.Reddy,S,et al.,“Nε-(carboxymethyl) lysine is a dominant advanced glycation end product (AGE) antigen in tissue proteins”,Biochemistry,Vol.34, pp.10872-10878 (August 1,1995) .

[0203] 34.Naylor,R.M.et al.,“Senescent cells:a novel therapeutic target for aging and age-related diseases”,Clinical Pharmacology&Therapeutics,Vol.93(1) , pp.105-116 (December 5,2012) .

[0204] 35.Katcher,H.L.,“Studies that shed new light on aging”,Biochemistry (Moscow) ,Vol.78(9) ,pp.1061-1070 (2013) .

[0205] 36.Ahmed,E.K.et al.,“Protein Modification and Replicative Senescence of WI-38 Human Embryonic Fibroblasts”,Aging Cells,Vol.9,252,260 (2010) .

[0206] 37.Vlassara,H.et al.,“Advanced Glycosylation Endproducts on Erythrocyte Cell Surface Induce Receptor-Mediated Phagocytosis by Macrophages”,J.Exp.Med.,Vol.166,539,545 (1987) .

[0207] 38.Fielding,R.A.,et al.,“Sarcopenia:an undiagnosed condition in older adults.Current consensus definition:prevalence,etiology,and consequences”, Journal of the American Medical Directors Association,Vol.12(4) ,pp.249-256 (May 2011) .

[0208] 39.Maass,D.R.et al.,“Alpaca (Lama pacos) as a convenient source of recombinant camelid heavy chain antibodies (VHHs)”,Journal of Immunological Methods,Vol.324,No.1-2,pp.13-25 (July 31,2007) .

[0209] 40.Strietzel,C.J.et al.,“In vitro functional characterization of feline IgGs”,Veterinary Immunology and Immunopathology,Vol.158,pp.214-223 (2014) .

[0210] 41.Patel,M.et al.,“Sequence of the dog immunoglobulin alpha and epsilon constant region genes”,Immunogenetics,Vol.41,pp.282-286 (1995) .

[0211] 42.Wagner,B.et al.,“The complete map of the Ig heavy chain constant gene region reveals evidence for seven IgG isotypes and for IgD in the horse”,The Journal of Immunology,Vol.173,pp.3230-3242 (2004) .

[0212] 43.Hamers-Casterman,C.et al.,“Naturally occurring antibodies devoid of light chains”,Nature,Vol.363,pp.446-448 (June 3,1993) .

[0213] 44.De Genst,E.et al.,“Antibody repertoire development in camelids”, Developmental&Comparative Immunology,Vol.30,pp.187-198 (available online July 11,2005) .

[0214] 45.Griffin,L.M.et al.,“Analysis of heavy and light chain sequences of conventional camelid antibodies from Camelus dromedarius and Camelus bactrianus species”,Journal of Immunological Methods,Vol.405,pp.35-46

(available online January 18,2014) .

[0215] 46.Nguyen,V.K.et al.,“Camel heavy-chain antibodies:diverse germline V_HH and specific mechanisms enlarge the antigen-binding repertoire”,The European Molecular Biology Organization Journal,Vol.19,No,5,pp.921-930 (2000) .

[0216] 47.Muyldermans,S.et al.,“Sequence and structure of V_H domain from naturally occurring camel heavy chain immunoglobulins lacking light chains”, Protein Engineering,Vol.7,No.9,pp.1129-1135(1994) .

[0217] 48.Wesolowski,J.et al.,“Single domain antibodies:promising experimental and therapeutic tools in infection and immunity”,Medical Microbiology and Immunology,Vol.198,pp.157-174(June 16,2009) .

[0218] 49.Yan,S.F.et al.,“Soluble RAGE:therapy&biomarker in unraveling the RAGE axis in chronic disease and aging”,Biochemical Pharmacology,Vol.79, No.10,pp.1379-1386 (May 15,2010) .

[0219] 50.Chen,K.S.et al.,“Monoclonal antibody therapy for malignant glioma”,Glioma:Immunotherapeutic Approaches,pp.121-141 (2012) .

[0220] 51.Gao,S.H.,et al.,“Monoclonal antibody humanness score and its applications”,BMC Biotechnology,13:55 (July 5,2013) .

[0221] 52.Feige,M.J.et al.,“The structural analysis of shark IgNAR antibodies reveals evolutionary principles of immunoglobulins”,Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,Vol.111, No.22,pp.8155-8160 (June 3,2014) .

序列表

<110> Lewis S. Gruber

<120> 抗AGE抗体及其使用方法

<130> SIW01-007-CIP-W0

<160> 46

<210> 1

<211> 463

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 修饰的智人免疫球蛋白G1重链

<400> 1

```

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

```

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn			
210	215	220	
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His			
225	230	235	240
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val			
245	250	255	
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
260	265	270	
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
275	280	285	
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
290	295	300	
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
305	310	315	320
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
325	330	335	
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile			
340	345	350	
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			
355	360	365	
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu			
370	375	380	
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn			
385	390	395	400
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser			
405	410	415	
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg			
420	425	430	
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu			
435	440	445	
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
450	455	460	
<210> 2			
<211> 118			
<212> PRT			
<213> 小家鼠			
<400> 2			
Gln Val Gln Leu Leu Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15

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

<210> 3

<211> 234

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 修饰的智人免疫球蛋白G1κ轻链

<400> 3

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

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Lys Val Phe Pro Leu Ala Ser His Ser Ala
1 5 10 15

Ala Thr Ser Gly Ser Thr Val	Ala Leu Gly Cys Leu Val	Ser Ser Tyr
20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser	
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val	Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser	
50	55	60
Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro	Ala Ser Ser Leu Lys Ser Gln Thr	
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Ala His Pro	Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys	
85	90	95
Lys Ile Val Ile Lys Glu Cys Asn	Gly Gly Cys Pro Ala Glu Cys Leu	
100	105	110
Gln Val Gly Pro Ser Val Phe Ile	Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val	
115	120	125
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Thr	Val Thr Cys Val Val Val Asp Val	
130	135	140
Gly His Asp Phe Pro Asp Val Gln	Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val	
145	150	155
Glu Thr His Thr Ala Thr Thr Glu	Pro Lys Gln Glu Gln Phe Asn Ser	
165	170	175
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu	Pro Ile Gln His Lys Asp Trp Leu	
180	185	190
Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys	Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ala	
195	200	205
Pro Val Glu Arg Thr Ile Ser Lys	Pro Thr Gly Gln Pro Arg Glu Pro	
210	215	220
Gln Val Tyr Val Leu Ala Pro His	Arg Asp Glu Leu Ser Lys Asn Lys	
225	230	235
Val Ser Val Thr Cys Leu Val Lys	Asp Phe Tyr Pro Thr Asp Ile Asp	
245	250	255
Ile Glu Trp Lys Ser Asn Gly Gln	Pro Glu Pro Glu Thr Lys Tyr Ser	
260	265	270
Thr Thr Pro Ala Gln Leu Asp Ser	Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser	
275	280	285
Lys Leu Thr Val Glu Thr Asn Arg	Trp Gln Gln Gly Thr Thr Phe Thr	
290	295	300
Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu	His Asn His Tyr Thr Glu Lys Ser	
305	310	315
Val Ser Lys Ser Pro Gly Lys		320

325

<210> 6

<211> 415

<212> PRT

<213> 家马

<400> 6

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

260	265	270
Pro Gly Leu Asn Ala Ser Pro Gly Ala Thr Ser Trp Leu Gln Cys Lys		
275	280	285
Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Glu Ile Val Leu Thr Trp Leu Glu Gly		
290	295	300
Gln Arg Glu Val Asp Pro Ser Trp Phe Ala Thr Ala Arg Pro Thr Ala		
305	310	315
Gln Pro Gly Asn Thr Thr Phe Gln Thr Trp Ser Ile Leu Leu Val Pro		
325	330	335
Thr Ile Pro Gly Pro Pro Thr Ala Thr Tyr Thr Cys Val Val Gly His		
340	345	350
Glu Ala Ser Arg Gln Leu Leu Asn Thr Ser Trp Ser Leu Asp Thr Gly		
355	360	365
Gly Leu Ala Met Thr Pro Glu Ser Lys Asp Glu Asn Ser Asp Asp Tyr		
370	375	380
Ala Asp Leu Asp Asp Ala Gly Ser Leu Trp Leu Thr Phe Met Ala Leu		
385	390	395
Phe Leu Ile Thr Leu Leu Tyr Ser Gly Phe Val Thr Phe Ile Lys		
405	410	415
<210> 7		
<211> 334		
<212> PRT		
<213> 家犬		
<400> 7		
Ser Lys Thr Ser Pro Ser Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys His Gln Glu		
1	5	10
Ser Glu Gly Tyr Val Val Ile Gly Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe Pro		
20	25	30
Pro Glu Pro Val Asn Val Thr Trp Asn Ala Gly Lys Asp Ser Thr Ser		
35	40	45
Val Lys Asn Phe Pro Pro Met Lys Ala Ala Thr Gly Ser Leu Tyr Thr		
50	55	60
Met Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Ala Gln Cys Pro Asp Asp Ser		
65	70	75
Ser Val Lys Cys Gln Val Gln His Ala Ser Ser Pro Ser Lys Ala Val		
85	90	95
Ser Val Pro Cys Lys Asp Asn Ser His Pro Cys His Pro Cys Pro Ser		
100	105	110
Cys Asn Glu Pro Arg Leu Ser Leu Gln Lys Pro Ala Leu Glu Asp Leu		

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

<210> 8

<211> 426

<212> PRT

<213> 家犬

<400> 8

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

50	55	60
Ser Ile Val Ser Gln Val Thr Ala Ser Gly Lys Trp Ala Lys Gln Arg		
65	70	75
Phe Thr Cys Ser Val Ala His Ala Glu Ser Thr Ala Ile Asn Lys Thr		80
	85	90
Phe Ser Ala Cys Ala Leu Asn Phe Ile Pro Pro Thr Val Lys Leu Phe		95
	100	105
His Ser Ser Cys Asn Pro Val Gly Asp Thr His Thr Thr Ile Gln Leu		110
	115	120
Leu Cys Leu Ile Ser Gly Tyr Val Pro Gly Asp Met Glu Val Ile Trp		125
	130	135
Leu Val Asp Gly Gln Lys Ala Thr Asn Ile Phe Pro Tyr Thr Ala Pro		140
	145	150
Gly Thr Lys Glu Gly Asn Val Thr Ser Thr His Ser Glu Leu Asn Ile		155
	165	170
Thr Gln Gly Glu Trp Val Ser Gln Lys Thr Tyr Thr Cys Gln Val Thr		175
	180	185
Tyr Gln Gly Phe Thr Phe Lys Asp Glu Ala Arg Lys Cys Ser Glu Ser		190
	195	200
Asp Pro Arg Gly Val Thr Ser Tyr Leu Ser Pro Pro Ser Pro Leu Asp		205
	210	215
Leu Tyr Val His Lys Ala Pro Lys Ile Thr Cys Leu Val Val Asp Leu		220
	225	230
Ala Thr Met Glu Gly Met Asn Leu Thr Trp Tyr Arg Glu Ser Lys Glu		235
	245	250
Pro Val Asn Pro Gly Pro Leu Asn Lys Lys Asp His Phe Asn Gly Thr		255
	260	265
Ile Thr Val Thr Ser Thr Leu Pro Val Asn Thr Asn Asp Trp Ile Glu		270
	275	280
Gly Glu Thr Tyr Tyr Cys Arg Val Thr His Pro His Leu Pro Lys Asp		285
	290	295
Ile Val Arg Ser Ile Ala Lys Ala Pro Gly Lys Arg Ala Pro Pro Asp		300
	305	310
Val Tyr Leu Phe Leu Pro Pro Glu Glu Glu Gln Gly Thr Lys Asp Arg		315
	325	330
Val Thr Leu Thr Cys Leu Ile Gln Asn Phe Phe Pro Ala Asp Ile Ser		335
	340	345
Val Gln Trp Leu Arg Asn Asp Ser Pro Ile Gln Thr Asp Gln Tyr Thr		350
	355	360
		365

Thr Thr Gly Pro His Lys Val Ser Gly Ser Arg Pro Ala Phe Phe Ile
 370 375 380
 Phe Ser Arg Leu Glu Val Ser Arg Val Asp Trp Glu Gln Lys Asn Lys
 385 390 395 400
 Phe Thr Cys Gln Val Val His Glu Ala Leu Ser Gly Ser Arg Ile Leu
 405 410 415
 Gln Lys Trp Val Ser Lys Thr Pro Gly Lys
 420 425
 <210> 9
 <211> 335
 <212> PRT
 <213> 家猫
 <400> 9
 Ala Ser Thr Thr Ala Ser Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly
 1 5 10 15
 Thr Thr Ser Gly Ala Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Leu Gly Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Ala Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Leu Ser Asp Thr
 65 70 75 80
 Phe Thr Cys Asn Val Ala His Arg Pro Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Thr Val Pro Lys Thr Ala Ser Thr Ile Glu Ser Lys Thr Gly Glu Gly
 100 105 110
 Pro Lys Cys Pro Val Pro Glu Ile Pro Gly Ala Pro Ser Val Phe Ile
 115 120 125
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Ser Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 130 135 140
 Val Thr Cys Leu Val Val Asp Leu Gly Pro Asp Asp Ser Asn Val Gln
 145 150 155 160
 Ile Thr Trp Phe Val Asp Asn Thr Glu Met His Thr Ala Lys Thr Arg
 165 170 175
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 180 185 190
 Pro Ile Leu His Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys
 195 200 205

Val Asn Ser Lys Ser Leu Pro Ser Ala Met Glu Arg Thr Ile Ser Lys			
210	215	220	
Ala Lys Gly Gln Pro His Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Thr			
225	230	235	240
Gln Glu Glu Leu Ser Glu Asn Lys Val Ser Val Thr Cys Leu Ile Lys			
	245	250	255
Gly Phe His Pro Pro Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ile Thr Gly Gln			
	260	265	270
Pro Glu Pro Glu Asn Asn Tyr Gln Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ser			
	275	280	285
Asp Gly Thr Tyr Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Ser Val Asp Arg Ser His			
	290	295	300
Trp Gln Arg Gly Asn Thr Tyr Thr Cys Ser Val Ser His Glu Ala Leu			
305	310	315	320
His Ser His His Thr Gln Lys Ser Leu Thr Gln Ser Pro Gly Lys			
	325	330	335

<210> 10

<211> 96

<212> PRT

<213> 单峰驼

<400> 10

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

<210> 11

<211> 96

<212> PRT

<213> 单峰驼

<400> 11

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

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

<210> 12

<211> 1434

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 鼠抗AGE IgG2b重链

<400> 12

atggacccca agggcagcct gagctggaga atcctgctgt tcctgagcct ggccttcgag	60
ctgagctacg gccaggtgca gctgctgcag ccaggtgccg agctcgtgaa acctggcgcc	120
tctgtgaagc tggcctgcaa ggcttcggc tacctgttca ccactactg gatgcactgg	180
ctgaagcaga ggccaggcca gggcctggaa tggatcggcg agatctcccc caccaacggc	240
agagcctact acaacgcccc gttcaagtcc gaggccaccc tgaccgtgga caagtcctcc	300
aacaccgcct acatgcagct gtcctccctg acctctgagg cctccgccgt gtactactgc	360
gccagagctt acggcaacta cgagttcgcc tactggggcc agggcaccct cgtgacagtg	420
tctgtggcta agaccacccc tccctccgtg taccctctgg ctctggctg tggcgacacc	480
accggatcct ctgtgaccct gggctgcctc gtgaagggtt acttccctga gtccgtgacc	540
gtgacctgga actccggctc cctgtcctcc tccgtgcaca ctttccagc cctgctgcag	600
tccggcctgt acaccatgtc ctccagcgtg acagtgcct cctccacctg gccttcccag	660
accgtgacat gctctgtggc ccacctgcc ttttccacca ccgtggacaa gaagctggaa	720
ccctccggcc ccatctccac catcaacct tgccctccct gcaaagaatg ccacaagtgc	780
cctgccccca acctggaagg cggcccttc gtgttcatct tcccaccaa catcaaggac	840
gtgctgatga tctccctgac ccccaaagtg acctgcgtgg tgggtggacgt gtccgaggac	900
gacctgacg tgcagatcag ttggttcgtg aacaacgtgg aagtgcacac cgcccagacc	960
cagacacaca gagaggacta caacagcacc atcagagtgg tgtctacct gcccatccag	1020
caccaggact ggatgtccgg caaagaattc aagtgc aaag tgaacaacaa ggacctgccc	1080
agccccatcg agcggaccat ctccaagatc aagggcctcg tgcgggtcc ccaggtgtac	1140
attctgcctc caccagccga gcagctgtcc cggaaggatg tgtctctgac atgtctggtc	1200
gtgggcttca accccggcga catctccgtg gaatggacct ccaacggcca caccgaggaa	1260

aactacaagg	acaccgcccc	tgtgctggac	tccgacggct	cctacttcat	ctactccaag	1320
ctgaacatga	agacctccaa	gtgggaaaag	accgactcct	tctcctgcaa	cgtgcggcac	1380
gagggcctga	agaactacta	cctgaagaaa	accatctccc	ggtcccccg	ctag	1434

<210> 13

<211> 1416

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 嵌合抗AGE人IgG1抗体重链

<400> 13

atggaccca	agggcagcct	gagctggaga	atcctgctgt	tctgagcct	ggccttcgag	60
ctgagctacg	gccaggtgca	gctgctgcag	ccaggtgccg	agctcgtgaa	acctggcgcc	120
tctgtgaagc	tggcctgcaa	ggtttccggc	tacctgttca	ccacctactg	gatgcactgg	180
ctgaagcaga	ggccaggcca	gggcctggaa	tggatcggcg	agatctcccc	caccaacggc	240
agagcctact	acaacgcccc	gttcaagtcc	gaggccaccc	tgaccgtgga	caagtcctcc	300
aacaccgcct	acatgcagct	gtcctccctg	acctctgagg	cctccgccgt	gtactactgc	360
gccagagctt	acggcaacta	cgagttcgcc	tactggggcc	agggcaccct	cgtgacagtg	420
tctgtggcta	gcaccaaggg	ccccagcgtg	ttccctctgg	ccccagcag	caagagcacc	480
agcggcgga	ccgccgccct	gggctgcctg	gtgaaggact	acttccccga	gcccgtgacc	540
gtgtcctgga	acagcggcgc	tctgaccagc	ggagtgcaca	cettccctgc	cgtgctgcag	600
agcagcggcc	tgtactccct	gagcagcgtg	gtgaccgtgc	ccagcagcag	cctgggcacc	660
cagacctaca	tctgcaacgt	gaaccacaag	ccctccaaca	ccaaggtgga	caagaaggtg	720
gagcctaaga	gctgcgacaa	gaccacacc	tgccctccct	gccccgcccc	cgagctgctg	780
ggcggaccca	gcgtgttcct	gttccctccc	aagcccaagg	acacctgat	gatcagccgc	840
acccccgagg	tgacctgcgt	ggtggtggac	gtgagccacg	aggaccccga	ggtgaagttc	900
aactggtacg	tggacggcgt	ggaggtgcac	aacgccaaga	ccaagcctcg	ggaggagcag	960
tacaactcca	cctaccgcgt	ggtgagcgtg	ctgaccgtgc	tgcaccagga	ctggctgaac	1020
ggcaaggagt	acaagtgcaa	ggtgagcaac	aaggccctgc	ccgtcccat	cgagaagacc	1080
atcagcaagg	ccaagggcca	gccccgggag	cctcaggtgt	acacctgcc	ccccagccgc	1140
gacgagctga	ccaagaacca	ggtgagcctg	acctgcctgg	tgaagggett	ctaccctcc	1200
gacatcgccg	tggagtggga	gagcaacggc	cagcctgaga	acaactacaa	gaccaccct	1260
cccgtgctgg	acagcgacgg	cagctttctt	ctgtacagca	agctgaccgt	ggacaagtcc	1320
cggtggcagc	agggcaacgt	gttcagctgc	agcgtgatgc	acgaggccct	gcacaaccac	1380
tacaccaga	agagcctgag	cctgagcccc	ggatag			1416

<210> 14

<211> 720

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 鼠抗AGEκ轻链

<400> 14

```

atggagaccg acaccctgct gctctgggtg ctgctgctct gggtgcccgg ctccaccgga      60
gacgtcgtga tgaccagac cctctgttcc ctgcctgtgt ctctgggcga ccaggcctcc      120
atctcctgcc ggtctagaca gtccctcgtg aactccaacg gcaacacctt cctgcagtgg      180
tatctgcaga agcccggcca gtccccaag ctgctgatct acaaggtgtc cctgcggttc      240
tccggcgtgc cgcacagatt ttccggtctt ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc      300
tcccgggtgg aagccgagga cctgggcctg tactttctgca gccagtccac ccacgtgccc      360
cctacatttg gcggaggcac caagctggaa atcaaacggg cagatgctgc accaactgta      420
tccatcttcc caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc      480
ttgaacaact tctaccccaa agacatcaat gtcaagtgga agattgatgg cagtgaacga      540
caaaatggcg tcctgaacag ttggactgat caggacagca aagacagcac ctacagcatg      600
agcagcacc ctcagttgac caaggacgag tatgaacgac ataacagcta tacctgtgag      660
gccactcaca agacatcaac ttcacccatt gtcaagagct tcaacaggaa tgagtgttga      720

```

<210> 15

<211> 720

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 嵌合抗AGE人κ轻链

<400> 15

```

atggagaccg acaccctgct gctctgggtg ctgctgctct gggtgcccgg ctccaccgga      60
gacgtcgtga tgaccagac cctctgttcc ctgcctgtgt ctctgggcga ccaggcctcc      120
atctcctgcc ggtctagaca gtccctcgtg aactccaacg gcaacacctt cctgcagtgg      180
tatctgcaga agcccggcca gtccccaag ctgctgatct acaaggtgtc cctgcggttc      240
tccggcgtgc cgcacagatt ttccggtctt ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc      300
tcccgggtgg aagccgagga cctgggcctg tactttctgca gccagtccac ccacgtgccc      360
cctacatttg gcggaggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtggccgc cccagcgtg      420
ttcatcttcc ctcccagcga cgagcagctg aagtctggca ccgccagcgt ggtgtgcctg      480
ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag      540
agcggcaaca gccaggagag cgtgaccgag caggactcca aggacagcac ctacagcctg      600
agcagcacc tgacctgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgctgcgag      660
gtgaccacc agggaactgtc tagccccgtg accaagagct tcaaccgggg cgagtgttaa      720

```

<210> 16

<211> 477

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鼠抗AGE IgG2b重链

<400> 16

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

Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr			
305	310	315	320
Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr			
	325	330	335
Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys			
	340	345	350
Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser			
	355	360	365
Lys Ile Lys Gly Leu Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Ile Leu Pro Pro			
	370	375	380
Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys Asp Val Ser Leu Thr Cys Leu Val			
385	390	395	400
Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile Ser Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly			
	405	410	415
His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp Thr Ala Pro Val Leu Asp Ser Asp			
	420	425	430
Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys Leu Asn Met Lys Thr Ser Lys Trp			
	435	440	445
Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys Asn Val Arg His Glu Gly Leu Lys			
	450	455	460
Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr Ile Ser Arg Ser Pro Gly			
465	470	475	
<210> 17			
<211> 471			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 嵌合抗AGE人IgG1重链			
<400> 17			
Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser			
1	5	10	15
Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Gln Val Gln Leu Leu Gln Pro Gly			
	20	25	30
Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ala Cys Lys Ala			
	35	40	45
Ser Gly Tyr Leu Phe Thr Thr Tyr Trp Met His Trp Leu Lys Gln Arg			
	50	55	60
Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Ser Pro Thr Asn Gly			
65	70	75	80

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

385	390	395	400
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr			
	405	410	415
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr			
	420	425	430
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe			
	435	440	445
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys			
	450	455	460
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
465	470		
<210> 18			
<211> 239			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 鼠抗AGEκ轻链			
<400> 18			
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro			
1	5	10	15
Gly Ser Thr Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro			
	20	25	30
Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Arg Gln Ser			
	35	40	45
Leu Val Asn Ser Asn Gly Asn Thr Phe Leu Gln Trp Tyr Leu Gln Lys			
	50	55	60
Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Leu Arg Phe			
65	70	75	80
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe			
	85	90	95
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Leu Tyr Phe			
	100	105	110
Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys			
	115	120	125
Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro			
	130	135	140
Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe			
145	150	155	160
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp			

	165		170		175
Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp					
	180		185		190
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys					
	195		200		205
Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys					
	210		215		220
Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys					
225		230		235	
<210> 19					
<211> 239					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 嵌合抗AGE人κ轻链					
<400> 19					
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro					
1	5		10		15
Gly Ser Thr Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro					
	20		25		30
Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Arg Gln Ser					
	35		40		45
Leu Val Asn Ser Asn Gly Asn Thr Phe Leu Gln Trp Tyr Leu Gln Lys					
	50		55		60
Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Leu Arg Phe					
65		70		75	80
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe					
	85		90		95
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Leu Tyr Phe					
	100		105		110
Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly 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> 20		
<211> 118		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 鼠抗AGE IgG2b重链(可变区)		
<400> 20		
Gln Val Gln Leu Leu Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Lys Leu Ala Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Leu Phe Thr Thr Tyr		
20	25	30
Trp Met His Trp Leu Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
35	40	45
Gly Glu Ile Ser Pro Thr Asn Gly Arg Ala Tyr Tyr Asn Ala Arg Phe		
50	55	60
Lys Ser Glu Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Ala Ser Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Ala Tyr Gly Asn Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Val		
115		
<210> 21		
<211> 112		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 鼠抗AGEκ轻链(可变区)		
<400> 21		
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly		
1	5	10
		15

Asp	Gln	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Arg	Gln	Ser	Leu	Val	Asn	Ser
20				25				30							
Asn	Gly	Asn	Thr	Phe	Leu	Gln	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
35				40				45							
Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Leu	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
50				55				60							
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65				70				75				80			
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Leu	Tyr	Phe	Cys	Ser	Gln	Ser
85				90				95							
Thr	His	Val	Pro	Pro	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
100				105				110							
<210> 22															
<211> 326															
<212> PRT															
<213> 人工序列															
<220>															
<223> 人恒定区															
<400> 22															
Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
1				5				10				15			
Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
20				25				30							
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
35				40				45							
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
50				55				60							
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr
65				70				75				80			
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
85				90				95							
Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
100				105				110							
Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp
115				120				125							
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
130				135				140							
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly
145				150				155				160			

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
 165 170 175
 Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
 180 185 190
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
 195 200 205
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 225 230 235 240
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 245 250 255
 Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 260 265 270
 Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 290 295 300
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 305 310 315 320
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1H (重链)

<400> 23

Ser Tyr Thr Met Gly Val Ser

1 5

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2H (重链)

<400> 24

Thr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR3H (重链)

<220>

<221> misc_特征

<222> (10) .. (10)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 25

Gln Gly Gly Trp Leu Pro Pro Phe Ala Xaa

1	5	10
---	---	----

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1L (轻链)

<400> 26

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Ser Arg Gly Tyr Ser Tyr Met

1	5	10	15
---	---	----	----

His

<210> 27

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2L (轻链)

<400> 27

Leu Val Ser Asn Leu Glu Ser

1	5
---	---

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR3L (轻链)

<400> 28

Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg Ser

1 5

<210> 29

<211> 468

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化重链

<400> 29

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser

1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly

20 25 30

Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala

35 40 45

Ser Gly Tyr Leu Phe Thr Thr Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala

50 55 60

Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Glu Ile Ser Pro Thr Asn Gly

65 70 75 80

Arg Ala Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Val

85 90 95

Asp Lys Ser Thr Asn Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser

100 105 110

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Tyr Gly Asn Tyr Phe

115 120 125

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu

165 170 175

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His

180 185 190

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

195 200 205

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys

210 215 220

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu			
225	230	235	240
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Glu			
	245	250	255
Leu Leu Gly 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 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly			
	290	295	300
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn			
305	310	315	320
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp			
	325	330	335
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro			
	340	345	350
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu			
	355	360	365
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 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 Val 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

465

<210> 30

<211> 1408

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化重链

<400> 30

50 55 60

Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Glu Ile Ser Pro Thr Asn Gly			
65	70	75	80
Arg Ala Tyr Tyr Asn Ala Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Val			
	85	90	95
Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser			
	100	105	110
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Tyr Gly Asn Tyr Phe			
	115	120	125
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr			
	130	135	140
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser			
145	150	155	160
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu			
	165	170	175
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His			
	180	185	190
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser			
	195	200	205
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys			
	210	215	220
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu			
225	230	235	240
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Glu			
	245	250	255
Leu Leu Gly 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 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly			
	290	295	300
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn			
305	310	315	320
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp			
	325	330	335
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro			
	340	345	350
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu			
	355	360	365
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 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 Val 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			
465			
<210>	32		
<211>	1408		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	人源化重链		
<400>	32		
atggacccca agggcagcct gagctggaga atcctgctgt tctgagcct ggccttcgag		60	
ctgagctacg gccaggtgca gctggtgcag tctggcgccg aagtgaagaa acctggcgcc		120	
tccgtgaggt gtcttgcaag gcttcgggt acctgttcac cacctactgg atgcactggg		180	
tgcgacaggc ccctggacag ggcctggaat ggatgggcga gatctcccct accaacggca		240	
gagcctacta caacaaaat tccagggcag agtgaccatg accgtggaca agtccaccaa		300	
caccgcttac atggaactgt cctccctgcg gagcgaggac accgccgtgt actactgcgc		360	
tagagcctac ggcaactacg attcgctac tggggccagg gcaccctcgt gacagtgtcc		420	
tctgctagca ccaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa gagcaccagc		480	
ggcggaaccg ccgccctggg ctgcctggga aggactactt ccccagcccc gtgaccgtgt		540	
cctggaacag cggcgctctg accagcggag tgcacacett cctgcccgtg ctgcagagca		600	
gcggcctgta ctccctgagc agcgtggtga ccgtgccagc agcagcctgg gcacccagac		660	
ctacatctgc aacgtgaacc acaagccctc caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc		720	
taagagctgc gacaagaccc acacctgccc tcctgcccc gccccagct gctgggcgga		780	
cccagcgtgt tcctgttccc tcccagccc aaggacaccc tgatgatcag ccgcaccccc		840	
gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaggacc ccgaggtgag ttcaactggt		900	
acgtggacgg cgtggaggtg cacaacgcca agaccaagcc tcgggaggag cagtacaact		960	
ccacctaccg cgtggtgagc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg aacggcagga		1020	
gtacaagtgc aaggtgagca acaaggccct gcccgctccc atcgagaaga ccatcagcaa		1080	
ggccaagggc cagccccggg agcctcaggt gtacacctg cccccagcc gcgacgagct		1140	

gacaagaacc aggtgagcct gacctgcctg gtgaagggt tctaccctc cgacatcgcc 1200
 gtggagtggg agagcaacgg ccagcctgag aacaactaca agaccacccc tcccgctgctg 1260
 gacagcgacg cagcttcttc ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc cgggtggcagc 1320
 agggcaacgt gttcagctgc agcgtgatgc acgaggccct gcacaaccac tacaccaga 1380
 agagcctgag cctgagcccc gatagtaa 1408

<210> 33

<211> 468

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化重链

<400> 33

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

210	215	220
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu		
225	230	235
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Glu		
245	250	255
Leu Leu Gly 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 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
290	295	300
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn		
305	310	315
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		
325	330	335
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro		
340	345	350
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu		
355	360	365
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 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
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
405	410	415
Pro Pro Val 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

465

<210> 34

<211> 1408

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化重链

<400> 34

```

atggacccca agggcagcct gagctggaga atcctgctgt tcctgagcct ggccttcgag      60
ctgagctacg gccagggtgca gctgggtgcag tctggcgccg aagtgaagaa acctggcgcc      120
tccgtgaggt gtccctgcaag gcttccggct acctgttcac cacctactgg atgcactggg      180
tgcgacaggc ccctggacag ggcctggaat ggatgggcga gatctcccct accaacggca      240
gagcctacta caacaaaaat tccagggcag agtgaccatg accgtggaca agtccatcaa      300
caccgcttac atggaactgt ccagactgcg gagcgatgac accgccgtgt actactgcgc      360
tagagcctac ggcaactacg attcgctac tggggccagg gcaccctcgt gacagtgtcc      420
tctgctagca ccaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa gagcaccagc      480
ggcggaaccg ccgccctggg ctgcctggga aggactactt ccccgagccc gtgaccgtgt      540
cctggaacag cggcgctctg accagcggag tgcacacett cctgcccgtg ctgcagagca      600
gcggcctgta ctccctgagc agcgtggtga ccgtgccagc agcagcctgg gcaccagac      660
ctacatctgc aacgtgaacc acaagccctc caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc      720
taagagctgc gacaagaccc acacctgccc tcctgcccc gccccgagct gctgggcgga      780
cccagcgtgt tcctgttccc tcccaagccc aaggacaccc tgatgatcag ccgcaccccc      840
gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaggacc ccgaggtgag ttcaactggt      900
acgtggacgg cgtggagggt cacaacgcca agaccaagcc tcgggaggag cagtacaact      960
ccacctaccg cgtggtgagc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg aacggcagga     1020
gtacaagtgc aaggtgagca acaaggccct gcccgctccc atcgagaaga ccatcagcaa     1080
ggccaagggc cagccccggg agcctcaggt gtacaccctg cccccagcc gcgacgagct     1140
gacaagaacc aggtgagcct gacctgcctg gtgaagggtt tctaccctc cgacatcgcc     1200
gtggagtggg agagcaacgg ccagcctgag aacaactaca agaccacccc tcccgtgctg     1260
gacagcgacg cagcttcttc ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc cgggtggcagc     1320
agggcaacgt gttcagctgc agcgtgatgc acgaggccct gcacaaccac tacaccaga     1380
agagcctgag cctgagcccc gatagtaa                                     1408

```

<210> 35

<211> 238

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化轻链

<400> 35

```

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

```

50	55	60	
Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Leu Arg Phe			
65	70	75	80
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe			
	85	90	95
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr			
	100	105	110
Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Val			
	115	120	125
Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro			
	130	135	140
Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu			
145	150	155	160
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn			
	165	170	175
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser			
	180	185	190
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala			
	195	200	205
Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly			
	210	215	220
Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
225	230	235	
<210>	36		
<211>	715		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	人源化轻链		
<400>	36		
atggagaccg acaccctgct gctctgggtg ctgctgctct gggtgccccg ctccaccgga		60	
gacgtcgtga tgaccagtc cctctgttc ctgctgtga cctgggaca gctgcttc		120	
atctcctcag atcctcccag tccctcgtga actccaacgg caacaccttc ctgcagtgg		180	
atcagcagcg gcctggccag agccccagac tgetgateta caaggtgttc ctgcggttct		240	
ccggcgtgcc cgacgatttt ccggtcttgg ctctggcacc gacttcaccc tgaagatctc		300	
ccgggtggaa gccgaggacg tgggcgtgta ctactgttc cagagcacc acgtgcccc		360	
tacatttggc ggaggcacca agtggaaatc aagcggaccg tgccgcccc cagcgtgttc		420	
atcttccttc ccagcgacga gcagctgaag tctggcaccg ccagcgtgggt gtgctgctg		480	
aacaacttct acccccgcga ggccaagggc agtgaaggt ggacaacgcc ctgcagagcg		540	

gcaacagcca ggagagcgtg accgagcagg actccaagga cagcacctac agcctgagca	600
gcaccctgac cctgagcaag gccgactacg agaagacaag gtgtacgcct gcgaggtgac	660
ccaccagggga ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gctaa	715
<210> 37	
<211> 238	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人源化轻链	
<400> 37	
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro	
1 5 10 15	
Gly Ser Thr Gly Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro	
20 25 30	
Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Arg Gln Ser	
35 40 45	
Leu Val Asn Ser Asn Gly Asn Thr Phe Leu Gln Trp Tyr Gln Gln Arg	
50 55 60	
Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Leu Arg Phe	
65 70 75 80	
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe	
85 90 95	
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr	
100 105 110	
Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Val	
115 120 125	
Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro	
130 135 140	
Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu	
145 150 155 160	
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn	
165 170 175	
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser	
180 185 190	
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala	
195 200 205	
Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly	
210 215 220	
Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	

225	230	235	
<210>	38		
<211>	715		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	人源化轻链		
<400>	38		
atggagaccg acaccctgct gctctgggtg ctgctgctct gggtgccccg ctccaccgga			60
gacgtcgtga tgaccacagtc cctctgtgtc ctgcctgtga cctggggaca gcctgcctcc			120
atctcctcag atccaggcag tccctcgtga actccaacgg caacaccttc ctgcagtggg			180
atcagcagcg gcctggccag agccccagac tgetgateta caaggtgtcc ctgcggttct			240
ccggcgtgcc cgacgatttt ccggetctgg ctctggcacc gacttcaccc tgaagatctc			300
ccgggtggaa gccgaggacg tgggcgtgta ctactgtctc cagagcacc acgtgcccc			360
tacatttggc ggaggcacca agtggaaatc aagcggaccg tgcccgcccc cagcgtgttc			420
atcttccctc ccagcgacga gcagctgaag tctggcaccg ccagcgtggg gtgcctgctg			480
aacaacttct acccccgcga ggccaagggc agtggaaagt ggacaacgcc ctgcagagcg			540
gcaacagcca ggagagcgtg accgagcagg actccaagga cagcacctac agcctgagca			600
gcaccctgac cctgagcaag gccgactacg agaagacaag gtgtacgcct gcgaggtgac			660
ccaccaggga ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gctaa			715
<210>	39		
<211>	238		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	人源化轻链		
<400>	39		
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro			
1 5 10 15			
Gly Ser Thr Gly Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Ser Pro			
20 25 30			
Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser			
35 40 45			
Leu Val Asn Ser Asn Gly Asn Thr Phe Leu Gln Trp Tyr His Gln Arg			
50 55 60			
Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Leu Arg Phe			
65 70 75 80			
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Lys Asp Phe			
85 90 95			

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

<210> 40

<211> 715

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化轻链

<400> 40

atggagaccg acaccctgct gctctgggtg ctgctgctct gggtgcccgg ctccaccgga	60
gacgtcgtga tgaccacgac cctctgttcc agtcctgtga ccctgggaca gcctgcctcc	120
atctcctcag atcctcccag tccctcgtga actccaacgg caacaccttc ctgcagtggg	180
atcaccagcg gcctggccag cctcccagac tgetgateta caaggtgtcc ctgcggttct	240
ccggcgtgcc cgacgatttt ccggctctgg cgctggcaag gacttcaccc tgaagatctc	300
ccgggtggaa gccgaggacg tgggcgtgta ctactgctcc cagagcacc accgtgcccc	360
tacatttggc cagggcacca actggaaatc aagcggaccg tgcccgcccc cagcgtgttc	420
atcttccctc ccagcgacga gcagctgaag tctggcaccg ccagcgtggg gtgcctgctg	480
aacaacttct acccccgcga ggccaagggc agtggaaggt ggacaacgcc ctgcagagcg	540
gcaacagcca ggagagcgtg accgagcagg actccaagga cagcacctac agcctgagca	600
gcaccctgac cctgagcaag gccgactacg agaagacaag gtgtacgcct gcgaggtgac	660
ccaccaggga ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gctaa	715

<210> 41

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 41

Thr Tyr Trp Met His

1 5

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 42

Glu Ile Ser Pro Thr Asn Gly Arg Ala Tyr Tyr Asn Ala Arg Phe Lys

1 5 10 15

Ser

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 43

Ala Tyr Gly Asn Tyr Glu Phe Ala Tyr

1 5

<210> 44

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 44

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

1 5 10 15

<210> 45

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 45

Lys Val Ser Leu Arg Phe Ser

1 5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 46

Ser	Gln	Ser	Thr	His	Val	Pro	Pro	Thr
1				5				

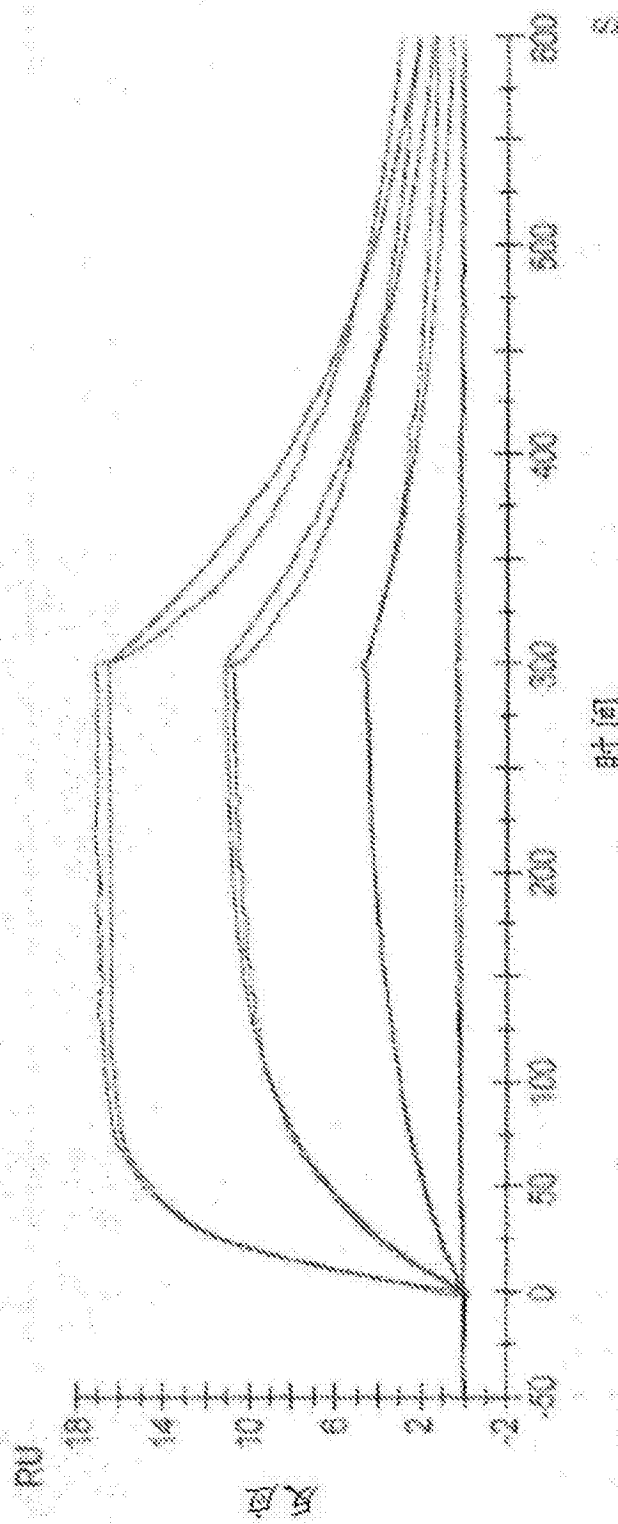


图1