200819466

發明專利說明書

PD1072865A

（本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※ 申請案號：96133716　　C07K 16/28 (2006.01)

※ 申請日期：96.9.6　　※IPC 分類：A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

一、發明名稱：（中文/英文）

抗活動素 A 抗體及其用途

ANTI-ACTIVIN A ANTIBODIES AND USES THEREOF

二、申 請 人：（共 1 人）

姓名或名稱：（中文/英文）

應用分子基因公司

AMGEN INC.

代表人：（中文/英文）

路易士奧德蘭伽德納/LOUISE AUDHLAM-GARDINER

住居所或營業所地址：（中文/英文）

美國加州 91320-1799 千橡安基中心道 1 號

One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, CA 91320, U. S. A.

國　籍：（中文/英文）

美國/United States of America

三、發明人：（共 4 人）

姓　名：（中文/英文）

1. 陳慶/CHEN, QING
2. 韓奎/HAN, HQ
3. 郭凱斯守良/KWAK, KEITH SOO-NYUNG
4. 周孝蘭/ZHOU, XIAOLAN

國　籍：（中文/英文）

1. ~ 4. 美國/United States of America

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項☐第一款或☐第二款規定之事實，其事實發生日期為：　年　月　日。

☑ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號　順序註記】

☑ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.美國	2006/09/08	60/843,430
2.美國	2007/08/17	60/956,653

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號　順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料　【格式請依：寄存機構、日期、號碼　順序註記】

國外生物材料　【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼　順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明大體而言是關於活動素 A 之半胱胺酸結功能部位(cysteine knot domains of activin A)以及能結合活動素 A 或其片段之抗原結合劑。

【先前技術】

許多嚴重的疾病狀態伴隨已知的惡病質狀況，其係指體細胞質量減少。體細胞質量(BCM)是由肌肉質量、內臟質量及免疫細胞質量所組成。BCM 是人體最有活性的身體成分，總計全部代謝活性的百分之九十五。減少百分之五的 BCM 可導致發病改變，肌肉強度減少，代謝改變以及增加感染風險。減少百分之四十能造成死亡。

狀況之實例中惡病質扮演決定下列疾病結果的角色，包括現今多類的主要健康問題。類風濕性惡病質，類風濕性關節炎(RA)病患減少百分之 13 至 15 的 BCM。三分之二的 RA 病患具有惡病質，且此導致兩倍至五倍更高的死亡率。其他有關狀況包括類風濕性惡病質的肥胖及高細胞激素血症惡病質。癌症有關之惡病質顯著促成發病率及死亡率，也影響病患忍受可能地救命性治療的能力。

由於活動素 A 在許多普遍疾病扮演共同角色，他們全部具有高死亡率，因此技藝有長久需求用於預防或反轉疾病有關惡病質之組成物及方法。本文提供此等組成物及方法。

【發明內容】

在一方面，本發明提供一種單離之抗原結合蛋白質，含

有任一：a.一輕鏈 CDR3，含有選自由下列所組群組之序列：i.一輕鏈 CDR3 序列，其與選自由 L1-L14 之輕鏈 CDR3 序列所組群組之 CDR3 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；ii.X_{73} Q X_{74} X_{75} X_{76} X_{77} X_{78} X_{79} X_{80}；iii. L Q H N X_{81} Y X_{82} X_{83} T；以及 iv. Q A W D X_{84} S T X_{85} X_{86}；b.一重鏈 CDR3，含有選自由下列所組群組之序列：i.一重鏈 CDR3 序列，其與選自由 H1-H14 之重鏈 CDR3 序列所組群組之 CDR3 序列差異不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除；ii. X_{87} X_{88} X_{89} X_{90} X_{91} X_{92} X_{93} X_{94} F D Y；iii. X_{95} X_{96} X_{97} Y X_{98} D X_{99} X_{100} G W X_{101} X_{102} X_{103}；iv. X_{104} X_{105} X_{106} X_{107} X_{108} X_{109} Y X_{110} X_{111} X_{112} X_{113} X_{114} X_{115} X_{116} X_{117} X_{118}；或 c. (a)之輕鏈 CDR3 序列以及(b)之重鏈 CDR3 序列；其中 X_{73} 爲甲硫胺酸殘基，麩醯胺酸殘基，或精胺酸殘基，X_{74} 爲丙胺酸殘基，酪胺酸殘基，麩醯胺酸殘基，或絲胺酸殘基，X_{75} 爲白胺酸殘基，酪胺酸殘基，或天冬醯胺酸殘基，X_{76} 爲麩醯胺酸殘基，絲胺酸殘基，或酥胺酸殘基，X_{77} 爲酥胺酸殘基，酪胺酸殘基，或異白胺酸殘基，X_{78} 爲脯胺酸殘基或絲胺酸殘基，X_{79} 爲半胱胺酸殘基，色胺酸殘基，白胺酸殘基，或脯胺酸殘基，X_{80} 爲絲胺酸殘基或酥胺酸殘基，X_{81} 爲酥胺酸殘基或絲胺酸殘基，X_{82} 爲脯胺酸殘基或酥胺酸殘基，X_{83} 爲苯丙胺酸殘基或色胺酸殘基，X_{84} 爲精胺酸殘基或絲胺酸殘基，X_{85} 爲纈胺酸殘基或丙胺酸殘基，X_{86} 爲纈胺酸殘基或沒有殘基，X_{87} 爲纈胺酸殘基或沒有殘基，X_{88} 爲麩醯胺酸殘基或沒有殘基，X_{89} 爲天冬胺酸殘基，色胺

酸殘基，或沒有殘基，X_{90}為絲胺酸殘基，白胺酸殘基，或沒有殘基，X_{91}為異白胺酸殘基，麩胺酸殘基，或麩醯胺酸殘基，X_{92}為丙胺酸殘基，白胺酸殘基，或甘胺酸殘基，X_{93}為丙胺酸殘基或白胺酸殘基，X_{94}為脯胺酸殘基，酪胺酸殘基，或甘胺酸殘基，X_{95}為天冬胺酸殘基或沒有殘基，X_{96}為麩醯胺酸殘基或沒有殘基，X_{97}為天冬胺酸殘基或丙胺酸殘基，X_{98}為酪胺酸殘基或甘胺酸殘基，X_{99}為絲胺酸殘基或酪胺酸殘基，X_{100}為絲胺酸殘基或精胺酸殘基，X_{101}為苯丙胺酸殘基或沒有殘基，X_{102}為甘胺酸殘基或天冬胺酸殘基，X_{103}為組胺酸殘基或脯胺酸殘基，X_{104}為甘胺酸殘基或沒有殘基，X_{105}為絲胺酸殘基，麩胺酸殘基，或沒有殘基，X_{106}為精胺酸殘基，絲胺酸殘基，或沒有殘基，X_{107}為天冬胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，絲胺酸殘基，或麩醯胺酸殘基，X_{108}為絲胺酸殘基，精胺酸殘基，或色胺酸殘基，X_{109}為甘胺酸殘基，天冬胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，酪胺酸殘基，或白胺酸殘基，X_{110}為絲胺酸殘基，甘胺酸殘基，天冬胺酸殘基，或沒有殘基，X_{111}為絲胺酸殘基，纈胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，或酪胺酸殘基，X_{112}為絲胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，酪胺酸殘基，或組胺酸殘基，X_{113}為色胺酸殘基，酪胺酸殘基，或麩醯胺酸殘基，X_{114}為組胺酸殘基，天冬胺酸殘基，酪胺酸殘基，或沒有殘基，X_{115}為苯丙胺酸殘基，丙胺酸殘基，或甘胺酸殘基，X_{116}為天冬胺酸殘基，苯丙胺酸殘基，白胺酸殘基，或甲硫胺酸殘基，X_{117}為酪胺酸殘基，或天冬胺酸殘基，X_{118}為異白胺酸殘基，纈胺酸殘基，或沒有殘基，

以及該抗原結合蛋白質專一結合人類活動素 A。

在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有選自由下列所組群組之胺基酸序列：a.一輕鏈 CDR1 序列，其與 L1-L14 之 CDR1 序列差異不超過總計六個胺基酸添加、取代、及/或刪除；b.一輕鏈 CDR2 序列，其與 L1-L14 之 CDR2 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；c.一輕鏈 CDR3 序列，其與 L1-L14 之 CDR3 序列差異不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除；d.一重鏈 CDR1 序列，其與 H1-H14 之 CDR1 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；e.一重鏈 CDR2 序列，其與 H1-H14 之 CDR2 序列差異不超過總計五個胺基酸添加、取代、及/或刪除；以及 f.一重鏈 CDR3 序列，其與 H1-H14 之 CDR3 序列差異不超過總計四個胺基酸添加、取代、及/或刪除。

在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有選自由下列所組群組之胺基酸序列：a.一輕鏈 CDR1 序列，其與 L1-L14 之 CDR1 序列差異不超過總計五個胺基酸添加、取代、及/或刪除；b.一輕鏈 CDR2 序列，其與 L1-L14 之 CDR2 序列差異不超過總計一個胺基酸添加、取代、或刪除；c.一輕鏈 CDR3 序列，其與 L1-L14 之 CDR3 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；d.一重鏈 CDR1 序列，其與 H1-H14 之 CDR1 序列差異不超過總計一個胺基酸添加、取代、或刪除；e.一重鏈 CDR2 序列，其與 H1-H14 之 CDR2 序列差異不超過總計四個胺基酸添加、取代、及/或刪除；以及 f.一重鏈 CDR3 序列，其與 H1-H14 之 CDR3 序列差異

不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除。

在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有選自由下列所組群組之胺基酸序列：a.一輕鏈 CDR1 序列，其與 L1-L14 之 CDR1 序列差異不超過總計四個胺基酸添加、取代、及/或刪除；b 一 L1-L14 之輕鏈 CDR2；c.一輕鏈 CDR3 序列，其與 L1-L14 之 CDR3 序列差異不超過總計一個胺基酸添加、取代、或刪除；d.一 H1-H14 之重鏈 CDR1 序列；e.一重鏈 CDR2 序列，其與 H1-H14 之 CDR2 序列差異不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除；以及 f.一重鏈 CDR3 序列，其與 H1-H14 之 CDR3 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除。

又在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有選自由下列所組群組之胺基酸序列：a.一輕鏈 CDR1 序列，其與 L1-L14 之 CDR1 序列差異不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除；b.一 L1-L14 之輕鏈 CDR3 序列；c.一重鏈 CDR2 序列，其與 H1-H14 之 CDR2 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；以及 d.一重鏈 CDR3 序列，其與 H1-H14 之 CDR3 序列差異不超過總計一個胺基酸添加、取代、或刪除。

在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有選自由下列所組群組之胺基酸序列：a.一輕鏈 CDR1 序列，其與 L1-L14 之 CDR1 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；b.一重鏈 CDR2 序列，其與 H1-H14 之 CDR2 序列差異不超過總計一個胺基酸添加、取代、或刪除；以及 c.

一 H1-H14 之重鏈 CDR3 序列。

又在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有選自由下列所組群組之胺基酸序列：a.一輕鏈 CDR1 序列，其與 L1-L14 之 CDR1 序列差異不超過總計一個胺基酸添加、取代、或刪除；以及 b.一 H14 之重鏈 CDR2 序列。

又在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有一 L1-L14 之 CDR1 序列。

該單離之抗原結合蛋白質可含有選自由下列所組群組之序列：a.一輕鏈 CDR1 序列，選自由下列所組群組：i. (R/K)SSQS(L/I)L(H/Y)S(T/S)(G/N)(Y/N)(N/K)(-/K)YL(D/V)；ii.RA(S/G)QGI(S/R)N(D/N)L-(V/G)；iii. RASQSISNYLNT；以及 iv. SG(D/E)K(L/W)G(D/E)K(F/Y)(A/V)(F/C)；b.一輕鏈 CDR2 序列，選自由下列所組群組：i. (H/Q/L)D(T/N/S)KRPS；以及 ii. X_{40} X_{41} S X_{42} X_{43} X_{44} S，其中 X_{40} 爲丙胺酸殘基，色胺酸殘基，或白胺酸殘基，X_{41} 爲酥胺酸殘基，丙胺酸殘基，或甘胺酸殘基，X_{42} 爲絲胺酸殘基，甲硫胺酸殘基，或苯丙胺酸殘基，X_{43} 爲白胺酸殘基或精胺酸殘基，X_{44} 爲麩醯胺酸殘基，麩胺酸殘基，或丙胺酸殘基；c.一重鏈 CDR1 序列，選自由下列所組群組：i. GGS(I/F)(N/S)(S/A)(-/G)(-/G)(F/Y)YWS；ii. G X_{27} X_{28} F X_{29} X_{30} Y X_{31} X_{32} X_{33}，其中 X_{27} 爲酪胺酸殘基或苯丙胺酸殘基，X_{28} 爲酥胺酸殘基或絲胺酸殘基，X_{29} 爲酥胺酸殘基，絲胺酸殘基，或異白胺酸殘基，X_{30} 爲甘胺酸殘基或絲胺酸殘基，X_{31} 爲酪胺酸殘基，甘胺酸殘基，或色胺酸殘基，X_{32} 爲異白

胺酸殘基或甲硫胺酸殘基，X_{33} 爲組胺酸殘基或甘胺酸殘基；以及 iii. G(Y/F)TF(T/S)-(S/A)Y(G/W)(L/M/I)(S/H)；d. 一重鏈 CDR2 序列，選自由下列所組群組：i. (Y/E)I(S/Y/N)(Y/H)SG(S/G)T(Y/N)YNPSLK(S/R)；ii. (V/N)I(K/W)(Y/Q)DGS(N/E/T)-(K/E)Y(H/Y)(A/V)DSVKG；以及 iii. X_{60} I X_{61} X_{62} X_{63} X_{64} X_{65} X_{66} T X_{67} X_{68} X_{69} X_{70} X_{71} X_{72} Q G，其中 X_{60} 爲色胺酸殘基或異白胺酸殘基，X_{61} 爲天冬醯胺酸殘基，異白胺酸殘基，絲胺酸殘基，或酪胺酸殘基，X_{62} 爲脯胺酸殘基或丙胺酸殘基，X_{63} 爲天冬醯胺酸殘基，酪胺酸殘基，或甘胺酸殘基，X_{64} 爲絲胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，或天冬胺酸殘基，X_{65} 爲甘胺酸殘基或絲胺酸殘基，X_{66} 爲甘胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，或天冬胺酸殘基，X_{67} 爲天冬醯胺酸殘基或精胺酸殘基，X_{68} 爲酪胺酸殘基或絲胺酸殘基，X_{69} 爲丙胺酸殘基或絲胺酸殘基，X_{70} 爲麩醯胺酸殘基或脯胺酸殘基，X_{71} 爲離胺酸殘基或絲胺酸殘基，以及 X_{72} 爲苯丙胺酸殘基或白胺酸殘基，其中圓括號所圍胺基酸殘基符號視爲序列中相同位置之替代殘基。

在某些方面，該單離之抗原結合蛋白質含有一重鏈 CDR3 序列，其與 H1-H14 之 CDR3 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除。

在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有一重鏈 CDR3 序列，其與 H1-H14 之 CDR3 序列差異不超過總計一個胺基酸添加、取代、或刪除。

又在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有一

H1-H14 之重鏈 CDR3 序列。

在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有兩胺基酸序列，選自由下列所組群組：a.一輕鏈 CDR1 序列，其與 L1-L14 之 CDR1 序列差異不超過總計六個胺基酸添加、取代、及/或刪除；b.一輕鏈 CDR2 序列，其與 L1-L14 之 CDR2 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；c.一輕鏈 CDR3 序列，其與 L1-L14 之 CDR3 序列差異不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除；d.一重鏈 CDR1 序列，其與 H1-H14 之 CDR1 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；e.一重鏈 CDR2 序列，其與 H1-H14 之 CDR2 序列差異不超過總計五個胺基酸添加、取代、及/或刪除；以及 f.一重鏈 CDR3 序列，其與 H1-H14 之 CDR3 序列差異不超過總計四個胺基酸添加、取代、及/或刪除。

在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有三胺基酸序列，選自由下列所組群組：a.一輕鏈 CDR1 序列，其與 L1-L14 之 CDR1 序列差異不超過總計六個胺基酸添加、取代、及/或刪除；b.一輕鏈 CDR2 序列，其與 L1-L14 之 CDR2 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；c.一輕鏈 CDR3 序列，其與 L1-L14 之 CDR3 序列差異不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除；d.一重鏈 CDR1 序列，其與 H1-H14 之 CDR1 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；e.一重鏈 CDR2 序列，其與 H1-H14 之 CDR2 序列差異不超過總計五個胺基酸添加、取代、及/或刪除；以及 f.一重鏈 CDR3 序列，其與 H1-H14 之 CDR3 序列差異

不超過總計四個胺基酸添加、取代、及/或刪除。

在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有四胺基酸序列，選自由下列所組群組：a.一輕鏈 CDR1 序列，其與 L1-L14 之 CDR1 序列差異不超過總計六個胺基酸添加、取代、及/或刪除；b.一輕鏈 CDR2 序列，其與 L1-L14 之 CDR2 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；c.一輕鏈 CDR3 序列，其與 L1-L14 之 CDR3 序列差異不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除；d.一重鏈 CDR1 序列，其與 H1-H14 之 CDR1 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；e.一重鏈 CDR2 序列，其與 H1-H14 之 CDR2 序列差異不超過總計五個胺基酸添加、取代、及/或刪除；以及 f.一重鏈 CDR3 序列，其與 H1-H14 之 CDR3 序列差異不超過總計四個胺基酸添加、取代、及/或刪除。

在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有五胺基酸序列，選自由下列所組群組：a.一輕鏈 CDR1 序列，其與 L1-L14 之 CDR1 序列差異不超過總計六個胺基酸添加、取代、及/或刪除；b.一輕鏈 CDR2 序列，其與 L1-L14 之 CDR2 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；c.一輕鏈 CDR3 序列，其與 L1-L14 之 CDR3 序列差異不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除；d.一重鏈 CDR1 序列，其與 H1-H14 之 CDR1 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；e.一重鏈 CDR2 序列，其與 H1-H14 之 CDR2 序列差異不超過總計五個胺基酸添加、取代、及/或刪除；以及 f.一重鏈 CDR3 序列，其與 H1-H14 之 CDR3 序列差異

不超過總計四個胺基酸添加、取代、及/或刪除。

又在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有：a.一輕鏈 CDR1 序列，其與 L1-L14 之 CDR1 序列差異不超過總計六個胺基酸添加、取代、及/或刪除；b.一輕鏈 CDR2 序列，其與 L1-L14 之 CDR2 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；c.一輕鏈 CDR3 序列，其與 L1-L14 之 CDR3 序列差異不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除；d.一重鏈 CDR1 序列，其與 H1-H14 之 CDR1 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；e.一重鏈 CDR2 序列，其與 H1-H14 之 CDR2 序列差異不超過總計五個胺基酸添加、取代、及/或刪除；以及 f.一重鏈 CDR3 序列，其與 H1-H14 之 CDR3 序列差異不超過總計四個胺基酸添加、取代、及/或刪除。

在另一方面，該單離之抗原結合蛋白質含有任一：a.一輕鏈可變功能部位，含有：i.一輕鏈 CDR1 序列；ii.一輕鏈 CDR2 序列；以及 iii.一輕鏈 CDR3 序列；b.一重鏈可變功能部位，含有：i.一重鏈 CDR1 序列；ii.一重鏈 CDR2 序列；以及 iii.一重鏈 CDR3 序列；或 c. (a)之輕鏈可變功能部位及(b)之重鏈可變功能部位。

在一具體例中，該單離之抗原結合蛋白質含有一輕鏈可變功能部位及一重鏈可變功能部位之組合，其係選自由下列所組成之組合群組：L1H1，L2H2，L3H3，L4H4，L5H5，L6H6，L7H7，L8H8，L9H9，L10H10，L11H11，L12H12，L13H13，以及 L14H14。

在一具體例中，該單離之抗原結合蛋白質進一步含有：SEQ ID NO：84，100 或 108 之 κ 輕鏈恆定序列，及/或 SEQ ID NO：214，215 或 221 之重鏈恆定序列。

在一具體例中，該單離之抗原結合蛋白質，當結合活動素 A 時：a.抑制活動素 A；b.與結合活動素 A 之關聯抗體交叉競爭；c.結合到如該關聯抗體之活動素 A 的相同抗原決定基；d.以如該關聯抗體之實質相同 Kd 結合活動素 A；或 e.以如該關聯抗體之實質相同脫落速率結合活動素 A；其中關聯抗體含有輕鏈及重鏈可變功能部位序列之組合，其係選自由下列所組成之組合群組：L1H1，L2H2，L3H3，L4H4，L5H5，L6H6，L7H7，L8H8，L9H9，L10H10，L11H11，L12H12，L13H13，以及 L14H14。

在一具體例中，該單離之抗原結合蛋白質結合到人類活動素 A 時，可抑制活動素 A 結合到人類活動素 A 受器(activin A receptor)；於忍受結腸腫瘤之小鼠減弱惡病質；於忍受結腸腫瘤之小鼠改善體重的減少；於膠原誘發之類風濕性關節炎動物模式中改善體重的減少；於膠原誘發之類風濕性關節炎動物模式中改善肌肉質量的損失；於膠原誘發之類風濕性關節炎動物模式中改善脂肪質量的損失；及/或於 AAV-活動素 A 轉染之動物模式中改善體重的減少。

在一方面，單離之抗原結合蛋白質含有：a.人類抗體；b.人類化抗體；c.嵌合型抗體；d.單株抗體；e.多株抗體；f.a 重組抗體；g.抗原結合抗體片段；h.單鏈抗體；i.雙鏈抗體(diabody)；j.三鏈抗體(triabody)；k.四鏈抗體(tetrabody)；

l. Fab 片段；m. $F(ab')_2$ 片段；n.功能部位抗體；o. IgD 抗體；p. IgE 抗體；q. IgM 抗體；r. IgG1 抗體；s. IgG2 抗體；t. IgG3 抗體；u. IgG4 抗體；或 v.具有至少一突變於樞紐區(hinge region)以緩和形成內部-H 鏈二硫鍵傾向之 IgG4 抗體。

也提供一種專一於活動素 A 之人類抗原結合蛋白質，其中該抗原結合蛋白質具有人類抗-活動素 A 抗體之至少一活體內(*in vivo*)生物活性；例如惡病質之減弱。

進一步提供一種人類抗原結合蛋白質，能於忍受結腸腫瘤之小鼠改善體重的減少，或於膠原誘發之類風濕性關節炎動物模式中改善體重的減少。

也提供一種人類抗原結合蛋白質，能於膠原誘發之類風濕性關節炎動物模式中改善肌肉質量的損失，於膠原誘發之類風濕性關節炎動物模式中改善脂肪質量的損失或於 AAV-活動素 A 轉染之動物模式中改善體重的減少。

進一步提供一種專一於活動素 A 之人類抗原結合蛋白質，其中該抗原結合蛋白於活體外(*in vitro*)抑制活動素 A 與活動素 A 受器之結合。

也提供一種專一於活動素 A 之人類抗原結合蛋白質，其中該抗原結合蛋白於活體內抑制活動素 A 與活動素 A 受器之結合。

在另一方面，提供一種單離之多核苷酸，含有編碼輕鏈、重鏈或本發明之兩抗原結合蛋白之序列；該多核苷酸可含有 SEQ ID NO：1，17，33，49，65，81，97，113，129，145，161，177，193 或 209 之輕鏈可變功能部位核酸序列及

/或 SEQ ID NO：2，18，34，50，66，82，98，114，130，146，162，178，194 或 210 之重鏈可變功能部位核酸序列。

也提供一種含有單離之多核苷酸之質體；該質體可爲表現載體；以及提供一種含有該多核苷酸之單離之細胞；該單離之細胞可爲融合瘤，以及該細胞可爲 CHO 細胞。

進一步提供爲一種製造結合人類活動素 A 之抗原結合蛋白之方法，包括在使其表現該抗原結合蛋白之條件下培育該單離之細胞。

也提供一種含有本發明抗原結合蛋白之醫藥組成物，一種在患者治療疾病之方法，包括對患者投與該醫藥組成物，其中經由降低患者之活動素 A 活性可治療該疾病；患者可爲人類，以及疾病可爲與腫瘤有關之惡病質，其中腫瘤爲性腺腫瘤例如卵巢癌，良性攝護腺肥大，前列腺上皮內贅瘤(prostate intraepithelial neoplasia)或前列腺癌；或其中腫瘤爲膀胱癌，威爾姆氏腫瘤(Wilm's tumor)，胰臟癌，乳癌，骨癌，肺癌，結腸直腸癌，子宮頸癌，滑膜肉瘤(synovial sarcoma)，血管活性腸胜類分泌腫瘤(vasoactive intestinal peptide secreting tumors)，神經膠母細胞瘤(glioblastoma)，神經管母細胞瘤(medulloblastoma)，頭頸部上皮細胞癌(head and neck squamous cell cancer)，口腔癌，口腔白斑症(oral leukoplakia)，肛門癌，食道癌，胃癌，骨癌，或轉移癌；該疾病可爲與類風濕性關節炎有關之惡病質；或該疾病可爲需要於患者減少活動素 A 活性。

在另一方面，本發明提供一種保持患者肌肉質量之方

法，包括對該患者投與該醫藥組成物。

在另一方面，本發明提供一種於有其需要之患者減少活動素 A 活性之方法，包括對該患者投與該醫藥組成物。

在另一方面，本發明提供一種能於活體外或活體內專一結合活動素 A 胺基酸 K13—Y39 之抗體。在另一方面，本發明提供一種能於活體外或活體內專一結合胺基酸 V82—N107 之抗體。

發明之詳細說明

本發明是關於包含經抗體(其亦結合至全長活動素 A)辨認之半胱胺酸結功能部位之人類活動素 A 之區域，及/或重疊或包含活動素 A 半胱胺酸結區域之活動素之區域，以及製造及使用這些半胱胺酸結功能部位之方法。本發明也提供抗原結合劑，包括專一結合活動素 A 或部分活動素 A 之抗體，以及使用此等結合劑之方法。該結合劑可用於阻礙或損害人類活動素 A 與一個或一個以上配體(ligand)結合。

充血性心臟衰竭(CHF)的死亡率與惡病質有關。在一研究中(Anker，S. D. and Coats，A. J.，Chest 115：836-847，1999)，未篩選之 CHF 門診病患族群中百分之十六是惡病質的。此狀態預言出預後能力的減弱，不論年齡，功能性疾病分類，左心室射出分率(left ventricular ejection fraction)以及最大氧消耗。惡病質族群在 18 個月的死亡率是百分之五十。

癌症、類風濕性關節炎、慢性腎衰竭、充血性心衰竭及惡病質是一因子之其他症狀之疾病進展的一共同途徑是活

動素 A 途徑。肌肉消耗及軟弱常見於許多疾病狀態及症狀，包括老化，癌症惡病質，毒血症，無神經支配(denervation)，廢棄(disuse)，不活動，燒傷，HIV-後天免疫不全症候群(AIDS)，慢性腎或心衰竭，卸載重/微重力(unloading/microgravity)，以及肌肉失養症(muscular dystrophies)。活動素(Activins)及抑制素(inhibins)是 TGF-ß 超級家族的成員。活動素及抑制素分別作用爲腦下垂體濾泡刺激素(FSH)分泌及生物合成的刺激劑及抑制劑。活動素 A 是活動素的主要型。在生殖生物學中，活動素及抑制素是卵巢週期及排卵過程的重要調節劑，並可在胚胎植入及/或維持懷孕扮演扮角色。(O' Connor et al., *Human Reproduction*, V. 14, No. 3, 827-832, March 1999; Draper et al., *Endocrin.*, V. 138, No. 7: 3042-3046; Jones, et al., *Endocrin.* V. 147, No. 2: 724-732, Feb. 2006)。在廣泛各種組織中確認出抑制素及活動素，代表這些因子比 FSH 分泌的調控扮演更重要角色。

活動素與兩結構相關種類之絲胺酸/酥胺酸激酶受器(I 型及 II 型)交互作用。抑制素可拮抗活動素，其係經由結合到蛋白多糖、ß 多糖並與之形成穩定複合物而藉此隔離 II 型活動素受器同時排除 I 型受器。活動素以兩種主要形式存在：活動素 A 是 $ß_A$-次單元之同質二聚體以及活動素 B 是 $ß_B$-次單元之同質二聚體。(Vale，et al.，*Recent Prog Horm Res* V. 44：1-34，1988)。不同於任一 ß-次單元之 a-次單元的異質二聚體造成功能性拮抗物抑制素。

文獻已顯示活動素 A 過度表現及/或局部化於癌症組

織。舉例而言，有子宮內膜及子宮頸癌的女性可見到高含量的血清活動素(Petraglia，F. et al.，*Jour. Clin. Endocrin. Metab.* 83：1194-1200，1998)。活動素 A 過度表現於結腸直腸癌第 期 IV(Wildi，S. et al.，*Gut* 49：409-417，2001)。已發表活動素 A 在卵巢癌的角色(Steller, M.D. *et al.*, *Mol. Cancer Res.* 3:50-61, 2005)。

文獻也指出活動素 A 於腎臟疾病(Yamashita，S. *et al. J. Am. Soc. Nephrol.* 15：91-101，2004.)。正常對象及具疾病之病患中血清免疫反應性活動素 A 之含量已發表於 Harada，K. *et al.* in *J. Clin. Endocrin. and Metab.* 81：2125-2130，1996。活動素 A 是腎間質纖維母細胞之一有效活化劑(Harada，K. *et al.*，*J. Am. Soc. Nephrol.* 15：91-101，2004)。腎絲球活動素 A 過度表現與抗-Thy 1 腎絲球腎炎之纖維化有關(Gaedeke，J. et al.，*Neph. Dial. Transpl.* 20：319-328，2005)。

心臟衰竭病患之血清活動素 A 含量依據疾病嚴重度增加(Yndestal et al.，*Circulation* 109：1379-1385，2004)。在心臟衰竭之大鼠模式中，心肌梗塞後血清活動素 A 立即提高並持續 6 個月，且活動素 A 之免疫染色法僅定位於心肌細包(Yndestad et al.，2004)。已發表活動素 A 含量於心臟衰竭中提高(Yndestad，A. *et al.*, *Circulation 109*：1379-1385，2004)。

本發明提供有關結合至活動素 A 之分子的組成物、套組及方法，包括激化(agonize)或拮抗(antagonize)活動素 A

之分子，例如抗-活動素 A 抗體、抗體片段、及抗體衍生物，例如拮抗性抗-活動素 A 抗體、抗體片段、或抗體衍生物。也提供有關專一結合至部分活動素 A 之分子的組成物、套組及方法，例如活動素 A 的胺基酸 R13-Y39 或胺基酸 V82-N107。此等分子可包括抗體、抗體片段、及抗體衍生物。也提供核酸及前衍生物和片段，包括編碼結合至活動素 A 之全部或部分多肽的核苷酸序列，例如編碼全部或部分抗-活動素 A 抗體、抗體片段、抗體變異體、或抗體衍生物之核酸，含有此等核酸之質體及載體，以及含有此等核酸及/或載體及質體之細胞或細胞系。提供之方法包括，例如製造、鑑定或單離結合至活動素 A 之分子(例如抗-活動素 A 抗體)之方法，測定一分子是否結合至活動素 A 之方法，製造組成物(例如醫藥組成物，含有結合至活動素 A 之分子)之方法，以及投與結合活動素 A 之分子至患者之方法，例如治療活動素 A 仲介之疾病以及在活體內或活體外調制活動素 A 生物活性之方法。

多核苷酸及多肽序列是使用標準一-或三-字母縮寫表示。除非其他指示，多肽序列具有其胺基末端在左邊及其羧基末端在右邊，以及單股核酸序列雙股核酸序列的上方股具有其 5'末端在左邊及其 3'末端在右邊。特殊的多肽或多核苷酸序列也能經由解釋其如何異於參考序列來說明。除非其他指示，需瞭解多核苷酸及多肽序列分別包括所列之每一核酸或胺基酸，以及插入之核酸或胺基酸。舉例而言，多肽序列 R13-Y39 提出包括胺基酸 R13 及 Y39 之多肽序列，以及

多肽序列中 R13 及 Y39 間存在之胺基酸。相同地，多核苷酸序列 C1—T5 提出包括核酸 C1 及 T5，以及該序列位置 2，3 及 4 核酸之多核苷酸序列。因此，SEQ ID NO：1—5 之命名同樣地表明包括 SEQ ID NO：1，SEQ ID NO：2，SEQ ID NO：3，SEQ ID NO：4 及 SEQ ID NO：5 在內之群組。最後除非其他指定，胺基酸群組也意指包括在內。舉例而言，“SEQ ID NO：28 之胺基酸 1-5 ”一詞包括 SEQ ID NO：28 位置 1，2，3，4 及 5 之胺基酸。

特殊輕鏈及重鏈可變功能部位之多核苷酸及多肽序列示於下。含有一輕鏈及重鏈之抗體是組合輕鏈名稱及重鏈可變功能部位名稱來命名。例如“L4H7”是指含有輕鏈可變功能部位 L4 及重鏈可變功能部位 H7 之抗體。

κ 輕鏈恆定序列示於 SEQ ID NO：84，100 及 108，以及重鏈恆定序列示於 SEQ ID NO：214，215 及 221。編碼這些序列之多核苷酸分別示於 SEQ ID NO：222，223 及 239(輕鏈)，以及分別於 SEQ ID NO：240，241 及 242(重鏈)。如此除文中揭示之可變序列以外，抗體能含有 SEQ ID NO：84 及 214；或 SEQ ID NO：215 及 223；或 SEQ ID NO：108 及 221 之一或二者。

在其他具體例中，抗體可含有一專一重鏈或輕鏈，而互補的輕鏈或重鏈可變功能部位仍未特別指定。特別在文中某些具體例包括經由專一輕鏈或重鏈結合專一抗原(例如活動素 A)之抗體，以致互補的重鏈或輕鏈可爲隨機或甚至無關係，但可由例如篩選組合的資料庫決定。Portolano et al.，

J. Immunol. V. 150 (3)，pp. 880-887 (1993)； Clackson et al.，*Nature* v. 352 pp. 624-628 (1991)。

除非文中其他定義，有關本發明之科學及技術用語之意義將爲所屬技術領域具有一般知識者通常可瞭解者。再者，除非上下文中需要，單數用語將包括複數以及複數用語經包括單數。通常文中所述細胞及組織培養，分子生物學，免疫學，微生物學，遺傳學及蛋白質及核酸化學與雜化作用(hybridization)有關聯及技術之命名所屬技術領域熟知且常用者。除非其他指示，本發明之方法及技術通常根據所屬技術領域熟知的慣用方法實施，例如敘於本說明從頭到尾所引用及討論的各種一般及更專一的參考資料。例如參閱Sambrook *et al.* Molecular Cloning：A Laboratory Manual，2d ed.，Cold Spring Harbor Laboratory Press，Cold Spring Harbor，N.Y. (1989)以及 Ausubel *et al.*，Current Protocols in Molecular Biology，Greene Publishing Associates (1992)，以及 Harlow and Lane Antibodies：A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press，Cold Spring Harbor，N.Y. (1990)，其併入本文參考。酵素反應及純化技術是根據製造商的說明書實施，就如常完成於技藝或如文中所述一樣。文中所述實驗室程序及分析化學、合成有機化學、及藥學和醫藥化學之技術有關所用之術語爲所屬技術領域熟知且常用者。標準技術能用於化學合成，化學分析，醫藥製備，配方，及傳送，以及病患的治療。

除非其他指示，將理解下列用語具有下列意義：

用語“單離之分子”(其中該分子例如是一多肽，多核苷

酸或抗體)是由於其出處的起源(origin)或根源(source)之分子：(1)與附有其天然狀態之天然相關的成分無牽連，(2)實質上不含來自相同物種之其他分子，(3)經由不同物種的細胞表現，或(4)不出現於自然。因此，化學合成或在不同於其自然產生之細胞的細胞系統中合成之分子，將是"單離"自其天然相關的成分。分子亦可使用技藝熟知的純化技術單離成爲實質上無天然相關的成分。分子純度或同質性可以許多技藝熟知的方法分析。舉例而言，多肽樣品的純度可使用技藝熟知的技術使用聚丙烯醯胺凝膠電泳分析並染色凝膠以看見多肽。爲此目的，使用 HPLC 或技藝熟知用於純化的其他方法可得到較高解析度。

用語"活動素 A 抑制劑"及"活動素 A 拮抗劑"可交互使用。每一分子爲可察覺地抑制活動素 A 至少一功能。因此，"活動素 A 激動劑"是一分子可察覺地增加活動素 A 至少一功能。活動素 A 抑制劑引起之抑制不需完全，只要使用分析可偵測即可。能使用活動素 A 功能的任何分析，本文中提供其實例。能由活動素 A 抑制劑抑制，或由活動素 A 激動劑增加活動素 A 功能的實例包括結合至活動素 A。活動素 A 抑制劑及活動素 A 激動劑之類型實例，包括但不限爲活動素 A 結合多肽，例如抗原結合蛋白(例如活動素 A 抑制抗原結合蛋白)，抗體，抗體片段以及抗體衍生物。

用語"胜肽"、"多肽"及"蛋白質"各指含有兩個或兩個以上胺基酸殘基以胜肽鍵彼此連結之分子。這些用語包含例如天然及人造蛋白質，蛋白質片段及蛋白質序列的多肽類似物

(例如突變蛋白，變異體，以及接合蛋白(fusion protein))，以及轉譯後或其他共價或非共價、經修飾蛋白質。胜肽、多肽或蛋白質可爲單體或多體。

文中使用之用語“多肽片段”是指相較於對應之全長蛋白質，具有胺基末端及/或羧基末端刪除之多肽。片段例如能爲至少 5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，20，50，70，80，90，100，150 或 200 個胺基酸長度。片段也能爲例如至多 1,000，750，500，250，200，175，150，125，100，90，80，70，60，50，40，30，20，15，14，13，12，11，或 10 個胺基酸長度。片段能進一步在其一或兩末端含有一個或一個以上額外的胺基酸，例如來自不同天然存在之蛋白質(例如 Fc 或白胺酸拉鍊結構(leucine zipper)功能部位)或人造胺基酸序列(例如人造連接體序列(artificial linker sequence))之胺基酸序列。

本發明之多肽包括已於任何方式及爲任何理由經修飾之多肽，例如以期：(1)降低對蛋白水解的感受性，(2)降低對氧化的感受性，(3)改變對形成之蛋白質複合體的結合親和力，(4)改變結合親和力，以及(4)給予或修飾其他物理化學或功能性特性。類似物包括多肽的突變蛋白。舉例而言，單一或多胺基酸取代(例如，保留性胺基酸取代)可製作於天然存在之序列(例如，在形成分子間接觸之功能部位外側之部分多肽)。“保留性胺基酸取代”是沒有實質改變親代序列的結構特徵(例如，置換的胺基酸應不易毀壞存在於親代序列的螺旋，或瓦解親代序列特徵或其功能性所需之其他種二

級構)。技藝辯認多肽二級及三級之實例敘述於 Proteins, Structures and Molecular Principles(Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991));以及 Thornton *et al.* Nature 354:105 (1991)，這些皆併入本文參考。

多肽之"變異體"(例如抗體)含有胺基酸序列中一個或一個以上胺基酸殘基是插入、刪除自及/或取代進入相對於天然多肽序列的胺基酸序列，且必需保留相同如天然多肽的生物活性。該多肽的生物活性能使用技藝之標準技術測量(舉例而言，如果變異體是一抗體，其活性可經由如文中所述之結合分析來測試)。本發明之變異體包括片段，類似物，重組多肽，合成多肽，及/或接合蛋白。多肽之"衍生物"是已經過化學修飾，例如經由接合到另一化學部分(moiety)如聚乙二醇、白蛋白(例如人類血清白蛋白)、磷酸化及糖化之多肽(例如抗體)。除非其他指示，用語"抗體"除含有兩全長重鏈及兩全長輕鏈之抗體以外，包括其衍生物、變異體、片段及突變蛋白，其實例敘述於下。

"抗原結合蛋白"是一種蛋白質，含有結合至抗原的一部分以及可有一支架(scaffold)或骨架(framework)部分能使抗原結合部分採取促進該抗原結合蛋白結合至抗原之構形。抗原結合蛋白之實例包括抗體、抗體片段(例如，抗體之抗原結合部分)、抗體衍生物及抗體類似物。該抗原結合蛋白能含有，例如另一蛋白質支架或具有移植之 CDRs 或 CDR 衍生物之人造支架。此等支架包括但不限爲衍生自抗體之支架

(含有突變導入例如以穩定該抗原結合蛋白三維結構)以及完全合成之支架(含有例如一生物可容性聚合物)。例如參閱 Korndorfer et al., 2003, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Volume 53, Issue 1:121-129; Roque et al., 2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-654。此外，能使用胜肽抗體擬態物("PAMs")，以及依據抗體擬態物利用纖維網蛋白成分作爲支架之支架。

抗原結合蛋白能具有，例如天然存在之免疫球蛋白的結構。"免疫球蛋白"是四聚體分子。天然存在之免疫球蛋白中，每一四聚體由相同兩對多肽鏈所組成，每對具有一"輕鏈"(約 25 kDa)及一"重鏈"(約 50-70 kDa)。每一鏈的胺基末端部分包括一個約 100 至 110 或以上胺基酸之主要負責抗原辨認之可變區域(可變區域)。每一鏈之羧基末端部分定義爲主要負責效應功能之恆定區域(恆定區域)。人類輕鏈分類爲 κ 及 λ 輕鏈。重鏈分類爲 μ、d、γ、a、或 e，並分別定義爲抗體之同型物 IgM、IgD、IgG、IgA 及 IgE。輕鏈及重鏈中，可變及恆定區域是經由約 12 個或以上之胺基酸的"J"區域連結，以及重鏈也包括約 10 個或以上之胺基酸之"D"區域。概括而言參閱 Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))(實際上其完全併入參考)。每一輕鏈/重鏈對之可變區域形成抗體結合位置，以致一完整的免疫球蛋白具有兩個結合位置。

天然存在之免疫球蛋白鏈展現以三個高可變區域(也稱爲互補決定區域或 CDR)連結之相當保留之骨架區域(FR)的相同一般構造。從 N-末端至 C-末端，輕鏈及重鏈二者皆含

有功能部位 FR1，CDR1，FR2，CDR2，FR3，CDR3 及 FR4。胺基酸對每一功能部位之分配是依據 Kabat 等人之定義，於 Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication no. 91-3242, 1991。

除非其他具體指定，"抗體"是指一完整的免疫球蛋白或其抗原結合部分可與完整抗體競爭專一結合。抗原結合蛋白可由重組 DNA 技術或酵素或化學裂解完整抗體來製造。抗原結合蛋白包括，特別是 Fab，Fab'，$F(ab')_2$，Fv，功能部位抗體(dAbs)，以及互補決定區域(CDR)片段，單鏈抗體(scFv)，嵌合型抗體，雙鏈抗體(diabodies)，三鏈抗體(triabodies)，四鏈抗體(tetrabodies)以及多肽，其至少含有足以賦予專一抗原結合至多肽之一部分免疫球蛋白。

Fab 片段是具有 V_L，V_H，C_L 及 C_H1 功能部位之單價片段；$F(ab')_2$ 片段是具有兩 Fab 片段在樞紐區以二硫橋連接之二價片段；Fd 片段具有 V_H 及 C_H1 功能部位；Fv 片段具有抗體單臂之 V_L 及 V_H 功能部位；以及 dAb 片段具有 V_H 功能部位，V_L 功能部位，或 V_H 或 V_L 功能部位之抗原結合片段(美國專利第 6,846,634，6,696,245 號，美國專利申請案公開號 05/0202512，04/0202995，04/0038291，04/0009507，03/0039958，Ward *et al.*，Nature 341：544-546，1989)。

單鏈抗體(scFv)是抗體中 V_L 及 V_H 區域透過連接體(例如，胺基酸殘基之合成序列)連結以形成連續蛋白質鏈，其中連接體是長度足夠使蛋白質鏈在其本身摺疊返回必形成單價抗原結合位置(參閱例如 Bird *et al.*，1988，*Science*

242：423-26 and Huston *et al.*，1988，*Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 85：5879-83)。雙鏈抗體(diabodies)是含有兩多肽鏈之二價抗體，其中每一多肽鏈含有連接體連結之 V_H 及 V_L 功能部位，由於連接體太短以致兩功能部位之間無法在相同鏈上配對，如此使每一功能部位與另一多肽鏈上互補的功能部位配對(參閱，例如 Holliger *et al.*, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 90:6444-48, and Poljak *et al.*, 1994, *Structure* 2:1121-23)。如果雙鏈抗體(diabody)的兩多肽鏈是一樣的，則其配對產生之雙鏈抗體(diabody)將具有兩個相同抗原結合位置。具有不同序列之多肽鏈能用於製造具有兩不同抗原結合位置之雙鏈抗體(diabody)。同樣地，三鏈抗體(tribodies)及四鏈抗體(tetrabodies)分別爲含有三個及四個多肽鏈之抗體，且分別形成三個及四個抗原結合位置，其能爲相同或不同。

所提供抗體之互補決定區域(CDR)及骨架區域(FR)可使用 Kabat 等人於 Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication no. 91-3242, 1991 所述之系統鑑定。一個或一個以上 CDR 可共價或非共價併入分子中以製造一抗原結合蛋白。抗原結合蛋白可併入 CDR(s)作爲較大多肽鏈的一部分，可共價連接 CDR(s)到另一多肽鏈，或可非共價併入 CDR(s)。CDRs 容許該抗原結合蛋白專一結合感興趣的特殊抗原。

抗原結合蛋白可具有一個或一個以上結合位置。若有一個以上結合位置，則結合位置可彼此一樣或可不同。舉例而言，天然存在之人類免疫球蛋白典型具有兩個一樣的結合位

置，然而“雙專一性(bispecific)”或“雙功能(bifunctional)”抗體具有兩個不同的結合位置。

用語“人類抗體”亦稱爲“完全人類抗體”包括具有一個或一個以上衍生自人類免疫球蛋白序列之可變及恆定區域之全部抗體。在一具體例中，全部的可變及恆定功能部位是衍生自人類免疫球蛋白序列(一完全人類抗體)。這些抗體可以各種方法製備，其實例敘述如下，包括透過以感興趣的抗原免疫小鼠，該小鼠經基因修飾以表現衍生自編碼人類重鏈及/或輕鏈基因之抗體。

人類化抗體具有序列以一個或一個以上胺基酸取代、刪除及/或添加不同於衍生自非人類物種之抗體序列，以致當將其投與人類患者時，相較於非人類物種抗體，該人類化抗體較不可能引起免疫反應及/或引起較不嚴重的免疫反應。在一具體例中，非人類物種抗體之重鏈及/或輕鏈骨架及恆定功能部位中某些胺基酸經突變以產生人類化抗體。在另一具體例中，來自人類抗體的恆定功能部位是接合到非人類物種的可變功能部位。在另一具體例中，非人類抗體之一個或一個以上 CDR 序列中一個或一個以上胺基酸殘基是經改變，當將其投與人類患者時以降低可能的非人類抗體免疫原性，其中經改變胺基酸殘基並非抗體免疫專一結合至其抗原之關鍵者，或對該胺基酸序列所做的改變是保留性改變，以致人類化抗體結合至抗原沒有比非人類抗體結合至該抗原顯著惡化。如何製作人類化抗體之實例可見於美國專利第6,054,297，5,886,152 及 5,877,293 號。

用語“嵌合型抗體”是指含有一個或一個以上區域來自一抗體以及一個或一個以上區域來自一個或一個以上其他抗體之抗體。在一具體例中，一個或一個以上 CDR 是衍生自人類抗-活動素 A 抗體。在另一具體例中，全部 CDR 是衍生自人類抗-活動素 A 抗體。在另一具體例中，來自一個以上人類抗-活動素 A 抗體之 CDR 是混合及相配於嵌合型抗體。例如，嵌合型抗體可含有來自第一人類抗-活動素 A 抗體輕鏈之 CDR1，來自第二人類抗-活動素 A 抗體輕鏈之 CDR2 及 CDR3，以及來自第三抗-活動素 A 抗體重鏈之 CDR。再者，骨架區域可衍生自相同抗-活動素 A 抗體之一、一個或一個以上不同抗體(例如人類抗體)、或人類化抗體。在嵌合型抗體之一實例中，重鏈及/或輕鏈之一部分是一樣於、同源於(homologous)、或衍生自來自特殊物種之抗體或屬於特殊物種之抗體類型或亞型，而剩餘鏈是一樣於、同源於、或衍生自來自另一物種之抗體或屬於另一抗體類型或亞型。所包括亦爲展現所欲生物活性之此等抗體的片段(亦即能專一結合活動素 A)。

抗體之片段或類似物能經由所屬領域具有通常知識者依照本說明之教示及使用技藝熟知之技術輕易製備。較佳片段或類似物之胺基-及羧基-末端出現在靠近功能性功能部位的邊界。結構性及功能性功能部位能經由比對核苷酸及/或胺基酸序列數據與公用或私有之序列資料庫來鑑定之。電腦化之比對方法能用於鑑定出現在其他蛋白質已知結構及/或功能之序列模體(motif)或預料之蛋白質構形功能部位。摺

疊爲已知三維結構之蛋白質序列的鑑定方法是已知的。參閱，例如 Bowie *et al.*，1991，*Science* 253：164。

此外，抗原專一性(亦即活動素 A 專一性)抗體能由技藝已知之方法經由使用專一性 VL 或 VH 功能部位篩選互補之可變功能部位資料庫來製造。製造抗體之此等方法爲已知技藝。舉例而言，抗體片段接合到另一蛋白質(例如次要外殼蛋白質)能用於藉抗原而增進噬菌體。然後使用抗原(例如活動素 A)免疫小鼠之重新排列之重鏈(VH)及輕鏈(VL)的隨機組合之資料庫，抗體片段的各種資料庫顯現在噬菌體表面。這些資料庫能用於篩選互補性可變功能部位，且該功能部位經由例如親和力管柱純化。參閱 Clackson et al.，*Nature*，V. 352 pp. 624-628 (1991)。

在另一實例中，抗體(亦即活動素 A 抗體)之個別 VL 或 VH 鏈能用於搜查可能形成抗原結合片段(或 Fab)、具相同專一性之其他 VH 或 VL 鏈。因此，VH 及 VL 鏈 Ig 基因之隨機組合能以抗原結合片段表現於細菌噬菌體資料庫(例如 fd 或 λ 噬菌體)。例如組合的資料庫可利用親代 VL 或 VH 鏈資料庫分別組合抗原結合專一 VL 或 VH 鏈資料庫來產生。然後可以慣用技術篩選組合的資料庫，例如經由使用放射性標記之探針(例如放射性標記之活動素 A)。參閱，例如 Portolano et al.，*J. Immunol.* V. 150 (3) pp. 880-887 (1993)。

"CDR 移植之抗體"是一抗體含有一個或一個以上衍生自特殊物種或同型物抗體之 CDR 以及相同或不同物種或同型物之另一抗體的骨架。

“多專一性抗體”是一抗體，可辨認一個或一個以上抗原上之一個以上抗原決定基。此型抗體之亞型是一“雙專一性抗體”，可辨認相同或不同抗原上之兩不同的抗原決定基。

“抗原結合功能部位”、“抗原結合區域”或“抗原結合位置”是抗原結合蛋白的一部分，含有與抗原交互作用及提供該抗原結合蛋白專一性與對抗原之親和力的胺基酸殘基(或其他部分)。對於專一結合至其抗原之抗體，此將包括至少其 CDR 功能部位之一中至少一部分。

“抗原決定基”是一分子經由抗原結合蛋白(例如經由抗體)結合之部分。抗原決定基能含有分子之非連續部分(例如在一多肽中，胺基酸殘基在多肽一級序列中不連續，但在整個多肽的三級和四級結構中接近到足以彼此經由抗原結合蛋白結合)，以及包括所列之末端序列胺基酸。舉例而言，多肽序列 R13—Y39 包括胺基酸 R13 及 Y39，以及序列中 R13 與 Y39 間存在之胺基酸。在一具體例中分子的抗原決定基含有非連續部分，因此序列將註明。

兩多核苷酸或兩多肽序列之“同一性百分比”是使用 GAP 電腦程式(GCG Wisconsin Package，version 10.3 (Accelrys，San Diego，CA)之一部分)，使用其預設參數經由比對序列來決定。

用語“多核苷酸”、“寡核苷酸”及“核酸”在全文可交互使用且包括 DNA 分子(例如 cDNA 或基因體 DNA)，RNA 分子(例如 mRNA)，使用核苷酸類似物(例如，胜肽核酸及非天然存在之核苷酸類似物)所產生之 DNA 或 RNA 的類似物，及其

雜化物(hybrids)。核酸分子能爲單股或雙股。在一具體例中，本發明之核酸分子含有編碼本發明抗體或其片段、衍生物、突變蛋白或變異體之連續的開放譯讀架(open reading frame)。

如果兩單股多核苷酸的序列在平行反方向能對齊(aligned)以致一多核苷酸中每一核苷酸在另一多核苷酸之互補核苷酸對面，無間隔導入且在任一序列的 5'或 3'末端無未配對核苷酸，則兩單股多核苷酸是彼此"互補"。若兩多核苷酸在中度嚴格條件下(moderately stringent conditions)能雜化到另一者，則一多核苷酸是"互補"於另一多核苷酸。因此，一多核苷酸能互補於另一多核苷酸而非其互補體。

"載體"是一核酸能用於將其連接的另一核酸導入細胞。載體之一類型是"質體"，其是指一線型或環型雙股 DNA 分子，額外的核酸節段能連接(ligate)於其中。載體的另一類型是病毒載體(例如複製缺陷反轉錄病毒(replication defective retroviruses)，腺病毒以及腺相關病毒(adeno-associated viruses))，其中額外的 DNA 節段能導入病毒基因體中。某些載體能於其所導入之宿主細胞中自主複製(例如，含有細菌的複製起點之細菌載體以及附加型哺乳動物細胞載體(episomal mammalian vectors))。其他載體(例如非附加型哺乳動物細胞載體)隨導入宿主細胞時整合到宿主細胞的基因體，並藉此隨宿主基因體複製。"表現載體"是載體的一種，能指揮所選多核苷酸的表現。

核苷酸序列是"可操作地連接(operably linked)"到一調

節序列，若該調節序列影響該核苷酸序列的表現(例如表現的程度、時點或位置)。“調節序列”是一核酸能影響對其可操作地連接之核酸的表現(例如表現的程度、時點或位置)。調節序列，例如能直接在所調節之核酸發揮其作用，或透過一個或一個以上其他分子的作用(例如，結合至調節序列及/或核酸之多肽)。調節序列之實例包括啓動子(promoter)，增強子(enhancer)及其他表現控制要素(例如，聚腺苷酸化作用訊息)。進一步之調節序列實例敘述於例如 Goeddel, 1990, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA and Baron *et al.*, 1995, *Nucleic Acids Res.* 23:3605 - 06。

“宿主細胞”是能用於表現核酸(例如本發明之核酸)之細胞。宿主細胞能爲原核細胞，例如大腸桿菌(*E. coli*)，或能爲真核細胞，例如單細胞真核細胞(例如酵母菌或其他真菌)，植物細胞(例如菸草或蕃茄植物細胞)，動物細胞(例如人類細胞，猴子細胞，倉鼠細胞，大鼠細胞，小鼠細胞或昆蟲細胞)或融合瘤。文中實施例 3 敘述使用 CS-9 細胞。其他宿主細胞的實例包括猴腎細胞 COS-7 細胞系(ATCC CRL 1651)(參閱 Gluzman *et al.*，1981，*Cell* 23：175)，L 細胞，C127 細胞，3T3 細胞(ATCC CCL 163)，中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或其衍生物，例如 Veggie CHO 及相關之細胞系，其生長於無血清培養基(參閱 Rasmussen *et al.*，1998，*Cyto 技術* 28：31)，HeLa 細胞，BHK(ATCC CRL 10)細胞系，衍生自非洲綠猴腎細胞系 CV1(ATCC CCL 70)之 CV1/EBNA 細胞系(參閱 McMahan *et al.*，1991，*EMBO J.* 10：2821)，人類胚

胎腎細胞例如 293，293 EBNA 或 MSR 293，人類表皮 A431 細胞，人類 Colo205 細胞，其他轉形之靈長類細胞系，正常二倍體細胞，衍生自原始組織活體外培養之細胞株，原始移植體(primary explants)，HL-60，U937，HaK 或 Jurkat 細胞。典型的宿主細胞是經培養細胞，能經編碼多肽之核酸轉形或轉染，然後該核酸能表現於宿主細胞。“重組宿主細胞”一詞能用於表示一宿主細胞已經由將表現之核酸轉形或轉染。宿主細胞也能是含有核酸之細胞，該核酸不以所欲程度表現，除非調節序列導入宿主細胞以致其變得可操作地連接該核酸。需知用語宿主細胞不僅指特定對象細胞，也指如此細胞之後代或可能的後代。因某些修飾由於例如突變或環境影響可出現於後繼世代，如此後代實際上可能不相同於親代細胞，但仍包括在本文使用之用語範圍內。

抗原結合蛋白

在一方面，本發明提供結合至活動素 A(例如人類活動素 A)之抗原結合蛋白(例如抗體，抗體片段，抗體衍生物，抗體突變蛋白，以及抗體變異體)。

根據本發明之抗原結合蛋白包括抑制活動素 A 生物活性之抗原結合蛋白。舉例而言，抗原結合蛋白可減弱惡病質，以及當該抗原結合蛋白是完全人類，例如完全人類抗體時，能出現此活性。

不同的抗原結合蛋白可結合至活動素 A 不同功能部位或半胱胺酸結功能部位或經由不作用機轉來作用。實例包括但不限爲抗原結合蛋白質，其能專一結合一個或一個以上特

殊半胱胺酸結功能部位，或散布於二硫鍵間之區域，包含包括從 SEQ ID NO：1 約胺基酸 4-12，胺基酸 11-81，胺基酸 11-33，胺基酸 13-39，胺基酸 40-113，胺基酸 44-115，胺基酸 81-111 及/或胺基酸 82-107 之區域。除非其他指示，尤其如文中所指示，功能部位區域是指例如將包含之群組。舉例而言，胺基酸 4-12 是指 9 個胺基酸：位置 4 及 12 之胺基酸以及序列中介入之 7 個胺基酸。其他實例包括抑制活動素 A 與其受器結合之抗原結合蛋白。抗原結合蛋白不需完全抑制活動素 A 誘發之活性以得到本發明用途；當然，也考慮使用降低活動素 A 特殊活性之抗原結合蛋白。(活動素 A-結合抗原結合蛋白於治療特殊疾病之作用的特別機制於文中討論僅爲舉例說明，以及文中提出之方法不因此受束縛)。

在另一方面，本發明提供含有選自 A1-A14 所組群組之一輕鏈可變區域或選自 A1-A14 所組群組之一重鏈可變區域之抗原結合蛋白質，及其片段，衍生物，突變蛋白及變異體。此等抗原結合蛋白能使用“LxHy”命名表示，其中“x”對應於輕鏈可變區域數，以及“y”對應於重鏈可變區域數，如他們標記於下面序列。換言之，舉例而言，“A1HC”表示抗體 A1 的重鏈可變區域；“A1LC”表示抗體 A1 的輕鏈可變區域等等。更大體言之，“L2H1”是指一抗原結合蛋白質，具有一含有 L2 胺基酸序列之輕鏈可變區域以及一含有 H1 胺基酸序列之重鏈可變區域。爲釐清，以一組至少兩成員表示之全部範圍包括組間的全部成員以及包括末端範圍成員。因此，組範圍 A1-A14 包括介於 A1 及 A14 間之全部成員，以及成員 A1

及 A14 本身。組範圍 A4-A6 包括成員 A4，A5 及 A6 等等。

又下面顯示是 CDR 或產生抗原結合位置部分之互補決定區域(陰影及底線)的位置，而骨架區域(FRs)是這些可變功能部位序列的插入節段。輕鏈可變區域及重鏈可變區域二者有三個 CDRs(CDR 1-3)及四個 FRs(FR 1-4)。每一輕鏈及重鏈的 CDR 區域也以抗體類型(A1，A2，A3 等等)分類。本發明之抗原結合蛋白包括，例如抗原結合蛋白質，具有選自由 L1H1(抗體 A1)，L2H2(抗體 A2)，L3H3(抗體 A3)，L4H4(抗體 A4)，L5H5(抗體 A5)，L6H6(抗體 A6)，L7H7(抗體 A7)，L8H8(抗體 A8)，L9H9(抗體 A9)，L10H10(抗體 A10)，L11H11(抗體 A11)，L12H12(抗體 A12)，L13H13(抗體 A13)及 L14H14(抗體 A14)所組群組之輕鏈及重鏈可變功能部位的組合。

抗體 A1-A14 重鏈及輕鏈可變區域多核苷酸(文中也稱爲 H1-H14 及 L1-L14).

A1 HC

CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTG
AAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGTTATGGTCTCAGCTGGGT
GCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCATCCCTTACAAT
GGTAACACAAACTCTGCACAGAAACTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGAC
ACATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGG
CCGTGTATTTCTGTGCGAGAGACAGGGACTACGGTGTCAATTATGATGCTTTTGATA
TCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA (SEQ ID NO：2)

A1 LC

TCCTATGAGGTGACTCAGGCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACAGCCA

GCATCACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATATGCTTGTTGGTATCAGCAGA

AGCCAGGCCAGTCCCCTGTGCTGGTCATCTATCAAGATAGCAAGCGGCCCTCAGG

GATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGAAACACAGCCACTCTGACCATCA

GCGGGACCCAGGCTATGGATGAGGCTGACTATTACTGTCAGGCGTGGGACAGCAG

CACTGCGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO：1)

A2 HC

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTG

AGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGTTACGGCATGCACTGGGT

CCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGA

AGTAATAAATACCATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAA

TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAGTGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT

GTGTATTACTGTGTGAGAAGTCGGAACTGGAACTACGACAACTACTACTACGGTCT

GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAG (SEQ ID NO：18)

A2 LC

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT

CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATAATTTAGGCTGGTATCAGC

AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATTTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAG

TGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACA

ATCAGCAGTCTGCAGCCTGAAGATTTTACAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGT

TACCCGTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO：17)

A3 HC

GAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTG

AGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGTAGTTATTGGATGAGCTGGGTC

CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGCGTGGCCAACATAAAGCAAGATGGA

AGTGAGGAATACTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACA

ACGCCAAGAATTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC

TGTGTATTACTGTGCGAGAGGTAGCAGCAGCTGGTACTACTACAACTACGGTATGG

ACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO：34)

A3 LC

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT

CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGC

AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAG

TGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACA

ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCGACAGCAAAATAC

TTACCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA (SEQ ID NO：33)

A4 HC

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTG

AAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATCCACTGGGT

GCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAACAGT

GGTGGCACAAACTATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGAC

ACGTCCATCAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGG

CCGTGTATTTCTGTGCGAGAGATTCGGGGTATAGCAGCAGCTGGCACTTTGACTAC

TGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO：50)

A4 LC

GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGC

CTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTACTGGATACAACTATTT

GGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTT

CTTTTCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCAGGCACAGA

TTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCA

TGCAAGCTCTCCAAACTCCGTGCAGTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA

G (SEQ ID NO：49)

A5 HC

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTG

TCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAATAGTTTCTACTGGAGCTGGATC

CGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGA

GCACCAACTACAATCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCC

AAGACCCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGT

ATTACTGTGCGAGAGACAGTATAGCAGCCCCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAAC

CCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGC

CCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGA

CTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCATGCGCCCT (SEQ ID NO：66)

A5 LC

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGG
CCACCATCACCTGCAAGTCCAGCCAGAGTATTTTATACAGTTCCAACAATAAGAAG
TATCTAGTTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGATCATTTACTG
GACATCTATGCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGG
ACAGATTTCACTCTCACCATCAACAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTA
CTGTCAGCAATATTATAGTACTCCGTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAA
TCAAA (SEQ ID NO：65)

A6 HC

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGT
CCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGCTTACTACTGGAGCTGGATC
CGCCAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAG
GCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTC
CAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTG
TATTACTGTGCGAGAGTACAGTGGCTCGAACTGGCCTACTTTGACTACTGGGGCCA
GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO：82)

A6 LC

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT
CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAACTATTTAAATTGGTATCAGC
AGAGACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTACATCCAGTTTGCAAAGT
GGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCAT
CAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGTAAGTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTA
TTTCGCCCACTTTCGGCGGCGGGACCAAGGTGGAGAACAAA (SEQ ID NO：81)

A7 HC

CAGGTGCAGCTGGTGGACTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTG

AGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCATTAGCTATGGCATGCACTGGGTC

CGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATCTGGTATGATGGAA

GTACTGAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAAT

TCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTG

TGTATTACTGTGCGAGAGAGAGGCAGTGGCTCTACCACTACGGTATGGACGTCTGG

GGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO：98)

A7 LC

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT

CACCATCACTTGCCGGGCAGGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGTCTGGTATCAGC

AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAG

TGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACA

ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAACATAATACT

TACCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA (SEQ ID NO：97)

A8 HC

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGGAGACCCTG

TCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAATAGTTTCTACTGGAGCTGGATC

CGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGA

GCACCAACTACAATCCCTCCCTCAAGAGGCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCC

AAGACCCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGT

ATTACTGTGCGAGAGACAGTATAGCAGCCCCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAAC

CCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO：114)

A8 LC

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGG

CCACCATCACCTGCAAGTCCAGCCAGAGTATTTTATACAGCTCCAACAATAAGAAG

TATCTAGTTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGTTGATCATTTACTG

GACATCTATGCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGG

ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTA

CTGTCAGCAATATTATAGTACTCCGTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAA

TCAAA (SEQ ID NO：113)

A9 HC

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTG

AGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGTTACGGCATGCACTGGGT

CCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGA

AGTAATAAATACCATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAA

TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAGTGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT

GTGTATTACTGTGTGAGAAGTCGGAACTGGAACTACGACAACTACTACTACGGTCT

GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO：130)

A9 LC

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT

CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATAATTTAGGCTGGTATCAGC

AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATTTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAG
TGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACA
ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTACAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGT
TACCCGTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO：129)

A10 HC

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGGGGAGTCTCTG
AAGATCTCCTGTCAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGCTGGGT
GCGCCAGATGCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGAC
TCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAA
GTCCATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCC
ATGTATTACTGTGCGAGACAAGGACTGGGGTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC
TGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO：146)

A10 LC

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACAGCCA
GCATCACCTGCTCTGGAGAAAAATGGGGAGAGAAATATGCTTGTTGGTATCAGCAG
AAGCCAGGCCAGTCCCCTGTGCTGGTCATCTATCAAGATACCAAGCGGCCCTCCGG
GATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCATTTCTGGGAACACAGCCACTCTGACCATCA
GCGGGACCCAGGCTATGGATGAGGCTGACTATTATTGTCAGGCGTGGGACAGGAG
CACTGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO：145)

A11 HC

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTG

TCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAG
CTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTCTTAC
AGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTTGA
CACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAACTCTGTGACTGCCGCGGACACG
GCCGTGTATTACTGTGCGCGCGCTTACGGTGACTATCGCGGCTGGTTCGACCCCTG
GGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO：162)

A11 LC

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACAGCCA
GCATCACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATTTGCTTTCTGGTATCAGCTGA
AGCCAGGCCAGTCCCCTGTGCTGGTCATCTATCAAGATAACAAGCGGCCCTCAGG
GATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACAGCCACTCTGACCATCA
GCGGGACCCAGGCTATGGATGCGGCTGACTTTTACTGTCAGGCGTGGGACAGCAG
CACTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO：161)

A12 HL

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTG
AGACTCTCCTGTGTAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGCCTATGGCATGCACTGGGT
CCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGA
AGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCATCATCTCCAGAGACAA
TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT
GTGTATTACTGTGCGAGAAGTCGGAACTGGAACTACGACTCCTACCAATACGGTTT
GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO：178)

A12 LC

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT

CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGC

AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAG

TGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACA

ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTGTGCAACTTATTATTGTCTACAGCATAATAGT

TATACGTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO：177)

A13 HC

CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTG

AAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGT

GCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGAGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAAT

GGTAACACAAACTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACA

CATCAACGACCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGC

CGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAAGATTACTATGATAGTAGTGGTTGGGGCCACTG

GGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO：194)

A13 LC

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACAGCCA

GCATCACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATATGTTTGTTGGTATCAGCAGA

AGCCAGGCCAGTCCCCTGAACTGGTCATCTATCTAGATAACAAGCGGCCCTCAGGG

ATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACAGCCACTCTGACCATCAG

CGGGACCCAGGCTATGGATGAGGCTGACTATTACTGTCAGGCGTGGGACAGCAGC

ACGGTATTCGGCGGAGGGACCAAACTGACCGTCCTG (SEQ ID NO：193)

A14 HC

CAGGTTCAGCTGGTGCAATCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGA
AGGTCTCCTGCAAGACTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTG
CGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCCCTTACAATG
GTAACACAAACTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACAA
ATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGCGATCTGACGACACGGCC
GTGTATTACTGTGCGAGAGATCAAGATTACTATGATAGTAGTGGTTGGGACCCCTGG
GGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCG (SEQ ID NO：210)

A14 LC

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACAGCCT
CCATCACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATATGCTTTCTGGTATCAGCAGA
AGCCAGGCCAGTCCCCTGTGCTGGTCTTCTATCATGATACCAAGCGGCCCTCAGGG
ATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACAGCCACTCTGACCATCAG
CGGGACCCAGGCTATGGATGAGGCTGACTATCACTGTCAGGCGTGGGACAGCAGC
ACGGTCTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAC (SEQ ID NO：209)

抗體A1-A14胺基酸序列，輕鏈可變區域。CDR區域是陰影及底線；插入節段或區域在文中稱爲骨架(FR)。

A1

SYEVTQAPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIP
ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTAVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO：
9)

A2

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNNLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGV PSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFTTYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO : 25)

A3

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGV PSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCRQQNTYPLTFGGGTKVEIK(SEQ ID NO : 41)

A4

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSTGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSFR ASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPCSFGQGTKLEIK (SEQ ID NO : 57)

A5

DIVMTQSPDSLAVSLGERATITCKSSQSILYSSNNKKYLVWYQQKPGQPPKLIIYWTSM RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSLQAEDVAVYYCQQYYSTPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO : 73)

A6

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNYLNWYQQRPGKAPKLLIYATSSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFVSYYCQQSYSISPTFGGGTKVENK (SEQ ID NO : 89)

A7

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAGQGIRNDLVWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGV PSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNTYPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO : 105)

A8

DIVMTQSPDSLAVSLGERATITCKSSQSILYSSNNKKYLVWYQQKPGQPPKLIIYWTSM RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO : 121)

A9

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNNLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGV PSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFTTYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO : 137)

A10

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGEKWGEKYACWYQQKPGQSPVLVIYQDTKRPSGIPE RFSGSISGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDRSTVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO : 153)

A11

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKFAFWYQLKPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISGTQAMDAADFYCQAWDSSTVVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO : 169)

A12

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGV PSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDCATYYCLQHNSYTWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO：185)

A13

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYVCWYQQKPGQSPELVIYLDNKRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO：201)

A14

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAFWYQQKPGQSPVLVFYHDTKRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYHCQAWDSSTVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO：217)

抗體 A1-A14，重鏈可變區域之胺基酸序列。CDR 區域是陰影及底線，其他區域在文中稱爲骨架(FR)。

A1

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGLSWVRQAPGQGLEWMGWIIPYN GNTNSAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYFCARDRDYGVNYDAFDI WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO：10)

A2

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDG

SNKYHADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQVNSLRAEDTAVYYCVRSRNWNYDNYYYGL DVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO：26)

A3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLECVANIKQDGSE EYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSSSWYYYNYGMDV WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO：42)

A4

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNS GGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYFCARDSGYSSSWHFDYW GQGTLVTVSS (SEQ ID NO：58)

A5

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSINSFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNY NPSLKSRVTISVDTSKTQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDSIAAPFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO：74)

A6

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSAYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGGT NYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVQWLELAYFDYWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO：90)

A7

QVQLVDSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFISYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGS TEYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERQWLYHYGMDVW GQGTTVTVSS (SEQ ID NO：106)

A8

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSINSFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNY NPSLKRRVTISVDTSKTQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDSIAAPFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO：122)

A9

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDG SNKYHADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQVNSLRAEDTAVYYCVRSRNWNYDNYYYGL DVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO：138)

A10

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCQGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSD TRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQGLGFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO：154)

A11

QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYISYSGS TYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVYYCARAYGDYRGWFDPWGQG TLVTVSS (SEQ ID NO：170)

A12

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSAYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGS NKYYADSVKGRFIISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSRNWNYDSYQYGLD VWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO：186)

A13

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLERMGWISAYNG NTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDQDYYDSSGWGHW GQGTLVTVSS (SEQ ID NO：202)

A14

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISPYNG NTNYAQKFQGRVTMTTDKSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDQDYYDSSGWDPW GQGTLVTVSS (SEQ ID NO：218)

抗體 A1-A14 之 CDR 共有序列(CDR consensus sequences)。

輕鏈	**CDR1 序列**
L4	R S S Q S L L H S T G Y N - Y L D (SEQ ID NO：59)
L5，L8	K S S Q S I L Y S S N N K KY L V (SEQ ID NO：75)
共有序列：	X_1 S S Q S X_2 L X_3 S X_4 X_5 X_6 X_7 X_8 Y L X_9 (SEQ ID NO：115)

X_1 爲精胺酸殘基或離胺酸殘基，

X_2 爲白胺酸殘基或異白胺酸殘基，

X_3 爲組胺酸殘基或酪胺酸殘基，

X_4 爲酥胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_5 爲甘胺酸殘基或天冬醯胺酸殘基，

X_6 爲酪胺酸殘基或天冬醯胺酸殘基，

X_7 爲天冬醯胺酸殘基或離胺酸殘基，

X_8 爲離胺酸殘基或沒有殘基，

X_9 爲天冬胺酸殘基或纈胺酸殘基

L2，L9	R A S Q G I R N N L G (SEQ ID NO：27)
L3，L12	R A S Q G I R N D L G (SEQ ID NO：43)
L6	R A S Q S I S N Y L N (SEQ ID NO：91)
L7	R A G Q G I R N D L V (SEQ ID NO：107)
共有序列：	R A X_{10} Q X_{11} I X_{12} N X_{13} L X_{14} (SEQ ID NO：116)

X_{10} 爲絲胺酸殘基或甘胺酸殘基，

X_{11} 爲絲胺酸殘基或甘胺酸殘基，

X_{12} 爲絲胺酸殘基或精胺酸殘基，

X_{13} 爲酪胺酸殘基，天冬胺酸殘基，或天冬醯胺酸殘基

X_{14} 爲天冬胺酸殘基，纈胺酸殘基，或甘胺酸殘基

L1	S G D K L G D K Y A C (SEQ ID NO：11)
L10	S G E K W G E K Y A C (SEQ ID NO：155)
L11	S G D K L G D K F A F (SEQ ID NO：171)

L13 S G D K L G D K Y V C (SEQ ID NO：203)

L14 S G D K L G D K Y A F (SEQ ID NO：219)

共有序列：S G X_{15} K X_{16} G X_{17} K X_{18} X_{19} X_{20} (SEQ ID NO：123)

X_{15} 爲麩胺酸殘基或天冬胺酸殘基，

X_{16} 爲色胺酸殘基或白胺酸殘基，

X_{17} 爲麩胺酸殘基或天冬胺酸殘基，

X_{18} 爲酪胺酸殘基或苯丙胺酸殘基，

X_{19} 爲丙胺酸殘基或纈胺酸殘基，

X_{20} 爲半胱胺酸殘基或苯丙胺酸殘基

輕鏈	CDR2 序列
L2	A T S S L Q S (SEQ ID NO：28)
L3，L6，L7，L9，L12	A A S S L Q S (SEQ ID NO：44)
L5，L8	W T S M R E S (SEQ ID NO：76)
L4	L G S F R A S (SEQ ID NO：60)
共有序列：	X_{40} X_{41} S X_{42} X_{43} X_{44} S (SEQ ID NO：124)

X_{40} 爲丙胺酸殘基，色胺酸殘基，或白胺酸殘基，

X_{41} 爲酥胺酸殘基，丙胺酸殘基，或甘胺酸殘基，

X_{42} 爲絲胺酸殘基，甲硫胺酸殘基，或苯丙胺酸殘基，

X_{43} 爲白胺酸殘基或精胺酸殘基，

X_{44} 爲麩醯胺酸殘基，麩胺酸殘基，或丙胺酸殘基

L10	Q D T K R P S	(SEQ ID NO：156)
L11	Q D N K R P S	(SEQ ID NO：172)
L1	Q D S K R P S	(SEQ ID NO：12)
L13	L D N K R P S	(SEQ ID NO：204)
L14	H D T K R P S	(SEQ ID NO：220)
共有序列：	X_{45} D X_{46} K R P S	(SEQ ID NO：128)

X_{45} 爲麩醯胺酸殘基，白胺酸殘基，或組胺酸殘基，

X_{46} 爲酥胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，或絲胺酸殘基

輕鏈	CDR3 序列	
L1	Q A W D S S T A V	(SEQ ID NO：13)
L10	Q A W D R S T - V	(SEQ ID NO：157)
L11	Q A W D S S T V V	(SEQ ID NO：173)
L13，L14	Q A W D S S T V -	(SEQ ID NO：205)

L2	L Q H N S Y P W T	(SEQ ID NO：29)
L7	L Q H N T Y P F T	(SEQ ID NO：109)
L9	L Q H N S Y P W T	(SEQ ID NO：141)
L12	L Q H N S Y T W T	(SEQ ID NO：189)
共有序列：	L Q H N X_{81} Y X_{82} X_{83} T	(SEQ ID NO：131)

X_{81} 爲酥胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_{82} 爲脯胺酸殘基或酥胺酸殘基，

X_{83} 爲苯丙胺酸殘基或色胺酸殘基

L3	R Q Q N T Y P L T	(SEQ ID NO：45)
L4	M Q A L Q T P C S	(SEQ ID NO：61)
L5	Q Q Y Y S T P W T	(SEQ ID NO：77)
L6	Q Q S Y S I S P T	(SEQ ID NO：93)
L8	Q Q Y Y S T P W T	(SEQ ID NO：125)
共有序列：	X_{73} Q X_{74} X_{75} $X_{76}X_{77}$ X_{78} X_{79} X_{80}	(SEQ ID NO：132)

X_{73} 爲甲硫胺酸殘基，麩醯胺酸殘基，或精胺酸殘基，

X_{74} 爲丙胺酸殘基，酪胺酸殘基，麩醯胺酸殘基，或絲胺酸殘基，

X_{75} 爲白胺酸殘基，酪胺酸殘基，或天冬醯胺酸殘基，

X_{76} 爲麩醯胺酸殘基，絲胺酸殘基，或酥胺酸殘基，

X_{77} 爲酥胺酸殘基，酪胺酸殘基，或異白胺酸殘基，

X_{78} 爲脯胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_{79} 爲半胱胺酸殘基，色胺酸殘基，白胺酸殘基，或脯胺酸殘基，

X_{80} 爲絲胺酸殘基或酥胺酸殘基

重鏈	**CDR1 序列**	
H5	G G S I N S - - F Y W S	(SEQ ID NO：78)
H6	G G S F S A - - Y Y W S	(SEQ ID NO：94)
H8	G G S I N S - - F Y W S	(SEQ ID NO：126)
H11	G G S I S S G G Y Y W S	(SEQ ID NO：174)
共有序列：	G G S $X_{21}X_{22}X_{23}X_{24}$ $X_{25}X_{26}$ Y W S	(SEQ ID NO：134)

X_{21} 爲異白胺酸殘基或苯丙胺酸殘基

X_{22} 爲天冬醯胺酸殘基或絲胺酸殘基

X_{23} 爲絲胺酸殘基或丙胺酸殘基

X_{24} 爲甘胺酸殘基或沒有殘基

X_{25} 爲甘胺酸殘基或沒有殘基

X_{26} 爲苯丙胺酸殘基或酪胺酸殘基

H7	G F T F I S Y G M H	(SEQ ID NO：110)
H4	G Y T F T G Y Y I H	(SEQ ID NO：62)
H2，H9	G F T F S S Y G M H	(SEQ ID NO：30)
H10	G Y S F T S Y W I G	(SEQ ID NO：158)
共有序列：	G $X_{27}X_{28}$F $X_{29}X_{30}$ Y $X_{31}X_{32}X_{33}$	(SEQ ID NO：139)

X_{27} 爲酪胺酸殘基或苯丙胺酸殘基，

X_{28} 爲酥胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_{29} 爲酥胺酸殘基，絲胺酸殘基，或異白胺酸殘基，

X_{30} 爲甘胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_{31} 爲酪胺酸殘基，甘胺酸殘基，或色胺酸殘基，

X_{32} 爲異白胺酸殘基或甲硫胺酸殘基，

X_{33} 爲組胺酸殘基或甘胺酸殘基

H13	G Y T F T S Y G L S	(SEQ ID NO：206)
H12	G F T F S A Y G M H	(SEQ ID NO：190)

H3 G F T F S S Y W M S (SEQ ID NO：46)

H1，H14 G Y T F T S Y G I S (SEQ ID NO：14)

共有序列： G X_{34}T F $X_{35}X_{36}$ Y $X_{37}X_{38}X_{39}$ (SEQ ID NO：140)

X_{34} 爲酪胺酸殘基或苯丙胺酸殘基，

X_{35} 爲酥胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_{36} 爲絲胺酸殘基或丙胺酸殘基，

X_{37} 爲甘胺酸殘基或色胺酸殘基，

X_{38} 爲白胺酸殘基，甲硫胺酸殘基，或異白胺酸殘基，

X_{39} 爲絲胺酸殘基或組胺酸殘基

重鏈 **CDR2 序列**

H11 Y I S Y S G S T Y Y N P S L K S (SEQ ID NO：175)

H5 Y I Y Y S G S T N Y N P S L K S (SEQ ID NO：79)

H6 E I N H S G G T N Y N P S L K S (SEQ ID NO：95)

H8 Y I Y Y S G S T N Y N P S L K R (SEQ ID NO：127)

共有序列：X_{47} I $X_{48}X_{49}$ S G X_{50} T X_{51} Y N P S L K X_{52} (SEQ ID NO：142)

X_{47} 爲酪胺酸殘基或麩胺酸殘基，

X_{48} 爲絲胺酸殘基，酪胺酸殘基，或天冬醯胺酸殘基，

X_{49} 爲酪胺酸殘基或組胺酸殘基

X_{50} 爲絲胺酸殘基或甘胺酸殘基，

X_{51} 爲酪胺酸殘基或天冬醯胺酸殘基，

X_{52} 爲絲胺酸殘基或精胺酸殘基

H2，H9　　V I W Y D G S N K Y H A D S V K G (SEQ ID NO：31)

H12　　V I W Y D G S N K Y Y A D S V K G (SEQ ID NO：191)

H3　　N I K Q D G S E E Y Y V D S V K G (SEQ ID NO：47)

H7　　V I W Y D G S T E Y Y A D S V K G (SEQ ID NO：111)

共有序列：　X_{53} I $X_{54}X_{55}$D G　S $X_{56}X_{57}$Y $X_{58}X_{59}$D S　V K　G (SEQ ID NO：179)

X_{53} 爲天冬醯胺酸殘基或纈胺酸殘基，

X_{54} 爲色胺酸殘基或離胺酸殘基，

X_{55} 爲酪胺酸殘基或麩醯胺酸殘基，

X_{56} 爲天冬醯胺酸殘基，麩胺酸殘基，或絲胺酸殘基，

X_{57} 爲離胺酸殘基或麩胺酸殘基，

X_{58} 爲組胺酸殘基或酪胺酸殘基，

X_{59} 爲丙胺酸殘基或纈胺酸殘基

H4　　W I N P N S G G T N Y A Q K F Q G(SEQ ID NO：63)

H1　　W I I P Y N G N T N S A Q K L Q G(SEQ ID NO：15)

H13　　W I S A Y N G N T N Y A Q K F Q G(SEQ ID NO：207)

H14　　W I S P Y N G N T N Y A Q K F Q G(SEQ ID NO：223)

H10　　I I Y P G D S D T R Y S P S F Q G(SEQ ID NO：159)

共有序列：　X_{60} I $X_{61}X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}$ T $X_{67}X_{68}X_{69}X_{70}X_{71}X_{72}$ Q G (SEQ ID NO：180)

X_{60} 爲色胺酸殘基或異白胺酸殘基，

X_{61} 爲天冬醯胺酸殘基，異白胺酸殘基，絲胺酸殘基，或酪

胺酸殘基，

X_{62}為脯胺酸殘基或丙胺酸殘基，

X_{63}為天冬醯胺酸殘基，酪胺酸殘基，或甘胺酸殘基，

X_{64}為絲胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，或天冬胺酸殘基，

X_{65}為甘胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_{66}為甘胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，或天冬胺酸殘基，

X_{67}為天冬醯胺酸殘基或精胺酸殘基，

X_{68}為酪胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_{69}為丙胺酸殘基或絲胺酸殘基

X_{70}為麩醯胺酸殘基或脯胺酸殘基，

X_{71}為離胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_{72}為苯丙胺酸殘基或白胺酸殘基

重鏈	**CDR3 序列**
H5，H8	- - D S I A A P F D Y (SEQ ID NO：80)
H6	V Q W L E L A Y F D Y (SEQ ID NO：96)
H10	- - - - Q G L G F D Y (SEQ ID NO：160)
共有序列：	X_{87} X_{88} X_{89} X_{90} X_{91} X_{92} X_{93} X_{94} F D Y (SEQ ID NO：187)

X_{87}為纈胺酸殘基或沒有殘基，

X_{88}為麩醯胺酸殘基或沒有殘基，

X_{89}為天冬胺酸殘基，色胺酸殘基，或沒有殘基，

X_{90}為絲胺酸殘基，白胺酸殘基，或沒有殘基，

X_{91}為異白胺酸殘基，麩胺酸殘基，或麩醯胺酸殘基，

X_{92} 爲丙胺酸殘基，白胺酸殘基，或甘胺酸殘基，

X_{93} 爲丙胺酸殘基或白胺酸殘基，

X_{94} 爲脯胺酸殘基，酪胺酸殘基，或甘胺酸殘基

H13 D Q D Y Y D S S G W - G H (SEQ ID NO：208)

H14 D Q D Y Y D S S G W - D P (SEQ ID NO：22)

H11 - - A Y G D Y R G W F D P (SEQ ID NO：176)

共有序列： X_{95} X_{96} X_{97} Y X_{98} D X_{99} X_{100} G W X_{101} X_{102} X_{103} (SEQ ID NO：188)

X_{95} 爲天冬胺酸殘基或沒有殘基，

X_{96} 爲麩醯胺酸殘基或沒有殘基，

X_{97} 爲天冬胺酸殘基或丙胺酸殘基，

X_{98} 爲酪胺酸殘基或甘胺酸殘基，

X_{99} 爲絲胺酸殘基或酪胺酸殘基，

X_{100} 爲絲胺酸殘基或精胺酸殘基，

X_{101} 爲苯丙胺酸殘基或沒有殘基，

X_{102} 爲甘胺酸殘基或天冬胺酸殘基，

X_{103} 爲組胺酸殘基或脯胺酸殘基

H4 - - - D S G Y S S S W H F DY -(SEQ ID NO：64)

H1 - - - D R D Y G V N Y D A F D I(SEQ ID NO：16)

H2 - S R N W N Y D N Y Y Y G L D V(SEQ ID NO：32)

H12 - S R N W N Y D S Y Q Y G L D V(SEQ ID NO：192)

H9 - S R N W N Y D N Y Y Y G L D V(SEQ ID NO：144)

H3 G S S S W Y Y - Y N G M D V - (SEQ ID NO：48)

H7 - E R QW L Y - - H Y G M D V(SEQ ID NO：112)

共有序列： $X_{104}X_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}YX_{110}X_{111}X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}$ (SEQ ID NO：189)

X_{104} 爲甘胺酸殘基或沒有殘基

X_{105} 爲絲胺酸殘基，麩胺酸殘基，或沒有殘基

X_{106} 爲精胺酸殘基，絲胺酸殘基，或沒有殘基，

X_{107} 爲天冬胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，絲胺酸殘基，或麩醯胺酸殘基

X_{108} 爲絲胺酸殘基，精胺酸殘基，或色胺酸殘基，

X_{109} 爲甘胺酸殘基，天冬胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，酪胺酸殘基，或白胺酸殘基，

X_{110} 爲絲胺酸殘基，甘胺酸殘基，天冬胺酸殘基，或沒有殘基，

X_{111} 爲絲胺酸殘基，纈胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，或酪胺酸殘基，

X_{112} 爲絲胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，酪胺酸殘基，或組胺酸殘基

X_{113} 爲色胺酸殘基，酪胺酸殘基，或麩醯胺酸殘基，

X_{114} 爲組胺酸殘基，天冬胺酸殘基，酪胺酸殘基，或沒有殘基，

X_{115} 爲苯丙胺酸殘基，丙胺酸殘基，或甘胺酸殘基，

X_{116} 天冬胺酸殘基，苯丙胺酸殘基，白胺酸殘基，或甲硫胺

酸殘基

X_{117}為酪胺酸殘基，或天冬胺酸殘基，

X_{118}為異白胺酸殘基，纈胺酸殘基，或沒有殘基

在一具體例中，本發明提供一種抗原結合蛋白質，含有一輕鏈可變功能部位其含胺基酸序列只在15，14，13，12，11，10，9，8，7，6，5，4，3，2，或1殘基不同於選自由L1至L14所組群組之輕鏈可變功能部位的序列，其中各個此種序列差異無關於任一個胺基酸殘基的刪除、插入、或取代。在另一具體例中，輕鏈可變功能部位含有胺基酸序列至少70%，75%，80%，85%，90%，95%，97%，或99%相同於選自由L1-L14所組群組之輕鏈可變功能部位之序列。在另一具體例中，輕鏈可變功能部位含有胺基酸序列編碼自一核苷酸序列，其至少70%，75%，80%，85%，90%，95%，97%，或99%相同於編碼選自由L1-L14(其包括L1，L2，L3，L4，L5，L6，L7，L8，L9，L10，L11，L12，L13及L14)所組群組之輕鏈可變功能部位之核苷酸序列。在另一具體例中，輕鏈可變功能部位含有胺基酸序列是編碼自一多核苷酸，其於中度嚴格條件下雜化至編碼選自由L1-L14所組群組之輕鏈可變功能部位之多核苷酸的互補體。在另一具體例中，輕鏈可變功能部位含有胺基酸序列是編碼自一多核苷酸，其於中度嚴格條件下雜化至編碼選自由L1-L14所組群組之輕鏈可變功能部位之多核苷酸的互補體。在另一具體例中，輕鏈可變功能部位含有胺基酸序列是編碼自一多核苷

酸，其於中度嚴格條件下雜化至編碼選自由 L1-L14 所組群組之輕鏈可變功能部位之多核苷酸的互補體。

在另一具體例中，本發明提供一種抗原結合蛋白質，含有一重鏈可變功能部位其含胺基酸序列只在 15，14，13，12，11，10，9，8，7，6，5，4，3，2，或 1 殘基不同於選自由 H1-H14 所組群組之重鏈可變功能部位的序列，其中各個此種序列差異無關於任一個胺基酸殘基的刪除、插入、或取代。在另一具體例中，重鏈可變功能部位含有胺基酸序列至少 70%，75%，80%，85%，90%，95%，97%，或 99%相同於選自由 H1-H14 所組群組之重鏈可變功能部位之序列。在另一具體例中，重鏈可變功能部位含有胺基酸序列編碼自一核苷酸序列，其至少 70%，75%，80%，85%，90%，95%，97%，或 99%相同於編碼選自由 H1-H14 所組群組之重鏈可變功能部位之核苷酸序列。在另一具體例中，重鏈可變功能部位含有胺基酸序列是編碼自一多核苷酸，其於中度嚴格條件下雜化至編碼選自由 H1-H14 所組群組之重鏈可變功能部位之多核苷酸的互補體。在另一具體例中，重鏈可變功能部位含有胺基酸序列是編碼自一多核苷酸，其於中度嚴格條件下雜化至編碼選自由 H1-H14 所組群組之重鏈可變功能部位之多核苷酸的互補體。在另一具體例中，重鏈可變功能部位含有胺基酸序列是編碼自一多核苷酸，其於中度嚴格條件下雜化至選自由 SEQ ID NO：10，26，42，58，74，90，106，122，136，154，170，186，202，及 218 所組群組之重鏈多核苷酸的互補體。

本發明抗原結合蛋白之特別具體例含有一個或一個以上胺基酸序列是相同於一個或一個以上CDRs及/或FRs之胺基酸序列，例如本文中提及之來自一個或一個以上 SEQ ID Nos：9-16，22，25-32，36，41-48-57-62，64，73-80，89-91，93-96，105-107，109-112，115，116，121-128，131，132，134，137-142，144，153-160，169-176，179，180，185-192，201-208，217-220，及 223 之一個或一個以上 CDR 或 FR。在一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之輕鏈 CDR1 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之輕鏈 CDR2 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之輕鏈 CDR3 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之重鏈 CDR1 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之重鏈 CDR2 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之重鏈 CDR3 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之輕鏈 FR1 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之輕鏈 FR2 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之輕鏈 FR3 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之輕鏈 FR4 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之重鏈 FR1 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之重鏈 FR2 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有以上舉例說明之重鏈 FR3 序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有

以上舉例說明之重鏈 FR4 序列。

在一具體例中，本發明提供一種含有一個或一個以上 CDR 序列之抗原結合蛋白質，與以上所示 CDR 序列差異不超過 5，4，3，2，或 1 個胺基酸殘基。

在另一具體例中，該抗原結合蛋白的 CDR3 序列至少一者爲來自 A1-A14 之 CDR3 序列，如表 1 或表 2 所示。在另一具體例中，該抗原結合蛋白的輕鏈 CDR3 序列是來自表 1 所示 A1-A14 之輕鏈 CDR3 序列以及該抗原結合蛋白的重鏈 CDR3 序列是來自表 2 所示 A1-A14 之重鏈序列。在另一具體例中，該抗原結合蛋白質含有 1，2，3，4，或 5 個 CDR 序列，其各自獨立以 6，5，4，3，2，1，或 0 單一胺基酸添加、取代、及/或刪除不同於 A1-A14 之 CDR 序列，以及該抗原結合蛋白進一步含有 1，2，3，4，或 5 個 CDR 序列，其各自獨立以 6，5，4，3，2，1，或 0 單一胺基酸添加、取代、及/或刪除不同於 CDR 序列。

抗體 A1-A14 之輕鏈 CDR 示於下列表 1，以及抗體 A1-A14 的重鏈 CDR 示於下列表 2。

表 1

輕 鏈

抗體	CDR1	CDR2	CDR3
A1	SGDKLGDKYAC (SEQ ID NO:11)	QDSKRPS (SEQ ID NO:12)	QAWDSSTAV (SEQ ID NO:13)
A2	RASQGIRNNLG (SEQ ID NO:27)	AASSLQS (SEQ ID NO:28)	LQHNSYPWT (SEQ ID NO:29)
A3	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO:43)	AASSLQS (SEQ ID NO:44)	RQQNTYPLT (SEQ ID NO:45)
A4	RSSQSLLHSTGYNYLD (SEQ ID NO:59)	LGSFRAS (SEQ ID NO:60)	MQALQTPCS (SEQ ID NO:61)
A5	KSSQSILYSSNNKKYLV (SEQ ID NO:75)	WTSMRES (SEQ ID NO:76)	QQYYSTPWT (SEQ ID NO:77)
A6	RASQSISNYLN (SEQ ID NO:91)	ATSSLQS (SEQ ID NO:44)	QQSYSISPT (SEQ ID NO:93)
A7	RAGQGIRNDLV (SEQ ID NO:107)	AASSLQS (SEQ ID NO:44)	LQHNTYPFT (SEQ ID NO:109)
A8	KSSQSILYSSNNKKYLV (SEQ ID NO:175)	WTSMRES (SEQ ID NO:76)	QQYYSTPWT (SEQ ID NO:125)
A9	RASQGIRNNLG (SEQ ID NO:27)	AASSLQS (SEQ ID NO:44)	LQHNSYPWT (SEQ ID NO:141)
A10	SGEKWGEKYAC (SEQ ID NO:155)	QDTKRPS (SEQ ID NO:156)	QAWDRSTV (SEQ ID NO:157)
A11	SGDKLGDKFAF (SEQ ID NO:171)	QDNKRPS (SEQ ID NO:172)	QAWDSSTVV (SEQ ID NO:173)
A12	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO:35)	AASSLQS (SEQ ID NO:44)	LQHNSYTWT (SEQ ID NO:189)
A13	SGDKLGDKYVC (SEQ ID NO:203)	LDNKRPS (SEQ ID NO:204)	QAWDSSTV (SEQ ID NO:205)
A14	SGDKLGDKYAF (SEQ ID NO:219)	HDTKRPS (SEQ ID NO:220)	QAWDSSTV (SEQ ID NO:205)

表 2

重鏈

抗體	CDR1	CDR2	CDR3
A1	GYTFTSYGLS (SEQ ID NO:14)	WIIPYNGNTNSAQKLQG (SEQ ID NO:15)	DRDYGVNYDAFDI (SEQ ID NO:16)
A2	GFTFSSYGMH (SEQ ID NO:30)	VIWYDGSNKYHADSVKG (SEQ ID NO:31)	SRNWNYDNYYYGLDV (SEQ ID NO:32)
A3	GFTFSSYWMS (SEQ ID NO:46)	NIKQDGSEEYYVDSVKG (SEQ ID NO:47)	GSSSWYYYNYGMDV (SEQ ID NO:48)
A4	GYTFTGYYIH (SEQ ID NO:62)	WINPNSGGTNYAQKFQG (SEQ ID NO:63)	DSGYSSSWHFDY (SEQ ID NO:64)
A5	GGSINSFYWS (SEQ ID NO:78)	YIYYSGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO:79)	DSIAAPFDY (SEQ ID NO:80)
A6	GGSFSAYYWS (SEQ ID NO:94)	EINHSGGTNYNPSLKS (SEQ ID NO:95)	VQWLELAYFDY (SEQ ID NO:96)
A7	GFTFISYGMH (SEQ ID NO:110)	VIWYDGSTEYYADSVKG (SEQ ID NO:111)	ERQWLYHYGMDV (SEQ ID NO:112)
A8	GGSINSFYWS (SEQ ID NO:126)	YIYYSGSTNYNPSLKR (SEQ ID NO:127)	DSIAAPFDY (SEQ ID NO:80)
A9	GFTFSSYGMH (SEQ ID NO:130)	VIWYDGSNKYHADSVKG (SEQ ID NO:31)	SRNWNYDNYYYGLDV (SEQ ID NO:144)
A10	GYSFTSYWIG (SEQ ID NO:158)	IIYPGDSDTRYSPSFQG (SEQ ID NO:159)	QGLGFDY (SEQ ID NO:160)
A11	GGSISSGGYYWS (SEQ ID NO:174)	YISYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:175)	AYGDYRGWFDP (SEQ ID NO:176)
A12	GFTFSAYGMH (SEQ ID NO:190)	VIWYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:191)	SRNWNYDSYQYGLDV (SEQ ID NO:192)
A13	GYTFTSYGIS (SEQ ID NO:206)	WISAYNGNTNYAQKFQG(SEQ ID NO:207)	DQDYYDSSGWGH (SEQ ID NO:208)
A14	GYTFTSYGIS (SEQ ID NO:222)	WISPYNGNTNYAQKFQG(SEQ ID NO:223)	DQDYYDSSGWDP (SEQ ID NO:224)

A1-A14之核苷酸序列或A1-A14之胺基酸序列能被改變，例如相較於未經突變之多核苷酸時，經由隨機突變或指定位置突變(例如，指定寡核苷酸之位置專一突變)以產生含有一個或一個以上特定核苷酸取代、刪除、或插入之經改變多核苷酸。製造此等變化的技術實例敘述於 Walder *et al.*, 1986, Gene 42:133; Bauer *et al.* 1985, Gene 37:73; Craik, BioTechniques, January 1985, 12-19; Smith *et al.*, 1981, *Genetic Engineering: Principles and*

Methods, Plenum Press；以及美國專利第 4,518,584 及 4,737,462 號。這些及其他方法能用於製造例如抗-活動素 A 抗體的衍生物，相較於非衍生性抗體其具有所欲特性，例如增加對活動素 A 之親和力、活動性或專一性，增加活體內或活體外活性或穩定性，或降低活體內副作用。

本發明範圍內之抗-活動素 A 抗體之其他衍生物包括抗-活動素 A 抗體與其他蛋白質或多肽之共價或聚集共軛物或其片段，例如經由表現含有異質多肽接合到抗-活動素 A 抗體多肽的 N-末端或 C-末端之重組接合蛋白。舉例而言，共軛之胜肽可爲異質訊息(或前導(leader))多肽，例如酵母菌 a-因子前導(a-factor leader)，或胜肽例如抗原決定基標籤。含抗原結合蛋白之接合蛋白能含有添加以促進抗原結合蛋白純化或鑑定之胜肽(例如聚-組胺酸)。抗原結合蛋白也能連接到如敘述於 Hopp *et al.*, *Bio/Technology* 6:1204, 1988 以及美國專利第 5,011,912 號之 FLAG 胜肽 Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Asp-Lys(DYKDDDDK)(SEQ ID NO：226)。FLAG 胜肽具高度抗原性且提供專一單株抗體(mAb)可逆地結合之抗原決定基，能快速分析及易於純化所表現之重組蛋白質。可用於製備接合蛋白(其中 FLAG 胜肽接合到所給多肽)之試劑可獲自市售商品(Sigma，St. Louis，MO)。

含一個或一個以上抗原結合蛋白之寡聚物可運用於作爲活動素 A 拮抗劑。寡聚物可爲共價連接或非共價連接之二聚體，三聚體，或更高寡聚物之形式。含有兩個或兩個以

上抗原結合蛋白之寡聚物的一實例是計畫以同質二聚體使用。其他寡聚物包括異質二聚體，同質三聚體，雜質三聚體，同質四聚體，雜質四聚體等等。

一具體例是針對寡聚物，含有透過接合到該抗原結合蛋白之胜肽部分間共價或非共價交互作用連結之多抗原結合蛋白。此等胜肽可爲胜肽連接體(spacers)或具有促進寡聚物化作用之胜肽。白胺酸拉鍊及衍生自抗體的某些多肽是在能促進附著於抗原結合蛋白的寡聚物化作用之胜肽中，詳細如下所述。

在特定具體例中，寡聚物含有二到四個抗原結合蛋白。該寡聚物之抗原結合蛋白可爲任何形式，例如上述之任何形式，例如變異體或片段。較佳爲寡聚物含有具有活動素 A 結合活性之抗原結合蛋白。

在一具體例中，寡聚物是使用衍生自免疫球蛋白之多肽製備。含有某些異質多肽接合到抗體衍生之多肽(包括 Fc 功能部位)各種部分之接合蛋白的製備，已敘述於例如 Ashkenazi *et al.*，1991，PNAS USA 88：10535；Byrn *et al.*，1990，Nature 344：677；以及 Hollenbaugh *et al.*，1992 *Curr. Prot.s in Immunol.*，Suppl. 4，pages 10.19.1 - 10.19.11。

本發明之一具體例是針對經由接合抗-活動素 A 抗體之活動素 A 結合片段至抗體 Fc 區域所產生之含有兩接合蛋白之二聚體。該二聚體之製造能經由例如插入一編碼該接合蛋白之基因接合體至適當的表現載體，在以重組表現載體轉形之宿主細胞中表現該基因接合體，並使所表現之接合蛋白裝

配更像抗體分子，於是 Fc 部分間形成鏈間二硫鍵以產生二聚體。

文中使用之用語"Fc 多肽"包括衍生自抗體 Fc 區域多肽之天然及突變蛋白形式。也包括含有促進二聚體化之樞紐區之此等多肽的截頭形式(truncated forms)。含有 Fc 部分(以及從其形成之寡聚物)之接合蛋白提供以親和力色層分析經蛋白質 A 或蛋白質 G 管柱易於純化之優點。

敘述於 PCT 申請案 WO 93/10151(特此併入參考)之一適當的 Fc 多肽，是單鏈多肽從人類 IgG1 抗體 Fc 區域之 N-末端樞紐區延伸至天然 C-末端。另一可用 Fc 多肽是 Fc 突變蛋白，敘述於美國專利第 5,457,035 號及 Baum *et al.*，1994，EMBO J. 13：3992-4001。此突變蛋白之胺基酸序列相同於 WO 93/10151 所示之天然 Fc 序列，除胺基酸 19 已從 Leu 改爲 Ala，胺基酸 20 已從 Leu 改爲 Glu，以及胺基酸 22 已從 Gly 改爲 Ala 除外。突變蛋白對 Fc 受器展現降低的親和力。

在其他具體例中，抗-活動素 A 抗體之重鏈及/或輕鏈的可變部分可替換抗體重鏈及/或輕鏈的可變部分。

此外，寡聚物是含有多抗原結合蛋白及含或不含胜肽連接體(連接體胜肽)之接合蛋白。適宜之胜肽連接體爲美國專利第 4,751,180 及 4,935,233 號所述者。

寡聚物抗原結合蛋白之另一製備方法包括使用白胺酸拉鍊。白胺酸拉鍊功能部位是促進其存在之蛋白質寡聚物化之胜肽。白胺酸拉鍊原始於數種 DNA-結合蛋白中被識別(Landschulz *et al.*，1988，Science 240：1759)，並自此於各

種不同的蛋白質中被發現。已知的白胺酸拉鍊爲天然存在之二聚體化或三聚體化之胜肽及其衍生物。適合用於製造可溶寡聚物蛋白之白胺酸拉鍊功能部位的實例敘述於 PCT 申請案 WO 94/10308，以及衍生自肺表面張力蛋白質 D(SPD)之白胺酸拉鍊敘述於 Hoppe *et al.*，1994，FEBS Letters 344：191，特此併入參考。使用經修飾白胺酸拉鍊使能穩定的三聚體化其接合之異質蛋白質者敘述於 Fanslow *et al.*，1994，Semin. Immunol. 6：267-78。在一方法中，含有抗-活動素 A 抗體片段或接合到白胺酸拉鍊胜肽之衍生物之重組接合蛋白，表現於適當宿主細胞中，且從培養的上清液回收可溶性寡聚物抗-活動素 A 抗體片段或形成之衍生物。

在一方面，本發明提供抗原結合蛋白質，能妨礙活動素 A 與活動素 A 受器之結合。能製作此等抗原結合蛋白對抗活動素 A，或其片段、變異體或衍生物，並於慣用分析法中篩選能妨礙活動素 A 與活動素 A 受器結合者。適合的分析實例爲測試該抗原結合蛋白抑制活動素 A 與細胞表現之活動素 A 受器結合能力之分析，或測試抗原結合蛋白降低活動素 A 與細胞表面活動素 A 受器結合所產生之生物或細胞反應的能力。舉例而言，如提出於第 10 圖以及下列之實施例，能根據他們結合到固定抗體表面之能力篩選抗體(活動素 A 及/或活動素 B)。

本發明抗原結合蛋白之抗原結合片段可由慣用技術產生。此等片段之實例包括但不限爲 Fab 及 $F(ab')_2$ 片段。以遺傳工程技術製造之抗體片段及衍生物也考慮其中。

額外的具體例包括嵌合型抗體，例如非人類(例如鼠科動物)單株抗體之人類化形式。此等人類化抗體可由已知技術製備，並當投與抗體到人類時給予降低免疫原性之優點。在一具體例中，人類化單株抗體含有鼠科動物抗體的可變功能部位(或其抗原結合位置全部或部分)以及衍生自人類抗體之恆定功能部位。另外，人類化抗體片段可含有鼠科動物單株抗體之抗原結合位置以及衍生自人類抗體之可變功能部位片段(缺乏抗原結合位置)。製造嵌合型之程序及進一步加工之單株抗體包括那些敘述於 Riechmann *et al.*, 1988, Nature 332:323, Liu *et al.*, 1987, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 84:3439, Larrick *et al.*, 1989, Bio/Technology 7:934，以及 Winter *et al.*，1993，TIPS 14：139。在一具體例中，該嵌合型抗體是 CDR 移植之抗體。人類化抗體之技術敘述於，例如美國專利第 5,869,619，5,225,539，5,821,337，5,859,205，6,881,557 號，Padlan *et al.*，1995，FASEB J. 9：133-39，以及 Tamura *et al.*，2000，J. Immunol. 164：1432-41。

於非人類動物中已研發產生人類或部分人類抗體之程序。例如經由各種方法已製備具一個或一個以上內生性免疫球蛋白基因之小鼠。人類免疫球蛋白基因已被導入小鼠中取代去活性小鼠基因。動物中製造之抗體併入由導入動物之人類基因材料編碼之人類免疫球蛋白多肽鏈。在一具體例中，以活動素 A 多肽免疫非人類動物(例如基因轉殖老鼠)，以致於動物中產生指向對抗活動素 A 多肽之抗體。

適合之免疫原的一實例爲適合的人類活動素 A，例如含

有 SEQ ID NO: 225 蛋白質之細胞外功能部位的多肽，或 SEQ ID NO：225 蛋白質之其他免疫原性片段。製造技術及使用基因轉殖動物製造人類或部分人類抗體之實例敘述於美國專利第 5,814,318，5,569,825 及 5,545,806 號，Davis et al., 2003, Production of human antibodies from transgenic mice in Lo, ed. Antibody Engineering: Methods and Protocols, Humana Press, NJ:191-200, Kellermann et al., 2002, *Curr Opin Biotechnol.* 13:593-97, Russel et al., 2000, *Infect Immun.* 68:1820-26, Gallo et al., 2000, *Eur J Immun.* 30:534-40, Davis et al., 1999, *Cancer Metastasis Rev.* 18:421-25, Green, 1999, *J Immunol Methods.* 231:11-23, Jakobovits, 1998, *Advanced Drug Delivery Reviews* 31:33-42, Green et al., 1998, *J Exp Med.* 188:483-95, Jakobovits A, 1998, *Exp. Opin. Invest. Drugs.* 7:607-14, Tsuda et al., 1997, *Genomics.* 42:413-21, Mendez et al., 1997, *Nat Genet.* 15:146-56, Jakobovits, 1994, *Curr Biol.* 4:761-63, Arbones et al., 1994, *Immunity.* 1:247-60, Green et al., 1994, *Nat Genet.* 7:13-21, Jakobovits et al., 1993, Nature. 362:255-58, Jakobovits et al., 1993, *Proc Natl Acad Sci* U S A. 90:2551-55. Chen, J., M. Trounstine, F. W. Alt, F. Young, C. Kurahara, J. Loring, D. Huszar. *Inter' l Immunol.* 5 (1993): 647-656, Choi et al., 1993, *Nature Genetics* 4: 117-23, Fishwild et al., 1996, *Nature Biotech.* 14: 845-51, Harding et al., 1995, Annals of the New York Academy of Sciences, Lonberg et al., 1994, *Nature* 368: 856-59, Lonberg, 1994, Transgenic Approaches to Human Monoclonal Antibodies in Handbook of Experimental Pharmacology 113: 49-101, Lonberg et al., 1995, Internal Review of Immunology 13: 65-93, Neuberger, 1996, *Nature Biotechnology* 14: 826, Taylor et al., 1992, *Nucleic Acids Res.* 20: 6287-95, Taylor et al., 1994, *Inter' l Immunol.* 6: 579-91, Tomizuka et al., 1997, *Nature Genetics* 16: 133-43, Tomizuka et al., 2000, *Pro. Nat' lAcad. Sci.* USA 97: 722-27, Tuaillon et al., 1993, *Pro.Nat' lAcad.Sci.* USA 90: 3720-24, and Tuaillon et al., 1994, *J.Immunol.* 152: 2912-20。

在另一方面，本發明提供結合活動素 A 之單株抗體。單株抗體可使用技藝已知的任何技術製造，例如免疫行程安排完全後使收取自基因轉殖動物的脾臟細胞永生不死。能使用技藝已知的任何技術使脾臟細胞永生不死，例如經由融合他們與骨髓瘤細胞以製造融合瘤。用於製造融合瘤融合步驟之骨髓瘤細胞較佳爲非製造抗體、具有高融合效率且缺乏使他們無法生長於某些選擇性培養基而只支持所欲的融合細胞(融合瘤)生長的酵素。用於小鼠融合的適當細胞系實例包括 Sp-20，P3-X63/Ag8，P3-X63-Ag8.653，NS1/1.Ag 4 1，Sp210-Ag14，FO，NSO/U，MPC-11，MPC11-X45-GTG 1.7 及 S194/5XX0 Bul；用於大鼠融合的適當細胞系實例包括 R210.RCY3，Y3-Ag 1.2.3，IR983F 及 4B210。可用於細胞融合的其他細胞系爲 U-266，GM1500-GRG2，LICR-LON-HMy2 及 UC729-6。

在一具體例中，融合瘤細胞系之製造是以活動素 A 免疫原免疫動物(例如具有人類免疫球蛋白序列之基因轉殖動物)；從被免疫動物收取脾臟細胞；融合收取之脾臟細胞至骨髓瘤細胞系，藉此產生融合瘤細胞；從融合瘤細胞確定融合瘤細胞系並鑑定產生結合活動素 A 多肽之抗體的融合瘤細胞系。此等融合瘤細胞系及由他們產生之抗-活動素 A 單株抗體包含於本發明中。

融合瘤細胞系分泌之單株抗體能使用技藝已知的任何技術純化。可進一步篩選融合瘤或單株抗體以鑑定具特殊性質之單株抗體，例如阻礙活動素 A 誘發活性之能力。此等篩

選的實例提供於以下實施例中。

抗體結合位置中心中互補決定區域(CDR)的分子演化也已經用於單離具增加親和力之抗體，例如，對 c-erbB-2 具增加親和力之抗體，敘述如 Schier *et al.*，1996，*J. Mol. Biol.* 263：551。因此，此等技術可用於製備對活動素 A 之抗體。

指向對抗活動素 A 之抗原結合蛋白能用於活體外或活體內，例如分析偵測活動素 A 多肽的存在。該抗原結合蛋白亦可用於免疫親和力色層分析法純化活動素 A 蛋白質。額外能阻礙活動素 A 結合的那些抗原結合蛋白質，可用於抑制因此結產生的生物活性。阻斷抗原結合蛋白能用於本發明之方法。作用爲活動素 A 拮抗劑之此等抗原結合蛋白可用於治療任何活動素 A 有關症狀，包括但不限爲惡病質。在一具體例中，經由涉及免疫基因轉殖小鼠步驟所產生的人類抗-活動素 A 單株抗體，用於治療此等症狀。

雖然人類、部分人類或人類化抗體應適於任何應用，特別是那些涉及投與抗體到人類患者，但其他種類的抗原結合蛋白應也適於某些應用。本發明之非人類抗體，例如能衍生自任何製造抗體的動物，例如小鼠，大鼠，兔子，山羊，驢，或非人類靈長類(例如猴子(例如獼猴或恆河猴)或大猩猩(例如黑猩猩))。本發明之非人類抗體能用於，例如在活體外及細胞培養系之應用，或任何其他應用，其中對本發明抗體之免疫反應不發生、是微小的、能預防的、是無影響的、或爲所欲的。在一具體例中，本發明之非人類抗體是對非人類患

者投與。在另一具體例中，非人類抗體在非人類患者不會引起免疫反應。在另一具體例中，非人類抗體是來自與非人類患者相同物種，例如本發明之小鼠抗體是對小鼠投與。來自特殊物種抗體之製造，例如能經由以所欲免疫原(例如，可溶性活動素 A 多肽)免疫該物種之動物；或使用產生該物種抗體用之人造系統(例如，產生特殊物種抗體用之細菌或噬菌體展現爲基礎之系統)；或從一物種轉換抗體爲來自另一物種的抗體，其係例如以來自其他物種的恆定區域取代該抗體的恆定區域，或經由取代抗體的一個或一個以上胺基酸殘基以致更接近來自其他物種抗體的序列。在一具體例中，該抗體是嵌合型抗體，含有衍生自來自兩種或兩種以上不同物種抗體之胺基酸序列。

抗原結合蛋白可由數種常見技術之任一種製備。例如使用技藝已知的任何技術他們可純化自天然表現他們的細胞(例如，能從產生他們的融合瘤純化抗體)，或製造於重組表現系統。例如參閱 *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses*, Kennet *et al.* (eds.), Plenum Press, New York (1980); and *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow and Land (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, (1988)。

技藝已知的任何表現系統能用於製造本發明之重組多肽。一般言之，宿主細胞是經含有編碼所欲多肽之 DNA 的重組表現載體轉形。宿主細胞中可利用者爲原核細胞，酵母菌或更高等的真核細胞。原核細胞包括格蘭氏陰性或格蘭氏陽性微生物，例如大腸桿菌(*E. coli*)或桿菌(B*acilli*)。更高

等的真核細胞包括昆蟲細胞及哺乳動物來源建立之細胞系。適當哺乳動物宿主細胞系之實例包括猴腎細胞 COS-7 系(ATCC CRL 1651)(Gluzman *et al.*，1981，Cell 23：175)，L 細胞，293 細胞，C127 細胞，3T3 細胞(ATCC CCL 163)，中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，HeLa 細胞，BHK(ATCC CRL 10)細胞系，以及衍生自非洲綠猴腎細胞系 CVI 之 CVI/EBNA 細胞系(ATCC CCL 70)，敘述如 McMahan *et al.*，1991，EMBO J. 10：2821。用於細菌，真菌，酵母菌及哺乳動物細胞宿主之合適的選殖及表現載體敘述於 Pouwels *et al.* (*Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, New York, 1985)。

經轉形細胞能於促進多肽表現之條件下培養，並以慣用蛋白質純化程序回收多肽。此等純化程序之一包括使用親和力色層分析法，例如，越過具有結合有活動素 A 全部或部分(例如，細胞外功能部位)之基質。本文中考慮使用之多肽包括實質均一的重組哺乳動物抗-活動素 A 抗體多肽，其實質不含污染之內生性物質。

可爲所欲特性經由數種已知技術製備及篩選抗原結合蛋白。某些技術涉及單離編碼感興趣抗原結合蛋白(例如抗-活動素 A 抗體)之多肽鏈(或其部分)的核酸，並透過重組 DNA 技術操作該核酸。舉例而言，核酸可被接合到另一感興趣的核酸，或經改變(例如，經由突變作用或其他慣用技術)以添加、刪除或取代一個或一個以上胺基酸殘基。

在一方面，本發明提供本發明抗-活動素 A 抗體之抗原結合片段。此等片段能完全由抗體衍生之序列組成或能含有

額外序列。抗原結合片段之實例包括 Fab，F(ab')2，單鏈抗體，雙鏈抗體(diabodies)，三鏈抗體(triabodies)，四鏈抗體(tetrabodies)，以及功能部位抗體。其他實例提供於 Lunde *et al.*，2002，Biochem. Soc. Trans. 30：500-06。

單鏈抗體可透過胺基酸橋(短胜肽連接體)經由連接重鏈及輕鏈可變功能部位(Fv 區域)片段而形成，導致單一多肽鏈。此等單鏈 Fvs(scFvs)已於編碼兩可變功能部位多肽(V_L 及 V_H)之 DNA 間經由接合編碼胜肽連接體之 DNA 來製造。所得多肽能自行摺疊回去以形成抗原結合單體，或他們能形成多聚物(例如，二聚體，三聚體，或四聚體)，視兩可變功能部位間之可彎曲連接體的長度而異(Kortt *et al.*，1997，*Prot. Eng.* 10：423； Kortt *et al.*，2001，*Biomol. Eng.* 18：95-108)。經由組合不同之含 V_L 及 V_H 的多肽，有一者能形成結合不同抗原決定基之多聚物型 scFvs(Kriangkum *et al.*，2001，*Biomol. Eng.* 18：31-40)。製造單鏈抗體已研發之技術包括那些敘述於美國專利第 4,946,778 號；Bird, 1988, *Science* 242:423; Huston *et al.*, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 85:5879; Ward *et al.*, 1989, *Nature* 334:544, de Graaf *et al.*, 2002, *Methods Mol Biol.* 178:379-87。衍生自文中所提供抗體(包括但不限爲含有可變功能部位組合 L1H1，L2H2，L3H3，L4H4，L5H5，L6H6，L7H7，L8H8，L9H9，L10H10，L11H11，L12H12，L13H13，及 L14H14 之 scFvs)之單鏈抗體包含於本發明。

本發明之抗原結合蛋白(例如，抗體，抗體片段及抗體衍生物)能含有技藝已知的任何恆定區域。輕鏈恆定區域能

爲，例如κ-或λ-型輕鏈恆定區域，例如，人類κ-或λ-型輕鏈恆定區域。重鏈恆定區域能爲，例如a-、d-、e-、γ-或μ-型重鏈恆定區域，例如人類a-、d-、e-、γ-或μ-型重鏈恆定區域。在一具體例中，該輕鏈或重鏈恆定區域是天然存在之恆定區域的片段，衍生物，變異體，或突變蛋白。

從感興趣抗體衍生不同亞型或同型物抗體的技術是已知的，亦即，亞型交換(subclass switching)。因此例如IgG抗體可衍生自IgM抗體，反之亦然。此等技術使新抗體的製備具有所給抗體(親代抗體)之抗原結合特性，但也展現與抗體同型物或不同於親代抗體之亞型有關之生物特性。可運用重組DNA技術。編碼特殊抗體多肽之經選殖DNA可用於此等程序中，例如，編碼抗體所欲同型物恆定功能部位之DNA。亦參閱Lantto *et al.*, 2002, *Methods Mol. Biol.* 178:303-16。

在一具體例中，本發明之抗原結合蛋白質含有任何A1-A14(H1-H14)之IgG1重鏈功能部位或任何A1-A14(H1-H14)之IgG1重鏈功能部位片段。在另一具體例中，本發明之抗原結合蛋白質含有A1-A14 (L1-L14)之κ輕鏈恆定鏈區域，或A1-A14 (L1-L14)之κ輕鏈恆定區域片段。在另一具體例中，本發明之抗原結合蛋白質含有A1-A14 (L1-L14)之IgG1重鏈功能部位或其片段以及A1-A14 (L1-L14)之κ輕鏈功能部位或其片段。

因此，本發明之抗原結合蛋白包括含有例如可變功能部位組合L1H1，L2H2，L3H3，L4H4，L5H5，L6H6，L7H7，

L8H8，L9H9，L10H10，L11H11，L12H12，L13H13，及 L14H14，具有所欲同型物(例如，IgA，IgG1，IgG2，IgG3，IgG4，IgM，IgE，及 IgD)及其 Fab 或 $F(ab')_2$ 片段者。再者，若 IgG4 爲所欲，其亦可視需要導入點突變(CPSCP -> CPPCP)於樞紐區，如 Bloom *et al.*, 1997, *Protein Science* 6:407 所述，併入本文參考)以減輕能導致 IgG4 抗體異源性之內部-H 鏈二硫鍵形成的傾向。

在一具體例中，該抗原結合蛋白質具有 K_{off} 爲 $1x10^{-4}$ s^{-1} 或更低。在另一具體例中，K_{off} 爲 $5x10^{-5}$ s^{-1} 或更低。在另一具體例中，K_{off} 爲實質相同於具有選自由 L1H1，L2H2，L3H3，L4H4，L5H5，L6H6，L7H7，L8H8，L9H9，L10H10，L11H11，L12H12，L13H13，及 L14H14 所組組合群組之輕鏈及重鏈可變功能部位序列組合之抗體。在另一具體例中，抗原結合蛋白以如含有一種或一種以上 CDRs 之抗體實質相同 K_{off} 結合至活動素 A，其中 CDRs 係來自具有選自由 L1H1，L2H2，L3H3，L4H4，L5H5，L6H6，L7H7，L8H8，L9H9，L10H10，L11H11，L12H12，L13H13，及 L14H14 所組組合群組之輕鏈及重鏈可變功能部位序列組合之抗體。在另一具體例中，抗原結合蛋白以如含有一種上述舉例之胺基酸序列之抗體實質相同 K_{off} 結合至活動素 A。在另一具體例中，抗原結合蛋白以如含有一種或一種以上 CDRs 之抗體實質相同 K_{off} 結合至活動素 A，其中 CDRs 係來自含有一種上述舉例之胺基酸序列之抗體。

如文中使用，用語“人類活動素 A”意指包括 SEQ ID

NO：1蛋白質及其對偶變異體。活動素A能從已經由編碼活動素A之基因轉形之宿主細胞，使用Heparin HP管柱，利用鹽梯度經由溶析宿主細胞培養液的過濾上清液純化出。

用語“抗體”是指完整的抗體或其結合片段。抗體可含有完整的抗體分子(包括多株，單株，嵌合型，人類化，或具有全長重鏈及/或輕鏈之人類形式)，或含有其抗原結合片段。抗體片段包括$F(ab')_2$，Fab，Fab'，Fv，Fc，及Fd片段，且能併入單一功能部位抗體，單鏈抗體，最大抗體(maxibodies)，最小抗體(minibodies)，內抗體(intrabodies)，雙鏈抗體(diabodies)，三鏈抗體(triabodies)，四鏈抗體(tetrabodies)，v-NAR及bis-scFv(參閱例如，Hollinger and Hudson，2005，*Nature Biotech.*，23，9，1126-1136)。抗體多肽也敘述於美國專利第6,703,199號，包括纖維網蛋白多肽單鏈抗體。其他抗體多肽揭示於美國專利公開第2005/0238646號，其爲單鏈多肽。

衍生自抗體的抗原結合片段能獲自，例如經由抗體的蛋白質水解，例如依照慣用方法之整個抗體的胃蛋白酶或木瓜蛋白酶分解作用。經由實施例，以胃蛋白酶經由抗體的酵素裂解(酵素　裂解)以提供5S片段稱爲$F(ab')_2$能產生抗體片段。能使用硫醇還原劑進一步裂解此片段以產生3.5S Fab'單價片段。視需要，能使用二硫鍵裂解產生之硫氫基(sulfhydryl group)用阻斷基進行裂解反應。另外，使用木瓜蛋白酶的酵素裂解直接產生兩單價Fab片段及一Fc片段。這些方法敘述於，例如Goldenberg的美國專利第號

4,331,647， Nisonoff *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.* 89:230, 1960; Porter, *Biochem. J.* 73:119, 1959; Edelman *et al.*, in *Methods in Enzymology* 1:422 (Academic Press 1967); and by Andrews, S.M. and Titus, J.A. in *Current Protocols in Immunology* (Coligan J.E., *et al.*, eds), John Wiley & Sons, New York (2003), pages 2.8.1-2.8.10 and 2.10A.1-2.10A.5。裂解抗體之其他方法，例如分割重鏈以形成單價輕鏈-重鏈片段(Fd)，亦可使用進一步的片段裂解，或其他酵素、化學、或遺傳技術，只要該片段結合至完整抗體可辯認之抗原。

抗體片段亦可爲任何合成或基因工程蛋白質。舉例而言，抗體片段包括由輕鏈可變區域組成之經單離片段，由重鏈及輕鏈可變區域組成之"Fv"片段，重組單鏈多肽分子；其中輕鏈及重鏈可變區域是以胜肽連接體連接(scFv 蛋白質)。

抗體片段的另一形式是含有抗體之一個或一個以上互補決定區域(CDR)之胜肽。CDRs(也稱爲"最小辨認單位"或"高可變區域")能經由構築編碼感興趣 CDR 之多核苷酸來獲得。此等多核苷酸之製備是經由，例如使用聚合酶鏈鎖反應，利用產抗體細胞之 mRNA 爲模板形成可變區域(參閱例如 Larrick *et al.*, *Methods: A Companion to Methods in Enzymology* 2:106, 1991; Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," in *Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application*, Ritter *et al.* (eds.), page 166 (Cambridge University Press 1995); and Ward *et al.*, "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies," in *Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*, Birch *et al.*, (eds.), page 137 (Wiley-Liss, Inc. 1995))。

因此，在一具體例中，結合劑含有至少一如文中所述之 CDR。結合劑可含有至少如文中所述之二、三、四、五或六

CDR。結合劑進一步可含有至少一如文中所述之抗體可變區域功能部位。可變區域功能部位可爲任何大小或胺基酸組成物，且一般將含有至少一負責結合人類活動素 A 之 CDR 序列，例如文中專一敘述之 CDR-H1，CDR-H2，CDR-H3 及/或輕鏈 CDRs，且其鄰接於一個或一個以上骨架序列或於骨架中。在一般用語中，可變(V)區域功能部位可爲免疫球蛋白重鏈(V_H)及/或輕鏈(V_L)可變功能部位之任何適當排列。因此，例如 V 區域功能部位可爲單體及爲 V_H 或 V_L 功能部位，其能以如下所述親和力至少相當於 1×10^{-7}M 或更低獨立結合人類活動素 A。另外，V 區域功能部位可爲二聚體且含有 V_H-V_H、V_H-V_L 或 V_L-V_L 之二聚體。V 區域二聚體含有可爲非共價連結(本文以下稱爲 F_V)之至少一 V_H 及至少一 V_L 鏈。視需要，鏈可爲直接共價偶合，例如經由兩可變功能部位間之二硫鍵，或透過連接體(例如胜肽連接體)以形成單鏈 Fv(scF_V)。

可變區域功能部位可爲任何天然存在之可變功能部位或其經設計型。經設計型意指已使用重組 DNA 工程技術產生之可變區域功能部位。此等經設計型包括，例如產生自專一抗體可變區域經由插入、刪除或改變於或至專一抗體之胺基酸序列。特殊實例包括經設計可變區域功能部位，其含有至少一 CDR 及可有一個或一個以上來自第一抗體之骨架胺基酸及來自第二抗體可變區域功能部位之剩餘者。

可變區域功能部位可在 C-末端胺基酸共價附著到至少一其他抗體功能部位或其片段。因此，例如存在於可變區域

功能部位的 VH 功能部位可連接至免疫球蛋白 CH1 功能部位或其片段。同樣地，V_L 功能部位可連接到 C_K 功能部位或其片段。在此方面，例如該抗體可爲 Fab 片段，其中抗原結合功能部位含有關聯之 V_H 及 V_L 功能部位在他們的 C-末端分別共價連接至 CH1 及 C_K 功能部位。CH1 功能部位可另以胺基酸延伸，例如以提供 Fab 片段存在之樞紐區或部分樞紐區功能部位，或以提供進一步的功能部位，例如抗體 CH2 及 CH3 功能部位。

如文中所述，抗體含有這些 CDRs 至少一種。例如一種或一種以上 CDR 可併入已知抗體骨架區域(IgG1，IgG2 等等)，或共軛與適當運載體(vehicle)以增強其半衰期。適當運載體包括但不限爲 Fc，聚乙二醇(PEG)，白蛋白，鐵傳遞蛋白等等。這些及其他適當運載體爲技藝已知。此等共軛 CDR 胜肽可爲單體，二聚體，四聚體，或其他形式。在一具體例中，一種或一種以上水溶性聚合物結合在一個或一個以上專一位置，例如在結合劑的胺基末端。

在某些較佳具體例中，抗體含有一種或一種以上水溶性聚合物連接物，包括但不限爲聚乙二醇，聚氧乙二醇，或聚丙二醇。參閱，例如美國專利第 4,640,835，4,496,689，4,301,144，4,670;417，4,791,192 及 4,179,337 號。在某些具體例中，衍生之結合劑含有一種或一種以上單甲氧基-聚乙二醇，葡聚糖，纖維素，或其他碳水化合物系聚合物，聚-(N-乙烯基吡咯酮)-聚乙二醇，丙二醇均聚物，聚環氧丙烷/環氧乙烷共聚物，聚氧乙基化多元醇(例如甘油)及聚乙烯

醇，以及此等聚合物之混合物。在某些具體例中，一種或一種以上水溶性聚合物是隨基附著於一個或一個以上側鏈。在某些具體例中，PEG能作用以促進結合劑(例如抗體)之治療能力。某些此等方法已討論於例如美國專利第 6,133,426 號，其於任何目的特此併入參考。

應知如果抗體保留結合專性，本發明之抗體可具有至少一胺基酸取代。因此，抗體結構的修飾包括在本發明範圍內。這些可包括胺基酸取代，其可爲保留性或非保留性，且但不會破壞抗體的活動素 A 結合能力。保留性胺基酸取代可包含非天然發生的胺基酸殘基，其典型以化學胜肽合成併入而非以生物系統合成。這些包括擬肽(peptidomimetics)及胺基酸部分之其他翻轉或顛倒形式。保留性胺基酸取代亦可包括以非天然殘基取代天然胺基酸殘基，以致在那位置對胺基酸殘基的極性或電荷有些微或無影響。

非保留性取代可包括胺基酸或胺基酸模擬物的一類之成員交換爲來自具不同物理性質(例如大小，極性，疏水性，電荷)之另一類成員。此等經取代殘基可導入與非人類抗體同源之人類抗體的區域，或導入分子的非同源區域。

再者，熟習該項技藝者可製造含有單一胺基酸取代於每一所欲胺基酸殘基之測試變異體。然後能使用熟習該項技藝者已知的活性分析法篩選變異體。此等變異體能用於收集有關適宜之變異體的資訊。舉例而言，若發現特定胺基酸殘基改變將造成破壞、不欲地降低或不適宜活性，則可避免具此變化之變異體。換言之，根據此等例行實驗所收集之資料，

熟習該項技藝者能輕易決定應該避免胺基酸的進一步取代(單獨或組合其他突變)。

熟習該項技藝者使用熟知技術應能決定文中提出之多肽的適宜變異體。在某些具體例中，熟習該項技藝者經由對準對活性不被認爲重要的區域而可鑑定出可被改變但不破壞活性之分子的適當區域範圍。在某些具體例中，能鑑定出在類似多肽間是保留性之分子殘基及部分。在某些具體例中，即使對生物活性或結構可能是重要的區域範圍，可進行保留性胺基酸取代而未破壞生物活性或對多肽結構無不利影響。

此外，熟習該項技藝者能評論結構-功能研究鑑定類似多肽中對活性或結構是重要的殘基。鑑於此等比較，能預測胺基酸殘基在蛋白質的重要性，其係對應於類似蛋白質中對活性或結構是重要的胺基酸殘基。爲此預測之重要的胺基酸殘基，熟習該項技藝者可選擇化學性類似胺基酸取代。

熟習該項技藝者亦能分析有關類似多肽之結構的三維結構及胺基酸序列。鑑於此等資訊，關於其三維結構，熟習該項技藝者可預測抗體之胺基酸殘基的排列。在某些具體例中，熟習該項技藝者可選擇不對預測將在蛋白質表面之胺基酸殘基產生基團改變，因爲此等殘基可能涉及與其他分子的重要加互作用。

已有許多科學發表致力於二級結構的預測。參閱 Moult *J.*, *Curr. Op. in Biotech.*, 7(4):422-427 (1996), Chou *et al.*, *Biochem.*, 13(2):222-245 (1974); Chou *et al.*, *Biochem.*, 113(2):211-222 (1974); Chou *et al.*, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol.*

Biol.，47：45-148 (1978)； Chou *et al.*，*Ann. Rev. Biochem.*，47：251-276 and Chou *et al.*，*Biophys. J.*，26：367-384 (1979)。再者，目前可得到電腦程式協助預測二級結構。預測二級結構之一方法是依據同源性模擬法(homology modeling)。例如，具有序列相同性(identity)大於30%或類似性(similarity)大於 40%之兩多肽或蛋白質，通常具有類似的結構拓樸學。蛋白質結構資料庫(PDB)的近日成長已提供增強二級結構的預測性，包括多肽若蛋白質結構中的可能摺疊數。參閱 Holm *et al.*，*Nucl. Acid. Res.*，27(1)：244-247 (1999)。已提議(Brenner *et al.*，*Curr. Op. Struct. Biol.*，7(3)：369-376 (1997))所給多肽或蛋白質中具有有限的摺疊數，且一旦結構的關鍵性數目被解決，結構預測將引人注目地變得更準確。

預測二級結構之額外方法包括“線程化(threading)”(Jones，D.，*Curr. Opin. Struct. Biol.*，7(3)：377-87 (1997)；Sippl *et al.*, *Structure*, 4(1):15-19 (1996))，“概廓分析(profile analysis)”(Bowie *et al.*，*Science*，253：164-170 (1991)； Gribskov *et al.*，*Meth. Enzym.*，183：146-159 (1990)； Gribskov *et al.*，*Proc. Nat. Acad. Sci.*，84(13)：4355-4358 (1987))，以及“演化關聯性(evolutionary linkage)”(參閱 Holm，supra (1999)，and Brenner，supra (1997))。

在某些具體例中，抗體的變異體包括糖化變異體，其中相較於親代多肽的胺基酸序列，糖化位置數及/或類型已經改變。在某些具體例中，變異體含有比天然蛋白質更多或更少的 N-連接之糖化位置數。N-連接之糖化位置之特徵爲有序列：Asn-X-Ser 或 Asn-X-Thr，其中以 X 標示之胺基酸殘

基可爲任何胺基酸殘基，但脯胺酸除外。胺基酸殘基之取代以產生此序列，提供添加 N-連接之碳水化合物鏈用的可能新位置。另外，消除此序列之取代可移除存在之 N-連接之碳水化合物鏈。所提供亦爲重新排列之 N-連接之碳水化合物鏈，其中一個或一個以上 N-連接之糖化位置(通常爲那些天然產生的)被消除以及產生一個或一個以上新的 N-連接位置。額外較佳之抗體變異體包括半胱胺酸變異體，其中相較於親代胺基酸序列，一個或一個以上半胱胺酸殘基被刪除或取代其他胺基酸(例如絲胺酸)。當抗體必須再摺疊爲生物活化構形時，半胱胺酸變異體可用於，例如單離不溶性包涵體之後。半胱胺酸變異體通常比天然蛋白質具有較少的半胱胺酸殘基，以及通常具有偶數以將未配對半胱胺酸造成的交互作用降至最低。

所欲胺基酸取代(不論保留性或非保留性)能由熟習該項技藝者決定，當需要如此取代時。在某些具體例中，胺基酸取代能用於鑑定文中所述抗體對活動素 A 的重要殘基，或增加或減少抗體對活動素 A 的親和力。

根據某些具體例，較佳的胺基酸取代爲：(1)降低對蛋白水解的感受性，(2)降低對氧化的感受性，(3)改變形成蛋白質複合體之結合親和力，(4)改變結合親和力及/或(4)賦予或修飾其他物化或功能特性於此等多肽。根據某些具體例，單一或多胺基酸取代(在某些具體例中，保留性胺基酸取代)可製作於天然存在之序列中(於某些具體例中，在形成分子間接觸之功能部位外部的多肽部分)。在某些具體例中，保

留性胺基酸取代通常可不實質改變親代序列的結構特徵(例如，取代的胺基酸不應易於毀壞存在於親代序列之螺旋，或瓦解親代序列特徵之其他類型的二級結構)。技藝辨認之多肽二級及三級結構的實例敘述於 Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991))；以及 Thornton *et al. Nature* 354：105 (1991)，其各併入本文參考。

在某些具體例中，本發明之抗體可與聚合物、脂質或其他部分化學鍵結。

結合劑可含有至少一文中所述 CDRs 併入生物相容性骨架結構。在一實施例中，生物相容性骨架結構含有多肽或其中足以形成構形穩定結構支持者之部分，或骨架，或支架，其能展現一個或一個以上的胺基酸序列結合到抗原(例如，CDRs，可變區域等等)於局部表面區域。此等結構能爲天然存在之多肽或多肽"摺疊"(結構模體)，或相對於天然存在之多肽或摺疊能具有一個或一個以上修飾，例如胺基酸的添加、刪除或取代。這些支架能衍生自任何物種(或一種以上物種，例如人類，其他哺乳動物，其他脊椎動物，無脊椎動物，植物，細菌或病毒)的多肽.

典型的生物相容性骨架結構是依據除免疫球蛋白功能部位以外的蛋白質支架或骨架。例如，可使用那些依據纖維網蛋白，錨蛋白(ankyrin)，脂質傳載蛋白(lipocalin)，新卡立司達丁(neocarzinostain)，細胞色素 b，CP1 鋅指，PST1，捲曲螺旋(coiled coil)，LACI-D1，Z 功能部位以及澱粉酶抑

肽(tendamistat)功能部位(參閱例如，Nygren and Uhlen，1997，*Curr. Opin. in Struct. Biol.*，7，463-469)。

應知本發明之抗體包括文中敘述之人類化抗體。人類化抗體例如文中敘述能使用熟習該項技藝者已知技術製造者(Zhang, W., *et al.*, *Molecular Immunology. 42(12)*:1445-1451, 2005; Hwang W. *et al.*, *Methods. 36(1)*:35-42, 2005; Dall' Acqua WF, *et al.*, *Methods 36(1)*:43-60, 2005;以及 Clark, M., I*mmunology Today. 21(8)*:397-402, 2000)。

此外，熟習該項技藝者應辨認適當結合劑，包括這些抗體的部分，例如一個或一個以上如文中專一揭示之CDR-H1，CDR-H2，CDR-H3，CDR-L1，CDR-L2及CDR-L3。至少一 CDR-H1，CDR-H2，CDR-H3，CDR-L1，CDR-L2及CDR-L3的區域可具有至少一胺基酸取代，但該抗體保留非經取代之CDR的結合專一性。抗體的非CDR部分可爲非蛋白質分子，其中結合劑交叉阻斷文中揭示之抗體結合到活動素A及/或中和活動素A。抗體的非CDR部分可爲非蛋白質分子，其中該抗體以至少一抗體A1-A14顯現在競爭結合分析中對人類活動素A胜肽展現類似的結合模式，及/或中和活動素A。抗體的非CDR部分可由胺基酸組成，其中該抗體是重組結合蛋白質或合成胜肽，以及該重組結合蛋白質交叉阻斷文中揭示之抗體結合到活動素A及/或中和活動素A。抗體之非CDR部分可由胺基酸組成，其中該抗體是一重組抗體，且該重組抗體以至少一抗體A1-A14顯現在人類活動素A胜肽抗原決定基競爭結合分析中(敘述於下文中)對人類活動素A胜肽展現類似的結合模式，及/或中和活動素A。

當抗體含有如上所述一個或一個以上 CDR-H1，CDR-H2，CDR-H3，CDR-L1，CDR-L2 及 CDR-L3，其可從含有編碼這些序列的 DNA 之宿主細胞表現獲得。編碼每一 CDR 序列的 DNA 可依據 CDR 的胺基酸序列決定，以及使用寡核苷酸合成技術、指定位置之突變及聚合酶鏈鎖反應(PCR)技術與任何所欲抗體可變區域骨架及恆定區域 DNA 序列一起合成爲宜。編碼可變區域骨架及恆定區域之 DNA 對熟習該項技藝者可從基因序列資料庫例如 GenBank®廣泛獲得。

一旦合成，編碼本發明抗體或其片段之 DNA 可根據核酸切除、連接(ligation)、轉形及轉染用各種任何已知程序，使用任何已知表現載體來增殖及表現。因此，在某些具體例中抗體片段的表現較佳可於原核宿主，例如大腸桿菌(*Escherichia coli*)(參閱例如，Pluckthun *et al.*, 1989 *Methods Enzymol.* 178:497-515)。在其他某些具體例中，抗體或其片段的表現較佳可於真核宿主細胞，包括酵母菌(例如，*Saccharomyces cerevisiae*，*Schizosaccharomyces pombe*，以及 *Pichia pastoris*)，動物細胞(包括哺乳動物細胞)或植物細胞。適宜之動物細胞實例包括但不限爲骨髓瘤細胞(例如小鼠 NSO 系)，COS，CHO，或融合瘤細胞。植物細胞的實例包括菸草，玉米，大豆及稻米細胞。

一個或一個以上含有編碼抗體可變及/或恆定區域之 DNA 之可複製表現載體，可製備並用於轉形適當的細胞系，例如，非製造型骨髓瘤細胞系，例如小鼠 NSO 系或細菌例如大腸桿菌(*E. coli*)，其中將出現抗體的製造。爲得到有效

的轉錄及轉譯，每一載體的 DNA 序列應包括適當的調節序列，特別是啓動子及前導序列操作性連接到可變功能部位序列。於此方面，製造抗體之特別方法爲一般熟知且例行使用者。例如基礎分子生物學程序，敘述於 Maniatis *et al.* (*Molecular Cloning，A Laboratory Manual*，2nd ed.，Cold Spring Harbor Laboratory，New York，1989；亦參閱 Maniatis *et al*，3rd ed.，Cold Spring Harbor Laboratory，New York，(2001))。DNA 定序能如 Sanger *et al.* (PNAS 74：5463，(1977))及 Amersham International plc 定序手冊所述進行，以及指定位置突變能根據技藝已知之方法進行 (Kramer *et al., Nucleic Acids Res.* 12:9441, (1984); Kunkel *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:488-92 (1985); Kunkel *et al.*, *Methods in Enzymol.* 154:367-82 (1987); the Anglian Biotechnology Ltd. handbook)。此外，許多刊物敘述適用於經由 DNA 操作、創造表現載體、以及轉形與適當的細胞培養來製備抗體之技術 (Mountain A and Adair, J R in *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* (ed. Tombs, M P, 10, Chapter 1, 1992, Intercept, Andover, UK); "Current Protocols in Molecular Biology", 1999, F.M. Ausubel (ed.), Wiley Interscience, New York)。

此處希望改善根據本發明含有一個或一個以上上述 CDRs 之抗體的親和力，其能經由數種親和力成熟方法達成，包括維持 CDRs(Yang *et al.*，*J. Mol. Biol.*，254，392-403，1995)，鏈改組 (chain shuffling)(Marks *et al.*, *Bio/Technology*, 10, 779-783, 1992)，使用大腸桿菌 (*E. coli.*) 突變株 (Low *et al.*，*J. Mol. Biol.*，250，350-368，1996)，DNA 改組 (DNA shuffling)(Patten *et al.*，*Curr. Opin. Biotechnol.*，8，724-733，1997)，噬菌體展現 (Thompson *et*

al.，*J. Mol. Biol.*，256，7-88，1996)以及性 PCR(sexual PCR)(Crameri，*et al.*，*Nature*，391，288-291，1998)。親和力成熟之全部此等方法討論於 Vaughan *et al.*(*Nature Biotech.*，16，535-539，1998)。

根據本發明之其他抗體可經由文中所述及技藝已知的慣用免疫及細胞融合步驟獲得。本發明之單株抗體可使用各種已知技術產生。一般而言，結合專一抗原之單株抗體可由熟習該項技藝者已知的方法獲得(例如參閱 Kohler *et al.*，*Nature* 256：495，1975； Coligan *et al.* (eds.)，*Current Protocols in Immunology*，1：2.5.12.6.7 (John Wiley & Sons 1991)；美國專利第 RE 32,011，4,902,614，4,543,439 及 4,411,993 號；單株抗體，*融合瘤：A New Dimension in Biological Analyses*，Plenum Press，Kennett，McKearn，and Bechtol (eds.) (1980)；以及*抗體：A Laboratory Manual*，Harlow and Lane (eds.)，Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988)；Picksley *et al.*，"Production of monoclonal antibodies against proteins expressed in *E. coli*," in *DNA Cloning 2: Expression Systems, 2nd Edition*, Glover *et al.* (eds.), page 93 (Oxford University Press 1995))。使用任何適當的標準技術，例如蛋白水解作用，或可經由蛋白水解作用(例如使用木瓜蛋白酶或胃蛋白酶)隨後緩慢還原二硫鍵並烷基化可從其衍生出抗體片段。另外，此等片段亦可由文所述之重組基因工程技術產生。

單株抗體之獲得能根據技藝已知及文中所述方法，經由注射含有 SEQ ID NO：66 之人類活動素 A 或其片段之免疫原於動物，例如大鼠，倉鼠，兔子，或較佳小鼠，例如包括基因轉殖或剔除如技藝已知。專一抗體製造的存在可在初次注射後及/或追加注射後監控，其係經由取得血清樣品並使

用技藝已知及文中所述數種免疫偵測方法之任何一種偵測結合人類活動素 A 或胜肽之抗體的存在。從製造所欲抗體之動物移除淋巴樣細胞(最常爲脾臟或淋巴結的細胞)以得到 B-淋巴細胞。然後 B 淋巴細胞與經藥敏化的骨髓瘤細胞融合搭檔融合，較佳爲與被免疫動物同源以及可有其他所欲性質(例如，不能表現內生性 Ig 基因產物，例如 P3X63-Ag 8.653(ATCC No. CRL 1580)；NSO，SP20)以製造融合瘤，其爲不死的真核細胞系。

淋巴樣(例如脾臟)細胞及骨髓瘤細胞可以膜融合促進劑(例如聚乙二醇或非離子性清潔劑)結合數分鐘，然後以低密度置於支持融合瘤細胞生長但不支持未融合之骨髓瘤細胞生長之選擇性培養基。較佳的選擇性培養基爲 HAT (次黃嘌呤，胺基蝶呤，胸腺核苷)。足夠時間後，通常約一至兩週可觀察細胞群落。單離單一群落，以及使用各種技藝已知及文中所述的免疫分析任一種經由細胞製造之抗體可測試對人類活動素 A 的結合活性。選殖融合瘤(例如經由有限稀釋選殖或經由軟瓊脂溶菌斑單離)並選擇及培養產生專一於活動素 A 之抗體的陽性選殖株。來自融合瘤培養之單株抗體可從融合瘤培養上清液單離。

製造鼠科動物單株抗體的另一方法是注射融合瘤細胞到同源小鼠的腹膜腔〔例如經處理之小鼠(例如已接觸異十九烷)〕以促進含單株抗體之腹水的形成。單株抗體能經單離並經由各種已建立的技術純化。此等單離技術包括蛋白質-A Sepharose、尺寸排除色層分析法及離子交換色層分析

之親和力色層分析(例如參閱 Coligan at pages 2.7.1-2.7.12 and pages 2.9.1-2.9.3; Baines *et al.*, "Purification of Immunoglobulin G (IgG)," in *Methods in Molecular Biology, Vol. 10*, pages 79-104 (The Humana Press, Inc. 1992))。使用依據抗體特殊性質選擇之適當配體(例如重鏈或輕鏈同型物，結合專一性等等)，經由親和力色層分析可純化單株抗體。固定於固體撐體上之適合的配體實例，包括蛋白質 A，蛋白質 G，抗恆定區域(輕鏈或重鏈)抗體，抗遺傳性型抗體，及 TGF-ß 結合蛋白質，或其片段或變異體。

本發明之抗體亦可爲完全人類單株抗體。提供之經單離完全人類抗體專一結合至活動素 A 的半胱胺酸結區域(胺基酸 C11-S33 及/或胺基酸 C81-E111)，其中該抗原結合蛋白質具有至少一人類抗-活動素 A 抗體的活體內生物活性。該生物活性可爲減弱惡病質，例如大腸癌之惡病質，例如文中所述小鼠模式之大腸癌。經得起如此治療之惡病質與體重減少，肌肉質量的損失及/或脂肪質量的損失有關。惡病質可與類風濕性關節炎有關聯性，例如於類風濕性關節炎之膠原誘發之動物模式。在類風濕性關節炎之膠原誘發之動物模式中，以文中所述完全人類抗體之治療在活體內改善體重的減少，肌肉質量的損失及/或脂肪質量的損失。在 AAV-活動素 A 轉染之動物模式中，文中所述之完全人類抗體改善體重的減少。文中所述專一結合至活動素 A 半胱胺酸結區域(胺基酸 C11-S33 及/或胺基酸 C81-E111)之完全人類抗體，在活體外抑制活動素 A 與活動素 A 受器的結合。專一結合至活動素 A 半胱胺酸結區域(胺基酸 C11-S33 及/或胺基酸 C81-E111)

之完全人類經單離抗體，在活體內抑制活動素 A 與活動素 A 受器的結合。

完全人類單株抗體可由許多所屬領域具有通常知識者已知悉的技術製造。此等方法包括但不限爲，人類週邊血液細胞(例如含有 B 淋巴細胞)之 Epstein Barr 病毒(EBV)轉形，人類 B-細胞的活體外免疫，融合帶有插入人類免疫球蛋白基因之已免疫的基因轉殖小鼠脾臟細胞，單離自人類免疫球蛋白 V 區域噬菌體資料庫，或技藝已知及依據本文揭示之其他程序。例如，完全人類單株抗體可獲自已經過加工能製造對抗原性挑釁有反應之專一人類抗體的基因轉殖小鼠。從基因轉殖小鼠獲得完全人類抗體之方法敘述於例如 Green *et al.*，*Nature Genet.* 7：13，1994； Lonberg *et al.*，*Nature* 368：856，1994； Taylor *et al.*，*Int. Immun.* 6：579，1994； 美國專利第 5,877,397 號； Bruggemann *et al.*，1997 *Curr. Opin. Biotechnol.* 8：455-58； Jakobovits *et al.*，1995 *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 764：525-35。在此技術中，將人類重鏈及輕鏈所在成分導入衍生自含有內生性重鏈及輕鏈所在標的性瓦解之胚胎幹細胞系的小鼠品系中(也參閱 Bruggemann *et al.*，*Curr. Opin. Biotechnol.* 8：455-58 (1997))。例如，人類免疫球蛋白轉殖基因可爲迷你基因構築，或移位在酵母菌人造染色體上，其經歷 B-細胞-專一 DNA 重新排列及小鼠淋巴樣組織過度突變。完全人類單株抗體可獲自免疫基因轉殖小鼠，然後由其製造專一於活動素 A 之人類抗體。根據文中所述方法，經免疫基因轉殖小鼠的淋巴樣細胞能用於製造分泌人類抗體之融合瘤。含有完全人類抗體

之多株血清亦可獲自已免疫動物的血液。

製備本發明人類抗體之另一方法，包括經由 EBV 轉形不死的人類週邊血液細胞。例如參閱美國專利第 4,464,456 號。此等製造專一結合活動素 A 之單株抗體之不死的 B 細胞系(或淋巴母細胞系)，能經由文中提供之免疫偵測方法鑑定，例如 ELISA，然後經由標準選殖技術單離。製造抗-活動素 A 抗體之淋巴母細胞系的穩定性，可根據技藝已知之方法經由融合已轉形之細胞系與鼠科動物骨髓瘤細胞來改善以製造小鼠-人類混種細胞系(例如參閱 Glasky *et al.*，*Hybridoma* 8：377-89 (1989))。又製造人類單株抗體之另一方法是活體外免疫作用，其包括以人類活動素 A 最初接觸(priming)人類脾臟 B-細胞，隨後融合已接觸 B-細胞與異質混種融合搭檔。例如參閱 Boerner *et al.*，1991 *J. Immunol.* 147：86-95。

在某些具體例中，根據技藝已知及文中所述分子生物學技術選擇產生抗人類活動素 A 抗體之 B-細胞，並從 B-細胞選殖輕鏈及重鏈可變區域(WO 92/02551；美國專利第 5,627,052 號；Babcook *et al.*，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93：7843-48 (1996))。來自已免疫動物之 B-細胞，可單離自脾臟，淋巴結或週邊血液樣品經由選擇產生專一結合至活動素 A 之抗體的細胞。B-細胞亦可單離自人類，例如來自週邊血液樣品。製造具所欲專一性抗體之單一 B-細胞的偵測方法是技藝已知，例如經由溶菌斑形成，螢光活化細胞分類，活體外刺激隨後偵測專一抗體等等。製造專一抗體之 B-細胞的

篩選方法包括，例如製備 B-細胞之單一細胞懸浮液於含有人類活動素 A 之軟瓊脂中。B-細胞製造之專一抗體結合至抗原結果形成複合物，其可以螢光沉澱物觀看到。根據技藝已知及文中所述方法於 B-細胞製造所欲抗體之後篩選，經由單離及增幅 DNA 或 mRNA 可選殖專一抗體基因。

獲得本發明抗體之額外方法是經由噬菌體展現。例如參閱 Winter *et al.*，1994 *Annu. Rev. Immunol.* 12：433-55；Burton *et al.*，1994 *Adv. Immunol.* 57：191-280。人類或鼠科動物免疫球蛋白可變區域基因組合的資料庫可於製作於噬菌體載體，其能被篩選以選擇專一結合至 TGF-ß 結合蛋白質或變異體或其片段之 Ig 片段(Fab，Fv，sFv，或其多聚體)。例如參閱美國專利第 5,223,409 號；Huse et al.，1989 *Science* 246：1275-81；Sastry *et al.*，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86：5728-32 (1989)；Alting-Mees *et al.*，*Strategies in Molecular Biology* 3：1-9 (1990)；Kang *et al.*，1991 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88：4363-66；Hoogenboom *et al.*，1992 *J. Molec. Biol.* 227：381-388；Schlebusch *et al.*，1997 *Hybridoma* 16：47-52，及其中引用之參考資料。例如，含有編碼 Ig 可變區域片段之複數多核苷酸序列的資料庫可被插入到絲狀細菌噬菌體的基因體，例如 M13 或其變異體，於骨架具編碼噬菌體外殼蛋白質之序列。接合蛋白可爲外殼蛋白質與輕鏈可變區域功能部位及/或與重鏈可變區域功能部位之融合物。根據某些具體例，免疫球蛋白 Fab 片段亦可展現於噬菌體顆粒上(例如參閱美國專利第 5,698,426 號)。

重鏈及輕鏈免疫球蛋白 cDNA 表現資料庫亦可製備於 λ 噬菌體，例如使用 λImmunoZap™(H)及 λImmunoZap™(L)載

體(Stratagene，La Jolla，California)。簡言之，mRNA是單離自B-細胞族群，並用於產生重鏈及輕鏈免疫球蛋白cDNA表現資料庫於λImmunoZap(H)及λImmunoZap(L)載體。這些載體可被單獨篩選或共表現以形成Fab片段或抗體(參閱如上Huse *et al.*；亦參閱如上Sastry *et al.*)。陽性溶菌斑可隨後轉換爲能從大腸桿菌(*E. coli*)高度表現單株抗體片段之非分解性質體。

在一具體例中，在一融合瘤中，表現感興趣單株抗體基因之可變區域是使用核苷酸引子增幅。這些引子可由所屬領域具有通常知識者合成，或可購自市售商品。(例如參閱Stratagene (La Jolla，California)，其販賣小鼠及人類可變區域用引子，尤其包括V_{Ha}，V_{Hb}，V_{Hc}，V_{Hd}，C_{H1}，V_L及C_L區域用引子)。這些引子可用於增幅重鏈或輕鏈可變區域，然後可分別插入到載體例如ImmunoZAP™H或ImmunoZAP™L (Stratagene)。然後這些載體可導入表現用大腸桿菌(*E. coli*)，酵母菌，或哺乳動物系之系統。使用這些方法可製造大量之含有V_H及V_L功能部位接合之單鏈蛋白質(參閱Bird *et al.*，*Science* 242：423-426，1988)。

一旦使用任何上述免疫作用及其他技術獲得製造如本發明抗體之細胞，則根據文中所述標準程序可從其經由單離及增幅DNA或mRNA以選殖專一抗體基因。可定序從其製造之抗體，且鑑定之CDRs及編碼該CDRs之DNA可如前述操作以產生根據本發明之其他抗體。

本發明之活動素A結合劑較佳於文中所述之細胞系分

析中及/或文中所述活體內分析中調制活動素 A 功能，及/或結合至一個或一個以上文中所述之半胱胺酸結功能部位，及/或交叉阻斷本案所述之一抗體的結合，及/或以本案所述之一抗體交叉阻斷活動素 A 的結合。因此此等結合劑能使用文中所述分析法鑑定。

在某些具體例中，抗體是經由首次鑑定抗體產生，該抗體結合至一個以上文中提供之半胱胺酸結功能部位，及/或中和於文中所述細胞系及/或活體內分析，及/或交叉阻斷本案所述抗體，及/或以本案所述之一抗體交叉阻斷活動素 A 的結合。然後使用這些抗體的 CDR 區域插入適當生物相容性骨架以產生活動素 A 結合劑。結合劑之非 CDR 部分可由胺基酸組成，或可爲非蛋白質分子。文中所述分析能識別結合劑特徵。本發明之結合劑較佳爲文中定義之抗體。

熟習該項技藝者應瞭解，某些蛋白質例如抗體，可經歷各種轉譯後修飾。這些修飾的類型及程度常視用於表現蛋白質的宿主細胞系及培養條件而異。此等修飾可包括變化於糖化，甲硫胺酸氧化，二酮哌咁形成，天冬胺酸異構物化作用以及天冬醯胺酸脫醯胺作用。常見修飾爲羧肽酶作用之喪失羧基末端鹼性殘基(例如離胺酸或精胺酸)(敘述如 Harris, R.J. *Journal of Chromatography* 705:129-134, 1995)。

<u>核酸</u>

在一方面，本發明提供單離之核酸分子。該核酸含有例如編碼全部或部分抗原結合蛋白(例如本發明抗體之一或兩鏈，或其片段、衍生物、突變蛋白或變異體)之多核苷酸，

足以用於作爲雜化探針之多核苷酸，用於鑑定、分析、突變或增幅編碼多肽之多核苷酸之 PCR 引子或定序引子，抑制多核苷酸表現之抗有意義核酸，以及前述的互補序列。該核酸能爲任何長度。他們能爲例如 5，10，15，20，25，30，35，40，45，50，75，100，125，150，175，200，250，300，350，400，450，500，750，1,000，1,500，3,000，5,000 或以上之核苷酸長度，及/或能含有一個或一個以上額外序列，例如調節序列，及/或爲較大核酸的部分，例如載體。該核酸能爲單股或雙股，以及能含有 RNA 及/或 DNA 核苷酸，及其人造變異體(例如胜肽核酸)。

編碼抗體多肽(例如，重鏈或輕鏈，僅可變功能部位，或全長)之核酸可單離自已被活動素 A 免疫的小鼠 B-細胞。該核酸可經由慣用程序例如聚合酶鏈鎖反應(PCR)單離。

編碼重鏈及輕鏈可變區域之核酸序列顯示如上。熟習該項技藝者應知由於遺傳密碼的退化性(degeneracy)，文中揭示的每一多肽序列是由許多其他核酸序列編碼。本發明提供編碼本發明每一抗原結合蛋白之每一退化核苷酸序列。

本發明進一步提供在特殊雜化條件下雜化到其他核酸(例如，含有任何 A1-A14 核苷酸序列之核酸)之核酸。雜化核酸的方法爲技藝熟知。例如參閱 Curr. *Prot. in Mol. Biol.*，John Wiley & Sons，N.Y. (1989)，6.3.1-6.3.6。如文中定義，中度嚴格雜化條件是使用含 5X 氯化鈉/檸檬酸鈉(SSC)、0.5% SDS、1.0 mM EDTA(pH 8.0)之預洗液，約 50% 甲醯胺、6X SSC 之雜化緩衝液，以及 55℃(或其他類似雜化

液，例如含有約 50%甲醯胺、具 42℃的雜化溫度)的雜化溫度，以及 60℃於 0.5X SSC、0.1% SDS 之清洗條件。一嚴格雜化條件是於 6X SSC 在 45℃雜化，隨後在 68℃於 0.1X SSC、0.2% SDS 清洗一次或一次以上。再者，熟習該項技藝者能操作雜化及/或清洗條件以增加或減少雜化的嚴格度，以致含有核苷酸序列彼此至少 65，70，75，80，85，90，95，98 或 99%相同之核酸通常仍雜化到彼此。影響雜化條件選擇的基本參數及設計適宜條件的指南提出於，例如 Sambrook，Fritsch，and Maniatis (1989，Molecular Cloning：A Laboratory Manual，Cold Spring Harbor Laboratory Press，Cold Spring Harbor，N.Y.，chapters 9 and 11；以及 Curr. Prot. in Mol. Biol. 1995，Ausubel *et al.*，eds.，John Wiley & Sons，Inc.，sections 2.10 and 6.3-6.4)，且能輕易由所屬領域具有通常知識者依據例如，DNA 的長度及/或鹼基組成物來決定。

經由突變作用能將變化導入核酸，藉此導致其編碼的多肽(例如抗原結合蛋白)胺基酸序列改變。使用技藝已知技術能將突變導入。在一具體例中，一個或一個以上特定胺基酸殘基是使用，例如指定位置之突變法來改變。在另一具體例中，一個或一個以上隨機選擇之殘基是使用，例如隨機突變法來改變。然而其經製作，爲所欲性質(例如，結合至活動素 A)，突變多肽能被表現及篩選。

突變能導入核酸中而無需顯著改變其編碼之多肽的生物活性。例如，能製造核苷酸取代造成胺基酸取代在非必需胺基酸殘基。在一具體例中，文中提供之 A1-A14 核苷酸序列，或其所欲片段、變異體或衍生物，經突變以致其編碼的

胺基酸序列含有文中所示 A1-A14 之胺基酸殘基有一個或一個以上刪除或取代爲殘基中有兩或兩以上序列差異。特別如文中所述，A1-A14 是指 14 項序列，A1 及 A14 與 12 項介於其中之胺基酸殘基。在另一具體例中，突變作用插入胺基酸鄰接於文中所示 A1-A14 之一或一以上胺基酸殘基以使殘基中有兩或兩以上序列差異。另外，一個或一個以上突變能導入核酸以選擇性改變其編碼之多肽的生物活性(例如，活動素 A 之結合)。例如，突變能定量或定性改變生物活性。定量改變的實例包括增加，降低或消除活性。定性改變的實例包括改變抗原結合蛋白的抗原專一性。

在另一方面，本發明提供核酸分子，其適用於作爲偵測本發明核酸序列用之引子或雜化探針。本發明之核酸分子能僅含有編碼本發明全長多肽之一部分的核酸序列，例如，能用於作爲探針或引子之片段或編碼本發明多肽活性部分(例如，活動素 A 結合部分)之片段。

根據本發明之核酸序列的探針，能用於偵測核酸或類似核酸，例如編碼本發明多肽之轉錄體。該探針能含有一標識基，例如放射性同位素、螢光化合物、酵素或酵素輔因子。此等探針能用於鑑定表現該多肽之細胞。

在另一方面，本發明提供載體，含有編碼本發明多肽或其一部分之核酸。載體之實例包括但不限爲質體，病毒載體，非附加型哺乳動物載體及表現載體，例如重組表現載體。

本發明之重組表現載體能含有本發明之核酸以適於宿主細胞中表現核酸之形式。重組表現載體包括一個或一個以

上基於宿主細胞可用於表現而選擇之調節序列，其爲可操作地連接到欲表現之核酸序列。調節序列包括在許多種類宿主細胞(例如，SV40 早期基因增強子，勞斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus)啓動子以及巨細胞病毒啓動子)中主導核苷酸序列之組成型表現(constitutive expression)者，只於某些宿主細胞主導核苷酸序列表現者(例如，組織專一調節序列，參閱 Voss *et al.*，1986，*Trends Biochem. Sci.* 11：287，Maniatis *et al.*，1987，Science 236：1237，他們以全文併入本文參考)，以及對特別處理或條件反應主導核苷酸序列之誘發表現者(例如，哺乳動物細胞之金屬硫蛋白(metallothionin)啓動子以及原核及真核系統中之四環黴素反應性及/或鏈黴素反應性啓動子)。熟習該項技藝者應知表現載體的設計能依此等因子決定作爲欲轉形之宿主細胞、所欲蛋白質表現程度的選擇等等。本發明之表現載體能導入宿主細胞藉此製造蛋白質或胜肽，包括由文中所述核酸編碼之接合蛋白或胜肽。

在另一方面，本發明提供已導入本發明重組表現載體之宿主細胞。宿主細胞能爲任何原核細胞(例如大腸桿菌(*E. coli*))或真核細胞(例如，酵母菌，昆蟲，或哺乳動物細胞(例如，CHO 細胞))。載體 DNA 能經由慣用轉形或轉染技術導入原核或真核細胞。對於哺乳動物細胞的穩定轉染，已知隨所用的表現載體及轉染技術，只有小部分的細胞可整合外來 DNA 到其基因體中。爲鑑定及選擇這些整合體，通常與感興趣基因一起導入編碼可篩選記號之基因(例如，抗生素之抗

性)至宿主細胞。較佳的可篩選記號包括那些對藥具抗性者，例如 G418，效高黴素(hygromycin)及甲氨蝶呤(methotrexate)。在其他方法中，以導入的核酸穩定轉染之細胞能經由藥物篩選來鑑定(例如，已併入可篩選記號基因之細胞將存活，而其他細胞死亡)。

適應症

在一方面，本發明提供治療患者之方法。該方法能爲例如對患者健康具有廣泛利益，例如能增加患者的預期壽命。另外，該方法能爲例如治療、預防、治癒、減輕或改善("治療")疾病，病症，疾病狀況或患病狀態("症狀")。根據本發明欲治療的疾病狀況具有活動素 A 不當表現或活性之特徵。在某些此等疾病狀況中，該表現或活性程度太高，以及治療包括投與文中所述之活動素 A 拮抗劑。

能使用本發明之方法及組成物治療之疾病狀況類型之一例是涉及細胞生長之疾病狀況，例如伴隨惡病質之癌症的疾病狀況。如此，在一具體例中，本發明提供治療癌症的疾病狀況之組成物及方法。特別是癌症的疾病狀況爲性腺癌症，包括卵巢及睪丸的腫瘤。(Fujii，Y. *et al.*，*Am. J. Phys. Endocrin. Metab.*，*286*：E927-E931，2004；Reis，F. M. *et al.*，*J. Clin. Endocrin. 87*：2277-2282，2005.)。已知活動素 A 作用於刺激 FSH 生物合成及分泌於腦下垂體，且具有調節性腺功能之生理角色。活動素 A 與許多類型的人類癌症有關聯性，且尤其與生殖系統的腫瘤。詳言之，已知活動素 A 的過度表現或失去調節與卵巢癌有關聯性(Menon U, et al., *BJOG: An International Journal of Obstetrics &*

*Gynaecology; 107(9):*1069-74, 2000. Choi KC, et al., *Molecular & Cellular Endocrinology. 174(1-2):*99-110, 2001; Zheng W, et al., *American Journal of Reproductive Immunology.44(2):*104-13, 2000; Lambert-Messerlian GM, et al., *Gynecologic Oncology. 74(1):93-7, 1999;* Steller MD, et al., *Molecular Cancer Research: MCR. 3(1):50-61, 2005;* Corbellis L., et al., *Journal of the Society for Gynecologic Investigation. 11(4):203-6, 2004;* Welt CK, et al., *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 82(11):3720-7, 1997;* and Harada K., et al., *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 81(6):2125-30, 1996,* endometrial adenocarcinoma Otani, T, et a., *Gynecologic Oncology. 83(1):31-8, 2001;* Tanaka T, et al., *International Journal of Oncology. 23(3):657-63, 2003* and prostate cancer (Thomas TZ, et al., *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 82(11):3851-8, 1997;* Zhang, Z, et al., *Biochemical & Biophysical Research Communications. 234(2):362-5, 1997;* and Risbridger GP, et al., *Molecular & Cellular Endocrinology. 180(1-2):149-53, 2001*。

癌症的疾病狀況能爲使用文中所含組成物(例如，活動素A抗原結合蛋白例如抗-活動素A抗體，抗體片段或抗體衍生物)可治療之任何癌症的疾病狀況。癌症的疾病狀況實例包括，例如急性淋巴細胞白血病，腎上腺皮質癌，AIDS-有關的癌症，AIDS-有關的淋巴瘤，肛門癌，兒童小腦星狀細胞瘤，兒童腦星狀細胞瘤，基底細胞癌，肝外膽管癌，膀胱癌，骨肉瘤/惡性纖維組織球瘤骨癌，腦腫瘤(例如，腦幹膠質細胞瘤，小腦星狀細胞瘤，腦星狀細胞瘤/惡性神經膠質瘤，室管膜瘤(ependymoma)，神經管母細胞瘤(medulloblastoma)，天幕上原始神經外胚層腫瘤(supratentorial primitive neuroectodermal tumors)，視覺途徑及下視丘性神經膠質瘤)，乳癌，支氣管腺瘤/類癌，巴克

氏淋巴瘤(Burkitt's Lymphoma)，類癌腫瘤，腸胃類癌腫瘤，不明類型之腫瘤，原發性中樞神經系統，小腦星狀細胞瘤，腦星狀細胞瘤/惡性神經膠質瘤，子宮頸癌，兒童癌症，慢性淋巴細胞白血病，慢性骨髓細胞白血病，骨髓增生性疾病，大腸癌，結腸直腸癌，皮膚 T 細胞淋巴瘤，子宮內膜癌，室管膜瘤(ependymoma)，食道癌，尤汶氏腫瘤家族(Ewing's family of tumors)，顱外生殖細胞腫瘤，性腺外生殖細胞腫瘤，肝外膽管癌，眼內黑色素瘤眼癌，視網膜母細胞瘤眼癌，膽囊癌，胃的(胃)癌，腸胃類癌腫瘤，生殖細胞腫瘤(例如，顱外的，性腺外的以及卵巢的)，滋養層細胞腫瘤(gestational trophoblastic tumor)，神經膠質瘤(例如成人、兒童腦幹，兒童腦星狀細胞瘤，兒童視覺途徑及下視丘的)，毛細胞白血病，頭頸癌，肝細胞(肝)癌，何杰金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)，下咽癌(hypopharyngeal cancer)，下視丘及視覺途徑神經膠質瘤，眼球內黑色素瘤，胰島細胞癌(內分泌胰腺)，卡波西氏肉瘤(Kaposi's Sarcoma)，腎(腎細胞)癌，喉癌，白血病(例如，急性淋巴細胞性、急性骨髓性、慢性淋巴細胞性、慢性骨髓性、及毛細胞性)，唇及口腔癌，肝癌，非小細胞肺癌，小細胞肺癌，淋巴瘤(例如，AIDS-有關的，巴克氏(Burkitt's)，皮膚 T 細胞，何杰金氏、非何杰金氏淋巴瘤，以及原發性中樞神經系統)，瓦德氏巨球蛋白血症(Waldenström's Macroglobulinemia)，骨/骨肉瘤之惡性纖維組織球瘤，神經管母細胞瘤(medulloblastoma)，黑色素瘤，眼球內(眼)黑色素瘤，麥克氏細胞癌(Merkel cell

carcinoma)，間皮瘤，伴隨潛藏原發轉移性鱗狀細胞頸癌，多發性內分泌瘤綜合症，多發性骨髓瘤細胞/漿細胞癌，蕈狀肉芽腫，骨髓造血不良症候群，骨髓造血不良/骨髓增生性疾病，骨髓性白血病，慢性骨髓性白血病，多發性骨髓瘤細胞，骨髓增生性疾病，鼻腔及副鼻竇癌，鼻咽癌，神經母細胞瘤，口腔癌，或口咽癌，骨之骨肉瘤/惡性纖維組織球瘤，卵巢癌，卵巢的上皮細胞癌，卵巢的生殖細胞腫瘤，卵巢的低惡性度腫瘤，胰臟癌，島細胞胰臟癌，副鼻竇及鼻腔癌，副甲狀腺癌，陰莖癌，嗜鉻細胞瘤(pheochromocytoma)，松果體母細胞瘤(pineoblastoma)，腦下垂體腫瘤，漿細胞癌/多發性骨髓瘤細胞，胸膜肺母細胞瘤，原發性中樞神經系統 淋巴瘤，前列腺癌，直腸癌，腎細胞(腎臟)癌，腎盂和輸尿管移形性細胞癌，視網膜母細胞瘤，橫紋肌肉瘤，唾腺癌，軟組織肉瘤，子宮肉瘤，賽拉症候群(Sezary syndrome)，非黑色素瘤皮膚癌，麥克氏細胞皮膚癌(Merkel cell skin carcinoma)，小腸癌，軟組織肉瘤，鱗狀細胞癌，皮膚 T 細胞淋巴瘤，睪丸癌，胸腺瘤(thymoma)，胸腺癌，甲狀腺癌，滋養層細胞腫瘤(gestational trophoblastic tumor)，不明原發灶之腫瘤，不明原發灶之癌症，尿道癌，子宮內膜癌，子宮肉瘤，陰道癌，視覺途徑及下視丘性神經膠質瘤，外陰癌，瓦德氏巨球蛋白血症(Waldenström's Macroglobulinemia)，以及威爾姆氏腫瘤(Wilm's tumor)。

一寡胜肽或多肽是在本發明範圍內者爲，若其具有胺基酸序列至少 75%，76%，77%，78%，79%，80%，81%，82%，

83%，84%，85%，86%，87%，88%，89%，90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%或 99%相同於抗體 A1-A14 至少一 CDR；及/或相同於活動素 A 結合劑的 CDR，其交叉阻斷至少一抗體 A1-A14 與活動素 A 結合，及/或經由至少一抗體 A1-A14 交叉阻斷結合至活動素 A；及/或相同於活動素 A 結合劑之 CDR，其中結合劑能阻礙活動素 A 與活動素 A 受器之結合。

活動素 A 結合劑多肽及抗體是在本發明範圍內者爲，如果他們具有胺基酸序列爲至少 85%，86%，87%，88%，89%，90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%或 99%相同於至少一抗體 A1-A14 的可變區域，且交叉阻斷至少一抗體 A1-A14 與活動素 A 之結合，及/或經由至少一抗體 A1-A14 交叉阻斷結合至活動素 A；及/或能阻礙活動素 A 對活動素 A 受器之抑制效果。

可使用專一結合完整活動素 A 之治療性抗體，其中約 C11-S33(第一環)及約 C81-E111(第二環)之區域的序列保留天然活動素 A 的構形。此等定圖譜及結合說明於下面實施例 6。

根據本發明之抗體可具有對人類活動素 A 的結合親和力少於或相當於 1×10^{-7}M，少於或相當於 1×10^{-8}M，少於或相當於 1×10^{-9}M，少於或相當於 1×10^{-10}M，少於或相當於 1×10^{-11}M，或少於或相當於 1×10^{-12} M。

抗體的親和力或結合搭檔以及抗體抑制結合的程度，能由所屬領域具有通常知識者使用慣用技術例如敘述於

Scatchard *et al.* (*Ann. N.Y. Acad. Sci.* 51：660-672 (1949))或經由表面電漿共振(surface plasmon resonance)(SPR；BIAcore，Biosensor，Piscataway，NJ)決定。對於表面電漿共振，靶分子固定於固相上並使接觸到隨流動細胞運行之移動相內的配體。如果發生配體結合到該固定的靶，則局部折射率改變導致SPR角度改變，其能經由偵測反射光強度變化而即時被監測到。SPR訊息的改變率能經分析以產生對於結合反應之結合及解離相之表面的速率常數。這些值的比例得到表面的平衡常數(親和力)(例如參閱 Wolff et al.，Cancer Res. 53：2560-65 (1993))。

根據本發明之抗體可屬於任何種類免疫球蛋白，例如IgG，IgE，IgM，IgD，或IgA。其可獲自或衍生自動物，例如家禽(例如雞)以及哺乳動物，其包括但不限爲小鼠，大鼠，倉鼠，兔子，或其他嚙齒動物，牛，馬，綿羊，山羊，駱駝，人類，或其他靈長類。該抗體可爲內部化抗體。抗體的製造概括揭示於美國專利公開第2004/0146888 A1號。

特性分析

上述產生根據本發明之抗體的方法，包括操作專一性A1-A14 CDRs於新骨架及/或恆定區域中，可得到合適的分析法以選擇所欲抗體(亦即用於決定對活動素A結合親和力之分析；交叉阻斷分析；Biacore系競爭結合分析；活體內分析)。

治療方法及抗原結合蛋白的投與

文中提供之一些方法包括投與活動素A結合抗原結合

蛋白至患者，藉此降低活動素 A-誘發之在特殊情況扮演角色的生物反應。在特定具體例中，本發明之方法包括將內生性活動素 A 接觸活動素 A 結合抗原結合蛋白質，例如經由投與至患者或以生體外(*ex vivo*)程序。

用語“治療”包括減輕或預防至少一症狀或疾病之其他方面，或降低疾病嚴重性等等。此外，“治療”進一步關於在有其需要之患者投與文中所述治療劑用於預防或減輕至少一症狀或疾病之其他方面。抗原結合蛋白不需達到完全的治癒或根絕每一症狀或疾病的表現以構成可行之治療劑。如有關領域認定，使用作爲治療劑之藥劑可降低所給疾病狀態之嚴重度，但不需徹底破壞疾病的每一表現則視爲可用之治療劑。同樣的，預防性投與之治療不需完全有效預防開始的症狀以構成可行的預防劑。純粹降低疾病的影響(例如，經由降低症狀量或嚴重度，或經由增加另一治療的有效性，或經由產生另一有利效果)，或降低疾病發生或使換者惡化的可能性就足夠。本發明之一具體例是針對一方法，包括對病患投與一定量之活動素 A 拮抗劑一段時間足以誘發持續的改善超過反映特定疾病嚴重度之指標基線。

如有關領域瞭解，含有本發明分子之醫藥組成物是以適於該適應症之方式投與至有其需要之患者。醫藥組成物可以任何適合的技術投與，包括但不限爲非經腸地，局部地，或經由吸入。若爲注射，醫藥組成物之投能透過，例如關節內，靜脈內，肌肉內，病灶內，腹腔內或皮下路徑，經由快速注射(bolus injection)，或連續式輸注。局部投與，例如考慮在

疾病或受傷位置，以經皮傳送及從植入物持續釋放。經由吸入傳送包括，例如鼻或口吸入，使用噴霧器、氣溶膠形式吸入之拮抗劑等等。其他變化包括眼藥水；口服製備物包括藥丸，糖漿，錠或口香糖；以及局部製備物例如外用藥水，凝膠，噴霧及軟膏。

也考慮生體外(*ex vivo*)使用抗原結合蛋白之方法。例如，可將病患的血液或其他體液接觸抗原結合蛋白質，其在生體外(*ex vivo*)結合全長活動素 A、一種或一種以上活動素 A 異型、或其他部分長度的活動素 A。該抗原結合蛋白可結合至適當不溶性基質或固體撐體材料。

有利地，抗原結合蛋白是以組成物之形式投與，該組成物含有一個或一個以上額外成分，例如生理上可接受載劑(carrier)，賦形劑或稀釋劑。該組成物可額外含有一種或一種以上生理活性劑，例如第二抑制活動素 A 受器之物質，抗血管新生物質，化學性治療物質，止痛的物質等等，其非限制實例提供於文中。在各種特殊的具體例中，該組成物除結合活動素 A 之抗原結合蛋白之外，含有一、二、三、四、五或六種生理活性劑。

在一具體例中，醫藥組成物含有本發明之抗原結合蛋白與一個或一個以上物質選自由緩衝劑、抗氧化劑(例如抗壞血酸)、低分子量多肽(例如具有少於 10 胺基酸者)、蛋白質、胺基酸、碳水化合物(例如葡萄糖，蔗糖或糊精)、螯合劑(例如 EDTA，穀胱甘肽(glutathione)，穩定劑)、以及賦形劑所組成之群組。中和緩衝鹽液或混與同種血清白蛋白之鹽液爲

適當稀釋劑之例。依照適宜之工業標準，亦可添加防腐劑，例如苄基醇。可使用適當賦形劑溶液(例如蔗糖)爲稀釋劑將組成物調配爲凍乾物。適合的成分爲所用劑量及濃度對接受者無毒性。可運用於醫藥調配物之成分的進一步實例描述於Remington's Pharmaceutical Sciences，16th Ed. (1980) and 20th Ed. (2000)，Mack Publishing Company，Easton，PA。

給開業醫生用之套組包括本發明之抗原結合蛋白以及一標示或其他用於治療文中所討論任何狀況之指示。在一具體例中，該套組包括一種或一種以上抗原結合蛋白之無菌製備物，其可爲如上揭示之組成物形式，以及可於一個或一個以上小瓶中。

投與的劑量及頻率可根據投與路徑因子、使用特殊抗原結合蛋白、欲治療的疾病本質及嚴重度而異，不論疾病情況是急性或慢性，以及隨患者的大小及一般情況而異。適宜之劑量能由有關領域已知程序決定，例如可包括劑量逐步上升研究之臨床試驗。

本發明之抗原結合蛋白之投與可例如一次或超過一次，例如在一段期間內以規則的間隔。在特定具體例中，抗原結合蛋白經至少一個月或以上的期間投與，例如於一個月、兩個月、或三個月、或甚至無限期。對於治療慢性疾病情況，長期治療通常是最有效的。然而，對於治療急性疾病情況，較短期間之投與，例如從一至六週可能是足夠的。一般而言，投與抗原結合蛋白直到病患顯示超過所選指標或指示的基線之醫學上有意義程度的改善。

本發明之特殊具體例包括投與抗原結合蛋白至患者的劑量從每天患者每公斤體重約 1 ng 抗原結合蛋白("1 ng/kg/天")至約 10 mg/kg/天，更佳從約 500 ng/kg/天至約 5 mg/kg/天，以及最佳從約 5 μg/kg/天至約 2 mg/kg/天。在額外具體例中，抗原結合蛋白投與至成人爲每週一次、每週兩次或每週三或更多次，以治療活動素 A 仲介之疾病、狀況或症狀，例如文中揭示之醫學症狀。若爲注射，每位成人給與抗原結合蛋白之有效量範圍可爲 1-20 mg/m^2，以及較佳爲約 5-12 mg/m^2。另外，可均一劑(flat dose)投與；量之範圍可從 5-100 mg/劑。用於均一劑之範圍爲每劑約 20-30 mg。本發明一具體例中，以 25 mg/劑之均一劑經由注射反覆投與。若使用注射以外的投與路徑，依據標準醫學慣例適當調整劑量。治療療程之一實施例包括每週一至三次及經至少三週期間注射一劑約 20-30 mg 之抗原結合蛋白質，儘管可能需要更長期間的治療以誘發所欲程度的改善。對於兒童患者(年齡 4-17)，一示範性適合的療程包括每週投與兩或三次之皮下注射 0.4 mg/kg，至多最大劑 25 mg 的抗原結合蛋白。

文中提供之方法的特殊具體例包括每週一或兩次皮下注射從 0.5 mg 至 10 mg，較佳從 3 至 5 mg 的抗原結合蛋白。另一具體例是針對肺的投與(例如經由噴霧器)，每週一次 3 mg 或以上的抗原結合蛋白。

文中提供之治療療程之實施例，包括每週一次每劑 1.5 至 3 mg 皮下注射抗原結合蛋白來治療以活動素 A 傳訊息扮演角色之疾病狀況。此等疾病狀況之例提供於文中以及包

括，例如惡病質，癌症，類風濕性關節炎，及全部狀況中體重、體質重、體脂肪質量的減少或無法維持體重、體質重、脂肪質量扮演角色者。每週投與抗原結合蛋白是持續的，直到達到所欲結果，例如患者的症狀消退。若需要，治療可重新開始，或另可投與保養劑。

文中提供之治療療程的其他例包括皮下或靜脈內投與一劑爲每公斤患者體質量(mg/kg)之 1，3，5，6，7，8，9，10，11，12，15，或 20 mg 之本發明活動素 A 抑制劑。該劑能一次投與至患者，或在特定間隔超過一次投與，例如一天一次，一週三次，一週兩次，一週一次，一個月三次，一個月兩次，一個月一次，每兩個月一次，每三個月一次，每六個月一次，或一年一次。治療的期間及對治療的劑及/或頻率之任何變化，能治療過程中改變或修改以符合換者的特殊需求。

在另一具體例中，抗原結合蛋白是以足以引起改善之一定量及經一段時間投與至患者，較佳爲持續的改善至少一反映欲治療之疾病嚴重度的指標。反映患者疾病狀態、疾病或病症程度之各種指標，可用於評估決定該治療的量及時間是否足夠。此等指標包括，例如疾病嚴重度、症狀之臨床辯認的指標，或討論之症狀的表現。在一具體例中，若患者於二到四週展現使至少兩不同起因疏遠之改善，則視爲改善是持續的。改善的程度通常由醫師決定，其可根據症候、症狀、切片檢體或其他測試結果決定，以及亦可運用提供給患者之問卷，例如對所治療疾病進展之生活品質問卷調查。

患者的活動素 A 程度可於以抗原結合蛋白治療之前、期間及/或之後監測，若有的話對其程度偵測變化。對於某些症狀，活動素 A 程度經提高之影響，可依據作爲疾病的階段或疾病的特殊形式之此等因子變化。可運用已知技術測量活動素 A 程度，例如在患者血清。血液樣品之活動素 A 程度可使用任何適合的技術(例如 ELISA)測量。

本發明方法及組成物的特殊具體例，包括使用抗原結合蛋白及一種或一種以上額外活動素 A 拮抗劑，例如兩種或兩種以上本發明之抗原結合蛋白質，或本發明之抗原結合蛋白以及一種或一種以上其他活動素 A 拮抗劑。在進一步具體例中，抗原結合蛋白是單獨投與或與其他可用於治療病患受苦的疾病狀況之試劑組合。此等試劑之例包括蛋白質性及非蛋白質試劑兩種。當多樣治療劑是共投與時，於是可如有關領域認知調整劑量。“共投與”及組合治療不限於同時投與，但也包括治療療程是在治療過程中對病患至少投與一次抗原結合蛋白及包括投與至少一其他治療劑。

可與抗原結合蛋白共投與之其他試劑之例，爲根據欲治療的特殊情況選擇之其他抗原結合蛋白或治療性多肽。另外，可用於治療以上討論之特殊情況之非蛋白質性藥劑可與活動素 A 拮抗劑共投與。

<u>組合治療</u>

在另一方面，本發明提供一種以活動素 A 抑制抗原結合蛋白與一種或一種以上其他治療之治療患者之方法。在一具體例中，此等組合治療經由例如在腫瘤中攻擊多位置或分

子靶，達到協同作用或加成效果。能用於連結本發明之組合治療類型包括抑制或活化(依適合情形)單一疾病有關途徑之多節點、靶細胞之多途徑、以及靶組織中(例如在腫瘤中)多細胞類型。例如，本發明之活動素 A 抑制劑能組合促進細胞凋亡(apoptosis)或抑制血管新生之治療。在另一具體例中，一靶試劑(當自身使用時無法引起所欲的治療效果)能用於，例如敏化癌症細胞或提高其他試劑的治療效果。在另一具體例中，根據本發明之活動素 A 抑制劑是與胞毒藥物或誘發細胞凋亡之其他靶試劑組合使用。在另一具體例中，活動素 A 抑制劑是與一種或一種以上抑制涉及細胞存活(例如，PKB，mTOR)之不同靶、不同受器酪胺酸激酶(例如，ErbB1，ErbB2，c-Met，c-kit)、或不同細胞類型(例如，KDR 抑制劑，c-fms)的試劑組合。在另一具體例中，本發明之活動素 A 抑制劑是添加到特殊狀況用現存之照顧規範中。治療劑之實例包括但不限爲，吉司塔並(gemcitabine)，紫杉醇(taxol)，剋癌易(taxotere)，以及 CPT-11。

在另一具體例中，該方法包括投與一種或一種以上文中所述活動素 A 拮抗劑及一種或一種以上其他治療劑(例如，治療性或緩和性治療)，例如抗癌症治療(例如手術，超音波，放射線治療，化學治療，或含另一抗癌劑之治療)。該方法包括對患者提供一種以上治療，故應瞭解投與的順序、時點、數量、濃度及體積僅受限於醫學規定及治療極限，亦即，能提供兩種治療給患者，例如同時地、持續地、有變化地、或根據任何其他療法。能組合文中所述活動素 A 拮抗劑

投與之試劑的實例，包括但不限爲，嗜中性球促進劑，艾利諾康(irinothecan)，SN-38，吉司塔並(gemcitabine)，赫斯達汀(herstatin)或結合活動素 A 之赫斯達汀衍生物(敘述如美國專利第 05/0272637 號)，AVASTIN®(Genentech，South San Francisco，CA)，HERCEPTIN®(Genentech)，RITUXAN®(Genentech)，ARIMIDEX®(AstraZeneca，Wilmington，DE)，IRESSA®(AstraZeneca)，BEXXAR®(Corixa，Seattle，WA)，ZEVALIN®(Biogen Idec，Cambridge，MA)，ERBITUX®(Imclone Systems Inc.，New York，NY)，GEMZAR®(Eli Lilly and Co.，Indianapolis，IN)，CAMPTOSAR®(Pfizer，New York，NY)，GLEEVEC®(Novartis)，SU-11248(Pfizer)，BMS-354825(Bristol-Myers Squibb)，單株抗體 panitumumab(Abgenix，Fremont，CA/Amgen Inc.，Thousand Oaks，CA)，以及單株抗體 denosumab (Amgen Inc.，Thousand Oaks，CA)。

使用文中所述特殊組成物於各種治療療程之適合的給藥及治療療程發展，包括例如皮下、口服、非經腸、靜脈內、鼻內及肌肉內投與及調配物是技藝熟知，其中某些簡述於下僅作爲舉例說明之用。

在某些應用中，文中揭示之醫藥組成物可透過口服投與運送到動物。就其本身而論，這些組成物可與惰性稀釋劑或與可吸收的可食用載劑調配，或可將他們包於硬-或軟-殼明膠膠囊，或可將他們壓縮爲錠劑，或可將他們併入飲食的食物中。

在某些情況將希望皮下地、非經腸地、靜脈內地、肌肉內地、或甚至腹腔內地運送文中揭示之醫藥組成物。此等方

法爲熟悉該項技藝者已熟知，其中某些進一步敘述於例如美國專利第 5,543,158 號；美國專利第 5,641,515 號及美國專利第 5,399,363 號。在某些具體例中，以游離鹼或藥理可接受鹽之活性化合物溶液可製備於水，適當混與界面活性劑，例如羥丙基纖維素。亦可製作分散液於甘油，液體聚乙二醇及其混合物以及於油中。在一般貯存及使用條件下，這些製備物通常含有防腐劑以防止微生物生長。

適於注射用之示範用醫要形式包括無菌水溶液或分散液及臨時製備無菌注射液或分散液用之無菌粉末(例如，參閱美國專利第 5,466,468 號)。所有情況下該形式必須無菌且必須存在可易於注射之流動程度。在製造及保存的條件下必須穩定且必須保存防止微生物污染，例如細菌及真菌。該載劑能爲溶劑或分散液介質，含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、及液體聚乙二醇等等)、其適合的混合物、及/或植物油。可維持適當液狀，例如經由使用塗層(例如卵磷脂)，經由維持必要顆粒大小於分散液之情形及/或經由使用界面活性劑。預防微生物作用能以各種抗細菌及抗真菌劑來促進，例如羥基苯甲酸酯類(parabens)，氯丁醇(chlorobutanol)，酚，山梨酸，硫柳汞(thimerosal)等等。在許多情形中，較佳爲包括等滲壓劑，例如糖或氯化鈉。延長吸收之注射用組成物能經由使用延緩吸收之試劑(例如單硬脂酸鋁及明膠)於組成物而產生。

在一具體例中，對於非經腸投與水溶液，若需要該溶液應適當經緩衝，以及液體稀釋劑先經足夠鹽液或葡萄糖等滲

壓。這些特殊的水溶液尤其適於靜脈內，肌肉內，皮下及腹腔內投與。於此關係中，能使用之無菌水性介質爲熟悉該項技藝者根據本案揭示可知。例如，一劑量可溶解於 1 ml 等滲壓性 NaCl 溶液並添加到 1000 ml 皮下補充水份液(hypodermoclysis fluid)或注射在注入物之提議位置(例如參閱，*Remington's Pharmaceutical Sciences*，15th ed.，pp. 1035-1038 and 1570-1580)。隨所治療患者之情況必然會發生劑量的某些改變。再者，用於人類投與，當然製備物較佳應符合 FDA 生物局要求之無菌測試，熱原測試，及一般安全性測試與純度標準之標準。

本發明另一具體例中，文中揭示之組成物可調配於中性或鹽形式。示範的醫藥可接受鹽包括酸加成鹽(與蛋白質游離胺基形成)且其與無機酸(例如氫氯酸或磷酸)或有機酸(例如乙酸，草酸，酒石酸，扁桃酸)等等形成。與游離羧基形成之鹽亦能衍生自無機鹼(例如鈉，鉀，銨，鈣或氫氧化鐵)，以及有機鹼(例如異並丙基胺，三甲基胺，組胺酸，普魯卡因(procaine))等等。隨調配，溶液可以適用於劑調配物的形式投與且此等量爲治療有效的。

載劑能進一步含有任何及全部溶劑，分散液介質，運載體，塗層，稀釋劑，抗細菌及抗真菌劑，等滲壓性及吸收延遲劑，緩衝劑，載劑溶液，懸浮液，膠體等等。使用此等介質及試劑於醫藥活性物質爲技藝熟知。除在這個範圍內任何慣用介質或試劑是不容於該活性組成分，皆可考慮用於該治療性組成物。亦能併入補充性活性組成分至此組成物。用語

“醫藥可接受”是指分子實體及組成物投與到人類時不會產生過敏或類似的不宜反應。

在某些具體例中，使用微脂粒、奈米膠囊、微顆粒、脂質顆粒、囊泡等等將本發明之組成物導入適當宿主細胞/有機體。尤其是本發明之組成物可調製爲膠囊化於脂質顆粒、微脂粒、囊泡、奈米球或、奈米顆粒等等用於傳送。另外，本發明之組成物能共價或非共價結合到此等載劑運載體的表面。

形成及使用微脂粒及類似微脂粒之製備物作爲可能的藥物載劑一般爲熟悉該項技藝者已知(例如參閱 Lasic, *Trends Biotechnol. 16*(7):307-21, 1998; Takakura, *Nippon Rinsho 56*(3):691-95, 1998; Chandran et al., *Indian J. Exp. Biol. 35*(8):801-09, 1997; Margalit, *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 12*(2-3)：233-61，1995；美國專利第 5,567,434 號；美國專利第 5,552,157 號；美國專利第 5,565,213 號；美國專利第 5,738,868 號及美國專利第 5,795,587 號，各以其全文具體併入文中)。使用微脂粒於全身傳送後不會出現有關聯的自體免疫反應或不能接受的毒性。在某些具體例中，微脂粒形成自分散於水性介質之磷脂質並自動形成多層同心雙層囊泡(亦稱爲多層囊泡(MLVs))。

另外，在其他具體例中，本發明提供本發明組成物之醫藥可接受奈米膠囊調配物。奈米膠囊通常能以穩定及可再現的方式圍住化合物(例如參閱 Quintanar-Guerrero et al.，*Drug Dev. Ind. Pharm. 24*(12)：1113-28，1998)。爲避免因載入過多細胞內聚合物所引起之副作用，可使用活體內能降

解之聚合物設計此等超細顆粒(大小約 0.1 μm)。此等顆粒之製作敘述例如，Couvreur et al., *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* *5*(1):1-20, 1988; zur Muhlen et al., *Eur. J. Pharm. Biopharm.* *45*(2):149-55, 1998; Zambaux et al., *J. Controlled Release* *50*(1-3):31-40, 1998；以及美國專利第 5,145,684 號。

此外，本發明之醫藥組成物可隨提供操作指南解釋該醫藥組成物使用之包裝材料置於容器內。一般而言，此等指示將包括明確表達敘述試劑濃度，以及在某些具體例中，包括再組成該醫藥組成物必要之相對量的賦形劑組成分或稀釋劑(例如，水，鹽液或 PBS)。

投與的劑量範圍可從 0.01 mg/kg 體重至 100 mg/kg 體重。熟悉該項技藝者應明白投與的量及頻率當然將隨一些因子而異，例如所治療病症的本質及嚴重度，所欲反應，病患的健康狀況等等。通常組成物可以各種以上所載技術投與。

本發明也提供一種診斷套組，含有至少一根據本發明之抗-活動素 A 結合劑。該結合劑可爲抗體。此外，此套組可選擇性含有一個或一個以上下列：

(1)對於使用一種或一種以上結合劑來篩選、診斷、預知、監控治療或這些應用之任何組合的操作指南；

(2)對抗-活動素 A 結合劑之標記結合搭檔；

(3)抗-活動素 A 結合劑固定於其上之固相(例如試劑條)；以及

(4)指示法規許可篩選、診斷、預知或治療用途或其任何組合的標籤或夾頁說明。

若未提供對抗-活動素 A 結合劑之標記結合搭檔，該結

合劑本身能標記一種或一種以上可偵測記號，例如化學發光物，酵素，螢光物，或放射性部分(moiety)。

提供下列實施例藉此舉例說明，且不因此限於此。

【實施方式】

實施例 1　　活動素 A 之重組表現

條件培養基之超過濾及透析過濾(UF/DF)：r-Hu 活動素 A 表現於中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。進行一連串步驟以製造活化、經純化物質。使用 Amicon S10Y10 螺旋匣經由濃縮(透析過濾)條件培養基(C.M.)於 15 至 20 倍之間開始純化過程。然透使用 5 體積 10mM Tris 緩衝劑 Ph 7.0 緩衝劑交換培養基(經透析過濾)，過濾及保存。

陽離子交換色層分析法：在 4-80°C 以 5 ml/分鐘將 r-Hu 活動素 A 置入經 10 mM Tris 緩衝劑 Ph 7.0 平衡之 2.6 X 7 cm(Pharmacia) S-Sepharose 速流管柱。以平衡緩衝劑清洗管柱。以超過 20 管柱量緩衝以 10Mm Tris Ph 7.0 之增加氯化鈉濃度至 0.4M 之梯度從管柱溶析 r-Hu 活動素 A。集合各適當分層並保存在 4-80°C。

逆相 HPLC C4 色層分析法：以三氟乙酸(TFA)調整 S-Sepharose 管柱集合物 pH 至 2.0。然後在室溫將此集合物置入經 75% A 緩衝劑(0.1% TFA 於水)及 25% B 緩衝劑(90% 乙腈，0.1% TFA，9.9%水)平衡之 1 X 25 cm Vydac C4 管柱。然後以平衡緩衝劑清洗管柱。以 5 ml/分鐘之流速，25% B 緩衝劑至 50% B 緩衝劑之梯度經 50 分鐘溶析 r-Hu 活動素 A。集合各適當分層並凍乾。

高效陽離子交換色層分析法：在室溫以 8M 尿素，10 mM 磷酸鈉，Ph 7.0(A 緩衝劑)平衡 5ml S Sepharose 高效管柱。凍乾之 C4 集合物再懸浮於 A 緩衝劑並以 5 ml/分鐘置入，及以 A 緩衝劑清洗。以超過 30 管柱量緩衝劑以 8M 尿素，10 mM 磷酸鈉，pH 7.0 之之增加氯化鈉濃度至 0.15M 之梯度從管柱溶析 r-Hu 活動素 A。集合各適當分層並保存在 4-80°C。

逆相 HPLC C4 色層分析法：以三氟乙酸(TFA)調整 S-Sepharose 管柱集合物 pH 至 2.0。然後在室溫將此集合物置入經 75% A 緩衝劑(0,1% TFA 於水)及 25% B 緩衝劑(90% 乙腈，0.1% TFA，9.9%水)平衡之 1 X 25 cm Vydac C4 管柱。然後廣泛以平衡緩衝劑清洗管柱移除尿素及鹽類。以 5 ml/分鐘之流速，25% B 緩衝劑至 50% B 緩衝劑之梯度經 50 分鐘溶析 r-Hu 活動素 A。集合各適當分層，並凍乾最終經純化 r-Hu 活動素 A 並以分裝保存在-80 °C。SEQ ID NO：225 提供活動素 A 胺基酸序列。

實施例 2　　抗-活動素 A 融合瘤之製造

於 XenoMouse®小鼠(Abgenix，Fremont，Calif.，其含有人類免疫球蛋白基因之小鼠)引發對活動素 A 之抗體。使用 XenoMouse®品系 XMG2 製造完全人類 IgG2 κ 抗體。使用第二品系製造完全人類 IgG4 κ 抗體。以活動素 A 免疫小鼠。

根據標準程序(US 2005/0118643；WO 2005/694879)於後腳掌(每腳掌 5 μg)對小鼠注射抗原(活動素 A)。初次注射液含有佐劑 TiterMax® Gold(Sigma，Cat # T2684)。於後續注射，對每一小鼠注射總量 5 μg 的抗原於佐劑鋁凝膠(磷酸

鋁凝膠佐劑；Superfos Biosector a/s，E. M. Sargent Pulp and Chemical Co.，Clifton N.J.，cat # 1452-250 銷售)。最終注射液含有每一小鼠總量 10 μg 的抗原且不包含佐劑。

第六次注射兩天後對每一小鼠採血。來自這些採血之血液樣品經 ELISA 分析決定對活動素 A 之抗體力價。最終注射四天後，犧牲小鼠並收取流出的淋巴結以及回收淋巴細胞。分開集合來自三組之每一小鼠淋巴細胞。爲提高淋巴細胞樣品之 B-細胞量，添加抗-CD90 磁珠(Miltenyi Biotech cat. # 491-01)使 T-細胞減少，然後將淋巴細胞通過 LS^+管柱(Miltenyi Biotech cat. # 424-01)。

然後使用電子細胞融合儀(Genetronic，Inc.，模式 ECM 2001)將富含 B-細胞之各淋巴細胞樣品與 P3 骨髓瘤細胞融合以產生融合瘤。然後將三組已融合之融合瘤系置入 96-井平板融合瘤培養基，敘述如(WO 2005/094879)，然而亦能使用其他技藝已知適當培養基。在 37°C 於 15% CO_2 培養融合瘤系 14 天。

14 天後，以 ELISA 分析培養基上清液偵測對活動素 A 之人類 IgG 抗體的存在。ELISA 測試爲陽性之培養基上清液於第二次 ELISA 測試人類 κ 鏈的存在。在此第二次 ELISA，除二級抗體是山羊抗-人類 κ 鏈抗體共軛辣根過氧化酶之外，條件與第一次 ELISA 相同。兩次 ELISA 分析測試皆爲陽性之融合瘤經進一步擴大以產生 5 ml 上清液用於後續測試。

如以下實施例所述，使用細胞系功能性分析及 BIAcore

結合分析篩選衍生自 XenoMouse®小鼠之共 160 個抗-活動素 A 融合瘤樣品。23 個融合瘤進一步特性分析他們有關表現、純化、細胞系分析、結合分析、序列分析、MS 及 SEC 的特性。從這些有三個有效能之單株抗體 A1、A2 及 A3，如下所述進一步測試鑑定。這些抗體的胺基酸序列如下：A1：SEQ ID NO：9(輕鏈可變)；SEQ ID NO：84(輕鏈恆定)；SEQ ID NO：10(重鏈可變)；以及 SEQ ID NO：214(重鏈恆定)。A2：EQ ID NO：25(輕鏈可變)；SEQ ID NO：100(輕鏈恆定)；SEQ ID NO：26(重鏈可變)；以及 SEQ ID NO：215(重鏈恆定)。A3：SEQ ID NO：41(輕鏈可變)；SEQ ID NO：108(輕鏈恆定)；SEQ ID NO：42(重鏈可變)；以及 SEQ ID NO：221(重鏈恆定)。

實施例 3　　於 CHO 細胞表現及純化人類抗-人類活動素 A 抗體

用於轉染抗-人類活動素 A 表現質體之 CS-9 細胞是無血清之懸浮液 CHO 細胞系。篩選宿主細胞系表現重組蛋白質之 CS-9 選殖株並存於無血清之培養基。測試此庫存之外來劑及無菌性，並處於無病毒、黴漿菌及微生物劑。

使用典型的饋料批式法使表現抗-人類活動素 A 之細胞系提高規模。將細胞種入 Wave 生物反應器以擴展。以批式進料在約第 3 天、第 5 天及第 9 天投入培養基三次，並在第 11 天採集。離心細胞且條件培養基透過 10 英吋 0.45/0.2 μm 預濾器過濾，隨後透過 6 英吋 0.2μm 濾器過濾。

自融合瘤條件培養基(C.M.)純化單株抗體：

對介於 7 至 10 ml 的 C.M.添加 100 µl 1：2 平衡於 PBS 之單株抗體篩選樹脂泥狀物。將試管置於旋轉器上於 4-8°C 隔夜。以 1,000 X g 離心試管 5 分鐘並輕輕倒出未結合之分層。以 5ml 的 PBS 清洗樹脂，並如上離心及輕輕倒出。然後將樹脂轉移到 SPIN-X，0.45 µm，2ml 試管。以 0.5ml 的 PBS 另清洗樹脂兩次並離心。經由在室溫培育與偶爾混合 10 分鐘而以 0.2ml 的 0.1M 乙酸溶析單株抗體。試管經離心，以及添加 30 µl 的 1M Tris 緩衝劑，Ph 8.0 至該溶析液。純化之單株抗體保存在 4-8°C。

實施例 4　　C2C12 細胞系活動素活性分析

此分析證明測試之抗體的活動素 A 中和能力，其係經由測量活動素 A 與其受器之結合被抑制的程度。活動素反應性報告子細胞系是以 pMARE-luc 構築轉染 C2C12 肌胚細胞(ATCC No：CRL-1772)所產生。pMARE-luc 構築之製造是經由選殖代表活動素反應要素(response element)之 12 個重複 CAGA 序列(Dennler et al. EMBO 17: 3091-3100 (1998))進入 pLuc-MCS 報告子載體(Stratagene cat # 219087)的 TATA box 上游。肌胚細胞 C2C12 細胞自然地表現活動素 IIB 受器(actRIIB)於細胞表面。當活動素結合細胞受器時，Smad 途徑被活化，且磷酸化之 Smad 結合到反應要素(Macias-Silva et al.細胞 87：1215 (1996))，導致蟲螢光素酶基因的表現。然後使用市售蟲螢光素酶報告子分析套組(cat # E4550，Promega，Madison，WI)，根據廠商操作手冊測量蟲螢光素酶活性。

使用已經 pMARE-luc 轉形之 C2C12 細胞穩定細胞系(C2C12/pMARE 選殖株#44)，依據下列程序測量活動素活性。

將相同量的報告子細胞(C2C12/pMARE選殖株#44)置入96井培養基。使用兩稀釋之含有抗體的條件培養基，以活動素 A 濃度固定在 4 nM 進行第一回篩選。在室溫分別以 2 x 及 5 x 稀釋之條件培養基預培育重組的成熟活動素 A 達 1 小時。報告子細胞培養處以活動素及含或不含抗體達 6 小時。經由決定處理之培養基中蟲螢光素酶活性來測量活動素 A 活性。使用此分析初次鑑定在報告子分析中能抑制活動素 A 訊息活性之抗體。然後，將活動素 A 濃度固定在 4 nM 製造九點滴定曲線。各以下列 9 種濃度的純化抗體預培育活動素 A：0.004 nM，0.04 nM，0.4 nM，4 nM，20 nM，40 nM，200 nM，400 nM 及 2 μM 達 1 小時，即在添加該混合物至報告子細胞培養之前進行。一些抗體 A1，A2 及 A3 之 IC_{50} 值提供於表 3。

表 3

單株抗體	細胞 IC_{50} (nM)
A1	<3
A2	<3
A3	<3

實施例 5　　BIACORE®分析

在 BIAcore®3000(Biacore，Inc.，Piscataway，NJ)儀器，使用感應片 CM5 及 0.005 百分比之 P20 界面活性劑(Biacore，Inc.)爲運轉緩衝劑進行活動素 A 抗體 A1，A2 及

A3 之親和力分析。使用 Amine Coupling Kit(Biacore，Inc.)，根據廠商建議之方法步驟將重組的成熟活動素 A 蛋白質透過一級胺基固定在研究等級的 CM5 感應片(Biacore，Inc.)。

使用直接結合分析依序他們結合到固定之活動素 A 的能力篩選抗體。結合分析的進行是以 50 μl/分鐘的流速注射兩種濃度(40 及 400 nM)之每一候選抗體到定之活動素 A 表面 3 分鐘。3 分鐘的解離時間之後，重建表面。結合曲線經定性地比較結合訊息強度以及解離速率。使用 BIA evaluation 3.1 電腦程式(Biacore，Inc.)決定包括 ka(結合速率常數)、kd(解離速率常數)及 KD(解離平衡常數)之抗體結合動力學參數。解離平衡常數越低(以 nM 表示)，對活動素 A 之抗體的親和力越大。

實施例 6　　對單株抗體之活動素 A 結合區域定圖譜

使用多種生化方法決定活動素 A 上的抗體結合區域，包括還原或非還原條件下西方點墨法，使用 LysC 之限制蛋白酶分解作用，經由 MS 之胜肽分析以及使用 BIAcore 之胜肽競爭。

Cys-結是 TGF-β家族成員的關鍵結構特徵。以還原劑打斷 S-S 使活動素 A 結構退化及減少活動素 A 結合至中和性抗體(包括 A-1)。此數據證明 Cys-結對活動素 A 結合這些中和性抗體(相較於活動素 B，其專一結合至活動素 A)是重要的。Cys-結使序列的兩個遠環結構彼此鄰近。這兩區域爲接近 C11-S33(第一環)以及接近 C81-E111(第二環)動素 A(第 7 圖)區域之序列。限制之 LysC 分解作用展現這兩區域經抗體

A-1 保護，包括他們直接與中和性抗體交互作用。中和性抗體對活動素 A 之構形變化是敏感的，而提出他們結合到抗原之非線性決定基。進一步的胜肽分析指出活動素 A 中片段 G-1 至 K7 以及 S57-F74 對於其直接結合中和性抗體並非必要。相較於活動素 B 之活動素 A 的序列比對顯示此區域出現部分序列差異。

實施例 7　　選擇性分析

使用 BIAcore®技術進行這些分析，決定抗體 A1，A2 及 A3 對各種活動素及其他 TGF-ß 家族成員，包括活動素 A、活動素 B、活動素 AB、抑制素 A、GDF-8、GDF-11、TGF-ß-1、TGF-ß-3 及 BMP4(全來自研發系統)之結合選擇性。根據廠商提議之手冊將 ActRIIB/Fc 共價偶合至研究等級的感應片。由於 BIAcore 分析偵測折射率變化，在沒有任何抗體存在下，以注射液於固定之受器表面所偵測之反應相較於注射於對照組表面所偵測之反應間的差異，代表各種配體對受器的實際結合。以抗體及活動素及 TGF-ß 分子之預培育，結合反應之變化(增加或減少)代表抗體結合至 TGFß 家族分子。抗體全部結合至活動素 A 但非活動素 B、GDF-8、GDF-11、TGF-ß-1、TGF-ß-3 及 BMP4，如此代表對活動素 A 之專一性。

實施例 8　　KINEX A™平衡分析

使用 KinExA™技術(Sapidyne Instruments，Inc.)之溶液系平衡之結合分析，是用於決定活動素 A 結合至抗體分子的解離平衡(KD)。在某些情況，此溶液系分析被認爲比 BIAcore 分析更靈敏。以約 50 μg/ml 活動素 A 預塗覆 Reacti-Gel™ 6X

隔夜，然後以 BSA 封阻。進行通過塗覆活動素 A 小珠之前，30pM 及 100pM 的抗體樣品與各種濃度活動素 A(0.5 pM 至 5 nM)於樣品緩衝劑中在室溫培育 8 小時。經由螢光物(Cy5)標記之山羊抗人類-Fc 抗體，以 1 mg/ml 於超封阻定量結合抗體的小珠含量。與已知活動素 A 濃度呈平衡時，結合訊息與游離抗體濃度成比例。使用 KinEx A™軟體(Sapidyne Instruments，Inc.)提供之雙曲線一位同次結合模式(dual-curve one-site homogeneous binding model)，從競爭曲線之非線性回歸得到 KD。結果示於第 8 圖。A1 顯示對活動素 A(K_D~3 pM)之最強結合親和力。A2 及 A3 分別以~15 pM 至~8 pM 結合至活動素 A。

實施例 9　　膠原誘發之關節炎模式中抗活動素對體重及肌肉質量損失之保護效果

此實施例是設計用於測試活動素抑制劑是否能挽救膠原誘發之關節炎所觀察到之肌肉消耗情形。膠原誘發之關節炎(CIA)是廣泛使用的小鼠模式與類風濕性關節炎(RA)共有嚴重的臨床及病理學特徵。CIA 的確切機制尚不知，但有相當證據指出 CIA 是 Th-1 仲介之發炎性疾病。類風濕性關節炎是常見的自體免疫疾病，導致關節發炎及漸進式軟骨/骨腐蝕。縱使 RA 進行是在控制下，無額外、直接干涉時 BCM 的損失不會被矯正。

膠原誘發之關節炎模式如下製備。使用 8 週齡(20-23g)之 DBA/1J 雄小鼠(The Jackson Laboratory，Bar Harbor，ME)。免疫作用是在第 1 天及第 21 天進行經由在尾巴根部皮

膚內注射乳化於 100 μl 的 CFA 或 ICFA 之 1000g 牛膠原 II (Chondrex，Redmond，WA)。使用 3 組各 10 隻小鼠。第 1 組(對照組)只接受運載體。第 2 組(實驗組，注射膠原)只接受運載體作爲治療。第 3 組注射膠原及處以抗-活動素 A 抗體 A1。

使用之關節炎臨床指標爲：

0= 正常關節，無關節炎症候

1= 一趾腫脹及/或紅腫

2= 牽涉兩關節

3= 超過兩關節

4= 整個掌及趾之嚴重關節炎

活動素抗體注射(s.c.)所構成之治療從第 8 天開始，一週兩次 5mg/kg，s.c.。終點測量體重，肌肉/脂肪質量，食物吸收及發炎性細胞激素。

體重：相較於正常動物，未經處理之 CIA 動物損失他們百分之二十五的體重及肌肉質量，此提供類風濕性惡病質的證據。相較於 CIA 對照組而非正常對照組動物，抗-活動素 A(A-1)治療顯著增加體重($p<0.05$)。

肌肉質量：相較於未經處理之 CIA 動物，以單株抗體 A1 之治療於 CIA 動物顯著增加肌肉質量($p<0.05$)。在 CIA 對照組，在 95 天肌肉質量是 1.5g；反之，抗體治療之 CIA 動物，在 95 天肌肉質量是 2.5g。結果示於第 1 圖。

脂肪質量：抗-活動素 A 抗體無法使 CIA 動物的脂質損失反回。結果示於第 2 圖。

經治療動物中體重及肌肉質量的維持，給予支持活動素A抗體作爲改善生活品質及於類風濕性關節炎患者降低死亡率之治療劑。

實施例 10　　年輕成熟裸小鼠之肌肉內 CHO/活動素異種移植

以活動素A(CHO/活動素)穩定轉染之CHO細胞透過肌肉內注射以不同劑量 $1x10^6$、$5x10^6$及 $10x10^6$植入年輕成熟CD1 nu/nu小鼠。相同劑量之未經轉形CHO細胞注射到分開組別的小鼠作爲對照組。相較於對照組，CHO/活動素植入引起快速且激烈的體重減少。在第12天，$1x10^6$細胞之CHO/對照組減少10%的體重，反之CHO/抗-活動素A組體重增加10%。$5x10^6$及 $10x10^6$細胞抗-活動素A組別也顯示體重增加約10%，反之對照組 $5x10^6$及 $10x10^6$細胞組別體重減少25-30%。

異種移植植入後第12天測量小鼠的血清活動素A程度。植入親代CHO之對照組小鼠中血清活動素A程度爲< 2 ng/ml。相較之下，含有CHO/活動素異種移植的小鼠顯示戲劇性提高血清活動素A。如同統計分析所示血清活動素A程度與體重減少的嚴重度之間有顯著的關聯性，代表活動素A過度表現是CHO/活動素異種移植小鼠體重減少可看見的原因。

以CHO/活動素異種移植植入小鼠(每組 n=14)，隨後注射運載體或三種抗-活動素A單株抗體A1、A2及A3各一。14隻運載體組小鼠中有12隻在植入CHO/活動素後25天以

前死亡，而 42 隻植入 CHO/活動素小鼠於抗-活動素 A 單株抗體治療組中只有 1 隻小鼠在那時死亡。第 38 天以前，單株抗體治療組的大多數小鼠繼續良好的存活，存活率如下：14 隻 A1 組有 13 隻，A2 或 A3 組爲 14 隻有 10 隻。

體重數據顯示以抗-活動素 A 單株抗體之 A1 或 A2 治療，於含有 CHO/活動素異種移植之小鼠完全防止體重減少，代表抗-活動素 A 單株抗體在活體內有效於中和活動素 A 活性。如第 3 圖所示，NMR 數據顯現以抗-活動素 A 單株抗體 A1 治療，在含有 CHO/活動素之小鼠可防止漸進式淨體質(lean body mass)的損失。以此抗體治療亦導致食物吸收增加。

驗屍數據指出以抗-活動素 A 單株抗體 A1 及 A2 之治療，在含有 CHO/活動素小鼠可防止淨屍重的嚴重減少(表 5)。最終驗屍數據指出以抗-活動素 A 單株抗體 A1 及 A2 之治療，在含有 CHO/活動素異種移植小鼠可防止脂肪質量的嚴重減少(表 5)。

最終驗屍期間在植入 CHO/活動素後第 12 天分析含有可見腫瘤在異種移植位置的動物百分比。如表 5 所示，數據顯現運載體組的小鼠有 80%發展肉眼可辨識的異種移植腫瘤在注射位置。在抗-活動素 A 單株抗體治療組觀察到的可見腫瘤形成率顯著減少。

隨驗屍，從動物在 CHO/活動素異種移植位置切出全部肉眼可辨識的腫瘤並稱重。相較於運載體組，在活動素 A 單株抗體治療組觀察到腫瘤質量顯著減少(表 5)。

表 5

治療	第 12 天之淨屍質量(g)	第 12 天之子宮周圍脂肪組織 (Periuterine fat tissue)(g)	第 12 天發展異種移植腫瘤之動物百分比	第 12 天之腫瘤重量(g)
裸鼠+運載體	9 ± 0.25	0.18±0.02	未實施	未實施
CHO/運載體+運載體	**7.5±0.25**	**0.10±0.02**	**80%**	**0.11±.01**
CHO/運載體+A-1 抗體	9.2±0.25	0.17±0.04	20%	0.01±0.005
CHO/運載體+A-2 抗體	8.9±0.25	0.16±0.03	50%	0.01±0.005

異種移植腫瘤發展之上述實驗，對於使用抗-活動素 A 抗體改善癌症存活導出數個結論。活動素 A 在含有 CHO/活動素異種移植之裸鼠惡病質症候的發展扮演導因角色。在此模式中，體重的減少與血清活動素程度增加極有關聯。含有 CHO/活動素異種移植腫瘤之小鼠中，抗-活動素 A 單株抗體可防止體重減少及惡病質症候。抗-活動素 A 單株抗體抑制異種移植物生長，藉此顯著降低含有看得見之異種移植腫瘤的小鼠百分比以及減少異種移植腫瘤大小。抗-活動素 A 單株抗體可防止 CHO/活動素外移植物造成的死亡，顯著促進動物存活。

實施例 11　　抗-活動素單株抗體 A1 於 AAV-活動素小鼠

出生後過度表現活動素 A 於 C57B1/6 小鼠導致嚴重類惡病質消耗症狀。經第 1、4、9 及 11 天體重減少，從 16 克到 14、12.5 及最後在第 11 天爲 10.5 克。脂質重量、淨屍重及腓腸肌肌肉重也有損失。

爲決定針對活動素 A 之抗體是否能減輕或防止活動素

A 的作用，進行下列實驗。以 1 x 10^{13} pfu/小鼠，透過爲尾巴靜脈注射 AAV-活動素或缺少 AAV 載體(對照組)於 8 週齡雄 C57Bl/6 小鼠(n=10-12)。第 5 圖顯示於轉導小鼠在 1、5、8 及 12 天，抗-活動素 A 單株抗體 A1 對體重變化的影響。在對照小鼠中觀察到該抗體防止體重變化。在此動物模式，抗體治療改善食物吸收。

實施例 12　　抗-活動素 A 單株抗體 A1 於結腸-26 癌症惡病質模式對抗體重及淨體質損失之保護效果

此實施例證明抗-活動素 A 單株抗體 A-1 於鼠科動物癌症惡病質模式之肌肉維持效果。使用先天的鼠科動物結腸 26 腺癌細胞在第 0 天接種於 8.5 週齡雄 CDF1 小鼠(0.5 x 10^6 細胞/小鼠)建立癌症惡病質模式。抗-活動素 A 單株抗體 A-1 治療(10 mg/kg，sc)在第 4 天開始並每週 3 次達 18 天。使用乙酸鈉緩衝劑(10 nm 乙酸鈉，5% 蔗糖，pH 5.0)爲運載體於含有腫瘤之對照組小鼠。使用年齡及體重與無腫瘤正常 CDF1 小鼠相配之一組作爲並行基線對照組。監測體重及食物吸收每週三次。每週以數位卡尺測量腫瘤大小三次。使用 NMR 在研究開始及結束測量身體組成，以監控瘦肉及脂肪質量變化。實驗結束時，在 CO_2 室使小鼠安樂死。收集末端阻礙樣品並以 ELISA 分析血清活動素 A 程度。稱重淨屍重及記錄，稱重腓腸肌肌肉及腫瘤並適當地儲存。

全部結果以平均±平均的標準誤差(SEM)表示。使用 Graph Pad Prizm 軟體進行未配對之 T-test 決定各組間的統計差異。運載體之統計意義以 p 值少於 0.05 表示。

數據顯示處以 A-1 的小鼠比處以運載體的小鼠具有顯著較高的體重值(第 15 天，21.30 ± 0.54 g 對 19.21 ± 0.38 g，$P<0.05$；以及第 18 天，19.66 ± 0.22 g 對 18.11 ± 0.19 g，$P<0.05$)。處以運載體之含腫瘤的小鼠比年齡相配之不含腫瘤的小鼠體顯著重減少(25.48 ± 0.35 g 對 18.11 ± 0.19 g，$p<0.005$)。如此，盼望活動素 A 抗體治療可維持體重。

以數位化卡尺測量來監測腫瘤生長並以等式：腫瘤尺寸(mm^3 = L (mm) * W (mm) * W (mm) * 0.5)計算腫瘤大小。處以抗體 A1 及處以運載體兩組間之腫瘤大小沒有差異。

接種 C-26 腫瘤細胞後，相較於不含腫瘤的小鼠，處以運載體的小鼠有戲劇性的體重減少(25.48 ± 0.35 g 對 18.11 ± 0.19 g，$p<0.01$)。然而，A-1 治療減弱平均的體重損失(19.66 ± 0.22 g 對 18.11 ± 0.19g，$P<0.05$)。

A-1 治療造成骨骼肌肉質量的顯著保存。處以 A-1 的小鼠比處以 C26 運載體組具有較重的腓腸肌肌肉質量(0.099 ± 0.002 g 對 0.093 ± 0.001，$p<0.05$)。

實驗結束時，進行末端組織解剖。具有腫瘤之對照組 C-26 小鼠比處以抗體 A1 之小鼠(7.20 ± 0.16 g，$p<0.05$ 對 C-26 + 運載體組)具有顯著較低淨屍重(6.75 ± 0.11 g)。

淨體質顯著損失於處以運載體之 C-26 組(-1.85 ± 0.24 g 相較於其初淨體質)。處以 A-1 治療之具有腫瘤的 C-26 小鼠顯著減弱淨體質損失(-0.60 ± 0.26 g，$p<0.05$ 對 C26-運載體組)。

抗-活動素 A 單株抗體 A1 治療能有效減弱誘發整個體

重減少之癌症惡病質。在建立良好之鼠科動物癌症惡病質動物模式中，抗體 A1 的保護效果與維持骨骼肌肉質量、淨屍質量及總淨體質有關。

本研究提供臨床前證據，使用單株抗體 A1 之活動素 A 中和作用能顯著減弱體重減少並維持骨骼肌肉和淨體質。

實施例 13　　活動素 A ELISA

對活動素 A 之抗體能用於分析及定量樣品中的活動素 A，例如生物樣品。重組人類活動素 A(100 ng/ml，型號 #10-85106)及分析稀釋緩衝劑(0 mg/ml，型號 #10-85101)是購自 DSLabs(Webster，Texas)並保存在 4°C。標準品於實驗前當場經由稀釋於分析緩衝劑中製備。

人類血清獲自 Bioreclamation Inc.(Hicksville，NY)。活動素 A 之血清測量是分裝於 110 µl 以減少因冷凍-解凍的變化差異。以分析緩衝劑以 1/3 稀釋樣品並於 ELISA 中測量。

使用下列步驟進行活動素 A ELISA(一步驟 ELISA)：

在室溫以 100 µl 的 4 µg/mL 抗-活動素 A 單株抗體(A2)塗覆 Corning Costar 3590 96-井平板隔夜，並以 500-600 rpm 緩慢搖動。以含有 0.02%(v/v) Tween 20 之 PBS 清洗井(400 µl/井)三次。在室溫將井封阻於 300 µl 的 I-阻斷緩衝劑兩小時，然後移除阻斷緩衝劑。

添加 100 µl 標準物活動素 A/或 100 µl 稀釋樣品，並添加 25 µl 的 0.5 µg/mL HRP 標識之抗-活動素 A 單株抗體(A1/HRP)於分析緩衝劑。對於無活動素 A 測量，以分析緩衝劑 1/3 稀釋血清。對於總活動素 A 測量，(1)以 20% HCL(每

110 μl 血清 2 μl)酸化血清(pH 4-5)，(2)在室溫培育 15 分鐘，(3)添加 2 μl 的 5 N NaOH(每 110 μl 血清 2 μl)中和，以及(4)以分析緩衝劑 1/3 稀釋。

在室溫進行培育 2 小時同時以 600-700 rpm 搖動。以含有 0.02%(v/v) Tween-20 之 PBS 清洗井(400 μl/井)三次。添加 100 μl 的 TMB(R&D System，Minneapolis，MN)，隨後在室溫培育二十分鐘。添加 50 μl 終止溶液(R&D System，Minneapolis，MN)。使用 450 nm 於 Molecular Device SpectraMax M5 進行 OD 測量。

使用 Molecular Device 之對數-對數(或五參數符號邏輯)曲線擬合(curve fitting)軟體，經由在 450 nm 吸收度對 rh-活動素濃度之對數作圖產生標準曲線。樣品濃度值是從標準值經由內插他們的吸收值而得。

捕獲抗體(Capturing Antibody)是 A-3 抗-活動素 A 單株抗體，20.78 mg/ml。偵測抗體(Detection Antibody)是 A-1 抗-活動素 A 單株抗體-HRP，0.65 HRP/Ab，12.05 mg/ml。阻斷緩衝劑是 I-阻斷緩衝劑。清洗緩衝劑是 PBS/0.1% Tween-20。分析緩衝劑(試劑稀釋劑)是 0 mg/ml 活動素 A 緩衝劑。

實施例 14　　活動素 A 蛋白酶保護分析

進行蛋白酶保護分析以鑑定結合活動素 A 抗體之抗原決定基。以三種方法分析重組人類活動素 A 降解製備物。第一種方法檢驗純化期間已降解之活動素 A 製備物。第二種方法包括以離胺酸 C、胰凝乳蛋白酶(chymotrypsin)、胃蛋白

酶及嗜熱菌蛋白酶(thermolysin)蛋白水解活動素 A 製備物。第三種方法包括使用溴化氰之製備物的化學降解。

如此，對於人類活動素及抗體複合物之蛋白水解，在以 2 重量%經選擇之特殊蛋白酶處理前，將 5 μg 活動素 A 及 90 μg 抗體混合於 100 μl 的 0.1 M 碳酸氫銨(pH 7.8)並保持在室溫約 20 分鐘。在 37℃進行蛋白質的分解作用達 90 分鐘。單獨含有活動素 A 或單獨含有抗體之對照組樣品以相同方式進行。RP-HPLC 分析之前酸化樣品。

對於活動素 A 之溴化氰分解作用，在室溫培育 10 μg 蛋白質與 CNBr 於 100 μl 的 90%TFA 隔夜產生活動素 A 的 CNBr 片段。培育期間樣品保持於暗處，並於 RP-HPLC 分析前在真空乾燥。

利用 RP-HPLC 分析如上所述產生之片段。簡言之，以溶劑平衡管柱，注射樣品以及施用線性梯度前以溶劑清洗管柱。經由在 215nm 之吸收監測管柱流出物。溶析之樣品以手動收集並經由 Edman 降解及質譜儀分析。

純化期間已降解之製備物包括下列物種：

1. Gly^{1}-His^{59} (6,456.2 Da)

2. Ser^{60}-Tyr^{94} (4,102.9 Da)

3. Asp^{95}-Ser^{116} (2,452.8 Da)

4. Gly^{1}-Tyr^{94} (10,541.1 Da)

已經由類胰凝乳蛋白酶活性降解之製備物具有下列物種在 SEQ ID NO：225 所指位置裂解：

1. $_{1}$GLECDGKVNICCKKQFFVSFKDIGWNDWII^{30}

2. $_{31}$APSGYHANYCEGECPSHIAGTSGSSLSFH ↓ S$_{60}$

3. $_{61}$TVINHYRMRGHSPFANLKSCCVPTKLRPMS$_{90}$

4. $_{91}$MLYY ↓ DDGQNIIKKDIQNMIVEECGCS$_{116}$

第 9 圖所示物種指出以胰凝乳蛋白酶、離胺酸 C(LysC)、或溴化氰(CNBr)降解活動素 A 製備物時之裂解位置的位置。

實施例 15　　活動素 A 結合分析

根據表 6 所列結合親和力，單株抗體 A1、A2 及 A3 結合至活動素 A 但不結合至活動素 B。如此，進行活動素 A 抗體 A1、A2 及 A3 的親和力分析以決定中和性抗體結合所需區域或結構。已知數種活動素 A 結合蛋白質，包括 ActRII (A/B)，ActRI (A/B)(Alt4)，卵泡抑制素(follistatin)，以及卵泡抑制素有關基因(FLRG)。

進行結合分析來篩選抗體以評估他們結合到固定之抗體表面(活動素 A 及/或活動素 B)的能力。使用 2 nM rh-活動素 A 及 20 nM 各固定於表面之抗體進行結合分析。下列抗體固定在表面並測試：AKA1(可獲自市售商品)，AKA2 (可獲自市售商品)，A1 及 A3。抗體分析之結果示於第 10 圖。

抗-活動素 A 抗體	A2	A3	A1	AKA1	AKA2
活動素 A	K_D ~ 25 pM	K_D ~ 11 pM	K_D ~ 3 pM	K_D ~ 4 pM	K_D ~ 4pM
活動素 B	------	------	------	------	------

實施例 16　　活動素 A 結合分析區域定圖譜(BIACORE)

如實施例 5 所述在固定之重組人類活動素 RIB-Fc 嵌合

體表面、重組人類活動素 RIIB-Fc 嵌合體表面以及重組人類 RIIA-Fc 嵌合體重組表面進行阻斷分析。每一嵌合體表面上之單株抗體 A1、A2、AKA1 及 AKA2 與 1nM 活動素 A 培育，以及測量相對的結合反應(%)。抗體存在下增加結合反應代表活動素 A 同時能結合至固定的受器表面及溶液中的抗體，其稱爲“繼續”。結果示於第 7 圖及第 11 圖，其中 EC50 意指產生 50%結合之有效濃度。

表 7

EC50 (nM)	rh 活動素 RIB/Fc 嵌合體	rh 活動素 RIIB/Fc 嵌合體	rh 活動素 FIIA/Fc 嵌合體
AKA1	部分阻斷	0.30	0.35
AKA2	部分阻斷	0.36	0.37
A1	0.29	0.29	0.29
A2	0.18	繼續	繼續

實施例 17　　活動素 A/B 嵌合體

如實施例 5 及 16 所述，製造活動素 A/B 嵌合體以進一步評估單株抗體 A1、A2 及 A3 的抗原決定基結合能力。如第 12 圖所示，測試兩嵌合體：活動素 A 13/39 B(含有活動素 A 胺基酸 1-116，但活動素 A 胺基酸位置 13-39 經活動素 B 對應之胺基酸位置 13-39 取代除外—SEQ ID NO：243)，以及活動素 A 82/107 B (含有活動素 A 胺基酸 1-116，但活動素 A 胺基酸位置 82-107 經活動素 B 對應之胺基酸位置 82-107 取代除外—SEQ ID NO：244)。

簡言之，使用全長活動素 A 選殖株爲模板，使用 Pfu

超聚合酶(Stratagene)及引子(SEQ ID NO：245 及 SEQ ID NO：246)在成熟蛋白質序列的開始經由 PCR 增幅。所得 PCR 產物經管柱純化(Qiagen)，以 SalI 及 XbaI 限制酵素(Roche)分解及經凝膠單離(Qiagen)。經由使用 Gene Designer 程式(Version 1.0.4，DNA 2.0，Inc.)(BMC Bioinformatics，7：285(2006))，利用全長活動素 A 及活動素 B 的胺基酸序列並反轉譯爲在哺乳動物宿主細胞內最佳表現的 DNA 序列密碼以設計含有經修飾成熟蛋白質序列之合成基因卡夾(synthetic gene cassettes)。以 XbaI 及 NotI 分解序列並經凝膠單離。在標準反應條件下使用 T4 DNA 連接酶(New England Biolabs，Inc.)與 13-39 合成基因片段(SEQ ID NO：247)或 82-107 合成基因片段(SEQ ID NO：213)以及 SalI/NotI 分解之表現載體(pDRSa 24)連接活動素 A 的 PCR 產物以產生全長表現構築體。然後利用胺基酸 13-39 經活動素 B 序列置換的活動素 A 合成基因構築體(SEQ ID NO：247)，以及胺基酸 82—107 經活動素 B 序列置換的活動素 A 合成基因構築體(SEQ ID NO：248)於抗原決定基定圖譜實驗(結果示於第 12 圖)。

從前述，雖然本發明之專一具體例已爲舉例說明敘述於本文，可製造各種修飾而未脫離本發明之精神及範圍。因此，除添附之申請專利範圍外本發明不受限制。揭示於文中之全部刊物，公開之專利申請案及專利文件特此併入參考。

【圖式簡單說明】

第 1 圖提供膠原誘發之關節炎小鼠處以抗-活動素 A 抗體 A1 之肌肉質量變化。

第 2 圖提供膠原誘發之關節炎小鼠處以抗-活動素 A 抗體 A1 之脂肪質量變化。

第 3 圖提供數據顯示於具有肌肉內 CHO/活動素異種移植之年輕成熟裸小鼠(nude mice)，使用抗體 A1、A2 及 A3 之抗-活動素 A 治療可防止體重減少。

第 4 圖提供 NMR 數據顯示於具有肌肉內 CHO/活動素異種移植之年輕成熟裸小鼠(nude mice)，抗-活動素 A 治療可防止淨體質(lean body mass)的損失。

第 5 圖提供經 AAV-活動素 A 轉導小鼠中，抗-活動素 A 抗體 A1 對體重改變的影響。

第 6 圖提供 CDF1 小鼠結腸-26 癌症惡病質模式中，接種腫瘤 18 天後，有及無抗-活動素 A 抗體 A1 治療之腓腸肌肌肉質量。

第 7 圖顯示活動素 A 模式，圈出抗體結合區域。K21，K103 及 X94 是指位於位置 21 及 103 之離胺酸殘基以及位於位置 94 之酪胺酸殘基。

第 8 圖是顯示使用 KinExA 測定之抗體 A1，A2 及 A3 之結合親和力圖。解離平衡常數是使用雙曲線一位同次結合模式(dual-curve one-site homogeneous binding model)使用 KinExA 軟體從競爭曲線之非線性回歸獲得。

第 9 圖顯示經由抗體 A1，A2 或 A3 之結合未免受降解

之抗原決定基區域。

第10圖顯示抗體A1，A2及A3對完整的活動素A(以55批表示)之結合親和力圖，以及活動素A爲在胺基酸位置94號酪胺酸殘基裂解(以38批表示)。

第11圖顯示抗體A1，A2及A3之結合親和力圖，以及固定之抗體表面上活動素A或活動素B之兩市售抗體。

第12圖顯示以抗體A1及A2結合至活動素A/活動素B嵌合體之抗體，以及兩市售之活動素A抗體。

第13圖顯示第11圖所述抗體測試所用之活動素A/活動素B嵌合體之胺基酸序列。

第14圖顯示包括A1，A2及A3之數種抗體結合至活動素A的不同抗原決定基；也測試兩市售活動素A抗體。

【元件符號說明】

無。

五、中文發明摘要：

所揭示提供有關或衍生自抗活動素 A(anti-activin A)結合蛋白質，包括抗體之組成物及方法。在特殊具體例中，所揭示者提供結合人類活動素 A 之完全人類、人類化及嵌合性抗活動素 A 抗體，此等抗體之活動素 A 結合片段及衍生物，以及含有此等片段之活動素 A 結合多肽。其他具體例提供編碼此等抗體、抗體片段及衍生物與多肽之核酸，以及含有此等多核苷酸之細胞，製造此等抗體、抗體片段及衍生物與多肽之方法，以及使用此等抗體、抗體片段及衍生物與多肽之方法，包括治療或診斷患者具有活動素 A 有關疾病或狀況(包括有關生殖腺癌症、其他癌症、類風濕性關節炎之惡病質以及其他疾病)之方法。

六、英文發明摘要：

The disclosure provides compositions and methods relating to or derived from anti-activin A binding proteins, including antibodies. In particular embodiments, the disclosure provides fully human, humanized, and chimeric anti-activin A antibodies that bind human activin A, activin A-binding fragments and derivatives of such antibodies, and activin A-binding polypeptides comprising such fragments. Other embodiments provide nucleic acids encoding such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, cells comprising such polynucleotides, methods of making such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, and methods of using such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, including methods of treating or diagnosing subjects having activin A-related disorders or conditions including cachexia related to gonadal cancer, other cancers, rheumatoid arthritis, and other diseases.

十、申請專利範圍：

1.一種單離之抗原結合蛋白質，含有任一：

a.一輕鏈 CDR3，含有選自由下列所組群組之序列：

i.一輕鏈 CDR3 序列，其與選自由 SEQ ID NO:13、29、45、61、77、93、109、125、141、157、173、189 及 205 之輕鏈 CDR3 序列所組群組之 CDR3 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；

ii. X_{73} Q X_{74} X_{75} X_{76} X_{77} X_{78} X_{79} X_{80}；

iii. L Q H N X_{81} Y X_{82} X_{83} T；以及

iv. Q A W D X_{84} S T X_{85} X_{86}；或

b.一重鏈 CDR3，含有選自由下列所組群組之序列：

i.一重鏈 CDR3 序列，其與選自由 SEQ ID NO:16、32、48、64、80、96、112、144、160、176、208 及 224 之 H1-H14 重鏈 CDR3 序列所組群組之 CDR3 序列差異不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除；

ii. X_{87} X_{88} X_{89} X_{90} X_{91} X_{92} X_{93} X_{94} F D Y；

iii. X_{95} X_{96} X_{97} Y X_{98} D X_{99} X_{100} G W X_{101} X_{102} X_{103}；

iv. X_{104} X_{105} X_{106} X_{107} X_{108} X_{109} Y X_{110} X_{111} X_{112} X_{113} X_{114} X_{115} X_{116} X_{117} X_{118}；或

c. (a)之輕鏈 CDR3 序列以及(b)之重鏈 CDR3 序列；其中

X_{73} 爲甲硫胺酸殘基，麩醯胺酸殘基，或精胺酸殘基，

X_{74} 爲丙胺酸殘基，酪胺酸殘基，麩醯胺酸殘基，或絲胺酸殘基，

X_{75} 爲白胺酸殘基，酪胺酸殘基，或天冬醯胺酸殘基，

X_{76} 爲麩醯胺酸殘基，絲胺酸殘基，或酥胺酸殘基，

X_{77} 爲酥胺酸殘基，酪胺酸殘基，或異白胺酸殘基，

X_{78} 爲脯胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_{79} 爲半胱胺酸殘基，色胺酸殘基，白胺酸殘基，或脯胺酸殘基，

X_{80} 爲絲胺酸殘基或酥胺酸殘基，

X_{81} 爲酥胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_{82} 爲脯胺酸殘基或酥胺酸殘基，

X_{83} 爲苯丙胺酸殘基或色胺酸殘基，

X_{84} 爲精胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_{85} 爲纈胺酸殘基或丙胺酸殘基，

X_{86} 爲纈胺酸殘基或沒有殘基，

X_{87} 爲纈胺酸殘基或沒有殘基，

X_{88} 爲麩醯胺酸殘基或沒有殘基，

X_{89} 爲天冬胺酸殘基，色胺酸殘基，或沒有殘基，

X_{90} 爲絲胺酸殘基，白胺酸殘基，或沒有殘基，

X_{91} 爲異白胺酸殘基，麩胺酸殘基，或麩醯胺酸殘基，

X_{92} 爲丙胺酸殘基，白胺酸殘基，或甘胺酸殘基，

X_{93} 爲丙胺酸殘基或白胺酸殘基，

X_{94} 爲脯胺酸殘基，酪胺酸殘基，或甘胺酸殘基，

X_{95} 爲天冬胺酸殘基或沒有殘基，

X_{96} 爲麩醯胺酸殘基或沒有殘基，

X_{97} 爲天冬胺酸殘基或丙胺酸殘基，

X_{98} 爲酪胺酸殘基或甘胺酸殘基，

X_{99} 爲絲胺酸殘基或酪胺酸殘基，

X_{100} 爲絲胺酸殘基或精胺酸殘基，

X_{101} 爲苯丙胺酸殘基或沒有殘基，

X_{102} 爲甘胺酸殘基或天冬胺酸殘基，

X_{103} 爲組胺酸殘基或脯胺酸殘基，

X_{104} 爲甘胺酸殘基或沒有殘基，

X_{105} 爲絲胺酸殘基，麩胺酸殘基，或沒有殘基，

X_{106} 爲精胺酸殘基，絲胺酸殘基，或沒有殘基，

X_{107} 爲天冬胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，絲胺酸殘基，或麩醯胺酸殘基，

X_{108} 爲絲胺酸殘基，精胺酸殘基，或色胺酸殘基，

X_{109} 爲甘胺酸殘基，天冬胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，酪胺酸殘基，或白胺酸殘基，

X_{110} 爲絲胺酸殘基，甘胺酸殘基，天冬胺酸殘基，或沒有殘基，

X_{111} 爲絲胺酸殘基，纈胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，或酪胺酸殘基，

X_{112} 爲絲胺酸殘基，天冬醯胺酸殘基，酪胺酸殘基，或組胺酸殘基，

X_{113} 爲色胺酸殘基，酪胺酸殘基，或麩醯胺酸殘基，

X_{114} 爲組胺酸殘基，天冬胺酸殘基，酪胺酸殘基，或沒有殘基，

X_{115} 爲苯丙胺酸殘基，丙胺酸殘基，或甘胺酸殘基，

X_{116} 爲天冬胺酸殘基，苯丙胺酸殘基，白胺酸殘基，或甲

硫胺酸殘基，

X_{117}為酪胺酸殘基，或天冬胺酸殘基，

X_{118}為異白胺酸殘基，纈胺酸殘基，或沒有殘基；

以及該抗原結合蛋白質專一結合人類活動素A。

2.如申請專利範圍第1項之單離之抗原結合蛋白質，含有選自由下列所組群組之胺基酸序列：

a.一輕鏈CDR1序列，其與SEQ ID NO:11、27、43、59、75、91、107、155、171、203及219之L1-L14之CDR1序列差異不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除；

b.一輕鏈CDR2序列，其與SEQ ID NO:12、28、44、60、76、156、172、204及220之L1-L14之CDR2序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；

c.一輕鏈CDR3序列，其與SEQ ID NO:13、29、45、61、77、93、109、125、141、157、173、189及205之L1-L14之CDR3序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；

d.一重鏈CDR1序列，其與SEQ ID NO:14、30、46、62、78、94、110、126、158、174、190、206及222之H1-H14之CDR1序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除；

e.一重鏈CDR2序列，其與SEQ ID NO:15、31、47、63、79、95、111、127、159、175、207及223之H1-H14之CDR2序列差異不超過總計三個胺基酸添加、取代、及/或刪除；以及

f.一重鏈 CDR3 序列，其與 SEQ ID NO:16、22、32、48、64、80、96、112、144、160、176、192、208 及 244 之 H1-H14 之 CDR3 序列差異不超過總計兩個胺基酸添加、取代、及/或刪除。

3.如申請專利範圍第 1 項之單離之抗原結合蛋白質，含有選自由下列所組群組之序列：

a.一輕鏈 CDR1 序列，選自由下列所組群組：

i. (R/K)SSQS(L/I)L(H/Y)S(T/S)(G/N)(Y/N)(N/K)(-/K)YL(D/V)；

ii. RA(S/G)QGI(S/R)N(D/N)L(V/G)；

iii. RASQSISNYLNT；以及

iv. SG(D/E)K(L/W)G(D/E)K(F/Y)(A/V)(F/C)；

b.一輕鏈 CDR2 序列，選自由下列所組群組：

i. (H/Q/L)D(T/N/S)KRPS；以及

ii. X_{40} X_{41} S X_{42} X_{43} X_{44} S，其中

X_{40} 爲丙胺酸殘基，色胺酸殘基，或白胺酸殘基，

X_{41} 爲酥胺酸殘基，丙胺酸殘基，或甘胺酸殘基，

X_{42} 爲絲胺酸殘基，甲硫胺酸殘基，或苯丙胺酸殘基，

X_{43} 爲白胺酸殘基或精胺酸殘基，

X_{44} 爲麩醯胺酸殘基，麩胺酸殘基，或丙胺酸殘基；

c.一重鏈 CDR1 序列，選自由下列所組群組：

i. GGS(I/F)(N/S)(S/A)(-/G)(-/G)(F/Y)YWS；

ii. G X_{27} X_{28} F X_{29} X_{30} Y X_{31} X_{32} X_{33}，其中

X_{27} 爲酪胺酸殘基或苯丙胺酸殘基，

X_{28} 爲酥胺酸殘基或絲胺酸殘基，

X_{29} 爲 酥 胺 酸 殘 基 ， 絲 胺 酸 殘 基 ， 或 異 白 胺 酸 殘 基 ，

X_{30} 爲 甘 胺 酸 殘 基 或 絲 胺 酸 殘 基 ，

X_{31} 爲 酪 胺 酸 殘 基 ， 甘 胺 酸 殘 基 ， 或 色 胺 酸 殘 基 ，

X_{32} 爲 異 白 胺 酸 殘 基 或 甲 硫 胺 酸 殘 基 ，

X_{33} 爲 組 胺 酸 殘 基 或 甘 胺 酸 殘 基 ； 以 及

iii. G(Y/F)TF(T/S)(S/A)Y(G/W)(L/M/I)(S/H)；

d.一 重 鏈 CDR2 序 列 ， 選 自 由 下 列 所 組 群 組 ：

i. (Y/E)I(S/Y/N)(Y/H)SG(S/G)T(Y/N)YNPSLK(S/R)；

ii. (V/N)I(K/W)(Y/Q)DGS(N/E/T)(K/E)Y(H/Y)(A/V)DSVKG；以 及

iii. X_{60} I X_{61} X_{62} X_{63} X_{64} X_{65} X_{66} T X_{67} X_{68} X_{69} X_{70} X_{71} X_{72} Q G

X_{60} 爲 色 胺 酸 殘 基 或 異 白 胺 酸 殘 基 ，

X_{61} 爲 天 冬 醯 胺 酸 殘 基 ， 異 白 胺 酸 殘 基 ， 絲 胺 酸 殘 基 ， 或 酪 胺 酸 殘 基 ，

X_{62} 爲 脯 胺 酸 殘 基 或 丙 胺 酸 殘 基 ，

X_{63} 爲 天 冬 醯 胺 酸 殘 基 ， 酪 胺 酸 殘 基 ， 或 甘 胺 酸 殘 基 ，

X_{64} 爲 絲 胺 酸 殘 基 ， 天 冬 醯 胺 酸 殘 基 ， 或 天 冬 胺 酸 殘 基 ，

X_{65} 爲 甘 胺 酸 殘 基 或 絲 胺 酸 殘 基 ，

X_{66} 爲 甘 胺 酸 殘 基 ， 天 冬 醯 胺 酸 殘 基 ， 或 天 冬 胺 酸 殘 基 ，

X_{67} 爲 天 冬 醯 胺 酸 殘 基 或 精 胺 酸 殘 基 ，

X_{68} 爲 酪 胺 酸 殘 基 或 絲 胺 酸 殘 基 ，

X_{69} 爲 丙 胺 酸 殘 基 或 絲 胺 酸 殘 基 ，

X_{70} 爲 麩 醯 胺 酸 殘 基 或 脯 胺 酸 殘 基 ，

X_{71} 爲 離 胺 酸 殘 基 或 絲 胺 酸 殘 基 ， 以 及

X_{72} 爲 苯 丙 胺 酸 殘 基 或 白 胺 酸 殘 基 ，

其中圓括號所圍胺基酸殘基符號視爲序列中相同位置之替代殘基。

4.如申請專利範圍第1項之單離之抗原結合蛋白質，含有下列任一：

a.一輕鏈可變功能部位，含有：

i. SEQ ID NO:11、27、43、59、75、91、107、155、171、203及219之輕鏈CDR1序列；

ii. SEQ ID NO:12、28、44、60、76、156、172、204及220之輕鏈CDR2序列；以及

iii. SEQ ID NO:13、29、45、61、77、93、109、125、141、157、173、189及205之輕鏈CDR3序列；

b.一重鏈可變功能部位，含有：

i. SEQ ID NO:14、30、46、62、78、94、110、126、158、174、190、206及222之重鏈CDR1序列；

ii. SEQ ID NO:15、31、47、63、79、95、111、127、159、175、191、207及223之重鏈CDR2序列；以及

iii. SEQ ID NO: 16、22、32、48、64、80、96、112、144、160、176、192、208及244之重鏈CDR3序列；或

c. (a)之輕鏈可變功能部位以及(b)之重鏈可變功能部位。

5.一種單離之抗原結合蛋白質，含有任一：

a.選自由下列所組群組之一輕鏈可變功能部位序列：

i.一胺基酸序列至少80%相同於SEQ ID NO:9、25、41、57、73、89、105、121、137、153、169、185、201及217之L1-L14之輕鏈可變功能部位序列；

ii.一胺基酸序列，編碼它的多核苷酸序列至少80%相同於編碼SEQ ID NO:9、25、41、57、73、89、105、121、137、153、169、185、201及217之L1-L14之輕鏈可變功能部位序列之多核苷酸序列；以及

iii.一胺基酸序列，編碼它的多核苷酸序列在中度嚴格條件下雜化至由SEQ ID NO:1、17、33、49、65、81、97、113、129、145、161、177、193及209之L1-L14之輕鏈可變功能部位序列所組成之多核苷酸的互補體；

b.選自由下列所組群組之一重鏈可變功能部位序列：

i.一胺基酸序列至少80%相同於SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202及218之H1-H14之重鏈可變功能部位序列；

ii.一胺基酸序列，編碼它的多核苷酸序列至少80%相同於編碼SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202及218之H1-H14之重鏈可變功能部位序列之多核苷酸序列；以及

iii. 一胺基酸序列，編碼它的多核苷酸序列在中度嚴格條件下雜化至由SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194及210之H1-H14之重鏈可變功能部位序列所組成之多核苷酸的互補體；

c.(a)之輕鏈可變功能部位以及(b)之重鏈可變功能部位；

其中該抗原結合蛋白質結合至人類活動素A。

6.如申請專利範圍第5項之單離之抗原結合蛋白質，含有下列任一：

a.選自由 SEQ ID NO:9、25、41、57、73、89、105、121、137、153、169、185、201及217之L1-L14所組群組之一輕鏈可變功能部位序列；

b.選自由 SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202及218之H1-H14所組群組之一重鏈可變功能部位序列；或

c.(a)之輕鏈可變功能部位以及(b)之重鏈可變功能部位。

7.如申請專利範圍第1或5項之單離之抗原結合蛋白質，當結合活動素A時：

a.抑制活動素A；

b.與結合活動素A之關聯抗體交叉競爭；

c.結合到如該關聯抗體之活動素A的相同抗原決定基；

d.以如該關聯抗體之實質相同Kd結合活動素A；或

e.以如該關聯抗體之實質相同脫落速率結合活動素A

其中關聯抗體含有輕鏈及重鏈可變功能部位序列之組合，其係選自由下列所組成之組合群組：L1H1，L2H2，L3H3，L4H4，L5H5，L6H6，L7H7，L8H8，L9H9，L10H10，L11H11，L12H12，L13H13，以及L14H14。

8.如申請專利範圍第1或5項之單離之抗原結合蛋白質，當其結合到人類活動素A時，可抑制活動素A結合到人類活動素A受器(activin A receptor)。

9.如申請專利範圍第1或5項之單離之抗原結合蛋白質，其中該抗原結合蛋白質具有人類抗-活動素A抗體之至少一活體內(*in vivo*)生物活性。

；例如

10.如申請專利範圍第 9 項之單離之抗原結合蛋白質，其中該生物活性是惡病質之減弱。

11.如申請專利範圍第 9 項之單離之抗原結合蛋白質，其於具有結腸腫瘤之小鼠減弱惡病質。

12.如申請專利範圍第 9 項之單離之抗原結合蛋白質，其於具有結腸腫瘤之小鼠改善體重的減少。

13.如申請專利範圍第 9 項之單離之抗原結合蛋白質，其於膠原誘發之類風濕性關節炎動物模式中改善體重的減少。

14.如申請專利範圍第 9 項之單離之抗原結合蛋白質，其於膠原誘發之類風濕性關節炎動物模式中改善肌肉質量的損失。

15.如申請專利範圍第 9 項之單離之抗原結合蛋白質，其於膠原誘發之類風濕性關節炎動物模式中改善脂肪質量的損失。

16.如申請專利範圍第 9 項之單離之抗原結合蛋白質，其於 AAV-活動素 A 轉染之動物模式中改善體重的減少。

17.一種經單離之完全人類抗體，其專一結合至活動素 A 之半胱胺酸結區域(cysteine knot region)(胺基酸 C11-S33 及/或胺基酸 C81-E111)，其中該抗原結合蛋白質具有至少一人類抗-活動素 A 抗體的活體內生物活性。

18.如申請專利範圍第 17 項之經單離抗體，其中該生物活性是惡病質之減弱。

19.如申請專利範圍第 17 項之經單離抗體，其於具有結腸腫

瘤之小鼠減弱惡病質。

20.如申請專利範圍第 17 項之經單離抗體，其於具有結腸腫瘤之小鼠改善體重的減少。

21.如申請專利範圍第 17 項之經單離抗體，其於膠原誘發之類風濕性關節炎動物模式中改善體重的減少。

22.如申請專利範圍第 17 項之經單離抗體，其於膠原誘發之類風濕性關節炎動物模式中改善肌肉質量的損失。

23.如申請專利範圍第 17 項之經單離抗體，其於膠原誘發之類風濕性關節炎動物模式中改善脂肪質量的損失。

24.如申請專利範圍第 17 項之經單離抗體，其於 AAV-活動素 A 轉染之動物模式中改善體重的減少。

25.一種完全人類抗體，其專一結合至活動素 A 之半胱胺酸結區域(cysteine knot region)(胺基酸 C11-S33 及/或胺基酸 C81-E111)，其中該抗原結合蛋白質在活體外(*in vitro*)抑制活動素 A 與活動素 A 受器的結合。

26.一種完全人類經單離之抗體，其專一結合至活動素 A 之半胱胺酸結區域(cysteine knot region)(胺基酸 C11-S33 及/或胺基酸 C81-E111)，其中該抗原結合蛋白質在活體內(*in vivo*)抑制活動素 A 與活動素 A 受器的結合。

27.一種完全人類經單離之抗體，其專一結合至活動素 A 之胺基酸 K13—Y39，其中該抗原結合蛋白質在活體外(*in vitro*)抑制活動素 A 與活動素 A 受器的結合。

28.一種完全人類經單離之抗體，其專一結合至活動素 A 之胺基酸 V82—N107，其中該抗原結合蛋白質在活體外(*in vitro*)

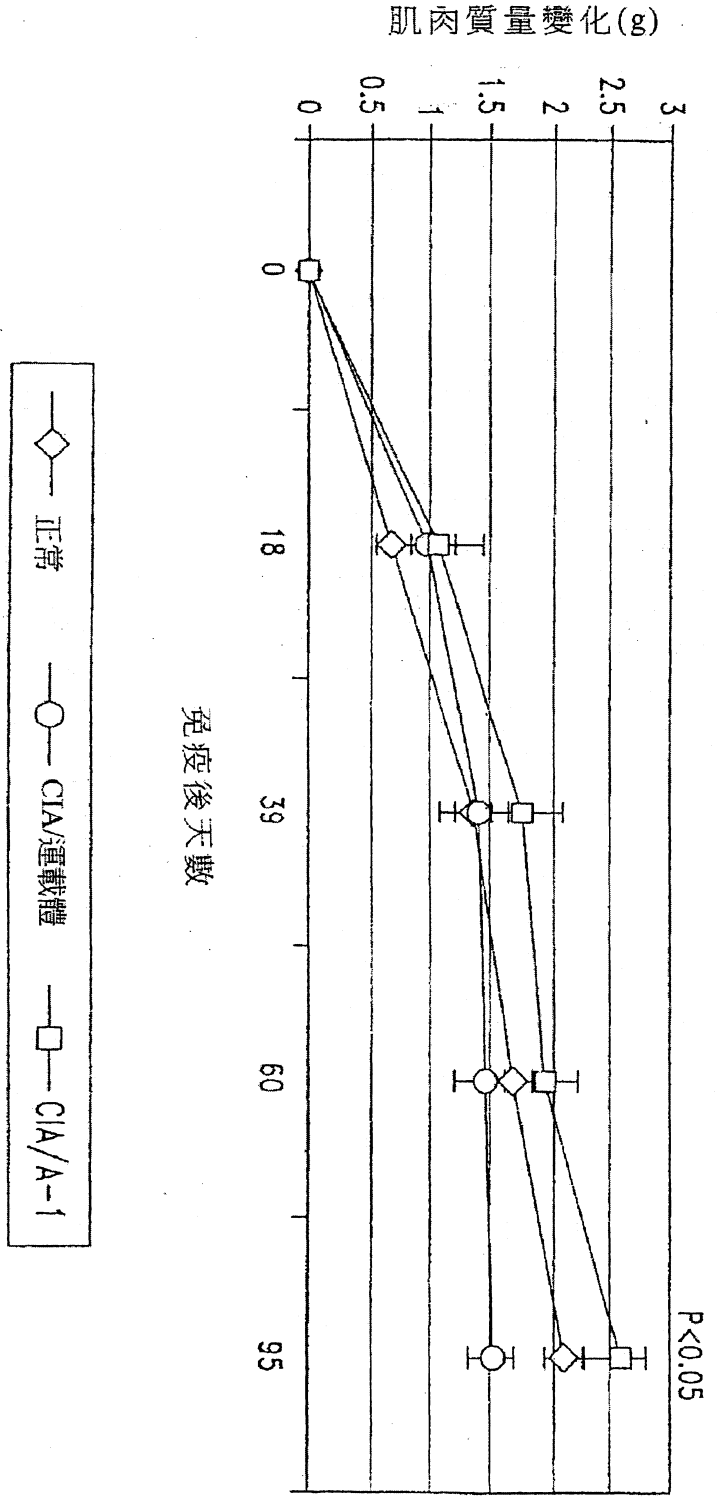
抑制活動素 A 與活動素 A 受器的結合。

29.一種完全人類經單離之抗體，其專一結合至活動素 A 之胺基酸 K13—Y39，其中該抗原結合蛋白質在活體內(*in vivo*)抑制活動素 A 與活動素 A 受器的結合。

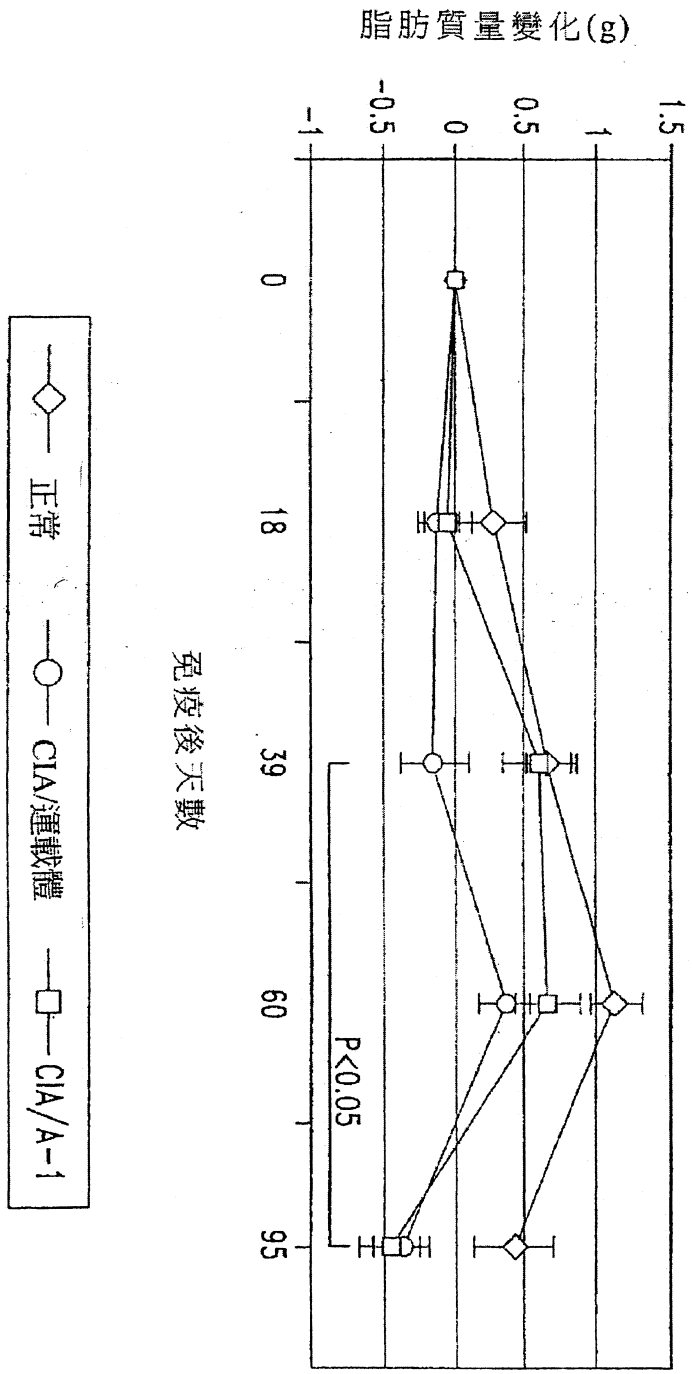
30.一種完全人類經單離之抗體，其專一結合至活動素 A 之胺基酸 V82—N107，其中該抗原結合蛋白質在活體內(*in vivo*)抑制活動素 A 與活動素 A 受器的結合。

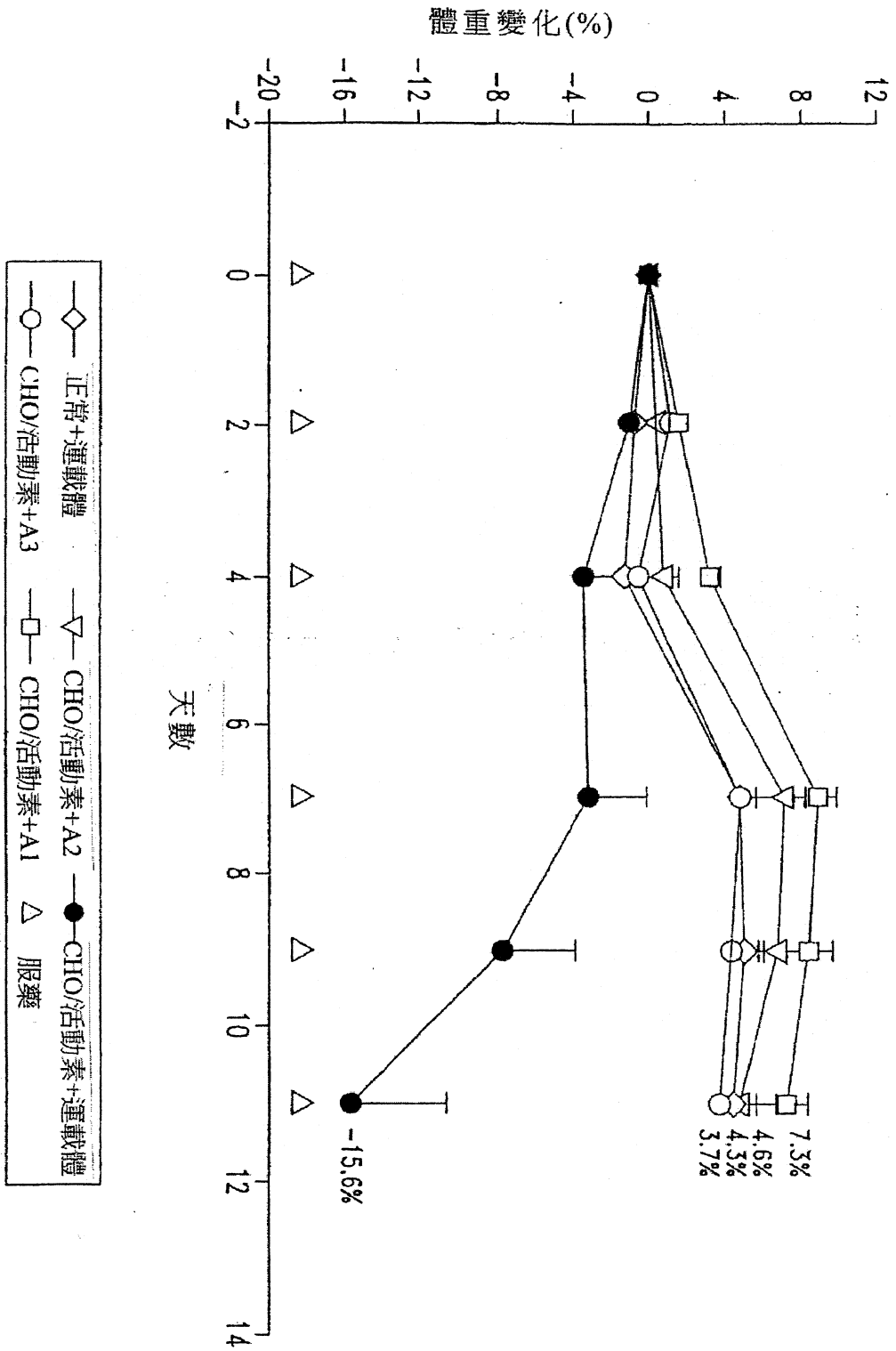
十一、圖式：

第 1 圖

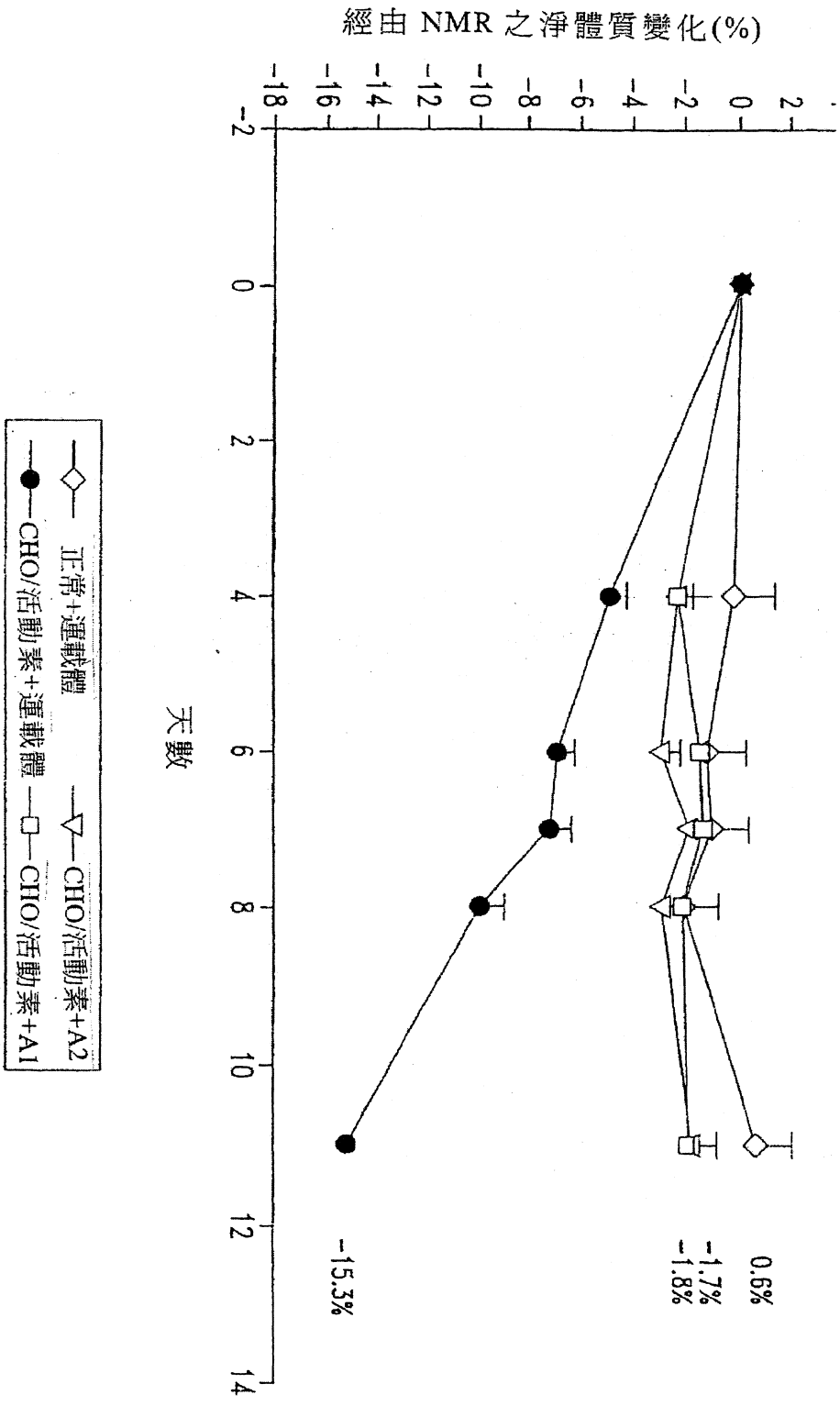


第 2 圖

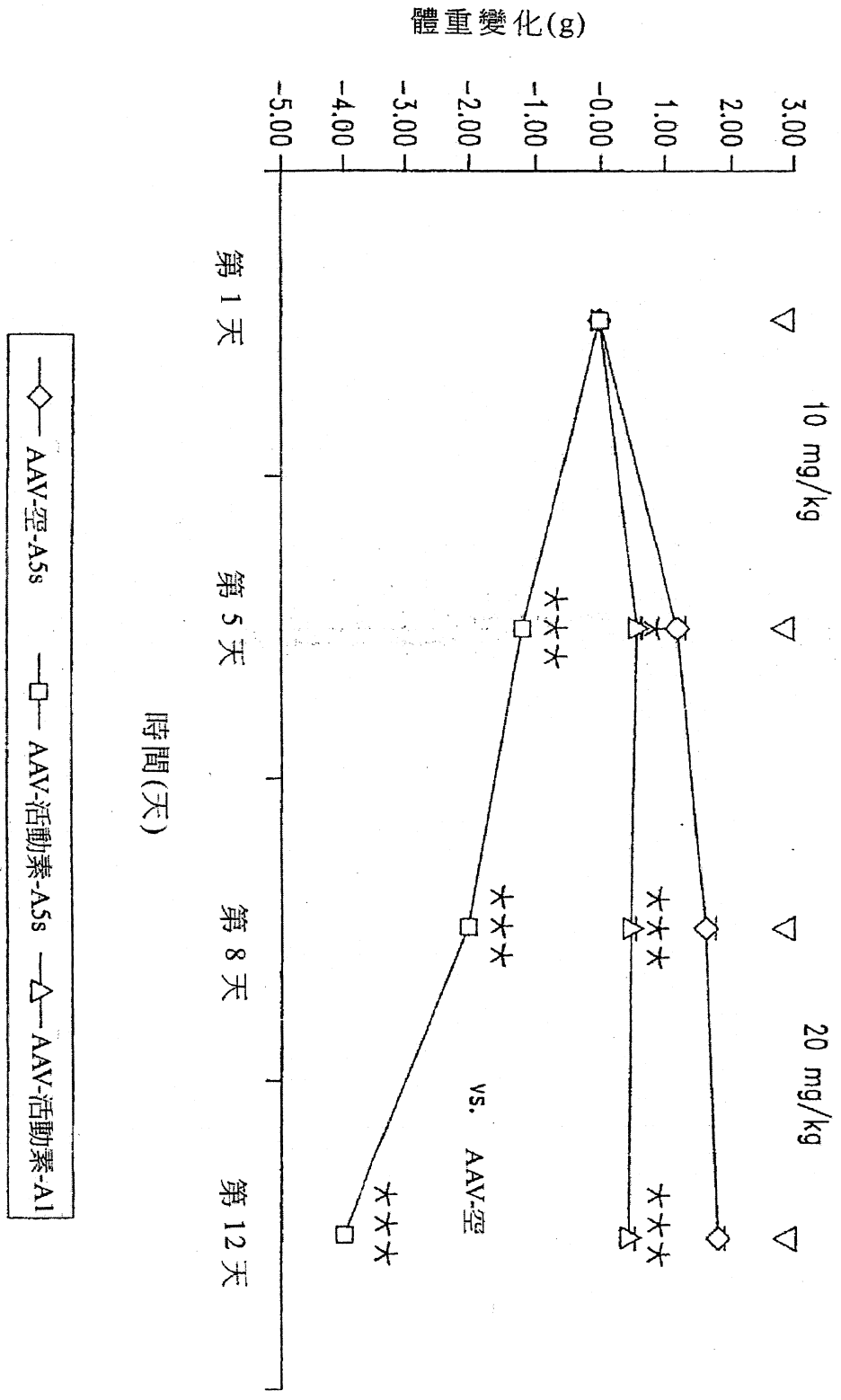



體重變化(%)
12
8
4
0
-4
-8
-12
-16
-20
-2
0
2
4
6
8
10
12
14
天數
7.3%
4.6%
4.3%
3.7%
-15.6%
正常+運載體
CHO/活動素+A2
CHO/活動素+運載體
CHO/活動素+A3
CHO/活動素+A1
服藥

第 3 圖

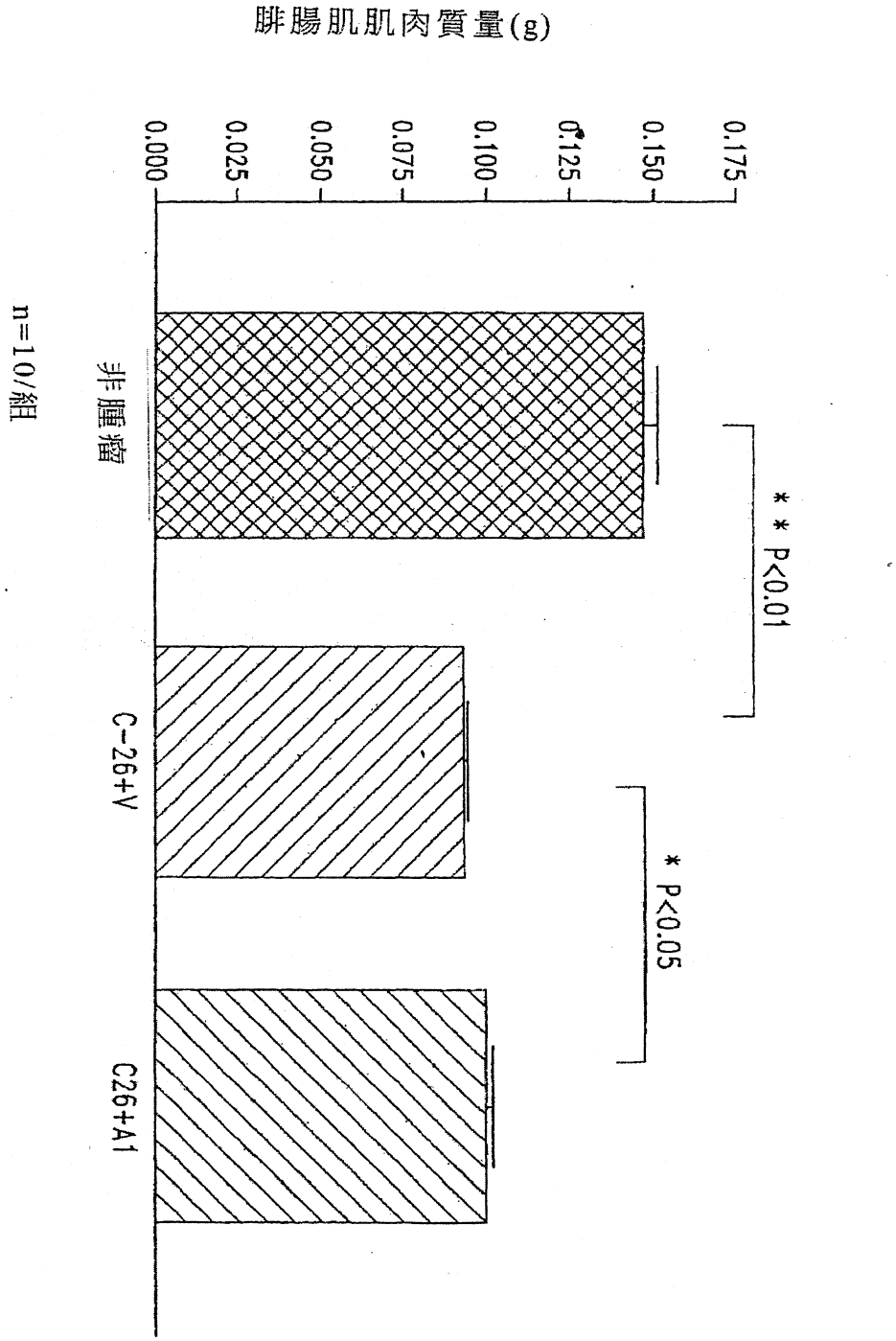

經由 NMR 之淨體質變化(%)
2
0
-2
-4
-6
-8
-10
-12
-14
-16
-18
-2
0
2
4
6
8
10
12
14
天數
正常+運載體
CHO/活動素+A2
CHO/活動素+運載體
CHO/活動素+A1
0.6%
-1.7%
-1.8%
-15.3%

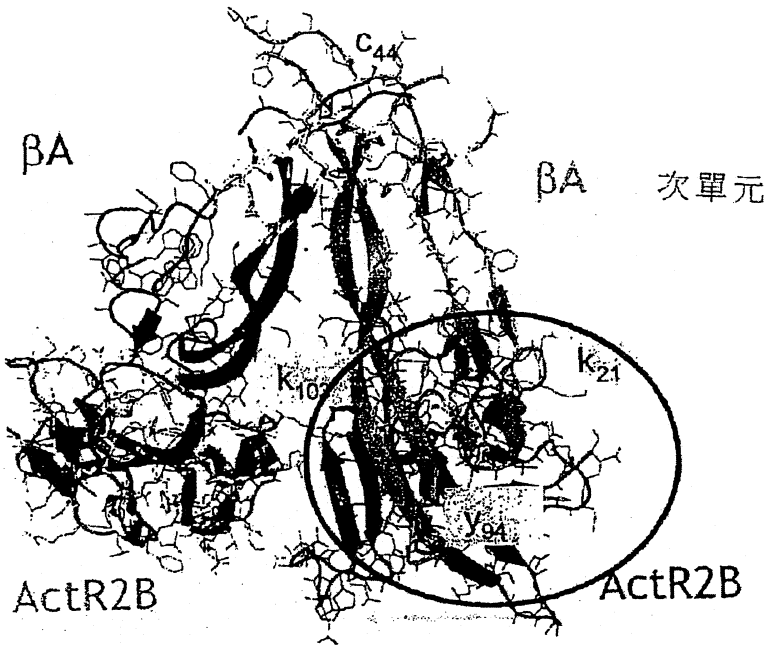
第 4 圖


體重變化(g)
3.00
2.00
1.00
-0.00
-1.00
-2.00
-3.00
-4.00
-5.00
10 mg/kg
20 mg/kg
第 1 天
第 5 天
第 8 天
第 12 天
時間(天)
vs. AAV-空
AAV-空-A5s
AAV-活動素-A5s
AAV-活動素-A1

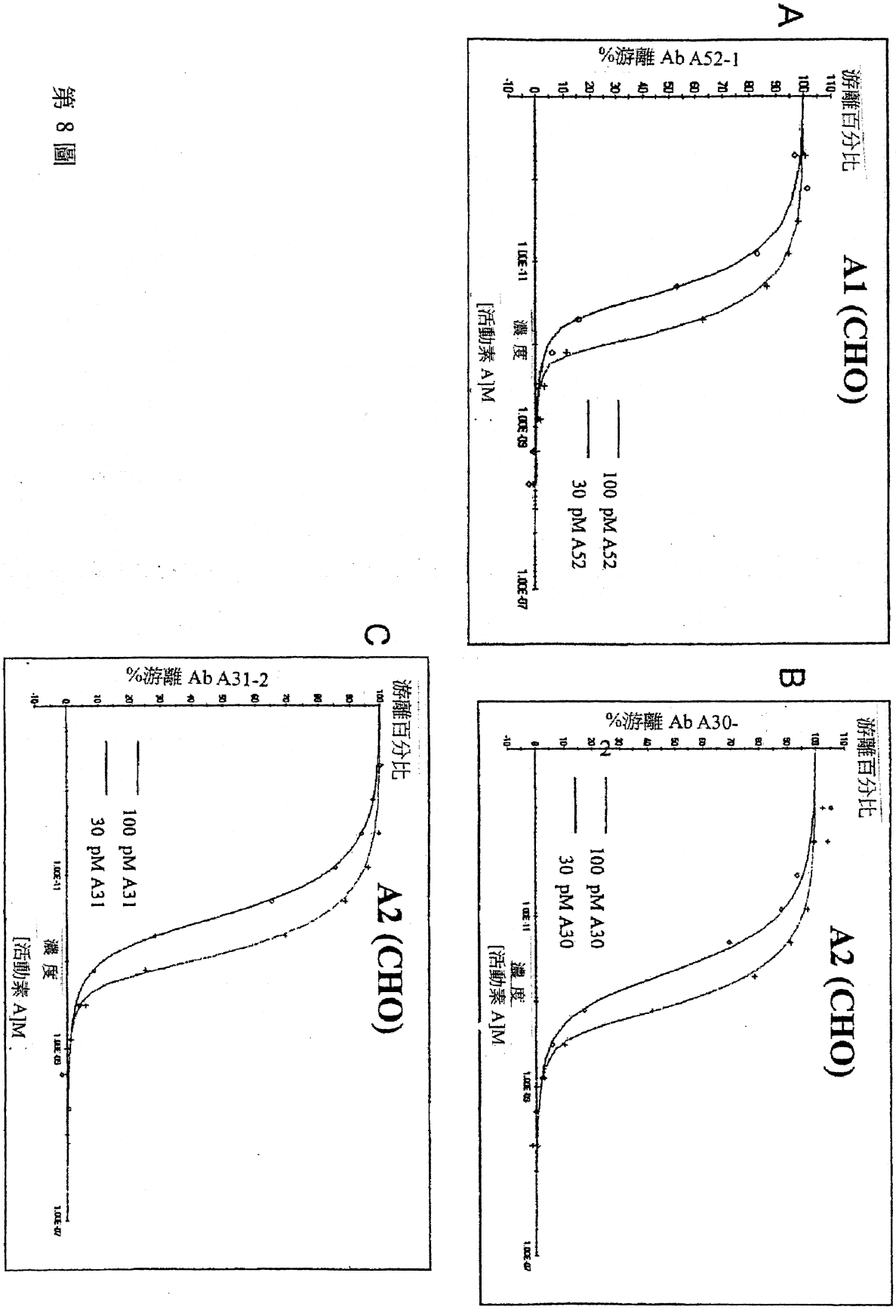
第 5 圖

第 6 圖

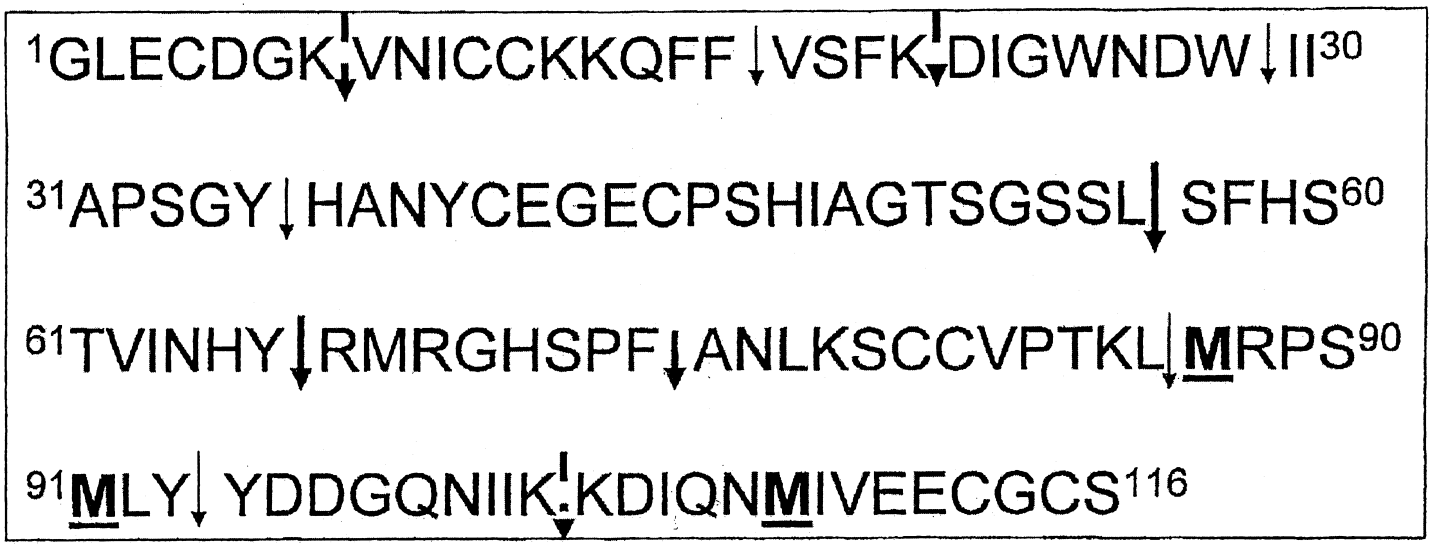

腓腸肌肌肉質量(g)
0.000
0.025
0.050
0.075
0.100
0.125
0.150
0.175
非腫瘤
C-26+V
C26+A1
n=10/組
** P<0.01
* P<0.05



第 7 圖


A
游離百分比
%游離 Ab A52-1
A1 (CHO)
100 pM A52
30 pM A52
濃 度
[活動素 A]M
B
游離百分比
%游離 Ab A30-
A2 (CHO)
100 pM A30
30 pM A30
濃 度
[活動素 A]M
C
游離百分比
%游離 Ab A31-2
A2 (CHO)
100 pM A31
30 pM A31
濃 度
[活動素 A]M

第 8 圖



實心箭頭 -胰凝乳蛋白酶切割

實心箭頭 - LysC 切割

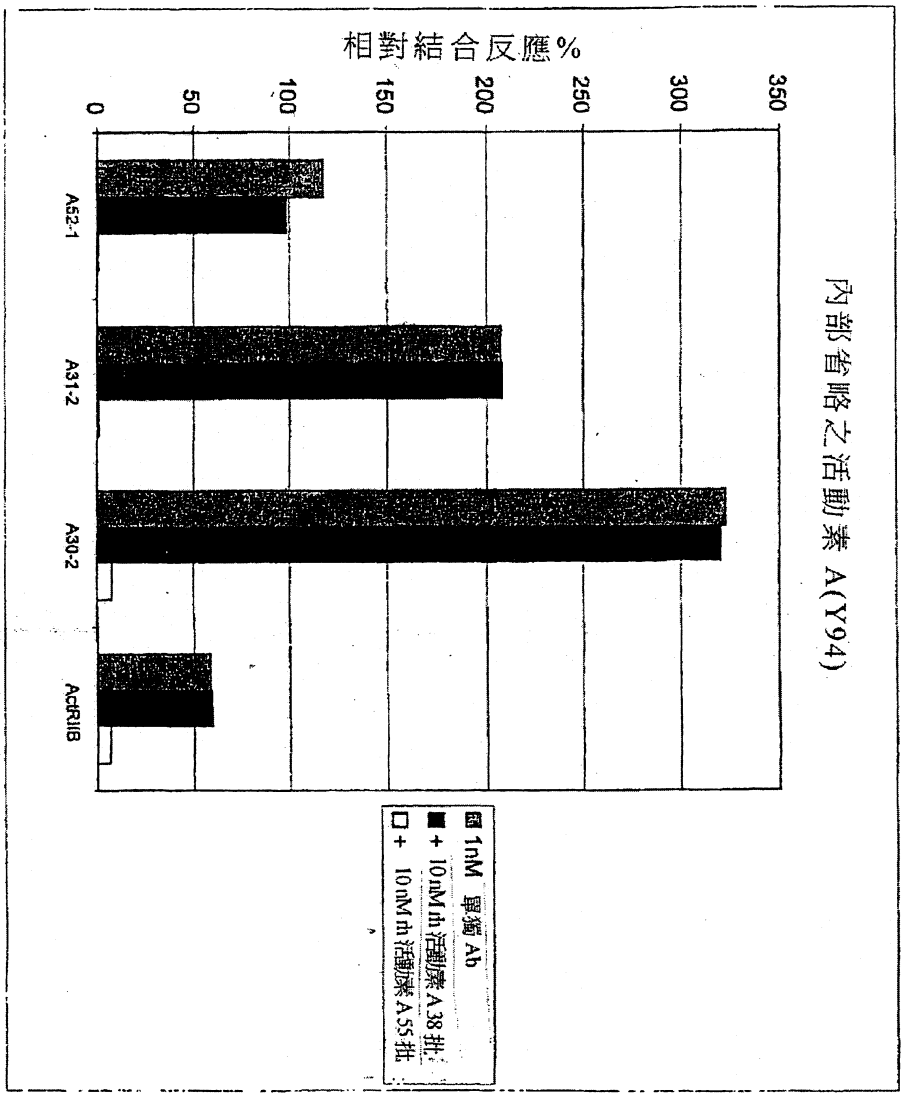
M – 推定之 CNBr 切割

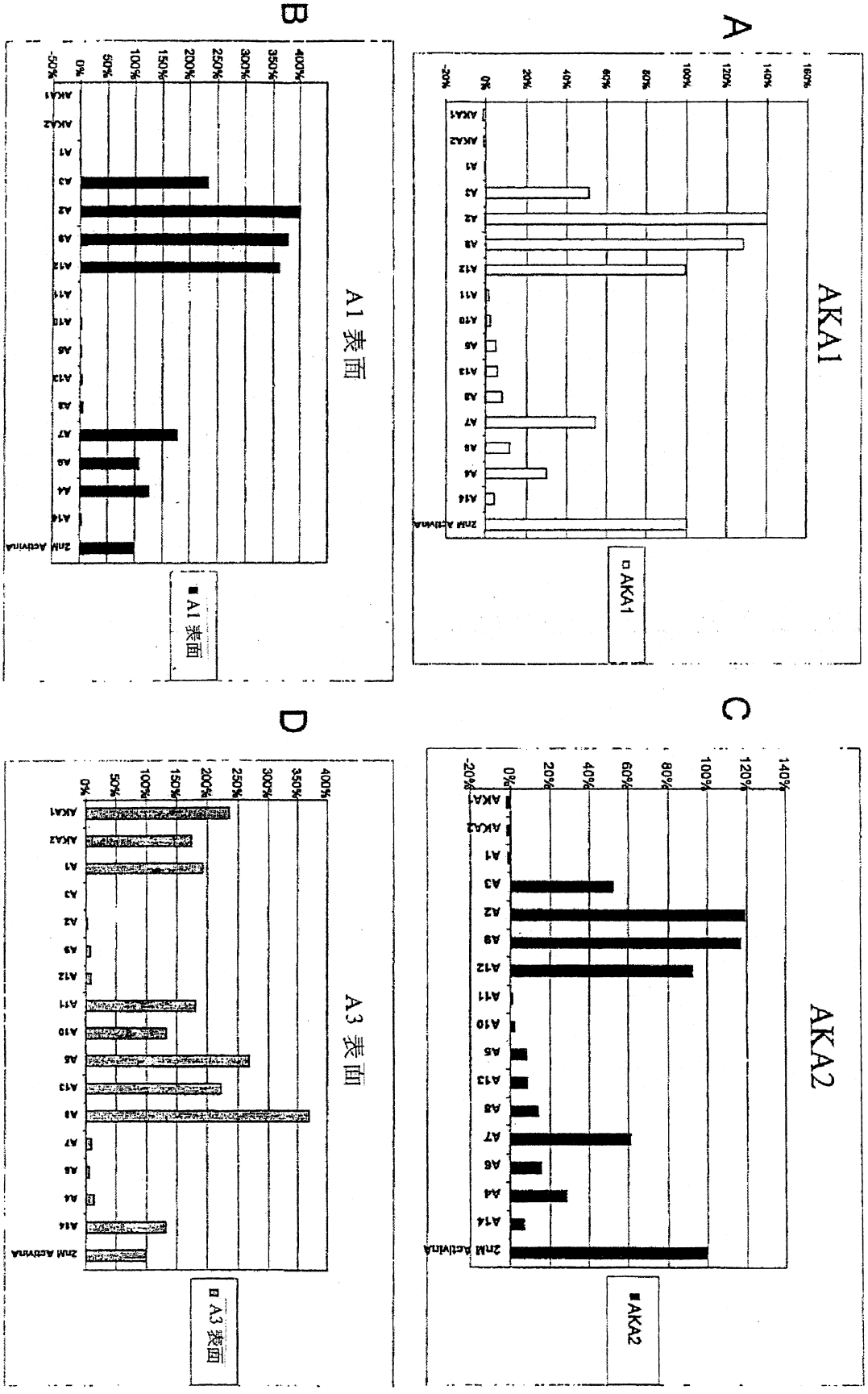
粗體箭頭及殘基未因抗體結合被保護

第 9 圖

200819466

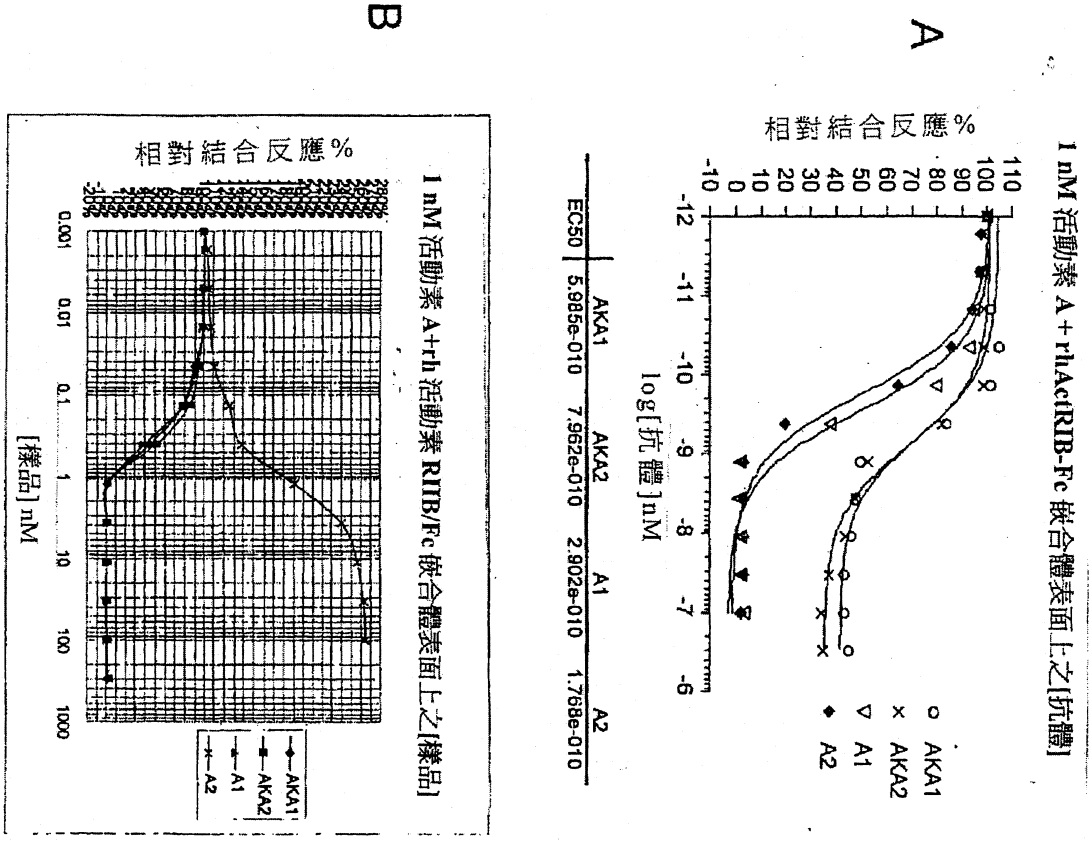
第 10 圖


內部省略之活動素 A(Y94)
相對結合反應%
0
50
100
150
200
250
300
350
A52-1
A31-2
A30-2
ActRIIB
1nM 單獨 Ab
+ 10nM h 活動素 A 38 批
+ 10nM m 活動素 A 55 批

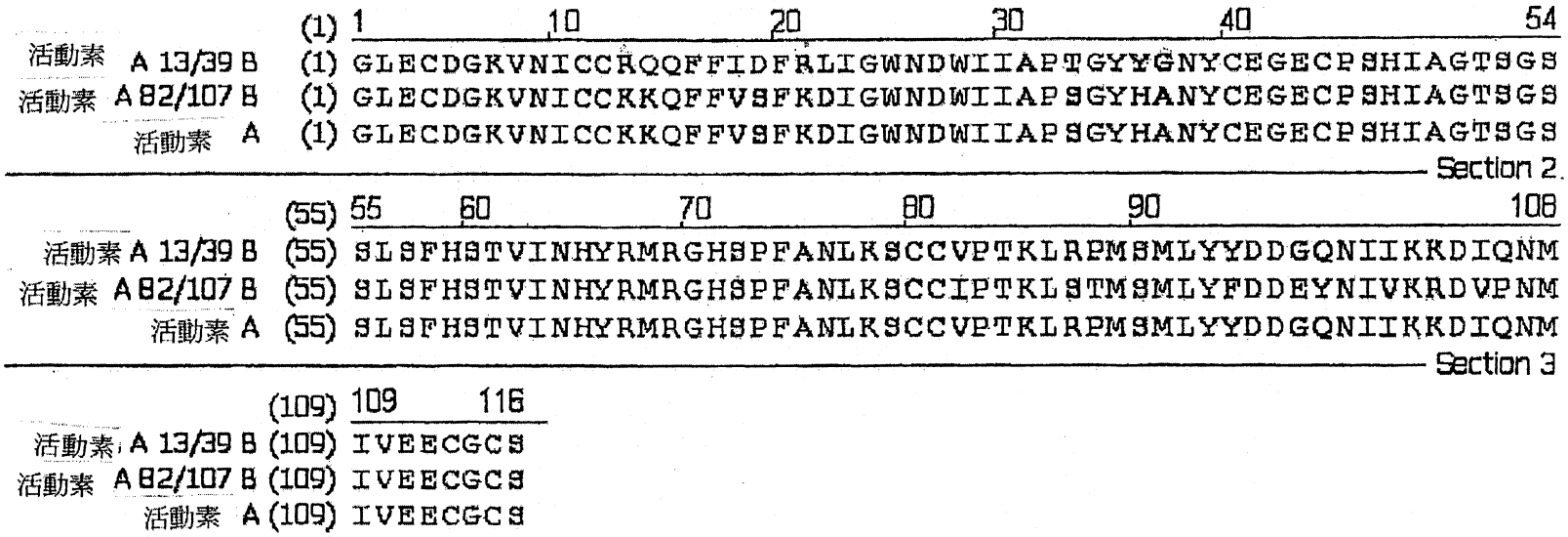

2 nM rh 活動素 A + 20 nM 固定之 Ab 表面上 Abs
A
AKA1
AKA1
B
A1 表面
A1 表面
C
AKA2
AKA2
D
A3 表面
A3 表面

第 11 圖

第 12 圖


A
1 nM 活動素 A + rhActRIB-Fc 嵌合體表面上之[抗體]
相對結合反應%
log[抗體]nM
AKA1
AKA2
A1
A2
EC50
AKA1 5.985e-010
AKA2 7.962e-010
A1 2.902e-010
A2 1.768e-010
B
1 nM 活動素 A+rh 活動素 RIIB/Fc 嵌合體表面上之[樣品]
相對結合反應%
[樣品] nM

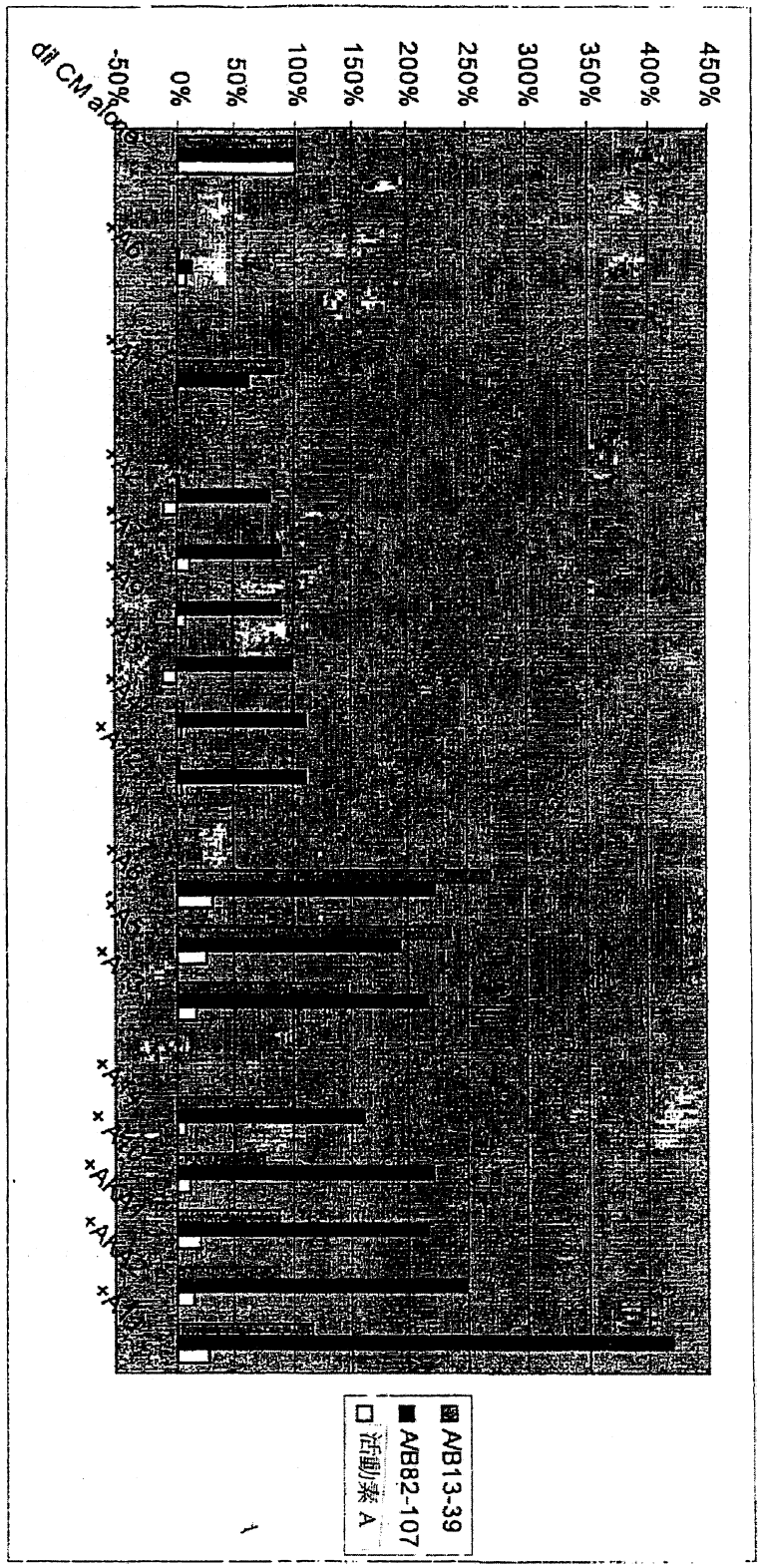
活動素 A/B 嵌合體



第 13 圖

200819466

100 nM 抗體阻斷 ActRIB-Fc 表面上之活動素 A/B 嵌合體



第 14 圖

序列表

<110> 應用分子基因公司

<120> 抗活動素A抗體及其用途

<130> 81428-11

<150> 60/843,430
<151> 2006-09-08

<160> 247

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 318
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 1
tcctatgagg tgactcaggc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgcttgtt ggtatcagca gaagccaggc 120
cagtcccctg tgctggtcat ctatcaagat agcaagcggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg aaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg 240
gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgcggtatt cggcggaggg 300
accaagctga ccgtccta 318

<210> 2
<211> 366
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 2
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta cacctttacc agttatggtc tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcatccctt acaatggtaa cacaaactct 180
gcacagaaac tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt atttctgtgc gagagacagg 300
gactacggtg tcaattatga tgcttttgat atctggggcc aagggacaat ggtcaccgtc 360
tcttca 366

<210> 3
<211> 33
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 3
tctggagata aattgggggga taaatatgct tgt 33

<210> 4
<211> 21
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 4
caagatagca agcggccctc a 21

<210> 5
<211> 27
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 5
caggcgtggg acagcagcac tgcggta 27

<210> 6
<211> 30
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 6
ggttacacct ttaccagtta tggtctcagc 30

<210> 7
<211> 51
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 7
tggatcatcc cttacaatgg taacacaaac tctgcacaga aactccaggg c 51

<210> 8
<211> 39
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 8
gacagggact acggtgtcaa ttatgatgct tttgatatc 39

<210> 9
<211> 106
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

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

<210> 10
<211> 122
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

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

<210> 11
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 11
Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala Cys
1 5 10

<210> 12
<211> 7
<212> PRT

<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 12
Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 13
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala Val
1 5

<210> 14
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 14
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asn Leu Gly
1 5 10

<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 15
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 16
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 17
<211> 321
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 17
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aataatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatttatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag tctgcagcct 240
gaagatttta caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 18
<211> 373
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 18
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agttacggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaataccat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaagtga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgt gagaagtcgg 300
aactggaact acgacaacta ctactacggt ctggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
accgtctcct cag 373

<210> 19

<211> 33
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 19
cgggcaagtc agggcattag aaataattta ggc 33

<210> 20
<211> 21
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 20
gctgcatcca gtttgcaaag t 21

<210> 21
<211> 27
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 21
ctacagcata atagttaccc gtggacg 27

<210> 22
<211> 30
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 22
ggattcacct tcagtagtta cggcatgcac 30

<210> 23
<211> 51
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 23
gttatatggt atgatggaag taataaatac catgcagact ccgtgaaggg c 51

<210> 24
<211> 45
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 24
agtcggaact ggaactacga caactactac tacggtctgg acgtc 45

<210> 25
<211> 107
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

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

<210> 26
<211> 124
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 26

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

<210> 27
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 27
```
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asn Leu Gly
 1               5                  10
```

<210> 28
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 28
```
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 1               5
```

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 29
```
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
 1               5
```

<210> 30
<211> 10
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 30
```
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
 1               5                  10
```

<210> 31
<211> 17
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 31
```
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr His Ala Asp Ser Val Lys
 1               5                  10                  15
Gly
```

<210> 32
<211> 15
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 32
Ser Arg Asn Trp Asn Tyr Asp Asn Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
1 5 10 15

<210> 33
<211> 321
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 33
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcgacag caaaatactt acccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 34
<211> 369
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 34
gaggtgcagt tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agttattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg cgtggccaac ataaagcaag atggaagtga ggaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ttcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggtagc 300
agcagctggt actactacaa ctacggtatg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 35
<211> 33
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 35
cgggcaagtc agggcattag aaatgattta ggc 33

<210> 36
<211> 21
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 36
gctgcatcca gtttgcaaag t 21

<210> 37
<211> 27
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 37
cgacagcaaa atacttaccc gctcact 27

<210> 38
<211> 30
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 38
ggattcacct ttagtagtta ttggatgagc 30

<210> 39
<211> 51
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 39
aacataaagc aagatggaag tgaggaatac tatgtggact ctgtgaaggg c 51

<210> 40
<211> 42
<212> DNA

<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 40
ggtagcagca gctggtacta ctacaactac ggtatggacg tc 42

<210> 41
<211> 107
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

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

<210> 42
<211> 123
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 42
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Cys Val
35 40 45
Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Glu Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Ser Ser Ser Trp Tyr Tyr Tyr Asn Tyr Gly Met Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 43
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 43
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly
1 5 10

<210> 44
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 44
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 45
Arg Gln Gln Asn Thr Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 46
<211> 10
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 46
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Ser
1 5 10

<210> 47
<211> 17
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 47
Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Glu Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 48
<211> 14
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 48
Gly Ser Ser Ser Trp Tyr Tyr Tyr Asn Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 49
<211> 336
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 49
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtactg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctcctgatct atttgggttc ttttcgggcc 180
tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt gggtcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct ccaaactccg 300
tgcagttttg gccaggggac caagctggag atcaag 336

<210> 50
<211> 363
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 50
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tccactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtggtgg cacaaactat 180
gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt atttctgtgc gagagattcg 300
gggtatagca gcagctggca ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 51
<211> 48
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 51
aggtctagtc agagcctcct gcatagtact ggatacaact atttggat 48

<210> 52
<211> 21

<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 52
ttgggttctt ttcgggcctc c 21

<210> 53
<211> 26
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 53
atgcaagctc tccaaactcc gtgcag 26

<210> 54
<211> 30
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 54
ggatacacct tcaccggcta ctatatccac 30

<210> 55
<211> 51
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 55
tggatcaacc ctaacagtgg tggcacaaac tatgcacaga agtttcaggg c 51

<210> 56
<211> 36
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 56
gattcggggt atagcagcag ctggcacttt gactac 36

<210> 57
<211> 112
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 57
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30
Thr Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Phe Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95
Leu Gln Thr Pro Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 58
<211> 121
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 58
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

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

<210> 59
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 59
Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala Cys
1 5 10

<210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 60
Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 61
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala Val
1 5

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 62
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Leu Ser
1 5 10

<210> 63
<211> 17
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 63
Trp Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Ser Ala Gln Lys Leu Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 64
<211> 13
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 64
Asp Arg Asp Tyr Gly Val Asn Tyr Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 65
<211> 339
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 65
gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcacctgca agtccagcca gagtatttta tacagttcca acaataagaa gtatctagtt 120
tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgatca tttactggac atctatgcgg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcaacagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact 300
ccgtggacgt tcggccaagg gaccaaggtg gaaatcaaa 339

<210> 66
<211> 488
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 66
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcaat agtttctact ggagctggat ccggcagccc 120
ccagggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caactacaat 180
ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaccca gttctccctg 240
aagctgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag agacagtata 300
gcagcccccc ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc agcttccacc 360
aagggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc 420
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480
tgcgccct 488

<210> 67
<211> 51
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 67
aagtccagcc agagtatttt atacagttcc aacaataaga agtatctagt t 51

<210> 68
<211> 21
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 68
tggacatcta tgcgggaatc c 21

<210> 69
<211> 27
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 69
cagcaatatt atagtactcc gtggacg 27

<210> 70
<211> 30
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 70
ggtggctcca tcaatagttt ctactggagc 30

<210> 71
<211> 48
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 71
tatatctatt acagtgggag caccaactac aatccctccc tcaagagt 48

<210> 72
<211> 27
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 72
gacagtatag cagccccctt tgactac 27

<210> 73
<211> 113

<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 73
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Ala Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Ser
            20   25   30
Ser Asn Asn Lys Lys Tyr Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
        35   40   45
Pro Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Trp Thr Ser Met Arg Glu Ser Gly Val
    50   55   60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65   70   75   80
Ile Asn Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
                85   90   95
Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
            100   105   110
Lys

<210> 74
<211> 117
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 74
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1   5   10   15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Ser Phe
            20   25   30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50   55   60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Thr Gln Phe Ser Leu
65   70   75   80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85   90   95
Arg Asp Ser Ile Ala Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100   105   110
Val Thr Val Ser Ser
        115

<210> 75
<211> 17
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 75
Lys Ser Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Lys Tyr Leu
 1   5   10   15
Val

<210> 76
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 76
Trp Thr Ser Met Arg Glu Ser
 1   5

<210> 77
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 77
Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 78
<211> 10
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 78
Gly Gly Ser Ile Asn Ser Phe Tyr Trp Ser
1 5 10

<210> 79
<211> 16
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 79
Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 80
Asp Ser Ile Ala Ala Pro Phe Asp Tyr
1 5

<210> 81
<211> 321
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 81
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc aactatttaa attggtatca gcagagacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg taagttacta ctgtcaacag agttacagta tttcgcccac tttcggcggc 300
gggaccaagg tggagaacaa a 321

<210> 82
<211> 357
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 82
caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt gcttactact ggagctggat ccgccagccc 120
ccagggaagg gactggagtg gattggggaa atcaatcata gtggaggcac caactacaac 180
ccgtccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agtacagtgg 300
ctcgaactgg cctactttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 83
<211> 33
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 83
cgggcaagtc agagcattag caactattta aat 33

<210> 84
<211> 106
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 84
Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

<210> 85
<211> 27
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 85
caacagagtt acagtatttc gcccact 27

<210> 86
<211> 30
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 86
ggtgggtcct tcagtgctta ctactggagc 30

<210> 87
<211> 48
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 87
gaaatcaatc atagtggagg caccaactac aacccgtccc tcaagagt 48

<210> 88
<211> 33
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 88
gtacagtggc tcgaactggc ctactttgac tac 33

<210> 89
<211> 107
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 89
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Val Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Ser Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Asn Lys
100 105

<210> 90
<211> 119
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 90
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

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

<210> 91
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 91
```
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
 1               5                  10
```

<210> 92
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 92
```
Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser
 1               5
```

<210> 93
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 93
```
Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Ser Pro Thr
 1               5
```

<210> 94
<211> 10
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 94
```
Gly Gly Ser Phe Ser Ala Tyr Tyr Trp Ser
 1               5                  10
```

<210> 95
<211> 16
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 95
```
Glu Ile Asn His Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1               5                  10                  15
```

<210> 96
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 96
```
Val Gln Trp Leu Glu Leu Ala Tyr Phe Asp Tyr
 1               5                  10
```

<210> 97
<211> 321
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 97
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaggtca gggcattaga aatgatttag tctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacaa cataatactt acccattcac tttcggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 98
<211> 363
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 98
caggtgcagc tggtggactc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcatt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atctggtatg atggaagtac tgaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagagg 300
cagtggctct accactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 99
<211> 33
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 99
cgggcaggtc agggcattag aaatgattta gtc 33

<210> 100
<211> 107
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

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

<210> 101
<211> 27
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 101
ctacaacata atacttaccc attcact 27

<210> 102
<211> 30
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 102
ggattcacct tcattagcta tggcatgcac 30

<210> 103
<211> 51
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 103
gttatctggt atgatggaag tactgaatac tatgcagact ccgtgaaggg c 51

<210> 104
<211> 36
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 104
gagaggcagt ggctctacca ctacggtatg gacgtc 36

<210> 105
<211> 107
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

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

<210> 106
<211> 121
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 106
Gln Val Gln Leu Val Asp Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ile Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Thr Glu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Arg Gln Trp Leu Tyr His Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 107
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 107
Arg Ala Gly Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Val
1 5 10

<210> 108
<211> 107
<212> PRT

<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 108
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 109
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 109
Leu Gln His Asn Thr Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 110
<211> 10
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 110
Gly Phe Thr Phe Ile Ser Tyr Gly Met His
1 5 10

<210> 111
<211> 17
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 111
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Thr Glu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 112
<211> 12
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 112
Glu Arg Gln Trp Leu Tyr His Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 113
<211> 339
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 113
gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcacctgca agtccagcca gagtatttta tacagctcca acaataagaa gtatctagtt 120
tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagttgatca tttactggac atctatgcgg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact 300
ccgtggacgt tcggccaagg gaccaaggtg gaaatcaaa 339

<210> 114

<211> 351
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 114
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cctcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcaat agtttctact ggagctggat ccggcagccc 120
ccagggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caactacaat 180
ccctccctca agaggcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaccca gttctccctg 240
aagctgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag agacagtata 300
gcagcccccc ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc a 351

<210> 115
<211> 17
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Arg 或 Lys

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Leu 或 Ile

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = His 或 Tyr

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = Thr 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 11
<223> Xaa = Gly 或 Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 12
<223> Xaa = Tyr 或 Asn

<220>
<221> 變異體
<222> (13)...(13)
<223> Xaa = Asn 或 Lys

<220>
<221> 變異體
<222> (14)...(14)
<223> Xaa = Lys 或 -Xaa (Xaa 刪除)

<220>
<221> 變異體
<222> (17)...(17)
<223> Xaa = Asp 或 Val

<400> 115
Xaa Ser Ser Gln Ser Xaa Leu Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Leu
 1   5   10   15
Xaa

<210> 116
<211> 11

<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Ser 或 Gly

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Ser 或 Gly

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Ser 或 Arg

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Tyr 或 Asp 或 Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 11
<223> Xaa = Asp 或 Val 或 Gly

<400> 116
Arg Ala Xaa Gln Xaa Ile Xaa Asn Xaa Leu Xaa
 1   5   10

<210> 117
<211> 27
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 117
cagcaatatt atagtactcc gtggacg 27

<210> 118
<211> 30
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 118
ggtggctcca tcaatagttt ctactggagc 30

<210> 119
<211> 48
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 119
tatatctatt acagtgggag caccaactac aatccctccc tcaagagg 48

<210> 120
<211> 27
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 120
gacagtatag cagccccctt tgactac 27

<210> 121
<211> 113
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 121
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Ala Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Ser
            20   25   30

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

<210> 122
<211> 117
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 122
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Ser Phe
20 25 30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Arg Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Thr Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Asp Ser Ile Ala Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 123
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Glu 或 Asp

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Trp 或 Leu

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Glu 或 Asp

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Tyr 或 Phe

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = Ala 或 Val

<220>
<221> 變異體
<222> 11
<223> Xaa = Cys 或 Phe

<400> 123

Ser Gly Xaa Lys Xaa Gly Xaa Lys Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 124
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Ala 或 Trp 或 Leu

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Thr 或 Ala 或 Gly

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Ser 或 Met 或 Phe

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Leu 或 Arg

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Gln 或 Glu 或 Ala

<400> 124
Xaa Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Ser
1 5

<210> 125
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 125
Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 126
<211> 10
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 126
Gly Gly Ser Ile Asn Ser Phe Tyr Trp Ser
1 5 10

<210> 127
<211> 16
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 127
Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Arg
1 5 10 15

<210> 128
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>

<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Gln 或 Leu 或 His

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Thr 或 Asn 或 Ser

<400> 128
Xaa Asp Xaa Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 129
<211> 321
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 129
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aataatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatttatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagatttta caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 130
<211> 372
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 130
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agttacggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaataccat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaagtga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgt gagaagtcgg 300
aactggaact acgacaacta ctactacggt ctggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
accgtctcct ca 372

<210> 131
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Thr 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Pro 或 Thr

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = Phe 或 Trp

<400> 131
Leu Gln His Asn Xaa Tyr Xaa Xaa Thr
1 5

<210> 132
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Met 或 Gln 或 Arg

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Ala 或 Tyr 或 Gln 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Leu 或 Tyr 或 Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Gln 或 Ser 或 Thr

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Thr 或 Tyr 或 Ile

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Pro 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> (8)...(8)
<223> Xaa = Cys 或 Trp 或 Leu 或 Pro

<220>
<221> 變異體
<222> (9)...(9)
<223> Xaa = Ser 或 Thr

<400> 132
Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 133
<211> 27
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 133
ctacagcata atagttaccc gtggacg 27

<210> 134
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Ile 或 Phe

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Asn 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Ser 或 Ala

<220>
<221> 變異體
<222> 7

<223> Xaa = Gly 或 -Xaa (Xaa 刪除)

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = Gly 或 -Xaa (Xaa 刪除)

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Phe 或 Tyr

<400> 134
Gly Gly Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Trp
1 5 10

<210> 135
<211> 51
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 135
gttatatggt atgatggaag taataaatac catgcagact ccgtgaaggg c 51

<210> 136
<211> 45
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 136
agtcggaact ggaactacga caactactac tacggtctgg acgtc 45

<210> 137
<211> 107
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 137
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asn
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Thr Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 138
<211> 124
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 138
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr His Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Val Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Ser Arg Asn Trp Asn Tyr Asp Asn Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp

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

<210> 139
<211> 10
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Tyr 或 Phe

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Tyr 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Thr 或 Ser 或 Ile

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Gly 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = Tyr 或 Gly 或 Trp

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Ile 或 Met

<220>
<221> 變異體
<222> (10)...(10)
<223> Xaa = His 或 Gly

<400> 139
Gly Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 140
<211> 10
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Tyr 或 Phe

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Thr 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Ser 或 Ala

<220>
<221> 變異體
<222> 8

<223> Xaa = Gly 或 Trp

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Leu 或 Met 或 Ile

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = Ser 或 His

<400> 140
Gly Xaa Thr Phe Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 141
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 141
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 142
<211> 16
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Tyr 或 Glu

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Ser 或 Tyr 或 Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Tyr 或 His

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Ser 或 Gly

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Tyr 或 Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = Ser 或 Arg

<400> 142
Xaa Ile Xaa Xaa Ser Gly Xaa Thr Xaa Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Xaa
1 5 10 15

<210> 143
<211> 17
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 143

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr His Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 144
<211> 15
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 144
Ser Arg Asn Trp Asn Tyr Asp Asn Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
1 5 10 15

<210> 145
<211> 315
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 145
tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
acctgctctg gagaaaaatg gggagagaaa tatgcttgtt ggtatcagca gaagccaggc 120
cagtcccctg tgctggtcat ctatcaagat accaagcggc cctccgggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccatttctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg 240
gatgaggctg actattattg tcaggcgtgg gacaggagca ctgtattcgg cggagggacc 300
aagctgaccg tccta 315

<210> 146
<211> 348
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 146
gaggtgcagc tggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
tcctgtcagg gttctggata cagctttacc agctactgga tcggctgggt gcgccagatg 120
cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc atctatcctg gtgactctga taccagatac 180
agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc tcagccgaca agtccatcag caccgcctac 240
ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac accgccatgt attactgtgc gagacaagga 300
ctggggtttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 147
<211> 33
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 147
tctggagaaa aatggggaga gaaatatgct tgt 33

<210> 148
<211> 21
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 148
caagatacca agcggccctc c 21

<210> 149
<211> 24
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 149
caggcgtggg acaggagcac tgta 24

<210> 150
<211> 30
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 150
ggatacagct ttaccagcta ctggatcggc 30

<210> 151

<211> 51
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 151
atcatctatc ctggtgactc tgataccaga tacagcccgt ccttccaagg c 51

<210> 152
<211> 21
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 152
caaggactgg ggtttgacta c 21

<210> 153
<211> 105
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 153
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Glu Lys Trp Gly Glu Lys Tyr Ala
20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Ile Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Arg Ser Thr Val Phe
85 90 95
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 154
<211> 116
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 154
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Gln Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Gly Leu Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 155
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 155
Ser Gly Glu Lys Trp Gly Glu Lys Tyr Ala Cys
1 5 10

<210> 156
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 156
Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 157
<211> 8
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 157
Gln Ala Trp Asp Arg Ser Thr Val
1 5

<210> 158
<211> 10
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 158
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 159
<211> 17
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 159
Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 160
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 160
Gln Gly Leu Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 161
<211> 318
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 161
tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
acctgctctg gagataaatt gggggataaa tttgctttct ggtatcagct gaagccaggc 120
cagtcccctg tgctggtcat ctatcaagat aacaagcggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg 240
gatgcggctg acttttactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgtggtatt cggcggaggg 300
accaagctga ccgtccta 318

<210> 162
<211> 363
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 162
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgc 120
cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacatct cttacagtgg gagcacctac 180
tacaacccgt ccctcaagag tcgagttacc atatcagttg acacgtctaa gaaccagttc 240
tccctgaagc tgaactctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgcgcgct 300
tacggtgact atcgcggctg gttcgacccc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 163
<211> 33
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 163
tctggagata aattggggga taaatttgct ttc 33

<210> 164
<211> 21
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 164
caagataaca agcggccctc a 21

<210> 165
<211> 27
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 165
caggcgtggg acagcagcac tgtggta 27

<210> 166
<211> 36
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 166
ggtggctcca tcagcagtgg tggttactac tggagc 36

<210> 167
<211> 48
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 167
tacatctctt acagtgggag cacctactac aacccgtccc tcaagagt 48

<210> 168
<211> 33
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 168
gcttacggtg actatcgcgg ctggttcgac ccc 33

<210> 169
<211> 106
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 169
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Phe Ala
20 25 30
Phe Trp Tyr Gln Leu Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Ala Ala Asp Phe Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 170
<211> 121
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

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

<210> 171
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 171
Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Phe Ala Phe
1 5 10

<210> 172
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 172
Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 173
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 173
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
1 5

<210> 174
<211> 12
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 174
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5 10

<210> 175
<211> 16
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 175
Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 176
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 176

Ala Tyr Gly Asp Tyr Arg Gly Trp Phe Asp Pro
1 5 10

<210> 177
<211> 321
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 177
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattgtg caacttatta ttgtctacag cataatagtt atacgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 178
<211> 372
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 178
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgtag cgtctggatt caccttcagt gcctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcatcatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaagtcgg 300
aactggaact acgactccta ccaatacggt ttggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
accgtctcct ca 372

<210> 179
<211> 17
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Asn 或 Val

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Trp 或 Lys

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Tyr 或 Gln

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = Asn 或 Glu 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Lys 或 Glu

<220>
<221> 變異體
<222> 11
<223> Xaa = His 或 Tyr

<220>
<221> 變異體
<222> (12)...(12)
<223> Xaa = Ala 或 Val

<400> 179
Xaa Ile Xaa Xaa Asp Gly Ser Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Asp Ser Val Lys

1 5 10 15
Gly

<210> 180
<211> 17
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Trp 或 Ile

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Asn 或 Ile 或 Ser 或 Tyr

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Pro 或 Ala

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Asn 或 Tyr 或 Gly

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Ser 或 Asn 或 Asp

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Gly 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> (8)...(8)
<223> Xaa = Gly 或 Asn 或 Asp

<220>
<221> 變異體
<222> (10)...(10)
<223> Xaa = Asn 或 Arg

<220>
<221> 變異體
<222> (11)...(11)
<223> Xaa = Tyr 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> (12)...(12)
<223> Xaa = Ala 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> (13)...(13)
<223> Xaa = Gln 或 Pro

<220>
<221> 變異體
<222> (14)...(14)

<223> Xaa = Lys 或 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> (15)...(15)
<223> Xaa = Phe 或 Leu

<400> 180
Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln
 1   5   10   15
Gly

<210> 181
<211> 27
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 181
ctacagcata atagttatac gtggacg   27

<210> 182
<211> 30
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 182
ggattcacct tcagtgccta tggcatgcac   30

<210> 183
<211> 51
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 183
gttatatggt atgatggaag taataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c   51

<210> 184
<211> 45
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 184
agtcggaact ggaactacga ctcctaccaa tacggtttgg acgtc   45

<210> 185
<211> 107
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 185
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
            20   25   30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
        35   40   45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65   70   75   80
Glu Asp Cys Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Thr Trp
                85   90   95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100   105

<210> 186
<211> 124
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 186

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

<210> 187
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Val 或 -Xaa (Xaa 刪除)

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Gln 或 -Xaa (Xaa 刪除)

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Asp 或 Trp 或 -Xaa (Xaa 刪除)

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Ser 或 Leu 或 -Xaa (Xaa 刪除)

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Ile 或 Glu 或 Gln

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Ala 或 Leu 或 Gly

<220>
<221> 變異體
<222> (7)...(7)
<223> Xaa = Ala 或 Leu

<220>
<221> 變異體
<222> (8)...(8)
<223> Xaa = Pro 或 Tyr 或 Gly

<400> 187
```
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Asp Tyr
 1               5                  10
```

<210> 188
<211> 13
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Asp 或 -Xaa (Xaa 刪除)

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Gln 或 -Xaa (Xaa 刪除)

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Asp 或 Ala

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Tyr 或 Gly

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Ser 或 Tyr

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = Ser 或 Arg

<220>
<221> 變異體
<222> (11)...(11)
<223> Xaa = Phe 或 -Xaa (Xaa 刪除)

<220>
<221> 變異體
<222> (12)...(12)
<223> Xaa = Gly 或 Asp

<220>
<221> 變異體
<222> (15)...(15)
<223> Xaa = His 或 Pro

<400> 188
Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Asp Xaa Xaa Gly Trp Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 189
<211> 9
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 189
Leu Gln His Asn Ser Tyr Thr Trp Thr
 1   5

<210> 190
<211> 10
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 190
Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr Gly Met His
 1   5   10

<210> 191
<211> 17
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 191
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 192
<211> 15
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 192
Ser Arg Asn Trp Asn Tyr Asp Ser Tyr Gln Tyr Gly Leu Asp Val
1 5 10 15

<210> 193
<211> 315
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 193
tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgtttgtt ggtatcagca gaagccaggc 120
cagtcccctg aactggtcat ctatctagat aacaagcggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg 240
gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca cggtattcgg cggagggacc 300
aaactgaccg tcctg 315

<210> 194
<211> 363
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 194
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta cacctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagag gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accacagaca catcaacgac cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatcaa 300
gattactatg atagtagtgg ttggggccac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 195
<211> 33
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 195
tctggagata aattgggggga taaatatgtt tgt 33

<210> 196
<211> 21
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 196
ctagataaca agcggccctc a 21

<210> 197
<211> 24
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 197
caggcgtggg acagcagcac ggta 24

<210> 198
<211> 30

<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 198
ggttacacct ttaccagcta tggtatcagc 30

<210> 199
<211> 51
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 199
tggatcagcg cttacaatgg taacacaaac tatgcacaga agttccaggg c 51

<210> 200
<211> 36
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 200
gatcaagatt actatgatag tagtggttgg ggccac 36

<210> 201
<211> 105
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 201
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Val
20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Glu Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Leu Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Phe
85 90 95
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 202
<211> 121
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 202
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Arg Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Asp Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Trp Gly His Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 203
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 203
Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Val Cys

1 5 10

<210> 204
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 204
Leu Asp Asn Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 205
<211> 8
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 205
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val
1 5

<210> 206
<211> 10
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 206
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

<210> 207
<211> 17
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 207
Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 208
<211> 12
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 208
Asp Gln Asp Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Trp Gly His
1 5 10

<210> 209
<211> 316
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 209
tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agcctccatc 60
acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgctttct ggtatcagca gaagccaggc 120
cagtcccctg tgctggtctt ctatcatgat accaagcggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg 240
gatgaggctg actatcactg tcaggcgtgg gacagcagca cggtcttcgg cggagggacc 300
aagctgaccg tcctac 316

<210> 210
<211> 363
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 210
caggttcagc tggtgcaatc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaaga cttctggtta cacctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagccctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accacagaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgcg atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatcaa 300
gattactatg atagtagtgg ttgggacccc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tcg 363

<210> 211
<211> 33
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 211
tctggagata aattgggggga taaatatgct ttc 33

<210> 212
<211> 21
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 212
catgatacca agcggccctc a 21

<210> 213
<211> 360
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 活動素 A/B 嵌合體

<400> 213
ggtctagagt gtgatggcaa ggtcaacatc tgctgtaaga aacagttctt tgtcagtttc 60
aaggacatcg gctggaatga ctggatcatt gctccctctg gctatcatgc caactactgc 120
gagggtgagt gcccgagcca tatagcaggc acgtccgggt caagcttgtc cttccactca 180
acagtcatca accactaccg catgcggggc catagcccct ttgccaacct caaatcatgc 240
tgtattccca ccaagctgag caccatgtcc atgttgtact ttgatgatga gtacaacatc 300
gtcaaaaggg acgttccgaa catgatcgtg gaggagtgtg ggtgctcatg agcggccgct 360

<210> 214
<211> 326
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 214
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

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

<210> 215
<211> 326
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 215
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 216
<211> 36
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 216
gatcaagatt actatgatag tagtggttgg gacccc 36

<210> 217
<211> 105

<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 217
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
            20   25   30
Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Phe Tyr
        35   40   45
His Asp Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
    50   55   60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65   70   75   80
Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Phe
                85   90   95
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100   105

<210> 218
<211> 121
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 218
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20   25   30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35   40   45
Gly Trp Ile Ser Pro Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50   55   60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Asp Gln Asp Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Trp Asp Pro Trp Gly
            100   105   110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115   120

<210> 219
<211> 11
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 219
Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala Phe
 1   5   10

<210> 220
<211> 7
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 220
His Asp Thr Lys Arg Pro Ser
 1   5

<210> 221
<211> 326
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 221
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1   5   10   15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20   25   30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

```
        35                  40                  45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
                165                 170                 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
            180                 185                 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
        195                 200                 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                325
```

<210> 222
<211> 318
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 222
ggtcagccca aggctgcccc ctcggtcact ctgttcccgc cctcctctga ggagcttcaa 60
gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg 120
gcctggaagg cagatagcag ccccgtcaag gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa 180
caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaag 240
tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300
gcccctacag aatgttca 318

<210> 223
<211> 321
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 223
cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60
ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120
tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240
aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300
agcttcaaca ggggagagtg t 321

<210> 224
<211> 12
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 224
Asp Gln Asp Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Trp Asp Pro
 1   5   10

<210> 225
<211> 116
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 225
Gly Leu Glu Cys Asp Gly Lys Val Asn Ile Cys Cys Lys Lys Gln Phe
 1   5   10   15
Phe Val Ser Phe Lys Asp Ile Gly Trp Asn Asp Trp Ile Ile Ala Pro
            20   25   30
Ser Gly Tyr His Ala Asn Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Pro Ser His Ile
        35   40   45
Ala Gly Thr Ser Gly Ser Ser Leu Ser Phe His Ser Thr Val Ile Asn
    50   55   60
His Tyr Arg Met Arg Gly His Ser Pro Phe Ala Asn Leu Lys Ser Cys
65   70   75   80
Cys Val Pro Thr Lys Leu Arg Pro Met Ser Met Leu Tyr Tyr Asp Asp
                85   90   95
Gly Gln Asn Ile Ile Lys Lys Asp Ile Gln Asn Met Ile Val Glu Glu
            100   105   110
Cys Gly Cys Ser
        115

<210> 226
<211> 8
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 226
Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 1   5

<210> 227
<211> 636
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 227
tcctatgagg tgactcaggc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgcttgtt ggtatcagca gaagccaggc 120
cagtcccctg tgctggtcat ctatcaagat agcaagcggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg aaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg 240
gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgcggtatt cggcggaggg 300
accaagctga ccgtcctagg tcagcccaag gctgccccct cggtcactct gttcccgccc 360
tcctctgagg agcttcaagc caacaaggcc acactggtgt gtctcataag tgacttctac 420
ccgggagccg tgacagtggc ctggaaggca gatagcagcc ccgtcaaggc gggagtggag 480
accaccacac cctccaaaca aagcaacaac aagtacgcgg ccagcagcta tctgagcctg 540
acgcctgagc agtggaagtc ccacagaagc tacagctgcc aggtcacgca tgaagggagc 600
accgtggaga agacagtggc ccctacagaa tgttca   636

<210> 228
<211> 1344
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 228
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta cacctttacc agttatggtc tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcatccctt acaatggtaa cacaaactct 180
gcacagaaac tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt atttctgtgc gagagacagg 300
gactacggtg tcaattatga tgcttttgat atctggggcc aagggacaat ggtcaccgtc 360
tcttcagcct ccaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg cgccctgctc caggagcacc 420
tccgagagca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480
gtgtcgtgga actcaggcgc tctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccagc tgtcctacag 540
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcaa cttcggcacc 600
cagacctaca cctgcaacgt agatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagacagtt 660
gagcgcaaat gttgtgtcga gtgcccaccg tgcccagcac cacctgtggc aggaccgtca 720
gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 780
acgtgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg 840
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg aggagcagtt caacagcacg 900
ttccgtgtgg tcagcgtcct caccgttgtg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac 960
aagtgcaagg tctccaacaa aggcctccca gccccatcg agaaaaccat ctccaaaacc 1020

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 1080
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct accccagcga catcgccgtg 1140
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacacctcc catgctggac 1200
tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1260
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1320
agcctctccc tgtctccggg taaa 1344

<210> 229
<211> 642
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 229
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aataatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatttatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag tctgcagcct 240
gaagatttta caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 230
<211> 1350
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 230
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agttacggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaataccat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaagtga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgt gagaagtcgg 300
aactggaact acgacaacta ctactacggt ctggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg 420
agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg 480
gtgacggtgt cgtggaactc aggcgctctg accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc 540
ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc 600
ggcacccaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660
acagttgagc gcaaatgttg tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 720
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 780
gaggtcacgt gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 840
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac 900
agcacgttcc gtgtggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag 960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccccatc ccgggaggag 1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg 1200
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1350

<210> 231
<211> 642
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 231
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcgacag caaaatactt acccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 232
<211> 1347

<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 232
gaggtgcagt tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agttattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg cgtggccaac ataaagcaag atggaagtga ggaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ttcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggtagc 300
agcagctggt actactacaa ctacggtatg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360
gtctcctcag cctccaccaa gggcccatcg gtcttccccc tggcgccctg ctccaggagc 420
acctccgaga gcacagcggc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg 480
acggtgtcgt ggaactcagg cgctctgacc agcggcgtgc acaccttccc agctgtccta 540
cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag caacttcggc 600
acccagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaca 660
gttgagcgca aatgttgtgt cgagtgccca ccgtgcccag caccacctgt ggcaggaccg 720
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 780
gtcacgtgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccccg aggtccagtt caactggtac 840
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccac gggaggagca gttcaacagc 900
acgttccgtg tggtcagcgt cctcaccgtt gtgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 960
tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020
accaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1080
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc 1140
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacacc tcccatgctg 1200
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1347

<210> 233
<211> 212
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 233
Ser Tyr Glu Val Thr Gln Ala Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
            20   25   30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
        35   40   45
Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
    50   55   60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65   70   75   80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala Val
                85   90   95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala
            100   105   110
Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
        115   120   125
Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
    130   135   140
Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145   150   155   160
Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
                165   170   175
Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
            180   185   190
Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro
        195   200   205
Thr Glu Cys Ser
    210

<210> 234
<211> 448
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 234
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20   25   30
Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Trp Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Ser Ala Gln Lys Leu
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Asp Tyr Gly Val Asn Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
210 215 220
Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 235
<211> 214
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 235
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asn
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Thr Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

```
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 236
<211> 450
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 236

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr His Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Val Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Arg Ser Arg Asn Trp Asn Tyr Asp Asn Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp
            100                 105                 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190
Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220
Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
    290                 295                 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335
Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385                 390                 395                 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
```

435 440 445
Gly Lys
450

<210> 237
<211> 214
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 237
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Arg Gln Gln Asn Thr Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 238
<211> 449
<212> PRT
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 238
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Cys Val
35 40 45
Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Glu Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Ser Ser Ser Trp Tyr Tyr Tyr Asn Tyr Gly Met Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190
Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205
Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
210 215 220

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

<210> 239
<211> 321
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 239
```
cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60
ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120
tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240
aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300
agcttcaaca ggggagagtg t                                          321
```

<210> 240
<211> 978
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 240
```
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60
agcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120
tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca 180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg cacccagacc 240
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 300
aaatgttgtg tcgagtgccc accgtgccca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 360
ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 420
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 480
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 540
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 600
aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg 660
cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 720
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 780
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 840
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 900
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 960
tccctgtctc cgggtaaa                                              978
```

<210> 241
<211> 978
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 241

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60
agcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120
tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca 180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg cacccagacc 240
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 300
aaatgttgtg tcgagtgccc accgtgccca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 360
ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 420
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 480
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 540
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 600
aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg 660
cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 720
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 780
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 840
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 900
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 960
tccctgtctc cgggtaaa 978

<210> 242
<211> 824
<212> DNA
<213> 現代智人(Homo sapiens)

<400> 242
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60
agcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120
tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca 180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg cacccagacc 240
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 300
aaatgttgtg tcgagtgccc accgtgccca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 360
ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 420
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 480
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 540
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 600
aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg 660
cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 720
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 780
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcc 824

<210> 243
<211> 116
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 活動素 A/B 嵌合體

<400> 243
Gly Leu Glu Cys Asp Gly Lys Val Asn Ile Cys Cys Arg Gln Gln Phe
 1   5   10   15
Phe Ile Asp Phe Arg Leu Ile Gly Trp Asn Asp Trp Ile Ile Ala Pro
            20   25   30
Thr Gly Tyr Tyr Gly Asn Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Pro Ser His Ile
        35   40   45
Ala Gly Thr Ser Gly Ser Ser Leu Ser Phe His Ser Thr Val Ile Asn
    50   55   60
His Tyr Arg Met Arg Gly His Ser Pro Phe Ala Asn Leu Lys Ser Cys
65   70   75   80
Cys Val Pro Thr Lys Leu Arg Pro Met Ser Met Leu Tyr Tyr Asp Asp
                85   90   95
Gly Gln Asn Ile Ile Lys Lys Asp Ile Gln Asn Met Ile Val Glu Glu
            100   105   110
Cys Gly Cys Ser
        115

<210> 244
<211> 116
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 活動素 A/B 嵌合體

<400> 244

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

<210> 245
<211> 31
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 245
ctcgaggtcg actagaccac catgcccttg c 31

<210> 246
<211> 28
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 246
ccatcacact ctagaccccg ccgacgcc 28

<210> 247
<211> 360
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 活動素 A/B 嵌合體

<400> 247
ggtctagagt gtgatggcaa ggtcaacatc tgctgtaggc aacagttctt tatcgatttc 60
aggctcatcg gctggaatga ctggatcatt gctcccactg gctattatgg caactactgc 120
gagggtgagt gcccgagcca tatagcaggc acgtccgggt caagcttgtc cttccactca 180
acagtcatca accactaccg catgcggggc catagcccct ttgccaacct caaatcatgc 240
tgtgtgccca ccaagctgag acccatgtcc atgttgtact atgatgatgg tcaaaacatc 300
atcaaaaagg acattcagaa catgatcgtg gaggagtgtg ggtgctcatg agcggccgct 360

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：無。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無