



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201400501 A

(43)公開日：中華民國 103 (2014) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：102117155 (22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 05 月 15 日

(51)Int. Cl. : **C07K16/10 (2006.01)** **C07K16/46 (2006.01)**
 A61K39/395 (2006.01) **A61P19/02 (2006.01)**
 G01N33/68 (2006.01)

(30)優先權：2012/05/16 日本 2012-112029
 2012/05/16 美國 US 61/647,992

(71)申請人：第一三共股份有限公司 (日本) DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (JP)
 日本

(72)發明人：吉村聰通 YOSHIMURA, SATOMICHI (JP)；栗原達也 KURIHARA, TATSUYA
 (JP)；河島佳代子 KAWASHIMA, KAYOKO (JP)；星野將人 HOSHINO, MASATO
 (JP)；門嶋久美子 KADOSHIMA, KUMIKO (JP)；辻本真紀 TSUJIMOTO, MAKI
 (JP)；木村貴子 KIMURA, TAKAKO (JP)；長谷川淳 HASEGAWA, JUN (JP)

(74)代理人：丁國隆

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：90 項 圖式數：83 共 265 頁

(54)名稱

新穎抗體及其用途

NOVEL ANTIBODIES AND USES THEREOF

(57)摘要

一種抗體或其功能性斷片，其可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列的多肽，且具有抗關節炎作用。



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201400501 A

(43)公開日：中華民國 103 (2014) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：102117155 (22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 05 月 15 日

(51)Int. Cl. : C07K16/10 (2006.01) C07K16/46 (2006.01)
A61K39/395 (2006.01) A61P19/02 (2006.01)
G01N33/68 (2006.01)

(30)優先權：2012/05/16 日本 2012-112029
2012/05/16 美國 US 61/647,992

(71)申請人：第一三共股份有限公司 (日本) DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (JP)
日本

(72)發明人：吉村聰通 YOSHIMURA, SATOMICHI (JP)；栗原達也 KURIHARA, TATSUYA
(JP)；河島佳代子 KAWASHIMA, KAYOKO (JP)；星野將人 HOSHINO, MASATO
(JP)；門嶋久美子 KADOSHIMA, KUMIKO (JP)；辻本真紀 TSUJIMOTO, MAKI
(JP)；木村貴子 KIMURA, TAKAKO (JP)；長谷川淳 HASEGAWA, JUN (JP)

(74)代理人：丁國隆

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：90 項 圖式數：83 共 265 頁

(54)名稱

新穎抗體及其用途

NOVEL ANTIBODIES AND USES THEREOF

(57)摘要

一種抗體或其功能性斷片，其可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列的多肽，且具有抗關節炎作用。

發明摘要

※ 申請案號：102117155

※ 申請日：102.5.15

※IPC 分類：

C07K16/10 (2006.01)

C07K16/46 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P19/02 (2006.01)

G01N33/68 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

新穎抗體及其用途

NOVEL ANTIBODIES AND USES THEREOF

【中文】

一種抗體或其功能性斷片，其可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列的多肽，且具有抗關節炎作用。

【英文】

The present invention provides novel antibodies or its functional fragments which can recognize the peptide comprising an amino sequence No. 15 of sequence list, and have an antarthritic function.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

新穎抗體及其用途

NOVEL ANTIBODIES AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】本發明係關於：識別期望之抗原且具有期望之活性的抗體；具有特定之互補性決定區域(complementarity determining region：以下稱爲「CDR」)的該抗體；具有該 CDR 的嵌合抗體、人型化抗體(humanized antibody)、人類抗體；該抗體之功能性斷片；該抗體或其功能性斷片的修飾體；編碼該抗體或其功能性斷片或其修飾體之胺基酸序列的核苷酸；插入該核苷酸的重組載體(vector，後述若無特別註明時，載體皆指vector)；導入該載體的重組細胞；產生該抗體的細胞；包含培養此等細胞之任一種之步驟及從其培養物回收期望之抗體之步驟的該抗體之製造方法；包含該抗體的醫藥組成物；各種疾病之治療用或預防用的醫藥組成物，包含投與該抗體之步驟的各種疾病之治療方法或預防方法；用於調製各種疾病之治療用或預防用之醫藥組成物的該抗體之用途，用於各種疾病之治療或預防的該抗體之使用；包含該抗體的各種疾病之檢查用或診斷用組成物；使用該抗體的各種疾病之檢查方法或診斷方法；用於調製各種疾病之檢查用或診斷用組成物的該抗體之用途；用於各種疾病之檢查或診斷的該抗體之用途等。

【 先前技術 】

【0002】類風濕性關節炎(Rheumatoid Arthritis：以下稱爲「RA」)係以關節滑膜爲炎症主要部位的慢性炎症性疾病，最後經由骨・軟骨之破壞，造成關節功能傷害，使患者的生活品質(QOL)顯著地降低的嚴重疾病。因免疫系統異常，本身的關節滑膜受到攻擊而發生炎症，其結果，引起關節的疼痛、腫脹、變形等症狀。先進國家之RA之罹病率爲人口的0.5至1.0%，隨著年齡增高而增加(非專利文獻1)。

【0003】先前對於RA，係以甲胺喋呤(methotrexate)(MTX)等疾病修飾性抗類風濕症藥(DMARDs)或類固醇爲中心進行治療，在抗炎症作用中雖呈現一定的效果，然而對於關節破壞的效果並不充分。近年，導入使用抗TNF生物製劑或抗IL-6受體抗體或CTLA4-Ig之先進治療，據報導對於一部分患者有達到緩解的案例，因係有效性高之治療法而受到注目。生物製劑之導入，將RA治療從延遲疾病進行之保守療法轉變爲以積極達成緩解爲目標之治療。

【0004】然而，即使投與抗TNF生物製劑，接受醫療之患者中3至4成效果不足，無法使所有RA患者得到完全緩解(非專利文獻2)。又，由於類固醇或先前生物製劑的藥效機制基本上爲免疫抑制作用，所以被認爲有使感染症風險增加的問題(非專利文獻3)。爲了開發更安全且有效性高之治療藥，尋求建基於根據RA病因之新作用機制的治療方法。

【0005】至目前為止，RA 之發病機制尚未解明，不過提出被稱為 RA 感受性基因之 HLA-DR4 或 PADI4、PTPN22、TNFAIP3 等基因之變異等遺傳性因素(非專利文獻 4)。又，藉由年齡增長或壓力、生產、吸煙等引起之荷爾蒙平衡的異常、或細菌、病毒造成感染等環境因子亦被視為重要。就細菌而言，暗示黴漿菌或鏈球菌與 RA 有關係；就 DNA 病毒而言，指出 EB 病毒、B 型肝炎病毒、疱疹病毒、細小病毒等感染與 RA 發病有關係(非專利文獻 5)。又，來自逆轉錄病毒之因子之中，有被認定係 RA 之重要發病因子之一者。有文獻提出由下述 2 個機制誘發 RA 的假說：「HIV 或 HTLV-I 使致癌基因 (oncogene) 之表現亢進，導致滑膜細胞的異常增殖」，以及「使被稱為 tax 或 tat 之轉錄活性化因子表現，而引起 IL-1 或 IL-6 等炎症性細胞激素 (cytokine) 的產生」(非專利文獻 6)；亦有文獻暗示「人類內在性病毒 (HERV) 之群特異性抗原蛋白 (gag)、超抗原 (sag) 或外殼蛋白 (env) 作用於 T 細胞受體，使 T 細胞過度活化，而使免疫功能出現破綻」而與 RA 發病相關(非專利文獻 7)。不過，現認為實際上係由遺傳性原因與環境因子複雜地組合而使 RA 發病。

【0006】小鼠乳癌病毒 (Murine Mammary Tumor Virus；以下稱為「MMTV」。)雖為誘導小鼠乳癌之逆轉錄病毒，然而有暗示存在於人類之乳癌患者中之報告(非專利文獻 8)、MMTV 之感染會影響小鼠免疫功能之報告(非專利文獻 9)，不過不知 MMTV 與 RA 之關連。

【0007】又，雖然已知針對 MMTV 之 env 的單株抗體有抑制 MMTV 之感染或增殖的效果(非專利文獻 10 及 11)，然而對於抑制 RA 或關節炎之發病及惡化的抗 MMTVenv 抗體，並未有任何揭示。

先前技術文獻

非專利文獻

【0008】

非專利文獻 1 Scott DL 等人，「柳葉刀雜誌(Lancet)」，2010 年，第 376 卷，p.1094-1108

非專利文獻 2 Plant D 等人，「關節炎風濕病學(Arthritis Rheumatology)」2011 年，第 63 卷，第 3 號，p.645-653

非專利文獻 3 Tokuda H 等人，「內科醫學(Internal Medicine)」2008 年，第 47 號，p.915-923

非專利文獻 4 Dieudé P，「關節骨骼脊椎(Joint Bone Spine)」2009 年，第 76 卷，第 6 號，p.602-607

非專利文獻 5 Berkun Y 及 Padeh S，「自體免疫力評論(Autoimmunity Reviews)」2010 年，第 9 卷，第 5 號，p.A319-324。

非專利文獻 6 Kalden JR 及 Gay S，「臨床及實驗免疫學(Clinical and Experimental Immunology)」1994 年，第 98 卷，第 1 號，p.1-5

非專利文獻 7 Balada E 等人，「醫學病毒學評論(Reviews in Medical Virology)」2009 年，第 19 卷，p.273-286

非專利文獻 8 Taneja P 等人，「分子診斷學之專業評論 (Expert Review of Molecular Diagnostics)」 2009 年，第 9 卷，第 5 號，p.423-440

非專利文獻 9 Acha-Orbea H 等人，(生物科學新領域 (Frontiers in Bioscience)」2007 年，第 12 卷，p.1594-1604

非專利文獻 10 Mpandi MJ 等人，「病毒學期刊 (The Journal of Virology)」 2003 年，第 77 卷，第 17 號，p.9369-9377

非專利文獻 11 Indik S 等人，「癌症研究 (Cancer Research)」 2005 年，第 65 卷，第 15 號，p.6651-6659

【發明內容】

[發明之概要]

[發明所欲解決之課題]

【0009】本案發明之一課題為提供本發明之識別蛋白質且可抑制關節炎的抗體、其功能性斷片或其修飾體。本發明之又一課題為提供包含該抗體之醫藥組成物。本發明之再一課題為提供用於治療或預防 RA 等自體免疫疾病的醫藥組成物。本發明之又再一課題為提供用於檢查或診斷 RA 等自體免疫疾病之發病、惡化、進行度、治療效果等的組成物。又，在本發明之其他課題中包含本發明之抗體之製造方法、供應於該製造方法之細胞、被導入該細胞之重組載體、被插入該載體之核苷酸、產生本發明之抗體的細胞等。

[用於解決課題之手段]

【0010】本發明係關於：

(1)一種具有抗關節炎作用之抗體或其功能性斷片，其可識別包含下述(I)至(III)之任一項中所記載之胺基酸序列的多肽：

(I)序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列；

(II)具有可使關節炎發病及/或惡化之多肽的胺基酸序列，該胺基酸序列係由與具有互補鹼基序列之核苷酸在嚴苛條件下可雜交之核苷酸所具有之鹼基序列來編碼，其中該互補鹼基序列係與編碼序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列的鹼基序列互補，以及

(III)可使關節炎發病及/或惡化之多肽所具有的胺基酸序列，該胺基酸序列係由在序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列中置換、刪除、附加或插入 1 個至數個胺基酸而成；

(2)如(1)記載之抗體或其功能性斷片，其中該多肽在非還原狀態下之 SDS-PAGE 中之分子量為(I)50 至 55k、(II)50 至 55k 及 25 至 30k、或(III)70 至 75k；

(3)如(1)或(2)記載之抗體或其功能性斷片，其可抑制骨破壞；

(4)如(3)記載之抗體或其功能性斷片，其中該骨破壞係在膠原誘發性關節炎非人類動物模型中之作用；

(5)如(1)至(4)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其中該抗關節炎作用係在膠原誘發性關節炎非人類動物模型中之作用；

(6)如(1)至(5)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其中如(1)記載之多肽在膠原誘發性關節炎非人類動物模型中會使關節炎惡化；

(7)如(1)至(6)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其中如(1)記載之多肽在膠原誘發性關節炎小鼠模型中可被檢測出；

(8)如(1)至(7)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其可抑制於炎症患部之細胞激素產生；

(9)如(8)記載之抗體或其功能性斷片，其中該細胞激素為炎症性細胞激素及/或趨化素(chemokine)；

(10)如(8)或(9)記載之抗體或其功能性斷片，其中該炎症患部為膠原誘發性關節炎非人類動物模型的患部；

(11)如(4)至(6)及(10)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其中該非人類動物為小鼠；

(12)如(1)至(11)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽；

(13)如(1)至(12)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其係由重鏈及輕鏈構成，該重鏈包含：由序列表之序列編號 22 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH1、由序列表之序列編號 23 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH2 及由序列表之序列編號 24 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH3，該輕鏈包含：由序列表之序列編號 25 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL1、由序列表之序列編號 26 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL2 及由序列表之序列編號 27 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL3；

(14)如(1)至(12)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其係由重鏈及輕鏈構成，該重鏈包含：由序列表之序列編號 36 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH1、由序列表之序列編號 37 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH2 及由序列表之序列編號 38 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH3，該輕鏈包含：由序列表之序列編號 39 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL1、由序列表之序列編號 40 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL2 及由序列表之序列編號 41 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL3；

(15)如(1)至(12)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其係由重鏈及輕鏈構成，該重鏈包含：由序列表之序列編號 66 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH1、由序列表之序列編號 67 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH2 及由序列表之序列編號 68 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH3，該輕鏈包含：由序列表之序列編號 69 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL1、由序列表之序列編號 70 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL2 及由序列表之序列編號 71 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL3；

(16)如(1)至(12)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其係由重鏈及輕鏈構成，該重鏈包含：由序列表之序列編號 112 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH1、由序列表之序列編號 113 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH2 及由序列表之序列編號 114 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH3，及該輕鏈包含：由序列表之序列編號 115 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL1、由序列表之序列編號

116 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL2 及由序列表之序列編號 117 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL3；

(17)如(1)至(12)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其包含重鏈及輕鏈且可識別如(1)記載之多肽，該重鏈及輕鏈包含與如(13)至(16)之任一項記載之抗體的重鏈及輕鏈之胺基酸序列分別具 95% 以上相同性的胺基酸序列；

(18)如(1)至(12)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其係結合在如(13)至(16)之任一項記載之抗體或其功能性斷片所識別之抗原上之部位；

(19)如(1)至(12)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其與如(13)至(16)之任一項記載之抗體或其功能性斷片競爭和(1)記載之多肽之結合；

(20)如(1)至(19)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其中該抗體為嵌合抗體；

(21)如(1)至(19)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其中該抗體為人型化抗體；

(22)如(1)至(19)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其中該抗體為人類抗體；

(23)一種核苷酸，其係在下述(I)至(III)之任一項中所記載之核苷酸：

(I)包含編碼如(1)至(22)之任一項記載之抗體之重鏈或輕鏈之一部分或全部胺基酸序列之鹼基序列的核苷酸；

(II)由包含編碼如(1)至(22)之任一項記載之抗體之重鏈或輕鏈之一部分或全部胺基酸序列之鹼基序列的鹼基序列所構成的核苷酸；及

(III)由編碼如(1)至(22)之任一項記載之抗體之重鏈或輕鏈之一部分或全部胺基酸序列之鹼基序列所構成的核苷酸；

(24)一種重組載體，其中插入有如(23)記載之核苷酸；

(25)一種重組細胞，其中導入有如(23)記載之核苷酸或如(24)記載之重組載體；

(26)一種細胞，其產生如(1)至(22)之任一項記載之抗體；

(27)一種如(1)至(22)之任一項記載之抗體或其功能性斷片之製造方法，其包含下述之步驟(I)及(II)：

(I)培養如(25)或(26)記載之細胞的步驟；及

(II)從前述步驟(I)所得到之培養物回收如(1)至(22)之任一項記載之抗體或其功能性斷片的步驟；

(28)如(1)至(22)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其係藉由如(27)記載之方法而得到；

(29)一種如(1)至(22)及(28)之任一項記載之抗體或其功能性斷片的修飾體；

(30)一種醫藥組成物，其包含如(1)至(22)及(28)之任一項記載之抗體或其功能性斷片、或者如(29)記載之修飾體，做為有效成分；

(31)如(30)記載之醫藥組成物，其為表現如(1)記載之多肽之個體之自體免疫疾病的治療藥或預防藥；

(32)如(31)記載之醫藥組成物，其中該自體免疫疾病係類風濕性關節炎；

(33)如(30)記載之醫藥組成物，其為表現如(1)記載之多肽之個體之關節炎的治療藥或預防藥，

(34)一種類風濕性關節炎之檢查或診斷用組成物，其包含如(1)至(22)及(28)之任一項記載之抗體或其功能性斷片、或如(29)記載之修飾體；

(35)如(13)記載之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域包含在序列表之序列編號 72 至 81(第 40 至 49 圖)之任一項中記載之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域包含在序列表之序列編號 82 至 86(第 50 至 54 圖)之任一項中記載之胺基酸序列所示之肽；

(36)如(13)記載之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係在序列表之序列編號 72 至 81(第 40 至 49 圖)之任一項中記載之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域係在序列表之序列編號 82 至 86(第 50 至 54 圖)之任一項中記載之胺基酸序列所示之肽；

(37)如(13)記載之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係以由序列表之序列編號 19(第 16 圖)之胺基酸編號 20 至 138 所構成之胺基酸序列來表示，且輕鏈可變區域係以由序列表之序列編號 21(第 18 圖)之胺基酸編號 21 至 128 所構成之胺基酸序列來表示；

(38)如(35)記載之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域包含選自序列表之序列編號 72 至 74、76、及 79 至 81(第 40 至 42、44 及 47 至 49 圖)所構成之族群中之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域包含序列表之序列編號 82(第 50 圖)之胺基酸序列所示之肽；

(39)如(36)記載之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係選自序列表之序列編號 72 至 74、76 及 79 至 81(第 40 至 42、44 及 47 至 49 圖)所構成之族群中之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域係以序列表之序列編號 82(第 50 圖)之胺基酸序列所示之肽；

(40)如(35)記載之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域包含選自序列表之序列編號 72 至 74 及 76 至 78(第 40 至 42 及 44 至 46 圖)所構成之族群中之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域包含序列表之序列編號 83(第 51 圖)之胺基酸序列所示之肽；

(41)如(36)記載之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係選自序列表之序列編號 72 至 74 及 76 至 78(第 40 至 42 及 44 至 46 圖)所構成之族群中之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域係在序列表之序列編號 83(第 51 圖)中記載之胺基酸序列所示之肽；

(42)如(35)記載之抗體或其功能性斷片，重鏈可變區域包含在序列表之序列編號 72 至 74(第 40 至 42 圖)之一項中記載之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域包含序列表之序列編號 84(第 52 圖)之胺基酸序列所示之肽；

(43)如(36)記載之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係在序列表之序列編號 72 至 74(第 40 至 42 圖)之任一項中記載之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域係序列表之序列編號 84(第 52 圖)之胺基酸序列所示之肽；

(44)如(35)記載之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域包含序列表之序列編號 75(第 43 圖)之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域包含序列表之序列編號 85(第 53 圖)之胺基酸序列所示之肽；

(45)如(36)記載之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係序列表之序列編號 75(第 43 圖)之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域係序列表之序列編號 85(第 53 圖)之胺基酸序列所示之肽；

(46)如(35)記載之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域包含選自序列表之序列編號 73、74、76 及 77(第 41、42、44 及 45 圖)所構成之族群中之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域包含序列表之序列編號 86(第 54 圖)之胺基酸序列所示之肽；

(47)如(36)記載之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係選自序列表之序列編號 73、74、76 及 77(第 41、42、44 及 45 圖)所構成之族群中之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域係序列表之序列編號 86(第 54 圖)之胺基酸序列所示之肽；

(48)一種抗體或其功能性斷片，其中該抗體係選自下述 (i)至 (xxi)：

(i)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T13)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 76(第 44 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(ii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T14)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 76(第 44 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(iii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T15)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 76(第 44 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 86(第 54 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(iv)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T8)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 74(第 42 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(v)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T9)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 74(第 42 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(vi)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T10)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 74(第 42 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 84(第 52 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(vii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T11)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 74(第 42 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 86(第 54 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(viii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T18)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 78(第 46 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(ix)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T12)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 75(第 43 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 85(第 53 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(x)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T1)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 72(第 40 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xi)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T2)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 72(第 40 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T3)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 72(第 40 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 84(第 52 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xiii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T4)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 73(第 41 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xiv)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T5)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 73(第 41 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xv)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T6)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 73(第 41 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 84(第 52 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xvi)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T7)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 73(第 41 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 86(第 54 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xvii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T16)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 77(第 45 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xviii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T17)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 77(第 45 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 86(第 54 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xix)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T19)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 79(第 47 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xx)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T20)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 80(第 48 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xxi)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T21)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 81 (第 49 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(49)如(1)至(22)及(28)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其包含重鏈及輕鏈且可識別如(1)記載之多肽，該重鏈及輕鏈包含與如(35)至(48)之任一項中所記載之抗體的重鏈及輕鏈之胺基酸序列分別具 95% 以上相同性的胺基酸序列；

(50)如(1)至(22)及(28)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其係結合在如(35)至(48)之任一項記載之抗體所識別之抗原上之部位；

(51)如(1)至(22)及(28)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其與如(35)至(48)之任一項記載之抗體或其功能性斷片競爭和(1)記載之多肽之結合；

(52)一種核苷酸，其係在下述(I)至(III)之任一項中所記載之核苷酸：

(I)包含編碼如(35)至(51)之任一項記載之抗體之重鏈或輕鏈之一部分或全部胺基酸序列之鹼基序列的核苷酸；

(II)由包含編碼如(35)至(51)之任一項記載之抗體之重鏈或輕鏈之一部分或全部胺基酸序列之鹼基序列的鹼基序列所構成的核苷酸；及

(III)由編碼如(35)至(51)之任一項記載之抗體之重鏈或輕鏈之一部分或全部胺基酸序列之鹼基序列所構成的核苷酸；

(53)如(52)記載之核苷酸，其中編碼如(35)至(51)之任一項記載之抗體之重鏈之一部分或全部胺基酸序列的鹼基序列係由序列表之序列編號 91 至 100(第 58 至 67 圖)之任一項所表示的鹼基序列，且編碼如(35)至(51)之任一項記載之抗體之輕鏈之一部分或全部胺基酸序列的鹼基序列係由序列表之序列編號 103 至 107(第 69 至 73 圖)之任一項所表示的鹼基序列；

(54)一種重組載體，其中插入有如(52)或(53)記載之核苷酸；

(55)一種重組細胞，其中導入有如(52)或(53)記載之核苷酸或如(54)記載之重組載體；

(56)一種細胞，其產生如(35)至(51)之任一項記載之抗體；

(57)一種如(35)至(51)之任一項記載之抗體或其功能性斷片之製造方法，其包含下述之步驟(I)及(II)：

(I)培養如(55)或(56)記載之細胞的步驟；及

(II)從前述步驟(I)所得到之培養物回收如(35)至(51)之任一項記載之抗體或其功能性斷片的步驟；

(58)如(35)至(51)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其係藉由如(57)記載之方法而得到；

(59)一種如(35)至(51)及(58)之任一項記載之抗體或其功能性斷片的修飾體；

(60)一種醫藥組成物，其包含如(35)至(51)及(58)之任一項記載之抗體或其功能性斷片、或者如(59)記載之修飾體，做為有效成分；

(61)如(60)記載之醫藥組成物，其係表現如(1)記載之多肽之個體之自體免疫疾病的治療藥或預防藥；

(62)如(61)記載之醫藥組成物，其中該自體免疫疾病係類風濕性關節炎；

(63)如(60)記載之醫藥組成物，其係表現如(1)記載之多肽之個體之關節炎的治療藥或預防藥；

(64)一種如(1)記載之多肽之檢測方法，其包含使可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體與受驗樣本接觸的步驟；

(65)如(64)記載之檢測方法，其中該受驗樣本係來自受驗者的樣本；

(66)如(65)記載之檢測方法，其中該來自受驗者之樣本係血漿；

(67)一種 RX 蛋白質之定量方法，其包含使可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體與受驗樣本接觸的步驟；

(68)如(67)記載之定量方法，其中該受驗樣本係來自受驗者之樣本；

(69)如(68)記載之定量方法，其中該來自受驗者之樣本係血漿；

(70)如(64)至(69)之任一項記載之方法，其中使用一種可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體；

(71)如(64)至(69)之任一項記載之方法，其中使用二種以上之可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體；

(72)如(71)記載之方法，其中使用三明治式 ELISA(sandwich ELISA)；

(73)一種類風濕性關節炎之檢查方法，其包含使可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體與受驗樣本接觸的步驟；

(74)如(73)記載之檢查方法，其中該受驗樣本係來自受驗者之樣本；

(75)如(74)記載之檢查方法，其中該來自受驗者之樣本係血漿；

(76)一種類風濕性關節炎之診斷方法，其包含下述之步驟(I)至(III)：

(I)使可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體與來自受驗者之血漿接觸的步驟；

(II)測定來自受驗者之血漿中之如(1)記載之多肽之量的步驟；及

(III)在來自受驗者之血漿中之步驟(II)記載之多肽之量，比來自健康者之血漿中之步驟(II)記載之多肽之量

多的情況，判定該受驗者罹患類風濕性關節炎或罹患該病之風險高的步驟；

(77)一種多肽之測定用或診斷用組成物，其包含可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體；

(78)如(77)記載之組成物，其係用於類風濕性關節炎之診斷；

(79)如(77)或(78)記載之組成物，其包含一種可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體；

(80)如(77)或(78)記載之組成物，其包含二種以上之可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體；

(81)如(80)記載之組成物，其係用於三明治式 ELISA 法，

(82)一種檢查用或診斷用之試藥或套組，其包含可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體；

(83)如(82)記載之試藥或套組，其係用於自體免疫疾病之檢查或診斷；

(84)如(83)記載之試藥或套組，其中該自體免疫疾病係類風濕性關節炎；

(85)如(82)至(84)之任一項記載之試藥或套組，其包含一種可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體；

(86)如(82)至(84)之任一項記載之試藥或套組，其包含二種以上之可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體；

(87)如(82)至(86)之任一項記載之試藥或套組，其包含如(1)記載之多肽或其斷片或其修飾體；

(88)如(13)記載之抗體或其功能性斷片，其中該抗體係大鼠抗體；

(89)如(14)至(16)之任一項記載之抗體或其功能性斷片，其中該抗體係小鼠抗體；以及

(90)如(30)至(33)及(60)至(63)之任一項記載之醫藥組成物，其係與另外的治療劑或預防劑組合使用。

[發明之效果]

【0011】藉由本發明所提供之抗體，可進行自體免疫疾病、關節炎、RA 等之治療或預防，及 RA 等之檢查或診斷。

【圖式簡單說明】

【0012】

第 1 圖顯示藉由投與 ADSF 細胞所造成之膠原誘發性關節炎動物模型之關節炎惡化。縱軸顯示關節炎分數，橫軸顯示初次膠原致敏後之日數。

第 2 圖顯示本發明中所製作之單株抗體與 RX 蛋白質的結合能力。縱軸係將與 RX 蛋白質之結合量之相對值以吸光度表示。

第 3 圖顯示從 ADSF 細胞培養液上清液所精製之 RX 蛋白質之 SDS-PAGE 解析結果(銀染色)。「MW 標記」表示分子量標記。

第 4 圖表示使用從 ADSF 細胞培養液上清液所精製之 RX 蛋白質之單株抗體 1(MAb1)的西方轉漬法解析結果。「MW 標記」表示分子量標記。

第 5 圖表示從 ADSF 細胞培養液上清液所精製之 RX 蛋白質之 MALDI-TOF-質量分析(以下稱為「MS 分析」)結果。「*C」表示胺甲醯基甲基半胱胺酸(Carbamidomethyl cysteine)。「位置」表示相當於序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列中的胺基酸編號。「理論分子量」及「測定分子量」分別表示分子量之理論值及測定值。

第 6 圖顯示本發明之單株抗體與 RX 蛋白質的結合親和性。 K_a 表示結合速度常數， k_d 表示解離速度常數， KD 表示解離常數。

第 7 圖顯示藉由投與 RX 蛋白質所造成之 DBA/1 小鼠之關節炎惡化。縱軸表示關節炎分數，橫軸表示初次膠原致敏後之日數。載劑表示做為對照之 PBS 投與群。

第 8 圖顯示膠原誘發性關節炎小鼠模型中，單株抗體 1(MAb1)及單株抗體 2(MAb2)對關節炎惡化之抑制作用。縱軸表示關節炎分數，橫軸表示初次膠原致敏後之日數。

第 9 圖顯示膠原誘發性關節炎小鼠模型中之 MAb1 的骨破壞抑制作用。縱軸表示骨破壞分數。

第 10 圖顯示 RA 患者之關節滑膜中之 RX 蛋白質之西方轉漬法解析結果。橫軸表示患者之編號。M 表示分子量標記，S 表示來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質。

第 11 圖顯示從 RA 患者血漿精製之 MAb1 所識別之蛋白質帶的 MALDI-TOF-MS 分析結果。「*C」表示胺甲醯基甲基半胱胺酸。「位置」表示相當於序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列中之胺基酸編號。「理論分子量」及「測定分子量」分別表示分子量之理論值及測定值。

第 12 圖顯示從來自 RA 患者之關節滑膜之各 RX 基因之鹼基序列所轉譯的部分胺基酸序列(相當於序列表之序列編號 15 的胺基酸編號 134 至 233)。ADSF 表示來自 ADSF 細胞之部分序列，第 1 至 4 號表示來自 RA 患者(RA5 至 RA8)之部分序列。

第 13 圖顯示藉由三明治 ELISA 法所形成之 RX 蛋白質的校正曲線(決定係數 $R^2=0.9993$)。

第 14 圖顯示健康人及 RA 患者之血漿中的 RX 蛋白質量。RA9 至 RA26 表示來自 RA 患者 RA9 至 RA26 的試料，HD1 至 HD8 表示來自健康自願者 HD1 至 HD8 之試料。縱軸表示血中 RX 蛋白質濃度。

第 15 圖顯示 MAb1 重鏈基因之鹼基序列(序列表之序列編號 18)。其中可變區域為核苷酸編號 58 至 414。

第 16 圖顯示 MAb1 重鏈之胺基酸序列(序列表之序列編號 19)。其中可變區域為胺基酸編號 20 至 138。

第 17 圖顯示 MAb1 輕鏈基因之鹼基序列(序列表之序列編號 20)。其中可變區域為核苷酸編號 61 至 387。

第 18 圖顯示 MAb1 輕鏈之胺基酸序列(序列表之序列編號 21)。其中可變區域為胺基酸編號 21 至 129。

第 19 圖顯示 MAb2 重鏈可變區域基因之鹼基序列 (序列表之序列編號 32)。

第 20 圖顯示 MAb2 重鏈可變區域之胺基酸序列 (序列表之序列編號 33)。

第 21 圖顯示 MAb2 輕鏈可變區域基因之鹼基序列 (序列表之序列編號 34)。

第 22 圖顯示 MAb2 輕鏈可變區域之胺基酸序列 (序列表之序列編號 35)。

第 23 圖顯示 MAb1、MAb2 及單株抗體 3(MAb3)之重鏈及輕鏈之可變區域中之 CDR 的胺基酸序列 (序列表之序列編號 22 至 27、36 至 41、及 66 至 71)。

第 24 圖顯示編碼來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質之胺基酸序列的基因 (RX 基因)之鹼基序列 (序列表之序列編號 14)。為從序列編號 60 之鹼基序列 (第 28 圖) 削除相當於信號序列部分 (序列編號 60 之核苷酸編號 1 至 294) 及 3'-末端之 111 個鹼基 (除去終止密碼子：序列編號 60 之鹼基序列的核苷酸編號 1954 至 2064) 者。

第 25 圖顯示來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質 gp73ED 的胺基酸序列 (序列表之序列編號 15)。為從序列編號 61 之鹼基序列 (第 29 圖) 削除信號序列 (序列編號 61 之胺基酸編號 1 至 98) 及 C 末端之 37 個胺基酸 (序列編號 61 之胺基酸編號 652 至 688) 者。

第 26 圖顯示編碼來自 ADSF 細胞之 RX 基因中 gp52SU 之胺基酸序列的鹼基序列：相當於序列表之序列編號 14 (第 24 圖) 的核苷酸編號 1 至 1128。

第 27 圖顯示來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質中 gp52SU 之胺基酸序列：相當於序列表之序列編號 15(第 25 圖) 的胺基酸編號 1 至 376。

第 28 圖為編碼來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質前驅體之胺基酸序列的基因之鹼基序列(序列表之序列編號 60)，其中該 RX 蛋白質前驅體之胺基酸序列包含信號序列及 C 末端序列。

第 29 圖顯示來自 ADSF 細胞之包含信號序列及 C 末端序列的 RX 蛋白質前驅體之胺基酸序列(序列表之序列編號 61)。

第 30 圖顯示 MAb3 重鏈可變區域基因之鹼基序列(序列表之序列編號 62)。

第 31 圖顯示 MAb3 重鏈可變區域之胺基酸序列(序列表之序列編號 63)。

第 32 圖顯示 MAb3 輕鏈可變區域基因之鹼基序列(序列表之序列編號 64)。

第 33 圖顯示 MAb3 輕鏈可變區域之胺基酸序列(序列表之序列編號 65)。

第 34 圖顯示嵌合化 MAb1 對 RX 蛋白質之結合親和性。

第 35 圖顯示人型化 MAb1 中之重鏈蛋白質之表現質體及輕鏈蛋白質之表現載體(分別為 H1 至 H10, 及 L1 至 L5)的組合, 及賦予具有各個組合之人型化 MAb1 之編號(參考編號: T1 至 T21)。

第 36 圖顯示人型化 MA b1 對 RX 蛋白質之結合親和性。

第 37 圖顯示人型化抗體重鏈蛋白質之表現載體的製作。

第 38 圖顯示使用 MA b2 並藉由 ELISA 測定 RX 蛋白質之相對量所得到的校正曲線(決定係數 $R^2=0.995$)。

第 39 圖顯示使用 MA b3 並藉由 ELISA 測定 RX 蛋白質之相對量所得到的校正曲線(決定係數 $R^2=0.9961$)。

第 40 圖顯示人型化 MA b1 重鏈 H1 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 72)。

第 41 圖顯示人型化 MA b1 重鏈 H2 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 73)。

第 42 圖顯示人型化 MA b1 重鏈 H3 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 74)。

第 43 圖顯示人型化 MA b1 重鏈 H4 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 75)。

第 44 圖顯示人型化 MA b1 重鏈 H5 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 76)。

第 45 圖顯示人型化 MA b1 重鏈 H6 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 77)。

第 46 圖顯示人型化 MA b1 重鏈 H7 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 78)。

第 47 圖顯示人型化 MA b1 重鏈 H8 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 79)。

第 48 圖顯示人型化 MAb1 重鏈 H9 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 80)。

第 49 圖顯示人型化 MAb1 重鏈 H10 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 81)。

第 50 圖顯示人型化 MAb1 輕鏈 L1 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 82)。

第 51 圖顯示人型化 MAb1 輕鏈 L2 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 83)。

第 52 圖顯示人型化 MAb1 輕鏈 L3 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 84)。

第 53 圖顯示人型化 MAb1 輕鏈 L4 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 85)。

第 54 圖顯示人型化 MAb1 輕鏈 L5 之可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 86)。

第 55 圖顯示編碼人類 IgG1 之重鏈恆定區域的胺基酸序列之 cDNA 的鹼基序列(序列表之序列編號 87)。

第 56 圖顯示人類 IgG1 重鏈恆定區域之增幅用引子 F 的鹼基序列(序列表之序列編號 89)。

第 57 圖顯示人類 IgG1 重鏈恆定區域之增幅用引子 R 的鹼基序列(序列表之序列編號 90)。

第 58 圖顯示編碼人型化 MAb1 重鏈 H1 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 的鹼基序列(序列表之序列編號 91)。

第 59 圖顯示編碼人型化 MAb1 重鏈 H2 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 的鹼基序列(序列表之序列編號 92)。

第 60 圖顯示編碼人型化 MAb1 重鏈 H3 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 93)。

第 61 圖顯示編碼人型化 MAb1 重鏈 H4 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 94)。

第 62 圖顯示編碼人型化 MAb1 重鏈 H5 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 95)。

第 63 圖顯示編碼人型化 MAb1 重鏈 H6 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 96)。

第 64 圖顯示編碼人型化 MAb1 重鏈 H7 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 97)。

第 65 圖顯示編碼人型化 MAb1 重鏈 H8 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 98)。

第 66 圖顯示編碼人型化 MAb1 重鏈 H9 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 99)。

第 67 圖顯示編碼人型化 MAb1 重鏈 H10 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 100)。

第 68 圖顯示編碼人類 IgG1 之輕鏈恆定區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 101)。

第 69 圖顯示編碼人型化 MA b1 輕鏈 L1 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 103)。

第 70 圖顯示編碼人型化 MA b1 輕鏈 L2 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 104)。

第 71 圖顯示編碼人型化 MA b1 輕鏈 L3 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 105)。

第 72 圖顯示編碼人型化 MA b1 輕鏈 L4 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 106)。

第 73 圖顯示編碼人型化 MA b1 輕鏈 L5 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(序列表之序列編號 107)。

第 74 圖顯示膠原誘發性關節炎小鼠模型中之人型化 MA b1 對關節炎惡化的抑制作用。縱軸表示關節炎分數。

第 75 圖顯示 MA b4 重鏈可變區域基因的鹼基序列(序列表之序列編號 108)。

第 76 圖顯示 MA b4 重鏈可變區域之胺基酸序列(序列表之序列編號 109)。

第 77 圖顯示 MAb4 輕鏈可變區域基因的鹼基序列(序列表之序列編號 110)。

第 78 圖顯示 MAb4 輕鏈可變區域的胺基酸序列(序列表之序列編號 111)。

第 79 圖顯示 MAb4 之重鏈及輕鏈可變區域中之 CDR 的胺基酸序列(序列表之序列編號 112 至 117)。

第 80 圖顯示膠原誘發小鼠模型中之單株抗體 4(MAb4)對關節炎惡化的抑制作用。縱軸表示關節炎分數，橫軸表示初次膠原致敏後之日數。

第 81 圖顯示使用 MAb4 並藉由 ELISA 測定 RX 蛋白質之相對量所得到的校正曲線(決定係數 $R^2 = 0.9905$)。

第 82 圖為顯示小鼠膠原誘發性關節炎小鼠模型中，藉由投與本發明之人型化 MAb1 而達成之細胞激素產生之抑制作用之圖。縱軸表示四肢均質化樣本中之介白素 6(IL-6)濃度。

第 83 圖為顯示小鼠膠原誘發性關節炎小鼠模型中，藉由投與本發明之人型化 MAb1 而達成之趨化素產生抑制作用之圖。縱軸表示四肢均質化樣本中之單核細胞趨化蛋白-1(MCP-1)濃度。

【實施方式】

[用於實施發明之形態]

1. 定義

【0013】本發明中，「基因」意指包含編碼蛋白質之胺基酸之鹼基序列的核苷酸或其互補鏈，例如，為包含編碼蛋白質之胺基酸之鹼基序列的核苷酸或其互補鏈的聚

核苷酸、寡核苷酸、DNA、mRNA、cDNA、cRNA 等含於「基因」之意義中。該基因為單股、雙股或三股以上之核苷酸；DNA 鏈與 RNA 鏈之聚合體，在單股之核苷酸鏈上核糖核苷酸 (RNA) 及去氧核糖核苷酸 (DNA) 混合存在者，及包含此種核苷酸鏈之雙股或三股以上的核苷酸亦包含於「基因」之意義中。就本發明之「RX 基因」而言，可列舉如：包含編碼 RX 蛋白質之胺基酸序列之鹼基序列的 DNA、mRNA、cDNA、cRNA 等。

● 【0014】在本發明中，「核苷酸」與「核酸」為同義，例如，DNA、RNA、探針、寡核苷酸、聚核苷酸、引子等亦包含於「核苷酸」之意義中。該核苷酸為由單股、雙股或三股以上之鏈所構成之核苷酸，DNA 鏈與 RNA 鏈之聚合體、單股之核苷酸鏈上，核糖核苷酸 (RNA) 與去氧核糖核苷酸 (DNA) 混合存在者及包含此種核苷酸鏈之雙股或三股以上之鏈的聚合體亦包含於「核苷酸」之意義中。

● 【0015】在本發明中，「多肽」、「肽」及「蛋白質」為同義。

【0016】在本發明中，「抗原」有時以「免疫原」之意義來使用。

【0017】在本發明中，RX 及 RX 蛋白質之任一者均意指包含小鼠乳癌病毒外套膜蛋白質 (Murine Mammary Tumor Virus Envelope Protein；以下稱為「MMTVenv」) 所具有之胺基酸序列的至少一部分，且使關節炎發病及/或惡化的多肽。

【0018】在本發明中，所謂「使關節炎發病及/或惡化」意指單獨、或與其他因子共同，或以與其他因子之聚合體之形式直接地或間接地使關節炎發病及/或惡化。

【0019】在本發明中，「細胞」亦包含來自動物個體之各種細胞、初代培養細胞、繼代培養細胞、細胞株、重組細胞及微生物等。

【0020】在本發明中，將識別 RX 蛋白質之抗體表記為「抗 RX 抗體」。「抗 RX 抗體」中包含抗 RX 嵌合抗體、抗 RX 人型化抗體、抗 RX 人類抗體等。

【0021】本發明中之「抗體之功能性斷片」意指達到原抗體所達到之功能之至少一部分的抗體斷片。就「抗體之功能性斷片」而言，可列舉如：Fab、F(ab')₂、scFv、Fab'、單股免疫球蛋白等，然而不以此等為限。該抗體之功能性斷片，除藉由將抗體蛋白質之全長分子以木瓜酵素、胃蛋白酶等酵素處理所得到者之外，亦可為使用重組基因，於適當宿主細胞中所產生之重組蛋白質。

【0022】在本發明中，抗體結合之「部位」，亦即抗體識別之「部位」，意指抗體所結合或識別的抗原上之部分肽或部分高階構造。在本發明中，該部位亦稱為抗原決定部位(epitope)、抗體之結合部位。就本發明之抗 RX 抗體所結合或識別之 RX 蛋白質上的部位而言，可例示 RX 蛋白質上之部分肽或部分高階構造等。

【0023】已知抗體分子之重鏈及輕鏈中各有 3 處互補性決定區域(CDR: complementarity determining region)。互補性決定區域，亦可稱為高度變異區域(hypervariable

domain)，其係在抗體之重鏈及輕鏈的可變區域內一次構造之變異性特別高的部位，在重鏈及輕鏈之多肽鏈的一次構造上，通常分別分離為 3 處。在本發明中，關於抗體之互補性決定區域，係將重鏈之互補性決定區域，從重鏈胺基酸序列之胺基末端側起，表記為 CDRH1、CDRH2、CDRH3，將輕鏈之互補性決定區域，從輕鏈胺基酸序列之胺基末端側起，表記為 CDRL1、CDRL2、CDRL3。此等部位於立體構造上互相接近，決定對於所結合之抗原的特異性。

【0024】在本發明中，「抗體變異體」意指原抗體所具有之胺基酸序列中，具有經胺基酸置換、刪除、附加及/或插入(以下總稱為「變異」)而成之胺基酸序列，且可與本發明之 RX 蛋白質結合的多肽。該抗體變異體中之變異胺基酸的數目為 1 至 2 個、1 至 3 個、1 至 4 個、1 至 5 個、1 至 6 個、1 至 7 個、1 至 8 個、1 至 9 個、1 至 10 個、1 至 12 個、1 至 15 個、1 至 20 個、1 至 25 個、1 至 30 個、1 至 40 個或 1 至 50 個。該抗體變異體亦包含於本發明之「抗體」中。

【0025】在本發明中，「1 至數個」中之「數個」意指 2 至 10 個。亦即，「1 至數個」意指 1 至 2 個、1 至 3 個、1 至 4 個、1 至 5 個、1 至 6 個、1 至 7 個、1 至 8 個、1 至 9 個、或 1 至 10 個，較佳為 1 至 8 個，更佳為 1 至 5 個，又更佳為 1 至 3 個，最佳為 1 至 2 個。

【0026】就本發明之抗體所表現之活性、性質而言，可列舉如：生物活性、物理化學性質等，具體而言，可

列舉各種生物活性、對抗原或抗原決定部位之結合活性、製造或保存時之安定性、熱安定性等。

【0027】在本發明中，「在嚴苛條件下雜交」意指在含有 $5\times\text{SSC}$ 之溶液中，於 65°C 進行雜交，其次分別在含有 $2\times\text{SSC}-0.1\%$ SDS 之水溶液中，於 65°C 進行 20 分鐘洗淨；在含有 $0.5\times\text{SSC}-0.1\%$ SDS 之水溶液中，於 65°C 進行 20 分鐘洗淨；及在含有 $0.2\times\text{SSC}-0.1\%$ SDS 之水溶液中，於 65°C 進行 20 分鐘洗淨，之條件或與此等同等條件下雜交。SSC 意指 150mM 氯化鈉- 15mM 檸檬酸鈉之水溶液， $n\times\text{SSC}$ 意指 n 倍濃度之 SSC。

【0028】本發明中「抗關節炎作用」意指抑制關節炎之發病及/或惡化的活性或作用，與「抗關節炎活性」、「關節炎抑制作用」、「關節炎抑制活性」同義。

2. 蛋白質

(2-1) 特性

【0029】本發明之 RX 蛋白質具有以下之性質：

(i) 分子量為約 73k (亦即 70 至 75k ；以下將顯示該分子量之肽稱為「gp73ED」)、約 55k (亦即 50 至 55k ；以下將顯示該分子量之肽稱為「gp52SU」)及約 28k (亦即 25 至 30k ；以下將顯示該分子量之肽稱為「gp28ED」)、或只約 55k (gp52SU)。在本發明中，gp73ED 意指為 MMTVenv 全長之 gp73 的細胞外區域，gp52SU 意指由從 gp73ED 之 N 末端至約第 376 號之胺基酸所構成之區域，gp28ED 意指具有接續 gp52SU 之 C 末端側之細胞膜貫通區域的亞單元(以下稱為「gp36TM」)之細胞外區域。雖

然序列表之序列編號 15 中之 gp52SU 與 gp28ED 之邊界在胺基酸編號第 376 號之絲胺酸殘基與胺基酸編號第 377 號之苯基丙胺酸殘基之間，然而本發明中之 gp52SU 與 gp28ED 之邊界並不以此為限。本發明之 RX 蛋白質，雖然皆係以從細胞膜等膜游離之形式存在，然而亦可為與細胞膜等膜結合之形式。其中所謂分子量，意指在 SDS-PAGE 中之非還原狀態下所觀察的分子量；

(ii) 在關節中會使關節炎發病及/或惡化。該關節炎之惡化亦包含有骨破壞之關節破壞等；以及

(iii) 包含以下 (a) 至 (d) 之任一項記載之胺基酸序列 (以下稱為「RX 胺基酸序列」)，或由包含 RX 胺基酸序列之胺基酸序列所構成，或由 RX 胺基酸序列所構成：

(a) 序列表之序列編號 15 (第 25 圖) 所示之胺基酸序列；

(b) 顯示與序列表之序列編號 15 (第 25 圖) 所示之胺基酸序列具 80% 以上、82% 以上、84% 以上、86% 以上、88% 以上、90% 以上、92% 以上、94% 以上、96% 以上、98% 以上或 99% 以上之序列相同性，且可使關節炎發病及/或惡化之多肽的胺基酸序列；

(c) 在序列表之序列編號 15 (第 25 圖) 所示之胺基酸序列中，置換、刪除、附加或插入 1 至 50 個、1 至 45 個、1 至 40 個、1 至 35 個、1 至 30 個、1 至 25 個、1 至 20 個、1 至 15 個、1 至 10 個、1 至 8 個、1 至 6 個、1 至 5 個、1 至 4 個、1 至 3 個、1 或 2 個、或 1 個胺基酸，且可使關節炎發病及/或惡化之多肽的胺基酸序列；以及

(d)由與具有互補性鹼基序列的核苷酸在嚴苛條件下可雜交之核苷酸所具有的鹼基序列編碼，且可使關節炎發病及/或惡化之多肽的胺基酸序列，其中該互補性鹼基序列與編碼序列表之序列編號 15(第 25 圖)所示之胺基酸序列的鹼基序列互補。

【0030】如前述，本發明之形態中，RX 蛋白質為 gp73ED、gp52SU、或包含 gp52SU 與 gp28ED 所成之複合體，本發明之形態中，本發明之抗體所識別之 RX 蛋白質，為 gp73ED、gp52SU、或包含 gp52SU 及 gp28ED 之複合體。

【0031】又，RX 蛋白質亦能以包含選自 gp73ED 及 gp52SU 所構成之族群中之 1 個或 2 個以上亞單元之同元(homo)或異元(hetero)寡聚合體的全部或一部分存在。若此種寡聚合體具有使關節炎發病及/或惡化之活性，為了方便，該寡會合體亦包含於本發明之「RX 蛋白質」中；可識別該寡複合體且可抑制關節炎發病及/或惡化之抗體亦包含於本發明之「抗 RX 抗體」中。在本發明中，「複合體」亦可以「聚合體」之意義來使用。

【0032】序列表之序列編號 15(第 25 圖)顯示 gp73ED 之胺基酸序列的一例。

【0033】gp52SU 之胺基酸序列的一例係由序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列中之胺基酸編號 1(Glu)至 376(Ser)所構成(第 27 圖)。gp28ED 之胺基酸序列的一例係由序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列中之胺基酸編號 377(Phe)至 553(Lys)所構成。但是，RX 蛋白質

之胺基酸序列，並不以此等為限，只要為在關節中使關節炎發病及/或惡化之多肽的胺基酸序列，如上述(b)至(d)之任一項記載者，均包含於本發明之RX蛋白質中。

● 【0034】個體、組織、體液、細胞、含有RX蛋白質之部分、精製或部分精製RX蛋白質製劑等中，或複數個個體、組織、細胞、含有RX蛋白質部分或RX蛋白質製劑之間，RX蛋白質之所具有之胺基酸序列及/或其他性質，可不相同，亦可不均勻。在一個個體、組織、體液、細胞、含有RX蛋白質之部分、精製或部分精製RX蛋白質製劑等中，亦可包含複數種相異的胺基酸序列及/或具有相異性質的RX蛋白質。又，在複數個個體、組織、細胞、含有RX蛋白質部分或RX蛋白質製劑之間，RX蛋白質之胺基酸序列及/或其他性質可相異。縱使該胺基酸序列及/或性質相異之蛋白質，只要具備上述(i)至(iii)記載之性質，任一者均包含於本發明之「RX蛋白質」中。

● 【0035】再者，就MMTVenv之胺基酸序列而言，可列舉如：在序列編號15所示之胺基酸序列之C末端附加37個胺基酸(在序列編號61所示之胺基酸序列中可發現相當於該胺基酸的胺基酸)而成之胺基酸序列、從序列編號61所示之胺基酸序列刪減胺基酸編號1至98(信號肽)而成之胺基酸序列等。

【0036】(iv)本發明之RX蛋白質，可從來自脊椎動物(較佳為哺乳動物，更佳為小鼠、大鼠等齧齒類及人類，又更佳為人類或小鼠)之組織、來自該組織之細胞、該細

胞之培養物等得到。就該組織及細胞而言，只要有 RX 蛋白質存在即可，無特別限定，然而可列舉如：關節組織、血液、淋巴液、胸腺、脾臟、來自此等之任一者之細胞等。較佳之組織及細胞為來自關節炎發病者，或呈現類似症狀之動物或病患者。但是，本發明之 RX 蛋白質的來源不限定前述者，可為來自其他動物種類、其他組織、其他細胞等，只要具備上述 (i) 至 (iii) 記載之性質，即包含於本發明之 RX 蛋白質的意義中。

【0037】(v) 本發明之 RX 蛋白質，可包含第 5 圖記載之 1 個或 2 個以上之胺基酸序列(序列表之序列編號 1 至 13)。該胺基酸序列中之胺甲醯基甲基半胱胺酸可為半胱胺酸或胱胺酸，亦可在與分子內外之其他半胱胺酸之間以二硫鍵鍵結。

【0038】本發明之 RX 蛋白質可包含第 11 圖記載之 1 個或 2 個以上之胺基酸序列(序列表之序列編號 42 至 52)。該胺基酸序列中之胺甲醯基甲基半胱胺酸可為半胱胺酸或胱胺酸，亦可在與分子內外之其他半胱胺酸之間以二硫鍵鍵結。

【0039】本發明之 RX 蛋白質可為天然型及重組型之任一者。又，與載體(carrier)或標籤等其他肽或蛋白質之融合物亦包含於 RX 蛋白質之意義中。再者，施行包含 PEG 等聚合物附加之化學修飾及/或含糖鏈修飾之生物學修飾者，亦包含於 RX 蛋白質之意義中。又，RX 蛋白質斷片亦包含於本發明之 RX 蛋白質的意義中。將 RX 蛋白質斷片之中具備上述 (ii) 記載之性質者稱為 RX 蛋白質功能性斷片。

【0040】本發明之 RX 蛋白質，可在罹患關節炎或類風濕性關節炎等自體免疫疾病的個體及/或膠原誘發性關節炎小鼠模型中被檢測出。例如，在使用 DBA/1 品系小鼠製作膠原誘發性關節炎模型之情況中，可在該等小鼠血中檢測出本發明之 RX 蛋白質。但是，RX 蛋白質之檢測會有物種差異、品系差異及個體差異。

(2-2)基因

【0041】本發明之 RX 基因，包含以下(a)至(c)之一項記載之鹼基序列(以下稱爲「RX 基因序列」)，或由包含 RX 基因序列之鹼基序列所構成，或由 RX 基因序列所構成：

(a)序列表之序列編號 14(第 24 圖)所示之鹼基序列；

(b)與互補性鹼基序列所構成之核苷酸在嚴苛條件下可雜交，且編碼使關節炎發病及/或惡化之多肽之胺基酸序列的鹼基序列，其中該互補性鹼基序列係與序列表之序列編號 14(第 24 圖)所示之鹼基序列互補；及

(c)在序列表之序列編號 14(第 24 圖)所示之鹼基序列中，置換、刪除、附加或插入 1 至 150 個、1 至 140 個、1 至 130 個、1 至 120 個、1 至 110 個、1 至 100 個、1 至 90 個、1 至 80 個、1 至 70 個、1 至 60 個、1 至 50 個、1 至 45 個、1 至 40 個、1 至 30 個、1 至 25 個、1 至 20 個、1 至 15 個、1 至 10 個、1 至 8 個、1 至 6 個、1 至 5 個、1 至 4 個、1 至 3 個、1 或 2 個、或 1 個鹼基而形成，且編碼使關節炎發病及/或惡化之多肽之胺基酸序列的鹼基序列。

【0042】如前述，在本發明之一形態中，RX 蛋白質係由 gp73ED 之單股多肽所構成。又，在其他形態中，gp52SU 與 gp28ED 聚合，形成複合體。在本發明之一形態中，RX 基因編碼 gp73ED，或編碼 gp52SU 與 gp28ED 二者，在另一形態中，RX 基因只編碼 gp52SU。

【0043】RX 基因之表現在自體免疫疾病，例如，類風濕性關節炎中表現亢進。尤其，在來自類風濕性關節炎患者或類風濕性關節炎動物模型之關節組織或血液部分，例如，在來自該患者之關節滑膜或血漿部分中，RX 基因之表現亢進。

【0044】RX 基因之表現及表現量的測定，可以 RX 基因之轉錄產物及 RX 蛋白質之任一者做為指標，前者可藉由 RT-PCR 法、北方轉漬・雜交法等，後者可藉由酶聯免疫吸附檢定 (enzyme-linked immuno-sorbent assay；以下稱為「ELISA」) 等免疫檢定法等分別測定。

【0045】序列表之序列編號 14(第 24 圖)表示編碼 gp73ED 之胺基酸序列之鹼基序列的一例。編碼 gp52SU 之胺基酸序列之鹼基序列的一例係由序列表之序列編號 14 所示之鹼基序列中核苷酸編號 1 至 1128 所構成(第 26 圖)。編碼 gp28ED 之胺基酸序列之鹼基序列的一例，係由序列表之序列編號 14 所示之鹼基序列中核苷酸編號 1129 至 1659 所構成。但是，RX 基因的鹼基序列並不以此等為限；具有如上述(b)及(c)之任一項記載之鹼基序列的基因，只要具有編碼「在關節中可使關節炎發病及/或惡化之多肽之胺基酸序列」的鹼基序列，均包含於本發明之 RX 基因中。

(2-3)蛋白質之調製

【0046】本發明之 RX 蛋白質，可藉由從動物組織(包含體液)、來自該組織之細胞、或該細胞培養物之精製及分離、基因重組、體外轉譯、化學合成等而調製。

(2-3-1)天然型 RX 之精製、分離

【0047】天然型 RX 蛋白質，可從例如，來自罹患 RA 等自體免疫疾病、關節炎等之患者或非人類動物之組織(包含體液、細胞等)、來自該組織之細胞、該細胞之培養物等精製、分離。該非人類動物亦包含該疾病動物模型。就供給模型製作的動物而言，只要為脊椎動物即可，無特別限定，較佳為哺乳動物，更佳為小鼠、大鼠等齧齒類，又更佳為小鼠或大鼠。就此種患者或動物模型之組織及細胞而言，只要存在 RX 蛋白質即可，無特別限定，然而可列舉如：關節組織、血液、淋巴液、胸腺、脾臟、來自此等任一者之細胞等。較佳之組織及細胞為來自關節炎發病，或呈現類似症狀之患者或動物模型者。但是，本發明之 RX 蛋白質之來源，並不限定於前述項目，亦可為來自其他動物種類、其他組織、其他細胞等。

【0048】從該組織、細胞、細胞培養物等之精製、分離，可藉由將本技術領域人士所周知之分餾、層析等方法組合而進行。該等方法包含鹽析、凝膠過濾、離子交換層析、親和層析、疏水層析、順相或逆相層析等，不過不以此等為限。親和層析用管柱可藉由製備及充填抗 RX 單株抗體交聯而成之親和凝膠而製作。藉由在該管柱

中添加含有 RX 蛋白質之粗部分或局部精製部分，繼而以滅菌之磷酸緩衝生理食鹽水 (PBS) 除去非特異性吸附物後，添加溶出用緩衝液，可選擇性地回收 RX 蛋白質。含有 RX 蛋白質之溶液，可藉由凝膠過濾或 Centriprep 等濃縮裝置，進行緩衝液交換及/或濃縮。

【0049】從來自關節炎小鼠模型之細胞調製 RX 蛋白質之方法可用以下之例子例示。

【0050】若對小鼠等非人類動物投與佐劑、姥鯨烷 (pristane)、抗膠原抗體、二型膠原蛋白等，可人為地使關節炎發病。

【0051】使關節炎惡化後，以無菌方式採取後肢踝關節部之組織，並在培養皿中從組織片浸潤出細胞。藉由將所得到之細胞在培養基中培養 1 至 6 個月，可取得天然型 RX 產生細胞。以該細胞本身及細胞培養上清液之濃縮物將動物免疫，可取得單株抗體。用於免疫之動物種類，可列舉如：大鼠、小鼠等齧齒類。最終免疫後，從動物之脾臟採取細胞，使其與骨髓瘤細胞進行細胞融合而得到融合細胞 (融合瘤)。就抗體產生細胞而言，不限定於脾臟，亦可利用胸腺或淋巴節之細胞。就使用於細胞融合之骨髓瘤細胞而言，亦可使用 8-653 株、P3 株、NS-1 株等周知之細胞株。就細胞融合促進劑而言，可利用聚乙二醇 (PEG) 或仙台病毒 (HVJ) 等，並可視需要添加二甲基亞砷等補助劑。使用極限稀釋法，篩選產生與 RX 蛋白質特異性結合之抗體的融合瘤，可單一純系化。抗體產生細胞之選殖，除極限稀釋法外，亦可利用細胞螢

光儀 (cytofluorometer) 或 ClonePix (Genetix 公司) 等細胞分離裝置。此種方式所製作之融合瘤可在通常之培養基中培養，又，可使用細胞保存液 (例如，Cell Banker; Juji Field 股份有限公司) 等，在液體氮中長期保存。爲了從該融合瘤得到抗體，可應用：使用抗體產生用燒瓶 (例如，CL-1000 燒瓶; Becton Dickinson 公司) 調製培養上清液之方法、將融合瘤接種於與融合瘤有適合性之哺乳類動物中而得到腹水之方法等。可從以此種方法所得到之含抗體溶液精製抗 RX 單株抗體。藉由使用充填有所得到之抗 RX 單株抗體交聯而成之親和凝膠的管柱，可將含有 RX 蛋白質之部分所含的 RX 蛋白質選擇性地濃縮。又，藉由將其他分離・精製用之方法適當組合，可將 RX 蛋白質精製、分離。

(2-3-2) 重組型 RX 蛋白質之調製

【0052】本發明之 RX 蛋白質，亦可調製爲重組型。亦即，將編碼 RX 蛋白質或 RX 蛋白質斷片之胺基酸序列的基因導入宿主細胞中，可從該細胞之培養物回收 RX 蛋白質。例如，將 RX 基因或其斷片插入表現載體中，繼而將該重組載體導入原核或真核之宿主細胞中，並將所得到之重組細胞保溫，可在該細胞中使 RX 蛋白質表現。就表現形式而言，可使用分泌表現、細胞內可溶表現、包涵體 (inclusion body) 法等周知之形式。又，不僅可使胺基末端 (N 末端) 及 / 或羧基末端 (C 末端) 與天然型相同之分子表現，亦可以與分泌信號、細胞內定位信號、親和精製用標籤、配偶 (partner) 肽之融合蛋白質之形式

來表現。從該重組細胞培養物精製、分離 RX 蛋白質，可藉由將在(2-3-1)天然型 RX 蛋白質之精製、分離中所記載之分餾、層析等操作適當組合而進行。

【0053】RX 基因或其斷片可藉由本技術領域人士周知之方法調製。可列舉如：以表現 RX 基因之 cDNA 基因庫做為模板，並使用可將該序列特異地增幅之一組引子來進行的聚合酶連鎖反應(以下稱為「PCR」；Saiki, R.K., et al., Science (1988)239, p.487-489)；以表現 RX 基因之 mRNA 部分做為模板，並使用可將該序列逆轉錄之引子及可將該序列特異性增幅之一組引子來進行的逆轉錄 PCR(以下稱為「RT-PCR」)；利用免疫檢定的表現選殖、利用精製 RX 蛋白質之部分胺基酸序列的 cDNA 選殖等。

(2-3-3)體外轉譯

【0054】本發明之 RX 蛋白質亦可藉由體外轉譯而調製。就該轉譯法而言，只要利用包含轉錄及轉譯中所需要之酵素、基質及能量物質之無細胞轉譯系統的方法即可，無特別限定，然而可列舉如：利用 Roche Diagnostics 公司製之快速轉譯系統(RTS)的方法。

(2-3-4)化學合成

【0055】本發明之 RX 蛋白質亦可藉由化學合成而調製。就化學合成法而言，可列舉如：Fmoc 合成法、Boc 合成法等肽固相合成法。

3. 抗體

(3-1)抗體之種類

【0056】本發明之抗體，可為單株抗體及多株抗體之任一種。就本發明之單株抗體而言，可列舉來自非人類動物之抗體(非人類動物抗體)、來自人類之抗體(人類抗體)、嵌合抗體、人型化抗體等。

【0057】就非人類動物抗體而言，可列舉：來自哺乳類、鳥類等脊椎動物之抗體等。就來自哺乳類之抗體而言，可列舉小鼠抗體、大鼠抗體等來自齧齒類之抗體等。就來自鳥類之抗體而言，可列舉雞抗體等。

● 【0058】就嵌合抗體而言，可列舉：將來自非人類動物抗體之可變區域與人類抗體(人類免疫球蛋白)恆定區域結合所形成之抗體等，然而並不以此為限。就來自非人類動物抗體之可變區域而言，可例示後述之來自 MA b1、MA b2 及 / 或 MA b3 之重鏈及輕鏈可變區域。

● 【0059】就人型化抗體而言，可列舉：將非人類動物抗體之可變區域中的 CDR 移植至人類抗體(人類免疫球蛋白之可變區域)者、除了 CDR 之外亦將非人類動物抗體之框架區域(framework region)之序列之一部分移植至人類抗體者、將來自此等之任一者的非人類動物抗體之 1 個或 2 個以上胺基酸以人型之胺基酸置換而成者等，然而不以此等為限。就非人類動物抗體之可變區域中之 CDR 而言，可例示後述之來自 MA b1、MA b2 及 / 或 MA b3 之重鏈可變區域中的 CDRH1 至 3 及輕鏈可變區域中的 CDRL1 至 3。

【0060】就人類抗體而言，只要為識別本發明之抗原的抗體即可，無特別限定，然而可列舉如：具有本發明

之抗體之 CDR 的人類抗體。就本發明之人類抗體之 CDR 而言，可例示後述之來自 MAb1、MAb2 及/或 MAb3 之重鏈可變區域中的 CDRH1 至 3 及輕鏈可變區域中的 CDRL1 至 3。

【0061】本發明中之抗體，可係由來自複數個相異抗體的部分所構成的抗體，可列舉如：複數個相異抗體間將重鏈及/或輕鏈交換者、將重鏈及/或輕鏈之全長交換者、只將可變區域或只將恆定區域交換者、將 CDR 之全部或只將一部分交換者等。嵌合抗體之重鏈可變區域及輕鏈可變區域可來自相異之本發明抗體。人型化抗體之重鏈及輕鏈之可變區域中的 CDRH1 至 3 及 CDRL1 至 3，可來自 2 種或以上之本發明抗體。人類抗體之重鏈及輕鏈之可變區域中的 CDRH1 至 3 及 CDRL1 至 3，亦可為將 2 種或以上之本發明抗體所具有的 CDR 的組合。

【0062】本發明之單株抗體之同型(isotype)無特別限定，可列舉如：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 等 IgG；IgM；IgA1、IgA2 等 IgA；IgD；IgE 等，較佳可列舉 IgG 及 IgM。單株抗體之同型及亞類(subclass)，可藉由例如，奧脫洛尼氏(Ouchterlony)法、ELISA 法、放射免疫檢定(radio immunoassay)(以下稱為「RIA」)法等決定，亦可利用市售之鑑定用套組(Mouse Typer 套組：Bio-Rad 公司製等)。

(3-2)抗體之抗原結合活性

【0063】本發明之抗體識別 RX 蛋白質。換句話說，本發明之抗體係與 RX 蛋白質結合。該抗體表記為「抗 RX 抗體」。又，本發明之較佳抗體特異地識別 RX 蛋白

質。換句話說，本發明之較佳抗體係與 RX 蛋白質特異地結合。

【0064】本發明中「特異地識別」、亦即「特異地結合」，意指非以非特異地吸附之方式結合。就結合是否為特異之判定基準而言，可列舉如解離常數(dissociation constant；以下稱為「KD」)。本發明之較佳抗體對 RX 蛋白質之 KD 值為 1×10^{-5} 以下、 5×10^{-6} 以下、 2×10^{-6} 以下或 1×10^{-6} 以下，更佳為 5×10^{-7} 以下、 2×10^{-7} 以下或 1×10^{-7} 以下，又更佳為 5×10^{-8} 以下、 2×10^{-8} 以下或 1×10^{-8} 以下，又再更佳為 5×10^{-9} 以下、 2×10^{-9} 以下或 1×10^{-9} 以下，最佳為 5×10^{-10} 以下、 2×10^{-10} 以下或 1×10^{-10} 以下。

【0065】本發明中之抗原與抗體之結合，可藉由 ELISA 法、RIA 法、表面等離子共振(surface plasmon resonance)(以下稱為「SPR」)解析法等測定或判定。就使用於 SPR 解析之機器而言，可例示 BIAcore™(GEHealth Care 公司)、ProteOn™(BioRad 公司)、SPR-Navi™(BioNavis 公司)、Spreeta™(Texas Instruments 公司)、SPRi-PlexII™(Horiba 公司)、Autolab SPR™(Metrohm 公司)等。在細胞表面上表現之抗原與抗體之結合，可藉由流式細胞技術(flow cytometry)法等測定。

【0066】本發明之抗體所結合之 RX 蛋白質，如前述在關節中使關節炎發病及/或惡化。該關節炎之惡化亦包含具有骨破壞之關節破壞等。該關節炎之發病及/或惡化，可在，例如，膠原誘發性關節炎非人類動物模型，較佳該小鼠模型之關節中見到。

(3-3) 抗體之生物活性

【0067】本發明之抗體，在某些較佳形態中，具有關節炎抑制活性(抗關節炎活性)。

【0068】抗關節炎活性意指抑制關節炎之發病及/或惡化的活性。

【0069】抗關節炎活性，依照常用方法可藉由關節炎分數之改善程度來評價。例如，膠原誘發性關節炎小鼠被廣泛使用做為 RA 及關節炎之病態模型，各肢之關節炎程度，按照後述來計分而判定「未發病：0，第一關節出現紅斑及浮腫：1，擴及第二關節之紅斑及浮腫：2，全肢出現紅斑及浮腫：3，出現變形或僵直：4」，可將四肢之判定結果的總點數做為個體的關節炎分數，進行評價。

【0070】在本發明中，將與對照群相比，使該個體之關節炎分數(記載於前段落中)降低稱為「具有抗關節炎作用」；將與對照群相比，使該個體之關節炎分數降低 N% 以上，稱為「具有 N% 以上之抗關節炎作用」。例如，將使該分數降低 30% 以上稱為「具有 30% 以上之抗關節炎作用」，將使該分數降低 50% 以上稱為「具有 50% 以上之抗關節炎作用」。該關節炎分數，較佳為在膠原誘發性關節炎非人類動物模型，更佳為在該小鼠模型中所測定之分數，又更佳為依照實施例 6a 及 6b 中記載之方法所測定之關節炎分數。從該小鼠模型之致敏至測定為止的日數為 30 日以上，較佳為 40 日以上。在受檢化合物為抗體之情況，較佳之對照群係從做為陰性對照之正

常大鼠血清所精製之 IgG(以下稱爲「對照 IgG 抗體」) 投與群。

【0071】本發明之抗體，不僅具有抗關節炎活性，亦可具有抑制骨破壞之活性。就伴隨 RA 之骨破壞而言，一般有因血管翳(pannus)造成邊緣骨糜爛之形成或關節裂隙狹小化、軟骨下骨之骨囊瘤的形成、伴隨關節周圍之骨質疏鬆症性變化的骨萎縮、骨壞死及藉由此等之複合所產生的脆弱性或疾病性骨折等。骨破壞之改善度可用以下之方式測定。例如，於動物模型之情況，可在實驗終了後，以軟 X 光攝影四肢，對於跟骨、跗骨、蹠骨等每個部分，按照，例如，正常：0，輕度：1，中度：2，重度：3 來計分。在患者之情況，亦可在投藥治療之前後或治療中，同樣地以 X 光攝影四肢並計分。該骨破壞之抑制，可於例如膠原誘發性關節炎非人類動物模型(以該小鼠模型爲較佳)中進行評價。

【0072】再者，抗關節炎活性，可用關節炎生化標記(關節炎標記)、骨破壞標記等做爲指標進行測定或判定。

【0073】就關節炎標記而言，只要與關節炎之程度、進行度、治療所產生之治癒度等相關的指標即可，無特別限定，然而可列舉如：IL-1 β 、IL-6、IL-12 等炎症性細胞激素；MCP-1、巨噬細胞發炎蛋白-1 α (macrophage inflammatory protein 1 alpha；MIP-1 α)、正常 T 細胞表現分泌之調節活化因子(regulated on activation, normal T cell expressed and secreted)(RANTES)等趨化素、脂質介質(mediator)等、基質金屬蛋白酶-3(MMP-3)等酵素、

抗環瓜胺酸肽 (anti-cyclic citrullinated peptide)(anti-CCP)抗體等抗體等。

【0074】本發明之抗體可具有細胞激素產生之抑制活性，更佳為具有抑制炎症性細胞激素及/或趨化素之產生之活性。該細胞激素產生之抑制活性較佳出現於炎症患部，例如，可在膠原誘發性關節炎非人類動物模型，較佳在該小鼠模型之炎症患部進行評價。

【0075】本發明之抗 RX 抗體可具有抑制血液中骨破壞標記產生之活性(包含抑制「促進產生」的活性)。就該骨破壞標記而言，可列舉如：二型膠原端肽、一型膠原端肽、MMP9 等。雖可分別使用市售之 ELISA 套組測定，然而不以此等為限。本發明之由抗 RX 抗體所產生之關節破壞抑制活性，亦可利用微 CT(電腦斷層掃描)等影像技術，以影像解析直接測定。在動物模型之情況，雖可於實驗終了後或經時地對四肢進行微 CT 攝影，並按照關節破壞之嚴重度計分而進行評價，不過只要為可評價關節破壞之影像技術即可，不限於該方法。

【0076】本發明之抗體，可具有使 RX 蛋白質之量減少的活性，較佳為具有使自體免疫疾病或關節炎中之 RX 蛋白質量減少的活性。該 RX 蛋白質之量之減少，可在例如膠原誘發性關節炎非人類動物模型(以該小鼠模型為較佳)中進行評價。

【0077】本發明之抗 RX 抗體可具有抗體依存性細胞毒性(ADCC)及/或補體依存性毒性(CDC)及/或抗體依存性細胞媒介吞噬作用(ADCP)活性。ADCC 活性、CDC 活性及 ADCP 活性可藉由周知之方法測定。

● **【0078】** 在 ADCC 活性之測定方面，可使用表現目標抗原的細胞(標的細胞)及殺傷該標的細胞之作用細胞(effector cell)。作用細胞經由 $Fc\gamma$ 受體，識別與標的細胞結合之抗體之 Fc 區域。藉由從 $Fc\gamma$ 受體傳達之信號，作用細胞將標的細胞殺傷。在測定來自人類之具有 Fc 區域之抗體之 ADCC 活性的情況，可使用人類 NK 細胞做為作用細胞。人類 NK 細胞可藉由周知之方法從人類末梢血液單核球(PMBC)調製。或者亦可將 PMBC 原樣做為作用細胞使用。

【0079】 在 ADCP 活性之測定方面，可使用表現目標抗原的細胞(標的細胞)，及吞食該標的細胞的單核球或巨噬細胞等作用細胞。此等作用細胞，可藉由周知之方法從人類末梢血液單核球(PMBC)分離出單核球部分，並藉由周知之方法使其誘導分化成巨噬細胞而調製。

(3-4)使用於抗體檢定之細胞

● **【0080】** 本發明之抗 RX 抗體亦可應用於評價系統，其中該評價系統採用能藉由 RX 蛋白質誘發任何回應之細胞株或初代培養細胞。就此種細胞株而言，可例示來自人類滑膜之細胞株(SW982 細胞、ATCC No.HTB-93)或小鼠巨噬細胞型細胞株(RAW 264.7 ATCC NO. TTB-71)等，就初代培養細胞而言，可例示小鼠骨髓細胞等。就藉由 RX 蛋白質所誘發之細胞活化指標而言，可列舉如：鈣流入(Ca influx)、來自細胞之細胞激素產生等。抗 RX 抗體對抗此等細胞活化之效果可藉由前述之評價系統評價。關於細胞內鈣，可使用例如 FLUO-4 kit NW 鈣檢定

套組 (Cat. # F36206, Invitrogen 公司) 等來測定。細胞激素等可使用市售之套組來測定。但是，只要為能夠測定 RX 蛋白質所誘發之細胞反應及其之抑制的系統即可，不以此等為限。

(3-5) 單株抗體

【0081】抗體 1 (MAb1) 係依照實施例 2 之 a) 記載之方法，將 ADSF 細胞及其培養上清濃縮液混合，投與至 WKY/NCrj 大鼠之腹腔內及足蹟皮內而得到之單株抗體。

【0082】MAb1 之重鏈的鹼基序列記載於序列表之序列編號 18 (第 15 圖) 中，胺基酸序列記載於序列編號 19 (第 16 圖) 中。MAb1 之輕鏈的鹼基序列記載於序列表之序列編號 20 (第 17 圖) 中，胺基酸序列記載於序列編號 21 (第 18 圖) 中。重鏈可變區域的鹼基序列相當於序列表之序列編號 18 (第 15 圖) 之核苷酸編號 58 至 414，胺基酸序列相當於序列編號 19 (第 16 圖) 之胺基酸編號 20 至 138。重鏈恆定區域的鹼基序列相當於序列表之序列編號 18 (第 15 圖) 的核苷酸編號 415 至 1383，胺基酸序列相當於序列編號 19 (第 16 圖) 的胺基酸編號 139 至 460。輕鏈可變區域的鹼基序列相當於序列表之序列編號 20 (第 17 圖) 的核苷酸編號 61 至 387，胺基酸序列相當於序列編號 21 (第 18 圖) 的胺基酸編號 21 至 129。輕鏈恆定區域的鹼基序列相當於序列表之序列編號 20 (第 17 圖) 的核苷酸編號 388 至 705，胺基酸序列相當於序列編號 21 (第 18 圖) 的胺基酸編號 130 至 234。CDRH1 之胺基酸序列記載於序列編號 22 (第 23 圖) 中，CDRH2 之胺基酸序列記載於

序列編號 23(第 23 圖)中，CDRH3 之胺基酸序列記載於序列編號 24(第 23 圖)中。CDRL1 之胺基酸序列記載於序列編號 25(第 23 圖)中，CDRL2 之胺基酸序列記載於序列編號 26(第 23 圖)中，CDRL3 之胺基酸序列記載於序列編號 27(第 23 圖)中。

【0083】抗體 2(MAb2)係依照實施例 2 之 c)記載之方法，將從 ADSF 細胞之培養上清液所精製之 RX 蛋白質投與至 BALB/c 小鼠之腹腔內而得到之單株抗體。

● 【0084】MAb2 之重鏈可變區域的鹼基序列記載於序列表之序列編號 32(第 19 圖)中，胺基酸序列記載於序列編號 33(第 20 圖)中。Mab2 之輕鏈可變區域的鹼基序列記載於序列表之序列編號 34(第 21 圖)中，胺基酸序列記載於序列編號 35(第 22 圖)中。CDRH1 之胺基酸序列記載於序列編號 36(第 23 圖)中，CDRH2 之胺基酸序列記載於序列編號 37(第 23 圖)中，CDRH3 之胺基酸序列記載於序列編號 38(第 23 圖)中。CDRL1 之胺基酸序列記載於序列編號 39(第 23 圖)中，CDRL2 之胺基酸序列記載於序列編號 40(第 23 圖)中，CDRL3 之胺基酸序列記載於序列編號 41(第 23 圖)中。

● 【0085】抗體 3(MAb3)係依照實施例 2 之 c)記載之方法，將從 ADSF 細胞之培養上清液所精製之 RX 蛋白質投與至對 BALB/c 小鼠之腹腔內而得到之單株抗體。

【0086】MAb3 之重鏈可變區域的鹼基序列記載於序列表之序列編號 62(第 30 圖)中，胺基酸序列記載於序列編號 63(第 31 圖)中。MAb3 之輕鏈可變區域的鹼基序列

記載於序列表之序列編號 64(第 32 圖)中，胺基酸序列記載於序列編號 65(第 33 圖)中。CDRH1 之胺基酸序列記載於序列編號 66(第 23 圖)中，CDRH2 之胺基酸序列記載於序列編號 67(第 23 圖)中，CDRH3 之胺基酸序列記載於序列編號 68(第 23 圖)中。CDRL1 之胺基酸序列記載於序列編號 69(第 23 圖)中，CDRL2 之胺基酸序列記載於序列編號 70(第 23 圖)中，CDRL3 之胺基酸序列記載於序列編號 71(第 23 圖)中。

【0087】抗體 4(MAb4)係依照實施例 13 中記載之方法，將 ADSF 細胞投與至 BALB/c 小鼠之腹腔而得到之單株抗體。

【0088】MAb4 之重鏈可變區域的鹼基序列記載於序列表之序列編號 108(第 75 圖)中，胺基酸序列記載於序列編號 109(第 76 圖)中。MAb4 之輕鏈可變區域的鹼基序列記載於序列表之序列編號 110(第 77 圖)中，胺基酸序列記載於序列編號 111(第 78 圖)中。CDRH1 之胺基酸序列記載於序列編號 112(第 79 圖)中，CDRH2 之胺基酸序列記載於序列編號 113(第 79 圖)中，CDRH3 之胺基酸序列記載於序列編號 114(第 79 圖)中。CDRL1 之胺基酸序列記載於序列編號 115(第 79 圖)中，CDRL2 之胺基酸序列記載於序列編號 116(第 79 圖)中，CDRL3 之胺基酸序列記載於序列編號 117(第 79 圖)中。

【0089】本發明之抗體變異體，較佳可降低對蛋白質之分解或氧化之敏感度、改善生物活性、改善抗原結合能力、或賦予物理化學性質或功能性質等。就此種抗體

變異體之例子而言，可列舉：在抗體所具有之胺基酸序列中，具有經保存性胺基酸置換之胺基酸序列的抗體。保存性胺基酸置換意指某胺基酸群組內所發生之與胺基酸側鏈有關之置換。

● **【0090】**較佳之胺基酸群組係如以下所示：酸性群組=天冬胺酸、麩胺酸；鹼性群組=離胺酸、精胺酸、組胺酸；非極性群組=丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯基丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸；及不帶電之極性族群=甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、半胱胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸。其他較佳胺基酸群組係如以下所示：脂肪族羥基群組=絲胺酸及蘇胺酸；含有醯胺之群組=天冬醯胺酸及麩醯胺酸；脂肪族群組=丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸；及芳香族群組=苯基丙胺酸、色胺酸及酪胺酸。該抗體變異體中之胺基酸置換，以在不使原本抗體所具有之抗原結合活性降低之範圍內進行為較佳。

● **【0091】**在本發明之 MAb1、MAb2、MAb3 或 MAb4 所具有之胺基酸序列中具有經保守性胺基酸置換之胺基酸序列的抗體變異體，以及來自 MAb1、MAb2、MAb3 及/或 MAb4 之 CDRH1 至 3 及 CDRL1 至 3 之任一者之胺基酸序列中包含具有經保守性胺基酸變異之胺基酸序列之該 CDR 的小鼠抗體、大鼠抗體、嵌合抗體、人型化抗體、人類抗體等亦包含於本發明中。

【0092】就本發明之抗體之恆定區域而言，雖無特別限定，然而就治療或預防人類疾病所用之本發明之抗體

而言，較佳為使用人類抗體者。就人類抗體之重鏈恆定區域而言，可列舉如：C γ 1、C γ 2、C γ 3、C γ 4、C μ 、C δ 、C α 1、C α 2、C ϵ 等。就人類抗體之輕鏈恆定區域而言，可列舉如 C κ 、C λ 等。

【0093】人類疾病之治療或預防中所使用之本發明之單株抗體，較佳為具有人類抗體之恆定區域的嵌合抗體、人型化抗體及人類抗體，更佳為人型化抗體及人類抗體。

(3-6)使用抗體之 RX 蛋白質之檢測

【0094】本發明之抗體可識別人類之自體免疫疾病中存在之 RX 蛋白質。本發明之抗體亦包含可識別例如在 RA 患者之關節組織中所表現之 RX 蛋白質的抗體。將來自 RA 患者之 RX 蛋白質之部分胺基酸序列之例子示於第 12 圖之 1 至 4 號(序列表之序列編號 56 至 59)中，然而不以此等為限。

(3-7)抗體之功能性斷片

【0095】本發明之一形態係提供本發明之抗 RX 抗體之功能性斷片。抗體之功能性斷片意指保持本發明之抗體所具有之功能之至少一部分的該抗體之斷片。就該抗體之功能而言，一般可列舉：抗原結合活性、調節抗原活性之活性、抗體依存性細胞毒性及補體依存性細胞毒性等。就本發明之抗 RX 抗體之功能而言，可列舉如：RX 蛋白質結合活性；抗關節炎活性、亦即抑制 RX 蛋白質在關節中所造成之關節炎發病作用及/或關節炎惡化作用之活性；抑制骨破壞之活性等。

【0096】就抗體之功能性斷片而言，只要為保持該抗體所具有之活性之至少一部分的該抗體之斷片即可，無特別限定，可列舉如：Fab、F(ab')₂、Fv、重鏈及輕鏈之Fv以適當連接子(linker)連結而成之單鏈Fv(scFv)、雙體抗體(diabodies)、線狀抗體、及由抗體斷片所形成之多特異性抗體、在還原條件下處理F(ab')₂而得之抗體之可變區域之一價斷片即Fab'等，然而不以此等為限。

● 【0097】將抗體蛋白質之胺基末端及/或羧基末端之胺基酸 1 至數個或其以上刪除且保持該抗體所具有之功能之至少一部分的分子，亦包含於抗體之功能性斷片的意義中。例如，已知將於哺乳類培養細胞中所生產之抗體之重鏈之羧基末端的離胺酸殘基刪除(Journal of Chromatography A, 705; 129-134(1995))者，又，已知同樣地將重鏈羧基末端二個胺基酸殘基即甘胺酸、離胺酸刪除，並將位於新羧基末端的脯胺酸殘基醯胺化(Analytical Biochemistry, 360; 75-83(2007))。然而，此● 等重鏈序列之刪除及修飾不影響抗體之抗原結合能力及作用(effector)功能(補體之活化或抗體依存性細胞毒害作用等)。此種抗體之功能性斷片的修飾體亦包含於本發明之抗體或其功能性斷片、或其修飾體(後述)中。

【0098】本發明之抗體或其功能性斷片可為至少對 2 種相異抗原具有特異性的多特異性抗體。多特異性抗體不限於與 2 種相異抗原結合之二重特異性抗體(bispecific antibody)，對 3 種以上相異抗原具有特異性之抗體亦包含於本發明之「多特異性抗體」的意義中。

【0099】本發明之多特異性抗體可為全長抗體或其功能性斷片(例如， $F(ab')_2$ 二重特異性抗體)。二重特異性抗體亦可使 2 種抗體之重鏈與輕鏈(HL 對)結合而製作。又，亦可使 2 種以上之產生單株抗體的融合瘤融合，製作二重特異性抗體產生融合細胞而得到(Millstein et al., Nature(1983)305, p.537-539)。多特異性抗體亦可藉由同樣之方法調製。

【0100】本發明之抗體之一形態為單股抗體(以下稱為「scFv」)。scFv 可藉由將抗體之重鏈 V 區域與輕鏈 V 區域以多肽之連接子連結而得到(Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 113(Rosenburg 及 Moore 編, Springer Verlag, New York, p.269-315(1994), Nature Biotechnology(2005), 23, p.1126-1136)。又，亦可使用將 2 個 scFv 以多肽連接子結合而製作之 BiscFv 做為二重特異性抗體。再者，亦可使用來自 3 個以上 scFv 之 MultiscFv, 做為多特異性抗體。

【0101】本發明中，包含將抗體之重鏈及輕鏈之全長序列使用適當連接子連結而成之單股免疫球蛋白(single chain immunoglobulin)(Lee, H-S, et.al., Molecular Immunology(1999)36, p.61-71; Shirmann, T. et. al., mAbs(2010), 2, (1)p.1-4)。此種單股免疫球蛋白藉由二聚體化，可保持與原本為四聚體之抗體類似的構造及活性。又，本發明之抗體亦可為具有單一之重鏈可變區域，而不具有輕鏈序列的抗體。此種抗體被稱為單域抗體

(single domain antibody ; sdAb)或奈米抗體(nanobody) , 據報導其可保持抗原結合能力(Muyldemans S. et. al. , Protein Eng. , (1994)7(9) , 1129-35 , Hamers-Casterman C. et. al. , Nature (1993)363 (6428)446-8) 。此等抗體亦包含於本發明之抗體之功能性斷片的意義中。

(3-8)人型化抗體

【0102】本發明之抗體提供人型化抗體。就本發明之人型化抗體而言，可列舉：只將非人類動物抗體之 CDR 組入來自人類之抗體的抗體(參照 Nature(1986)321 , p.522-525)；藉由 CDR 移植法，除 CDR 之序列外，亦將一部分框架之胺基酸殘基移植入人類抗體而成的抗體(參照 WO90/07861 號、US6972323 號公報)；此等之任一者中非人類動物抗體之 1 個或 2 個以上之胺基酸以人型之胺基酸置換所形成之抗體等，然而不以此等為限。

【0103】就抗 RX 人型化抗體或其功能性斷片而言，可列舉如：由重鏈及輕鏈構成且可識別本發明之 RX 蛋白質之抗體或保持該抗體之 RX 蛋白質結合活性之該抗體的斷片等，其中該重鏈包含：由序列表之序列編號 22 所示之胺基酸序列所構成的 CDRH1、由序列表之序列編號 23 所示之胺基酸序列構成的 CDRH2 及由序列表之序列編號 24 所示之胺基酸序列構成的 CDRH3，及該輕鏈包含：由序列表之序列編號 25 所示之胺基酸序列構成的 CDRL1、由序列表之序列編號 26 所示之胺基酸序列構成的 CDRL2 及由序列表之序列編號 27 所示之胺基酸序列構成的 CDRL3。

【0104】就該人型化抗體而言，可列舉例如：由下述重鏈及輕鏈所構成之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域包含序列表之序列編號 72 至 81(第 40 至 49 圖)之任一者記載之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域為包含序列表之序列編號 82 至 86(第 50 至 54 圖)之任一者記載之肽；以及由下述重鏈及輕鏈所構成之抗體或其功能性斷片等，其中重鏈可變區域為序列表之序列編號 72 至 81(第 40 至 49 圖)之任一者記載之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域為序列表之序列編號 82 至 86(第 50 至 54 圖)之任一者記載之胺基酸序列所示之肽。

【0105】在本發明中，將可變區域為序列表之序列編號 72 至 81(第 40 至 49 圖)之任一者記載之胺基酸序列所示之肽且恆定區域為來自人類 IgG1 之重鏈者分別稱為 H1 至 H10。又，在本發明中，將可變區域為序列表之序列編號 82 至 86(第 50 至 54 圖)之任一者記載之胺基酸序列所示之肽且恆定區域為來自人類 IgG1 之輕鏈者分別稱為 L1 至 L5。再者，在本發明中，將重鏈為 H1 且輕鏈為 L1 之抗體稱為 T1，將重鏈為 H1 且輕鏈為 L2 之抗體稱為 T2，將重鏈為 H1 且輕鏈為 L3 之抗體稱為 T3，將重鏈為 H2 且輕鏈為 L1 之抗體稱為 T4，將重鏈為 H2 且輕鏈為 L2 之抗體稱為 T5，將重鏈為 H2 且輕鏈為 L3 之抗體稱為 T6，將重鏈為 H2 且輕鏈為 L5 之抗體稱為 T7，將重鏈為 H3 且輕鏈為 L1 之抗體稱為 T8，將重鏈為 H3 且輕鏈為 L2 之抗體稱為 T9，將重鏈為 H3 且輕鏈為 L3 之抗體稱為 T10，將重鏈為 H3 且輕鏈為 L5 之抗體稱為

T11，將重鏈為 H4 且輕鏈為 L4 之抗體稱為 T12，將重鏈為 H5 且輕鏈為 L1 之抗體稱為 T13，將重鏈為 H5 且輕鏈為 L2 之抗體稱為 T14，將重鏈為 H5 且輕鏈為 L5 之抗體稱為 T15，將重鏈為 H6 且輕鏈為 L2 之抗體稱為 T16，將重鏈為 H6 且輕鏈為 L5 之抗體稱為 T17，將重鏈為 H7 且輕鏈為 L2 之抗體稱為 T18，將重鏈為 H8 且輕鏈為 L1 之抗體稱為 T19，將重鏈為 H9 且輕鏈為 L1 之抗體稱為 T20，將重鏈為 H10 且輕鏈為 L1 之抗體稱為 T21。

【0106】T1 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 72(第 40 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，以及該輕鏈具有由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T1 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0107】T2 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 72(第 40 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T2 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0108】T3 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 72(第 40 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 84(第 52 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T3 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0109】T4 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 73(第 41 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T4 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0110】T5 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 73(第 41 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T5 具有對 RX 蛋白質之高結合活性、活體內抗關節炎作用、及趨化素產生之抑制作用。

【0111】T6 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 73(第 41 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 84(第 52 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T6 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0112】T7 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 73(第 41 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 86(第 54 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T7 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0113】 T8 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 74(第 42 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T8 具有對 RX 蛋白質之高結合活性、活體內抗關節炎作用、及炎症性細胞激素及趨化素產生之抑制作用。

● 【0114】 T9 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中，該重鏈具有由序列表之序列編號 74(第 42 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T9 具有對 RX 蛋白質之高結合活性、及活體內抗關節炎作用。

● 【0115】 T10 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 74(第 42 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 84(第 52 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T10 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0116】 T11 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 74(第 42 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 86(第 54 圖)所示

之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T11 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0117】 T12 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 75(第 43 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 85(第 53 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該 T12 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0118】 T13 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 76(第 44 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T13 具有對 RX 蛋白質之高結合活性、活體內抗關節炎作用、及炎症性細胞激素及趨化素產生之抑制作用。

【0119】 T14 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 76(第 44 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T14 具有對 RX 蛋白質之高結合活性、活體內抗關節炎作用、及炎症性細胞激素及趨化素產生之抑制作用。

【0120】 T15 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 76(第 44 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 86(第 54 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定；該 T15 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0121】 T16 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 77(第 45 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T16 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0122】 T17 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 77(第 45 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 86(第 54 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T17 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0123】 T18 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 78(第 46 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T18 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0124】 T19 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 79(第 47 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T19 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0125】 T20 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 80(第 48 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T20 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0126】 T21 係由重鏈及輕鏈所構成之人型化抗體，其中該重鏈具有由序列表之序列編號 81(第 49 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，及該輕鏈具有由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；該 T21 具有對 RX 蛋白質之高結合活性。

【0127】 本發明之抗 RX 人型化抗體，較佳為 T1 至 T21，更佳為 T8 至 T15 及 T18，又更佳為 T8 至 T11、T13 至 T15 及 T18，又再更佳為 T13 至 15。

【0128】 關於 T5、T8、T9、T13 及 T14，未觀察到因投與至膠原誘發性關節炎小鼠模型而出現體重變化、自律神經異常(立毛)、異常姿勢、異常步行、自主運動減少、呼吸異常、排尿過敏、流涎、流淚、眼球突出、四

肢或全身性運動失調等，呈現與無處理之正常小鼠同樣之臨床所見。

【0129】就其他抗 RX 人型化抗體或其功能性斷片而言，可列舉如：由重鏈及輕鏈構成且可識別本發明之 RX 蛋白質之抗體或保持該抗體之 RX 蛋白質結合活性之該抗體斷片，其中該重鏈包含：由序列表之序列編號 36 所示之胺基酸序列構成的 CDRH1、由序列表之序列編號 37 所示之胺基酸序列構成的 CDRH2 及由序列表之序列編號 38 所示之胺基酸序列構成的 CDRH3，該輕鏈包含：由序列表之序列編號 39 所示之胺基酸序列構成的 CDRL1、由序列表之序列編號 40 所示之胺基酸序列構成的 CDRL2 及由序列表之序列編號 41 所示之胺基酸序列構成的 CDRL3。

【0130】再者，就其他抗 RX 人型化抗體或其功能性斷片而言，可列舉如：由重鏈及輕鏈構成且可識別本發明之 RX 蛋白質之抗體或保持該抗體之 RX 蛋白質結合活性之該抗體斷片，其中該重鏈包含：由序列表之序列編號 66 所示之胺基酸序列構成的 CDRH1、由序列表之序列編號 67 所示之胺基酸序列構成的 CDRH2 及由序列表之序列編號 68 所示之胺基酸序列構成的 CDRH3，該輕鏈包含：由序列表之序列編號 69 所示之胺基酸序列構成的 CDRL1、由序列表之序列編號 70 所示之胺基酸序列構成的 CDRL2 及由序列表之序列編號 71 所示之胺基酸序列構成的 CDRL3。

【0131】又，就其他抗 RX 人型化抗體或其功能性斷片而言，可列舉如：由重鏈及輕鏈構成且可識別本發明之 RX 蛋白質之抗體或保持該抗體之 RX 蛋白質結合活性之該抗體斷片，其中該重鏈包含：由序列表之序列編號 111 所示之胺基酸序列構成的 CDRH1、由序列表之序列編號 112 所示之胺基酸序列構成的 CDRH2 及由序列表之序列編號 113 所示之胺基酸序列構成的 CDRH3，該輕鏈包含：由序列表之序列編號 114 所示之胺基酸序列構成的 CDRL1、由序列表之序列編號 115 所示之胺基酸序列構成的 CDRL2 及由序列表之序列編號 116 所示之胺基酸序列構成的 CDRL3。

【0132】包含下述重鏈或輕鏈且可與 RX 蛋白質結合的抗體或其功能性斷片亦包含於本發明中，其中該重鏈或輕鏈包含與本發明之 MAbl 至 MAb4、此等之嵌合抗體、及此等之人型化抗體(包含 T1 至 T21)之任一種抗體之重鏈或輕鏈之胺基酸序列有 80% 以上、82% 以上、84% 以上、86% 以上、88% 以上、90% 以上、92% 以上、94% 以上、96% 以上、98% 以上或 99% 以上相同性之胺基酸序列。該序列相同性，較佳為 95% 以上，更佳為 96% 以上，又更佳為 97% 以上，又再更佳為 98% 以上，最佳為 99% 以上。又，此等抗體較佳具有一種或以上之(3-3)記載之活性。

【0133】二種胺基酸序列間之相同性或同源性，可藉由使用 Blast algorithm version 2.2.2(Altschul, Stephen F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang,

Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman(1997), 「Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs」, *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402)之內定參數(default parameter)來決定。Blast algorithm 亦可藉由例如登入網際網路 <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>而使用。

● 【0134】包含下述重鏈或輕鏈且可與 RX 蛋白質結合的抗體或其功能性斷片亦包含於本發明中，其中該重鏈或輕鏈包含在本發明之 MAbl 至 MAbl4、此等之嵌合抗體、及此等之人型化抗體(包含 T1 至 T21)之任一種抗體之重鏈或輕鏈之胺基酸序列中，將 1 至 50 個、1 至 45 個、1 至 40 個、1 至 35 個、1 至 30 個、1 至 25 個、1 至 20 個、1 至 15 個、1 至 10 個、1 至 8 個、1 至 6 個、1 至 5 個、1 至 4 個、1 至 3 個、1 或 2 個、或 1 個胺基酸置換、刪除、附加或插入而形成之胺基酸序列。該胺基酸變異係以置換為較佳，所變異之胺基酸的個數較佳為 1 至 5 個，更佳為 1 至 4 個，又更佳為 1 至 3 個，又再更佳為 1 至 2 個，最佳為 1 個。又，此等抗體較佳具有一種或以上之(3-3)記載之活性。

● 【0135】包含下述重鏈或輕鏈且可與 RX 蛋白質結合的抗體或其功能性斷片亦包含於本發明中，其中該重鏈或輕鏈包含由與具有互補性鹼基序列的核苷酸在嚴苛條件下可雜交之核苷酸所具有之鹼基序列編碼的胺基酸序列，該互補性鹼基序列係與編碼本發明之 MAbl 至 MAbl4、此等之嵌合抗體、及此等之人型化抗體(包含 T1

至 T21)之任一種抗體之重鏈或輕鏈之胺基酸序列的鹼基序列互補。此等抗體較佳具有一種或以上之(3-3)記載之活性。

【0136】本發明之抗 RX 人型化抗體或其功能性斷片具有抗關節炎活性，較佳具有 30% 以上之抗關節炎活性，更佳具有 50% 以上之抗關節炎活性。

【0137】又，本發明之抗 RX 人型化抗體或其功能性斷片在安定性方面優良，例如，熱安定性高，並具有中性至弱鹼性之等電點。

【0138】本發明之人型化抗體對 RX 蛋白質之 KD 值為 1×10^{-7} 以下，較佳為 1×10^{-8} 以下，更佳為 5×10^{-9} 以下，又更佳為 2×10^{-9} 以下，又再更佳為 1×10^{-9} 以下，最佳為 5×10^{-10} 以下。

(3-9)與相同部位結合之抗體

【0139】與本發明所提供之抗體「於相同部位結合的抗體」亦包含於本發明之抗體中。與某種抗體「於相同部位結合的抗體」意指於該抗體識別之抗原分子上之部位所結合的其他抗體。在第一抗體所結合之抗原分子上的部分肽或部分立體構造上若有第二抗體結合，則可判定第一抗體與第二抗體於相同部位結合。又，藉由確認第二抗體會與第一抗體競爭對抗原之結合，亦即第二抗體會妨礙第一抗體與抗原之結合，即使未決定具體結合部位的肽序列或立體構造，仍可判定第一抗體與第二抗體於相同部位結合。再者，在第一抗體與第二抗體於相同部位結合且第一抗體具有抗關節炎活性等在本發明抗

體之一形態上具特徵性效果的情況，第二抗體亦具有同樣活性之概率極高。因此，在第一抗 RX 抗體所結合之部位上若有第二抗 RX 抗體結合，則可判定第一抗體與第二抗體，於 RX 蛋白質上之相同部位結合。又，若能確認第二抗 RX 抗體與第一抗 RX 抗體競爭對 RX 蛋白質之結合，則可判定第一抗體與第二抗體為於 RX 蛋白質上之相同部位結合的抗體。

【0140】在本發明之 MAb1、MAb2、MAb3 或 MAb4、或此等之嵌合化抗體、人型化抗體、其功能性斷片、或此等之修飾體所識別之 RX 蛋白質上之部位結合的抗體、其功能性斷片、其修飾體亦包含於本發明中。

【0141】MAb2、其嵌合化抗體及人型化抗體可識別從 gp73ED 之胺基酸序列(第 25 圖：序列編號 15)之胺基末端數起第 10 至 16 號之胺基酸，即 PPILHPV。該部分之胺基酸序列亦出現於 gp52SU 之胺基酸序列上。

【0142】MAb3、其嵌合化抗體及人型化抗體可識別從 gp73ED 之胺基酸序列(第 25 圖：序列編號 15)之胺基末端數起第 336 至 340 號之胺基酸，即 EPWFD。該部分之胺基酸序列亦出現於 gp73ED 之胺基酸序列上。

【0143】MAb4、其嵌合化抗體及人型化抗體可識別 gp28ED。

【0144】會與 MAb1 至 MAb4 之任一種抗體競爭對抗原之結合的抗體亦包含於本發明之抗體中，該抗體較佳為具有 1 種或以上之前述(3-3)記載之活性。

【0145】抗體之結合部位可藉由免疫檢定法等本技術領域人士所周知之方法決定。例如，藉由將抗原之胺基酸序列從 C 末端或 N 末端適宜剪切而製作成一連串抗原斷片肽，檢討抗體對此等抗原斷片肽之反應性，決定粗略識別部位後，合成更短之斷片肽，並檢討抗體對此等肽之反應性，可決定結合部位。該抗原斷片肽，可使用基因重組、蛋白酶分解、肽合成等技術來調製。

【0146】在抗體結合於或識別抗原之部分高階構造的情況，該抗體之結合部位可藉由使用 X 光構造解析、部位特異性變異導入實驗、重氫交換 NMR 法、重氫交換質量分析法等特定鄰接於該抗體之抗原上的胺基酸殘基而決定。

【0147】MAb1、其嵌合化抗體及人型化抗體(包含 T1 至 T21)可識別 gp52SU 之部分立體構造。該部分立體構造亦出現於 gp73ED 中。推測從 gp73ED 之胺基酸序列(第 25 圖：序列編號 15)的胺基末端數起第 139 及 140 號胺基酸，即離胺酸-天冬胺酸，對於該識別頗為重要。

(3-10)抗體或其功能性斷片之修飾體

【0148】本發明之一形態係提供抗體或其功能性斷片之修飾體。本發明之抗體或其功能性斷片之修飾體意指對本發明之抗體或其功能性斷片施以化學性或生物學性修飾而形成者。化學性修飾體，包含對胺基酸骨架之化學部分的鍵結、N-鍵結或 O-鍵結碳水化合物鏈的化學修飾體等。化學上之修飾體可包含有毒性或細胞毒性之部分。生物學性修飾體，包含轉譯後修飾(例如，對 N-鍵結

或 O-鍵結附加糖鏈、N 末端或 C 末端之加工)者、藉由使用原核生物宿主細胞使其表現，在 N 末端附加甲硫胺酸殘基者等。又，爲了使本發明之抗體或抗原可檢出或分離而加以標識者，例如酵素標識體、螢光標識體、親和標識體，亦包含於該修飾體之意義中。本發明抗體或其功能性斷片之此等修飾體，在原本之本發明抗體或其功能性斷片之安定性及血中滯留性的改善、抗原性的降低、該抗體或抗原的檢出或分離等方面有用。

● **【0149】**就化學性修飾體所包含之化學部分而言，可例示聚乙二醇、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、葡萄聚糖、聚乙烯醇等水溶性聚合物。

【0150】就生物學性修飾體而言，可列舉：藉由酵素處理或細胞處理等而施行修飾者、藉由基因重組附加標籤等其他肽而成之融合體、及以表現內因性或外來性之糖鏈修飾酵素的細胞做爲宿主而調製者等。

● **【0151】**藉由調節與本發明之抗體或其功能性斷片所結合之糖鏈修飾(糖苷化、脫岩藻糖化等)，可增強抗體依存性細胞毒性。就抗體之糖鏈修飾的調節技術而言，已知有例如在 WO99/54342、WO00/61739、WO02/31140 等中所記載之方法，然而不以此等爲限。在本發明抗體之修飾體中亦包含該糖鏈修飾經調節之抗體。

【0152】該修飾可在抗體或其功能性斷片中之任何位置，或期望之位置實施，亦可於 1 個或 2 個以上之位置實施相同之修飾或 2 種以上之相異修飾。

【0153】本發明之抗體或其功能性斷片之修飾體，在安定性方面優良，例如，熱安定性高、具有中性至弱鹼性之等電點。

【0154】在本發明中，「抗體斷片之修飾體」於其意義中亦包含「抗體之修飾體之斷片」。

【0155】在本發明中，有時將抗體之修飾體、其功能性斷片之修飾體分別簡稱為「抗體」、「抗體之功能性斷片」。例如，MAb1 至 MAb4、嵌合化 MAb1 至 MAb4、及人型化 MAb1 至 MAb4(包含 T1 至 T21)之任一種「抗體」亦包含其重鏈或輕鏈之羧基末端之胺基酸 1 至數個經刪除者、羧基末端之胺基酸經修飾者等。

4. 抗體之製造方法

(4-1) 使用融合瘤之方法

【0156】本發明之抗 RX 抗體，可依照克拉氏與米爾斯坦氏之方法(Kohler and Milstein, Nature (1975)256, p.495-497、Kennet, R. ed., Monoclonal Antibody, p.365-367, Prenum Press, N.Y. (1980))，藉由從以 RX 蛋白質免疫之動物的脾臟分離出產生抗 RX 抗體之細胞，並使該細胞與骨髓瘤細胞融合而建立融合瘤，並從該融合瘤之培養物取得單株抗體。

(4-1-1) 抗原之調製

【0157】製作抗 RX 抗體所用之抗原，可藉由本發明之其他部分所記載之天然型或重組型之 RX 蛋白質的調製法等而取得。就能以此種方式調製之抗原而言，可列舉 RX 蛋白質或包含其至少 6 個連續之部分胺基酸序列

的 RX 蛋白質斷片、或在此等附加任何胺基酸序列或載體(carrier)而得之衍生物等(以下，總稱為「RX 抗原」)。

【0158】重組型 RX 抗原，可藉由將包含編碼 RX 抗原所具有之胺基酸序列之鹼基序列的基因導入宿主細胞中，從該細胞之培養物回收該抗原而調製。天然型 RX 抗原，可從例如人類或齧齒類之關節炎組織或來自該組織之細胞、或該細胞之培養物中精製、分離。又，藉由體外(in vitro)轉譯系統將包含編碼 RX 抗原之胺基酸序列之鹼基序列的基因轉譯而於無細胞系統中得到之 RX 抗原，亦包含於本發明之「RX 抗原」中。

(4-1-2)抗 RX 單株抗體之製造

【0159】單株抗體之製造，通常經過如下述之步驟。

(a)調製抗原之步驟，

(b)調製抗體產生細胞之步驟，

(c)調製骨髓腫瘤細胞(以下稱為「骨髓瘤細胞」)之步驟，

(d)使抗體產生細胞與骨髓瘤融合之步驟，

(e)篩選產生目標抗體之融合瘤群的步驟，及

(f)得到單一細胞純系之步驟(選殖)。

【0160】視需要進一步增加：(g)融合瘤之培養步驟、移植有融合瘤之動物的飼育步驟等，(h)單株抗體之生物活性的測定步驟、判定步驟等。

【0161】以下，依循上述步驟，詳述單株抗體之製作法，然而該抗體之製作法並不受此限制，例如亦可使用脾細胞以外之抗體產生細胞及骨髓瘤細胞。

(a) 抗原之精製

【0162】依據前述(2-3)記載之 RX 蛋白質的調製法。

(b) 調製抗體產生細胞之步驟

【0163】將步驟(a)所得到之抗原，與弗氏(Freund)之完全或不完全佐劑、或如鉀明礬之助劑混合，將做為免疫原之實驗動物免疫。實驗動物，可無礙地使用周知之融合瘤製作法中所使用的動物。具體而言，可使用例如小鼠、大鼠、山羊、綿羊、牛、馬等。但是，從與摘出之抗體產生細胞融合之骨髓瘤細胞的取得容易性等觀點而言，以小鼠或大鼠做為被免疫動物為較佳。

【0164】又，實際上所使用之小鼠及大鼠的品系，無特別限制，在為小鼠之情況，可使用例如：A、AKR、BALB/c、BDP、BA、CE、C3H、57BL、C57BL、C57L、DBA、FL、HTH、HT1、LP、NZB、NZW、RF、R III、SJM、SWR、WB、129 等，在為大鼠之情況，可使用例如：Wistar、Low、Lewis、Sprague、Dawley、ACI、BN、Fischer 等。

【0165】此等小鼠及大鼠，可從例如日本 Clea、日本 Charles River 等實驗動物飼育販賣業者取得。

【0166】其中，若衡量與後述之骨髓瘤細胞融合之適合性，小鼠以 BALB/C 品系，大鼠以 Wistar 及 Low 品系，做為被免疫動物為特佳。

【0167】又，若考慮抗原在人類與小鼠中之相同性，亦以使用除去自身抗體之使身體機制降低的小鼠，亦即自體免疫疾病小鼠為較佳。

【0168】再者，此等小鼠或大鼠於免疫時之週齡係以 5 至 12 週齡為較佳，以 6 至 8 週齡為更佳。

【0169】以 RX 蛋白質將動物免疫時，可使用例如：Weir, D.M. , (Handbook of Experimental Immunology Vol.I.II.III. , Blackwell Scientific Publications , Oxford(1987))、Kabat, E.A. 及 Mayer, M.M.(Experimental Immunochemistry, Charles C. Thomas Publisher Springfield, Illinois(1964))等之方法。

● 【0170】就抗體價之測定法而言，可列舉如：RIA 法、ELISA 法等免疫檢定，然而不以此等方法為限。

【0171】由從經免疫動物分離之脾臟細胞或淋巴球而來的抗體產生細胞，可依照例如 Kohler et al. , Nature(1975)256 , p.495 ; Kohler et al. , Eur. J. Immunol. (1977)6 , p.511 ; Milstein et al. , Nature (1977) , 266 , p.550 ; Walsh , Nature , (1977) 266 , p.495)等周知之方法調製。

● 【0172】在脾臟細胞之情況，可採用一般方法，即將脾臟細切，並以不鏽鋼篩網將細胞過濾後，使其浮游於伊格爾最低營養素培養基(MEM)等中，分離抗體產生細胞。

(c)調製骨髓瘤之步驟

【0173】對於使用於細胞融合之骨髓瘤細胞，並無特別之限定，可從周知之細胞株適宜選擇而使用，然而考慮從融合細胞選擇融合瘤時之便利性，以使用選擇步驟已確立之次黃嘌呤-鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶(HGPRT；

hipoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase) 缺損株，亦即來自小鼠之 X63-Ag8(X63)、NS1-ANS/1(NS1)、P3X63-Ag8 · U1(P3U1)、X63-Ag8 · 653(X63 · 653)、SP2/0-Ag14(SP2/0)、MPC11-45 · 6TG1.7(45 · 6TG)、FO · S149/5XXO、BU · 1 等，來自大鼠之 210.RSY3 · Ag · 1.2.3(Y3)等，來自人類之 U266AR(SKO-007)、GM1500 · GTG-A12(GM1500)、UC729-6、LICR-LOW-HMy2(HMy2)、8226AR/NIP4-1(NP41)等為較佳。此等 HGPRT 缺損株可從例如美國模式培養物收集所 (American Type Culture Collection (ATCC)) 等取得。

【0174】此等細胞株以適當之培養基，例如 8-氮雜鳥嘌呤培養基 [在 RPMI-1640 培養基中添加麩醯胺酸、2-巯基乙醇、見大黴素 (gentamycin)、及胎牛血清 (以下稱為「FCS」) 而成之培養基中添加有 8-氮雜鳥嘌呤的培養基]、經伊斯科夫修改之杜百可氏培養基 (Iscove's Modified Dulbecco's Medium；以下稱為「IMDM」)、或經杜百可修改之伊格爾培養基 (Dulbecco's Modified Eagle Medium；以下稱為「DMEM」) 進行繼代培養，而於細胞融合之 3 至 4 日前以正常培養基，例如，含有 10% FCS 之 ASF104 培養基 (味之素股份有限公司) 進行繼代培養，並確保於融合當日有 2×10^7 以上之細胞數。

(d) 使抗體產生細胞與骨髓瘤細胞融合之步驟

【0175】抗體產生細胞與骨髓瘤細胞之融合，可依照周知之方法 (Weir, D.M., Handbook of Experimental Immunology Vol. I.II.III., Blackwell Scientific

Publications, Oxford(1987)、Kabat, E.A. 及 Mayer, M.M., *Experimental Immunochemistry*, Charles C. Thomas Publisher Springfield, Illinois(1964)等), 於不會使細胞之生存率極度降低之條件下實施。例如, 可使用在聚乙二醇等高濃度聚合物溶液中將抗體產生細胞與骨髓瘤細胞混合之化學上的方法, 或利用電刺激之物理方法等。

(e)篩選產生目標抗體之融合瘤群的步驟

● **【0176】**對於藉由細胞融合所得到之融合瘤的選擇方法並無特別限制, 通常可使用 HAT(次黃嘌呤·胺喋呤·胸苷)選擇法(Kohler et al., *Nature* (1975)256, p.495; Milstein et al., *Nature* (1977)266, p.550)。該方法在使用於胺喋呤(aminopterin)中無法生存之 HGPRT 缺損株作為骨髓瘤細胞而得到融合瘤的情況中有效。亦即, 藉由將未融合細胞及融合瘤於 HAT 培養基中培養, 可使只有對胺喋呤具有耐性之融合瘤選擇性地殘存並增殖。

(f)得到單一細胞純系之步驟(選殖)

● **【0177】**就融合瘤之選殖法而言, 可使用例如甲基纖維素法、軟瓊脂糖法、極限稀釋法等周知之方法(例如, 參照 Barbara, B.M. and Stanley, M.S.: *Selected Methods in Cellular Immunology*, W.H. Freeman and Company, San Francisco(1980)), 然而較佳為極限稀釋法。

(g)融合瘤之培養步驟、移植有融合瘤之動物的飼育步驟

【0178】藉由培養經選擇之融合瘤, 可產生單株抗體, 然而較佳為選殖期望之融合瘤後, 再供應於抗體之產生。

【0179】該融合瘤產生之單株抗體可從該融合瘤之培養物回收。又，從導入有該單株抗體基因之細胞的培養物，亦可以回收重組抗體。再者，亦可藉由將融合瘤注射於相同品系之小鼠(例如，上述之 BALB/c)、或 Nu/Nu 小鼠之腹腔內，使該融合瘤增殖，然後從其腹水回收。

(h)單株抗體之生物活性的測定步驟・判定步驟

【0180】可依照目的，選擇及適當使用各種生物試驗。

(4-2)細胞免疫法

【0181】使用表現天然型 RX 蛋白質之細胞、表現重組型 RX 蛋白質或其斷片之細胞等做為免疫原，藉由前述之融合瘤法，可調製抗 RX 抗體。

【0182】就表現天然型之 RX 蛋白質之細胞而言，可列舉來自誘發實驗性關節炎之動物或來自罹患 RA 等自體免疫疾病或關節炎之患者的細胞或來自該患者之組織的細胞等。該細胞較佳為來自小鼠之細胞，然而並不以此為限。就此種來自小鼠之細胞之例而言，可列舉本發明之 ADSF 細胞。此等來自小鼠之 RX 蛋白質表現細胞，在一次免疫中使用 1×10^5 至 1×10^9 個，較佳為 1×10^6 至 1×10^8 個，更佳為 0.5 至 2×10^7 個，又更佳為 1×10^7 個，然而可依據 RX 蛋白質之表現量，改變供免疫之細胞數。該免疫原一般係投與至腹腔內，然而亦可投與至皮內等。就融合瘤之製作手法而言，可適用(4-1-2)記載之方法。

(4-3) 基因重組

【0183】本發明之抗體，可藉由將包含編碼其重鏈胺基酸序列之鹼基序列的核苷酸(重鏈核苷酸)及包含編碼其輕鏈胺基酸序列之鹼基序列的核苷酸(輕鏈核苷酸)、或者插入該重鏈核苷酸之載體及插入該輕鏈核苷酸之載體導入宿主細胞中，培養該細胞後，從其培養物回收該抗體而調製。亦可將重鏈核苷酸及輕鏈核苷酸插入在一個載體中。

【0184】就包含編碼本發明之重鏈可變區域之胺基酸序列之鹼基序列的核苷酸(重鏈可變區域核苷酸)而言，可列舉例如 H1 至 H10。就 H1 至 H10 之任一項所具有之鹼基序列而言，可分別例示序列表之序列編號 91 至 100(第 58 至 67 圖)之任一項記載之鹼基序列。與包含和此等鹼基序列互補之鹼基序列的核苷酸在嚴苛條件下可雜交，且包含編碼本發明之人型化抗體重鏈可變區域所具有之胺基酸序列之鹼基序列的核苷酸，亦可被例示做為重鏈可變區域核苷酸。

【0185】就包含編碼本發明之輕鏈可變區域之胺基酸序列之鹼基序列的核苷酸(輕鏈可變區域核苷酸)而言，可列舉例如 L1 至 L5。就 L1 至 L5 之任一項所具有之鹼基序列而言，可例示如序列表之序列編號 103 至 107(第 69 至 73 圖)之任一項記載之鹼基序列。與包含和此等鹼基序列互補之鹼基序列的核苷酸在嚴苛條件下可雜交，且包含編碼本發明之人型化抗體輕鏈可變區域所具有之胺基酸序列之鹼基序列的核苷酸，亦可被例示做為輕鏈可變區域核苷酸。

【0186】就宿主細胞而言，可使用原核細胞或真核細胞。使用真核細胞做為宿主之情況，可使用動物細胞、植物細胞、真核微生物。

【0187】就動物細胞而言，可列舉如：來自哺乳類之細胞，亦即來自猴之 COS 細胞 (Gluzman, Y. Cell(1981)23, p.175-182, ATCC CRL-1650)、小鼠纖維母細胞 NIH3T3(ATCC No.CRL-1658)、中華倉鼠卵巢細胞(CHO 細胞, ATCC CCL-61)、其二氫葉酸還原酵素缺損株 (CHO^{dhfr-}: Urlaub, G. and Chasin, L.A. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1980)77, p.4126-4220)、來自雞等鳥類之細胞、來自昆蟲之細胞等。

【0188】又，亦可使用藉由改變糖鏈構造，而可提高抗體之生物活性般改變之細胞做為宿主。例如，可藉由使用：在與抗體之 Fc 區域結合之 N-糖苷鍵結複合型糖鏈之中，讓於糖鏈還原末端之 N-乙醯基葡萄糖胺之未與岩藻糖結合之糖鏈的比例成為 20% 以上般改變之 CHO 細胞，來調製 ADCC 活性或 CDC 活性提高之抗體 (WO02/31140 號)。

【0189】就真核微生物而言，可列舉如：酵母等。

【0190】就原核細胞而言，可列舉如：大腸桿菌、枯草菌等。

【0191】就用於使本發明之抗體(來自各種動物之單株抗體、大鼠抗體、小鼠抗體、嵌合化抗體、人型化抗體、人類抗體等)分泌之信號肽而言，不限定於與該抗體同種、同類型及同亞型之抗體之分泌信號、及該抗體本

身之分泌信號，只要為其他類型或亞型之抗體之分泌信號，或來自其他真核生物種或原核生物之蛋白質之分泌信號，均可任意選擇而利用。

【0192】在本發明中，藉由基因重組等調製方法所得之成熟型抗體、其功能性斷片、其修飾體之重鏈及輕鏈，雖然通常其大部分不包含信號肽，然而可將信號肽之一部分或全部包含於輕鏈及/或重鏈中。

(4-4)人類抗體之調製法

● 【0193】就本發明之抗體而言，可進一步列舉人類抗體。抗 RX 人類抗體意指由來自人類之抗體之胺基酸序列所構成之抗 RX 抗體。抗 RX 人類抗體可藉由使用產生人類抗體之小鼠的方法而取得，其中該產生人類抗體之小鼠具有包含人類抗體之重鏈及輕鏈基因的人類基因組 DNA 斷片（參照 Tomizuka, K. et al., *Nature Genetics*(1997)16, p.133-143; Kuroiwa, Y. et. al., *Nuc. Acids Res.* (1998)26, p.3447-3448; Yoshida, H. et. al., *Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects* vol. 10, p.69-73(Kitagawa, Y., Matuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999.; Tomizuka, K. et. al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*(2000)97, p.722-727等)。

● 【0194】此種基因轉殖動物，具體而言，可為藉由將非人類哺乳動物之內在性免疫球蛋白重鏈及輕鏈的基因座破壞，然後藉由酵母人造染色體 (Yeast artificial chromosome, YAC) 載體等，將人類免疫球蛋白重鏈及輕

鏈之基因座導入之基因重組動物，並使此等動物彼此交配而得到之動物之任一者。

【0195】又，亦可為藉由基因重組技術，以分別編碼此種人類抗體之重鏈及輕鏈的 cDNA，較佳以包含此等 cDNA 之載體，將真核細胞轉形，然後培養產生基因重組人類單株抗體之轉形細胞，藉此從培養上清液中得到該抗體。就分泌信號而言，除抗體本身之分泌信號外，可使用其他類及亞類之抗體、或來自其他物種之各種抗體的分泌信號；或者為來自真核生物或原核生物之分泌蛋白的任一種分泌信號。

【0196】其中，就宿主而言，可使用例如真核細胞，以使用 CHO 細胞、淋巴球或骨髓瘤等哺乳動物細胞為較佳。

【0197】又，亦已知取得來自從人類抗體基因庫篩選之噬菌體展現 (phage display) 之人類抗體的方法 (參照 Wormstone, I.M. et. al, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. (2002) 43(7), p.2301-2308; Carmen, S. et. al., *Briefings in Functional Genomics and Proteomics* (2002), 1(2), p.189-203; Siriwardena, D. et. al., *Ophthalmology* (2002)109(3), p.427-431 等)。

【0198】例如，可使用下述噬菌體展現法：將人類抗體之可變區域做成單股抗體 (scFv) 並使其在噬菌體表面表現，然後選擇與抗原結合之噬菌體 (*Nature Biotechnology* (2005), 23, (9), p.1105-1116)。

【0199】藉由解析經由與抗原結合而選擇之噬菌體之基因，可決定編碼與抗原結合之人類抗體之可變區域的 DNA 序列。

【0200】若與抗原結合之 scFv 的 DNA 序列變得明朗，則藉由製作具有該序列之表現載體，並導入適當宿主使其表現，可取得人類抗體 (WO92/01047，WO92/20791，WO93/06213，WO93/11236，WO93/19172，WO95/01438，WO95/15388、Annu. Rev. Immunol(1994)12，p.433-455、Nature Biotechnology(2005)23(9)，p.1105-1116)。

(4-5)抗體之功能性斷片之調製法

【0201】製成單股抗體之方法為在此技術領域中所周知(例如，參照美國專利第 4,946,778 號、美國專利第 5,260,203 號、美國專利第 5,091,513 號、美國專利第 5,455,030 號等)。該 scFv 中，重鏈可變區域與輕鏈可變區域，可經由未交聯(conjugate)之連接子，較佳為多肽連接子連結(Huston, J.S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988), 85, p.5879-5883)。scFv 中之重鏈可變區域及輕鏈可變區域可來自相同之抗體，亦可來自個別的抗體。

【0202】就連結可變區域之多肽連接子而言，可使用例如由 12 至 19 個殘基所構成之任何單股肽。

【0203】編碼 scFv 之 DNA，可藉由以編碼前述抗體之重鏈或重鏈可變區域的 DNA 及編碼輕鏈或輕鏈可變區域的 DNA 中，編碼此等序列中全部或期望之胺基酸序列的 DNA 部分做為模板，使用規定其兩端之引子對，藉

由 PCR 法增幅，繼而藉由進一步將編碼多肽連接子部分之 DNA 以及被規定成兩端各可與重鏈、輕鏈連結之引子對加以組合並進行增幅而得到。

【0204】使用編碼 scFv 之 DNA，可依照常用方法調製含有該 DNA 之表現載體及藉由該表現載體所轉形之宿主細胞，又，藉由培養該宿主細胞，可依照常用方法從該培養物回收該 scFv。

【0205】其他抗體之功能性斷片，亦可依據前述之方法取得編碼該功能性斷片之基因並導入細胞中，並藉由從該細胞之培養物中回收該功能性斷片而得到。

【0206】本發明之抗體可為多聚化而提高對抗原之親和性者。就多聚化之抗體而言，可為 1 種抗體，亦可為識別相同抗原之複數個抗原決定部位的複數個抗體。就將抗體多聚化之方法而言，可列舉 IgG CH3 區域與 2 個 scFv 之結合、與鏈黴抗生物素蛋白(streptavidin)之結合、螺旋-轉角-螺旋基序(helix-turn-helix motif)之導入等。

【0207】本發明之抗體，可為胺基酸序列相異之複數種抗 RX 抗體之混合物，亦即多株抗體。就多株抗體而言，可列舉如：CDR 之一部分或全部為相異之複數種抗體之混合物。此種多株抗體，可將相異抗體之產生細胞混合培養，並從該培養物回收(WO2004/061104 號)。又，亦可將各別調製之抗體混合。再者，為多株抗體之一形態的抗血清，可藉由將動物用期望之抗原免疫，並依照常用方法從該動物回收血清而調製。

【0208】就抗體之修飾物而言，亦可使用與聚乙二醇 (PEG)等各種分子結合之抗體。

【0209】本發明之抗體，可為進一步將此等抗體與其他藥劑形成交聯(免疫交聯 Immunoconjugate)。就此種抗體之例子而言，可列舉該抗體與放射性物質或具有藥理作用之化合物結合之物(Nature Biotechnology(2005)23，p.1137-1146)。

(4-6)抗體之精製

● 【0210】所得到之抗體可精製至均勻一致為止。抗體之分離、精製，只要使用通常使用於蛋白質之分離、精製方法即可。

● 【0211】例如，若適當選擇層析管柱、過濾器、超過濾、鹽析、透析、調製用聚丙烯醯胺凝膠電泳、等電點電泳等並加以組合，可將抗體分離、精製(Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual, Daniel R. Marshak et al. eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press(1996); Antibodies: A Laboratory Manual. Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory(1988))，不過不以此等為限。

【0212】就層析而言，可列舉親和層析、離子交換層析、疏水性層析、凝膠過濾、逆相層析、吸附層析等。

【0213】此等層析亦可使用 HPLC 或 FPLC 等液相層析進行。

【0214】就用於親和層析之管柱而言，可列舉蛋白質 A 管柱、蛋白質 G 管柱、抗原管柱等。

【0215】就市售之蛋白質 A 管柱而言，可列舉如：蛋白質 A 陶瓷 HyperD F(Pall 公司)、POROS(R) ProteinA(Applied Systems 公司)、Mabselect、Protein A Sepharose F.F.(GE HealthCare 公司)、Prosep rA、Prosep A(Millipore 公司)等。

【0216】又，亦可使用將抗原固定化的載體(carrier)，利用對抗原之結合性將抗體精製。

(4-7)基因、載體、細胞

【0217】本發明亦提供編碼本發明之抗體或其功能性斷片或其修飾物的基因(以下稱爲「抗體基因」)、插入該基因的重組載體、導入該基因或載體的細胞(以下稱爲「抗體基因導入細胞」)、其他產生本發明之抗體的細胞(以下稱爲「抗體產生細胞」)。

【0218】本發明之抗體基因，較佳爲包含以下(a)至(e)之任一項記載之鹼基序列(以下稱爲「抗體基因序列」)，或由包含抗體基因序列之鹼基序列構成，或由抗體基因序列構成：

(a)編碼本發明之 MA b1 至 MA b4、此等之嵌合抗體、及此等之人型化抗體(包含 T1 至 T21)之任一種抗體之重鏈胺基酸序列之鹼基序列與編碼輕鏈胺基酸序列之鹼基序列的組合；

(b)編碼本發明之 MA b1 至 MA b4、此等之嵌合抗體、及此等之人型化抗體(包含 T1 至 T21)之任一種抗體之包含 CDRH1 至 CDRH3 之重鏈之胺基酸序列的鹼基序列，與編碼包含 CDRL1 至 CDRL3 之輕鏈之胺基酸序列的鹼基序列的組合；

(c)編碼本發明之 MAb1 至 MAb4、此等之嵌合抗體、及此等之人型化抗體(包含 T1 至 T21)之任一種抗體之包含重鏈可變區域之胺基酸序列的重鏈胺基酸序列的鹼基序列，與編碼包含輕鏈可變區域之胺基酸序列的輕鏈胺基酸序列的鹼基序列的組合；

(d)與由(a)至(c)之任一項記載之鹼基序列互補的鹼基序列所構成之核苷酸在嚴苛條件下可雜交，且編碼可與 RX 蛋白質結合之抗體之胺基酸序列的鹼基序列；及

(e)由編碼在(a)至(c)之任一項中所記載之胺基酸序列中置換、刪除、附加或插入 1 至 50 個、1 至 45 個、1 至 40 個、1 至 30 個、1 至 25 個、1 至 20 個、1 至 15 個、1 至 10 個、1 至 8 個、1 至 6 個、1 至 5 個、1 至 4 個、1 至 3 個、1 或 2 個、或 1 個鹼基而形成之胺基酸序列，且編碼可與 RX 蛋白質結合之抗體之胺基酸序列的鹼基序列；

具有由(d)或(e)記載之鹼基序列所編碼之胺基酸序列的抗體，除了具有 RX 蛋白質結合活性以外，可具有上述(3-3)記載之 1 種或 2 種以上的活性。

【0219】但是，本發明之抗體基因不限於在上述(a)至(e)中所記載者。

【0220】本發明如(4-3)所記載，亦提供抗體或其功能性斷片或其修飾體的製造方法，其包含：培養導入有本發明抗體基因之細胞的步驟，以及從其培養物回收抗體或其功能性斷片或其修飾體的步驟。依照該製造方法所得到之抗體或其功能性斷片或其修飾體亦包含於本發明中。

5. 醫藥組成物

【0221】本發明提供包含抗 RX 抗體或其功能性斷片或其修飾體的醫藥組成物。

【0222】本發明之醫藥組成物，在自體免疫疾病或關節炎，尤其表現 RX 蛋白質之個體中，治療或預防該疾病上 useful。自體免疫疾病意指原本為對抗異物侵入之身體防禦機制的免疫系統，對自身的要素(包含細胞、組織等)產生反應而引起症狀之疾病。就自體免疫疾病而言，可例示：類風濕性關節炎(RA)、全身性紅斑狼瘡、修格連症候群(Sjogren's syndrome)、克隆氏病、乾癬、膠原病、全身性硬皮病、全身性紅斑狼瘡等所造成之冷球蛋白血症、多發性肌炎、皮膚肌炎等。就 RA 而言，可例示狹義之 RA、全身型少年性類風濕性關節炎(史迪爾氏病)、成人發病型史迪爾氏病(即史迪爾氏病於成人時發病)等。關節炎意指伴隨關節發炎的疾病。就關節炎之症狀而言，可例示：關節之發紅、腫脹、壓痛、疼痛(關節痛)、僵硬、局部發熱、運動功能障礙、發熱、全身倦怠感、體重減輕等。關節炎中，有急性單關節炎、急性多關節炎、慢性單關節炎、關節症、慢性多關節炎等。

【0223】就急性單關節炎而言，可例示細菌性關節炎、痛風等。就急性多關節炎而言，可例示病毒性多關節炎等。就慢性單關節炎、關節症而言，可例示變形性關節症、外傷性關節炎等非炎症性者、炎症性者。就慢性多關節炎而言，可例示 RA、乾癬性關節炎等。在本發明中，關節炎亦包含少年性特發性關節炎(juvenile

idiopathic arthritis：以下稱爲「JIA」)。就 JIA 而言，可例示全身型關節炎、RF 陰性多關節炎、RF 陽性多關節炎、少關節炎、乾癬性關節炎等。在本發明中，疾病之治療及/或預防包含：預防該疾病(較佳爲表現 RX 蛋白質之個體中之該疾病)之發病、抑制或阻礙惡化或進行、減輕罹患該疾病之個體所呈現之一種或二種以上症狀、抑制或寬解其惡化或進行、治療或預防繼發性疾病等，但不以此等爲限。

● 【0224】本發明之醫藥組成物中，可含有對治療或預防有效之量的抗 RX 抗體或該抗體之功能性斷片，及藥學上可容許之稀釋劑、載劑、助溶劑、乳化劑、保存劑及/或補助劑。

【0225】「對治療或預防有效之量」，意指針對特定之疾病、投與形式及投與途徑而言，可發揮治療或預防效果的量。

● 【0226】本發明之醫藥組成物中可含有用於改變、維持、或保持 pH、滲透壓、黏度、透明度、顏色、等張性、無菌性、該組成物或其所含抗體之安定性、溶解性、緩釋性、吸收性、滲透性、劑型、強度、性狀、形狀等之物質(以下稱爲「製劑用之物質」)。就製劑用之物質而言，只要爲藥理學上可容許之物質即可，無特別限定。例如非毒性或低毒性爲製劑用物質所適合具備的性質。

【0227】就製劑用之物質而言，可列舉如以下者，不過不以此等爲限；甘胺酸、丙胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、組胺酸、精胺酸或離胺酸等胺基酸類；抗菌劑；

抗壞血酸、硫酸鈉或亞硫酸氫鈉等抗氧化劑；磷酸、檸檬酸、硼酸緩衝液、碳酸氫鈉、三羥甲基胺基甲烷-鹽酸(Tris-HCl)溶液等緩衝劑；甘露醇或甘胺酸等充填劑；伸乙二胺四乙酸(EDTA)等螯合劑；咖啡因；聚乙烷基吡咯啉、 β -環糊精或羥基丙基- β -環糊精等錯化劑；葡萄糖、甘露糖或糊精等增量劑；單糖類、二糖類或葡萄糖、甘露糖或糖精等其他碳水化合物；著色劑、香味劑、稀釋劑、乳化劑或聚乙烷基吡咯啉等親水聚合物；低分子量多肽；鹽形成對離子、羥基氫苯胺(benzalkonium chloride)、苯甲酸、水楊酸、硫柳汞(thimerosal)、苯乙醇、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、氯己定(chlorhexidine)、山梨酸或過氧化氫等防腐劑；甘油、丙二醇或聚乙二醇等溶劑、甘露醇或山梨醇等糖醇；懸浮劑；PEG；山梨糖醇酯、聚山梨糖醇酯 20 或聚山梨糖醇酯 80 等聚山梨糖醇酯、Triton(一種非離子界面活性劑)、胺丁三醇(tromethamine)、卵磷脂或膽固醇等界面活性劑、蔗糖或山梨醇等安定化增強劑、氯化鈉、氯化鉀、甘露醇或山梨醇等彈性增強劑、輸送劑、稀釋劑、賦形劑、及/或藥學上的補助劑。

【0228】此等製劑用之物質之添加量，相對於抗 RX 抗體或其功能性斷片或其修飾體的重量，為 0.001 至 1000 倍、較佳為 0.01 至 100 倍，更佳為 0.1 至 10 倍。

【0229】含有用於使抗 RX 抗體或其功能性斷片或其修飾體含於微脂體中之免疫微脂體、抗體與微脂體結合而成之抗體修飾體(美國專利第 6214388 號等)的醫藥組成物亦包含於本發明之醫藥組成物中。

【0230】賦形劑或載劑通常為液體或固體，只要為注射用水、生理食鹽水、人工腦脊髓液、其他經口投與或非經口投與用製劑所用的物質即可，無特別限定。就生理食鹽水而言，可列舉中性者、包含血清白蛋白者等。

【0231】就緩衝劑而言，可例示：可將醫藥組成物之最終 pH 調成 7.0 至 8.5 之三羥甲基胺基甲烷(Tris)緩衝液、將最終 pH 調成 4.0 至 5.5 之乙酸緩衝液、將最終 pH 調成 5.0 至 8.0 之檸檬酸緩衝液、將最終 pH 調成 5.0 至 8.0 之組胺酸緩衝液等。

【0232】本發明之醫藥組成物為固體、液體、懸浮液等。可列舉冷凍乾燥製劑。在將凍結乾燥製劑成形上，可使用蔗糖等賦形劑。

【0233】就本發明之醫藥組成物之投與途徑而言，可為經腸投與、局部投與及非經口投與之任一種，例如，可列舉：靜脈內投與、動脈內投與、肌肉內投與、皮內投與、皮下投與、腹腔內投與、經皮投與、骨內投與、關節內投與等。

【0234】該醫藥組成物之組成，可依照投與方法、抗體之 RX 蛋白質結合親和性等而決定。本發明之抗 RX 抗體或其功能性斷片或其修飾體對 RX 蛋白質之親和性越高(KD 值越低)，越少之投與量就可發揮其藥效。

【0235】本發明之抗 RX 抗體之投與量，可依照個體物種、疾病之種類、症狀、性別、年齡、慢性病、該抗體之 RX 蛋白質結合親和性或其生物活性、其他要素而適宜決定，然而通常可將 0.01 至 1000mg/kg，較佳為 0.1

至 100mg/kg，於 1 至 180 日之期間投與 1 次，或 1 日投與 2 次或 3 次以上。

【0236】就醫藥組成物之形式而言，可例示注射劑(包含冷凍乾燥製劑、點滴劑)、栓劑、經鼻型吸收製劑、經皮型吸收製劑、舌下劑、膠囊、錠劑、軟膏劑、顆粒劑、噴霧劑、丸劑、散劑、懸浮劑、乳劑、點眼劑、身體埋入型製劑等。

【0237】包含抗 RX 抗體或其功能性斷片或其修飾體作為有效成分之醫藥組成物，可與由 DMARD、類固醇劑及/或非類固醇性抗炎症劑(NSAIDs)等所構成之治療劑或預防劑組合而使用，再者可與治療劑或預防劑同時或依序先後投與。例如，在投與 DMARD、類固醇劑及/或 NSAIDs 之後，投與包含抗 RX 抗體或該抗體之功能性斷片作為有效成分之醫藥組成物，或在投與該醫藥組成物後，投與 DMARD、類固醇劑及/或 NSAIDs，或者，亦可將該醫藥組成物與 DMARD、類固醇劑及/或 NSAIDs 同時投與。就 DMARD 而言，可列舉 MTX 等。又，對於接受抗 TNF α 劑、抗 IL-6 劑、CTLA4-Ig、抗 CD20 抗體、JAK 阻害劑等投與之患者，亦可當做替代藥，或當做併用藥而進行投與。

【0238】本發明亦提供 RA 等自體免疫疾病或關節炎之治療方法或預防方法，用於調製 RA 等自體免疫疾病或關節炎之治療用或預防用醫藥組成物的本發明抗體之使用，用於治療或預防 RA 等自體免疫疾病或關節炎的本發明抗體之使用。包含本發明抗體的治療用或預防用套組亦包含於本發明中。

6. 診斷用組成物

【0239】本發明提供包含本發明之抗 RX 抗體或其功能性斷片或其修飾體之檢查用或診斷用組成物(以下，總稱為「診斷用組成物」)。包含於本發明之診斷用組成物之抗體、其功能性斷片、其修飾體等，只要與 RX 蛋白質結合即可，無特別限定。

【0240】本發明之診斷用組成物，在 RA 等自體免疫疾病或關節炎之檢查或診斷上有用。在無法滿足先前診斷基準之早期 RA 或前 RA 症狀、無法確診是否會進展成 RA 之關節炎(UA)等之檢查或診斷上有用。在本發明中，檢查或診斷包含例如：罹患風險之判定或測定、有無罹患之判定、進行或惡化程度之測定、藉由抗 RX 抗體等之醫藥組成物而得到藥物治療效果之測定或判定、藥物治療以外之治療效果的測定或判定、再發風險之測定、有無再發之判定等，然而只要為檢查或診斷即可，不以此等為限。

【0241】與健康人樣本比較，受驗者樣本中，2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 倍或其以上之 RX 蛋白質量被驗出之情況，可診斷為該受驗者罹患類風濕性關節炎，或者罹患之風險高。又，在 RX 蛋白質之血中濃度超過特定之基準值的情況，可診斷為該受驗者罹患 RA，或診斷為該受驗者罹患 RA 之風險高。

【0242】該診斷用組成物中，亦可含有 pH 緩衝劑、滲透壓調節劑、鹽類、安定劑、防腐劑、顯色劑、增感劑、凝集防止劑等。

【0243】本發明亦提供 RA 等自體免疫疾病或關節炎等之檢查方法或診斷方法、用於調製 RA 等自體免疫疾病或關節炎等診斷用組成物之本發明抗體之使用、用於檢查或診斷 RA 等自體免疫疾病或關節炎等之本發明抗體之使用。包含本發明抗體之檢查或診斷用套組亦包含於本發明中。該套組可含有 RX 蛋白質或其斷片或其修飾體等做為標準物質。

【0244】就含有本發明抗體之檢查或診斷方法而言，較佳為三明治 ELISA 法，然而通常可為 ELISA 法或 RIA 法、酶聯免疫斑點 (enzyme-linked immunospot; ELISPOT) 法、點漬法 (dot blot)、奧克特洛尼法 (Ouchterlony test)、對流免疫電泳 (CIE; Counterimmunoelectrophoresis) 法等利用抗體之檢測方法。就供三明治 ELISA 測定系統用之抗體而言，只要為識別 MMTVenv 之抗體中不會競爭之 2 種抗體之組合即可，可使用任一種抗體實施。就抗體之標識法而言，除生物素外，可利用 HRP、鹼性磷酸酶、FITC 等能實施生化學上解析之標識法。利用酵素標識之檢測，除使用 TMB(3,3',5,5'-四甲基聯苯胺)、BCIP(5-溴-4-氮-3-吡啶磷酸鹽)、p-NPP(對硝基苯磷酸鹽)、OPD(鄰伸苯基二胺)、ABTS(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)、SuperSignal ELISA Pico Chemiluminescent Substrate(Thermo Fisher Scientific 公司)等發色基質或 QuantaBlu™ Fluorogenic Peroxidase Substrate(Thermo Fisher Scientific 公司)螢光基質之外，可使用化學發光基質。本測定中，除來自人類或非人類動物之試料外，

亦可供給施加重組蛋白質等人工處理之試料。就來自生物個體之受檢試料而言，可列舉如血液、關節液、腹水、淋巴液、腦脊髓液、組織均質上清液等，就血液試料而言，可列舉血清及血漿，然而不以此等為限。

【0245】包含本發明抗體之檢查或診斷用三明治 ELISA 套組中，可包含 RX 蛋白質標準液、顯色試藥、稀釋用緩衝液、固相用抗體、檢出用抗體、及洗淨液等。就測定結合於抗原之抗體量的方法而言，較佳為使用吸光法、螢光法、發光法、RI(Radioisotope)法等，測定中以使用吸光盤式分析儀、螢光盤式分析儀、發光盤式分析儀、RI 液體閃爍計數器等為較佳。

【0246】本發明提供 RX 蛋白質之檢測方法及 RX 蛋白質之定量方法。該方法包含使受檢試料與抗 RX 抗體接觸之步驟。又，包含抗 RX 抗體之試藥亦包含於本發明中。該檢測方法、定量方法及試藥等，可使用做為前述檢查及/或診斷用。

實施例

【0247】以下，藉由實施例具體地說明本發明，然而本發明並不以此等為限。

【0248】再者，實施例若無特別註明，係依照「分子選殖(Molecular Cloning)」(Sambrook, J., Fritsch, E.F. 及 Maniatis, T.著，由 Cold Spring Harbor Laboratory Press 於 1989 年發刊)記載之方法、根據在其他本技術領域人士所使用之實驗書中所記載之方法，對於市售之試藥或套組則係依照其指示書操作。

實施例 1 參與關節炎惡化之細胞株的建立

a)來自膠原誘發性關節炎小鼠模型關節部分之自律性增殖細胞株的建立

【0249】參與關節炎之惡化的細胞株，如下述，係藉由關節炎小鼠模型關節部分來建立。關節炎之誘發係依據 T.S. Courtensy, *Nature*, 283, 666, 1980 記載之方法進行。亦即，將來自牛之二型膠原蛋白(膠原蛋白技術研修會)及弗氏完全佐劑之乳液經由皮內投與至雄性 DBA/1 小鼠(日本 Charles River 股份有限公司)之尾根部，2 週後，將來自牛之二型蛋白膠原及弗氏不完全佐劑之乳液以同樣方式進行皮內投與，誘導膠原誘發性關節炎。關節炎嚴重化後，以無菌方式採取後肢踝關節部之組織，藉由在培養皿中搗碎並以培養基(添加 10% FCS 之 RPMI1640 培養基)培養，使細胞從組織片浸潤出。在顯微鏡下觀察浸潤細胞的狀態，同時每 3~7 日以每次交換半量之方式交換培養基，確認細胞充分浸潤出後，藉由胰蛋白酶處理將細胞剝離，從培養皿回收細胞及組織片。不需要之組織片藉由通過 70 μ m 之細胞過濾器(Becton Dickinson 公司)而除去。對於透過過濾器之細胞，每 3~7 日以每次交換半量之方式交換培養基，繼續培養。細胞增殖安定化後，從包含 10% FCS 之培養基分階段交換成無血清培養基。以此種方式，從膠原誘發性關節炎小鼠模型之關節部分建立自律性增殖的細胞株(以下稱為「ADSF 細胞」)。

b)由 ADSF 細胞引起之關節炎惡化作用的確認

【0250】爲了檢討 ADSF 細胞與關節炎之關連，將 ADSF 細胞本身以腹腔內投與至膠原誘發性關節炎小鼠模型中，以評價參與關節炎之惡化作用的影響。膠原誘發關節炎，係藉由將來自牛之二型膠原蛋白及弗氏完全佐劑之乳液經由皮內投與至雄性 DBA/1 小鼠的尾根部 2 次，每次相隔 14 日而誘導。使用一群 10 隻小鼠，設定 ADSF 細胞投與群及做爲陰性對照之小鼠脾臟細胞投與群，從以膠原初次致敏日開始，每 7 日將 1×10^7 個細胞經由腹腔內投與，共計 7 次。關節炎惡化，係分別將四肢之關節炎程度按照 0 至 4 級之 5 級計分法計分，並以四肢之合計點進行評價。關於 ADSF 細胞投與群及小鼠脾臟細胞投與群之關節炎分數，藉由 Mann-Whitney U-test 法實施有意義差檢定的結果，ADSF 細胞投與群之關節炎分數，與小鼠脾臟細胞投與群之關節炎分數相較，於膠原致敏後第 21 日以後，有意義地較高，可確認藉由 ADSF 細胞投與造成有意義之關節炎惡化(第 1 圖，# : $p < 0.05$)。

實施例 2. 具有抗關節炎作用之單株抗體之製作

a)使用 ADSF 細胞及其培養上清濃縮液之單株抗體之製作

【0251】爲了得到抑制關節炎惡化活性之抗體，將 ADSF 細胞(1×10^7 個)及培養上清液之濃縮液混合，並投與至 WKY/NCrj 大鼠之腹腔內及足蹟皮內。爲了使抗體價上升，進行追加免疫，在最後免疫之 3 日後，採取淋

巴節，取出細胞，依照常用方法，以使細胞數之比率成爲 1:7 之方式添加 8-653 株之骨髓瘤細胞，進行細胞融合。將做爲細胞融合促進劑之預先加溫至 37 度之聚乙二醇(分子量 4000)以最終濃度成爲 35% (w/v)之方式添加，藉由緩慢離心操作(800 rpm, 5 分鐘以內)使細胞融合。然後，添加培養基，將細胞再懸浮，離心及回收細胞，並使用 HAT 選擇培養基(含有次黃嘌呤、胺喋呤、胸苷)篩選融合細胞。繼而，使用極限稀釋法單一純系化後，篩選可產生與 ADSF 細胞之培養上清液成分結合之抗體的融合細胞(融合瘤)。具體而言，使固定有 ADSF 細胞之培養上清液成分之微培養盤與抗體反應，繼而與以辣根過氧化酶(horseradish peroxidase)(以下稱爲「HRP」)標識之抗大鼠二次抗體反應，使 TMB 基質(Capel 公司)顯色，然後用 0.1N 鹽酸停止反應，再使用盤式分析儀 Multiscan Bichromatic(Labsystems 公司)測定於波長 450nm 之吸光度。其結果，得到與 ADSF 細胞之培養上清液成分結合的單株抗體 1(MAb1)。該抗體係將所產生之融合瘤經由腹腔內投與至裸小鼠，然後依照常用方法，使用 ProteinG 親和管柱從該裸小鼠之腹水中精製而得。

b) 抗體所識別之抗原的解析

1) 識別抗原之精製

【0252】藉由 MAb1 而被識別之抗原之精製係如以下之方式實施。亦即，使用偶合試藥(辛二酸二琥珀醯亞胺酯(disuccinimidyl suberate))使依照實施例 2 之 a)調製之

MAb1 交聯於親和凝膠載劑 (Immunopure Immobilized ProteinG Plus gel; Thermo Fisher Scientific 公司) 上而製作抗體管柱。將於 CL-1000 燒瓶中培養之 ADSF 細胞的培養上清液添加於該抗體管柱中，以管柱容量 10 倍量之滅菌 PBS 洗淨後，用 100mM 甘胺酸鹽酸緩衝液 (pH2.8) 溶出。將溶出液用其 1/10 體積之 1M Tris 鹽酸緩衝液 (pH9.0) 立即中和。使用超濾過濾器 (Centriprep MWCO10K; Millipore 公司) 濃縮，將緩衝液以 PBS 置換。● 精製之抗原蛋白藉由非還原條件下之十二烷基硫酸鈉-聚丙稀醯胺凝膠電泳 (sodium dodecyl sulfate-poly-acrylamide gel electrophoresis; 以下稱爲「SDS-PAGE」) 法解析之結果，檢測出分子大小約 55kDa 及約 28kDa 之帶 (第 3 圖)。

2) 識別抗原之確認

● 【0253】爲了確認 MAb1 所識別之抗原的分子量，實施西方轉漬法解析。亦即，將在實施例 2 之 b)1) 中所精製之抗原於非還原條件下使用於 SDS-PAGE 後、依照常用方法轉錄於硝基纖維素膜。將轉錄之膜以 Block Ace (DS Pharmo Biomedical 公司) 進行封阻 (blocking)，添加經生物素標識之 MAb1 並反應 1 小時。以含有 0.1% Tween20 之 PBS 將膜充分洗淨後，與經 HRP 標識之鏈黴抗生物素蛋白 (streptavidin) 反應。繼而，以含有 0.1% Tween20 之 PBS 充分洗淨，與化學發光基質 (SuperSignal West Dura Extended Duration Substrate; Thermo Fisher Scientific 公司) 作用，檢測出可與 MAb1 反應之蛋白質

帶。其結果，MAb1 識別出藉由親和層析所精製之分子大小約 55kDa 的蛋白質(第 4 圖)。再者，藉由 SDS-PAGE 分離預先用糖苷酶 F(PNGaseF proteomics Grade; Sigma Aldrich 公司)處理之試料，從銀染色之電泳後之凝膠切出相當於以西方轉漬法解析呈現陽性之蛋白質之帶，還原烷基化後，用胰蛋白酶(Trypsin Gold; Promega 公司)分解。將分解物與 CHCA(α -氰基-4-羥基桂皮酸)混合，使用 Bruker Daltonics 公司之 UltraflexIITM 實施 MALDI-TOF-MS 分析。對於所得到之離子化斷片峰之分子大小，使用蛋白質解析軟體(Mascot Server; Matrix Science 公司)檢索該蛋白質之結果，判定 MAb1 所識別之蛋白質帶係逆轉錄病毒 MMTV 之外殼蛋白質(MMTVenv)的膜外區域 gp52SU(第 5 圖)。又，對於分子大小約 28kDa 之蛋白質亦以同樣方式解析時，確認其係 MMTVenv 之 gp36TM 之細胞外區域的至少一部分。

c) 對抗 RX 抗原之單株抗體之製作

【0254】以精製之 RX 蛋白質做為抗原，使其在弗氏完全佐劑中乳化，並經由腹腔內投與至 BALB/c 小鼠。為了使抗體價上升，對腹腔內及尾靜脈進行追加免疫，在最後免疫之 3~4 日後，採取脾臟，取出細胞，與小鼠骨髓瘤細胞(P3-X63)株藉由 PEG 法融合，得到融合瘤。產生具有與 RX 蛋白質結合之能力之抗體的融合瘤之篩選係如以下之方式實施。首先，將精製之 RX 蛋白質添加於微培養盤之各孔中並固定化。使融合瘤所產生之抗體與固相化之 RX 蛋白質反應，繼而與可識別小鼠 IgG

之經 HRP 標識之二次抗體反應，而使鄰苯二胺基質顯色，然後用 2N 硫酸使反應停止，使用盤式分析儀測定於波長 490nm 之吸光度。其結果，得到結合於精製 RX 蛋白質上之單株抗體 2 及 3(MAb2 及 MAb3)。第 2 圖顯示對於使用 ProteinG 親和管柱所精製之 MAb2、MAb3、及在實施例 2 之 a)中所得之 MAb1，藉由 ELISA 法確認與精製 RX 蛋白質之結合能力的結果。該 ELISA 法係使用 TMB 基質(Capel 公司)做為顯色基質，藉由盤式分析儀測定於波長 450nm 的吸光度。

實施例 3. 單株抗體之序列解析

【0255】為了解讀 MAb1 之基因序列，依照常用方法從產生 MAb1 之融合瘤萃取 mRNA。在周知之大鼠抗體基因之核酸序列(重鏈恆定區域：登錄編號 P20759；輕鏈：登錄編號 L22653)中，選取與人類及小鼠一致之序列，設計下述數種 3'末端引子。藉由使用重鏈之 CH3 區域之 C 末端(序列表之序列 16：CH-R1：TCATTTACCCGGAGAGTGGGAGAGA)、輕鏈之 CL 區域之 C 末端(序列表之序列編號 17(CLK-R1)：CTAACACTCATTCTGTTGAAGCTC)並以上述之 mRNA 做為模板之 5'-RACE 之 RT-PCR 法(GeneRacer/SuperScript III, Invitrogen 公司)，得到 cDNA 斷片。藉由瓊脂糖電泳分析，確認各個 cDNA 斷片為抗體基因之該部位的斷片大小。繼而，將各個 cDNA 斷片插入選殖載體(TOPO TA cloning, Invitrogen 公司)，解讀全長之 DNA 鹼基序列。關於 3'區域之序列，以其他方

式實施 3'-RACE 而確認。將 MAb1 之重鏈 DNA 鹼基序列示於序列表之序列編號 18(第 15 圖), 將該抗體重鏈之胺基酸序列示於序列表之序列 19(第 16 圖), 將 MAb1 之輕鏈 DNA 鹼基序列示於序列表之序列編號 20(第 17 圖), 將該抗體輕鏈之胺基酸序列示於序列表之序列編號 21(第 18 圖)。將 MAb1 之 CDR 之胺基酸序列示於第 23 圖(序列表之序列編號 22 至 27)。

【0256】爲了使 MAb1 之重鏈及輕鏈之基因在培養動物細胞中表現, 組入使用 IRES 序列之串聯(tandem)表現載體 pTandem-1(Novagen 公司)。具體而言, 首先將輕鏈基因插入在上游側之 NcoI 與 XhoI 所夾之部位, 繼而將重鏈基因插在爲 IRES 序列下游之 NheI 與 ClaI 所夾之部位, 構築成 MAb1 基因表現載體 pFFF05。用此表現載體導入 FreeStyle™ CHO-S Cells(Invitrogen 公司), 確認抗體蛋白質被分泌至其培養上清液中。使用蛋白質 G 管柱(GE Healthcare 公司)從培養上清液精製 MAb1。藉由西方轉漬(Western-blot)解析, 可確認此重組 MAb1, 與來自融合瘤之 MAb1 同樣地與 RX 蛋白質交會。

【0257】MAb2 係依照 Wang Z.氏等之報告(Journal of Immunological Methods 233, pp.167-177, 2000), 製作簡併引子(序列表之序列編號 28:(小鼠)抗體序列解析用引子 HF: CCGCTAGCATGSARGTNMAGCTGSAGSAGTC; 序列表之序列編號 29:(小鼠)抗體序列解析用引子 HR: AGCGCTCTTGACCAGGCATCCTAGAGTCA; 序列表之序

列編號 30: (小鼠)抗體序列解析用引子 LF: CCCCATGGA
YATTGTGMTSACMCARWCTMCA ; 序列表之序列編號
31: (小鼠)抗體序列解析用引子 LR: CCCTCGAGTTCAA
CACTCATTCTGTTGAAGCCTTGACG) , 藉由使用
SuperScript III (Invitrogen 公司)之 RT-PCR 法, 將從來
自融合瘤之 mRNA 逆轉錄的 cDNA 斷片插入選殖載體
(TOPO TA cloning, Invitrogen 公司)中, 解讀重鏈可變
區域及輕鏈可變區域之 DNA 鹼基序列。將 MA b2 之重鏈
可變區域之 DNA 鹼基序列示於序列表之序列編號 32(第
19 圖), 將該抗體重鏈可變區域之胺基酸序列示於序列表
之序列編號 33(第 20 圖), 將 MA b2 之輕鏈可變區域之
DNA 鹼基序列示於序列表之序列編號 34(第 21 圖), 將
該抗體輕鏈可變區域之胺基酸序列示於序列表之序列編
號 35 (第 22 圖)。將 MA b2 之 CDR 之胺基酸序列示於第
23 圖(序列表之序列編號 36 至 41)。

【0258】MA b3 之重鏈可變區域及輕鏈可變區域之
DNA 鹼基序列, 藉由與 MA b2 同樣之方法解讀。將 MA b3
之重鏈可變區域之 DNA 鹼基序列示於序列表之序列編
號 62(第 30 圖), 將該抗體重鏈可變區域之胺基酸序列示
於序列表之序列編號 63(第 31 圖), 將 MA b3 之輕鏈可變
區域之 DNA 鹼基序列示於序列表之序列編號 64(第 32
圖), 將該抗體輕鏈可變區域之胺基酸序列示於序列表之
序列編號 65(第 33 圖)。將 MA b3 之 CDR 之胺基酸序列
示於第 23 圖(序列表之序列編號 66 至 71)。

實施例 4. 單株抗體對 RX 蛋白質之結合親和性

【0259】使用 SPR 裝置 (ProteOn XPR36: BioRad 公司) 測定實施例 2 中所取得之單株抗體對 RX 蛋白質的結合親和性。使用 10mM 乙酸钠緩衝液 (pH4.5) 將 MAb1 及 MAb3 稀釋成 10 μ g/ml, 將 MAb2 稀釋成 20 μ g/ml 之濃度, 並分別在感測片 (Sensor Chip GLM; BioRad 公司) 上以胺偶合法固相化。封阻係藉由添加 1M 乙醇胺鹽酸鹽 (pH8.5) 而實施。使用 ProteOn PBS/Tween, pH7.4 (PBS pH7.4, 0.005% Tween20) 做為運行緩衝液 (running buffer)。將精製之 RX 蛋白質進行階段性稀釋, 使其與為分析物之固相化單株抗體互相作用, 測定結合親和性。結合速度常數 k_a 及解離速度常數 k_d 係藉由使用 ProteOn Manager™ 之動力學解析算出。其結果, 所取得之抗體對 RX 蛋白質之結合親和性為 10^{-10} M 層級 (第 6 圖)。

實施例 5. RX 蛋白質之關節炎惡化作用的確認

【0260】為了確認 RX 蛋白質對關節炎之參與, 利用膠原誘發性關節炎模型進行以下之實驗。膠原誘發性關節炎係藉由將來自牛之二型膠原蛋白及弗氏完全佐劑之乳液經由皮內投與至雄性 DBA/1 小鼠之尾根部, 繼而於 2 週後, 將來自牛之二型膠原蛋白及弗氏不完全佐劑之乳液以同樣方式投與而誘發 (一群 5 隻)。藉由在實施例 2 之 b) 之 1) 中記載之方法, 將從 ADSF 細胞之培養上清液精製的 RX 蛋白質, 從膠原之第 1 次致敏日開始, 每 3 日以 200ng/小鼠之量經由靜脈內投與。關節炎惡化之評價係分別將四肢之關節炎程度按照 0 至 4 之 5 級計分法

計分，並將四肢之合計點做為個體之關節炎分數來進行評價。其結果暗示藉由 RX 蛋白質之投與，關節炎惡化(第 7 圖)。誤差線(error bar)表示標準誤差(SE)。

實施例 6. 單株抗體在關節炎小鼠模型中之藥效

【0261】 驗證在實施例 2 之 a)中所得之單株抗體 MA b1 及在實施例 2 之 c)所得之單株抗體 MA b2 在膠原誘發性關節炎模型中之藥理作用。

a)膠原誘發性關節炎模型之製作

● 【0262】 膠原誘發性關節炎係藉由將來自牛之二型膠原蛋白及弗氏完全佐劑之乳液經由皮內投與至雄性 DBA/1 小鼠之尾根部，繼而於 3 週後，將來自牛之二型膠原蛋白及弗氏不完全佐劑之乳液以同樣方式投與而誘發。一群為 10 隻，單株抗體係從第 2 次之膠原致敏日開始，每 3 日以 2mg/kg 之量經由腹腔內投與。就陰性對照而言，使用從正常大鼠血清精製之 IgG(對照 IgG 抗體)。

● 【0263】 就藥效而言，針對 b)關節炎抑制作用(第 8 圖)，及 c)骨破壞抑制作用(第 9 圖)進行評價。

b)關節炎抑制作用

● 【0264】 關節炎惡化，係將四肢之各別關節炎程度按照未發病：0，第一關節中出現紅斑及浮腫之發病：1，擴及第二關節之紅斑及浮腫之發病：2，整肢出現紅斑及浮腫之發病：3，變形或僵直之發病：4 來計分，將四肢之合計點做為個體之關節炎分數來進行評價。其結果，可見為陰性對照之對照 IgG 抗體投與群的關節炎分數經時地惡化，然而在單株抗體投與群中，可見顯著之關節

炎的抑制(第 8 圖)。有意義差檢定係藉由威爾科克森試驗(Wilcoxon's-test)法，與對照 IgG 抗體投與群比較而進行。就 MAb1 而言，於第 31 日以後，就 MAb2 而言，於第 35 日以後，分別可見有意義之關節炎抑制(* : $p < 0.05$)。誤差線表示標準誤差(SE)。

c)骨破壞抑制作用

【0265】骨破壞係依據 a)之方法，製作膠原誘發性關節炎模型，對於後肢用福馬林固定後攝影所得之軟 X 光攝影圖像，於跟骨、跗骨、蹠骨之各個部分，按照正常：0，輕度：1，中度：2，重度：3 之 4 級計分法將骨破壞程度計分，將四肢之合計分數當做個體的骨破壞分數來進行評價。有意義差檢定係藉由 Wilcoxon's-test 法與對照 IgG 抗體投與群比對而進行。其結果，可確認 MAb1 具有有意義之骨破壞抑制作用(第 9 圖，# : $p < 0.05$)。誤差線表示標準誤差(SE)。

實施例 7. 在 RA 患者中 RX 蛋白質及 RX 基因的表現

【0266】爲了驗證在 RA 患者中 RX 蛋白質及 RX 基因的存在，蛋白質之表現量係藉由西方轉漬法及 MS 解析來確認，基因之表現量解析係藉由南方轉漬法及基因序列解析來確認。

a)藉由西方轉漬法之解析

【0267】將從 RA 患者於手術時摘出之關節滑膜用膠原酶處理後搗碎，以含有 10% FCS 之 RPMI1640 培養基培養 2~5 日。回收培養後之培養基上清液，添加於已固定有 MAb1 之親和管柱中並溶出結合蛋白。然後，爲了

除去混入之白蛋白及人類 IgG，使用 SIGMA 公司之 Proteo Prep 免疫親合白蛋白及 IgG 清除套組 (Proteo Prep Immunoaffinity Albumin and IgG Depletion Kit；型號 PROT-IA) 處理。在親和管柱溶出液中添加 SDS 樣本緩衝液，藉由熱處理調製電泳樣本。電泳係依照 Laemmli 法 (Nature, 227: pp.680~685(1970) 於非還原條件下進行。使用轉漬 (blotting) 裝置 (BioRad 公司 SEMI DRY TRANSFER CELL；型號 170-3940)，將蛋白質從泳動後之凝膠轉錄於硝基纖維素膜 (BioRad 公司 Trans Blot；型號 162-0093) 上。轉錄後之膜藉由 Block Ace (DS Pharmo Biomedical 公司；型號 UK-B80) 進行封阻處理，與濃度為 $1\mu\text{g/ml}$ 之生物素化 MAb1 反應 1 小時。將膜用含有 0.1% Tween-20 之 PBS 充分洗淨後，使其與經 HRP 標識之鏈黴抗生物素蛋白 (streptavidin) (GE Healthcares 公司；型號 1058765) 反應 1 小時。進一步以含有 0.1% Tween-20 之 PBS 充分洗淨後，使用化學發光基質 Super Signal West Dura Extended Duration Substrate (Thermo Fisher Scientific 公司；型號 34075) 並於反應後照相攝影，檢測出可與 MAb1 反應之蛋白質。在第 10 圖中顯示解析之一部分即病例 1 至 4 之西方轉漬法的結果。行編號 RA1、RA2、RA3 及 RA4 分別表示來自 RA 患者 RA1、RA2、RA3 及 RA4 之試料。在 RA 患者中，可觀察到與來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質 (S 行) 相同大小的陽性帶。

b) 質譜解析

【0268】藉由非還原條件下之 SDS-PAGE 分離從來自實施例 7 之 a) 記載之 RA 患者 (RA1) 的血漿親和精製而得的試料，切出相當於西方轉漬法解析時顯示 MAb1 陽性之蛋白質的帶，進行還原烷化後，用胰蛋白酶分解。將分解物與 α -CHCA (α -氰基-4-羥基桂皮酸) 混合，使用 Applied Biosystems 公司之 Voyager-DE STRTM 實施 MALDI-TOF-MS 分析。關於所得到之離子化片段峰之分子大小，使用蛋白質鑑定搜索引擎 MS-Fit (UCSF) 檢索蛋白質資料庫的結果，確認與 MAb1 反應之蛋白質為逆轉錄病毒 MMTV 之外殼蛋白質 (MMTVenv) 的膜外區域 gp52SU。在第 11 圖 (序列表之序列編號 42 至 52) 中顯示來自 RA 患者之蛋白質中與 gp52SU 為一致之肽斷片之胺基酸序列。

c) 南方轉漬解析

【0269】使用在從 RA 患者於手術時摘出之關節滑膜中添加 ISOGEN 試藥 (日本基因公司) 並用均質機 (IKA 公司) 進行 30 秒均質後萃取而得之總 RNA 試料，或從 Scottish Biomedical 公司購入之來自 RA 患者之關節滑膜的總 RNA 試料。以此等總 RNA 試料做為模板，使用 SuperScript VILO cDNA 合成套組 (Invitrogen 公司) 合成 cDNA。關於基因組 DNA，同樣地使用 Easy-DNA KIT (Invitrogen 公司) 將取出之組織試料的一部分精製。

【0270】編碼 MMTVenv 之基因序列的檢測係依照以下之方法實施。亦即，以來自上述組織試料之 cDNA 或基因組 DNA 做為模板，使用在 MMTVenv 基因編碼區域

內所設計之引子 1(序列表之序列編號 53 : 5'-CCAGATCGCCTTTAAGAAG-3')與引子 2(序列表之序列編號 54 : 5'-CTATCATTGGGATCCTTAGGAGAATT-3')之組合以及 KOD FX DNA 聚合酶(TOYOBO 公司), 於以下所示之條件下實施 PCR, 該實施 PCR 之條件為: 於 94°C 進行 2 分鐘之熱變性後, 進行 50 次「於 94°C, 30 秒; 於 55°C, 30 秒; 於 68°C, 30 秒」之循環。PCR 增幅產物係藉由瓊脂糖凝膠電泳分離後, 轉錄於尼龍膜, 然後依照一般方法藉由雜交法檢測陽性帶。亦即, 在預雜交溶液(DIG Easy Hyb: Roche Diagnostics 公司)中於 50°C, 進行 30 分鐘緩慢振盪。在交換預雜交溶液後, 添加經熱變性之檢測用探針, 並於 50°C 緩慢振盪 2 小時以上, 同時進行雜交。檢測用探針, 係使用第 2 代 DIG 寡核苷酸 3'-端標識用套組(DIG Oligonucleotide 3'-End Labeling kit, 2nd Generation(Roche Diagnostics 公司))將序列表之序列編號 55(5'-TGCGCCTTCCCTGACCAAGGG-3')所示之寡核苷酸之 3'末端用 DIG 標識而製作。雜交後之膜, 以包含 0.1% SDS 之 2xSSC(150mM NaCl, 15mM 檸檬酸鈉; pH7.0)溶液, 於室溫進行 5 分鐘之洗淨 2 次, 繼而以包含 0.1% SDS 之 0.5xSSC 溶液, 於 50 度進行 15 分鐘之洗淨 2 次後, 使用 DIG 沖洗及封阻緩衝液組(Roche Diagnostics 公司)進行封阻, 使其與抗-地高辛-AP(Anti-Digoxigenin-AP)抗體反應, 檢測上述之探針所結合的 DNA 斷片。其結果, 從複數個來自 RA 患者之試料檢測出陽性帶。

d) PCR 陽性試料之序列解析

【0271】關於在實施例 7 之 c) 中記載之以南方轉漬解析判定為陽性之試料，藉由 PCR 產物之直接定序來解析 DNA 鹼基序列，或者將 PCR 產物次選殖入載體中並使用 PRISM 3100-Avant Genetic AnalyzerTM (Applied Biosystems 公司) 來解析 DNA 鹼基序列。其結果，從來自 RA 患者 (RA5 至 RA8) 之試料所得到之 DNA 的鹼基序列，任一種均顯示與 MMTVenv 之鹼基序列具高同源性。將此等鹼基序列轉譯為胺基酸序列時，雖存在 0 至 4 處胺基酸變異，不過係與來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質所具有之胺基酸序列幾乎一致的序列 (第 12 圖：序列表之序列編號 56 至 59)。

實施例 8. 針對 RX 蛋白質之三明治 ELISA 測定法的構築

a) 使用精製 RX 蛋白質之測定範圍的確認

【0272】為提供測定血中之 RX 蛋白質量的手段，確立三明治 ELISA 測定法。具體而言，將 MAb1 以 2 μ g/ml 之濃度在高結合型免疫檢定用微培養盤 (Coaster 公司；型號 3590) 上固定化，並使用 Block Ace (DS Pharmo Biomedical 公司) 封阻。添加測定之試料後，以含有 0.1% Tween20 之 PBS 充分進行洗淨作業後，添加為檢測用抗體之經生物素標識之 MAb3 並使其濃度成為 1 μ g/ml。接著，以含有 0.1% Tween20 之 PBS 充分進行洗淨作業後，與經 HRP 標識之鏈黴抗生物素蛋白 (streptavidin) 作用，進一步以含有 0.1% Tween20 之 PBS 充分進行洗淨作

業後，使其與顯色基質 TMB 反應，用 0.1N 鹽酸停止顯色反應後，測定於波長 450nm 之吸收。使用精製 RX 蛋白質所製作之校正曲線係如第 13 圖所示，在 0.0625ng/ml 至 1ng/ml 之範圍內可得到直線性。

b) 使用 RA 患者及健康人血液之檢討

【0273】使用 18 名 RA 患者病例 (RA9 至 RA26) 及 8 名健康人自願者 (HD1 至 HD8) 的血漿試料，將血中 RX 蛋白質量以上述之三明治 ELISA 測定系統進行解析。其結果，雖在一部分健康人中亦可見到其表現，然而在 RA 患者中檢測出平均為健康人 11.5 倍之血中 RX 蛋白質量 (第 14 圖)。藉由學生-T 試驗 (Student-T test) 所進行之有意義差檢定亦可確認 RA 患者之血中 RX 蛋白質量明顯地比健康人增加 ($p < 0.001$)。從此結果顯示可藉由測定血中之 RX 蛋白質量來判別 RA 患者與健康人的可能性。

實施例 9. 嵌合抗體之製作及功能確認

【0274】藉由將在實施例 3 中被解讀之大鼠抗體之 MAbl 之 H 鏈 (序列 19) 及 L 鏈 (序列 21) 之個別可變區域移植至人類 IgG1 之 H 鏈及 L 鏈之可變區域之相同部位，而製作成大鼠與人類之嵌合抗體之基因序列 (以下稱為「嵌合化 MAbl」)。將該抗體基因藉由實施例 3 之方法，組入培養動物細胞用之表現載體中，依照一般方法使用轉染試藥，以該表現載體導入至 HEK293 細胞，使嵌合化 MAbl 暫時性地表現。將培養第 4 至 5 日之培養上清液中之分泌抗體添加於 ProteinA 管柱，將吸附部分以 100mM 甘胺酸鹽酸緩衝液 (pH2.8) 溶出，將溶出液立即使

用 1M 之 Tris 鹽酸緩衝液中和。所得到之嵌合化 MAb1 對 RX 蛋白之結合親和性藉由 SPR 法解析之結果，可確認為大鼠抗體之 MAb1 與嵌合化 MAb1 呈現相同程度之結合親和性(第 34 圖)。

實施例 10. 人型化抗體之製作及功能確認

a)人型化抗體序列之設計

【0275】選取與實施例 3 中所解讀之 MAb1 之 H 鏈(序列編號 19：第 16 圖)及 L 鏈(序列編號 21：第 18 圖)之胺基酸序列具有高同源性之人類 IgG1 的 H 鏈及 L 鏈，藉由將 MAb1 之 H 鏈及 L 鏈之 CDR 序列移植至該人類 IgG1 之 H 鏈及 L 鏈的相同部位，設計與人類之 IgG1 抗體極類似之 MAb1(以下稱為「人型化 MAb1」)的序列。再者，根據所預測之 MAb1 之可變區域之分子模型，置換框架區域之幾個胺基酸殘基，以使 CDR 序列之構造安定化。對 CDR 序列相同部位之移植及框架區域之最適化的細節係依照下述之順序實施。

1)MAb1 之可變區域之分子模型建立(modeling)

【0276】MAb1 之可變區域之分子模型建立，就同源性模型建立而言，一般係藉由周知之方法(Methods in Enzymology, 203, 121-153, (1991))實行。亦即，從蛋白質資料庫(Protein Data Bank)(Nuc. Acid Res. 35, D301-D303(2007))中所登錄之人類免疫球蛋白之可變區域的胺基酸一次序列中，檢索與 MAb1 之可變區域的胺基酸一次序列同源性最高之序列，由於 PDB code: 1ZAN(L 鏈；以下稱為「1ZAN 輕鏈」)及 PDB ID: 2GHW(B

鏈；以下稱爲「2GHW 重鏈」)對 MAb1 之輕鏈及重鏈之可變區域顯示最高序列同源性，所以選擇做爲構造預測之模型。框架區域之三次元構造，係使對應於 MAb1 之輕鏈及重鏈之 1ZAN 輕鏈及 2GHW 重鏈的座標組合而製作(以下稱爲「框架模型」)。MAb1 之 CDR 序列，依照 Thornton 等人(J. Mol. Biol., 263, 800-815, (1996))之分類，CDRL1、CDRL2、CDRL3、CDRH1 及 CDRH2 分別被分配至集群(cluster)11A、7A、9A、10A、及 10B。另一方面，CDRH3 根據 H3 規則(FEBS letter 399, 1-8(1996))，採用 kink 型(8)。繼而，將有關各 CDR 序列之代表性構形組入前述框架模型而構築成 MAb1 之可變區域的三次元構造模型(以下稱爲「MAb1 構造模型」)。關於此種方式所得到之 MAb1 構造模型，藉由使用蛋白質立體構造預測程式 Prime 及構形探索程式 MacroModel(Schroedinger, LLC)進行分子動力學模擬，求出構成主鏈及側鏈之所有原子之動態能量的最小值並決定 MAb1 構造模型之最安定構造。

2)對人型化 MAb1 之胺基酸序列的設計

【0277】用於設計人型化 MAb1 抗體之胺基酸一次序列的 CDR 移植(grafting)係依照 Queen C 等人(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033(1989))之方法實施。具體而言，由於將 MAb1 之框架區域之胺基酸序列，與 Kabat 資料庫(Nuc. Acid Res. 29, 205-206(2001))中所登錄之人類抗體之框架區域之胺基酸序列比較之結果，mAb58'CL 抗體在框架區域中顯示 77%之序列同源性，

所以選擇其做為提供人類抗體之框架區域的抗體(以下稱為「受體(acceptor)抗體」)。將該受體抗體之框架區域之胺基酸殘基與 MAb1 之框架區域之胺基酸序列比較，鑑定出不一致之胺基酸殘基的位置。此等不一致胺基酸殘基之位置，藉由投影在實施例 10a-1 中所構築之 MAb1 的構造模型上，並依照 Queen 等人(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033(1989))之基準解析與 MAb1 之 CDR 序列互相作用之程度，然後決定位於被推測在保持 CDR 序列之立體構造上重要之框架區域中的不一致胺基酸殘基，即要從 MAb1 之序列移入受體抗體之序列的胺基酸殘基(以下稱為「供體(donor)殘基」)。就人型化 MAb1 之胺基酸序列而言，為了確保物理化學性質之多樣性，藉由使供體殘基之移入位置改變，設計為 H 鏈之 10 種序列(MAb1H1 至 H10：序列編號 72 至 81；第 40 至 49 圖)及為 L 鏈之 5 種序列(MAb1L1 至 L5：序列表之序列編號 82 至 86；第 50 至 54 圖)。

3)人型化 MAb1 之胺基酸序列

【0278】以此種方式所設計之各個人型化 MAb1 之胺基酸序列如以下所示。

【0279】伴隨從序列表之序列編號 19 所示之 MAb1 之 H 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 19(離胺酸)、23(纈胺酸)、24(甘胺酸)、42(離胺酸)、49(丙胺酸)、74(絲胺酸)、75(丙胺酸)、77(絲胺酸)、82(麩醯胺酸)、88(絲胺酸)、93(蘇胺酸)、113(纈胺酸)、114(甲硫胺酸)被分別置換為精胺酸、丙胺酸、丙胺酸、甘胺酸、絲胺

酸、天冬醯胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、離胺酸、丙胺酸、纈胺酸、蘇胺酸、白胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 H 鏈的可變區域被命名為「MAb1H1」(序列編號 91 之胺基酸序列：序列編號 72；第 40 圖)。在本發明中亦簡稱為「H1」。

【0280】伴隨從序列表之序列編號 19 所示之 MAb1 之 H 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 19(離胺酸)、23(纈胺酸)、24(甘胺酸)、42(離胺酸)、74(絲胺酸)、75(丙胺酸)、77(絲胺酸)、82(麩醯胺酸)、88(絲胺酸)、93(蘇胺酸)、113(纈胺酸)、114(甲硫胺酸)被分別置換為精胺酸、丙胺酸、丙胺酸、甘胺酸、天冬醯胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、離胺酸、丙胺酸、纈胺酸、蘇胺酸、白胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 H 鏈的可變區域被命名為「MAb1H2」(序列編號 92 之胺基酸序列：序列編號 73；第 41 圖)。在本發明中亦簡稱為「H2」。

【0281】伴隨從序列表之序列編號 19 所示之 MAb1 之 H 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 19(離胺酸)、23(纈胺酸)、42(離胺酸)、75(丙胺酸)、77(絲胺酸)、82(麩醯胺酸)、88(絲胺酸)、93(蘇胺酸)、113(纈胺酸)、114(甲硫胺酸)被分別置換為精胺酸、丙胺酸、甘胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、離胺酸、丙胺酸、纈胺酸、蘇胺酸、白胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 H 鏈的可變區域被命名為「MAb1H3」(序列編號 93 之胺基酸序列：序列編號 74；第 42 圖)。在本發明中亦簡稱為「H3」。

【0282】伴隨從序列表之序列編號 19 所示之 MAb1 之 H 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 19(離胺酸)、23(纈胺酸)、42(離胺酸)、77(絲胺酸)、82(麩醯胺酸)、88(絲胺酸)、93(蘇胺酸)、113(纈胺酸)、114(甲硫胺酸)被分別置換為精胺酸、丙胺酸、甘胺酸、天冬醯胺酸、離胺酸、丙胺酸、纈胺酸、蘇胺酸、白胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 H 鏈的可變區域被命名為「MAb1H4」(序列編號 94 之胺基酸序列：序列編號 75；第 43 圖)。在本發明中亦簡稱為「H4」。

【0283】伴隨從序列表之序列編號 19 所示之 MAb1 之 H 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 19(離胺酸)、23(纈胺酸)、24(甘胺酸)、42(離胺酸)、75(丙胺酸)、77(絲胺酸)、82(麩醯胺酸)、88(絲胺酸)、93(蘇胺酸)、113(纈胺酸)、114(甲硫胺酸)被分別置換為精胺酸、丙胺酸、丙胺酸、甘胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、離胺酸、丙胺酸、纈胺酸、蘇胺酸、白胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 H 鏈的可變區域被命名為「MAb1H5」(序列編號 95 之胺基酸序列：序列編號 76；第 44 圖)。在本發明中亦簡稱為「H5」。

【0284】伴隨從序列表之序列編號 19 所示之 MAb1 之 H 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 19(離胺酸)、23(纈胺酸)、42(離胺酸)、74(絲胺酸)、75(丙胺酸)、77(絲胺酸)、82(麩醯胺酸)、88(絲胺酸)、93(蘇胺酸)、113(纈胺酸)、114(甲硫胺酸)被分別置換為精胺酸、丙胺酸、甘胺酸、天冬醯胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、離胺

酸、丙胺酸、纈胺酸、蘇胺酸、白胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 H 鏈的可變區域被命名為「MAb1H6」(序列編號 96 之胺基酸序列：序列編號 77；第 45 圖)。在本發明中亦簡稱為「H6」。

【0285】伴隨從序列表之序列編號 19 所示之 MAb1 之 H 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 19(離胺酸)、23(纈胺酸)、42(離胺酸)、75(丙胺酸)、77(絲胺酸)、88(絲胺酸)、93(蘇胺酸)、113(纈胺酸)、114(甲硫胺酸)被分別置換為精胺酸、丙胺酸、甘胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、丙胺酸、纈胺酸、蘇胺酸、白胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 H 鏈的可變區域被命名為「MAb1H7」(序列編號 97 之胺基酸序列：序列編號 78；第 46 圖)。在本發明中亦簡稱為「H7」。

【0286】伴隨從序列表之序列編號 19 所示之 MAb1 之 H 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 19(離胺酸)、23(纈胺酸)、24(甘胺酸)、42(離胺酸)、49(丙胺酸)、75(丙胺酸)、77(絲胺酸)、82(麩醯胺酸)、88(絲胺酸)、93(蘇胺酸)、113(纈胺酸)、114(甲硫胺酸)被分別置換為精胺酸、丙胺酸、丙胺酸、甘胺酸、絲胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、離胺酸、丙胺酸、纈胺酸、蘇胺酸、白胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 H 鏈的可變區域被命名為「MAb1H8」(序列編號 98 之胺基酸序列：序列編號 79；第 47 圖)。在本發明中亦簡稱為「H8」。

【0287】伴隨從序列表之序列編號 19 所示之 MAb1 之 H 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 13(麩醯胺

酸)、16(精胺酸)、19(離胺酸)、23(纈胺酸)、24(甘胺酸)、42(離胺酸)、75(丙胺酸)、77(絲胺酸)、82(麩醯胺酸)、88(絲胺酸)、93(蘇胺酸)、113(纈胺酸)、114(甲硫胺酸)被分別置換為離胺酸、甘胺酸、精胺酸、丙胺酸、丙胺酸、甘胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、離胺酸、丙胺酸、纈胺酸、蘇胺酸、白胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 H 鏈的可變區域被命名為「MAb1H9」(序列編號 99 之胺基酸序列：序列編號 80；第 48 圖)。在本發明中亦簡稱為「H9」。

【0288】伴隨從序列表之序列編號 19 所示之 MAb1 之 H 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 13(麩醯胺酸)、16(精胺酸)、19(離胺酸)、23(纈胺酸)、24(甘胺酸)、42(離胺酸)、49(丙胺酸)、75(丙胺酸)、77(絲胺酸)、82(麩醯胺酸)、88(絲胺酸)、93(蘇胺酸)、113(纈胺酸)、114(甲硫胺酸)被分別置換為離胺酸、甘胺酸、精胺酸、丙胺酸、丙胺酸、甘胺酸、絲胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、離胺酸、丙胺酸、纈胺酸、蘇胺酸、白胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 H 鏈的可變區域被命名為「MAb1H10」。在本發明中亦簡稱為「H10」(序列編號 100 之胺基酸序列：序列編號 81；第 49 圖)。

【0289】伴隨從列表之序列編號 21 所示之 MAb1 之 L 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 9(丙胺酸)、15(白胺酸)、17(麩胺酸)、18(蘇胺酸)、22(麩胺酸)、43(絲胺酸)、45(麩醯胺酸)、70(麩醯胺酸)、72(絲胺酸)、74(離胺酸)、76(天冬醯胺酸)、77(絲胺酸)、80(絲胺酸)、83(纈

胺酸)、84(絲胺酸)、85(異白胺酸)、87(苯基丙胺酸)、100(丙胺酸)、102(丙胺酸)、104(白胺酸)、106(白胺酸)、109(丙胺酸)被分別置換為絲胺酸、纈胺酸、天冬胺酸、精胺酸、蘇胺酸、丙胺酸、離胺酸、天冬胺酸、蘇胺酸、蘇胺酸、絲胺酸、精胺酸、脯胺酸、苯基丙胺酸、丙胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、麩醯胺酸、蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸、蘇胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 L 鏈的可變區域被命名為「MAb1L1」(序列編號 103 之胺基酸序列：序列編號 82；第 50 圖)。在本發明中亦簡稱為「L1」。

【0290】伴隨從列表之序列編號 21 所示之 MAb1 之 L 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 9(丙胺酸)、15(白胺酸)、17(麩胺酸)、18(蘇胺酸)、22(麩胺酸)、45(麩醯胺酸)、70(麩醯胺酸)、72(絲胺酸)、74(離胺酸)、76(天冬醯胺酸)、77(絲胺酸)、80(絲胺酸)、83(纈胺酸)、84(絲胺酸)、85(異白胺酸)、87(苯基丙胺酸)、100(丙胺酸)、102(丙胺酸)、104(白胺酸)、106(白胺酸)、109(丙胺酸)被分別置換為絲胺酸、纈胺酸、天冬胺酸、精胺酸、蘇胺酸、離胺酸、天冬胺酸、蘇胺酸、蘇胺酸、絲胺酸、精胺酸、脯胺酸、苯基丙胺酸、丙胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、麩醯胺酸、蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸、蘇胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 L 鏈的可變區域被命名為「MAb1L2」(序列編號 104 之胺基酸序列：序列編號 83；第 51 圖)。在本發明中亦簡稱為「L2」。

【0291】伴隨從列表之序列編號 21 所示之 MAb1 之 L 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 9(丙胺酸)、

15(白胺酸)、17(麩胺酸)、18(蘇胺酸)、22(麩胺酸)、70(麩醯胺酸)、72(絲胺酸)、74(離胺酸)、76(天冬醯胺酸)、77(絲胺酸)、80(絲胺酸)、83(纈胺酸)、84(絲胺酸)、85(異白胺酸)、100(丙胺酸)、102(丙胺酸)、104(白胺酸)、106(白胺酸)、109(丙胺酸)被分別置換為絲胺酸、纈胺酸、天冬胺酸、精胺酸、蘇胺酸、天冬胺酸、蘇胺酸、蘇胺酸、絲胺酸、精胺酸、脯胺酸、苯基丙胺酸、丙胺酸、蘇胺酸、麩醯胺酸、蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸、蘇胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 L 鏈的可變區域被命名為「MAb1L3」(序列編號 105 之胺基酸序列：序列編號 84；第 52 圖)。在本發明中亦簡稱為「L3」。

【0292】伴隨從列表之序列編號 21 所示之 MAb1 之 L 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 9(丙胺酸)、15(白胺酸)、17(麩胺酸)、18(蘇胺酸)、22(麩胺酸)、70(麩醯胺酸)、72(絲胺酸)、74(離胺酸)、76(天冬醯胺酸)、77(絲胺酸)、80(絲胺酸)、83(纈胺酸)、84(絲胺酸)、85(異白胺酸)、100(丙胺酸)、102(丙胺酸)、106(白胺酸)、109(丙胺酸)被分別置換為絲胺酸、纈胺酸、天冬胺酸、精胺酸、蘇胺酸、天冬胺酸、蘇胺酸、蘇胺酸、絲胺酸、精胺酸、脯胺酸、苯基丙胺酸、丙胺酸、蘇胺酸、麩醯胺酸、蘇胺酸、異白胺酸、蘇胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 L 鏈的可變區域被命名為「MAb1L4」(序列編號 106 之胺基酸序列：序列編號 85；第 53 圖)。在本發明中亦簡稱為「L4」。

【0293】伴隨從列表之序列編號 21 所示之 MAb1 之 L 鏈的可變區域之 N 末端算起之胺基酸編號 9(丙胺酸)、15(白胺酸)、17(麩胺酸)、18(蘇胺酸)、22(麩胺酸)、45(麩醯胺酸)、70(麩醯胺酸)、72(絲胺酸)、74(離胺酸)、76(天冬醯胺酸)、80(絲胺酸)、83(纈胺酸)、84(絲胺酸)、85(異白胺酸)、87(苯基丙胺酸)、100(丙胺酸)、102(丙胺酸)、104(白胺酸)、106(白胺酸)、109(丙胺酸)被分別置換為絲胺酸、纈胺酸、天冬胺酸、精胺酸、蘇胺酸、離胺酸、天冬胺酸、蘇胺酸、蘇胺酸、絲胺酸、脯胺酸、苯基丙胺酸、丙胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、麩醯胺酸、蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸、蘇胺酸而設計成之人型化 MAb1 之 L 鏈的可變區域被命名為「MAb1L5」(序列編號 107 之胺基酸序列：序列編號 86；第 54 圖)。在本發明中亦簡稱為「L5」。

b) 人型化抗體重鏈表現用載體之構築

【0294】化學合成以序列表之序列編號 87(第 55 圖)之鹼基序列所示之編碼人類 IgG1 之重鏈恆定區域的 cDNA，藉由用其做為模板，並使用分別以序列表之序列編號 89 及 90(第 56 圖及 57)的鹼基序列所示之 2 種引子進行 PCR，取得包含小鼠 IgM 信號序列及人類 IgG1 基因之重鏈恆定區域的 DNA 片段(以下稱為「CH 片段」)。將所得到之 CH 片段插在動物細胞用之表現載體的 CMV 啟動子與胸苷激酶基因之 polyA 附加信號之間，構築成組入有人型化抗體之重鏈恆定區域的載體 pIgG1-CH。

【0295】關於人類 IgG1 基因之重鏈可變區域，藉由化學合成在實施例 10a-2 中所設計之 10 個編碼候補序列之胺基酸序列的 cDNA(序列表之序列編號 91 至 100; 第 58 至 67 圖)，或用 PCR 法導入變異而調製，藉由將所得到之編碼可變區域的 cDNA 斷片插入在前述之 pIgG1-CH 之小鼠 IgM 信號序列與人類 IgG1 之重鏈恆定區域之間所設計之限制酵素 Eco47III 識別部位，製成分別表現成爲人型化 MAbl 之候補之重鏈蛋白 MAblH1 至 H10 的載體。將所得到之表現載體分別命名爲「pMAbl-H1」、
「pMAbl-H2」、「pMAbl-H3」、「pMAbl-H4」、
「pMAbl-H5」、「pMAbl-H6」、「pMAbl-H7」、
「pMAbl-H8」、「pMAbl-H9」及「pMAbl-H10」。

【0296】關於人型化 MAbl 抗體之重鏈蛋白之表現載體之製作順序，於第 37 圖中展現其概況。

c) 人型化抗體輕鏈表現用載體之構築

【0297】藉由化學合成編碼實施例 10a-2 中所設計之 5 個候補序列之胺基酸序列的 cDNA(序列表之序列編號 103 至 107; 分別表示第 69 至 73 圖之鹼基序列)，或用 PCR 法導入變異，而調製成人型化 MAbl 基因之輕鏈可變區域之 DNA 斷片。與實施例 10b 同樣地，藉由在 CMV 啓動子之控制下，於 IgM 信號序列與胸苷激酶之基因的 polyA 附加信號序列之間插入編碼前述輕鏈可變區域之 DNA 斷片及以序列表之序列編號 101(第 68 圖)的鹼基序列所示之化學合成之人類 IgG1 之輕鏈恆定區域的 cDNA 片段(以下稱爲「CL 片段」)，製成分別表現成爲人型化

MAb1 候補之輕鏈蛋白 MAb1L1 至 L5 的載體。將所得之表現載體分別命名為「pMAb1-L1」、「pMAb1-L2」、「pMAb1-L3」、「pMAb1-L4」、及「pMAb1-L5」。

d)人型化抗體之調製

【0298】爲了確認藉由實施例 10b 及 10c 中所製作之人型化 MAb1 之重鏈及輕鏈之表現載體所表現之由重鏈及輕鏈所構成之人型化 MAb1 的功能，將人型化 MAb1 之重鏈蛋白及輕鏈蛋白的表現載體各 1 種以第 35 圖所示之組合方式混合，並藉由轉染法導入對數增殖期之 HEK293 細胞，於 37°C 培養 4 至 5 日使其暫時性地表現後，回收培養上清液。將所得之培養上清液添加於 ProteinA 親和管柱層析，用 PBS 洗淨後，以 0.1M 甘胺酸鹽酸緩衝液 (pH2.8) 將含有抗體之部分溶出。在溶出液中添加爲其液量之 1/10 體積的 1M Tris 鹽酸緩衝液，使之中和，並以超過濾法置換成 PBS 或組胺酸緩衝液。

【0299】經精製之各個人型化 MAb1 之精製試料的濃度係使用光度計測定於 280nm 之吸光度並根據人類 IgG 抗體之分子吸光係數 13.8 而算出。

e)人型化抗體對 RX 蛋白之結合親和性的測定

【0300】人型化 MAb1 與 RX 蛋白之結合親和性係藉由 SPR 法測定。亦即，在 ProteOn XPR36 (Bio-Rad Laboratories 公司) 之 GLM 感測片上，藉由胺偶合法將蛋白質 A 與蛋白質 G 之融合蛋白質 ProteinA/G (Thermo Fisher Scientific 公司) 固定化，繼而添加各個人型化 MAb1，使其被固定化之蛋白質 A/G 捕捉。繼而，添加

RX 蛋白質，從結合及解離時所產生之感應圖 (sensorgram) 的變化，使用解析軟體 (ProteOn Manager version 3.0.1) 求取結合速度常數、及解離速度常數，並從其比率算出解離常數，亦即結合親和性。將各個人型化 MAb1 對 RX 蛋白質之結合親和性示於第 36 圖。

實施例 11. 針對 RX 蛋白質之 ELISA 測定法之構築

【0301】爲了提供簡便測定 RX 蛋白質的方法，就關於藉由直接吸附法之 ELISA 測定進行檢討。將實施例 2b 中精製之 RX 蛋白質以 2 倍稀釋成指定的濃度，在高結合型免疫檢定用微培養盤 (Coaster 公司；型號 3590) 上固定化，並使用 Block Ace (DS Pharmo Biomedical 公司) 封阻。以含有 0.1% Tween20 之 PBS 充分進行洗淨作業後，添加濃度 $1\mu\text{g/ml}$ 之爲檢測用抗體之經生物素標識之 MAb2 及 MAb3。接著，以含有 0.1% Tween20 之 PBS 充分進行洗淨作業後，與經 HRP 標識之鏈黴抗生物素蛋白 (streptavidin) 作用，進一步以含有 0.1% Tween20 之 PBS 充分進行洗淨作業後，使其與顯色基質 TMB 反應，用 0.1N 鹽酸停止顯色反應後，測定於波長 450nm 之吸收。使用實施例 2b 中精製之 RX 蛋白質所製作之校正曲線係如第 38 圖與第 39 圖所示，在使用 MAb2 及 MAb3 時，分別於 6.25ng/ml 至 400ng/ml 及 6.25ng/ml 至 200ng/ml 之範圍內可得到直線性。

實施例 12. 人型化單株抗體在關節炎小鼠模型中之藥效

【0302】關於在實施例 10d 中所記載之人型化 MAb1 中之 5 種，爲了確認其在關節炎小鼠模型中之藥效，藉由於 10L 之培養液中暫時性表現來調製各種抗體。關節炎抑制作用係依照在實施例 6a 及 6b 中所記載之方法評價。其結果，任一個人型化 MAb1 投與群，與對照 IgG 抗體投與群相較，均可見顯著之關節炎的抑制。第 74 圖顯示致敏後第 49 日之各群的關節炎分數。有意義差檢定係藉由威爾科克森試驗 (Wilcoxon's-test) 法與對照 IgG 投與群比較而進行 (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$)。誤差線表示標準誤差 (SE)。

實施例 13. 單株抗體 MAb4 之取得及其在關節炎小鼠模型中之藥效

【0303】於實施例 2c 中所記載之 MAb2 及 MAb3 之製作時，藉由使用 ADSF 細胞代替精製蛋白質做爲抗原，得到 MAb4。根據實施例 3 之方法，解讀 MAb4 抗體之重鏈及輕鏈的 DNA 鹼基序列。將 MAb4 之重鏈可變區域之 DNA 鹼基序列示於序列表之序列編號 108(第 75 圖)，將該抗體之重鏈可變區域之胺基酸序列示於序列表之序列編號 109(第 76 圖)，將 MAb4 之輕鏈可變區域之 DNA 鹼基序列示於序列表之序列編號 110(第 77 圖)，將該抗體之輕鏈可變區域之胺基酸序列示於序列表之序列編號 111(第 78 圖)。將 MAb4 之 CDR 之胺基酸序列示於第 79 圖(序列編號 112 至 117)。

【0304】藉由實施例 4 所記載之方法，測定 MAb4 對 RX 蛋白質之結合親和性。其結果，MAb4 對 RX 蛋白質之結合親和性爲 $1.4 \times 10^{-10} \text{M}$ 。

【0305】MAb4 之膠原誘發性關節炎小鼠模型中之關節炎抑制作用係依照實施例 6a 及 6b 之方法驗證。其結果，MAb4 投與群(黑圓)，相對於對照 IgG 投與群(白三角)，可見顯著之關節炎的抑制(第 80 圖)。有意義差檢定係藉由威爾科克森試驗(Wilcoxon's-test)法，與對照 IgG 抗體投與群比較而進行(* : $p < 0.05$)。誤差線表示標準誤差(SE)。

【0306】用實施例 11 所記載之方法來檢討藉由使用 MAb4 的 RX 蛋白質之直接吸收法所進行的 ELISA 測定。其結果，如第 81 圖所示，在 6.25ng/ml 至 200ng/ml 之範圍內得到直線性。

實施例 14 MAb1 在炎症患部中之細胞激素產生之抑制作用

【0307】從實施例 12 之實驗終了時之各小鼠摘出四肢並凍結，使用 Shake Master NEO(Biomedical Science 公司)將組織破碎。在每 1mg 破碎組織中添加 5 μ l 之細胞溶解緩衝液(Cell lysis buffer, BioRad 公司)並萃取，以於 4 $^{\circ}$ C，離心 10 分鐘 3 次之上清液做為均質液樣本。將各均質液樣本以 PBS 稀釋 3 倍，並使用 Bio-plex Pro Cytokine Assay 10 plex(BioRad 公司)測定細胞激素・趨化素之產生量。將 IL-6 之結果示於第 82 圖，將 MCP-1 之結果示於第 83 圖。其結果，可確認人型化 MAb1 有意義地抑制炎症性細胞激素或趨化素之產生。有意義差檢定係藉由威爾科克森試驗(Wilcoxon's-test)法，與對照 IgG 抗體投與群比較而進行 (** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$)。

vs 對照 IgG)。再者，關於對照 IgG 抗體投與群，顯示相較於無處理(正常)群之有意義差檢定結果(## : $p < 0.01$ vs 正常群)。誤差線表示標準誤差(SE)。

產業上之可利用性

【0308】藉由使用本發明所提供之抗體，可進行 RA 等自體免疫疾病、關節炎等之治療或預防，及 RA 等之檢查或診斷。

【0309】

序列表自由正文(free text)

序列編號 1：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 1(第 5 圖)

序列編號 2：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 2(第 5 圖)

序列編號 3：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 3(第 5 圖)

序列編號 4：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 4(第 5 圖)

序列編號 5：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 5(第 5 圖)

序列編號 6：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 6(第 5 圖)

序列編號 7：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 7(第 5 圖)

序列編號 8：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 8(第 5 圖)

序列編號 9：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 9(第 5 圖)

序列編號 10：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 10(第 5 圖)

序列編號 11：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 11(第 5 圖)

序列編號 12：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 12(第 5 圖)

序列編號 13：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 13(第 5 圖)

序列編號 14：編碼來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質 gp73ED 的基因之鹼基序列(第 24 圖)。即從序列編號 60 之鹼基序列，削除相當於信號序列部分(序列編號 60 之核苷酸編號 1 至 294)及 3'-末端之 111 鹼基(終止密碼子除外：序列編號 60 之核苷酸編號 1954 至 2064)者。

序列編號 15：來自 ADSF 細胞之 RX 蛋白質 gp73ED 之胺基酸序列(第 25 圖)。從序列編號 61 之胺基酸序列削除信號序列(序列編號 61 之胺基酸編號 1 至 98)及 C 末端之 37 胺基酸(序列編號 61 之胺基酸編號 652 至 688)者。

序列編號 16：(大鼠)抗體序列解析用引子 CH-R1

序列編號 17：(大鼠)抗體序列解析用引子 CLK-R1

序列編號 18：編碼 MAbl 重鏈之 cDNA 的鹼基序列(第 15 圖)

序列編號 19：MAbl 重鏈之胺基酸序列(第 16 圖)

序列編號 20：編碼 MAb1 輕鏈之 cDNA 的鹼基序列
(第 17 圖)

序列編號 21：MAb1 輕鏈之胺基酸序列(第 18 圖)

序列編號 22：MAb1 重鏈 CDRH1 之胺基酸序列(第
23 圖)

序列編號 23：MAb1 重鏈 CDRH2 之胺基酸序列(第
23 圖)

序列編號 24：MAb1 重鏈 CDRH3 之胺基酸序列(第
23 圖)

序列編號 25：MAb1 輕鏈 CDRL1 之胺基酸序列(第
23 圖)

序列編號 26：MAb1 輕鏈 CDRL2 之胺基酸序列(第
23 圖)

序列編號 27：MAb1 輕鏈 CDRL3 之胺基酸序列(第
23 圖)

序列編號 28：(小鼠)抗體序列解析用引子 HF

序列編號 29：(小鼠)抗體序列解析用引子 HR

序列編號 30：(小鼠)抗體序列解析用引子 LF

序列編號 31：(小鼠)抗體序列解析用引子 LR

序列編號 32：編碼 MAb2 重鏈可變區域的 cDNA 之
鹼基序列(第 19 圖)

序列編號 33：MAb2 重鏈可變區域之胺基酸序列(第
20 圖)

序列編號 34：編碼 MAb2 輕鏈可變區域的 cDNA 之
鹼基序列(第 21 圖)

序列編號 35：MAb2 輕鏈可變區域之胺基酸序列(第 22 圖)

序列編號 36：MAb2 重鏈 CDRH1 之胺基酸序列(第 23 圖)

序列編號 37：MAb2 重鏈 CDRH2 之胺基酸序列(第 23 圖)

序列編號 38：MAb2 重鏈 CDRH3 之胺基酸序列(第 23 圖)

序列編號 39：MAb2 輕鏈 CDRL1 之胺基酸序列(第 23 圖)

序列編號 40：MAb2 輕鏈 CDRL2 之胺基酸序列(第 23 圖)

序列編號 41：MAb2 輕鏈 CDRL3 之胺基酸序列(第 23 圖)

序列編號 42：來自 RA 患者血漿之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 1(第 11 圖)

序列編號 43：來自 RA 患者血漿之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 2(第 11 圖)

序列編號 44：來自 RA 患者血漿之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 3(第 11 圖)

序列編號 45：來自 RA 患者血漿之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 4(第 11 圖)

序列編號 46：來自 RA 患者血漿之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 5(第 11 圖)

序列編號 47：來自 RA 患者血漿之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 6(第 11 圖)

序列編號 48：來自 RA 患者血漿之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 7(第 11 圖)

序列編號 49：來自 RA 患者血漿之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 8(第 11 圖)

序列編號 50：來自 RA 患者血漿之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 9(第 11 圖)

序列編號 51：來自 RA 患者血漿之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 10(第 11 圖)

● 序列編號 52：來自 RA 患者血漿之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 11(第 11 圖)

序列編號 53：RX 蛋白質基因之 PCR 解析用引子 1

序列編號 54：RX 蛋白質基因之 PCR 解析用引子 2

序列編號 55：RX 蛋白質基因之南方轉漬檢測用探針

序列編號 56：來自 RA 患者之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 1(第 12 圖之 No. 1)

● 序列編號 57：來自 RA 患者之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 2(第 12 圖之 No. 2)

序列編號 58：來自 RA 患者之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 3(第 12 圖之 No. 3)

序列編號 59：來自 RA 患者之 RX 蛋白質的部分胺基酸序列 4(第 12 圖之 No. 4)

序列編號 60：編碼包含來自 ADSF 細胞之信號序列及 C 末端序列之 RX 蛋白質前驅體之胺基酸序列的基因之鹼基序列(第 28 圖)

序列編號 61：包含來自 ADSF 細胞之信號序列及 C 末端序列之 RX 蛋白質前驅體之胺基酸序列(第 29 圖)

序列編號 62：編碼 MAb3 重鏈可變區域的 cDNA 之鹼基序列(第 30 圖)

序列編號 63：MAb3 重鏈可變區域之胺基酸序列(第 31 圖)

序列編號 64：編碼 MAb3 輕鏈可變區域的 cDNA 之鹼基序列(第 32 圖)

序列編號 65：MAb3 輕鏈可變區域之胺基酸序列(第 33 圖)

序列編號 66：MAb3 重鏈 CDRH1 之胺基酸序列(第 23 圖)

序列編號 67：MAb3 重鏈 CDRH2 之胺基酸序列(第 23 圖)

序列編號 68：MAb3 重鏈 CDRH3 之胺基酸序列(第 23 圖)

序列編號 69：MAb3 輕鏈 CDRL1 之胺基酸序列(第 23 圖)

序列編號 70：MAb3 輕鏈 CDRL2 之胺基酸序列(第 23 圖)

序列編號 71：MAb3 輕鏈 CDRL3 之胺基酸序列(第 23 圖)

序列編號 72：人型化 MAb1 重鏈 H1 之可變區域的胺基酸序列(第 40 圖)

序列編號 73：人型化 MAb1 重鏈 H2 之可變區域的胺基酸序列(第 41 圖)

序列編號 74：人型化 MAb1 重鏈 H3 之可變區域的
胺基酸序列(第 42 圖)

序列編號 75：人型化 MAb1 重鏈 H4 之可變區域的
胺基酸序列(第 43 圖)

序列編號 76：人型化 MAb1 重鏈 H5 之可變區域的
胺基酸序列(第 44 圖)

序列編號 77：人型化 MAb1 重鏈 H6 之可變區域的
胺基酸序列(第 45 圖)

序列編號 78：人型化 MAb1 重鏈 H7 之可變區域的
胺基酸序列(第 46 圖)

序列編號 79：人型化 MAb1 重鏈 H8 之可變區域的
胺基酸序列(第 47 圖)

序列編號 80：人型化 MAb1 重鏈 H9 之可變區域的
胺基酸序列(第 48 圖)

序列編號 81：人型化 MAb1 重鏈 H10 之可變區域的
胺基酸序列(第 49 圖)

序列編號 82：人型化 MAb1 輕鏈 L1 之可變區域的
胺基酸序列(第 50 圖)

序列編號 83：人型化 MAb1 輕鏈 L2 之可變區域的
胺基酸序列(第 51 圖)

序列編號 84：人型化 MAb1 輕鏈 L3 之可變區域的
胺基酸序列(第 52 圖)

序列編號 85：人型化 MAb1 輕鏈 L4 之可變區域的
胺基酸序列(第 53 圖)

序列編號 86：人型化 MAb1 輕鏈 L5 之可變區域的
胺基酸序列(第 54 圖)

序列編號 87：編碼人類 IgG1 之重鏈恆定區域之胺
基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 55 圖)

序列編號 88：人類 IgG1 之重鏈恆定區域之胺基酸
序列

序列編號 89：人類 IgG1 重鏈恆定區域之增幅用引
子 F 的鹼基序列(第 56 圖)

序列編號 90：人類 IgG1 重鏈恆定區域之增幅用引
子 R 的鹼基序列(第 57 圖)

序列編號 91：編碼人型化 MAb1 重鏈 H1 之可變區
域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 58 圖)

序列編號 92：編碼人型化 MAb1 重鏈 H2 之可變區
域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 59 圖)

序列編號 93：編碼人型化 MAb1 重鏈 H3 之可變區
域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 60 圖)

序列編號 94：編碼人型化 MAb1 重鏈 H4 之可變區
域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 61 圖)

序列編號 95：編碼人型化 MAb1 重鏈 H5 之可變區
域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 62 圖)

序列編號 96：編碼人型化 MAb1 重鏈 H6 之可變區
域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 63 圖)

序列編號 97：編碼人型化 MAb1 重鏈 H7 之可變區
域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 64 圖)

序列編號 98：編碼人型化 MAb1 重鏈 H8 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 65 圖)

序列編號 99：編碼人型化 MAb1 重鏈 H9 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 66 圖)

序列編號 100：編碼人型化 MAb1 重鏈 H10 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 67 圖)

序列編號 101：編碼人類 IgG1 之輕鏈恆定區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 68 圖)

序列編號 102：人類 IgG1 之輕鏈恆定區域之胺基酸序列

序列編號 103：編碼人型化 MAb1 輕鏈 L1 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 69 圖)

序列編號 104：編碼人型化 MAb1 輕鏈 L2 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 70 圖)

序列編號 105：編碼人型化 MAb1 輕鏈 L3 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 71 圖)

序列編號 106：編碼人型化 MAb1 輕鏈 L4 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 72 圖)

序列編號 107：編碼人型化 MAb1 輕鏈 L5 之可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 73 圖)

序列編號 108：編碼 MAb4 重鏈可變區域之胺基酸序列的 cDNA 之鹼基序列(第 75 圖)

序列編號 109：MAb4 重鏈可變區域之胺基酸序列(第 76 圖)

序列編號 110：編碼 MA**b**4 輕鏈可變區域之胺基酸序列之 cDNA 的鹼基序列(第 77 圖)

序列編號 111：MA**b**4 輕鏈可變區域之胺基酸序列(第 78 圖)

序列編號 112：MA**b**4 重鏈 CDRH1 之胺基酸序列(第 79 圖)

序列編號 113：MA**b**4 重鏈 CDRH2 之胺基酸序列(第 79 圖)

序列編號 114：MA**b**4 重鏈 CDRH3 之胺基酸序列(第 79 圖)

序列編號 115：MA**b**4 重鏈 CDRL1 之胺基酸序列(第 79 圖)

序列編號 116：MA**b**4 重鏈 CDRL2 之胺基酸序列(第 79 圖)

序列編號 117：MA**b**4 重鏈 CDRL3 之胺基酸序列(第 79 圖)

【符號說明】

無。

序列表

<110> 第一三共股份有限公司

<120> 新穎抗體及其用途

<130> FP1327

<150> JP2012-112029

<151> 2012-05-16

<160> 117

<170> PatentIn 第 3.5 版

<210> 1

<211> 25

<212> PRT

<213> 未知(Unknown)

<220>

<223> 採自細胞株

<400> 1

Glu Ser Tyr Trp Ala Tyr Leu Pro Lys Pro Pro Ile Leu His Pro Val
1 5 10 15

Gly Trp Gly Ser Thr Asp Pro Ile Arg
20 25

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 採自細胞株

<400> 2

Met Trp Glu Leu Trp Leu Thr Thr Leu Gly Asn Ser Gly Ala Asn Thr
1 5 10 15

Lys

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 採自細胞株

<220>
<221> X
<222> (4)..(4)
<223> X 爲胺甲醯基甲基半胱氨酸(Carbamidomethyl cysteine)

<400> 3

Tyr Pro His Xaa Gln Ile Ala Phe Lys
1 5

<210> 4
<211> 13
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自細胞株

<400> 4

Asp Ala Phe Trp Glu Gly Asp Glu Ser Ala Pro Pro Arg
1 5 10

<210> 5
<211> 23
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自細胞株

<400> 5

Gly Ala Leu Gly Leu Leu Trp Asp Phe Ser Leu Pro Ser Pro Ser Val
1 5 10 15

Asp Gln Ser Asp Gln Ile Lys
20

<210> 6
<211> 18
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自細胞株

<400> 6

Trp Tyr Glu Ala Gly Trp Val Glu Pro Thr Trp Phe Trp Glu Asn Ser
1 5 10 15

Pro Lys

<210> 7
<211> 18
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自細胞株

<400> 7

Asp Pro Asn Asp Arg Asp Phe Thr Ala Leu Val Pro His Thr Glu Leu
1 5 10 15

Phe Arg

<210> 8
<211> 13
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自細胞株

<400> 8

Asp Phe Thr Ala Leu Val Pro His Thr Glu Leu Phe Arg
1 5 10

<210> 9
<211> 34
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自細胞株

<220>
<221> X
<222> (15).. (15)
<223> X 為胺甲醯基甲基半胱胺酸

<400> 9

Arg Pro Gly Phe Gln Glu His Glu Met Ile Pro Thr Ser Ala Xaa Val
1 5 10 15

Thr Tyr Pro Tyr Ala Ile Leu Leu Gly Leu Pro Gln Leu Ile Asp Ile
20 25 30

201400501

Glu Lys

<210> 10
<211> 12
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自細胞株

<220>
<221> X
<222> (8)..(8)
<223> X 爲胺甲醯基甲基半胱胺酸

<220>
<221> X
<222> (11)..(11)
<223> X 爲胺甲醯基甲基半胱胺酸

<400> 10

Gly Ser Thr Phe His Ile Ser Xaa Ser Ser Xaa Arg
1 5 10

<210> 11
<211> 18
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自細胞株

<220>
<221> X
<222> (4)..(4)
<223> X 爲胺甲醯基甲基半胱胺酸

<400> 11

Leu Thr Asn Xaa Leu Asp Ser Ser Ala Tyr Asp Tyr Ala Ala Ile Ile
1 5 10 15

Val Lys

<210> 12
<211> 26
<212> PRT
<213> 未知

<220>

201400501

<223> 採自細胞株

<400> 12

Arg Pro Pro Tyr Val Leu Leu Pro Val Asp Ile Gly Asp Glu Pro Trp
1 5 10 15

Phe Asp Asp Ser Ala Ile Gln Thr Phe Arg
20 25

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 採自細胞株

<400> 13

Tyr Ala Thr Asp Leu Ile Arg
1 5

<210> 14

<211> 1662

<212> DNA

<213> 未知

<220>

<223> 採自細胞株

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1662)

<400> 14

gaa agt tat tgg gct tac cta cct aaa cca cct att ctc cat ccc gtg 48
Glu Ser Tyr Trp Ala Tyr Leu Pro Lys Pro Pro Ile Leu His Pro Val
1 5 10 15

gga tgg gga agt aca gac ccc att aga gtt ctg acc aat caa acc atg 96
Gly Trp Gly Ser Thr Asp Pro Ile Arg Val Leu Thr Asn Gln Thr Met
20 25 30

tat ttg ggt ggg tcg cct gac ttt cac ggg ttt aga aac atg tct ggc 144
Tyr Leu Gly Gly Ser Pro Asp Phe His Gly Phe Arg Asn Met Ser Gly
35 40 45

aat gta cat ttt gag ggg aag tct gat acg ctc ccc att tgc ttt tcc 192
Asn Val His Phe Glu Gly Lys Ser Asp Thr Leu Pro Ile Cys Phe Ser
50 55 60

ttc tcc ttt tct acc ccc acg ggc tgc ttt caa gta gat aag caa gta 240
Phe Ser Phe Ser Thr Pro Thr Gly Cys Phe Gln Val Asp Lys Gln Val
65 70 75 80

ttt ctt tct gat aca ccc acg gtt gat aat aat aaa cct ggg gga aag Phe Leu Ser Asp Thr Pro Thr Val Asp Asn Asn Lys Pro Gly Gly Lys 85 90 95	288
ggt gat aaa agg cgt atg tgg gaa ctt tgg ttg act act ttg ggg aac Gly Asp Lys Arg Arg Met Trp Glu Leu Trp Leu Thr Thr Leu Gly Asn 100 105 110	336
tca ggg gcc aat aca aaa ctg gtc cct ata aaa aag aag ttg ccc ccc Ser Gly Ala Asn Thr Lys Leu Val Pro Ile Lys Lys Lys Leu Pro Pro 115 120 125	384
aaa tat cct cac tgc cag atc gcc ttt aag aag gac gcc ttc tgg gag Lys Tyr Pro His Cys Gln Ile Ala Phe Lys Lys Asp Ala Phe Trp Glu 130 135 140	432
gga gac gag tct gct cct cca cgg tgg ttg cct tgc gcc ttc cct gac Gly Asp Glu Ser Ala Pro Pro Arg Trp Leu Pro Cys Ala Phe Pro Asp 145 150 155 160	480
cag ggg gtg agt ttt tct cca aga ggg gcc ctt ggg tta ctt tgg gat Gln Gly Val Ser Phe Ser Pro Arg Gly Ala Leu Gly Leu Leu Trp Asp 165 170 175	528
ttc tcc ctt ccc tcg cct agt gta gat cag tca gat cag att aaa agc Phe Ser Leu Pro Ser Pro Ser Val Asp Gln Ser Asp Gln Ile Lys Ser 180 185 190	576
aaa aag gat ctc ttt gga aat tat act ccc cct gtc aat aaa gag gtt Lys Lys Asp Leu Phe Gly Asn Tyr Thr Pro Pro Val Asn Lys Glu Val 195 200 205	624
cat cga tgg tat gaa gca gga tgg gta gaa cct aca tgg ttc tgg gaa His Arg Trp Tyr Glu Ala Gly Trp Val Glu Pro Thr Trp Phe Trp Glu 210 215 220	672
aat tct cct aag gat ccc aat gat aga gat ttt act gct cta gtt ccc Asn Ser Pro Lys Asp Pro Asn Asp Arg Asp Phe Thr Ala Leu Val Pro 225 230 235 240	720
cat aca gaa ttg ttt cgc tta gtt gca gcc tca aga cat ctt att ctc His Thr Glu Leu Phe Arg Leu Val Ala Ala Ser Arg His Leu Ile Leu 245 250 255	768
aaa agg cca gga ttt caa gaa cat gaa atg att cct aca tct gcc tgt Lys Arg Pro Gly Phe Gln Glu His Glu Met Ile Pro Thr Ser Ala Cys 260 265 270	816
gtt act tac cct tat gcc ata tta tta gga tta cct cag cta ata gat Val Thr Tyr Pro Tyr Ala Ile Leu Leu Gly Leu Pro Gln Leu Ile Asp 275 280 285	864
ata gag aaa aga gga tct act ttt cat att tcc tgt tct tct tgt aga Ile Glu Lys Arg Gly Ser Thr Phe His Ile Ser Cys Ser Ser Cys Arg 290 295 300	912
ttg act aat tgt tta gat tct tct gcc tac gac tat gca gcg atc ata Leu Thr Asn Cys Leu Asp Ser Ser Ala Tyr Asp Tyr Ala Ala Ile Ile	960

305	310	315	320	
gtc aag agg ccg cca tac gtg ctg cta cct gta gat att ggt gat gaa				1008
Val Lys Arg Pro Pro Tyr Val Leu Leu Pro Val Asp Ile Gly Asp Glu	325	330	335	
cca tgg ttt gat gat tct gcc att caa acc ttt agg tat gcc aca gat				1056
Pro Trp Phe Asp Asp Ser Ala Ile Gln Thr Phe Arg Tyr Ala Thr Asp	340	345	350	
tta att cga gct aag cga ttc gtc gct gcc att att ctg ggc ata tct				1104
Leu Ile Arg Ala Lys Arg Phe Val Ala Ala Ile Ile Leu Gly Ile Ser	355	360	365	
gct tta att gct att atc act tcc ttt gct gta gct act act gct tta				1152
Ala Leu Ile Ala Ile Ile Thr Ser Phe Ala Val Ala Thr Thr Ala Leu	370	375	380	
gtt aag gag atg caa act gct acg ttt gtt aat aat ctt cat aga aat				1200
Val Lys Glu Met Gln Thr Ala Thr Phe Val Asn Asn Leu His Arg Asn	385	390	395	400
gtt aca tta gcc tta tct gaa caa aga ata ata gat tta aaa tta gaa				1248
Val Thr Leu Ala Leu Ser Glu Gln Arg Ile Ile Asp Leu Lys Leu Glu	405	410	415	
gct aga ctt aat gct tta gaa gaa gta gtt tta gag ttg gga caa gat				1296
Ala Arg Leu Asn Ala Leu Glu Glu Val Val Leu Glu Leu Gly Gln Asp	420	425	430	
gtg gca aac tta aag acc aga atg tcc acc agg tgt cat gca aat tat				1344
Val Ala Asn Leu Lys Thr Arg Met Ser Thr Arg Cys His Ala Asn Tyr	435	440	445	
gat ttt atc tgc gtt aca cct tta cca tat aat gct tct gag agc tgg				1392
Asp Phe Ile Cys Val Thr Pro Leu Pro Tyr Asn Ala Ser Glu Ser Trp	450	455	460	
gaa aga acc aaa gct cat tta ttg ggc att tgg aat gac aat gag att				1440
Glu Arg Thr Lys Ala His Leu Leu Gly Ile Trp Asn Asp Asn Glu Ile	465	470	475	480
tca tat aac ata caa gaa tta acc aac ctg att agt gat atg agc aaa				1488
Ser Tyr Asn Ile Gln Glu Leu Thr Asn Leu Ile Ser Asp Met Ser Lys	485	490	495	
caa cat att gac gca gtg gac ctc ggt ggc ttg gct cag tcc ttt gcc				1536
Gln His Ile Asp Ala Val Asp Leu Gly Gly Leu Ala Gln Ser Phe Ala	500	505	510	
aat gga gta aag gct tta aat cca tta gat tgg aca caa tat ttc att				1584
Asn Gly Val Lys Ala Leu Asn Pro Leu Asp Trp Thr Gln Tyr Phe Ile	515	520	525	
ttt ata ggt gtt aga gcc ctg ctt tta gtc ata gtg ctt atg att ttc				1632
Phe Ile Gly Val Arg Ala Leu Leu Leu Val Ile Val Leu Met Ile Phe	530	535	540	
ccc att gtt ttc cag tgc ttt gcg aag tag				1662

201400501

Pro Ile Val Phe Gln Cys Phe Ala Lys
545 550

<210> 15
<211> 553
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 合成構築體

<400> 15

Glu Ser Tyr Trp Ala Tyr Leu Pro Lys Pro Pro Ile Leu His Pro Val
1 5 10 15

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

Tyr Leu Gly Gly Ser Pro Asp Phe His Gly Phe Arg Asn Met Ser Gly
35 40 45

Asn Val His Phe Glu Gly Lys Ser Asp Thr Leu Pro Ile Cys Phe Ser
50 55 60

Phe Ser Phe Ser Thr Pro Thr Gly Cys Phe Gln Val Asp Lys Gln Val
65 70 75 80

Phe Leu Ser Asp Thr Pro Thr Val Asp Asn Asn Lys Pro Gly Gly Lys
85 90 95

Gly Asp Lys Arg Arg Met Trp Glu Leu Trp Leu Thr Thr Leu Gly Asn
100 105 110

Ser Gly Ala Asn Thr Lys Leu Val Pro Ile Lys Lys Lys Leu Pro Pro
115 120 125

Lys Tyr Pro His Cys Gln Ile Ala Phe Lys Lys Asp Ala Phe Trp Glu
130 135 140

Gly Asp Glu Ser Ala Pro Pro Arg Trp Leu Pro Cys Ala Phe Pro Asp
145 150 155 160

Gln Gly Val Ser Phe Ser Pro Arg Gly Ala Leu Gly Leu Leu Trp Asp
165 170 175

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

180

185

190

Lys Lys Asp Leu Phe Gly Asn Tyr Thr Pro Pro Val Asn Lys Glu Val
 195 200 205

His Arg Trp Tyr Glu Ala Gly Trp Val Glu Pro Thr Trp Phe Trp Glu
 210 215 220

Asn Ser Pro Lys Asp Pro Asn Asp Arg Asp Phe Thr Ala Leu Val Pro
 225 230 235 240

His Thr Glu Leu Phe Arg Leu Val Ala Ala Ser Arg His Leu Ile Leu
 245 250 255

Lys Arg Pro Gly Phe Gln Glu His Glu Met Ile Pro Thr Ser Ala Cys
 260 265 270

Val Thr Tyr Pro Tyr Ala Ile Leu Leu Gly Leu Pro Gln Leu Ile Asp
 275 280 285

Ile Glu Lys Arg Gly Ser Thr Phe His Ile Ser Cys Ser Ser Cys Arg
 290 295 300

Leu Thr Asn Cys Leu Asp Ser Ser Ala Tyr Asp Tyr Ala Ala Ile Ile
 305 310 315 320

Val Lys Arg Pro Pro Tyr Val Leu Leu Pro Val Asp Ile Gly Asp Glu
 325 330 335

Pro Trp Phe Asp Asp Ser Ala Ile Gln Thr Phe Arg Tyr Ala Thr Asp
 340 345 350

Leu Ile Arg Ala Lys Arg Phe Val Ala Ala Ile Ile Leu Gly Ile Ser
 355 360 365

Ala Leu Ile Ala Ile Ile Thr Ser Phe Ala Val Ala Thr Thr Ala Leu
 370 375 380

Val Lys Glu Met Gln Thr Ala Thr Phe Val Asn Asn Leu His Arg Asn
 385 390 395 400

Val Thr Leu Ala Leu Ser Glu Gln Arg Ile Ile Asp Leu Lys Leu Glu
 405 410 415

201400501

Ala Arg Leu Asn Ala Leu Glu Glu Val Val Leu Glu Leu Gly Gln Asp
420 425 430

Val Ala Asn Leu Lys Thr Arg Met Ser Thr Arg Cys His Ala Asn Tyr
435 440 445

Asp Phe Ile Cys Val Thr Pro Leu Pro Tyr Asn Ala Ser Glu Ser Trp
450 455 460

Glu Arg Thr Lys Ala His Leu Leu Gly Ile Trp Asn Asp Asn Glu Ile
465 470 475 480

Ser Tyr Asn Ile Gln Glu Leu Thr Asn Leu Ile Ser Asp Met Ser Lys
485 490 495

Gln His Ile Asp Ala Val Asp Leu Gly Gly Leu Ala Gln Ser Phe Ala
500 505 510

Asn Gly Val Lys Ala Leu Asn Pro Leu Asp Trp Thr Gln Tyr Phe Ile
515 520 525

Phe Ile Gly Val Arg Ala Leu Leu Leu Val Ile Val Leu Met Ile Phe
530 535 540

Pro Ile Val Phe Gln Cys Phe Ala Lys
545 550

<210> 16
<211> 25
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 16
tcatttaccg gagagtggg agaga

25

<210> 17
<211> 25
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 17
ctaactca ttctgttga agctc

25

<210> 18
 <211> 1383
 <212> DNA
 <213> 大鼠(Rattus norvegicus)

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (1383)

<400> 18
 atg gac acc agg ctc agc ttg gtt ttc att gtc ctt ttc ata aaa ggt 48
 Met Asp Thr Arg Leu Ser Leu Val Phe Ile Val Leu Phe Ile Lys Gly
 1 5 10 15

gtc cag tgt gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc tta gtg cag 96
 Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20 25 30

cct gga agg tcc ctg aaa ctc tcc tgt gta ggt tca gga ttc act ttc 144
 Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Gly Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

agt gac tat tac atg gcc tgg gtc cgc cag gct cca aag aag ggt ctg 192
 Ser Asp Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Lys Lys Gly Leu
 50 55 60

gag tgg gtc gca tcc att agt tat gag ggt agt aac act aac ttt gga 240
 Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly
 65 70 75 80

gac tcc gtg aag ggc cga ttc act atc tcc aga gat agt gca aaa agc 288
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Ser
 85 90 95

acc cta tac cta caa atg aac agt ctg agg tct gag gac acg gcc act 336
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr
 100 105 110

tat tat tgt gca aga tgg gcc caa aca ggg tac tac ttt gat tac tgg 384
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp
 115 120 125

ggc caa gga gtc atg gtc aca gtc tcc tca gct gaa aca aca gcc cca 432
 Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Glu Thr Thr Ala Pro
 130 135 140

tct gtc tat cca ctg gct cct gga act gct ctc aaa agt aac tcc atg 480
 Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Leu Lys Ser Asn Ser Met
 145 150 155 160

gtg acc ctg gga tgc ctg gtc aag ggc tat ttc cct gag cca gtc acc 528
 Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 165 170 175

gtg acc tgg aac tct gga gcc ctg tcc agc ggt gtg cac acc ttc cca 576
 Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 180 185 190

gct gtc ctg cag tct gga ctc tac act ctc acc agc tca gtg act gta Ala Val Leu Gln Ser Gly Leu Tyr Thr Leu Thr Ser Ser Val Thr Val 195 200 205	624
ccc tcc agc acc tgg tcc agc cag gcc gtc acc tgc aac gta gcc cac Pro Ser Ser Thr Trp Ser Ser Gln Ala Val Thr Cys Asn Val Ala His 210 215 220	672
ccg gcc agc agc acc aag gtg gac aag aaa att gtg cca agg gaa tgc Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Glu Cys 225 230 235 240	720
aat cct tgt gga tgt aca ggc tca gaa gta tca tct gtc ttc atc ttc Asn Pro Cys Gly Cys Thr Gly Ser Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe 245 250 255	768
ccc cca aag acc aaa gat gtg ctc acc atc act ctg act cct aag gtc Pro Pro Lys Thr Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val 260 265 270	816
acg tgt gtt gtg gta gac att agc cag aat gat ccc gag gtc cgg ttc Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Gln Asn Asp Pro Glu Val Arg Phe 275 280 285	864
agc tgg ttt ata gat gac gtg gaa gtc cac aca gct cag act cat gcc Ser Trp Phe Ile Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr His Ala 290 295 300	912
ccg gag aag cag tcc aac agc act tta cgc tca gtc agt gaa ctc ccc Pro Glu Lys Gln Ser Asn Ser Thr Leu Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro 305 310 315 320	960
atc gtg cac cgg gac tgg ctc aat ggc aag acg ttc aaa tgc aaa gtc Ile Val His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Thr Phe Lys Cys Lys Val 325 330 335	1008
aac agt gga gca ttc cct gcc ccc atc gag aaa agc atc tcc aaa ccc Asn Ser Gly Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Ser Ile Ser Lys Pro 340 345 350	1056
gaa ggc aca cca cga ggt cca cag gta tac acc atg gcg cct ccc aag Glu Gly Thr Pro Arg Gly Pro Gln Val Tyr Thr Met Ala Pro Pro Lys 355 360 365	1104
gaa gag atg acc cag agt caa gtc agt atc acc tgc atg gta aaa ggc Glu Glu Met Thr Gln Ser Gln Val Ser Ile Thr Cys Met Val Lys Gly 370 375 380	1152
ttc tat ccc cca gac att tat acg gag tgg aag atg aac ggg cag cca Phe Tyr Pro Pro Asp Ile Tyr Thr Glu Trp Lys Met Asn Gly Gln Pro 385 390 395 400	1200
cag gaa aac tac aag aac act cca cct acg atg gac aca gat ggg agt Gln Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Pro Pro Thr Met Asp Thr Asp Gly Ser 405 410 415	1248
tac ttc ctc tac agc aag ctc aat gta aag aaa gaa aca tgg cag cag Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Asn Val Lys Lys Glu Thr Trp Gln Gln	1296

420	425	430	
gga aac act ttc acg tgt tct	gtg ctg cat gag ggc ctg cac aac cac		1344
Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser	Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His		
435	440	445	

cat act gag aag agt ctc tcc cac tct ccg ggt aaa taa		1383
His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys		
450	455	460

<210> 19
 <211> 460
 <212> PRT
 <213> 大鼠

<400> 19

Met Asp Thr Arg Leu Ser Leu Val Phe Ile Val Leu Phe Ile Lys Gly
 1 5 10 15

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

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

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

Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly
 65 70 75 80

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

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp
 115 120 125

Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Glu Thr Thr Ala Pro
 130 135 140

Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Leu Lys Ser Asn Ser Met
 145 150 155 160

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

165

170

175

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

Ala Val Leu Gln Ser Gly Leu Tyr Thr Leu Thr Ser Ser Val Thr Val
 195 200 205

Pro Ser Ser Thr Trp Ser Ser Gln Ala Val Thr Cys Asn Val Ala His
 210 215 220

Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Glu Cys
 225 230 235 240

Asn Pro Cys Gly Cys Thr Gly Ser Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
 245 250 255

Pro Pro Lys Thr Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
 260 265 270

Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Gln Asn Asp Pro Glu Val Arg Phe
 275 280 285

Ser Trp Phe Ile Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr His Ala
 290 295 300

Pro Glu Lys Gln Ser Asn Ser Thr Leu Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro
 305 310 315 320

Ile Val His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Thr Phe Lys Cys Lys Val
 325 330 335

Asn Ser Gly Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Ser Ile Ser Lys Pro
 340 345 350

Glu Gly Thr Pro Arg Gly Pro Gln Val Tyr Thr Met Ala Pro Pro Lys
 355 360 365

Glu Glu Met Thr Gln Ser Gln Val Ser Ile Thr Cys Met Val Lys Gly
 370 375 380

Phe Tyr Pro Pro Asp Ile Tyr Thr Glu Trp Lys Met Asn Gly Gln Pro
 385 390 395 400

201400501

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

Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Asn Val Lys Lys Glu Thr Trp Gln Gln
 420 425 430

Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
 435 440 445

His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 20
 <211> 705
 <212> DNA
 <213> 大鼠

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (705)

<400> 20
 atg gct gtg ccc act cag ctc ctg ggg ttg ttg ctg ctg tgg att aca 48
 Met Ala Val Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Ile Thr
 1 5 10 15

gat gcc ata tgt gac att cag atg aca cag tct cca gct tcc ctg tct 96
 Asp Ala Ile Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser
 20 25 30

gca tct ctg gga gaa act gtc acc atc gaa tgt cta gca agt gag gat 144
 Ala Ser Leu Gly Glu Thr Val Thr Ile Glu Cys Leu Ala Ser Glu Asp
 35 40 45

att tac agt aat tta gct tgg tat cag cag aag cca ggg aaa tct cct 192
 Ile Tyr Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro
 50 55 60

cag ctc ctg atc tat tat gca aat agc ttg aat gat ggc gtc cca tca 240
 Gln Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Asn Asp Gly Val Pro Ser
 65 70 75 80

cgg ttc agt ggc agt gga tct ggc aca cag ttt tct ctg aag atc aac 288
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn
 85 90 95

agc ctg caa tct gaa gat gtc tgc att tat ttc tgt caa cag aat tat 336
 Ser Leu Gln Ser Glu Asp Val Ser Ile Tyr Phe Cys Gln Gln Asn Tyr
 100 105 110

gat agt ccg tac acg ttt gga gct ggg gcc aag ctg gaa ctg aaa cgg 384
 Asp Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Ala Lys Leu Glu Leu Lys Arg
 115 120 125

201400501

gct gat gct gca cca act gta tct atc ttc cca cca tcc acg aaa cag 432
 Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Thr Lys Gln
 130 135 140

tta gca act gga ggt gcc tca gtc gtg tgc ctc atg aac aac ttc tat 480
 Leu Ala Thr Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Leu Met Asn Asn Phe Tyr
 145 150 155 160

ccc aga gac atc agt gtc aag tgg aag att gat ggc act gaa cga cga 528
 Pro Arg Asp Ile Ser Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Thr Glu Arg Arg
 165 170 175

gat ggt gtc ctg gac agt gtt act gat cag gac agc aaa gac agc acg 576
 Asp Gly Val Leu Asp Ser Val Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190

tac agc atg agc agc acc ctc tcg ttg acc aag gct gac tat gaa agt 624
 Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Ser Leu Thr Lys Ala Asp Tyr Glu Ser
 195 200 205

cat aac ctc tat acc tgt gag gtt gtt cat aag aca tca tcc tca ccc 672
 His Asn Leu Tyr Thr Cys Glu Val Val His Lys Thr Ser Ser Ser Pro
 210 215 220

gtc gtc aag agc ttc aac agg aat gag tgt taa 705
 Val Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 225 230

- <210> 21
- <211> 234
- <212> PRT
- <213> 大鼠

<400> 21

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

Asp Ala Ile Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser
 20 25 30

Ala Ser Leu Gly Glu Thr Val Thr Ile Glu Cys Leu Ala Ser Glu Asp
 35 40 45

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

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn
 85 90 95

Ser Leu Gln Ser Glu Asp Val Ser Ile Tyr Phe Cys Gln Gln Asn Tyr
 100 105 110

Asp Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Ala Lys Leu Glu Leu Lys Arg
 115 120 125

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

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

Pro Arg Asp Ile Ser Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Thr Glu Arg Arg
 165 170 175

Asp Gly Val Leu Asp Ser Val Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190

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

His Asn Leu Tyr Thr Cys Glu Val Val His Lys Thr Ser Ser Ser Pro
 210 215 220

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

<210> 22
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 大鼠

<400> 22

Asp Tyr Tyr Met Ala
 1 5

<210> 23
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 大鼠

<400> 23

Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

201400501

Gly

<210> 24
<211> 10
<212> PRT
<213> 大鼠

<400> 24

Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> 大鼠

<400> 25

Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> 大鼠

<400> 26

Tyr Ala Asn Ser Leu Asn Asp
1 5

<210> 27
<211> 8
<212> PRT
<213> 大鼠

<400> 27

Gln Gln Asn Tyr Asp Ser Pro Tyr
1 5

<210> 28
<211> 31
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<220>
<221> 其他特征(misc_feature)

<222> (12).. (12)

<223> s 爲 g 或 c

<220>

<221> 其他特徵

<222> (14).. (14)

<223> r 爲 a 或 g

<220>

<221> 其他特徵

<222> (17).. (17)

<223> n 爲 a, c, g 或 t

<220>

<221> 其他特徵

<222> (18).. (18)

<223> m 爲 a 或 c

<220>

<221> 其他特徵

<222> (24).. (24)

<223> s 爲 g 或 c

<220>

<221> 其他特徵

<222> (27).. (27)

<223> s 爲 g 或 c

<400> 28

ccgctagcat gsargtnmag ctgsagsagt c

31

<210> 29

<211> 29

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 29

agcgctcttg accaggcatc ctagagtca

29

<210> 30

<211> 31

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<220>

<221> 其他特徵

<222> (10).. (10)

<223> y 爲 c 或 t

<220>

201400501

<221> 其他特徵
<222> (17)..(17)
<223> m 為 a 或 c

<220>
<221> 其他特徵
<222> (19)..(19)
<223> s 為 g 或 c

<220>
<221> 其他特徵
<222> (22)..(22)
<223> m 為 a 或 c

<220>
<221> 其他特徵
<222> (25)..(25)
<223> r 為 a 或 g

<220>
<221> 其他特徵
<222> (26)..(26)
<223> w 為 a 或 t

<220>
<221> 其他特徵
<222> (29)..(29)
<223> m 為 a 或 c

<400> 30
ccccatggay attgtgmtsa cmcarwctmc a 31

<210> 31
<211> 39
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 31
ccctcgagtt caacactcat tcctgttgaa gccttgacg 39

<210> 32
<211> 339
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(339)

<400> 32
gag gtg aag ctg cag gag tct gga cct gag ctg aag aag cct gga gag 48
Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

aca gtc aag atc tcc tgc aag gct tct ggt tat acc ttc aga gac tat 96
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30

cca att cac tgg gtg aag cag gct cca gga aag ggt tta aag tgg atg 144
 Pro Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45

ggc tgg ata aac act gag act ggt gag ccg aca tat gcg gat gac ttc 192
 Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60

aag gga cgc ttt gcc ttc tct ttg gaa acc tct gcc aac act acc tat 240
 Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Asn Thr Thr Tyr
 65 70 75 80

ttg cag atc aac aac ctc aaa aat gag gac acg gct aca tat ttc tgt 288
 Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95

act ccc agg ttt act tac tgg ggc caa ggg act ctg gtc act gtc tct 336
 Thr Pro Arg Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 100 105 110

tca 339
 Ser

<210> 33
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 33

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Asn Thr Thr Tyr
 65 70 75 80

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

Thr Pro Arg Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 100 105 110

Ser

<210> 34
 <211> 342
 <212> DNA
 <213> 小鼠

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (342)

<400> 34
 gat att gtg atg aca cag act cca tcc tcc cta gct gtg tca gtt gga 48
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
 1 5 10 15
 gag aag gtt act atg agc tgc aag tcc agt cag aac ctt tta tat agt 96
 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 ggc aat caa aag aac tac ttg gcc tgg ttc cag cag aaa cca ggg cag 144
 Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 tct cct aaa ctg ctg att tac tgg gca tcc act agg gaa tct ggg gtc 192
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 cct gat cgc ttc aca ggc agt ggg tct ggg aca gat ttc act ctc act 240
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 ctc agc agt gtg aag gct gaa gac ctg gca gtt tat tac tgt cag caa 288
 Leu Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95
 tct tat agg tat ccg tat acg tcc gga ggg ggg acc aag ctg gaa ata 336
 Ser Tyr Arg Tyr Pro Tyr Thr Ser Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110
 aaa cgg 342
 Lys Arg

<210> 35
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 小鼠

201400501

<400> 35

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Leu Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

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

Lys Arg

<210> 36

<211> 5

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 36

Asp Tyr Pro Ile His
1 5

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 37

Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 38
<211> 4
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 38

Arg Phe Thr Tyr
1

<210> 39
<211> 17
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 39

Lys Ser Ser Gln Asn Leu Leu Tyr Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 40
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 40

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 41
<211> 8
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 41

Gln Gln Ser Tyr Arg Tyr Pro Tyr
1 5

<210> 42
<211> 25
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被驗者

<400> 42

201400501

Glu Ser Tyr Trp Ala Tyr Leu Pro Lys Pro Pro Ile Leu His Pro Val
1 5 10 15

Gly Trp Gly Ser Thr Asp Pro Ile Arg
20 25

<210> 43
<211> 18
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被験者

<400> 43

Gln Val Phe Leu Ser Asp Thr Pro Thr Val Asp Asn Asn Lys Pro Gly
1 5 10 15

Gly Lys

<210> 44
<211> 17
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被験者

<400> 44

Met Trp Glu Leu Trp Leu Thr Thr Leu Gly Asn Ser Gly Ala Asn Thr
1 5 10 15

Lys

<210> 45
<211> 14
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被験者

<400> 45

Lys Asp Ala Phe Trp Glu Gly Asp Glu Ser Ala Pro Pro Arg
1 5 10

<210> 46

201400501

<211> 13
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被験者

<400> 46

Asp Ala Phe Trp Glu Gly Asp Glu Ser Ala Pro Pro Arg
1 5 10

<210> 47
<211> 23
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被験者

<400> 47

Gly Ala Leu Gly Leu Leu Trp Asp Phe Ser Leu Pro Ser Pro Ser Val
1 5 10 15

Asp Gln Ser Asp Gln Ile Lys
20

<210> 48
<211> 18
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被験者

<400> 48

Trp Tyr Glu Ala Gly Trp Val Glu Pro Thr Trp Phe Trp Glu Asn Ser
1 5 10 15

Pro Lys

<210> 49
<211> 18
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被験者

<400> 49

201400501

Asp Pro Asn Asp Arg Asp Phe Thr Ala Leu Val Pro His Thr Glu Leu
1 5 10 15

Phe Arg

<210> 50
<211> 13
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被驗者

<400> 50

Asp Phe Thr Ala Leu Val Pro His Thr Glu Leu Phe Arg
1 5 10

<210> 51
<211> 12
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被驗者

<220>
<221> X
<222> (8)..(8)
<223> X 爲胺甲醯基甲基半胱胺酸

<220>
<221> X
<222> (11)..(11)
<223> X 爲胺甲醯基甲基半胱胺酸

<400> 51

Gly Ser Thr Phe His Ile Ser Xaa Ser Ser Xaa Arg
1 5 10

<210> 52
<211> 18
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被驗者

<220>
<221> X
<222> (4)..(4)

201400501

<223> X 為胺甲醯基甲基半胱胺酸

<400> 52

Leu Thr Asn Xaa Leu Asp Ser Ser Ala Tyr Asp Tyr Ala Ala Ile Ile
1 5 10 15

Val Lys

<210> 53
<211> 19
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 53
ccagatcgcc tttaagaag 19

<210> 54
<211> 26
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 54
ctatcattgg gatccttagg agaatt 26

<210> 55
<211> 21
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 55
tgcgcttcc ctgaccaagg g 21

<210> 56
<211> 100
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被驗者

<400> 56

Gln Ile Ala Phe Lys Lys Asp Ala Phe Trp Glu Gly Asp Glu Ser Ala

Pro Asn Asp Arg
100

<210> 58
<211> 100
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被験者

<400> 58

Gln Ile Ala Phe Lys Lys Asp Ala Phe Trp Glu Gly Asp Glu Ser Ala
1 5 10 15

Pro Pro Arg Trp Leu Pro Cys Ala Phe Pro Asp Gln Gly Val Ser Phe
20 25 30

Ser Pro Lys Gly Ser Leu Gly Leu Leu Trp Asp Phe Ser Leu Pro Ser
35 40 45

Pro Ser Val Asp Gln Ser Asp Gln Ile Lys Asn Lys Lys Asp Leu Phe
50 55 60

Gly Asn Tyr Thr Pro Pro Val Asn Lys Glu Val His Arg Trp Tyr Glu
65 70 75 80

Ala Gly Trp Val Glu Pro Thr Trp Phe Trp Glu Asn Ser Pro Lys Asp
85 90 95

Pro Asn Asp Arg
100

<210> 59
<211> 100
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 採自被験者

<400> 59

Gln Ile Ala Phe Lys Lys Asp Ala Phe Trp Glu Gly Asp Glu Ser Ala
1 5 10 15

Pro Pro Arg Trp Leu Pro Cys Ala Phe Pro Asp Gln Gly Val Ser Phe

20

25

30

Ser Pro Lys Gly Ala Leu Gly Leu Leu Trp Asp Phe Ser Leu Pro Ser
 35 40 45

Pro Ser Ile Asp Gln Ser Glu Gln Ile Lys Ser Lys Lys Asp Leu Leu
 50 55 60

Gly Asn Tyr Thr Pro Pro Val Asn Lys Glu Val His Arg Trp Tyr Glu
 65 70 75 80

Ala Gly Trp Val Glu Pro Thr Trp Phe Trp Glu Asn Ser Pro Lys Asp
 85 90 95

Pro Asn Asp Arg
 100

<210> 60
 <211> 2067
 <212> DNA
 <213> 未知

<220>
 <223> 採自細胞株

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(2067)

<400> 60
 atg ccg aat cac caa tct ggg tcc ccg acc ggt tca tcc gac ctt tta 48
 Met Pro Asn His Gln Ser Gly Ser Pro Thr Gly Ser Ser Asp Leu Leu
 1 5 10 15

ctg agc gga aag aag caa cgc cca cac ctg gca ctg cgg aga aaa cgc 96
 Leu Ser Gly Lys Lys Gln Arg Pro His Leu Ala Leu Arg Arg Lys Arg
 20 25 30

cgc cgc gag atg aga aag atc aac agg aaa gtc cgg agg atg aat ata 144
 Arg Arg Glu Met Arg Lys Ile Asn Arg Lys Val Arg Arg Met Asn Ile
 35 40 45

gcc ccc atc aaa gag aag acg gct tgg caa cat ctg cag gcg tta atc 192
 Ala Pro Ile Lys Glu Lys Thr Ala Trp Gln His Leu Gln Ala Leu Ile
 50 55 60

tcc gaa gcg gag gag gtt ctt aaa acc tca caa act ccc caa acc tct 240
 Ser Glu Ala Glu Glu Val Leu Lys Thr Ser Gln Thr Pro Gln Thr Ser
 65 70 75 80

ttg act tta ttt ctt gct ttg ttg tct gtc ctc ggc ccc ccg cct gtg 288
 Leu Thr Leu Phe Leu Ala Leu Leu Ser Val Leu Gly Pro Pro Pro Val

					85						90						95	
gcc	ggg	gaa	agt	tat	tgg	gct	tac	cta	cct	aaa	cca	cct	att	ctc	cat	336		
Ala	Gly	Glu	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Leu	Pro	Lys	Pro	Pro	Ile	Leu	His			
			100					105					110					
ccc	gtg	gga	tgg	gga	agt	aca	gac	ccc	att	aga	gtt	ctg	acc	aat	caa	384		
Pro	Val	Gly	Trp	Gly	Ser	Thr	Asp	Pro	Ile	Arg	Val	Leu	Thr	Asn	Gln			
		115					120					125						
acc	atg	tat	ttg	ggt	ggg	tcg	cct	gac	ttt	cac	ggg	ttt	aga	aac	atg	432		
Thr	Met	Tyr	Leu	Gly	Gly	Ser	Pro	Asp	Phe	His	Gly	Phe	Arg	Asn	Met			
	130					135					140							
tct	ggc	aat	gta	cat	ttt	gag	ggg	aag	tct	gat	acg	ctc	ccc	att	tgc	480		
Ser	Gly	Asn	Val	His	Phe	Glu	Gly	Lys	Ser	Asp	Thr	Leu	Pro	Ile	Cys			
145					150					155					160			
ttt	tcc	ttc	tcc	ttt	tct	acc	ccc	acg	ggc	tgc	ttt	caa	gta	gat	aag	528		
Phe	Ser	Phe	Ser	Phe	Ser	Thr	Pro	Thr	Gly	Cys	Phe	Gln	Val	Asp	Lys			
				165					170					175				
caa	gta	ttt	ctt	tct	gat	aca	ccc	acg	ggt	gat	aat	aat	aaa	cct	ggg	576		
Gln	Val	Phe	Leu	Ser	Asp	Thr	Pro	Thr	Val	Asp	Asn	Asn	Lys	Pro	Gly			
			180					185					190					
gga	aag	ggt	gat	aaa	agg	cgt	atg	tgg	gaa	ctt	tgg	ttg	act	act	ttg	624		
Gly	Lys	Gly	Asp	Lys	Arg	Arg	Met	Trp	Glu	Leu	Trp	Leu	Thr	Thr	Leu			
		195					200					205						
ggg	aac	tca	ggg	gcc	aat	aca	aaa	ctg	gtc	cct	ata	aaa	aag	aag	ttg	672		
Gly	Asn	Ser	Gly	Ala	Asn	Thr	Lys	Leu	Val	Pro	Ile	Lys	Lys	Lys	Leu			
	210					215					220							
ccc	ccc	aaa	tat	cct	cac	tgc	cag	atc	gcc	ttt	aag	aag	gac	gcc	ttc	720		
Pro	Pro	Lys	Tyr	Pro	His	Cys	Gln	Ile	Ala	Phe	Lys	Lys	Asp	Ala	Phe			
225					230					235					240			
tgg	gag	gga	gac	gag	tct	gct	cct	cca	cgg	tgg	ttg	cct	tgc	gcc	ttc	768		
Trp	Glu	Gly	Asp	Glu	Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Trp	Leu	Pro	Cys	Ala	Phe			
				245					250					255				
cct	gac	cag	ggg	gtg	agt	ttt	tct	cca	aga	ggg	gcc	ctt	ggg	tta	ctt	816		
Pro	Asp	Gln	Gly	Val	Ser	Phe	Ser	Pro	Arg	Gly	Ala	Leu	Gly	Leu	Leu			
			260					265					270					
tgg	gat	ttc	tcc	ctt	ccc	tcg	cct	agt	gta	gat	cag	tca	gat	cag	att	864		
Trp	Asp	Phe	Ser	Leu	Pro	Ser	Pro	Ser	Val	Asp	Gln	Ser	Asp	Gln	Ile			
		275					280					285						
aaa	agc	aaa	aag	gat	ctc	ttt	gga	aat	tat	act	ccc	cct	gtc	aat	aaa	912		
Lys	Ser	Lys	Lys	Asp	Leu	Phe	Gly	Asn	Tyr	Thr	Pro	Pro	Val	Asn	Lys			
	290					295					300							
gag	ggt	cat	cga	tgg	tat	gaa	gca	gga	tgg	gta	gaa	cct	aca	tgg	ttc	960		
Glu	Val	His	Arg	Trp	Tyr	Glu	Ala	Gly	Trp	Val	Glu	Pro	Thr	Trp	Phe			
305					310					315					320			
tgg	gaa	aat	tct	cct	aag	gat	ccc	aat	gat	aga	gat	ttt	act	gct	cta	1008		

Trp	Glu	Asn	Ser	Pro	Lys	Asp	Pro	Asn	Asp	Arg	Asp	Phe	Thr	Ala	Leu	
				325					330					335		
gtt	ccc	cat	aca	gaa	ttg	ttt	cgc	tta	gtt	gca	gcc	tca	aga	cat	ctt	1056
Val	Pro	His	Thr	Glu	Leu	Phe	Arg	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Arg	His	Leu	
			340					345					350			
att	ctc	aaa	agg	cca	gga	ttt	caa	gaa	cat	gaa	atg	att	cct	aca	tct	1104
Ile	Leu	Lys	Arg	Pro	Gly	Phe	Gln	Glu	His	Glu	Met	Ile	Pro	Thr	Ser	
		355					360					365				
gcc	tgt	gtt	act	tac	cct	tat	gcc	ata	tta	tta	gga	tta	cct	cag	cta	1152
Ala	Cys	Val	Thr	Tyr	Pro	Tyr	Ala	Ile	Leu	Leu	Gly	Leu	Pro	Gln	Leu	
	370					375					380					
ata	gat	ata	gag	aaa	aga	gga	tct	act	ttt	cat	att	tcc	tgt	tct	tct	1200
Ile	Asp	Ile	Glu	Lys	Arg	Gly	Ser	Thr	Phe	His	Ile	Ser	Cys	Ser	Ser	
385					390					395					400	
tgt	aga	ttg	act	aat	tgt	tta	gat	tct	tct	gcc	tac	gac	tat	gca	gcg	1248
Cys	Arg	Leu	Thr	Asn	Cys	Leu	Asp	Ser	Ser	Ala	Tyr	Asp	Tyr	Ala	Ala	
				405					410					415		
atc	ata	gtc	aag	agg	ccg	cca	tac	gtg	ctg	cta	cct	gta	gat	att	ggt	1296
Ile	Ile	Val	Lys	Arg	Pro	Pro	Tyr	Val	Leu	Leu	Pro	Val	Asp	Ile	Gly	
			420					425					430			
gat	gaa	cca	tgg	ttt	gat	gat	tct	gcc	att	caa	acc	ttt	agg	tat	gcc	1344
Asp	Glu	Pro	Trp	Phe	Asp	Asp	Ser	Ala	Ile	Gln	Thr	Phe	Arg	Tyr	Ala	
		435					440					445				
aca	gat	tta	att	cga	gct	aag	cga	ttc	gtc	gct	gcc	att	att	ctg	ggc	1392
Thr	Asp	Leu	Ile	Arg	Ala	Lys	Arg	Phe	Val	Ala	Ala	Ile	Ile	Leu	Gly	
	450					455					460					
ata	tct	gct	tta	att	gct	att	atc	act	tcc	ttt	gct	gta	gct	act	act	1440
Ile	Ser	Ala	Leu	Ile	Ala	Ile	Ile	Thr	Ser	Phe	Ala	Val	Ala	Thr	Thr	
465					470					475					480	
gct	tta	gtt	aag	gag	atg	caa	act	gct	acg	ttt	gtt	aat	aat	ctt	cat	1488
Ala	Leu	Val	Lys	Glu	Met	Gln	Thr	Ala	Thr	Phe	Val	Asn	Asn	Leu	His	
				485					490					495		
aga	aat	gtt	aca	tta	gcc	tta	tct	gaa	caa	aga	ata	ata	gat	tta	aaa	1536
Arg	Asn	Val	Thr	Leu	Ala	Leu	Ser	Glu	Gln	Arg	Ile	Ile	Asp	Leu	Lys	
			500					505					510			
tta	gaa	gct	aga	ctt	aat	gct	tta	gaa	gaa	gta	gtt	tta	gag	ttg	gga	1584
Leu	Glu	Ala	Arg	Leu	Asn	Ala	Leu	Glu	Glu	Val	Val	Leu	Glu	Leu	Gly	
		515					520					525				
caa	gat	gtg	gca	aac	tta	aag	acc	aga	atg	tcc	acc	agg	tgt	cat	gca	1632
Gln	Asp	Val	Ala	Asn	Leu	Lys	Thr	Arg	Met	Ser	Thr	Arg	Cys	His	Ala	
	530					535					540					
aat	tat	gat	ttt	atc	tgc	gtt	aca	cct	tta	cca	tat	aat	gct	tct	gag	1680
Asn	Tyr	Asp	Phe	Ile	Cys	Val	Thr	Pro	Leu	Pro	Tyr	Asn	Ala	Ser	Glu	
545					550					555					560	

agc tgg gaa aga acc aaa gct cat tta ttg ggc att tgg aat gac aat 1728
 Ser Trp Glu Arg Thr Lys Ala His Leu Leu Gly Ile Trp Asn Asp Asn
 565 570 575

gag att tca tat aac ata caa gaa tta acc aac ctg att agt gat atg 1776
 Glu Ile Ser Tyr Asn Ile Gln Glu Leu Thr Asn Leu Ile Ser Asp Met
 580 585 590

agc aaa caa cat att gac gca gtg gac ctc ggt ggc ttg gct cag tcc 1824
 Ser Lys Gln His Ile Asp Ala Val Asp Leu Gly Gly Leu Ala Gln Ser
 595 600 605

ttt gcc aat gga gta aag gct tta aat cca tta gat tgg aca caa tat 1872
 Phe Ala Asn Gly Val Lys Ala Leu Asn Pro Leu Asp Trp Thr Gln Tyr
 610 615 620

ttc att ttt ata ggt gtt aga gcc ctg ctt tta gtc ata gtg ctt atg 1920
 Phe Ile Phe Ile Gly Val Arg Ala Leu Leu Leu Val Ile Val Leu Met
 625 630 635 640

att ttc ccc att gtt ttc cag tgc ttt gcg aag agc ctt gac caa gtg 1968
 Ile Phe Pro Ile Val Phe Gln Cys Phe Ala Lys Ser Leu Asp Gln Val
 645 650 655

cag tca gat ctt aac gtg ctt ctt tta aaa aag aaa aaa ggg gga aat 2016
 Gln Ser Asp Leu Asn Val Leu Leu Leu Lys Lys Lys Lys Gly Gly Asn
 660 665 670

gcc gcg cct gca gca gaa atg gtt gaa ctc ccg aga gtg tcc tac cct 2064
 Ala Ala Pro Ala Ala Glu Met Val Glu Leu Pro Arg Val Ser Tyr Pro
 675 680 685

tag 2067

- <210> 61
- <211> 688
- <212> PRT
- <213> 未知

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 61

Met Pro Asn His Gln Ser Gly Ser Pro Thr Gly Ser Ser Asp Leu Leu
 1 5 10 15

Leu Ser Gly Lys Lys Gln Arg Pro His Leu Ala Leu Arg Arg Lys Arg
 20 25 30

Arg Arg Glu Met Arg Lys Ile Asn Arg Lys Val Arg Arg Met Asn Ile
 35 40 45

Ala Pro Ile Lys Glu Lys Thr Ala Trp Gln His Leu Gln Ala Leu Ile
 50 55 60

Ser Glu Ala Glu Glu Val Leu Lys Thr Ser Gln Thr Pro Gln Thr Ser
65 70 75 80

Leu Thr Leu Phe Leu Ala Leu Leu Ser Val Leu Gly Pro Pro Pro Val
85 90 95

Ala Gly Glu Ser Tyr Trp Ala Tyr Leu Pro Lys Pro Pro Ile Leu His
100 105 110

Pro Val Gly Trp Gly Ser Thr Asp Pro Ile Arg Val Leu Thr Asn Gln
115 120 125

Thr Met Tyr Leu Gly Gly Ser Pro Asp Phe His Gly Phe Arg Asn Met
130 135 140

Ser Gly Asn Val His Phe Glu Gly Lys Ser Asp Thr Leu Pro Ile Cys
145 150 155 160

Phe Ser Phe Ser Phe Ser Thr Pro Thr Gly Cys Phe Gln Val Asp Lys
165 170 175

Gln Val Phe Leu Ser Asp Thr Pro Thr Val Asp Asn Asn Lys Pro Gly
180 185 190

Gly Lys Gly Asp Lys Arg Arg Met Trp Glu Leu Trp Leu Thr Thr Leu
195 200 205

Gly Asn Ser Gly Ala Asn Thr Lys Leu Val Pro Ile Lys Lys Lys Leu
210 215 220

Pro Pro Lys Tyr Pro His Cys Gln Ile Ala Phe Lys Lys Asp Ala Phe
225 230 235 240

Trp Glu Gly Asp Glu Ser Ala Pro Pro Arg Trp Leu Pro Cys Ala Phe
245 250 255

Pro Asp Gln Gly Val Ser Phe Ser Pro Arg Gly Ala Leu Gly Leu Leu
260 265 270

Trp Asp Phe Ser Leu Pro Ser Pro Ser Val Asp Gln Ser Asp Gln Ile
275 280 285

Lys Ser Lys Lys Asp Leu Phe Gly Asn Tyr Thr Pro Pro Val Asn Lys

201400501

Gln Asp Val Ala Asn Leu Lys Thr Arg Met Ser Thr Arg Cys His Ala
 530 535 540

Asn Tyr Asp Phe Ile Cys Val Thr Pro Leu Pro Tyr Asn Ala Ser Glu
 545 550 555 560

Ser Trp Glu Arg Thr Lys Ala His Leu Leu Gly Ile Trp Asn Asp Asn
 565 570 575

Glu Ile Ser Tyr Asn Ile Gln Glu Leu Thr Asn Leu Ile Ser Asp Met
 580 585 590

Ser Lys Gln His Ile Asp Ala Val Asp Leu Gly Gly Leu Ala Gln Ser
 595 600 605

Phe Ala Asn Gly Val Lys Ala Leu Asn Pro Leu Asp Trp Thr Gln Tyr
 610 615 620

Phe Ile Phe Ile Gly Val Arg Ala Leu Leu Leu Val Ile Val Leu Met
 625 630 635 640

Ile Phe Pro Ile Val Phe Gln Cys Phe Ala Lys Ser Leu Asp Gln Val
 645 650 655

Gln Ser Asp Leu Asn Val Leu Leu Leu Lys Lys Lys Lys Gly Gly Asn
 660 665 670

Ala Ala Pro Ala Ala Glu Met Val Glu Leu Pro Arg Val Ser Tyr Pro
 675 680 685

<210> 62
 <211> 363
 <212> DNA
 <213> 小鼠

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (363)

<400> 62
 cag gtg aag ctg gag gag tct ggg gga ggc tta gtg aag cct gga ggg 48
 Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

tcc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc agt ttt agt aga aat 96
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 64
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 小鼠

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (321)

<400> 64
 gat att gtg atg aca cag tct aca gca atc atg tct gca tct cta ggg 48
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Thr Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15

gag aag gtc acc atg agc tgc agg gcc agc tca agt gta gtt tac atg 96
 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Val Tyr Met
 20 25 30

tac tgg tac cag cag aag tca gat gcc tcc ccc aaa cta tgg att tat 144
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Asp Ala Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
 35 40 45

tac aca tcc aac ctg gct cct gga gtc ccg gct cgc ttc agt ggc agt 192
 Tyr Thr Ser Asn Leu Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

ggg tct ggg aac tct tat tct ctc aca atc agc agc atg gag ggt gaa 240
 Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Gly Glu
 65 70 75 80

gat gct gcc act tat tac tgc cag cag ttt act agt tcc cca tac acg 288
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Thr Ser Ser Pro Tyr Thr
 85 90 95

ttc gga ggg ggg acc aag ctg gaa ata aaa cgg 321
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 65
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 65

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Val Tyr Met
 20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Asp Ala Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45

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

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Gly Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 66
<211> 5
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 66

Arg Asn Val Met Ser
1 5

<210> 67
<211> 17
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 67

Thr Ile Ser Ala Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 68
<211> 12
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 68

Leu Asn Tyr Asn Asp Asn Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 69

201400501

<211> 10
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 69

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

<210> 70
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 70

Tyr Thr Ser Asn Leu Ala Pro
1 5

<210> 71
<211> 8
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 71

Gln Gln Phe Thr Ser Ser Pro Tyr
1 5

<210> 72
<211> 119
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 72

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

201400501

<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 74

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

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

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

Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 75
<211> 119
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 75

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

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

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

35

40

45

Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 76
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人造序列

<220>
 <223> 合成肽

<400> 76

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

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

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

Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 77
<211> 119
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 77

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

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

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

Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 78
<211> 119
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 78

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

201400501

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

<210> 79
<211> 119
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 79

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

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

Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 80
<211> 119
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 80

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

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

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

Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 81
<211> 119
<212> PRT

201400501

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 81

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 82

<211> 109

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 82

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 Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 83
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人造序列

<220>
 <223> 合成肽

<400> 83

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 Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 84
 <211> 109
 <212> PRT

201400501

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 84

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 Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 85

<211> 109

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 85

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 Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 86
<211> 109
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 86

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 Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Asn Asp 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 Asn Tyr Asp Ser Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 87
<211> 993
<212> DNA
<213> 人類(Homo sapiens)

<220>

201400501

<221> CDS
 <222> (1).. (993)

<400> 87

gcc agc aca aag ggc ccc tcc gtg ttt cca ttg gcc ccg tct tca aaa	48
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys	
1 5 10 15	
agc aca tct ggc ggt acc gct gct ctc ggc tgt ctt gtt aag gac tac	96
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr	
20 25 30	
ttt ccc gaa ccc gtg acg gtg tcc tgg aac tcc ggt gcc ctg acc tca	144
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser	
35 40 45	
ggc gtg cat acc ttc ccg gct gtt ctc cag tca tca ggc ctg tat tca	192
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser	
50 55 60	
ctg tca agc gtt gtg act gtc ccg tca tct agt ttg ggc aca cag aca	240
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr	
65 70 75 80	
tat atc tgt aac gtc aat cac aag cca tca aac acc aaa gtc gac aag	288
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys	
85 90 95	
cgg gtg gaa cct aag agt tgc gac aag act cac act tgc cca cca tgc	336
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys	
100 105 110	
cct gct ccc gag ctg ctg gga ggg cca tct gtt ttc ctg ttt cct ccc	384
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro	
115 120 125	
aag cca aaa gat aca ctg atg atc agc cgg acc ccc gaa gta act tgc	432
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys	
130 135 140	
gta gta gtc gac gtg tct cac gaa gat ccc gag gtc aaa ttt aac tgg	480
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp	
145 150 155 160	
tac gtg gat ggc gtt gag gta cac aac gcc aag aca aaa ccc agg gaa	528
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu	
165 170 175	
gaa caa tac aat tca act tat cgg gtc gtc tcc gtc ctt acg gtg ctg	576
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu	
180 185 190	
cat cag gat tgg ctg aac ggc aaa gaa tac aag tgt aag gtt agc aac	624
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn	
195 200 205	
aag gct ctt cct gcc cct att gag aag act atc tct aag gca aag gga	672
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly	
210 215 220	

cag cca cgg gaa cct cag gtg tac acc ttg cca ccg agt cgg gaa gaa 720
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240

atg acc aaa aat cag gtt tcc ctg acc tgc ctt gtg aaa ggt ttt tat 768
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

ccc agc gac att gcc gta gag tgg gag tcc aat ggt cag ccc gag aac 816
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

aac tac aaa acc act ccc cct gtt ctg gac agc gat ggg agc ttt ttt 864
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

ctc tac agc aag ctg acc gtg gat aag agt cgc tgg cag cag ggc aac 912
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

gtg ttc agc tgt agc gtg atg cac gag gcc ctg cat aat cat tac aca 960
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

caa aag agc ctg tcc ctc agc ccc ggg aag tga 993
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

- <210> 88
- <211> 330
- <212> PRT
- <213> 人類

<400> 88

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

<210> 89
 <211> 93
 <212> DNA
 <213> 人造序列

<220>
 <223> 合成寡核苷酸

<400> 89
 gaattcgcca ccatgaagtt cagctgggtg atgttcttcc tgatggccgt ggtgaccggc 60
 gtgaacagcg ctagcacaaa gggcccctcc gtg 93

<210> 90
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> 人造序列

<220>
 <223> 合成寡核苷酸

<400> 90
 ctcgagtcac ttcccggggc tgagggacag 30

<210> 91
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人造序列

<220>
 <223> 合成核苷酸

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (357)

<400> 91
 gaa gtg cag ctc gtg gaa tca gga ggc ggg ttg gtg cag cca ggt cgc 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

agt ctg agg ttg agc tgc gcc gcc tct ggg ttc acc ttt tca gat tac 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

tac atg gcc tgg gtg agg cag gca ccc ggc aaa gga ctt gag tgg gtg 144
 Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tct tca att tct tac gag ggc agt aat acc aat ttc ggc gac tct gtt 192
 Ser Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
 50 55 60

201400501

aag gga cgg ttc aca ata agt cgg gat aat agc aaa aac act ctg tat 240
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

ctg aaa atg aat agt ctc agg gca gag gat aca gcc gtg tac tat tgc 288
 Leu Lys Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

gcc agg tgg gcc cag acc gga tac tac ttc gac tac tgg ggc cag ggc 336
 Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

acc ctg gtg acc gtg agc agc 357
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

- <210> 92
- <211> 357
- <212> DNA
- <213> 人造序列

- <220>
- <223> 合成核苷酸

- <220>
- <221> CDS
- <222> (1).. (357)

<400> 92
 gag gtc cag ttg gtg gag agc ggg ggg ggc ctc gtt cag ccc ggg cgg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

agt ctc cgc ctg tca tgc gct gcc agc gga ttc aca ttc agt gac tac 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

tat atg gcc tgg gtg cgc cag gct cca ggc aaa ggt ttg gaa tgg gtg 144
 Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

gca agt att agt tac gag gga agc aac acc aat ttt ggc gat agt gtg 192
 Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
 50 55 60

aag ggt cgg ttt acc atc tcc cgc gat aac agt aag aat aca ctg tac 240
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

ttg aaa atg aac tcc ctt cgg gct gaa gat aca gca gtg tat tat tgt 288
 Leu Lys Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

gcc cgg tgg gcc cag acc gga tat tac ttc gac tac tgg ggc cag ggc 336
 Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

acc ctg gtg acc gtg agc agc
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

357

<210> 93
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人造序列

<220>
 <223> 合成核苷酸

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (357)

<400> 93

gag gtg cag ctg gtg gaa tca gga ggg ggt ctg gtc cag cct ggg agg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

agc ctg cgg ctg tct tgc gcc ggc tcc ggt ttc aca ttt agt gat tac 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

tac atg gca tgg gtg aga caa gcc cct gga aaa gga ctg gag tgg gtt 144
 Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

gct tcc atc tca tac gag ggc agc aac aca aac ttt ggg gat tcc gtc 192
 Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
 50 55 60

aaa ggg aga ttc aca atc tca agg gat agc agt aaa aat acc ctg tac 240
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

ctt aag atg aac agc ttg cgc gct gag gac acc gcc gtg tac tat tgc 288
 Leu Lys Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

gcc aga tgg gcc cag aca ggc tac tac ttc gac tac tgg ggc cag gcc 336
 Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

acc ctg gtg acc gtg agc agc
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

357

<210> 94
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人造序列

<220>
 <223> 合成核苷酸

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (357)

<400> 94
 gaa gtg cag ctc gtt gaa tcc gga gga ggg ctc gtg cag cct ggc cgc 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 agt ctc agg ctc agc tgc gct ggt tcc ggc ttc acc ttc tcc gac tac 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 tac atg gca tgg gtg cgg cag gct cca ggg aag gga ctg gaa tgg gtt 144
 Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 gcc tct att tcc tat gag ggc tcc aat acc aac ttc ggc gac tcc gtg 192
 Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
 50 55 60
 aaa ggg cgc ttt aca att tca agg gat tca gct aaa aac acc ctg tat 240
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 ctc aaa atg aac agc ctg agg gca gaa gac acc gct gtt tat tat tgc 288
 Leu Lys Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 gcc aga tgg gcc cag acc ggc tac tac ttc gac tac tgg ggc cag ggc 336
 Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 acc ctg gtg acc gtg agc agc 357
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 95
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人造序列

<220>
 <223> 合成核苷酸

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (357)

<400> 95
 gag gtc cag ttg gtg gag agc ggg ggg ggc ctc gtt cag ccc ggg cgg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 agt ctc cgc ctg tca tgc gct gcc agc gga ttc aca ttc agt gac tac 96

201400501

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr		
			20					25					30				
tat	atg	gcc	tgg	gtg	cgc	cag	gct	cca	ggc	aaa	ggt	ttg	gaa	tgg	gtg		144
Tyr	Met	Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		
		35					40					45					
gca	agt	att	agt	tac	gag	gga	agc	aac	acc	aat	ttt	ggc	gat	agt	gtg		192
Ala	Ser	Ile	Ser	Tyr	Glu	Gly	Ser	Asn	Thr	Asn	Phe	Gly	Asp	Ser	Val		
	50					55					60						
aag	ggt	cgg	ttt	acc	atc	tcc	cgc	gat	agc	agt	aag	aat	aca	ctg	tac		240
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Ser	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr		
	65				70					75					80		
ttg	aaa	atg	aac	tcc	ctt	cgg	gct	gaa	gat	aca	gca	gtg	tat	tat	tgt		288
Leu	Lys	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
				85					90					95			
gcc	cgg	tgg	gcc	cag	acc	gga	tat	tac	ttc	gac	tac	tgg	ggc	cag	ggc		336
Ala	Arg	Trp	Ala	Gln	Thr	Gly	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly		
			100					105					110				
acc	ctg	gtg	acc	gtg	agc	agc											357
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser											
			115														

<210> 96
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人造序列

<220>
 <223> 合成核苷酸

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (357)

<400>	96																
gag	gtc	cag	ttg	gtg	gag	agc	ggg	ggg	ggc	ctc	gtt	cag	ccc	ggg	cgg		48
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg		
				5					10					15			
agt	ctc	cgc	ctg	tca	tgc	gct	ggc	agc	gga	ttc	aca	ttc	agt	gac	tac		96
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Gly	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr		
			20					25					30				
tat	atg	gcc	tgg	gtg	cgc	cag	gct	cca	ggc	aaa	ggt	ttg	gaa	tgg	gtg		144
Tyr	Met	Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		
		35					40					45					
gca	agt	att	agt	tac	gag	gga	agc	aac	acc	aat	ttt	ggc	gat	agt	gtg		192
Ala	Ser	Ile	Ser	Tyr	Glu	Gly	Ser	Asn	Thr	Asn	Phe	Gly	Asp	Ser	Val		
	50					55					60						
aag	ggt	cgg	ttt	acc	atc	tcc	cgc	gat	aac	agt	aag	aat	aca	ctg	tac		240

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
65 70 75 80	
ttg aaa atg aac tcc ctt cgg gct gaa gat aca gca gtg tat tat tgt	288
Leu Lys Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
85 90 95	
gcc cgg tgg gcc cag acc gga tat tac ttc gac tac tgg ggc cag ggc	336
Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly	
100 105 110	
acc ctg gtg acc gtg agc agc	357
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
115	
<210> 97	
<211> 357	
<212> DNA	
<213> 人造序列	
<220>	
<223> 合成核苷酸	
<220>	
<221> CDS	
<222> (1).. (357)	
<400> 97	
gag gtg cag ctg gtg gaa tca gga ggg ggt ctg gtc cag cct ggg agg	48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg	
1 5 10 15	
agc ctg cgg ctg tct tgc gcc ggc tcc ggt ttc aca ttt agt gat tac	96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr	
20 25 30	
tac atg gca tgg gtg aga caa gcc cct gga aaa gga ctg gag tgg gtt	144
Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
35 40 45	
gct tcc atc tca tac gag ggc agc aac aca aac ttt ggg gat tcc gtc	192
Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val	
50 55 60	
aaa ggg aga ttc aca atc tca agg gat agc agt aaa aat acc ctg tac	240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
65 70 75 80	
ctt cag atg aac agc ttg cgc gct gag gac acc gcc gtg tac tat tgc	288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
85 90 95	
gcc aga tgg gcc cag aca ggc tac tac ttc gac tac tgg ggc cag ggc	336
Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly	
100 105 110	
acc ctg gtg acc gtg agc agc	357

201400501

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 98
<211> 357
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成核苷酸

<220>
<221> CDS
<222> (1).. (357)

<400> 98
gag gtc cag ttg gtg gag agc ggg ggg ggc ctc gtt cag ccc ggg cgg 48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

agt ctc cgc ctg tca tgc gct gcc agc gga ttc aca ttc agt gac tac 96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

tat atg gcc tgg gtg cgc cag gct cca ggc aaa ggt ttg gaa tgg gtg 144
Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

tca agt att agt tac gag gga agc aac acc aat ttt ggc gat agt gtg 192
Ser Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
50 55 60

aag ggt cgg ttt acc atc tcc cgc gat agc agt aag aat aca ctg tac 240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

ttg aaa atg aac tcc ctt cgg gct gaa gat aca gca gtg tat tat tgt 288
Leu Lys Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

gcc cgg tgg gcc cag acc gga tat tac ttc gac tac tgg ggc cag gcc 336
Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

acc ctg gtg acc gtg agc agc 357
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 99
<211> 357
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成核苷酸

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (357)

<400> 99

gag gtc cag ttg gtg gag agc ggg ggg ggc ctc gtt aag ccc ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

agt ctc cgc ctg tca tgc gct gcc agc gga ttc aca ttc agt gac tac 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

tat atg gcc tgg gtg cgc cag gct cca ggc aaa ggt ttg gaa tgg gtg 144
 Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

gca agt att agt tac gag gga agc aac acc aat ttt ggc gat agt gtg 192
 Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val
 50 55 60

aag ggt cgg ttt acc atc tcc cgc gat agc agt aag aat aca ctg tac 240
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

ttg aaa atg aac tcc ctt cgg gct gaa gat aca gca gtg tat tat tgt 288
 Leu Lys Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

gcc cgg tgg gcc cag acc gga tat tac ttc gac tac tgg ggc cag ggc 336
 Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

acc ctg gtg acc gtg agc agc 357
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 100
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人造序列

<220>
 <223> 合成核苷酸

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (357)

<400> 100

gag gtc cag ttg gtg gag agc ggg ggg ggc ctc gtt aag ccc ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

agt ctc cgc ctg tca tgc gct gcc agc gga ttc aca ttc agt gac tac 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

	20		25		30	
tat atg gcc tgg gtg cgc cag gct cca ggc aaa ggt ttg gaa tgg gtg						144
Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	35		40		45	
tca agt att agt tac gag gga agc aac acc aat ttt ggc gat agt gtg						192
Ser Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Thr Asn Phe Gly Asp Ser Val	50		55		60	
aag ggt cgg ttt acc atc tcc cgc gat agc agt aag aat aca ctg tac						240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	65		70		75	80
ttg aaa atg aac tcc ctt cgg gct gaa gat aca gca gtg tat tat tgt						288
Leu Lys Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	85		90		95	
gcc cgg tgg gcc cag acc gga tat tac ttc gac tac tgg ggc cag gcc						336
Ala Arg Trp Ala Gln Thr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly	100		105		110	
acc ctg gtg acc gtg agc agc						357
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	115					

<210> 101
 <211> 318
 <212> DNA
 <213> 人類

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (318)

<400> 101						
gtg gcc gcc cca tcc gtg ttt atc ttt ccc ccc agt gat gag cag ttg						48
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu	1	5	10		15	
aag tca ggg act gct agt gtg gtc tgt ttg ttg aac aac ttc tac ccc						96
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro	20		25		30	
cgc gag gcc aag gtc cag tgg aag gta gat aac gcc ctg caa tca ggg						144
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly	35		40		45	
aat agt cag gag tct gtg acc gaa cag gac tcc aag gat agc act tat						192
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr	50		55		60	
agc ttg agc tcc acc ctg acc ctg agt aag gct gac tac gaa aaa cac						240
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His	65		70		75	80
aag gtg tac gca tgt gaa gtt acc cat cag ggg ctg agt tcc ccc gta						288

201400501

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
85 90 95

act aaa tct ttt aat cga ggc gaa tgc tga
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

318

<210> 102
<211> 105
<212> PRT
<213> 人類

<400> 102

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
1 5 10 15

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

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
35 40 45

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
65 70 75 80

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
85 90 95

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 103
<211> 327
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成核苷酸

<220>
<221> CDS
<222> (1).. (327)

<400> 103

gat att cag atg act cag agt cca tcc agt ctc agc gct tcc gtt ggc
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

48

201400501

1	5	10	15	
gat agg gtc aca atc acc tgc ctc gct tca gag gat atc tat tcc aat				96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn	20	25	30	
ctg gcc tgg tat cag cag aag cct ggg aaa gcc ccc aaa ctg ttg atc				144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	35	40	45	
tac tat gca aat tcc ctg aac gac ggg gtg cct tca aga ttt agt ggg				192
Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Asn Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	50	55	60	
agt gga tca ggc acc gat ttt acc ttg acc atc tcc cgg ctt cag cca				240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Gln Pro	65	70	75	80
gag gat ttc gca act tac tac tgt cag cag aat tat gac tcc cct tac				288
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Ser Pro Tyr	85	90	95	
acc ttc gga cag ggc acc aag gtg gag att aag cgg acc				327
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr	100	105		

<210> 104
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> 人造序列

<220>
 <223> 合成核苷酸

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(327)

<400> 104				
gat att cag atg aca cag agt cct agc agc ctg agc gcc tca gtg ggg				48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	5	10	15	
gat cgg gtc acc atc aca tgc ctg gcc agc gaa gac ata tat agc aac				96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn	20	25	30	
ctg gcc tgg tac caa cag aag cca ggg aaa agc cct aag ctg ctg att				144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile	35	40	45	
tac tac gcc aac agc ctc aat gat gga gtg cct tca cgg ttt tca gga				192
Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Asn Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	50	55	60	
tct ggc agc ggc act gat ttt acc ctg acc atc tct aga ctt cag cca				240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Gln Pro				

201400501

<220>

<223> 合成核苷酸

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (327)

<400> 106

gac ata cag atg act cag tca ccc agt tca ctc tct gcc agc gtg ggg 48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

gat agg gtt act atc aca tgc ctg gcc tct gaa gat atc tat tcc aat 96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn
20 25 30

ctc gca tgg tat cag caa aag cct gga aag agc cca cag ctc ttg ata 144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

tac tac gcc aac tca ctg aac gat gga gtg ccc tca agg ttc agt ggg 192
Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Asn Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

tcc ggc tca gga acc gat ttc acc ctg aca atc tct aga ctg cag cct 240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

gag gat ttc gcc aca tac ttt tgt cag cag aac tac gac agc ccc tac 288
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Ser Pro Tyr
85 90 95

aca ttc ggc cag ggc acc aaa ctg gag atc aag cgg acc 327
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 107

<211> 327

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成核苷酸

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (327)

<400> 107

gat att cag atg aca cag agt cct agc agc ctg agc gcc tca gtg ggg 48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

gat cgg gtc acc atc aca tgc ctg gcc agc gaa gac ata tat agc aac 96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn
20 25 30

100

105

110

357

act ctg gtc act gtc tct gca
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 115

<210> 109
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 124

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

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

Asn Ile His Trp Val Lys Gln Thr Pro Arg Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Thr Ile Phe Pro Val Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Arg Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Thr Thr Ala Arg Ala Trp Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 115

<210> 110
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> 小鼠

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (324)

<400> 125

cac att gtg atc aca cag act caa aaa ttc atg tcc aca tca gta gga
 His Ile Val Ile Thr Gln Thr Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

48

201400501

1	5	10	15	
gac agg gtc agc gtc acc tgc aag gcc agt cag aat gtg ggt agt aat				96
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Ser Asn	20	25	30	
gta gcc tgg tat caa cag aaa cca ggg caa tct cct aaa gta ctg att				144
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile	35	40	45	
tac tcg gca tcc tac cgg tac agt gga gtc cct gat cgc ttc aca ggc				192
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly	50	55	60	
agt gga tct ggg aca gat ttc aca ctc acc atc agc aat gtg cag tct				240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser	65	70	75	80
gaa gac ttg gca gac ttt ttc tgt cag caa tat aac acc tct ccg ttc				288
Glu Asp Leu Ala Asp Phe Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Ser Pro Phe	85	90	95	
acc ttc gga ggg ggg acc aag ctg gaa ata aaa cgg				324
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg	100	105		

<210> 111
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 126

His Ile Val Ile Thr Gln Thr 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 Gly Ser Asn	20	25	30	
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val 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 Ser Asn Val Gln Ser	65	70	75	80
Glu Asp Leu Ala Asp Phe Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Ser Pro Phe	85	90	95	
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg				

<210> 112
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 127

Ile Tyr Asn Ile His
 1 5

<210> 113
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 128

Thr Ile Phe Pro Val Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Arg Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 114
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 129

Ser Thr Thr Ala Arg Ala Trp Phe Pro Tyr
 1 5 10

<210> 115
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 130

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Ser Asn Val Ala
 1 5 10

<210> 116
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 131

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser

201400501

1

5

<210> 117
<211> 8
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 132

Gln Gln Tyr Asn Thr Ser Pro Phe
1 5

申請專利範圍

1. 一種具有抗關節炎作用之抗體或其功能性斷片，其可識別包含下述(I)至(III)之任一項中所記載之胺基酸序列的多肽：

(I)序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列；

(II)具有可使關節炎發病及/或惡化之多肽的胺基酸序列，該胺基酸序列係由與具有互補鹼基序列之核苷酸在嚴苛條件下可雜交之核苷酸所具有之鹼基序列來編碼，其中該互補鹼基序列係與編碼序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列的鹼基序列互補，以及

(III)可使關節炎發病及/或惡化之多肽所具有的胺基酸序列，該胺基酸序列係由在序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列中置換、刪除、附加或插入 1 個至數個胺基酸而成。

2. 如請求項 1 之抗體或其功能性斷片，其中該多肽在非還原狀態下之 SDS-PAGE 中之分子量為(I)50 至 55k、(II)50 至 55k 及 25 至 30k、或(III)70 至 75k。

3. 如請求項 1 或 2 之抗體或其功能性斷片，其可抑制骨破壞。

4. 如請求項 3 之抗體或其功能性斷片，其中該骨破壞係在膠原誘發性關節炎非人類動物模型中之作用。

5. 如請求項 1 至 4 之任一項之抗體或其功能性斷片，其中該抗關節炎作用係在膠原誘發性關節炎非人類動物模型中之作用。

- 6.如請求項 1 至 5 之任一項之抗體或其功能性斷片，其中如請求項 1 之多肽在膠原誘發性關節炎非人類動物模型中會使關節炎惡化。
- 7.如請求項 1 至 6 之任一項之抗體或其功能性斷片，其中如請求項 1 之多肽在膠原誘發性關節炎小鼠模型中可被檢測出。
- 8.如請求項 1 至 7 之任一項之抗體或其功能性斷片，其可抑制於炎症患部之細胞激素產生。
- 9.如請求項 8 之抗體或其功能性斷片，其中該細胞激素為炎症性細胞激素及/或趨化素(chemokine)。
- 10.如請求項 8 或 9 之抗體或其功能性斷片，其中該炎症患部為膠原誘發性關節炎非人類動物模型的患部。
- 11.如請求項 4 至 6 及 10 之任一項之抗體或其功能性斷片，其中該非人類動物為小鼠。
- 12.如請求項 1 至 11 之任一項之抗體或其功能性斷片，其可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽。
- 13.如請求項 1 至 12 之任一項之抗體或其功能性斷片，其係由重鏈及輕鏈構成，該重鏈包含：由序列表之序列編號 22 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH1、由序列表之序列編號 23 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH2 及由序列表之序列編號 24 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH3，該輕鏈包含：由序列表之序列編號 25 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL1、由序列表之序列編號 26 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL2 及由序列表之序列編號 27 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL3。

14.如請求項 1 至 12 之任一項之抗體或其功能性斷片，其係由重鏈及輕鏈構成，該重鏈包含：由序列表之序列編號 36 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH1、由序列表之序列編號 37 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH2 及由序列表之序列編號 38 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH3，該輕鏈包含：由序列表之序列編號 39 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL1、由序列表之序列編號 40 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL2 及由序列表之序列編號 41 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL3。

15.如請求項 1 至 12 之任一項之抗體或其功能性斷片，其係由重鏈及輕鏈構成，該重鏈包含：由序列表之序列編號 66 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH1、由序列表之序列編號 67 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH2 及由序列表之序列編號 68 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH3，該輕鏈包含：由序列表之序列編號 69 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL1、由序列表之序列編號 70 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL2 及由序列表之序列編號 71 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL3。

16.如請求項 1 至 12 之任一項之抗體或其功能性斷片，其係由重鏈及輕鏈構成，該重鏈包含：由序列表之序列編號 112 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH1、由序列表之序列編號 113 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH2 及由序列表之序列編號 114 所示之胺基酸序列所構成之 CDRH3，及該輕鏈包含：由序列表之序列編號 115 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL1、由序列表

之序列編號 116 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL2 及由序列表之序列編號 117 所示之胺基酸序列所構成之 CDRL3。

17.如請求項 1 至 12 之任一項之抗體或其功能性斷片，其包含重鏈及輕鏈且可識別如請求項 1 之多肽，該重鏈及輕鏈包含與如請求項 13 至 16 之任一項之抗體的重鏈及輕鏈之胺基酸序列分別具 95% 以上相同性的胺基酸序列。

18.如請求項 1 至 12 之任一項之抗體或其功能性斷片，其係結合在如請求項 13 至 16 之任一項之抗體或其功能性斷片所識別之抗原上之部位。

19.如請求項 1 至 12 之任一項之抗體或其功能性斷片，其與如請求項 13 至 16 之任一項之抗體或其功能性斷片競爭和如請求項 1 之多肽之結合。

20.如請求項 1 至 19 之任一項之抗體或其功能性斷片，其中該抗體為嵌合抗體。

21.如請求項 1 至 19 之任一項之抗體或其功能性斷片，其中該抗體為人型化抗體(humanized antibody)。

22.如請求項 1 至 19 之任一項之抗體或其功能性斷片，其中該抗體為人類抗體。

23.一種核苷酸，其係在下述(I)至(III)之任一項中所記載之核苷酸：

(I)包含編碼如請求項 1 至 22 之任一項之抗體之重鏈或輕鏈之一部分或全部胺基酸序列之鹼基序列的核苷酸；

(II)由包含編碼如請求項 1 至 22 之任一項之抗體之重鏈或輕鏈之一部分或全部胺基酸序列之鹼基序列的鹼基序列所構成的核苷酸；及

(III)由編碼如請求項 1 至 22 之任一項之抗體之重鏈或輕鏈之一部分或全部胺基酸序列之鹼基序列所構成的核苷酸。

24.一種重組載體，其中插入有如請求項 23 之核苷酸。

25.一種重組細胞，其中導入有如請求項 23 之核苷酸或如請求項 24 之重組載體。

26.一種細胞，其產生如請求項 1 至 22 之任一項之抗體。

27.一種如請求項 1 至 22 之任一項之抗體或其功能性斷片之製造方法，其包含下述之步驟(I)及(II)：

(I)培養如請求項 25 或 26 之細胞的步驟；及

(II)從前述步驟(I)所得到之培養物回收如請求項 1 至 22 之任一項之抗體或其功能性斷片的步驟。

28.如請求項 1 至 22 之任一項之抗體或其功能性斷片，其係藉由如請求項 27 之方法而得到。

29.一種如請求項 1 至 22 及 28 之任一項之抗體或其功能性斷片的修飾體。

30.一種醫藥組成物，其包含如請求項 1 至 22 及 28 之任一項之抗體或其功能性斷片、或者如請求項 29 之修飾體，做為有效成分。

31.如請求項 30 之醫藥組成物，其為表現如請求項 1 之多肽之個體之自體免疫疾病的治療藥或預防藥。

- 32.如請求項 31 之醫藥組成物，其中該自體免疫疾病係類風濕性關節炎。
- 33.如請求項 30 之醫藥組成物，其為表現如請求項 1 之多肽之個體之關節炎的治療藥或預防藥。
- 34.一種類風濕性關節炎之檢查或診斷用組成物，其包含如請求項 1 至 22 及 28 之任一項之抗體或其功能性斷片、或如請求項 29 項之修飾體。
- 35.如請求項 13 之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域包含在序列表之序列編號 72 至 81(第 40 至 49 圖)之任一項中記載之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域包含在序列表之序列編號 82 至 86(第 50 至 54 圖)之任一項中記載之胺基酸序列所示之肽。
- 36.如請求項 13 之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係在序列表之序列編號 72 至 81(第 40 至 49 圖)之任一項中記載之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域係在序列表之序列編號 82 至 86(第 50 至 54 圖)之任一項中記載之胺基酸序列所示之肽。
- 37.如請求項 13 之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係以由序列表之序列編號 19(第 16 圖)之胺基酸編號 20 至 138 所構成之胺基酸序列來表示，且輕鏈可變區域係以由序列表之序列編號 21(第 18 圖)之胺基酸編號 21 至 128 所構成之胺基酸序列來表示。
- 38.如請求項 35 之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域包含選自序列表之序列編號 72 至 74、76、及 79 至 81(第 40 至 42、44 及 47 至 49 圖)所構成之族群中

之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域包含序列表之序列編號 82(第 50 圖)之胺基酸序列所示之肽。

39.如請求項 36 之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係選自序列表之序列編號 72 至 74、76 及 79 至 81(第 40 至 42、44 及 47 至 49 圖)所構成之族群中之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域係以序列表之序列編號 82(第 50 圖)之胺基酸序列所示之肽。

40.如請求項 35 之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域包含選自序列表之序列編號 72 至 74 及 76 至 78(第 40 至 42 及 44 至 46 圖)所構成之族群中之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域包含序列表之序列編號 83(第 51 圖)之胺基酸序列所示之肽。

41.如請求項 36 之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係選自序列表之序列編號 72 至 74 及 76 至 78(第 40 至 42 及 44 至 46 圖)所構成之族群中之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域係在序列表之序列編號 83(第 51 圖)中記載之胺基酸序列所示之肽。

42.如請求項 35 之抗體或其功能性斷片，重鏈可變區域包含在序列表之序列編號 72 至 74(第 40 至 42 圖)之任一項中記載之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域包含序列表之序列編號 84(第 52 圖)之胺基酸序列所示之肽。

43.如請求項 36 之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係在序列表之序列編號 72 至 74(第 40 至 42 圖)之任一項中記載之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區

域係序列表之序列編號 84(第 52 圖)之胺基酸序列所示之肽。

- 44.如請求項 35 之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域包含序列表之序列編號 75(第 43 圖)之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域包含序列表之序列編號 85(第 53 圖)之胺基酸序列所示之肽。
- 45.如請求項 36 之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係序列表之序列編號 75(第 43 圖)之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域係序列表之序列編號 85(第 53 圖)之胺基酸序列所示之肽。
- 46.如請求項 35 之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域包含選自序列表之序列編號 73、74、76 及 77(第 41、42、44 及 45 圖)所構成之族群中之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域包含序列表之序列編號 86(第 54 圖)之胺基酸序列所示之肽。
- 47.如請求項 36 之抗體或其功能性斷片，其中重鏈可變區域係選自序列表之序列編號 73、74、76 及 77(第 41、42、44 及 45 圖)所構成之族群中之胺基酸序列所示之肽，且輕鏈可變區域係序列表之序列編號 86(第 54 圖)之胺基酸序列所示之肽。
- 48.一種抗體或其功能性斷片，其中該抗體係選自下述(i)至(xxi)：
- (i)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T13)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 76(第 44 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，

該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(ii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T14)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 76(第 44 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(iii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T15)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 76(第 44 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 86(第 54 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(iv)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T8)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 74(第 42 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(v)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T9)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 74(第 42 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之

胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(vi)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T10)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 74(第 42 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 84(第 52 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(vii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T11)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 74(第 42 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 86(第 54 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(viii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T18)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 78(第 46 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(ix)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T12)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 75(第 43 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 85(第 53 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(x)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T1)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 72(第 40 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xi)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T2)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 72(第 40 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T3)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 72(第 40 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 84(第 52 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xiii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T4)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 73(第 41 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xiv)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T5)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 73(第 41 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xv)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T6)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 73(第 41 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 84(第 52 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xvi)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T7)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 73(第 41 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 86(第 54 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xvii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T16)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 77(第 45 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 83(第 51 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xviii)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T17)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 77(第 45 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 86(第 54 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xix)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T19)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 79(第 47 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xx)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T20)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 80(第 48 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域；

(xxi)由重鏈及輕鏈所構成之抗體(T21)，其中該重鏈具有：由序列表之序列編號 81(第 49 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域，該輕鏈具有：由序列表之序列編號 82(第 50 圖)所示之胺基酸序列所構成之可變區域及來自人類 IgG1 之恆定區域。

49.如請求項 1 至 22 及 28 之任一項之抗體或其功能性斷片，其包含重鏈及輕鏈且可識別如請求項 1 之多肽，該重鏈及輕鏈包含與如請求項 35 至 48 之任一項之抗體的重鏈及輕鏈之胺基酸序列分別具 95% 以上相同性的胺基酸序列。

50.如請求項 1 至 22 及 28 之任一項之抗體或其功能性斷片，其係結合在如請求項 35 至 48 之任一項之抗體所識別之抗原上之部位。

51.如請求項 1 至 22 及 28 之任一項之抗體或其功能性斷片，其與如請求項 35 至 48 之任一項之抗體或其功能性斷片競爭和如請求項 1 之多肽之結合。

52.一種核苷酸，其係在下述 (I) 至 (III) 之任一項中所記載之核苷酸：

(I) 包含編碼如請求項 35 至 51 之任一項之抗體之重鏈或輕鏈之一部分或全部胺基酸序列之鹼基序列的核苷酸；

(II) 由包含編碼如請求項 35 至 51 之任一項之抗體之重鏈或輕鏈之一部分或全部胺基酸序列之鹼基序列的鹼基序列所構成的核苷酸；及

(III) 由編碼如請求項 35 至 51 之任一項之抗體之重鏈或輕鏈之一部分或全部胺基酸序列之鹼基序列所構成的核苷酸。

53.如請求項 52 之核苷酸，其中編碼如請求項 35 至 51 之任一項之抗體之重鏈之一部分或全部胺基酸序列的鹼基序列係由序列表之序列編號 91 至 100(第 58 至 67

圖)之任一項所表示的鹼基序列，且編碼如請求項 35 至 51 之任一項之抗體之輕鏈之一部分或全部胺基酸序列的鹼基序列係由序列表之序列編號 103 至 107(第 69 至 73 圖)之任一項所表示的鹼基序列。

54.一種重組載體，其中插入有如請求項 52 或 53 之核苷酸。

55.一種重組細胞，其中導入有如請求項 52 或 53 之核苷酸或如請求項 54 之重組載體。

56.一種細胞，其產生如請求項 35 至 51 之任一項之抗體。

57.一種如請求項 35 至 51 之任一項之抗體或其功能性斷片之製造方法，其包含下述之步驟(I)及(II)：

(I)培養如請求項 55 或 56 之細胞的步驟；及

(II)從前述步驟(I)所得到之培養物回收如請求項 35 至 51 之任一項之抗體或其功能性斷片的步驟。

58.如請求項 35 至 51 之任一項之抗體或其功能性斷片，其係藉由如請求項 57 之方法而得到。

59.一種如請求項 35 至 51 及 58 之任一項之抗體或其功能性斷片的修飾體。

60.一種醫藥組成物，其包含如請求項 35 至 51 及 58 之任一項之抗體或其功能性斷片、或者如請求項 59 之修飾體，做為有效成分。

61.如請求項 60 之醫藥組成物，其係表現如請求項 1 之多肽之個體之自體免疫疾病的治療藥或預防藥。

62.如請求項 61 之醫藥組成物，其中該自體免疫疾病係類風濕性關節炎。

- 63.如請求項 60 之醫藥組成物，其係表現如請求項 1 之多肽之個體之關節炎的治療藥或預防藥。
- 64.一種如請求項 1 之多肽之檢測方法，其包含使可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體與受驗樣本接觸的步驟。
- 65.如請求項 64 之檢測方法，其中該受驗樣本係來自受驗者的樣本。
- 66.如請求項 65 之檢測方法，其中該來自受驗者之樣本係血漿。
- 67.一種 RX 蛋白質之定量方法，其包含使可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體與受驗樣本接觸的步驟。
- 68.如請求項 67 之定量方法，其中該受驗樣本係來自受驗者之樣本。
- 69.如請求項 68 之定量方法，其中該來自受驗者之樣本係血漿。
- 70.如請求項 64 至 69 之任一項之方法，其中使用一種可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體。
- 71.如請求項 64 至 69 之任一項之方法，其中使用二種以上之可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體。
- 72.如請求項 71 之方法，其中使用三明治式 ELISA(sandwichELISA)。

73. 一種類風濕性關節炎之檢查方法，其包含使可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體與受驗樣本接觸的步驟。

74. 如請求項 73 之檢查方法，其中該受驗樣本係來自受驗者之樣本。

75. 如請求項 74 之檢查方法，其中該來自受驗者之樣本係血漿。

76. 一種類風濕性關節炎之診斷方法，其包含下述之步驟 (I) 至 (III)：

(I) 使可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體與來自受驗者之血漿接觸的步驟；

(II) 測定來自受驗者之血漿中之如請求項 1 之多肽之量的步驟；及

(III) 在來自受驗者之血漿中之步驟 (II) 之多肽之量比來自健康者之血漿中之步驟 (II) 之多肽之量多的情況，判定該受驗者罹患類風濕性關節炎或罹患該病之風險高的步驟。

77. 一種多肽之測定用或診斷用組成物，其包含可識別包含序列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體。

78. 如請求項 77 之組成物，其係用於類風濕性關節炎之診斷。

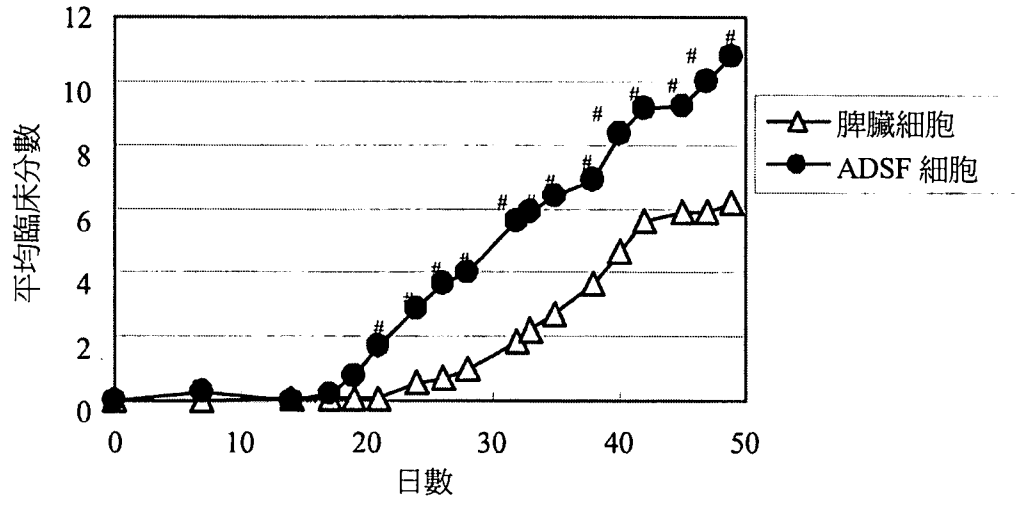
- 79.如請求項 77 或 78 之組成物，其包含一種可識別包含序列列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體。
- 80.如請求項 77 或 78 之組成物，其包含二種以上之可識別包含序列列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體。
- 81.如請求項 80 之組成物，其係用於三明治式 ELISA 法。
- 82.一種檢查用或診斷用之試藥或套組，其包含可識別包含序列列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體。
- 83.如請求項 82 之試藥或套組，其係用於自體免疫疾病之檢查或診斷。
- 84.如請求項 83 之試藥或套組，其中該自體免疫疾病係類風濕性關節炎。
- 85.如請求項 82 至 84 之任一項之試藥或套組，其包含一種可識別包含序列列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體。
- 86.如請求項 82 至 84 之任一項之試藥或套組，其包含二種以上之可識別包含序列列表之序列編號 15 所示之胺基酸序列之多肽的抗體或其功能性斷片或其修飾體。
- 87.如請求項 82 至 86 之任一項之試藥或套組，其包含如請求項 1 之多肽或其斷片或其修飾體。
- 88.如請求項 13 之抗體或其功能性斷片，其中該抗體係大鼠抗體。

89.如請求項 14 至 16 之任一項之抗體或其功能性斷片，
其中該抗體係小鼠抗體。

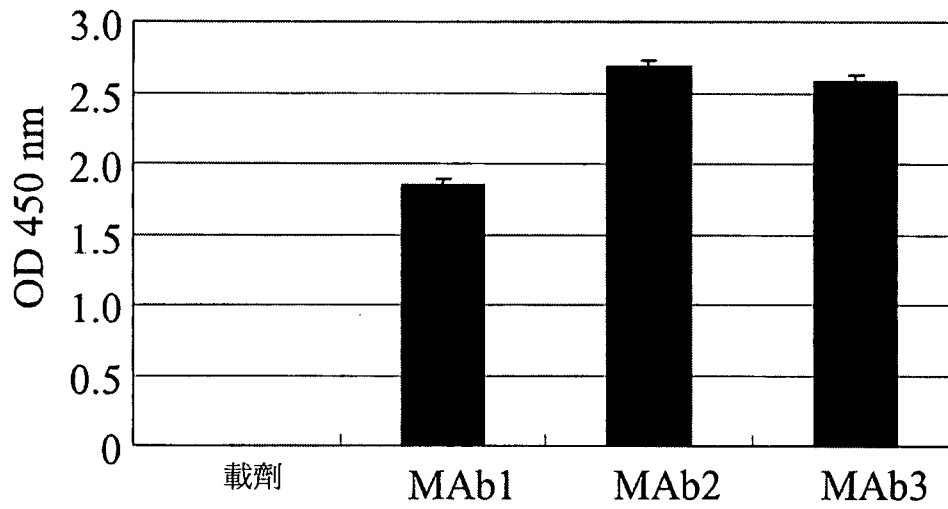
90.如請求項 30 至 33 及 60 至 63 之任一項之醫藥組成
物，其係與另外的治療劑或預防劑組合使用。

圖式

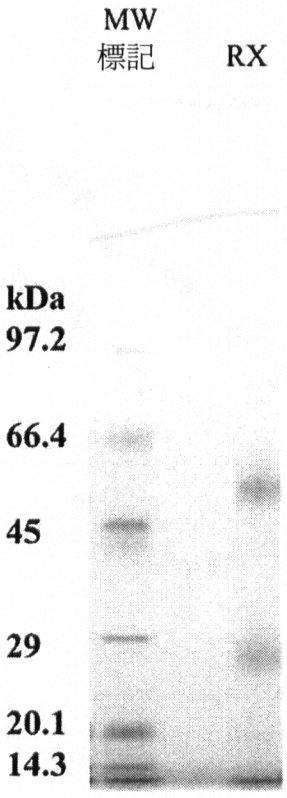
第 1 圖



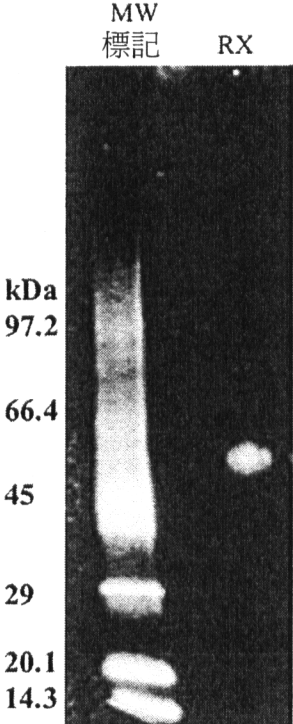
第 2 圖



第 3 圖



第 4 圖



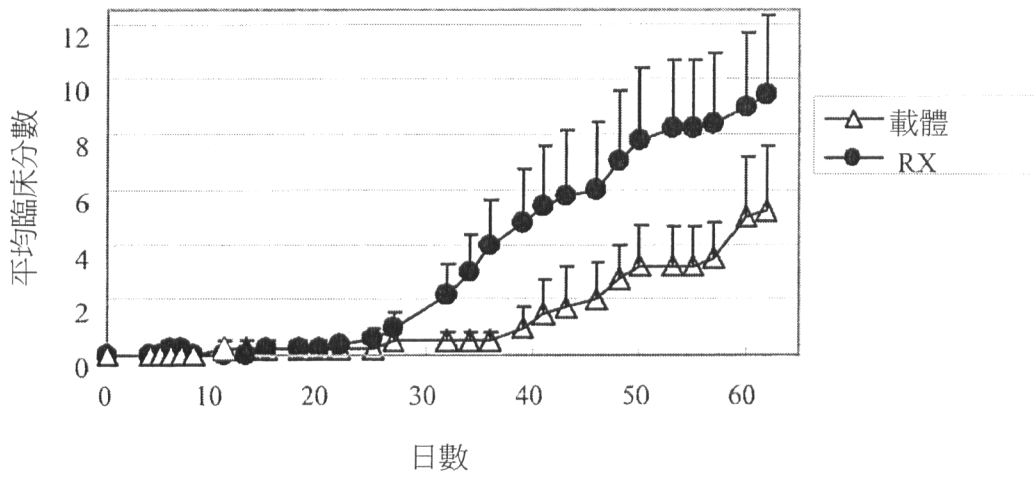
第 5 圖

胺基酸序列	位置	理論 分子量	測定 分子量	序列 編號
ESYWAYLPKPPILHPVGGSTDPIR	1 - 25	2879.49	2879.45	1
MWELWLTTLGNSGANTK	102 - 118	1921.95	1921.91	2
YPH*CQIAFK	130 - 138	1163.57	1163.55	3
DAFWEGDESAPPR	140 - 152	1476.64	1476.61	4
GALGLLWDFSLPSPSVDQSDQIK	169 - 191	2473.26	2473.22	5
WYEAGWVEPTWFWENSPK	211 - 228	2312.05	2312.01	6
DPNDRDFTALVPHTELFR	229 - 246	2143.06	2143.02	7
DFTALVPHTELFR	234 - 246	1545.81	1545.78	8
RPGFQHEMIPTSA*CVTYPYAILLGLP QLIDIEK	258 - 291	3900.01	3899.96	9
GSTFHIS*CSS*CR	293 - 304	1398.59	1398.56	10
LTN*CLDSSAYDYAAIIVK	305 - 322	2016.99	2016.96	11
RPPYVLLPVDIGDEPWFDSDAIQTFR	323 - 348	3046.53	3046.49	12
YATDLIR	349 - 355	851.46	851.44	13

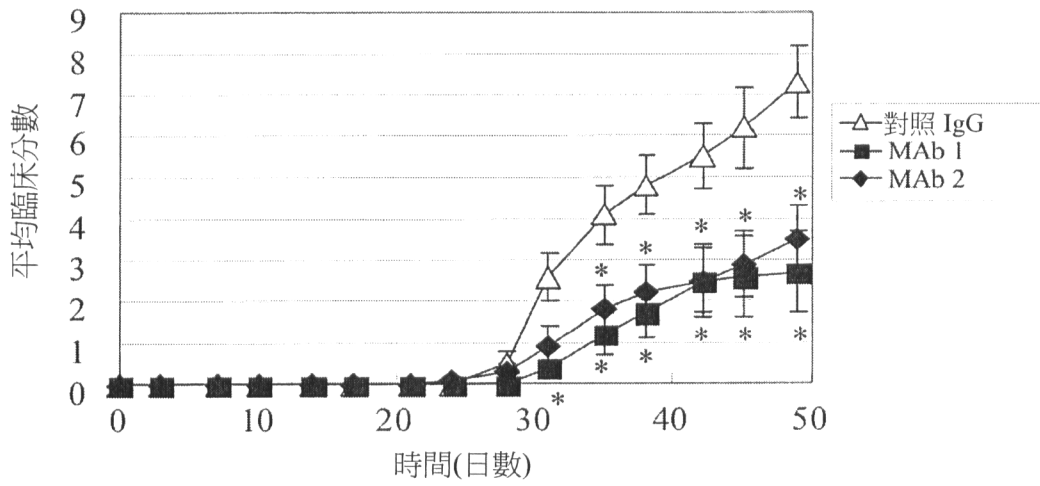
第 6 圖

抗體	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)
MAb1	8.2×10^5	1.3×10^{-5}	1.6×10^{-10}
MAb2	8.1×10^5	2.1×10^{-4}	2.6×10^{-10}
MAb3	2.8×10^6	1.7×10^{-3}	6.2×10^{-10}

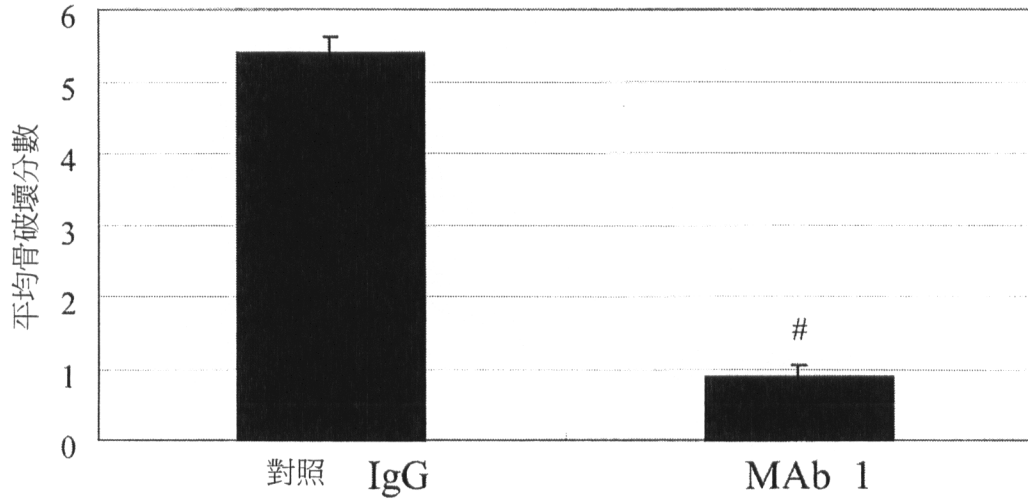
第 7 圖



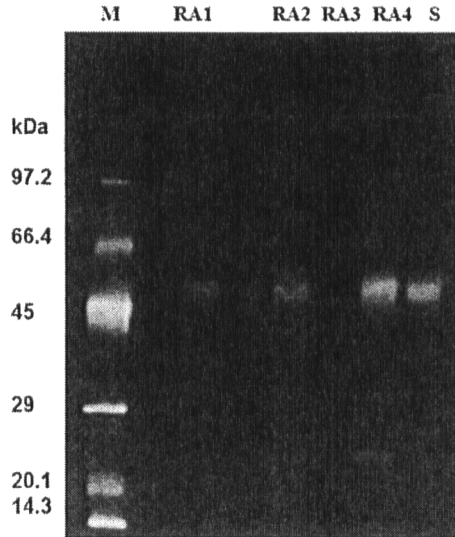
第 8 圖



第 9 圖



第 10 圖



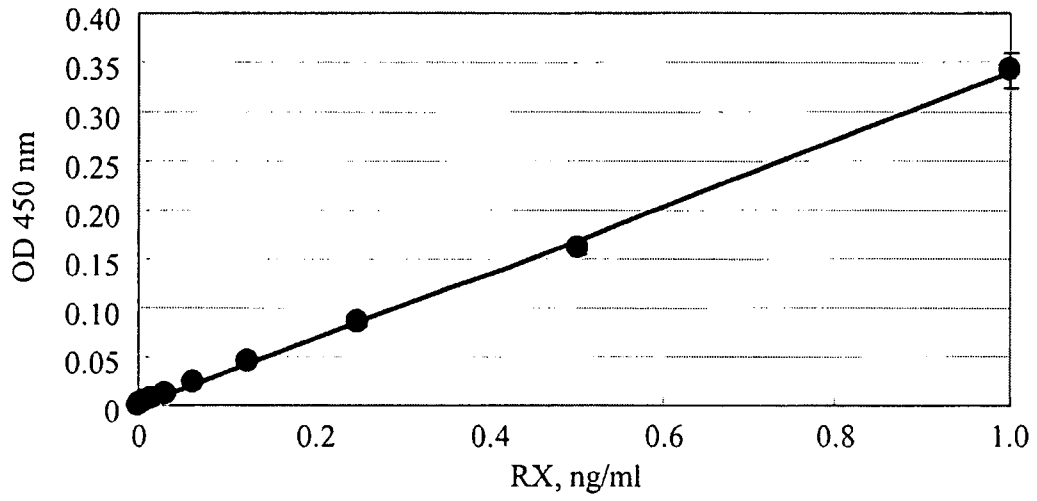
第 11 圖

胺基酸序列	位置		理論分子量	測定分子量	序列編號
ESYWAYLPKPPILHPVWGSTDPIR	1	25	2879.49	2879.47	42
QVFLSDTPTVDNNKPGGK	79	96	1916.97	1916.96	43
MWELWLTTLGN SGANTK	102	118	1921.95	1921.96	44
KDAFWEGDESAPPR	139	152	1604.73	1604.76	45
DAFWEGDESAPPR	140	152	1476.64	1476.64	46
GALGLLWDFSLPSPSVDQSDQIK	169	191	2473.26	2473.26	47
WYEAGWVEPTWFWENSPK	211	228	2312.05	2312.05	48
DPNDRDFTALVPHTEFR	229	246	2143.06	2143.05	49
DFTALVPHTEFR	234	246	1545.81	1545.81	50
GSTFHIS*CSS*CR	293	304	1398.59	1398.60	51
LTN*CLDSSAYDYAAIIVK	305	322	2017.00	2016.99	52

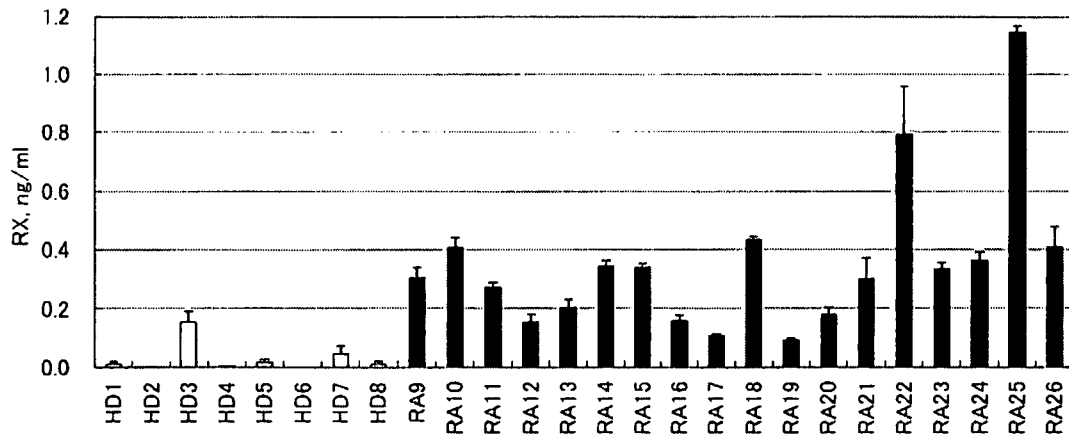
第 12 圖

- ADSF QIAFKKDAFW EGDESAPPRW LPCAFPDQGV SFSPRGALGL LWDFSLPSPS
VDQSDQIKSK KDLFGNYTPP VNKEVHRWYE AGWVEPTWFW ENSPKDPNDR
- 第 1 號 QIAFKKDAFW EGDESAPPRW LPCAFPDQGV SFSPRGALGL LWDFSLPSPS
VDQSDQIKSK KDLFGNYTPP VNKEVHRWYE AGWVEPTWFW ENSPKDPNDR
- 第 2 號 QIAFKKDAFW EGDESAPPRW LPCAFPDQGV SFSPKGALGL LWDFSLPSPS
VDQSDQIKNK KDLFGNYTPP VNKEVHRWYE AGWVEPTWFW ENSPKDPNDR
- 第 3 號 QIAFKKDAFW EGDESAPPRW LPCAFPDQGV SFSPKGSGLGL LWDFSLPSPS
VDQSDQIKNK KDLFGNYTPP VNKEVHRWYE AGWVEPTWFW ENSPKDPNDR
- 第 4 號 QIAFKKDAFW EGDESAPPRW LPCAFPDQGV SFSPKGALGL LWDFSLPSPS
IDQSEQIKSK KDLLGNYTPP VNKEVHRWYE AGWVEPTWFW ENSPKDPNDR

第 13 圖



第 14 圖



第 15 圖

ATGGACACCAGGCTCAGCTTGGTTTTTCATTGTCCTTTTCATAAAAGGTGTCCAGTGTGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAG
 GCTTAGTGCAGCCTGGAAGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGTAGGTTCCAGGATTCACCTTTCAGTACTATTACATGGCCTGGGTCCG
 CCAGGCTCCAAAGAAGGGTCTGGAGTGGTCCGATCCATTAGTTATGAGGGTAGTAACACTAACTTTGGAGACTCCGTGAAGGGC
 CGATTCACTATCTCCAGAGATAGTGCAAAAAGCACCTATACCTACAAATGAACAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCACTTATT
 ATTGTGCAAGATGGGCCAAACAGGTACTACTTTGATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCTCCTCAGCTGAAACAAC
 AGCCCCATCTGTCTATCCACTGGCTCCTGGAAGTCTCTCAAAAAGTAACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTAT
 TTCCCTGAGCCAGTCAACCGTACCTGGAAGTCTGGAGCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTCCAGCTGTCTGCAGTCTGGAC
 TCTACACTCTCACCAGCTCAGTACTGTACCCTCCAGCACCTGGTCCAGCCAGGCCGTACCTGCAACGTAGCCCACCCGGCCAG
 CAGCACCAGGTGGACAAGAAAATTGTGCCAAGGGAATGCAATCCTTGTGGATGTACAGGCTCAGAAGTATCATCTGTCTTCATC
 TTCCCCCAAAGACCAAAGATGTGCTCACCATCACTCTGACTCCTAAGGTACAGTGTGTTGTGGTAGACATTAGCCAGAATGATC
 CCGAGGTCCGGTTCAGCTGGTTTATAGATGACGTGGAAGTCCACACAGCTCAGACTCATGCCCCGAGAAGCAGTCCAACAGCAC
 TTTACGCTCAGTCACTGAACTCCCCATCGTGACCCGGGACTGGCTCAATGGCAAGACGTTCAAATGCAAAGTCAACAGTGGAGCA
 TTCCCTGCCCCATCGAGAAAAGCATCTCAAACCCGAAGGCACACCACGAGGTCCACAGGTATACACCATGGCGCCTCCAAGG
 AAGAGATGACCAGAGTCAAGTCAAGTATCACCTGCATGGTAAAAGGCTTCTATCCCCAGACATTTATACGGAGTGGAAAGATGAA
 CGGGCAGCCACAGGAAAACACTACAAGAACACTCCACCTACGATGGACACAGATGGGAGTTACTTCTCTACAGCAAGCTCAATGTA
 AAGAAAAGAACATGGCAGCAGGAAACACTTTCAGTGTCTGTGCTGCATGAGGGCCTGCACAACCACCATACTGAGAAGAGTC
 TCTCCACTCTCCGGTAAATAA

第 16 圖

MDTRLSLVFI VLF I KGVQCEVQLVESGGGLVQPGRSLKLS CVGSGFTFSDYYMAWVRQAPKKGLEWVASI SYEGSNTNFGDSVKG
 RFTISRDSAKSTLYLQMNLSRSEDATYYCARWAQTGYYPDYWGQVMVTVSSAETTAPSVYPLAPGTALKSNSMVTLGCLVKGY
 FPEPVTVTWSGALSSGVHTFPAVLQSGLYTLTSSVTVPSSWSSQGVTCNVAHPASSTKVDKIVPRECNPCGCTGSEVSSVFI
 FPPKTKDVLTIITLTPKVTCVVVDISQNDPEVRFSWFIDDVEVHTAQTHAPEKQSNSTLRSVSELPVHRDWLNGKTFKCKVNSGA
 FPAPIEKSIKPEGTPRGPQVYTMAPPKEEMTQSQVSI TCMVKGFYPPIYTEWKMNQPPQENYKNTPTMDTDGSYFLYSKLNV
 KKETWQQNTFTCSVLHEGLHNNHTEKNVSHSPGK

第 17 圖

ATGGCTGTGCCACTCAGCTCCTGGGGTTGTTGCTGCTGTGGATTACAGATGCCATATGTGACATTCAGATGACACAGTCTCCAG
 CTTCCCTGTCTGCATCTCTGGGAGAACTGTCACCATCGAATGTCTAGCAAGTGAGGATATTTACAGTAATTTAGCTTGGTATCA
 GCAGAAGCCAGGGAAATCTCCTCAGCTCCTGATCTATTATGCAAATAGCTTGAATGATGGCGTCCCATCACGGTTCAGTGGCAGT
 GGATCTGGCACACAGTTTTCTCTGAAGATCAACAGCCTGCAATCTGAAGATGCTCGATTTATTTCTGTCAACAGAATTATGATA
 GTCCGTACACGTTTGGAGCTGGGGCCAAGCTGGAACGAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCTATCTTCCCACCATCCAC
 GAAACAGTTAGCAACTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCCTCATGAACAACCTCTATCCCAGAGACATCAGTGTCAAGTGGAAGATT
 GATGGCACTGAACGACGAGATGGTGTCTGGACAGTGTACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACGTACAGCATGAGCAGCACCC
 TCTCGTTGACCAAGGCTGACTATGAAAGTCATAACCTCTATACTGTGAGGTTGTTTATAAGACATCATCCTCACCCGTCGTC
 GAGCTTCAACAGGAATGAGTGTAA

第 18 圖

MAVPTQLLGLLLWITDAICDIQMTQSPASLSASLGETVTIECLASEDIYSNLAWYQQKPKSPQLLIYYANSLNDGVPSRFSGS
 GSGTQFSLKINSLQSEVSIYFCQQNYDSPYTFGAGAKLELKRADAAPTVISIFPPSTKQLATGGASVVCLMNNFYPRDISVKWKI
 DGTERRDGVLDVTDQDSKSTYSMSSTLSLTKADYESHNLTYCEVVHKTSSSPVVKSPNRNEC

第 19 圖

GAGGTGAAGCTGCAGGAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTATACCT
 TCAGAGACTATCCAATTCAGTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACACTGAGACTGGTGA
 GCCGACATATGCGGATGACTTCAAGGGACGCTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAACACTACCTATTTGCAGATCAACAAC
 CTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTACTCCCAGGTTACTTACTGGGGCCAAGGACTCTGGTCACTGTCTCTTCA

第 20 圖

EVKLQESGPELKKPGETVKISCKASGYTRDYP IHVVKQAPGKGLKWMGWINTETGEPTYADDFKGRFAFSLETSANTTYLQINN
 LKNEDTATYFCTPRFTYWGQGLVTVSS

第 21 圖

GATATTGTGATGACACAGACTCCATCCTCCCTAGCTGTGTGCTGAGGAGAGAAGGTTACTATGAGCTGCAAGTCCAGTCCAGTCCAGAAC
 TTTTATATAGTGGCAATCAAAAAGAACTACTTGGCCTGGTTCCAGCAGAAACCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATTTACTGGGC
 ATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTCTCAGCAGTGTGAAG
 GCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTGAGCAATCTTATAGGTATCCGTATACGTCCGGAGGGGGACCAAGCTGGAATAAAAC
 GG

第 22 圖

DIVMTQTPSSLAVSVGEKVTMSCKSSQNLLYSGNQKNYLAWFQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTLSSVK
AEDLAVYYCQQSYRYPTYSGGGTKLEIKR

第 23 圖

抗體	CDR	胺基酸序列	序列編號
MAb1	CDRH1	DYYMA	22
	CDRH2	SISYEGSNTNFGDSVKG	23
	CDRH3	WAQTGYDFY	24
	CDRL1	LASEDIYSNLA	25
	CDRL2	YANSLND	26
	CDRL3	QQNYDSPY	27
MAb2	CDRH1	DYPIH	36
	CDRH2	WINTETGEPTYADDFKG	37
	CDRH3	RFTY	38
	CDRL1	KSSQNLLYSGNQKNYLA	39
	CDRL2	WASTRES	40
	CDRL3	QQSYRYPY	41
MAb3	CDRH1	RNVMS	66
	CDRH2	TISAGGSYTYYPDSVKG	67
	CDRH3	LNNDNGNYFDY	68
	CDRL1	RASSSVVYMY	69
	CDRL2	YTSNLAP	70
	CDRL3	QQFTSSPY	71

第 24 圖

GAAAGTTATTGGGCTTACCTACCTAAACCACCTATTCTCCATCCCGTGGGATGGGGAAGTACAGACCCATTAGAGTTCTGACCA
 ATCAAACCATGTATTTGGGTGGGTCGCCTGACTTTCACGGGTTTAGAAACATGTCTGGCAATGTACATTTTGAGGGGAAGTCTGA
 TACGCTCCCCATTTGCTTTTCTTCTCCTTTTCTACCCCCACGGGCTGCTTTCAAGTAGATAAGCAAGTATTTCTTTCTGATACA
 CCCACGGTTGATAATAATAAACCTGGGGGAAAGGGTGATAAAAAGGCGTATGTGGGAACTTTGGTTGACTACTTTGGGGAACTCAG
 GGGCCAATACAAAACCTGGTCCCTATAAAAAAGAAGTTGCCCCCAAATATCCTCACTGCCAGATCGCCTTAAAGAAGGACGCCTT
 CTGGGAGGGAGACGAGTCTGCTCCTCCACGGTGGTTGCCCTTGCGCCTCCCTGACCAGGGGTGAGTTTTTCTCCAAGAGGGGCC
 CTTGGGTTACTTTGGGATTTCTCCCTCCCTCGCTAGTGTAGATCAGTCAGATCAGATTAAGCAAAAAGGATCTCTTTGGAA
 ATTATACTCCCCCTGTCAATAAAGAGGTTTCATCGATGGTATGAAGCAGGATGGGTAGAACCTACATGGTCTGGGAAAATTCTCC
 TAAGGATCCAATGATAGAGATTTTACTGCTCTAGTTCGCCATACAGAAATGTTTCGCTTAGTTGCAGCCTCAAGACATCTTATT
 CTCAAAAGGCCAGGATTTCAAGAACATGAAATGATTCCTACATCTGCCTGTGTTACTTACCCTTATGCCATATTATTAGGATTAC
 CTCAGCTAATAGATATAGAGAAAAGAGGATCTACTTTTCATATTTCTGTTCTTCTTGTAGATTGACTAATTGTTTAGATTCTTC
 TGCCCTACGACTATGCAGCGATCATAGTCAAGAGGCCGCCATACGTGCTGCTACCTGTAGATATTGGTGATGAACCATGGTTTGAT
 GATTCTGCCATTCAAACCTTTAGGTATGCCACAGATTTAATTCGAGCTAAGCGATTCTGCTGCCATTATTCTGGGCATATCTG
 CTTAATTGCTATTATCACTTCTTTGCTGTAGCTACTACTGCTTTAGTTAAGGAGATGCAAACCTGCTACGTTTGTAAATAATCT
 TCATAGAAATGTTACATTAGCCTTATCTGAACAAAGAATAATAGATTTAAAATTAGAAGCTAGACTTAATGCTTTAGAAGAAGTA
 GTTTTAGAGTTGGGACAAGATGTGGCAAACTTAAAGACCAGAATGTCCACCAGGTGTCATGCAAATTATGATTTTATCTGCGTTA
 CACCTTTACCATATAATGCTTCTGAGAGCTGGGAAAGAACC AAAGCTCATTTATTGGGCATTTGGAATGACAATGAGATTTATA
 TAACATACAAGAATTAACCAACCTGATTAGTGATATGAGCAAACAACATATTGACGCAGTGGACCTCGGTGGCTTGCTCAGTCC
 TTTGCCAATGGAGTAAAGGCTTTAAATCCATTAGATTGGACACAATATTTCATTTTTATAGGTGTTAGAGCCCTGCTTTTAGTCA
 TAGTGCTTATGATTTTCCCATTGTTTTCCAGTGCTTTGCCAAGTAG

第 25 圖

ESYWAYLPKPPILHPVWGSDPIRVLTNQTMYLGGSPDFHGFRNMSGNVHFEGKSDTLPICFSFSFSTPTGCFQVDKQVFLSDT
 PTVDNKPGGKGDKRRMWELWLTTLGNSGANTKLVPIKKLPPKYPHCQIAFKKDAFWEGDESAPPRWLPACFPDQGVFSFPRGA
 LGLLWDFSLPSPVSDQIKSKDLFGNYTPPVNKEVHRWYEAGWVEPTWFWENSPKDPNDRDFTALVPHTELFRLVAASRHLI
 LKRPGFQEHMIPTSACVTYPYAILLGLPQLIDIKRGSTFHISSSCLTNCLDSSAYDYAAIIVKRPPYVLLPVDIGDEPWFD
 DSAIQTFRYATDLIRAKRFVAAIILGISALIAIITSFAVATTALVKEMQTATFVNNLHRNVTLALSEQRIIDLKLEARLNALEEV
 VLELGQDVANLKTRMSTRCHANYDFICVTPLPYNASESWERTKAHLGLIWNDAIISYNIQELTNLISDMSKQHI DAVDLGGLAQS
 FANGVKALNPLDWTQYFIFIGVRALLVIVLMIFFIVFQCFAK

第 26 圖

GAAAGTTATTGGGCTTACCTACCTAAACCACCTATTCTCCATCCCGTGGGATGGGGAAGTACAGACCCATTAGAGTTCTGACCA
 ATCAAACCATGTATTTGGGTGGGTCGCCTGACTTTCACGGGTTTAAAGCAATGTCTGGCAATGTACATTTTGAGGGGAAGTCTGA
 TACGCTCCCATTTGCTTTTCTCTCTTTCTACCCACGGGCTGCTTCAAGTAGATAAGCAAGTATTTCTTTCTGATACA
 CCCACGGTTGATAATAATAAACCTGGGGGAAAGGGTGATAAAAGGCGTATGTGGAACTTTGGTTGACTACTTTGGGAACTCAG
 GGGCAATACAAAAGTGGTCCCTATAAAAAAGAAGTTGCCCCCAAATATCCTCACTGCCAGATCGCCTTTAAGAAGGACGCCTT
 CTGGGAGGGAGACGAGTCTGCTCCTCCACGGTGGTGCCTTGCCTTCCCTGACCAGGGGTGAGTTTTTCTCCAAGAGGGGCC
 CTTGGGTTACTTTGGGATTTCTCCCTCCCTCGCCTAGTGTAGATCAGTCAGATCAGATTAAGCAAAAAGGATCTCTTTGGAA
 ATTATACTCCCCGTCAATAAAGAGGTTTCATCGATGGTATGAAGCAGGATGGGTAGAACCTACATGGTTCTGGGAAAATTCTCC
 TAAGGATCCCAATGATAGAGATTTTACTGCTCTAGTTCCCATACAGAATGTTTCGCTTAGTTGCAGCCTCAAGACATCTTATT
 CTCAAAAGCCAGGATTTCAAGAACATGAAATGATTCTACATCTGCCTGTGTTACTTACCCTTATGCCATATTATTAGGATTAC
 CTCAGTAATAGATATAGAGAAAAGAGGATCTACTTTTCATATTTCTGTTCTTCTGTAGATTGACTAATGTTTAGATTCTTC
 TGCCTACGACTATGCAGCGATCATAGTCAAGAGGCCGCCATACGTGCTGACTCTGTAGATATTGGTGATGAACCATGGTTGAT
 GATTCTGCCATTCAAACCTTTAGGTATGCCACAGATTAATTCGAGCTAAGCGATTCTGCTGCCATTATTCTGGGCATATCTG
 CTTAATTGCTATTATCACTCC

第 27 圖

ESYWAYLPKPPILHPVWGSDPIRVLTNQTMYLGGSPDFHGFNRMSGNVHFEGKSDTLPICFSFSFSTPTGCFQVQVFLSDT
 PTVDNKPGGKDKRRMWELWLTTLGNSGANTKLVPIKKLPPKYPHCQIAFKKDAFWEGDESAPPRWLPACFPDQGVSPKGA
 LGLLWDFSLPSPVSDQSDQIKSKKDLFGNYTPPVNKEVHRWYEAGWVEPTWFWENSPKDPNDRDFTALVPHTELFRLVAASRLI
 LKRPGFQHEMIPTSA CVTYPYAILLGLPQLIDIEKRGSTFHI SCSSRLTNCLDSSAYDYAAIIVKRPPYVLLPVDIGDEPWFD
 DSAIQTFRYATDLIRAKRFVAAIILGISALIAIITS

第 28 圖

ATGCCGAATCACCAATCTGGGTCCCCGACCGTTTCATCCGACCTTTACTGAGCGGAAAGAAGCAACGCCACACCTGGCACTGC
 GGAGAAAACGCCGCCGAGATGAGAAAGATCAACAGGAAAGTCCGGAGGATGAATATAGCCCCCATCAAAGAGAAGACGGCTTG
 GCAACATCTGCAGGCGTAAATCTCCGAAGCGGAGGAGTTCTTAAACCTCACAACTCCCCAACCTCTTGACTTTATTTCTT
 GCTTTGTGTCTGTCTCGGCCCGCCCTGTGGCCGGGAAAGTATTGGGCTTACCTACCTAAACCACCTATTCTCCATCCCG
 TGGGATGGGGAAGTACAGACCCATTAGAGTTCTGACCAATCAAACCATGTATTTGGGTGGGTGCGCTGACTTTCACGGGTTAG
 AAACATGTCTGGCAATGTACATTTTGAGGGGAAGTCTGATACGCTCCCATTTGCTTTTCTCTCTTTTCTACCCCCACGGGC
 TGCTTCAAGTAGATAAGCAAGTATTTCTTCTGATACACCCACGGTTGATAATAATAAACCTGGGGGAAAGGGTGATAAAAGGC
 GTATGTGGGAACTTTGGTTGACTACTTTGGGGAACCTCAGGGGCAATACAAAACCTGGTCCCTATAAAAAAGAAGTTGCCCCCAA
 ATATCTCACTGCCAGATCGCCTTTAAGAAGGACGCTTCTGGGAGGAGACGAGTCTGCTCCTCCACGGTGGTTGCCTTGCGCC
 TTCCCTGACCAGGGGTGAGTTTTCTCCAAGAGGGGCCCTTGGGTTACTTTGGGATTTCTCCCTTCCCTCGCCTAGTGTAGATC
 AGTCAGATCAGATTAAGCAAAAAGGATCTCTTTGAAATTATACTCCCCCTGTCAATAAAGAGGTTTCATCGATGGTATGAAGC
 AGGATGGGTAGAACCTACATGGTTCTGGGAAAATCTCCTAAGGATCCCAATGATAGAGATTTACTGCTCTAGTTCCCCATACA
 GAATTGTTTCGCTTAGTTGCAGCCTCAAGACATCTTATTCTCAAAGGCCAGGATTTCAAGAACATGAAATGATTCTACATCTG
 CCTGTGTTACTTACCCTTATGCCATATTATTAGGATTACCTCAGCTAATAGATATAGAGAAAAGAGGATCTACTTTTCATATTTT
 CTGTTCTTCTGTAGATTGACTAATTGTTTAGATTCTTCTGCCTACGACTATGCAGCGATCATAGTCAAGAGGCCGCATACGTG
 CTGCTACCTGTAGATATTGGTATGAACCATGGTTTGTAGATTCTGCCATTCAAACCTTAGGTATGCCACAGATTTAATTGCGAG
 CTAAGCGATTGCTCGCTGCCATTATTCTGGGCATATCTGCTTAAATTGCTATTATCACTTCTTTGCTGTAGCTACTACTGCTTT
 AGTTAAGGAGATGCAAACCTGCTACGTTTGTAAATAATCTTATAGAAATGTTACATTAGCCTTATCTGAACAAAGAATAATAGAT
 TAAAATTAGAAGCTAGACTTAATGCTTTAGAAGAAGTAGTTTTAGAGTTGGGACAAGATGTGGCAAACCTAAAGACCAGAATGT
 CCACCAGGTGTCATGCAAATTATGATTTTATCTGCGTTACACCTTTACCATATAATGCTTCTGAGAGCTGGGAAAAGAACCAAGC
 TCATTTATTGGGCATTTGGAATGACAATGAGATTTTATATAACATAACAAGAATTAACCAACCTGATTAGTGATATGAGCAAAACA
 CATATTGACGCAGTGGACCTCGGTGGCTTGCTCAGTCCTTTGCCAATGGAGTAAAGGCTTTAAATCCATTAGATTGGACACAAT
 ATTTCATTTTATAGGTGTTAGAGCCCTGCTTTTAGTCATAGTCTTATGATTTTCCCATTGTTTTCCAGTCTTTGCGAAGAG
 CCTTGACCAAGTGCAGTCAGATCTTAACGTGCTTCTTTAAAAAGAAAAAGGGGAAATGCCCGCCTGCAGCAGAAATGGTT
 GAACTCCCAGAGTGTCTACCCTTAG

第 29 圖

MPNIHQSGSPTGSSDLLLSGKKQRPHLALRRKRRRMRKINRKVRRMNIAPIKEKTAWQHLQALI SEAEVLKTSQTPQTSLTLFL
 ALLSVLGGPPVAGESYWAYLPKPPILHPVWGSTDP IRVLTNQMTYLGSPDFHGFRNMSGNVHFEGKSDTLPICFSFSFSTPTG
 CFQVDKQVFLSDTPTVDNKNPGGKDKRRMWELWLTTLGN SGANTKLVPIKKKLPPKYPHCQIAFKKDAFWEGDESAPRWLPCA
 FPDQGVSFSPRGALGLLWDFSLSPSPVDQSDQIKSKKDLFGNYTPPVNKEVHRWYEAGWVEPTWFWENSPKDPNDRDFTALVPHT
 ELFRLVAASRHLILKRPGFQEHMIPTSA CVTYPIYAILLGLPQLIDIEKRGSTFHI SCSSCRLTNCLDSSAYDYAAIIVKRPPYV
 LLPVDIGDEPWFDSDAIQTFRYATDLIRAKRFVAAIILGISALIAIITSFAVATTALVKEMQTATFVNNLHRNVTLALSEQRIID
 LKLEARLNALEEVVLELQGDVANLKRMRSTRCHANYDFICVTPLPYNASESWERTKAHLLGIWNDNEISYNIQELTNLISDMSKQ
 HIDAVIDLGLAQSFANGVKALNPLDWTQYFIFIGVRALLLVI VLMIFPIVFQCFKSLDQVQSDLVLLKKKKGGNAAPAAEMV
 ELPRVSYP

第 30 圖

CAGGTGAAGCTGGAGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAGTT
 TTAGTAGAAATGTCATGTCCTGGGTCGCCAGACTCCGGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCAACCATTAGTGCTGGTGGTAGTTA
 CACCTATTATCCAGACAGTGTGAAGGGGCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACCCTGTATCTGCAAATGAGCAGT
 CTGAGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTGCAAGACTTAATTATAACGATAACGGGAACACTTTGACTACTGGGGCCAAG
 GCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

第 31 圖

QVKLEESGGGLVKPGGSLKLSAASGFSPSRNVMSWVRQTPEKRLEWVATI SAGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMS
 LRSEDTAMYYCARLNYNDNGNYFDYWGGTTLTVSS

第 32 圖

GATATTGTGATGACACAGTCTACAGCAATCATGTCTGCATCTCTAGGGGAGAAGGTCACCATGAGCTGCAGGGCCAGCTCAAGTG
 TAGTTTACATGTA CTGGTACCAGCAGAAGTCAGATGCCTCCCCAAACTATGGATTTATTACACATCCAACCTGGCTCCTGGAGT
 CCCGGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGTCTGGGAACTCTTATTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGGTGAAGATGCTGCCACTTAT
 TACTGCCAGCAGTTTACTAGTTCCCCATACAGTTCGGAGGGGGACCAAGCTGGAATAAAACGG

第 33 圖

DIVMTQSTAIMSASLGEKVTMSCRASSSVVYMYWYQQKSDASPKLWIYYTSLNAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISSMEGEDAATY
 YCQQFTSSPYTFGGGKLEIKR

第 34 圖

	KD (nM)
嵌合 MA b 1	0.22

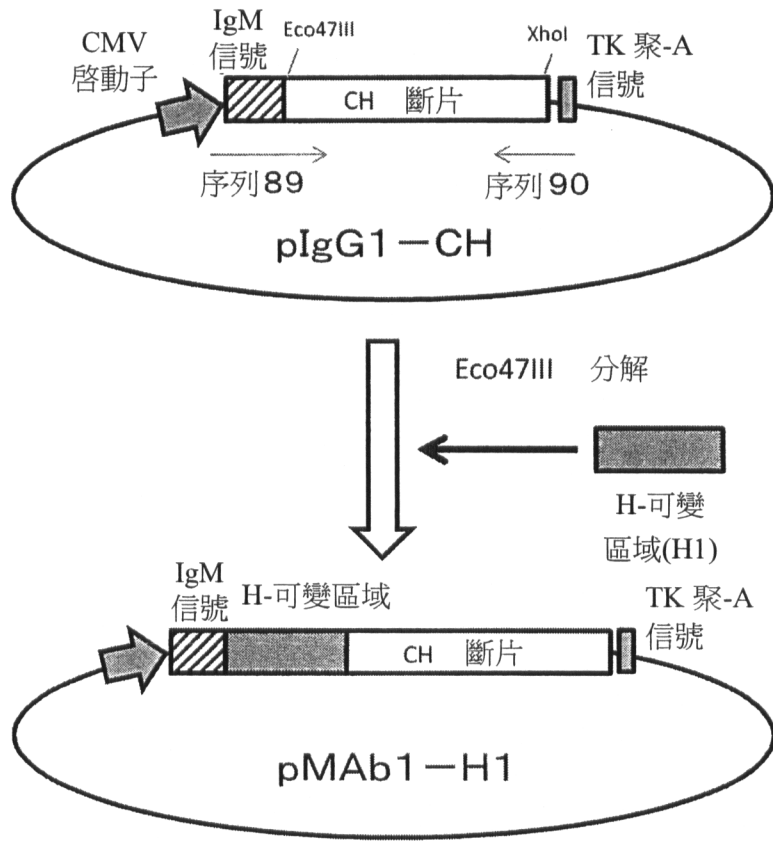
第 35 圖

重鏈與輕鏈組合 之參考編號 (共計21個組合)		表現輕鏈之質體 (pMAb1-)				
		L 1	L 2	L 3	L 4	L 5
表現重鏈之質體 (pMAb1-)	H 1	T 1	T 2	T 3	—	—
	H 2	T 4	T 5	T 6	—	T 7
	H 3	T 8	T 9	T 1 0	—	T 1 1
	H 4	—	—	—	T 1 2	—
	H 5	T 1 3	T 1 4	—	—	T 1 5
	H 6	—	T 1 6	—	—	T 1 7
	H 7	—	T 1 8	—	—	—
	H 8	T 1 9	—	—	—	—
	H 9	T 2 0	—	—	—	—
	H 1 0	T 2 1	—	—	—	—

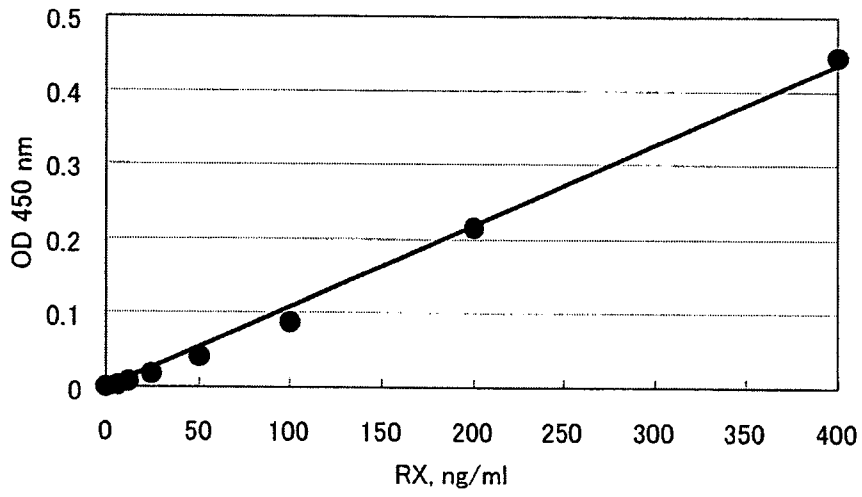
第 36 圖

人型化 MAb1	KD (nM)
T 1	2. 5
T 2	1. 9
T 3	2. 5
T 4	2. 0
T 5	1. 8
T 6	2. 0
T 7	2. 8
T 8	0. 17
T 9	0. 25
T 10	0. 47
T 11	0. 37
T 12	0. 32
T 13	0. 16
T 14	0. 19
T 15	0. 26
T 16	1. 9
T 17	2. 0
T 18	0. 22
T 19	0. 69
T 20	0. 80
T 21	0. 42

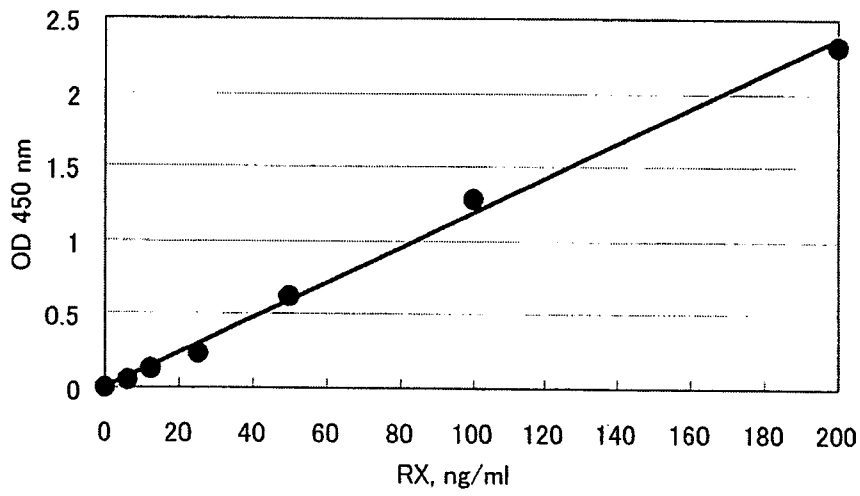
第 37 圖



第 38 圖



第 39 圖



第 40 圖

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVSSI SYEGSNTNFGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLKMNS
LRAEDTAVYYCARWAQTGYFFDYWGQGLVTVSS

第 41 圖

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVASI SYEGSNTNFGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLKMNS
LRAEDTAVYYCARWAQTGYFFDYWGQGLVTVSS

第 42 圖

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAGSGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVASI SYEGSNTNFGDSVKGRFTISRDS SKNTLYLKMNS
LRAEDTAVYYCARWAQTGYFFDYWGQGLVTVSS

第 43 圖

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAGSGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVASI SYEGSNTNFGDSVKGRFTISRDS AKNTLYLKMNS
LRAEDTAVYYCARWAQTGYFFDYWGQGLVTVSS

第 44 圖

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVASI SYEGSNTNFGDSVKGRFTISRDS SKNTLYLKMNS
LRAEDTAVYYCARWAQTGYFFDYWGQGLVTVSS

第 45 圖

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAGSGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVASI SYEGSNTNFGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLKMNS
LRAEDTAVYYCARWAQTGYFFDYWGQGLVTVSS

第 46 圖

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAGSGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVASI SYEGSNTNFGDSVKGRFTISRDS SKNTLYLQ MNS
LRAEDTAVYYCARWAQTGYFFDYWGQGLVTVSS

第 47 圖

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVSSI SYEGSNTNFGDSVKGRFTISRDSKNTLYLKMNS
LRAEDTAVYYCARWAQTGYFFDYWGQGLVTVSS

第 48 圖

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVASI SYEGSNTNFGDSVKGRFTISRDSKNTLYLKMNS
LRAEDTAVYYCARWAQTGYFFDYWGQGLVTVSS

第 49 圖



EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVSSI SYEGSNTNFGDSVKGRFTISRDSKNTLYLKMNS
LRAEDTAVYYCARWAQTGYFFDYWGQGLVTVSS

第 50 圖

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCLASEDIYSNLAWYQQKPKAPKLLIYYANSLNDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISRQPEDFAT
YYCQQNYDSPYTFGQGTKVEIKRT

第 51 圖



DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCLASEDIYSNLAWYQQKPKSPKLLIYYANSLNDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISRQPEDFAT
YYCQQNYDSPYTFGQGTKVEIKRT

第 52 圖

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCLASEDIYSNLAWYQQKPKSPQLLIYYANSLNDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISRQPEDFAT
YFCQQNYDSPYTFGQGTKLEIKRT

第 53 圖

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCLASEDIYSNLAWYQQKPKSPQLLIYYANSLNDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISRQPEDFAT
YFCQQNYDSPYTFGQGTKLEIKRT

第 54 圖

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCLASEDIYSNLAWYQQKPKSPKLLIYYANSLNDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT
YYCQQNYDSPYTFGGGTKVEIKRT

第 55 圖

GCCAGCACAAAGGGCCCTCCGTGTTTCCATTGGCCCCGTCTTCAAAAAGCACATCTGGCGGTACCGETGCTCTCGGCTGTCTTG
TTAAGGACTACTTTCCCGAACCCGTGACGGTGTCTGGAACCTCCGGTGCCCTGACCTCAGGCGTGCATACCTTCCCGGCTGTTCT
CCAGTCATCAGGCCTGTATTCACTGTCAAGCGTTGTGACTGTCCCGTCATCTAGTTTGGGCACACAGACATATATCTGTAACGTC
AATCACAAGCCATCAAACACCAAAGTCGACAAGCGGGTGAACCTAAGAGTTGCGACAAGACTCACACTTGCCCAACCATGCCCTG
CTCCCGAGCTGCTGGGAGGGCCATCTGTTTTCTGTTTCTCCCAAGCCAAAAGATACTGATGATCAGCCGGACCCCGAAGT
AACTTGCGTAGTAGTCGACGTGTCTCACGAAGATCCCAGGTCAAATTTAACTGGTACGTGGATGGCGTTGAGGTACACAACGCC
AAGACAAAACCCAGGGAAGAACAATCAACTTATCGGGTCTCTCCGTCCTTACGGTGTGCATCAGGATTGGCTGAACG
GCAAAGAATAACAAGTGAAGGTTAGCAACAAGGCTCTTCTGCCCTATTGAGAAGACTATCTCTAAGGCAAAGGGACAGCCACG
GGAACCTCAGGTGTACACCTTCCACCGAGTCGGGAAGAAATGACCAAAAATCAGGTTTCCCTGACCTGCCTTGTGAAAGGTTTT
TATCCAGCGACATTGCCGTAGAGTGGGAGTCCAATGGTCAGCCCAGAACAACTACAAAACCACTCCCCCTGTTCTGGACAGCG
ATGGGAGCTTTTTTCTCTACAGCAAGCTGACCGTGGATAAGAGTCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTGAGCTGTAGCGTGATGCA
CGAGGCCCTGCATAATCATTACACACAAAAGAGCCTGTCCCTCAGCCCCGGAAGtga

第 56 圖

5' -GAATTCGCCACCATGAAGTTCAGCTGGGTGATGTTCTTCTGATGGCCGTGGTGACCCGGCGTGAACAGCGCTAGCACAAAG
GGCCCCCTCCGTG-3'

第 57 圖

5' -CTCGAGTCACTTCCCGGGCTGAGGGACAG-3'

第 58 圖

GAAGTGCAGCTCGTGAATCAGGAGGCGGGTTGGTGCAGCCAGGTCGCAGTCTGAGGTTGAGCTGCGCCGCTCTGGGTTACCT
TTTCAGATTACTACATGGCTGGGTGAGGCAGGCACCCGGCAAAGGACTTGAGTGGGTGTCTTCAATTTCTTACGAGGGCAGTAA
TACCAATTTCCGGGACTCTGTTAAGGGACGGTTCACAATAAGTCGGGATAATAGCAAAAACACTCTGTATCTGAAAATGAATAGT
CTCAGGGCAGAGGATACAGCCGTGACTATTGCCAGGTGGGCCAGACCGGATACTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCC
TGGTGACCGTGAGCAGC

第 59 圖

GAGGTCCAGTTGGTGGAGAGCGGGGGGGCCTCGTTCCAGCCGGGGCGGAGTCTCCGCCTGTCATGCCGTGCCAGCGGATTCACAT
TCAGTGACTACTATATGGCCTGGGTGCCCCAGGCTCCAGGCAAAGGTTTGAATGGGTGGCAAGTATTAGTTACGAGGGAAGCAA
CACCAATTTTGGCGATAGTGTGAAGGGTCGGTTACCATCTCCCGGATAACAGTAAGAATACACTGTACTTGAAAATGAACTCC
CTTCGGGCTGAAGATACAGCAGTGTATTATTGTGCCCGGTGGGCCAGACCGGATATTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCC
TGGTGACCGTGAGCAGC

第 60 圖

GAGGTGCAGCTGGTGGAAATCAGGAGGGGTCTGGTCCAGCCTGGGAGGAGCCTGCCGGCTGTCTTGGCCCGGCTCCGGTTTCACAT
TTAGTGATTACTACATGGCATGGGTGAGACAAGCCCTGGAAAAGGACTGGAGTGGGTGCTTCCATCTCATAACGAGGGCAGCAA
CACAACTTTGGGGATTCCGTCAAAGGGAGATTACAACTCTCAAGGGATAGCAGTAAAAATACCCTGTACCTTAAGATGAACAGC
TTGCCGGCTGAGGACACCGCGTACTATTGCGCCAGATGGGCCAGACAGGCTACTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCC
TGGTGACCGTGAGCAGC

第 61 圖

GAAGTGCAGCTCGTTGAATCCGGAGGAGGGCTCGTGCAGCCTGGCCGAGTCTCAGGCTCAGCTGCCGTGGTTCCGGCTTCACCT
TCTCCGACTACTACATGGCATGGGTGCCCGCAGGCTCCAGGGAAGGACTGGAATGGGTGGCCTATTTCCATAGAGGGCTCCAA
TACCAACTTCCGGCAGCTCCGTGAAAGGGCGCTTACAATTTCAAGGGATTAGCTAAAAACACCCTGTATCTCAAAATGAACAGC
CTGAGGGCAGAAGACACCGCTGTTTATTATTGCGCCAGATGGGCCAGACCGGCTACTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCC
TGGTGACCGTGAGCAGC

第 62 圖

GAGGTCCAGTTGGTGGAGAGCGGGGGGGCCTCGTTCCAGCCGGGGCGGAGTCTCCGCCTGTCATGCCGTGCCAGCGGATTCACAT
TCAGTGACTACTATATGGCCTGGGTGCCCCAGGCTCCAGGCAAAGGTTTGAATGGGTGGCAAGTATTAGTTACGAGGGAAGCAA
CACCAATTTTGGCGATAGTGTGAAGGGTCGGTTACCATCTCCCGGATAAGCAGTAAGAATACACTGTACTTGAAAATGAACTCC
CTTCGGGCTGAAGATACAGCAGTGTATTATTGTGCCCGGTGGGCCAGACCGGATATTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCC
TGGTGACCGTGAGCAGC

第 63 圖

GAGGTCCAGTTGGTGGAGAGCGGGGGGGCCCTCGTTCAGCCCGGGCGGAGTCTCCGCCTGTCATGCGCTGGCAGCGGATTACAT
TCAGTGACTACTATATGGCCTGGGTGCGCCAGGCTCCAGGCAAAGGTTTGAATGGGTGGCAAGTATTAGTTACGAGGAAGCAA
CACCAATTTGGCGATAGTGTGAAGGGTCGGTTTACCATCTCCCGGATAACAGTAAGAATACACTGTACTTGAAAATGAACTCC
CTTCGGGCTGAAGATACAGCAGTGTATTATTGTGCCCGGTGGGCCAGACCGGATATTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCC
TGGTGACCGTGAGCAGC

第 64 圖

GAGGTGCAGCTGGTGAATCAGGAGGGGGTCTGGTCCAGCCTGGGAGGAGCCTGCGGCTGTCTTGCGCCGGCTCCGGTTTCACAT
TTAGTGACTACTACATGGCATGGGTGAGACAAGCCCTGGAAAAGGACTGGAGTGGGTGCTTCCATCTCATACGAGGGCAGCAA
CACAACTTTGGGGATTCCGTCAAAGGGAGATTCAAACTCAAGGGATAGCAGTAAAAATACCCTGTACCTCAGATGAACAGC
TTGCGCGCTGAGGACACCGCCGTACTATTGCGCCAGATGGGCCAGACAGGCTACTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCC
TGGTGACCGTGAGCAGC

第 65 圖

GAGGTCCAGTTGGTGGAGAGCGGGGGGGCCCTCGTTCAGCCCGGGCGGAGTCTCCGCCTGTCATGCGCTGCCAGCGGATTACAT
TCAGTGACTACTATATGGCCTGGGTGCGCCAGGCTCCAGGCAAAGGTTTGAATGGGTGTCAAGTATTAGTTACGAGGAAGCAA
CACCAATTTGGCGATAGTGTGAAGGGTCGGTTTACCATCTCCCGGATAGCAGTAAAAATACACTGTACTTGAAAATGAACTCC
CTTCGGGCTGAAGATACAGCAGTGTATTATTGTGCCCGGTGGGCCAGACCGGATATTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCC
TGGTGACCGTGAGCAGC

第 66 圖

GAGGTCCAGTTGGTGGAGAGCGGGGGGGCCCTCGTTAAGCCCGGGGGGAGTCTCCGCCTGTCATGCGCTGCCAGCGGATTACAT
TCAGTGACTACTATATGGCCTGGGTGCGCCAGGCTCCAGGCAAAGGTTTGAATGGGTGGCAAGTATTAGTTACGAGGAAGCAA
CACCAATTTGGCGATAGTGTGAAGGGTCGGTTTACCATCTCCCGGATAGCAGTAAAAATACACTGTACTTGAAAATGAACTCC
CTTCGGGCTGAAGATACAGCAGTGTATTATTGTGCCCGGTGGGCCAGACCGGATATTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCC
TGGTGACCGTGAGCAGC

第 67 圖

GAGGTCCAGTTGGTGGAGAGCGGGGGGGCCCTCGTTAAGCCCGGGGGGAGTCTCCGCCTGTCATGCGCTGCCAGCGGATTACAT
TCAGTGACTACTATATGGCCTGGGTGCGCCAGGCTCCAGGCAAAGGTTTGAATGGGTGTCAAGTATTAGTTACGAGGAAGCAA
CACCAATTTGGCGATAGTGTGAAGGGTCGGTTTACCATCTCCCGGATAGCAGTAAAAATACACTGTACTTGAAAATGAACTCC
CTTCGGGCTGAAGATACAGCAGTGTATTATTGTGCCCGGTGGGCCAGACCGGATATTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCC
TGGTGACCGTGAGCAGC

第 68 圖

GTGGCCGCCCATCCGTGTTTATCTTTCCCCCAGTGATGAGCAGTTGAAGTCAGGGACTGCTAGTGTGGTCTGTTTGTGAACA
ACTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTCCAGTGAAGGTAGATAACGCCCTGCAATCAGGGAATAGTCAGGAGTCTGTGACCGAACA
GGACTCCAAGGATAGCACTTATAGCTTGAGCTCCACCCTGACCCTGAGTAAGGCTGACTACGAAAAACACAAGGTGTACGCATGT
GAAGTTACCCATCAGGGGCTGAGTTCCCCCGTAACTAAATCTTTAATCGAGGCGAATGc tga

第 69 圖

GATATTCAGATGACTCAGAGTCCATCCAGTCTCAGCGCTTCCGTTGGCGATAGGGTCACAATCACCTGCCTCGCTTCAGAGGATA
TCTATTCCAATCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGGAAAGCCCCAACTGTTGATCTACTATGCAAATTCCTGAACGACGG
GGTGCCTTCAAGATTTAGTGGGAGTGGATCAGGCACCGATTTTACCTTGACCATCTCCCGGCTTCAGCCAGAGGATTCGCAACT
TACTACTGTGACGAGAATTATGACTCCCCTTACACCTTCGGACAGGGCACCAAGGTGGAGATTAAGCGGACC

第 70 圖

GATATTCAGATGACACAGAGTCCTAGCAGCCTGAGCGCCTCAGTGGGGGATCGGGTCACCATCACATGCCTGGCCAGCGAAGACA
TATATAGCAACCTGGCCTGGTACCAACAGAAGCCAGGGAAAGCCCTAAGCTGCTGATTTACTACGCCAACAGCCTCAATGATGG
AGTGCCTTACGGTTTTTCAGGATCTGGCAGCGGCACTGATTTTACCCTGACCATCTCTAGACTTCAGCCAGAGGATTTTGCTACC
TACTACTGTCAACAGAACTACGATAGCCCCTACACCTTCGGACAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAGCGGACC

第 71 圖

GACATCCAGATGACACAAAGTCCCTCTTCTCTGTCCGCTTCCGTGGGGGACAGGGTCACAATCACTTGCCTTGCCAGTGAAGACA
TATATTCTAATCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGCAAATCTCCTCAGCTCCTGATTTATTACGCCAATAGTCTGAACGATGG
GGTGCCAAGTCGGTTTTCTGGCAGCGGATCAGGCACAGATTTACCCTGACTATTTCCCGGCTTCAGCCAGAAGATTTGCCACA
TACTTCTGTGACAAAATATGACAGCCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACAAAGTGGAGATCAAGCGGACC

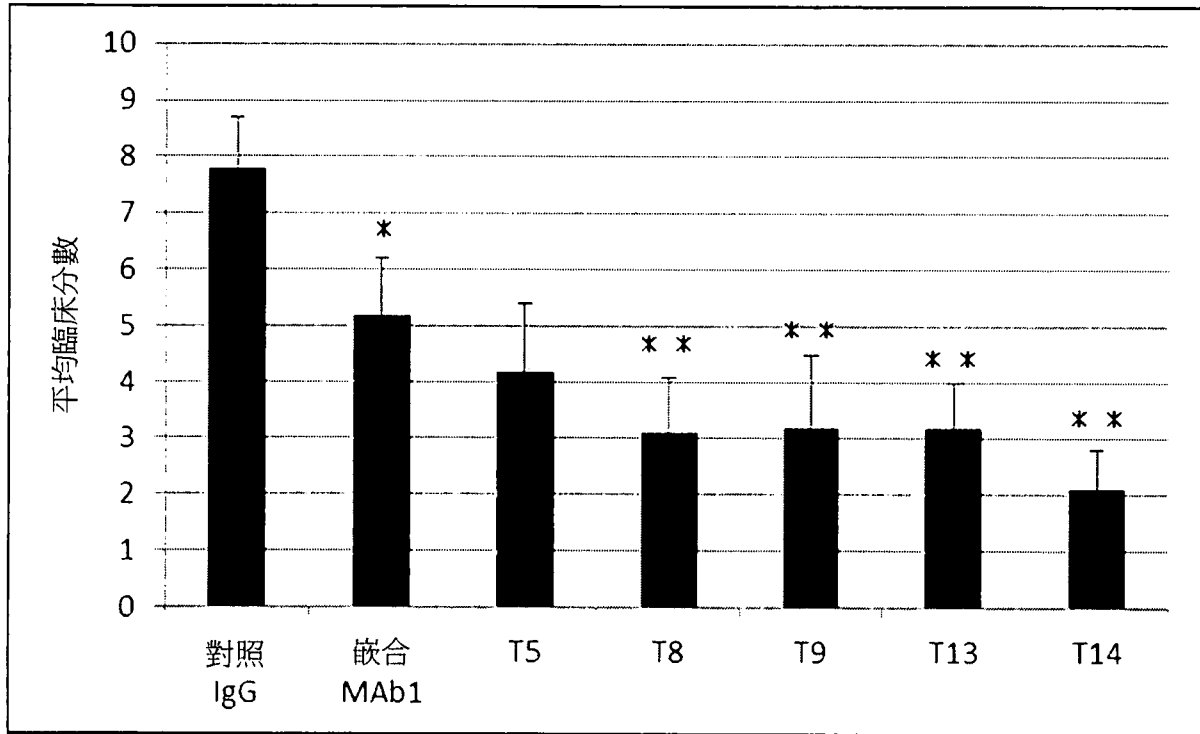
第 72 圖

GACATACAGATGACTCAGTCACCCAGTTCCTCTCTGCCAGCGTGGGGATAGGGTTACTATCACATGCCTGGCCTCTGAAGATA
TCTATTCCAATCTCGCATGGTATCAGCAAAAGCCTGGAAAGAGCCACAGCTCTTGATATACTACGCCAACTCACTGAACGATGG
AGTGCCTTCAAGGTTCAAGTGGTCCGGCTCAGGAACCGATTTACCCTGACAATCTCTAGACTGCAGCCTGAGGATTTGCCACA
TACTTTTGTGACGAGAACTACGACAGCCCCTACACATTCGGCCAGGGCACAAACTGGAGATCAAGCGGACC

第 73 圖

GATATTCAGATGACACAGAGTCCTAGCAGCCTGAGCGCCTCAGTGGGGGATCGGGTCACCATCACATGCCTGGCCAGCGAAGACA
 TATATAGCAACCTGGCCTGGTACCAACAGAAGCCAGGGAAAAGCCCTAAGCTGCTGATTTACTACGCCAACAGCCTCAATGATGG
 AGTGCCTTCAAGTTTTTCAGGATCTGGCAGCGGCACTGATTTTACCCTGACCATCTCTAGCCTTCAGCCAGAGGATTTTGCTACC
 TACTACTGTCAACAGAACTACGATAGCCCCTACACCTTCGGACAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAGCGGACC

第 74 圖



第 75 圖

CAAGTCAAGCTGGAGGAGTCTGGGGCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCCTCAGTGA
 AGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTTACCATTTACAATATCCACTGGGTAA
 AGCAGACGCCTAGACAGGGCCTGGAATGGATTGGAAC TATTTTCCAGTAAATGGT
 GATACTTCCTACAATCAGAGATTCAAAGGCAAGGCCACATTGACTGCAGACAAATC
 CTCCAACACAGCCTACATGCAGCTCAGCGGCTGACATCTGAAGACTCTGCGCTCT
 ATTACTGTGCAAGGTCCACTACGGCTAGAGCCTGGTTTCCTTACTGGGGCCAAGGG
 ACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

第 76 圖

QVKLEESGAELVKPGASVKMSCKASGYFTTIYNIHWVKQTPRQGLEWIGTIFPVNG
 DTSYNQRFKGKATLTADKSSNTAYMQLSGLTSEDSALYYCARSTTARAWFPYWGQ
 GTLVTVSA

第 77 圖

CACATTGTGATCACACAGACTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGT
 CAGCGTCACCTGCAAGGCCAGTCAGAATGTGGGTAGTAATGTAGCCTGGTATCAA
 CAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAAGTACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACAG
 TGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCACC
 ATCAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGACTTTTTCTGTCAGCAATATAACAC
 CTCTCCGTTACCTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAACGG

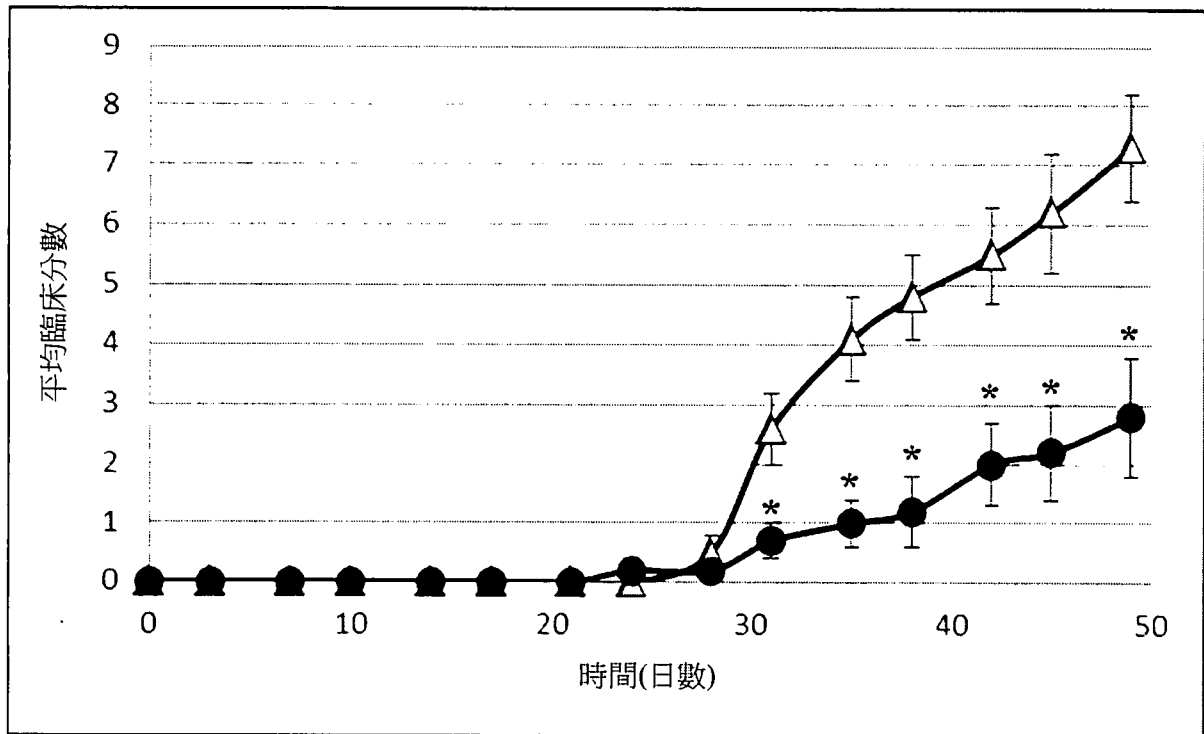
第 78 圖

HIVTTQTQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGSNVAWYQQKPGQSPKVLISASYRYS
 VPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADFFCQQYNTSPFTFGGGTKLEIKR

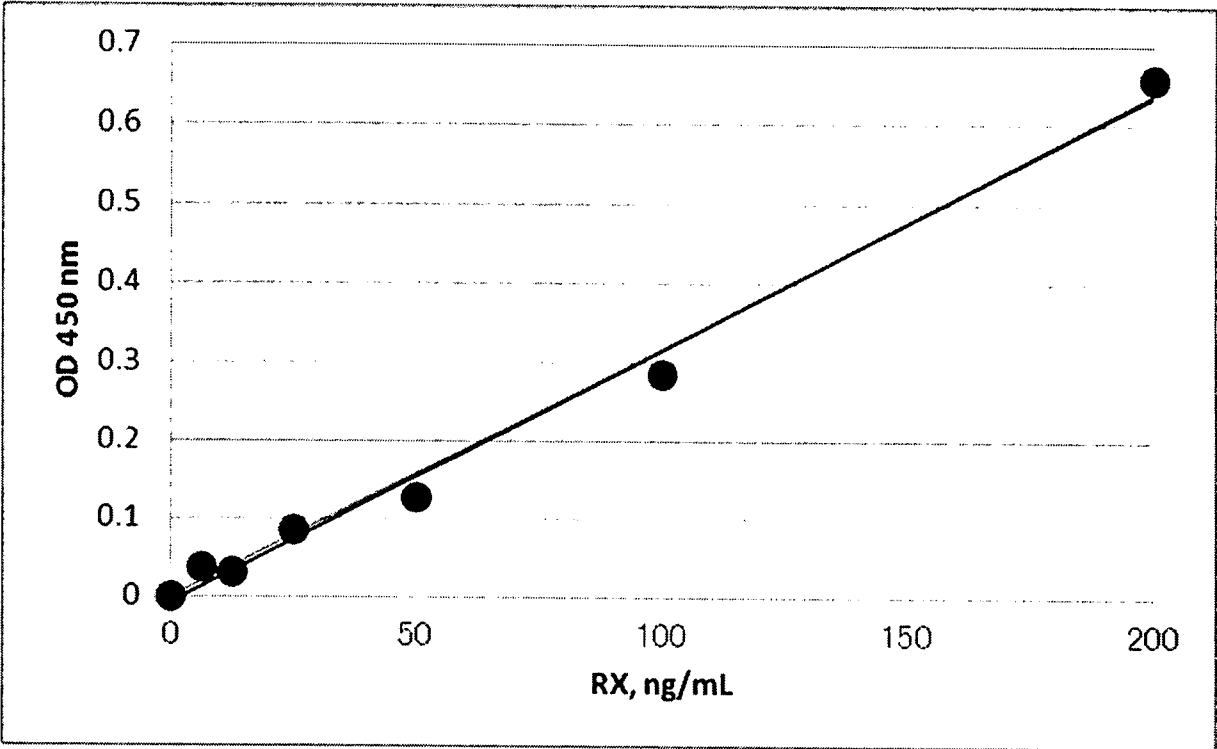
第 79 圖

抗體	CDR	胺基酸序列	序列編號
MAb4	CDRH1	I Y N I H	112
	CDRH2	T I F P V N G D T S Y N Q R F K G	113
	CDRH3	S T T A R A W F P Y	114
	CDRL1	K A S Q N V G S N V A	115
	CDRL2	S A S Y R Y S	116
	CDRL3	Q Q Y N T S P F	117

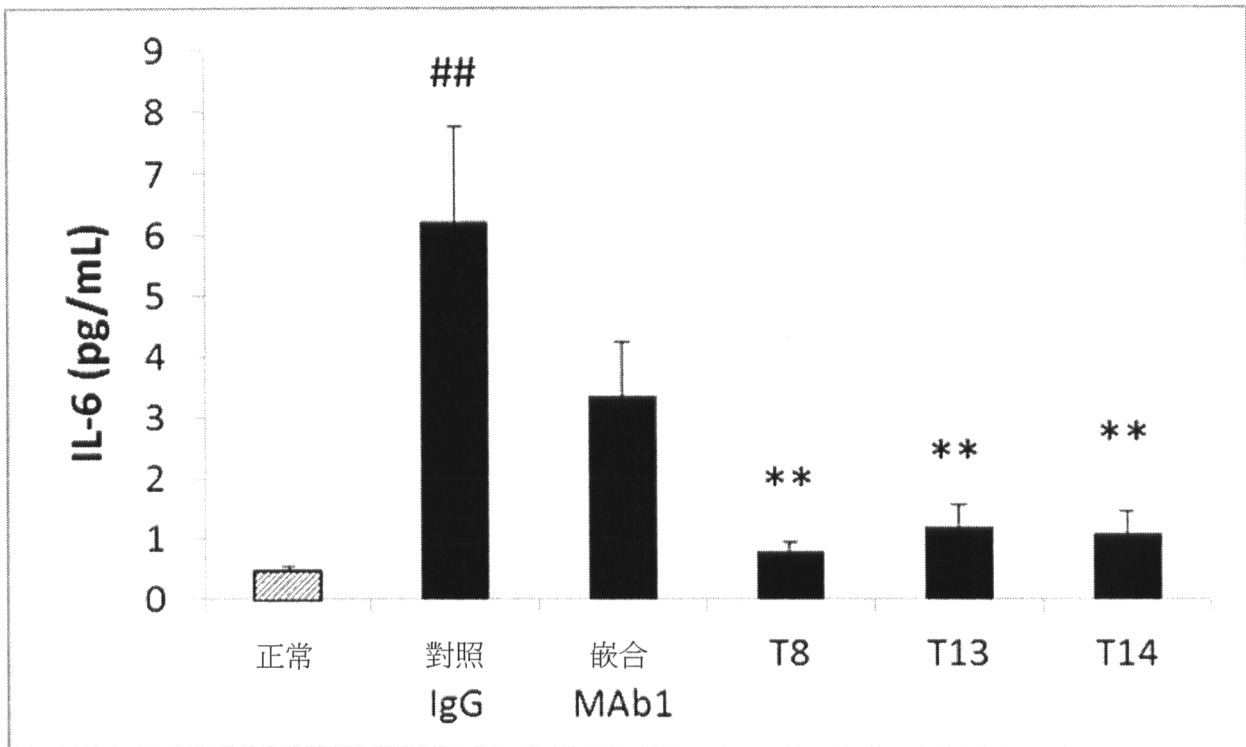
第 80 圖



第 81 圖



第 82 圖



第 83 圖

