



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I558409 B

(45)公告日：中華民國 105 (2016) 年 11 月 21 日

(21)申請案號：100106740

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 03 月 01 日

(51)Int. Cl. : A61K38/16 (2006.01)

C12N15/09 (2006.01)

A61P25/28 (2006.01)

A61P3/10 (2006.01)

(30)優先權：2010/03/03 美國

61/309,957

(71)申請人：葛蘭素集團有限公司 (英國) GLAXO GROUP LIMITED (GB)

英國

(72)發明人：賓德 泰金德 考爾 BHINDER, TEJINDER KAUR (GB)；福特 蘇珊那 凱倫
 FORD, SUSANNAH KAREN (GB)；葛麥舒斯基 沃爾克 GERMASCHEWSKI,
 VOLKER (DE)；路易斯 艾倫 彼德 LEWIS, ALAN PETER (GB)；佩皮斯 馬
 克 布萊恩 PEPYS, MARK BRIAN (GB)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2009/155962A1

審查人員：莊智惠

申請專利範圍項數：12 項 圖式數：12 共 163 頁

(54)名稱

抗原結合蛋白

ANTIGEN BINDING PROTEINS

(57)摘要

本發明係關於結合於血清澱粉樣蛋白 P 組分(SAP)之抗原結合蛋白，諸如抗體，編碼該等抗原結合蛋白之聚核苷酸，包含該等抗原結合蛋白之醫藥組合物，及製造方法。本發明亦關於該等抗原結合蛋白於治療或預防與澱粉樣蛋白沈積有關之疾病(包括全身性澱粉樣變性、局部澱粉樣變性、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)及 2 型糖尿病)的用途。

The present invention relates to antigen binding proteins, such as antibodies, which bind to serum amyloid P component (SAP), polynucleotides encoding such antigen binding proteins, pharmaceutical compositions comprising said antigen binding proteins and methods of manufacture. The present invention also concerns the use of such antigen binding proteins in the treatment or prophylaxis of diseases associated with amyloid deposition including systemic amyloidosis, local amyloidosis, Alzheimer's disease, and type 2 diabetes.

指定代表圖：

符號簡單說明：
(無元件符號說明)

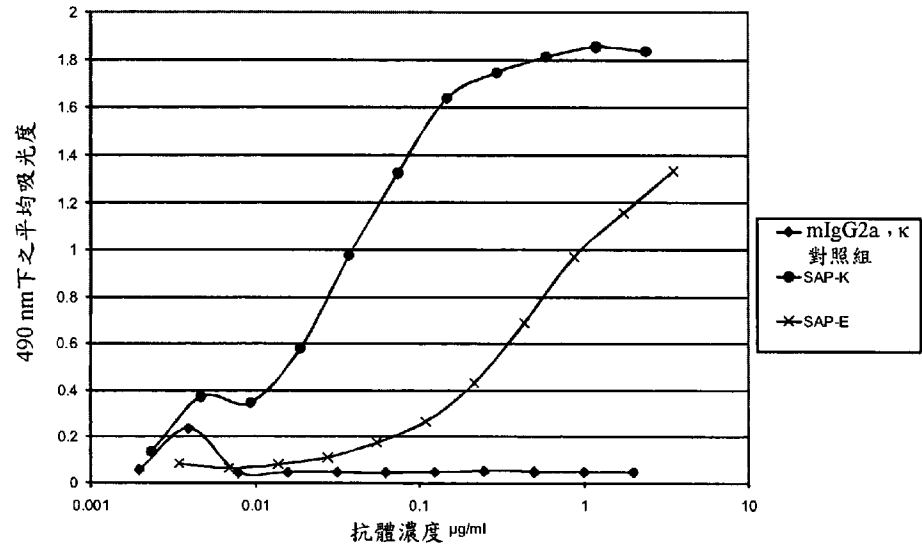


圖1

發明專利說明書**公告本**

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：100106740

※ 申請日：100.3.1

※IPC 分類：C07K

一、發明名稱：(中文/英文)

抗原結合蛋白

ANTIGEN BINDING PROTEINS

A61K38/16 (2006.01)

C12N15/09 (2006.01)

A61P25/28 (2006.01)

A61P37/10 (2006.01)

二、中文發明摘要：

本發明係關於結合於血清澱粉樣蛋白P組分(SAP)之抗原結合蛋白，諸如抗體，編碼該等抗原結合蛋白之聚核苷酸，包含該等抗原結合蛋白之醫藥組合物，及製造方法。本發明亦關於該等抗原結合蛋白於治療或預防與澱粉樣蛋白沈積有關之疾病(包括全身性澱粉樣變性、局部澱粉樣變性、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)及2型糖尿病)的用途。

三、英文發明摘要：

The present invention relates to antigen binding proteins, such as antibodies, which bind to serum amyloid P component (SAP), polynucleotides encoding such antigen binding proteins, pharmaceutical compositions comprising said antigen binding proteins and methods of manufacture. The present invention also concerns the use of such antigen binding proteins in the treatment or prophylaxis of diseases associated with amyloid deposition including systemic amyloidosis, local amyloidosis, Alzheimer's disease, and type 2 diabetes.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於結合於血清澱粉樣蛋白P組分(SAP)之抗原結合蛋白，諸如抗體，編碼該等抗原結合蛋白之聚核苷酸，包含該等抗原結合蛋白之醫藥組合物及製造方法。本發明亦關於該等抗原結合蛋白於治療或預防與澱粉樣蛋白沈積有關之疾病(包括全身性澱粉樣變性、局部澱粉樣變性、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)及2型糖尿病)中的用途。

【先前技術】

澱粉樣變性為一種嚴重且通常會致命的疾病，其係由異常不溶性蛋白質纖維(稱作澱粉樣蛋白原纖維)在組織中之細胞外積累所致。在不同形式之疾病中，澱粉樣蛋白原纖維來源於超過20種不同蛋白質，但所有澱粉樣蛋白原纖維共享共有之交叉- β 核心結構，且均因通常可溶之前驅蛋白質異常摺疊而產生(Pepys, M.B. (2006) Annu. Rev. Med., 57: 223-241)。正常非原纖維血漿蛋白質，亦即血清澱粉樣蛋白P組分(SAP)因其與各種類型澱粉樣蛋白原纖維之親和特異性鈣依賴性結合而亦總是存在於澱粉樣蛋白沈積物中(Pepys等人, (1979) Clin. Exp. Immunol., 38: 284-293; Pepys等人, (1997) Amyloid: Int. J. Exp. Clin. Invest., 4: 274-295)。

人類SAP為血漿中之組成蛋白質，其濃度為約20-40 mg/l(Nelson等人, (1991) Clin. Chim. Acta, 200:191-200)，

且在正常個體與患有除澱粉樣變性以外之疾病的患者的組合血漿與血管外代謝區中SAP總共為約50-100 mg(Hawkins等人, (1990) J. Clin. Invest., 86: 1862-1869)。在患有澱粉樣變性之患者中，澱粉樣蛋白沈積物中之SAP亦特別濃，且在患有廣泛全身性澱粉樣變性之個體中，澱粉樣蛋白中可能存在多達20,000 mg SAP(Pepys等人, (1994) PNAS, 91: 5602-5606)可逆地結合於原纖維且與流體相SAP池平衡。對循環SAP之正常生理功能瞭解不多，但動物實驗及活體外研究表明其在宿主防禦中具有作用(Noursadeghi等人, (2000) PNAS, 97: 14584-14589)。SAP亦為一種與彈性纖維及腎小球基底膜有關的正常組織基質組分，但其功能未知。

在澱粉樣變性中，細胞外澱粉樣蛋白沈積物因進行性積累直至其破壞其所佔據之任何組織的結構且從而破壞該組織之功能而產生疾病(Pepys, M.B. (2006) Annu. Rev. Med., 57: 223-241)。組織中之局部觀察或發炎之全身性標記表明，對澱粉樣蛋白沈積極少產生任何發炎性或「異體」反應。全身性澱粉樣變性可涉及任何器官，通常會致命且造成已開發國家中約千分之一的死亡。侷限於單個解剖學位置或組織類型的局部澱粉樣蛋白亦可能很嚴重，例如大腦澱粉樣血管病變為出血性中風之重要原因。澱粉樣變性之臨床呈現形式極其多樣，且在存在顯著器官破壞之前很少作出診斷。超過20種不同澱粉樣原纖維蛋白引起不同形式之澱粉樣變性，但實質上減少各別澱粉樣原纖維前驅蛋白

之豐度的治療確實可阻止澱粉樣蛋白積累且可使沈積消退。令人遺憾的是，並不總能獲得有效措施，且當其存在時為有毒性或危險的且作用緩慢(Pepys, M.B (2006) *Annu. Rev. Med.*, 57: 223-241)。因此，對可安全地促進清除已形成之澱粉樣蛋白沈積物的療法存在很大未滿足之醫療需要。另外，存在總是存在澱粉樣蛋白沈積物之其他病狀，最重要的為阿茲海默氏病(AD)及2型糖尿病，其中澱粉樣蛋白沈積對疾病(特定言之分別為認知及胰島功能之損失)之發病機制的作用未知(Pepys, M.B. (2006) *Annu. Rev. Med.*, 57: 223-241)。然而，可證明體內任何其他地方的澱粉樣蛋白沈積物具有病原性，且很可能AD之大腦沈積物及2型糖尿病之胰島澱粉樣蛋白沈積物亦為有害的。因為清除全身性澱粉樣變性中之澱粉樣蛋白沈積物的治療定然具有治療性(Pepys, M.B. (2006) *Annu. Rev. Med.*, 57: 223-241)，故移除AD及2型糖尿病中之澱粉樣蛋白沈積物亦應具有臨床益處。

結合SAP使澱粉樣蛋白原纖維穩定，防止其在活體外發生蛋白水解(Tennent等人, (1995) *PNAS*, 92: 4299-4303)，可增強活體外澱粉樣蛋白原纖維生成(Myers等人, (2006), *Biochemistry*, 45: 2311-2321)且促成活體內全身性澱粉樣變性之發病機制(Botto等人, (1997) *Nature Med.*, 3: 855-859)。SAP之此等性質與其普遍存在於所有澱粉樣蛋白沈積物中相結合，使其成為具吸引力之治療目標。

歐洲專利申請案EP 0915088揭示作為SAP結合於澱粉樣

蛋白原纖維之競爭性抑制劑的D-脯胺酸衍生化合物以及其製造方法。EP 0915088中所揭示之較佳化合物為(R)-1-[6-[(R)-2-羧基-吡咯啉-1-基]-6-側氧基己醯基]吡咯啉-2-甲酸(CPHPC)。

國際專利申請案WO 03/051836揭示D-脯胺酸衍生化合物之前藥。

國際專利申請案WO 2004/099173揭示作為SAP結合於澱粉樣蛋白原纖維之競爭性抑制劑的甘油環狀丙酮酸酯衍生物。

國際專利申請案WO 04/059318描述據稱會增強纖維細胞形成的方法，其包含提供結合SAP之組合物。該等組合物包括抗SAP抗體及CPHPC。WO 04/059318並未揭示與澱粉樣蛋白沈積有關之疾病的治療。另外，存在SAP或其耗乏對人類之纖維化無任何影響的令人信服之臨床及活體內證據(Tennent等人, (2007) *Arthritis Rheum.*, 56: 2013-2017; Pepys, M.B., Tennent, G.A.及Denton, C.P. (2007) Reply to Letter from Pilling, D., Buckley, CD., Salmon, M. and Gomer, R.G., Serum amyloid P and fibrosis in systemic sclerosis: comment on the article by Tennent et al, *Arthritis Rheum.*, 56: 4229-4230)。

上列專利中所揭示之雙-D-脯胺酸化合物CPHPC可由人類SAP以高親和力結合，且預期可作為自活體內澱粉樣蛋白沈積物移除SAP之藥物，從而促進沈積物之清除。SAP結合CPHPC觸發肝臟快速清除該複合物，耗乏幾乎所有循

環SAP維持長達投與藥物之時間，且移除大量但非所有結合澱粉樣蛋白之SAP(Pepys等人，(2002) Nature, 417: 254-259)。在最初臨床研究(Gillmore等人，(2010) Brit. J. Haematol., doi:10.1111/j.1365-2141.2009.08036.x)中，投與CPHPC似乎可阻滯澱粉樣蛋白積累，但並未使澱粉樣蛋白消退，且因為CPHPC並未自澱粉樣蛋白沈積物完全移除所有SAP，故需要另一方法。

國際專利申請案WO 2009/000926揭示自循環耗乏SAP之化合物(諸如D-脯胺酸衍生物，尤其CPHPC)與SAP特異性抗體組合用於治療或預防澱粉樣變性的用途。

相關國際專利申請案PCT/EP2008/011135係關於各種小鼠單株抗體，其可與自循環耗乏SAP之化合物(諸如D-脯胺酸衍生物，尤其CPHPC)組合用於治療或預防澱粉樣變性。

因此，此項技術中需要特異性靶向SAP且在患有與澱粉樣蛋白沈積有關之疾病的患者(尤其人類患者)中提供改良之治療功效以保護器官功能及延長生命的抗體，尤其人類化或人類抗體。

【發明內容】

在第一態樣中，本發明提供一種抗原結合蛋白，其特異性結合於SAP且與包含SEQ ID NO:7之重鏈可變區序列及SEQ ID NO:9之輕鏈可變區序列之參考抗體競爭結合於SAP。

在本發明之第二態樣中，提供一種抗原結合蛋白，其結

合於SAP且包含SEQ ID NO:3中所述之CDRH3或CDRH3之功能變異體。

在本發明之第三態樣中，提供一種特異性結合於SAP之抗原結合蛋白，其中該抗原結合蛋白為嵌合或人類化抗體，其包含SEQ ID NO:7之可變域序列的相應CDRH3或CDRH3之功能變異體。

在本發明之第四態樣中，提供一種抗原結合蛋白，其特異性結合於SAP，且包含具有SEQ ID NO:7之Kabat殘基95-101的結合單元H3或結合單元H3之功能變異體。

在本發明之第五態樣中，提供一種抗原結合蛋白，其特異性結合於SAP，且包含選自SEQ ID NO:27-31之重鏈可變區；及/或選自SEQ ID NO:34-36之輕鏈可變區；或具有75%或75%以上序列一致性之變異型重鏈可變區或輕鏈可變區。

在本發明之第六態樣中，提供一種抗原結合蛋白，其特異性結合於SAP，且包含SEQ ID NO:62之重鏈；及/或SEQ ID NO:64之輕鏈；或具有75%或75%以上序列一致性之變異型重鏈或輕鏈。

本發明亦提供一種編碼本發明之抗原結合蛋白的核酸分子、包含其之表現載體及能夠產生本發明之抗原結合蛋白的宿主細胞。

在本發明之另一態樣中，提供一種醫藥組合物，其包含如本文所定義之抗原結合蛋白。本發明亦提供預防及/或治療易患或罹患與澱粉樣蛋白沈積有關之疾病的個體的方

法，該方法包含投與該個體預防或治療有效量之抗原結合蛋白的步驟。提供如本文所定義之抗原結合蛋白用於預防及/或治療易患或罹患與澱粉樣蛋白沈積有關之疾病的個體的用途。亦提供如本文所定義之抗原結合蛋白用於製造用於預防及/或治療易患或罹患與澱粉樣蛋白沈積有關之疾病的個體的藥物的用途。

【實施方式】

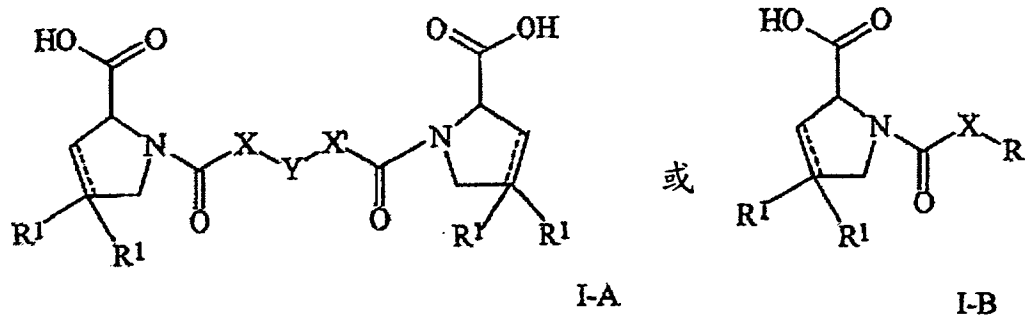
本發明提供一種抗原結合蛋白，其作為血清澱粉樣蛋白P組分(SAP)(例如人類SAP)之特異性抗原(亦即SAP結合蛋白)而結合於SAP。在本發明之治療應用中，抗原結合蛋白活化身體之有效機制以自組織清除異常碎片。抗原結合蛋白可為抗體，例如單株抗體。本發明之抗原結合蛋白不為鼠類抗體。在一實施例中，本發明之抗原結合蛋白不為鼠類抗原結合蛋白。詳言之，本發明之抗原結合蛋白為嵌合、人類化或人類抗原結合蛋白。

「血清澱粉樣蛋白P組分」或「SAP」係指穿透素(pentraxin)家族之同源五聚血漿糖蛋白。各分子由5個各具扁平 β -膠凍卷摺疊(β -jelly roll fold)及單個 α 螺旋的相同原聚體(protomer)構成，該等原聚體非共價締合成具有環狀五聚對稱性之圓盤樣環(Hutchinson等人，(2000) Mol. Med., 6: 482-493)；Pepys等人，(2002) Nature, 417: 254-259)。如本文所用之術語「SAP」亦包括人類基因APCS(染色體：1；位置：1q21-q23)或其他生物體中之同源基因所編碼之個別次單元，例如具有SEQ ID NO:43中所述之序

列的人類SAP多肽次單元，以及SAP之天然五聚形式，及SAP之保留活體內結合於澱粉樣蛋白原纖維之生物活性的任何片段及變異體。

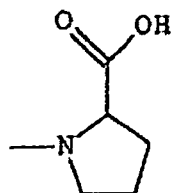
本發明之SAP結合蛋白可結合於上述不同形式SAP之任一者或任何組合。在一特定實施例中，本發明之抗原結合蛋白結合人類SAP。本發明之SAP結合蛋白可在SAP結合於任何類型及身體內任何細胞外位置中的澱粉樣蛋白原纖維時結合於該SAP。本發明之抗原結合蛋白亦可結合於天然未結合之SAP。

在治療方法中使用本發明之SAP結合蛋白的一必要態樣為循環中之SAP濃度須減少至比投與SAP結合蛋白之前的其正常值低至少90%。特定言之，此可由減少循環SAP之量的化合物及特定言之可耗乏循環SAP的化合物(本文中定義為「耗乏SAP之化合物」)來達成。該等化合物為由SAP結合之配位體，且為SAP結合於澱粉樣蛋白原纖維之競爭性抑制劑，諸如D-脯胺酸衍生物及甘油環狀丙酮酸酯衍生物。D-脯胺酸衍生物揭示於EP 0915088中，該案以全文引用的方式併入本文中，且術語「D-脯胺酸衍生物」包括前藥，諸如WO 03/051836中所揭示者，該案亦以全文引用的方式併入本文中。涵蓋下式之D-脯胺酸：



其中

R 為



且基團

R¹ 為氫或鹵素；

且

X 為 $-(CH_2)_n-$ ； $-CH(R^2)(CH_2)_n-$ ； $-CH_2O(CH_2)_n-$ ； $-CH_2NH-$ ； $-C(R^2)=CH-$ ； $-CH_2CH(OH)-$ ；或噻唑-2,5-二基； $-O-$ ；

Y 為 $-S-S-$ ； $-(CH_2)_n-$ ； $-O-$ ； $-NH-$ ； $-N(R^2)-$ ； $-CH=CH-$ ； $-NHC(O)NH-$ ； $-N(R^2)C(O)N(R^2)-$ ； $-N[CH_2C_6H_3(OCH_3)_2]-$ ； $-N(CH_2C_6H_5)-$ ； $-N(CH_2C_6H_5)C(O)N(CH_2C_6H_5)-$ ； $-N(烷氧基烷基)-$ ； $N(環烷基-甲基)-$ ；2,6-吡啶基；2,5-呋喃基；2,5-噻吩基；1,2-環己基；1,3-環己基；1,4-環己基；1,2-萘基；1,4-萘基；1,5-萘基；1,6-萘基；或1,2-伸苯基、1,3-伸苯基及1,4-伸苯基，其中伸苯基視情況經1-4個選自以下之取代基取代：鹵素、低碳烷基、低碳烷氧基、羥基、羧基、 $-COO-$ 低碳烷基、氨基、5-四唑、(2-羧酸吡咯啶-1-基)-2-側氧基-乙氧基、N-羥基甲脒基、5-側氧基[1,2,4]噁二唑基、2-側氧基[1,2,3,5]噁二唑基、5-硫酮基[1,2,4]噁二

唑基及5-第三丁基硫基-[1,2,4]噁二唑基；

X'為 $-(CH_2)_n-$ ； $-(CH_2)_nCH(R_2)-$ ； $-(CH_2)_nOCH_2-$ ； $-NHCH_2-$ ； $-CH=C(R^2)-$ ； $CH(OH)CH_2$ ；或噻唑-2,5-二基； $-O-$ ；

R^2 為 低碳烷基、低碳烷氧基或苯甲基，

n為 0-3，且其中

烷基或低碳烷基為 C_{1-6} 烷基；烷氧基或低碳烷氧基為 C_{1-6} 烷氧基；環烷基為 C_{3-6} 環烷基；鹵素為F、Cl或Br；且式中虛線出現之位置為單鍵或雙鍵；或其醫藥學上可接受之鹽或單酯或二酯。

上式I-A之D-脯胺酸可寫成配位體-連接子-配位體，其中式I-A之X-Y-X'部分形成連接子。連接子(X-Y-X')之長度可為4至20個線性碳原子，包括長度為4-15個線性碳原子、5-10個線性碳原子及6-8個線性碳原子。連接子可為直鏈或分支鏈，或可視情況形成一或多個環結構，其限制條件為連接子中存在至少4個線性或直鏈碳原子。至少一個線性或直鏈C原子可視情況經至少一個選自N、O或S之雜原子(宜為O或S，宜為O)取代。

因此，「視情況經取代之連接子」可具有一或多個產生分支之取代及/或連接子之線性或直鏈碳原子中碳原子的一或多個取代，例如連接子可為醚或經取代之醚。

(R)-1-[6-[(R)-2-羧基-吡咯啉-1-基]-6-側氧基-己醯基]吡咯啉-2-甲酸(CPHPC)為本發明涵蓋之特定D-脯胺酸。在一特定實施例中，將CPHPC投與人類患者。

甘油環狀丙酮酸酯衍生物揭示於WO 2004/099173中，該案以全文引用的方式併入本文中。

如本文所用之術語「抗原結合蛋白」係指抗體、抗體片段及其他蛋白質構築體，諸如能夠結合於SAP之域。

術語「抗體」在本文中以最廣泛意義用於指具有免疫球蛋白樣域之分子，且包括單株抗體、重組抗體、多株抗體、嵌合抗體、人類化抗體、雙特異性抗體及異結合抗體；單可變域、域抗體、抗原結合片段、免疫有效片段、單鏈Fv、雙功能抗體、Tandabs™等(對於替代性「抗體」格式之概述，參見Holliger及Hudson, Nature Biotechnology, 2005, 第23卷，第9期，1126-1136)。

短語「單可變域」係指獨立於不同可變區或可變域而特異性結合抗原或抗原決定基之抗原結合蛋白可變域(例如VH、VHH、VL)。

「域抗體」或「dAb」可視為與能夠結合於抗原之「單可變域」相同。單可變域可為人類抗體可變域，但亦包括來自其他物種之單抗體可變域，諸如齧齒動物(例如，如WO 00/29004中所揭示)、護士鯊(nurse shark)及駱駝科(Camelid)VHH dAb。駱駝科VHH為來源於包括駱駝、美洲駝、羊駝、單峰駝及原駝之物種的免疫球蛋白單可變域多肽，該等物種產生天然缺乏輕鏈之重鏈抗體。可根據此項技術中可用之標準技術對該等VHH域進行人類化，且該等域視為「域抗體」。如本文所用之VH包括駱駝科VHH域。

如本文所用之術語「域」係指具有與蛋白質之其餘部分無關之三級結構的摺疊蛋白質結構。一般而言，域負責蛋白質之個別功能性質，且在許多情況下可將其添加、移除或轉移至其他蛋白質而不損失蛋白質其餘部分及/或域之功能。「單可變域」為包含抗體可變域所特有之序列的摺疊多肽域。因此，其包括完整抗體可變域及經修飾可變域，例如其中一或多個環已經不為抗體可變域所特有的序列置換，或已截短或包含N端或C端延伸序列之抗體可變域，以及至少保留全長域之結合活性及特異性的可變域之摺疊片段。域可獨立於不同可變區或可變域來結合抗原或抗原決定基。

可藉助於在非抗體蛋白質骨架(諸如域)上安置一或多個CDR來提供抗原結合片段。域可為域抗體或可為作為選自由CTLA-4、脂質運載蛋白(lipocalin)、SpA、親和抗體(Affibody)、高親和性多聚體(avimer)、GroEI、轉鐵蛋白(transferrin)、GroES及纖維結合蛋白(fibronectin)/黏附蛋白(adnectin)組成之群之骨架的衍生物的域，其已進行蛋白質工程改造以能夠結合於抗原(諸如SAP)，而非天然配位體。

抗原結合片段或免疫有效片段可包含部分重鏈或輕鏈可變序列。片段之長度為至少5、6、7、8、9或10個胺基酸。或者，片段之長度為至少15個、至少20個、至少50個、至少75個或至少100個胺基酸。

本說明書關於抗原結合蛋白通篇使用之術語「特異性結

合」意謂抗原結合蛋白結合於SAP，但不結合或極少結合於任何其他蛋白質，包括在人類中關於殘基胺基酸序列同源性具有55%嚴格殘基且具有基本上相同之蛋白質摺疊的密切相關之分子，諸如C反應性蛋白(CRP)。

抗原結合蛋白-SAP相互作用之平衡解離常數(KD)可為1 mM或1 mM以下，100 nM或100 nM以下，10 nM或10 nM以下，2 nM或2 nM以下，或1 nM或1 nM以下。或者，KD可在5 nM與10 nM之間；或在1 nM與2 nM之間。KD可在1 pM與500 pM之間；或在500 pM與1 nM之間。

結合親和力可利用BIAcore™例如藉由用藉由一級胺偶合而偶合於羧甲基聚葡萄糖晶片上之SAP進行抗原捕捉及於此表面上進行抗體捕捉來量測。或者，結合親和力可利用BIAcore™藉由抗SAP抗體與固定於CM5晶片上之O-磷酸乙醇胺所捕捉的人類SAP之結合來量測。實例8中所述之BIAcore™方法可用於量測結合親和力。

解離速率常數(kd)可為 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 或 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 以下、 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 或 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下、或 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 或 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 以下。kd可在 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 與 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 之間；或在 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 與 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 之間。小kd可使得抗原結合蛋白-配位體複合物緩慢解離且改良SAP結合於澱粉樣蛋白之複合物的清除。

熟悉此項技術者應顯而易知，術語「來源於」不僅意欲定義作為該物質之實體起源意義上的來源，而且亦定義結構上與該物質一致但並非源自參照來源的物質。因此，「供體抗體中所存在之殘基」無需必定自該供體抗體化。

「經分離」意謂分子(諸如抗原結合蛋白)係自自然界中可發現其之環境中移出。舉例而言，分子可經純化而與自然界中通常與其一起存在之物質分開。舉例而言，樣品中分子之質量可為總質量之95%。

「嵌合抗體」係指一種類型之工程改造抗體，其含有來源於供體抗體之天然存在之可變區(輕鏈及重鏈)與來源於接受體抗體之輕鏈及重鏈恆定區締合。

「人類化抗體」係指一種類型之工程改造抗體，其CDR來源於非人類供體免疫球蛋白，該分子之剩餘免疫球蛋白來源之部分來源於一或多個人類免疫球蛋白。此外，可改變構架支撐殘基以保持結合親和力(參見例如Queen等人, Proc. Natl Acad Sci USA, 86:10029-10032 (1989), Hodgson等人, Bio/Technology, 9:421 (1991))。適合人類接受體抗體可為根據與供體抗體之核苷酸及胺基酸序列之同源性自習知資料庫(例如KABAT[®]資料庫、Los Alamos資料庫及Swiss Protein資料庫)選擇的人類接受體抗體。特徵為與供體抗體之構架區具有同源性(在胺基酸基礎上)的人類抗體可適合於提供用於插入供體CDR之重鏈恆定區及/或重鏈可變構架區。可以類似方式選擇能夠提供輕鏈恆定區或可變構架區之適合接受體抗體。應注意，接受體抗體重鏈及輕鏈並不需要源自相同接受體抗體。先前技術描述產生該等人類化抗體之若干種方式，參見例如EP-A-0239400及EP-A-054951。

術語「供體抗體」係指向第一免疫球蛋白搭配物提供其

可變區、CDR或其他功能片段或其類似物之胺基酸序列的抗體。因此，供體提供改變之免疫球蛋白編碼區及具有供體抗體所特有之抗原特異性及中和活性的所得所表現之改變之抗體。

術語「接受體抗體」係指與供體抗體異源之抗體，其向第一免疫球蛋白搭配物提供編碼其重鏈及/或輕鏈構架區及/或其重鏈及/或輕鏈恆定區的胺基酸序列的全部(或任何部分)。人類抗體可為接受體抗體。

術語「人類抗體」係指來源於人類免疫球蛋白基因序列之抗體。此等完全人類抗體提供再工程改造或去免疫化齧齒動物單株抗體(例如人類化抗體)的替代物作為低免疫原性治療抗體之來源，且其通常使用噬菌體呈現或轉殖基因小鼠平台產生。在一實施例中，本發明之抗體不為人類抗體。

術語「VH」及「VL」在本文中分別用於指抗原結合蛋白之重鏈可變區及輕鏈可變區。

「CDR」定義為抗原結合蛋白之互補決定區胺基酸序列。此等CDR為免疫球蛋白重鏈及輕鏈之高變區。在免疫球蛋白之可變部分中存在三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR(或CDR區)。因此，如本文所用之「CDR」係指所有三個重鏈CDR、所有三個輕鏈CDR、所有重鏈及輕鏈CDR或至少兩個CDR。

在整篇本說明書中，可變域序列及全長抗體序列中之胺基酸殘基係根據Kabat編號規範進行編號。類似地，實例

中所用之術語「CDR」、「CDRL1」、「CDRL2」、「CDRL3」、「CDRH1」、「CDRH2」、「CDRH3」遵循Kabat編號規範。關於其他資訊，請參見Kabat等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第4版，U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987)。

然而，儘管在整篇本說明書中，可變域序列及全長抗體序列中之胺基酸殘基使用Kabat編號規範，但熟習此項技術者應顯而易知，亦存在替代性編號規範可用於可變域序列及全長抗體序列中之胺基酸殘基。亦存在替代性編號規範可用於CDR序列，例如Chothia等人，(1989) *Nature* 342: 877-883中所述之編號規範。抗體之結構及蛋白質摺疊可意謂其他殘基被視為CDR序列之一部分且熟習此項技術者可如此理解。

熟習此項技術者可利用之CDR序列之其他編號規範包括「AbM」法(University of Bath)及「接觸」法(University College London)。可使用Kabat、Chothia、AbM及接觸法中之至少兩者來確定最小重疊區以提供「最小結合單元」。最小結合單元可為CDR之子部分。

下表1呈示關於各CDR或結合單元使用各編號規範的一種定義。在表1中使用Kabat編號方案對可變域胺基酸序列進行編號。應注意，一些CDR定義可視所用個別出版物而變化。

表 1

	Kabat CDR	Chothia CDR	AbM CDR	接觸CDR	最小結合單元
H1	31-35/35A/35B	26-32/33/34	26-35/35A/35B	30-35/35A/35B	31-32
H2	50-65	52-56	50-58	47-58	52-56
H3	95-102	95-102	95-102	93-101	95-101
LI	24-34	24-34	24-34	30-36	30-34
L2	50-56	50-56	50-56	46-55	50-55
L3	89-97	89-97	89-97	89-96	89-96

如本文所用之術語「抗原結合位點」係指抗原結合蛋白上能夠特異性結合於抗原之位點。其可為單域(例如抗原決定基結合域)或單鏈Fv(ScFv)域，或其可為如標準抗體上可見之成對VH/VL域。

如本文所用之術語「抗原決定基」係指抗原中可與抗原結合蛋白之特定結合域接觸之部分。抗原決定基可呈線性，其包含抗原之基本上呈線性的胺基酸序列。或者，抗原決定基可為構形或不連續抗原決定基。舉例而言，構形抗原決定基包含需要結構限制元件之胺基酸殘基。在構形抗原決定基的情況下，儘管殘基可來自肽鏈之不同區域，但其可在抗原之三維結構中密切接近。在多聚抗原(諸如SAP)的情況下，構形抗原決定基可包括來自不同肽鏈的在抗原之三維結構中密切接近的殘基。該等結構相鄰殘基可經由電腦模型化程式或經由利用此項技術中已知之方法(諸如X射線結晶法)獲得之三維結構來確定。

不連續抗原決定基包含由其他序列分隔(亦即不處於抗原一級序列之連續序列中)之胺基酸殘基。在抗原三級結構及四級結構之情形中，不連續抗原決定基之殘基彼此足

夠接近以由抗原結合蛋白結合。

在一實施例中，本發明之抗原結合蛋白結合於人類SAP之殘基140-158內的抗原決定基。

對於核苷酸及胺基酸序列，術語「一致」或「序列一致性」表示當在適當插入或缺失下進行最佳比對及比較時，兩個核酸或兩個胺基酸序列之間的一致性程度。

兩個序列之間的一致性百分比為該等序列所共享之一致位置之數目的函數(亦即，一致性% = 一致位置數 / 總位置數 × 100)，將需要引入以便獲得兩個序列之最佳比對之間隙數及各間隙之長度考慮在內。可如下所述，使用數學演算法來完成兩個序列之間的序列比較及一致性百分比測定。

可使用GCG軟體套件中之GAP程式，使用NWSgapdna.CMP矩陣及間隙權數40、50、60、70或80及長度權數1、2、3、4、5或6來測定兩個核苷酸序列之間的一致性百分比。亦可使用已併入ALIGN程式(2.0版)中之E. Meyers及W. Miller之演算法(Comput. Appl. Biosci., 4:11-17 (1988))，使用PAM120權數殘基表，間隙長度罰分12及間隙罰分4來測定兩個核苷酸或胺基酸序列之間的一致性百分比。此外，可使用已併入GCG軟體套件中之GAP程式中的Needleman及Wunsch(J. Mol. Biol. 48:444-453 (1970))演算法，使用Blossum 62矩陣或PAM250矩陣，及間隙權數16、14、12、10、8、6或4及長度權數1、2、3、4、5或6來測定兩個胺基酸序列之間的一致性百分比。

舉例而言，聚核苷酸序列可與如本文所述之參考聚核苷

酸序列(參見例如 SEQ ID NO:8、10、18、20、45-48、51-61、63、65-73)一致，亦即為100%一致，或其可相較於參考序列包括至多某一整數個核苷酸變化，諸如至少50、60、70、75、80、85、90、95、96、97、98或99%一致。該等變化係選自至少一個核苷酸缺失、取代(包括轉換及顛換)或插入，且其中該等變化可在參考核苷酸序列之5'端或3'端位置或此等末端位置之間的任何位置發生，個別地散佈於參考序列之核苷酸之間或以一或多個毗連群組散佈於參考序列中。核苷酸變化的數目藉由將如本文所述之參考聚核苷酸序列(參見例如 SEQ ID NO:8、10、18、20、45-48、51-61、63、65-73)中之核苷酸總數乘以各別一致性百分比之數值百分比(除以100)，且自如本文所述之參考聚核苷酸序列(參見例如 SEQ ID NO:8、10、18、20、45-48、51-61、63、65-73)中之核苷酸的該總數減去該乘積來測定或如以下測定：

$$n_n \leq x_n - (x_n \cdot y),$$

其中 n_n 為核苷酸變化之數目， x_n 為如本文所述之參考聚核苷酸序列(參見例如 SEQ ID NO:8、10、18、20、45-48、51-61、63、65-73)中之核苷酸總數，且 y 對於50%而言為0.50，對於60%而言為0.60，對於70%而言為0.70，對於75%而言為0.75，對於80%而言為0.80，對於85%而言為0.85，對於90%而言為0.90，對於95%而言為0.95，對於98%而言為0.98，對於99%而言為0.99或對於100%而言為1.00， $\cdot$ 為乘法運算符之符號，且其中 x_n 及 y 之任何非整數

乘積在自 x_n 減去之前四捨五入至最接近之整數。

類似地，多肽序列可與如本文所述之多肽參考序列(參見例如 SEQ ID NO:1-7、9、11-17、19、21-24、27-31、34-42、62、64、74)一致，亦即為100%一致，或其可相較於參考序列包括至多某一整數個胺基酸變化，以使一致性%小於100%，諸如至少50、60、70、75、80、85、90、95、96、97、98或99%一致。該等變化係選自由至少一個胺基酸缺失、取代(包括保守性及非保守性取代)或插入組成之群，且其中該等變化可在參考多肽序列之胺基或羧基端位置或此等末端位置之間的任何位置發生，個別地散佈於參考序列之胺基酸之間或以一或多個毗連群組散佈於參考序列中。指定一致性%之核苷酸變化的數目藉由將如本文所述之多肽參考序列(參見例如 SEQ ID NO:1-7、9、11-17、19、21-24、27-31、34-42、62、64、74)所編碼的多肽序列中之胺基酸總數乘以各別一致性百分比之數值百分比(除以100)，且自如本文所述之多肽參考序列(參見例如 SEQ ID NO:1-7、9、11-17、19、21-24、27-31、34-42、62、64、74)中之核苷酸的該總數減去該乘積來測定或如下測定：

$$n_a \leq x_a - (x_a \cdot y),$$

其中 n_a 為核苷酸變化之數目， x_a 為如本文所述之參考多肽序列(參見例如 SEQ ID NO:1-7、9、11-17、19、21-24、27-31、34-42、62、64、74)中之胺基酸總數，且 y 對於50%而言為0.50，對於60%而言為0.60，對於70%而言為

0.70，對於75%而言為0.75，對於80%而言為0.80，對於85%而言為0.85，對於90%而言為0.90，對於95%而言為0.95，對於98%而言為0.98，對於99%而言為0.99或對於100%而言為1.00，•為乘法運算符之符號，且其中 x_a 及 y 之任何非整數乘積在自 x_a 減去之前四捨五入至最接近之整數。

一致性%可在序列之整個長度中測定。

術語「肽」、「多肽」及「蛋白質」各自指包含兩個或兩個以上胺基酸殘基之分子。肽可為單體肽或聚合肽。

在此項技術中應充分認識到，某些胺基酸取代可視為「保守的」。基於常見側鏈性質將胺基酸分組，且維持抗原結合蛋白之全部或實質上全部結合親和力的組內之取代視為保守性取代，參見下表2：

表 2

側鏈	成員
疏水性	Met、Ala、Val、Leu、Ile
中性親水性	Cys、Ser、Thr
酸性	Asp、Glu
鹼性	Asn、Gln、His、Lys、Arg
影響鏈取向之殘基	Gly、Pro
芳族	Trp、Tyr、Phe

抗原結合蛋白可與包含SEQ ID NO:7之重鏈可變區序列及SEQ ID NO:9之輕鏈可變區序列的參考抗體競爭結合於SAP。或者，抗原結合蛋白可與包含SEQ ID NO:17之重鏈可變區序列及SEQ ID NO:19之輕鏈可變區序列的參考抗體競爭結合於SAP。

抗原結合蛋白與參考抗體之間的競爭可藉由競爭ELISA、FMAT或BIAcore來測定。競爭性抗原結合蛋白可結合於與參考抗體所結合之抗原決定基相同的抗原決定基、重疊的抗原決定基或密切接近的抗原決定基。

本發明亦提供特異性結合於SAP且包含SEQ ID NO:3之CDRH3或其變異型CDR的抗原結合蛋白。抗原結合蛋白可進一步包含選自以下的一或多個CDR或所有CDR的任何組合：CDRH1 (SEQ ID NO:1)、CDRH2 (SEQ ID NO:2)、CDRL1 (SEQ ID NO:4)、CDRL2 (SEQ ID NO:5)及CDRL3 (SEQ ID NO:6)；或其變異體。

舉例而言，抗原結合蛋白可包含CDRH3 (SEQ ID NO:3)及CDRH1 (SEQ ID NO:1)或其變異體。抗原結合蛋白可包含CDRH3 (SEQ ID NO:3)及CDRH2 (SEQ ID NO:2)或其變異體。抗原結合蛋白可包含CDRH1 (SEQ ID NO:1)及CDRH2 (SEQ ID NO:2)及CDRH3 (SEQ ID NO:3)或其變異體。

抗原結合蛋白可包含CDRL1 (SEQ ID NO:4)及CDRL2 (SEQ ID NO:5)或其變異體。抗原結合蛋白可包含CDRL2 (SEQ ID NO:5)及CDRL3 (SEQ ID NO:6)或其變異體。抗原結合蛋白可包含CDRL1 (SEQ ID NO:4)、CDRL2 (SEQ ID NO:5)及CDRL3 (SEQ ID NO:6)或其變異體。

抗原結合蛋白可包含CDRH3 (SEQ ID NO:3)及CDRL3 (SEQ ID NO:6)或其變異體。抗原結合蛋白可包含CDRH3 (SEQ ID NO:3)、CDRH2 (SEQ ID NO:2)及CDRL3 (SEQ ID

NO:6)或其變異體。抗原結合蛋白可包含CDRH3 (SEQ ID NO:3)、CDRH2 (SEQ ID NO:2)、CDRL2 (SEQ ID NO:5)及CDRL3 (SEQ ID NO:6)或其變異體。

抗原結合蛋白可包含CDRH1 (SEQ ID NO:1)、CDRH2 (SEQ ID NO:2)、CDRH3 (SEQ ID NO:3)、CDRL1 (SEQ ID NO:4)、CDRL2 (SEQ ID NO:5)及CDRL3 (SEQ ID NO:6)，或其變異體。

本發明亦提供特異性結合於SAP且包含SEQ ID NO:13之CDRH3或其變異型CDR的抗原結合蛋白。抗原結合蛋白可進一步包含選自以下的一或多個CDR或所有CDR的任何組合：CDRH1 (SEQ ID NO:11)、CDRH2 (SEQ ID NO:12)、CDRL1 (SEQ ID NO:14)、CDRL2 (SEQ ID NO:15)及CDRL3 (SEQ ID NO:16)；或其變異體。

本發明亦提供特異性結合於SAP之抗原結合蛋白，其中該抗原結合蛋白為包含SEQ ID NO:7之可變域序列的相應CDRH3或變異型CDRH3的嵌合或人類化抗體。

嵌合或人類化抗原結合蛋白可進一步包含選自以下之一或多個或所有相應CDR：SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:9之可變域序列，或其變異型CDR。

舉例而言，抗原結合蛋白可包含相應CDRH3及相應CDRH1或其變異體，或其變異體。抗原結合蛋白可包含相應CDRH3及相應CDRH2，或其變異體。抗原結合蛋白可包含相應CDRH1、相應CDRH2及相應CDRH3；或其變異體。

抗原結合蛋白可包含相應CDRL1及相應CDRL2，或其變異體。抗原結合蛋白可包含相應CDRL2及相應CDRL3，或其變異體。抗原結合蛋白可包含相應CDRL1、相應CDRL2及相應CDRL3，或其變異體。

抗原結合蛋白可包含相應CDRH3及相應CDRL3，或其變異體。抗原結合蛋白可包含相應CDRH3、相應CDRH2及相應CDRL3，或其變異體。抗原結合蛋白可包含相應CDRH3、相應CDRH2、相應CDRL2及相應CDRL3，或其變異體。

抗原結合蛋白可包含相應CDRH1、相應CDRH2、相應CDRH3、相應CDRL1、相應CDRL2及相應CDRL3，或其變異體。

相應CDR可參考Kabat(1987)、Chothia(1989)、AbM或接觸法或此等方法之組合來定義。各方法之一種定義可見於表1且可應用於參考重鏈可變域SEQ ID NO:7及參考輕鏈可變域SEQ ID NO:9以確定相應CDR。

本發明亦提供特異性結合於SAP之抗原結合蛋白，其中該抗原結合蛋白為包含SEQ ID NO:17之可變域序列的相應CDRH3或變異型CDRH3的嵌合或人類化抗體。

嵌合或人類化抗原結合蛋白可進一步包含選自以下的一或多個或所有相應CDR：SEQ ID NO:17或SEQ ID NO:19之可變域序列，或其變異型CDR。

本發明亦提供抗原結合蛋白，其特異性結合於SAP，且包含具有SEQ ID NO:7之Kabat殘基95-101的結合單元H3或

變異型 H3。抗原結合蛋白可進一步包含選自以下的一或多個或所有結合單元：包含 SEQ ID NO:7 之 Kabat 殘基 31-32 的 H1、包含 SEQ ID NO:7 之 Kabat 殘基 52-56 的 H2、包含 SEQ ID NO:9 之 Kabat 殘基 30-34 的 L1、包含 SEQ ID NO:9 之 Kabat 殘基 50-55 的 L2、及包含 SEQ ID NO:9 之 Kabat 殘基 89-96 的 L3；或變異型結合單元。

舉例而言，抗原結合蛋白可包含結合單元 H3 及結合單元 H1，或其變異體。抗原結合蛋白可包含結合單元 H3 及結合單元 H2，或其變異體。抗原結合蛋白可包含結合單元 H1、結合單元 H2 及結合單元 H3；或其變異體。

抗原結合蛋白可包含結合單元 L1 及結合單元 L2，或其變異體。抗原結合蛋白可包含結合單元 L2 及結合單元 L3，或其變異體。抗原結合蛋白可包含結合單元 L1、結合單元 L2 及結合單元 L3；或其變異體。

抗原結合蛋白可包含結合單元 H3 及結合單元 L3，或其變異體。抗原結合蛋白可包含結合單元 H3、結合單元 H2 及結合單元 L3；或其變異體。抗原結合蛋白可包含結合單元 H3、結合單元 H2、結合單元 L2 及結合單元 L3；或其變異體。

抗原結合蛋白可包含結合單元 H1、結合單元 H2、結合單元 H3、結合單元 L1、結合單元 L2 及結合單元 L3；或其變異體。

本發明亦提供抗原結合蛋白，其特異性結合於 SAP，且包含具有 SEQ ID NO:17 之 Kabat 殘基 95-101 的結合單元 H3

或變異型H3。抗原結合蛋白可進一步包含選自以下的一或多個或所有結合單元：包含SEQ ID NO:17之Kabat殘基31-32的H1、包含SEQ ID NO:17之Kabat殘基52-56的H2、包含SEQ ID NO:19之Kabat殘基30-34的L1、包含SEQ ID NO:19之Kabat殘基50-55的L2、及包含SEQ ID NO:19之Kabat殘基89-96的L3；或變異型結合單元。

CDR變異體或變異型結合單元包括經至少一個胺基酸修飾之胺基酸序列，其中該修飾可為化學修飾或胺基酸序列之部分變化(例如不超過10個胺基酸)，此修飾允許變異體保留未修飾序列之生物特徵。舉例而言，變異體為特異性結合於SAP且活化自組織清除SAP結合於澱粉樣蛋白之複合物的功能變異體。CDR胺基酸序列之部分變化可為一至若干個胺基酸之缺失或取代，或一至若干個胺基酸之添加或插入，或其組合(例如不超過10個胺基酸)。CDR變異體或結合單元變異體在胺基酸序列中可含有1、2、3、4、5或6個胺基酸取代、添加或缺失之任何組合。CDR變異體或結合單元變異體在胺基酸序列中可含有1、2或3個胺基酸取代、插入或缺失之任何組合。胺基酸殘基之取代可為保守性取代，例如一個疏水性胺基酸取代另一疏水性胺基酸。舉例而言，白胺酸可經纈胺酸或異白胺酸取代。

在人類構架之情形中可存在本文所述之CDR、相應CDR、變異型CDR或結合單元之一或多者，例如呈人類化或嵌合可變域形式。包含本文所述之CDR、相應CDR、變異型CDR或結合單元之一或多者的完全人類抗體亦涵蓋於

且屬於本發明之範疇內。

CDR L1、L2、L3、H1及H2趨向於在結構上展現有限數目之主鏈構形之一。CDR之特定典型結構類別係由CDR長度與環填充(loop packing)兩者定義，由位於CDR與構架區兩者中之關鍵位置的殘基(結構決定殘基或SDR)決定。Martin及Thornton(1996; J Mol Biol 263:800-815)已得到定義「關鍵殘基」典型模板之自動方法。使用叢集分析來定義多組CDR之典型類別，且隨後藉由分析內埋式疏水性氫鍵結殘基及保守之甘胺酸及脯胺酸來鑑別典型模板。可藉由將序列與關鍵殘基模板比較且使用一致性或相似性矩陣對各模板進行評分來將抗體序列之CDR歸類為典型類別。

下文提供屬於本發明之範疇內的CDR典型類別之實例。所用胺基酸編號法為Kabat。

SEQ ID NO:1中所述之CDRH1、其變異體、SEQ ID NO:7之CDRH1或相應CDR之典型類別的實例為：Tyr 32取代為Ile、His、Phe、Thr、Asn、Cys、Glu或Asp；Asn 33取代為Tyr、Ala、Trp、Gly、Thr、Leu或Val；Met 34取代為Ile、Val或Trp；及/或His 35取代為Glu、Asn、Gln、Ser、Tyr或Thr。

SEQ ID NO:2中所述之CDRH2、其變異體、SEQ ID NO:7之CDRH2或相應CDR之典型類別的實例為：Tyr 50取代為Arg、Glu、Trp、Gly、Gln、Val、Leu、Asn、Lys或Ala；Ile 51取代為Leu、Val、Thr、Ser或Asn；Tyr 52取代為Asp、Leu、Asn或Ser；Gly 53取代為Ala、Tyr、Ser、

Lys、Thr或Asn；Asp 54取代為Asn、Ser、Thr、Lys或Gly；Asn 56取代為Tyr、Arg、Glu、Asp、Gly、Val、Ser或Ala；及/或Asn 58取代為Lys、Thr、Ser、Asp、Arg、Gly、Phe或Tyr。

SEQ ID NO:3中所述之CDRH3、其變異體、SEQ ID NO:7之CDRH3或相應CDR之典型類別的實例為：Ser 102取代為Tyr、His、Val、Ile、Asp或Gly。

SEQ ID NO:4中所述之CDRL1、其變異體、SEQ ID NO:9之CDRL1或相應CDR之典型類別的實例為：Asn 28取代為Ser、Asp、Thr或Glu；Ile 29取代為Val；Tyr 30取代為Asp、Leu、Val、Ile、Ser、Asn、Phe、His、Gly或Thr；Ser 31取代為Asn、Thr、Lys或Gly；Tyr 32取代為Phe、Asn、Ala、His、Ser或Arg；Leu 33取代為Met、Val、Ile或Phe；及/或Ala 34取代為Gly、Asn、Ser、His、Val或Phe。

SEQ ID NO:5中所述之CDRL2、其變異體、SEQ ID NO:9之CDRL1或相應CDR之典型類別的實例為：Ala 51取代為Thr、Gly或Val。

SEQ ID NO:6中所述之CDRL3、其變異體、SEQ ID NO:9之CDRL1或相應CDR之典型類別的實例為：Gln 89取代為Ser、Gly、Phe或Leu；His 90取代為Gln或Asn；His 91取代為Asn、Phe、Gly、Ser、Arg、Asp、Thr、Tyr或Val；Tyr 92取代為Asn、Trp、Thr、Ser、Arg、Gln、His、Ala或Asp；Gly 93取代為Glu、Asn、His、Thr、

Ser、Arg或Ala；Ala 94取代為Asp、Tyr、Thr、Val、Leu、His、Asn、Ile、Trp、Pro或Ser；及/或Leu 96取代為Pro、Tyr、Arg、Ile、Trp或Phe。

SEQ ID NO:11中所述之CDRH1、其變異體、SEQ ID NO:17之CDRH1或相應CDR之典型類別的實例為：Tyr 32取代為Ile、His、Phe、Thr、Asn、Cys、Glu或Asp；Trp 33取代為Tyr、Ala、Gly、Thr、Leu或Val；Met 34取代為Ile、Val或Trp；及/或His 35取代為Glu、Asn、Gln、Ser、Tyr或Thr。

SEQ ID NO:12中所述之CDRH2、其變異體、SEQ ID NO:17之CDRH1或相應CDR之典型類別的實例為：Met 50取代為Arg、Glu、Trp、Tyr、Gly、Gln、Val、Leu、Asn、Lys或Ala；Ile 51取代為Leu、Val、Thr、Ser或Asn；His 52取代為Asp、Leu、Asn、Ser或Tyr；Asn 53取代為Ala、Gly、Tyr、Ser、Lys或Thr；Ser 54取代為Asn、Thr、Lys、Asp或Gly；Asn 56取代為Tyr、Arg、Glu、Asp、Gly、Val、Ser或Ala；及/或Asn 58取代為Lys、Thr、Ser、Asp、Arg、Gly、Phe或Tyr。

SEQ ID NO:13中所述之CDRH3、其變異體、SEQ ID NO:17之CDRH1或相應CDR之典型類別的實例為：Val 102取代為Tyr、His、Ile、Ser、Asp或Gly。

SEQ ID NO:14中所述之CDRL1、其變異體、SEQ ID NO:19之CDRL1或相應CDR之典型類別的實例為：Asn 28取代為Ser、Asp、Thr或Glu；Val 29取代為Ile；Asn 30取

代為 Asp、Leu、Tyr、Val、Ile、Ser、Phe、His、Gly 或 Thr；Ser 31 取代為 Asn、Thr、Lys 或 Gly；Asn 32 取代為 Phe、Tyr、Ala、His、Ser 或 Arg；Val 33 取代為 Met、Leu、Ile 或 Phe；Ala 34 取代為 Gly、Asn、Ser、His、Val 或 Phe。

SEQ ID NO:15 中所述之 CDRL2、其變異體、SEQ ID NO:19 之 CDRL1 或相應 CDR 之典型類別的實例為：Ala 51 取代為 Thr、Gly 或 Val。

SEQ ID NO:16 中所述之 CDRL3、其變異體、SEQ ID NO:19 之 CDRL1 或相應 CDR 之典型類別的實例為：Gln 89 取代為 Ser、Gly、Phe 或 Leu；Gln 90 取代為 Asn 或 His；Cys 91 取代為 Asn、Phe、Gly、Ser、Arg、Asp、His、Thr、Tyr 或 Val；Asn 92 取代為 Tyr、Trp、Thr、Ser、Arg、Gln、His、Ala 或 Asp；Asn 93 取代為 Glu、Gly、His、Thr、Ser、Arg 或 Ala；Tyr 94 取代為 Asp、Thr、Val、Leu、His、Asn、Ile、Trp、Pro 或 Ser；及 / 或 Phe 96 取代為 Pro、Leu、Tyr、Arg、Ile 或 Trp。

每個 CDR、每個相應 CDR、每個結合單元、每個重鏈或輕鏈可變區、每個重鏈或輕鏈及每個抗原結合蛋白可能存在多個變異型 CDR 典型位置，且因此本發明之抗原結合蛋白中可存在取代之任何組合，其限制條件為維持 CDR 之典型結構以使得抗原結合蛋白能夠特異性結合 SAP。

如以上所討論，CDR 之特定典型結構類別係由 CDR 長度與環填充兩者定義，由位於 CDR 與構架區中之關鍵位置的

殘基決定。

因此，除 SEQ ID NO:1-6 或 11-16 中所列之 CDR、SEQ ID NO:7、9、17 或 19 之 CDR、相應 CDR、結合單元或其變異體以外，本發明之抗原結合蛋白之典型構架殘基亦可包括 (使用 Kabat 編號)：

重鏈：位置 2 之 Val、Ile 或 Gly；位置 4 之 Leu 或 Val；位置 20 之 Leu、Ile、Met 或 Val；位置 22 之 Cys；位置 24 之 Thr、Ala、Val、Gly 或 Ser；位置 26 之 Gly；位置 29 之 Ile、Phe、Leu 或 Ser；位置 36 之 Trp；位置 47 之 Trp 或 Tyr；位置 48 之 Ile、Met、Val 或 Leu；位置 69 之 Ile、Leu、Phe、Met 或 Val；位置 71 之 Val、Ala 或 Leu；位置 78 之 Ala、Leu、Val、Tyr 或 Phe；位置 80 之 Leu 或 Met；位置 90 之 Tyr 或 Phe；位置 92 之 Cys；及 / 或位置 94 之 Arg、Lys、Gly、Ser、His 或 Asn。

輕鏈：位置 2 之 Ile、Leu 或 Val；位置 3 之 Val、Gln、Leu 或 Glu；位置 4 之 Met 或 Leu；位置 23 之 Cys；位置 35 之 Trp；位置 36 之 Tyr、Leu 或 Phe；位置 46 之 Leu、Arg 或 Val；位置 49 之 Tyr、His、Phe 或 Lys；位置 71 之 Tyr 或 Phe；位置 88 之 Cys；及 / 或位置 98 之 Phe。

在一特定實施例中，重鏈構架包含以下殘基：位置 2 之 Val、位置 4 之 Leu、位置 20 之 Val、位置 22 之 Cys、位置 24 之 Ala、位置 26 之 Gly、位置 29 之 Phe、位置 36 之 Trp、位置 47 之 Trp、位置 48 之 Met、位置 69 之 Ile、位置 71 之 Ala、位置 78 之 Ala、位置 80 之 Met、位置 90 之 Tyr、位置 92 之 Cys 及

位置94之Arg；且輕鏈構架包含以下殘基：位置2之Ile、位置3之Gln、位置4之Met、位置23之Cys、位置35之Trp、位置36之Tyr、位置46之Leu、位置49之His、位置71之Phe、位置88之Cys及位置98之Phe。

本發明之抗原結合蛋白中可存在上述構架位置中之任一者、其任何組合或全部。每個重鏈或輕鏈可變區、每個重鏈或輕鏈及每個抗原結合蛋白可能存在多個變異型構架典型位置，且因此本發明之抗原結合蛋白中可存在任何組合，其限制條件為維持構架之典型結構。

人類化重鏈可變域在與SEQ ID NO:25中之人類接受體可變域序列在構架區中具有75%或75%以上、80%或80%以上、85%或85%以上、90%或90%以上、95%或95%以上、98%或98%以上、99%或99%以上或100%一致性的接受體抗體構架中可包含SEQ ID NO:1-3中所列之CDR；變異型CDR；SEQ ID NO:7中之相應CDR；結合單元；或其變異體。人類化輕鏈可變域在與SEQ ID NO:32中之人類接受體可變域序列在構架區中具有75%或75%以上、80%或80%以上、85%或85%以上、90%或90%以上、95%或95%以上、98%或98%以上、99%或99%以上或100%一致性的接受體抗體構架中可包含SEQ ID NO:4-6中所列之CDR；變異型CDR；SEQ ID NO:9中之相應CDR；結合單元；或其變異體。

人類化重鏈可變域在與SEQ ID NO:25中之人類接受體可變域序列在構架區中具有75%或75%以上、80%或80%以

上、85%或85%以上、90%或90%以上、95%或95%以上、98%或98%以上、99%或99%以上或100%一致性的接受體抗體構架中可包含SEQ ID NO:11-13中所列之CDR；變異型CDR；SEQ ID NO:17中之相應CDR；結合單元；或其變異體。人類化輕鏈可變域在與SEQ ID NO:32中之人類接受體可變域序列在構架區中具有75%或75%以上、80%或80%以上、85%或85%以上、90%或90%以上、95%或95%以上、98%或98%以上、99%或99%以上或100%一致性的接受體抗體構架中可包含SEQ ID NO:14-16中所列之CDR；變異型CDR；SEQ ID NO:19中之相應CDR；結合單元；或其變異體。

本發明亦提供抗原結合蛋白，其特異性結合於SAP且包含選自SEQ ID NO:27-31中任一者之重鏈可變區。抗原結合蛋白可包含選自SEQ ID NO:34-36中任一者之輕鏈可變區。任何重鏈可變區可與任何輕鏈可變區組合。

抗原結合蛋白可包含以下重鏈及輕鏈可變區組合中之任一者：H0L0 (SEQ ID NO:27及SEQ ID NO:34)、H0L1 (SEQ ID NO:27及SEQ ID NO:35)、H0L2 (SEQ ID NO:27及SEQ ID NO:36)、H1L0 (SEQ ID NO:28及SEQ ID NO:34)、H1L1 (SEQ ID NO:28及SEQ ID NO:35)、H1L2 (SEQ ID NO:28及SEQ ID NO:36)、H2L0 (SEQ ID NO:29及SEQ ID NO:34)、H2L1 (SEQ ID NO:29及SEQ ID NO:35)、H2L2 (SEQ ID NO:29及SEQ ID NO:36)、H3L0 (SEQ ID NO:30及SEQ ID NO:34)、H3L1 (SEQ ID NO:30及SEQ ID NO:35)、

H3L2 (SEQ ID NO:30及SEQ ID NO:36)、H4L0 (SEQ ID NO:31及SEQ ID NO:34)、H4L1 (SEQ ID NO:31及SEQ ID NO:35)或H4L2 (SEQ ID NO:31及SEQ ID NO:36)。

本發明亦提供抗原結合蛋白，其特異性結合於SAP且包含選自SEQ ID NO:37-40中任一者之重鏈可變區。抗原結合蛋白可包含SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42或SEQ ID NO:74之輕鏈可變區。任何重鏈可變區可與任何輕鏈可變區組合。

抗原結合蛋白可包含以下重鏈及輕鏈可變區組合中之任一者：H0L0 (SEQ ID NO:37及SEQ ID NO:41)、H0L1 (SEQ ID NO:37及SEQ ID NO:42)、H1L0 (SEQ ID NO:38及SEQ ID NO:41)、H1L1 (SEQ ID NO:38及SEQ ID NO:42)、H2L0 (SEQ ID NO:39及SEQ ID NO:41)、H2L1 (SEQ ID NO:39及SEQ ID NO:42)、H3L0 (SEQ ID NO:40及SEQ ID NO:41)或H3L1 (SEQ ID NO:40及SEQ ID NO:42)。

L0 (SEQ ID NO:41)可經L0 91 A (SEQ ID NO:74)取代。

抗體重鏈可變區可與SEQ ID NO:28具有75%或75%以上、80%或80%以上、85%或85%以上、90%或90%以上、95%或95%以上、96%或96%以上、97%或97%以上、98%或98%以上、99%或99%以上或100%一致性。抗體輕鏈可變區可與SEQ ID NO:35具有75%或75%以上、80%或80%以上、85%或85%以上、90%或90%以上、95%或95%以上、96%或96%以上、97%或97%以上、98%或98%以上、99%或99%以上或100%一致性。

抗體重鏈可變區可與SEQ ID NO:40具有75%或75%以上、80%或80%以上、85%或85%以上、90%或90%以上、95%或95%以上、96%或96%以上、97%或97%以上、98%或98%以上、99%或99%以上或100%一致性。抗體輕鏈可變區可與SEQ ID NO:41具有75%或75%以上、80%或80%以上、85%或85%以上、90%或90%以上、95%或95%以上、96%或96%以上、97%或97%以上、98%或98%以上、99%或99%以上或100%一致性。抗體輕鏈可變區可與SEQ ID NO:74具有75%或75%以上、80%或80%以上、85%或85%以上、90%或90%以上、95%或95%以上、96%或96%以上、97%或97%以上、98%或98%以上、99%或99%以上或100%一致性。

抗體重鏈可變區可為SEQ ID NO:27-31中之任一者的變異體，其含有30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1個胺基酸取代、插入或缺失。抗體輕鏈可變區可為SEQ ID NO:34-36中之任一者的變異體，其含有30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1個胺基酸取代、插入或缺失。

抗體重鏈可變區可為SEQ ID NO:37-40中之任一者的變異體，其含有30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1個胺基酸取代、插入或缺失。抗體輕鏈可變區可為SEQ ID NO:41、42或74之變異體，其含有30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1個胺基酸取代、插入或缺失。

舉例而言，上述典型CDR及典型構架殘基取代亦可作為至少75%一致或含有至多30個胺基酸取代之變異型序列存在於變異型重鏈或輕鏈可變區中。

任何重鏈可變區可與適合人類恆定區組合。任何輕鏈可變區可與適合恆定區組合。

本發明之抗原結合蛋白可包含SEQ ID NO:62之重鏈及/或SEQ ID NO:64之輕鏈可變區。

抗體重鏈可與SEQ ID NO:62具有75%或75%以上、80%或80%以上、85%或85%以上、90%或90%以上、95%或95%以上、96%或96%以上、97%或97%以上、98%或98%以上、99%或99%以上或100%一致性。抗體輕鏈可變區可與SEQ ID NO:64具有75%或75%以上、80%或80%以上、85%或85%以上、90%或90%以上、95%或95%以上、96%或96%以上、97%或97%以上、98%或98%以上、99%或99%以上或100%一致性。

抗體重鏈可為SEQ ID NO:62中之任一者的變異體，其含有30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1個胺基酸取代、插入或缺失。抗體輕鏈可為SEQ ID NO:64中之任一者的變異體，其含有30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1個胺基酸取代、插入或缺失。

圓盤樣SAP分子具有兩個面。5個原聚體每一者上所存在之單個 α 螺旋位於A面上。各原聚體之鈣依賴性配位體結合袋位於B面上，且因此當SAP結合於澱粉樣蛋白原纖維時此面被遮蔽。為使本發明之抗原結合蛋白具有治療效

用，由本文所述之抗原結合蛋白識別之抗原決定基宜在SAP結合於澱粉樣蛋白沈積物時在SAP中可接近，且因此位於SAP分子之A面或邊緣。抗原結合蛋白可隨後識別且結合於已結合澱粉樣蛋白之SAP，引起補體活化，從而觸發身體中有效巨噬細胞依賴性清除機制。因此，在本發明之一實施例中，抗原結合蛋白結合活體內結合於澱粉樣蛋白原纖維之人類SAP。在本發明之另一實施例中，抗原結合蛋白結合於人類SAP之A面。

抗原結合蛋白可來源於大鼠、小鼠、兔、駱駝(或相關駱駝科物種)或靈長類動物(例如獼猴(cynomolgus)、舊大陸猴(Old World monkey)、大型類人猿(Great Ape)或人類)。在一特定實施例中，抗原結合蛋白來源於小鼠。在另一實施例中，抗原結合蛋白來源於人類。抗原結合蛋白可為人類化抗體或嵌合抗體。抗原結合蛋白可為人類抗體。抗原結合蛋白不為鼠類抗體。

抗原結合蛋白可包含可為任何同型或子類之恆定區。恆定區可具有IgG同型，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或其變異體。抗原結合蛋白恆定區可為IgG1。

在本發明之一特定實施例中，抗原結合蛋白包含具有活化補體之功能的恆定區，例如人類IgG1、IgG2或IgG3。

在本發明之另一實施例中，抗原結合蛋白包含具有結合巨噬細胞之功能的恆定區，例如人類IgG1或IgG3。

在本發明之另一實施例中，抗原結合蛋白包含具有活化補體與結合巨噬細胞兩種功能的恆定區，例如人類IgG1或

IgG3。

抗原結合蛋白可包含一或多個選自突變型恆定域之修飾，以使得抗體具有改變之效應功能/ADCC及/或補體活化。適合修飾之實例描述於Shields等人，J. Biol. Chem (2001) 276: 6591-6604；Lazar等人，PNAS (2006) 103: 4005-4010；及US 6737056；WO 2004063351及WO 2004029207中。

抗原結合蛋白可包含具有改變之糖基化概況的恆定域，以使得抗原結合蛋白具有改變之效應功能/ADCC及/或補體活化。製備具有改變之糖基化概況之抗原結合蛋白的適合方法之實例描述於WO 2003/011878、WO 2006/014679及EP1229125中。

在本發明之一實施例中，選擇在負責抗原結合之區域(例如CDR)內不具有易於去醯胺化之殘基的抗原結合蛋白。在本發明之另一實施例中，選擇在負責補體活化之區域內不具有易於去醯胺化之殘基的抗原結合蛋白。

本發明亦提供一種編碼如本文所述之抗原結合蛋白之核酸分子。核酸分子可包含編碼重鏈可變序列或全長序列；及輕鏈可變序列或全長序列兩者的序列。或者，編碼本文所述之抗原結合蛋白的核酸分子可包含編碼重鏈可變序列或全長序列；或輕鏈可變序列或全長序列的序列。

編碼重鏈可變區之核酸分子可包含SEQ ID NO:51或53-57中之任一者。編碼輕鏈可變區之核酸分子可包含SEQ ID NO:52或58-60中之任一者。

編碼重鏈之核酸分子可包含SEQ ID NO:61。編碼輕鏈之核酸分子可包含SEQ ID NO:63。

編碼重鏈可變區之核酸分子可包含SEQ ID NO:65或67-70中之任一者。編碼輕鏈可變區之核酸分子可包含SEQ ID NO:66或71-73中之任一者。

核酸分子亦可含有一或多個不會改變所編碼之重鏈及/或輕鏈之胺基酸序列的核苷酸取代。

本發明亦提供一種包含如本文所述之核酸分子的表現載體。亦提供一種包含如本文所述之表現載體的重組宿主細胞。

本文所述之抗原結合蛋白可於適合宿主細胞中產生。製備如本文所述之抗原結合蛋白之方法可包含培養如本文所述之宿主細胞及回收該抗原結合蛋白之步驟。經轉型、轉染或轉導之重組宿主細胞可包含至少一個表現卡匣，其中該表現卡匣包含編碼本文所述之抗原結合蛋白之重鏈的聚核苷酸且進一步包含編碼本文所述之抗原結合蛋白之輕鏈的聚核苷酸。或者，經轉型、轉染或轉導之重組宿主細胞可包含至少一個表現卡匣，其中第一表現卡匣包含編碼本文所述之抗原結合蛋白之重鏈的聚核苷酸，且該宿主細胞進一步包含具有編碼本文所述之抗原結合蛋白之輕鏈之聚核苷酸的第二卡匣。經穩定轉型之宿主細胞可包含具有一或多個編碼本文所述之抗原結合蛋白之重鏈及/或輕鏈之表現卡匣的載體。舉例而言，該等宿主細胞可包含編碼輕鏈之第一載體及編碼重鏈之第二載體。

宿主細胞可為真核細胞，例如哺乳動物細胞。該等細胞株之實例包括CHO或NS0。宿主細胞可培養於培養基中，例如無血清培養基。抗原結合蛋白可由宿主細胞分泌至培養基中。對於該等含有抗原結合蛋白之培養基，可將抗原結合蛋白純化為至少95%或95%以上(例如98%或98%以上)。

可提供一種包含抗原結合蛋白及醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物。可提供一種包含醫藥組合物以及使用說明書的分裝部分之套組(kit-of-parts)。為方便起見，該套組可包含預定量之試劑與使用說明書。

抗體結構

完整抗體

基於恆定區之胺基酸序列，來自大多數脊椎動物物種之抗體的輕鏈可歸類為兩種類型(稱作 κ 及 λ)之一。視該等抗體之重鏈之恆定區的胺基酸序列而定，人類抗體可歸類為五種不同類別，IgA、IgD、IgE、IgG及IgM。IgG及IgA可進一步再分為子類，IgG1、IgG2、IgG3及IgG4；及IgA1及IgA2。小鼠及大鼠存在物種變異體，其至少具有IgG2a、IgG2b。

可變區之更保守部分稱作構架區(FR)。完整重鏈及輕鏈之可變域各自包含由三個CDR連接之四個FR。各鏈中之CDR由FR區密切接近地固持在一起且與來自另一鏈之CDR一起幫助形成抗體之抗原結合位點。

恆定區不直接參與抗體與抗原之結合，而是展現各種效

應功能，諸如參與抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)、經由結合於Fc γ 受體引起吞噬作用、經由新生兒Fc受體(FcRn)影響半衰期/清除速率及經由C1q組分引起補體活化從而產生補體之趨化作用、調理作用及在可行的細胞抗原目標之情況下可能的細胞溶解作用。IgG1類別之人類抗體可最有效地活化補體系統，且因此為本發明抗體之治療應用的所要同型。

已報導人類IgG2恆定區基本上無藉由經典路徑活化補體、或介導抗體依賴性細胞毒性之能力。已報導IgG4恆定區缺乏藉由經典路徑活化補體之能力且僅微弱地介導抗體依賴性細胞毒性。基本上無此等效應功能之抗體可稱為『非溶解性』抗體。

人類抗體

人類抗體可藉由熟習此項技術者已知之多種方法製備。人類抗體可藉由融合瘤方法使用人類骨髓瘤或小鼠-人類異源骨髓瘤(heteromyeloma)細胞株製備，參見Kozbor (1984) J. Immunol 133, 3001 及 Brodeur, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 51-63 (Marcel Dekker Inc, 1987)。替代性方法包括使用噬菌體文庫或轉殖基因小鼠，兩者均利用人類可變區譜系(參見 Winter (1994) Annu. Rev. Immunol 12: 433-455 ; Green (1999) J. Immunol. Methods 231: 11-23)。

當前有若干種轉殖基因小鼠品系可用，其中其小鼠免疫球蛋白基因座已經人類免疫球蛋白基因區段置換(參見

Tomizuka (2000) PNAS 97: 722-727 ; Fishwild (1996) Nature Biotechnol. 14: 845-851 ; Mendez (1997) Nature Genetics, 15: 146-156)。進行抗原攻毒之後，該等小鼠能夠產生人類抗體譜系，可自其中選擇相關抗體。

可使用噬菌體呈現技術製備人類抗原結合蛋白(及其片段)，參見 McCafferty (1990) Nature 348: 552-553 及 Griffiths 等人, (1994) EMBO 13: 3245-3260。

可使用親和力成熟技術(Marks Bio/technol (1992) 10: 779-783)改良結合親和力，其中初級人類抗體之親和力藉由用天然存在之變異體相繼置換重(H)鏈及輕(L)鏈可變區且基於改良之結合親和力進行選擇來改良。當前亦可利用此技術之變化形式(諸如「抗原決定基印記法(epitope imprinting)」)，參見例如 WO 93/06213 ; Waterhouse (1993) Nucl. Acids Res. 21: 2265-2266。

嵌合抗體及人類化抗體

通常使用重組DNA方法製備嵌合抗體。分離編碼抗體之DNA(例如cDNA)且使用習知程序，例如藉由使用能夠特異性結合於編碼抗體之H鏈及L鏈之基因的寡核苷酸探針進行定序。融合瘤細胞用作該DNA之典型來源。分離之後，將DNA置於表現載體中，隨後將該等表現載體轉染至不另外產生免疫球蛋白之宿主細胞(諸如大腸桿菌(E. coli)、COS細胞、CHO細胞或骨髓瘤細胞)中以獲得抗體合成。DNA可藉由用人類L鏈及H鏈之編碼序列取代相應非人類(例如鼠類)H及L恆定區來修飾，參見例如 Morrison

(1984) PNAS 81:6851。

免疫原性顯著降低可藉由僅將非人類(例如鼠類)抗體(「供體」抗體)之CDR移植於人類構架(「接受體構架」)及恆定區上以產生人類化抗體來達成(參見Jones等人, (1986) Nature 321: 522-525; 及 Verhoeyen等人, (1988) Science 239: 1534-1536)。然而, CDR移植本身可能不會使抗原結合性質完全保留, 且經常發現若欲恢復顯著抗原結合親和力, 則供體抗體之一些構架殘基(有時稱作「回復突變」)需要保留在人類化分子中(參見Queen等人, (1989) PNAS 86: 10,029-10,033; Co等人, (1991) Nature 351: 501-502)。在此情況下, 自資料庫中選擇與非人類供體抗體顯示最大序列同源性之人類可變區, 以提供人類構架(FR)。可自人類共同抗體或個別人類抗體選擇人類FR。必要時, 可將來自供體抗體之關鍵殘基取代至人類接受體構架中以保持CDR構形。可使用抗體之電腦模型化來幫助鑑別該等結構上重要之殘基, 參見WO 99/48523。

或者, 可藉由「鑲面(veneering)」方法達成人類化。對獨特人類及鼠類免疫球蛋白重鏈及輕鏈可變區進行之統計分析揭示, 人類及鼠類抗體之暴露殘基的精確型態不同, 且大多數個別表面位置強烈優選少數不同殘基(參見Padlan等人, (1991) Mol. Immunol. 28: 489-498; 及 Pedersen等人, (1994) J. Mol. Biol. 235: 959-973)。因此, 可藉由置換非人類Fv之構架區中與人類抗體中通常所發現之殘基不同的暴露殘基來降低非人類Fv之免疫原性。因為蛋白質抗原性

可能與表面可接近性相關，因此置換表面殘基可足以使小鼠可變區對於人類免疫系統「不可見」(亦參見Mark等人，(1994) Handbook of Experimental Pharmacology, 第113卷: The pharmacology of Monoclonal Antibodies, Springer-Verlag, 105-134)。此人類化程序稱作「鑲面」，因為僅改變抗體之表面，而支撐殘基保持原狀。其他替代性方法包括 WO04/006955 中所述之方法及 Humaneering™ 程序 (Kalobios)，該程序利用細菌表現系統且產生序列接近於人類生殖系之抗體 (Alfenito-M Advancing Protein Therapeutics, 2007年1月, San Diego, California)。

雙特異性抗原結合蛋白

雙特異性抗原結合蛋白為對至少兩種不同抗原決定基具有結合特異性之抗原結合蛋白。製備該等抗原結合蛋白之方法為此項技術中已知。傳統上，重組製備雙特異性抗原結合蛋白係基於共表現兩個免疫球蛋白H鏈-L鏈對，其中兩個H鏈具有不同結合特異性，參見Millstein等人，(1983) Nature 305: 537-539；WO 93/08829；及Traunecker等人，(1991) EMBO 10: 3655-3659。因為H鏈及L鏈之隨機搭配，故產生十種不同抗體結構之可能混合物，其中僅一種具有所要結合特異性。替代性方法涉及使具有所要結合特異性之可變域與包含至少一部分鉸鏈區、CH2區及CH3區之重鏈恆定區融合。含有輕鏈結合所必需之位點的CH1區可存在於至少一種融合體中。將編碼此等融合體之DNA及必要時L鏈插入各別表現載體中且隨後共轉染至適合宿主

生物體中。然而，有可能將兩個或全部三個鏈之編碼序列插入一個表現載體中。在一種方法中，雙特異性抗體由一臂中具有第一結合特異性之H鏈及另一臂中提供第二結合特異性之H-L鏈對構成，參見WO 94/04690。亦參見Suresh等人，(1986) *Methods in Enzymology* 121: 210。

抗原結合片段

缺少恆定區之片段缺乏藉由經典路徑活化補體或介導抗體依賴性細胞毒性之能力。傳統上，該等片段藉由完整抗體之蛋白水解消化，例如藉由木瓜蛋白酶消化而產生(參見例如WO 94/29348)，但可自經重組轉型之宿主細胞直接產生。對於製備ScFv，參見Bird等人，(1988) *Science* 242: 423-426。此外，抗原結合片段可使用如下文所述之多種工程改造技術製備。

相較於Fab片段，Fv片段之兩條鏈呈現出具有較低相互作用能。為使VH與VL域之締合穩定，將其用以下連接：肽(Bird等人，(1988) *Science* 242: 423-426；Huston等人，(1988) *PNAS* 85(16): 5879-5883)、二硫橋(Glockshuber等人，(1990) *Biochemistry* 29: 1362-1367)及「孔中丘(knob in hole)」突變(Zhu等人，(1997) *Protein Sci.*, 6: 781-788)。ScFv片段可藉由熟習此項技術者熟知之方法製備，參見Whitlow等人，(1991) *Methods Companion Methods Enzymol*, 2: 97-105及Huston等人，(1993) *Int. Rev. Immunol* 10: 195-217。ScFv可在細菌細胞(諸如大腸桿菌)中或真核細胞中產生。ScFv之一個缺點為產物為單價，此阻止經由多價結

合而提高親合性，及其短半衰期。克服此等問題之嘗試包括自含有額外C端半胱胺酸之ScFv藉由化學偶合製備的二價(ScFv')₂(Adams等人，(1993) *Can. Res* 53: 4026-4034；及McCartney等人，(1995) *Protein Eng.* 8: 301-314)或藉由含有未配對之C端半胱胺酸殘基的ScFv進行自發性位點特异性二聚合製備的二價(ScFv')₂(參見Kipriyanov等人，(1995) *Cell. Biophys* 26: 187-204)。或者，可藉由縮短肽連接子至3至12個殘基而迫使ScFv形成多聚物來形成「雙功能抗體」，參見Holliger等人，(1993) *PNAS* 90: 6444-6448。更進一步縮減連接子可產生ScFv三聚物(「三功能抗體」，參見Kortt等人，(1997) *Protein Eng* 10: 423-433)及四聚體(「四功能抗體」，參見Le Gall等人，(1999) *FEBS Lett*, 453: 164-168)。二價ScFv分子之構築亦可藉由與蛋白質二聚合基元遺傳融合來達成，以形成「微抗體(miniantibody)」(參見Pack等人，(1992) *Biochemistry* 31: 1579-1584)及「微型抗體(minibody)」(參見Hu等人，(1996) *Cancer Res.* 56: 3055-3061)。ScFv-Sc-Fv串聯體((ScFv)₂)亦可藉由利用第三肽連接子連接兩個ScFv單元來製備，參見Kurucz等人，(1995) *J. Immol.* 154: 4576-4582。雙特异性雙功能抗體可經由使兩個由一抗體之VH域經短連接子連接至另一抗體之VL域組成的單鏈融合產物非共價締合來製備，參見Kipriyanov等人，(1998) *Int. J. Can* 77: 763-772。該等雙特异性雙功能抗體之穩定性可如前文所述藉由引入二硫橋或「孔中丘」突變，或藉由形成兩個雜交

ScFv片段經由肽連接子連接的單鏈雙功能抗體(ScDb)(參見Kontermann等人, (1999) J. Immunol. Methods 226:179-188)來增強。四價雙特異性分子可藉由例如使ScFv片段與IgG分子之CH3域或與Fab片段經由鉸鏈區融合而獲得, 參見Coloma等人, (1997) Nature Biotechnol. 15: 159-163。或者, 四價雙特異性分子已藉由使雙特異性單鏈雙功能抗體融合來產生(參見Alt等人, FEBS Lett 454: 90-94)。較小四價雙特異性分子亦可藉由使ScFv-ScFv串聯體用含有螺旋-環-螺旋基元之連接子二聚合(DiBi微抗體, 參見Muller等人, (1998) FEBS Lett 432: 45-49)或使以防止分子內配對之位向包含四個抗體可變域(VH及VL)之單鏈分子二聚合(串聯雙功能抗體, 參見Kipriyanov等人, (1999) J. Mol. Biol. 293: 41-56)來形成。雙特異性F(ab')₂片段可藉由使Fab'片段化學偶合或藉由經由白胺酸拉鏈(leucine zipper)發生雜二聚合來產生(參見Shalaby等人, (1992) J. Exp. Med. 175: 217-225; 及Kostelny等人, (1992), J. Immunol. 148: 1547-1553)。亦可利用經分離之VH及VL域(Domantis plc), 參見US 6,248,516; US 6,291,158; 及US 6,172,197。

異結合抗體

異結合抗體由使用任何適宜交聯方法所形成的兩個共價聯接之抗體構成。參見例如US 4,676,980。

其他修飾

本發明之抗原結合蛋白可包含其他修飾以增強或改變其效應功能。咸信抗體之Fc區與各種Fc受體(FcγR)之間的相

互作用介導抗體之效應功能，包括抗體依賴性細胞毒性 (ADCC)、固定補體、吞噬作用及抗體之半衰期/清除。可視所要性質而定對抗體之Fc區進行各種修飾。舉例而言，在Fc區中進行特定突變以獲得以其他方式溶解之抗體、非溶解性抗體詳述於EP 0629240及EP 0307434中，或可將結合救助受體之抗原決定基併入抗體中以增加血清半衰期，參見US 5,739,277。人類Fc γ 受體包括Fc γ R (I)、Fc γ RIIa、Fc γ RIIb、Fc γ RIIIa及新生兒FcRn。Shields等人，(2001) J. Biol. Chem 276: 6591-6604證明一組共同IgG1殘基參與結合所有Fc γ R，而Fc γ RII及Fc γ RIII利用此組共同殘基以外的不同位點。一組IgG1殘基(Pro-238、Asp-265、Asp-270、Asn-297及Pro-239)在變為丙胺酸時使與所有Fc γ R之結合減少。其均處於IgG CH2域中且叢集在聯接CH1與CH2之鉸鏈附近。雖然Fc γ RI僅利用該組共同IgG1殘基進行結合，但Fc γ RII及Fc γ RIII與除該組共同殘基以外之不同殘基相互作用。改變一些殘基僅使與Fc γ RII(例如 Arg-292)或Fc γ RIII(例如 Glu-293)之結合減少。一些變異體顯示與Fc γ RII或Fc γ RIII之結合改良，但不影響與另一受體之結合(例如 Ser-267Ala使與Fc γ RII之結合改良，而與Fc γ RIII之結合未受影響)。其他變異體展現使Fc γ RII或Fc γ RIII之結合改良，而使與另一受體之結合減少(例如 Ser-298Ala使與Fc γ RIII之結合改良且使與Fc γ RII之結合減少)。對於Fc γ RIIIa，最佳結合IgG1變異體在Ser-298、Glu-333及Lys-334具有組合之丙胺酸取代。咸信新生兒FcRn受體參與組

織中的抗體清除與轉胞吞作用(transcytosis)(參見Junghans (1997) Immunol. Res 16: 29-57 ; 及 Ghetie 等人, (2000) Annu. Rev. Immunol. 18: 739-766)。確定與人類FcRn直接相互作用之人類IgG1殘基包括Ile253、Lys288、Thr307、Gln311、Asn434及His435。在此部分中所述之任何位置之取代均能夠增加抗體之血清半衰期及/或改變抗體之效應性質。

其他修飾包括抗體之糖基化變異體。已知抗體在恆定區之保守位置糖基化對抗體功能、尤其效應功能(諸如上述效應功能)具有顯著影響, 參見例如Boyd等人, (1996) Mol. Immunol. 32: 1311-1318。涵蓋抗體或其抗原結合片段之糖基化變異體, 其中添加、取代、缺失或修飾一或多個碳水化合物部分。引入天冬醯胺酸-X-絲胺酸或天冬醯胺酸-X-蘇胺酸基元產生用於酶連接碳水化合物部分之可能位點, 且因此可用於操作抗體之糖基化。在Raju等人, (2001) Biochemistry 40: 8868-8876中, 經由一種使用 β -1,4-半乳糖基轉移酶及/或 α -2,3-唾液酸轉移酶進行再半乳糖基化及/或再唾液酸化之方法增加TNFR-IgG免疫黏附素(immunoadhesin)之末端唾液酸化。咸信增加末端唾液酸化會增加免疫球蛋白之半衰期。與大多數醣蛋白相同, 抗體通常產生呈糖型(glycoforms)之混合物。當抗體在真核細胞、尤其哺乳動物細胞中產生時, 此混合物尤其明顯。已開發多種方法來製造指定糖型, 參見Zhang等人, (2004) Science 303: 371; Sears等人, (2001) Science 291: 2344 ;

Wacker等人, (2002) *Science* 298: 1790 ; Davis等人, (2002) *Chem. Rev.* 102: 579 ; Hang等人, (2001) *Acc. Chem. Res* 34: 727。如本文中所述之抗體(例如IgG同型, 例如IgG1)可包含指定數目(例如7個或7個以下, 例如5個或5個以下, 諸如2個或單個)之糖型。

抗體可與非蛋白質性聚合物(諸如聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇或聚氧伸烷基(polyoxyalkylene))偶合。蛋白質與PEG接合為一種已確立之增加蛋白質半衰期以及降低蛋白質之抗原性及免疫原性的技術。已研究不同分子量及形式(線性或分支)之聚乙二醇化用於完整抗體以及Fab'片段, 參見Koumenis等人(2000) *Int. J. Pharmaceut.* 198: 83-95。

製備方法

抗原結合蛋白可在如下轉殖基因生物體中產生: 諸如山羊(參見Pollock等人, (1999) *J. Immunol. Methods* 231: 147-157)、雞(參見Morrow (2000) *Genet. Eng. News* 20: 1-55)、小鼠(參見Pollock等人)或植物(參見Doran (2000) *Curr. Opinion Biotechnol.* 11: 199-204 ; Ma (1998) *Nat. Med.* 4: 601-606 ; Baez等人, (2000) *BioPharm* 13: 50-54 ; Stoger等人, (2000) *Plant Mol. Biol.* 42: 583-590)。

抗原結合蛋白亦可藉由化學合成來製備。然而, 抗原結合蛋白通常使用熟習此項技術者熟知之重組細胞培養技術來製備。分離編碼抗原結合蛋白之聚核苷酸且插入可複製載體(諸如質體)中以供進一步選殖(擴增)或表現。一種表現系統為麩胺酸合成酶系統(諸如Lonza Biologics所出

售)，尤其在宿主細胞為CHO或NS0之情況下。容易地分離編碼抗原結合蛋白之聚核苷酸且使用習知程序(例如寡核苷酸探針)進行定序。可使用之載體包括質體、病毒、噬菌體、轉座子、微型染色體(minichromosome)，其中通常使用質體。一般而言，該等載體進一步包括信號序列、複製起點、一或多個標記基因、強化子元件、啟動子及轉錄終止序列可操作地連接於抗原結合蛋白聚核苷酸以促進表現。可將編碼輕鏈及重鏈之聚核苷酸插入各別載體中且同時或相繼引入(例如藉由轉型、轉染、電穿孔或轉導)同一宿主細胞中，或必要時可將重鏈與輕鏈插入同一載體中隨後進行該引入。

可使用密碼子最佳化，其目的在於使在用經密碼子最佳化之基因轉染時宿主細胞所產生之蛋白質的總含量大於在用該序列轉染時之含量。已公開若干種方法(Nakamura等人，(1996) *Nucleic Acids Research* 24: 214-215；W098/34640；W097/11086)。由於遺傳密碼之冗餘性，因此本文所揭示之聚核苷酸(尤其針對在指定宿主細胞中表現而密碼子最佳化者)的替代性聚核苷酸亦可編碼本文所述之抗原結合蛋白。因此，本發明之抗原結合蛋白所用之密碼子可經修飾以調節宿主細胞之密碼子偏好以便增加轉錄物及/或產物產量(例如Hoekema等人，*Mol Cell Biol* 1987 7(8): 2914-24)。密碼子之選擇可基於與表現所用之宿主細胞的適合相容性。

信號序列

抗原結合蛋白可產生為與異源信號序列之融合蛋白，在成熟蛋白質之N端具有特異性裂解位點。信號序列應由宿主細胞識別及加工。對於原核宿主細胞，信號序列可為例如鹼性磷酸酶、青黴素酶(penicillinase)或熱穩定腸毒素II前導序列。對於酵母分泌，信號序列可為例如酵母轉化酶前導序列、 α 因子前導序列或酸性磷酸酶前導序列，參見例如WO90/13646。在哺乳動物細胞系統中，病毒分泌型前導序列(諸如疱疹單純型gD信號及天然免疫球蛋白信號序列)可能適合。通常，信號序列在閱讀框架中與編碼抗原結合蛋白之DNA連接。可使用鼠類信號序列，諸如SEQ ID NO:79中所示者。

複製起點

複製起點為此項技術中所熟知，其中pBR322適用於大多數革蘭氏陰性(gram-negative)細菌，2 μ 質體適用於大多數酵母，且各種病毒起點(諸如SV40、多瘤病毒、腺病毒、VSV或BPV)適用於大多數哺乳動物細胞。一般而言，哺乳動物表現載體並不需要複製起點組分，但可使用SV40，因為其含有早期啟動子。

選擇標記

典型選擇基因編碼如下蛋白質：(a)賦予對抗生素或其他毒素(例如胺苄西林(ampicillin)、新黴素(neomycin)、甲胺喋呤(methotrexate)或四環素(tetracycline))之抗性，或(b)補充營養缺陷(auxiotrophic deficiency)或供應複合培養基中不可獲得之營養物，或(c)兩者之組合。選擇流程可涉及

阻滯宿主細胞生長。已經編碼抗原結合蛋白之基因成功轉型之細胞由於例如共同傳遞之選擇標記所賦予之耐藥性而存活。一實例為DHFR選擇標記，其中轉型體係在甲胺喋呤存在下培養。可在遞增量之甲胺喋呤存在下培養細胞以擴增相關外源基因之複本數。CHO細胞為尤其適用於DHFR選擇之細胞株。另一實例為麩胺酸合成酶表現系統(Lonza Biologics)。適用於酵母之選擇基因之一實例為trp1基因，參見Stinchcomb等人，(1979) Nature 282: 38。

啟動子

適用於表現抗原結合蛋白之啟動子可操作地連接於編碼抗原結合蛋白之DNA/聚核苷酸。用於原核宿主之啟動子包括phoA啟動子、 β -內醯胺酶及乳糖啟動子系統、鹼性磷酸酶、色胺酸及雜合啟動子(諸如Tac)。適用於在酵母細胞中表現的啟動子包括3-磷酸甘油酸激酶或其他醣解酶，例如烯醇酶、甘油醛-3-磷酸去氫酶、己醣激酶、丙酮酸去羧酶、磷酸果糖激酶、葡萄糖-6-磷酸異構酶、3-磷酸甘油酸變位酶及葡萄糖激酶。誘導性酵母啟動子包括醇去氫酶2、異細胞色素C、酸性磷酸酶、金屬硫蛋白及負責氮代謝或麥芽糖/半乳糖利用之酶。

用於在哺乳動物細胞系統中表現之啟動子包括病毒啟動子，例如多瘤病毒、禽痘及腺病毒(例如腺病毒2)、牛乳突狀瘤病毒、鳥肉瘤病毒、細胞巨大病毒(尤其即刻早期基因啟動子)、反轉錄病毒、B型肝炎病毒、肌動蛋白、勞斯肉瘤病毒(RSV)啟動子及早期或晚期猿猴病毒40。當然，

啟動子之選擇係基於與表現所用之宿主細胞的適合相容性。第一質體可包含RSV及/或SV40及/或CMV啟動子、編碼輕鏈可變區(VL)之DNA、 κ C區以及新黴素及胺苄西林抗性選擇標記，且第二質體包含RSV或SV40啟動子、編碼重鏈可變區(VH)之DNA、編碼 γ 1恆定區之DNA、DHFR及胺苄西林抗性標記。

強化子元件

適當時，例如對於在高等真核細胞中表現，可使用可操作地連接於載體中之啟動子元件的強化子元件。哺乳動物強化子序列包括來自血球蛋白、彈性蛋白酶、白蛋白、胎蛋白及胰島素之強化子元件。

或者，可使用來自真核細胞病毒之強化子元件，諸如SV40強化子(bp100-270)、細胞巨大病毒早期啟動子強化子、多瘤病毒強化子、桿狀病毒強化子或鼠類IgG2a基因座(參見WO04/009823)。強化子可位於載體上啟動子上游之位點。或者，強化子可位於別處，例如在非轉譯區內或在聚腺苷酸化信號之下游。強化子之選擇及定位可基於與表現所用之宿主細胞的適合相容性。

聚腺苷酸化/終止

在真核系統中，聚腺苷酸化信號可操作地連接於編碼抗原結合蛋白之DNA/聚核苷酸。該等信號通常安置於開放閱讀框架之3'。在哺乳動物系統中，非限制性實例包括來源於生長激素、延伸因子-1 α 及病毒(例如SV40)基因或反轉錄病毒長末端重複序列的信號。在酵母系統中，聚腺苷

酸化/終止信號之非限制性實例包括來源於磷酸甘油酸激酶(PGK)及醇去氫酶1(ADH)基因之信號。在原核系統中，通常不需要聚腺苷酸化信號且通常改為採用較短且更確定之終止子序列。聚腺苷酸化/終止序列之選擇可基於與表現所用之宿主細胞的適合相容性。

用於提高產量之其他方法/元件

除上述以外，可用於提高產量之其他特徵包括染色質重塑元件、內含子及宿主細胞特異性密碼子修飾。

宿主細胞

用於選殖或表現編碼抗原結合蛋白之載體的適合宿主細胞為原核細胞、酵母或高等真核細胞。適合原核細胞包括真細菌，例如腸內菌科(enterbacteriaceae)(諸如大腸桿菌屬(*Escherichia*)，例如大腸桿菌(例如 ATCC 31,446；31,537；27,325))、腸內桿菌屬(*Enterobacter*)、伊文氏桿菌屬(*Erwinia*)、克雷伯氏變形桿菌(*Klebsiella* *Proteus*)、沙氏桿菌屬(*Salmonella*)(例如鼠傷寒沙氏桿菌(*Salmonella typhimurium*))、沙雷氏菌屬(*Serratia*)(例如黏質沙雷氏菌(*Serratia marcescans*))及志賀桿菌屬(*Shigella*)以及芽孢桿菌屬(*Bacilli*)(諸如枯草芽孢桿菌(*B. subtilis*)及地衣芽孢桿菌(*B. licheniformis*)(參見 DD 266 710))、假單胞菌屬(*Pseudomonas*)(諸如綠膿桿菌(*P. aeruginosa*))及鏈黴菌屬(*Streptomyces*)。在酵母宿主細胞中，亦涵蓋釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、克魯維酵母屬(*Kluyveromyces*)(例如 ATCC

16,045 ; 12,424 ; 24178 ; 56,500)、耶氏酵母屬 (*Yarrowia*) (EP402,226)、甲醇酵母 (*Pichia pastoris*) (EP 183 070, 亦參見 Peng 等人, (2004) *J. Biotechnol.* 108: 185-192)、念珠菌屬 (*Candida*)、里氏木黴 (*Trichoderma reesia*) (EP 244 234)、青黴屬 (*Penicillin*)、彎頸黴屬 (*Tolypocladium*) 及麴黴屬 (*Aspergillus*) 宿主 (諸如溝巢麴黴 (*A. nidulans*) 及黑麴黴 (*A. niger*))。

高等真核宿主細胞包括哺乳動物細胞，諸如 COS-1 (ATCC 編號：CRL 1650)、COS-7 (ATCC CRL 1651)、人類胚腎細胞株 293、幼倉鼠腎細胞 (BHK) (ATCC CRL1632)、BHK570 (ATCC 編號：CRL 10314)、293 (ATCC 編號：CRL 1573)、中國倉鼠卵巢細胞 CHO (例如 CHO-K1、ATCC 編號：CCL 61、DHFR-CHO 細胞株，諸如 DG44 (參見 Urlaub 等人, (1986) *Somatic Cell Mol. Genet.* 12: 555-556)，特別適合於懸浮培養之 CHO 細胞株)、小鼠足細胞、猴腎細胞、非洲綠猴腎細胞 (ATCC CRL-1587)、海拉細胞 (HELA cell)、犬腎細胞 (ATCC CCL 34)、人類肺細胞 (ATCC CCL 75)、Hep G2 及骨髓瘤或淋巴瘤細胞，例如 NS0 (參見 US 5,807,715)、Sp2/0、Y0。

該等宿主細胞亦可進一步進行工程改造或適於改良抗原結合蛋白之品質、功能及/或產量。非限制性實例包括表現特異性修飾 (例如糖基化) 酶及蛋白質摺疊伴隨蛋白。

細胞培養方法

可藉由熟習此項技術者已知之任何方法培養經編碼抗原

結合蛋白之載體轉型的宿主細胞。宿主細胞可培養於旋轉燒瓶、滾瓶或中空纖維系統中，但對於大規模製備，特別使用攪拌槽反應器進行懸浮培養。攪拌槽可適於使用例如噴灑器、擋板或低剪切力葉輪來通氣。對於氣泡塔及氣升反應器，可使用空氣或氧氣泡直接通氣。若於無血清培養基中培養宿主細胞，則向培養基中補充細胞保護劑(諸如氧化異丙烯 F-68)以幫助防止細胞因通氣過程而受到損傷。視宿主細胞特徵而定，可使用任何微載體作為固著依賴性細胞株之生長基板，或細胞可適於懸浮培養(其為典型的)。宿主細胞(尤其無脊椎動物宿主細胞)之培養可使用多種操作模式，諸如分批進料、重複分批處理(參見 Drapeau 等人, (1994) *Cytotechnology* 15: 103-109)、延長分批法或灌注培養。儘管經重組轉型之哺乳動物宿主細胞可於含血清培養基(諸如胎牛血清(FCS))中培養，但該等宿主細胞亦可於合成無血清培養基(諸如 Keen 等人, (1995) *Cytotechnology* 17: 153-163 中所揭示)或市售培養基(諸如 ProCHO-CDM 或 UltraCHO™(Cambrex NJ, USA))中培養，必要時補充能源(諸如葡萄糖)及合成生長因子(諸如重組胰島素)。宿主細胞之無血清培養可能需要使此等細胞適於在無血清條件下生長。一種適應方法為於含血清培養基中培養該等宿主細胞且將 80% 之培養基重複交換為無血清培養基，使得宿主細胞學會適應無血清條件(參見例如 Scharfenberg 等人, (1995) *Animal Cell Technology: Developments towards the 21st century* (Beuvery 等人編, 619-623, Kluwer

Academic publishers))。

可回收分泌至培養基中之抗原結合蛋白且使用多種技術進行純化以得到適於預定用途之純化程度。舉例而言，使用抗原結合蛋白治療人類患者通常要求純度為至少95%，更通常純度為98%或99%或99%以上(與粗培養基比較)。通常使用離心，繼而使用例如微濾、超濾及/或深部過濾進行上清液之澄清步驟自培養基中移除細胞碎片。可利用多種其他技術，諸如透析；及凝膠電泳；及層析技術，諸如羧基磷灰石(HA)、親和層析(視情況涉及親和力標記系統，諸如聚組胺酸)及/或疏水性相互作用層析(HIC，參見US 5,429,746)。繼各種澄清步驟之後，可使用蛋白質A或G親和層析來捕捉抗體。其他層析步驟可遵循諸如離子交換及/或HA層析、陰離子或陽離子交換、尺寸排阻層析及硫酸銨沈澱。亦可採用各種病毒移除步驟(例如，使用例如DV-20過濾器進行奈米過濾)。繼此等各種步驟之後，得到包含至少75 mg/ml或75 mg/ml以上、或100 mg/ml或100 mg/ml以上之抗原結合蛋白的經純化(例如單株)製劑。該等製劑實質上不含凝集形式之抗原結合蛋白。

可使用細菌系統來表現抗原結合片段。該等片段可位於細胞內、位於周質中或分泌至細胞外。可根據熟習此項技術者已知之方法萃取不溶性蛋白質且再摺疊以形成活性蛋白質，參見Sanchez等人，(1999) J. Biotechnol. 72:13-20；及Cupit等人，(1999) Lett Appl Microbiol 29: 273-277。

去醯胺化為移除醯胺官能基之化學反應。在生物化學

中，該反應在蛋白質之降解中為重要的，因為其破壞胺基酸天冬醯胺及麩醯胺酸之含醯胺側鏈。天冬醯胺轉化為異天冬胺酸與天冬胺酸之混合物。麩醯胺酸殘基之去醯胺化以低得多的速率進行。咸信去醯胺化反應為可限制蛋白質之有效壽命的因素之一，其亦為在製造治療性蛋白質期間所發生的最常見轉譯後修飾之一。舉例而言，對於重組人類DNA酶及重組可溶性CD4，已報導活體外或活體內生物活性之降低或喪失，而其他重組蛋白質似乎未受影響。

醫藥組合物

可將如本文所述之抗原結合蛋白的經純化製劑併入用於治療本文所述之人類疾病、病症及病狀的醫藥組合物中。術語疾病、病症及病狀可互換使用。醫藥組合物可用於治療澱粉樣蛋白沈積物存在於組織中且促成結構及功能破壞從而引起臨床疾患的任何疾病。SAP總是存在於活體內所有澱粉樣蛋白沈積物中，且包含治療有效量之本文所述之抗原結合蛋白的醫藥組合物可用於治療對自組織清除澱粉樣蛋白沈積物有反應的疾病。

醫藥製劑可包含抗原結合蛋白與醫藥學上可接受之載劑的組合。抗原結合蛋白可單獨或作為醫藥組合物之一部分投與。

通常，該等組合物包含可接受之醫藥實踐已知且要求的醫藥學上可接受之載劑，參見例如Remingtons Pharmaceutical Sciences, 第16版(1980) Mack Publishing Co。該等載劑之實例包括無菌載劑，諸如生理食鹽水、林格氏溶液

(Ringers solution)或右旋糖溶液，視情況用適合緩衝劑緩衝至5至8範圍內之pH值。

醫藥組合物可藉由注射或連續輸注(例如靜脈內、腹膜內、皮內、皮下、肌肉內或門脈內)來投與。該等組合物宜不含可見顆粒物質。醫藥組合物亦可經口投與，尤其含有CPHPC之醫藥組合物。

醫藥組合物可包含1 mg至10 g抗原結合蛋白，例如5 mg至1 g抗原結合蛋白。或者，組合物可包含5 mg至500 mg，例如5 mg至50 mg抗原結合蛋白。

製備該等醫藥組合物之方法為熟習此項技術者所熟知。醫藥組合物可包含1 mg至10 g單位劑型形式的抗原結合蛋白，視情況連同使用說明書一起。醫藥組合物可進行凍乾(冷凍乾燥)以在投與之前根據熟習此項技術者熟知或顯而易知的方法復原。若抗體具有IgG1同型，則可向醫藥組合物中添加銅之螯合劑(諸如檸檬酸鹽(例如檸檬酸鈉)或EDTA或組胺酸)以降低銅介導之此同型抗體之降解的程度，參見EP0612251。醫藥組合物亦可包含增溶劑，諸如精胺酸鹼；清潔劑/抗凝集劑，諸如聚山梨醇酯80；及諸如氮氣之惰性氣體以置換小瓶頂空氣氣。

投與抗原結合蛋白之有效劑量及治療方案一般憑經驗確定，且可取決於諸如患者之年齡、體重及健康狀況及待治療之疾病或病症的因素。該等因素在主治醫師之考慮範圍內。選擇適當劑量之指導規則可見於例如Smith等人，(1977) Antibodies in human diagnosis and therapy, Raven

Press, New York 中。

投與至個體之抗原結合蛋白之劑量一般為每公斤個體體重 1 μ g 至 150 mg、0.1 mg 至 100 mg、0.5 mg 至 50 mg、1 mg 至 25 mg 或 1 mg 至 10 mg。舉例而言，劑量可為 10 mg/kg、30 mg/kg 或 60 mg/kg。抗原結合蛋白可非經腸投與，例如皮下、靜脈內或肌肉內投與。

耗乏 SAP 之化合物可視其活性而定以 0.1 mg/kg 至 2 mg/kg 之劑量投與。耗乏 SAP 之化合物可以固定劑量投與，與劑量/個體體重比率無關。耗乏 SAP 之化合物可以 100 mg 或 100 mg 以下、50 mg 或 50 mg 以下、25 mg 或 25 mg 以下或 10 mg 或 10 mg 以下之一或多個分開、同時或相繼非經腸劑量投與。

必要時，治療組合物之有效日劑量可以 2、3、4、5、6 個或 6 個以上次劑量以適當時間間隔視情況以單位劑型在全天內分開投與。

抗原結合蛋白可以單次大劑量或以較小重複劑量投與。

劑量之投與可為緩慢連續輸注歷經 2 至 24 小時，諸如 2 至 12 小時或 2 至 6 小時。此可降低毒性副作用。

必要時可一或多次重複投與劑量，例如每天三次、每天一次、每兩天一次、每週一次、兩週一次、一個月一次、每三個月一次、每六個月一次或每十二個月一次。抗原結合蛋白可藉由維持療法投與，例如每週一次，歷時 6 個月或 6 個月以上。抗原結合蛋白可藉由間歇療法投與，例如歷時 3 至 6 個月之時期，隨後停止給藥 3 至 6 個月，繼而再次

投與抗原結合蛋白歷時3至6個月等，如此循環。

舉例而言，劑量可以各投藥日投與多個次劑量之形式每14天或28天皮下投與1次。

可以使療法靶向特定位點之方式投與個體抗原結合蛋白。舉例而言，抗原結合蛋白可局部注射至組織中之局部澱粉樣變性塊周圍，或輸注至供給澱粉樣變性器官之血液中。

抗原結合蛋白須與一或多種其他治療活性劑、尤其耗乏SAP之化合物組合用於治療本文所述之疾病。自循環中有有效耗乏SAP須在投與SAP結合蛋白之前達成以便安全且有效地給與SAP結合蛋白。

首先投與耗乏SAP之化合物以清除幾乎所有循環SAP。因為此舉留下組織中實質量之與澱粉樣蛋白沈積物結合的SAP，故相繼投與抗SAP抗原結合蛋白使得能夠定位且特異性結合於澱粉樣蛋白沈積物從而促進其快速且廣泛的消退。適合的是，抗SAP抗原結合蛋白可在開始用耗乏SAP之化合物治療之後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、20或25天或25天以上投與。

相繼投藥可涉及用耗乏SAP之化合物相繼治療兩次或兩次以上，繼而用抗SAP抗原結合蛋白相繼治療兩次或兩次以上。

相繼投藥可涉及用耗乏SAP之化合物治療一次，繼而用抗SAP抗原結合蛋白相繼治療一次，該治療隨後重複一或多次。

相繼/後續劑量可為大於初始/先前劑量或小於初始/先前劑量之量。

投與初始劑量的耗乏SAP之化合物蛋白之後投與一或多次相繼(例如後續)劑量的耗乏SAP之化合物及/或抗SAP抗原結合蛋白，且其中該一或多次相繼劑量可為與初始劑量大致相同或小於初始劑量之量。

在初始耗乏循環SAP之後，投與另外劑量的耗乏SAP之化合物及第一劑量的抗SAP抗原結合蛋白，之後可投與一或多次相繼(例如後續)劑量，且其中至少一次後續劑量為大於初始劑量之量。

因此，投藥可使用預定或常規投藥時程，從而使劑量投與之間存在預定指定時間段。時程可涵蓋長度相同或不同的時間段，只要該時程為預定的即可。時程將涵蓋任何特定組合，只要提前確定適當時程涉及於某一天投藥即可。

醫藥組合物可包含抗原結合蛋白連同其他藥物，視情況連同使用說明書的分裝部分之套組。為方便起見，該套組可包含預定量之試劑與使用說明書。

術語「個體」及「患者」在本文中可互換使用。個體可為靈長類動物(例如絨猴或猴)。個體通常為人類。

治療可為治療性、防治性或預防性治療。個體應為有需要之個體。需要治療者除將來可能產生疾病者以外亦可包括已罹患特定醫學疾病之個體。

因此，防治性或預防性治療可相繼使用耗乏SAP之化合物與本文所述之SAP抗原結合蛋白。在此情況下，將本文

所述之相繼治療投與個體以預防或延緩疾病之一或多種態樣或症狀的發作。個體可無症狀或可具有疾病之遺傳誘因，因為已知澱粉樣蛋白沈積物在其造成足以產生臨床症狀之損傷之前存在於組織中且積累一段時間。該等亞臨床澱粉樣蛋白沈積可藉由組織活檢物之組織學檢查或藉由非侵入性成像程序(包括經放射性標記之SAP閃爍攝影術、回波心動描記術及心臟磁共振成像)來偵測。首次耗乏循環SAP之後，向該個體投與預防有效量之抗原結合蛋白。預防有效量為預防或延緩本文所述疾病之一或多種態樣或症狀發作之量。

本文所述之抗原結合蛋白亦可用於治療方法中。術語「治療」涵蓋減輕、減少或預防疾病之至少一種態樣或症狀。舉例而言，本文所述之抗原結合蛋白可用於改善或減少本文所述疾病之一或多種態樣或症狀。

本文所述之抗原結合蛋白以有效量用於治療性、防治性或預防性治療。本文所述抗原結合蛋白之治療有效量為有效改善或減少疾病之一或多種態樣或症狀之量。本文所述之抗原結合蛋白亦可用於治療、預防或治癒本文所述之疾病。

本文所述之抗原結合蛋白可對個體之健康具有一般有益作用，例如其可延長個體之預期壽命。

本文所述之抗原結合蛋白無需實現完全治癒或根除疾病之每一症狀或表現即構成可行的治療性治療。如相關領域中所認知，用作治療劑之藥物可降低指定疾病病況之嚴重

性，但無需消除疾病之每一表現即可視為適用之治療劑。類似地，防治性投與之治療無需完全有效地預防疾病發作即構成可行的預防劑。在個體中僅降低疾病之影響(例如藉由降低其症狀之數量或嚴重性，或藉由提高另一治療之有效性，或藉由產生另一有益作用)或降低疾病發生(例如延遲疾病發作)或惡化之可能性即足夠。

本文所述之抗原結合蛋白可用於治療或預防與澱粉樣蛋白沈積(亦即澱粉樣變性)有關之疾病。

「澱粉樣變性」為任何特徵為澱粉樣蛋白在身體之各種器官及組織中細胞外積累的疾病。

術語「澱粉樣蛋白」係指組織中由原纖維構成之不溶性蛋白質纖維的細胞外沈積物，其具有特有的超結構形態、交叉- β 片狀核心結構，及如下特殊病徵組織化學著色性質：結合鹼性醇溶液中之剛果紅(Congo red)染料，且隨後用顯微鏡在強正交偏振光中檢視時得到紅-綠二色性。已知約25種不同無關之蛋白質形成澱粉樣蛋白原纖維，其沈積於人類組織中且共有所有此等典型性質。腦物質中之澱粉樣蛋白沈積物，即大腦澱粉樣蛋白，與體內別處澱粉樣蛋白沈積物略微不同在於其總是集中(focal)且尺寸微小，且通常稱作澱粉樣斑塊。

澱粉樣變性(亦即直接由澱粉樣蛋白於組織中沈積所致之疾病)包含局部澱粉樣變性，其中沈積物侷限於一個解剖學區域及/或一個組織或器官系統；及全身性澱粉樣變性，其中沈積物可存在於體內任何器官或組織中，包括血

管及結締組織。澱粉樣變性之原因可為後天的或遺傳性的。後天澱粉樣變性作為在先醫學病狀之併發症產生，該醫學病狀本身可為後天或遺傳性的。因此，反應性全身性澱粉樣變性(稱作澱粉樣A蛋白(AA)型)為以下之併發症：慢性活動性發炎性疾病，諸如類風濕性關節炎、青少年類風濕性關節炎、克羅恩氏病(Crohn's disease)、慢性感染及慢性敗血症；及遺傳性週期性發熱症候群，諸如家族性地中海熱、馬可-威爾斯症候群(Muckle-Wells syndrome)及CINCA症候群。透析相關性澱粉樣變性由晚期腎衰竭所致之 β 2-微球蛋白積累所導致。單株免疫球蛋白輕鏈(AL)澱粉樣變性為多發性骨髓瘤或者良性單株球蛋白症(原因不明之單株球蛋白症(monoclonal gammopathy of uncertain significance)，MGUS)之併發症。甲狀腺素運載蛋白(transthyretin)型後天澱粉樣變性可在無任何在先疾患的情況下發生，且僅為老年人之併發症。遺傳性澱粉樣變性由各種蛋白質之基因突變所致，該等基因突變編碼形成澱粉樣蛋白原纖維之傾向增加的變異型蛋白質之表現，且遺傳性澱粉樣變性包括由甲狀腺素運載蛋白、脂蛋白元AI、膠溶素(gelsolin)、溶菌酶、胱抑素C(cystatin C)及澱粉樣 β -蛋白所致之疾病。澱粉樣變性之所有不同形式及所涉及之蛋白質的全面描述可於教科書及科學文獻中獲得(Pepys, M.B. (2006) *Annu. Rev. Med.*, 57: 223-241；Pepys及Hawkins (2003) *Amyloidosis. Oxford Textbook of Medicine*, 第4版，第2卷，Oxford University Press, Oxford, 第162-

173 頁；Pepys 及 Hawkins (2001) Amyloidosis. Samter's Immunologic Diseases, 第6版, 第1卷, Lippincott Williams & Williams, Philadelphia, 第401-412頁)。

侷限於一個器官或組織之局部澱粉樣蛋白沈積可能無臨床症狀或可能造成嚴重組織損傷及疾病。舉例而言, 大腦澱粉樣血管病變(其中血管澱粉樣蛋白沈積物由A β 蛋白構成)通常為在無任何其他病變存在下產生的原因尚不瞭解的偶發性後天病狀, 且為大腦出血及中風之主要原因。存在若干種極其重要且常見之疾病, 尤其為阿茲海默氏病(AD)及2型糖尿病, 其中總是存在澱粉樣蛋白沈積物, 但其中造成此等各別疾病之精確機制尚未知。然而, 阿茲海默氏病中澱粉樣蛋白於腦及大腦血管中之局部沈積及糖尿病中於胰島中之局部沈積很可能使病變及疾病惡化。因此, 本發明包括用本文所揭示之抗原結合蛋白治療阿茲海默氏病與2型糖尿病, 實際上與組織中存在澱粉樣蛋白沈積物有關之任何病狀。

傳染性海綿狀腦病(朊病毒疾病)之多種形式與腦中之澱粉樣蛋白沈積物有關, 且因此本發明係關於所有此等病狀, 包括人類之變異型克雅氏症(variant Creutzfeldt-Jakob disease)、克雅氏症本身、庫魯症(kuru)及人類朊病毒疾病之各種其他形式, 以及牛海綿狀腦病、騾-鹿及麋鹿之慢性消耗性疾病及貂之傳染性腦病。

適用之診斷方法

本文所述之抗原結合蛋白可出於診斷目的用於活體外或

活體內偵測生物樣品中之SAP。舉例而言，可使用抗SAP抗原結合蛋白偵測血清中或與澱粉樣蛋白(例如澱粉樣斑塊)締合之SAP。澱粉樣蛋白可能已首先自人類或動物體移除(例如活檢物)。可採用習知免疫檢定，包括ELISA、西方墨點法(Western blot)、免疫組織化學或免疫沈澱。

抗原結合蛋白可於診斷套組中提供，該診斷套組包含一或多種抗原結合蛋白、可偵測標記及套組之使用說明書。為方便起見，該套組可包含預定量之試劑與使用說明書。

實例

實例1-融合瘤可變域SAP-E及SAP-K之定序

SAP-E及SAP-K來自兩組抗SAP單株，已在活體外分別測試了各組與人類SAP之結合。SAP-E及SAP-K在其組內顯示與SAP之最強結合，且在不同檢定中彼此進行比較。

第一組抗體包含來自7個融合瘤的抗體且指定為SAP-A至SAP-G，該等融合瘤在用經純化人類SAP(下文所示SEQ ID NO:43)(純化人類SAP之方法的詳細說明提供於Hawkins等人，(1991) Clin. Exp. Immunol. 84, 308-316中)進行之單次習知免疫及融合方案中產生。此等抗體中之兩者SAP-E及SAP-B為IgG2a同型，而其他抗體均為IgG1同型(參見實例13，表11)。

第二組抗體包含6種不同IgG2a單株(SAP-H至SAP-M)，該等抗體藉由標準技術藉由用經純化人類SAP(下文所示SEQ ID NO:43)(Hawkins等人，(1991) Clin. Exp. Immunol. 84, 308-316)進行免疫及製備融合瘤(該等融合瘤藉由常規

方法選殖)之習知融合方法獲得。

智人SAP成熟胺基酸序列(SEQ ID NO:43)

HTDLSGKVFVFPRESVTDHVNLTLPLEKPLQNFTLCFRAYS DLSRAYSLSYNTQGRDNELLVYKERVGEYS
LYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSSGIAEFWINGTPLVKKGLRQGYFVEAQPKIVLGQEQDSYGGK
FDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPPENILSAYQGTPLPANILDWQALNYEIRGYVIKPLVWV

出於比較之目的，下文提供小鼠SAP序列，其與人類SAP具有69.4%一致性。

小家鼠SAP成熟蛋白質(SEQ ID NO:44)

QTDLKRKVFVFPRESETHVKLIPHLEKPLQNFTLCFRYS DLSRSQSLFSYSVKGRDNELLYKEKVGESLY
IGQSKVTVRGMEEYLSPVHLCTTWESSSGIVEFWVNGKPWVKSLQREYTVKAPPSIVLGQEQDNYYG
GFQRSQSFVGEFSDLYMWWDYVLTQDILFVYRDSVNPNIINWQALNYEINGYVIRPRVW

使用RNeasy套組(來自Qiagen, #74106)自具有約 10^6 個細胞之融合瘤細胞集結塊萃取總RNA。使用AccessQuick RT-PCR系統(A1702)使用對鼠類免疫球蛋白基因前導序列及鼠類IgG2a/ κ 恆定區具特異性之簡併引子製備可變重鏈及輕鏈區之cDNA。使用TA選殖套組(來自Invitrogen, K2000-01)選殖經純化RT-PCR片段。藉由序列比對及與KABAT中所列之已知免疫球蛋白可變序列比對獲得各融合瘤之共同序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第4版, U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987))。SAP-E及SAP-K之共同序列如下所示。

SAP-E序列

SAP-E CDRH1 (SEQ ID NO:1)

TYNMH

SAP-E CDRH2 (SEQ ID NO:2)

YIYPGDGNANYNQFKG

SAP-E CDRH3 (SEQ ID NO:3)

GDFDYDGGYYFDS

SAP-E CDRL (SEQ ID NO:4)

RASENIYSYLA

SAP-E CDRL2 (SEQ ID NO:5)

NAKTLAE

SAP-E CDRL3 (SEQ ID NO:6)

QHGYGAPLT

SAP-E VH 氨基酸序列 (SEQ ID NO:7)，其中 CDR 加有下劃線

QASLQQSGTELVRSGASVKMSCKASGFTFATYNMHWIKQTPGQGLEWIGYIYPGDGNANYNQFKGK
ATLTADTSSNTAYMQISSLTSEDSAVYFCARGDFDYDGGYYFDSWGQGTTLTVSS

SAP-E V_H DNA 序列 (SEQ ID NO:8)

CAGGCTTCTCTACAGCAGTCTGGGACTGAGCTGGTGAGGTCTGGGGCCTCAGTGAAGATGTCCTGC
AAGGCTTCTGGCTTCACATTTGCCACTTACAATATGCACTGGATTAAGCAGACACCCGGACAGGGCC
TGGAATGGATTGGGTATATTTATCCTGGAGATGGTAATGCTAACTACAATCAGCAGTTCAAGGGCAA
GGCCACATTGACTGCAGACACATCCTCCAACACAGCCTACATGCAGATCAGCAGCCTGACATCTGAA
GACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAAGAGGGGACTTTGATTACGACGGAGGGTACTACTTTGACTCCT
GGGGCCAGGGCACCCTCTCACAGTCTCCTCA

SAP-E V_L 氨基酸序列 (SEQ ID NO:9)，其中 CDR 加有下劃線

DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWYQQKQGRSPQLLVHNAKTLAEGVPSRVSGSGSGTH
FSLKINGLQPEDFGNYCQHGYGAPLTFGAGTKLELK

SAP-E V_L DNA 序列 (SEQ ID NO:10)

GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTGCATCTGTGGGAGAACTGTCACCATCACATG
TCGAGCAAGTGAGAATATTTACAGTTATTTAGCATGGTATCAGCAGAAACAGGGAAGATCCCCTCAG
CTCCTGGTCCATAATGCAAAAACCTTAGCAGAAGGTGTGCCATCAAGGGTCAGTGGCAGTGGATCA
GGCACACACTTTTCTCTGAAGATCAACGGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGGGAATTATTACTGTCAAC
ATCATTATGGTGCTCCGCTCACGTTCCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAAGTGAAG

SAP-K 序 列

SAP-K CDRH1 (SEQ ID NO:11)

SYWMH

SAP-K CDRH2 (SEQ ID NO:12)

MIHPNSVNTNYNEKFKS

SAP-K CDRH3 (SEQ ID NO:13)

RNDYYWYFDV

SAP-K CDRL1 (SEQ ID NO:14)

KASQNVNSNVA

SAP-K CDRL2 (SEQ ID NO:15)

SASYRYS

SAP-K CDRL3 (SEQ ID NO:16)

QQCNNYPFT

SAP-K V_H 胺 基 酸 序 列 (SEQ ID NO:17) , 其 中 CDR 加 有 下 劃 線

QVQLQQPGAELIKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWWKQRPQGQGLEWIGMIHPNSVNTNYNEKFKSK
ATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVVYCARRNDYYWYFDVWGTGTTVTVSS

SAP-K V_H DNA 序 列 (SEQ ID NO:18)

CAGGTCCAACGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTGATAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGTTGTCCTGC
AAGGCTTCTGGCTACACTTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGC
CTTGAGTGGATTGGAATGATTCATCCTAATAGTGTTAATACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGTA
AGGCCACACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAACAGCCTGACATCTGA
GGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGACGGAATGATTACTACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCACA
GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

SAP-K V_L 胺 基 酸 序 列 (SEQ ID NO:19) , 其 中 CDR 加 有 下 劃 線

DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVNSNVAWYQQKPGQSPKALIYSASYRYS¹GVPDRFTGSGSG
TDFTLTITNVQSEDLAEYFCQQCNYPFTFGSGTKLEIK

SAP-K V_L DNA 序列 (SEQ ID NO:20)

GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCT
GCAAGGCCAGTCAGAATGTGAATTCTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAA
AGCACTGATTTACTCGGCTTCTACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCACCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTCTGTCAGC
AATGTAACAACATATCCATTACGTTCTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA

實例 2：建構嵌合抗體

藉由 PCR 選殖 SAP-E 及 SAP-K 建構包含親本鼠類可變域移植於人類 IgG1/ κ 野生型恆定區上的嵌合抗體。基於共同序列，設計擴增鼠類可變域之引子，併入促進選殖至哺乳動物表現載體中所需之限制位點。經由在 FR4(構架區 4(在 CDR3 之後且在第一恆定域之前的 V 區序列)) 中引入限制位點，SAP-E 中之 V_H 胺基酸序列自 SEQ ID NO:7 中所示之 TTLTVSS 變為 TLVTVSS，且 SAP-K 中之 V_H 胺基酸序列自 SEQ ID NO:17 中所示之 TTVTVSS 變為 TLVTVSS。在 SAP-K 可變輕鏈中，CDRL1 中存在內部 EcoRI 位點，且設計突變誘發引子以藉由改變一個鹼基對而移除此不合需要之內部 EcoRI 位點-此舉不會改變胺基酸序列。

SAP-E 嵌合抗體 (cSAP-E) 之全長重鏈及輕鏈蛋白質序列分別提供於 SEQ ID NO:21 及 SEQ ID NO:22 中。SAP-K 嵌合抗體 (cSAP-K) 之全長重鏈及輕鏈蛋白質序列分別提供於 SEQ ID NO:23 及 SEQ ID NO:24 中。

SAP-E V_H 嵌合體核苷酸序列 (SEQ ID NO:45)

CAGGCTTCTCTACAGCAGTCTGGGACTGAGCTGGTGAGGTCTGGGGCCTCAGTGAAGATGTCCTGC
AAGGCTTCTGGCTTCACATTTGCCACTTACAATATGCACTGGATTAAGCAGACACCCGGACAGGGCC
TGGAATGGATTGGGTATATTTATCCTGGAGATGGTAATGCTAACTACAATCAGCAGTTCAAGGGCAA
GGCCACATTGACTGCAGACACATCCTCCAACACAGCCTACATGCAGATCAGCAGCCTGACATCTGAA
GACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAAGAGGGGACTTTGATTACGACGGAGGGTACTACTTTGACTCCT
GGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGG
CCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC
CCGAACCGGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCG
TGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGC
ACCCAGACCTACATCTGTAACTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAG
CCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCTGCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCA
GCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTG
TGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG
AGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCC
GTGCTGACCGTGTGTCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAAGGTGTCCAACAAG
GCCCTGCCTGCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTG
TACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAG
GGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCGAGAACAACCTACAA
GACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAG
AGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCACTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTAC
ACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SAP-E VH嵌合體胺基酸序列(SEQ ID NO:21)

QASLQQSGTELVRSGASVKMSCKASGFTFATYNMHWIKQTPGQGLEWIGYIYPGDGNANYNQFKGK
ATLTADTSSNTAYMQISSLTSEDSAVYFCARGDFDYDGGYFDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLAPSS
KSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SAP-E VL嵌合體核苷酸序列(SEQ ID NO:46)

GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTGCATCTGTGGGAGAACTGTCACCATCACATG
TCGAGCAAGTGAGAATATTTACAGTTATTTAGCATGGTATCAGCAGAAACAGGGAAGATCCCCTCAG
CTCCTGGTCCATAATGCAAAAACCTTAGCAGAAGGTGTGCCATCAAGGGTCAGTGGCAGTGGATCA
GGCACACACTTTTCTCTGAAGATCAACGGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGGGAATTATTACTGTCAAC

ATCATTATGGTGCTCCGCTCACGTTCTGGTGCTGGGACCAAGCTGGAAGTGAACGTACGGTGGCCG
CCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGCTGT
GTCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGA
GCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGC
ACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAG
GGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

SAP-E VL嵌合體胺基酸序列(SEQ ID NO:22)

DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWEYQKQGRSPQLLVHNAKTLAEGVPSRVSGSGSGTH
FSLKINGLQPEDFGNYQCQHHYGAPLTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC

SAP-K VH嵌合體核苷酸序列(SEQ ID NO:47)

CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTGATAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGTTGCCTGC
AAGGCTTCTGGCTACACTTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGC
CTTGAGTGGATTGGAATGATTCATCCTAATAGTGTTAATACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGTA
AGGCCCACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAACAGCCTGACATCTGA
GGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGACGGAATGATTACTACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCACA
GGGACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGC
AGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCG
GTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAG
AGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGAC
CTACATCTGTAACTGAACCAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGA
GCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCTGCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTT
CCTGTTCCCCCCTAAGCCTAAGGACACCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTG
GTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA
CAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGAC
CGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCC
TGCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCT
GCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTA
CCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCGAGAACAACCTACAAGACCACCC
CCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGAT
GGCAGCAGGGCAACGTGTTGAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGA
AGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SAP-K VH嵌合體胺基酸序列(SEQ ID NO:23)

QVQLQQPGAELIKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQLEWIGMIHPNSVNTNYNEKFKSK
ATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRNDYYWYFDVWGTGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SAP-K VL嵌合體核苷酸序列(SEQ ID NO:48)

GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCT
GCAAGGCCAGTCAGAATGTGAACCTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTA
AAGCACTGATTTACTCGGCTTCTACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATC
TGGGACAGATTTCACTCTCACCATCACCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTTCTGTCAG
CAATGTAACAACTATCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAACGTACGGTGGCC
GCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTG
TGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAG
AGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAG
CACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCA
GGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

SAP-K VL嵌合體胺基酸序列(SEQ ID NO:24)

DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVNSNVAWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSVGPDRFTGSGSG
TDFTLTITNVQSEDLAEYFCQQCNYPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFN
RGEC

實例3：人類化策略

藉由將鼠類抗體之CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、
CDRL2及CDRL3移植於適合人類構架序列上之方法產生人
類化抗體。

SAP-E人類化策略

SAP-E重鏈人類化

選擇與小鼠SAP-E可變重鏈序列(SEQ ID NO:7)連同JH1袖珍基因(Kabat：AEYFQHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:26))具有60%一致性(包括CDR)的人類生殖系接受體構架(IGHV1-69，SEQ ID NO:25)用於SAP-E小鼠可變重鏈序列。JH1袖珍基因殘基的前六個殘基屬於CDR3區且經引入之供體抗體之CDR置換。

基於序列比較及對抗體功能之可能影響產生五種人類化變異體。構築體H0為鼠類CDR(使用Kabat定義)移植於以上所選人類接受體構架中之線狀移植物(straight graft)。構築體H1在殘基27及30處具有額外回復突變。構築體H2及H3係基於H1，其中在殘基2(H2)及48及67(H3)處具有額外回復突變。構築體H4係基於H3，其中在殘基69、73及91處具有額外回復突變。參見表3。

下文提供人類化可變重鏈域H0、H1、H2、H3及H4之序列(分別為SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30及SEQ ID NO:31)。

表3：所產生之SAP-E人類化VH變異體的概述

構築體	接受體/模板構架	回復突變之aa 編號(Kabat)	回復突變 之總數	人類接受 體構架	原始小 鼠序列
H0 (SEQ ID NO:27)	IGHV1-69 (SEQ ID NO:25)	-----	無	----	-----
H1 (SEQ ID NO:28)	H0	27 30	2	G S	F A
H2 (SEQ ID NO:29)	H1	2	3	V	A
H3 (SEQ ID NO:30)	H1	48 67	4	M V	I A
H4 (SEQ ID NO:31)	H3	69 73 91	7	I K Y	L T F

SAP-E輕鏈人類化

基於序列相似性選擇與小鼠SAP-E可變輕鏈序列 (SEQ ID No:9) 連同J區κ2袖珍基因 (Kabat：YTFGQGGTKLEIK，SEQ ID NO:33) 具有68%一致性 (包括CDR) 的人類生殖系接受體構架 (IGKV1-39，SEQ ID NO:32) 用於SAP-E小鼠可變輕鏈序列。JK-2袖珍基因殘基的前兩個殘基屬於CDR3區且經引入之供體抗體之CDR置換。

基於序列比較及對抗體功能之可能影響產生三種人類化變異體。構築體L0為鼠類CDR (使用Kabat定義) 移植於以上所選人類接受體構架中之線狀移植物。構築體L1在殘基49處具有回復突變，且構築體L2在位置48及49處具有回復突變。參見表4。

下文提供人類化可變輕鏈域L0、L1及L2之序列 (分別為SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35及SEQ ID NO:36)。

表4：所產生之SAP-E人類化VL變異體之概述

構築體	接受體/模板構架	回復突變之aa 編號(Kabat)	回復突變 之總數	人類接受 體構架	原始小 鼠序列
L0 (SEQ ID NO:34)	IGKV1-39 (SEQ ID NO:32)	-----	無	----	-----
L1 (SEQ ID NO:35)	L0	49	1	Y	H
L2 (SEQ ID NO:36)	L1	48 49	2	I Y	V H

SAP-K人類化策略

SAP-K重鏈人類化

選擇與小鼠SAP-K可變重鏈序列 (SEQ ID NO:17) 連同JH1袖珍基因 (Kabat：AEYFQHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:26)) 具有65%一致性 (包括CDR) 的人類生殖系接受體構

架 (IGHV1-69，SEQ ID NO:25)用於SAP-K小鼠可變重鏈序列。JH1袖珍基因殘基的前六個殘基屬於CDR3區且經引入之供體抗體之CDR置換。

基於序列比較及對抗體功能之可能影響產生四種人類化變異體。構築體H0為鼠類CDR(使用Kabat定義)移植於以上所選人類接受體構架中之線狀移植物。構築體H1在殘基27及30處具有額外回復突變。構築體H2係基於H1，其中在殘基48及67處具有額外回復突變。構築體H3係基於H2，其中在殘基69及71處具有額外回復突變。參見表5。

下文提供人類化可變重鏈域H0、H1、H2及H3之序列(分別為SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39及SEQ ID NO:40)。

表5：所產生之SAP-K人類化VH變異體的概述

構築體	接受體/模板構架	回復突變之aa 編號(Kabat)	回復突變 之總數	人類接受 體構架	原始小 鼠序列
H0 (SEQ ID NO:37)	IGHV1-69 (SEQ ID NO:25)	-----	無	----	-----
H1 (SEQ ID NO:38)	H0	27 30	2	G S	Y T
H2 (SEQ ID NO:39)	H1	48 67	4	M V	I A
H3 (SEQ ID NO:40)	H2	69 71	6	I A	L V

SAP-K輕鏈人類化

基於序列相似性選擇與小鼠SAP-K可變輕鏈序列(SEQ ID NO:19)連同J區κ2袖珍基因(Kabat：YTFGQGGTKLEIK，SEQ ID NO:33)具有63%一致性(包括CDR)的人類生殖系接受體構架(IGKV1-39，SEQ ID NO:32)用於SAP-E小鼠可變

輕鏈序列。JK-2袖珍基因殘基的前兩個殘基屬於CDR3區且經引入之供體抗體之CDR置換。

基於序列比較及對抗體功能之可能影響產生兩種人類化變異體。構築體L0為鼠類CDR(使用Kabat定義)移植於以上所選人類接受體構架中之線狀移植物。構築體L1在殘基46處具有回復突變。

下文提供人類化可變輕鏈域L0及L1之序列(分別為SEQ ID NO:41及SEQ ID NO:42)。

表 6：所產生之SAP-K人類化VL變異體的概述

構築體	接受體/模板構架	回復突變之aa 編號(Kabat)	回復突變 之總數	人類接受 體構架	原始小 鼠序列
L0 (SEQ ID NO:41)	IGKV1-39 (SEQ ID NO:32)	-----	無	----	-----
L1 (SEQ ID NO:42)	L0	46	1	L	A

建構人類化抗體載體

對人類化可變區DNA序列進行序列最佳化。使用基於PCR之策略及重疊寡核苷酸從頭建構編碼人類化可變重鏈及可變輕鏈區之DNA片段。將PCR產物選殖至分別含有人類γ1恆定區及人類κ恆定區之哺乳動物表現載體中。其為野生型Fc區。

IGHV1-69人類可變重鏈生殖系接受體核苷酸序列(SEQ_ID NO:49)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTCCTG
CAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAAACCTACGCACAGAAGTTCCAGGG
CAGAGTCACGATTACCGCGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATC
TGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGA

IGHV1-69人類可變重鏈生殖系接受體胺基酸序列(SEQ ID NO:25)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRV
TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR

IGKV1-39人類可變重鏈生殖系接受體核苷酸序列(SEQ ID NO:50)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG
CCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA
GCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACA
GAGTTACAGTACCCCT

IGKV1-39人類可變重鏈生殖系接受體胺基酸序列(SEQ ID NO:32)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP

JH1袖珍基因 (SEQ ID NO:26)

AEYFQHWGQGTLVTSS

Jκ2袖珍基因 (SEQ ID NO:33)

YTFGQGKLEIK

未經密碼子最佳化之SAP-E人類化重鏈V區變異體H0核苷酸序列(SEQ ID NO:51)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCTG
CAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCACTTACAATATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGATATATTTATCCTGGAGATGGTAATGCTAACTACAATCAGCAGTTCAAGGGC
AGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCT
GAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGGGACTTTGATTACGACGGAGGGTACTACTTTGAC
TCCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA

未經密碼子最佳化之SAP-E人類化輕鏈V區變異體L0核苷酸

序列 (SEQ ID NO:52)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG
CCGAGCAAGTGAGAATATTTACAGTTATTTAGCATGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA
GCTCCTGATCTATAATGCAAAAACCTTAGCAGAAGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACA
TCATTATGGTGCTCCGCTCACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SAP-E人類化重鏈V區變異體H0核苷酸序列(經密碼子最佳化) (SEQ ID NO:53)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAACCCGGCAGCAGCGTGAAGGTGAGCT
GCAAGGCTAGCGGGGGCACCTTCTCCACCTACAACATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCCGGCCAGG
GCCTGGAGTGGATGGGCTATATCTACCCCGGCGACGGCAACGCCAACTACAACCAGCAGTTCAAGG
GCAGGGTGACCATCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACCAGCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGG
AGCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGCGACTTCGACTACGACGGCGGCTACTACTTC
GACAGCTGGGGACAGGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SAP-E人類化重鏈V區變異體H0胺基酸序列 (SEQ ID NO:27)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGTFSTYNMHWVRQAPGQGLEWMGYIYPGDGNANYNQQFK
GRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGDFDYDGGYYFDSWGQGTLVTVSS

SAP-E人類化重鏈V區變異體H1核苷酸序列(經密碼子最佳化) (SEQ ID NO:54)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAACCCGGCAGCAGCGTGAAGGTGAGCT
GCAAGGCTAGCGGGTTCACCTTCGCCACCTACAACATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCCGGCCAGG
GCCTGGAGTGGATGGGCTATATCTACCCCGGCGACGGCAACGCCAACTACAACCAGCAGTTCAAGG
GCAGGGTGACCATCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACCAGCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGG
AGCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGCGACTTCGACTACGACGGCGGCTACTACTTC
GACAGCTGGGGACAGGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SAP-E人類化重鏈V區變異體H1胺基酸序列 (SEQ ID NO:28)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGTFATYNMHWVRQAPGQGLEWMGYIYPGDGNANYNQQFK
GRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGDFDYDGGYYFDSWGQGTLVTVSS

SAP-E人類化重鏈V區變異體H2核苷酸序列(經密碼子最佳化) (SEQ ID NO:55)

CAGGCGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAACCCGGCAGCAGCGTGAAGGTGAGCT
GCAAGGCTAGCGGGTTCACCTTCGCCACCTACAACATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCCGGCCAGG
GCCTGGAGTGGATGGGCTATATCTACCCCGGCGACGGCAACGCCAACTACAACCAGCAGTTCAAGG
GCAGGGTGACCATCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGG
AGCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGCGACTTCGACTACGACGGCGGCTACTACTTC
GACAGCTGGGGACAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SAP-E人類化重鏈V區變異體H2胺基酸序列SEQ ID NO:29

QAQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFTFATYNMHWVRQAPGQGLEWMGYIYPGDGNANYNQQFK
GRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGDFDYDGGYYFDSWGQGLTVTVSS

SAP-E人類化重鏈V區變異體H3核苷酸序列(經密碼子最佳化) (SEQ ID NO:56)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAACCCGGCAGCAGCGTGAAGGTGAGCT
GCAAGGCTAGCGGGTTCACCTTCGCCACCTACAACATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCCGGCCAGG
GCCTGGAGTGGATCGGCTATATCTACCCCGGCGACGGCAACGCCAACTACAACCAGCAGTTCAAGG
GCAGGGCCACCATCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGGA
GCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGCGACTTCGACTACGACGGCGGCTACTACTTCG
ACAGCTGGGGACAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SAP-E人類化重鏈V區變異體H3胺基酸序列(SEQ ID NO:30)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFTFATYNMHWVRQAPGQGLEWIGYIYPGDGNANYNQQFKG
RATITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGDFDYDGGYYFDSWGQGLTVTVSS

SAP-E人類化重鏈V區變異體H4核苷酸序列(經密碼子最佳化) (SEQ ID NO:57)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAACCCGGCAGCAGCGTGAAGGTGAGCT
GCAAGGCTAGCGGGTTCACCTTCGCCACCTACAACATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCCGGCCAGG
GCCTGGAGTGGATCGGCTATATCTACCCCGGCGACGGCAACGCCAACTACAACCAGCAGTTCAAGG
GCAGGGCCACCCTGACCGCCGACACCAGCACCAGCACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGGA
GCGAGGATACCGCCGTGTACTTCTGCGCCAGGGGCGACTTCGACTACGACGGCGGCTACTACTTCG
ACAGCTGGGGACAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SAP-E人類化重鏈V區變異體H4胺基酸序列(SEQ ID NO:31)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFTFATYNMHWVRQAPGQGLEWIGYIYPGDGNANYNQQFKG
RATLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGDFDYDGGYYFDSWGQGLTVTVSS

SAP-E人類化輕鏈V區變異體L0核苷酸序列(經密碼子最佳化)

(SEQ ID NO:58)

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCTCACTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATTACC
TGCAGGGCCTCCGAGAACATCTACAGCTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCC
AAGCTGCTGATCTACAACGCCAAGACCCTCGCCGAGGGCGTCCCTAGCAGGTTCTCTGGAAGCGGC
AGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTATTACTGCC
AGCACCACTACGGCGCCCCCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAACCTGGAGATCAAG

SAP-E人類化輕鏈V區變異體L0胺基酸序列SEQ ID NO:34

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYSYLAWEYQKPKGKAPKLLIYNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSLQPEDFATYYCQHHYGAPLTFGQGTKLEIK

SAP-E人類化輕鏈V區變異體L1核苷酸序列(經密碼子最佳化)

(SEQ ID NO:59)

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCTCACTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATTACC
TGCAGGGCCTCCGAGAACATCTACAGCTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCC
AAGCTGCTGATCCACAACGCCAAGACCCTCGCCGAGGGCGTCCCTAGCAGGTTCTCTGGAAGCGGC
AGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTATTACTGCC
AGCACCACTACGGCGCCCCCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAACCTGGAGATCAAG

SAP-E人類化輕鏈V區變異體L1胺基酸序列(SEQ ID NO:35)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYSYLAWEYQKPKGKAPKLLIYNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSLQPEDFATYYCQHHYGAPLTFGQGTKLEIK

SAP-E人類化輕鏈V區變異體L2核苷酸序列(經密碼子最佳化)

(SEQ ID NO:60)

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCTCACTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATTACC
TGCAGGGCCTCCGAGAACATCTACAGCTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCC
AAGCTGCTGGTGCACAACGCCAAGACCCTCGCCGAGGGCGTCCCTAGCAGGTTCTCTGGAAGCGGC
AGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTATTACTGCC
AGCACCACTACGGCGCCCCCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAACCTGGAGATCAAG

SAP-E人類化輕鏈V區變異體L2胺基酸序列(SEQ ID NO:36)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYSYLAWEYQKPKGKAPKLLVHNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQHHYGAPLTFGQGTKLEIK

SAP-E人類化重鏈H1完全成熟核苷酸序列(經密碼子最佳化)
(SEQ ID NO:61)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAACCCGGCAGCAGCGTGAAGGTGAGCT
 GCAAGGCTAGCGGGTTCACCTTCGCCACCTACAACATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCCGGCCAGG
 GCCTGGAGTGGATGGGCTATATCTACCCCGGCGACGGCAACGCCAACTACAACCAGCAGTTCAAGG
 GCAGGGTGACCATCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACCCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGG
 AGCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGCGACTTCGACTACGACGGCGGCTACTACTTC
 GACAGCTGGGGACAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTT
 CCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGG
 ACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTT
 CCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAG
 CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA
 GGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGG
 AGGCCCCAGCGTGTTCTGTTCCCCCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAG
 GTGACCTGTGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGA
 CGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGG
 TGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGT
 CCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGC
 CCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCT
 GGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCCGAGAACA
 ACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTCCTGTACAGCAAGCTGACCGT
 GGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTGAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACA
 ATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SAP-E人類化重鏈H1完全成熟胺基酸序列(SEQ ID NO:62)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFATYNMHWVRQAPGQGLEWMGYIYPGDGNANYNQFK
 GRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGDFDYDGGYYFDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP
 SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN
 VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE
 VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
 QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV
 DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SAP-E人類化輕鏈L1完全成熟核苷酸序列(經密碼子最佳化)

(SEQ ID NO:63)

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCTCACTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATTACC
TGCAGGGCCTCCGAGAACATCTACAGCTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCC
AAGCTGCTGATCCACAACGCCAAGACCCTCGCCGAGGGCGTCCCTAGCAGGTTCTCTGGAAGCGGC
AGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTATTACTGCC
AGCACTACTACGGCGCCCCCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAACTGGAGATCAAGCGTACGGTGG
CCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGG
TGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGGAAGGTGGACAATGCCCTGC
AGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGC
AGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCAC
CAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

SAP-E人類化輕鏈L1完全成熟胺基酸序列(SEQ ID NO:64)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASENIYSYLAQYQQKPGKAPKLLIHNAKTLAEQVPSRFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQHHYGAPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREA
KLVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**未經密碼子最佳化之SAP-K人類化重鏈V區變異體H0核苷酸
序列(SEQ ID NO:65)**

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCTG
CAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGAATGATTCATCCTAATAGTGTTAATACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGT
AGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCT
GAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGACGGAATGATTACTACTGGTACTTCGATGTCTGGGGC
CAGGGCACCTGGTCACCGTCTCCTCA

**未經密碼子最佳化之SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0核苷酸
序列(SEQ ID NO:66)**

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG
CAAGGCCAGTCAGAATGTGAACTCTAATGTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA
GCTCCTGATCTATTCGGCTTCTACCGGTACAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCA
ATGTAACAACTATCCATTCACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SAP-K人類化重鏈V區變異體H0核苷酸序列(經密碼子最佳

化) (SEQ ID NO:67)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCT
GCAAGGCCAGCGGCGGAACCTTCAGCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCCGGCCAG
GGCCTGGAGTGGATGGGCATGATCCACCCCAACAGCGTGAACACCAACTACAACGAGAAGTTCAAG
AGCAGAGTGACCATCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACC GCCTATATGGAGCTGAGCTCTCTGAGG
AGCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGAGGAACGACTACTACTGGTACTTCGACGTCTGG
GGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SAP-K人類化重鏈V區變異體H0胺基酸序列(SEQ ID NO:37)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYWMHWRQAPGQGLEWMGMIHPNSVNTNYNEKFK
SRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRNDYYWYFDVWGQGLTVTVSS

SAP-K人類化重鏈V區變異體H1核苷酸序列(經密碼子最佳

化) (SEQ ID NO:68)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCT
GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCCGGCCAG
GGCCTGGAGTGGATGGGCATGATCCACCCCAACAGCGTGAACACCAACTACAACGAGAAGTTCAAG
AGCAGAGTGACCATCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACC GCCTATATGGAGCTGAGCTCTCTGAGG
AGCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGAGGAACGACTACTACTGGTACTTCGACGTCTGG
GGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SAP-K人類化重鏈V區變異體H1胺基酸序列(SEQ ID NO:38)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWMHWRQAPGQGLEWMGMIHPNSVNTNYNEKFK
SRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRNDYYWYFDVWGQGLTVTVSS

SAP-K人類化重鏈V區變異體H2核苷酸序列(經密碼子最佳

化) (SEQ ID NO:69)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCT
GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCCGGCCAG
GGCCTGGAGTGGATCGGCATGATCCACCCCAACAGCGTGAACACCAACTACAACGAGAAGTTCAAG
AGCAGAGCCACCATCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACC GCCTATATGGAGCTGAGCTCTCTGAGG
AGCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGAGGAACGACTACTACTGGTACTTCGACGTCTGG
GGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SAP-K人類化重鏈V區變異體H2胺基酸序列(SEQ ID NO:39)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGMIHPNSVNTNYNEKFKS
RATITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRNDYYWYFDVWGQGLTVTVSS

SAP-K人類化重鏈V區變異體H3核苷酸序列(經密碼子最佳化) (SEQ ID NO:70)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCT
GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCCGGCCAG
GGCCTGGAGTGGATCGGCATGATCCACCCCAACAGCGTGAACACCAACTACAACGAGAAGTTCAAG
AGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTATATGGAGCTGAGCTCTCTGAGG
AGCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGAGGAACGACTACTACTGGTACTTCGACGTCTGG
GGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SAP-K人類化重鏈V區變異體H3胺基酸序列(SEQ ID NO:40)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGMIHPNSVNTNYNEKFKS
RATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRNDYYWYFDVWGQGLTVTVSS

SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0核苷酸序列(經密碼子最佳化) (SEQ ID NO:71)

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCTTCACTGAGCGCTAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATCACC
TGCAAGGCCAGCCAGAACGTGAACAGCAACGTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAAGCCCC
CAAGCTCCTGATCTACAGCGCCAGCTACAGATATAGCGGCGTGCCTAGCAGGTTTAGCGGCAGCGG
AAGCGGGACCGATTTACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGC
CAGCAGTGCAACAACTACCCCTTCACCTTCGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0胺基酸序列(SEQ ID NO:41)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVNSNVAWYQKPKGAPKLLIYSASYRYSRVSRFSGSGSGTD
FTLTISLQPEDFATYYCQQCNYPFTFGQGTKLEIK

SAP-K人類化輕鏈V區變異體L1核苷酸序列(經密碼子最佳化) (SEQ ID NO:72)

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCTTCACTGAGCGCTAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATCACC
TGCAAGGCCAGCCAGAACGTGAACAGCAACGTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAAGCCCC
CAAGGCCCTGATCTACAGCGCCAGCTACAGATATAGCGGCGTGCCTAGCAGGTTTAGCGGCAGCGG
AAGCGGGACCGATTTACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGC
CAGCAGTGCAACAACTACCCCTTCACCTTCGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

SAP-K人類化輕鏈V區變異體L1胺基酸序列(SEQ ID NO:42)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNVNSNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRYSYGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQQCNNYPFTFGQGTKLEIK

SAP-K人類化H3重鏈核苷酸序列(經密碼子最佳化) (SEQ ID NO:75)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCT
GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCCGGCCAG
GGCCTGGAGTGGATCGGCATGATCCACCCCAACAGCGTGAACACCAACTACAACGAGAAGTTCAAG
AGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACC GCCTATATGGAGCTGAGCTCTCTGAGG
AGCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGAGGAACGACTACTACTGGTACTTCGACGTCTGG
GGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCC
CCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCC
GAACCGGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTG
CTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGTAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCC
CAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCTGCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAG
CGTGTTCTGTTCCTCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGT
GTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA
GGTGACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCG
TGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAAGGTGTCCAACAAGG
CCCTGCCTGCCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGT
ACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGG
GCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCAGAGACAACACTACAAGA
CCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAG
CAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC
CCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SAP-K人類化H3重鏈胺基酸序列 (SEQ ID NO:76)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGMIHPNSVNTNYNEKFKS
RATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRNDYYWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
TSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SAP-K人類化L0輕鏈核苷酸序列(經密碼子最佳化) (SEQ ID NO:77)

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCTTCACTGAGCGCTAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATCACC
TGCAAGGCCAGCCAGAACGTGAACAGCAACGTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAAGCCCC
CAAGCTCCTGATCTACAGCGCCAGCTACAGATATAGCGGCGTGCCTAGCAGGTTTAGCGGCAGCGG
AAGCGGGACCGATTTACCCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGC
CAGCAGTGCAACAACCTACCCCTTACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGTACGGTG
GCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTG
GTGTGTCTGCTGAACAACCTTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTG
CAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAG
CAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCA
CCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

SAP-K人類化L0輕鏈胺基酸序列(SEQ ID NO:78)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVNSNVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRSGVPSRFSGSGSGTD
FTLTISLQPEDFATYYCQQCNYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE
AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

免疫球蛋白鏈之前導序列(SEQ ID: 79)

MGWSCIIIFLVATATGVHS

實例4：抗體表現

重組抗體表現

藉由脂質轉染使用Fectin 293將分別編碼嵌合或人類化抗體之重鏈及輕鏈的表現質體短暫共轉染於HEK2936E細胞中。使細胞在37°C、5% CO₂下於含有10%氧化異丙烯F68及50 mg/ml遺傳黴素(geneticin)之Freestyle表現培養基293中生長72-120小時，藉由離心收集上清液。在一些情況下，使用上清液物質作為結合檢定中之測試物。在其他情況下，將上清液物質過濾滅菌，且藉由親和層析使用蛋

白質 A MAbSelect SuRE管柱回收抗體，隨後透析至PBS中。

融合瘤抗體表現

使融合瘤細胞在搖瓶中補充有4 mM glutamax及10%低IgG FCS之Ex620培養基中生長。使細胞繼代且戒斷血清直至無血清培養基中能良好生長。隨後使用該等細胞作為10 L wave袋(wavebag)之種子。使細胞以0.1 L/min在37°C、5% CO₂下在22轉/分鐘下，在wave袋中生長，直至活力降至30%。藉由無菌過濾收集條件培養基。藉由親和層析使用重組蛋白質A回收抗體，隨後透析至PBS中。

實例5-7：融合瘤及/或嵌合mAb及/或人類化Mab之間的比較資料

實例5：人類SAP結合ELISA中SAP-K與SAP-E融合瘤之比較

將1 µg/mL或5 µg/mL人類SAP直接固定於ELISA板上，且用1% BSA/TBS加0.05% TWEEN20阻斷。滴定板上來自經純化物質之抗SAP抗體。藉由用結合辣根過氧化酶(HRP)之兔抗小鼠IgG抗體(Dako, P0260)處理來偵測結合之抗體。使用O-伸苯基二胺二鹽酸鹽(OPD)過氧化酶受質(Sigma, P9187)使ELISA顯色。

圖1展示在1 µg/mL塗佈濃度之人類SAP下鼠類抗體SAP-E及SAP-K的結合曲線。

圖2展示在5 µg/mL塗佈濃度之人類SAP下鼠類抗體SAP-E及SAP-K的結合曲線。

在5 µg/mL塗佈濃度下，SAP-K及SAP-E展示類似的與固

定之人類SAP之結合，而在1 $\mu\text{g/mL}$ 較低密度塗佈下，SAP-K展示大於SAP-E之結合。使用此格式之所有後續人類SAP結合ELISA均使用較低密度1 $\mu\text{g/mL}$ 塗佈濃度來區分兩種抗體之結合性質。

實例6：人類SAP結合ELISA中SAP-K與SAP-E嵌合/人類化mAb之比較

將1 $\mu\text{g/mL}$ 人類SAP直接固定於ELISA板上且用1% BSA/TBS加0.05% TWEEN20阻斷。滴定板上來自測試上清液或經純化物質之抗SAP抗體。藉由用山羊抗人類 κ 輕鏈過氧化酶結合物(Sigma, A7164)處理來偵測結合之抗體。使用O-伸苯基二胺二鹽酸鹽(OPD)過氧化酶受質(Sigma, P9187)使ELISA顯色。

圖3展示嵌合抗體cSAP-E及cSAP-K之結合曲線。嵌合抗體之曲線概況與等效融合瘤相同。

圖4展示SAP-K H0L0、SAP-K H1L0、SAP-K H2L0及SAP-K H3L0相較於SAP-K嵌合體及SAP-E H1L1相較於SAP-E嵌合體之結合曲線。亦測試無關人類IgG1 κ 抗體作為陰性對照組。資料顯示，SAP-K抗體之人類化使人類SAP結合活性損失至親本SAP-K嵌合體的約1/2，而相較於親本SAP-E嵌合體，人類化SAP-E抗體保留結合活性。

實例7-競爭ELISA

用1 $\mu\text{g/mL}$ (用於與SAP-K嵌合體競爭)或5 $\mu\text{g/mL}$ (用於與SAP-E嵌合體競爭)人類SAP塗佈ELISA板且用1% BSA/PBS阻斷。將恆定濃度之嵌合抗SAP mAb與連續稀釋(1:1)量之

小鼠抗SAP mAb混合。洗滌板且使用山羊抗人類 κ 輕鏈過氧化酶結合物(Sigma, A7164)偵測結合於固定之人類SAP之嵌合抗體之量。使用O-伸苯基二胺二鹽酸鹽(OPD)過氧化酶受質(Sigma, P9187)使ELISA顯色。

圖5展示利用SAP-E嵌合體之競爭ELISA中之經純化SAP-K及SAP-E鼠類單株抗體。

圖6展示利用SAP-K嵌合體之競爭ELISA中之經純化SAP-K及SAP-K鼠類單株抗體。

在圖5及圖6中，SAP-E與SAP-K抗體之間未觀察到競爭，表明兩種抗體結合於人類SAP分子上之不同抗原決定基。

實例8：測定結合動力學

人類化抗SAP抗體變異體與經純化人類及經純化食蟹猴(cynomologus monkey)SAP之結合的Biacore分析。

藉由一級胺偶合根據製造商之說明將人類及食蟹猴SAP固定於Biacore C1晶片上。使512 nM的培養物上清液中所含之人類化抗SAP抗體及經純化嵌合抗體在人類與食蟹猴SAP表面上通過且獲得結合感測器圖譜。所有操作均進行雙重參考，對於經純化樣品於人類及食蟹猴SAP表面上進行緩衝液注射，或對於上清液樣品於其上進行培養基注射。在25°C下使用HBS-EP緩衝液進行分析。在3 M MgCl_2 存在下進行表面再生，且不會影響後續循環中抗體再結合於人類SAP之能力。在Biacore T100評估軟體中使用1比1解離模型(1 to 1 dissociation model)分析資料。

表 6a 及 6b 中所產生之資料分別展示人類化 SAP-E 及 SAP-K 抗體上清液之解離速率(kd)。該等值係基於單一曲線且用於對不同構築體之間與人類 SAP 之結合進行分級。對於結合人類 SAP，人類化 SAP-E 抗體之解離速率優於人類化 SAP-K 抗體。多種 SAP-K 人類化抗體變異體展示結合於食蟹猴 SAP(請注意，SAP-K 嵌合體結合食蟹猴 SAP)，而人類化 SAP-E 抗體變異體均不結合食蟹猴 SAP(請注意，SAP-E 嵌合體亦不結合食蟹猴 SAP)。含有線狀移植物人類化重鏈(H0)或線狀移植物人類化輕鏈(L0)或兩者之組合的人類化 SAP-E 變異體展示最差解離速率。SAP-E 人類化 L1 輕鏈為最佳輕鏈變異體，且 L1 與 H1 重鏈變異體組合得到具有可接受之解離速率同時保持最小回復突變數的人類化抗體。人類化 SAP-K 變異體之解離速率分級展示 L0 線狀移植物為最佳人類化輕鏈變異體，而 H0 線狀移植物為最差人類化重鏈變異體。

表 6a

SAP-E 變異體	人類 SAP 之 Kd(s ⁻¹)
SAP-E 嵌合體	3.83E-03
SAP-E H1L1	4.80E-03
SAP-E H4L1	5.43E-03
SAP-E H1L2	5.51E-03
SAP-E H3L1	5.76E-03
SAP-E H4L2	5.80E-03
SAP-E H2L1	6.09E-03
SAP-E H3L2	6.31E-03
SAP-E H2L2	6.52E-03
SAP-E H1L0	8.09E-03
SAP-E H3L0	9.10E-03

SAP-E變異體	人類SAP之Kd(s ⁻¹)
SAP-E H2L0	9.79E-03
SAP-E H4L0	9.81E-03
SAP-E H0L1	4.02E-02
SAP-E H0L2	4.29E-02
SAP-E H0L0	5.35E-02

標 6b

請注意，Kd係針對人類SAP

	kd(s ⁻¹)	與食蟹猴SAP之結合
SAP-K嵌合體	6.64E-03	是
SAP-K H1L0	1.71E-02	差
SAP-K H3L0	1.84E-02	是
SAP-K H2L0	2.04E-02	是
SAP-K H3L1	2.36E-02	是
SAP-K H0L0	2.63E-02	不
SAP-K H1L1	2.96E-02	差
SAP-K H2L1	3.21E-02	差
SAP-K H0L1	4.79E-02	不

抗SAP抗體與直接固定於固相支撐物上之經純化人類SAP之結合的Biacore分析

藉由一級胺偶合根據製造商之說明將人類SAP固定於Biacore CM3晶片上。使抗SAP抗體以512、128、32、8、2、0.5 nM在此表面上通過且獲得結合感測器圖譜。所有操作均藉由用緩衝液注射至人類SAP表面上進行雙重參考。在25℃下使用HBS-EP緩衝液進行分析。藉由使緩衝液在表面上流過若干分鐘使表面再生，且不會影響後續循環中人類SAP再結合於抗體之能力。使用Biacore T100評估軟體內在的二價分析模型分析來自128-0.5 nM操作之資料。

表 7 中所產生及彙編之資料意謂構築體之間的比較，且展示在此檢定中，SAP-K 抗體具有較佳締合速率，而 SAP-E 抗體展示較佳解離速率。另外，人類化未改變 SAP-E 抗體之結合動力學，但對於 SAP-K，人類化之後觀察到結合及解離速率之損失。

表 7

	$K_a(M^{-1}.s^{-1})$	$K_d(s^{-1})$	$KD(nM)$
SAP-K 嵌合體	4.06E+5	7.59E-03	18.7
SAP-K H0L0	6.08E+4	4.49E-02	739
SAP-K H1L0	1.15E+5	1.78E-02	155
SAP-K H2L0	1.15E+5	2.20E-02	191
SAP-K H3L0	1.50E+5	1.92E-02	128
SAP-E 嵌合體	2.64E+4	2.18E-03	82.6
SAP-E H1L1	2.64E+4	2.07E-03	78.3

抗 SAP 抗體與捕捉於經固定 O-磷酸乙醇胺上的經純化人類 SAP 之結合的 Biacore 分析

藉由一級胺偶合根據製造商之說明將 O-磷酸乙醇胺固定於 Biacore CM5 晶片上。隨後在氯化鈣存在下將人類 SAP 捕捉於表面上，以在活體外在 Biacore 系統中重現活體內結合於澱粉樣蛋白原纖維之 SAP 分子的精確位向。隨後使抗 SAP 抗體以 256、64、16、4、1 nM 在此表面上通過且獲得結合感測器圖譜。在 25℃ 下使用 4% BSA、10 mM Tris、140 mM NaCl、2 mM $CaCl_2$ 、0.05% 界面活性劑 P20、0.02% NaN_3 (pH 8.0) 作為操作緩衝液進行分析。使用兩次 Tris-EDTA(10 mM Tris，140 mM NaCl，10 mM EDTA，pH 8.0) 脈衝達成再生，此可移除結合之人類 SAP 但不會顯

著影響SAP與固定之磷酸乙醇胺之後續結合。所產生之資料藉由用緩衝液注射至人類SAP表面上進行雙重參考，且使用Biacore T100評估軟體中之二價分析模型進行分析。

如表8所示之所產生之資料僅意謂構築體之間的比較。其並不構成準確的動力學值，因為可能因檢定格式中所固有之親合性作用而改變結合。親合性很可能已影響抗體解離速率，導致較低之KD計算值。另外，對於所有SAP-E抗體，所得解離速率(kd)均超出Biacore量測範圍之極限。然而，結果表明抗SAP抗體緊密結合於藉由SAP與固相配位體之相互作用固定的人類SAP，正如其在活體內於澱粉樣蛋白沈積物中一般，該澱粉樣蛋白沈積物即為本發明之治療目標。

表 8

	$k_a(M^{-1}.s^{-1})$	$k_d(s^{-1})$	KD(nM)
SAP-K嵌合體	3.32E+5	2.97E-4	0.895
SAP-E嵌合體	2.03E+4	9.12E-7	4.49E-11
小鼠SAP-K	3.00E+5	2.19E-4	0.730
小鼠SAP-E	3.15E+4	1.51E-8	4.79E-13
SAP-K H3L0	1.36E+5	5.01E-3	36.8
SAP-E H1L1	1.94E+4	1.58E-7	8.14E-12

實例9：SAP-K L0人類化輕鏈之位置91處的胺基酸掃描

使用定點飽和突變誘發產生一組變異體，其中藉由在位置91(Kabat編號)處使用編碼NNK(其中N編碼腺苷或胞苷或鳥苷或胸苷，且K編碼鳥苷或胸苷)之突變誘發引子，在單一反應中此位置之半胱胺酸殘基可能經所有其他19種胺基酸取代。自對所產生變異體之抗體上清液進行的Biacore解

離速率分級，選擇四種變異體在HEK2936E細胞中進行放大且純化。如實例7中所詳述使用O-磷酸乙醇胺方法進行的Biacore動力學分析展示位置91處具有丙胺酸之變異體(SEQ ID NO:43)相較於野生型具有改良之親和力；分別量測到KD值為0.436 nM及36.8 nM。請注意，所有變異體均在用於產生表7中所示之結果的相同實驗中測試。

其他變異體(例如甘胺酸、絲胺酸及纈胺酸)改良H3L0之結合，但程度低於丙胺酸。此外，此四種變異體具有優於L0之結合性質的實情亦在輕鏈與H1配對之結合ELISA及Biacore解離速率分級實驗中觀察到。

SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0 91A核苷酸序列(經密碼子最佳化) (SEQ ID NO:73)

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCTTCACTGAGCGCTAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATCACC
TGCAAGGCCAGCCAGAACGTGAACAGCAACGTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCCGCAAAGCCCC
CAAGCTCCTGATCTACAGCGCCAGCTACAGATATAGCGGCGTGCCTAGCAGGTTTAGCGGCAGCGG
AAGCGGGACCGATTTACCCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGC
CAGCAGGCCGAACAACCTACCCCTTCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0 91A胺基酸序列(SEQ ID NO:74)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICKASQNVNSNVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYSRVPSRFSGSGSGTD
FTLTISLQPEDFATYYCQQANNYPFTFGQGTKLEIK

實例10：抗SAP抗體清除澱粉樣蛋白之補體依賴性。

藉由在補體缺乏小鼠與具有足夠補體之正常動物之間比較處理的效率來研究在抗SAP抗體清除澱粉樣蛋白中補體之作用。靶向缺失C1q之基因阻斷了典型補體路徑之活化，該路徑藉由C1q結合於抗體-抗原複合物而引發，但C3

活化(負責趨化性及調理的重要功能步驟，補體之主要生物學功能)仍可經由替代性及凝集素(lectin)路徑以及藉由非補體絲胺酸蛋白酶直接裂解C3而進行。靶向缺失C3之基因可完全去除此等功能。

誘發AA澱粉樣變性

在兩組補體缺乏小鼠(C3基因剔除組(n=14)及C1q基因剔除組(n=12))及15隻野生型小鼠中誘發AA澱粉樣變性且加以確認。所有小鼠均為純種C57BL/6。各小鼠藉由靜脈內注射接受單次劑量之澱粉樣蛋白促進因子(含有澱粉樣蛋白原纖維之澱粉樣變性組織之萃取物)(Baltz等人, (1986) Plenum Press, New York, 第115-121頁)，繼而在4天後，每天皮下注射10% w/v酪蛋白(casein)於0.1 M NaHCO₃中之溶液10次，持續12天之時期(Botto等人, (1997) *Nature Med.*, 3: 855-859)。酪蛋白引發持續性急性炎症及血清澱粉樣A蛋白(SAA)產生之持續增加，從而在所有動物中造成AA澱粉樣蛋白沈積。最後一次酪蛋白注射七天後，將KI引入所有小鼠之飲用水中，且3天後，各小鼠接受標準劑量之經¹²⁵I標記之人類SAP的靜脈內注射(Hawkins等人, (1990) *J. Clin. Invest.*, 86:1862-1 869及Hawkins等人, (1988) *J. Exp. Med.*, 167: 903-913)。示蹤劑注射之後24小時及48小時，對所有小鼠進行全身計數以測定放射性滯留，其為全身澱粉樣蛋白負載之精確指標。125I-SAP示蹤劑注射之後10天，藉由每隻小鼠單次腹膜內注射10 mg經分離純人類SAP使所有小鼠『負載』人類SAP。注射至澱

粉樣變性小鼠中之人類SAP停留於澱粉樣蛋白沈積物中且存留於此處之半衰期為約3-4天，同時未結合於澱粉樣蛋白之任何人類SAP以約3-4小時之半衰期自循環清除(Hawkins等人, (1988) *J. Exp. Med.*, 167: 903-913及Pepys等人, (2002) *Nature*, 417: 254-259)。

注射經分離純人類SAP之後，用抗人類SAP抗體於澱粉樣變性小鼠之脾中進行免疫組織化學染色，顯示所有澱粉樣蛋白沈積物在其典型邊緣區分佈中存在強陽性染色。此結合之人類SAP為本發明之治療性抗SAP抗體之目標。

抗SAP處理

人類SAP注射之後三天，當循環中不再能偵測到人類SAP時，使所有小鼠(除各補體基因剔除組中之兩隻以外)接受1 ml 50 mg/ml單特異性綿羊抗人類SAP抗血清之全IgG部分(批號2866)於磷酸鹽緩衝生理食鹽水(PBS)中之溶液(含有7 mg/ml有效抗SAP抗體)的單次腹膜內注射。抗血清由The Binding Site Ltd, Birmingham, UK使用人類SAP(在倫敦大學學院澱粉樣變性及急性期蛋白質研究中心(University College London Centre for Amyloidosis and Acute Phase Proteins)中嚴格純化至100%)及專屬免疫程序製備。隨後在投與抗SAP之後15天處死所有動物以藉由鹼性醇剛果紅溶液染色組織學估算澱粉樣蛋白負載(Puchtler, H., Sweat, F.及Levine, M. (1962) On the binding of Congo red by amyloid. *J. Histochem. Cytochem.*, 10: 355-364)。由一或多個對各小鼠所接受之處理不知情的專家觀察者獨立

地檢查所有動物之脾及肝臟之剛果紅切片，且如先前所報導對所存在之澱粉樣蛋白之量評分(Botto等人，(1997) *Nature Med.*, 3 : 855-859)。1-5之分值表示1至5之大致的以10為底之對數的分級量表，1對應於特定器官之若干個切片中有一或兩個微小澱粉樣蛋白斑點，5對應於包含第1級之約10,000倍的澱粉樣蛋白的大量沈積物(Botto等人，(1997) *Nature Med.*, 3: 855-859)。不同觀察者之分值始終高度一致，但一些觀察者亦使用中間值整數.5分。使用所有觀察者對於各動物中各器官之分值的算術平均值進行統計分析。

結果

與具有足夠補體之野生型小鼠中澱粉樣蛋白沈積物之有效清除形成鮮明對比，仍有大量澱粉樣蛋白存在於兩組補體缺乏動物中，但其相較於各類型之兩隻對照補體缺乏小鼠趨向於具有較破碎之外觀。中值、範圍、脾澱粉樣蛋白評分為：野生型，1.17、0.0-1.5、n=15；C3基因剔除組，1.92、1.17-4.33、n=12；C1q基因剔除組，1.25、1.17-3.5、n=10(克魯斯卡爾-沃利斯非參數ANOVA(Kruskal-Wallis non-parametric ANOVA)， $P<0.001$)。野生型對照組與兩個補體缺乏組之間的差異為顯著的，對於C3基因剔除組 $P<0.001$ ，且對於C1q基因剔除組 $P=0.036$ (使用多重比較之博菲隆校正(Bonferroni correction))，但C3與C1q基因剔除組之間的差異不顯著， $P=0.314$ (曼尼-惠特尼U檢驗(Mann-Whitney U test))。

討論

在缺乏C1q或C3之小鼠中，抗SAP處理不會如在具有足夠補體之野生型小鼠中般有效地清除澱粉樣蛋白沈積物。因此，抗SAP之治療功效實質上極其依賴於補體，且並非僅由IgG抗體結合介導，該抗體在理論上可經由其Fc(γ)受體與巨噬細胞接合。然而，補體缺乏小鼠中持續性澱粉樣蛋白沈積物之較破碎外觀表明單獨之抗體至少有一些作用。此外，相較於C3缺乏動物，C1q缺乏動物中之清除更有效的趨勢表明C3活化很關鍵，且一些補體活化可在無C1q存在下發生。

實例11：對完整IgG抗SAP抗體之需要

IgG抗體進行補體活化需要整個完整分子(包括Fc區)且經由藉由結合C1q引發之經典路徑進行。然而，在一些抗體-抗原系統中，F(ab)₂片段可介導經由替代性路徑進行之補體活化。為證實抗SAP抗體清除澱粉樣蛋白之補體依賴性且研究對抗體Fc區之潛在需要，測試F(ab)₂抗SAP抗體之作用，該抗體藉由在pH 4.0下利用胃蛋白酶裂解綿羊多株抗人類SAP抗血清之IgG部分(批號2866)而製備且藉由標準方法純化。

AA澱粉樣變性之誘發及處理

如以上實例10所詳述，在野生型C57BL/6小鼠中誘發AA澱粉樣變性並確認。亦如實例10中所詳述用人類SAP負載澱粉樣蛋白沈積物之後，用綿羊多株抗人類SAP抗血清之完整IgG部分、用單獨之緩衝媒劑或用IgG部分之F(ab)₂片

段處理各組小鼠。所注射之抗SAP抗體活性的劑量為每隻小鼠接受7.28 mg F(ab)₂及每隻小鼠接受7 mg(照常50 mg總IgG)完整IgG。14天後處死所有小鼠以藉由剛果紅染色估算澱粉樣蛋白負載。

結果

在接受IgG抗SAP抗體之小鼠中幾乎完全清除澱粉樣蛋白沈積物，相比之下僅接受媒劑之對照小鼠中有大量澱粉樣蛋白沈積物。接受F(ab)₂之小鼠具有少於未處理對照組之澱粉樣蛋白，但仍實質上多於用完整IgG抗SAP抗體處理之小鼠(表9)。

表9.在清除澱粉樣蛋白沈積物中，相較於完整IgG抗體，F(ab)₂抗SAP之功效較低

組(處理，組大小)	澱粉樣蛋白分值 中值、範圍	
	脾	肝臟
1(無抗體，n=10)	4.0、4.0-4.33	3.5、2.67-4.67
2(IgG抗SAP抗體，n=8)	1.0、1.0-3.67*	1.25、1.0-1.5
3(F(ab) ₂ 抗SAP抗體，n=5)	2.17、1.33-3.0	1.67、1.33-1.67

克魯斯卡爾-沃利斯檢驗(Kruskal-Wallis test)：脾，P<0.001；肝臟，P<0.001

曼尼-惠特尼檢驗(Mann-Whitney test)**：1相對於2，脾與肝臟兩者，P<0.001；1相對於3，脾與肝臟兩者，P=0.001；2相對於3，脾，P=0.284；肝臟，P=0.019

*組2中之單一離群值，儘管用IgG抗SAP處理，但仍具有大量脾澱粉樣蛋白。排除此動物在IgG與F(ab)₂抗SAP抗

體處理之功效之間得到高度顯著之差異。**由於多重比較，故顯著性要求P值為0.01或0.01以下

討論

此研究中所用F(ab)₂抗SAP抗體之莫耳劑量比IgG抗體高約1/3，因為F(ab)₂片段之分子量比完整IgG小。為獲得對澱粉樣蛋白清除之最佳效果，需要Fc。因為完整IgG在補體缺乏小鼠中甚至不如F(ab)₂在具有足夠補體之小鼠中有效，故此並非因為Fc(γ)受體直接參與細胞識別。所投與之高劑量之F(ab)₂很可能能夠經由替代性路徑活化一些補體。

實例12：對巨噬細胞之需要

US 2009/0191196中所述之組織學及組織化學研究顯示在用抗SAP抗體處理之小鼠中浸潤、包圍及吞噬澱粉樣蛋白沈積物的細胞為巨噬細胞。為證實實際上是巨噬細胞負責清除澱粉樣蛋白，在已藉由投與氯屈膦酸脂質體(liposomal clodronate)抑制所有巨噬細胞活性的小鼠中測試用綿羊多株抗人類SAP抗血清之完整IgG部分(批號2866)處理之作用。試劑、實驗方案及氯屈膦酸脂質體對巨噬細胞功能之影響已充分確定且在文獻中廣泛記載(Van Rooijen等人, (2002) 7. *Liposome Research.*, 第12卷, 第81-94頁)。

AA澱粉樣變性之誘發及處理

使用以上實例10中所詳述之方案在野生型小鼠中誘發AA澱粉樣變性並確認之後，使所有動物接受10 mg經分離

之純人類SAP的單次腹膜內劑量以用人類SAP負載其沈積物。隨後測試組即刻及在之後2天、7天及14天腹膜內接受0.3 ml氯屈膦酸脂質體。人類SAP注射之後第3天，一個對照組及測試組接受50 mg綿羊抗人類SAP抗血清之IgG部分的單次腹膜內劑量。第二對照組不接受抗SAP及其他額外處理。向測試及抗體對照組投與抗SAP之後14天，處死所有小鼠以藉由剛果紅染色估算澱粉樣蛋白負載。

結果

相較於未接受抗體之組，用抗SAP處理幾乎完全清除澱粉樣蛋白沈積物。相比之下，在以已知完全消除巨噬細胞功能之方案接受氯屈膦酸脂質體之小鼠中，澱粉樣蛋白沈積物未得到清除(表10)。

表10.巨噬細胞耗乏抑制抗SAP抗體清除澱粉樣蛋白沈積物

組(處理，組大小)	澱粉樣蛋白分值 中值、範圍	
	脾	肝臟
1(氯屈膦酸鹽加抗SAP，n=13)	4.83、2.0-5.0	3.17、2.0-3.5
2(僅抗SAP，n=12)	1.33、0.67-3.5	1.0、0.67-2.5
3(無，n=12)	4.0、3.5-4.5	2.83、1.0-3.17

克魯斯卡爾-沃利斯檢驗：脾， $P<0.001$ ；肝臟， $P<0.001$

採用博菲隆校正之曼尼-惠特尼檢驗：1相對於2：脾與肝臟兩者， $P<0.003$ ；1相對於3：脾， $P=0.078$ ；肝臟， $P=0.411$ ；2相對於3，脾與肝臟兩者， $P<0.003$ 。

討論

此特定實驗中之結果證實巨噬細胞功能為由抗人類SAP

抗體清除澱粉樣蛋白沈積物所需。

實例13：小鼠單株抗人類SAP抗體SAP-E在清除小鼠全身性AA澱粉樣蛋白沈積物中之功效。

相較於作為陽性對照組之標準綿羊多株抗人類SAP抗體，研究各種單株抗體介導含有人類SAP之鼠類AA澱粉樣蛋白沈積物清除的能力。

AA澱粉樣變性之誘發及處理

轉殖人類SAP基因之SAP基因剔除C57BL/6小鼠藉由使已缺失小鼠SAP基因之純種C57BL/6動物(Botto等人, (1997) *Nature Med.*, 3: 855-859)與帶有人類SAP轉殖基因之C57BL/6小鼠(Yamamura等人, (1993) *Mol. Reprod. Dev.*, 36: 248-250及Gillmore等人, (2004) *Immunology*, 112: 255-264)雜交而產生。因此此等小鼠缺乏小鼠SAP但表現濃度顯著大於人類中所見之濃度的人類SAP。如實例10中所述在轉殖人類SAP基因之小鼠SAP基因剔除之小鼠中誘發全身性AA澱粉樣變性，且在向小鼠最後一次注射酪蛋白之後9天，照常藉由在注射示蹤劑量之經¹²⁵I標記之人類SAP之後進行澱粉樣蛋白全身計數來確認澱粉樣蛋白沈積的存在及程度。所有小鼠具有實質及類似量之澱粉樣蛋白，且分配至密切匹配組中以接受不同處理。示蹤劑注射之後一週，各小鼠藉由腹膜內注射接受5 mg單次劑量之CPHPC以耗乏其循環人類SAP，繼而5小時之後經由相同途徑注射標準綿羊多株抗人類SAP IgG部分(批號2866, 1 ml, 50 mg/ml總蛋白質，含有7 mg/ml抗人類SAP抗體)或5 mg九種

不同經分離純單株抗人類SAP抗體之一(表11)。抗體注射之後21天處死所有小鼠，且藉由其脾之剛果紅組織學測定澱粉樣蛋白負載。

表11.用CPHPC及各種抗人類SAP抗體處理之後患有全身性AA澱粉樣變性之小鼠的脾中澱粉樣蛋白之存在

抗體處理	抗體同型	澱粉樣蛋白分值 中值、範圍
無		3、3-5
多株	NA	1、1-1
單株SAP-A	IgG1	3、2-4
單株SAP-B	IgG2a	3、2-4
單株SAP-C	IgG1	4、2-4
單株SAP-D(n=1)	IgG1	4
單株SAP-E	IgG2a	1、1-1
單株SAP-F(n=1)	IgG1	2
單株SAP-G	IgG1	3、2-4

所測試之單株抗體中，僅SAP-E能清除澱粉樣蛋白沈積物，但其效果與綿羊多株抗體之高度可再現及顯著的作用相同。重要的是，SAP-E具有已知活化小鼠補體之小鼠IgG2a同型，而所有其他單株除SAP-B以外均為不活化補體之小鼠IgG1同型。儘管SAP-B為小鼠IgG2a同型，但其在活體外與SAP之結合顯著弱於SAP-E，且顯然在活體內不足以有效。

討論

此等結果表明親合性足夠高且活化補體之IgG2a小鼠單

株抗人類SAP抗體在活體內如綿羊多株抗人類SAP抗體般有效地清除澱粉樣蛋白。

實例14：單株小鼠抗人類SAP抗體SAP-K與SAP-E之活體外比較表徵

SAP-K係選自6種不同最能親合性結合之小鼠IgG2a單株，該等單株係利用標準技術藉由用經純化人類SAP進行免疫及製備融合瘤(該等融合瘤藉由常規方法選殖)之習知融合方法獲得。在此等IgG2a抗體中，SAP-K展示與固定之人類SAP之結合最強。無論人類SAP藉由非特異性黏附或藉由共價連接直接固定於塑膠表面上，或藉由SAP與固定之配位體(澱粉樣蛋白原纖維抑或小分子配位體磷酸乙醇胺)之特異性鈣依賴性結合固定，SAP-K均顯示最強結合。SAP-K亦在鈣存在或不存在下良好地結合於直接固定之SAP，且若SAP預先已與CPHPC複合，則SAP-K共價『固定』於十聚SAP-CPHPC複合物中(Pepys, M.B.等人, (2002) Targeted pharmacological depletion of serum amyloid P component for treatment of human amyloidosis. *Nature*, 417: 254-259; Kolstoe, S.E.等人, (2009) Molecular dissection of Alzheimer's disease neuropathology by depletion of serum amyloid P component. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106: 7619-7623)。SAP-E亦良好地結合於所有此等不同構型之人類SAP。然而，兩種抗體顯著不同之處在於，當僅可利用極少量人類SAP時，例如當板僅暴露於1 $\mu\text{g/ml}$ 塗佈之人類SAP時，結合的SAP-K比SAP-E多得多，

而當固定之SAP較多時，例如當塗佈溶液含有100 $\mu\text{g/ml}$ SAP時，則SAP-E之結合比SAP-K強。此差異表明當一個以上SAP分子與其他分子密切締合時SAP-E最佳地結合，而SAP-K親合性結合於單一經分離SAP分子。此機制由如下發現支持：當人類SAP藉由捕捉於塗有多株綿羊抗人類SAP(批號2866)之板上而固定(此提供在各綿羊IgG抗體分子之兩個臂中密切保持在在一起之SAP分子對)時，在所有人類SAP輸入含量下SAP-E之結合優於SAP-K(圖7)。

圖7展示單株小鼠抗體與由固定之綿羊多株抗人類SAP抗體捕捉的人類SAP之結合的免疫放射檢定。在所提供之所有濃度的人類SAP下，實質上SAP-E之結合比SAP-K強。各點為3個重複實驗之平均值。

極其重要的是，SAP-E及SAP-K與天然人類SAP之結合顯然同等良好，如瓊脂糖凝膠雙向免疫擴散中兩種抗體針對兩種經分離之純人類SAP與全人類血清之免疫沈澱所示。此兩種小鼠單株抗體之類似結合反映在Biacore儀器(BIAcoreX, Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden)中使用共價固定於晶片上之人類SAP所量測到的類似參數中(表12)。

表12.由Biacore測定的單株抗體對人類SAP之親和力

	$k_a(\text{M}^{-1} \text{sec}^{-1})$	$k_d(\text{sec}^{-1})$	$k_d(\text{M})$
SAP-E	$2 \pm 5 \times 10^4$	$6 \pm 4 \times 10^{-5}$	$5 \pm 4 \times 10^{-9}$
SAP-K	$3.18 \pm 5 \times 10^4$	$1.7 \pm 0.9 \times 10^{-5}$	$1 \pm 1.7 \times 10^{-9}$

所示值為3個重複量測值之平均值及SD

相比之下，儘管在生理學緩衝液中進行瓊脂糖凝膠電泳之後的西方墨點法中兩種抗體均結合於天然人類SAP，但在還原SDS-PAGE後之西方墨點法中僅SAP-E結合於人類SAP。因此SAP-E識別變性人類SAP，而SAP-K僅識別天然人類SAP且必須結合於構形抗原決定基。

人類SAP之CNBr消化使159M與160W之間發生裂解，產生一新肽，其中位置159已自甲硫胺酸轉變為高絲胺酸內酯(稱作150-158-高絲胺酸內酯)。在SDS-PAGE後之西方墨點法中，SAP-E結合於藉由CNBr在殘基Met159處裂解SAP釋放之N端1-158-高絲胺酸內酯多肽，但幾乎不與在無鈣存在下藉由胰凝乳蛋白酶消化釋放之1-140片段反應(圖8)。因此SAP-E識別之抗原決定基必須在區域140-158中，該區域顯然包含一些抗變性二級結構，因為溶液中之肽136-147、138-149、140-151及112-119不能有效抑制SAP-E結合。此與動力學穩定性及對SAP變性之抗性一致(Manning, M.及Colón, W. (2004) *Biochemistry*, 43:11248-11254)。

圖8展示單株抗人類SAP抗體SAP-E之抗原決定基定位。A，人類SAP之完整胺基酸序列，其展示藉由CNBr於70% TFA中裂解之點(殘基159M)，及藉由胰凝乳蛋白酶在不經還原/胺甲醯胺基甲基化下於碳酸氫銨中，在無鈣存在下裂解之點(殘基140Y及144F)。B，用CNBr裂解之SAP的SDS-PAGE分析。左圖：考馬斯藍染色(Coomassie blue stain)；泳道1，未處理對照SAP；泳道2，CNBr裂解之後

的SAP，其展示痕量殘餘未裂解完整原聚體及分別為約20kD(殘基1-158-高絲胺酸-內酯)及5kD(160-204)之預期片段。該等產物藉由質譜精確證實。右圖：用SAP-5進行之西方墨點法，其展示泳道1(負載100 ng)及泳道2(10 ng)中完整未處理SAP之強染色，以及泳道3(600 ng)、泳道4(130 ng)及泳道5(64 ng)中之殘餘完整SAP及CNBr裂解之SAP中較大殘基1-158-高絲胺酸-內酯片段的強染色。泳道6含有經分離之純人類CRP，SAP-5與其完全不反應。C，經胰凝乳蛋白酶消化之SAP的SDS-PAGE分析。左圖：考馬斯藍染色；泳道1，未處理對照SAP；泳道2，胰凝乳蛋白酶消化之後的SAP，展示對應於殘基1-140及145-204之預期大片段。該等物質藉由質譜精確證實。右圖：用SAP-E進行之西方墨點法，其展示泳道1(負載500 ng)及泳道2(100 ng)中之完整未處理SAP的強染色，以及含有不同負載之經胰凝乳蛋白酶消化之SAP的泳道3及4中的殘餘完整SAP。僅在負載最重之泳道3中見到SAP-E與殘基1-140片段之極弱結合。泳道5(500 ng)及泳道6(100 ng)含有經分離之純人類CRP，SAP-E與其完全不反應。D，人類SAP(h)與小鼠SAP(m)之間殘基136-147的序列比較。上圖，以上藉由在鼠類序列中以黑色顯示之殘基表示的差異。下圖，頂端具有140Y之此延長環之位置，其在人類SAP之3D次單元結構中以白色顯示。鼠類序列中之不同殘基以黑色顯示。灰色球體表示配位體結合袋中所結合之鈣原子。

SAP-K識別之構形抗原決定基藉由CLIPS[®]技術抗原決定

基定位(Pepscan Presto BV)鑑別為圓盤樣五聚天然SAP分子周長上之暴露周邊環，亦即殘基121-131。

圖9展示人類SAP上由SAP-K識別之抗原決定基的位置(A，以黑色突顯，如藉由CLIPS[®]技術所確定)及由SAP-E識別之抗原決定基的位置(B，以白色顯示，如藉由使用SAP之CNBr裂解產物及藉由在無鈣存在下進行胰凝乳蛋白酶消化釋放之片段獲得的結合結果所確定，為140-158)。

實例15：小鼠AA澱粉樣變性模型中SAP-K小鼠單株抗人類SAP抗體在活體內清除澱粉樣蛋白沈積物中之功效。

在清除小鼠之已形成之全身性AA澱粉樣蛋白沈積物方面，將SAP-K之效能與標準綿羊多株抗體之作用進行比較。

AA澱粉樣變性之誘發及處理

如以上實例10所詳述，在野生型C57BL/6小鼠中誘發AA澱粉樣變性並加以確認。亦如實例10中所詳述用人類SAP負載澱粉樣蛋白沈積物之後，用每隻小鼠50 mg綿羊多株抗人類SAP抗血清之完整IgG部分(批號2866)形式的總IgG處理各組小鼠，該總IgG提供7 mg劑量之有效抗SAP抗體，每隻小鼠5 mg劑量之經分離純化SAP-K，每隻小鼠1 mg劑量之經分離純化SAP-K及作為陰性對照組的對無關人類抗原具特異性且不與人類SAP或任何鼠類抗原反應的經分離純化單株小鼠IgG2a抗體。17天後處死所有小鼠以藉由剛果紅染色估算澱粉樣蛋白負載。

結果

用 5 mg SAP-K處理之小鼠展示與用 7 mg劑量之綿羊多株抗體所見相同顯著之脾及肝臟澱粉樣蛋白沈積物清除。僅痕量澱粉樣蛋白斑點保留在經處理小鼠之脾中且在許多肝臟中完全未偵測到澱粉樣蛋白斑點，與所有接受無關對照小鼠IgG2a抗體之動物中的大量脾及肝臟澱粉樣蛋白沈積物形成鮮明對比(表 13)。在每隻小鼠 1 mg、0.5 mg及 0.1 mg SAP-K之較低劑量(0.5 mg及 0.1 mg之資料未示)下，無顯著作用。

表 13.單株小鼠IgG2a抗人類SAP抗體SAP-K對患有全身性AA澱粉樣變性之小鼠之內臟澱粉樣蛋白沈積物的作用

組(處理，組大小)	澱粉樣蛋白分值 中值、範圍	
	脾	肝臟
1(陰性對照小鼠IgG2a，n=8)	4.08、1.5-4.50	2.42、2.0-2.67
2(7 mg綿羊多株IgG抗人類SAP抗體，n=5)	1.17、1.0-1.5	1.0、0.67-1.17
3(1 mg單株小鼠IgG2a抗人類SAP抗體，SAP-K， n=10)	3.5、2.83-4.5	1.83、1.0-2.83
4(5 mg單株小鼠IgG2a抗人類SAP抗體，SAP-K， n=10)	1.25、1.0-2.0	1.0、1.0-1.33

克魯斯卡爾-沃利斯檢驗：脾， $P < 0.001$ ；肝臟， $P = 0.001$

曼尼-惠特尼檢驗*：1相對於2，脾， $P = 0.002$ ；肝臟， $P = 0.002$ ；1相對於3，脾， $P = 0.173$ ；肝臟， $P = 0.083$ ；1相對於4，脾， $P < 0.001$ ；肝臟， $P < 0.001$ ；2相對於3，脾， $P = 0.001$ ；肝臟， $P = 0.019$ ；2相對於4，脾， $P = 0.513$ ；肝臟， $P = 0.768$ ；3相對於4，脾， $P < 0.001$ ；肝臟， $P = 0.004$ 。

*由於多重比較，故顯著性要求P值為0.01或0.01以下。

討論

此等結果表明活化補體之小鼠IgG2a同型的單株抗人類SAP抗體(其尤其識別構形抗原決定基)活體內清除澱粉樣蛋白沈積物之功效。因此，用於本發明之單株抗人類SAP抗體可主要針對序列抗原決定基(諸如抗體SAP-E)或完全針對構形抗原決定基(諸如SAP-K)。

實例16：比較SAP-E與SAP-K在清除小鼠之全身性AA澱粉樣蛋白沈積物中之功效及估算血漿抗SAP抗體濃度

AA澱粉樣變性之誘發及處理

如以上實例10所詳述，在野生型C57BL/6小鼠中誘發AA澱粉樣變性並加以確認。亦如實例10中所詳述用人類SAP負載澱粉樣蛋白沈積物之後，用每隻小鼠3 mg及1 mg兩種不同抗體處理各組小鼠。亦誘發澱粉樣蛋白之對照組僅接受PBS而非抗體，且其他兩個組給與每隻小鼠5 mg已知有效劑量之各抗體。給與抗體之後1天、5天及15天，對小鼠採血以分析循環抗SAP抗體，且在第21天處死所有小鼠以藉由剛果紅染色估算澱粉樣蛋白負載。使用穩固免疫放射測定檢定，用分別以已知濃度加入正常小鼠血清中之經純化SAP-E及SAP-K標準化來分析所有血清之抗SAP活性。

結果

由四個獨立專家觀察者對澱粉樣蛋白負載評分，該等專家觀察者均對所檢查之各組織的身分不知情。所有觀察者之分值照常高度一致，且為進行統計分析，將所有觀察者對各小鼠之脾與肝臟之總分進行加和。如先前所示，兩種

抗體均有效，且存在明顯劑量依賴性作用，但在較低劑量下SAP-E顯然比SAP-K更有效。

表 14. SAP-E與SAP-K之間在清除內臟AA澱粉樣蛋白沈積物中之效能的比較

組(處理，小鼠數)	脾及肝臟澱粉樣蛋白分值 中值、範圍
C(陰性對照組，僅PBS)	6.81、4.25-8.0
K5(SAP-K 5 mg，n=5)	2.25、2.25-2.5
K3(SAP-K 3 mg，n=10)	2.81、2.0-4.25
K1(SAP-K 1 mg，n=10)	5.63、4.0-6.5
E5(SAP-E 5 mg，n=5)	2.0、1.5-2.38
E3(SAP-E 3 mg，n=10)	2.5、2.0-5.0
E1(SAP-E 1 mg，n=10)	3.38、2.5-5.63

克魯斯卡爾-沃利斯檢驗： $P < 0.001$

曼尼-惠特尼檢驗*：K5相對於E5， $P = 0.095$ ；K3相對於E3， $P = 0.684$ ；K1相對於E1， $P = 0.001$ ；K5相對於K3， $P = 0.594$ ；K5相對於K1， $P = 0.001$ ；K3相對於K1， $P < 0.001$ ；E5相對於E3， $P = 0.008$ ；E5相對於E1， $P = 0.001$ ；E3相對於E1， $P = 0.004$ ；K5相對於C， $P = 0.001$ ；E5相對於C， $P = 0.001$ ；K3相對於C， $P < 0.001$ ；E3相對於C， $P < 0.001$ ；K1相對於C， $P = 0.043$ ；E1相對於C， $P < 0.001$ 。*由於多重比較，故顯著性要求P值為0.01或0.01以下。

單次劑量投與所有動物之後，循環抗SAP抗體活性之濃度高度且始終具有劑量依賴性，除各較低劑量組中單個離群個體以外。每隻小鼠給與1 mg之後，一般在大多數小鼠中在第1天甚至未能偵測到高於背景值之抗體。相比之下，給與5 mg之後，在第15天仍存在大量抗體，且給與3

mg之後，大多數小鼠在第5天具有循環抗體，但在第15天之後抗體很少(表15)。SAP-E與SAP-K之型態之間無顯著差異。

表15.單次腹膜內給藥之後抗SAP抗體之血清濃度

組(抗SAP抗體之劑量)	給藥之後的抗SAP濃度 中值、範圍(μ .g/ml)*		
	1天	5天	15天
K5 (SAP-K 5 mg)	950、840-1200	400、300-480	45、25-90
E5 (SAP-E 5 mg)	1000、800-1500	600、360-700	80、15-113
K3 (SAP-K 3 mg)	240、50-600	40、8-280	8、6-30
E3 (SAP-E 3 mg)	275、4-480	48、0-240	4、2-68
K1 (SAP-K 1 mg)	7、7-90	6、5-38	4、2-9
E1 (SAP-E 1 mg)	7、6-280	7、6-120	5、3-12
C (僅PBS)	5、5-7	5、5-13	5、5-16

*低於17 μ g/ml之表觀抗SAP抗體濃度為檢定之背景值且表示無真實活性。

討論

在直接逐一比較中，存在SAP-E相較於SAP-K略微但顯著有效的一致證據。每隻小鼠投與1 mg之後，一天之後未能偵測到循環抗SAP抗體活性，顯然所有抗SAP抗體均停留於澱粉樣蛋白沈積物內之人類SAP。給與3 mg之後，在第1天大量抗SAP存在於循環中，且在第5天仍存在。每隻小鼠5 mg之後，15天之後血液中仍存在顯著濃度之抗

SAP。此等觀察結果表明重複小劑量抗SAP抗體可足以觸發澱粉樣蛋白清除。

實例17：低劑量SAP-E與SAP-K在清除小鼠之全身性AA澱粉樣蛋白沈積物中之功效的比較

AA澱粉樣變性之誘發及處理

如以上實例10所詳述，在野生型C57BL/6小鼠中誘發AA澱粉樣變性並加以確認。亦如實例10中所詳述，用人類SAP負載澱粉樣蛋白沈積物之後，用每隻小鼠單次給與0.5 mg及1 mg兩種不同抗體或6次重複給與0.15 mg(以3或4天時間間隔給與)來處理各組小鼠(各組n=10)。亦誘發澱粉樣蛋白之對照組(n=9)僅接受PBS而非抗體，且其他兩個組(各組n=3)給與每隻小鼠5 mg已知有效劑量之各抗體。第29天處死所有小鼠以藉由剛果紅染色估算澱粉樣蛋白負載。

結果

低劑量，包括重複極低劑量，在減少澱粉樣蛋白負載，尤其肝臟中之澱粉樣蛋白負載中顯示顯著功效。SAP-E再次顯然比SAP-K更有效。

表16. 低劑量SAP-E與SAP-K之間在清除內臟AA澱粉樣蛋白沈積物中之效能的比較

組	澱粉樣蛋白分值(中值、範圍)	
	脾	肝臟
C，陰性對照組，僅PBS	4.5、4.0-4.75	3.25、2.0-4.0
E1，SAP-E 1 mg	1.25、1.0-4.25	1.0、0.5-1.25
E0.5，SAP-E 0.5 mg	4.75、1.0-5.0	1.0、0.5-3.5
Erep，SAP-E 6×0.15 mg	3.5、2.0-4.5	0.5、0.0-3.25

K1, SAP-K 1 mg	4.13、1.0-5.0	1.0、0.0-4.0
K0.5, SAP-K 0.5 mg	4.25、1.75-4.5	1.13、0.0-2.75
Krep, SAP-K 6×0.15 mg	4.38、1.5-4.75	1.0、0.0-2.25

克魯斯卡爾-沃利斯檢驗：脾， $P < 0.001$ ；肝臟， $P = 0.001$

曼尼-惠特尼檢驗*：E1相對於C：脾， $P < 0.001$ ；肝臟， $P < 0.001$ ；E0.5相對於C：脾， $P = 0.604$ ；肝臟， $P = 0.004$ ；Erep相對於C：脾， $P = 0.002$ ；肝臟， $P < 0.001$ ；K1相對於C：脾， $P = 0.065$ ；肝臟， $P = 0.001$ ；K0.5相對於C：脾， $P = 0.022$ ；肝臟， $P = 0.001$ ；Krep相對於C：脾， $P = 0.079$ ；肝臟， $P < 0.001$ ；E1相對於E0.5：脾， $P = 0.005$ ；肝臟， $P = 0.143$ ；E1相對於Erep：脾， $P = 0.043$ ；肝臟， $P = 0.280$ ；E0.5相對於Erep：脾， $P = 0.019$ ；肝臟， $P = 0.043$ ；K1相對於K0.5：無顯著差異；K1相對於Krep：無顯著差異；K0.5相對於Krep：無顯著差異；E1相對於K1：脾， $P = 0.015$ ；肝臟， $P = 0.353$ ；E0.5相對於K0.5：無顯著差異；Erep相對於Krep：無顯著差異。*由於多重比較，故顯著性要求P值為0.01或0.01以下。

討論

SAP-E相較於SAP-K之顯著較高效能呈現出可再現性。甚至極低劑量在重複投與時之功效及提出對肝臟澱粉樣蛋白沈積物之作用大於脾澱粉樣蛋白沈積物受到關注且具有潛在臨床重要性。

實例18：人類化單株抗人類SAP抗體在活體外活化補體

補體活化為根據本發明由抗人類SAP抗體清除澱粉樣蛋白之功效所必需。在活體外藉由向含有30 mg/l濃度之SAP

的全人類血清或已加入經分離純人類SAP至此相同濃度之全小鼠血清中添加不同量之經分離純抗體來比較人類化單株抗體SAP-E H1L1及SAP-K H3L0活化人類及小鼠血清中之C3的能力。在兩種情況下，血清為新鮮的且具有足夠補體，且實驗條件補體活化之最佳條件，其中使用補體結合測試緩衝液(CFT)作為稀釋劑。

製備以下混合物(表17)：

管編號	血清	單株抗SAP抗體	最終濃度($\mu\text{g/ml}$)	
			抗SAP	人類SAP
M1	小鼠+人類SAP	SAP-E H1L1	15	30
M2	小鼠+人類SAP	SAP-E H1L1	30	30
M3	小鼠+人類SAP	SAP-E H1L1	60	30
M4	小鼠+人類SAP	SAP-E H1L1	120	30
M5	小鼠+人類SAP	SAP-K H3L0	15	30
M6	小鼠+人類SAP	SAP-K H3L0	30	30
M7	小鼠+人類SAP	SAP-K H3L0	60	30
M8	小鼠+人類SAP	SAP-K H3L0	120	30
M9	小鼠+人類SAP	無	0	30
H1	人類	SAP-E H1L1	15	30
H2	人類	SAP-E H1L1	30	30
H3	人類	SAP-E H1L1	60	30
H4	人類	SAP-E H1L1	120	30
H5	人類	SAP-K H3L0	15	30
H6	人類	SAP-K H3L0	30	30
H7	人類	SAP-K H3L0	60	30
H8	人類	SAP-K H3L0	120	30
H9	人類	無	0	30

將所有管在37°C下培育2小時以使得補體活化能夠進行。因為血清中總發生緩慢自發性活化，故提供兩個額外對照組，M9及H9之重複(稱作M10及H10)，其不進行培育但在混合之後即刻在-80°C下冷凍，隨後在即將分析C3裂

解之前解凍。M/H9及M/H10之間的比較使得能夠區分自發性C3裂解與由抗SAP抗體產生之任何額外活化以及向小鼠血清中僅添加人類SAP之任何作用。

藉由雙向免疫電泳(two dimensional electroimmunophoresis)使用針對人類C3之單特異性抗體分析人類血清中之C3裂解。此方法對於小鼠C3裂解具有低靈敏度，因為小鼠C3之不同電泳遷移率相較於人類C3難以可靠的區分。因此藉由瓊脂糖凝膠電泳繼而用單特異性抗小鼠C3抗體進行免疫墨點分析來分析小鼠C3裂解。

結果

兩種人類化抗體均有效活化人類補體，其證據為C3的顯著劑量依賴性裂解，使得較慢遷移率天然C3免疫沈澱峰尺寸減小而較快裂解之C3c峰之尺寸增大(圖10)。

圖10展示全人類血清中由人類化單株抗人類SAP抗體引起之C3活化。

在包括樣品H10中基線C3裂解之對照組的檢定中，顯然即使最低劑量之兩種抗SAP抗體亦能相較於無抗體之自發性裂解對照組中所見產生較多C3裂解(圖11)。

圖11展示全人類血清中由低劑量人類化單株抗人類SAP抗體引起之C3活化。

對於補充有人類SAP之全小鼠血清中小鼠C3之裂解獲得極類似結果。兩種抗體均顯示天然小鼠C3之劑量依賴性裂解，使得慢遷移率天然C3帶之強度下降且較快遷移率活化形式之強度增加。此外，即使最低劑量之各抗體相較於無

抗體之自發性活化對照組中所見亦產生較多 C3 裂解 (圖 12)。

圖 12 展示補充有純人類 SAP 之全小鼠血清中由人類化單株抗人類 SAP 抗體引起之 C3 活化。

討論

兩種人類化單株抗人類 SAP 抗體均能在人類 SAP 存在下有效活化補體，且因此為適用於根據本發明治療全身性澱粉樣變性及由組織中細胞外澱粉樣蛋白沈積物所致之任何其他疾病的適合候選物。

序列索引

SEQ ID NO	序列描述
1	SAP-E CDRH1 胺基酸序列
2	SAP-E CDRH2 胺基酸序列
3	SAP-E CDRH3 胺基酸序列
4	SAP-E CDRL1 胺基酸序列
5	SAP-E CDRL2 胺基酸序列
6	SAP-E CDRL3 胺基酸序列
7	SAP-E V _H 胺基酸序列
8	SAP-E V _H DNA 序列
9	SAP-E V _L 胺基酸序列
10	SAP-E V _L DNA 序列
11	SAP-K CDRH1 胺基酸序列
12	SAP-K CDRH2 胺基酸序列
13	SAP-K CDRH3 胺基酸序列
14	SAP-K CDRL1 胺基酸序列
15	SAP-K CDRL2 胺基酸序列
16	SAP-K CDRL3 胺基酸序列
17	SAP-K V _H 胺基酸序列
18	SAP-K V _H DNA 序列
19	SAP-K V _L 胺基酸序列
20	SAP-K V _L DNA 序列

21	SAP-E V _H 嵌合體胺基酸序列
22	SAP-E V _L 嵌合體胺基酸序列
23	SAP-K V _H 嵌合體胺基酸序列
24	SAP-K V _L 嵌合體胺基酸序列
25	IGHV1-69人類可變重鏈生殖系接受體胺基酸序列
26	JH1袖珍基因
27	SAP-E人類化V _H 變異體H0胺基酸序列
28	SAP-E人類化V _H 變異體H1胺基酸序列
29	SAP-E人類化V _H 變異體H2胺基酸序列
30	SAP-E人類化V _H 變異體H3胺基酸序列
31	SAP-E人類化V _H 變異體H4胺基酸序列
32	IGKV1-39人類可變輕鏈生殖系接受體胺基酸序列
33	JK2袖珍基因
34	SAP-E人類化V _L 變異體L0胺基酸序列
35	SAP-E人類化V _L 變異體L1胺基酸序列
36	SAP-E人類化V _L 變異體L2胺基酸序列
37	SAP-K人類化V _H 變異體H0胺基酸序列
38	SAP-K人類化V _H 變異體H1胺基酸序列
39	SAP-K人類化V _H 變異體H2胺基酸序列
40	SAP-K人類化V _H 變異體H3胺基酸序列
41	SAP-K人類化V _L 變異體L0胺基酸序列
42	SAP-K人類化V _L 變異體L1胺基酸序列
43	智人SAP胺基酸序列
44	小家鼠SAP胺基酸序列
45	SAP-E V _H 嵌合體核苷酸序列
46	SAP-E V _L 嵌合體核苷酸序列
47	SAP-K V _H 嵌合體核苷酸序列
48	SAP-K V _L 嵌合體核苷酸序列
49	IGHV1-69人類可變重鏈生殖系接受體核苷酸序列
50	IGHV1-39人類可變重鏈生殖系接受體核苷酸序列
51	未經密碼子最佳化之SAP-E人類化重鏈V區變異體H0核苷酸序列
52	未經密碼子最佳化之SAP-E人類化輕鏈V區變異體L0核苷酸序列
53	SAP-E人類化重鏈V區變異體H0核苷酸序列(經密碼子最佳化)
54	SAP-E人類化重鏈V區變異體H1核苷酸序列(經密碼子最佳化)
55	SAP-E人類化重鏈V區變異體H2核苷酸序列(經密碼子最佳化)
56	SAP-E人類化重鏈V區變異體H3核苷酸序列(經密碼子最佳化)
57	SAP-E人類化重鏈V區變異體H4核苷酸序列(經密碼子最佳化)
58	SAP-E人類化輕鏈V區變異體L0核苷酸序列(經密碼子最佳化)

59	SAP-E人類化輕鏈V區變異體L1核苷酸序列(經密碼子最佳化)
60	SAP-E人類化輕鏈V區變異體L2核苷酸序列(經密碼子最佳化)
61	SAP-E人類化重鏈H1完全成熟核苷酸序列(經密碼子最佳化)
62	SAP-E人類化重鏈H1完全成熟胺基酸序列
63	SAP-E人類化輕鏈L1完全成熟核苷酸序列(經密碼子最佳化)
64	SAP-E人類化輕鏈L1完全成熟胺基酸序列
65	未經密碼子最佳化之SAP-K人類化重鏈V區變異體H0核苷酸序列
66	未經密碼子最佳化之SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0核苷酸序列
67	SAP-K人類化重鏈V區變異體H0核苷酸序列(經密碼子最佳化)
68	SAP-K人類化重鏈V區變異體H1核苷酸序列(經密碼子最佳化)
69	SAP-K人類化重鏈V區變異體H2核苷酸序列(經密碼子最佳化)
70	SAP-K人類化重鏈V區變異體H3核苷酸序列(經密碼子最佳化)
71	SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0核苷酸序列(經密碼子最佳化)
72	SAP-K人類化輕鏈V區變異體L1核苷酸序列(經密碼子最佳化)
73	SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0 91A核苷酸序列(經密碼子最佳化)
74	SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0 91A胺基酸序列
75	SAP-K人類化H3重鏈核苷酸序列(經密碼子最佳化)
76	SAP-K人類化H3重鏈胺基酸序列
77	SAP-K人類化L0輕鏈核苷酸序列(經密碼子最佳化)
78	SAP-K人類化L0輕鏈胺基酸序列
79	免疫球蛋白鏈之信號序列

【圖式簡單說明】

圖 1 展示在 1 $\mu\text{g/mL}$ 塗佈濃度之人類 SAP 下鼠類抗體 SAP-E 及 SAP-K 的結合曲線。

圖 2 展示在 5 $\mu\text{g/mL}$ 塗佈濃度之人類 SAP 下鼠類抗體 SAP-E 及 SAP-K 的結合曲線。

圖 3 展示嵌合抗體 cSAP-E 及 cSAP-K 之結合曲線。嵌合抗體之曲線概況與等效融合瘤相同。

圖 4 展示 SAP-K H0L0、SAP-K H1L0、SAP-K H2L0 及 SAP-K H3L0 相較於 SAP-K 嵌合體及 SAP-E H1L1 相較於 SAP-E 嵌合體之結合曲線。亦測試無關之人類 IgG1 κ 抗體

作為陰性對照組。

圖5展示利用SAP-E嵌合體之競爭ELISA中之經純化SAP-K及SAP-E鼠類單株抗體。

圖6展示利用SAP-K嵌合體之競爭ELISA中之經純化SAP-K及SAP-K鼠類單株抗體。

圖7展示單株小鼠抗體SAP-E及SAP-K與由固定之綿羊多株抗人類SAP抗體捕捉的人類SAP之結合的免疫放射測定檢定。

圖8展示單株抗人類SAP抗體SAP-E之抗原決定基定位。A，人類SAP之完整胺基酸序列，其展示其中由CNBr於70% TFA中裂解的點(殘基159M)及在未經還原/胺甲醯胺基甲基化下由胰凝乳蛋白酶於碳酸氫銨中在無鈣存在下裂解的點(殘基140Y及144F)。B，用CNBr裂解之SAP的SDS-PAGE分析。C，用胰凝乳蛋白酶消化之SAP的SDS-PAGE分析。D，人類SAP(h)與小鼠SAP(m)之間殘基136-147的序列比較。

圖9展示人類SAP上由SAP-K(A，以黑色突顯)及SAP-E(B，以白色顯示)識別之抗原決定基之位置。

圖10展示全人類血清中由人類化單株抗人類SAP抗體引起之C3活化。

圖11展示全人類血清中由低劑量人類化單株抗人類SAP抗體引起之C3活化。

圖12展示補充有純人類SAP之全小鼠血清中由人類化單株抗人類SAP抗體引起之C3活化。A，無抗體之自發性活

化對照組。B，用抗小鼠C3以1:5000探測之免疫墨點。

C，用抗小鼠C3以1:10000探測之免疫墨點。

序 列 表

<110> 英商葛蘭素集團有限公司

<120> 抗原結合蛋白

<130> PB63944 WO

<140> 00106740

<141> 2011-03-01

<150> 61/309957

<151> 2010-03-03

<160> 79

<170> FastSEQ for windows Version 4.0

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠序列

<220>

<223> SAP-E CDRH1胺基酸序列

<400> 1

Thr Tyr Asn Met His

1

5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠序列

<220>

<223> SAP-E CDRH2胺基酸序列

<400> 2

Tyr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Ala Asn Tyr Asn Gln Gln Phe Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> 小家鼠序列

<220>

<223> SAP-E CDRH3胺基酸序列

<400> 3

Gly Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Gly Tyr Tyr Phe Asp Ser

1

5

10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠序列

<220>

<223> SAP-E CDRL1胺基酸序列

<400> 4

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala

1

5

10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠序列

<220>
<223> SAP-E CDRL2氨基酸序列

<400> 5
Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠序列

<220>
<223> SAP-E CDRL3氨基酸序列

<400> 6
Gln His His Tyr Gly Ala Pro Leu Thr
1 5

<210> 7
<211> 120
<212> PRT
<213> 小家鼠序列

<220>
<223> SAP-E VH氨基酸序列

<400> 7
Gln Ala Ser Leu Gln Gln Ser Gly Thr Glu Leu Val Arg Ser Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ala Thr Tyr
20 25 30
Asn Met His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Ala Asn Tyr Asn Gln Gln Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Ile Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Arg Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Gly Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 366
<212> DNA
<213> 小家鼠序列

<220>
<223> SAP-E VH DNA序列

<400> 8
caggcttctc tacagcagtc tgggactgag ctggtgaggt ctggggcctc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggcct cacatttgcc acttacaata tgcactggat taagcagaca 120
cccggacagg gcctggaatg gattgggtat atttatcctg gagatggtaa tgctaactac 180
aatcagcagt tcaagggcaa ggccacattg actgcagaca catcctccaa cacagcctac 240
atgcagatca gcagcctgac atctgaagac tctgcggtct atttctgtgc aagaggggac 300
tttgattacg acggagggta ctactttgac tccctggggcc agggcaccac tctcacagtc 360
tcctca

<210> 9
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠序列

<220>
<223> SAP-E VL氨基酸序列

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

<210> 10
<211> 321
<212> DNA
<213> 小鼠序列

<220>
<223> SAP-E VL DNA序列

<400> 10
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60
atcacatgtc gagcaagtga gaatatttac agttatttag catggtatca gcagaaacag 120
ggaagatccc ctacagtcct ggtccataat gcaaaaacct tagcagaagg tgtgccatca 180
agggtcagtg gcagtggatc aggcacacac ttttctctga agatcaacgg cctgcagcct 240
gaagattttg ggaattatta ctgtcaacat cattatggtg ctccgctcac gttcggtgct 300
gggaccaagc tggaactgaa a 321

<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> 小鼠序列

<220>
<223> SAP-K CDRH1氨基酸序列

<400> 11
Ser Tyr Trp Met His
1 5

<210> 12
<211> 17
<212> PRT
<213> 小鼠序列

<220>
<223> SAP-K CDRH2氨基酸序列

<400> 12
Met Ile His Pro Asn Ser Val Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Ser

<210> 13
<211> 10
<212> PRT
<213> 小鼠序列

<220>
<223> SAP-K CDRH3氨基酸序列

<400> 13
Arg Asn Asp Tyr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 14
<211> 11
<212> PRT
<213> 小家鼠序列

<220>
<223> SAP-K CDRL1氨基酸序列

<400> 14
Lys Ala Ser Gln Asn Val Asn Ser Asn Val Ala
1 5 10

<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠序列

<220>
<223> SAP-K CDRL2氨基酸序列

<400> 15
Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠序列

<220>
<223> SAP-K CDRL3氨基酸序列

<400> 16
Gln Gln Cys Asn Asn Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 17
<211> 119
<212> PRT
<213> 小家鼠序列

<220>
<223> SAP-K VH氨基酸序列

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

<210> 18
<211> 357
<212> DNA
<213> 小家鼠序列

<220>
<223> SAP-K VH DNA序列

<400> 18

```

caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag ctgataaagc ctggggcttc agtgaagttg 60
tcctgcaagg cttctggcta cactttcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg 120
cctggacaag gccttgagtg gattggaatg attcatccta atagtgttaa tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagtaa ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240
atgcaactca acagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagacggaat 300
gattactact ggtacttcga tgtctggggc acagggacca cggtcaccgt ctctca 357

```

<210> 19
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 小家鼠序列

<220>
 <223> SAP-K VL氨基酸序列

```

<400> 19
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asn Ser Asn
          20           25           30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
          35           40           45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
          50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
 65           70           75           80
Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Cys Asn Asn Tyr Pro Phe
          85           90           95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
          100          105

```

<210> 20
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 小家鼠序列

<220>
 <223> SAP-K VL DNA序列

```

<400> 20
gacattgtga tgaccagtc tcaaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
gtcacctgca aggccagtc gaatgtgaat tctaattgtag cctggatatca acagaaacca 120
gggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcttcctacc ggtacagtgg agtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaccaa tgtgcagtc 240
gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tgtaacaact atccattcac gttcggctcg 300
gggacaaagt tggaaataaa a 321

```

<210> 21
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> SAP-E VH嵌合体氨基酸序列

```

<400> 21
Gln Ala Ser Leu Gln Gln Ser Gly Thr Glu Leu Val Arg Ser Gly Ala
 1           5           10           15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ala Thr Tyr
          20           25           30
Asn Met His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
          35           40           45
Gly Tyr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Ala Asn Tyr Asn Gln Gln Phe
          50           55           60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Asn Thr Ala Tyr
 65           70           75           80
Met Gln Ile Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
          85           90           95
Arg Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Gly Tyr Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln
          100          105          110
Gly Thr Leu 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

```

- 6 -

<210> 23
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-K VH嵌合體胺基酸序列

```

<400> 23
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Ile Lys Pro Gly Ala
1      5      10      15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20
Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35
Gly Met Ile His Pro Asn Ser Val Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50
Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65
Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85
Ala Arg Arg Asn Asp Tyr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly
100
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165
Gln Ser Ser Gly Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Tyr Val Val Ser Val Leu
290
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385
Ser Phe Phe Lys Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
405
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
420
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435
440

```

<210> 24
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-K VL嵌合體胺基酸序列

<400> 24
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asn Ser Asn
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Cys Asn Asn Tyr Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 25
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 智人序列

<220>
 <223> IGHV1-69人類可變重鏈生殖系接受體胺基酸序列

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

<210> 26
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人序列

<220>
 <223> JH1袖珍基因

<400> 26
 Ala Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 1 5 10 15
 Ser

<210> 27
 <211> 120
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> SAP-E人類化VH變異體H0胺基酸序列

<400> 27

```

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

```

<210> 28

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> SAP-E人類化VH變異體H1胺基酸序列

<400> 28

```

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

```

<210> 29

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> SAP-E人類化VH變異體H2胺基酸序列

<400> 29

```

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

```

<210> 30
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化VH變異體H3胺基酸序列

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

<210> 31
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化VH變異體H4胺基酸序列

```
<400> 31
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1          5          10          15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ala Thr Tyr
 20          25          30
Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35          40          45
Gly Tyr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Ala Asn Tyr Asn Gln Gln Phe
 50          55          60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65          70          75          80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85          90          95
Arg Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Gly Tyr Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln
100          105          110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120
```

<210> 32
<211> 95
<212> PRT
<213> 智人序列

<220>
<223> IGKV1-39人類可變輕鏈生殖系接受體胺基酸序列

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

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

<210> 33
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人序列

<220>
<223> JK2袖珍基因

<400> 33
Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 34
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化VL變異體L0胺基酸序列

<400> 34
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Ala Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 35
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化VL變異體L1胺基酸序列

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

<210> 36
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化VL變異體L2胺基酸序列

<400> 36

```

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

```

<210> 37
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> SAP-K人類化VH變異體H0氨基酸序列

```

<400> 37
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1      5      10      15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20     25     30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35     40     45
Gly Met Ile His Pro Asn Ser Val Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50     55     60
Lys Ser Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65     70     75     80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85     90     95
Ala Arg Arg Asn Asp Tyr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100    105    110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

```

<210> 38
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> SAP-K人類化VH變異體H1氨基酸序列

```

<400> 38
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1      5      10      15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20     25     30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35     40     45
Gly Met Ile His Pro Asn Ser Val Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50     55     60
Lys Ser Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65     70     75     80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85     90     95
Ala Arg Arg Asn Asp Tyr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100    105    110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

```

<210> 39
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> SAP-K人類化VH變異體H2胺基酸序列

```

<400> 39
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1      5      10      15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20      25      30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35      40      45
Gly Met Ile His Pro Asn Ser Val Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50      55      60
Lys Ser Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65      70      75      80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85      90      95
Ala Arg Arg Asn Asp Tyr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100      105      110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

```

<210> 40
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> SAP-K人類化VH變異體H3胺基酸序列

```

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

```

<210> 41
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> SAP-K人類化VL變異體L0胺基酸序列

```

<400> 41
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1      5      10      15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asn Ser Asn
20      25      30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35      40      45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50      55      60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65      70      75      80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Cys Asn Asn Tyr Pro Phe
85      90      95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100      105

```

<210> 42
 <211> 107
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> SAP-K人類化VL變異體L1胺基酸序列

<400> 42

```

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

```

<210> 43

<211> 204

<212> PRT

<213> 智人序列

<220>

<223> 智人SAP胺基酸序列

<400> 43

```

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

```

<210> 44

<211> 203

<212> PRT

<213> 小家鼠序列

<220>

<223> 小家鼠SAP胺基酸序列

<400> 44

```

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

```

Lys Glu Lys Val Gly Glu Tyr Ser Leu Tyr Ile Gly Gln Ser Lys Val
65 70 75 80
Thr Val Arg Gly Met Glu Glu Tyr Leu Ser Pro Val His Leu Cys Thr
85 90 95
Thr Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Val Glu Phe Trp Val Asn Gly Lys
100 105 110
Pro Trp Val Lys Lys Ser Leu Gln Arg Glu Tyr Thr Val Lys Ala Pro
115 120 125
Pro Ser Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Asn Tyr Gly Gly Gly Phe
130 135 140
Gln Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Phe Ser Asp Leu Tyr Met Trp
145 150 155 160
Asp Tyr Val Leu Thr Pro Gln Asp Ile Leu Phe Val Tyr Arg Asp Ser
165 170 175
Pro Val Asn Pro Asn Ile Leu Asn Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile
180 185 190
Asn Gly Tyr Val Val Ile Arg Pro Arg Val Trp
195 200

<210> 45
<211> 1356
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E VH嵌合體核苷酸序列

<400> 45
caggcttctc tacagcagtc tgggactgag ctggtgaggt ctggggcctc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggcct cacatttgcc acttacaata tgcactggat taagcagaca 120
cccggacagg gcctggaatg gattgggtat atttatcctg gagatggtaa tgctaactac 180
aatcagcagt tcaagggcaa ggccacattg actgcagaca catcctccaa cacagcctac 240
atgcagatca gcagcctgac atctgaagac tctgcggtct atttctgtgc aagaggggac 300
tttgattacg acggagggtg ctactttgac tcctggggcc agggcacact agtgaccgtg 360
tccagcgcca gcaccaaggg ccccgagcgtg tttccccctgg ccccgagcag caagagcacc 420
agcggcggca cagccgcccct gggctgcctg gtgaaggact acttccccga accggtgacc 480
gtgtccttga acagcggagc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttccccgc cgtgctgcag 540
agcagcggcc tgtacagcct gagcagcgtg gtgaccgtgc ccagcagcag cctgggcacc 600
cagacctaata tctgtaacgt gaaccacaag cccagcaaca ccaagggtga caagaagggtg 660
gagcccaaga gctgtgacaa gacccacacc tgccccccct gccctgcccc cgagctgctg 720
ggaggcccca gcgtgttctt gttccccccc aagcctaagg acaccctgat gatcagcaga 780
acccccgagg tgacctgtgt ggtggtggat gtgagccacg aggaccctga ggtgaagtgc 840
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac aatgccaaga ccaagcccag ggaggagcag 900
tacaacagca cctaccgggt ggtgtccgtg ctgaccgtgc tgcaccagga ttggctgaac 960
ggcaaggagt acaagtgtaa ggtgtccaac aaggccctgc ctgcccctat cgagaaaacc 1020
atcagcaagg ccaagggcca gccagagag cccaggtgt acaccctgcc ccctagcaga 1080
gatgagctga ccaagaacca ggtgtcccctg acctgcctgg tgaagggcct ctacccccagc 1140
gacatgcgag tggagtggga gagcaacggc cagcccagaa acaactacaa gaccaccccc 1200
cctgtgctgg acagcgatgg cagcttcttc ctgtacagca agctgaccgt ggacaagagc 1260
agatggcagc agggcaacgt gttcagctgc tccgtgatgc acgaggccct gcacaatcac 1320
tacaccagaa agagcctgag cctgtccccct ggcaag 1356

<210> 46
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E VL嵌合體核苷酸序列

<400> 46
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60
atcacatgtc gagcaagtga gaatatattac agttatttag catggtatca gcagaaacag 120
ggaagatccc ctgagctcct ggtccataat gcaaaaacct tagcagaagg tgtgccatca 180
agggtcagtg gcagtgatc aggcacacac ttttctctga agatcaacgg cctgcagcct 240
gaagattttg ggaattatta ctgtcaacat cattatggtg ctccgctcac gttcgggtgt 300
gggaccaagc tggaactgaa acgtaccggtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc 360
agcgatgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420
ccccgggagg ccaagggtga gtggaagggtg gacaatgccc tgcagagcgg caacagccag 480
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgagggtgac ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcagat gc 642

<210> 47
<211> 1347

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-K VH嵌合體核苷酸序列

```
<400> 47
caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag ctgataaagc ctggggcttc agtgaagttg 60
tcctgcaagg cttctggcta cactttcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg 120
cctggacaag gccttgagtg gattggaatg attcatccta atagtgttaa tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagtaa ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240
atgcaactca acagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagacggaat 300
gattactact ggtacttcga tgtctggggc acagggacac tagtgaccgt gtccagcgcc 360
agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420
acagccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg aaccggtgac cgtgtcctgg 480
aacagcggag ccttgaccag cggcgtgcac accttccccg ccgtgtctgca gagcagcggc 540
ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgaccgtg cccagcagca gcctggggcag ccagacctac 600
atctgtaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtag acaagaaggt ggagcccaag 660
agctgtgaca agaccacac ctgccccccc tgccctgccc ccgagctgct gggaggcccc 720
agcgtgttcc tgttcccccc caagcctaag gacaccctga tgatcagcag aacccccgag 780
gtgacctgtg tgggtggtgga tgtgagccac gaggaccttg aggtgaagtt caactggtac 840
gtggacggcg tggaggtgca caatgccaa gggaggagca gtacaacagc gtacaacagc 900
acctaccggg tgggtgtccg gctgaccgtg ctgcaccagg attggtgtaa cggcaaggag 960
tacaagtgtg aggtgtccaa caaggccctg cctgccccct tgcagaaaac catcagcaag 1020
gccaagggcc agcccagaga gccccagggtg tacaccctgc cccctagcag agatgagctg 1080
accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggtc tctacccccg cgacatcgcc 1140
gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag agaccacccc ccctgtgctg 1200
gacagcgatg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagag cagatggcag 1260
cagggcaacg tgttcagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaatca ctacaccag 1320
aagagcctga gcctgtcccc tggcaag 1347
```

<210> 48
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-K VL嵌合體核苷酸序列

```
<400> 48
gacattgtga tgaccagtc tcaaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
gtcacctgca aggccagtc gaatgtgaac tctaattgtag cctggatca acagaaacca 120
gggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcttcctacc ggtacagtgg agtccctgat 180
cgcttcacag gcagtgatc tgggacagat ttactctca ccatcaccaa tgtgcagctc 240
gaagacttgg cagagtatt ctgtcagcaa tgaacaact atccattcac gttcggctcg 300
gggacaaagt tggaaataaa acgtacggtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc 360
agcgatgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgtgtaa caacttctac 420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaatgcc tgcagagcgg caacagccag 480
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggag tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642
```

<210> 49
<211> 294
<212> DNA
<213> 智人序列

<220>
<223> IGHV1-69人類可變重鏈生殖系接受體核苷酸序列

```
<400> 49
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg cacccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180
gcacagaagt tccaggcgag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gaga 294
```

<210> 50
<211> 285
<212> DNA
<213> 智人序列

<220>
<223> IGHV1-39人類可變重鏈生殖系接受體核苷酸序列

<400> 50
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccct 285

<210> 51
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 未經密碼子最佳化之SAP-E人類化重鏈V區變異體H0核苷酸序列

<400> 51
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggctc 60
tcctgcaagg cttctggagg cacccttcagc acttacaata tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatat atttatcctg gagatggtaa tgctaactac 180
aatcagcagt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggggac 300
tttgattacg acggagggta ctactttgac tcctggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

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

<220>
<223> 未經密碼子最佳化之SAP-E人類化輕鏈V區變異體L0核苷酸序列

<400> 52
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gagcaagtga gaatatctac agttatttag catggatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctataat gcaaaaacct tagcagaagg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacat cattatggtg ctccgctcac gtttgccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 53
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化重鏈V區變異體H0核苷酸序列（經密碼子最佳化）

<400> 53
caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaaac ccggcagcag cgtgaaggctg 60
agctgcaagg ctagcggggg cacccttctcc acctacaaca tgcactgggt caggcaggca 120
cccggccagg gcctggagtg gatgggctat atctaccccg gcgacggcaa cgccaactac 180
aaccagcagt tcaagggcag ggtgaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggaactga gcagcctgag gagcgaggat accgccgtgt actactgcgc caggggagc 300
ttcgactacg acggcggcta ctacttcgac agctggggac agggcacact agtgaccgtg 360
tccagc 366

<210> 54
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化重鏈V區變異體H1核苷酸序列（經密碼子最佳化）

<400> 54
caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaaac ccggcagcag cgtgaaggctg 60
agctgcaagg ctagcggggt cacccttcgcc acctacaaca tgcactgggt caggcaggca 120
cccggccagg gcctggagtg gatgggctat atctaccccg gcgacggcaa cgccaactac 180
aaccagcagt tcaagggcag ggtgaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggaactga gcagcctgag gagcgaggat accgccgtgt actactgcgc caggggagc 300

ttcgactacg acggcgggcta ctacttcgac agctggggac agggcacact agtgaccgtg 360
tccagc 366

<210> 55
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化重鏈V區變異體H2核苷酸序列（經密碼子最佳化）

<400> 55
caggcgagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaaac ccggcagcag cgtgaaggtg 60
agctgcaagg ctacgagggtt caccttcgcc acctacaaca tgcactgggt caggcaggca 120
cccggccagg gcctggagtg gatgggctat atctaccccg gcgacggcaa cgccaactac 180
aaccagcagt tcaagggcag ggtgaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggaactga gcagcctgag gagcgaggat accgccgtgt actactgcgc caggggagcag 300
ttcgactacg acggcgggcta ctacttcgac agctggggac agggcacact agtgaccgtg 360
tccagc 366

<210> 56
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化重鏈V區變異體H3核苷酸序列（經密碼子最佳化）

<400> 56
cagggtcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaaac ccggcagcag cgtgaaggtg 60
agctgcaagg ctacgagggtt caccttcgcc acctacaaca tgcactgggt caggcaggca 120
cccggccagg gcctggagtg gatcggtat atctaccccg gcgacggcaa cgccaactac 180
aaccagcagt tcaagggcag ggccaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggaactga gcagcctgag gagcgaggat accgccgtgt actactgcgc caggggagcag 300
ttcgactacg acggcgggcta ctacttcgac agctggggac agggcacact agtgaccgtg 360
tccagc 366

<210> 57
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化重鏈V區變異體H4核苷酸序列（經密碼子最佳化）

<400> 57
cagggtcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaaac ccggcagcag cgtgaaggtg 60
agctgcaagg ctacgagggtt caccttcgcc acctacaaca tgcactgggt caggcaggca 120
cccggccagg gcctggagtg gatcggtat atctaccccg gcgacggcaa cgccaactac 180
aaccagcagt tcaagggcag ggccaccctg accgccgaca ccagcaccag caccgcctac 240
atggaactga gcagcctgag gagcgaggat accgccgtgt acttctgcgc caggggagcag 300
ttcgactacg acggcgggcta ctacttcgac agctggggac agggcacact agtgaccgtg 360
tccagc 366

<210> 58
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化輕鏈V區變異體L0核苷酸序列（經密碼子最佳化）

<400> 58
gacatccaga tgacccagag ccccagctca ctgagcgcca gcgtgggcca cagggtgacc 60
attacctga gggcctccga gaacatctac agctacctgg cctggtagca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacaac gccaagaccc tcgccgaggg cgtccctagc 180
aggttctctg gaagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctatta ctgccagcac cactacggcg cccccctgac ctttggccag 300
ggcaccaaac tggagatcaa g 321

<210> 59
<211> 321

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化輕鏈V區變異體L1核苷酸序列（經密碼子最佳化）

<400> 59
gacatccaga tgacccagag ccccagctca ctgagcgcca gcgtgggcca caggggtgacc 60
attacctgca gggcctccga gaacatctac agctacctgg cctgggtacca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatccacaac gccaaagacc tcgccgaggg cgtccctagc 180
aggttctctg gaagcggcag cggcaccgac ttaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctatta ctgccagcac cactacggcg ccccccctgac ctttggccag 300
ggcaccaaac tggagatcaa g 321

<210> 60
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化輕鏈V區變異體L2核苷酸序列（經密碼子最佳化）

<400> 60
gacatccaga tgacccagag ccccagctca ctgagcgcca gcgtgggcca caggggtgacc 60
attacctgca gggcctccga gaacatctac agctacctgg cctgggtacca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatccacaac gccaaagacc tcgccgaggg cgtccctagc 180
aggttctctg gaagcggcag cggcaccgac ttaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctatta ctgccagcac cactacggcg ccccccctgac ctttggccag 300
ggcaccaaac tggagatcaa g 321

<210> 61
<211> 1356
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化重鏈H1完全成熟核苷酸序列（經密碼子最佳化）

<400> 61
cagggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaaac ccggcagcag cgtgaagggtg 60
agctgcaagg ctagcgggtt cacccttcgcc acctacaaca tgcactgggt caggcaggca 120
cccggccagg gcctggagtg gatgggctat atctaccccg gcgacggcaa cgccaactac 180
aaccagcagt tcaagggcag ggtgaccatc accgcccaga agagcaccag caccgcctac 240
atggaactga gcagcctgag gagcgaggat accgccgtgt actactgcgc caggggagcag 300
ttcgactacg acggcggcta ctacttcgac agctggggac agggcacact agtgaccgtg 360
tccagcgcca gcaccaaggg cccagcgtg ttccccctgg ccccccagcag caagagcacc 420
agcggcgcca cagccgccct gggctgcctg gtgaaggact acttccccga accggtgacc 480
gtgtccttga acagcggagc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttccccgc cgtgctgcag 540
agcagcggcc tgtacagcct gagcagcgtg gtgaccgtgc ccagcagcag cctgggcacc 600
cagacctaga tctgtaacgt gaaccacaag cccagcaaca ccaagggtga caagaagggtg 660
gagcccaaga gctgtgacaa gaccacacc tgccccccct gccctgcccc cgagctgctg 720
ggaggcccca gcgtgttcct gttccccccc aagcctaagg acaccctgat gatcagcaga 780
acccccgagg tgacctgtgt ggtggtggat gtgagccacg aggaccctga ggtgaagttc 840
aactgggtacg tggacggcgt ggaggtgcac aatgccaaga ccaagcccag ggaggagcag 900
tacaacagca cctaccgggt ggtgtccgtg ctgaccgtgc tgaccagga ttggctgaac 960
ggcaaggagt acaagtgtaa ggtgtccaac aaggccctgc ctgcccctat cgagaaaacc 1020
atcagcaagg ccaagggccca gcccagagag cccaggtgt acaccctgcc ccctagcaga 1080
gatgagctga ccaagaacca ggtgtccctg acctgcctgg tgaagggtct ctacccagc 1140
gacatcgccg tggagtggga gagcaacggc cagcccagga acaactacaa gaccaccccc 1200
cctgtgctgg acagcgtatg cagcttcttc ctgtacagca agctgaccgt ggacaagagc 1260
agatggcagc agggcaacgt gttcagctgc tccgtgatgc acgaggccct gcacaatcac 1320
tacaccaga agagcctgag cctgtccccct ggcaag 1356

<210> 62
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-E人類化重鏈H1完全成熟胺基酸序列

<400> 62

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ala Thr Tyr
 20 25 30
 Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Ala Asn Tyr Asn Gln Gln Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Arg Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Gly Tyr Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu 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 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Tyr Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Lys Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 405 410 415
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 420 425 430
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440

<210> 63
 <211> 642
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> SAP-E人類化輕鏈L1完全成熟核苷酸序列（經密碼子最佳化）

<400> 63
 gacatccaga tgacccagag ccccagctca ctgagcgcca gcgtgggcca cagggtgacc 60
 attacctgca gggcctccga gaacatctac agctacctgg cctggtacca gcagaagccc 120
 ggcaaggccc ccaagctgct gatccacaac gccaaagacc tcgccgaggg cgtccctagc 180
 aggttctctg gaagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatacagcag cctgcagccc 240
 gaggacttcg ccacctatta ctgccagcac cactacggcg cccccctgac ctttggccag 300
 ggcaccaaac tggagatcaa gcgtacgggtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc 360

```

agcgatgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420
ccccgggagg ccaagggtgca gtggaagggtg gacaatgccc tgcagagcgg caacagccag 480
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

```

<210> 64
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> SAP-E人類化輕鏈L1完全成熟胺基酸序列

```

<400> 64
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1      5      10      15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20     25     30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35     40     45
His Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50     55     60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65     70     75     80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Ala Pro Leu
85     90     95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100    105    110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115    120    125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130    135    140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145    150    155    160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165    170    175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180    185    190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195    200    205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

```

<210> 65
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 未經密碼子最佳化之SAP-K人類化重鏈V區變異體H0核苷酸序列

```

<400> 65
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccctcagc agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaatg attcatccta atagtgttaa tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagtag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagacggaat 300
gattactact ggtacttcga tgtctggggc cagggcacc cgggtcaccgt ctctca 357

```

<210> 66
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 未經密碼子最佳化之SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0核苷酸序列

```

<400> 66
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgca aggccagtca gaatgtgaac tctaattgtag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctattcg gcttcctacc ggtacagtgg ggtcccatca 180

```

```

aggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcaa tgtaacaact atccattcac gtttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a                                     321

```

<210> 67
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> SAP-K人類化重鏈V區變異體H0核苷酸序列（經密碼子最佳化）

```

<400> 67
caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgaa gtgaagaagc ccggcagcag cgtgaaagtg 60
agctgcaagg ccagcggcgg aaccttcagc agctactgga tgcactgggt gaggcaggca 120
cccggccagg gcctggagtg gatgggcatg atccacccca acagcgtgaa caccaactac 180
aacgagaagt tcaagagcag agtgaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctat 240
atggagctga gctctctgag gagcgaggat accgccgtgt actactgcgc caggaggaac 300
gactactact ggtacttcga cgtctggggc cagggcacac tagtgaccgt gtccagc 357

```

<210> 68
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> SAP-K人類化重鏈V區變異體H1核苷酸序列（經密碼子最佳化）

```

<400> 68
caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgaa gtgaagaagc ccggcagcag cgtgaaagtg 60
agctgcaagg ccagcggcga caccttcacc agctactgga tgcactgggt gaggcaggca 120
cccggccagg gcctggagtg gatgggcatg atccacccca acagcgtgaa caccaactac 180
aacgagaagt tcaagagcag agtgaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctat 240
atggagctga gctctctgag gagcgaggat accgccgtgt actactgcgc caggaggaac 300
gactactact ggtacttcga cgtctggggc cagggcacac tagtgaccgt gtccagc 357

```

<210> 69
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> SAP-K人類化重鏈V區變異體H2核苷酸序列（經密碼子最佳化）

```

<400> 69
caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgaa gtgaagaagc ccggcagcag cgtgaaagtg 60
agctgcaagg ccagcggcga caccttcacc agctactgga tgcactgggt gaggcaggca 120
cccggccagg gcctggagtg gatcggcagc atccacccca acagcgtgaa caccaactac 180
aacgagaagt tcaagagcag agccaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctat 240
atggagctga gctctctgag gagcgaggat accgccgtgt actactgcgc caggaggaac 300
gactactact ggtacttcga cgtctggggc cagggcacac tagtgaccgt gtccagc 357

```

<210> 70
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> SAP-K人類化重鏈V區變異體H3核苷酸序列（經密碼子最佳化）

```

<400> 70
caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgaa gtgaagaagc ccggcagcag cgtgaaagtg 60
agctgcaagg ccagcggcga caccttcacc agctactgga tgcactgggt gaggcaggca 120
cccggccagg gcctggagtg gatcggcagc atccacccca acagcgtgaa caccaactac 180
aacgagaagt tcaagagcag agccaccctg accgtggaca agagcaccag caccgcctat 240
atggagctga gctctctgag gagcgaggat accgccgtgt actactgcgc caggaggaac 300
gactactact ggtacttcga cgtctggggc cagggcacac tagtgaccgt gtccagc 357

```

<210> 71
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0核苷酸序列 (經密碼子最佳化)

<400> 71

```
gacatccaga tgacccagag cccctcttca ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca aggccagcca gaacgtgaac agcaacgtgg cctggtacca gcagaagccc 120
ggcaaagccc ccaagctcct gatctacagc gccagctaca gatatagcgg cgtgcctagc 180
aggtttagcg gcagcggaag cgggaccgat ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacttacta ctgccagcag tgcaacaact accccttcac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagatcaa g                                     321
```

<210> 72

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> SAP-K人類化輕鏈V區變異體L1核苷酸序列 (經密碼子最佳化)

<400> 72

```
gacatccaga tgacccagag cccctcttca ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca aggccagcca gaacgtgaac agcaacgtgg cctggtacca gcagaagccc 120
ggcaaagccc ccaagcctcct gatctacagc gccagctaca gatatagcgg cgtgcctagc 180
aggtttagcg gcagcggaag cgggaccgat ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacttacta ctgccagcag tgcaacaact accccttcac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagatcaa g                                     321
```

<210> 73

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0 91A核苷酸序列 (經密碼子最佳化)

<400> 73

```
gacatccaga tgacccagag cccctcttca ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca aggccagcca gaacgtgaac agcaacgtgg cctggtacca gcagaagccc 120
ggcaaagccc ccaagctcct gatctacagc gccagctaca gatatagcgg cgtgcctagc 180
aggtttagcg gcagcggaag cgggaccgat ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacttacta ctgccagcag gcgaacaact accccttcac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagatcaa g                                     321
```

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> SAP-K人類化輕鏈V區變異體L0 91A胺基酸序列

<400> 74

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

<210> 75

<211> 1347

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> SAP-K人類化H3重鏈核苷酸序列 (經密碼子最佳化)

<400> 75

```

caggtgcagc  tgggtgcagag  cggcgccgaa  gtgaagaagc  ccggcagcag  cgtgaaagtg  60
agctgcaagg  ccagcgggcta  cacccttcacc  agctactgga  tgcactgggt  gaggcaggca  120
cccggccagg  gcctggagtg  gatcggcatg  atccacccca  acagcgtgaa  caccaactac  180
aacgagaagt  tcaagagcag  agccaccctg  accgtggaca  agagcaccag  caccgcctat  240
atggagctga  gctctctgag  gagcagggat  accgccgtgt  actactgcgc  caggaggaac  300
gactactact  ggtacttcga  cgtctggggc  cagggcacac  tagtgaccgt  gtccagcgcc  360
agcaccaagg  gccccagcgt  gttccccctg  gccccagca  gcaagagcac  cagcggcggc  420
acagccgccc  tgggctgcct  ggtgaaggac  tacttccccg  aaccggtgac  cgtgtcctgg  480
aacagcggag  ccctgaccag  cggcgtgcac  accttccccg  ccgtgctgca  gagcagcggc  540
ctgtacagcc  tgagcagcgt  ggtgaccgtg  cccagcagca  gcctgggcac  ccagacctac  600
atctgtaacg  tgaaccacaa  gccagcaaac  accaagggtg  acaagaagg  ggagcccaag  660
agctgtgaca  agacccacac  ctgccccccc  tgccctgccc  ccgagctgct  gggaggcccc  720
agcgtgttcc  tgttcccccc  caagcctaag  gacaccctga  tgatcagcag  aacccccgag  780
gtgacctgtg  tgggtggtgga  tgtgagccac  gaggaccctg  aggtgaagtt  caactggtac  840
gtggacggcg  tggaggtgca  caatgccaa  accaagccca  gggaggagca  gtacaacagc  900
acctaccggg  tgggtgtccg  gctgaccgtg  ctgcaccagg  attggctgaa  cggcaaggag  960
tacaagtgt  aggtgtccaa  caaggccctg  cctgccccct  tcgagaaaac  catcagcaag  1020
gccaaggggc  agcccagaga  gccccaggtg  tacaccctgc  cccctagcag  agatgagctg  1080
accaagaacc  aggtgtccct  gacctgcctg  gtgaagggtc  tctacccag  cgacatcgcc  1140
gtggagtggg  agagcaacgg  ccagcccag  aacaactaca  agaccacccc  ccctgtgctg  1200
gacagcgatg  gcagcttctt  cctgtacagc  aagctgaccg  tggacaagag  cagatggcag  1260
cagggcaacg  tgttcagctg  ctccgtgatg  cacgaggccc  tgcacaatca  ctacaccag  1320
aagagcctga  gcctgtcccc  tggcaag  1347

```

<210> 76

<211> 443

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> SAP-K人類化H3重鏈胺基酸序列

<400> 76

```

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

```

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Tyr Val Val Ser Val Leu
290 295 300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400
Ser Phe Phe Lys Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
405 410 415
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
420 425 430
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 77
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-K人類化L0輕鏈核苷酸序列（經密碼子最佳化）

<400> 77
gacatccaga tgacccagag cccctcttca ctgagcgcta gcgtgggcga caggggtgacc 60
atcacctgca aggccagcca gaacgtgaac agcaacgtgg cctgggtacca gcagaagccc 120
ggcaaagccc ccaagctcct gatctacagc gccagctaca gatatagcgg cgtgcctagc 180
aggtttagcg gcagcggaag cgggaccgat ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacttacta ctgccagcag tgcaacaact accccttcac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc 360
agcgtgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaatgcc tgcagagcgg caacagccag 480
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 78
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SAP-K人類化L0輕鏈胺基酸序列

<400> 78
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asn Ser Asn
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Cys Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
180 195 200 205 190
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 79
<211> 19
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<223> 免疫球蛋白鏈之信號序列

<400> 79
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15
Val His Ser

七、申請專利範圍：

104年12月10日修正本

1. 一種抗體，其特异性結合於血清澱粉樣蛋白P組分(SAP)，其中重鏈可變區為SEQ ID NO:28，輕鏈可變區為SEQ ID NO:35，且其中該抗體包含人類IgG1或IgG3人類恆定區。
2. 如請求項1之抗體，其包含SEQ ID NO:62之重鏈及SEQ ID NO:64之輕鏈。
3. 一種核酸分子，其編碼如請求項1或2之抗體。
4. 如請求項3之核酸分子，其包含SEQ ID NO:54及SEQ ID NO:59。
5. 如請求項3之核酸分子，其中該核酸序列包含SEQ ID NO:61及SEQ ID NO:63。
6. 一種表現載體，其包含如請求項3、4或5之核酸分子。
7. 一種重組宿主細胞，其包含如請求項6之表現載體。
8. 一種製備如請求項1或2之抗體的方法，該方法包含培養如請求項7之宿主細胞及回收該抗體的步驟。
9. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1或2之抗體及醫藥學上可接受之載劑。
10. 一種如請求項1或2之抗體的用途，其係用於製造用於治療或預防與澱粉樣蛋白沈積有關之疾病的藥物，其中該藥物係用於與(2R)-1-[6-[(2R)-2-羧基-吡咯啶-1-基]-6-側氧基己醯基]吡咯啶-2-甲酸(CPHPC)或其醫藥學上可接受之鹽或單酯或二酯併用，其中該藥物係用於與CPHPC相繼投與，且其中該藥物係用於CPHPC之後投與。

11. 如請求項10之用途，其中該藥物係用於當個體內大體上所有循環SAP已經清除時投與。
12. 如請求項10或11之用途，其中該疾病係選自由以下組成之群：全身性澱粉樣變性、局部澱粉樣變性、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)、2型糖尿病、透析相關澱粉樣變性、單株免疫球蛋白鏈(AL)澱粉樣變性及大腦澱粉樣血管病變。

八、圖式：

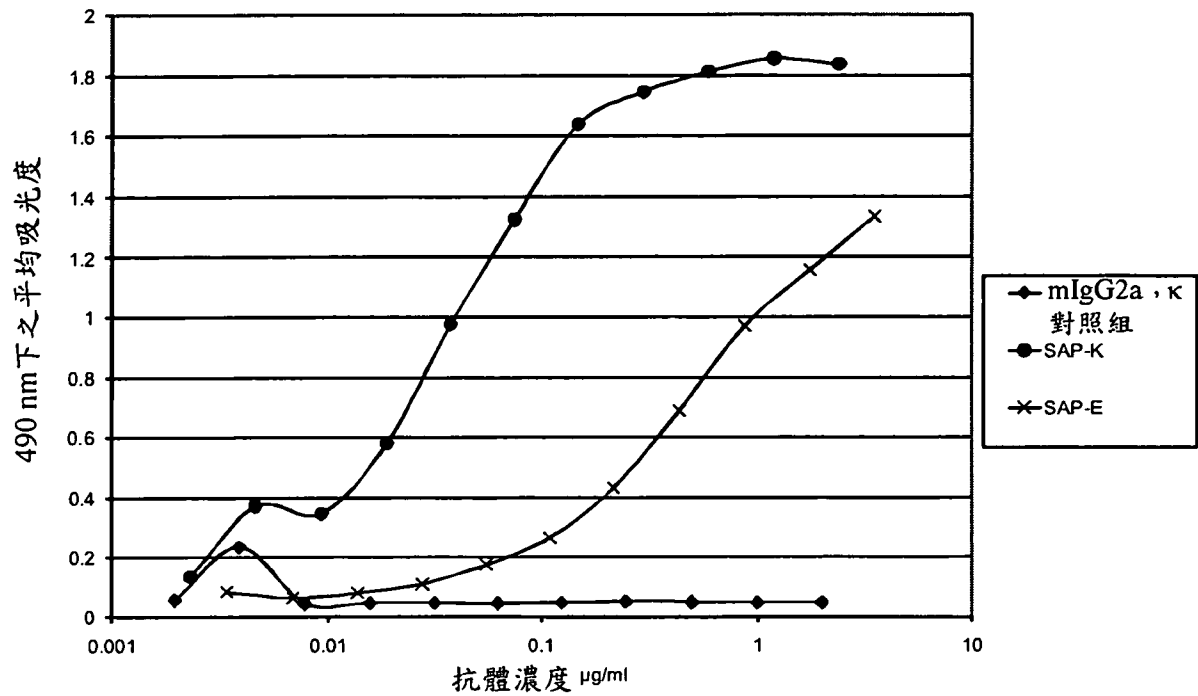


圖1

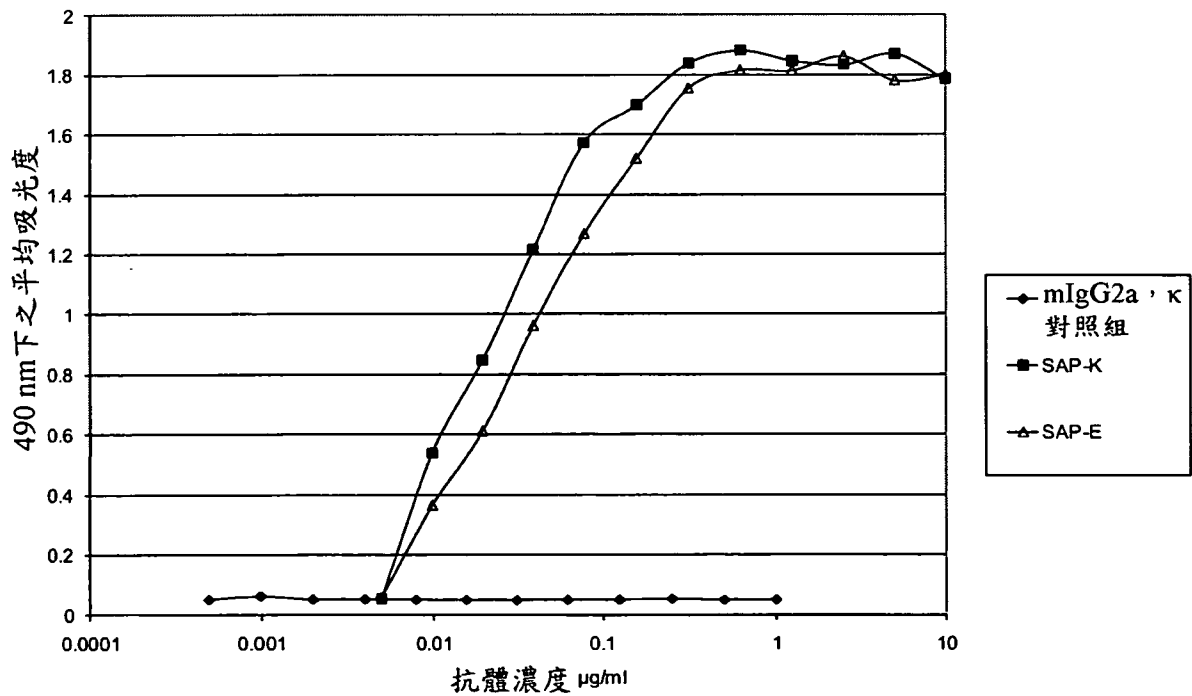


圖2

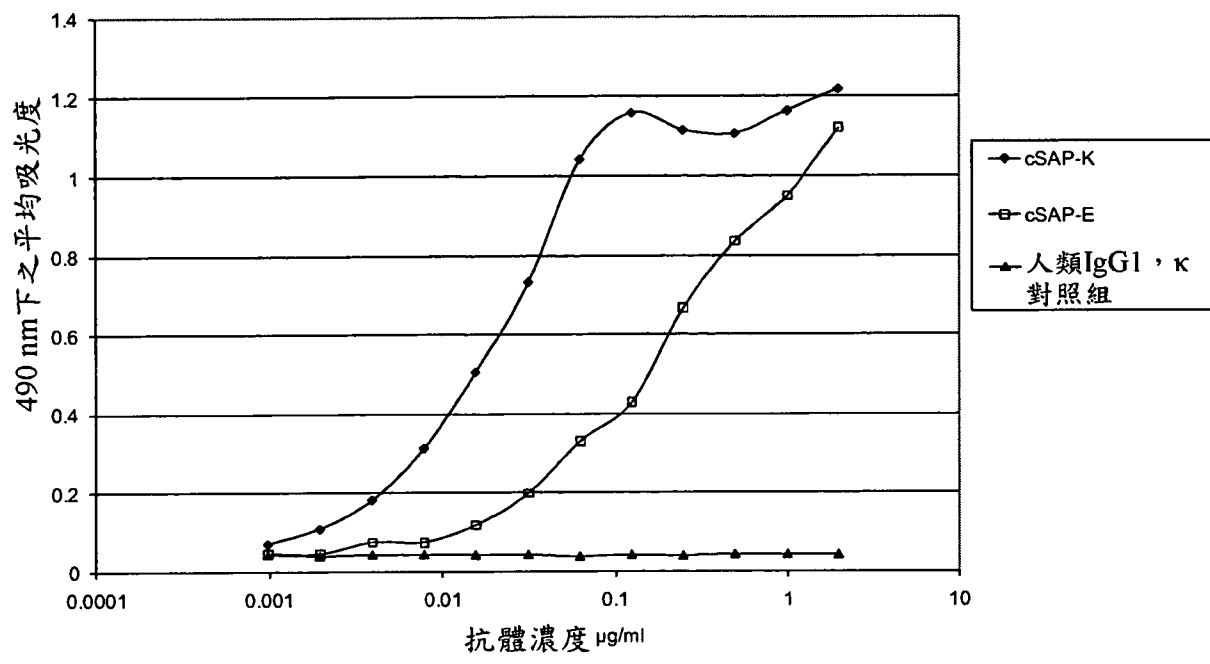


圖3

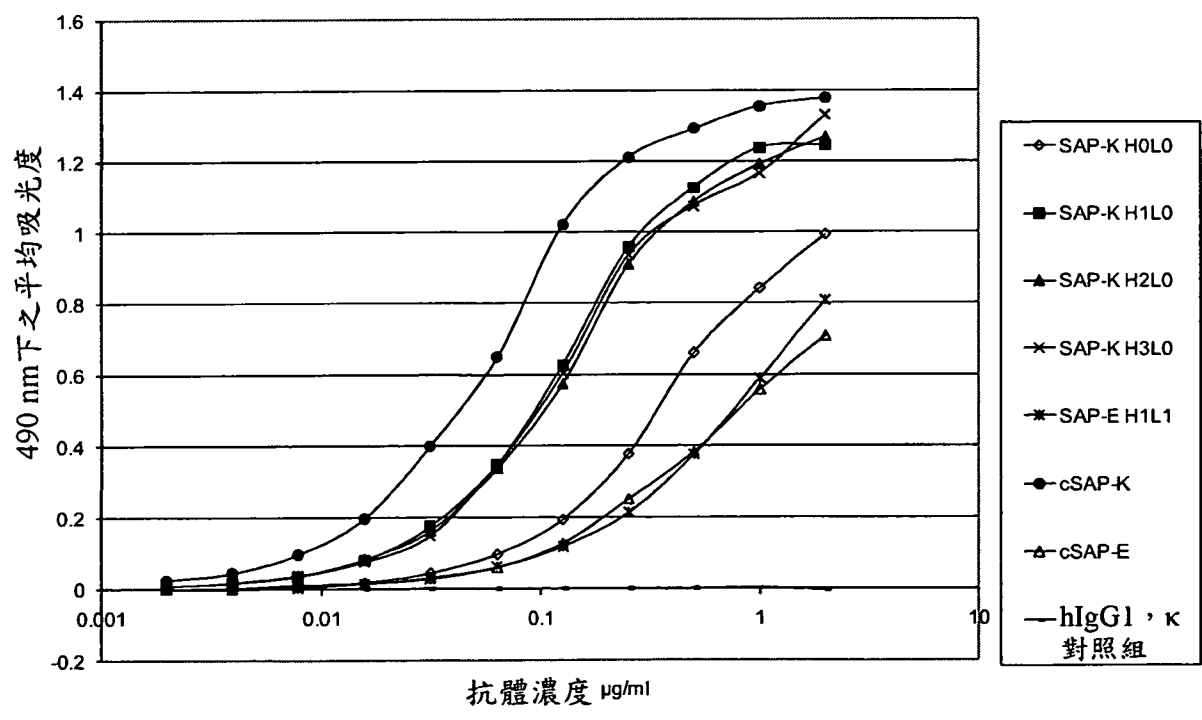


圖4

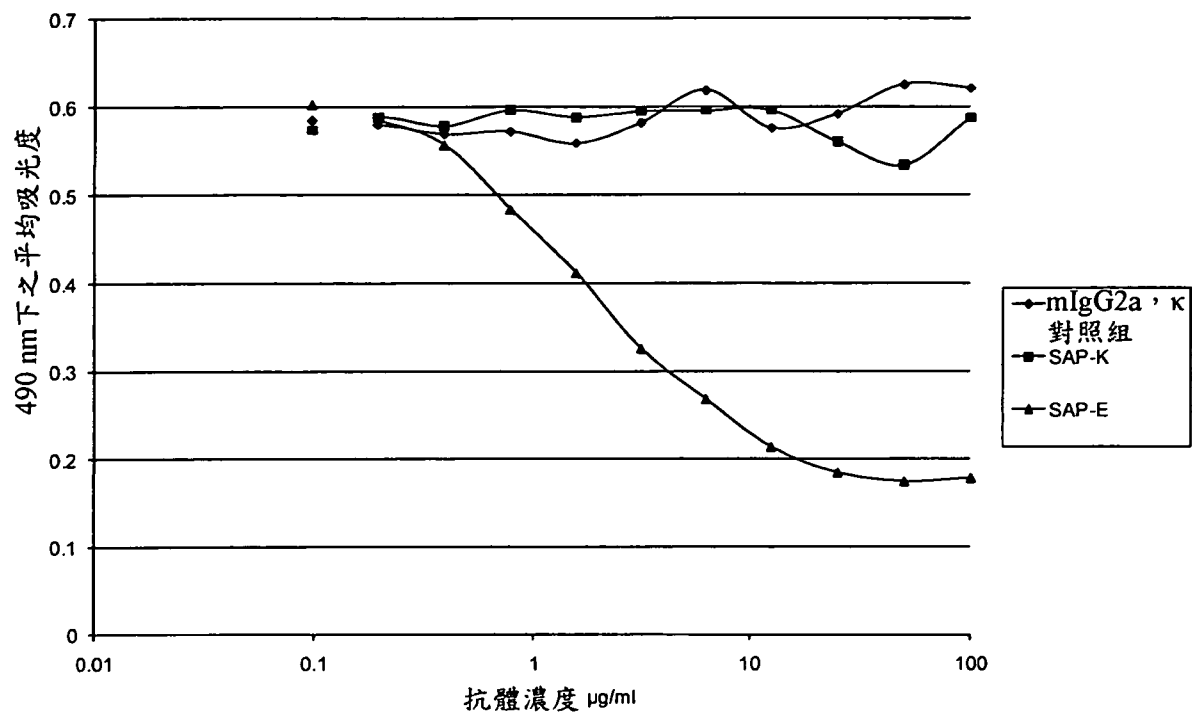


圖5

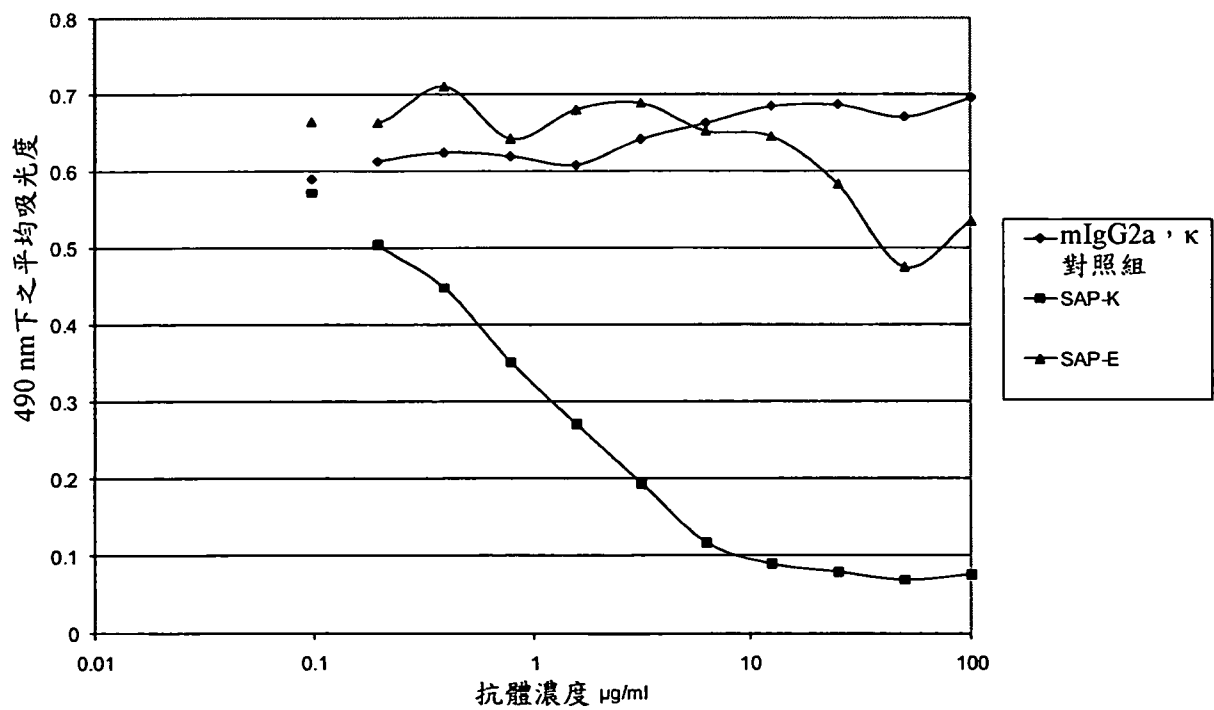


圖6

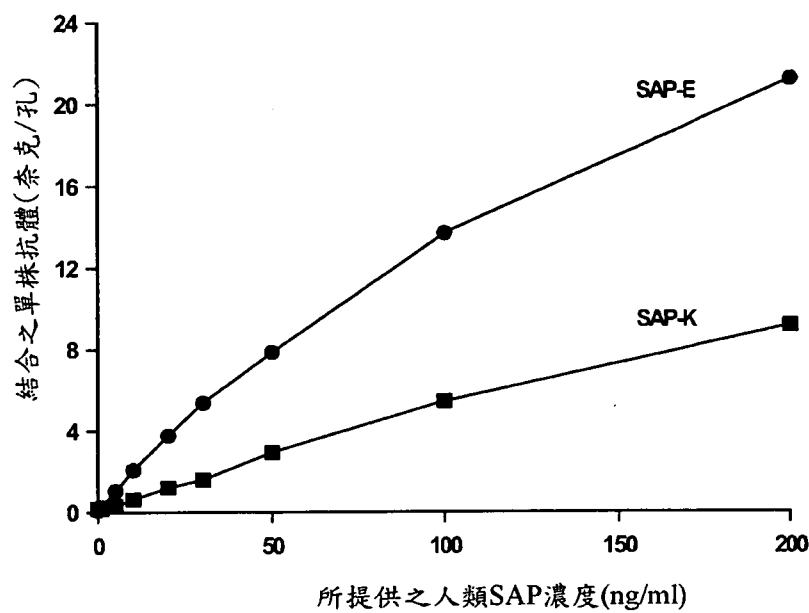


圖 7

(A)

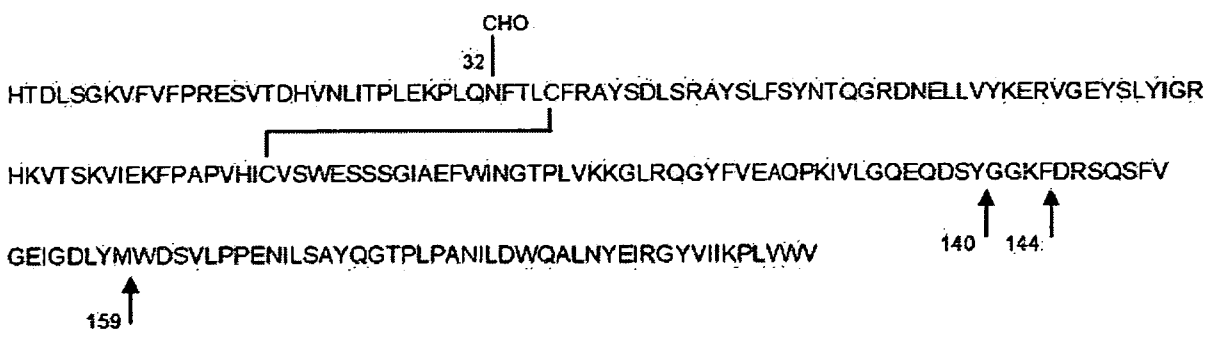


圖 8