

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200880022270.5

[51] Int. Cl.

C07K 16/00 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 39/42 (2006.01)

[43] 公开日 2010 年 3 月 31 日

[11] 公开号 CN 101687919A

[22] 申请日 2008.6.25

[21] 申请号 200880022270.5

[30] 优先权

[32] 2007.6.26 [33] US [31] 60/946,271

[32] 2007.8.1 [33] US [31] 60/953,260

[32] 2008.5.21 [33] US [31] 61/054,927

[86] 国际申请 PCT/US2008/068155 2008.6.25

[87] 国际公布 WO2009/003019 英 2008.12.31

[85] 进入国家阶段日期 2009.12.28

[71] 申请人 米迪缪尼有限公司

地址 美国马里兰州

[72] 发明人 S·克里希南 J·叙齐 P·基纳

G·洛松斯 H·吴 W·达拉夸

B·里克特

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 韦东 张静

权利要求书 4 页 说明书 107 页 序列表 134 页
附图 12 页

[54] 发明名称

治疗 RSV 感染和相关病症的方法

[57] 摘要

本发明提供在对象中控制、治疗和/或改善呼吸道合胞病毒(RSV)感染(如,急性RSV疾病或RSV上呼吸道感染(URI)和/或下呼吸道感染(LRI)),和/或与其相关的症状或长期呼吸道病症(如哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)或慢性阻塞性肺病(COPD))的方法,所述方法包括给予所述人有效量的一种或多种抗体,所述抗体以高亲和力和/或高亲和力免疫学特异性结合一种或多种RSV抗原,还包含修饰的IgG恒定区或其FcRn-结合片段,从而不仅减轻RSV感染,而且降低促炎性上皮细胞免疫应答,从而能降低所述患者随后发生哮喘和/或喘鸣和/或COPD的可能性。

1. 一种免疫学特异性结合 RSV F 抗原的修饰抗体, 所述修饰抗体包含三个重链可变区互补决定区(VH CDR)和三个轻链可变区 CDR(VL CDR), 其具有 A4B4L1FR-S28R、A4B4-F52S、AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、Al2a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、IX-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(l)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5 或 A4B4(1)的 VH CDR 1、2 和 3 以及 VL CDR 1、2 和 3 的氨基酸序列, 如表 1 所示, 其中所述修饰抗体具有相对于野生型人 IgG Fc 结构域包含一个或多个氨基酸取代的修饰的人 IgG Fc 结构域, 其中所述氨基酸取代导致与不含所述氨基酸取代的野生型抗体相比, 所述修饰抗体对一种或多种 Fc 受体的结合亲和力改变。

2. 如权利要求 1 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述修饰抗体包含 VH 结构域和 VL 结构域, 其具有 A4B4L1FR-S28R、A4B4-F52S、AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、Al2a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、IX-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(l)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5 或 A4B4(1)的 VH 结构域和 VL 结构域的氨基酸序列, 如表 1 所示。

3. 如权利要求 1 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述修饰的 IgG Fc 结构域在按照 Kabat 所列的 EU 索引编号的氨基酸残基 332E 上包含氨基酸取代。

4. 如权利要求 3 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述修饰的 IgG Fc 结构域还在按照 Kabat 所列的 EU 索引编号的氨基酸残基 239D 和 330L 上包含氨基酸取代。

5. 如权利要求 1 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述一个或多个氨基酸取代选自下组: 234E、235R、235A、235W、235P、235V、235Y、236E、239D、265L、269S、269G、298I、298T、298F、327N、327G、327W、328S、328V、329H、329Q、330K、330V、330G、330Y、330T、330L、330I、330R、330C、332E、332H、332S、332W、332F、332D 和 332Y, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

6. 如权利要求 1 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述修饰的 IgG Fc 结构域在按照 Kabat 所列的 EU 索引编号的氨基酸残基 331S 上包含氨基酸取代。

7. 如权利要求 6 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述修饰的 IgG Fc 结构域还在按照 Kabat 所列的 EU 索引编号的氨基酸残基 234F 和 235E 上包含氨基酸取代。

8. 如权利要求 1 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述一个或多个氨基酸取代选自下组: 233P、234V、235A、265A、327G 和 330S, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

9. 如权利要求 3-7 中任一项所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述修饰的 IgG Fc 结构域相对于野生型人 IgG Fc 结构域还包含其它氨基酸取代, 其中所述其它氨基酸取代导致与不含所述其它氨基酸取代的野生型抗体相比修饰抗体的血清半衰期延长。

10. 如权利要求 9 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述其它氨基酸取代是在氨基酸残基 251、252、254、255、256、308、309、311、312、314、385、386、387、389、428、433、434 和 436 中一个或多个位置上的取代, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

11. 如权利要求 10 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述其它氨基酸取代是在位置 251 上用亮氨酸取代, 在位置 252 上用酪氨酸、色氨酸或苯丙氨酸取代, 在位置 254 上用苏氨酸或丝氨酸取代, 在位置 255 上用精氨酸取代, 在位置 256 上用谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸或谷氨酸取代, 在位置 308 上用苏氨酸取代, 在位置 309 上用脯氨酸取代, 在位置 311 上用丝氨酸取代, 在位置 312 上用天冬氨酸取代, 在位置 314 上用亮氨酸取代, 在位置 385 上用精氨酸、天冬氨酸或丝氨酸取代, 在位置 386 上用苏氨酸或脯氨酸取代, 在位置 387 上用精氨酸或脯氨酸取代, 在位置 389 上用脯氨酸、天冬酰胺或丝氨酸取代, 在位置 428 上用甲硫氨酸或苏氨酸取代, 在位置 434 上用酪氨酸或苯丙氨酸取代, 在位置 433 上用组氨酸、精氨酸、赖氨酸或丝氨酸取代, 或者在位置 436 上用组氨酸、酪氨酸、精氨酸或苏氨酸取代, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

12. 如权利要求 11 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述其它氨基酸取代是在 252 位用酪氨酸取代、在 254 位用苏氨酸取代和在 256 位用谷氨酸取代, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

13. 一种组合物，其包含无菌载体中的权利要求 1、3、6 或 9 所述的修饰抗体。

14. 一种治疗感染 RSV 的人患者的方法，所述方法包括给予有此需要的所述患者治疗有效量的权利要求 13 所述的组合物。

15. 如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，所述治疗有效量选自下组：约 30 mg/kg、约 25 mg/kg、约 20 mg/kg、约 15 mg/kg、约 10 mg/kg、约 5 mg/kg、约 3 mg/kg、约 1.5 mg/kg、约 1 mg/kg、约 0.75 mg/kg、约 0.5 mg/kg、约 0.25 mg/kg、约 0.1 mg/kg、约 0.05 mg/kg 和约 0.025 mg/kg。

16. 如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，所述人患者接受过骨髓移植，患有囊性纤维化病、支气管肺发育异常、先天性心脏病、慢性阻塞性肺病(COPD)、先天性免疫缺陷或获得性免疫缺陷。

17. 如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，所述人患者是婴儿、早产婴儿、因 RSV 感染住院治疗的婴儿、倾向于发生哮喘和/或反应性气道病(RAD)和/或喘鸣的婴儿或年龄为 0-5 岁的儿童。

18. 如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，所述人患者是老年人，或者居住在疗养院。

19. 如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，所述组合物通过鼻内递送、肌肉内递送、真皮内递送、腹膜内递送、静脉内递送、皮下递送、口服递送、经肺递送或其组合给予所述人患者。

20. 如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，在 RSV 季节中将所述组合物给予所述患者五次、四次、三次、两次或一次。

21. 如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，经病毒脱落测定，与未治疗性给予所述修饰抗体的对照相比，在所述人患者中治疗性给予所述修饰抗体将 RSV 复制抑制或下调至少 99%、至少 95%、至少 90%、至少 85%、至少 80%、至少 75%、至少 70%、至少 60%、至少 50%、至少 45%、至少 40%、至少 35%、至少 30%、至少 25%、至少 20%或至少 10%。

22. 如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，经生物试验测定，与未治疗性给予所述修饰抗体的对照相比，在所述人患者中治疗性给予所述修饰抗体将细胞因子的血清水平降低约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、

约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 95%或约 100%。

23. 如权利要求 14 所述的方法, 其特征在于, 经生物试验测定, 与未治疗性给予所述修饰抗体的对照相比, 在所述人患者中治疗性给予所述修饰抗体将趋化因子释放的血清水平降低约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 95%或约 100%。

24. 一种治疗感染 RSV 的人患者的方法, 所述方法包括给予治疗有效量的融合蛋白, 该融合蛋白包含具有表 1 所列 CDR 的氨基酸序列的 CDR 和异源氨基酸序列。

25. 一种治疗感染 RSV 的人患者的方法, 所述方法包括给予有此需要的所述患者治疗有效量的 F(ab)' 片段, 该片段包含三个重链可变区互补决定区(VH CDR)和三个轻链可变区 CDR(VL CDR), 它们具有 A4B4L1FR-S28R、A4B4-F52S、AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、Al2a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、IX-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5 或 A4B4(1)的氨基酸序列, 如表 1 所示, 其中所述给药是在 RSV 季节中经肺给药。

治疗 RSV 感染和相关病症的方法

1. 介绍

本发明涉及包含免疫学特异性结合 RSV 抗原的抗体或其片段的组合物，以及利用所述组合物治疗或改善与呼吸道合胞病毒(RSV)感染有关的症状和/或长期后果的方法。具体说，本发明涉及治疗或改善与 RSV 感染有关的症状和/或长期后果的方法，所述方法包括给予人对象有效量的免疫学特异性结合 RSV 抗原的一种或多种抗体或其片段，使得所述抗体或抗体片段在所述人对象中达到一定血清效价。本发明提供以高亲合力和/或高亲和力免疫学特异性结合呼吸道合胞病毒(RSV)抗原的 Fc 修饰的抗体。本发明还提供控制、治疗和/或改善 RSV 感染(如，急性 RSV 疾病或 RSV 上呼吸道感染(URI)和/或下呼吸道感染(LRI))的方法，所述方法包括给予人对象有效量的本文提供的一种或多种 Fc 修饰的抗体(如一种或多种修饰抗体)。本发明还提供通过给予治疗有效量的本发明抗体来治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法。本发明也涉及包含免疫学特异性结合 RSV 抗原抗体或其片段的可检测或诊断性组合物，以及利用所述组合物监测或诊断 RSV 感染的方法。

2. 发明背景

呼吸道合胞病毒

呼吸道感染是上呼吸道(如鼻、耳、鼻窦和咽喉)和下呼吸道(如气管、支气管和肺)的常见感染。上呼吸道感染的症状包括流涕或鼻塞、刺激性、烦躁、食欲差、活动水平降低、咳嗽和发热。病毒性上呼吸道感染引起咽喉痛、感冒，哮吼和流感或/或与其有关。下呼吸道感染的临床表现包括在肺中产生痰液的浅咳、发热和呼吸困难。

呼吸道合胞病毒(RSV)是全球呼吸道疾病的主要原因之一。在美国，它每年造成几万名患者住院治疗和上千例死亡(参见 Black, C.P., Resp. Care 2003 48(3):209-31, 最近的有关 RSV 生物学和控制的综述)。婴儿和儿童最容易发生严

重的 RSV 感染，这种感染会迁移至下呼吸系统，造成肺炎或细支气管炎。实际上，80%的儿童细支气管炎病例和 50%的婴儿肺炎是 RSV 引起的。该病毒无处不在且传染性很强，几乎所有儿童在两岁之前都感染过这种病毒。虽然感染不产生持久的免疫力，但再次感染可能不那么严重，因此在年龄较大的儿童和健康成年人中，RSV 的表现是感冒或流感样疾病，影响上和/或下呼吸系统，但不会发展成严重的下呼吸道疾病。然而，RSV 感染在老年人或免疫削弱的成年人中，可能成为严重的疾病。(Evans, A.S.编辑, 1989, 《人类病毒感染. 流行病学和控制》(Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control), 第 3 版, PMB 图书公司(Plenum Medical Book), 纽约, 第 525-544 页; Falsey, A.R., 1991, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 12:602-608; 和 Garvie 等, 1980, *Br. Med. J.* 281:1253-1254; Hertz 等, 1989, *Medicine* 68:269-281)。

虽然尚未获得疫苗或可市售的疗法，但在处于 RSV 引起的严重下呼吸道疾病高风险中的婴儿的预防领域，以及减轻 LRI 的领域获得了一些成果。具体说，有两种基于免疫球蛋白的疗法被批准用于保护高风险婴儿免于发生严重的 LRI：RSV-IGIV (RSV-免疫球蛋白静脉内，也称为 RespiGam™)和帕丽珠单抗(SYNAGIS®)。然而，除用作严重下呼吸道急性 RSV 疾病的预防剂外，RSV-IGIV 和帕丽珠单抗均未批准用于其它用途。

RSV 容易通过与污染分泌物的物理接触而传播。该病毒可以在手上存活至少半小时，在工作台面和用过的纸巾上存活数小时。与接触严重感染有关的风险因素证实 RSV 有强烈的传染特性。最高的风险因素之一是住院治疗，在一些案例中发现超过 50%的儿科病房员工感染该病毒(Black, C.P., *Resp. Care* 2003 48(3):209-31)。这些成年人感染中，多达 20%的病例无症状，但仍会产生大量病毒脱落物。其它风险因素包括进入日托中心、拥挤生活条件和家庭中有学龄兄弟姐妹。

因为，如上所述，RSV 不是简单地局限于高风险婴儿的疾病，所以与预防相反，研究作为低风险儿童群体或高风险成年人群的替代治疗的 RSV 疗法非常有用。然而，确定的 RSV 疾病的治疗选择有限。下呼吸道的严重 RSV 疾病常常需要大量支持性疗法，包括给予湿润氧气和呼吸辅助(Fields 等编, 1990, 现场病毒学(Fields Virology), 第 2 版, 第 1 卷, 拉文出版社(Raven Press), 纽约, 第 1045-1072 页)。唯一的批准用于治疗感染的药物是抗病毒剂利巴韦林(美国感染

性疾病儿童医学委员会学会(American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Diseases), 1993, Pediatrics 92:501-504)。业已证明, 它能有效治疗 RSV 肺炎和细支气管炎、在有免疫力的儿童中改善严重 RSV 疾病的病程(Smith 等, 1991, New Engl. J. Med. 325:24-29)。然而, 利巴韦林的应用受到限制, 因为它需要长期气雾剂给药, 并且对住院治疗期间可能接触该药物孕妇有潜在风险。

已经进行利用帕丽珠单抗治疗 RSV 的临床研究。Malley 和他的同事们在单次输注 15 mg/kg 帕丽珠单抗或安慰剂之前和之后感染 RSV 的具有严重 RSV 疾病的插管婴儿中研究了帕丽珠单抗对下呼吸道 RSV 浓度的有抗病毒作用(参见 Malley, R.等, *The Journal of Infectious Diseases*, 1998;178:1555-1561)。在该研究中, 观察到肺部病毒效价发生统计学显著性降低, 但 RSV 住院持续时间、补充氧气治疗天数或下呼吸道感染评分高的住院天数没有改善。

在 Saez-Llorens 和同事们进行的另一项研究中, 进行了 I/II 期临床试验以描述之前健康的儿童因 RSV 感染住院治疗后单次静脉内给予 15-mg/kg 剂量的帕丽珠单抗的安全性、耐受性、药代动力学特性和临床后果。虽然该研究得出静脉内给予帕丽珠单抗在因 RSV 疾病住院治疗的儿童中安全且良好耐受的结论, 但安慰剂和帕丽珠单抗组之间的临床后果没有显著性差异(即, RSV 住院治疗持续时间、补充氧气治疗天数或下呼吸道感染评分高的住院天数没有改善)。

一种改善治疗后果的方式和选择是开发一种或多种强效的 RSV 中和性单克隆抗体(MAb)。这类 MAb 应该是人或人源化抗体, 以保持有利的药代动力学特性并避免产生人抗-小鼠抗体反应, 因为在整个 RSV 季节中需要重复给药。与预防相反, 一种这类抗体莫维珠单抗或 MEDI-524(参见 Wu 等, *J. Mol. Biol.* 368:652-655 (2007))在治疗方案中产生更成功的临床后果。可假设, 在低风险婴儿中有效治疗 RSV 可减轻随后发生的呼吸道疾病或长期后果, 如哮喘、反应性气道病(RAD)、喘鸣和/或慢性阻塞性肺病(COPD)。

哮喘和反应性气道病(RAD)

美国约一千两百万人患有哮喘, 它是儿童住院治疗的主要病因。《莫克诊断和治疗手册》(The Merck Manual of Diagnosis and Therapy)(第 17 版, 1999)。

哮喘是肺部炎性疾病, 其特征是呼吸道反应性过高(“AHR”)、支气管收缩(即喘鸣)、嗜酸性细胞性炎症、粘液分泌过多、上皮纤维化和 IgE 水平升高。哮

喘发作可能由环境触发物(如螨、昆虫、动物(如猫、狗、兔、小鼠、大鼠、仓鼠、豚鼠、小鼠、大鼠和鸟类)、真菌、空气污染物(如烟草烟)、刺激性气体、烟气、蒸汽、气溶胶、化学物质或花粉)、锻炼或冷空气触发。哮喘的原因未知。然而,推测哮喘家族史(London 等, 2001, *Epidemiology* 12(5):577-83)、早期接触过敏原如尘螨、烟草烟和蟑螂(Melen 等, 2001, 56(7):646-52)以及呼吸道感染(Wenzel 等, 2002, *Am J Med*, 112(8):672-33 和林(Lin)等, 2001, *J Microbiol Immuno Infect*, 34(4):259-64)如 RSV 可能提高发生哮喘的风险。关于哮喘的综述, 包括风险因素、动物模型和炎性标记物可参见 O' Byrne 和 Postma (1999), *Am. J. Crit. Care. Med.* 159:S41-S66, 通过引用将其全文纳入本文。

现有疗法的主要目的是控制哮喘, 包括给予 β -肾上腺素能药(如肾上腺素和异丙基肾上腺素)、茶碱、抗胆碱能药(如阿托品和异丙托溴铵)、皮质类固醇和白三烯抑制剂。这些治疗伴有副作用, 如药物相互作用、口干燥、视力模糊、儿童生长抑制和绝经期妇女骨质疏松。预防性给予色甘酸和奈多罗米, 以抑制炎性细胞释放介导体、降低呼吸道反应性过高并阻断对过敏原起反应。然而, 目前没有能防止发生哮喘风险较高的对象发生哮喘的治疗方法。因此, 需要副作用较低和疗效较好的新的哮喘治疗方法。具体说, 需要开发可减缓或减轻患者对病毒(即 RSV)感染的炎性反应(这是随后发生哮喘的风险因素)的治疗剂。

反应性呼吸道疾病的含义比哮喘样症状更广泛(常常同义), 其特征通常是慢性咳嗽、生痰、喘鸣或呼吸困难。

喘鸣

喘鸣(也称为哨笛音)的特征通常是气流通过狭窄呼吸道, 特别是位于肺内深处的较小致密呼吸道时产生的噪音。它是 RSV 感染和继发性 RSV 疾病如哮喘和支气管炎的共同特征。喘鸣的临床重要性在于它是呼吸道狭窄的指标, 可表明呼吸困难。

呼气(呼出)时喘鸣最明显, 但也会存在于吸气(吸入)或呼气期间。喘鸣常常来自小支气管(胸中深处的呼吸管道), 但如果较大气道被阻塞也可能发生。

慢性阻塞性肺病(COPD)

慢性阻塞性肺病(COPD)是指两种肺病, 即慢性支气管炎和肺气肿的术语,

它们的特征是气流受阻，干扰正常呼吸。这两种病症常常并存，因此医生偏好使用术语 COPD。它不包括其它阻塞性疾病如哮喘。

慢性支气管炎是支气管管道内衬的炎症，最终引起瘢痕。当支气管发炎和/或感染时，流入和流出肺部的空气减少，咳出粘稠的粘液或痰液。在一个月的大多数天数中、连续两年的每年中三个月出现产生粘液的咳嗽，但没有发生其它潜在的疾病来解释这种咳嗽则确定为该病症。

这种炎症最终导致支气管管道内衬上形成瘢痕。如果支气管管道受到长期刺激，则会不断产生大量粘液，支气管管道内衬变厚、发生刺激性咳嗽，并可能阻碍气流，肺部产生瘢痕。然后，支气管管道成为细菌感染在气道内的理想繁殖地，最终阻碍气流。

慢性支气管炎的症状包括慢性咳嗽、粘液增加、频繁清嗓和呼吸短促。在 2004 年，估计有九百万美国人被医生诊断为慢性支气管炎。慢性支气管炎影响所有年龄的人，但在超过 45 岁的人群中较多见。

吸烟是 COPD 的主要风险因素。大约 80-90% 的 COPD 死亡是吸烟引起的。COPD 的其它风险因素包括空气污染、二手烟、儿童时期呼吸道感染病史如呼吸道合胞病毒(RSV)感染，以及遗传。

2004 年，估计一千一百四十万美国成年人(18 岁以上)患有 COPD。然而，接近二百四十万美国成年人被证明肺功能受损，这表明未能全面诊断出 COPD。据报道，估计有 638,000 例出院；出院率为每 100,000 人群 21.8 例。COPD 是老年人群住院治疗的重要原因。在 2004 年，约 65% 出院病例是 65 岁以上人群。

2004 年，全国花费在 COPD 上的钱约为 372 亿美元，包括 209 亿美元的直接健康护理开销、74 亿美元间接发病成本和 89 亿美元间接死亡成本。

3. 发明内容

本发明部分基于开发了以下方法：在哺乳动物中通过免疫学特异性结合呼吸道合胞病毒(RSV)抗原的抗体或其片段的被动免疫实现或诱导这类抗体或其片段的治疗有效血清效价的方法。本发明也部分基于鉴定到以下抗体：对 RSV 抗原亲和力较高，导致治疗性应用的功效提高，以至于较低血清效价即可有效治疗的抗体。

在另一方面，本发明修饰抗体可用于治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包

包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合，所述方法包括给予治疗有效量的本发明抗体，其中控制、治疗和/或改善是在感染后进行的。

本发明提供在对象中治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法，所述方法包括给予所述对象以高亲和力和/或高亲合力免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原的一种或多种抗体或其片段。由于这类抗体或抗体片段的治疗有效的血清效价低于已知抗体的有效血清效价，所以可使用较低剂量的所述抗体或抗体片段来实现有效治疗、控制和/或改善呼吸道病症的血清效价，所述病症包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合。使用较低剂量的免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原的抗体或其片段能降低发生不良作用的可能性。而且，本文所述抗体或其片段的高亲和力和/或高亲合力使得所述抗体或抗体片段的给予频率比以前认为治疗、控制和/或改善呼吸道病症所需的频率低，所述病症包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合。

在另一方面，本发明提供在对象中治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法，所述方法包括给予所述对象至少第一剂量的本发明修饰抗体，以使所述对象的血清抗体效价为约 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至 800 $\mu\text{g/ml}$ 。在一些实施方式中，血清抗体效价在对象中存在数小时、数天、数周和/或数月。在一个实施方式中，在缓释制剂中和/或通过经肺递送或鼻内递送给予本发明修饰抗体的第一剂量。

此外，本发明提供对 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)具有高亲和力和/或高亲合力的抗体，用于治疗 and/或改善上呼吸道 RSV 感染(URI)和/或下呼吸道 RSV 感染(LRI)以及治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合，该抗体在 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段(优选修饰的 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)中包含一个或多个氨基酸修饰。所述 IgG 恒定区中的一个或多个氨

基酸修饰导致修饰抗体具有修饰的效应功能,包括与没有这种氨基酸修饰的野生型抗体相比对一种或多种 FcR 的结合亲和力改变。

考虑作为本发明一部分的是具有包含一个或多个氨基酸取代的修饰的 Fc 结构域的修饰抗体,其中所述氨基酸取代导致与具有野生型 Fc 结构域(即没有所述氨基酸取代)的相同抗体相比,修饰抗体的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)提高,在本文中称其为“3M”突变或修饰抗体。

也考虑作为本发明一部分的是具有包含一个或多个氨基酸取代的修饰的 Fc 结构域的修饰抗体,其中所述氨基酸取代导致与具有野生型 Fc 结构域(即没有所述氨基酸取代)的相同抗体相比,修饰抗体的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)降低,在本文中称其为“TM”突变或修饰抗体。

也考虑到,本发明修饰抗体不仅包括含有能提高或降低效应功能(即,如 ADCC)的氨基酸取代的那些抗体,还包括含有能延长 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段(例如 Fc 或铰链-Fc 结构域)的体内半衰期的氨基酸取代的那些抗体以及与其相连的任何分子,因此本发明修饰抗体包括,例如,在一种修饰抗体中实现 ADCC 增强(3M)并且体内半衰期延长的抗体。此外,也考虑到,本发明修饰抗体包括在一种修饰抗体中实现 ADCC 降低(TM)并且体内半衰期延长的抗体。

本发明提供在对象中治疗、控制和/或改善呼吸道病症,包括但不限于:RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果,例如,哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法,所述方法包括给予所述对象治疗有效量的以高亲和力和/或高亲合力免疫学特异性结合 RSV 抗原的本文所述抗体(修饰抗体)。因为与已知抗体(如帕丽珠单抗)的有效血清效价相比,本发明抗体的血清效价较低和/或持续时间较长能更有效地控制、治疗和/或改善 RSV 感染(如急性 RSV 疾病,或 RSV URI 和/或 LRI),所以可采用较低和/或较少的抗体剂量达到有效控制、治疗和/或改善 RSV 感染(如急性 RSV 疾病,或 RSV URI 和/或 LRI)的血清效价,例如每个 RSV 季节给予一个或多个剂量。采用较低和/或较少剂量的免疫学特异性结合 RSV 抗原的本发明抗体能降低不良作用的可能性,对于给予(例如)婴儿来说更安全(例如,由于与已知抗体(如帕丽珠单抗)相比血清效价较低、血清半衰期较长和/或更好地定位于上呼吸道和/或下呼吸道)。

在一个方面,本发明提供一种治疗、控制和/或改善呼吸道病症,包括但不限于:RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果,例如,哮喘、喘鸣、反应性气道病

(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法,所述方法包括给予有此需要的人患者治疗有效量的本文所述抗体(即,本发明修饰抗体),如包含修饰 IgG 恒定区的修饰抗体,不仅包括含有提高或降低效应功能(即,如 ADCC)的氨基酸取代的那些抗体,还包括含有延长 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段(例如 Fc 或铰链-Fc 结构域)的体内半衰期的氨基酸修饰的那些抗体和与其连接的任何分子,因此本发明修饰抗体包括,例如,在一种修饰抗体中实现 ADCC 增强(3M)并且体内半衰期延长的抗体。此外,也考虑到,本发明修饰抗体包括,例如在一种修饰抗体中实现 ADCC 降低(TM)并且体内半衰期延长的抗体。在一些实施方式中,可控制、治疗或改善上呼吸道和下呼吸道 RSV 感染和/或急性 RSV 疾病。

在另一方面,本发明提供在对象中治疗、控制和/或改善呼吸道病症,包括但不限于: RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果,例如,哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法,所述方法包括给予所述对象第一剂量的本发明抗体,以使所述对象的鼻甲和/或鼻分泌物抗体浓度为约 0.01 $\mu\text{g/ml}$ 至 2.5 $\mu\text{g/ml}$ 。在一些实施方式中,所述鼻甲和/或鼻分泌物抗体浓度在所述对象中存在数小时、数天、数周和/或数月。本发明修饰抗体的第一剂量可以是治疗有效剂量。在一个实施方式中,在缓释制剂中和/或通过经肺递送或鼻内递送给予本发明抗体的第一剂量。

在另一方面,本发明提供在对象中治疗、控制和/或改善呼吸道病症,包括但不限于: RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果,例如,哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法,所述方法包括给予有效量的本发明修饰抗体,其中所述有效量导致通过鼻甲和/或鼻分泌物和/或支气管肺泡灌洗液(BAL)测定的局部反应或通过血清测定的全身反应中 RSV 效价降低。上述 RSV 效价降低可以是与阴性对照(如安慰剂)、与另一种疗法(包括但不限于用帕丽珠单抗治疗)、或与给予抗体之前患者的效价相比。

在另一方面,本发明方法所用的修饰抗体能免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原(如 RSV F 抗原),结合速率常数或 k_{on} 速率(抗体(Ab) + 抗原 (Ag) $\xrightarrow{k_{\text{on}}}$ Ab-Ag)为约 $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 至 $10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 。在一些实施方式中,所述抗体是高效抗体,其 k_{on} 为约 $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 至 $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, 优选约 2.5×10^5 或 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, 更优选约 $7.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 。这类抗体也可具有高亲和力(如约 10^9 M^{-1}), 或可具有较低的亲和力。在一个实施方式中,可用于本发明方法的抗体能免疫学特异性结合 RSV

抗原(如 RSV F 抗原), 其 k_{on} 速率是已知抗-RSV 抗体(如帕丽珠单抗)的至少 1.5 倍。

在另一方面, 用于本发明方法的修饰抗体能免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原(如 RSV F 抗原), 其 k_{off} 速率($Ab-Ag \rightarrow Ab + Ag$)为小于 $5 \times 10^{-1} s^{-1}$ 至小于 $10 \times 10^{-10} s^{-1}$ 。在一个实施方式中, 本发明方法所用抗体能免疫学特异性结合 RSV 抗原(如 RSV F 抗原), 其 k_{off} 速率至多是已知抗-RSV 抗体(如帕丽珠单抗)的 1/1.5。

在另一方面, 可用于本发明方法的修饰抗体能免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原(如 RSV F 抗原), 其亲和常数或 K_a (k_{on}/k_{off})为约 $10^2 M^{-1}$ 至 $5 \times 10^{15} M^{-1}$, 优选至少 $10^4 M^{-1}$ 。在一些实施方式中, 该抗体是高效抗体, 其 K_a 为约 $10^9 M^{-1}$, 优选约 $10^{10} M^{-1}$, 更优选约 $10^{11} M^{-1}$ 。

在另一方面, 用于本发明方法的本发明修饰抗体能免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原(如 RSV F 抗原), 其解离常数或 K_d (k_{off}/k_{on})为约 $5 \times 10^{-2} M$ 至 $5 \times 10^{-16} M$ 。

在另一方面, 可用于本发明方法的修饰抗体能免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原(如 RSV F 抗原), 经本文所述或本领域技术人员已知的实验(如 BIAcore 实验)测定, 其解离常数(K_d)为约 25 pM 至 3000 pM。

在另一方面, 用于本发明方法的本发明修饰抗体能免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原(如 RSV F 抗原), 其在体外微量中和实验中的半数抑制浓度(IC_{50})为约 6 nM 至 0.01 nM。在某些实施方式中, 微量中和实验是本文所述(如本文实施例 6.4、6.8 和 6.18 所述)或如 Johnson 等, 1999, J. Infectious Diseases 180:35-40 所述的微量中和实验。在一些实施方式中, 该抗体在体外微量中和实验中的 IC_{50} 小于 3 nM, 优选小于 1 nM。

在另一方面, 本发明提供将一种或多种本发明抗体(如修饰抗体)治疗性给予对象(如婴儿、早产儿、免疫削弱的对象、医务工作者)的方法。在一些实施方式中, 将本发明抗体给予对象或人患者, 以便预防 RSV 感染在个体之间传播, 或减少传播的感染。在一些实施方式中, 该对象已接触(可能是或不是无症状的), 或者可能接触患有 RSV 感染的另一个体。优选地, 在可能或实际接触 RSV 感染个体后的约 1-2 周的时间内将该抗体鼻内给予对象, 每天一次或多次(如一次、两次、四次等)。在某些实施方式中, 该抗体的给药剂量为约 60 mg/kg 至 0.025 mg/kg,

更优选约 0.025 mg/kg 至 15 mg/kg。

本发明也提供包含表 1 所列任何 VH 结构域的氨基酸序列的 VH 结构域的抗体或其片段，以及包含所述抗体或抗体片段的组合物，以供用于治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合。本发明也提供包含具有表 1 所列一个或多个 VH CDR 的氨基酸序列的一个或多个 VH 互补决定区(CDR)的抗体或其片段，以及包含所述抗体或抗体片段的组合物，以供用于治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合。本发明也提供包含具有表 1 所列任何 VL 结构域的氨基酸序列的 VL 结构域的抗体或其片段。本发明也提供包含具有表 1 所列一个或多个 VL CDR 的氨基酸序列的一个或多个 VL CDR 的抗体或其片段，以及包含所述抗体或抗体片段的组合物，以供用于治疗或改善与 RSV 感染有关的一种或多种症状和/或长期后果。本发明还提供包含具有表 1 所列任何 VH 结构域和 VL 结构域的氨基酸序列的 VH 结构域和 VL 结构域的抗体，以及包含所述抗体或抗体片段的组合物，以供用于治疗或改善与 RSV 感染有关的一种或多种症状和/或长期后果。本发明还提供包含具有表 1 所列一个或多个 VH CDR 和一个或多个 VL CDR 的氨基酸序列的一个或多个 VH CDR 和一个或多个 VL CDR 的抗体以及包含所述抗体或抗体片段的组合物，以供用于治疗或改善与 RSV 感染有关的一种或多种症状和/或长期后果。在上述实施方式中，所述抗体优选免疫学特异性结合于 RSV 抗原。

在其它实施方式中，本发明的修饰抗体和方法包括使用包含 MEDI-524 (莫维珠单抗)的 VH 结构域和/或 VL 结构域的抗体。在其它实施方式中，本发明方法包括使用包含 MEDI-524 (莫维珠单抗)的 VH 链和/或 VL 链的抗体。在某些实施方式中，所述抗体包含修饰的 FC 结构域或其 FcRn-结合片段，其中相对于不包含修饰 Fc 结构域的 MEDI-524 (莫维珠单抗)(即未修饰 MEDI-524)的 Fc 结构域，所述抗体对 FcRn 受体的亲和力提高或降低。

也考虑到，与不含任何 IgG Fc 区修饰的相同抗体相比，本发明修饰的抗体和方法还调节患者对 RSV 感染的炎症反应。例如，与不含任何 IgG Fc 区修饰的相同抗体相比，将本发明修饰抗体给予有此需要的患者还减少 RSV 感染组织/细胞释放的细胞因子和/或趋化因子。据信，用本发明修饰抗体降低感染 RSV 的患

者的这种促炎反应将进一步降低该患者随后发生哮喘或其它慢性呼吸道疾病的风险。

本发明包括将免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原的一种或多种抗体或其片段直接递送到 RSV 感染部位的方法。具体说, 本发明包括将免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原的一种或多种抗体或其片段递送至肺部, 以减轻 RSV 感染的长期后果, 例如, 慢性阻塞性肺病(COPD)。递送免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原的一种或多种抗体或其片段的改进方法能降低将所述抗体或抗体片段给予对象的剂量和/或频率。

3.1.术语

本文所用术语“免疫学特异性结合 RSV 抗原的抗体”、“抗-RSV 抗体”、“修饰抗体”和类似术语指特异性结合 RSV 多肽的 Fc 修饰抗体(即包含修饰的 IgG(如 IgG1)恒定区或其 FcRn-结合片段(如 Fc-结构域或铰链-Fc 结构域)的抗体)。免疫学特异性结合 RSV 抗原的抗体或其片段可能与相关抗原发生交叉反应。免疫学特异性结合 RSV 抗原的抗体或其片段优选不与其它抗原发生交叉反应。可通过, 例如, 免疫实验、BIAcore 或本领域技术人员已知的其它技术鉴定免疫学特异性结合 RSV 抗原的抗体或其片段。利用实验技术, 如放射性免疫实验(RIA)和酶联免疫吸附实验(ELISA)测定, Fc 修饰抗体或其片段与 RSV 抗原结合的亲和力高于任何交叉反应抗原时, 称其特异性结合于 RSV 抗原。参见例如, Paul 编, 1989, 基础免疫学(Fundamental Immunology), 第 2 版, 纽约拉文出版社(Raven Press, New York), 第 332-336 页有关抗体特异性的讨论。

本发明抗体包括但不限于: 合成抗体、单克隆抗体、重组产生的抗体、多特异性抗体(包括双特异性抗体)、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、细胞内抗体、单链 Fv (scFv) (例如、包括单特异性、双特异性等)、Fab 片段、F(ab')片段、二硫键连接的 Fv(sdFv)、抗-独特型(抗-Id)抗体和任何上述例子的表位结合片段。具体说, 本发明抗体包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性部分, 即含有免疫学特异性结合 RSV 抗原(优选 RSV F 抗原)的抗原-结合位点的分子(例如, 抗-RSV 抗体的一个或多个互补决定区(CDR))。本发明抗体可以是任何类型(如 IgG、IgE、IgM、IgD、IgA 和 IgY)、任何类(如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 和 IgA2)或任何小类(如 IgG2a 和 IgG2b)的免疫球蛋白分子。在其它实施方式中,

本发明修饰抗体是 IgG 抗体，或其中某类(如人 IgG1)或小类。

术语“恒定区”指相对于该免疫球蛋白分子的其它部分、含有抗原结合位点的可变区，具有更保守的氨基酸序列的免疫球蛋白分子部分。恒定区含有重链的 CH1、CH2 和 CH3 结构域和轻链的 CHL 结构域。

本文所用术语“有效中和效价”指与证明在临床上有效(在人中)或在(如)棉鼠中能减少 99% 病毒的动物(人或棉鼠)血清中存在量对应的抗体量。降低 99% 定义为(如) 10^3 pfu、 10^4 pfu、 10^5 pfu、 10^6 pfu、 10^7 pfu、 10^8 pfu 或 10^9 pfu 的 RSV 的特异性刺激。

本文所用术语“老年人”指年龄在 65 岁以上的人对象。

本文所用术语“FcRn 受体”或“FcRn”指已知参与将母体 IgG 通过人或哺乳动物胎盘或卵黄囊(兔)转移给胎儿、和通过小肠从初乳转移给新生儿的 Fc 受体(“n”指新生儿)。也知道 FcRn 通过结合 IgG 分子和将它们再循环到血清中参与维持恒定的血清 IgG 水平。FcRn 与 IgG 分子的结合是 pH 依赖的，在 pH 6.0 时达到最优结合。人 FcRn 和鼠 FcRn 的氨基酸序列分别参见 SEQ ID NO:337 和 SEQ ID NO:338。

本文所用术语“融合蛋白”指包含抗体氨基酸序列和异源多肽或蛋白(即通常不是该抗体的一部分的多肽或蛋白(如非抗 RSV 抗原抗体))的氨基酸序列的多肽。

本文所用术语“高效”指在各种生物学活性(如中和 RSV)测定，如本文所述测定中具有高功效的抗体。例如，通过微量中和实验测定，本发明高效抗体的 IC_{50} 值小于 5 nM、小于 4 nM、小于 3 nM、小于 2 nM、小于 1.75 nM、小于 1.5 nM、小于 1.25 nM、小于 1 nM、小于 0.75 nM、小于 0.5 nM、小于 0.25 nM、小于 0.1 nM、小于 0.05 nM、小于 0.025 nM 或小于 0.01 nM。在某些实施方式中，微量中和实验是本文所述或 Johnson 等，1999, J. Infectious Diseases 180:35-40 所述的微量中和实验。另外，用 10^5 pfu 刺激 5 天后，相对于未给予所述抗体的棉鼠，给予本发明高效抗体的棉鼠的 RSV 效价下降至少 75%、优选至少 95%、更优选 99%。在本发明的某些实施方式中，本发明高效抗体对一种或多种 RSV 抗原具有高亲和力和/或高亲合力(如抗体与一种或多种 RSV 抗原的亲和力为至少 $2 \times 10^8 M^{-1}$ ，优选 $2 \times 10^8 M^{-1}$ 至 $5 \times 10^{12} M^{-1}$ ，如至少 $2.5 \times 10^8 M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^8 M^{-1}$ 、至少 $10^9 M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^9 M^{-1}$ 、至少 $10^{10} M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^{10} M^{-1}$ 、至少 $10^{11} M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^{11} M^{-1}$ 、至少 $10^{12} M^{-1}$ 或至少 $5 \times 10^{12} M^{-1}$)。

本文所用术语“人类婴儿”指年龄小于 24 个月、优选小于 16 个月、小于 12 个月、小于 6 个月、小于 3 个月、小于 2 个月或小于 1 个月的人。

本文所用术语“人类早产婴儿”指孕龄小于 40 周、优选小于 35 周出生的人，该婴儿年龄小于 6 个月，优选小于 3 个月，更优选小于 2 个月，最优选小于 1 个月。

本文所用术语“IgG Fc 区”、“Fc 区”、“Fc 结构域”、“Fc 片段”和其它类似术语指与木瓜蛋白酶消化 IgG 分子获得的可结晶片段相关联的 IgG 分子部分。Fc 区由 IgG 分子的两条重链的 C 末端部分构成，它们通过二硫键连接。它没有抗原结合活性，但含有糖部分以及补体和 Fc 受体(包括 FcRn 受体)的结合位点(见下)。例如，Fc 片段含有整个第二恒定区 CH2 (人 IgG1 的残基 231-340，参见 SEQ ID NO:339)和第三恒定区 CH3 (人 IgG1 的残基 341-447，参见 SEQ ID NO:340)。本文所用的所有编号均按照 EU 索引编号(Kabat 等(1991) 免疫学感兴趣蛋白质的序列(Sequences of proteins of immunological interest).(美国卫生和人类服务部(U.S. Department of Health and Human Services), 华盛顿特区) 第 5 版)，除非另有说明。

本文所用术语“IgG 铰链-Fc 区”或“铰链-Fc 片段”指由 Fc 区(残基 231-447)和 Fc 区 N 末端延伸的铰链区(残基 216-230; 如 SEQ ID NO:341)组成的 IgG 分子部分，按照 EU 索引编号(Kabat 等(1991) 免疫学感兴趣蛋白质的序列(Sequences of proteins of immunological interest).(美国卫生和人类服务部(U.S. Department of Health and Human Services), 华盛顿特区) 第 5 版)。人 IgG1 铰链-Fc 区的氨基酸序列的例子是 SEQ ID NO:342。

本文所用术语“感染”和“RSV 感染”指 RSV 在宿主中的生活周期的所有阶段(包括但不限于 RSV 侵入细胞或身体组织和 RSV 在细胞或身体组织中复制)，以及由 RSV 侵入和复制引起的病理状态。RSV 的侵入和增殖包括但不限于以下步骤：RSV 颗粒停靠在细胞上、病毒与细胞膜融合、病毒遗传信息引入细胞、表达 RSV 蛋白质、产生新的 RSV 颗粒和细胞释放 RSV 颗粒。RSV 感染可能是上呼吸道 RSV 感染(URI)、下呼吸道 RSV 感染(LRI)或其组合。在特定实施方式中，由 RSV 侵入或复制引起的病理状态是急性 RSV 疾病。本文所用术语“急性 RSV 疾病”指 RSV 感染引起的肺部和下呼吸道的重要临床疾病，它们可表现为肺炎和/或细支气管炎，这类症状可包括缺氧、呼吸暂停、呼吸窘迫、呼吸促迫、喘鸣、发绀等。急性 RSV 疾病的患病个体需要医疗介入，例如住院治疗、给予氧气、

插管和/或应用呼吸机。

本文所用术语“体内半衰期”指特定类型的 IgG 分子或其含有 FcRn-结合位点的片段在给定动物循环中的生物半衰期，表示为动物给药量的一半被清除出动物循环和/或其它组织所需的时间。给定 IgG 的清除曲线被构建为时间的函数时，该曲线通常为二相性，快速 α -相代表注射的 IgG 分子在血管内和血管外空间的平衡(部分由分子大小确定)，较长的 β -相代表 IgG 分子在血管内空间的代谢。术语“体内半衰期”实际上对应于 IgG 分子在 β -相的半衰期。本文所用术语包含修饰的 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段(优选 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)的抗体的“体内血清半衰期增加”或“体内血清半衰期延长”指与不含修饰的 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段的抗体相比(例如，与恒定区或其 FcRn-结合片段中不含一个或多个修饰的抗体(即未修饰抗体)相比，或与另一种 RSV 抗体如帕丽珠单抗相比)，该抗体的体内血清半衰期增加。

术语“下呼吸”道指下呼吸道的主要通道和结构，包括气管和肺，包括支气管、细支气管和肺泡。

本文所用术语“MEDI-524”是未修饰的抗-RSV 单克隆抗体(莫维珠单抗)，参见通过引用全文纳入本文的 Wu 等，J. Mol. Biol. 368，652-665 (2007)。

本文所用术语“修饰抗体”也与“Fc 修饰抗体”同义，包括在抗体恒定区的给定位置(优选 IgG，更优选 IgG1 恒定区)上，或其 FcRn-结合片段上包含一个或多个氨基酸残基“修饰”的本文所述的任何抗体，其中与 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段中不含一个或多个修饰的相同抗体相比，所述抗体可具有修饰的效应功能(即 ADCC)以及延长的体内半衰期，这种改变是在经鉴定参与所述抗体的恒定区或其 FcRn-结合片段(优选 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)与新生儿 Fc 受体(FcRn)的相互作用的氨基酸残基中进行一个或多个修饰的结果。术语“修饰抗体”或“Fc 修饰抗体”也包括在所示位置上天然包含一个或多个所述残基的抗体(例如，未经修饰，该残基已经存在于该分子的所述位置中)。恒定区位置按照 EU 索引编号(Kabat 等(1991) 免疫学感兴趣蛋白质的序列(Sequences of proteins of immunological interest).(美国卫生和人类服务部(U.S. Department of Health and Human Services)，华盛顿特区) 第 5 版)。本文所用术语“修饰抗体”或“Fc 修饰抗体”可以是或不是高效、高亲和力和/或高亲合力修饰抗体。在某些实施方式中，修饰抗体是高效抗体，在其它实施方式中，是高效以及高亲合力修饰抗体。

提到恒定区或其 FcR-结合片段时,本文所用的本发明抗体的一个或多个“氨基酸残基修饰”指抗体的恒定区或其 FcR-结合片段(优选 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)的序列中一个或多个氨基酸残基的任何突变、取代、插入或缺失。优选地,所述一个或多个修饰是取代。在一个实施方式中,所述一个或多个氨基酸取代是: 234E、235R、235A、235W、235P、235V、235Y、236E、239D、265L、269S、269G、298I、298T、298F、327N、327G、327W、328S、328V、329H、329Q、330K、330V、330G、330Y、330T、330L、330I、330R、330C、332E、332H、332S、332W、332F、332D 和 332Y, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。在另一实施方式中,所述一个或多个氨基酸取代是: 239D、330L 和 332E, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。与不含所述氨基酸取代的相同抗体相比,这类 Fc 结构域氨基酸取代使 ADCC 增强(3M)。在另一实施方式中,所述一个或多个氨基酸取代选自: 233P、234F、234V、235A、235E、265A、327G、330S 和 331S, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。在另一实施方式中,所述一个或多个氨基酸取代选自: 234F、235E 和 331S, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。与不含所述氨基酸取代的相同抗体相比,这类 Fc 结构域氨基酸取代使 ADCC 降低(3M)。在另一实施方式中,除上述 3M 和 TM 中所述的那些修饰以外,所述一个或多个氨基酸修饰与 251-256、285-290、308-314、385-389 和 428-436 位的修饰组合,按照 Kabat 等,同上所述的 EU 索引进行编号。这类 Fc 结构域组合氨基酸取代涵盖与不含所述氨基酸取代的相同抗体相比,ADCC 增强(3M)且体内半衰期延长的修饰抗体,或 ADCC 降低(TM)且体内半衰期延长的修饰抗体。在某些其它实施方式中,IgG 恒定区包含 252 位上的 Y(252Y)、254 位上的 T(254T),和/或 256 位上的 E(256E),其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。这种氨基酸突变的组合用于延长本发明抗体的血清半衰期。

本文所用术语“感染复数”(M.O.I)是定量表述感染单个细胞、组织或患者的 RSV 病毒的平均数量的方式。在一个实施方式中,感染 RSV 的患者(认为是临床 RSV 感染)中测定的 RSV M.O.I.范围是约 0.001 至 0.1。在又一实施方式中,感染 RSV 的患者(认为是临床 RSV 感染)中测定的 RSV M.O.I.是约 0.1 或约 0.01。

本文所用术语“疗养院”指居住在疗养院或专业护理场所(SNF)或为需要持续护理且日常生活活动有显著缺陷的人群提供的社区居住地的人患者。居民可包

括例如，老年人和有身体残疾的年轻人。

本文所用术语“药学上可接受的”指被联邦或州政府管理机构批准，或美国药典、欧洲药典或其它通常接受的药典所列的用于动物，更具体是用于人的。

术语“RSV 抗原”指抗体免疫学特异性结合的 RSV 多肽。RSV 抗原也指抗体免疫学特异性结合的 RSV 多肽或其片段的类似物或衍生物。在一些实施方式中，RSV 抗原是 RSV F 抗原、RSV G 抗原或 RSV SH 抗原。

本文所用术语“血清效价”指至少 10，优选至少 20，最优选至少 40 个对象，至多约 100、1000 或更多对象的群体中的平均血清效价。

本文所用术语“副作用”包括治疗(如治疗剂)的不想要的作用和不良作用。不想要的作用不一定是不良作用。治疗(如治疗剂)的不良作用可能是有害或不适或有风险的。副作用的例子包括但不限于：URI、鼻炎、腹泻、咳嗽、胃肠炎、喘鸣、恶心、呕吐、食欲不振、腹部痉挛、发热、疼痛、体重下降、脱水、脱发、呼吸困难、失眠、眩晕、粘膜炎、神经和肌肉作用、疲劳、口干燥症和食欲下降、给药部位出现皮疹或肿胀、流感样症状如发热、畏寒和疲劳、消化道问题和过敏反应。本领域了解许多其它患者感受到的不良作用。《医师案头参考》(*Physicians' Desk Reference*)(第 58 版，2004)中描述了许多这类作用。

本文所用术语“对象”和“患者”可以互换使用。本文所用的对象优选是哺乳动物，例如非灵长动物(如牛、猪、马、猫、狗、大鼠等)和灵长动物(如猴和人)，最优选人。在一个实施方式中，对象是患有 RSV 感染(如急性 RSV 疾病或 RSV URI 和/或 LRI)的哺乳动物，优选人。在另一实施方式中，对象是处于发生 RSV 感染(如急性 RSV 疾病或 RSV URI 和/或 LRI)的风险中的哺乳动物，优选人(如，免疫削弱或免疫抑制的哺乳动物，或有遗传倾向的哺乳动物)。在一个实施方式中，对象是患有由 RSV 感染造成、产生或与其相关的呼吸道疾病(包括但不限于哮喘、喘鸣或 RAD)的人。在一些实施方式中，对象为 0-5 岁或是人类婴儿，优选 0-2 岁(如 0-12 个月大)。在其它实施方式中，对象是老年对象。

在本发明的某些实施方式中，“治疗有效的血清效价”是在对象(优选人)中能降低所述对象的 RSV 感染(如急性 RSV 疾病或 RSV URI 和/或 LRI)的严重程度、持续时间和/或与其相关的症状的血清效价。优选地，治疗有效的血清效价能降低由 RSV 感染产生并发症概率最大的人(如患有囊性纤维化病、支气管肺发育异常、先天性心脏病、先天性免疫缺陷或获得性免疫缺陷的人，进行过骨髓移

植的人,人类婴儿或老年人)的 RSV 感染(如急性 RSV 疾病或 RSV URI 和/或 LRI)的严重程度、持续时间和/或与其相关的症状。在本发明的某些其它实施方式中,“治疗有效的血清效价”是用 10^5 pfu RSV 刺激 5 天后,能使棉鼠的 RSV 效价比未给予免疫学特异性结合于 RSV 抗原的抗体的棉鼠用 10^5 pfu RSV 刺激 5 天后的 RSV 效价低 99% 的棉鼠血清效价。在一些实施方式中,本发明抗体的治疗有效量是约 0.025 mg/kg、约 0.05 mg/kg、约 0.10 mg/kg、约 0.20 mg/kg、约 0.40 mg/kg、约 0.80 mg/kg、约 1.0 mg/kg、约 1.5 mg/kg、约 3 mg/kg、约 5 mg/kg、约 10 mg/kg、约 15 mg/kg、约 20 mg/kg、约 25 mg/kg、约 30 mg/kg、约 35 mg/kg、约 40 mg/kg、约 45 mg/kg、约 50 mg/kg 或约 60 mg/kg。在一个实施方式中,本发明抗体的治疗有效量是约 15 毫克抗体/千克对象体重。

本文所用术语“治疗”指由于给予一种或多种治疗(包括但不限于:给予一种或多种治疗剂,如本发明抗体),导致 RSV 感染(如急性 RSV 疾病或 RSV URI 和/或 LRI)的进展、严重程度和/或持续时间,或者与其有关的症状或呼吸道病症(包括但不限于:哮喘、喘鸣、RAD 或其组合)减轻或改善的感染后给药。在特定实施方式中,这一术语指减少或抑制 RSV 复制、抑制或减少 RSV 至其他组织或对象的传播(如传播至下呼吸道)、抑制或减少 RSV 对细胞的感染、抑制或减轻急性 RSV 疾病、抑制或减轻 RSV 感染引起或与其有关的呼吸道病症(如哮喘、喘鸣和/或 RAD)和/或抑制或减轻与 RSV 感染有关的一种或多种症状。

术语“上呼吸”道指上呼吸道的主要通道和结构,包括鼻或鼻孔、鼻腔、口、咽喉(咽部)和喉头(喉部)。

4. 附图说明

图 1 显示感染 RSV 的上皮 Hep-2 细胞感染后 1 小时或 12 小时加入 MEDI-524(RSV-524),然后测定感染 RSV 的 Hep-2 细胞是否分泌 IL-6 或 IL-8。对照是 MEDI-507,认为无关的一种抗-CD2 抗体(RSV-507)。与感染后 12 小时相比,RSV 感染后 1 小时加入 MEDI-524 能更显著地降低 RSV 感染细胞分泌的 IL-6 和 IL-8。

图 2 显示感染 RSV 的上皮 Hep-2 细胞感染后 1 小时或 12 小时加入 MEDI-524(RSV-524),然后测定感染 RSV 的 Hep-2 细胞是否分泌 IL-12p70 或 TNF- α 。对照是 MEDI-507,认为无关的一种抗-CD2 抗体(RSV-507)。与感染后

12 小时相比, RSV 感染后 1 小时加入 MEDI-524 能更显著地降低 RSV 感染细胞分泌的 IL-12p70 或 TNF- α 。

图 3 显示 MEDI-524 介导与感染 RSV 的 Hep-2 细胞共同培养的活化巨噬细胞释放趋化因子 MIP-1b 和 MCP-1。

图 4 显示 MEDI-524 介导与感染 RSV 的 Hep-2 细胞共同培养的活化巨噬细胞释放趋化因子 IP-10 和嗜伊红粒细胞趋化蛋白-3。

图 5 显示 FACS 分析 MEDI-524 介导的 THP-1 活化。在感染后, 将 MEDI-524 或对照抗体 MEDI-507 加入与 IFN- γ 活化 THP-1 细胞混合的 DiD-染色的感染 RSV 的 Hep-2 细胞中, 并在 x 轴上分析 THP-1 细胞的 HLADR-PE, 在 y 轴上分析 Hep-2 细胞的 DiD-APC。MEDI-524 可介导 RSV 感染细胞的单核细胞吞噬作用。

图 6 显示 MEDI-524 和 MEDI-524 3M (具有按照 Kabat 编号的氨基酸突变 239D、330L、332E)介导的抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(ADCC)。将感染 RSV 的 Hep-2 细胞与 NK 效应细胞混合, 然后加入 MEDI-524 或 MEDI-524 3M。用 ADCC 实验、LDH 释放实验测定细胞毒性。

图 7 显示根据病毒空斑实验测定的病毒效价的数值, 确定与 MEDI-524 相比, MEDI-524 TM (具有按照 Kabat 编号的氨基酸突变 234F、235E、331S)降低棉鼠肺匀浆物中病毒效价的疗效。在不同时间点(感染前 24 小时或感染后 72 小时), 向各有四只动物的小组腹膜内注射浓度 7 mg/kg 的莫维珠单抗(MEDI-524)、ADCC 增强的变体(MEDI-524-3M)或 ADCC 缺陷变体(MEDI-524-TM)。一组动物只接受病毒而不治疗(未治疗感染), 一组动物不治疗且不感染(未治疗未感染)。在时间 0 点, 所有动物鼻内感染 10^5 pfu, 感染 4 天后, 处死所有动物并分析病毒效价。显示了肺的病毒效价($\log_{10}$ pfu/g [平均值 $\pm$ 标准误差])。

图 8 显示 RSV 感染后 1 小时加入莫维珠单抗或 MEDI-524 导致 A549 细胞上的 PD-L1 表达降低。

图 9 显示 RSV 感染后 1 小时、6 小时或 12 小时加入莫维珠单抗或 MEDI-524 导致 A549 细胞上的 ICAM-1 表达降低。

图 10 显示 RSV 感染后 1 小时、6 小时或 12 小时加入莫维珠单抗或 MEDI-524 均导致 A549 细胞的细胞凋亡(通过胱冬酶 3/7 活性检测)减少(诱导倍数)。

图 11 显示 RSV 感染后, 以及 RSV 感染 A549 细胞后 1 小时、6 小时或 12 小时加入莫维珠单抗或 MEDI-524 后, 漂浮的 A549 细胞的百分数。

图 12 显示 RSV 感染后加入莫维珠单抗或 MEDI-524, 导致释放到 HEp-2 细胞和 A549 细胞的细胞培养物上清液中的 RSV 减少。

5. 发明详述

抗体和抗体抗原复合物与免疫系统细胞的相互作用产生各种效应, 包括抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(ADCC)和补体依赖性细胞毒作用(CDC) (综述参见 Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203–234 (1997); Ward 和 Ghetie, *Therapeutic Immunol.* 2:77–94 (1995); 以及 Ravetch 和 Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457–492 (1991))。ADCC 指细胞介导的反应, 其中表达 FcR 的非特异性细胞毒性细胞(如自然杀伤(NK)细胞、嗜中性粒细胞和巨噬细胞)能识别靶细胞上结合的抗体, 随后引起靶细胞裂解。介导 ADCC 的原始细胞 NK 细胞只表达 FcγRIII, 而单核细胞表达 FcγRI、FcγRII 和 FcγRIII。Ravetch 和 Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457–92 (1991)第 464 页的表 3 小结了造血细胞上的 FcR 表达情况。

几种抗体效应功能是由结合抗体 Fc 区的 Fc 受体(FcR)介导的。FcR 由其免疫球蛋白同种型的特异性限定; IgG 抗体的 Fc 受体称为 FcγR, IgE 的 Fc 受体称为 FcεR, IgA 的 Fc 受体称为 FcαR, 等等。已鉴定到 FcγR 的 3 种亚型: FcγRI (CD64)、FcγRII (CD32)和 FcγRIII (CD16)。这些不同的 FcR 亚型在不同细胞类型上表达(综述参见 Ravetch 和 Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457–492 (1991))。例如, 在人中, 只在嗜中性粒细胞上发现 FcγRIIIB, 而在巨噬细胞、单核细胞、自然杀伤(NK)细胞和 T 细胞亚群上发现 FcγRIIIA。显然, FcγRIIIA 是 NK 细胞(涉及 ADCC 的细胞类型之一)上唯一的 FcR。

此外, 本发明提供对 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)具有高亲和力和/或高亲和力的抗体, 用于治疗 and/或改善上呼吸道 RSV 感染(URI)和/或下呼吸道 RSV 感染(LRI)以及治疗、控制和/或改善呼吸道病症, 包括但不限于: RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果, 例如, 哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合, 该抗体在 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段(优选修饰的 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)中包含能延长 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段(例如 Fc 或铰链-Fc 结构域)的体内半衰期、并能增加 IgG 或其含有修饰区域的 FcRn-结合片段(即“修饰抗体”)与 FcRn 的亲和力的一个或多个氨基酸修饰和与其连接的任何分子。氨基酸修饰可以是任何残基修饰(在一些实施方式中, 在特定位置上的残基未经修

饰但已具有所需残基),优选在残基 251-256、285-290、308-314、385-389 和 428-436 的一处或多处的修饰,其中该修饰能增加 IgG 或其含有修饰区域的 FcRn-结合片段(即“修饰抗体”)与 FcRn 的亲合力。在其它实施方式中,该抗体的恒定区或其 FcRn-结合片段中包含 252 位的酪氨酸(252Y)、254 位的苏氨酸(254T)和/或 256 位的谷氨酸 (256E)(按照 Kabat 等(1991),免疫学感兴趣蛋白质的序列(Sequences of proteins of immunological interest).(美国卫生和人类服务部(U.S. Department of Health and Human Services), 华盛顿特区) 第 5 版(“Kabat 等”)所述的 EU 索引对恒定区编号)。在其它实施方式中,该抗体的恒定区或其 FcRn-结合片段中包含 252Y、254T 和 256E (参见 Kabat 等, 同上的 EU 索引)(下文中称为“YTE”)。

本发明提供在对象中治疗、控制和/或改善呼吸道病症,包括但不限于: RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果,例如,哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法,所述方法包括给予所述对象有效量的以高亲和力和/或高亲合力免疫学特异性结合 RSV 抗原的本文所述抗体(修饰抗体)。因为与已知抗体(如帕丽珠单抗)的有效血清效价相比,本发明抗体的血清效价较低和/或持续时间较长,能更有效地控制、治疗和/或改善 RSV 感染(如急性 RSV 疾病,或 RSV URI 和/或 LRI),所以可采用较低和/或较少的抗体剂量达到有效控制、治疗和/或改善 RSV 感染(如急性 RSV 疾病,或 RSV URI 和/或 LRI)的血清效价,例如每个 RSV 季节给予一个或多个剂量。采用较低和/或较少剂量的特异性结合 RSV 抗原的本发明抗体能降低在治疗过程中发生不良作用的可能性,对于给予(例如)婴儿来说更安全(例如,由于与已知抗体(如帕丽珠单抗)相比血清效价较低、血清半衰期较长和/或更好地定位于上呼吸道和/或下呼吸道)。在某些实施方式中,每个 RSV 季节给予抗体一次或两次。

因此,本发明提供与已知 RSV 抗体(如帕丽珠单抗)相比功效提高和/或对 RSV 抗原(优选 RSV F 抗原)的亲合力和/或亲合力增加的抗体和使用该抗体的方法。在一些实施方式中,所述抗体包含修饰的 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段(优选 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域),导致与(例如)不包含修饰的 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段的抗体相比(如与 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段中不包含一个或多个修饰的相同抗体(即相同的未修饰抗体)相比,或与另一种 RSV 抗体,如帕丽珠单抗相比),体内血清半衰期延长。在一些实施方式中,将所述抗体给予对象,其中所述对象是人对象。

在一个具体实施方式中, 本发明提供治疗、控制和/或改善呼吸道病症, 包括但不限于: RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果, 例如, 哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法, 所述方法包括给予对象有效量的本文所述抗体, 例如修饰抗体(即本发明抗体)。在另一实施方式中, 本发明提供一种控制、治疗和/或改善急性 RSV 疾病或向急性 RSV 疾病进展的方法, 所述方法包括给予对象有效量的本发明抗体。在一些实施方式中, 与 RSV 感染有关的症状或呼吸道病症是哮喘、喘鸣、RAD、鼻塞、鼻扇动(nasal flaring)、咳嗽、呼吸急促(快速咳嗽)、呼吸困难、发热、哮吼性咳嗽或其组合。在一些实施方式中, 预防、治疗、控制和/或改善上呼吸道和下呼吸道 RSV 感染。在其它实施方式中, 预防、治疗、控制和/或改善从上呼吸道感染向下呼吸道感染的进展。在其它实施方式中, 预防、治疗、控制和/或改善急性 RSV 疾病或向急性 RSV 疾病的进展。

在一个具体实施方式中, 本发明提供治疗、控制和/或改善呼吸道病症, 包括但不限于: RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果, 例如, 哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法, 所述方法包括给予对象有效量的本发明抗体。在另一实施方式中, 本发明提供治疗、控制和/或改善呼吸道病症, 包括但不限于: RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果, 例如, 哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法, 所述方法包括给予对象有效量的本发明抗体和有效量的除本发明抗体以外的治疗。优选地, 这种治疗可用于控制、治疗和/或改善 RSV 感染(优选急性 RSV 疾病或 RSV URI 和/或 LRI)。在另一实施方式中, 根据本发明方法治疗、控制和/或改善的病症由 RSV 感染, 优选 RSV URI 和/或 LRI 造成、产生或与其相关。

本发明提供在对象中治疗、控制和/或改善呼吸道病症, 包括但不限于: RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果, 例如, 哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法, 所述方法包括给予所述对象至少第一剂量的本发明抗体, 以使所述对象的血清抗体效价为约 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至 800 $\mu\text{g/ml}$, 如 0.1 $\mu\text{g/ml}$ -500 $\mu\text{g/ml}$ 、0.1 $\mu\text{g/ml}$ -250 $\mu\text{g/ml}$ 、0.1 $\mu\text{g/ml}$ -100 $\mu\text{g/ml}$ 、0.1 $\mu\text{g/ml}$ -50 $\mu\text{g/ml}$ 、0.1 $\mu\text{g/ml}$ -25 $\mu\text{g/ml}$ 或 0.1 $\mu\text{g/ml}$ -10 $\mu\text{g/ml}$ 。在某些实施方式中, 所述血清抗体效价为至少 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.4 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.6 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.8 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1.5 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 2 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 5 $\mu\text{g/ml}$ 、至少

10 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 15 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 20 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 25 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 30 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 35 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 40 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 45 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 50 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 55 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 60 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 65 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 70 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 75 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 80 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 85 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 90 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 95 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 100 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 105 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 110 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 115 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 120 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 125 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 130 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 135 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 140 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 145 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 150 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 155 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 160 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 165 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 170 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 175 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 180 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 185 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 190 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 195 $\mu\text{g/ml}$ 、或至少 200 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 250 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 300 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 350 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 400 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 450 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 500 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 550 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 600 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 650 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 700 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 750 $\mu\text{g/ml}$ 或至少 800 $\mu\text{g/ml}$ 。在一个实施方式中，治疗有效剂量导致血清抗体效价为约 75 $\mu\text{g/ml}$ 或更低，约 60 $\mu\text{g/ml}$ 或更低，导致血清抗体效价为约 50 $\mu\text{g/ml}$ 或更低，约 45 $\mu\text{g/ml}$ 或更低，约 30 $\mu\text{g/ml}$ 或更低，优选至少 2 $\mu\text{g/ml}$ ，更优选至少 4 $\mu\text{g/ml}$ ，最优选至少 6 $\mu\text{g/ml}$ 。

在一些实施方式中，在给予第一剂量的本发明抗体之后约或持续约 12-24 小时且在任选给予后续剂量之前，在对象中存在上述血清抗体浓度。在一些实施方式中，在给予第一剂量的所述抗体后数天并且在任选给予后续剂量之前，存在上述血清抗体浓度，其中所述数天为约 20 天-180 天(或更长时间)，如 20 天-90 天、20 天-60 天或 20 天-30 天，在某些实施方式中是至少 20 天、至少 25 天、至少 30 天、至少 35 天、至少 40 天、至少 45 天、至少 50 天、至少 60 天、至少 75 天、至少 90 天、至少 105 天、至少 120 天、至少 135 天、至少 150 天、至少 165 天、至少 180 天或更长时间。在某些实施方式中，产生上述血清抗体浓度的所述抗体的第一剂量为约 60 mg/kg 或更低、约 50 mg/kg 或更低、约 45 mg/kg 或更低、约 40 mg/kg 或更低、约 30 mg/kg 或更低、约 20 mg/kg 或更低、约 15 mg/kg 或更低、约 10 mg/kg 或更低、约 5 mg/kg 或更低、约 4 mg/kg 或更低、约 3 mg/kg 、约 2 mg/kg 或更低、约 1.5 mg/kg 或更低、约 1.0 mg/kg 或更低、约 0.80 mg/kg 或更低、约 0.40 mg/kg 或更低、约 0.20 mg/kg 或更低、约 0.10 mg/kg 或更低、约 0.05 mg/kg 或更低、或者约 0.025 mg/kg 或更低。在一些实施方式中，本发明抗体的第一剂量是导致任何一种上述血清抗体浓度的治疗有效剂量。在一个实施方式中，在缓释制剂中和/或通过鼻内或经肺递送给予本发明抗体的第一剂量。

本发明也提供在对象中治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法，所述方法包括给予所述对象第一剂量的本发明抗体，以便与阴性对照，例如接受安慰剂的对象相比，与给予第一剂量的本发明抗体之前对象的效价相比或与接受另一 RSV 抗体(如帕丽珠单抗)的对象相比，所述对象的 RSV 病毒肺效价和/或 RSV 病毒痰液效价降低(用本领域技术人员熟知的方法测定)。抗体是本发明修饰抗体的实施方式中，还可将 RSV 病毒肺效价和/或 RSV 病毒痰液效价降低与接受 IgG 恒定区中没有修饰的相同抗体的对象相比。

本发明还提供在对象中治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法，所述方法包括给予所述对象第一剂量的本发明抗体，以使所述对象的鼻甲和/或鼻分泌物和/或支气管肺泡灌洗液(BAL)抗体浓度为约 0.01 $\mu\text{g/ml}$ 至 2.5 $\mu\text{g/ml}$ (或更高)。在某些实施方式中，鼻甲和/或鼻分泌物和/或 BAL 抗体浓度为至少 0.01 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.011 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.012 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.013 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.014 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.015 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.016 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.017 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.018 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.019 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.02 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.025 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.03 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.035 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.04 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.06 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.07 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.08 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.09 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.11 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.115 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.12 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.125 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.13 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.135 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.14 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.145 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.15 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.155 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.16 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.165 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.17 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.175 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.18 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.185 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.19 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.195 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.3 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.4 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.6 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.7 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.8 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.9 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1.1 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1.2 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1.3 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1.4 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1.5 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1.6 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1.7 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1.8 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1.9 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 2.0 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 2.1 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 2.2 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 2.3 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 2.4 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 2.5 $\mu\text{g/ml}$ 或更高。

在一些实施方式中，给予第一剂量的本发明抗体后约或持续约 12-24 小时并且在任选给予后续剂量之前，在所述对象中存在上述鼻甲和/或鼻分泌物抗体浓

度。在一些实施方式中,给予第一剂量的所述抗体后数天并且在任选给予后续剂量之前,存在上述鼻甲和/或鼻分泌物和/或 BAL 抗体浓度,其中所述数天为约 20 天至 180 天(或更长时间)、在某些实施方式中为至少 20 天、至少 25 天、至少 30 天、至少 35 天、至少 40 天、至少 45 天、至少 50 天、至少 60 天、至少 75 天、至少 90 天、至少 105 天、至少 120 天、至少 135 天、至少 150 天、至少 165 天、至少 180 天或更长时间。在某些实施方式中,产生上述鼻甲和/或鼻分泌物和/或 BAL 抗体浓度的抗体的第一剂量是约 60 mg/kg 或更低、约 50 mg/kg 或更低、约 45 mg/kg 或更低、约 40 mg/kg 或更低、约 30 mg/kg 或更低、约 20 mg/kg 或更低、约 15 mg/kg 或更低、约 10 mg/kg 或更低、约 5 mg/kg 或更低、约 4 mg/kg 或更低、约 3 mg/kg、约 2 mg/kg 或更低、约 1.5 mg/kg 或更低、约 1.0 mg/kg 或更低、约 0.80 mg/kg 或更低、约 0.40 mg/kg 或更低、约 0.20 mg/kg 或更低、约 0.10 mg/kg 或更低、约 0.05 mg/kg 或更低、或者约 0.025 mg/kg 或更低。在一些实施方式中,本发明抗体的第一剂量是产生任何一种上述鼻甲和/或鼻分泌物和/或 BAL 抗体浓度的治疗有效剂量。在一个实施方式中,在缓释制剂中和/或通过鼻内和/或经肺递送给予本发明抗体的第一剂量。

在特定实施方式中,本发明提供在对象中治疗、控制和/或改善呼吸道病症,包括但不限于:RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果,例如,哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法,所述方法包括给予有效量的本发明抗体,其中所述有效量导致鼻甲和/或鼻分泌物和/或 BAL 中的 RSV 效价降低约 1 倍、约 1.5 倍、约 2 倍、约 3 倍、约 4 倍、约 5 倍、约 8 倍、约 10 倍、约 15 倍、约 20 倍、约 25 倍、约 30 倍、约 35 倍、约 40 倍、约 45 倍、约 50 倍、约 55 倍、约 60 倍、约 65 倍、约 70 倍、约 75 倍、约 80 倍、约 85 倍、约 90 倍、约 95 倍、约 100 倍、约 105 倍、约 110 倍、约 115 倍、约 120 倍、约 125 倍或更多。鼻甲和/或鼻分泌物和/或 BAL 中 RSV 效价的降低倍数可与阴性对照(如安慰剂)作比较,与另一种治疗(包括但不限于帕丽珠单抗治疗)作比较,与给予抗体之前的患者效价作比较,或者在修饰抗体的情况下与相同的未修饰抗体(如恒定区修饰之前的相同抗体)作比较。

本发明提供用实现治疗有效血清效价的本发明抗体中和上呼吸道和/或下呼吸道或中耳中 RSV 的方法,其中在给药后约 20、25、30、35、40、45、60、75、90、105、120、135、150、165、180 或更多天(没有给予任何其它剂量),所述有

效血清效价小于 30 $\mu\text{g/ml}$ (优选约 2 $\mu\text{g/ml}$ 、更优选约 4 $\mu\text{g/ml}$ 、最优选约 6 $\mu\text{g/ml}$)。本发明抗体可能包含或不包含本文所述的修饰的 IgG(如 IgG1)恒定区或其 FcRn-结合片段(如 Fc 或铰链-Fc 结构域)。

在其它实施方式中, 本发明方法所用抗体对 RSV 抗原具有高亲和力。在一个实施方式中, 与已知抗体(如帕丽珠单抗或其它野生型抗体)相比, 本发明方法所用抗体对 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)的亲和力较高。本发明方法所用抗体可能包含或不包含修饰的 IgG(如 IgG1)恒定区或其 FcRn-结合片段(如 Fc 或铰链-Fc 结构域)。在某些实施方式中, 所述抗体是修饰抗体, IgG 恒定区优选包含延长血清半衰期的 YTE 修饰(如 MEDI-524 YTE)。在一个具体实施方式中, 经过本文所述技术或本领域技术人员已知技术(如 BIAcore 实验或 Kinexa 实验)评估, 本发明方法所用抗体对 RSV 抗原的亲和力是已知抗-RSV 抗体的 20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、55 倍、60 倍、65 倍、70 倍、75 倍、80 倍、90 倍、100 倍或更多倍。在一个更具体的实施方式中, 经过本文所述技术或本领域技术人员已知技术(如 BIAcore 实验或 Kinexa 实验)评估, 本发明方法所用抗体对 RSV F 抗原的亲和力是帕丽珠单抗的 20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、55 倍、60 倍、65 倍、70 倍、75 倍、80 倍、90 倍、100 倍或更多倍。在另一实施方式中, 经过本文所述技术或本领域技术人员已知技术(如 BIAcore 实验或 Kinexa 实验)评估, 本发明方法所用抗体对 RSV F 抗原的亲和力是帕丽珠单抗的 65 倍, 优选 70 倍, 或更多倍。按照这些实施方式, 在一个实施方式中抗体的亲和力通过 BIAcore 实验进行评估。在另一实施方式中, 抗体的亲和力通过 Kinexa 实验进行评估。

在一个实施方式中, 本发明方法所用抗体免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原, 其结合速率常数或 k_{on} 速率(抗体 (Ab) + 抗原 (Ag) $\xrightarrow{k_{\text{on}}}$ Ab-Ag)为约 $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 至 $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ (或更高), 在某些实施方式中为至少 $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少 $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少 $4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少 $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少 $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 或至少 $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 。在另一实施方式中, 本发明方法所用抗体免疫学特异性结合 RSV 抗原, 其 k_{on} 速率是已知抗 RSV 抗体的 1 倍、1.5 倍、2 倍、3 倍、4 倍或 5 倍。在另一实施方式中, 本发明方法所用抗体免疫学特异性结合 RSV F 抗原, 其 k_{on} 速率是帕丽珠单抗的 1 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍或更多倍。有关单个速率常数和亲和力计算的详细说明可参见

BIAevaluation 软件手册(比亚科公司(BIAcore, Inc.), 新泽西州皮斯卡塔韦)和 Kuby (1994) 《免疫学》(Immunology), 第 2 版(WHF 公司(W.H. Freeman & Co.), 纽约州纽约)。

在一个具体实施方式中, 本发明方法所用抗体免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原, 其 k_{off} 速率($\text{Ab-Ag} \rightarrow \text{Ab} + \text{Ag}$) 小于 $5 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-1} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-2} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-3} s^{-1} 、优选小于 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-4} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-5} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-6} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-7} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-8} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-9} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-10} \text{ s}^{-1}$ 或小于 10^{-10} s^{-1} 。在另一实施方式中, 本发明方法所用抗体免疫学特异性结合 RSV 抗原, 其 k_{off} 速率是已知抗 RSV 抗体的 1/1、1/1.5、1/2、1/3、1/4、1/5、1/10、1/20、1/30、1/40、1/50、1/60、1/70、1/80、1/90 或 1/100。在另一实施方式中, 本发明方法所用抗体免疫学特异性结合 RSV F 抗原, 其 k_{off} 速率是帕丽珠单抗的 1/1、1/2、1/3、1/4、1/5、1/10、1/15、1/20、1/30、1/40、1/50、1/60、1/70、1/80、1/90 或 1/100 或更低。

在一个具体实施方式中, 本发明方法所用抗体免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原, 其 k_{on} 为约 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 至 $10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (或更高), 在某些实施方式中至少是 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, 优选至少 $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、至少 $4 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、至少 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、至少 $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 或至少 $10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, 其 k_{off} 速率小于 $5 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-1} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-2} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-3} s^{-1} 、优选小于 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-4} s^{-1} 、小于 $7.5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 、小于 $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-5} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-6} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-7} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-8} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ 、小于 10^{-9} s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-10} \text{ s}^{-1}$ 或小于 10^{-10} s^{-1} 。在一个实施方式中, 本发明抗体的 k_{on} 约为帕丽珠单抗的 2 倍、3 倍、4 倍或 5 倍, 或更多倍。在一个实施方式中, 本发明抗体的 k_{off} 约为帕丽珠单抗的 1/2、1/3、1/4 或 1/5, 或更低。

在一个具体实施方式中, 本发明方法所用抗体免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原, 其亲和常数或 K_a ($k_{\text{on}}/k_{\text{off}}$) 为约 10^2 M^{-1} 至 $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$, 在某些实施方式中是至少 10^2 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^3 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^4 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^5 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^6 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^7 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^8 M^{-1} , 优选至少 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、至少

10^9 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{10} M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{11} M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{12} M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{13} M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{14} M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{15} M^{-1} 或至少 $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ 。

在一个实施方式中，本发明方法所用抗体的解离常数或 $K_d (k_{\text{off}}/k_{\text{on}})$ 小于 $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ 、小于 10^{-2} M 、小于 $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ 、小于 10^{-3} M 、小于 $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ 、小于 10^{-4} M 、小于 $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ 、小于 10^{-5} M 、小于 $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ 、小于 10^{-6} M 、小于 $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ 、小于 10^{-7} M 、小于 $5 \times 10^{-8} \text{ M}$ 、小于 10^{-8} M 、小于 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、小于 10^{-9} M 、小于 $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ 、小于 10^{-10} M 、小于 $5 \times 10^{-11} \text{ M}$ 、小于 10^{-11} M 、小于 $5 \times 10^{-12} \text{ M}$ 、小于 10^{-12} M 、小于 $5 \times 10^{-13} \text{ M}$ 、小于 10^{-13} M 、小于 $5 \times 10^{-14} \text{ M}$ 、小于 10^{-14} M 、小于 $5 \times 10^{-15} \text{ M}$ 、小于 10^{-15} M 或小于 $5 \times 10^{-16} \text{ M}$ 。

在一个具体实施方式中，本发明方法所用抗体免疫学特异性结合 RSV 抗原，用本文所述或本领域技术人员已知实验(如 BIAcore 实验)评估其解离常数(K_d)小于 3000 pM、小于 2500 pM、小于 2000 pM、小于 1500 pM、小于 1000 pM、小于 750 pM、小于 500 pM、小于 250 pM、小于 200 pM、小于 150 pM、小于 100 pM、小于 75 pM。在另一实施方式中，本发明方法所用抗体免疫学特异性结合 RSV 抗原，用本文所述或本领域技术人员已知实验(如 BIAcore 实验或 Kinexa 实验)评估其解离常数(K_d)为 25 至 3400 pM、25 至 3000 pM、25 至 2500 pM、25 至 2000 pM、25 至 1500 pM、25 至 1000 pM、25 至 750 pM、25 至 500 pM、25 至 250 pM、25 至 100 pM、25 至 75 pM、25 至 50 pM。在另一实施方式中，本发明方法所用抗体免疫学特异性结合 RSV 抗原，用本文所述或本领域技术人员已知实验(如 BIAcore 实验或 Kinexa 实验)评估其解离常数(K_d)为 500 pM，优选 100 pM，更优选 75 pM，最优选 50 pM。

本发明也提供治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法，所述方法包括给予对象包含一种或多种本发明抗体的组合物(例如，通过经肺递送或鼻内递送)，所述本发明抗体免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)的亲合力和/或亲合力高于已知抗体如帕丽珠单抗(如，抗体或抗体片段对一种或多种 RSV 抗原的亲合力为约 $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 至 $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ (或更高)，优选至少 $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、至少 $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^9 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{10} M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、至

少 10^{11} M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{12} M^{-1} 或至少 $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 。

IC_{50} 是在体外微量中和实验中中和 50%RSV 的抗体浓度。在某些实施方式中，微量中和实验是本文所述或 Johnson 等, 1999, J. Infectious Diseases 180:35-40 所述的微量中和实验。在特定实施方式中，本发明方法所用抗体免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原，在体外微量中和实验中其半数抑制浓度(IC_{50})小于 6 nM、小于 5 nM、小于 4 nM、小于 3 nM、小于 2 nM、小于 1.75 nM、小于 1.5 nM、小于 1.25 nM、小于 1 nM、小于 0.75 nM、小于 0.5 nM、小于 0.25 nM、小于 0.1 nM、小于 0.05 nM、小于 0.025 nM 或小于 0.01 nM。

因此，本发明方法包括使用与已知抗-RSV 抗体相比体内半衰期延长的修饰抗体，这种延长是，例如，经鉴定参与所述修饰抗体 Fc 结构域与 FcRn 受体相互作用的氨基酸残基中的一个或多个修饰造成的。在一个实施方式中，本发明包括使用以高亲和力和/或高亲合力免疫学特异性结合 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)的抗体，其包含修饰的 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段(优选 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)，其中相对于不含修饰 IgG 结构域的相同抗体或另一种 RSV-抗体，如帕丽珠单抗的 Fc 结构域，修饰的 IgG 恒定区导致修饰的 IgG 恒定区与 FcRn 的亲合力增加。按照这个实施方式，所述修饰抗体的 Fc 结构域亲合力增加导致所述修饰的体内半衰期为约 20 天至 180 天(或更长时间)，在一些实施方式中，是至少 20 天、至少 25 天、至少 30 天、至少 35 天、至少 40 天、至少 45 天、至少 50 天、至少 60 天、至少 75 天、至少 90 天、至少 105 天、至少 120 天、至少 135 天、至少 150 天、至少 165 天、至少 180 天或更长时间。在另一实施方式中，所述修饰抗体包含 MEDI-524 的 VH 和 VL CDR、结构域或链，或其抗原结合片段，以及相对于(如)帕丽珠单抗的 Fc 结构域对 FcRn 受体亲合力增强的 Fc 结构域。

本发明实施方式包括但不限于：

1. 一种免疫学特异性结合 RSV F 抗原的修饰抗体，所述修饰抗体包含三个重链可变区互补决定区(VH CDR)和三个轻链可变区 CDR(VL CDR)，其具有 A4B4L1FR-S28R、A4B4-F52S、AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、Al2a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、IX-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(I)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5 或 A4B4(1)的 VH CDR 1、2 和 3 以及 VL CDR 1、2 和 3 的氨基酸序列，如表 1 所示，其中所述修饰抗体具有相对于野生型人 IgG Fc 结构域包含一个或多个氨基酸取代的修饰的人 IgG Fc

结构域，其中所述氨基酸取代导致与不含所述氨基酸取代的野生型抗体相比，所述修饰抗体对一种或多种 Fc 受体的结合亲和力改变。

2. 如实施方式 1 所述的修饰抗体，其特征在于，所述修饰抗体包含 VH 结构域和 VL 结构域，其具有 A4B4L1FR-S28R、A4B4-F52S、AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、Al2a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、IX-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(I)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5 或 A4B4(1) 的 VH 结构域和 VL 结构域的氨基酸序列，如表 1 所示。

3. 如实施方式 1 所述的修饰抗体，其特征在于，所述修饰的 IgG Fc 结构域在按照 Kabat 所列的 EU 索引编号的氨基酸残基 332E 上包含氨基酸取代。

4. 如实施方式 3 所述的修饰抗体，其特征在于，所述修饰的 IgG Fc 结构域还在按照 Kabat 所列的 EU 索引编号的氨基酸残基 239D 和 330L 上包含氨基酸取代。

5. 如实施方式 1 所述的修饰抗体，其特征在于，所述一个或多个氨基酸取代选自下组：234E、235R、235A、235W、235P、235V、235Y、236E、239D、265L、269S、269G、298I、298T、298F、327N、327G、327W、328S、328V、329H、329Q、330K、330V、330G、330Y、330T、330L、330I、330R、330C、332E、332H、332S、332W、332F、332D 和 332Y，其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

6. 如实施方式 1 所述的修饰抗体，其特征在于，所述修饰的 IgG Fc 结构域在按照 Kabat 所列的 EU 索引编号的氨基酸残基 331S 上包含氨基酸取代。

7. 如实施方式 6 所述的修饰抗体，其特征在于，所述修饰的 IgG Fc 结构域还在按照 Kabat 所列的 EU 索引编号的氨基酸残基 234F 和 235E 上包含氨基酸取代。

8. 如实施方式 1 所述的修饰抗体，其特征在于，所述一个或多个氨基酸取代选自下组：233P、234V、235A、265A、327G 和 330S，其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

9. 如实施方式 3-7 中任一项所述的修饰抗体，其特征在于，所述修饰的 IgG Fc 结构域相对于野生型人 IgG Fc 结构域还包含其它氨基酸取代，其中所述其它氨基酸取代导致与不含所述其它氨基酸取代的野生型抗体相比修饰抗体的血清半衰期延长。

10. 如实施方式 9 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述其它氨基酸取代是在氨基酸残基 251、252、254、255、256、308、309、311、312、314、385、386、387、389、428、433、434 和 436 中一个或多个位置上的取代, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

11. 如实施方式 10 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述其它氨基酸取代是在 251 位用亮氨酸取代, 在 252 位用酪氨酸、色氨酸或苯丙氨酸取代, 在 254 位用苏氨酸或丝氨酸取代, 在 255 位用精氨酸取代, 在 256 位用谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸或谷氨酸取代, 在 308 位用苏氨酸取代, 在 309 位用脯氨酸取代, 在 311 位用丝氨酸取代, 在 312 位用天冬氨酸取代, 在 314 位用亮氨酸取代, 在 385 位用精氨酸、天冬氨酸或丝氨酸取代, 在 386 位用苏氨酸或脯氨酸取代, 在 387 位用精氨酸或脯氨酸取代, 在 389 位用脯氨酸、天冬酰胺或丝氨酸取代, 在 428 位用甲硫氨酸或苏氨酸取代, 在 434 位用酪氨酸或苯丙氨酸取代, 在 433 位用组氨酸、精氨酸、赖氨酸或丝氨酸取代, 或者在 436 位用组氨酸、酪氨酸、精氨酸或苏氨酸取代, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

12. 如实施方式 11 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述其它氨基酸取代是在 252 位用酪氨酸取代、在 254 位用苏氨酸取代和在 256 位用谷氨酸取代, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

13. 一种组合物, 其包含无菌载体中的实施方式 1、3、6 或 9 所述的修饰抗体。

14. 一种治疗感染 RSV 的人患者的方法, 所述方法包括给予有此需要的患者治疗有效量的实施方式 1-13 中任一项所述的组合物。

15. 如实施方式 14 所述的方法, 其特征在于, 所述治疗有效量选自下组: 约 100 mg/kg、约 50 mg/kg、约 30 mg/kg、约 25 mg/kg、约 20 mg/kg、约 15 mg/kg、约 10 mg/kg、约 5 mg/kg、约 3 mg/kg、约 1.5 mg/kg、约 1 mg/kg、约 0.75 mg/kg、约 0.5 mg/kg、约 0.25 mg/kg、约 0.1 mg/kg、约 0.05 mg/kg, 和约 0.025 mg/kg。

16. 如实施方式 14 所述的方法, 其特征在于, 所述人患者接受过骨髓移植, 患有囊性纤维化病、支气管肺发育异常、先天性心脏病、慢性阻塞性肺病(COPD)、先天性免疫缺陷或获得性免疫缺陷。

17. 如实施方式 14 所述的方法, 其特征在于, 所述人患者是婴儿、早产婴儿、因 RSV 感染住院治疗的婴儿、倾向于发生哮喘和/或反应性气道病(RAD)和/

或喘鸣的婴儿或年龄为 0-5 岁的儿童。

18. 如实施方式 14 所述的方法, 其特征在于, 所述人患者是老年人, 或者居住在疗养院。

19. 如实施方式 14 所述的方法, 其特征在于, 所述组合物通过鼻内递送、肌肉内递送、真皮内递送、腹膜内递送、静脉内递送、皮下递送、口服递送、经肺递送或其组合给予所述人患者。

20. 如实施方式 14 所述的方法, 其特征在于, 在 RSV 季节中将所述组合物给予所述患者五次、四次、三次、两次或一次。

21. 如实施方式 14 所述的方法, 其特征在于, 经病毒脱落测定, 与未治疗性给予所述修饰抗体的对照相比, 在所述人患者中治疗性给予所述修饰抗体将 RSV 复制抑制或下调至少 99%、至少 95%、至少 90%、至少 85%、至少 80%、至少 75%、至少 70%、至少 60%、至少 50%、至少 45%、至少 40%、至少 35%、至少 30%、至少 25%、至少 20%或至少 10%。

22. 如实施方式 14 所述的方法, 其特征在于, 经生物试验测定, 与未治疗性给予所述修饰抗体的对照相比, 在所述人患者中治疗性给予所述修饰抗体将细胞因子的血清水平降低约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 95%或约 100%。

23. 如实施方式 14 所述的方法, 其特征在于, 经生物试验测定, 与未治疗性给予所述修饰抗体的对照相比, 在所述人患者中治疗性给予所述修饰抗体将趋化因子释放的血清水平降低约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 95%或约 100%。

24. 一种治疗感染 RSV 的人患者的方法, 所述方法包括给予治疗有效量的融合蛋白, 该融合蛋白包含具有表 1 所列 CDR 的氨基酸序列的 CDR 和异源氨基酸序列。

25. 如实施方式 14 所述的方法, 其特征在于, 所述治疗性给予所述修饰抗体是 RSV 感染后 12 小时或 24 小时, 鼻内给予 RSV 病毒载量的 M.O.I 约 0.1 的人患者。

26. 如实施方式 25 所述的方法, 其特征在于, 所述治疗性给予所述修饰抗

体是 RSV 感染后 48 小时，鼻内给予 RSV 病毒载量的 M.O.I 约 0.01 的人患者。

27. 如实施方式 14 所述的方法、其特征在于，所述修饰抗体与表 1 所示的 AFFF、P12f2、P12f4、Plld4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、IX-493LER、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(I)、6H8、Ll-7E5、L2-15B10、A13a11、Alh5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R 或 A4B4-F52S 的 VH 结构域和 VL 结构域氨基酸序列至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%或至少 99%相同。

28. 如实施方式 14 所述的方法、其特征在于，所述修饰抗体包含一个或多个 VH CDR 的氨基酸序列，所述 VH CDR 与表 1 所列任何 VH CDR 至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%或至少 99%相同。

29. 如实施方式 14 所述的方法、其特征在于，所述修饰抗体包含一个或多个 VL CDR 的氨基酸序列，所述 VL CDR 与表 1 所列任何 VL CDR 至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%或至少 99%相同。

30. 如前述任一实施方式所述的方法，其特征在于，所述修饰抗体是 Fab'2 片段。

31. 一种免疫学特异性结合 RSV F 抗原的修饰抗体，所述修饰抗体包含：

(a) 包含以下部分的重链：

(1) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:48 的重链可变区(VH)；

(2) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:254 的 VH 链；

(3) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:10 的 VH CDR1；

(4) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:19 的 VH CDR2 序列；

(5) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:20 的 VH CDR3；

(6) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:10 的 VH CDR1 和具有氨基酸序列 SEQ ID NO:19 的 VH CDR2 序列；

(7) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:10 的 VH CDR1 和具有氨基酸序列 SEQ ID NO:20 的 VH CDR3；

(8) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:19 的 VH CDR2 序列和具有氨基酸序列 SEQ ID NO:20 的 VH CDR3；或

(9) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:10 的 VH CDR1、具有氨基酸序列 SEQ ID NO:19 的 VH CDR2 序列和具有氨基酸序列 SEQ ID NO:20 的 VH CDR3；和/或

(b) 包含以下部分的轻链:

- (1) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:11 的轻链可变区(VL);
- (2) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:255 的 VL 链;
- (3) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:39 的 VL CDR1;
- (4) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:39 的 VL CDR1 和具有氨基酸序列 SEQ ID NO:5 的 VL CDR2 序列;
- (5) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:39 的 VL CDR1 和具有氨基酸序列 SEQ ID NO:6 的 VL CDR3 序列; 或者
- (6) 具有氨基酸序列 SEQ ID NO:39 的 VL CDR1、具有氨基酸序列 SEQ ID NO:5 的 VL CDR2 序列和具有氨基酸序列 SEQ ID NO:6 的 VL CDR3; 和

(c)其中所述修饰抗体具有相对于野生型人 IgG Fc 结构域包含一个或多个氨基酸取代的修饰的人 IgG Fc 结构域, 其中所述氨基酸取代导致修饰抗体具有修饰的效应功能, 包括与不含所述氨基酸取代的野生型抗体相比修饰抗体对一种或多种 FcR 的结合亲和力改变。

32. 如实施方式 31 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述修饰的 IgG Fc 结构域在按照 Kabat 所列的 EU 索引编号的氨基酸残基 332E 上包含氨基酸取代。

33. 如实施方式 32 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述修饰的 IgG Fc 结构域还在按照 Kabat 所列的 EU 索引编号的氨基酸残基 239D 和 330L 上包含氨基酸取代。

34. 如实施方式 31 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述一个或多个氨基酸取代选自下组: 234E、235R、235A、235W、235P、235V、235Y、236E、239D、265L、269S、269G、298I、298T、298F、327N、327G、327W、328S、328V、329H、329Q、330K、330V、330G、330Y、330T、330L、330I、330R、330C、332E、332H、332S、332W、332F、332D 和 332Y, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

35. 如实施方式 31 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述修饰的 IgG Fc 结构域在按照 Kabat 所列的 EU 索引编号的氨基酸残基 331S 上包含氨基酸取代。

36. 如实施方式 35 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述修饰的 IgG Fc 结构域还在按照 Kabat 所列的 EU 索引编号的氨基酸残基 234F 和 235E 上包含氨基酸取代。

37. 如实施方式 31 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述一个或多个氨基酸取代选自下组: 233P、234V、235A、265A、327G 和 330S, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

38. 如实施方式 31-37 中任一项所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述修饰的 IgG Fc 结构域相对于野生型人 IgG Fc 结构域还包含其它氨基酸取代, 其中所述其它氨基酸取代导致与不含所述其它氨基酸取代的野生型抗体相比修饰抗体的血清半衰期延长。

39. 如实施方式 38 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述其它氨基酸取代是在氨基酸残基 251、252、254、255、256、308、309、311、312、314、385、386、387、389、428、433、434 和 436 中一个或多个位置上的取代, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

40. 如实施方式 39 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述其它氨基酸取代是在 251 位用亮氨酸取代, 在 252 位用酪氨酸、色氨酸或苯丙氨酸取代, 在 254 位用苏氨酸或丝氨酸取代, 在 255 位用精氨酸取代, 在 256 位用谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸或谷氨酸取代, 在 308 位用苏氨酸取代, 在 309 位用脯氨酸取代, 在 311 位用丝氨酸取代, 在 312 位用天冬氨酸取代, 在 314 位用亮氨酸取代, 在 385 位用精氨酸、天冬氨酸或丝氨酸取代, 在 386 位用苏氨酸或脯氨酸取代, 在 387 位用精氨酸或脯氨酸取代, 在 389 位用脯氨酸、天冬酰胺或丝氨酸取代, 在 428 位用甲硫氨酸或苏氨酸取代, 在 434 位用酪氨酸或苯丙氨酸取代, 在 433 位用组氨酸、精氨酸、赖氨酸或丝氨酸取代, 或者在 436 位用组氨酸、酪氨酸、精氨酸或苏氨酸取代, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

41. 如实施方式 40 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述其它氨基酸取代是在 252 位用酪氨酸取代、在 254 位用苏氨酸取代和在 256 位用谷氨酸取代, 其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。

42. 如实施方式 41 所述的修饰抗体, 其特征在于, 与包含不含 252 位的酪氨酸、254 位的苏氨酸和 256 位的谷氨酸的 IgG Fc 结构域相同抗体相比, 所述修饰抗体的体内半衰期延长约两倍、约三倍、约四倍、约五倍、约六倍、约七倍、约八倍、约九倍或约十倍。

43. 如实施方式 1、8、31 或 38 所述的修饰抗体, 其特征在于, 所述抗体的结合速率(k_{on})为至少约 $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 。

44. 如实施方式 43 所述的修饰抗体,其特征在于,所述 k_{on} 为至少约 $7.5 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ 。

45. 如实施方式 1、8、31 或 38 所述的修饰抗体,其特征在于,所述抗体的解离速率(k_{off})小于约 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 。

46. 如实施方式 1、8、31 或 38 所述的修饰抗体,其特征在于,所述抗体的解离常数(K_d)小于约 1000 pM。

47. 如实施方式 1、8、31 或 38 所述的修饰抗体,其特征在于,所述抗体的结合常数(K_a)为至少约 10^9 M^{-1} 。

48. 一种组合物,其包含无菌载体中的实施方式 31-47 中任一项所述的修饰抗体。

49. 一种治疗感染 RSV 的人患者的方法,所述方法包括给予有此需要的患者治疗有效量的实施方式 31-48 中任一项所述的组合物。

50. 如实施方式 49 所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量选自下组:约 100 mg/kg、约 50 mg/kg、约 30 mg/kg、约 25 mg/kg、约 20 mg/kg、约 15 mg/kg、约 10 mg/kg、约 5 mg/kg、约 3 mg/kg、约 1.5 mg/kg、约 1 mg/kg、约 0.75 mg/kg、约 0.5 mg/kg、约 0.25 mg/kg、约 0.1 mg/kg、约 0.05 mg/kg 和约 0.025 mg/kg。

51. 如实施方式 49 所述的方法,其特征在于,所述人患者接受过骨髓移植,患有囊性纤维化病、支气管肺发育异常、先天性心脏病、慢性阻塞性肺病(COPD)、先天性免疫缺陷或获得性免疫缺陷。

52. 如实施方式 49 所述的方法,其特征在于,所述人患者是婴儿、早产婴儿、因 RSV 感染住院治疗的婴儿、倾向于发生哮喘和/或反应性气道病(RAD)和/或喘鸣的婴儿或年龄为 0-5 岁的儿童。

53. 如实施方式 49 所述的方法,其特征在于,所述人患者是老年人,或者居住在疗养院。

54. 如实施方式 49 所述的方法,其特征在于,所述组合物通过鼻内递送、肌肉内递送、真皮内递送、腹膜内递送、静脉内递送、皮下递送、口服递送、经肺递送或其组合给予所述人患者。

55. 如实施方式 49 所述的方法,其特征在于,在 RSV 季节中将所述组合物给予所述患者五次、四次、三次、两次或一次。

56. 如实施方式 49 所述的方法,其特征在于,经病毒脱落测定,与未治疗

性给予所述修饰抗体的对照相比, 在所述人患者中治疗性给予所述修饰抗体将 RSV 复制抑制或下调至少 99%、至少 95%、至少 90%、至少 85%、至少 80%、至少 75%、至少 70%、至少 60%、至少 50%、至少 45%、至少 40%、至少 45%、至少 35%、至少 30%、至少 25%、至少 20%或至少 10%。

57. 如实施方式 49 所述的方法, 其特征在于, 经生物试验测定, 与未治疗性给予所述修饰抗体的对照相比, 在所述人患者中治疗性给予所述修饰抗体将细胞因子的血清水平降低约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 95%或约 100%。

58. 如实施方式 49 所述的方法, 其特征在于, 经生物试验测定, 与未治疗性给予所述修饰抗体的对照相比, 在所述人患者中治疗性给予所述修饰抗体将趋化因子释放的血清水平降低约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 95%或约 100%。

59. 一种治疗感染 RSV 的人患者的方法, 所述方法包括给予治疗有效量的融合蛋白, 该融合蛋白包含具有表 1 所列 CDR 的氨基酸序列的 CDR 和异源氨基酸序列。

60. 如实施方式 49 所述的方法, 其特征在于, 所述治疗性给予所述修饰抗体是 RSV 感染后 12 小时或 24 小时, 鼻内给予 RSV 病毒载量的 M.O.I 约 0.1 的人患者。

61. 如实施方式 49 所述的方法, 其特征在于, 所述治疗性给予所述修饰抗体是 RSV 感染后 48 小时, 鼻内给予 RSV 病毒载量的 M.O.I 约 0.01 的人患者。

62. 一种治疗感染 RSV 的人患者的方法, 所述方法包括给予有此需要的患者治疗有效量的 F(ab)' 片段, 该片段包含三个重链可变区互补决定区(VH CDR)和三个轻链可变区 CDR(VL CDR), 它们具有 A4B4L1FR-S28R、A4B4-F52S、AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、Al2a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、IX-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(I)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5 或 A4B4(1)的氨基酸序列, 如表 1 所示, 其中所述给药是在 RSV 季节中经肺给药。

63. 如实施方式 62 所述的方法, 其特征在于, 所述人患者是成年人或老年

人患者。

64. 如实施方式 63 所述的方法，其特征在于，与不接受治疗有效量的所述 F(ab)' 片段或接受安慰剂的相似患者相比，减少或避免所述患者因 COPD 住院治疗。

65. 如实施方式 14 或 49 所述的方法，其特征在于，与接受安慰剂或不接受所述抗体的治疗性给予的人相比，所述人患者的住院治疗时间缩短至少 60%、至少 75%、至少 85%、至少 95% 或至少 99%。

5.1 抗体

应该认识到，本领域已知免疫特异性结合 RSV 抗原的抗体。例如，帕丽珠单抗是人源化单克隆抗体，目前用于预防儿科患者的 RSV 感染。本发明提供通过给予对象有效量的如表 1 所述的本发明修饰的抗-RSV 抗体或其抗原结合片段来治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法。

本发明也提供通过给予对象有效量的本发明抗-RSV 抗体来治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的修饰抗体和方法，其中所述抗体包含修饰的 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段(优选 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)。

在一个实施方式中，所述修饰抗体具有一个或多个氨基酸修饰。所述一个或多个氨基酸修饰可以是取代。在一个实施方式中，所述一个或多个氨基酸取代是：234E、235R、235A、235W、235P、235V、235Y、236E、239D、265L、269S、269G、298I、298T、298F、327N、327G、327W、328S、328V、329H、329Q、330K、330V、330G、330Y、330T、330L、330I、330R、330C、332E、332H、332S、332W、332F、332D 和 332Y，其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。与不含所述氨基酸取代的相同抗体相比，这类 Fc 结构域氨基酸取代包括 ADCC 增强的取代(3M)。3M 的具体实施方式包括但不限于，239D、330L 和 332E。

在另一实施方式中，所述一个或多个氨基酸取代选自：233P、234F、234V、

235A、235E、265A、327G、330S 和 331S，其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。与不含所述氨基酸取代的相同抗体相比，这类 Fc 结构域氨基酸取代包括 ADCC 降低的取代(TM)。TM 的具体实施方式包括但不限于，234F、235E 和 331S。

在另一实施方式中，除上述 3M 和 TM 中所述的那些修饰以外，所述一个或多个氨基酸修饰与 251-256、285-290、308-314、385-389 和 428-436 位的修饰组合，按照 Kabat 所述的 EU 索引进行编号。这类 Fc 结构域组合氨基酸取代涵盖与不含所述氨基酸取代的相同抗体相比，ADCC 增强(3M)且体内半衰期延长的修饰抗体，或 ADCC 降低(TM)且体内半衰期延长的修饰抗体。在某些实施方式中，IgG 恒定区包含 239D、330L、332E、252Y、254T 和 256E。在其它实施方式中，IgG 恒定区包含 234F、235E、331S、252Y、254T 和 256E。

本发明提供免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原的抗体(修饰的)。优选地，无论是何种 RSV 毒株，本发明抗体能免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原。本发明也提供与另一 RSV 毒株相比，区别地或优先结合一种 RSV 毒株的 RSV 抗原的抗体。在一个具体实施方式中，本发明抗体免疫学特异性结合 RSV F 糖蛋白、G 糖蛋白或 SH 蛋白。在另一实施方式中，本发明抗体免疫学特异性结合 RSV F 糖蛋白。在另一实施方式中，本发明抗体结合 RSV F 糖蛋白的 A、B 或 C 抗原性位点。

本发明抗体包括但不限于：单克隆抗体、多特异性抗体、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、单结构域抗体、骆驼化抗体、单链 Fv(scFv)单链抗体、Fab 片段、F(ab')片段、二硫键连接的 Fv(sdFv)细胞内抗体和抗-独特型(抗-Id)抗体(包括例如，本发明抗体的抗-Id 抗体)和以上任何抗体的表位结合片段。具体说，本发明抗体包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性部分，即含有免疫特异性结合 RSV 抗原的抗原结合位点的分子。本发明免疫球蛋白分子可以是任何类型(如 IgG、IgE、IgM、IgD、IgA 和 IgY)、类(如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 和 IgA2)或小类的免疫球蛋白分子。在一个具体实施方式中，本发明抗体(修饰的)是 IgG 抗体，优选 IgG1。在另一具体实施方式中，本发明抗体不是 IgA 抗体。

本发明抗体可来自任何动物来源，包括鸟类和哺乳动物(如人、鼠、驴、绵羊、兔、山羊、豚鼠、骆驼、马或鸡)。优选地，本发明抗体是人或人源化单克隆抗体。本文所用的“人”抗体包括含有人免疫球蛋白氨基酸序列的抗体，并且包

括由人免疫球蛋白文库或由人基因表达抗体的小鼠分离的抗体。

本发明抗体可以是单特异性、双特异性、三特异性或更多特异性的抗体。多特异性抗体可以是对 RSV 多肽的不同表位有特异性，或是对 RSV 多肽以及异源表位，例如异源多肽或固体支持材料有特异性。参见，如 PCT 公开号 WO 93/17715, WO 92/08802, WO 91/00360 和 WO 92/05793; Tutt, 等, 1991, J. Immunol. 147:60-69; 美国专利号 4,474,893、4,714,681、4,925,648、5,573,920 和 5,601,819; 以及 Kostelny 等, J. Immunol. 148: 1547-1553 (1992)。

本发明提供在本文所述实验中具有高效的抗体。可通过共待批的美国专利申请序列号 60/168,426、60/186,252、美国公开号 2002/0098189 和美国专利号 6,656,467 (通过引用全文纳入本文)所述的方法和本文所述方法产生高效抗体。例如，可通过遗传工程改造合适的抗体基因序列和在合适宿主中表达抗体序列产生高效抗体。可利用 BIAcore 实验筛选产生的抗体，以鉴定具有高 k_{on} 值的抗体。

在一个具体实施方式中，经过本领域已知实验或本文所述实验(如 BIAcore 实验)评估，本发明抗体对 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)的亲合力相当于帕丽珠单抗或其抗体结合片段的约 20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、55 倍、60 倍、65 倍、70 倍、75 倍、80 倍、90 倍、100 倍或更多倍。在另一实施方式中，经过本领域已知实验或本文所述实验评估，本发明抗体的 K_a 相当于帕丽珠单抗或其抗原结合片段的约 1 倍、1.5 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍或更多倍。在另一实施方式中，在体外微量中和实验中，本发明抗体的效力相当于帕丽珠单抗或其抗原结合片段的约 1 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、11 倍、12 倍、13 倍、14 倍、15 倍、16 倍、17 倍、18 倍、19 倍或 20 倍或更多倍。在某些实施方式中，微量中和实验是本文所述或 Johnson 等, 1999, J. Infectious Diseases 180:35-40 所述的微量中和实验。帕丽珠单抗的氨基酸序列参见例如，Johnson 等, 1997, J. Infectious Disease 176:1215-1224, 通过引用全文纳入本文。在一些实施方式中，本发明抗体是包含 SEQ ID NO:7 的 VH 结构域(或 SEQ ID NO:208 的 VH 链)和/或 SEQ ID NO:8 的 VL 结构域(或 SEQ ID NO:209 的 VL 链)的抗体，其包含本文所述的修饰的 IgG (如 IgG1)恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)。在一些实施方式中，本发明抗体是包含 SEQ ID NO:7 的 VH 结构域(或 SEQ ID NO:208 的 VH 链)和/或 SEQ ID NO:8 的 VL 结构域(或 SEQ ID NO:209 的 VL 链)的抗体，其包含本文所述的修饰的 IgG (如 IgG1)

恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)。在其它实施方式中, 本发明修饰抗体是修饰的帕丽珠单抗或包含 SEQ ID NO:7 的 VH 结构域(或 SEQ ID NO:208 的 VH 链)和/或 SEQ ID NO:8 的 VL 结构域(或 SEQ ID NO:209 的 VL 链)的修饰抗体, 其包含本文所述的修饰的 IgG(如 IgG1)恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)。

在另一实施方式中, 本发明提供免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原的修饰抗体, 所述抗体包含具有 AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、MEDI-524、A4B4-F52S、A17d4(1)、A3e2、A14a4、A16b4、A17b5、A17f5、和/或 A17h4 的一个、两个、三个或更多个 CDR 的氨基酸序列的一个、两个、三个或更多个 CDR(见表 1), 其包含本文所述的修饰的 IgG(如 IgG1)恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)。在另一实施方式中, 本发明抗体免疫学特异性结合 RSV 抗原, 所述抗体包含具有 MEDI-524 的一个、两个、三个或更多个 CDR 的氨基酸序列的一个、两个、三个或更多个 CDR, 其包含本文所述的修饰的 IgG (如 IgG1)恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)。在又一实施方式中, 本发明提供免疫学特异性结合一种或多种 RSV F 抗原的一种或多种抗体, 所述抗体包含 VH CDR 和/或 VL CDR 的组合, 它们具有 AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、MEDI-524、A4B4-F52S、A17d4(1)、A3e2、A14a4、A16b4、A17b5、A17f5 和/或 A17h4 的 VH CDR 和/或 VL CDR 的氨基酸序列, 如表 1 所示, 所述抗体包含本文所述的修饰的 IgG (如 IgG1)恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)。在另一实施方式中, 本发明抗体免疫学特异性结合 RSV F 抗原, 所述抗体包含 VH CDR 和/或 VL CDR 的组合, 它们具有 MEDI-524 的 VH CDR 和/或 VL CDR 的氨基酸序列(如, 表 1 所示的 A4B4L1FR-S28R), 所述抗体包含本文所述的修饰的 IgG (如 IgG1)恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)。

表 1. 抗体和其片段

抗体名称	VH 链	VH 结构域	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL 链	VL 结构域	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
**帕丽珠单抗	SEQ ID NO:208	SEQ ID NO:7	TSGMSVG (SEQ ID NO:1)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	SMITNWFYFDV (SEQ ID NO:3)	SEQ ID NO:209	SEQ ID NO:8	KCQLSVGYMH (SEQ ID NO:4)	DTSKLAS (SEQ ID NO:5)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
***AFFF	SEQ ID NO:210	SEQ ID NO:9	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	SMITNWFYFDV (SEQ ID NO:12)	SEQ ID NO:211	SEQ ID NO:13	SASSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTEKLAS (SEQ ID NO:15)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:16)
***P12f2	SEQ ID NO:212	SEQ ID NO:17	TPGMSVG (SEQ ID NO:18)	DIWWDKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:19)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO:213	SEQ ID NO:21	SLSSRVGYMH (SEQ ID NO:22)	DTEFLSS (SEQ ID NO:23)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:24)
***P12f4	SEQ ID NO:214	SEQ ID NO:24	TPGMSVG (SEQ ID NO:18)	DIWWDKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:25)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO:215	SEQ ID NO:26	SLSSRVGYMH (SEQ ID NO:22)	DTRGLPS (SEQ ID NO:27)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:28)
***P11d4	SEQ ID NO:216	SEQ ID NO:28	TPGMSVG (SEQ ID NO:18)	DIWWDKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:25)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:217	SEQ ID NO:30	SPSSRVGYMH (SEQ ID NO:31)	DTMRLAS (SEQ ID NO:32)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:33)
***Ale9	SEQ ID NO:218	SEQ ID NO:33	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:25)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:219	SEQ ID NO:34	SLSSRVGYMH (SEQ ID NO:22)	DTEKLSS (SEQ ID NO:35)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:36)
***A12a6	SEQ ID NO:220	SEQ ID NO:36	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKD (SEQ ID NO:37)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO:221	SEQ ID NO:38	SASSRVGYMH (SEQ ID NO:39)	DTEKLSS (SEQ ID NO:40)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:41)
***A13c4	SEQ ID NO:222	SEQ ID NO:40	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKSYN PSLKD (SEQ ID NO:41)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO:223	SEQ ID NO:42	SLSSRVGYMH (SEQ ID NO:22)	DTMYQSS (SEQ ID NO:43)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:44)
***A17d4	SEQ ID NO:224	SEQ ID NO:44	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKSYN PSLKD (SEQ ID NO:45)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO:225	SEQ ID NO:46	LPSSRVGYMH (SEQ ID NO:47)	DTMYQSS (SEQ ID NO:48)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:49)
***A4B4	SEQ ID NO:226	SEQ ID NO:48	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:19)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO:227	SEQ ID NO:49	SASSRVGYMH (SEQ ID NO:39)	DTEFLDS (SEQ ID NO:50)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:51)
***A8c7	SEQ ID NO:228	SEQ ID NO:51	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKSYN PSLKD (SEQ ID NO:45)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:229	SEQ ID NO:52	SPSSRVGYMH (SEQ ID NO:31)	DTRYQSS (SEQ ID NO:53)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:54)

*IX-493L1F R	SEQ ID NO:230	SEQ ID NO:343	TSGMSVG (SEQ ID NO:1)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	SMITNWFYFDV (SEQ ID NO:3)	SEQ ID NO:231	SEQ ID NO:54	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTSKLAS (SEQ ID NO:5)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
*H3-3F4	SEQ ID NO:232	SEQ ID NO:55	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:233	SEQ ID NO:56	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTEKLAS (SEQ ID NO:15)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
*M3H9	SEQ ID NO:234	SEQ ID NO:55	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:235	SEQ ID NO:70	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTYKQTS (SEQ ID NO:57)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
*Y10H6	SEQ ID NO:236	SEQ ID NO:55	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:237	SEQ ID NO:58	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTRYLSS (SEQ ID NO:59)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
*DG (aka D95/G93)	SEQ ID NO:238	SEQ ID NO:78	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMITNWFYFDV (SEQ ID NO:79)	SEQ ID NO:239	SEQ ID NO:56	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTEKLAS (SEQ ID NO:15)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
AFFF(1)	SEQ ID NO:240	SEQ ID NO:9	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	SMITNWFYFDV (SEQ ID NO:12)	SEQ ID NO:241	SEQ ID NO:60	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTEKLAS (SEQ ID NO:15)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
*6H8	SEQ ID NO:242	SEQ ID NO:78	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMITNWFYFDV (SEQ ID NO:79)	SEQ ID NO:243	SEQ ID NO:62	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTEKLTS (SEQ ID NO:63)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
*L1-7E5	SEQ ID NO:244	SEQ ID NO:78	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMITNWFYFDV (SEQ ID NO:79)	SEQ ID NO:245	SEQ ID NO:64	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:39)	DTEKLAS (SEQ ID NO:15)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
*L2-15B10	SEQ ID NO:246	SEQ ID NO:78	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMITNWFYFDV (SEQ ID NO:79)	SEQ ID NO:247	SEQ ID NO:65	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTERLAS (SEQ ID NO:66)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
*A13a11	SEQ ID NO:248	SEQ ID NO:67	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:19)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:249	SEQ ID NO:68	SPSSRVGYMH (SEQ ID NO:31)	DTYRHSS (SEQ ID NO:69)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
*A1h5	SEQ ID NO:250	SEQ ID NO:33	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDGKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:25)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:251	SEQ ID NO:71	SLSSSVGYMH (SEQ ID NO:72)	DTEFFHRS (SEQ ID NO:73)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
A4B4(1)	SEQ ID NO:252	SEQ ID NO:48	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDGKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:19)	DMITNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO:253	SEQ ID NO:74	SASSRVGYMH (SEQ ID NO:39)	DTLLDLS (SEQ ID NO:75)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)

***A4B4L1F R-S28R (aka MEDI-524)	SEQ ID NO:254	SEQ ID NO:48	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDK ~~KKHYN~~ PSLKD (SEQ ID NO:19)	DMIFN ~~WYFDV~~ (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO:255	SEQ ID NO:11	SASSRVGYMH (SEQ ID NO:39)	DTSKLAS (SEQ ID NO:5)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A4B4- F52S	SEQ ID NO:256	SEQ ID NO:48	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDK ~~KKHYN~~ PSLKD (SEQ ID NO:19)	DMIFN ~~WYFDV~~ (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO:257	SEQ ID NO:76	SASSRVGYMH (SEQ ID NO:39)	DTSFLDS (SEQ ID NO:77)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A17d4(1)	SEQ ID NO:222	SEQ ID NO:40	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDG ~~KKSYN~~ PSLKD (SEQ ID NO:41)	DMIFN ~~WYFDV~~ (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO:225	SEQ ID NO:46	LPSSRVGYMH (SEQ ID NO:47)	DTMYQSS (SEQ ID NO:43)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A3e2	SEQ ID NO:303	SEQ ID NO:304	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDG ~~KKHYN~~ PSLKD (SEQ ID NO:305)	DMIFN ~~WYFDV~~ (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:306	SEQ ID NO:307	SASSRVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTFYLHS (SEQ ID NO:308)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A14a4	SEQ ID NO:309	SEQ ID NO:310	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDK ~~KKSYN~~ PSLKD (SEQ ID NO:45)	DMITN ~~WYFDV~~ (SEQ ID NO:311)	SEQ ID NO:312	SEQ ID NO:313	LLSSRVGYMH (SEQ ID NO:314)	DTYYQTS (SEQ ID NO:315)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A16b4	SEQ ID NO:316	SEQ ID NO:317	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDK ~~KKHYN~~ PSLKD (SEQ ID NO:19)	DMIFN ~~WYFDV~~ (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:318	SEQ ID NO:319	LLSSRVGYMH (SEQ ID NO:320)	DTMYQAS (SEQ ID NO:321)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A17b5	SEQ ID NO:322	SEQ ID NO:323	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDK ~~KKHYN~~ PSLKD (SEQ ID NO:19)	DMIFN ~~WYFDV~~ (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:324	SEQ ID NO:325	SLSSRVGYMH (SEQ ID NO:22)	DTYYLPS (SEQ ID NO:326)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A17f5	SEQ ID NO:327	SEQ ID NO:328	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDK ~~KKDYN~~ PSLKD (SEQ ID NO:329)	DMIFN ~~WYFDV~~ (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:330	SEQ ID NO:331	SLSSRVGYMH (SEQ ID NO:22)	DTFRHTS (SEQ ID NO:332)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A17h4	SEQ ID NO:218	SEQ ID NO:33	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDG ~~KKHYN~~ PSLKD (SEQ ID NO:25)	DMIFN ~~WYFDV~~ (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO:333	SEQ ID NO:334	SPSSSVGYMH (SEQ ID NO:335)	DTYYLAS (SEQ ID NO:336)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)

在一个实施方式中, 本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:18 所示氨基酸序列的 VH CDR1。在另一实施方式中, 本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:305 或 SEQ ID NO:329 所示氨基酸序列的 VH CDR2。在另一实施方式中, 本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:79 或 SEQ ID NO:311 所示氨基酸序列的 VH CDR3。在另一实施方式中, 本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:18 所示氨基酸序列的 VH CDR1, 具有 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:305 或 SEQ ID NO:329 所示氨基酸序列的 VH CDR2 和具有 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:79 或 SEQ ID NO:311 所示氨基酸序列的 VH CDR3。在另一实施方式中, 本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:10 所示氨基酸序列的 VH CDR1、具有 SEQ ID NO:19 所示氨基酸序列的 VH CDR2 和具有 SEQ ID NO:20 所示氨基酸序列的 VH CDR3。按照这些实施方式, 所述抗体免疫学特异性结合 RSV F 抗原。

在一个实施方式中, 本发明抗体的 VH 结构域的氨基酸序列是:

```

Q   V   T   L   R   E   S   G   P   A   L   V   K   P   T
Q   T   L   T   L   T   C   T   F   S   G   F   S   L   S
T   A   G   M   S   V   G   W   I   R   Q   P   P   G   K
A   L   E   W   L   A   D   I   W   W   D   D   K   K   H
Y   N   P   S   L   K   D   R   L   T   I   S   K   D   T
S   K   N   Q   V   V   L   K   V   T   N   M   D   P   A
D   T   A   T   Y   Y   C   A   R   D   M   I   F   N   F
Y   F   D   V   W   G   Q*  G   T   T   V   T   V   S   S

```

(SEQ ID NO:48), 其中三处下划线区域分别表示 VH CDR1、CDR2 和 CDR3 区域; 四个非下划线区域分别对应于 VH FR1、FR2、FR3、FR4; 星号表示与帕丽珠单抗的 VH FR4(SEQ ID NO:7)相比, VH FR4 中 A→Q 突变的位置。这一 VH 结构域(SEQ ID NO:48)与本文他处所述 MEDI-524 抗体的这一结构域相

同。在一些实施方式中,这一 VH FR 可与表 1 鉴定的任何 VH CDR 联用。在一个实施方式中, MEDI-524 抗体包含 VH 结构域(SEQ ID NO:48)和 Johnson 等(1997), *J. Infect. Dis.* 176, 1215-1224 所述的 C- γ -1(nG1m)恒定区,其包含本文所述的修饰的 IgG(如 IgG1)恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)。在一个实施方式中,本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:208 所示氨基酸序列的 VH 链和/或具有 SEQ ID NO:7 所示氨基酸序列的 VH 结构域。在另一个实施方式中,本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:254 所示氨基酸序列的 VH 链。在另一个实施方式中,本发明修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:48 所示氨基酸序列的 VH 结构域。

在本发明的一个实施方式中,所述 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:314、SEQ ID NO:320 或 SEQ ID NO:335 所示氨基酸序列的 VL CDR1。在另一实施方式中,本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:308、SEQ ID NO:315、SEQ ID NO:321、SEQ ID NO:326、SEQ ID NO:332 或 SEQ ID NO:336 所示氨基酸序列的 VL CDR2。在另一实施方式中,本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:61 所示氨基酸序列的 VL CDR3。在另一实施方式中,本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:314、SEQ ID NO:320、或 SEQ ID NO:335 所示氨基酸序列的 VL CDR1,具有 SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:308、SEQ ID NO:315、SEQ ID NO:321、SEQ ID NO:326、SEQ ID NO:332、或 SEQ ID NO:336 所示氨基酸序列的 VL CDR2 和具有 SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:16 或 SEQ ID

NO:61 所示氨基酸序列的 VL CDR3。在另一实施方式中, 本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:39 所示氨基酸序列的 VL CDR1、具有 SEQ ID NO:5 所示氨基酸序列的 VL CDR2 和具有 SEQ ID NO:6 所示氨基酸序列的 VL CDR3。在一个具体实施方式中, 所述抗体对 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)具有高亲和力。

在一个实施方式中, 本发明抗体的 VL 结构域的氨基酸序列是:

```

D   I   Q   M   T   Q   S   P   S   T   L   S   A   S   V
G   D   R   V   T   I   T   C   S   A   S   S   R   V   G
Y   M   H   W   Y   Q   Q   K   P   G   K   A   P   K   L
L   I   Y   D   T   S   K   L   A   S   G   V   P   S   R
F   S   G   S   G   S   G   T   E   F   T   L   T   I   S
S   L   Q   P   D   D   F   A   T   Y   Y   C   F   Q   G
S   G   Y   P   F   T   F   G   G   G   T   K   V*   E   I

```

K

(SEQ ID NO:11), 其中三处下划线区域分别表示 VL CDR1、CDR2 和 CDR3 区域; 四个非下划线区域分别对应于 VL FR1、FR2、FR3、FR4; 星号表示与帕丽珠单抗的 VL FR4 相比, VL FR4 中发生 L→V 突变的位置。这一 VL 结构域(SEQ ID NO:11)与本文他处所述 MEDI-524 抗体的这一结构域相同。在一些实施方式中, 这一 VL 构架区可与表 1 鉴定的任何 VL CDR 联用。在一个实施方式中, MEDI-524 抗体包含 VL 结构域(SEQ ID NO:209)和 Johnson 等(1997) *J. Infect. Dis.* 176, 1215-1224 和美国专利 5,824,307 所述的 C-κ 恒定区, 其中所述抗体包含修饰的 IgG(如修饰的 IgG1)恒定区或其 FcRn-结合片段。在一个实施方式中, 本发明 Fc 修饰抗体包含具有氨基酸序列 SEQ ID NO:209 的 VL 链和/或具有氨基酸序列 SEQ ID NO:8 的 VL 结构域。在另一实施方式中, 本发明 Fc 修饰抗体包含具有氨基酸序列 SEQ ID NO:255 的 VL 链和/或具有氨基酸序列 SEQ ID NO:11 的 VL 结构域。

在一个具体实施方式中, 免疫学特异性结合 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)的 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:40、SEQ

ID NO:44、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:304、SEQ ID NO:310、SEQ ID NO:317、SEQ ID NO:323 或 SEQ ID NO:328 所示氨基酸序列的 VH 结构域和具有 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:307、SEQ ID NO:313、SEQ ID NO:319、SEQ ID NO:325、SEQ ID NO:331 或 SEQ ID NO:334 所示氨基酸序列的 VL 结构域。在另一实施方式中，免疫学特异性结合 RSV 抗原的 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:48 所示氨基酸序列的 VH 结构域和包含 SEQ ID NO:11 所示氨基酸序列的 VL 结构域。在另一具体实施方式中，本发明 Fc 修饰抗体对 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)具有高亲和力和/或高亲合力。

在一个实施方式中，本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:18 所示氨基酸序列的 VH CDR1 和具有 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:314、SEQ ID NO:320 或 SEQ ID NO:335 所示氨基酸序列的 VL CDR1。在另一实施方式中，本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:18 所示氨基酸序列的 VH CDR1 和具有 SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:308、SEQ ID NO:315、SEQ ID NO:321、SEQ ID NO:326、SEQ ID NO:332 或 SEQ ID NO:336 所示氨基酸序列的 VL CDR2。在另一实施方式中，本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:18 所示氨基酸序列的 VH CDR1 和具有 SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:61 所示氨基酸序列的 VL CDR3。按照这些实施方式，所述抗体免疫学特异性结合 RSV F 抗原。

在另一实施方式中，本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:2、SEQ ID

NO:19、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:305 或 SEQ ID NO:329 所示氨基酸序列的 VH CDR2 和具有 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:314、SEQ ID NO:320 或 SEQ ID NO:335 所示氨基酸序列的 VL CDR1。在另一实施方式中，本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:305 或 SEQ ID NO:329 所示氨基酸序列的 VH CDR2 和具有 SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:308、SEQ ID NO:315、SEQ ID NO:321、SEQ ID NO:326、SEQ ID NO:332 或 SEQ ID NO:336 所示氨基酸序列的 VL CDR2。在另一实施方式中，本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:305 或 SEQ ID NO:329 所示氨基酸序列的 VH CDR2 和具有 SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:61 所示氨基酸序列的 VL CDR3。按照这些实施方式，所述抗体免疫学特异性结合 RSV F 抗原。

在另一实施方式中，本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:79 或 SEQ ID NO:311 所示氨基酸序列的 VH CDR3 和具有 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:314、SEQ ID NO:320 或 SEQ ID NO:335 所示氨基酸序列的 VL CDR1。在另一实施方式中，本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:79 或 SEQ ID NO:311 所示氨基酸序列的 VH CDR3 和具有 SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:308、SEQ ID NO:315、SEQ ID NO:321、SEQ ID NO:326、SEQ ID NO:332 或 SEQ ID NO:336

所示氨基酸序列的 VL CDR2。在另一实施方式中, 本发明 Fc 修饰抗体包含具有 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:79 或 SEQ ID NO:311 所示氨基酸序列的 VH CDR3 和具有 SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:61 所示氨基酸序列的 VL CDR3。按照这些实施方式, 所述抗体免疫学特异性结合 RSV F 抗原。

本发明也提供免疫学特异性结合 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)的 Fc 修饰抗体, 所述 Fc 修饰抗体包含本文所述免疫学特异性结合 RSV 抗原的 VH 结构域、VH CDR、VL 结构域和 VL CDR 的衍生物。本发明也提供如表 1 所示包含帕丽珠单抗、AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、MEDI-524、A4B4-F52S、A17d4(1)、A3e2、A14a4、A16b4、A17b5、A17f5 或 A17h4 的衍生物的抗体, 其包含本文所述的修饰的 IgG(如 IgG1)恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域), 其中所述抗体免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)。

本发明也提供免疫学特异性结合 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)的 Fc 修饰抗体, 其包含本领域技术人员已知的构架区(如人或非人片段)。构架区可以是天然产生的或共有的构架区。优选地, 本发明抗体的构架区是人构架区(参见例如, 通过引用全文纳入本文的 Chothia 等, 1998, *J. Mol. Biol.* 278:457-479 中人构架区的列表)。在一个具体实施方式中, 本发明抗体包含 MEDI-524 的构架区。

在一个具体实施方式中, 本发明提供免疫学特异性结合 RSV F 抗原的 Fc 修饰抗体, 所述抗体包含表 1 所列抗体(即 AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、MEDI-524、A4B4-F52S、A17d4(1)、A3e2、A14a4、A16b4、A17b5、A17f5 或 A17h4)的一个或多个 CDR 和/或表 1 所列一个或多个 CDR 的氨基酸序列, 以及在以下一个、两个、三个或更多个残基上具有一个或多个氨基酸取代的人构架区: (a) 鼠抗体构架区(即供体抗体构架区)和人抗体构架区(即受体抗体构架区)之间不同的罕见构架区残基; (b) 供体抗体构架区和受体抗体构架区之间不同的

Venier 区域残基；(c)供体抗体构架区和受体抗体构架区之间不同的 VH/VL 界面上的链间打包残基；(d)供体抗体构架区和受体抗体构架区序列之间不同的经典残基，特别是对于确定鼠抗体 CDR 环的经典分类至关重要的构架区残基；(e)与 CDR 相邻的残基；(g)能够与抗原相互作用的残基；(h)能够与 CDR 相互作用的残基；和(i)VH 结构域和 VL 结构域之间的接触残基。在某些实施方式中，上述抗体包含本文所述的修饰的 IgG(如 IgG1)恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)。

本发明包括免疫学特异性结合 RSV F 抗原的 Fc 修饰抗体，所述抗体包含构架区具有突变(如一个或多个氨基酸取代)的表 1 所示 AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、MEDI-524、A4B4-F52S、A17d4(1)、A3e2、A14a4、A16b4、A17b5、A17f5 或 A17h4 的 VH 结构域和/或 VL 结构域或其抗原结合片段的氨基酸序列。在某些实施方式中，免疫学特异性结合 RSV 抗原的抗体包含 VH 和/或 VL 结构域的构架区中具有一个或多个氨基酸取代的表 1 所示 AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、MEDI-524、A4B4-F52S、A17d4(1)、A3e2、A14a4、A16b4、A17b5、A17f5 或 A17h4 的 VH 结构域和/或 VL 结构域或其抗原结合片段的氨基酸序列。

本发明也包括免疫学特异性结合一种或多种 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)的抗体，所述抗体包含构架区具有突变(如一个或多个氨基酸取代)的 MEDI-524 的氨基酸序列。在某些实施方式中，免疫学特异性结合一种或多种 RSV F 抗原的抗体包含 VH 和/或 VL 结构域的构架区中具有一个或多个氨基酸残基取代并且恒定区或其 FcRn-结合片段(优选 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)中含有一个或多个修饰的 MEDI-524 的氨基酸序列。

本发明也包括免疫学特异性结合 RSV 抗原的 Fc 修饰抗体，所述抗体包含在高变区和构架区中具有突变(如一个或多个氨基酸残基取代)的表 1 所列抗体(即 AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、

A13a11、A1h5、A4B4(1)、MEDI-524、A4B4-F52S、A17d4(1)、A3e2、A14a4、A16b4、A17b5、A17f5 或 A17h4)的 VH 结构域和/或 VL 结构域的氨基酸序列。优选地，高变区和构架区中的氨基酸取代增强抗体与 RSV 抗原的结合。

本发明也提供包含本文所述免疫学特异性结合 RSV 抗原的抗体和异源多肽的融合蛋白。与抗体融合的异源多肽优选用于使抗体靶向呼吸道上皮细胞。

5.1.1 抗体 Fc 区的修饰

本发明提供免疫学特异性结合 RSV 抗原的修饰抗体，其 Fc 区中有修饰。

在某些实施方式中，通过本文所述的方法或本领域已知方法(参见实施例 6.17)测定，与 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段中不含一个或多个修饰的相同抗体相比，所述修饰抗体的体内半衰期延长。在一些实施方式中，与 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段中不含一个或多个修饰的相同抗体相比，所述修饰抗体的半衰期延长约 2 倍、约 3 倍、约 4 倍、约 5 倍、约 6 倍、约 7 倍、约 8 倍、约 9 倍、约 10 倍、约 20 倍或更多倍。在某些实施方式中，与 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段中不含一个或多个修饰的相同抗体相比，所述修饰抗体的半衰期延长 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、7 天、8 天、9 天、10 天、11 天、12 天、13 天、14 天、15 天、16 天、17 天、18 天、19 天、20 天、25 天、30 天或更多天。

在一个具体实施方式中，通过向 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段(优选 Fc 或铰链-Fc 区片段)中引入一个或多个氨基酸修饰(即取代、插入或缺失)，产生体内半衰期延长的修饰抗体。参见例如，国际公开号 WO 02/060919、WO 98/23289 和 WO 97/34631；以及美国专利号 6,277,375，通过引用将其全文纳入本文。在另一实施方式中，所述修饰抗体在第二恒定区 CH2(人 IgG1 的残基 231-340) (如 SEQ ID NO:339)和/或第三恒定区 CH3(人 IgG1 的残基 341-447) (如 SEQ ID NO:340)具有一个或多个氨基酸修饰，其中按照 Kabat，同上所述的 EU 索引进行编号。

本发明在与 FcRn 相互作用的恒定区(如 IgG 分子的恒定区)的特定部分提供氨基酸残基和/或修饰，该修饰提高了 IgG 或其片段与 FcRn 的亲和力。因此，本发明提供包含 IgG(如 IgG1)恒定区或其 FcRn-结合片段(优选 Fc 或铰链-Fc 结构域片段)的分子，优选蛋白质，更优选免疫球蛋白(包括本申请披露的任何抗

体),在与 FcRn 相互作用的一个或多个区域具有一个或多个氨基酸修饰(即取代、插入、缺失和/或天然产生的残基),所述修饰提高了 IgG 或其片段与 FcRn 的亲合力,也提高了该分子的体内半衰期。在某些实施方式中,所述一个或多个氨基酸修饰发生在 IgG 铰链-Fc 区(例如,SEQ ID NO:342 所述的人 IgG1 铰链-Fc 区)残基 251-256、285-290、308-314、385-389 和 428-436,或通过氨基酸序列比对确定的其它 IgG 铰链-Fc 区的类似残基中的一处或多处。残基是按照 Kabat 等(1991),免疫学感兴趣蛋白质的序列(Sequences of proteins of immunological interest).(美国卫生和人类服务部(U.S. Department of Health and Human Services),华盛顿特区)第 5 版(“Kabat 等”)所述的 EU 索引进行编号的。抗体修饰参见共有和共待批的美国序列号 10/020,354,通过引用将其全文纳入本文。

在另一实施方式中,氨基酸修饰发生在人 IgG 恒定区如人 IgG1 恒定区(如 Kabat 等,同上所述)或其 FcRn-结合片段(优选 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)中。在某些实施方式中,所述修饰不发生在 IgG 恒定区的残基 252、254 或 256 处(即,均发生在残基 251、253、255、285-290、308-314、385-389 或 428-436 中的一处或多处)。在一个实施方式中,氨基酸修饰不是在残基 252 处用亮氨酸取代、在 254 处用丝氨酸取代和/或在 256 位用苯丙氨酸取代。具体说,在某些实施方式中,在 IgG 恒定区、铰链-Fc 结构域、铰链-Fc 结构域或其它 FcRn-结合片段衍生自小鼠时,不进行这些修饰。

氨基酸修饰可以是任何修饰,例如是残基 251-256、285-290、308-314、385-389 和 428-436 中一处或多处的任何修饰,所述修饰能延长 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段(例如 Fc 或铰链-Fc 结构域)和与其连接的任何分子的体内半衰期,并提高 IgG 或其片段与 FcRn 的亲合力。在一些实施方式中,所述修饰抗体在所示氨基酸位置上包含一个或多个氨基酸取代、天然产生的氨基酸或其组合。优选地,所述一个或多个修饰也导致与 pH 7.4 相比, pH 6.0 时恒定区或其 FcRn-结合片段与 FcRn 的结合亲和力更高。在其它实施方式中,所述修饰改变(即提高或降低)该分子的生物利用度,具体说,改变(即提高或降低)分子向粘膜(例如肺粘膜)表面或其他靶组织部分的运输(或浓度或半衰期)。在另一实施方式中,所述氨基酸修饰改变(优选提高)该分子向肺部的运输或者浓度或

半衰期。在其它实施方式中,所述氨基酸修饰改变(优选提高)该分子向心脏、胰脏、肝脏、肾脏、膀胱、胃、大肠或小肠、呼吸道、淋巴结、神经组织(中枢和/或周围神经组织)、肌肉、表皮、骨、软骨、关节、血管、骨髓、前列腺、卵巢、子宫、肿瘤或癌组织等的运输或者浓度或半衰期。

在某些实施方式中,IgG 恒定区在残基 308、309、311、312 和 314 中的一处或多处包含修饰。在一些实施方式中,修饰抗体包含 308 位的苏氨酸、309 位的脯氨酸、311 位的丝氨酸、312 位的天冬氨酸和/或 314 位的亮氨酸。在其它实施方式中,修饰抗体包含 308 位上的异亮氨酸、309 位上的脯氨酸和/或 311 位上的谷氨酸。在又一实施方式中,修饰抗体包含 308 位上的苏氨酸、309 位上的脯氨酸、311 位上的亮氨酸、312 位上的丙氨酸和/或 314 位上的丙氨酸。因此,在某些实施方式中,修饰抗体包含恒定区,其中 308 位上的残基是苏氨酸或异亮氨酸,309 位上的残基是脯氨酸,311 位上的残基是丝氨酸、谷氨酸或亮氨酸,312 位上的残基是丙氨酸,和/或 314 位上的残基是亮氨酸或丙氨酸。在一个实施方式中,修饰抗体包含 308 位上的苏氨酸、309 位上的脯氨酸、311 位上的丝氨酸、312 位上的天冬氨酸和/或 314 位上的亮氨酸。

在一些实施方式中,修饰抗体包含恒定区,其中残基 251、252、254、255 和 256 中一处或多处被修饰。在特定实施方式中,残基 251 是亮氨酸或精氨酸,残基 252 是酪氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、色氨酸或苏氨酸,残基 254 是苏氨酸或丝氨酸,残基 255 是精氨酸、亮氨酸、甘氨酸或异亮氨酸和/或残基 256 是丝氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、天冬氨酸、丙氨酸、天冬酰胺或苏氨酸。在一个更具体的实施方式中,残基 251 是亮氨酸,残基 252 是酪氨酸,残基 254 是苏氨酸或丝氨酸,残基 255 是精氨酸、和/或残基 256 是谷氨酸。在某些实施方式中,252 位上的残基是酪氨酸,254 位上的残基是苏氨酸,或者 256 位上的残基是谷氨酸。在其它实施方式中,修饰 IgG,如修饰 IgG1 的恒定区或其 FcRn 结合片段,包含 YTE 修饰,即 252 位上的残基是酪氨酸(Y),254 位上的残基是苏氨酸(T),256 位上的残基是谷氨酸(E)。

在特定实施方式中,氨基酸修饰是在残基 428、433、434 和 436 中的一处或多处取代。在一些实施方式中,残基 428 是苏氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸或丝氨酸,残基 433 是赖氨酸、精氨酸、丝氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、

谷氨酰胺或组氨酸,残基 434 是苯丙氨酸、酪氨酸或组氨酸和/或残基 436 是组氨酸、天冬酰胺、精氨酸、苏氨酸、赖氨酸或甲硫氨酸。在一个更具体的实施方式中,428 和/或 434 位的残基分别用甲硫氨酸和/或组氨酸取代。

在其它实施方式中,氨基酸序列包含残基 385、386、387 和 389 中一处或多处的修饰。在特定实施方式中,残基 385 是精氨酸、天冬氨酸、丝氨酸、苏氨酸、组氨酸、赖氨酸、丙氨酸或甘氨酸,残基 386 是苏氨酸、脯氨酸、天冬氨酸、丝氨酸、赖氨酸、精氨酸、异亮氨酸或甲硫氨酸,残基 387 是精氨酸、脯氨酸、组氨酸、丝氨酸、苏氨酸或丙氨酸和/或残基 389 是脯氨酸、丝氨酸或天冬酰胺。在更具体的实施方式中,385、386、387 和 389 位中的一处或多处分别是精氨酸、苏氨酸、精氨酸和脯氨酸。在另一具体实施方式中,385、386 和 389 中一处或多处分别是天冬氨酸、脯氨酸和丝氨酸。

在一些实施方式中,在残基 251、252、254、255、256、308、309、311、312、314、385、386、387、389、428、433、434 和/或 436 中的一处或组合进行氨基酸修饰,特别是所述修饰是上述残基对这些残基(的取代)。

在一些实施方式中,本发明分子含有 Fc 区或其 FcRn-结合片段,其具有以下一个或多个氨基酸:残基 251 处的亮氨酸、残基 252 处的酪氨酸、残基 254 处的苏氨酸或丝氨酸、残基 255 处的精氨酸、残基 308 处的苏氨酸、残基 309 处的脯氨酸、残基 311 处的丝氨酸、残基 312 处的天冬氨酸、残基 314 处的亮氨酸、残基 385 处的精氨酸、残基 386 处的苏氨酸、残基 387 处的精氨酸、残基 389 处的脯氨酸、残基 428 处的甲硫氨酸和/或残基 434 处的酪氨酸。

在某些实施方式中,FcRn-结合片段在残基 251、252、254、255、256、308、309、311、312、314、385、386、387、389、428、433、434 和/或 436 的 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17 或所有 18 处上具有修饰。

由于 IgG 恒定区序列中的天然变异(参见例如, Kabat 等, 同上),在某些情况下,可以在给定位置上用第二氨基酸残基取代第一氨基酸残基(或进行其它修饰),或者,第二残基可能已经存在于该抗体的给定位置上,在这种情况下则没有必要进行取代(例如,252 位的 Met 保持为 Met)。可通过本领域已知的任何方法以及本领域技术人员熟知和常见的许多这类方法进行氨基酸修饰。

例如但不限于,可使用任何基于 PCR 的熟知技术进行氨基酸取代、缺失和插入。可通过定位诱变(参见例如, Zoller 和 Smith, Nucl. Acids Res. 10:6487-6500, 1982; Kunkel, Proc. Natl. Acad. Sci USA 82:488, 1985, 通过引用全文纳入本文)进行氨基酸取代。

可利用熟知和常规实验容易地筛选对 FcRn 亲和力提高和体内半衰期延长的突变体。在优选方法中,在 IgG 恒定区或其 FcRn-结合片段的一个或多个残基上引入氨基酸取代,在噬菌体表面上表达突变的恒定区或片段,然后筛选 FcRn 结合亲和力增强的结构域或片段。优选地,修饰的氨基酸残基是暴露于表面的残基。此外,在进行氨基酸取代中,要进行取代的氨基酸残基优选是保守氨基酸取代,例如,用极性残基取代极性残基,用亲水性残基取代亲水性残基,用疏水性残基取代疏水性残基,用带正电的残基取代带正电的残基,或者用带负电的残基取代带负电的残基。而且,修饰的氨基酸残基优选不是物种间高度或完全保守的残基,和/或对维持恒定区三级结构或对于 FcRn 结合至关重要的残基。例如但不限于,不优选在残基 310 处进行组氨酸修饰。

对 FcRn 亲和力增强的 Fc 结构域的具体突变体是对残基 308-314 处有突变的突变的人 IgG1 分子文库进行第三轮淘选后分离的突变体(310 位上的组氨酸和 313 位上的色氨酸被固定),对残基 251-256 的文库进行第五轮淘选后分离的突变体(253 位上的异亮氨酸被固定),对残基 428-436 的文库进行第四轮淘选后分离的突变体(429 位上的组氨酸、430 位上的谷氨酸、431 位上的丙氨酸、432 位上的亮氨酸和 435 位上的组氨酸被固定)和对残基 385-389 的文库进行第六轮淘选后分离的突变体(388 位上的谷氨酸被固定)。

在一些实施方式中,本发明抗体含有 Fc 区或其 FcRn-结合片段,其具有以下一个或多个氨基酸修饰:优选地,所述一个或多个氨基酸修饰可以是取代。在一个实施方式中,所述一个或多个氨基酸取代是:234E、235R、235A、235W、235P、235V、235Y、236E、239D、265L、269S、269G、298I、298T、298F、327N、327G、327W、328S、328V、329H、329Q、330K、330V、330G、330Y、330T、330L、330I、330R、330C、332E、332H、332S、332W、332F、332D 和 332Y,其中编号系统是 Kabat 所列 EU 索引的编号系统。与不含所述氨基酸取代的相同抗体相比,这类 Fc 结构域氨基酸取代使 ADCC 增强(3M)。3M 的

具体实施方式包括但不限于，239D、330L 和 332E。在另一实施方式中，除上述 3M 中所述的那些修饰以外，所述一个或多个氨基酸修饰与位置 251-256、285-290、308-314、385-389 和 428-436 上的修饰组合，按照 Kabat 所述的 EU 索引进行编号。这类 Fc 结构域组合氨基酸取代包括与不含所述氨基酸取代的相同抗体相比，ADCC 增强(3M)且体内半衰期延长的修饰抗体。在某些实施方式中，IgG 恒定区包含 239D、330L、332E、252Y、254T 和 256E。Fc 区 251-256 位的氨基酸残基选自下组残基：残基 252 是酪氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、色氨酸或苏氨酸；残基 254 是苏氨酸；残基 255 是精氨酸、亮氨酸、甘氨酸或异亮氨酸；残基 256 是丝氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、天冬氨酸或苏氨酸。在具体实施方式中，至少一个氨基酸修饰选自下组：残基 251 是亮氨酸，残基 252 是酪氨酸，残基 254 是苏氨酸，残基 255 是精氨酸，且残基 256 是谷氨酸。在某些实施方式中，残基 252 不是亮氨酸、丙氨酸或缬氨酸；残基 253 不是丙氨酸；残基 254 不是丝氨酸或丙氨酸；残基 255 不是丙氨酸；和/或残基 256 不是丙氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸或天冬酰胺。

在另一实施方式中，本发明修饰抗体包含 Fc 区或其 FcRn-结合片段，所述 Fc 区的 285-290 位上的氨基酸残基是一个或多个特定氨基酸残基。在具体实施方式中，残基 285 不是丙氨酸；残基 286 不是丙氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸或天冬氨酸；残基 288 不是丙氨酸；残基 289 不是丙氨酸；和/或残基 290 不是丙氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、谷氨酸、精氨酸或甘氨酸。

在一些实施方式中，本发明修饰抗体包含 Fc 区或其 FcRn-结合片段，所述 Fc 区的 308-314 位上的氨基酸残基是选自下组残基的一个或多个特定氨基酸残基：308 位上的苏氨酸、309 位上的脯氨酸、311 位上的丝氨酸和 312 位上的天冬氨酸。在另一实施方式中，本发明抗体包含选自下组的一个或多个具体修饰：308 位上的异亮氨酸、309 位上的脯氨酸和 311 位上的谷氨酸。在另一实施方式中，修饰抗体包含选自下组的一个或多个具体氨基酸残基：308 位上的苏氨酸、309 位上的脯氨酸和 311 位上的亮氨酸。在某些实施方式中，309 位不是丙氨酸；310 位不是丙氨酸；311 位不是丙氨酸或天冬酰胺；312 位不是丙氨酸；和/或 314 位不是精氨酸。

因此，在某些实施方式中，修饰抗体包含 Fc 区具有一个或多个选自下组

残基的具体氨基酸残基的恒定区：308 位上的残基是苏氨酸或异亮氨酸；309 位上的残基是脯氨酸；311 位上的残基是丝氨酸、谷氨酸或亮氨酸；312 位上的残基是天冬氨酸；和 314 位上的残基是亮氨酸或丙氨酸。在一个实施方式中，修饰抗体包含 Fc 区具有一个或多个选自下组残基的具体氨基酸残基的恒定区：308 位上的苏氨酸、309 位上的脯氨酸、311 位上的丝氨酸、312 位上的天冬氨酸以及 314 位上的亮氨酸。

在一些实施方式中，本发明抗体包含 Fc 区或其 FcRn-结合片段，所述 Fc 区的 385-389 位上的氨基酸残基是选自下组残基的一个或多个特定氨基酸残基：残基 385 是精氨酸、天冬氨酸、丝氨酸、苏氨酸、组氨酸、赖氨酸、丙氨酸或甘氨酸，残基 386 是苏氨酸、脯氨酸、天冬氨酸、丝氨酸、赖氨酸、精氨酸、异亮氨酸或甲硫氨酸，残基 387 是精氨酸、脯氨酸、组氨酸、丝氨酸、苏氨酸或丙氨酸，和残基 389 是脯氨酸、丝氨酸或天冬酰胺。在具体实施方式中，385、386、387 和 389 位的一个或多个氨基酸残基分别是精氨酸、苏氨酸、精氨酸和脯氨酸。在另一具体实施方式中，385、386 和 389 位的一个或多个氨基酸残基分别是天冬氨酸、脯氨酸和丝氨酸。在具体实施方式中，386、388 和 389 位中任何一处的氨基酸不是丙氨酸。

在一些实施方式中，氨基酸修饰发生在残基 428-436 中的一处或多处。在特定实施方式中，残基 428 是苏氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸或丝氨酸，残基 433 是精氨酸、丝氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、谷氨酰胺或组氨酸，残基 434 是苯丙氨酸、酪氨酸或组氨酸和/或残基 436 是组氨酸、天冬酰胺、精氨酸、苏氨酸、赖氨酸或甲硫氨酸。在一个更具体的实施方式中，428 和/或 434 位的残基分别用甲硫氨酸和/或组氨酸取代。在一些实施方式中，430 位上的氨基酸残基不是丙氨酸；433 位上的氨基酸残基不是丙氨酸或赖氨酸；434 位上的氨基酸不是丙氨酸或谷氨酰胺；435 位上的氨基酸不是丙氨酸、精氨酸或酪氨酸；和/或 436 位上的氨基酸不是丙氨酸或酪氨酸。

在另一实施方式中，本发明抗体包含 Fc 区或其 FcRn-结合片段，其在 Fc 区中具有一个或多个选自下组的具体氨基酸残基：残基 251 处的亮氨酸、残基 252 处的酪氨酸、残基 254 处的苏氨酸、残基 255 处的精氨酸、残基 308 处的苏氨酸、残基 309 处的脯氨酸、残基 311 处的丝氨酸、残基 312 处的天冬氨酸、

残基 314 处的亮氨酸、残基 385 处的精氨酸、残基 386 处的苏氨酸、残基 387 处的精氨酸、残基 389 处的脯氨酸、残基 428 处的甲硫氨酸和残基 434 处的酪氨酸。

在一个实施方式中,本发明提供相对于未修饰分子,体内半衰期亚延长和 FcRn 亲和力增强的修饰的免疫球蛋白分子(在一些实施方式中,生物利用度改变,如至粘膜表面或其它靶组织的运输增加或降低)。这类免疫球蛋白分子包括天然含有 FcRn-结合片段的 IgG 分子,以及经工程改造含有 FcRn-结合片段的其它非-IgG 免疫球蛋白(如 IgE、IgM、IgD、IgA 和 IgY)或免疫球蛋白片段(即包含非-IgG 免疫球蛋白或其一部分和 FcRn-结合片段的融合蛋白)。在这两种情况下,FcRn-结合片段具有能提高恒定区片段对 FcRn 的亲和力的一个或多个氨基酸修饰,如上所述。

修饰的免疫球蛋白包括通过本领域熟知和本文所述的用于测定特定抗原-抗体结合的免疫实验确定,结合(优选免疫学特异性,即竞争胜过非特异性结合)抗原且含有 FcRn-结合片段的任何免疫球蛋白分子。

本发明 IgG 分子和其 FcRn-结合片段优选是 IgG 的 IgG1 小类,但也可以是给定动物的任何其它 IgG 小类。例如,在人类中,IgG 类包括 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4;小鼠 IgG 包括 IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG2c 和 IgG3。已知某些 IgG 小类,例如小鼠 IgG2b 和 IgG2c 比(例如)IgG1 的清除速率高(Medesan 等, Eur. J. Immunol., 28:2092-2100, 1998)。因此,使用除 IgG1 以外的 IgG 小类时,用 IgG1 的残基取代与 IgG1 序列不同的一个或多个残基,特别是 CH2 和 CH3 结构域中的一个或多个残基可能比较有利,从而延长其它 IgG 类型的体内半衰期。

免疫球蛋白(和本文所用的其它蛋白质)可来自包括鸟类和哺乳动物在内的任何动物来源。在一个实施方式中,抗体是人、啮齿动物(如小鼠和大鼠)、驴、绵羊、兔、山羊、豚鼠、骆驼、马或鸡的抗体。本文所用术语“人”抗体包括具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的抗体,包括分离自人免疫球蛋白文库的抗体或不表达内源性免疫球蛋白的一种或多种人免疫球蛋白的转基因动物,如下文所述,例如, Kucherlapati 等的美国专利 5,939,598。

对本发明任何抗体(如对 RSV 抗原的亲和力和/或亲合力增强的抗体)和/或

其它治疗性抗体进行修饰以提高其体内半衰期后,可以较低有效剂量和/或较低的给药频率给予该治疗性抗体。这类延长体内半衰期的修饰还可用于改进诊断性免疫球蛋白,例如可用较低剂量达到足够的诊断灵敏度。

可利用本领域技术人员已知的任何技术在恒定区的氨基酸残基 251-256、285-290、308-314、385-389 和 428-436 中引入一个或多个修饰。可通过(例如)结合实验筛选在氨基酸残基 251-256、285-290、308-314、385-389 和 428-436 中具有一个或多个修饰的恒定区或其片段,以鉴定对 FcRn 受体亲和力增强的恒定区或其片段(如下文章节 5.5 和 5.6 所述)。可将铰链-Fc 结构域或其片段中提高恒定区或其片段对 FcRn 受体的亲和力的这些修饰引入抗体中,以延长所述抗体的体内半衰期。另外,可将恒定区或其片段中能提高恒定区或其片段对 FcRn 的亲和力的这些修饰融合于生物活性分子,以延长所述生物活性分子的体内半衰期,优选改变(提高或降低)该分子的生物利用度,例如提高或降低向粘膜表面(或其它靶组织,如肺)的运输。

5.1.2 抗体偶联物和融合蛋白

在一些实施方式中,将本发明抗体偶联或重组地融合于诊断剂、可检测剂或治疗剂或任何其它分子。需要延长体内半衰期时,所述抗体可以是修饰抗体。所述偶联或重组融合的抗体可用于,例如,监测或预测 RSV URI 和/或 LRI 的发病、发生、进展和/或严重程度,其可作为临床检测方法的一部分,例如确定特定治疗的功效。

另外,可将本发明抗体偶联或重组融合于改变给定生物反应的治疗部分或药物部分。不应认为治疗部分或药物部分仅限于经典化疗剂。例如,药物部分可以是具有生物学活性的蛋白质、肽或多肽。这类蛋白质可包括例如,毒素如相思豆毒蛋白、蓖麻毒蛋白 A、假单胞菌外毒素、霍乱毒素或白喉毒素;蛋白质,如肿瘤坏死因子、 γ -干扰素、 α -干扰素、神经生长因子、血小板衍生生长因子、组织纤溶酶原激活物、凋亡剂,如 TNF- γ 、TNF- α 、AIM I (参见国际公开号 WO 97/33899)、AIM II (参见国际公开号 WO 97/34911)、Fas 配体(Takahashi 等、1994、J. Immunol.、6:1567-1574)和 VEGF (参见国际公开号 WO 99/23105),抗-血管新生剂,如血管他丁、内皮他丁或凝固途径的组分(如组织因子);或者生物应答修饰剂,例如,淋巴因子(如干扰素 γ (“IFN- γ ”)、白介素-1 (“IL-1”)、

白介素-2 (“IL-2”)、白介素-5 (“IL-5”)、白介素-6 (“IL-6”)、白介素-7 (“IL-7”)、白介素-9 (“IL-9”)、白介素-10 (“IL-10”)、白介素-12 (“IL-12”)、白介素-15 (“IL-15”)、白介素-23 (“IL-23”)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (“GM-CSF”) 和粒细胞集落刺激因子 (“G-CSF”) 或生长因子 (如生长激素 (“GH”) 或凝固剂 (如钙、维生素 K、组织因子, 例如但不限于哈格曼因子 (因子 XII)、高分子量激肽原 (HMWK)、前激肽释放酶 (PK)、凝固蛋白因子 II (凝血酶原)、因子 V、XIIa、VIII、XIIIa、XI、XIa、IX、IXa、X, 磷脂, 纤维蛋白单体)。

本发明包括本发明抗体 (如修饰抗体) 重组融合或化学偶联 (包括共价和非共价偶联) 于异源蛋白质或多肽 (或其片段, 优选约 10、约 20、约 30、约 40、约 50、约 60、约 70、约 80、约 90 或约 100 个氨基酸的多肽) 产生的融合蛋白。具体说, 本发明提供含有本发明抗体的抗原结合片段 (如 Fab 片段、Fd 片段、Fv 片段、F(ab)₂ 片段、VH 区、VH CDR、VL 区或 VL CDR) 和异源蛋白质、多肽或肽的融合蛋白。优选地, 与抗体融合的异源蛋白质、多肽或肽可用于使抗体靶向特定细胞类型。例如, 可将免疫学特异性结合特定细胞类型 (如免疫细胞) 表达的细胞表面受体的抗体融合或偶联于本发明修饰抗体。

在一个实施方式中, 本发明融合蛋白包括 AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、MEDI-524、A4B4-F52S、A17d4(1)、A3e2、A14a4、A16b4、A17b5、A17f5 或 A17h4 抗体和异源多肽。在另一实施方式中, 本发明融合蛋白包含 AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、MEDI-524、A4B4-F52S、A17d4(1)、A3e2、A14a4、A16b4、A17b5、A17f5 或 A17h4 的抗原结合片段和异源多肽。在另一实施方式中, 本发明融合蛋白包含具有表 1 所列任一 VH 结构域的氨基酸序列的一个或多个 VH 结构域或者具有表 1 所列任一 VL 结构域的氨基酸序列的一个或多个 VL 结构域和异源多肽。在另一实施方式中, 本发明融合蛋白包含具有表 1 所列任一 VH CDR 的氨基酸序列的一个或多个 VH CDR 和异源多肽。在另一实施方式中, 融合蛋白包含具有表 1 所列任一 VL CDR 的氨基酸序列的一个或多个

VL CDR 和异源多肽。在另一实施方式中, 本发明融合蛋白包含表 1 所列的至少一个 VH 结构域和至少一个 VL 结构域和异源多肽。在又一实施方式中, 本发明融合蛋白包含表 1 所列的至少一个 VH CDR 和至少一个 VL CDR 结构域和异源多肽。

此外, 本发明抗体可偶联于治疗部分, 例如放射性金属离子如 α 发射物如 ^{213}Bi , 或者可偶联于用于将放射性金属离子, 包括但不限于: ^{131}In 、 ^{131}Lu 、 ^{131}Y 、 ^{131}Ho 、 ^{131}Sm 与多肽偶联的大环螯合剂。在某些实施方式中, 大环螯合剂是 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(DOTA), 它可通过接头分子连接于抗体。这些接头分子是本领域公知的, 参见 Denardo 等, 1998, *Clin Cancer Res.* 4(10): 2483-90; Peterson 等, 1999, *Bioconjug. Chem.* 10(4):553-7; 和 Zimmerman 等, 1999, *Nucl. Med. Biol.* 26(8):943-50, 通过引用将其全文纳入本文。

将治疗部分(包括多肽)与抗体融合或偶联的方法是公知的, 参见例如, Arnon 等, “在癌症治疗中免疫靶向药物的单克隆抗体”(Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy), 刊于《单克隆抗体和癌症治疗》(Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy), Reisfeld 等(编), 第 243-56 页(ARL 公司(Alan R. Liss, Inc.) 1985); Hellstrom 等, “用于药物递送的抗体”(Antibodies For Drug Delivery), 刊于《控制的药物递送》(Controlled Drug Delivery)(第 2 版), Robinson 等(编), 第 623-53 页(MD 公司(Marcel Dekker, Inc.) 1987); Thorpe, “癌症治疗中细胞毒剂的抗体载体: 综述”(Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review), 刊于《单克隆抗体 84: 生物和临床应用》(Monoclonal Antibodies 84: Biological and Clinical Applications), Pinchera 等(编), 第 475-506 页(1985); “放射性标记抗体在癌症治疗中的治疗应用的分析、结果和展望”(Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy), 刊于《用于癌症检测和治疗的单克隆抗体》(Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy), Baldwin 等(编), 第 303-16 页(学术出版社(Academic Press) 1985)和 Thorpe 等, 1982, *Immunol. Rev.* 62:119-58; 美国专利号 5,336,603、5,622,929、5,359,046、5,349,053、5,447,851、5,723,125、5,783,181、5,908,626、5,844,095、

and 5,112,946; EP 307,434; EP 367,166; EP 394,827; PCT 公开 WO 91/06570、WO 96/04388、WO 96/22024、WO 97/34631 和 WO 99/04813; Ashkenazi 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 10535-10539, 1991; Traunecker 等, Nature, 331:84-86, 1988; Zheng 等, J. Immunol., 154:5590-5600, 1995; Vil 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:11337-11341, 1992; 和 2005 年 10 月 14 日提交的题为“预防和治疗 RSV 感染和相关病症的方法”(Methods of Preventing and Treating RSV Infections and Related Conditions)的美国临时申请号 60/727,043 和 2005 年 10 月 14 日 Genevieve Losonsky 提交的题为“施用/给予抗 RSV 抗体预防和治疗 RSV 感染和呼吸道病症的方法”(Methods of Administering/Dosing Anti-RSV Antibodies for Prophylaxis and Treatment of RSV Infections and Respiratory Conditions)的美国临时申请号 60/727,042, 通过引用将其全文纳入本文。

具体说, 可通过, 例如基因改组、基序改组、外显子改组和/或密码子改组(总称为“DNA 改组”)的技术产生融合蛋白。可利用 DNA 改组改变本发明抗体的活性(如具有较高亲和力和较低解离速率的抗体)。通常参见美国专利 5,605,793; 5,811,238; 5,830,721; 5,834,252; 和 5,837,458; Patten 等, 1997, Curr. Opin. Biotechnol., 8:724-33; Harayama, 1998, Trends Biotechnol.16(2):76-82; Hansson 等, 1999, J. Mol. Biol., 287:265-76; 和 Lorenzo 和 Blasco, 1998, Biotechniques 24(2):308-313(这些专利和发表物各自通过引用纳入本文)。可通过易错 PCR、随机核苷酸插入或其它方法随机诱变, 然后进行重组, 从而改变抗体或编码抗体。编码本发明抗体的多核苷酸可与一种或多种异源分子的一个或多个组件、基序、区段、部分、结构域、片段等重组。

可选择偶联或重组融合于免疫学特异性结合 RSV 抗原的本发明抗体的治疗部分或药物, 以实现所需疗效。临床医生或其它医务人员在决定将何种治疗部分或药物偶联或重组融合于本发明抗体时应考虑以下因素: 疾病的特性、疾病的严重程度和对象的总体状况。

5.2 抗体的治疗应用

本发明涉及基于抗体的治疗, 包括将本发明抗体给予对象, 优选人(如给予有此需要的对象), 以便控制、治疗和/或改善 RSV 感染(如急性 RSV 疾病, 或 RSV URI 和/或 LRI), 和/或与其相关的症状或呼吸道病症(如哮喘、喘鸣和/

或 RAD)。本发明治疗剂包括但不限于：本发明抗体(包括本文所述的它的类似物和衍生物)和编码本发明抗体(包括本文所述的它的类似物和衍生物以及抗-独特型抗体)的核酸。本发明抗体可以在本领域已知或本文所述的药学上可接受的组合物中提供。

可将用作 RSV 感染拮抗剂的本发明抗体给予对象，优选人，以治疗或改善 RSV URI 和/或 LRI，或者与其相关的症状或呼吸道病症(包括但不限于：哮喘、喘鸣、RAD 或其组合)。例如，可将破坏或防止 RSV 抗原和其宿主细胞受体之间相互作用的抗体给予对象，优选人，以预防、控制、治疗和/或改善 RSV 感染(如急性 RSV 疾病，或 RSV URI 和/或 LRI)，和/或与其有关的症状或呼吸道病症(如哮喘、喘鸣和/或 RAD)。

在一个具体实施方式中，在本领域技术人员已知或本文所述的实验中，例如竞争性实验或微量中和实验中，与不存在本发明抗体或存在阴性对照的情况下 RSV 与其宿主细胞受体的结合相比，本发明抗体将 RSV 与其宿主细胞受体的结合降低或抑制至少 99%、至少 95%、至少 90%、至少 85%、至少 80%、至少 75%、至少 70%、至少 60%、至少 50%、至少 45%、至少 40%、至少 35%、至少 30%、至少 25%、至少 20%或至少 10%。在另一实施方式中，在本领域技术人员已知或本文所述的实验中，与不存在本发明抗体或存在阴性对照的情况下 RSV 与其宿主细胞受体的结合相比，本发明抗体的组合将 RSV 与其宿主细胞受体的结合降低或抑制至少 99%、至少 95%、至少 90%、至少 85%、至少 80%、至少 75%、至少 70%、至少 60%、至少 50%、至少 45%、至少 40%、至少 35%、至少 30%、至少 25%、至少 20%或至少 10%。在某些实施方式中，一种或多种本发明修饰抗体可单独或联合给药。在一些实施方式中，本发明抗体的组合在防止或抑制 RSV 与其宿主和受体的结合和/或控制、治疗和/或改善 RSV 感染(如，急性 RSV 疾病，或 RSV URI 和/或 LRI)，和/或与其有关的症状或呼吸道病症(如哮喘、喘鸣和/或 RAD)方面起协同作用。

在一个具体实施方式中，在本领域技术人员已知或本文所述的实验中，与不存在本发明抗体或存在阴性对照的情况下 RSV 诱导的融合相比，本发明抗体(修饰的)将 RSV 诱导的融合降低或抑制至少 99%、至少 95%、至少 90%、至少 85%、至少 80%、至少 75%、至少 70%、至少 60%、至少 50%、至少 45%、

至少 40%、至少 45%、至少 35%、至少 30%、至少 25%、至少 20%或至少 10%。在另一实施方式中，在本领域技术人员已知或本文所述的实验中，与不存在本发明抗体或存在阴性对照的情况下 RSV 诱导的融合相比，本发明抗体的组合将 RSV 诱导的融合降低或抑制至少 99%、至少 95%、至少 90%、至少 85%、至少 80%、至少 75%、至少 70%、至少 60%、至少 50%、至少 45%、至少 40%、至少 45%、至少 35%、至少 30%、至少 25%、至少 20%或至少 10%。

在一些实施方式中，本发明抗体导致肺中的 RSV 效价降低约 1 倍、约 1.5 倍、约 2 倍、约 3 倍、约 4 倍、约 5 倍、约 8 倍、约 10 倍、约 15 倍、约 20 倍、约 25 倍、约 30 倍、约 35 倍、约 40 倍、约 45 倍、约 50 倍、约 55 倍、约 60 倍、约 65 倍、约 70 倍、约 75 倍、约 80 倍、约 85 倍、约 90 倍、约 95 倍、约 100 倍、约 105 倍、约 110 倍、约 115 倍、约 120 倍、约 125 倍或更多倍。RSV 效价的降低倍数可以是与阴性对照(如安慰剂)、与另一种疗法(包括但不限于用帕丽珠单抗治疗)、或与给予抗体之前患者的效价相比的降低。

在一个具体实施方式中，在本领域已知或本文所述的实验中，与不存在本发明抗体或存在阴性对照的情况下的 RSV 复制相比，本发明抗体将 RSV 复制抑制或下调至少 99%、至少 95%、至少 90%、至少 85%、至少 80%、至少 75%、至少 70%、至少 60%、至少 50%、至少 45%、至少 40%、至少 45%、至少 35%、至少 30%、至少 25%、至少 20%或至少 10%。在另一实施方式中，在本领域已知或本文所述的实验中，与不存在本发明抗体或存在阴性对照的情况下的 RSV 复制相比，本发明抗体的组合将 RSV 复制抑制或下调至少 99%、至少 95%、至少 90%、至少 85%、至少 80%、至少 75%、至少 70%、至少 60%、至少 50%、至少 45%、至少 40%、至少 45%、至少 35%、至少 30%、至少 25%、至少 20%或至少 10%。

在一些实施方式中，本发明抗体导致上呼吸道中的 RSV 效价降低约 1 倍、约 1.5 倍、约 2 倍、约 3 倍、约 4 倍、约 5 倍、约 8 倍、约 10 倍、约 15 倍、约 20 倍、约 25 倍、约 30 倍、约 35 倍、约 40 倍、约 45 倍、约 50 倍、约 55 倍、约 60 倍、约 65 倍、约 70 倍、约 75 倍、约 80 倍、约 85 倍、约 90 倍、约 95 倍、约 100 倍、约 105 倍、约 110 倍、约 115 倍、约 120 倍、约 125 倍或更多倍。RSV 效价的降低倍数可以是与阴性对照(如安慰剂)、与另一种疗法

(包括但不限于用帕丽珠单抗治疗)、或与给予抗体之前患者的效价相比的降低。在其它实施方式中,本发明抗体导致下呼吸道中的 RSV 效价降低约 1 倍、约 1.5 倍、约 2 倍、约 3 倍、约 4 倍、约 5 倍、约 8 倍、约 10 倍、约 15 倍、约 20 倍、约 25 倍、约 30 倍、约 35 倍、约 40 倍、约 45 倍、约 50 倍、约 55 倍、约 60 倍、约 65 倍、约 70 倍、约 75 倍、约 80 倍、约 85 倍、约 90 倍、约 95 倍、约 100 倍、约 105 倍、约 110 倍、约 115 倍、约 120 倍、约 125 倍或更多倍。RSV 效价的降低倍数可以是与阴性对照(如安慰剂)、与另一种疗法(包括但不限于用帕丽珠单抗治疗)、或与给予抗体之前患者的效价相比的降低。本发明抗体可单独给予或与其它类型的治疗(如激素治疗、免疫治疗和消炎剂)联合给予。在一些实施方式中,本发明抗体与其它治疗发生协同作用。通常,优选给予与患者种类相同的物种来源或物种反应性的产品(在抗体的情况下)。因此,在另一实施方式中,将人或人源化抗体、衍生物、类似物或核酸给予人患者进行治疗。

可能将免疫学特异性结合 RSV 抗原的高亲和力和/或强效的体内抑制性抗体和/或中和性抗体用于涉及 RSV 的免疫实验和治疗、控制和/或改善呼吸道病症,包括但不限于: RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果,例如,哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合。可能将编码免疫学特异性结合 RSV 抗原的高亲和和/或强效的体内抑制性抗体和/或中和性抗体的多核苷酸用于涉及 RSV 的免疫实验和治疗 RSV 感染(如治疗、控制和/或改善呼吸道病症,包括但不限于: RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果,例如,哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合)。这类抗体优选具有对 RSV F 糖蛋白和/或 F 糖蛋白片段的亲和力。

在一个实施方式中,本发明也提供治疗、控制和/或改善呼吸道病症,包括但不限于: RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果,例如,哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的方法,作为现有治疗的替代疗法。在一个具体实施方式中,已证明或可证明现有治疗对患者毒性过高(即,导致不可接受或无法承受的副作用)。在另一实施方式中,相对于现有治疗本发明抗体的副作用降低。在另一实施方式中,已证明患者用现有治疗难治。在这类实施方式中,本发明提供在没有任何其它抗感染治疗的情况下给予一种

或多种本发明抗体。在某些实施方式中,当感染没有被彻底根除和/或症状没有显著缓解时,患有 RSV 感染(如急性 RSV 疾病或 RSV URI 和/或 LRI)的患者是难治的。可以利用本领域接受的“难治”的涵义,通过本领域已知的测定治疗对感染有效性的任何方法,在体内或体外确定某患者是否“难治”。在各种实施方式中,治疗后病毒复制不曾降低或反而升高时,患有 RSV 感染(如急性 RSV 疾病或 RSV URI 和/或 LRI)的患者是难治的。

在一个具体实施方式中,本发明提供控制、治疗和/或改善原发性病毒感染的一种或多种继发性反应的方法,所述方法包括单独或与有效量的其它治疗(如其它治疗剂)联合给予有效量的一种或多种本发明抗体。原发性病毒感染的继发性反应的例子包括但不限于:对粘膜刺激的哮喘-样反应,总呼吸阻力升高,继发性病毒、细菌和真菌感染的易感性增加,以及发生诸如(但不限于)支气管炎、肺炎、哮喘和发热性支气管炎等病症。

在其它实施方式中,本发明修饰抗体可用于被动免疫治疗(用于治疗)。由于修饰抗体也包括半衰期延长的 Fc 修饰,被动免疫治疗可通过以较低剂量和/或较低频率给予抗体来实现,这导致副作用较少、患者顺应性较好、治疗/预防成本较低等。在其它实施方式中,治疗剂是结合 RSV 的抗体,例如本文所述的任何一种或多种抗-RSV 抗体,其中所述抗体是修饰抗体。在某些实施方式中,本发明抗体可用于被动免疫治疗。

在其它实施方式中,感染 RSV 的人患者可通过给予有此需要的患者治疗有效量的 F(ab)'片段进行治疗,所述 F(ab)'片段包含三个重链可变区互补决定区(VH CDR)和三个轻链可变区 CDR(VL CDR),它们具有 VH CDR1 (SEQ ID NO:10)、VH CDR2 (SEQ ID NO:19)和 VH CDR3 (SEQ ID NO:20)的氨基酸序列和 VL CDR1 (SEQ ID NO:39)、VL CDR2 (SEQ ID NO:5)和 VL CDR3 (SEQ ID NO:6)的氨基酸序列,其中所述给药是在 RSV 季节中经肺给药。通常,在 RSV 高发季节,在成年人和老年人中出现 RSV 感染和/或 RSV 疾病的“高峰”。考虑到与未接受治疗有效量的所述 F(ab)'片段或接受安慰剂的相似患者组相比,用上述 F(ab)'片段治疗的方法可减少患者因 COPD 住院治疗的数量。

5.3 抗体的给药方法、频率和剂量

在一个实施方式中，用于控制、治疗和/或改善 RSV 感染(如急性 RSV 疾病，或 RSV URI 和/或 LRI)和/或与其有关的症状或呼吸道病症(如哮喘、喘鸣和/或 RAD)的组合物包含含有如本文所述的修饰 IgG(如 IgG1)恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)的 MEDI-524。在又一实施方式中，本发明组合物包含一种或多种本发明融合蛋白。

已知可使用各种递送系统给予治疗剂(如本发明修饰抗体)，包括但不限于：包裹在脂质体、微粒、微胶囊中，能表达该抗体的重组细胞，受体介导的胞吞(参见，例如 Wu 和 Wu, *J. Biol. Chem.*, 262: 4429-4432, (1987))，构建作为逆转录病毒或其它载体一部分的核酸，等等。给予治疗剂(如本发明抗体)或药物组合物的方法包括但不限于：胃肠道外给药(例如，真皮内、肌肉内、腹膜内、静脉内和皮下)、硬膜外给药和粘膜给药(例如，鼻内和经口途径)。在一个具体实施方式中，治疗剂(如本发明抗体)或药物组合物经鼻内、肌肉内、静脉内或皮下给药。所述治疗剂或组合物可通过任何方便的途径给予，例如通过输液或推注，通过上皮或粘膜皮肤衬里(例如，口腔粘膜、鼻内粘膜、直肠和肠粘膜等)吸收，并可联同其它生物学活性药物一起给予。给药可以是全身给药或局部给药。此外，也可采用经肺给药，例如利用吸入器或喷雾器，和用雾化剂配制。参见例如，美国专利 6,019,968、5,985,320、5,985,309、5,934,272、5,874,064、5,855,913、5,290,540 和 4,880,078；PCT 公开号 WO92/19244、WO97/32572、WO97/44013、WO98/31346 和 WO99/66903，通过引用全文纳入本文。在一个具体实施方式中，使用阿尔克母(Alkermes)AIR™经肺递药技术(马萨诸塞州剑桥的阿尔克母公司(Alkermes, Inc., Cambridge, MA))给予本发明抗体或本发明组合物。

在一个具体实施方式中，可能需要将本发明治疗剂或药物组合物局部递送到需要治疗的区域。这可通过以下方式实现：例如不限于，局部输注、局部应用(例如鼻内喷雾)、注射、利用植入物，所述植入物是有孔、无孔的凝胶状物质，包括膜，如唾液酸膜(sialastic membrane)或纤维。优选地，给予本发明抗体时，必须仔细选用不吸附抗体的材料。

在一个具体实施方式中，本发明组合物包含一种、两种或更多种本发明抗体。在另一实施方式中，本发明组合物包含一种、两种或更多种本发明抗体和

除本发明抗体以外的治疗剂。优选地，已知该药剂可用于或已用于或正用于治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合。除治疗剂外，本发明组合物还可包含载体。

本发明组合物包括制造可用于制备单位剂型的药物组合物(如适合给予对象或患者的组合物)所用的散装药物组合物。在另一实施方式中，本发明组合物是药物组合物。这类组合物包含治疗有效量的一种或多种治疗剂(如本发明修饰抗体或其它治疗剂)和药学上可接受的载体。优选将该药物组合物配制成适合给予对象的给药途径。

在一个具体实施方式中，术语“载体”指与该治疗剂一起给予的稀释剂、佐剂(如弗氏佐剂(完全和不完全))、赋形剂或运载体。这类药物载体可以是无菌液体，如水和油，包括来自石油、动物、植物或合成来源的油，如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。静脉内给予该药物组合物时，水是另一种载体。盐水溶液和右旋糖水溶液和甘油溶液也可用作液体载体，特别适用于注射液。合适的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石粉、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、二醇、水、乙醇等。如果需要，组合物也可含有少量润湿剂或乳化剂或 pH 缓冲剂。这些组合物可采取溶液剂、混悬剂、乳剂、片剂、丸剂、胶囊剂、粉末剂、缓释制剂等形式。口服制剂可含有标准载体，例如药物级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。E. W. Martin 的《雷明顿药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences)描述了合适药物载体的例子。这种组合物含有治疗有效量的抗体，优选纯化形式的抗体，以及适量载体，以提供适合给予患者的形式。该制剂应适合给药方式。

在另一实施方式中，按照常规方法将该组合物配制成适合静脉内给予人类的药物组合物。静脉内给予的组合物通常是无菌等渗水性缓冲液配制的溶液。如果需要，组合物也可含有增溶剂和局部麻醉剂，例如利多卡因来减轻注射部位的疼痛。然而，这类组合物可通过除静脉内以外的途径给予。

通常，本发明组合物的成分是单独提供或混合在一起以单位剂型的形式提供，例如在标明活性物质含量的密封容器如安瓿或药囊中的冻干粉末或无水浓

缩物。通过输液给予该组合物时，可用含有无菌药物级水或盐水的输液瓶分配该组合物。通过注射给予该组合物时，可提供一安瓿的无菌注射用水或盐水，以便在给药前与药物成分混合。

本发明也提供，将本发明抗体包装在标明抗体含量的密封容器，如安瓿或小药囊中。在一个实施方式中，在密封容器中以无菌冻干粉末或无水浓缩物形式提供抗体，可用水或盐水将该抗体重建为合适浓度，以便给予对象。优选地，在密封容器中以无菌冻干粉末的形式提供抗体时，单位剂量为至少 0.5 mg、至少 1 mg、至少 2 mg 或至少 3 mg，更优选至少 5 mg、至少 10 mg、至少 15 mg、至少 25 mg、至少 30 mg、至少 35 mg、至少 45 mg、至少 50 mg、至少 60 mg 或至少 75 mg。冻干抗体可以在原始容器中储存于 2-8°C 之间，可以在重建后 12 小时、优选 6 小时、5 小时、3 小时或 1 小时内给予该抗体。在另一实施方式中，在标明抗体含量和浓度的密封容器中提供液体形式的修饰抗体。优选地，密封容器中提供的抗体的液体形式为至少 0.1 mg/ml、至少 0.5 mg/ml、或至少 1 mg/ml，和更优选至少 2.5 mg/ml、至少 3 mg/ml、至少 5 mg/ml、至少 8 mg/ml、至少 10 mg/ml、至少 15 mg/ml、至少 25 mg/ml、至少 30 mg/ml 或至少 60 mg/ml。

本发明组合物可配制成中性形式或盐形式。药学上可接受的盐包括与阴离子形成的盐，例如衍生自氢氯酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等的盐，以及与阳离子形成的盐，例如衍生自钠、钾、铵、钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙基氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因等的盐。

可通过标准临床技术确定能有效治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的治疗剂(如本发明抗体)或本发明组合物的用量。例如，有效治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的治疗剂或包含本发明抗体的组合物的剂量可通过以下方法确定，将该组合物给予棉鼠，用 10^5 pfu RSV 刺激棉鼠后测定 RSV 效价，将该 RSV 效价与未给予所述治疗剂或组合物的棉鼠中获得的数值作比较。因此，与用 10^5 pfu RSV 刺激但未给予治疗剂或组合物的棉鼠相比，导致用 10^5 pfu RSV 刺激的棉鼠 RSV 效价对数值降低 2 或降低 99% 的剂

量是可给予人，用于治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的组合物剂量。

有效治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合的组合物剂量可通过以下方法确定，将该组合物给予动物模型(如棉鼠或猴)并测定免疫学特异性结合 RSV 抗原的修饰抗体的血清效价、肺浓度或者鼻甲和/或鼻分泌物浓度。因此，可将导致血清效价为约 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至 450 $\mu\text{g/ml}$ ，在一些实施方式中，至少 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.4 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.6 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.8 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1.5 $\mu\text{g/ml}$ ，优选至少 2 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 5 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 10 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 15 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 20 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 25 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 30 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 35 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 40 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 50 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 75 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 100 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 125 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 150 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 200 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 250 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 300 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 350 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 400 $\mu\text{g/ml}$ 或至少 450 $\mu\text{g/ml}$ 的抗体或组合物剂量给予人，以治疗、控制和/或改善呼吸道病症，包括但不限于：RSV 感染和/或 RSV 疾病的长期后果，例如，哮喘、喘鸣、反应性气道病(RAD)、慢性阻塞性肺病(COPD)或其组合。此外，可任选地进行体外试验以助于鉴别最优的剂量范围。

制剂所用的准确剂量也取决于给药途径和 RSV URI 和/或 LRI 的严重程度，应该按照实施人员的判断和每个患者的情况决定。可由体外或动物模型(例如棉鼠或猕猴)实验系统获得的剂量反应曲线外推获得有效剂量。

对于本发明抗体，给予患者的剂量通常是 0.025 mg/kg 至 100 mg/kg 患者体重。在一些实施方式中，给予患者的剂量为约 3 mg/kg 至 60 mg/kg 患者体重。优选地，给予患者的剂量为 0.025 mg/kg 至 20 mg/kg 患者体重，更优选 1 mg/kg 至 15 mg/kg 患者体重。通常，因为对外来多肽的免疫应答，人抗体在人体内的半衰期比其它来源的抗体长。因此，人抗体的给药剂量和给药频率可能较低。另外，可通过修饰，如脂化提高抗体的摄取和组织渗透性(如进入鼻孔和/或肺)，从而降低给予本发明抗体的剂量和频率。在另一实施方式中，给药的剂量为约 100 mg/kg、约 60 mg/kg、约 50 mg/kg、约 40 mg/kg、约 30 mg/kg、约 15 mg/kg、

约 10 mg/kg、约 5 mg/kg、约 3 mg/kg、约 2 mg/kg、约 1 mg/kg、约 0.80 mg/kg、约 0.50 mg/kg、约 0.40 mg/kg、约 0.20 mg/kg、约 0.10 mg/kg、约 0.05 mg/kg 或约 0.025 mg/kg 患者体重。

在一个具体实施方式中，在 RSV 季节之前(如三个月内、两个月内、一个月內)或 RSV 季节期间，本发明抗体或包含本发明抗体的组合物每月给予一次。在另一实施方式中，在 RSV 季节之前或 RSV 季节期间，本发明抗体或包含本发明修饰抗体的组合物每两个月给予一次。在另一实施方式中，在 RSV 季节之前或 RSV 季节期间，本发明抗体或包含本发明抗体的组合物每三个月给予一次。在另一实施方式中，在 RSV 季节之前或 RSV 季节期间，本发明抗体或包含本发明抗体的组合物给予一次。在另一实施方式中，在 RSV 季节期间，本发明抗体给予两次，最优选一次。在一些实施方式中，在 RSV 季节之前给予本发明抗体，在 RSV 季节期间可任选给予一次。在一些实施方式中，在 RSV 季节之前至少 3 天、至少 4 天、至少 5 天、至少 6 天至一周或在 RSV 季节期间，本发明抗体或包含本发明抗体的组合物每 24 小时给予一次。在特定实施方式中，在第一次识别到 RSV 感染(即患者出现鼻塞和/或其它上呼吸道症状)后不久，但在肺部出现临床显著疾病之前(即，出现下呼吸道疾病表现之前)，每天给予本发明抗体和或包含本发明抗体的组合物，以预防下呼吸道疾病。在另一实施方式中，患者在 RSV 季节出现 RSV URI 症状时，本发明修饰抗体或包含本发明修饰抗体的组合物经鼻内途径每天给予一次，共给药约 3 天。或者，在另一实施方式中，患者在 RSV 季节出现 RSV URI 症状时，本发明修饰抗体或包含本发明修饰抗体的组合物经鼻内途径隔天给予一次，共给药至少 1 周。在又一实施方式中，在 RSV 感染后 12 小时，本发明修饰抗体经鼻内给予 RSV 病毒载量的 M.O.I 约为 0.1 的人患者。在又一实施方式中，在 RSV 感染后 24 小时，本发明修饰抗体经鼻内给予 RSV 病毒载量的 M.O.I 约为 0.1 的人患者。在又一实施方式中，在 RSV 感染后 48 小时，本发明修饰抗体经鼻内给予 RSV 病毒载量的 M.O.I 约为 0.01 的人患者。

术语“RSV 季节”指最可能发生 RSV 感染的季节。在北半球，RSV 季节通常从 11 月开始，持续至 4 月，但在北半球也可能延长到 8 月至 6 月，这取决于具体地区的气候。抗体优选包含 MEDI-524 的 VH 和 VL 结构域或其抗原结

合片段，其包含本文所述的修饰的 IgG(如 IgG1)恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)。

在一个实施方式中，在 RSV 季节期间，将约 60 mg/kg 以下、约 45 mg/kg 以下、约 30 mg/kg 以下、约 15 mg/kg 以下、约 10 mg/kg 以下、约 5 mg/kg 以下、约 3 mg/kg 以下、约 2 mg/kg 以下或约 1.5 mg/kg 以下的本发明抗体给予对象，优选人 5 次、4 次、3 次、2 次，或优选 1 次。在一些实施方式中，在 RSV 季节期间将本发明抗体给予对象约 1-12 次，其中按需给予剂量，例如由医生确定每周、每两周、每月、每两个月、每三个月等给予一次。在一些实施方式中，在 RSV 季节中可以较高频率(如 3-6 次)给予较低剂量(如 5-15 mg/kg)。在其它实施方式中，在 RSV 季节中可以较低频率(如 1-3 次)给予较高剂量(如 30-60 mg/kg)。然而，正如本领域所了解的那样，不难确定其它给药量和给药方案，它们都属于本发明范围。在其它实施方式中，本发明抗体包含表 1 中的一个或多个 VH 结构域或链和/或一个或多个 VL 结构域或链，并且包含所述修饰恒定区，如本文鉴定的 IgG 恒定区的那些残基上的修饰。

在一个实施方式中，在 RSV 季节期间，将约 60 mg/kg 以下、约 45 mg/kg 以下、约 30 mg/kg 以下、约 15 mg/kg 以下、约 10 mg/kg 以下、约 5 mg/kg 以下、约 3 mg/kg 以下、约 2 mg/kg 以下、约 1.5 mg/kg 以下、约 1 mg/kg 以下、约 0.80 mg/kg 以下、约 0.50 mg/kg 以下、约 0.40 mg/kg 以下、约 0.20 mg/kg 以下、约 0.10 mg/kg 以下、约 0.05 mg/kg 以下或约 0.025 mg/kg 以下的本发明抗体经肌肉内或鼻内给予患者，优选人 5 次。在另一实施方式中，在 RSV 季节期间，将约 60 mg/kg、约 45 mg/kg 以下、约 30 mg/kg 以下、约 15 mg/kg 以下、约 10 mg/kg 以下、约 5 mg/kg 以下、约 3 mg/kg 以下、约 2 mg/kg 以下、约 1.5 mg/kg 以下、约 1 mg/kg 以下、约 0.80 mg/kg 以下、约 0.50 mg/kg 以下、约 0.40 mg/kg 以下、约 0.20 mg/kg 以下、约 0.10 mg/kg 以下、约 0.05 mg/kg 以下或约 0.025 mg/kg 以下的本发明抗体经肌肉内或鼻内给予患者，优选人三次。在另一实施方式中，在 RSV 季节期间，将约 60 mg/kg、约 45 mg/kg 以下、约 30 mg/kg 以下、约 15 mg/kg 以下、约 10 mg/kg 以下、约 5 mg/kg 以下、约 3 mg/kg 以下、约 2 mg/kg 以下、约 1.5 mg/kg 以下、约 1 mg/kg 以下、约 0.80 mg/kg 以下、约 0.50 mg/kg 以下、约 0.40 mg/kg 以下、约 0.20 mg/kg 以下、约 0.10 mg/kg

以下、约 0.05 mg/kg 以下或约 0.025 mg/kg 以下的本发明抗体经肌肉内或鼻内给予对象，优选人两次，最优选一次。在另一个实施方式中，在 RSV 季节期间，将约 1 mg/kg 以下、约 0.1 mg/kg 以下、约 0.05 mg/kg 以下或约 0.025 mg/kg 的本发明修饰抗体经鼻内给予对象，优选人，每天给予一次至少三天，或者隔天给予一次至少一周。

在一个具体实施方式中，将缓释制剂中约 60 mg/kg、约 45 mg/kg 以下、约 30 mg/kg 以下、约 15 mg/kg 以下、约 10 mg/kg 以下、约 5 mg/kg 以下、约 3 mg/kg 以下、约 2 mg/kg 以下、约 1.5 mg/kg 以下、约 1 mg/kg 以下、约 0.80 mg/kg 以下、约 0.50 mg/kg 以下、约 0.40 mg/kg 以下、约 0.20 mg/kg 以下、约 0.10 mg/kg 以下、约 0.05 mg/kg 以下或约 0.025 mg/kg 以下的本发明抗体给予对象，优选人，以预防、控制和/或改善 RSV 感染(如急性 RSV 疾病或 RSV URI 和/或 LRI)，和/或与其有关的症状或呼吸道病症(如哮喘、喘鸣和/或 RAD)。在另一具体实施方式中，在 RSV 季节中，将约 60 mg/kg、约 45 mg/kg 以下、约 30 mg/kg 以下、约 15 mg/kg 以下、约 10 mg/kg 以下、约 5 mg/kg 以下、约 3 mg/kg 以下、约 2 mg/kg 以下、约 1.5 mg/kg 以下、约 1 mg/kg 以下、约 0.80 mg/kg 以下、约 0.50 mg/kg 以下、约 0.40 mg/kg 以下、约 0.20 mg/kg 以下、约 0.10 mg/kg 以下、约 0.05 mg/kg 以下或约 0.025 mg/kg 以下的本发明抗体以非缓释制剂推注给予对象，优选人，以预防、控制、治疗和/或改善 RSV 感染(如急性 RSV 疾病，或 RSV URI 和/或 LRI)和/或与其有关的症状或呼吸道病症(如哮喘、喘鸣和/或 RAD)，一段时间后，将约 60 mg/kg、约 45 mg/kg 以下、约 30 mg/kg 以下、约 15 mg/kg 以下、约 10 mg/kg 以下、约 5 mg/kg 以下、约 3 mg/kg 以下、约 2 mg/kg 以下、约 1.5 mg/kg 以下、约 1 mg/kg 以下、约 0.80 mg/kg 以下、约 0.50 mg/kg 以下、约 0.40 mg/kg 以下、约 0.20 mg/kg 以下、约 0.10 mg/kg 以下、约 0.05 mg/kg 以下或约 0.025 mg/kg 以下的本发明抗体缓释给予(如鼻内或肌肉内)所述对象两次、三次或四次(优选一次)。按照这个实施方式，一段时间可以是 1-5 天、一周、两周或一个月。在另一实施方式中，在 RSV 季节中，将约 60 mg/kg、约 45 mg/kg 以下、约 30 mg/kg 以下、约 15 mg/kg 以下、约 10 mg/kg 以下、约 5 mg/kg 以下、约 3 mg/kg 以下、约 2 mg/kg 以下、约 1.5 mg/kg 以下、约 1 mg/kg 以下、约 0.80 mg/kg 以下、约 0.50 mg/kg 以下、约 0.40 mg/kg 以下、约 0.20 mg/kg

以下、约 0.10 mg/kg 以下、约 0.05 mg/kg 以下或约 0.025 mg/kg 以下的本发明修饰抗体以缓释制剂经肌肉内或鼻内给予对象，优选人两次、三次或四次(优选一次)，以预防、控制、治疗和/或改善 RSV 感染(如，急性 RSV 疾病，或 RSV URI 和/或 LRI)，和/或与其有关的症状或呼吸道病症(如哮喘、喘鸣和/或 RAD)。

在另一实施方式中，将约 60 mg/kg、约 45 mg/kg 以下、约 30 mg/kg 以下、约 15 mg/kg 以下、约 10 mg/kg 以下、约 5 mg/kg 以下、约 3 mg/kg 以下、约 2 mg/kg 以下、约 1.5 mg/kg 以下、约 1 mg/kg 以下、约 0.80 mg/kg 以下、约 0.50 mg/kg 以下、约 0.40 mg/kg 以下、约 0.20 mg/kg 以下、约 0.10 mg/kg 以下、约 0.05 mg/kg 以下或约 0.025 mg/kg 以下的一种或多种本发明抗体经鼻内给予对象，以预防、控制和/或改善 RSV 感染(如急性 RSV 疾病或 RSV URI 和/或 LRI)，和/或与其有关的症状或呼吸道病症(如哮喘、喘鸣和/或 RAD)。在一个实施方式中，将本发明抗体经鼻内给予对象，以治疗 URI 和预防下呼吸道感染和/或 RSV 疾病。

在某些实施方式中，将单一剂量的本发明修饰抗体(优选 MEDI-524 或修饰的 MEDI-524 抗体，如 MEDI-524-YTE)给予患者，其中剂量选自约 0.025 mg/kg、约 0.05 mg/kg、约 0.10 mg/kg、约 0.20 mg/kg、约 0.40 mg/kg、约 0.50 mg/kg、约 0.80 mg/kg、或约 1 mg/kg、约 3 mg/kg、约 5 mg/kg、约 10 mg/kg、约 15 mg/kg、约 20 mg/kg、约 25 mg/kg、约 30 mg/kg、约 35 mg/kg、约 40 mg/kg、约 45 mg/kg、约 50 mg/kg、约 55 mg/kg、约 60 mg/kg、约 65 mg/kg、约 70 mg/kg、或约 75 mg/kg。在特定实施方式中，单一剂量的本发明修饰抗体每年给予一次，或者每个 RSV 季节期间给予一次，或者在 RSV 季节之前 3 个月、2 个月或 1 个月内给予一次。在一些实施方式中，每年(或者每个 RSV 季节过程)，将单一剂量的本发明抗体给予患者 2 次、3 次、4 次、5 次、6 次、7 次、8 次、9 次、10 次、11 次、12 次、13 次、14 次、15 次、16 次、17 次、18 次、19 次、20 次、21 次、22 次、23 次、24 次、25 次、26 次，以两周(如约 14 天)为间隔，其中剂量选自约 0.025 mg/kg、约 0.05 mg/kg、约 0.10 mg/kg、约 0.20 mg/kg、约 0.40 mg/kg、约 0.50 mg/kg、约 0.80 mg/kg、或约 1 mg/kg、约 3 mg/kg、约 5 mg/kg、约 10 mg/kg、约 15 mg/kg、约 20 mg/kg、约 25 mg/kg、约 30 mg/kg、约 35 mg/kg、约 40 mg/kg、约 45 mg/kg、约 50 mg/kg、约 55 mg/kg、约 60 mg/kg、

约 65 mg/kg、约 70 mg/kg、约 75 mg/kg 或其组合(即, 每个月给予的每个剂量可以相同或不同)。

在另一实施方式中, 每年(或者每个 RSV 季节过程), 将单一剂量的本发明抗体给予患者 2 次、3 次、4 次、5 次、6 次、7 次、8 次、9 次、10 次、11 次、12 次, 以大约一个月(如约 30 天)为间隔, 其中剂量选自约 0.025 mg/kg、约 0.05 mg/kg、约 0.10 mg/kg、约 0.20 mg/kg、约 0.40 mg/kg、约 0.50 mg/kg、约 0.80 mg/kg、或约 1 mg/kg、约 3 mg/kg、约 5 mg/kg、约 10 mg/kg、约 15 mg/kg、约 20 mg/kg、约 25 mg/kg、约 30 mg/kg、约 35 mg/kg、约 40 mg/kg、约 45 mg/kg、约 50 mg/kg、约 55 mg/kg、约 60 mg/kg、约 65 mg/kg、约 70 mg/kg、约 75 mg/kg 或其组合(即, 每个月给予的每个剂量可以相同或不同)。

在一个实施方式中, 每年(或者每个 RSV 季节过程), 将单一剂量的本发明抗体给予患者 2 次、3 次、4 次、5 次、6 次, 以大约两个月(如约 60 天)为间隔, 其中剂量选自约 0.025 mg/kg、约 0.05 mg/kg、约 0.10 mg/kg、约 0.20 mg/kg、约 0.40 mg/kg、约 0.50 mg/kg、约 0.80 mg/kg、或约 1 mg/kg、约 3 mg/kg、约 5 mg/kg、约 10 mg/kg、约 15 mg/kg、约 20 mg/kg、约 25 mg/kg、约 30 mg/kg、约 35 mg/kg、约 40 mg/kg、约 45 mg/kg、约 50 mg/kg、约 55 mg/kg、约 60 mg/kg、约 65 mg/kg、约 70 mg/kg、约 75 mg/kg 或其组合(即, 每两个月剂量可以相同或不同)。

在一些实施方式中, 每年(或者每个 RSV 季节过程), 将单一剂量的本发明抗体给予患者 2 次、3 次或 4 次, 以大约三个月(如约 120 天)为间隔, 其中剂量选自约 0.025 mg/kg、约 0.05 mg/kg、约 0.10 mg/kg、约 0.20 mg/kg、约 0.40 mg/kg、约 0.50 mg/kg、约 0.80 mg/kg、或约 1 mg/kg、约 3 mg/kg、约 5 mg/kg、约 10 mg/kg、约 15 mg/kg、约 20 mg/kg、约 25 mg/kg、约 30 mg/kg、约 35 mg/kg、约 40 mg/kg、约 45 mg/kg、约 50 mg/kg、约 55 mg/kg、约 60 mg/kg、约 65 mg/kg、约 70 mg/kg、约 75 mg/kg 或其组合(即, 每三个月剂量可以相同或不同)。

在某些实施方式中, 将本发明抗体剂量给予患者的给药途径是鼻内、肌肉内、静脉内或其组合, 但本文所述的其它途径也是可以接受的。每个剂量可以通过相同或不同的给药途径给予。在一些实施方式中, 本发明抗体可通过多种给药途径同时给予, 或者在相同或不同的本发明抗体的其它剂量给予后给予。

在某些实施方式中, 将本发明抗体治疗性给予对象(如婴儿、早产婴儿、免疫削弱的对象、医务工作者或老年对象)。可将本发明抗体治疗性给予对象, 以便预防 RSV 感染在个体之间传播, 或减少传播的感染。在一些实施方式中, 该对象已接触(可能是或不是无症状的), 或者可能接触患有 RSV 感染(如急性 RSV 疾病, 或 RSV URI 和/或 LRI)的另一个体。例如, 所述对象包括但不限于: 与另一感染 RSV 的儿童或其它感染 RSV 的个体在同一所学校或日托中心的儿童、与其它感染 RSV 的个体在同一所疗养院的老年人或者与感染 RSV 的儿童或其它感染 RSV 的个体在同一个家庭的个体, 在有感染 RSV 的患者的医院工作的医务人员。优选地, 治疗性给予对象的抗体经鼻内给药, 但本文所述的其它给药途径也是可以接受的。在一些实施方式中, 本发明抗体的给药(如鼻内给药)剂量为约 0.025 mg/kg、约 0.05 mg/kg、约 0.10 mg/kg、约 0.20 mg/kg、约 0.40 mg/kg、约 0.50 mg/kg、约 0.80 mg/kg、约 1 mg/kg、约 2 mg/kg、约 3 mg/kg、约 5 mg/kg、约 10 mg/kg、约 15 mg/kg、约 30 mg/kg、约 40 mg/kg 或约 50 mg/kg。优选以较低剂量和较低频率给药, 例如, 在约 3 天、约 5 天或约 7 天中每 2-4 小时、4-6 小时、6-8 小时、8-10 小时、10-12 小时、12-14 小时、14-16 小时、16-18 小时、18-20 小时、20-22 小时、22-24 小时鼻内(或其它途径)给予一次(优选每天一次或两次), 或者在可能或实际接触 RSV 感染个体后按需给药。可使用本文所述的任何本发明抗体, 在某些实施方式中, 该抗体包含修饰的 IgG (如 IgG1)恒定区或其 FcRn 结合片段(如 Fc 结构域或铰链-Fc 结构域)。

5.4 抗体的诊断应用

免疫学特异性结合 RSV 抗原的本发明标记抗体(修饰的)及其衍生物和类似物可用于诊断目的, 以检测、诊断或监测 RSV URI 和/或 LRI。本发明提供检测 RSV 感染(如 RSV URI 和/或 LRI), 或者与其有关的症状或呼吸道病症(包括但不限于: 哮喘、喘鸣、RAD 或其组合)的方法, 所述方法包括: (a)用免疫学特异性结合 RSV 抗原的一种或多种本发明抗体测定对象的细胞或组织样品中 RSV 抗原的表达; 和(b)将该 RSV 抗原水平与对照水平, 例如未感染 RSV 的正常组织样品中的水平作比较, 与 RSV 抗原对照水平相比 RSV 抗原测定水平升高表明有 RSV 感染(如, RSV URI 和/或 LRI)或与其有关的症状或呼吸道病症(包括但不限于: 哮喘、喘鸣、RAD 或其组合)。

本发明提供诊断 RSV 感染(如 RSV URI 和/或 LRI)或与其有关的症状或呼吸道病症(包括但不限于:哮喘、喘鸣、RAD 或其组合)的诊断试验,其包括:(a)用免疫学特异性结合 RSV 抗原的一种或多种本发明抗体测定个体的细胞或组织样品中 RSV 抗原的水平;和(b)将该 RSV 抗原水平与对照水平,例如未感染 RSV 的正常组织样品中的水平作比较,与 RSV 抗原对照水平相比 RSV 抗原测定水平升高表明有 RSV 感染(如, RSV URI 和/或 LRI)或与其有关的症状或呼吸道病症(包括但不限于:哮喘、喘鸣、RAD 或其组合)。对 RSV 感染(如 RSV URI 和/或 LRI)或与其有关的症状或呼吸道病症(包括但不限于:哮喘、喘鸣、RAD 或其组合)的更准确诊断,可以使健康专业人员较早地采取预防性措施或侵入性治疗,从而防止 RSV 感染的发生和/或进一步进展。

5.5 修饰抗体的生物学活性和测定

可通过各种方式表征本发明抗体。具体说,可测定本发明抗体免疫学特异性结合 RSV 抗原的能力。这种测定可以用溶液(如, Houghten, 1992, Bio/Techniques 13:412-421)、珠(Lam, 1991, Nature 354:82-84)、芯片(Fodor, 1993, Nature 364:555-556)、细菌(美国专利号 5,223,409)、孢子(美国专利 5,571,698; 5,403,484; 和 5,223,409)、质粒(Cull 等, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:1865-1869)或噬菌体(Scott 和 Smith, 1990, Science 249:386-390; Devlin, 1990, Science 249:404-406; Cwirla 等, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:6378-6382; 和 Felici, 1991, J. Mol. Biol. 222:301-310)进行(这些参考文献各自通过引用全文纳入本文)。然后,测定经鉴定免疫学特异性结合 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)的抗体对 RSV 抗原的特异性和亲和力。

可通过本领域已知的任何方法检测本发明修饰抗体对 RSV 抗原的免疫学特异性结合和与其它抗原的交叉反应性。可用于分析免疫特异性结合和交叉反应性的免疫学测定包括但不限于:使用诸如 Western 印迹、放射性免疫实验、ELISA (酶联免疫吸附实验)、“夹心”免疫实验、免疫沉淀实验、沉淀素反应、凝胶扩散沉淀素反应、免疫扩散实验、凝集实验、补体结合实验、免疫放射分析、荧光免疫分析、蛋白 A 免疫实验等技术的竞争性和非竞争性测定系统。这类实验是本领域公知的常规实验(参见例如, Ausubel 等编, 1994, 《新编分子生物学实验指南》(Current Protocols in Molecular Biology), 第 1 卷, 纽约约翰

韦利父子公司(John Wiley & Sons, Inc., New York), 通过引用全文纳入本文)。下面简要描述示范性免疫测定(但不限于此)。

免疫沉淀方案通常包括细胞用补充有蛋白质磷酸酶和/或蛋白酶抑制剂(如乙二胺四乙酸、PMSF、抑肽酶、钒酸钠)的裂解缓冲液如 RIPA 缓冲液(1%NP-40 或曲通 X-100、1%脱氧胆酸钠、0.1% SDS、0.15 M NaCl、0.01 M 磷酸钠 pH 7.2, 1%特斯乐(Trasylol))裂解细胞群, 将感兴趣抗体加入该细胞裂解物, 40°C 培育一段时间(如 1-4 小时), 将蛋白质 A 和/或蛋白质 G 琼脂糖珠加入该细胞裂解物, 40°C 培育约一小时或更长时间, 用裂解缓冲液洗珠, 并将珠重悬于 SDS/样品缓冲液。可通过, 例如 Western 印迹分析评估感兴趣抗体免疫沉淀特定抗原的能力。本领域技术人员应认识到, 可改变参数以提高抗体抗原的结合和降低背景(如, 用琼脂糖珠预先清洁细胞裂解物)。有关免疫沉淀方案的进一步讨论参见例如, Ausubel 等编, 1994, 《新编分子生物学实验指南》(Current Protocols in Molecular Biology), 第 1 卷, 纽约约翰韦利父子公司(John Wiley & Sons, Inc., New York), 10.16.1。

Western 印迹分析通常包括: 制备蛋白质样品, 用聚丙烯酰胺凝胶电泳蛋白质样品(如, 根据抗原分子量采用 8%-20%SDS-PAGE), 将蛋白质样品从聚丙烯酰胺凝胶中转移到膜如硝酸纤维、PVDF 或尼龙膜上, 在封闭缓冲液(如, 含有 3% BSA 或脱脂奶粉的 PBS)中培育该膜, 用洗涤缓冲液(如 PBS-吐温 20)洗涤该膜, 用封闭缓冲液稀释的第一抗体(感兴趣抗体)培育该膜, 用洗涤缓冲液洗涤该膜, 用封闭缓冲液稀释的偶联于酶底物(如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)或放射性分子(如 ^{32}P 或 ^{125}I)的第二抗体(识别第一抗体, 如抗人抗体)培育该膜, 用洗涤缓冲液洗涤该膜, 和检测抗原的存在。本领域技术人员认识到, 可改变参数以提高检测到的信号和降低背景噪声。有关 Western 印迹方案的进一步讨论参见例如, Ausubel 等编, 1994, 《新编分子生物学实验指南》(Current Protocols in Molecular Biology), 第 1 卷, 纽约约翰韦利父子公司(John Wiley & Sons, Inc., New York), 10.8.1。

ELISA 包括制备抗原, 用该抗原包被 96 孔微量滴定板的孔, 将偶联于可检测化合物如酶底物(如, 辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)的感兴趣抗体加入孔中, 培育一段时间并检测抗原的存在。在 ELISA 中, 感兴趣抗体不必偶联于

可检测化合物；也可将偶联于可检测化合物的第二抗体(识别感兴趣抗体)加入孔中。另外，除了用抗原包被孔外，还可用抗体包被孔。在这种情况下，可加入偶联于可检测化合物的第二抗体，然后向包被孔中加入感兴趣抗原。本领域技术人员认识到，可改变参数以提高检测到的信号和实现本领域已知的其它 ELISA 改变。有关 ELISA 的进一步讨论参见例如，Ausubel 等编，1994，《新编分子生物学实验指南》(Current Protocols in Molecular Biology)，第 1 卷，纽约约翰韦利父子公司(John Wiley & Sons, Inc., New York)，11.2.1。

可通过竞争性结合实验测定抗体与抗原的结合亲和力和抗体-抗原相互作用的解离速率。竞争性结合实验的一个例子是放射性免疫实验，包括在含量递增的未标记抗原存在下用感兴趣抗体培育标记抗原(如 ^3H 或 ^{125}I)和检测结合于标记抗原的抗体。可利用斯卡恰特(scatchard)曲线分析，由数据确定本发明抗体与 RSV 抗原的亲和力和结合解离速率。也可利用放射性免疫实验确定与第二抗体的竞争。在这个例子中，在含量递增的未标记第二抗体存在下用偶联于标记化合物(如 ^3H 或 ^{125}I)的本发明抗体培育 RSV 抗原。

在另一实施方式中，利用 BIAcore 动力学分析确定抗体与 RSV 抗原的结合和解离速率。BIAcore 动力学分析包括分析 RSV 抗原与表面上固定有抗体的芯片的结合和解离。

也可用本领域技术人员已知技术测定本发明抗体抑制 RSV 与其宿主细胞受体结合的能力。例如，可以在存在或不存在抗体的情况下，将表达 RSV 受体的细胞与 RSV 相接触，可通过，例如流式细胞术或闪烁试验测定抗体抑制 RSV 结合的能力。可用可检测化合物如放射性标记(如 ^{32}P 、 ^{35}S 和 ^{125}I)或荧光标记(如荧光素异硫氰酸酯、罗丹明、藻红蛋白、藻青蛋白、别藻蓝蛋白、邻苯二醛和荧胺)标记 RSV(如 RSV 抗原如 F 糖蛋白或 G 糖蛋白)或抗体，以便检测 RSV 和其宿主细胞受体之间的相互作用。或者，可以用无细胞试验测定抗体抑制 RSV 与其受体结合的能力。例如，RSV 或 RSV 抗原如 G 糖蛋白可与抗体相接触，并可测定该抗体抑制 RSV 或 RSV 抗原与其宿主细胞受体结合的能力。优选地，将该抗体固定在固体支持物上，并用可检测化合物标记 RSV 或 RSV 抗原。或者，将 RSV 或 RSV 抗原固定在固体支持物上，并用可检测化合物标记该抗体。RSV 或 RSV 抗原可以是部分或完全纯化的(例如，部分或

完全不含其它多肽), 或者是细胞裂解物的一部分。另外, RSV 抗原可以是包含 RSV 抗原和诸如谷胱甘肽 S 转移酶等结构域的融合蛋白。或者, 可利用本领域技术人员熟知的技术(如, 生物素化试剂盒, 伊利诺斯州罗克福德的皮尔斯化学公司(Pierce Chemicals; Rockford, IL))生物素化 RSV 抗原。

也可用本领域技术人员已知技术测定本发明抗体抑制或下调 RSV 复制的能力。例如, 可通过空斑试验测定 RSV 复制, 参见例如 Johnson 等, 1997, *Journal of Infectious Diseases* 176:1215-1224。也可测定本发明修饰抗体抑制或下调 RSV 多肽表达的能力。可利用本领域技术人员已知技术, 包括但不限于: Western 印迹分析、northern 印迹分析和 RT-PCR 测定 RSV 多肽的表达。另外, 可测定本发明抗体防止合胞体形成的能力。

利用融合抑制实验测定病毒附着于细胞后本文所述抗体或其片段阻断 RSV 诱导的融合的能力。该实验与微量中和实验相同, 只是在加入抗体前细胞已感染 RSV (Long)4 小时(Taylor 等, 1992, *J. Gen. Virol.* 73:2217-2223)。

可以在体外和体内检测本发明修饰抗体或组合物诱导或抑制感染 RSV 的组织/细胞表达细胞因子的能力, 这些细胞因子包括例如 IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12 和 IL-15。可使用本领域技术人员已知技术测定细胞因子的表达水平。例如, 可通过分析细胞因子的 RNA 水平(例如, RT-PCR 和 Northern 印迹分析)和分析细胞因子水平(例如, 免疫沉淀后进行 Western 印迹分析和 ELISA)确定细胞因子的表达水平。可将本发明修饰抗体的结果与不含修饰的相同抗体作比较, 如本文所述。可通过相对百分数定量表述细胞因子反应的差异: 约 5%差异、约 10%差异、约 15%差异、约 20%差异、约 25%差异、约 30%差异、约 35%差异、约 40%差异、约 45%差异、约 50%差异、约 55%差异、约 60%差异、约 65%差异、约 70%差异、约 75%差异、约 80%差异、约 85%差异、约 90%差异、约 95%差异、约 100%差异等等。在一个实施方式中, 预计本发明修饰抗体能抑制感染 RSV 的组织/细胞表达细胞因子(参见实施例)。

或者, 可通过分析人患者中细胞因子的血清水平确定细胞因子的表达水平。这类技术是本领域技术人员熟知的。例如, 可采集治疗患者的全血样品, 并放入试管中。可以在 37°C、5%CO₂ 饱和湿化培养箱中培育血液样品。可离

心血液样品, 分离上清液, 快速冷冻并储存于-20℃。然后, 可通过本领域技术人员熟知的任何标准常规生物实验测定细胞因子。例如, 可利用 IRMA 试剂盒(比利时布鲁塞尔的美基尼克斯公司(Medgenix, Brussels, Belgium))测定细胞因子, 如 TNF- α 的水平。或者, 可使用特定细胞因子的特定市售抗体进行 RIA 实验, 以采集全血上清液的样品。

可以在体外和体内, 用本领域熟知技术测定本发明抗体或组合物诱导或抑制效应和记忆淋巴细胞响应感染 RSV 的组织 and 细胞而表达趋化因子, 如 CC、CXC 或 C 趋化因子的能力。可使用本领域技术人员已知技术测定趋化因子的表达水平。例如, 可通过分析趋化因子的 RNA 水平(例如, RT-PCR 和 Northern 印迹分析)和分析趋化因子水平(例如, 免疫沉淀后进行 Western 印迹分析和 ELISA)确定细胞因子的表达水平。可将本发明修饰抗体的结果与不含修饰的相同抗体作比较, 如本文所述。可通过相对百分数定量表述趋化因子反应的差异: 约 5%差异、约 10%差异、约 15%差异、约 20%差异、约 25%差异、约 30%差异、约 35%差异、约 40%差异、约 45%差异、约 50%差异、约 55%差异、约 60%差异、约 65%差异、约 70%差异、约 75%差异、约 80%差异、约 85%差异、约 90%差异、约 95%差异、约 100%差异等等。在一个实施方式中, 预计本发明修饰抗体能抑制效应和记忆淋巴细胞响应感染 RSV 的组织/细胞表达趋化因子。

或者, 可通过分析人患者中趋化因子的血清水平确定趋化因子的表达水平。这类技术是本领域技术人员熟知的。例如, 获得全血样品上清液后, 可采用 ELISA, 如上所述。

可以在体外和体内检测本发明抗体或组合物调节免疫细胞, 优选人免疫细胞(如 T 细胞、B 细胞和自然杀伤细胞)的生物学活性的能力。可通过检测抗原表达、检测免疫细胞增殖、检测信号传导分子活化、检测免疫细胞效应功能或检测免疫细胞的分化, 来评估本发明抗体或组合物调节免疫细胞生物学活性的能力。可利用本领域技术人员已知的技术测定这些活性。例如, 可通过 ^3H -胸苷掺入实验和台盼蓝细胞计数测定细胞增殖。可通过, 例如免疫学测定分析抗原表达, 这些免疫学测定包括但不限于: 使用诸如 Western 印迹、免疫组化、放射性免疫实验、ELISA (酶联免疫吸附实验)、“夹心”免疫实验、免疫沉淀实

验、沉淀素反应、凝胶扩散沉淀素反应、免疫扩散实验、凝集实验、补体结合实验、免疫放射分析、荧光免疫分析、蛋白 A 免疫实验和 FACS 分析等技术的竞争性和非竞争性测定系统。可通过，例如激酶试验和电泳迁移率变动分析(EMSA)测定信号转导分子的激活。

也可在体外、离体和体内实验中检测本发明抗体或组合物抑制病毒复制或降低病毒载量的能力。例如，可通过微量中和实验测定本文所述抗体的中和。此种微量中和实验是 Anderson 等(1985, J. Clin. Microbiol. 22:1050-1052，通过引用将其全文内容纳入本文)所述方法的改进形式。该方法也参见 Johnson 等，1999, J. Infectious Diseases 180:35-40，通过引用将其全文内容纳入本文。简要说，用 96 孔板制备一式三份的抗体稀释液。在 96 孔板孔中，将连续稀释的待测本发明抗体与病毒一起在 37°C 培育 2 小时。将 RSV 易感性 HEp-2 细胞(2.5×10^4)加入各孔中，可在 37°C、5% CO₂ 下培养 5 天。5 天后，吸出培养基，洗涤细胞，并用 80% 甲醇和 20% PBS 将细胞固定于平板。可通过 F 蛋白的表达确定 RSV 复制。可用偶联生物素的抗-F 蛋白单克隆抗体(泛 F 蛋白、C-位点-特异性 MAb 133-1H)培育固定的细胞，并通过偶联辣根过氧化物酶的亲和素和底物 TMB (硫代硝基苯甲酸)转换进行检测(450 nm)。中和效价可表示为与只有病毒的对照细胞相比，使 450 nm 吸光度(OD₄₅₀)降低至少 50% 的抗体浓度。

也可检测本发明抗体或组合物缩短 RSV 感染(如 RSV URI 和/或 LRI)的病程，或减轻与其相关的症状或呼吸道病症(包括但不限于：哮喘、喘鸣、RAD 或其组合)的能力。也可检测本发明抗体或组合物使患有 RSV 感染(优选 RSV URI 和/或 LRI)的患者的存活时间延长至少 25%，至少 50%，至少 60%，至少 75%，至少 85%，至少 95% 或至少 99% 的能力。另外，可检测与给予安慰剂或不接受治疗性给予本发明抗体的人相比，本发明抗体或组合物使患有 RSV 感染(优选 RSV URI 和/或 LRI)的人的住院时间缩短至少 60%、至少 75%、至少 85%、至少 95% 或至少 99% 的能力。可利用本领域技术人员已知技术分析本发明抗体或组合物的体内功能。

可通过各种体外试验表征 IgG 和包含 IgG 恒定区或其 FcRn 片段的分子与 FcRn 片段的结合能力。Ward 的 PCT 公开 WO 97/34631 详细披露了各种方法，通过引用全文纳入本文。

例如,为了将本发明修饰抗体或其片段结合 FcRn 的能力与未修饰或野生型 IgG 作比较,可对修饰的 IgG 或其片段和未修饰或野生型 IgG 进行放射性标记,并与 FcRn 表达细胞在体外发生反应。然后,可对细胞结合的组分的放射性进行计数,并作比较。用于本试验的表达 FcRn 的细胞优选是内皮细胞系,包括衍生自 B10.DBA/2 小鼠肺的小鼠肺毛细管内皮细胞(B10, D2.PCE)和衍生自 C3H/HeJ 小鼠的 SV40 转化的内皮细胞(SVEC) (Kim 等, J. Immunol., 40:457-465, 1994)。然而,也可使用表达足够数量 FcRn 的其它类型的细胞,如分离自 10 至 14 日龄哺乳小鼠的肠刷状缘细胞。或者,也可使用表达所选种类的重组 FcRn 的哺乳动物细胞。对修饰 IgG 的结合组分或者未修饰或野生型的结合组分的放射性进行计数后,可用去污剂提取结合分子,可计算每单位数量细胞的释放百分数,并进行比较。

可通过表面等离子共振(SPR)技术,利用如前所述的 BIAcore 2000 (必爱可公司(BIAcore Inc.))测定修饰的 IgG 对 FcRn 的亲合力(Popov 等, Mol. Immunol., 33:493-502, 1996; Karlsson 等, J. Immunol. Methods, 145:229-240, 1991, 通过引用全文纳入本文)。在这种方法中,将 FcRn 分子偶联于 BIAcore 传感器芯片(如,法玛西亚公司(Pharmacia)的 CM5 芯片),以某一特定流速测定修饰的 IgG 与固定的 FcRn 的结合,以便利用 BIA 评估 2.1 软件获得传感图,根据该传感图计算修饰 IgG、恒定区或其片段的结合和解离速率。

也可通过简单的竞争结合试验测定修饰 IgG 或其片段,以及未修饰或野生型 IgG 对 FcRn 的相对亲合力。将不同量的未标记的修饰 IgG 或者未修饰或野生型 IgG 加入固定有 FcRn 的 96 孔板孔中。然后,向各孔中加入恒定量的放射性标记的未修饰或野生型 IgG。将结合组分的放射性百分数对未标记的修饰 IgG 或者未修饰或野生型 IgG 的含量作图,可由曲线斜率计算修饰的铰链-Fc 的相对亲合力。

而且,也可通过饱和研究和斯卡恰特分析测定修饰的 IgG 或其片段以及野生型 IgG 对 FcRn 的亲合力。

可通过以下方法测定修饰 IgG 或其片段通过 FcRn 跨细胞转移:用放射性标记的 IgG 或其片段和表达 FcRn 的细胞进行体外转移试验,比较细胞单层一侧的放射性与另一侧的放射性。或者,这种转移可通过以下方法在体内测定:

给 10 至 14 日龄哺乳小鼠饲喂放射性标记的修饰 IgG，定期对血液样品的放射性计数，该计数表明 IgG 通过肠道转移至循环中(或任何其它靶组织，如肺)。为了检测 IgG 通过肠道转移的剂量依赖性抑制，将确定比例的放射性标记和未标记的 IgG 的混合物给予小鼠，定期测定血浆的放射性(Kim 等, Eur. J. Immunol., 24:2429-2434, 1994)。

可通过药代动力学特性研究，按照如通过引用全文纳入本文的 Kim 等(Eur. J. of Immuno. 24:542, 1994)所述的方法测定修饰 IgG 或其片段的半衰期。按照这种方法，将放射性标记的修饰 IgG 或其片段静脉内注射到小鼠中，定期测定血浆浓度与时间，例如，注射后 3 分钟至 72 小时的关系。如此获得的清除曲线应该是双相的，即有 α -相和 β -相。为了测定修饰 IgG 或其片段的体内半衰期，计算 β -相中的清除速率，并与未修饰或野生型 IgG 作比较。

可通过 ADCC 试验(参见实施例)测定本发明修饰抗体的效应功能。铬试验是本领域众所周知的(参见例如，Brunner, K.T.等(1968) 免疫淋巴细胞在体外对 Cr-标记的同种异体靶细胞的裂解作用的定量试验(Quantitative Assay of the Lytic Action of Immune Lymphoid Cells on Cr-labelled Allogenic Target Cells in-vitro); 自体抗体和药物的抑制(Inhibition by Iso-antibody and by Drugs), 《免疫学》(Immunology) 14,181)。最近，使用了 LDH 细胞毒试验。该试验基于对乳酸脱氢酶(LDH)活性的测定，乳酸脱氢酶是通常出现在所有细胞胞浆中的稳定酶，但细胞膜损伤后会快速释放到上清液中。通过分光光度法在 500 nm 处分析结果。这种试验可以试剂盒的形式购得，因此对于本领域技术人员而言是容易获得的。

5.6 产生抗体的方法

可通过本领域已知的合成抗体的任何方法，具体是通过化学合成，或优选通过重组表达技术生产免疫特异性结合抗原的本发明抗体。除非另有说明，本发明的实施使用分子生物学、微生物学、遗传分析、重组 DNA、有机化学、生物化学、PCR、寡核苷酸合成和修饰、核酸杂交和本领域技术人员已知的相关领域的常规技术。这些技术参见本文引用的参考文献，在文献中有详细描述。参见例如 Maniatis 等(1982) 《分子克隆：实验室手册》(Molecular Cloning: A Laboratory Manual), 冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press);

Sambrook 等(1989),《分子克隆:实验室手册》(Molecular Cloning: A Laboratory Manual), 第二版, 冷泉港实验室出版社; Ausubel 等,《新编分子生物学实验指南》(Current Protocols in Molecular Biology), 约翰韦利父子公司(John Wiley & Sons) (1987 和每年的更新);《新编分子生物学实验指南》, 约翰韦利父子公司(1987 和每年的更新) Gait (编) (1984)《寡核苷酸合成: 实践方法》(Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach), IRL 出版社(IRL Press); Eckstein (编) (1991)《寡核苷酸和类似物: 实践方法》(Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach), IRL 出版社; Birren 等(编) (1999)《基因组分析: 实验室手册》(Genome Analysis: A Laboratory Manual), 冷泉港实验室出版社。

可通过本领域技术人员已知的任何技术产生识别特定 RSV 抗原(优选 RSV F 抗原)的抗体片段。例如, 可利用诸如木瓜蛋白酶(产生 Fab 片段)或胃蛋白酶(产生 $F(ab')_2$ 片段)等酶对免疫球蛋白分子进行蛋白酶水解切割, 产生本发明 Fab 和 $F(ab')_2$ 片段。 $F(ab')_2$ 片段含有可变区、轻链恒定区和重链的 CH1 结构域。另外, 也可通过本领域已知的各种噬菌体展示法产生本发明抗体。

例如, 也可通过各种噬菌体展示法产生抗体。在噬菌体展示法中, 功能性抗体结构域展示在携带编码它们的多核苷酸序列的噬菌体颗粒表面上。具体说, 由动物 cDNA 文库(如人或鼠患病组织的 cDNA 文库)扩增编码 V_H 和 V_L 区的 DNA 序列。通过 PCR 将编码 V_H 和 V_L 区的 DNA 与 scFv 接头重组在一起, 克隆到噬菌粒载体中。将该载体电穿孔到大肠杆菌中, 用辅助噬菌体感染该大肠杆菌。用于这些方法的噬菌体一般是丝状噬菌体, 包括 fd 和 M13, 通常将 V_H 和 V_L 区重组融合于噬菌体基因 III 或基因 VIII。可以利用抗原, 如标记抗原或者结合或捕获在固体表面或珠上的抗原来选择或鉴定表达能够结合特定抗原的抗原结合域的噬菌体。可用于制备本发明抗体的噬菌体展示法的例子包括 Brinkman 等, 1995, J. Immunol. Methods 182:41-50; Ames 等, 1995, J. Immunol. Methods 184:177-186; Kettleborough 等, 1994, Eur. J. Immunol. 24:952-958; Persic 等, 1997, Gene 187:9-18; Burton 等, 1994, Advances in Immunology 57:191-280; PCT 申请号 PCT/GB91/01134; 国际公开号 WO90/02809、WO91/10737、WO92/01047、WO92/18619、WO93/11236、WO95/15982、

WO95/20401 和 WO97/13844; 以及美国专利号 5,698,426、5,223,409、5,403,484、5,580,717、5,427,908、5,750,753、5,821,047、5,571,698、5,427,908、5,516,637、5,780,225、5,658,727、5,733,743 和 5,969,108 所述的方法, 上述文献全文通过引用纳入本文。

如上述参考文献所述, 噬菌体选择后, 可分离噬菌体的抗体编码区, 并用于产生完整抗体, 包括人抗体或任何其它所需的抗原结合片段, 并在任何所需宿主, 包括哺乳动物细胞、昆虫细胞、植物细胞、酵母和细菌中表达, 如下所述。也可采用通过本领域已知方法, 例如 PCT 公开号 WO 92/22324; Mullinax 等, 1992, *BioTechniques* 12(6): 864-869; Sawai 等, 1995, *AJRI* 34:26-34; 和 Better 等, 1988, *Science* 240:1041-1043 所公开的方法, 采用重组产生 Fab、Fab' 和 F(ab')₂ 片段的技术(所述文献通过引用以全文纳入本文)。

为了产生完整抗体, 可采用 PCR 引物(包括 VH 或 VL 核苷酸序列、限制性位点和用来保护限制性位点的侧接序列)扩增 scFv 克隆中的 VH 或 VL 序列。可利用本领域技术人员已知的克隆技术将 PCR 扩增的 VH 区克隆到表达 VH 恒定区, 如人 $\gamma 4$ 恒定区的载体中, 可将 PCR 扩增的 VL 区克隆到表达 VL 恒定区, 如人 κ 或 λ 恒定区的载体中。优选地, 用于表达 VH 或 VL 结构域的载体包含 EF-1 α 启动子、分泌信号、可变区、恒定区的克隆位点和选择性标记如新霉素。也可将 VH 和 VL 区克隆到一个表达所需恒定区的载体中。然后, 用本领域技术人员已知的技术将重链转化载体和轻链转化载体共转染到细胞系中, 产生表达全长抗体如 IgG 的稳定或瞬时细胞系。

在一些应用, 包括抗体在人体的体内应用和体外检测实验中, 可能优选使用人抗体或嵌合抗体。人体治疗应用中特别优选完全人抗体。可通过本领域已知的各种方法制备人抗体, 这些方法包括利用人免疫球蛋白序列产生的抗体文库的上述噬菌体展示法。也参见美国专利 4,444,887 和 4,716,111; 和国际公开号 WO98/46645、WO98/50433、WO98/24893、WO98/16654、WO96/34096、WO96/33735 和 WO91/10741; 各自通过引用全文纳入本文。

也可用不能表达功能性内源免疫球蛋白、但可表达人免疫球蛋白基因的转基因小鼠产生人抗体。例如, 可通过随机法或同源重组将人重链和轻链免疫球蛋白基因复合物引入小鼠胚胎干细胞中。或者, 除人重链和轻链基因外, 可将

人可变区、恒定区和多变区引入小鼠胚胎干细胞中。可以通过同源重组引入人免疫球蛋白基因座，分别或同时使小鼠重链和轻链免疫球蛋白基因无功能。具体说，JH 区的纯合缺失防止了内源性抗体产生。扩增修饰的胚胎干细胞，并显微注射到胚泡中产生嵌合小鼠。然后，使嵌合小鼠交配产生表达人抗体的纯合子后代。以正常方式用所选抗原，例如本发明多肽的全部或部分免疫转基因小鼠。可以通过常规杂交瘤技术由免疫的转基因小鼠获得该抗原的单克隆抗体。转基因小鼠携带的人免疫球蛋白转基因在 B 细胞分化期间重排，随后发生类型转换和体细胞突变。因此，可能利用这种技术产生治疗上有用的 IgG、IgA、IgM 和 IgE 抗体。这种产生人抗体的技术的概述参见 Lonberg 和 Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93)。这种产生人抗体和人单克隆抗体的技术的详细讨论和产生这类抗体的实验方案参见例如 PCT 公开号 WO 98/24893、WO 96/34096 和 WO 96/33735；以及美国专利号 5,413,923、5,625,126、5,633,425、5,569,825、5,661,016、5,545,806、5,814,318 和 5,939,598，通过引用全文纳入本文。此外，诸如阿布吉尼公司(加州福利孟德(Fremont, CA))、基法公司(Genpharm)(加州圣何塞(San Jose, CA))等公司能够利用类似于上述技术的技术提供所选抗原的人抗体。

嵌合抗体是抗体的不同部分来源于不同免疫球蛋白分子的分子。制备嵌合抗体的方法是本领域已知的。参见例如，Morrison, 1985, *Science* 229:1202；Oi 等, 1986, *BioTechniques* 4:214；Gillies 等, 1989, *J. Immunol. Methods* 125:191-202；和美国专利号 5,807,715、4,816,567、4,816,397 和 6,311,415，通过引用全文纳入本文。

人源化抗体是能够结合预定抗原并包含基本具有人免疫球蛋白氨基酸序列的构架区和基本具有非人免疫球蛋白氨基酸序列的 CDR 的抗体或其变体或片段。人源化抗体基本包含至少一个、一般是两个可变区(Fab、Fab'、F(ab')₂、Fab_c、Fv)的全部序列，其中全部或基本上全部 CDR 区对应于非人免疫球蛋白(即供体抗体)，全部或基本上全部构架区是人免疫球蛋白共有序列的构架区。优选地，人源化抗体也包含至少一部分免疫球蛋白恒定区(Fc)，一般是人免疫球蛋白的恒定区。通常，抗体含有轻链并至少含有重链的可变区。抗体还可包含重链的 CH1、铰链、CH2、CH3 和 CH4 区。人源化抗体可选自包括 IgM、

IgG、IgD、IgA 和 IgE 在内的任何免疫球蛋白类型和包括 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 在内的任何同种型。通常，需要人源化抗体具有细胞毒活性时，恒定区是补体固定恒定区，类型一般是 IgG₁。不需要这种细胞毒活性时，恒定区可以是 IgG₂ 类型。可用于本发明某些实施方式的 VL 和 VH 恒定区的例子包括但不限于，Johnson 等(1997) *J. Infect. Dis.* 176, 1215-1224 所述的 C- κ 和 C- γ -1 (nG1m)，以及美国专利 5,824,307 所述的那些。人源化抗体可包含一种以上类型或同种型的序列，选择特定恒定区以优化所需效应功能是在本领域普通技术人员能力范围内。人源化抗体的构架区和 CDR 区不需要精确对应于母体序列，例如，可通过取代、插入或缺失至少一个残基来诱变供体 CDR 或共有构架区，以使该位点上的 CDR 或构架区残基不对应于共有或输入抗体。然而，不应广泛发生这类变异。通常，至少 75% 的人源化抗体残基将对应于母体 FR 和 CDR 序列，更经常是 90%，最优选 95% 以上。可利用本领域已知的各种技术产生人源化抗体，这些技术包括但不限于：CDR 移植(参见例如，欧洲专利 EP 239,400；国际公开 WO 91/09967；和美国专利 5,225,539、5,530,101 和 5,585,089)，镶面(veneering)或表面再造(resurfacing)(欧洲专利 EP 592,106 和 EP 519,596；Padlan, 1991, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498；Studnicka 等, 1994, *Protein Engineering*, 7(6):805-814；和 Roguska 等, 1994, *PNAS*, 91:969-973)，链改组(美国专利 5,565,332)以及以下文献所述的技术：美国专利 6,407,213，美国专利 5,766,886，国际公开 WO 9317105，Tan 等, *J. Immunol.*, 169:1119-25 (2002)，Caldas 等, *Protein Eng.*, 13(5):353-60 (2000)，Morea 等, *Methods*, 20(3):267-79 (2000)，Baca 等, *J. Biol. Chem.*, 272(16):10678-84 (1997)，Roguska 等, *Protein Eng.*, 9(10):895-904 (1996)，Couto 等, *Cancer Res.*, 55 (23 增刊):5973s-5977s (1995)，Couto 等, *Cancer Res.*, 55(8):1717-22 (1995)，Sandhu JS, *Gene*, 150(2):409-10 (1994) 和 Pedersen 等, *J. Mol. Biol.*, 235(3):959-73 (1994)。也参见美国专利公开号 US 2005/0042664 A1 (2005 年 2 月 24 日)，通过引用全文纳入本文。构架区中的构架残基常常被 CDR 供体抗体的相应残基取代，以改变、优选改进抗原结合。通过本领域熟知方法鉴定这些构架区取代，例如通过对 CDR 和构架区残基相互作用建模来鉴定对抗原结合至关重要的构架区残基，并进行序列比较以鉴定特定位置上的不寻常构架区残基。(参见例如，Queen

等, 美国专利号 5,585,089; 和 Reichmann 等, 1988, *Nature*, 332:323, 其全文通过引用纳入本文)。

可通过本领域熟知方法产生单结构域抗体, 例如, 缺少轻链的抗体。参见 Riechmann 等, 1999, *J. Immuno.* 231:25-38; Nuttall 等, 2000, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 1(3):253-263; Muylderman, 2001, *J. Biotechnol.* 74(4):277302; 美国专利号 6,005,079; 和国际公开号 WO 94/04678、WO 94/25591 和 WO 01/44301, 通过引用将其全文纳入本文。

另外, 进而可通过本领域技术人员熟知的技术, 利用免疫特异性结合 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)的抗体产生“模拟”抗原的抗独特型抗体(参见例如, Greenspan 和 Bona, 1989, *FASEB J.* 7(5):437-444; 和 Nissinoff, 1991, *J. Immunol.* 147(8): 2429-2438)。

5.6.1 编码抗体的多核苷酸

本发明提供包含编码免疫学特异性结合 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)的本发明抗体(修饰)的核苷酸序列的多核苷酸。

可通过本领域已知的任何方法获得多核苷酸, 并测定多核苷酸的核苷酸序列。由于 AFFF、P12f2、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、MEDI-524、A4B4-F52S、A17d4(1)、A3e2、A14a4、A16b4、A17b5、A17f5 或 A17h4 的氨基酸序列已知(见表 1), 所以可用本领域熟知的方法测定编码这些抗体的核苷酸序列以及这些抗体的修饰种类, 即, 将已知编码特定氨基酸的核苷酸密码子装配能产生编码该抗体的核酸。这类编码抗体的多核苷酸可由化学合成的寡核苷酸组装而来(如 Kutmeier 等, 1994, *BioTechniques* 17:242 所述), 简要说, 该方法包括合成含有编码抗体、其片段或变体的序列部分的重叠寡核苷酸, 将这些寡核苷酸退火和连接, 然后通过 PCR 扩增连接的寡核苷酸。

或者, 可由合适来源的核酸产生编码本发明抗体的多核苷酸。如果无法获得含有编码特定抗体的核酸的克隆, 但该抗体分子的序列已知, 则可通过化学合成编码该免疫球蛋白的核酸或利用可与该序列 3'和 5'端杂交的合成引物进行 PCR 扩增、或利用具体基因序列的特异性寡核苷酸探针进行克隆以鉴定 cDNA

文库中编码该抗体的 cDNA 克隆, 由合适来源(如抗体 cDNA 文库, 或由表达该抗体的任何组织或细胞, 如选择表达本发明抗体的杂交瘤细胞分离的核酸, 优选聚 A+RNA 产生的 cDNA 文库)获得编码该免疫球蛋白的核酸。然后, 可利用本领域熟知的任何方法将 PCR 产生的扩增核酸克隆到可复制克隆载体中。

5.6.2 诱变

一旦确定了抗体的核苷酸序列后, 就可用本领域熟知的核苷酸序列操作方法, 如重组 DNA 技术、定位诱变、PCR 等(参见例如, 通过引用全文纳入本文的 Sambrook 等, 1990, 《分子克隆, 实验室手册》, 第 2 版, 冷泉港实验室出版社, 纽约冷泉港和 Ausubel 等编, 1998, 《新编分子生物学实验指南》, 约翰韦利父子公司所述的技术)操作该抗体的核苷酸序列, 以产生具有不同氨基酸序列, 例如产生氨基酸取代、缺失和/或插入的抗体。在某些实施方式中, 将氨基酸取代、缺失和/或插入引入抗体的表位-结合区和/或引入参与 FcRn 相互作用的抗体的铰链-Fc 区。

在一个具体实施方式中, 利用常规重组 DNA 技术将一个或多个 CDR 插入构架区中。构架区可以是天然产生或共有的构架区, 优选人构架区(参见例如 Chothia 等, 1998, J. Mol. Biol. 278: 457-479 所述的人构架区列表)。优选地, 通过组合构架区和 CDR 产生的多核苷酸序列编码免疫学特异性结合特定抗原, 如 RSV F 抗原的抗体。优选地, 可以在构架区中产生一个或多个氨基酸取代, 优选地, 氨基酸取代能提高抗体与其抗原的结合。此外, 可利用这种方法产生一个或多个参与链间二硫键的可变区半胱氨酸残基的氨基酸取代或缺失, 以产生缺少一个或多个链间二硫键的抗体分子。本发明包括对多核苷酸的其它改变, 这些改变在本领域技术人员能力范围以内。

诱变可以按照本领域已知的任何技术进行, 包括但不限于: 合成准备修饰的抗体或其片段的恒定区序列(如 CH2 或 CH3 结构域)中具有一个或多个修饰的寡核苷酸。定位诱变允许使用编码所需突变的 DNA 序列的特定寡核苷酸序列以及足够数量的相邻核苷酸, 以提供大小和序列复杂性足以在横跨缺失连接点两侧形成稳定双链体的引物序列, 从而产生突变体。通常, 优选长度为约 17 至 75 个核苷酸或更长的引物, 序列连接点两侧的约 10 至 25 个或更多残基被改变。可使用在一个或多个位置上引入各种突变的许多这类引物, 以产生突变

体文库。

定位诱变技术是本领域众所周知的,参见各种公开物(参见例如 Kunkel 等, *Methods Enzymol.*, 154:367-82, 1987, 通过引用全文纳入本文)。通常,进行定位诱变的过程如下,首先获得单链载体或使序列内包含编码所需肽的 DNA 序列的双链载体的两条链解链。通常,以合成方法制备携带所需的突变序列的寡核苷酸引物。然后,将该引物与单链载体退火,用 DNA 聚合酶如 T7 DNA 聚合酶聚合,以完成携带突变的链的合成。至此,形成一条链编码原始的非突变序列而第二条链携带所需突变的异源双链体。然后,用此种异源双链体载体转化或转染合适的细胞,如大肠杆菌(*E. coli*)细胞,选择包含携带突变序列安排的重载体的克隆。应理解,该技术一般使用以单链和双链形式存在的噬菌体载体。用于定位诱变的载体通常包括诸如 M13 噬菌体等载体。这些噬菌体不难购得,其应用是本领域技术人员众所周知的。定位诱变通常也使用双链质粒,它消除了将感兴趣基因从质粒转移至噬菌体的步骤。

或者,用市售热稳定性酶如 Taq DNA 聚合酶进行的 PCR™可用于将诱变性寡核苷酸引物掺入扩增的 DNA 片段中,然后可克隆到合适的克隆或表达载体中。参见例如, Tomic 等, *Nucleic Acids Res.*, 18(6):1656, 1987 和 Upender 等, *Biotechniques*, 18(1):29-30, 32, 1995 中 PCR™-介导的诱变方法,通过引用全文纳入本文。也可使用除热稳定性聚合酶外的热稳定性连接酶进行 PCR™将磷酸化的诱变性寡核苷酸掺入扩增的 DNA 片段中,然后克隆到合适的克隆或表达载体中(参见例如, Michael, *Biotechniques*, 16(3):410-2, 1994, 通过引用全文纳入本文)。

可使用本领域技术人员已知的产生抗体 Fc 结构域或其片段的序列变体的其它方法。例如,可用诱变剂,如羟胺处理编码抗体恒定区或其片段的氨基酸序列的重组载体,以获得序列变体。

5.6.3 淘选

可筛选表达氨基酸残基中具有一个或多个修饰的恒定区或其片段的载体,具体说是噬菌体,以鉴定对 FcRn 的亲和力提高或降低的恒定区或其片段。可用于分析氨基酸残基中具有一个或多个修饰的恒定区或其片段与 FcRn 的结合的免疫实验包括但不限于:放射性免疫实验、ELISA (酶联免疫吸附实验)、“夹

心”免疫实验和荧光免疫实验。这类实验是本领域公知的常规实验(参见例如, Ausubel 等编, 1994, 《新编分子生物学实验指南》(Current Protocols in Molecular Biology), 第 1 卷, 纽约约翰韦利父子公司(John Wiley & Sons, Inc., New York), 通过引用全文纳入本文)。下面简要描述示范性免疫测定(但不限于此)。也可利用 BIAcore 动力学分析确定氨基酸残基中具有一个或多个修饰的恒定区或其片段与 FcRn 的结合和解离速率。BIAcore 动力学分析包括分析氨基酸残基中具有一个或多个修饰的恒定区或其片段与表面上固定有 FcRn 的芯片的结合和解离。

5.6.4 测序

可利用本领域已知的各种测序反应直接测序编码, 例如具有一个或多个氨基酸 Fc 结构域修饰的可变区和/或恒定区或其片段的核苷酸序列。测序反应的例子包括基于 Maxim 和 Gilbert (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74:560, 1977)或 Sanger (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74:5463, 1977)开发的技术。也考虑到可采用各种自动化测序方法(Bio/Techniques, 19:448, 1995), 包括质谱测序(参见例如, PCT 公开号 WO 94/16101, Cohen 等, Adv. Chromatogr., 36:127-162, 1996 和 Griffin 等, Appl. Biochem. Biotechnol., 38:147-159, 1993)。

5.6.5 抗体的重组表达

重组表达免疫学特异性结合 RSV 抗原(如 RSV F 抗原)的本发明抗体(如本发明抗体的重链或轻链或本发明单链抗体)需要构建含有编码该抗体的多核苷酸的表达载体。一旦获得编码本发明抗体分子、抗体的重链或轻链、或其片段(优选但不一定含有重链和/或轻链可变区)的多核苷酸后, 可通过本领域熟知的重组 DNA 技术获得产生抗体分子的载体。因此, 本文描述了通过表达含有编码抗体的核苷酸序列的多核苷酸制备蛋白质的方法。可利用本领域技术人员熟知的方法构建含有抗体编码序列和合适的转录和翻译控制信号的表达载体。这些方法包括例如, 体外重组 DNA 技术、合成技术和体内遗传重组。因此, 本发明提供包含操作性连接于启动子的编码本发明抗体分子、抗体的重链或轻链、抗体的重链或轻链可变区或其片段、或重链或轻链 CDR 的核苷酸序列的可复制载体。这种载体可包含编码抗体分子恒定区的核苷酸序列(参见例如, 国际公开号 WO 86/05807 和 WO 89/01036; 和美国专利号 5,122,464), 可将抗

体可变区克隆到这种载体中，以表达整个重链、整个轻链或整个重链和轻链。

通过常规技术将该表达载体转移到宿主细胞中，然后通过常规技术培养该转染细胞，产生本发明抗体。因此，本发明包括含有编码本发明抗体或其片段、或其重链或轻链、或某片段、或本发明单链抗体的多核苷酸的宿主细胞，所述多核苷酸操作性连接于异源启动子。在其它实施方式中，为了表达双链抗体，可以在宿主细胞中共同表达编码重链和轻链的载体，以表达整个免疫球蛋白分子，如下所详述。

可利用各种宿主表达载体系统表达本发明抗体分子(参见例如，美国专利号 5,807,715)。这类宿主表达系统代表可产生并随后纯化感兴趣编码序列的载体，但也代表用合适的核苷酸编码序列转化或转染时，可原位表达本发明抗体分子的细胞。它们包括但不限于微生物，例如用含有抗体编码序列的重组噬菌体 DNA、质粒 DNA 或粘粒 DNA 表达载体转化的细菌(如大肠杆菌(*E. coli*)和枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)); 用含有抗体编码序列的重组酵母表达载体转化的酵母(如毕赤酵母(*Saccharomyces Pichia*)); 用含有抗体编码序列的重组病毒表达载体(如杆状病毒)感染的昆虫细胞系统; 用重组病毒表达载体 (如花椰菜花叶病毒, CaMV; 烟草花叶病毒, TMV)感染的或用含有抗体编码序列的重组质粒表达载体(如 Ti 质粒)转化的植物细胞系统; 或者哺乳动物细胞系统(如 COS、CHO、BHK、293、NS0 和 3T3 细胞), 其携带含有衍生自哺乳动物细胞基因组(如金属硫蛋白启动子)或哺乳动物病毒(如腺病毒晚期启动子; 牛痘病毒 7.5K 启动子)的启动子的重组表达构建物。优选地, 利用细菌细胞如大肠杆菌(*Escherichia coli*), 更优选真核细胞(特别是表达完整重组抗体分子时)表达重组抗体分子。例如, 哺乳动物细胞如中华仓鼠卵巢细胞(CHO)与某载体如来自人巨细胞病毒的主要中间体早期基因启动子元件联用, 是抗体的有效表达系统(Foecking 等, 1986, 基因 45:101; 和 Cockett 等, 1990, Bio/Technology 8:2)。在一个具体实施方式中, 通过组成型启动子、诱导型启动子或组织特异性启动子调节编码免疫学特异性结合 RSV 抗原(优选 RSV F 抗原)的本发明抗体的核苷酸序列的表达。

在细菌系统中, 优选根据所表达抗体分子的指定应用对许多表达载体进行选择。例如, 准备产生大量这类抗体时, 为了产生抗体分子的药物组合物, 可

能需要能够介导易于纯化的融合蛋白产物高水平表达的载体。这类载体包括但不限于：大肠杆菌表达载体 pUR278 (Ruther 等, 1983, EMBO, 12:1791)), 其中抗体编码序列可单独连接到载体内, 与 lacZ 编码区位于同一读框内, 以产生融合蛋白; pIN 载体(Inouye 和 Inouye, 1985, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109; Van Heeke 和 Schuster, 1989, J. Biol. Chem., 24:5503-5509); 等等。也可采用 pGEX 载体表达外来多肽与谷胱甘肽 S-转移酶(GST)的融合蛋白。通常, 这类融合蛋白可溶, 并可通过以下方法容易地由裂解细胞纯化: 吸附和结合于基质谷胱甘肽琼脂糖珠, 然后在游离谷胱甘肽的存在下洗脱。设计 pGEX 载体, 使其包含凝血酶或因子 Xa 蛋白酶切割位点, 以便由 GST 部分释放克隆的靶基因产物。

在昆虫系统中, 苜蓿银纹夜蛾(*Autographa californica*)核多面体病病毒(AcNPV)用作表达外来基因的载体。该病毒在草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)细胞中生长。可将抗体编码序列单独克隆到病毒的非必需区(如多角体蛋白基因)中, 并置于 AcNPV 启动子(如多角体蛋白启动子)的控制下。

在哺乳动物宿主细胞中, 可利用许多基于病毒的表达系统。在腺病毒用作表达载体的情况下, 可将感兴趣的抗体编码序列连接于腺病毒转录/翻译控制复合物, 例如晚期启动子和三联前导序列。然后, 可通过体外或体内重组将该嵌合基因插入腺病毒基因组中。插入病毒基因组的非必需区(如 E1 或 E3 区)会产生的且能够在感染宿主中表达抗体分子的重组病毒(参见例如 Logan 和 Shenk, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:355-359)。为使插入的抗体编码序列能够有效翻译, 可能还需要特定的起始信号。这些信号包括 ATG 启动密码子和相邻序列。另外, 该启动密码子必须与所需编码序列的阅读框同相, 以保证完整插入物的翻译。这些外源性翻译控制信号和启动密码子可以是各种天然和合成来源。可通过包含合适的转录增强子元件、转录终止子等提高表达效率(参见例如 Bittner 等, 1987, Methods in Enzymol. 153:51-544)。

此外, 可选择调节插入序列表达、或以所需的特定方式修饰和加工该基因产物的宿主细胞系。对蛋白质产物的这种修饰(如糖基化)和加工(如切割)可能对蛋白质功能至关重要。不同宿主细胞对蛋白质和基因产物的翻译后加工和修饰具有特征性和特定的机制。可选择合适的细胞系或宿主系统, 以保证对所表

达的外来蛋白进行正确修饰和加工。对此,可采用具有能适当地加工初始转录物、对基因产物进行糖基化和磷酸化的细胞机制的真核宿主细胞。这类哺乳动物宿主细胞包括但不限于: CHO、VERY、BHK、Hela、COS、MDCK、293、3T3、WI38、BT483、Hs578T、HTB2、BT2O 和 T47D、NS0(不会内源性产生任何免疫球蛋白链的鼠骨髓瘤细胞系)、CRL7O3O 和 HsS78Bst 细胞。

为了长期、高产率地生产重组蛋白,优选稳定的表达。例如,可工程改造稳定表达抗体分子的细胞系。与其使用含有病毒复制起点的表达载体,不如用合适表达控制元件(如启动子、增强子、序列、转录终止子、聚腺苷酸化位点等)控制的 DNA 和选择性标记来转化宿主细胞。引入外来 DNA 后,使工程改造细胞在富营养培养基中生长 1-2 天,然后换到选择性培养基中。重组质粒中的选择性标记对选择压产生抗性,使得细胞能够将该质粒稳定整合到其染色体中,生长形成细胞灶,进而可克隆并扩增成细胞系。优选这种方法工程改造表达该抗体分子的细胞系。这种工程改造细胞系在筛选和评价与抗体分子直接或间接相互作用的组合物时特别有用。

可采用许多选择系统,包括但不限于单纯疱疹病毒胸苷激酶(Wigler 等, 1977, *Cell* 11:223)、次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶(Szybalska 和 Szybalski, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 48:202)和腺嘌呤磷酸核糖基转移酶(Lowy 等, 1980, *Cell* 22:8-17)基因,它们分别可用于 tk-、hgp^rt-或 ap^rt-细胞。另外,抗代谢剂抗性可用作选择以下基因的基础: *dhfr*, 产生甲氨蝶呤抗性(Wigler 等, 1980, *Natl. Acad. Sci. USA*, 77:357; O'Hare 等, 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78:1527); *gpt*, 产生霉酚酸抗性(Mulligan 和 Berg, 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78:2072); *neo*, 产生氨基糖苷 G-418 抗性(Wu 和 Wu, 1991, *Biotherapy* 3:87-95; Tolstoshev, 1993, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596; Mulligan, 1993, *Science* 260:926-932; 和 Morgan 和 Anderson, 1993, *Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217; May, 1993, *TIB TECH* 11(5):155-215); 和 *hygro*, 产生潮霉素抗性(Santerre 等, 1984, *Gene*, 30:147)。通常应用重组 DNA 技术领域公知的方法以选择所需的重组克隆,这些方法参见例如: Ausubel 等(编),《新编分子生物学实验指南》(*Current Protocols in Molecular Biology*), 约翰韦利森公司(John Wiley & Sons), NY(1993); Kriegler, 《基因转移和表达, 实验室手册》(*Gene*

Transfer and Expression, A Laboratory Manual), 斯托克顿出版社(Stockton Press), NY(1990); 和 Dracopoli 等(编), 《新编人类基因组实验指南》(Current Protocols in Human Genetics)的第 12 和 13 章, 约翰韦利父子公司, NY(1994); Colberre-Garapin 等, 1981, J. Mol. Biol., 150:1, 通过引用将其全文纳入本文。

可通过载体扩增提高抗体分子的表达水平(综述参见 Bebbington 和 Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning(在 DNA 克隆中基于基因扩增使用载体表达哺乳动物细胞中克隆的基因), 第 3 卷(学术出版社(Academic Press), 纽约, 1987))。当表达抗体的载体系统中的标记可扩增时, 宿主细胞培养物中存在的抑制剂水平提高会增加标记基因的拷贝数。由于扩增区域与抗体基因相连, 所以也会提高抗体的产量(Crouse 等, 1983, Mol. Cell. Biol. 3:257)。

可利用本发明的两个表达载体共同转染宿主细胞, 第一个载体编码重链衍生的多肽, 第二个载体编码轻链衍生的多肽。这两种载体可含有相同的选择性标记, 使得能够等地表达重链和轻链多肽。或者, 可使用编码且能够同时表达重链和轻链多肽的单一载体。在这种情况下, 轻链应位于重链之前, 以避免产生过多有毒的游离重链(Proudfoot, 1986, *Nature* 322:52; 和 Kohler, 1980, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77:2197-2199)。重链与轻链的编码序列可包括 cDNA 或基因组 DNA。

一旦通过重组表达产生本发明抗体分子后, 可通过本领域已知的任何免疫球蛋白分子纯化方法进行纯化, 这些方法包括例如层析(如离子交换层析, 亲和层析, 特别是在蛋白 A 之后对特定抗原的亲和力层析, 以及大小柱层析)、离心、差异溶解度或任何其它蛋白质纯化标准技术。另外, 本发明抗体可与本文所述或本领域已知的异源多肽序列融合, 以利于纯化。

6. 实施例

实施例 1:MEDI-524 处理调节 RSV-诱导的细胞因子反应

感染后, 将 MEDI-524 加入感染 RSV 的上皮细胞, 以观察给予抗体可否调节感染 RSV 的细胞释放细胞因子。在两个感染时间点进行试验, 一个是感染后 1 小时, 另一个是感染后 12 小时。

12 小时时间点：在 2-12 个板孔中接种 2 ml HEp-2 (第 9 代)细胞，密度为 5×10^5 个细胞/孔，培养约 1 天至铺满。用 RSV A 病毒(WVB032302) MOI=1 感染铺满的 Hep-2 细胞。感染 12 小时后，将对照抗体 MEDI-507 (20ug/ml)或 MEDI-524 (52405G-0964) (20ug/ml)加入合适孔中。再于 37°C/5% CO₂ 培育细胞 6 和 24 小时。在 6 或 24 小时时间点 1500rpm 离心 5 分钟，以收集上清液，并储存于-80°C 待用。

1 小时时间点：在 6-12 个板孔中接种 2 ml HEp-2 P10 细胞，密度为 5×10^5 个细胞/孔，培养约 1 天至铺满。用 RSV A 病毒(WVB032302) MOI=0.5 或 1.0 或 5.0 感染铺满的 Hep-2 细胞。感染 1 小时，去除接种体，将含有 10 ug/ml 对照抗体 MEDI-507 (10.1mg/ml 母液)、10 ug/ml MEDI-524 (52405G-0336, 10.2 mg/ml 母液)或 10ug/ml MEDI-524 Fab 2' (KS011107, 2.75mg/ml 母液)的 1 ml 新鲜培养基加入感染的细胞中。再于 37°C/5% CO₂ 培育细胞 6 和 24 小时。在 6 或 24 小时时间点 1500rpm 离心 5 分钟，以收集上清液，并储存于-80°C 待用。

用 MesoScale Discovery®多联试剂盒-MS6000 人促炎-7 组织培养试剂盒(目录号 K11008B)和 MS6000 人趋化因子-9 组织培养试剂盒(目录号 K11001B)检测 IL-6、IL-8、IL-12p70 和 TNF- α ，以便对上述收集的上清液进行细胞因子测定。结果见图 1 和 2。该实验表明，与 12 小时相比在 1 小时较早治疗性给予 MEDI-524，并且与 24 小时相比用 MEDI-524 培育感染细胞 6 小时可减少 RSV 感染细胞释放的细胞因子。

实施例 2：MEDI-524 介导的 THP-1 活化

进行实验来确定 MEDI-524 处理可否调节活化 THP-1 细胞响应 RSV 感染细胞的趋化因子反应。

在 4-12 个板孔中接种 2 ml HEp-2 细胞(第 8 代)，密度为 5×10^5 个细胞/孔。用 IFN- γ (500U/毫升终浓度，15 微升，用于 15 毫升)活化第 14 代(3×10^5 个细胞/毫升，15 毫升)和第 27 代(3.0×10^5 个细胞/毫升，15 毫升)的 THP-1 细胞 48 小时。

培养约 36 小时后，用 RSV A (8×10^6 pfu/ml)以 MOI=1 感染 12 个板孔中铺满的 HEp-2 细胞。12-15 小时后，吸出感染培养基，用 FACS 缓冲液(含 2% FBS

的 1x PBS)冲洗一次。用 FACS 缓冲液将对照抗体 MEDI-507、MEDI-524 (52405G-0336, 10.2 mg/ml)或 MEDI-524 Fab'2 (KS011107, 2.75 mg/ml)稀释至终浓度 20 ug/ml, 加入各孔中。室温下培育 15 分钟后, 吸出含抗体的 FACS 缓冲液, 用新鲜的 THP-1 培养基冲洗一次。

将活化 48 的 THP-1 细胞离心下来, 重悬于新鲜的 THP-1 培养基(以去除任何过量 IFN- γ)。将 1 ml THP-1 细胞(在 THP-1 培养基中)加入合适孔中的 HEp-2 细胞中, 培育 6 和 24 小时。感染 RSV 的 Hep-2 细胞与 THP-1 活化细胞的比例约为 2:1。共同培养 6 和 24 小时后, 收集上清液, 离心(1500rpm, 5 分钟), 并储存于 -80°C 待用。

用 MesoScale Discovery®多联试剂盒-MS6000 人促炎-7 组织培养试剂盒(目录号 K11008B)和 MS6000 人趋化因子-9 组织培养试剂盒(目录号 K11001B)检测趋化因子释放, 以便对上述收集的上清液进行细胞因子测定。仅测定到 MIP-1b、MCP-1、IP-10 和嗜伊红粒细胞趋化蛋白-3 被诱导。结果列于图 3 和 4。该试验表明, 用 MEDI-524 处理可诱导活化的 THP-1 单核细胞释放 MIP-1b、MCP-1、IP-10 和嗜伊红粒细胞趋化蛋白-3, 但明显不诱导其它细胞因子。

实施例 3: MEDI-524 介导的 THP-1 吞噬作用

进行实验以确定 MEDI-524 处理可否介导单核细胞对 RSV 感染细胞的吞噬作用。

用亲脂性染料对 HEp-2 细胞染色: 对第 5 代的 HEp-2 细胞计数, 以 1×10^6 个细胞/毫升重悬于 50 ml 圆锥管中的 HBSS 中。接下来, 每毫升 HBSS 细胞悬液中加入 2.5ul 蓝色染料(Vybrant® DiD 细胞标记溶液, #V22887, 英杰(Invitrogen)®)。细胞在 37°C 培育 20 分钟, 每 5 分钟将该 50 ml 圆锥管颠倒 3 次。用 HBSS 以 1700 rpm、5 分钟洗涤细胞 4 次。将细胞重悬于完全培养基, 并接种到 12 孔板中, 接种密度 5×10^5 个细胞/孔, 接种体积 2 毫升(细胞在 48 小时内铺满)。

THP-1 细胞的活化: 用 500U/ml IFN- γ (12 ul, 用于 12 ml THP-1 细胞)活化第 19 代的 THP-1 细胞(3×10^5 个细胞/毫升, 12 毫升), 37°C 培育 48 小时。

用 RSV 感染 HEp-2 细胞: 用 RSV A(WVB032302)以 MOI 1 感染铺满的

Hep-2 细胞 20 小时。然后, 从感染 RSV 的 HEp-2 平板中吸出培养基。将 1 ml 细胞解离缓冲液加入各板孔中, 37°C 培育 15 分钟。用 1000 ul 移液器尖头解离 HEp-2 细胞, 转移到流动管中。各管中加入 2 ml FACS 洗涤缓冲液, 以 1500 rpm 洗涤 5 分钟。将 HEp-2 细胞重悬于 100ul FACS 缓冲液洗液中, 向细胞悬液中加入对照抗体 MEDI-507 (20ug/ml)、MEDI-524 (20ug/ml)和 MEDI-524 FAB'2 (20ug/ml), 室温下培育 20 分钟。用 2ml FACS 洗液以 1500rpm/5 分钟/4°C 洗涤 HEp-2 细胞。将 HEp-2 细胞重悬于 100 ul THP-1 培养基。将活化 THP-1 细胞 (3×10^5 个细胞/毫升, 12 毫升)离心下来, 重悬于 12 毫升新鲜 THP-1 培养基以去除过量 IFN- γ 。将 1 ml THP-1 细胞加入已加入经不同处理的 HEp-2 细胞的 12 孔板中, 37°C 培育 16 小时。16 小时后, 将细胞分装到流动管中(如下所述)。

用 FACS 洗液洗涤细胞 1 次, 重悬于 100ul FACS 洗液。用 8 ul HLADR-PE (555812, BD Biosciences®)对合适的试管避光室温染色 15 分钟。用 FACS 洗液洗涤细胞一次, 用 1%甲醛固定 15 分钟。用 FACS 洗液洗去固定剂, 将细胞重悬于 200ul FACS 洗液, 并转移到 96-孔 NUNC 平板中, 以便在 LSRII 上运行(绿色)。

流动管:

- 1)未染色的 THP-1 + 未染色的 HEp-2
- 2)未染色的 HEp-2 + THP-1 + HLADR-PE
- 3)染色的 HEp-2 + 未染色的 THP-1
- 4)未感染的染色的 HEp-2 + THP-1 + HLADR-PE
- 5)感染 RSV 的染色的 HEp-2 + THP-1 + HLADR-PE
- 6)感染 RSV 的染色的 HEp-2 + Medi507 + THP-1 + HLADR-PE
- 7)感染 RSV 的染色的 HEp-2 + Medi524 + THP-1 + HLADR-PE
- 8)感染 RSV 的染色的 HEp-2 + Medi524 + THP-1 + HLADR-PE
- 9)感染 RSV 的染色的 HEp-2 + Numax FAB'2 + THP-1 + HLADR-PE
- 10)感染 RSV 的染色的 HEp-2 + Numax FAB'2 + THP-1 + HLADR-PE

管号 7-8 和 9-10 是两复孔。所有 THP-1 细胞均为 IFN- γ 活化的。结果见图 5。图 5 显示用 MEDI-524 处理可介导 THP-1 单核细胞对 RSV 感染细胞的吞噬作用(参见 RSV-inf Hep-2+MEDI-524+THP-1 图)。

实施例 4: ADCC 效应功能

进行实验以确定抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(ADCC)在用 MEDI-524 或 MEDI-524 3M 进行 RSV 处理时是否起到作用。

将 20ml 3.5×10^6 个第 11 代的 HEp-2 细胞接种于 T75 组织培养瓶中, 培养至铺满。约 36 小时后, 用 RSV A 以 $\text{MOI}=1.0$ 感染铺满的 HEp-2 细胞。

靶细胞: 感染 12 小时后, 解离感染的 HEp-2 细胞, 重悬于含有 5% FBS 的 RPMI 1640 (无酚红)培养基(RP-5)中, 浓度为 4×10^5 个细胞/毫升。

效应细胞: 将第 31 代的 NK 细胞重悬于 RP-5 培养基中, 浓度为 10×10^5 个细胞/毫升。

抗体: 通过 10 倍稀释, 用 RP-5 将 MEDI-524 (52405G-0336)、MEDI-524-3M (按照 Kabat 编号具有氨基酸突变 239D、330L、332E)和对照抗体 R347 稀释至 10ug/ml 至 0.1ng/ml 的浓度范围。

ADCC 测定: 将 50 ul R347、50 ul 靶细胞和 50 ul 效应细胞一式两份地加入 96 孔圆底平板的 A 行(E:T 比例=2.5:1)。将 50 ul MEDI-524、50 ul 靶细胞和 50 ul 效应细胞一式两份地加入 96 孔圆底平板的 B 行(E:T 比例=2.5:1)。将 50 ul Medi524-3M、50 ul 靶细胞和 50 ul 效应细胞一式两份地加入 96 孔圆底平板的 C 行(E:T 比例=2.5:1)。D 行是以下对照组, 一式两份:

Tonly – 50ul 靶细胞 + 100ul RP-5

Tmax – 50ul 靶细胞 + 80ul RP-5 (+ 20ul 裂解缓冲液)

T+E – 50ul 靶细胞 + 50ul 效应细胞+ 50ul RP-5

培养基 – 150ul RP-5

去污剂 – 130ul RP-5 (+ 20ul 裂解缓冲液)

120 g 离心这些平板 3 分钟, 然后于 $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ 培育 4 小时。4 小时培育结束之前 45 分钟, 将 20 ul 裂解缓冲液(来自 LDH 试剂盒)加入含有 Tmax 和去污剂(见上)的板孔中。培育 4 小时后, 120 g 离心这些平板 5 分钟。为进行 LDH 释放试验(见下), 将每孔中的 50 ul 转移到新的平底 96 孔板中。

LDH 释放试验: (普洛麦格(Promega)®, #G1780, 非放射性细胞毒性测定)。将普洛麦格试剂盒中的测定缓冲液融化至室温。将 12ml 测定缓冲液加入该试

剂盒的一个小瓶底物混合物中，避光，立即使用(用于一整块平板)。每孔(已有 50 μ l 样品的 96 孔平底平板)中加入 50 μ l 底物溶液，室温下避光培育 15-20 分钟。向每孔中加入试剂盒中的 50 μ l 终止溶液，去除气泡，在 1 小时内读出 490 nm 的 OD 值。

该测定的结果见图 6。与 MEDI-524 相比，MEDI-524 3M 经工程改造 ADCC 效应功能增强。结果是，MEDI-524 3M 的 ADCC 细胞毒性强于 MEDI-524(约 10-12%细胞毒性)。

实施例 5: MEDI-524 TM 的疗效

在以下实验中，用修饰的 MEDI-524 抗体、MEDI-524 3M 和 MEDI-524 TM (按照 Kabat 编号具有氨基酸突变 234F、235E、331S)检测疗效，从而观察这类 Fc 区修饰可否进一步提高 MEDI-524 的效果。

用无菌盐水从母液浓度 100 mg/ml 开始稀释 MEDI-524。在每项研究中，将青年棉鼠(*Sigmodon hispidus*，平均体重 100g，获自马里兰州罗克维尔的病毒颗粒系统公司(Virion Systems, Inc. Rockville, MD))分成具有四只棉鼠的各组。在不同时间点(感染前 24 小时和感染后 24 或 72 小时)通过腹膜内注射给予动物 0.1 mL 受试品，每组棉鼠对应一个剂量的莫维珠单抗或对照抗体(MEDI-507)。24 小时后，用异氟烷麻醉动物，通过每只动物鼻内滴入 1×10^5 pfu RSV A2(获自 ATCC)进行刺激。4 天后，通过二氧化碳窒息处死动物，手术切除其肺脏，平分后和放入液氮快速冷冻。用无菌手术刀切出鼻组织，也用液氮冷冻。在 20 份(重链/体积) HBSS (目录号 14175，英杰公司(Invitrogen)，加利福尼亚州卡尔斯巴德)中用玻璃组织匀浆器单独匀浆肺脏，用 10 份(重链/体积) HBSS、无菌石英砂和研钵研棒匀浆鼻(组织)。得到的悬液在 770xg 离心 10 分钟，收集上清液，储存于 -80°C，直到用空斑滴定分析病毒效价。

空斑减少实验(PRA):用 HBSS 以 1:10 和 1:100 稀释 F 肺匀浆物样品，将 50 μ L 等分的纯 1:10 和 1:100 稀释液加入 24 孔板的 HEP-2 细胞(ATCC #CCL-23)的两复孔中。37°C 培育 1 小时后，用含有 1%甲基纤维素(#M0512-500G，密苏里州圣路易斯的西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO))的培养基替换接种体，将细胞放回 37°C 培养箱。4 天后，去除覆盖物，固定细胞

并用 0.1%结晶紫的 5%戊二醛溶液染色 30 分钟, 洗涤, 空气干燥, 对空斑计数。该实验的检测限是 200 PFU/克组织。病毒效价低于检测限的样品为 < 200 PFU/克= $\log_{10}$ 为 2.3。

结果见图 7。与 MEDI-524 相比, 用 MEDI-524 TM 处理具有降低 RSV 病毒效价的显著功效。

实施例 6: 棉鼠预防

为了确定经静脉内(IV)途径给药时, 本文所述的任何一种抗体或其片段治疗棉鼠呼吸道 RSV 感染的能力, 将所述抗体或其片段的血清浓度与肺 RSV 效价降低相关联。以下实施例使用 SYNAGIS®, 但可应用于本文所述的任何抗体或其片段。

材料和方法

SYNAGIS®批号 L94H048 用于研究 III-47 和 III-47A。SYNAGIS®批号 L95 K016 用于研究 III-58。牛血清白蛋白(BSA) (组分 V, 西格玛化学品公司(Sigma Chemicals))。在 Hep-2 细胞中增殖 RSV-Long (A 亚型)。

在第 0 天, 通过肌肉内注射向棉鼠(*Sigmodon hispidis*, 平均体重 100 g)小组给予 SYNAGIS®、RSV-IGIV 或 BSA。给药后 24 小时, 对动物采血, 并用 10^5 pfu RSV 鼻内感染。24 小时后, 对动物采血, 并用 10^5 PFU 或 RSV(Long 毒株)鼻内感染。感染后 4 天, 处死动物, 收集其肺组织, 通过空斑滴定确定肺病毒效价。在研究 III-47 和 III-47A 中, 单克隆抗体(“MAb”)的剂量由 0.31、0.63、1.25、2.5、5.5 和 10 mg/kg (体重)组成。在研究 III-58 中, MAb 的剂量由 0.63、1.25、2.5、5.5 和 10 mg/kg (体重)组成。在所有三项研究中, 牛血清白蛋白(BSA) 10 mg/kg 用作阴性对照。用夹心 ELISA 测定刺激时血清中的人抗体浓度。

结果

单个实验的结果见表 2-5。所有实验的结果总结于表 5。所有三项研究都证明, 用 SYNAGIS®治疗的动物肺病毒效价显著降低。在动物中观察到明显的剂量反应效应。组合的数据表明, 2.5 mg/kg 的剂量导致肺 RSV 效价降低 99% 以上。此剂量下, 病毒刺激时 SYNAGIS®的平均血清浓度为 28.6 mg/ml。

表 2.实验 III-47

化合物	动物数量	剂量	人 IgG 浓度的平均值±标准误 (mg/ml)	肺病毒效价 几何平均值±标准误 (log10 pfu/gm)
BSA	4		0	$1.4 \times 10^{5 \pm 1.7}$
SYNAGIS®	3	0.312mg/kg	3.83 ± 1.1	$2.1 \times 10^{4 \pm 2.1}$
SYNAGIS®	3	0.625mg/kg	5.27 ± 0.37	$7.7 \times 10^{4 \pm 1.6}$
SYNAGIS®	4	1.25mg/kg	9.15 ± 0.16	$3.4 \times 10^{4 \pm 1.3}$
SYNAGIS®	3	2.50mg/kg	23.4 ± 2.8	$1.4 \times 10^{3 \pm 1.7}$
SYNAGIS®	2	5.0mg/kg	42.4 ± 13.4	$4.6 \times 10^{2 \pm 4.6}$
SYNAGIS®	4	10.0mg/kg	141.1 ± 14.4	$1.0 \times 10^{2 \pm 1.0}$

表 3.实验 III-47A

化合物	动物数量	剂量	人 IgG 浓度的平均值±标准误 (mg/ml)	肺病毒效价 几何平均值±标准误 (log10 pfu/gm)
BSA	4		0	$1.9 \times 10^{5 \pm 1.2}$
SYNAGIS®	4	0.312mg/kg	1.8 ± 0.12	$8.5 \times 10^{4 \pm 1.2}$
SYNAGIS®	4	0.625mg/kg	4.0 ± 0.19	$5.0 \times 10^{4 \pm 1.6}$
SYNAGIS®	4	1.25mg/kg	11.8 ± 0.68	$1.9 \times 10^{3 \pm 1.4}$
SYNAGIS®	4	2.50mg/kg	18.9 ± 2.0	$5.3 \times 10^{3 \pm 1.6}$
SYNAGIS®	3	5.0mg/kg	55.6 ± 2.3	$1.6 \times 10^{2 \pm 1.3}$
SYNAGIS®	4	10.0mg/kg	109.7 ± 5.22	$1.0 \times 10^{2 \pm 1.0}$

表 4.实验 III-58

化合物	动物数量	剂量	人 IgG 浓度的平均值±标准误 (mg/ml)	肺病毒效价 几何平均值±标准误 (log10 pfu/gm)
BSA	4		0	$1.1 \times 10^{5 \pm 1.2}$
SYNAGIS®	4	0.625mg/kg	5.78 ± 0.32	$1.6 \times 10^{4 \pm 1.2}$
SYNAGIS®	4	1.25mg/kg	9.82 ± 0.23	$1.6 \times 10^{3 \pm 1.3}$
SYNAGIS®	4	2.50mg/kg	34.1 ± 2.11	$4.3 \times 10^{2 \pm 1.6}$
SYNAGIS®	3	5.0mg/kg	58.3 ± 4.48	$1.0 \times 10^{2 \pm 1.0}$
SYNAGIS®	4	10.0mg/kg	111.5 ± 5.04	$1.0 \times 10^{2 \pm 1.0}$

表 5.III-47、III-47A 和 III-58 小结

化合物	动物数量	剂量	人 IgG 浓度的平均值±标准误 (mg/ml)	肺病毒效价 几何平均值±标准误 (log10 pfu/gm)
BSA	18		0	$1.3 \times 10^{5 \pm 1.2}$
SYNAGIS®	7	0.312mg/kg	2.67 ± 0.60	$4.6 \times 10^{4 \pm 1.5}$
SYNAGIS®	17	0.625mg/kg	5.27 ± 0.27	$2.7 \times 10^{4 \pm 1.3}$
SYNAGIS®	18	1.25mg/kg	10.1 ± 0.29	$3.3 \times 10^{3 \pm 1.4}$
SYNAGIS®	17	2.50mg/kg	28.6 ± 2.15	$9.6 \times 10^{2 \pm 1.5}$
SYNAGIS®	15	5.0mg/kg	55.6 ± 3.43	$1.3 \times 10^{2 \pm 1.2}$
SYNAGIS®	18	10.0mg/kg	117.6 ± 5.09	$1.0 \times 10^{2 \pm 1.0}$

实施例 7：用莫维珠单抗(MEDI-524)处理感染 RSV 的 A549 细胞后测定 PD-L1 表达

在第 1 天，向 3 块 12 孔板中接种 A549 细胞 P15，密度为 4×10^5 个细胞/孔。在第 3 天，用 RSV A 以感染复数(MOI) 1.0 感染 A549 细胞。感染 1 小时后，向适当孔中加入 10 ug/ml 的对照无关抗体 MEDI-507(50706F-0016, 10.2 mg/ml)或实验抗体 MEDI-524(52405G-0964, 10.2 mg/ml)。感染 6 小时和 12 小时后，将 MEDI-507 或 MEDI-524 抗体加入适当孔中。

感染 48 小时后，A549 细胞(计数约 500,000)用 PD-L1 PE(电子生物科学公司(eBioscience)®，目录号 12-5983-71)染色。用 LSR II 绿获取细胞(20,000 事件/样品)。对结果定量并作图(见图 8)。

实施例 8：用莫维珠单抗(MEDI-524)处理感染 RSV 的 A549 细胞后测定 ICAM-1 表达

在第 1 天，向 2 块 12 孔板中接种 2 毫升 A549 细胞 P14，密度为 3×10^5 个细胞/孔。在第 3 天，用 RSV A(1×10^8 pfu/ml)以 MOI 1.0 感染铺满的 A549 细胞。

RSV 感染后 1 小时、6 小时和 12 小时，向适当孔中加入 10 ug/ml 的对照无关抗体 MEDI-507(50706F-0016；批号 06AZ03, 10.2 mg/ml)和实验抗体莫维珠单抗或 MEDI-524(批号 05M02-76，罐装日期 05 年 12 月 2 日，102 mg/ml)。培育培养物 48 小时。

培育期后，感染的 A549 细胞(细胞数约 500,000)用 ICAM-1 APC(目录号 559771, BD®)染色。用 LSR II 绿获取细胞(50,000 事件/样品)。对结果定量并作图(见图 9)。

实施例 9：用莫维珠单抗(MEDI-524)处理感染 RSV 的 A549 细胞后测定细胞凋亡

在第 1 天，向 2 块 12 孔板中接种 2 毫升 A549 细胞 P26，密度为 3.5×10^5 个细胞/孔。在第 3 天，用 RSV A 以 MOI 1.0 感染铺满的 A549 细胞。

RSV 感染后 1 小时、6 小时和 12 小时，向适当孔中加入 10 ug/ml 的莫维珠单抗或 MEDI-524(批号 05M02-76，罐装日期 05 年 12 月 2 日，102 mg/ml)。培育细胞培养物 72 小时。

解离贴壁细胞，并与漂浮的细胞汇集在一起，离心沉淀，并重悬于 1 ml 培养基中($\sim 1 \times 10^6$ 个细胞)。将 100 μ l 约 20,000 个细胞加入 96 孔板各孔中(孔壁白色、底部透明)。

向适当孔中加入细胞效价-glo 测定(目录号 G7571, 发光细胞活力试剂盒, 普洛麦格(Promega)®)和胱冬酶-glo 3/7 测定(目录号 G8091, 普洛麦格®)试剂(100 微升/孔)。

在室温下避光培育 1 小时。用 SpectraMax M5 酶标仪(分子设备公司(Molecular Devices®))测定发光读数。对结果定量并作图(见图 10)。

实施例 10: 用莫维珠单抗(MEDI-524)处理感染 RSV 的 A549 细胞后测定漂浮细胞%

在第 1 天, 向 2 块 12 孔板中接种 2 毫升 A549 细胞 P26, 密度为 3.5×10^5 个细胞/孔。在第 3 天, 用 RSV A 以 MOI 1.0 感染铺满的 A549 细胞。

RSV 感染后 1 小时、6 小时和 12 小时, 向适当孔中加入 10 μ g/ml 的莫维珠单抗或 MEDI-524(批号 05M02-76, 罐装日期 05 年 12 月 2 日, 102 mg/ml)。培育细胞培养物 72 小时。

收集细胞培养物上清中漂浮的细胞并计数。解离贴壁细胞并单独计数, 如下所示:

$$\% \text{漂浮细胞} = (\text{漂浮细胞数} / \text{总细胞数}) \times 100$$

(总细胞数 = 漂浮细胞数 + 贴壁细胞数)。对结果定量并作图(见图 11)。

实施例 11: 用莫维珠单抗(MEDI-524)处理感染 RSV 的 HEp-2 和 A549 细胞后测定细胞培养物上清液中的 RSV 释放

如上述实施例 10 所述收集 A549 细胞的细胞培养物上清液, 对 HEp-2 细胞进行重复, 分析该上清液以定量测定释放到上清液中的 RSV, 以便衡量细胞培养物中存在的存活 RSV 复制情况。结果见图 12。

实施例 12: 原代肺上皮细胞气液界面体系

这种设计的实验将密切模拟肺上皮细胞在气液界面(ALI)上的极性。参见 Zhang 等, 人气道上皮细胞的呼吸道合胞病毒感染是极化的、对纤毛细胞特异的和没有显著细胞病变的(*Respiratory Syncytial Virus infection of human airway epithelial cells is polarized, specific to ciliated cells and without obvious*

cytopathology), J Virol Vol 76: 5654-5666, (2002)和 Mellow 等, RSV 对分化的气道上皮释放趋化因子的影响(*The Effect of RSV on chemokine release by differentiated airway epithelium*), Expt. Lung Research 30: 43-57, (2004)。

在多孔板中,用实验室毒株 RSV A 或获自患者临床分离物的 RSV 以感染复数(MOI)1.0、0.1 和 0.01 感染在气液界面(ALI)上培养和维持的原代肺上皮细胞,并在 RSV 感染后 6-12 小时、24 小时和 48 小时分别加入莫维珠单抗(MEDI-524)。将这些培养物分别孵育 24-48 小时、48-72 小时和 72-96 小时。按照本文所述的方法评估 RSV 复制、细胞因子分泌(蛋白质)和细胞因子基因表达(IL-6、IL-8、TNF- α 、MIP-1 α 和 RANTES)、细胞表面免疫标记物(PD-L1、ICAM-1、TLR4)和细胞凋亡。将此种实验设计与预防方案作比较,在预防方案中用莫维珠单抗(MEDI-524)在感染前约 1 小时预先处理在 ALI 中培养的原代肺上皮细胞。然后,用实验室 RSV A 或获自患者临床分离物的 RSV 感染所述上皮细胞。将所得的预防效果与上述治疗应用作比较。

实施例 13:临床试验

可进一步研究经体外试验和动物模型检测的本发明抗体或其片段在正常健康成年志愿者中的安全性、耐受性和药代动力学特性。志愿者通过肌肉内途径、静脉内途径或经肺递送系统给予单个剂量的 0.5 mg/kg、3 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg 或 15 mg/kg 免疫学特异性结合 RSV 抗原的抗体或其片段。每名志愿者在接受单个剂量的抗体或其片段之前至少监测 24 小时,每名志愿者在临床研究地点接受该剂量后至少监测 48 小时。然后,在给药后第 3、7、14、21、28、35、42、49 和 56 天,志愿者作为门诊患者进行监测。

通过留置导管或直接静脉穿刺,用 10 ml 红盖真空采血管以以下间隔采集血样:(1)给予该剂量的抗体或抗体片段之前;(2)给予该剂量的抗体或抗体片段期间;(3)给予该剂量的抗体或抗体片段之后 5 分钟、10 分钟、15 分钟、20 分钟、30 分钟、1 小时、2 小时、4 小时、8 小时、12 小时、24 小时和 48 小时;和(4)给予该剂量的抗体或抗体片段之后 3 天、7 天、14 天、21 天、28 天、35 天、42 天、49 天和 56 天。使样品在室温下凝集,通过离心收集血清。

由血清样品部分纯化该抗体或其片段,并通过 ELISA 定量测定样品中该抗体或其片段的含量。简要说,ELISA 包括在 4℃用识别给予志愿者的抗体或

其片段的抗体包被微量滴定板过夜。然后，用 PBS-吐温-0.5% BSA 在室温下封闭该平板约 30 分钟。用未给予志愿者的纯化抗体或抗体片段构建标准曲线。用 PBS-吐温-BSA 稀释样品。样品和标准品在室温下培育约 1 小时。接下来，在室温下用标记抗体(如辣根过氧化物酶偶联的山羊抗人 IgG)处理结合的抗体约 1 小时。通过，例如，分光光度法测定标记抗体的结合。

用给予该剂量后每个收集间隔获得的血清水平减去给药前的血清水平(背景水平)，以校正志愿者血清中抗体或抗体片段的浓度。按照模型依赖性方法(Gibaldi 等编，1982，《药代动力学》(Pharmacokinetics)，第 2 版，纽约 MD 公司(Marcel Dekker, New York))，由校正的抗体或抗体片段的血清浓度计算每名志愿者的药代动力学参数。

7. 等同形式

本领域技术人员应了解或能够确定，只使用常规实验即可获得本文所述的本发明具体实施方式的许多等同形式。这类等同形式应包含在所附权利要求书的范围内。

将本说明书中提及的所有发表物、专利和专利申请纳入本说明书作参考，如同专门和单独将各篇发表物、专利或专利申请纳入本文作参考的程度一样。

-
- <110> S. 克里希南(Krishnan, Subramaniam)
<110> B. 里克特(Richter, Bettina)
<110> J. 叙齐(Suzich, JoAnn)
<110> K. 基纳(Kiener, Peter)
<110> G. 洛松斯(Losonsky, Genevieve)
<110> H. 吴(Wu, Herren)
<110> W. 达拉夸(Dall'Acqua, William)
<120> 治疗 RSV 感染和相关病症的方法
<130> RS213PCT
<140> 米迪缪尼有限公司(MedImmune, LLC)
<141> 2008 年 6 月 25 日(同此)

<150> 60/946,271
<151> 2007-06-26

<150> 60/953,260
<151> 2007-08-01

<150> 61/054,927
<151> 2008-05-21

<160> 343
<170> PatentIn 3.1 版

<210> 1
<211> 7
<212> PRT
<213> 鼠

<400> 1
Thr Ser Gly Met Ser Val Gly
1 5

<210> 2
<211> 16
<212> PRT
<213> 鼠

<400> 2
Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> 鼠

<400> 3
Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> 鼠

<400> 4

Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> 鼠

<400> 5

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 鼠

<400> 6

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 7

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 7

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

<210> 8

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> misc_feature

<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 8

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

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

<210> 9
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 9
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 10
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 10
 Thr Ala Gly Met Ser Val Gly
 1 5

<210> 11
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 11

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

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

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

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 12

Ser Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 13

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 13

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

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

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

Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 14
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 14
 Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 15
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 15
 Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser
 1 5

<210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 16
 Phe Gln Phe Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 1 5

<210> 17
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 17
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 18
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 18
 Thr Pro Gly Met Ser Val Gly
 1 5

<210> 19
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 19
 Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
 1 5 10 15

<210> 20
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 20
 Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 21
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 21
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

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

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

Asp Thr Phe Tyr Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

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

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

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

<210> 22

<211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 22
 Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 23
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 23
 Asp Thr Phe Tyr Leu Ser Ser
 1 5

<210> 24
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 24
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 25
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 25
 Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
 1 5 10 15

<210> 26
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 26
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Arg Gly Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 27
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 27
 Asp Thr Arg Gly Leu Pro Ser
 1 5

<210> 28
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 结构域

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

85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 29
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 29
 Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 30
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 30
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

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

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

Asp Thr Met Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

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

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

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

<210> 31
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 31
 Ser Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 32
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 32

Asp Thr Met Arg Leu Ala Ser
1 5

<210> 33

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 33

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

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 34

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 34

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

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

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

Asp Thr Phe Lys Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 35
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 35
 Asp Thr Phe Lys Leu Ser Ser
 1 5

<210> 36
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 36
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 37
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 37
 Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
 1 5 10 15

<210> 38
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 38

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

<210> 39
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 39

Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 40
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 40

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

<210> 41
 <211> 16

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 41
Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
1 5 10 15

<210> 42
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 42
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Met Tyr Gln Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 43
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 43
Asp Thr Met Tyr Gln Ser Ser
1 5

<210> 44
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 44
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
20 25 30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

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

<210> 45
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 45
Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
1 5 10 15

<210> 46
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 46
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Met Tyr Gln Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 47
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 47

Leu Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 48
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 48
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
20 25 30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80
Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 49
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 49
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Phe Phe Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 50
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 50
Asp Thr Phe Phe Leu Asp Ser
1 5

<210> 51
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 51
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
20 25 30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80
Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 52
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 52
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Arg Tyr Gln Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr

85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 53
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列
 <400> 53
 Asp Thr Arg Tyr Gln Ser Ser
 1 5
 <210> 54
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域
 <400> 54
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 55
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人抗体 - VH 结构域
 <400> 55
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 56
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 56
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 57
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 57
Asp Thr Tyr Lys Gln Thr Ser
1 5

<210> 58
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 58
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

<210> 59
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 59
 Asp Thr Arg Tyr Leu Ser Ser
 1 5

<210> 60
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 60
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30

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

<210> 61
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 61
 Phe Gln Gly Ser Phe Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 62
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 62
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 63
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 63
 Asp Thr Phe Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 64
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 64
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80

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

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

<210> 65
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 65
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Asp Thr Phe Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 66
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 66
Asp Thr Phe Arg Leu Ala Ser
1 5

<210> 67
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 67
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser

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

<210> 68
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

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

<210> 69
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 69
 Asp Thr Tyr Arg His Ser Ser
 1 5

<210> 70
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 70
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

```

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

```

<210> 71
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

```

<400> 71
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
                20                25                30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
                35                40                45
Asp Thr Phe Phe His Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                55                60
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65                70                75                80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
                85                90                95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
    100                105

```

<210> 72
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

```

<400> 72
Ser Leu Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1           5           10

```

<210> 73
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 73

Asp Thr Phe Phe His Arg Ser
1 5

<210> 74

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 74

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

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

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

Asp Thr Leu Leu Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 75

Asp Thr Leu Leu Leu Asp Ser
1 5

<210> 76

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 76

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

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

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

Asp Thr Ser Phe Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 77

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 77

Asp Thr Ser Phe Leu Asp Ser
1 5

<210> 78

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 78

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

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 79

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 79

Asp Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 80
Lys Cys Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 81
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 81
Asp Thr Ser Tyr Leu Ala Ser
1 5

<210> 82
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 82
Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 83
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 83
Asp Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 84
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 84
Lys Cys Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 85
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 85
Asp Thr Ser Tyr Leu Ser Ser
1 5

<210> 86
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 86
Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
1 5 10 15

<210> 87
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 87
Lys Cys Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 88
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 88
Asp Thr Lys Lys Leu Ser Ser
1 5

<210> 89
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 89
Lys Leu Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 90
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 90
Asp Thr Phe Tyr Leu Ser Ser
1 5

<210> 91
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 91

Asp	Ile	Trp	Trp	Asp	Asp	Lys	Lys	His	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser
1				5					10					15	

<210> 92

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 92

Lys	Leu	Gln	Ser	Ser	Val	Gly	Tyr	Met	His
1			5					10	

<210> 93

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 93

Asp	Ile	Trp	Trp	Asp	Asp	Lys	Lys	His	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser
1				5					10					15	

<210> 94

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 94

Ser	Met	Ile	Phe	Asn	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5				10	

<210> 95

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 95

Lys	Leu	Gln	Ser	Arg	Val	Gly	Tyr	Met	His
1			5					10	

<210> 96

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 96

Asp	Thr	Phe	Lys	Leu	Ser	Ser
1			5			

<210> 97
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 97
Ser Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 98
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 98
Lys Leu Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 99
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 99
Asp Thr Phe Tyr Leu Ala Ser
1 5

<210> 100
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 100
Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 101
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 101
Lys Leu Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 102
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 102

Asp Thr Ser Lys Leu Pro Ser
1 5

<210> 103

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 103

Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
1 5 10 15

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 104

Lys Leu Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 105

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 105

Asp Thr Ser Gly Leu Ala Ser
1 5

<210> 106

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 106

Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 107

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 107

Lys Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 108

<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 108
Asp Thr Ser Gly Leu Pro Ser
1 5

<210> 109
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 109
Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 110
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 110
Lys Leu Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 111
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 111
Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
1 5 10 15

<210> 112
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 112
Lys Cys Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 113
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 113
Asp Thr Arg Lys Leu Ala Ser

1 5

<210> 114
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 114
 Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 115
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 115
 Lys Cys Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 116
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 116
 Asp Thr Arg Gly Leu Ala Ser
 1 5

<210> 117
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 117
 Lys Cys Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 118
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 118
 Asp Thr Arg Lys Leu Pro Ser
 1 5

<210> 119
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 119

Lys Cys Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 120

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 120

Ser Leu Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 121

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 121

Asp Thr Met Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 122

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 122

Ser Leu Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 123

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 123

Asp Thr Ser Arg Leu Ala Ser
1 5

<210> 124

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 124

Asp Thr Ser Leu Leu Ala Ser
1 5

<210> 125

<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 125

Ser Leu Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 126

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 126

Asp Thr Ser Leu Leu Asp Ser
1 5

<210> 127

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 127

Ser Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 128

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 128

Asp Thr Ser Lys Leu Asp Ser
1 5

<210> 129

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 129

Ser Cys Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 130

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 130

Ser Cys Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His

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

<210> 131
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

 <400> 131
 Asp Thr Leu Lys Leu Asp Ser
 1 5

<210> 132
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

 <400> 132
 Ser Cys Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 133
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

 <400> 133
 Asp Thr Leu Leu Ala Ser
 1 5

<210> 134
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

 <400> 134
 Ser Leu Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 135
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

 <400> 135
 Asp Thr Leu Lys Leu Ala Ser
 1 5

<210> 136
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 136
Ser Leu Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 137
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 137
Asp Thr Ser Lys Leu Ser Ser
1 5

<210> 138
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 138
Ser Leu Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 139
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 139
Asp Thr Ser Lys Gln Ala Ser
1 5

<210> 140
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 140
Ser Leu Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 141
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 141
Asp Thr Ser Lys Gln Ser Ser
1 5

<210> 142
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 142
Ser Cys Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 143
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 143
Asp Thr Ser Tyr Leu Ala Ser
1 5

<210> 144
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 144
Ser Cys Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 145
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 145
Asp Thr Ser Tyr Leu Ser Ser
1 5

<210> 146
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 146
Ser Cys Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 147
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 147
Asp Thr Ser Tyr Gln Ala Ser

1 5

<210> 148
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 148
Ser Cys Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 149
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 149
Asp Thr Ser Tyr Gln Ser Ser
1 5

<210> 150
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 150
Lys Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 151
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 151
Asp Thr Met Tyr Gln Ala Ser
1 5

<210> 152
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 152
Lys Pro Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 153
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 153

Lys Pro Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 154

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 154

Asp Thr Met Lys Gln Ala Ser
1 5

<210> 155

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 155

Lys Pro Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 156

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 156

Asp Thr Met Lys Gln Ser Ser
1 5

<210> 157

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 157

Lys Pro Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 158

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 158

Asp Thr Met Tyr Leu Ala Ser
1 5

<210> 159

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 159
Lys Pro Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 160
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 160
Asp Thr Met Tyr Leu Ser Ser
1 5

<210> 161
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 161
Lys Pro Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 162
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 162
Asp Thr Met Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 163
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 163
Lys Pro Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 164
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 164

Asp Thr Met Lys Leu Ser Ser
1 5

<210> 165
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 165
Asp Thr Ser Lys Leu Ser Ser
1 5

<210> 166
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 166
Ser Pro Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 167
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 167
Asp Thr Arg Tyr Gln Ala Ser
1 5

<210> 168
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 168
Ser Pro Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 169
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 169
Ser Pro Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 170
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 170
Asp Thr Arg Tyr Gln Ala Ser
1 5

<210> 171
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 171
Ser Pro Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 172
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 172
Asp Thr Arg Lys Gln Ser Ser
1 5

<210> 173
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 173
Ser Pro Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 174
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 174
Asp Thr Arg Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 175
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 175
Asp Thr Arg Lys Leu Ser Ser
1 5

<210> 176
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 176
Ser Pro Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 177
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 177
Ser Pro Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 178
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 178
Asp Thr Arg Tyr Leu Ala Ser
1 5

<210> 179
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 179
Lys Ala Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 180
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 180
Lys Ala Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 181
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 181
Lys Ala Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 182
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 182
Lys Ala Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 183
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 183
Lys Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 184
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 184
Lys Ala Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 185
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 185
Lys Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 186
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 186
Lys Ala Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 187
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 187

Ser Ala Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 188

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 188

Ser Ala Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 189

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 189

Ser Ala Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 190

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 190

Ser Ala Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 191

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 191

Ser Ala Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 192

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 192

Leu Pro Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His

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

<210> 193
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 193
Leu Pro Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 194
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 194
Leu Pro Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 195
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 195
Leu Cys Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 196
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 196
Leu Cys Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 197
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 197
Leu Cys Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 198
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 198

Leu	Cys	Ser	Leu	Arg	Val	Gly	Tyr	Met	His
1			5					10	

<210> 199

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 199

Leu	Pro	Gln	Ser	Arg	Val	Gly	Tyr	Met	His
1			5					10	

<210> 200

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 200

Leu	Pro	Gln	Leu	Ser	Val	Gly	Tyr	Met	His
1			5					10	

<210> 201

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 201

Leu	Pro	Gln	Ser	Ser	Val	Gly	Tyr	Met	His
1			5					10	

<210> 202

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 202

Leu	Pro	Gln	Leu	Arg	Val	Gly	Tyr	Met	His
1			5					10	

<210> 203

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 203

Leu	Cys	Gln	Ser	Arg	Val	Gly	Tyr	Met	His
1			5					10	

<210> 204
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 204
 Leu Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 205
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 205
 Leu Cys Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 206
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 206
 Leu Cys Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 207
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 207
 Ser Ala Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 208
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 链

<400> 208
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

 Gly Lys
 450

 <210> 209
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 人抗体 - VL 链

 <400> 209
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30

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

 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

 <210> 210
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 人抗体 - VH 链

 <400> 210

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

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

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

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

Gly Lys
450

<210> 211

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 链

<400> 211

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

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

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

Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 212
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 链

<400> 212
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450

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

<220>
 <223> 人抗体 - VL 链

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 214
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VH 链

<400> 214
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro
20 25 30

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

	245		250		255
Ser Arg Thr	Pro Glu Val Thr Cys	Val Val Val Asp Val	Ser His Glu		
	260	265	270		
Asp Pro Glu	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly	Val Glu Val His			
	275	280	285		
Asn Ala Lys	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg				
	290	295	300		
Val Val Ser	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys				
305	310	315	320		
Glu Tyr Lys	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu				
	325	330	335		
Lys Thr Ile	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr				
	340	345	350		
Thr Leu Pro	Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu				
	355	360	365		
Thr Cys Leu	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp				
	370	375	380		
Glu Ser Asn	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val				
385	390	395	400		
Leu Asp Ser	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp				
	405	410	415		
Lys Ser Arg	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His				
	420	425	430		
Glu Ala Leu	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro				
	435	440	445		
Gly Lys					
450					
<210>	215				
<211>	213				
<212>	PRT				
<213>	人工序列				
<220>					
<223>	人抗体 - VL 链				
<400>	215				
Asp Ile Gln	Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly				
1	5	10	15		
Asp Arg Val	Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met				
	20	25	30		
His Trp Tyr	Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr				
	35	40	45		
Asp Thr Arg	Gly Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser				
	50	55	60		
Gly Ser Gly	Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp				
65	70	75	80		
Asp Phe Ala	Thr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr				
	85	90	95		

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 216

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 链

<400> 216

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro
20 25 30

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

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

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

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

Gly Lys
450

<210> 217

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 链

<400> 217

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

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

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

```

      35              40              45
Asp Thr Met Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50              55              60
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65              70              75              80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
      85              90              95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
      100              105              110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
      115              120              125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
      130              135              140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
      145              150              155              160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
      165              170              175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
      180              185              190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
      195              200              205
Asn Arg Gly Glu Cys
      210
<210> 218
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人抗体 - VH 链
<400> 218
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1              5              10              15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
      20              25              30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
      35              40              45
Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
      50              55              60
Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
      65              70              75              80
Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
      85              90              95
Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
      100              105              110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
      115              120              125

```

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 219
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 链

<400> 219

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

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

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

Asp Thr Phe Lys Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 220

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 链

<400> 220

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

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

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

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

Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

65		70		75		80
Val Leu Lys Val	Thr Asn Met Asp Pro	Ala Asp Thr Ala Thr	Tyr Tyr			
	85	90	95			
Cys Ala Arg Asp	Met Ile Phe Asn Phe	Tyr Phe Asp Val Trp	Gly Gln			
	100	105	110			
Gly Thr Thr Val	Thr Val Ser Ser	Ala Ser Thr Lys	Gly Pro Ser Val			
	115	120	125			
Phe Pro Leu Ala	Pro Ser Ser Lys	Ser Thr Ser Gly	Gly Thr Ala Ala			
	130	135	140			
Leu Gly Cys Leu	Val Lys Asp Tyr Phe	Pro Glu Pro Val	Thr Val Ser			
	145	150	155	160		
Trp Asn Ser Gly	Ala Leu Thr Ser	Gly Val His Thr	Phe Pro Ala Val			
	165	170	175			
Leu Gln Ser Ser	Gly Leu Tyr Ser	Leu Ser Ser Val	Val Thr Val Pro			
	180	185	190			
Ser Ser Ser Leu	Gly Thr Gln Thr	Tyr Ile Cys Asn	Val Asn His Lys			
	195	200	205			
Pro Ser Asn Thr	Lys Val Asp Lys	Arg Val Glu Pro	Lys Ser Cys Asp			
	210	215	220			
Lys Thr His Thr	Cys Pro Pro Cys	Pro Ala Pro Glu	Leu Leu Gly Gly			
	225	230	235	240		
Pro Ser Val Phe	Leu Phe Pro Pro	Lys Pro Lys Asp	Thr Leu Met Ile			
	245	250	255			
Ser Arg Thr Pro	Glu Val Thr Cys	Val Val Asp Val	Ser His Glu			
	260	265	270			
Asp Pro Glu Val	Lys Phe Asn Trp	Tyr Val Asp Gly	Val Glu Val His			
	275	280	285			
Asn Ala Lys Thr	Lys Pro Arg Glu	Glu Gln Tyr Asn	Ser Thr Tyr Arg			
	290	295	300			
Val Val Ser Val	Leu Thr Val Leu	His Gln Asp Trp	Leu Asn Gly Lys			
	305	310	315	320		
Glu Tyr Lys Cys	Lys Val Ser Asn	Lys Ala Leu Pro	Ala Pro Ile Glu			
	325	330	335			
Lys Thr Ile Ser	Lys Ala Lys Gly	Gln Pro Arg Glu	Pro Gln Val Tyr			
	340	345	350			
Thr Leu Pro Pro	Ser Arg Glu Glu	Met Thr Lys Asn	Gln Val Ser Leu			
	355	360	365			
Thr Cys Leu Val	Lys Gly Phe Tyr	Pro Ser Asp Ile	Ala Val Glu Trp			
	370	375	380			
Glu Ser Asn Gly	Gln Pro Glu Asn	Asn Tyr Lys Thr	Thr Pro Pro Val			
	385	390	395	400		
Leu Asp Ser Asp	Gly Ser Phe Phe	Leu Tyr Ser Lys	Leu Thr Val Asp			
	405	410	415			
Lys Ser Arg Trp	Gln Gln Gly Asn	Val Phe Ser Cys	Ser Val Met His			
	420	425	430			

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

Gly Lys
 450

<210> 221
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 链

<400> 221
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

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

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

Asp Thr Phe Lys Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 222
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 链

<400> 222
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

 Gly Lys
 450

 <210> 223
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 人抗体 - VL 链

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

 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 224
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 链

<400> 224
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450

<210> 225
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 链

<400> 225
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Met Tyr Gln Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 226

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 链

<400> 226

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

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		
260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg		
290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
305	310	315
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
385	390	395
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	445
Gly Lys		
450		
<210> 227		
<211> 213		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人抗体 - VL 链		
<400> 227		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met		
20	25	30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr		
35	40	45
Asp Thr Phe Phe Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser		
50	55	60
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp		
65	70	75
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr		
85	90	95

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 228
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VH 链

<400> 228
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly Lys
450

<210> 229
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 链

<400> 229
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

```

      35              40              45
Asp Thr Arg Tyr Gln Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
  50              55              60
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
  65              70              75
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
      85              90              95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
      100             105             110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
      115             120             125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
      130             135             140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
      145             150             155
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
      165             170             175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
      180             185             190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
      195             200             205
Asn Arg Gly Glu Cys
      210
<210> 230
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人抗体 - VH 链
<400> 230
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
  1              5              10              15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
      20              25              30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
      35              40              45
Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
      50              55              60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
      65              70              75              80
Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
      85              90              95
Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
      100             105             110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
      115             120             125

```

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450

<210> 231
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 链

<400> 231

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

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

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

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 232

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 链

<400> 232

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

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

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

Gly Lys
450

<210> 233
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VL 链

<400> 233
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 234
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VH 链

<400> 234
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln

1	5	10	15
Thr Leu Thr	Leu Thr Cys Thr Phe	Ser Gly Phe Ser	Leu Ser Thr Ala
	20	25	30
Gly Met Ser	Val Gly Trp Ile Arg	Gln Pro Pro Gly	Lys Ala Leu Glu
	35	40	45
Trp Leu Ala	Asp Ile Trp Trp Asp	Asp Lys Lys Asp	Tyr Asn Pro Ser
	50	55	60
Leu Lys Ser	Arg Leu Thr Ile Ser	Lys Asp Thr Ser	Lys Asn Gln Val
	65	70	75
Val Leu Lys	Val Thr Asn Met Asp	Pro Ala Asp Thr	Ala Thr Tyr Tyr
	85	90	95
Cys Ala Arg	Asp Met Ile Phe Asn	Trp Tyr Phe Asp	Val Trp Gly Gln
	100	105	110
Gly Thr Thr	Val Thr Val Ser Ser	Ala Ser Thr Lys	Gly Pro Ser Val
	115	120	125
Phe Pro Leu	Ala Pro Ser Ser Lys	Ser Thr Ser Gly	Gly Thr Ala Ala
	130	135	140
Leu Gly Cys	Leu Val Lys Asp Tyr	Phe Pro Glu Pro	Val Thr Val Ser
	145	150	155
Trp Asn Ser	Gly Ala Leu Thr Ser	Gly Val His Thr	Phe Pro Ala Val
	165	170	175
Leu Gln Ser	Ser Gly Leu Tyr Ser	Leu Ser Ser Val	Val Thr Val Pro
	180	185	190
Ser Ser Ser	Leu Gly Thr Gln Thr	Tyr Ile Cys Asn	Val Asn His Lys
	195	200	205
Pro Ser Asn	Thr Lys Val Asp Lys	Arg Val Glu Pro	Lys Ser Cys Asp
	210	215	220
Lys Thr His	Thr Cys Pro Pro Cys	Pro Ala Pro Glu	Leu Leu Gly Gly
	225	230	235
Pro Ser Val	Phe Leu Phe Pro Pro	Lys Pro Lys Asp	Thr Leu Met Ile
	245	250	255
Ser Arg Thr	Pro Glu Val Thr Cys	Val Val Val Asp	Val Ser His Glu
	260	265	270
Asp Pro Glu	Val Lys Phe Asn Trp	Tyr Val Asp Gly	Val Glu Val His
	275	280	285
Asn Ala Lys	Thr Lys Pro Arg Glu	Glu Gln Tyr Asn	Ser Thr Tyr Arg
	290	295	300
Val Val Ser	Val Leu Thr Val Leu	His Gln Asp Trp	Leu Asn Gly Lys
	305	310	315
Glu Tyr Lys	Cys Lys Val Ser Asn	Lys Ala Leu Pro	Ala Pro Ile Glu
	325	330	335
Lys Thr Ile	Ser Lys Ala Lys Gly	Gln Pro Arg Glu	Pro Gln Val Tyr
	340	345	350
Thr Leu Pro	Pro Ser Arg Glu Glu	Met Thr Lys Asn	Gln Val Ser Leu
	355	360	365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

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

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

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

Gly Lys
450

<210> 235

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 链

<400> 235

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

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

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

Asp Thr Tyr Lys Gln Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 236
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 链

<400> 236
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 237
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人抗体 - VL 链
 <400> 237
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Arg Tyr Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 238
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VH 链

<400> 238
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 239
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人抗体 - VL 链
 <400> 239
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro

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

<210> 240
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 链

<400> 240
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
20 25 30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80
Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[illegible]

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

<210> 242
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 链

<400> 242
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450

<210> 243
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 链

<400> 243

```

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

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

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

Asp Thr Phe Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
          50           55           60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
          210

```

<210> 244

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 链

<400> 244

```

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

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
          50           55           60

```

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

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

Gly Lys
450

<210> 245
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VL 链

<400> 245
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 246
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VH 链

<400> 246
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln

1	5	10	15
Thr Leu Thr	Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala		
	20	25	30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu			
	35	40	45
Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser			
	50	55	60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val			
	65	70	75
Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr			
	85	90	95
Cys Ala Arg Asp Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln			
	100	105	110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val			
	115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala			
	130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
	145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
	165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
	180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys			
	195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp			
	210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly			
	225	230	235
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
	245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
	260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His			
	275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg			
	290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
	305	310	315
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu			
	325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
	340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
	355	360	365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

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

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

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

Gly Lys
450

<210> 247

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 链

<400> 247

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

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

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

Asp Thr Phe Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 248
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 链

<400> 248
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450

<210> 249
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 链

<400> 249
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Tyr Arg His Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 250

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 链

<400> 250

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

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

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

<210> 251
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 链

<400> 251
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Phe His Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95

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

<210> 252
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人T序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH链

<400> 252
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 253
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人抗体 - VL 链
 <400> 253
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35	40	45
Asp Thr Leu Leu Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser		
50	55	60
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp		
65	70	75
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr		
	85	90
		95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro		
	100	105
		110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr		
	115	120
		125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys		
	130	135
		140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu		
	145	150
		155
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser		
	165	170
		175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala		
	180	185
		190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe		
	195	200
		205
Asn Arg Gly Glu Cys		
210		
<210> 254		
<211> 450		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人抗体 - VH 链		
<400> 254		
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln		
1	5	10
		15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala		
	20	25
		30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu		
	35	40
		45
Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser		
	50	55
		60
Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val		
	65	70
		75
Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr		
	85	90
		95
Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln		
	100	105
		110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val		
	115	120
		125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450

<210> 255
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 链

<400> 255

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

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

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

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 256

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 链

<400> 256

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

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

65	70	75	80
Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr	85	90	95
Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln	100	105	110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val	115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala	130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser	145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val	165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro	180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys	195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp	210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly	225	230	235
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile	245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu	260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His	275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg	290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys	305	310	315
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu	325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr	340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu	355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp	370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val	385	390	395
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp	405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His	420	425	430

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

Gly Lys
 450

<210> 257
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 链

<400> 257
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Phe Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 258
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 人工序列描述: 引物

<400> 258
 agtgtcttaa ccagcaaagt gttaga

<210> 259
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列描述: 引物

<400> 259
 tcattgactt gagatattga tgcac

26

<210> 260
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 用于构建人源化抗体的接头

<400> 260
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 261
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 用于构建人源化抗体的接头

<400> 261
 Glu Ser Gly Arg Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 262
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 用于构建人源化抗体的接头

<400> 262
 Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr
 1 5 10

<210> 263
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 用于构建人源化抗体的接头

<400> 263
 Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gln
 1 5 10 15

<210> 264
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 用于构建人源化抗体的接头

<400> 264

Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Val Asp
1 5 10

<210> 265

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 用于构建人源化抗体的接头

<400> 265

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Ser Ser Glu Gly Lys Gly
1 5 10

<210> 266

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 用于构建人源化抗体的接头

<400> 266

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

Leu Asp

<210> 267

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 用于构建人源化抗体的接头

<400> 267

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

<210> 268

<211> 4

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<220>

<223> 细胞内抗体

<400> 268

Lys Asp Glu Leu
1

<210> 269

<211> 4

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<220>

<223> 细胞内抗体

<400> 269

Asp Asp Glu Leu
1

<210> 270
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 270
Asp Glu Glu Leu
1

<210> 271
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 271
Gln Glu Asp Leu
1

<210> 272
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 272
Arg Asp Glu Leu
1

<210> 273
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 273
Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val
1 5

<210> 274
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 274
Pro Gln Lys Lys Ile Lys Ser
1 5

<210> 275
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 275
Gln Pro Lys Lys Pro
1 5

<210> 276
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 276
Arg Lys Lys Arg
1

<210> 277
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 277
Lys Lys Lys Arg Lys
1 5

<210> 278
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 278
Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Ala His Gln
1 5 10

<210> 279
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 279
Arg Gln Ala Arg Arg Asn Arg Arg Arg Arg Trp Arg Glu Arg Gln Arg
1 5 10 15

<210> 280
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 280
Met Pro Leu Thr Arg Arg Arg Pro Ala Ala Ser Gln Ala Leu Ala Pro
1 5 10 15

Pro Thr Pro

<210> 281
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<220>
 <223> 细胞内抗体

<400> 281
 Met Asp Asp Gln Arg Asp Leu Ile Ser Asn Asn Glu Gln Leu Pro
 1 5 10 15

<210> 282
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<220>
 <223> 细胞内抗体

<220>
 <221> misc_feature
 <222> 7, 8, 32,
 <223> Xaa 可以是任何天然产生的氨基酸

<400> 282
 Met Leu Phe Asn Leu Arg Xaa Xaa Leu Asn Asn Ala Ala Phe Arg His
 1 5 10 15
 Gly His Asn Phe Met Val Arg Asn Phe Arg Cys Gly Gln Pro Leu Xaa
 20 25 30

<210> 283
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<220>
 <223> 细胞内抗体

<400> 283
 Ala Lys Leu
 1

<210> 284
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<220>
 <223> 细胞内抗体

<400> 284
 Ser Asp Tyr Gln Arg Leu
 1 5

<210> 285
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<220>
 <223> 细胞内抗体

<400> 285
 Gly Cys Val Cys Ser Ser Asn Pro
 1 5

<210> 286
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 286
Gly Gln Thr Val Thr Thr Pro Leu
1 5

<210> 287
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 287
Gly Gln Glu Leu Ser Gln His Glu
1 5

<210> 288
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 288
Gly Asn Ser Pro Ser Tyr Asn Pro
1 5

<210> 289
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 289
Gly Val Ser Gly Ser Lys Gly Gln
1 5

<210> 290
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 290
Gly Gln Thr Ile Thr Thr Pro Leu
1 5

<210> 291
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 291
Gly Gln Thr Leu Thr Thr Pro Leu
1 5

<210> 292
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 292
Gly Gln Ile Phe Ser Arg Ser Ala
1 5

<210> 293
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 293
Gly Gln Ile His Gly Leu Ser Pro
1 5

<210> 294
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 294
Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser
1 5

<210> 295
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 295
Gly Cys Thr Leu Ser Ala Glu Glu
1 5

<210> 296
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> 细胞内抗体

<400> 296
Ala Ala Val Ala Leu Leu Pro Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Ala Pro
1 5 10 15

<210> 297
<211> 12

<212> PRT	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<220>	
<223> 细胞内抗体	
<400> 297	
Ala Ala Val Leu Leu Pro Val Leu Leu Ala Ala Pro	
1 5 10	
<210> 298	
<211> 15	
<212> PRT	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<220>	
<223> 细胞内抗体	
<400> 298	
Val Thr Val Leu Ala Leu Gly Ala Leu Ala Gly Val Gly Val Gly	
1 5 10 15	
<210> 299	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列描述: 引物	
<400> 299	
ccagcagttac cacttccttg ccctgcgccg	30
<210> 300	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列描述: 引物	
<400> 300	
gccgcgtccc gttccttcac catgacgacc	30
<210> 301	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列描述: 引物	
<400> 301	
ccagcagttac cgcttccttg ccctgcggcc g	31
<210> 302	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列描述: 引物	
<400> 302	
gccgcgtccc gttccttcac catgacgacc	30
<210> 303	
<211> 450	

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 链

<400> 303

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Gly Asp Lys Gly His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly Lys
450

<210> 304
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 304
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Gly Asp Lys Gly His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 305
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 305

Asp Ile Trp Trp Gly Asp Lys Gly His Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
1 5 10 15

<210> 306
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VL 链

<400> 306
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Asp Thr Phe Tyr Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 307
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 307
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Asp Thr Phe Tyr Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 308

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生白鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 308

Asp Thr Phe Tyr Leu His Ser
1 5

<210> 309

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 链

<400> 309

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

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

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

165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		
180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys		
195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp		
210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly		
225	230	235
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		
260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg		
290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
305	310	315
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
385	390	395
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	445
Gly Lys		
450		
<210> 310		
<211> 120		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人抗体 - VH 结构域		
<400> 310		
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln		
1	5	10
		15

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 311

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 311

Asp Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 312

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 链

<400> 312

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

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

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

Asp Thr Tyr Tyr Gln Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

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

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

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 313
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 313
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Tyr Tyr Gln Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 314
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 314
 Leu Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 315
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 315
 Asp Thr Tyr Tyr Gln Thr Ser

1 5
 <210> 316
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 人抗体 - VH 链

 <400> 316
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450

<210> 317
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 317
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 318
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 链

<400> 318

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

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

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

Asp Thr Met Tyr Gln Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 319

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 319

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

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

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

Asp Thr Met Tyr Gln Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp

65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95

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

<210> 320
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 320
 Leu Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 321
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 321
 Asp Thr Met Tyr Gln Ala Ser
 1 5

<210> 322
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VH 链

<400> 322
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450

<210> 323

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 323

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

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 324

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 链

<400> 324

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

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

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

Asp Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala

180	185	190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly	Leu Ser Ser Pro Val	Thr Lys Ser Phe
195	200	205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 325
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 325
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Asp Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 326
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 326
Asp Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser
1 5

<210> 327
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VH 链

<400> 327
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

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

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

Gly Lys
450

<210> 328
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VH 结构域

<400> 328
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 329
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 衍生白鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 329
Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
1 5 10 15

<210> 330
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人抗体 - VL 链

<400> 330
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met

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

<210> 331
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 331
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Phe Arg His Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 332
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 332
 Asp Thr Phe Arg His Thr Ser
 1 5

<210> 333
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人抗体 - VL 链

<400> 333
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Pro Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Tyr Tyr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 334
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人抗体 - VL 结构域

<400> 334

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

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

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

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

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

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

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

<210> 335

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 335

Ser	Pro	Ser	Ser	Ser	Val	Gly	Tyr	Met	His
1				5					10

<210> 336

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 衍生自鼠单克隆抗体并经氨基酸取代进一步修饰的氨基酸序列

<400> 336

Asp	Thr	Tyr	Tyr	Leu	Ala	Ser
1				5		

<210> 337

<211> 365

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<220>

<223> 人 FcRn

<400> 337

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

Leu	Leu	Pro	Gly	Ser	Leu	Gly	Ala	Glu	Ser	His	Leu	Ser	Leu	Leu	Tyr
			20					25					30		

His	Leu	Thr	Ala	Val	Ser	Ser	Pro	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Phe	Trp
		35						40				45			

Val	Ser	Gly	Trp	Leu	Gly	Pro	Gln	Gln	Tyr	Leu	Ser	Tyr	Asn	Ser	Leu
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

50	55	60
Arg Gly Glu Ala Glu Pro Cys Gly Ala Trp Val Trp Glu Asn Gln Val 65 70 75 80		
Ser Trp Tyr Trp Glu Lys Glu Thr Thr Asp Leu Arg Ile Lys Glu Lys 85 90 95		
Leu Phe Leu Glu Ala Phe Lys Ala Leu Gly Gly Lys Gly Pro Tyr Thr 100 105 110		
Leu Gln Gly Leu Leu Gly Cys Glu Leu Gly Pro Asp Asn Thr Ser Val 115 120 125		
Pro Thr Ala Lys Phe Ala Leu Asn Gly Glu Glu Phe Met Asn Phe Asp 130 135 140		
Leu Lys Gln Gly Thr Trp Gly Gly Asp Trp Pro Glu Ala Leu Ala Ile 145 150 155 160		
Ser Gln Arg Trp Gln Gln Gln Asp Lys Ala Ala Asn Lys Glu Leu Thr 165 170 175		
Phe Leu Leu Phe Ser Cys Pro His Arg Leu Arg Glu His Leu Glu Arg 180 185 190		
Gly Arg Gly Asn Leu Glu Trp Lys Glu Pro Pro Ser Met Arg Leu Lys 195 200 205		
Ala Arg Pro Ser Ser Pro Gly Phe Ser Val Leu Thr Cys Ser Ala Phe 210 215 220		
Ser Phe Tyr Pro Pro Glu Leu Gln Leu Arg Phe Leu Arg Asn Gly Leu 225 230 235 240		
Ala Ala Gly Thr Gly Gln Gly Asp Phe Gly Pro Asn Ser Asp Gly Ser 245 250 255		
Phe His Ala Ser Ser Ser Leu Thr Val Lys Ser Gly Asp Glu His His 260 265 270		
Tyr Cys Cys Ile Val Gln His Ala Gly Leu Ala Gln Pro Leu Arg Val 275 280 285		
Glu Leu Glu Ser Pro Ala Lys Ser Ser Val Leu Val Val Gly Ile Val 290 295 300		
Ile Gly Val Leu Leu Leu Thr Ala Ala Ala Val Gly Gly Ala Leu Leu 305 310 315 320		
Trp Arg Arg Met Arg Ser Gly Leu Pro Ala Pro Trp Ile Ser Leu Arg 325 330 335		
Gly Asp Asp Thr Gly Val Leu Leu Pro Thr Pro Gly Glu Ala Gln Asp 340 345 350		
Ala Asp Leu Lys Asp Val Asn Val Ile Pro Ala Thr Ala 355 360 365		
<210> 338		
<211> 365		
<212> PRT		
<213> 鼠		
<400> 338		
Met Gly Met Pro Leu Pro Trp Ala Leu Ser Leu Leu Leu Val Leu Leu 1 5 10 15		

Pro Gln Thr Trp Gly Ser Glu Thr Arg Pro Pro Leu Met Tyr His Leu
 20 25 30
 Thr Ala Val Ser Asn Pro Ser Thr Gly Leu Pro Ser Phe Trp Ala Thr
 35 40 45
 Gly Trp Leu Gly Pro Gln Gln Tyr Leu Thr Tyr Asn Ser Leu Arg Gln
 50 55 60
 Glu Ala Asp Pro Cys Gly Ala Trp Val Trp Glu Asn Gln Val Ser Trp
 65 70 75 80
 Tyr Trp Glu Lys Glu Thr Thr Asp Leu Lys Ser Lys Glu Gln Leu Phe
 85 90 95
 Leu Glu Ala Leu Lys Thr Leu Glu Lys Ile Leu Asn Gly Thr Tyr Thr
 100 105 110
 Leu Gln Gly Leu Leu Gly Cys Glu Leu Ala Ser Asp Asn Ser Ser Val
 115 120 125
 Pro Thr Ala Val Phe Ala Leu Asn Gly Glu Glu Phe Met Lys Phe Asn
 130 135 140
 Pro Arg Ile Gly Asn Trp Thr Gly Glu Trp Pro Glu Thr Glu Ile Val
 145 150 155 160
 Ala Asn Leu Trp Met Lys Gln Pro Asp Ala Ala Arg Lys Glu Ser Glu
 165 170 175
 Phe Leu Leu Asn Ser Cys Pro Glu Arg Leu Leu Gly His Leu Glu Arg
 180 185 190
 Gly Arg Arg Asn Leu Glu Trp Lys Glu Pro Pro Ser Met Arg Leu Lys
 195 200 205
 Ala Arg Pro Gly Asn Ser Gly Ser Ser Val Leu Thr Cys Ala Ala Phe
 210 215 220
 Ser Phe Tyr Pro Pro Glu Leu Lys Phe Arg Phe Leu Arg Asn Gly Leu
 225 230 235 240
 Ala Ser Gly Ser Gly Asn Cys Ser Thr Gly Pro Asn Gly Asp Gly Ser
 245 250 255
 Phe His Ala Trp Ser Leu Leu Glu Val Lys Arg Gly Asp Glu His His
 260 265 270
 Tyr Gln Cys Gln Val Glu His Glu Gly Leu Ala Gln Pro Leu Thr Val
 275 280 285
 Asp Leu Asp Ser Ser Ala Arg Ser Ser Val Pro Val Val Gly Ile Val
 290 295 300
 Leu Gly Leu Leu Leu Val Val Val Ala Ile Ala Gly Gly Val Leu Leu
 305 310 315 320
 Trp Gly Arg Met Arg Ser Gly Leu Pro Ala Pro Trp Leu Ser Leu Ser
 325 330 335
 Gly Asp Asp Ser Gly Asp Leu Leu Pro Gly Gly Asn Leu Pro Pro Glu
 340 345 350
 Ala Glu Pro Gln Gly Ala Asn Ala Phe Pro Ala Thr Ser
 355 360 365

<210> 339

<211> 110

<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 339
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 340
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 340
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
1 5 10 15
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 341
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 341
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 342
<211> 232
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

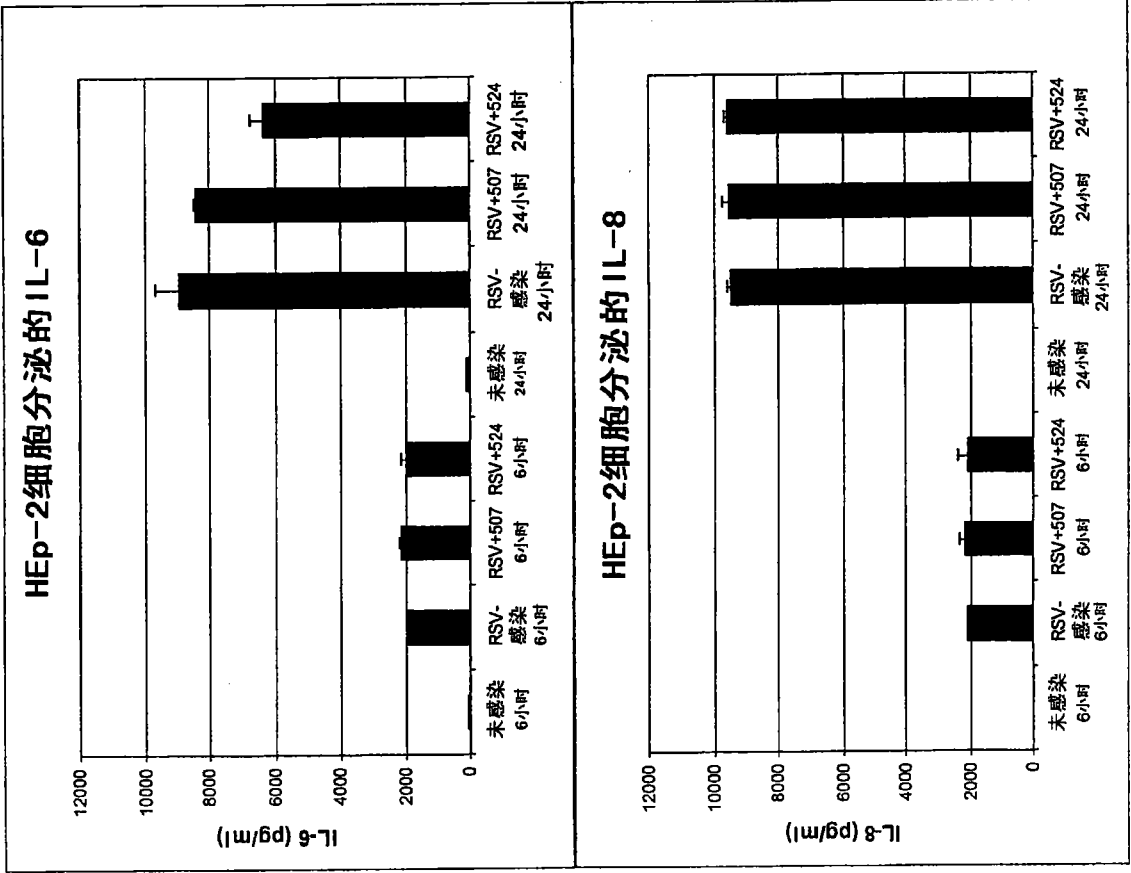
<220>
<223> 人铰链Fc区

<400> 342
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

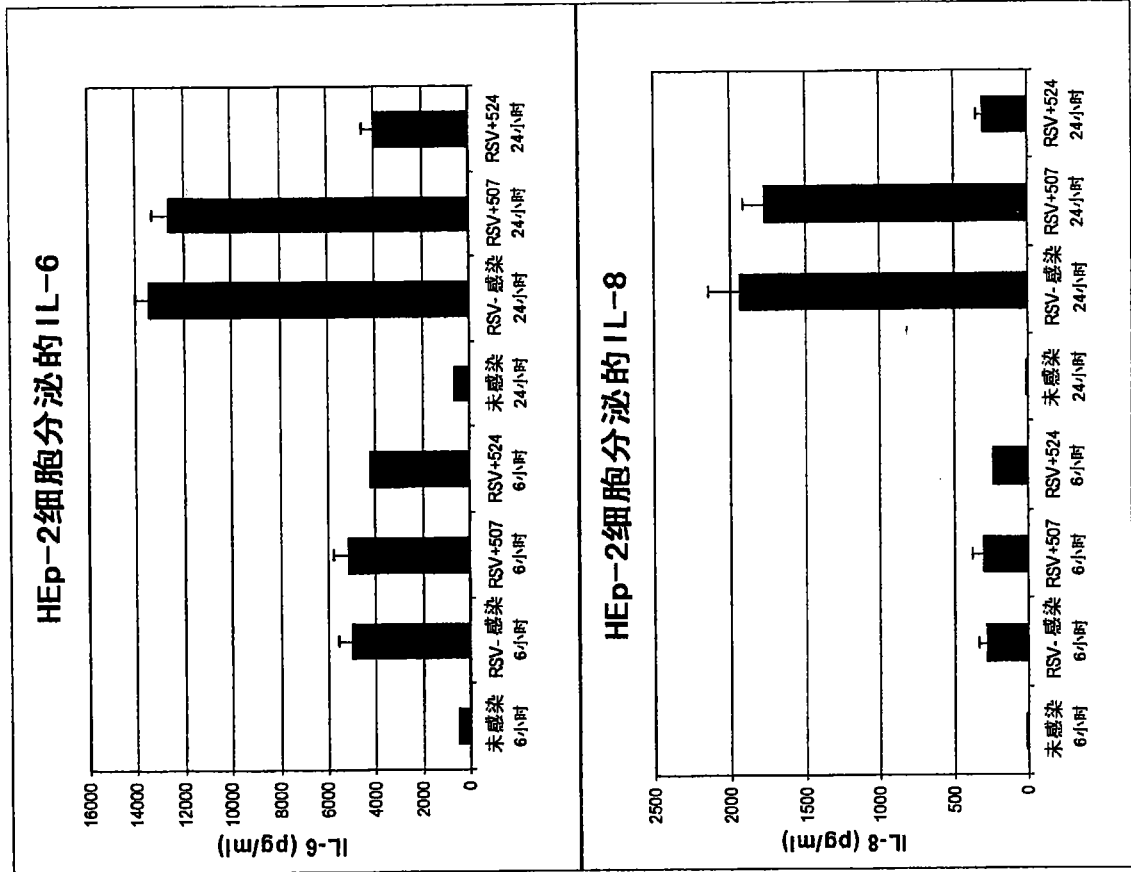
20					25					30					
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
	35						40					45			
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
	50					55					60				
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
65						70					75				80
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
			85						90					95	
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
		100						105					110		
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro
		115					120						125		
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr
	130					135					140				
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
145						150					155				160
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr
			165						170					175	
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr
			180					185					190		
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe
	195						200					205			
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys
	210					215					220				
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys								
225						230									
<210>	343														
<211>	120														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	人抗体 - VH 结构域														
<400>	343														
Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Glu	Ser	Gly	Pro	Ala	Leu	Val	Lys	Pro	Thr	Gln
1				5					10					15	
Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Cys	Thr	Phe	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Ser
			20					25					30		
Gly	Met	Ser	Val	Gly	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Ala	Leu	Glu
	35						40					45			
Trp	Leu	Ala	Asp	Ile	Trp	Trp	Asp	Asp	Lys	Lys	Asp	Tyr	Asn	Pro	Ser
	50					55					60				
Leu	Lys	Ser	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Val
65						70					75				80
Val	Leu	Lys	Val	Thr	Asn	Met	Asp	Pro	Ala	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr
				85					90					95	

Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

感染后12小时加入抗体

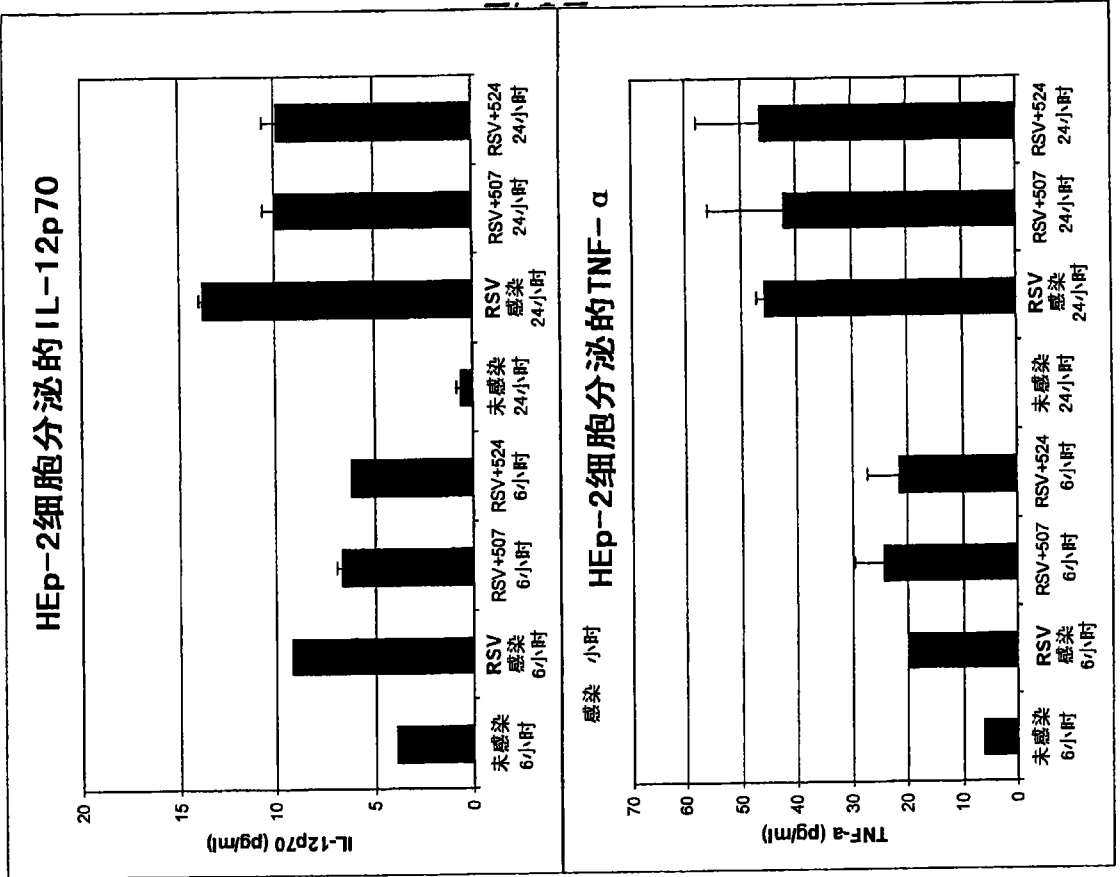


感染后1小时加入抗体

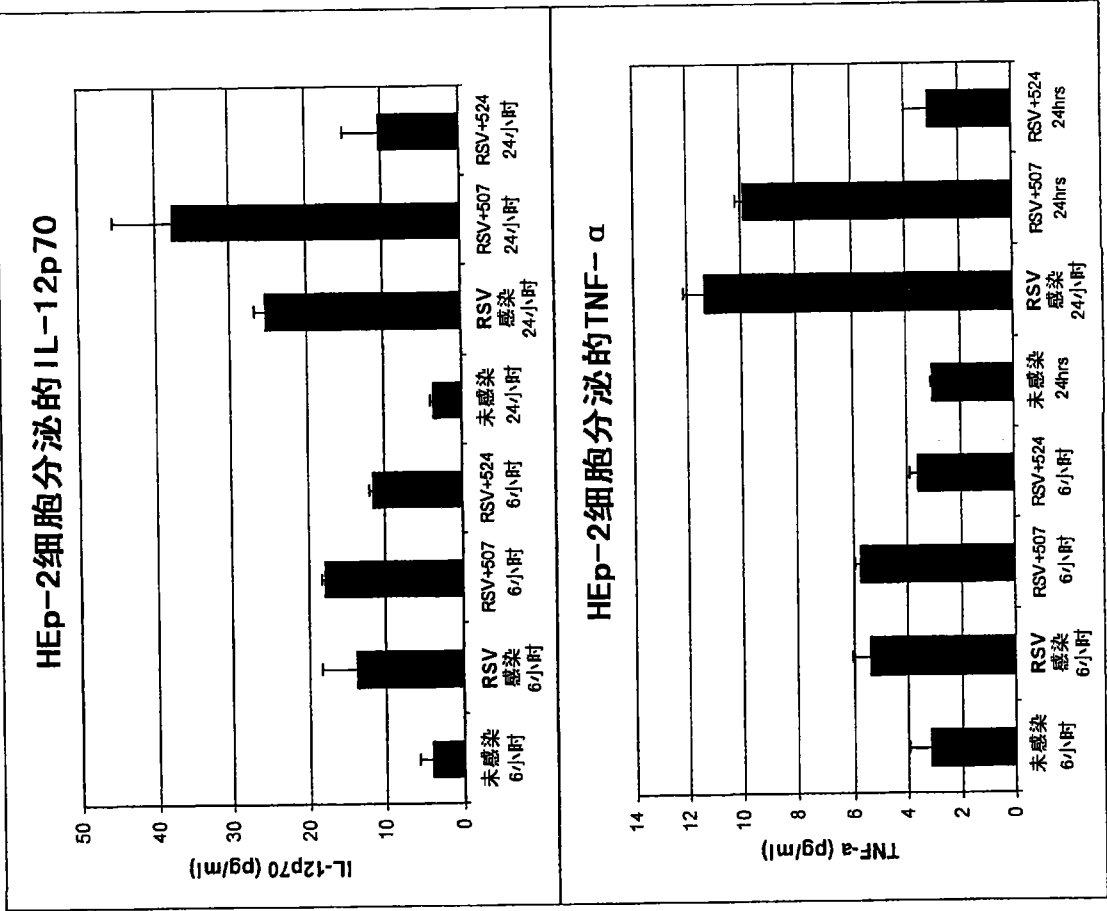


平均值±SEM n=2; MOI: 1

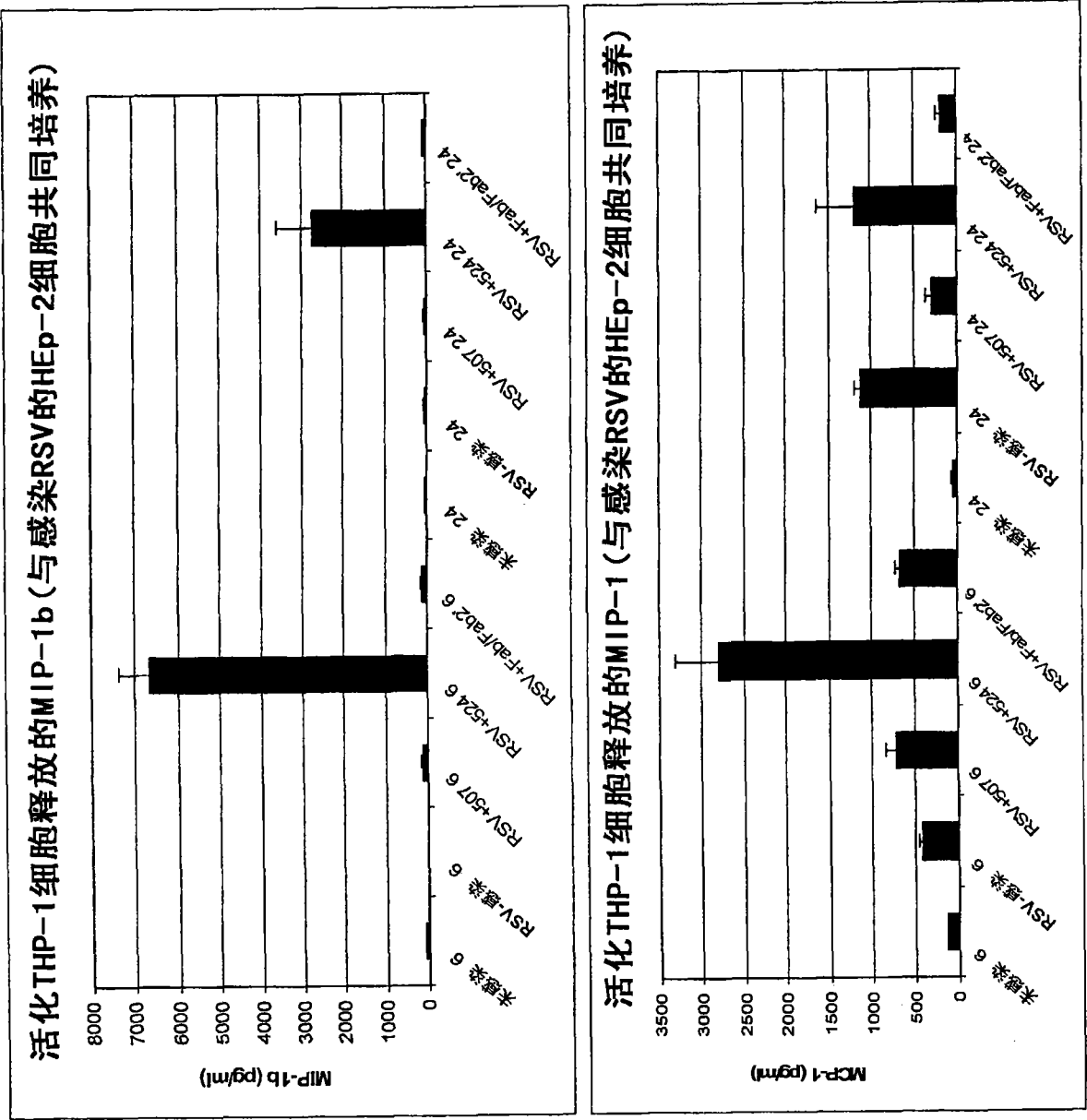
感染后12小时加入抗体



感染后1小时加入抗体



2



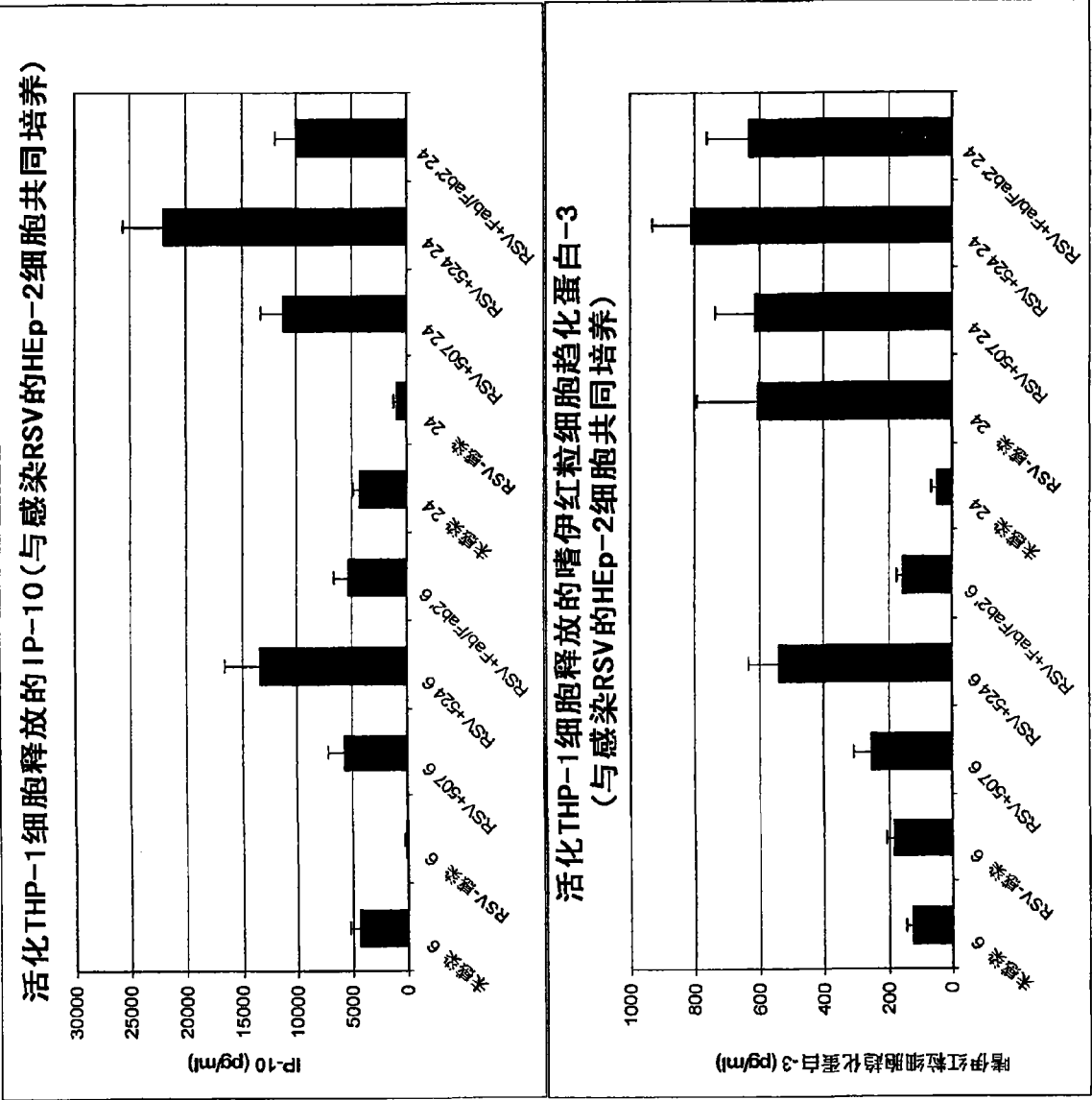


图 4

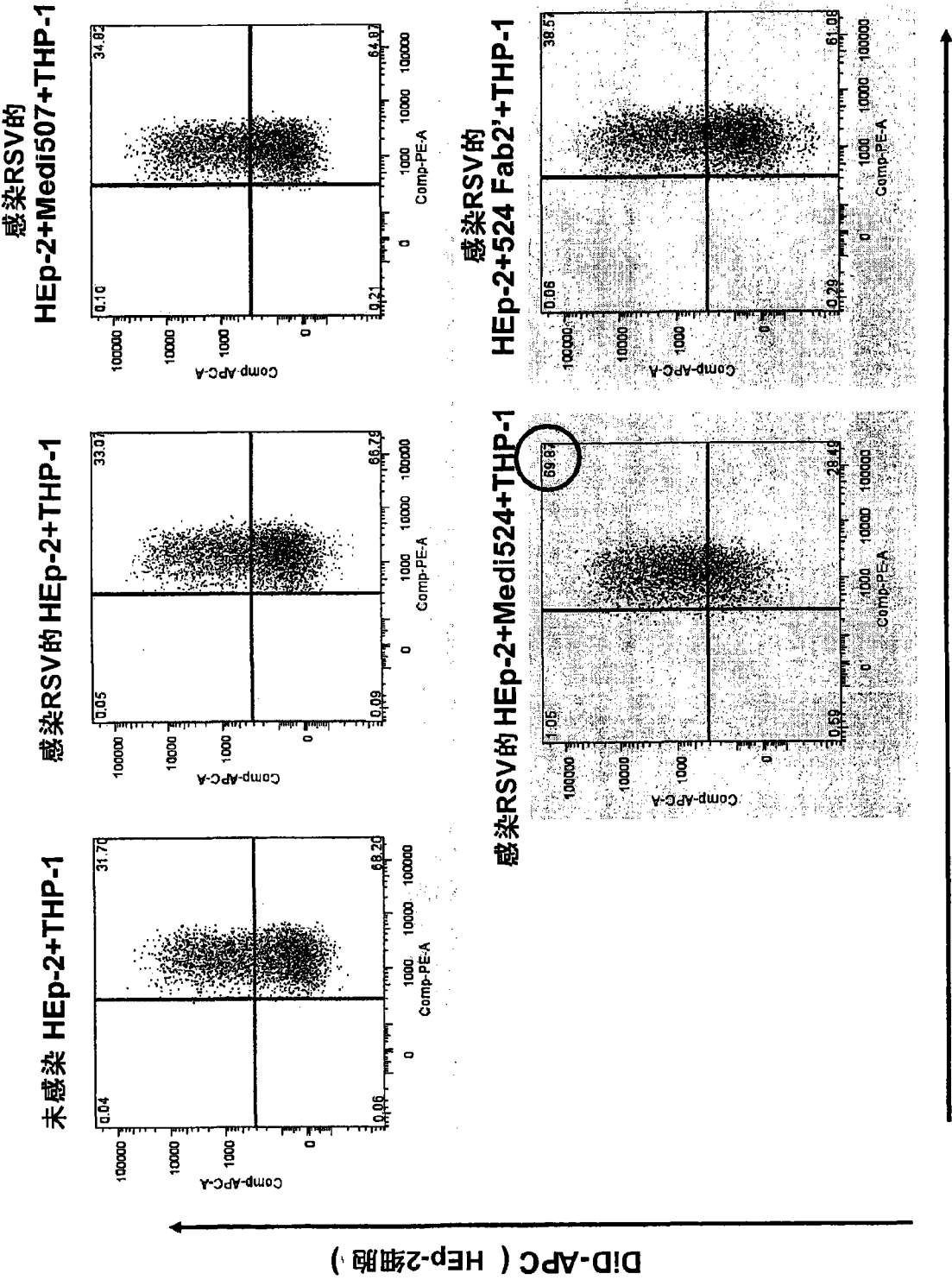


图 5

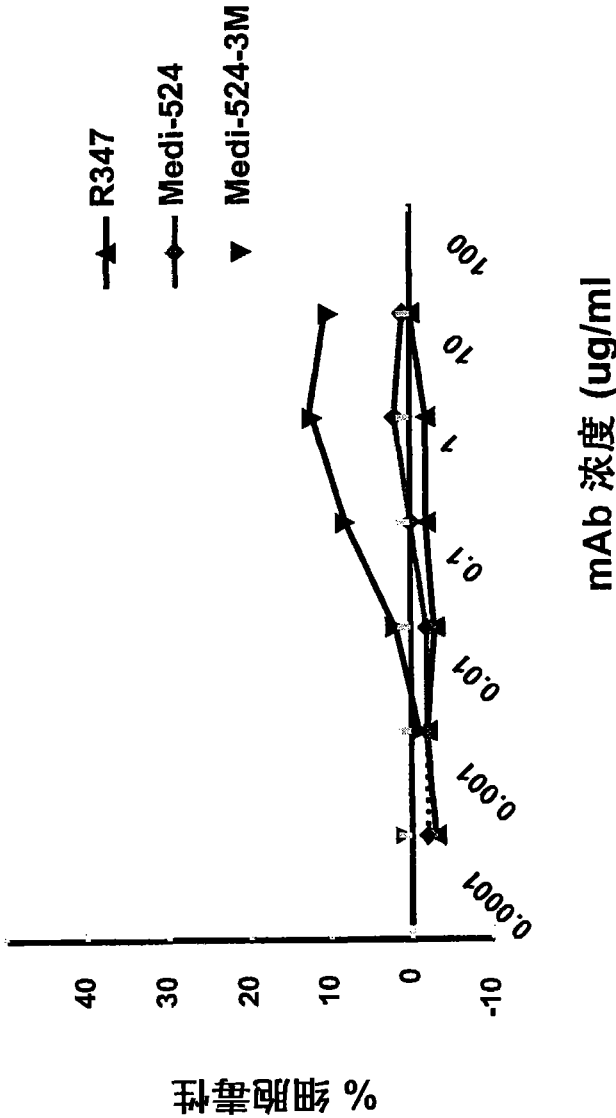


图 6

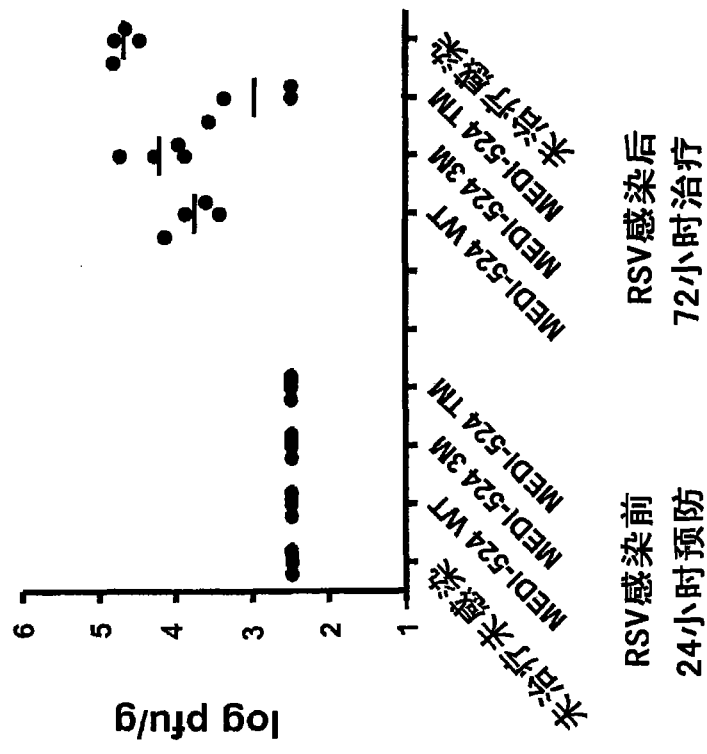
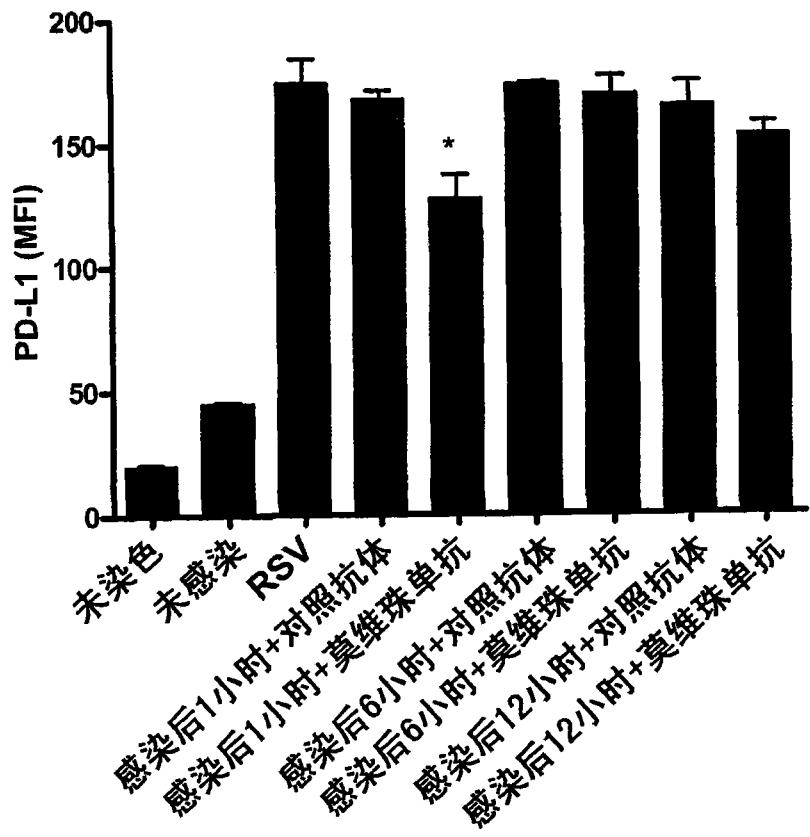


图 7



平均值±SEM,n=3,48小时
*p<0.05,t-t检验

图 8

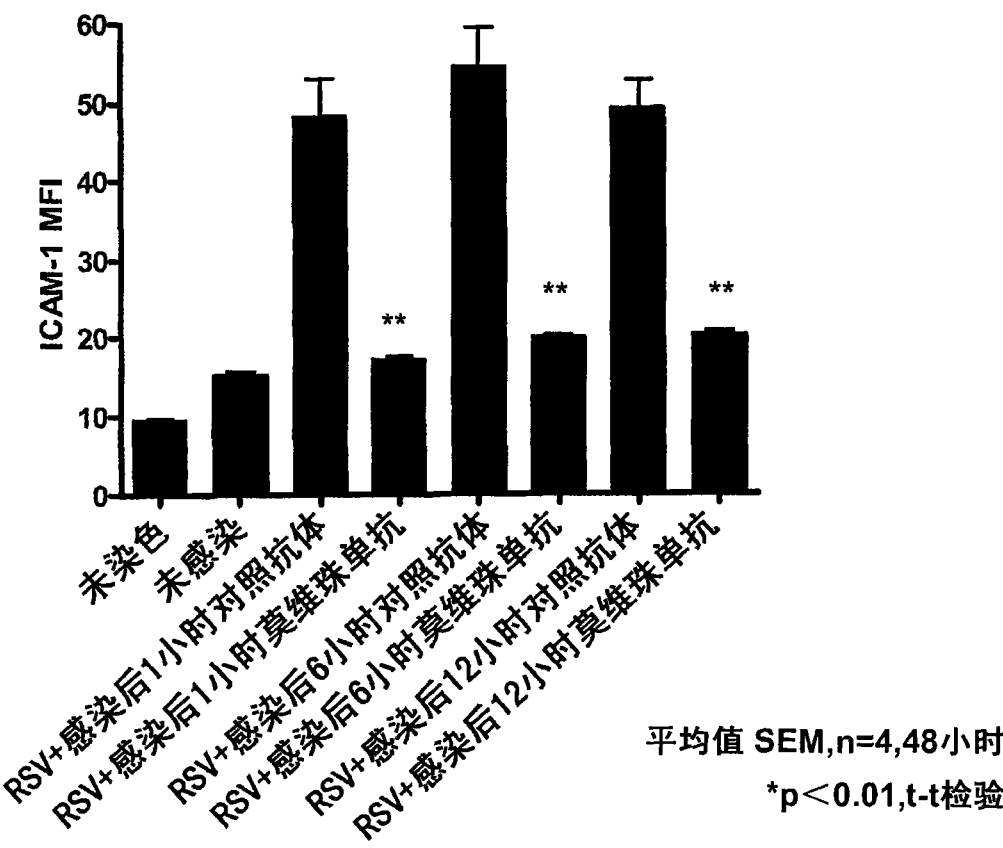


图 9

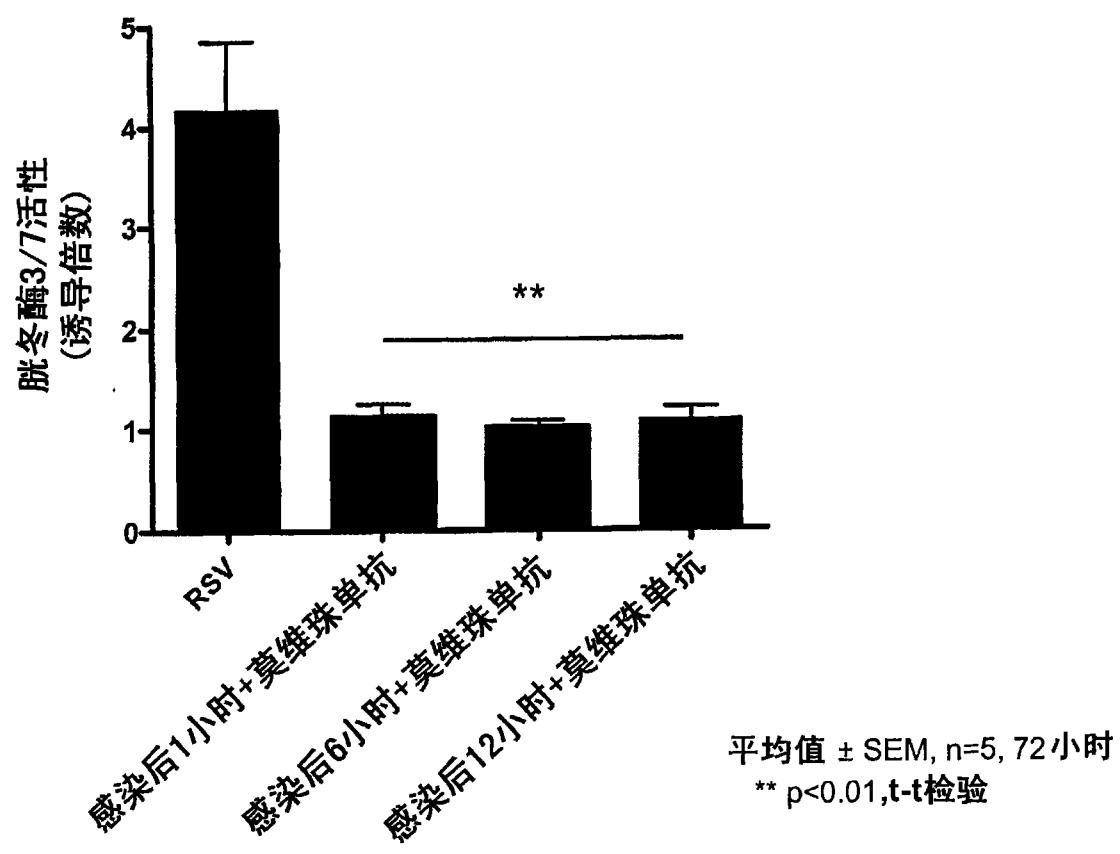


图 10

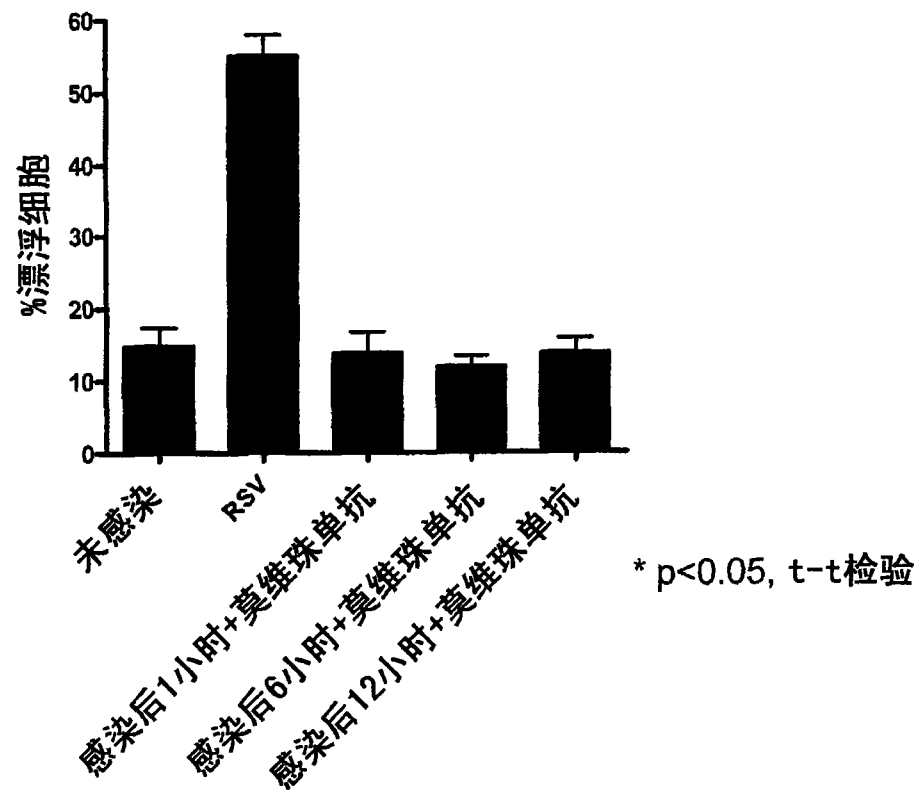


图 11

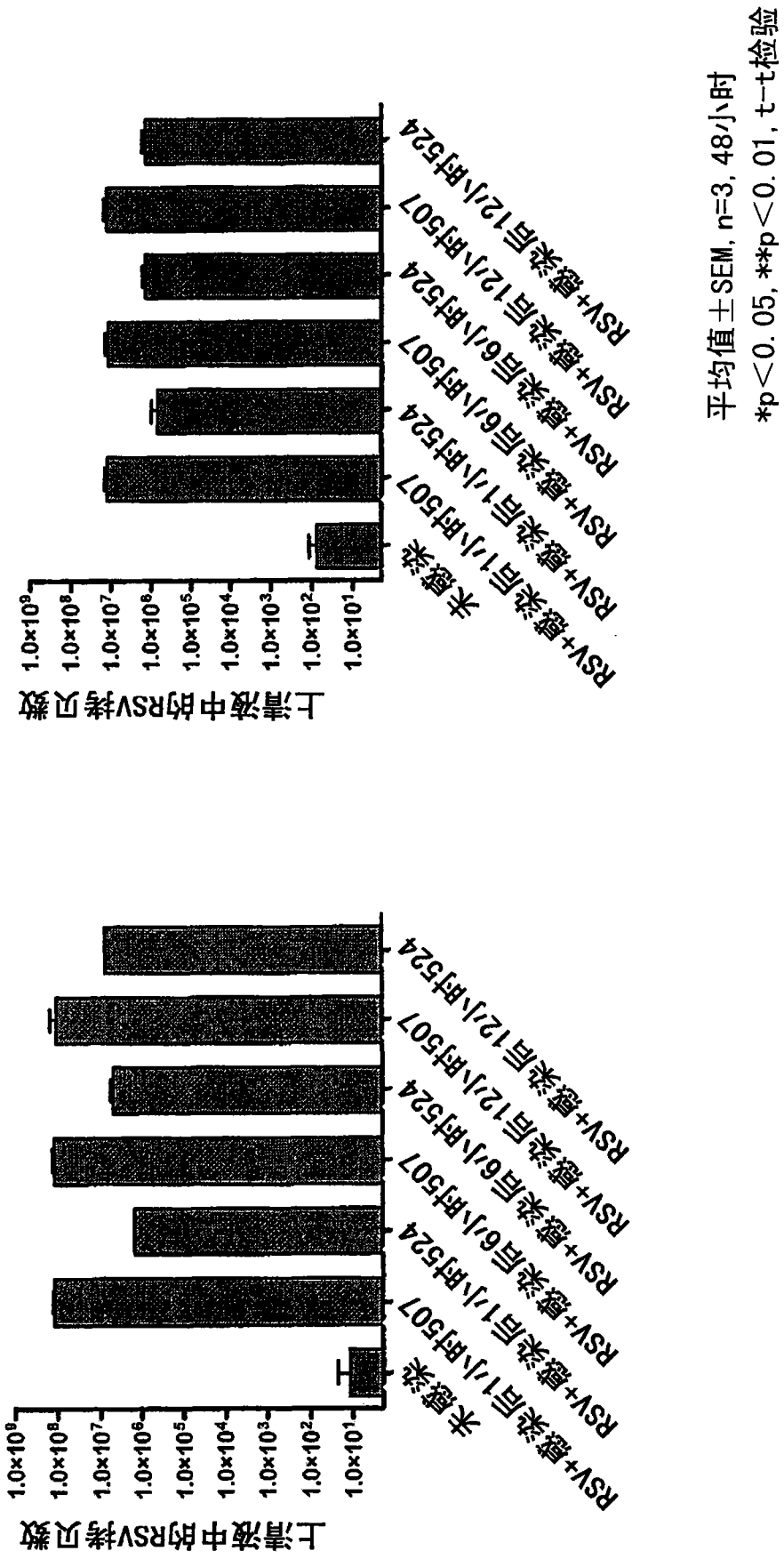


图 12