



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I595007 B

(45)公告日：中華民國 106 (2017) 年 08 月 11 日

(21)申請案號：102132203

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 09 月 06 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P17/06 (2006.01)

A61P29/00 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2012/09/10 美國

61/698,916

2012/11/30 美國

61/797,179

2012/12/05 美國

61/797,356

(71)申請人：尼歐托普生物科學公司 (愛爾蘭) NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED (IE)
愛爾蘭(72)發明人：弗蘭根 肯尼士 FLANAGAN, KENNETH (US)；貝克 琴尼 BAKER, JEANNE
(US)；伊德諾克 希歐多爾 YEDNOCK, THEODORE A. (US)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

Ken Flanagan et al., "Laminin-411 Is a Vascular Ligand for MCAM and Facilitates TH17 Cell Entry into the CNS", PLoS One. 2012;7

(7):e40443.

審查人員：蔡付樺

申請專利範圍項數：11 項 圖式數：31 共 250 頁

(54)名稱

抗MCAM抗體及相關使用方法

ANTI-MCAM ANTIBODIES AND ASSOCIATED METHODS OF USE

(57)摘要

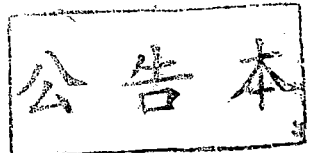
本發明所述為抗 MCAM 抗體及其抗原結合片段，其能夠抑制介於 MCAM 及其配體、即包含層黏蛋白(laminin) α -4 鏈的蛋白質之間的交互作用。這些抗 MCAM 抗體及其抗原結合片段可用於例如治療特徵為體內表現 MCAM 之細胞浸潤至發炎部位的發炎性病況。

Described herein are anti-MCAM antibodies and antigen binding fragments thereof that are capable of inhibiting the interaction between MCAM and its ligand, a protein comprising a laminin α -4 chain. These anti-MCAM antibodies and antigen binding fragments thereof may be useful for, for example, treating inflammatory conditions characterized by the infiltration of MCAM-expressing cells into a site of inflammation in the body.

指定代表圖：



發明摘要



※申請案號：102132203

※申請日：102 年 09 月 06 日

※IPC 分類：

C07K16/58 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P17/06 (2006.01)

A61P29/00 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

抗 MCAM 抗體及相關使用方法

Anti-MCAM antibodies and associated methods of use

【中文】

本發明所述為抗 MCAM 抗體及其抗原結合片段，其能夠抑制介於 MCAM 及其配體、即包含層黏蛋白 (laminin) α -4 鏈的蛋白質之間的交互作用。這些抗 MCAM 抗體及其抗原結合片段可用於例如治療特徵為體內表現 MCAM 之細胞浸潤至發炎部位的發炎性病況。

【英文】

Described herein are anti-MCAM antibodies and antigen binding fragments thereof that are capable of inhibiting the interaction between MCAM and its ligand, a protein comprising a laminin α -4 chain. These anti-MCAM antibodies and antigen binding fragments thereof may be useful for, for example, treating inflammatory conditions characterized by the infiltration of MCAM-expressing cells into a site of inflammation in the body.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第(30)圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

抗 MCAM 抗體及相關使用方法

Anti-MCAM antibodies and associated methods of use

【技術領域】

[0001] 本發明係關於與黑色素瘤細胞黏附分子 (MCAM) 結合的抗體，其可阻斷 MCAM 及其配體 (層黏蛋白 (laminin) $\alpha 4$ 鏈) 之間交互作用。本發明亦係關於使用本文所述之新穎抗 MCAM 抗體的方法。

【先前技術】

[0002] 一種新穎 CD4⁺ T 細胞次群、稱之為 TH17 細胞 (T 輔助 17 細胞) 已顯示涉及許多自體免疫疾病的發病機制，特別是涉及 T 細胞的 CNS 浸潤之神經發炎性病況，例如多發性硬化症及動物模式 (實驗性自體免疫性腦脊髓炎 (EAE))。參見例如 Cua 等人，*Nature* 421: 744-748 (2003)；亦參見 Ivonov 等人，*Cell* 126: 1121-1133 (2006)。已有許多對於 TH17 細胞增進致病性關注著重在它們分泌許多包括 IL-17 及 IL-22 選擇細胞介素的能力。然而，這些 TH17 細胞介素本身的角色已被質疑，因為條件式基因剔除 IL-17 係不足以影響 EAE 進展。參見例如 Haak 等人，*J. Clin. Invest.* 119: 61-69 (2009)；亦

參見 Kreymborg 等人，*J. Immunol.* 179 : 8098-8104 (2007)。雖然 IL-17 由於內皮細胞穿透性影響了 EAE 重要層面，但 TH17 細胞顯然所為不只是製造任一種細胞介素。TH17 細胞的病原性功能的分子決定因素仍難以捉摸。

[0003] TH17 細胞的致病性可部分由它們趨化激素受體表現來證明的獨特遷移模式加以解釋。參見例如 Kim, *Inflamm. Allergy Drug Targets* 8 : 221-228 (2009)。業經證實，製造 IL-17 的細胞富集於 CD4+ T 細胞的 CCR6+ 族群中，可能賦予整個血管分佈獨特遷移模式。參見例如 Acosta-Rodriguez 等人，*Nat. Immunol.* 8 : 639-646 (2007)。事實上，於 T 細胞上的 CCR6 表現為 T 細胞遷移至 CNS 中及 EAE 進展所需。Reboldi 等人，*Nat. Immunol.* 10 : 514-523 (2009)。有提出一假說，為二波的 T 細胞，第一波為小族群的表現 CCR6 之 TH17 細胞，其累積並募集 (recruit) 廣泛的第二波 T 細胞，其具有較多樣趨化激素受體複雜度 (chemokine receptor repertoire)。解剖學上的浸潤位置顯示為脈絡叢，此因其持續恆定表現 (constitutive expression) CCL20 (為已知的 CCR6 配體) 所致。Ransohoff 等人，*Nat. Rev. Immunol.* 3 : 569-581 (2003)。此含義為 TH17 細胞的真正致病性功能在於它們的特定募集及組織浸潤。

[0004] 因此，在本技術領域中仍有需要找出涉及 TH17 細胞浸潤至 CNS 中及促使它們的致病性之分子。這

些分子可為設計針對神經發炎病況（例如多發性硬化症（MS）及帕金森病）以及其他與中樞神經系統無關的經 TH17 調介之發炎病況的治療劑之標的。亦有找出可結合並能夠減少、干擾、抑或阻斷在 TH17 表面上表現的 MCAM 及其經確認之配體間交互作用的新穎抗體之需求。

【發明內容】

[0005] TH17 細胞在各種自體免疫疾病發病機制中、特別是展現涉及 T 細胞浸潤至 CNS 中的神經發炎病況，扮演重要角色。最近已發現：（1）MCAM 係經選擇性地富集於 TH17 細胞上；以及（2）MCAM 與存在於內皮基底膜的層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈（例如像是層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈）交互作用。能夠抑制 MCAM 結合至含有層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈（例如像是層黏蛋白 411 分子）分子之 MCAM 拮抗劑，例如單株抗體，可抑制 TH17 細胞遷移至 CNS 中，且由此可用作為治療劑，以預防或治療展現經 TH17 調介之神經發炎病況之疾病。MCAM 拮抗劑，例如 MCAM 單株抗體或其抗原結合片段，亦可用於預防或治療經 TH17 調介之疾病，包括像是自體免疫疾病，例如多發性硬化症、發炎性腸病、牛皮癬、及類風溼性關節炎。

[0006] 本發明係關於新穎抗體，其能夠結合至細胞表面上的 MCAM 蛋白質，進而能夠干擾 MCAM 與其配體（包含層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈之蛋白質）之交互作用。任意地，該抗體係單株抗體、抗體片段、嵌合抗體、人化抗體、單

鏈抗體、或競爭性抑制抗 MCAM 抗體結合至其各自抗原決定區之抗體。

[0007] 在其他實施態樣中，本發明提供載體，其包含編碼任何本文所述之抗體的 DNA，以及包含此種載體的宿主細胞，其中該等宿主細胞可為 CHO 細胞、大腸桿菌細胞、或酵母菌細胞。另提供用於製造任何本文所述之抗體的方法，包含於適合表現所欲抗體之條件下培養宿主細胞、以及自該細胞培養物回收該所欲抗體的步驟。

[0008] 在一實施態樣中，本發明係關於一種經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含三個輕鏈高變異區（HVR-L1、HVR-L2、及 HVR-L3）及三個重鏈高變異區（HVR-H1、HVR-H2、及 HVR-H3），且其中：

（a）HVR-L1 包含 SEQ ID NO：31 之胺基酸序列，HVR-L2 包含 SEQ ID NO：32 之胺基酸序列，HVR-L3 包含 SEQ ID NO：33 之胺基酸序列，HVR-H1 包含 SEQ ID NO：36 之胺基酸序列，HVR-H2 包含 SEQ ID NO：37 之胺基酸序列，以及 HVR-H3 包含 SEQ ID NO：38 之胺基酸序列；

（b）HVR-L1 包含 SEQ ID NO：41 之胺基酸序列，HVR-L2 包含 SEQ ID NO：42 之胺基酸序列，HVR-L3 包含 SEQ ID NO：43 之胺基酸序列，HVR-H1 包含 SEQ ID NO：46 之胺基酸序列，HVR-H2 包含 SEQ ID NO：47 之胺基酸序列，以及 HVR-H3 包含 SEQ ID NO：48 之胺基

酸序列；

(c) HVR-L1 包含 SEQ ID NO：51 之胺基酸序列，HVR-L2 包含 SEQ ID NO：52 之胺基酸序列，HVR-L3 包含 SEQ ID NO：53 之胺基酸序列，HVR-H1 包含 SEQ ID NO：56 之胺基酸序列，HVR-H2 包含 SEQ ID NO：57 之胺基酸序列，以及 HVR-H3 包含 SEQ ID NO：58 之胺基酸序列；

(d) HVR-L1 包含 SEQ ID NO：61 之胺基酸序列，HVR-L2 包含 SEQ ID NO：62 之胺基酸序列，HVR-L3 包含 SEQ ID NO：63 之胺基酸序列，HVR-H1 包含 SEQ ID NO：66 之胺基酸序列，HVR-H2 包含 SEQ ID NO：67 之胺基酸序列，以及 HVR-H3 包含 SEQ ID NO：68 之胺基酸序列；

(e) HVR-L1 包含 SEQ ID NO：73 之胺基酸序列，HVR-L2 包含 SEQ ID NO：74 之胺基酸序列，HVR-L3 包含 SEQ ID NO：75 之胺基酸序列，HVR-H1 包含 SEQ ID NO：78 之胺基酸序列，HVR-H2 包含 SEQ ID NO：79 之胺基酸序列，以及 HVR-H3 包含 SEQ ID NO：80 之胺基酸序列；或

(f) HVR-L1 包含 SEQ ID NO：85 之胺基酸序列，HVR-L2 包含 SEQ ID NO：86 之胺基酸序列，HVR-L3 包含 SEQ ID NO：87 之胺基酸序列，HVR-H1 包含 SEQ ID NO：90 之胺基酸序列，HVR-H2 包含 SEQ ID NO：91 之胺基酸序列，以及 HVR-H3 包含 SEQ ID NO：92 之胺基

酸序列。

[0009] 在某些實施態樣中，該抗 MCAM 抗體可為嵌合或人化抗體。在另一實施態樣中，該抗 MCAM 抗體可為 IgG1 抗體，其可隨意於細菌或 CHO 細胞中製造。

[0010] 在又另一實施態樣中，本發明係關於一種經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含輕鏈變異區及重鏈變異區，其中：

(a) 該輕鏈變異區包含 SEQ ID NO：30 之胺基酸序列，且該重鏈變異區包含 SEQ ID NO：35 之胺基酸序列；

(b) 該輕鏈變異區包含 SEQ ID NO：40 之胺基酸序列，且該重鏈變異區包含 SEQ ID NO：45 之胺基酸序列；

(c) 該輕鏈變異區包含 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列，且該重鏈變異區包含 SEQ ID NO：55 之胺基酸序列；

(d) 該輕鏈變異區包含 SEQ ID NO：60 之胺基酸序列，且該重鏈變異區包含 SEQ ID NO：65 之胺基酸序列；

(e) 該輕鏈變異區包含 SEQ ID NO：70、71、或 72 中任一者之胺基酸序列，且該重鏈變異區包含 SEQ ID NO：77 之胺基酸序列；或

(f) 該輕鏈變異區包含 SEQ ID NO：83 或 84 中任一者之胺基酸序列，且該重鏈變異區包含 SEQ ID NO：89

之胺基酸序列。

[0011] 在某些實施態樣中，該抗 MCAM 抗體可為嵌合或人化抗體。在另一實施態樣中，該抗 MCAM 抗體可為 IgG1 抗體，其可隨意於細菌或 CHO 細胞中製造。

[0012] 在又另一實施態樣中，本發明係關於一種經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其實質上與本文所述之任何抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與本文所述之任何抗 MCAM 抗體競爭結合。

[0013] 又於其他實施態樣中，本發明係關於一種經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其阻斷介於包含 SEQ ID NO：22 之胺基酸序列的 MCAM 蛋白質與包含層黏蛋白 α -4 鏈的蛋白質之間的交互作用。本發明的另一實施態樣係關於一種經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其阻斷介於包含 SEQ ID NO：22 及 23 之胺基酸序列的 MCAM 蛋白質與包含層黏蛋白 α -4 鏈的蛋白質之間的交互作用。本發明之進一步實施態樣係關於一種經分離之抗 MCAM 抗體或其抗原結合片段，其不阻斷介於由 SEQ ID NO：22 之胺基酸序列組成的 MCAM 蛋白質與包含層黏蛋白 α -4 鏈的蛋白質之間的交互作用。本發明的又另一實施態樣係關於一種經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其阻斷介於包含 SEQ ID NO：22、23、及 24 之胺基酸序列的 MCAM 蛋白質與包含層黏蛋白 α -4 鏈的蛋白質之間的交互作用。本發明之進一步實施態樣係關於經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，

其結合至由人 MCAM 蛋白質的結構域 1 及 2、或結構域 3 所界定之抗原決定區。在較佳實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或其片段不會結合至由人 MCAM 蛋白質的第 19-219 個胺基酸組成的蛋白質。

[0014] 又本發明之其他實施態樣係關於醫藥組成物，其包含任何本文所述之抗體、或其抗原結合片段，以及包含彼等之製品。

[0015] 本發明之其他實施態樣係關於抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段用於製造供治療特徵在於體內表現 MCAM 之細胞浸潤至發炎部位中的發炎失調之藥物的用途。在某些實施態樣中，該發炎失調可為中樞神經系統（CNS）發炎失調，其特徵在於表現 MCAM 之細胞浸潤至 CNS 中。

[0016] 本發明亦提供抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段用於製造供治療多發性硬化症、帕金森病、過敏性接觸性皮膚炎、牛皮癬、牛皮癬性關節炎或例如黑色素瘤之癌症、或肉狀瘤病之藥物的用途。

[0017] 本發明的另一實施態樣係關於一種用於治療特徵在於表現 MCAM 之細胞浸潤至發炎部位的發炎失調之方法，該方法包含將有此需求的哺乳動物個體投與有效量之抑制 MCAM 結合至包含層黏蛋白 α -4 鏈之蛋白質的抗 MCAM 抗體或其抗原結合片段。在某些實施態樣中，該哺乳動物個體可為人，且該表現 MCAM 之細胞可為 TH17 細胞。

[0018] 在另一態樣中，本發明提供一種經分離之 h1749 抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段。在一實施態樣中，該抗體或其抗原結合片段包含三個輕鏈高變異區（HVR-L1、HVR-L2、及 HVR-L3）以及三個重鏈高變異區（HVR-H1、HVR-H2、及 HVR-H3），其中 HVR-L1 包含 SEQ ID NO：61 之胺基酸序列，HVR-L2 包含 SEQ ID NO：62 之胺基酸序列，HVR-L3 包含 SEQ ID NO：63 之胺基酸序列，HVR-H1 包含 SEQ ID NO：66 之胺基酸序列，HVR-H2 包含 SEQ ID NO：67 之胺基酸序列，HVR-H3 包含 SEQ ID NO：68 之胺基酸序列。在另一實施態樣中，該經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段進一步包含重鏈骨架區 2（FR2），其包含 SEQ ID NO：128 之胺基酸序列。

[0019] 在一其他態樣中，本發明提供一種經分離之 h2107 抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段。在一實施態樣中，該經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段包含三個輕鏈高變異區（HVR-L1、HVR-L2、及 HVR-L3）以及三個重鏈高變異區（HVR-H1、HVR-H2、及 HVR-H3），其中 HVR-L1 包含 SEQ ID NO：85 之胺基酸序列，HVR-L2 包含 SEQ ID NO：86 之胺基酸序列，HVR-L3 包含 SEQ ID NO：87 之胺基酸序列，HVR-H1 包含 SEQ ID NO：90 之胺基酸序列，HVR-H2 包含 SEQ ID NO：91 之胺基酸序列，以及 HVR-H3 包含 SEQ ID NO：92 之胺基酸序列。在另一實施態樣中，該經分離之抗

MCAM 抗體、或其抗原結合片段進一步包含重鏈骨架區 2 (FR2)，其包含 SEQ ID NO: 134 之胺基酸序列；和/或重鏈骨架區 3 (FR3)，其包含 SEQ ID NO: 137 之胺基酸序列。在一其他實施態樣中，該經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段進一步包含輕鏈骨架區 2 (FR2)，其包含 SEQ ID NO: 146 之胺基酸序列；和/或輕鏈骨架區 3 (FR3)，其包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列。

[0020] 在一另外態樣中，本發明提供一種經分離之 h2120 抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段。在一實施態樣中，該抗體或其抗原結合片段包含三個輕鏈高變異區 (HVR-L1、HVR-L2、及 HVR-L3) 以及三個重鏈高變異區 (HVR-H1、HVR-H2、及 HVR-H3)，其中 HVR-L1 包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列，HVR-L2 包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列，HVR-L3 包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列，HVR-H1 包含 SEQ ID NO: 141 之胺基酸序列，HVR-H2 包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列，以及 HVR-H3 包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列。在另一實施態樣中，該經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段包含重鏈骨架區 2 (FR2)，其包含 SEQ ID NO: 134 之胺基酸序列；和/或重鏈骨架區 3 (FR3)，其包含 SEQ ID NO: 135 之胺基酸序列。在一其他實施態樣中，該經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段進一步包含輕鏈骨架區 1 (FR1)，其包含 SEQ ID NO: 147 之胺基酸序

列；輕鏈骨架區 2 (FR2)，其包含 SEQ ID NO：148 之胺基酸序列；輕鏈骨架區 3 (FR3)，其包含 SEQ ID NO：149 之胺基酸序列；或其任何組合。

[0021] 本技術領域中具通常知識者依本案說明書之教示將明瞭本發明之其他實施態樣。

【圖式簡單說明】

[0022] 本專利申請含有至少一張彩圖。

[0023] 圖 1A、B 繪示製造 IL-17 的人 CD4⁺細胞中存有 MCAM。圖 1A 繪示微陣列分析，其顯示 MCAM 在循環及經活化 TH17 細胞中均為調升基因 (up-regulated gene)。圖 1B 繪示流式細胞分選結果，顯示 MCAM 幾乎僅占記憶型 T 細胞 (CD45RO⁺ T 細胞) 中少數族群。圖 1C 繪示流式細胞分選結果，顯示 MCAM 富集於製造 IL-17 的人 CD4⁺ T 細胞。

[0024] 圖 2A、B 繪示表現 MCAM 的 T 細胞之表面標記。圖 2A 繪示表現 MCAM 的 T 細胞為作用記憶型 T 細胞 (CCR6⁺而同時為 CCR7⁻)。圖 2B 繪示表現 MCAM 的 T 細胞之整合素 (integrin) 表現型態。表現 MCAM 的 T 細胞主要為整合素 $\alpha 4$ 陽性，但大多為整合素 $\beta 7$ 陰性及 $\beta 1$ 陽性。

[0025] 圖 3A-F 繪示不同細胞介素對於 CD4⁺/CD45RO⁺ 記憶型 T 細胞的效果。圖 3A 繪示不同細胞介素對 MCAM 陽性 T 細胞的 IL-17 製造之效果。圖

3B 繪示藉由各種細胞介素刺激後表現 MCAM 的細胞之百分比。圖 3C、3D、及 3E 繪示 MCAM 陽性及 MCAM 陰性細胞兩者以各種細胞介素刺激後的 IL-17（圖 3C）、IL-22（圖 3D）、及 CCL20（圖 3E）量。圖 3F 繪示 MCAM 陽性及 MCAM 陰性細胞兩者以各種細胞介素刺激後的胞內 FOXP3 量。

[0026] 圖 4A-H 顯示確認層黏蛋白 411 為 MCAM 配體。圖 4A 說明 MCAM 配體及層黏蛋白於健康小鼠脈絡叢上為位置重疊（co-localization）。圖 4B 說明健康小鼠的脈絡叢上未有 MCAM 染色（4',6-二甲脒基-2-苯基吲哚（DAPI）係用作為對比染色）。圖 4C 說明健康小鼠腦內血管內皮細胞上存有 MCAM（DAPI 係用作為對比染色）。圖 4D 藉由以 MCAM-Fc 蛋白質將健康小鼠脊髓切片染色顯示 MCAM 配體的表現模式。圖 4E 說明 MCAM 配體及層黏蛋白於健康小鼠脊髓上為位置重疊。圖 4F 說明 MCAM 配體的胞外基質（ECM）位置。CD31 染色係用於顯示 MCAM 染色係於血管分布內的內皮細胞層外部。圖 4G 繪示於 EAE 病變中的 MCAM 配體的位置。MCAM-Fc 經顯示在內皮細胞基底膜內係與層黏蛋白位置重疊，但在實質基底膜（parenchymal basement membrane）內則無。圖 4H 說明 MCAM 配體及層黏蛋白 411（或層黏蛋白 $\alpha 4$ -鏈）為位置重疊。

[0027] 圖 5A 繪示 MCAM 抗體對人及小鼠 MCAM 的專一結合。圖 5B 繪示藉由 MCAM 抗體阻斷 MCAM-Fc 結

合至組織。圖 5C 繪示藉由單株抗體抑制介於人 MCAM 及其配體層黏蛋白 411 之間的交互作用。

[0028] 圖 6A 繪示單株抗體株 17 的輕鏈變異區。圖 6A 依出現序揭露編碼輕鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 1) 及輕鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 2)。三個高變異區亦標示為 CDRL1 (SEQ ID NO: 3)、CDRL2 (SEQ ID NO: 4)、及 CDRL3 (SEQ ID NO: 5)。圖 6B 繪示單株抗體株 17 的重鏈變異區。圖 6B 依出現序揭露編碼重鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 6) 及重鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 7)。三個高變異區亦標示為 CDRH1 (SEQ ID NO: 8)、CDRH2 (SEQ ID NO: 9)、及 CDRH3 (SEQ ID NO: 10)。

[0029] 圖 7A 繪示來自未受免疫處理小鼠 (naïve mouse) 的 T 細胞上未有 MCAM。圖 7B 繪示不同細胞介素存在下的脾細胞間之 MCAM 表現量。脾細胞係來自經 PLP 免疫之 SJL 小鼠並於體外以 PLP 再刺激所獲得。

[0030] 圖 8A、B 繪示於 EAE 治療模式中 MCAM 阻斷對疾病進展的效果。於 EAE 症狀顯見後，將經 PLP 免疫之小鼠以下列者每日予以腹膜內處理：(1) 抗 MCAM 抗體 (抗體株 15)，10 mg/kg 體重、(2) 同型對照組 (Bioxcell)，10 mg/kg 體重、及 (3) PBS。疾病進程 (圖 8A) 及體重 (圖 8B) 每 2-3 天監控一次。數據呈現 15 隻小鼠平均值 $\pm$ sem (平均值標準誤差)。

[0031] 圖 9A 繪示單株抗體株 15 的輕鏈變異區。圖

9A 依出現序揭露編碼輕鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 12) 及輕鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 13)。三個高變異區亦標示為 CDRL1 (SEQ ID NO: 14)、CDRL2 (SEQ ID NO: 15)、及 CDRL3 (SEQ ID NO: 16)。圖 9B 繪示單株抗體株 15 的重鏈變異區。圖 9B 依出現序揭露編碼重鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 17) 及重鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 18)。三個高變異區亦標示為 CDRH1 (SEQ ID NO: 19)、CDRH2 (SEQ ID NO: 20)、及 CDRH3 (SEQ ID NO: 21)。

[0032] 圖 10A-B 繪示 MCAM 抗體的結構域結合測試結果。

[0033] 圖 11A-B 繪示人 MCAM 的胺基酸序列 (A) (SEQ ID NO: 11 - 登錄號 CAA48332) 及結構 (B)。在圖 11A 中，對應人 MCAM 的五個免疫球蛋白結構域的胺基酸殘基位置如下 - 1: 胺基酸殘基 19-129; 2: 胺基酸殘基 139-242; 3: 胺基酸殘基 244-321; 4: 胺基酸殘基 335-424; 及 5: 胺基酸殘基 430-510) (SEQ ID NOS: 22-26)，其亦繪示於圖 11B。

[0034] 圖 12A-B 顯示人層黏蛋白 411 的二種 $\alpha 4$ -鏈異構體之胺基酸序列。圖 12A 顯示對應 GenBank 登錄號 NP001098676 (SEQ ID NO: 27) 的胺基酸序列，圖 12B 顯示對應 GenBank 登錄號 NP001098677 (SEQ ID NO: 28) 的胺基酸序列。

[0035] 圖 13 繪示單株抗體株 1174.1.3 的輕鏈變異區。圖 13 依出現序揭露編碼輕鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 29) 及輕鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 30)。三個高變異區亦標示為 CDRL1 (SEQ ID NO: 31)、CDRL2 (SEQ ID NO: 32)、及 CDRL3 (SEQ ID NO: 33)。

[0036] 圖 14 繪示單株抗體株 1174.1.3 的重鏈變異區。圖 14 依出現序揭露編碼重鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 34) 及重鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 35)。三個高變異區亦標示為 CDRH1 (SEQ ID NO: 36)、CDRH2 (SEQ ID NO: 37)、及 CDRH3 (SEQ ID NO: 38)。

[0037] 圖 15 繪示單株抗體株 1414.1.2 的輕鏈變異區。圖 15 依出現序揭露編碼輕鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 39) 及輕鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 40)。三個高變異區亦標示為 CDRL1 (SEQ ID NO: 41)、CDRL2 (SEQ ID NO: 42)、及 CDRL3 (SEQ ID NO: 43)。

[0038] 圖 16 繪示單株抗體株 1414.1.2 的重鏈變異區。圖 16 依出現序揭露編碼重鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 44) 及重鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 45)。三個高變異區亦標示為 CDRH1 (SEQ ID NO: 46)、CDRH2 (SEQ ID NO: 47)、及 CDRH3 (SEQ ID NO: 48)。

[0039] 圖 17 繪示單株抗體株 1415.1.1 的輕鏈變異區。圖 17 依出現序揭露編碼輕鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 49) 及輕鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 50)。三個高變異區亦標示為 CDRL1 (SEQ ID NO: 51)、CDRL2 (SEQ ID NO: 52)、及 CDRL3 (SEQ ID NO: 53)。

[0040] 圖 18 繪示單株抗體株 1415.1.1 的重鏈變異區。圖 18 依出現序揭露編碼重鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 54) 及重鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 55)。三個高變異區亦標示為 CDRH1 (SEQ ID NO: 56)、CDRH2 (SEQ ID NO: 57)、及 CDRH3 (SEQ ID NO: 58)。

[0041] 圖 19 繪示單株抗體株 1749.1.3 的輕鏈變異區。圖 19 依出現序揭露編碼輕鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 59) 及輕鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 60)。三個高變異區亦標示為 CDRL1 (SEQ ID NO: 61)、CDRL2 (SEQ ID NO: 62)、及 CDRL3 (SEQ ID NO: 63)。

[0042] 圖 20 繪示單株抗體株 1749.1.3 的重鏈變異區。圖 20 依出現序揭露編碼重鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 64) 及重鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 65)。三個高變異區亦標示為 CDRH1 (SEQ ID NO: 66)、CDRH2 (SEQ ID NO: 67)、及 CDRH3 (SEQ ID NO: 68)。

[0043] 圖 21A-B 繪示單株抗體株 2120.4.19 不同版本的輕鏈變異區。圖 21A-B 揭露編碼輕鏈變異區之核酸序列 (SEQ ID NO: 69) 的一個版本、輕鏈變異區的版本 1 之胺基酸序列 (SEQ ID NO: 70)、輕鏈變異區的版本 2 之胺基酸序列 (SEQ ID NO: 71)、及輕鏈變異區的版本 3 之胺基酸序列 (SEQ ID NO: 72)。三個高變異區亦標示為 CDRL1 (SEQ ID NO: 73)、CDRL2 (SEQ ID NO: 74)、及 CDRL3 (SEQ ID NO: 75)。

[0044] 圖 22 繪示單株抗體株 2120.4.19 的重鏈變異區。圖 22 依出現序揭露編碼重鏈變異區的核酸序列 (SEQ ID NO: 76) 及重鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO: 77)。三個高變異區亦標示為 CDRH1 (SEQ ID NO: 78)、CDRH2 (SEQ ID NO: 79)、及 CDRH3 (SEQ ID NO: 80)。

[0045] 圖 23A-B 繪示單株抗體株 2107.4.10 不同版本的輕鏈變異區。圖 23A-B 揭露編碼輕鏈變異區的版本 1 之核酸序列 (SEQ ID NO: 81)、編碼輕鏈變異區的版本 2 之核酸序列 (SEQ ID NO: 83)、輕鏈變異區的版本 1 之胺基酸序列 (SEQ ID NO: 82)、及輕鏈變異區的版本 2 之胺基酸序列 (SEQ ID NO: 84)。三個高變異區亦標示為 CDRL1 (SEQ ID NO: 85)、CDRL2 (SEQ ID NO: 86)、及 CDRL3 (SEQ ID NO: 87)。

[0046] 圖 24 繪示單株抗體株 2107.4.10 的重鏈變異區。圖 24 依出現序揭露編碼重鏈變異區的核酸序列

(SEQ ID NO : 88) 及重鏈變異區的胺基酸序列 (SEQ ID NO : 89) 。三個高變異區亦標示為 CDRH1 (SEQ ID NO : 90) 、CDRH2 (SEQ ID NO : 91) 、及 CDRH3 (SEQ ID NO : 92) 。

[0047] 圖 25A 顯示下列變異重鏈的序列比對：鼠 1749.1.3 抗 MCAM 抗體 (1749.1.3_VH_pro ; SEQ ID NO : 93) ; 1749 VH1 人化抗 MCAM 抗體 (h1749VH1 ; SEQ ID NO : 94) ; 1749 VH2 人化抗 MCAM 抗體 (h1749VH2 ; SEQ ID NO : 95) ; 及重鏈人變異 IGHV3-7*02 序列，用作為骨架供體 (U96282_VH ; SEQ ID NO : 96) 。使用 Kabat 編號，且加框處為高變異區 (HVR) ，係從鼠 1749.1.3 抗體移植至變異重鏈變異 IGHV3-7*02 骨架。於人化抗體序列中粗體標示之胺基酸殘基不同於對應的鼠抗體序列之殘基。可影響 CDR 接觸或 CDR 結構的正則 (canonical) 及界面胺基酸殘基位置以星號標示。

[0048] 圖 25B 顯示下列變異輕鏈的序列比對：鼠 1749.1.3 抗 MCAM 抗體 (1749.1.3_VL_pro ; SEQ ID NO : 97) ; 1749 VL1 人化抗 MCAM 抗體 (h1749VL1 SEQ ID NO : 98) ; 1749 VL2 人化抗 MCAM 抗體 (h1749VL2 SEQ ID NO : 99) ; 及輕鏈人變異 X02990 IGKV4-1*01 序列，用作為骨架供體 (X02990_VL SEQ ID NO : 100) 。使用 Kabat 編號，且加框處為高變異區 (HVR) ，係從鼠 1749.1.3 抗體移植至變異輕鏈變異

X02990 IGKV4-1*01 骨架。於人化抗體序列中粗體標示之胺基酸殘基不同於對應的鼠抗體序列之殘基。可影響 CDR 接觸或 CDR 結構的正則 (canonical) 及界面胺基酸殘基位置以星號標示。

[0049] 圖 26A 顯示下列變異重鏈的序列比對：鼠 2107.4.10.18 抗 MCAM 抗體 (2107.4.10.18_VH_topo_pro; SEQ ID NO: 101) ; 2107 VH1 人化抗 MCAM 抗體 (h2107VH1; SEQ ID NO: 102) ; 2107 VH2 人化抗 MCAM 抗體 (h2107VH2; SEQ ID NO: 103) ; 2107 VH3 人化抗 MCAM 抗體 (h2107VH3; SEQ ID NO: 104) ; 2107 VH4 人化抗 MCAM 抗體 (h2107VH4; SEQ ID NO: 105) ; 2107 VH5 人化抗 MCAM 抗體 (h2107VH5; SEQ ID NO: 106) ; 2107 VH6 人化抗 MCAM 抗體 (h2107VH6; SEQ ID NO: 107) ; 及重鏈人變異 AF062133 IGHV2-26*01 序列，用作為骨架供體 (AF062133_VH; SEQ ID NO: 108) 。使用 Kabat 編號，且在圖 26 中，加框處為高變異區 (HVR)，係從鼠 2107.4.10.18 抗體移植至變異重鏈變異 AF062133 IGHV2-26*01 骨架。S30T、I37V、L48I、及 K71R 突變併以 (i) 介於 CDR-H2 及 CDR-H3 (D78N) 之間的加框 N/D 殘基之突變恢復鼠 N-醯化；或在 CDR-H1 中的 N-G 序列之突變，例如 N32S (VH4) ; N32Q (VH5) ; 或 G33A (VH6))，提供 N 脫醯胺突變株。於人化抗體序列中粗體標示之胺基酸殘基不同於對應的鼠

抗體序列之殘基。可影響 CDR 接觸或 CDR 結構的正則 (canonical) 及界面胺基酸殘基位置以星號標示。

[0050] 圖 26B 顯示下列變異輕鏈的序列比對：鼠 2107_L7-6 抗 MCAM 抗體 (2107_L7-6_pro ; SEQ ID NO : 109) ; 2107 VL1 人化抗 MCAM 抗體 (h2107VL1 ; SEQ ID NO : 110) ; 2107 VL2 人化抗 MCAM 抗體 (h2107VL2 ; SEQ ID NO : 111) ; 2107 VL3 人化抗 MCAM 抗體 (h2107VL3 SEQ ID NO : 112) ; 及輕鏈人變異 U86803 IGKV1-27*01 序列，用作為骨架供體 (U86803_VL SEQ ID NO : 113)。使用 Kabat 編號，且加框處為高變異區 (HVR)，係從鼠 2107_L7-6 抗體移植至變異輕鏈變異 U86803 IGKV1-27*01 骨架。於人化抗體序列中粗體標示之胺基酸殘基不同於對應的鼠抗體序列之殘基。可影響 CDR 接觸或 CDR 結構的正則 (canonical) 及界面胺基酸殘基位置以星號標示。

[0051] 圖 27A 顯示下列變異重鏈的序列比對：鼠 2120.4.19.6 抗 MCAM 抗體 (2120.4.19.6_VH_topo_pro ; SEQ ID NO : 114) ; 2120 VH1 人化抗 MCAM 抗體 (h2120VH1 ; SEQ ID NO : 115) ; 2120 VH2 人化抗 MCAM 抗體 (h2120VH2 ; SEQ ID NO : 116) ; 2120 VH3 人化抗 MCAM 抗體 (h2120VH3 ; SEQ ID NO : 117) ; 2120 VH4 人化抗 MCAM 抗體 (h2120VH4 ; SEQ ID NO : 118) ; 2120 VH5 人化抗 MCAM 抗體 (h2120VH5 ; SEQ ID NO : 119) ; 及重鏈人變異 AF062133 IGHV2-26*01 序

列，用作爲骨架供體（AF062133_VH；SEQ ID NO：108）。使用 Kabat 編號，且加框處爲高變異區（HVR），係從鼠 2120.4.19.6 抗體移植至變異重鏈變異 AF062133 IGHV2-26*01 骨架。S30T、I37V、L48I、及 K71R 突變併以（i）在 CDR-H1 中加框 N/D 殘基的突變，例如 N32S（VH3）；N32Q（VH4）；或 G33A（VH5），提供 N 脫醯胺突變株。於人化抗體序列中粗體標示之胺基酸殘基不同於對應的鼠抗體序列之殘基。可影響 CDR 接觸或 CDR 結構的正則（canonical）及界面胺基酸殘基位置以星號標示。由於 N-去胺位置或 N-醯化位置存在而予以強調的突變之殘基係以方括號加框示之。

[0052] 圖 27B 顯示下列變異輕鏈的序列比對：鼠 2120.4.19.6 抗 MCAM 抗體（2120.4.19.6_VL_topo_pro；SEQ ID NO：120）；2120 VL1 人化抗 MCAM 抗體（h2120VL1；SEQ ID NO：121）；2120 VL2 人化抗 MCAM 抗體（h2120VL2；SEQ ID NO：122）；2120 VL3 人化抗 MCAM 抗體（h2120VL3；SEQ ID NO：123）；及輕鏈人變異 X84343 IGKV2-26*01 序列，用作爲骨架供體（X84343_VL；SEQ ID NO：124）。使用 Kabat 編號，且加框處爲高變異區（HVR），係從鼠 2120.4.19.6 抗體移植至變異輕鏈變異 X84343 IGKV2-26*01 骨架。於人化抗體序列中粗體標示之胺基酸殘基不同於對應的鼠抗體序列之殘基。可影響 CDR 接觸或 CDR 結構的正則（canonical）及界面胺基酸殘基位置以星號標示。

[0053] 圖 28A-C 比較各種 1749、2120、及 2107 抗體對 MCAM 結合至層黏蛋白 411 的阻斷。

[0054] 圖 29 顯示某些人化抗 MCAM 抗體相較於嵌合抗 MCAM 抗體的抑制%。

[0055] 圖 30：以抗 MCAM 抗體處理，減少皮膚發炎模式的發炎。

[0056] 圖 31A、B：在異種移植模式中，抗 MCAM 抗體抑制黑色素瘤生長的體積（A）及重量（B）。

【實施方式】

發明詳細說明

1. 定義及縮寫

1.1. 定義

[0057] "個體（"individual"或"subject"）"如用於本文可為任何哺乳動物（例如馴養動物），包括人、犬、貓、牛、馬、山羊、豬、豬類、綿羊、猴、天竺鼠、大鼠、及小鼠。在一實施態樣中，該個體可為人。

[0058] "MCAM"（黑色素瘤細胞黏附分子，亦稱為 CD146 及 MUC18）係指一種細胞表面糖蛋白，其屬於免疫球蛋白大家族（superfamily），參與細胞黏附以及血管組織中細胞間連接點（intercellular junction）的內皮單層（endothelial monolayer）之內聚性。其亦促進包括黑色素瘤及攝護腺癌的許多癌症之腫瘤進展。其已知以同型/親同種（homophilic）方式交互作用，且亦可結合至其他

配體。人 MCAM 具有 SEQ ID NO: 11 (圖 11A) 的胺基酸序列，其包括五個如 SEQ ID NO: 22-26 所示之免疫球蛋白結構域 (1: 胺基酸殘基 19-129; 2: 胺基酸殘基 139-242; 3: 胺基酸殘基 244-321; 4: 胺基酸殘基 335-424; 及 5: 胺基酸殘基 430-510)，其繪示於圖 11B 中。

[0059] "層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈"係指見於層黏蛋白分子中的多肽鏈中之一者，其被表現於 (基底膜的) 基板 (basal lamina)，作為大部分細胞及器官的蛋白質網絡基底。層黏蛋白已知透過細胞膜分子結合至細胞膜，並有助於細胞接附。層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈典型上與層黏蛋白 β 鏈、以及黏蛋白 γ 鏈形成複體。層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈可見於許多層黏蛋白分子，其包括但不限於層黏蛋白 411 (層黏蛋白 8 或 $\alpha 4\beta 1\gamma 1$)；層黏蛋白 421 (層黏蛋白 9 或 $\alpha 4\beta 2\gamma 1$)、以及層黏蛋白 423 (層黏蛋白 14 或 $\alpha 4\beta 2\gamma 3$)。人層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈有二種主要的異構體：GenBank 登錄號 NP001098676 及 NP001098677，如圖 12A-B 所示 (胺基酸序列 SEQ ID NO: 27-28)。“層黏蛋白 411”係指三聚體多肽複體，係由三種多肽次單元或鏈所形成： $\alpha 4$ 鏈、 $\beta 1$ 鏈、及 $\gamma 1$ 鏈。

[0060] 用語"拮抗劑"以最廣定義使用，且包括部分或完全阻斷、抑制、或中和 MCAM 多肽的性質生物活性的任何分子。針對本發明目的，該生物活性較佳為下列之能力：抑制 MCAM (i) 專一性與其配體、即層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈 (例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈) 結合；及/或 (ii) 促進表現 MCAM 之細胞 (例如 TH17 細胞) 浸潤至或遷移至個

體組織的能力。MCAM 的拮抗劑可例如依它們抑制或阻斷 MCAM 專一性結合至其配體、即層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈（例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈）之能力來確認。MCAM 拮抗劑可特定包括但不限於：抗體（例如拮抗劑或中和抗體），包括嵌合、人化、及人抗體及彼等之功能性片段、小分子、核酶（ribozyme）、適體（aptamer）、胜肽、及編碼多肽拮抗劑或拮抗劑抗體之核酸。

[0061] 用語"MCAM 拮抗劑抗體"係指抑制或中和 MCAM 活性的抗體。此種抗體專一性結合至涉及表現 MCAM 之細胞浸潤至 CNS 的多肽標的，例如 MCAM 或層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈（例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈）。

[0062] "阻斷"抗體、"中和"抗體、或"拮抗劑"抗體係抑制或減少其結合之抗原的生物活性者。此種抗體可實質上或完全抑制該抗原的生物活性。

[0063] 用語"專一性結合"用於此處意指專一性結合對的一成員不會顯示與其專一性結合配對體以外之分子任何統計上顯著性結合。相較於結合配對體與其非專一性結合配對體的結合，結合配對體可顯示與其專一性結合對配對體至少 1000 倍結合親和性（以表觀結合常數測量）。舉例而言，與 MCAM 結合的結合親和性為 10^7 莫耳/L 或更高、典型上為 10^8 莫耳/L 或更高的抗體，則稱專一性結合至 MCAM。

[0064] 用語"生物活性"及"生物學上活性"就 MCAM 而言係指其專一性結合其配體（層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈，例如層

黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈) 和/或促進表現 MCAM 之細胞(例如 TH17 細胞)浸潤至 CNS 中的能力。

[0065] 用語"表現 MCAM 之細胞"係指表現 MCAM 的免疫系統細胞。舉例而言, TMCAM 表現富集於例如 TH17 細胞的記憶型 T 淋巴球上。

[0066] 用語"結合分子"用於此處係指專一性結合至標的的分子。該用語特定包括但不限於抗體及抗體片段(如包含一或多個此處所述之 CDR 者), 以及胜肽和非胜肽小分子。

[0067] "抗體"(Ab)及"免疫球蛋白"(Ig)係具有一些共同結構特徵的醣蛋白。雖然抗體展現對特定抗原的結合專一性, 但免疫球蛋白包括抗體及其他缺少抗原專一性的類抗體分子兩者。後者類型的多肽可例如由淋巴系統低量產生且由骨髓瘤增量產生。

[0068] 用語"抗體"用於本文中可涵蓋完整單株抗體、多株抗體、由至少二個完整抗體形成的多重專一性抗體(例如雙專一性抗體)、及抗體片段, 只要它們展現出所欲之生物活性。用語抗體的"抗原結合片段"係指專一性結合至抗原的完整長度免疫球蛋白分子部分。抗體的抗原結合片段因此包括抗原結合重鏈、輕鏈、重鏈-輕鏈二聚體、Fab 片段、 $F(ab')_2$ 片段、Fv 片段、單鏈 Fv (scFv)、雙功能抗體、線性抗體、及由抗體片段形成之多專一性抗體。

[0069] 用語"單株抗體"如用於本文中係指獲自實質

同質性抗體之群組之抗體，即包括該群組之個別抗體實質上類似及結合同一抗原決定區，除了可於單株抗體產生期間形成之可能的變異體之外，該等變異體通常係以少量存在。此種單株抗體一般而言包括含有可結合標的變異區之抗體，其中該抗體係由包括自複數個抗體中選擇抗體之方法取得。舉例而言，該選擇流程可為自複數個抗體株中（諸如，雜交瘤株、噬菌體株、或重組 DNA 株之集合）選擇一獨特抗體株。應可明瞭，經選擇之抗體可經進一步之變更以例如改良對於標的之親和性、以人化該抗體、以改良其在細胞培養物中之生成、以降低其體內免疫原性、以創造多專一性抗體等，且包含該經變更之變異區序列之抗體亦係本發明之單株抗體。與通常包括指向不同決定子（抗原決定基）之不同抗體之多株抗體製劑不同，各單株抗體係指向抗原上之單決定子。除了其專一性之外，單株抗體製備物之優點在於彼等通常未受其他免疫球蛋白污染。修飾語「單株」指獲自抗體之實質同質性群組之抗體之特徵，且不應理解為需藉由任何特定方法製得抗體。例如，根據本發明使用之該等單株抗體可藉由各種技術製得，包括融合瘤法（例如 Kohler 等人，Nature, 256: 495 (1975)；Harlow 等人，Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988)；Hammerling 等人，於：Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681, (Elsevier, N. Y., 1981)）、重組 DNA 法（參見例如 U.S. Patent No.

4,816,567) 、噬菌體展示技術 (參見例如 Clackson 等人 , Nature, 352 : 624-628 (1991) ; Marks 等人 , J. Mol. Biol., 222 : 581-597 (1991) ; Sidhu 等人 , J. Mol. Biol. 338 (2) : 299-310 (2004) ; Lee 等人 , J.Mol.Biol.340 (5) : 1073-1093 (2004) ; Fellouse, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 101 (34) : 12467-12472 (2004) ; 及 Lee 等人 , J. Immunol. Methods 284 (1-2) : 119-132 (2004)) 、及用於自具有編碼人免疫球蛋白序列的部分或全部人免疫球蛋白基因座或基因的動物製造人或類人抗體的技術 (參見例如 WO98/24893, WO/9634096, WO/9633735, 及 WO/91 10741, Jakobovits 等人 , Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90 : 2551 (1993) ; Jakobovits 等人 , Nature, 362 : 255-258 (1993) ; Bruggemann 等人 , Year in Immune, 7 : 33 (1993) ; U.S. Patent Nos. 5,545,806, 5,569,825, 5,591,669 (均為 GenPharm) ; 5,545,807 ; WO 97/17852, U.S. Patent Nos. 5,545,807 ; 5,545,806 ; 5,569,825 ; 5,625,126 ; 5,633,425 ; 及 5,661,016, 及 Marks 等人 , Bio/Technology, 10 : 779-783 (1992) ; Lonberg 等人 , Nature, 368 : 856-859 (1994) ; Morrison, Nature, 368 : 812-813 (1994) ; Fishwild 等人 , Nature Biotechnology, 14 : 845-851 (1996) ; Neuberger, Nature Biotechnology, 14 : 826 (1996) ; 及 Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol., 13 : 65-93 (1995)) 。

[0070] 本文中之單株抗體特定言之包括"嵌合"抗體，其中一部份之該重鏈及/或輕鏈係與衍生自特定生物種之抗體中之對應序列相同或同源，或是屬於特定之抗體種類或次類，而該（等）鏈之其餘部分係與衍生自另一生物種之抗體中之對應序列相同或同源，或是屬於另一抗體種類或次類，以及此等抗體之片段，只要其展現所欲之生物活性即可（U.S. Patent No. 4,816,567；及 Morrison 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81 : 6851-6855（1984））。本文所關注之嵌合抗體包括"靈長類化"抗體，其包含衍生自非人的靈長類（如，舊大陸猴、人猿等）之變異域抗原結合序列以及人恆定區域序列，及"人化"抗體。

[0071] 非人（如，鼠類）抗體之"人化"形式係含有最少量之衍生自非人類免疫球蛋白序列之嵌合抗體。就大部分之情形而言，人化抗體係人免疫球蛋白（受體抗體），其中取自該受體高變異區之殘基經由具有所欲之專一性、親和性、及能力之取自非人類生物種（諸如，小鼠、大鼠、兔、或非人靈長類）高變區域之殘基取代（供體抗體）。在部分情形下，該人類免疫球蛋白之骨架區（FR）殘基經由對應之非人殘基取代。又，人化抗體可包含並未見於該受體抗體或是供體抗體中之殘基。此等修飾係用以進一步改良抗體表現。一般而言，人化抗體會實質上包含至少一種變異域（且典型為兩種）之全部，其中所有或實質上所有之高變異環皆對應於非人免疫球蛋白之高

變異環，且所有或實質上所有之 FR 皆係具人免疫球蛋白序列者。人化抗體亦隨意包含至少一部分之免疫球蛋白恆定區（Fc），一般而言係人免疫球蛋白者。就其進一步之細節，參見 Jones 等人，*Nature* 321：522-525（1986）；Riechmann 等人，*Nature* 332：323-329（1988）；及 Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2：593-596（1992）。

[0072] "完整抗體"在本文中係包含二個抗原結合區及 Fc 區的抗體。較佳的是，該完整抗體具有功能性 Fc 區域。

[0073] "結合至相同抗原決定區的抗體（或任何其他結合分子）"作為參考抗體（或任何其他結合分子），意指在競爭分析法中阻斷 50%或更多參考抗體（或任何其他結合分子）結合至其抗原的抗體（或任何其他結合分子），且反之，該參考抗體（或任何其他結合分子）在競爭分析法中阻斷 50%或更多該抗體結合至其抗原。

[0074] "親和性成熟"抗體為一種在其一或多個高變異區中具有一或多個改變、其使抗體對抗原之親和性力改良化的抗體（與不具有彼等變化之親本抗體相比）。較佳親和性成熟抗體對標的抗原具有奈莫耳（nanomolar）或甚至皮莫耳（picomolar）親和性。可使用本技術領域中已知之程序產生親和性成熟抗體。Marks 等人，*Bio/Technology* 10：779-783（1992）描述藉由 VH 及 VL 結構域改組（shuffling）達成之親和力成熟。CDR 及/或骨架殘基之隨機突變係描述於：Barbas 等人，*Proc Nat.*

Acad. Sci, USA 91 : 3809-3813 (1994) ; Schier 等人 ,
Gene 169 : 147-155 (1995) ; Yelton 等人 , *J. Immunol.*
 155 : 1994-2004 (1995) ; Jackson 等人 , *J. Immunol.* 154
 (7) : 3310-9 (1995) ; 及 Hawkins 等人 , *J. Mol. Biol.*
 226 : 889-896 (1992) 。

[0075] 取自任何脊椎動物生物種之抗體"輕鏈"可根據其恆定結構域之胺基酸序列而被指定為屬於兩種明確迥異之類型之一，稱為 κ 及 λ 。取決於它們重鏈的恆定區的胺基酸序列，完整抗體可分為不同"類"。有五種主要完整抗體種類：IgA、IgD、IgE、IgG、及 IgM，這些之中有數種可進一步分為"次類"（同型），例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、及 IgA2。對應於不同抗體類型之重鏈恆定結構域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、及 μ 。不同類型免疫球蛋白之次單元結構及三維構形皆已為熟知。

[0076] 用語"變異"係指該等變異域中某些部分隨抗體之不同而有大量序列差異、且其係用於各特定抗體對其特定抗原之結合及專一性中之事實。然而，該可變性並非平均分布於該等抗體之可變域中。其係集中於輕鏈及重鏈兩者之可變域中三個稱為互補決定區（CDR）或高變異區（HVR）之區段中。可變域中較為高度保守之部分稱為骨架區域（FR）。天然重及輕鏈之變異域各包含四個 FR 區域，其大部分係 β 折板構形，由三個 CDR 連結，其形成連結該 β 折板結構之環，且在部分情形下形成該 β 折板結構之部分。各鏈中之 CDR 由該等 FR 區域維持在極相近之

位置，且其與來自另一鏈之 CDR 一同貢獻形成抗體之抗原結合位置。恆定結構域並不直接涉及抗體與抗原之結合，但其具有各種不同之效應子功能，諸如，使該抗體參與抗體依賴性細胞毒性。

[0077] "Fv"係包含完整之抗原辨識及抗原結合位置的最小抗體片段。在二鏈 Fv 種類中，此區由緊密、非共價結合的一個重鏈和一個輕鏈變異域的二聚體組成。在單鏈 Fv 種類中，一個重鏈和一個輕鏈變異域可藉由彈性胜肽連接子共價連接，使得輕和重鏈可以類似於二鏈 Fv 種類的“二聚體”結構連接。就在此構形中各變異域之三個 CDR 互相作用，以在該 VH-VL 二聚體之表面界定出抗原結合位置。總的來說，6 個 CDR 賦予抗原結合專一性的抗體。然而，即使是單一變異域（或是僅含有三個對於抗原具有專一性之 CDR 之半個 Fv）仍具有辨識及結合抗原之能力，但其親和性較該完整之結合位置為低。

[0078] "高變異區"或"HVR"係指負責抗原結合之抗體胺基酸殘基。該高變異區一般而言包含取自"互補決定區"或"CDR"之胺基酸殘基（Kabat 等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）及/或取自"高變異環"之諸等殘基（Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196: 901-917 (1987)）。

[0079] 用語“互補決定區”或“CDR 的”當用於本文中係指與特定配體接觸且決定其專一性的免疫受體的部分。

免疫受體的 CDR 係受體蛋白最變異部分，其賦予受體多樣性，且攜載於受體變異域的遠端處的六個環，三個環各來自二個受體變異域。

[0080] 用語"抗原決定區"係用於指稱蛋白質抗原上供（單株或多株）抗體結合位置。典型上，抗原決定區係指習知藉由免疫球蛋白 VH-VL 對所結合的結構之單元。抗原決定區界定最小結合位置，且因此代表抗體專一性標的。抗原決定區可為線形或構形，且可小至三個胺基酸。

[0081] "小分子"在本文中係界定為具有低於約 600、較佳為低於約 1000 道耳頓的分子量。通常，小分子係非胜肽的小有機分子。

[0082] “經分離之”當用於描述本文中所揭示的各種多肽、蛋白質和抗體時，意指業經鑑定且自其天然環境的組分分開和/或回收的多肽、蛋白質、抗體。其天然環境的污染性成分係典型上干擾該多肽、蛋白質或抗體的診斷或治療用途、且可包括酵素、荷爾蒙、及其他蛋白質或非蛋白質溶質的物質。在較佳實施態樣中，該多肽、蛋白質、或抗體將經純化至（1）藉由使用轉杯式定序儀足以取得至少 15 個殘基之 N 端或內部胺基酸序列之程度；或（2）使用考馬斯藍（Coomassie blue）或較佳者使用銀染，在非還原或還原條件下，以 SDS-PAGE 測得為均勻性。經分離之多肽、蛋白質、或抗體包括重組細胞中之原位多肽、蛋白質、或抗體，因將不會存在該相關聯天然環境中之至少一種組成份。然而，一般而言，經分離之多肽、蛋白

質、或抗體將會由至少一種純化步驟製備。

[0083] 用語"親和性（親和力）"、"結合親和性"及" K_d "係指與各 MCAM 結合分子-標的複體（例如介於抗 MCAM 抗體及 MCAM 之間）有關之平衡解離常數（以濃度單位表示）。結合親和性直接相關於解離速率常數（通常以時間倒數為單位表示，例如秒⁻¹）與結合速率常數（通常以每單位時間濃度的單位表示，例如莫耳/秒）的比率。藉由例如 ELISA 分析法、動力學排除分析法（kinetic exclusion assay）或表面電漿子共振可以測定結合親和性。應注意，某些抗原決定區能夠在細胞表面反復存在（多價），並且與具有單價形式相應配體反應的相同抗體的解離常數相比，抗體與重複抗原決定區結合的解離常數（ k_{off} ）大大降低。由於當一個抗體-配體鍵結解離時，其他鍵結將二價（或多價）抗體束縛於多價配體，允許已解離鍵結再次形成，因此出現降低的解離常數。二價（或多價）Ab 和多價配體之間反應的解離常數稱為功能性親和性，以別於其內在親和性而言，其為針對抗體代表性個別位置的結合常數。

[0084] 如文中所使用，用語"解離"、"解離速率"及" k_{off} "意欲指例如抗體之結合分子自結合分子/標的（例如抗體/抗原複體）解離的解離速率常數。

[0085] 如文中所使用，用語"結合"、"結合速率"及" k_{on} "意欲指結合分子與標的（例如抗體與抗原）結合形成複體的結合速率常數。

[0086] 如文中所使用，用語"有效濃度"及" EC_{50} "意欲指能夠與足夠量標的分子交互作用而對大約 50%經處理細胞產生效果的結合分子（例如抗體）的濃度。

[0087] 如本文使用的，"治療"（及其文法不同詞態，例如原形動詞或動名詞/進行式）指試圖改變被治療個體的自然過程（*natural course*）的臨床干預，可為預防/阻止而進行或在臨床病理學過程之中進行。該用語係指治療性處置和預防性或阻止性措施，其中目標是阻止或減緩（減輕）所不欲之的生理學改變或失調。對於本發明的目的，有益的或期望的臨床結果包括但不限於減輕症狀、減輕疾病程度、穩定（即不惡化）疾病狀態、延遲或減緩疾病進程、改善或減輕疾病狀態、及緩解（不論部分或完全）（可檢測到或不可檢測到）。"治療"還可以指與未接受治療的預期存活相比延長的存活。需要治療者包括已經患有病況或失調以及易患該病況或失調者或者其中意欲預防該病症或障礙者。

[0088] "慢性"投與係指以與急性模式相對的持續模式來投與製劑，從而維持所欲效果延長一段時間。

[0089] "間歇"投與不是連續無間斷的進行之治療，而是性質上為循環進行者。

[0090] "有效量"是在劑量及必要一段時間下有效實現理想預防性或治療性結果的量。有效量是指由研究員、獸醫、醫師或其他臨床人員所尋求的在組織、系統、動物、個體、或人中引起生物或醫學反應的活性化合物或藥劑的

量，其包括下列一或多者：

(A) 預防疾病；例如預防個體發炎性疾病（例如神經發炎性疾病）、病況或失調，該個體可能易患疾病、病況或失調但是尚未經歷或表現出疾病的病理或症狀；

(B) 抑制疾病；例如抑制個體的發炎性疾病（例如神經發炎性疾病）、病況或失調，該個體正在經歷或表現出疾病、病況或失調的病理和/或症狀（即阻礙病理和/或症狀的進一步發展）；和

(C) 改善疾病；例如改善個體的發炎性疾病（例如神經發炎性疾病）、病況或失調，該個體正在經歷或表現出疾病、病況或失調的病理和/或症狀（即逆轉病理和/或症狀）。

[0091] 除非另有定義，否則本文所用之所有技術及科學用語具有與本技術領域中具有的意義與通常知識者所理解者相同。在一些情況中，具有一般通常所理解之定義的用語在本文界定以求明確及/或即時參照，且在本文中此些界定的納入不應被解讀為代表與本技術領域中一般所理解者有實質差異。本文中所描述或參照的技術及程序為熟習本技術者普遍所熟稔且常用之習知方法，例如像是描述於 Sambrook 等人之 *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 2nd. edition (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. 中廣泛使用之分子選殖方法。若適當時，除非另有指明，否則涉及使用市售可得套組及試劑的程序通常依製造商定義之實驗流程

及/或參數進行。因此，在描述本案方法、套組及用途前，應理解本發明不限於所述之特定方法學、實驗流程、細胞株、動物物屬、構築體、及試劑，並且可有不同變化。也應理解，本文所用之專用名詞目的僅為描述特定實施態樣，且不意欲限制本發明範圍，本發明範圍僅由後附之申請專利範圍限定。

[0092] 必須注意的是，如用於本文中，除非上下文清楚指明，則單數形"一"、"及"、以及"該"包括複數個指涉物。因此，舉例而言，指涉"一抗體"包括複數個此種抗體，且指涉"該劑量"包括指涉一或多個劑量及熟悉本技術領域者已知的其等效物等等。在說明書及申請專利範圍全文，用語"包含"或其不同詞態（例如第三人稱單數式或進行式）理解為暗示包含所述整數或整數組本身而非排除任何其他整數或整數組。

1.2. 縮寫

Abs	抗體
CDR	互補決定區
CFA	完全佛朗氏佐劑
CFSE	羧基螢光黃琥珀醯亞胺基酯
CNS	中樞神經系統
DAPI	4',6-二甲脒基-2-苯基吡啶
DN	含多巴胺神經元
EAE	實驗性自體免疫性腦脊髓炎
ECM	胞外基質
FACS	螢光活化細胞分選
FR	骨架區
IFA	不完全佛朗氏佐劑
Igs	免疫球蛋白
MCAM	黑色素瘤細胞黏附分子
MOG	髓鞘質寡樹突細胞醣蛋白 (MOG)
MS	多發性硬化症
PD	帕金森病
PMA	肉豆蔻酸乙酸巴豆酯

2. MCAM

[0093] MCAM (黑色素瘤細胞黏附分子) 係細胞表面醣蛋白，原本經認定為黑色素瘤抗原，其表現係與腫瘤進展及轉移潛在性發展相關。MCAM 係 113 kDa 之細胞表面膜主體醣蛋白，由訊息胜肽、五個類免疫球蛋白結構域 (1、2、3、4、及 5；或 V-V-C2-C2-C2)、透膜區域、及短胞質尾所構成。參見例如 Lehmann 等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86: 9891-9895 (1989) 及圖 11B。MCAM 係免疫球蛋白大家族的成員，且與許多 Ig 大家族的細胞黏附分子具有明顯序列同源性，包括 BEN (Pourquie 等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 89: 5261-5265 (1992))、神經細胞黏附分子 (N-CAM) (Owens 等

人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 84：294-298（1987））、髓鞘相關糖蛋白（MAG）（Lai 等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 84：4337-4341（1987））、大腸癌缺損蛋白（DCC）（Hedrick 等人，*Genes Devel.* 8：1174-1183（1994））、及砂囊細胞黏附蛋白（gicerin）（Taira 等人，*Neuron* 12：861-872（1994））。較少在正常人組織偵測到 MCAM 的表現，而在各種惡性腫瘤偵測 MCAM 的表現。在正常成人組織中，MCAM 係表現在內皮細胞、平滑肌細胞（Shih 等人，*Lab. Invest.* 75：377-388（1996）；Sers 等人，*Cancer Res.* 54：5689-5694（1994））、活化型 T 淋巴球次族群（Pickl 等人，*J. Immunol.* 158：2107-2115（1997））、及中間型滋養細胞（Shih 等人，參照前文）。MCAM 亦表現於各種惡性腫瘤上，包括平滑肌腫瘤（平滑肌瘤及平滑肌肉瘤）、血管來源腫瘤（血管肉瘤和卡波西肉瘤）、胎盤滋養層細胞腫瘤、絨毛膜癌、及黑色素瘤（Shih 等人，*Clinical Cancer Res.* 2：569-575（1996）；Holzmann 等人，*Int. J. Cancer* 39：466-471（1987））。MUC18 的表現直接相關於人黑色素瘤細胞轉移可能性（Bar-Eli, *Cancer Metastasis*, 18：377-385（1999））。

[0094] 已有許多研究確認 MCAM 為腫瘤進展及黑色素瘤轉移的標記。正常黑色素細胞及良性痣中未有表現 MCAM，但在許多原發性黑色素瘤有明顯表現，且在轉移病灶中最多（Lehmann 等人，參照前文；Shih 等人，參照

前文)。MCAM 表現與腫瘤垂直厚度及轉移形成極為相關，且大於 80% 的轉移病灶表現 MCAM (Lehmann 等人，參照前文；Xie 等人，*Cancer Res.* 57 : 2295-2303 (1997)；及 Shih 等人，參照前文)。已有產製 MCAM 調節劑以治療黑色素瘤。參見例如美國專利第 7,067,131 號。近期，曾建議調節 MCAM 以確認及選擇發炎性細胞介素分泌 T 細胞或彼等之前驅細胞以治療各種發炎性病況。參見例如美國專利申請公開案第 2011/0014183 號。

3. 神經發炎性病況、多發性硬化症、及帕金森病

[0095] 神經發炎性病況係指與神經系統（在一實施態樣中為中樞神經系統（CNS））發炎相關的病況，且與細胞/組織損傷有關。典型上，其特徵為例如神經膠細胞活化增加、前發炎性細胞介素/趨化激素量增加（例如 $\text{TNF}\alpha$ 、 $\text{INF}\gamma$ 、 $\text{IL-1}\beta$ ）、血腦屏障穿透性增加、及/或免疫細胞增加（例如白血球）募集/侵入至 CNS。其亦可指例如慢性神經發炎，諸如與免疫系統細胞慢性活化相關發炎（例如自體免疫相關神經發炎）。此種慢性神經發炎可於例如多發性硬化症（MS）中觀察到。此外，帕金森病（PD）係一種呈現神經發炎的神經退化性疾病，舉例而言，經活化之小神經膠質細胞及 T 細胞浸潤。

[0096] 多發性硬化症為漸進式神經自體免疫疾病，由慢性、病理發炎造成（Yednock 等人，*Nature* 356 : 63-

66 (1992) ; Baron 等人 , *J. Exp. Med.* 177 : 57-68 (1993)) 。在美國 , MS 影響估計約 250,000 至 350,000 人。多發性硬化症被認為是特定自體免疫反應的結果 , 其中某些白血球攻擊並開始破壞髓鞘質 (覆蓋神經纖維的絕緣鞘) 。MS 的發作可能為劇急或非常輕微而使病患不會尋求醫療協助。最常見的症狀包括一或多個肢體虛弱、由於視神經炎所致之視覺模糊、感覺障礙、複視和運動失調。疾病的病程可分為三類 : (1) 復發型 MS、(2) 慢性進展型 MS、及 (3) 非活化型 MS。

[0097] 復發型 MS 通常特徵為神經性失能的反復發作。MS 攻擊通常發生歷時數日至數週 , 且接著可完全、部分或未復原。自發作後復原通常自症狀高峰於數週至數個月內發生 , 惟極少數的一些復原會持續 2 或更多年。

[0098] 慢性進展型 MS 造成逐步漸進惡化而無穩定或緩解。此類型發生在具有先前 MS 復發病史的病患 , 惟 20% 病患並無復發發生過。在 MS 的進展期間亦可能發生急性復發。

[0099] 第三型為非活化型 MS。非活化型 MS 特徵為已固定之不同程度的神經缺損。多數具有非活化型 MS 的病患有先前的復發 MS 病史。MS 的病程亦與病患年齡有關。舉例而言 , 較佳預後因子包括早期發作 (排除兒童期) 、復發病程、及發作 5 年後些微剩餘失能 (residual disability) 。相反地 , 不良預後與年齡較長時發作 (即在 40 歲或更年長時) 及進展病程相關。由於慢性進展型 MS

傾向於在開始年齡較長時復發 MS，因此這些變數互相相關。慢性進展型 MS 的失能通常係由於病患個體後肢麻痺或四肢麻痺所致。

[0100] 帕金森病（PD）係漸進神經退化性疾病，呈現的主要臨床特性為運動異常，例如靜止性顫抖、運動遲緩、及僵硬。PD 特徵為黑質緻密部（*substantia nigra pars compacta*）中的含多巴胺神經元（DN）細胞喪失（Forno, *J. Neurophthol. Exp. Neurol.* 55 : 259-272 (1996)）。PD 一個特點為特徵在於活化的小神經膠質細胞及浸潤 T 細胞的神經發炎。雖然研究暗示形成 PD 各種機轉，例如粒線體失能、氧化壓力、及蛋白質降解機構的毀損，但 PD 成因仍不明（Dauer 等人，*Neuron* 39 : 889-909 (2003)）。近期的發現指出，先天性免疫及適應性免疫兩者均在 PD 發病機制中扮演重要角色（Stone 等人，*Antioxid. Redox. Signal.* 11 : 2151-2166 (2009)）。特定地，在 PD 動物模式中業經顯示活化小神經膠質細胞及 T 淋巴球兩者均明顯促成神經退化。參見例如 Brochard 等人，*J. Clin. Invest.* 119 : 182-192 (2009)。已有假設認為 CD4 陽性 T 細胞（例如前發炎性 T17 細胞）在 PD 中藉由活化小神經膠質細胞調介細胞毒性，且對黑質核 DN 賦予直接毒性效果（Appel, *J. Clin. Invest.* 119 : 13-15 (2009)）。

4.自體免疫疾病

[0101] 本文中"之自體免疫疾病"係產生於且針對個體自身組織之疾病或病症，或其之或由其產生病況之共分離或表現。自體免疫疾病或病症之實例包括（但不限於）：關節炎（類風濕性關節炎，諸如急性關節炎、慢性類風濕性關節炎、痛風或痛風性關節炎、急性痛風性關節炎、急性免疫性關節炎、慢性發炎性關節炎、退化性關節炎、經第 II 型膠原蛋白誘發之關節炎、傳染性關節炎、萊姆關節炎（Lyme arthritis）、增生性關節炎、牛皮癬性關節炎、史提耳氏病（Still's disease）、脊椎性關節炎、及幼發髮型類風濕性關節炎，骨關節炎，慢性漸進性關節炎，畸形性關節炎，慢性原發性多關節炎，反應性關節炎及黏連性關節炎）；發炎性高增生性皮膚疾病；牛皮癬，諸如斑塊狀牛皮癬、點狀牛皮癬（gutatte psoriasis）、膿胞型牛皮癬（pustular psoriasis）、及指甲牛皮癬；特異反應，包括諸如枯草熱及喬布症候群（Job's syndrome）之異位性疾病；皮膚炎包括接觸性皮膚炎、慢性接觸性皮膚炎、剝脫性皮膚炎、過敏性皮膚炎、過敏性接觸性皮膚炎、皰疹樣皮膚炎、錢幣狀皮膚炎、脂溢性皮膚炎、非特異性皮膚炎、原發性刺激性接觸性皮膚炎、和異位性皮膚炎；x 染色體相關聯之高 IgM 症候群；過敏性眼內發炎性疾病；蕁麻疹諸如慢性過敏性蕁麻疹及慢性特發性蕁麻疹，包括慢性自體免疫蕁麻疹；肌炎；多肌炎/皮肌炎；青少年皮肌炎；中毒性表皮壞死溶解；硬皮症（包括全身性硬皮症）；硬化症諸如全身性硬化症、多發性硬化症

(MS) (諸如脊髓-眼 MS、原發性進行性 MS (PPMS) 及緩解復發型 MS (RRMS))、進行性全身性硬化症、動脈粥樣硬化症、動脈硬化症、播散性硬化症及共濟失調硬化症；視神經脊髓炎 (NMO)；發炎性腸病 (IBD) (例如克隆氏病 (Crohn's disease)；自體免疫介導腸胃病；結腸炎諸如潰瘍性結腸炎、潰瘍性大腸炎、顯微鏡下性結腸炎、膠原性結腸炎、息肉性結腸炎、壞死性小腸結腸炎、及透壁性結腸炎；及自體免疫發炎性腸病)；腸道發炎；壞疽性膿皮病 (pyoderma gangrenosum)；結節性紅斑；原發性硬化性膽管炎；呼吸窘迫症候群，包括成人或急性呼吸窘迫症候群 (ARDS)；腦膜炎；葡萄膜之全部或部分發炎；虹膜炎；脈絡膜炎；自體免疫血液失調；類風濕性脊椎炎；類風濕性滑膜炎；遺傳性血管性水腫、顱神經損害，如腦膜炎；妊娠皰疹；妊娠性類天疱瘡；陰囊搔癢症；自體免疫性卵巢早衰；由於自體免疫病況造成之突發性聽覺喪失；IgE 介導病，諸如過敏症及過敏性與異位性鼻炎；腦炎，諸如拉斯木森腦炎 (Rasmussen's encephalitis) 及大腦邊緣及/或腦幹腦炎；葡萄膜炎，諸如前葡萄膜炎、急性前葡萄膜炎、肉芽腫性葡萄膜炎、非肉芽腫性葡萄膜炎、晶狀體抗原性葡萄膜炎、後葡萄膜炎、或自體免疫葡萄膜炎；具有及不具有腎病症候群之絲球體腎炎 (GN)，諸如慢性或急性絲球體腎炎，諸如原發性 GN、免疫介導 GN、膜性 GN (膜性腎病)、特發性膜性 GN 或特發性膜性腎病、膜或膜性增生性 GN

(MPGN) (包括第 I 型及第 II 型), 及快速進行性 GN; 增殖性腎炎; 自體免疫性多腺體內分泌衰竭; 龜頭炎包括漿細胞性局限性龜頭炎; 龜頭包皮膚炎; 離心性環狀紅斑; 持久性色素異常性紅斑; 多形性紅斑; 環狀肉芽腫; 光澤苔癬; 硬化萎縮性苔癬; 慢性單純苔癬; 小棘苔癬; 扁平苔癬; 片層狀魚鱗癬; 表皮鬆解性角化過度; 惡變前角化; 壞疽性膿皮症; 過敏性病況和反應; 過敏性反應; 濕疹包括過敏性或異位性濕疹、乾性濕疹、出汗不良性濕疹、和水泡性掌蹠濕疹 (vesicular palmoplantar eczema); 哮喘諸如支氣管哮喘 (asthma bronchiale)、支氣管性氣喘、和自體免疫性哮喘; 涉及 T 細胞浸潤和慢性發炎性反應的病況; 針對外來抗原諸如妊娠期間胎兒 ABO 血型的免疫反應; 慢性肺部發炎性疾病; 自體免疫心肌炎; 白血球黏附性缺乏症; 狼瘡, 包括狼瘡性腎炎、狼瘡性大腦炎、兒科狼瘡、非腎狼瘡、腎外狼瘡、盤狀狼瘡及盤狀紅斑狼瘡、禿髮狼瘡、全身性紅斑狼瘡 (SLE) 諸如皮膚 SLE 或亞急性皮膚 SLE、新生兒紅斑狼瘡 (NLE)、播散性紅斑狼瘡; 幼發型 (第 I 型) 糖尿病, 包括兒科胰島素依賴型糖尿病 (IDDM); 成年發病型糖尿病 (第 II 型糖尿病); 自體免疫糖尿病; 特發性尿崩症; 糖尿病性視網膜病、糖尿病腎病變、糖尿病大動脈失調; 與細胞激素及 T 淋巴細胞介導之急性及遲發過敏性相關的免疫反應; 肺結核; 肉狀瘤病; 肉芽腫病, 包括淋巴瘤樣肉芽腫病、韋格納肉芽腫病 (Wegener's

granulomatosis)；粒細胞缺乏；血管炎病包括血管炎、大血管血管炎（包括風濕性多肌痛和巨細胞（高安氏（Takayasu）動脈炎）、中血管血管炎（包括川崎氏（Kawasaki）病和結節性多動脈炎/結節性動脈周圍炎）、顯微性多動脈炎、免疫血管炎、CNS 血管炎、皮膚性血管炎、過敏性血管炎、壞死性血管炎（諸如全身性壞死性血管炎）、和 ANCA 相關血管炎諸如丘-施二氏（Churg-Strauss）血管炎或症候群（CSS）和 ANCA 相關小血管血管炎、顱動脈炎；再生不全性貧血、自體免疫再生不全性貧血；Coombs 陽性貧血；先天性純紅血球再生障礙性貧血（Diamond Blackfan anemia）；溶血性貧血或免疫溶血性貧血，包括自體免疫溶血性貧血（AIHA）；惡性貧血（惡性貧血症）；阿狄森氏病（Addison's disease）；純紅細胞貧血或再生障礙（PRCA）；因子 VIII 缺乏症；血友病 A；自體免疫嗜中性球減少症；全部血球減少症；白血球減少症；涉及白血球滲出之疾病；CNS 發炎性失調；多器官損傷症候群，諸如彼等繼發於敗血症者；外傷或出血；抗原－抗體複合介導病；抗絲球體基底膜病；抗磷脂抗體症候群；過敏性神經炎；貝賽特氏病/症候群；卡舒嫚氏症候群（Castleman's syndrome）；古德巴斯德症候群（Goodpasture's syndrome）；雷諾症候群（Reynaud's syndrome）；修格連症候群（Sjögren's syndrome）；史蒂文斯－強生症候群（Stevens－Johnson's syndrome）；類天疱瘡，諸如大疱性類天疱瘡及皮膚類天

疱瘡；天疱瘡（包括尋常天疱瘡、葉型天疱瘡、黏膜類天疱瘡性天疱瘡、及紅斑性天疱瘡）；自體免疫多內分泌病；雷特氏（Reiter's）病或症候群；熱損傷；先兆子癇；免疫複合失調例如免疫複合腎炎；抗體介導腎炎；多發性神經病；慢性神經病諸如 IgM 多發性神經病或 IgM 介導神經病；血小板減少症（例如由心肌梗塞患者形成），包括血栓性血小板減少性紫癜（TTP）、輸液後紫癜（PTP）、肝素誘發性血小板減少症及自體免疫或免疫介導血小板減少症（諸如特發性血小板減少症（ITP），包括慢性或急性 ITP）；鞏膜炎諸如特發性角膜-鞏膜炎；鞏膜外層炎；睪丸及卵巢之自體免疫疾病，包括自體免疫睪丸炎及卵巢炎；原發性甲狀腺功能低下；甲狀旁腺功能低下；自體免疫內分泌疾病，包括甲狀腺炎，諸如自體免疫甲狀腺炎、橋本氏病（Hashimoto's disease）、慢性甲狀腺炎（橋本甲狀腺炎）或亞急性甲狀腺炎；自體免疫甲狀腺病；特發性甲狀腺功能低下；格雷氏病（Grave's disease）；多腺症候群，諸如自體免疫多腺症候群（或多腺內分泌病症候群）；副腫瘤症候群，包括神經副腫瘤症候群，諸如 Lambert-Eaton 肌無力症候群或 Eaton-Lambert 症候群；僵硬人症候群；腦脊髓炎，諸如過敏性腦脊髓炎或過敏性腦脊髓炎（encephalomyelitis allergica）及實驗過敏性腦脊髓炎（EAE）；重症肌無力，諸如胸腺瘤相關之重症肌無力；小腦退化症；神經性肌強直；斜視眼陣攣或斜視眼陣攣肌陣攣症候群（OMS）；及感官神經病；多

病灶運動神經病；希漢氏症候群（Sheehan's syndrome）；自體免疫肝炎；慢性肝炎；類狼瘡肝炎；巨細胞肝炎；慢性活動性肝炎或自體免疫慢性活動性肝炎；淋巴間質性肺炎（LIP）；阻塞性細支氣管炎（非移植）對 NSIP；吉蘭－巴雷氏症候群（Guillain-Barré syndrome）；伯格氏病（Berger's disease）（IgA 腎病）；特發性 IgA 腎病；線性 IgA 皮膚病；急性熱性嗜中性白細胞皮膚病；角質層下膿胞皮膚病；短暫性棘皮鬆解皮膚病；硬化諸如原發性膽汁性肝硬化和肺硬變；自體免疫腸病症候群；腹腔疾病；腹腔疾病；乳糜瀉（麩質腸病）；難治性乳糜瀉；特發性乳糜瀉；冷球蛋白血症；肌萎縮側索硬化（ALS）（盧格里克氏病（Lou Gehrig's disease））；冠狀動脈病；自體免疫性耳病諸如自體免疫性內耳病（AIED）；自體免疫性聽覺喪失；多軟骨炎諸如頑固性或複發的或複發性多軟骨炎；肺泡蛋白沉著症；寇甘氏（Cogan）症候群/非梅毒性間質性角膜炎；貝耳氏麻痺（Bell's palsy）；斯威特氏（Sweet）病/症候群；自體免疫性酒糟鼻；帶狀皰疹相關疼痛；澱粉樣變；非癌性淋巴細胞增多；原發性淋巴球增多症，其包括單株 B 細胞淋巴球增多症（例如良性單株免疫球蛋白症及未知臨床意義之單株免疫球蛋白症（MGUS））；外周神經病；副腫瘤症候群；離子通道病，諸如癲癇症、偏頭痛、心律不整、肌肉失調、耳聾、失明、週期性癱瘓、及 CNS 之離子通道病；自閉症；發炎性肌症；局部區段性絲球體

硬化症（FSGS）；內分泌眼病；眼色素層鞏膜炎；脈絡膜視網膜炎；自體免疫肝病；纖維肌痛症；多發性內分泌失敗；Schmidt 症候群；腎上腺炎；胃萎縮；早老性癡呆；髓鞘脫失病，諸如自體免疫髓鞘脫失病及慢性發炎性髓鞘脫失多發性神經病；Dressler 症候群；斑禿；全禿；CREST 症候群（鈣質沈著、雷諾氏現象（Raynaud's phenomenon）、食道功能異常、指皮硬化及毛細血管擴張）；男性和女性自體免疫性不孕，例如由於抗精蟲抗體；混合型結締組織疾病；查加斯氏病（Chagas' disease）；風濕熱；復發性流產；農夫肺；多形性紅斑；開心術後症候群；庫興氏症候群（Cushing's syndrome）；飼鳥者肺；過敏性肉芽腫性血管炎；良性淋巴細胞血管炎；阿頗特症候群（Alport's syndrome）；肺泡炎，諸如過敏性肺泡炎及纖維化肺泡炎；間質性肺病；輸液反應；麻瘋病；瘧疾；寄生蟲疾病諸如利什曼氏原蟲病；錐蟲病（trypanosomiasis）；血吸蟲病；蛔蟲病；麴菌病；Sampter 症候群；卡普蘭氏症候群（Caplan's syndrome）；登革熱；心內膜炎；心內膜心肌纖維化；彌漫性間質性肺纖維化；間質性肺纖維化；肺纖維化；特發性肺纖維化；囊腫性纖維化；內眼炎；持久隆起性紅斑（erythema elevatum et diutinum）；胎兒母紅血球增多症；嗜伊紅血球筋膜炎；Shulman 症候群；費爾蒂症候群（Felty's syndrome）；絲蟲病（filariasis）；睫狀體炎，諸如慢性睫狀體炎、異時性睫狀體炎、虹膜睫狀體炎（急

性或慢性) 或 Fuch 睫狀體炎; Henoch-Schonlein 紫癜; 人類免疫缺乏病毒 (HIV) 感染; 伊科病毒 (echovirus) 感染; 敗血症; 內毒素血症; 胰腺炎; 甲狀腺毒症 (thyroxicosis); 小病毒感染; 風疹病毒感染; 接種後症候群; 先天性風疹感染; 愛-巴 (Epstein-Barr) 病毒感染; 腮腺炎; 伊文症候群 (Evan's syndrome); 自體免疫性腺衰竭; 西德納姆氏舞蹈病 (Sydenham's chorea); 鏈球菌感染後腎炎; 血栓閉塞性血管炎; 甲狀腺中毒症; 脊髓癆; 脈絡膜炎; 巨細胞多肌痛; 慢性過敏性肺炎; 乾燥性角膜結膜炎; 流行性角膜結膜炎; 特發性腎炎症候群; 微小變化性腎病; 良性家族性及缺血一再灌注損傷; 移植器官再灌注; 視網膜自體免疫性; 關節發炎; 支氣管炎; 慢性阻塞性氣管疾病; 矽肺病; 口瘡; 口瘡性口炎; 動脈硬化失調; 無精子發生 (aspermogenesis); 自體免疫溶血; Boeck 病; 冷凝球蛋白血症; 迪皮特倫氏攣縮 (Dupuytren's contracture); 晶狀體過敏性眼內膜炎; 過敏性腸炎; 麻瘋結節性紅斑; 特發性面癱; 慢性疲勞症候群; 類風濕性熱病; Hamman-Rich 病; 感覺神經性失聽; 陣發性血紅蛋白尿 (haemoglobinuria paroxysmatica); 性腺機能減退; 局部回腸炎; 白血球減少症; 傳染性單核細胞增多症; 橫斷性脊髓炎; 原發性特發性黏液水腫; 腎病; 交感性眼炎 (ophthalmia sympathica); 肉芽腫性睪丸炎; 胰腺炎; 急性多神經根炎; 壞疽性膿皮病; 奎爾萬氏甲狀腺炎 (Quervain's

thyreoiditis)；獲得性脾萎縮；非惡性胸腺瘤；白斑症；中毒性休克症候群；食物中毒；涉及 T 細胞浸潤之病症；白細胞黏附性缺乏症；由細胞介素及 T-淋巴細胞介導之急性及遲發過敏性相關之免疫反應；涉及白血球滲出之疾病；多器官損傷症候群；抗原-抗體複合介導病；抗絲球體基底膜病；過敏性神經炎；自體免疫多內分泌病；卵巢炎；原發性黏液水腫；自體免疫萎縮性胃炎；交感神經性眼炎；類風濕性疾病；混合型結締組織疾病；腎病症候群；胰島炎；多內分泌失調；第 I 型自體免疫多腺症候群；成人型特發性副甲狀旁腺機能低下 (AOIH)；心肌症諸如擴張型心肌症；獲得性大皰性表皮鬆解 (EBA)；血色沈著病；心肌炎；腎病症候群；原發性硬化性膽管炎；化膿性或非化膿性竇炎；急性或慢性竇炎；篩骨、額骨、上頷骨或楔狀骨竇炎；嗜伊紅血球相關病症，諸如嗜伊紅血球增多症、肺浸潤嗜伊紅血球增多症、嗜伊紅血球增多-肌痛症候群；Löffler 症候群；慢性嗜伊紅血球肺炎；熱帶肺嗜伊紅血球增多症；支氣管肺炎麴菌病；麴菌腫；或含嗜伊紅血球之肉芽瘤；過敏性反應；血清陰性脊椎關節病；多內分泌自體免疫疾病；硬化性膽管炎；鞏膜；鞏膜外層炎；慢性皮膚黏膜念珠菌病；布魯頓氏症候群 (Bruton's syndrome)；嬰兒暫時性低 γ 球蛋白血症；威斯科特-奧爾德利希症候群 (Wiskott-Aldrich syndrome)；共濟失調性毛細管擴張症候群；血管擴張；與以下各項有關的自體免疫性病：膠原病、風濕病、神

經病學疾病、淋巴結炎、血壓反應降低（reduction in bloodpressure response）、血管功能障礙、組織損傷、心血管缺血、痛覺過敏、腎缺血、腦缺血和伴隨血管化的疾病；過敏性超敏感性病症；腎小球腎炎病；再灌注損傷；缺血再灌注病症；心肌或其他組織的再灌注損傷；淋巴瘤氣管支氣管炎；發炎性皮膚病；具有急性發炎性成分的皮膚病；多器官衰竭；大疱病；腎皮質壞死；急性化膿性腦膜炎或其他中樞神經系統發炎性病症；眼和眶發炎性病症；粒細胞輸血相關症候群；細胞介素誘發的中毒；發作性睡病；急性重度炎症；慢性頑固性炎症；腎盂炎；動脈內增生；消化性潰瘍；心瓣炎；和子宮內膜異位症。

5. 癌症

[0102] 癌症和癌症病況係典型上特徵為未受調控的細胞生長/增殖的哺乳動物生理病況。良性及惡性癌症還有轉移癌包括在此定義中。轉移癌係指在體內已自開始發生處散布至另一處的癌。由轉移癌細胞所形成的腫瘤稱為轉移型腫瘤或轉移（其亦用於指癌細胞散布至其他身體部分的）。一般而言，轉移癌具有與原來或原發性癌相同的名稱和相同類型的腫瘤細胞。轉移癌包括攝護腺癌、肺癌、及胰腺癌。攝護腺癌或相關於攝護腺癌的病況係指攝護腺中異常細胞惡性生長、能夠侵入並破壞其他攝護腺細胞、並且擴散（轉移）至其他身體部位，包括骨、肺、肝、及淋巴結。肺癌或相關於肺癌的病況係指肺中異常細

胞惡性生長、能夠侵入並破壞其他肺細胞、並且擴散（轉移）至其他身體部位，包括腎上腺及肝。胰腺癌或相關於胰腺癌的病況係指胰中異常細胞惡性生長、能夠侵入並破壞其他胰細胞、並且擴散（轉移）至其他身體部位，包括肝、肺、及腹膜。

6.MCAM 拮抗劑

[0103] 本發明提供 MCAM 拮抗劑。此種拮抗劑涵蓋直接作用於 MCAM（例如抗 MCAM 抗體）及間接影響 MCAM 活性者（例如抗層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈抗體）。此種拮抗劑例如可用於治療特徵為表現 MCAM 之細胞浸潤至中樞神經系統（CNS）中的 CNS 發炎性失調。在一實施態樣中，一種包含 MCAM 拮抗劑的組成物可用於降低哺乳動物個體的發炎。在另一實施態樣中，此種組成物可用於部分或完全抑制表現 MCAM 之細胞的 CNS 浸潤。MCAM 拮抗劑的實例包括而不限於：抗一或多個結構域的拮抗劑或中和抗體或抗體片段，例如天然序列 MCAM 多肽或天然序列層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈多肽結構域的免疫球蛋白結構域（例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈）、小分子、核酶、適體、胜肽、及編碼多肽拮抗劑或拮抗劑抗體的核酸。提及"一"拮抗劑，涵蓋單一拮抗劑。在一實施態樣中，MCAM 拮抗劑為抗體，其包括但不限於嵌合、人化及人抗體及它們的功能性片段。

[0104] 在較佳實施態樣中，層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈係層黏蛋

白 411 的 $\alpha 4$ 鏈。在另一較佳實施態樣中，該 MCAM 拮抗劑阻斷包含 SEQ ID NO：22 和/或 SEQ ID NO：23 的胺基酸序列之 MCAM 結構域與層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈之交互作用。

6.1 鑑定 MCAM 拮抗劑的篩選分析法

[0105] 本發明包括篩選分析法以鑑定 MCAM 拮抗劑，其可用於治療特徵為表現 MCAM 之細胞浸潤至中樞神經系統（CNS）中的發炎性病況。

[0106] 在一態樣中，本發明關於用於鑑定表現 MCAM 之細胞浸潤 CNS 的抑制劑之方法，包含下列步驟：（a）在存有或未有候選分子下，將表現層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈的細胞之族群（例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈）與 MCAM 溫育；（b）監測 MCAM 結合至細胞的量；以及（c）若該候選分子存在時的 MCAM 結合量低於該候選分子未存在時，鑑定該候選分子 CNS 為表現 MCAM 之細胞浸潤 CNS 的抑制劑。在一實施態樣中，該候選分子係選自由小分子、胜肽、多肽、及抗體所組成的群組。本技術領域中具有通常知識者將理解其他類的候選分子可適用。在其他實施態樣中，MCAM 的結合量藉由藉由已知技術監測，其包括且不限於螢光顯微鏡檢查術、FACS、及 ELISA。在一其他實施態樣中，表現層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈的細胞係內皮細胞。在較佳實施態樣中，層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈係層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈。在較佳實施態樣中，層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈係層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈。

[0107] 針對拮抗劑藥物候選者的篩選分析法，可經設計以鑑定化合物，其與 MCAM 或與 MCAM 配體（例如層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈（例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈））結合或形成複體（包括其次單元或其他片段）、或干擾 MCAM 與其他細胞蛋白質的交互作用，藉此干擾 MCAM 與其配體（例如層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈）的交互作用。本文提供的篩選分析法包括能為高通量篩選化學物質庫的分析法，使其特別適於鑑定小分子藥物候選者。通常，提供結合分析法及活性分析法。

[0108] 該分析法可以不同形式進行，其包括且不限於蛋白質-蛋白質結合分析法、生化篩選分析法、免疫分析法、以及以細胞為基礎之分析法，其於本技術領域中已有完整特徵分析。

[0109] 所有針對拮抗劑及促效劑的分析法相同處，在於它們需要於足以使二個組分交互作用的條件及時間下，將藥物候選者接觸 MCAM 多肽或 MCAM 配體多肽（例如層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈）、或此種多肽之片段（特別包括 MCAM 及層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈）。

[0110] 舉例而言，人 MCAM 係 646 個胺基酸長的多肽，其序列可自 GenBank 資料庫登錄號 AAA20922.1（CAA48332）下取得（SEQ ID NO：11；圖 11A）。人層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈的胺基酸序列可自 GenBank 資料庫登錄號 NP001098676 及 NP001098677 下取得（SEQ ID NOS：27-28；圖 12A-B）。結合至此種多肽的抗體或小分子之產製

為熟習本技術者所熟知。

[0111] 在結合分析法中，交互作用為結合，且形成的複體可被分離或於反應混合物中偵測。在特定實施態樣中，MCAM 或 MCAM 配體多肽或藥物候選者固定於固相上，例如於微滴定盤上，藉由共價或非共價接附。非共價接附通常藉由將固體表面塗覆 MCAM 或 MCAM 配體多肽溶液並且乾燥來達成。或者，經固定化抗體，例如對欲固定化之 MCAM 或 MCAM 配體多肽具專一性的單株抗體，可被使用以錨定至固定表面。該分析法係藉由將未固定化組分（其可經可偵測標定物所標定）加入經固定化組分（例如含有經錨定組分的經塗覆表面）進行。當反應完成時，例如藉由洗滌來移除未反應組分，且偵測錨定於固體表面的複體。當原來未固定化組分攜帶的可偵測標定物時，偵測到標定物固定於表面上則代表有發生複體形成。當原來未固定化組分未攜帶標定物時，複體形成可藉由例如使用經標定且專一性結合固定化複體的抗體來偵測。

[0112] 若候選化合物係與 MCAM 或 MCAM 配體多肽交互作用但不結合的多肽，其與個別多肽的交互作用可藉由所熟知用於偵測蛋白質-蛋白質交互作用的方法分析。此種分析法包括傳統方式，例如像是交聯、共免疫沈澱、及經由梯度或層析管柱共純化。此外，蛋白質-蛋白質交互作用可藉由使用 Fields 及同事所述以酵母為基礎的遺傳系統來監測（Fields and Song, Nature (London), 340: 245-246 (1989)；Chien 等人 Proc. Natl. Acad. Sci. USA,

88 : 9578-9582 (1991)) , 如 Chevray and Nathans, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89 : 5789-5793 (1991) 所揭示。

[0113] 干擾 MCAM 及其他胞外組分 (特別是 MCAM 配體多肽) 交互作用的化合物 , 可經測試如下。通常 , 反應混合物含有 MCAM 及胞外組分 (例如 MCAM 配體 , 諸如層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈 , 例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈) , 在允許二個產物交互作用的條件及時間下製備。為測試候選化合物抑制 MCAM 及其配體之交互作用的能力 , 反應於未有及存有測試化合物下進行。此外 , 可將安慰劑加至第三反應混合物 , 以作為陽性對照組。由於 MCAM 已顯示專一性結合至其配體 , 例如層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈 , 所以該測試化合物抑制 MCAM/MCAM 配體交互作用的能力可例如藉由測量 MCAM 及其配體之間在未有及存有測試化合物下的結合程度來測試。若在存有候選化合物下的 MCAM 結合至其配體的程度低於未有候選化合物下的程度 , 則依本發明之界定 , 該候選化合物係 MCAM 拮抗劑。

[0114] 替代的篩選實驗流程涉及使用表現層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈 (例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈) 之細胞族群 , 該細胞族群於存有或未有測試化合物下與 MCAM 溫育 , 並例如藉由螢光顯微鏡檢查術 (示例於實例 5) 監測 MCAM 結合至該細胞族群。其他監測方法將為熟習本技術領域者所理解 , 包括螢光活化細胞分選 (FACS) 及酶聯免疫吸附檢定法 (ELISA) 。若在存有該測試化合物下的 MCAM 結合

至該細胞族群低於未存有該測試化合物，則該測試化合物為 MCAM 拮抗劑。

[0115] 基於 MCAM 拮抗劑抑制 MCAM 結合至其配體（例如層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈）的能力所鑑定之 MCAM 拮抗劑，為用於治療特徵為表現 MCAM 之細胞浸潤至 CNS 中的神經發炎性病況的藥物候選者。

[0116] 應強調的是，本文中特別討論之篩選分析法僅為說明之用。各式其他分析法，其可取決於所篩選的拮抗劑候選者類型（例如多肽、胜肽、非胜肽小有機分子、適體、核酶、核酸等等）來選擇，為熟習本技術領域者所熟知，且同樣適用於為本發明目的。

6.2 抗體

[0117] 在一態樣中，MCAM 拮抗劑係抗 MCAM 抗體或抗層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈（例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈）抗體、或其抗原結合片段。在一些實施態樣中，抗 MCAM 抗體係阻斷抗體，其完全或部分阻斷 MCAM 與其配體、即層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈的交互作用。在其他實施態樣中，抗層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈抗體係阻斷抗體，其完全或部分阻斷層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈與 MCAM 的交互作用。在某些實施態樣中，該抗 MCAM 抗體結合至與 MCAM 配體、即層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈交互作用的 MCAM 胞外結構域。在較佳實施態樣中，該層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈係層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈。

[0118] 在一實施態樣中，抗 MCAM 抗體專一性或選

擇性結合至包含或具有 SEQ ID NO : 11 的位置 19 至位置 129 的胺基酸序列 (SEQ ID NO : 22) 之 MCAM 片段。在另一實施態樣中，抗 MCAM 抗體專一性或選擇性結合至包含或具有 SEQ ID NO : 11 的位置 139 至位置 242 的胺基酸序列 (SEQ ID NO : 23) 之 MCAM 片段。在一其他實施態樣中，抗 MCAM 抗體專一性或選擇性結合至包含 SEQ ID NOS : 22 及 23 的胺基酸序列之 MCAM 片段。

[0119] 在較佳實施態樣中，該拮抗劑抗體阻斷包含 SEQ ID NO : 22 和/或 SEQ ID NO : 23 的胺基酸序列之 MCAM 結構域與層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈之交互作用。

[0120] 在一其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含下列高變異區 (HVR) :

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO : 3 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO : 4 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO : 5 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO : 8 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO : 9 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO : 10 所示。

[0121] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含如 SEQ ID NO : 2 所示的輕鏈變異域 (variable domain) 和/或如 SEQ ID NO : 7 所示的重鏈變異域。

[0122] 在其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含下列高變異區 (HVR) :

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO : 14 所示；

- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：15 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：16 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：19 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：20 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：21 所示。

[0123] 在一其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含如 SEQ ID NO：13 所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：18 所示的重鏈變異域。

[0124] 在一其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含下列高變異區（HVR）：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：31 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：32 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：33 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：36 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：37 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：38 所示。

[0125] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含如 SEQ ID NO：30 所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：35 所示的重鏈變異域。

[0126] 在其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含下列高變異區（HVR）：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：41 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：42 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：43 所示；

- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：46 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：47 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：48 所示。

[0127] 在一其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含如 SEQ ID NO：40 所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：45 所示的重鏈變異域。

[0128] 在其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含下列高變異區（HVR）：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：51 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：52 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：53 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：56 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：57 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：58 所示。

[0129] 在一其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含如 SEQ ID NO：50 所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：55 所示的重鏈變異域。

[0130] 在其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含下列高變異區（HVR）：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：61 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：62 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：63 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：66 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：67 所示；和/或

f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：68 所示。

[0131] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段進一步包含重鏈骨架區 2 (FR2)，其包含 SEQ ID NO：128 之胺基酸序列。

[0132] 在一其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含如 SEQ ID NO：60 所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：65 所示的重鏈變異域。

[0133] 在其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含下列高變異區 (HVR)：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：73 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：74 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：75 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：78 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：79 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：80 所示。

[0134] 在一其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含如 SEQ ID NO：70、71、或 72 中任一者所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：77 所示的重鏈變異域。

[0135] 在其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含下列高變異區 (HVR)：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：85 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：86 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：87 所示；

- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：90 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：91 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：92 所示。

[0136] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段進一步包含 (a) 重鏈骨架區 2 (FR2)，其包含 SEQ ID NO：134 之胺基酸序列；(b) 重鏈骨架區 3 (FR3)，其包含 SEQ ID NO：137 之胺基酸序列；(c) 輕鏈骨架區 2 (FR2)，其包含 SEQ ID NO：146 之胺基酸序列；和/或 (d) 輕鏈骨架區 3 (FR3)，其包含 SEQ ID NO：144 之胺基酸序列。

[0137] 在一其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含如 SEQ ID NO：83 或 84 中任一者所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：89 所示的重鏈變異域。

[0138] 在其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段包含下列高變異區 (HVR)：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：73 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：74 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：75 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：141 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：79 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：80 所示。

[0139] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 抗體或抗體片段進一步包含 (a) 重鏈骨架區 2 (FR2)，其包含 SEQ ID NO：134 之胺基酸序列；(b) 重鏈骨架區 3

(FR3)，其包含 SEQ ID NO：135 之胺基酸序列；(c) 輕鏈骨架區 1 (FR1)，其包含 SEQ ID NO：147 之胺基酸序列；(d) 輕鏈骨架區 2 (FR2)，其包含 SEQ ID NO：148 之胺基酸序列；和/或 (e) 輕鏈骨架區 3 (FR3)，其包含 SEQ ID NO：149 之胺基酸序列。

[0140] 在另一態樣中，本發明提供 MCAM 拮抗劑，其實質上與本文所述之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與本文所述之抗 MCAM 抗體競爭結合。在一實施態樣中，該 MCAM 拮抗劑實質上與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體競爭結合：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：3 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：4 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：5 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：8 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：9 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：10 所示。

[0141] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 拮抗劑實質上與下列之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與下列之抗 MCAM 抗體競爭結合：包含如 SEQ ID NO：2 所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：7 所示的重鏈變異域之抗 MCAM 抗體。

[0142] 在一其他實施態樣中，該 MCAM 拮抗劑實質上與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決

定區，或與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體競爭結合：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：14 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：15 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：16 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：19 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：20 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：21 所示。

[0143] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 拮抗劑實質上與下列之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與下列之抗 MCAM 抗體競爭結合：包含如 SEQ ID NO：13 所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：18 所示的重鏈變異域之抗 MCAM 抗體。

[0144] 在一其他實施態樣中，該 MCAM 拮抗劑實質上與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體競爭結合：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：31 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：32 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：33 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：36 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：37 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：38 所示。

[0145] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 拮抗劑實質上與下列之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與下列之抗 MCAM 抗體競爭結合：包含如 SEQ ID NO：

30 所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：35 所示的重鏈變異域之抗 MCAM 抗體。

[0146] 在一其他實施態樣中，該 MCAM 拮抗劑實質上與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體競爭結合：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：41 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：42 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：43 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：46 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：47 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：48 所示。

[0147] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 拮抗劑實質上與下列之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與下列之抗 MCAM 抗體競爭結合：包含如 SEQ ID NO：40 所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：45 所示的重鏈變異域之抗 MCAM 抗體。

[0148] 在一其他實施態樣中，該 MCAM 拮抗劑實質上與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體競爭結合：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：51 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：52 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：53 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：56 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：57 所示；和/或

f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：58 所示。

[0149] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 拮抗劑實質上與下列之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與下列之抗 MCAM 抗體競爭結合：包含如 SEQ ID NO：50 所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：55 所示的重鏈變異域之抗 MCAM 抗體。

[0150] 在一其他實施態樣中，該 MCAM 拮抗劑實質上與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體競爭結合：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：61 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：62 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：63 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：66 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：67 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：68 所示。

[0151] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 拮抗劑實質上與下列之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與下列之抗 MCAM 抗體競爭結合：包含如 SEQ ID NO：60 所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：65 所示的重鏈變異域之抗 MCAM 抗體。

[0152] 在一其他實施態樣中，該 MCAM 拮抗劑實質上與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體競爭結合：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：73 所示；

- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：74 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：75 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：78 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：79 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：80 所示。

[0153] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 拮抗劑實質上與下列之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與下列之抗 MCAM 抗體競爭結合：包含如 SEQ ID NO：70、71、或 72 中任一者所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：77 所示的重鏈變異域之抗 MCAM 抗體。

[0154] 在一其他實施態樣中，該 MCAM 拮抗劑實質上與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與包含下列 HVR 之抗 MCAM 抗體競爭結合：

- a) HVR-L1，其如 SEQ ID NO：85 所示；
- b) HVR-L2，其如 SEQ ID NO：86 所示；
- c) HVR-L3，其如 SEQ ID NO：87 所示；
- d) HVR-H1，其如 SEQ ID NO：90 所示；
- e) HVR-H2，其如 SEQ ID NO：91 所示；和/或
- f) HVR-H3，其如 SEQ ID NO：92 所示。

[0155] 在另一實施態樣中，該抗 MCAM 拮抗劑實質上與下列之抗 MCAM 抗體結合至相同的抗原決定區，或與下列之抗 MCAM 抗體競爭結合：包含如 SEQ ID NO：83 或 84 中任一者所示的輕鏈變異域和/或如 SEQ ID NO：89 所示的重鏈變異域之抗 MCAM 抗體。

[0156] 在一實施態樣中，本發明提供人化抗體。在一些實施態樣中，該人化抗體包含選自 SEQ ID NO：94 及 95 所組成的群組之重鏈變異域序列（圖 25A；h1749）。在一些實施態樣中，該人化抗體包含選自 SEQ ID NO：98 及 99 所組成的群組之輕鏈變異域序列（圖 25B；h1749）。在另一實施態樣中，該人化抗體包含重鏈變異域序列 SEQ ID NO：94 及選自 SEQ ID NO：98 及 99 所組成的群組之輕鏈變異域序列。在另一實施態樣中，該人化抗體包含重鏈變異域序列 SEQ ID NO：95 及選自 SEQ ID NO：98 及 99 所組成的群組之輕鏈變異域序列。

[0157] 在一些實施態樣中，該人化抗體包含選自 SEQ ID NO：102、SEQ ID NO：103、SEQ ID NO：104、SEQ ID NO：105、SEQ ID NO：106、及 SEQ ID NO：107 所組成的群組之重鏈變異域序列（圖 26A；h2107）。在一些實施態樣中，該人化抗體包含選自 SEQ ID NO：110、SEQ ID NO：111、及 SEQ ID NO：112 所組成的群組之輕鏈變異域序列（圖 26B；h2107）。在另一實施態樣中，該人化抗體包含輕鏈變異域序列 SEQ ID NO：111 及選自 SEQ ID NO：102、SEQ ID NO：103、SEQ ID NO：104、及 SEQ ID NO：105 所組成的群組之重鏈變異域序列。在一其他實施態樣中，該人化抗體包含重鏈變異域序列 SEQ ID NO：102 及選自 SEQ ID NO：110 及 SEQ ID NO：112 所組成的群組之輕鏈變異域序列。在一實施態樣中，該人化抗體包含重鏈變異域序列 SEQ ID NO：

106 及選自 SEQ ID NO：110、SEQ ID NO：111、及 SEQ ID NO：112 所組成的群組之輕鏈變異域序列。在一實施態樣中，該人化抗體包含重鏈變異域序列 SEQ ID NO：107 及選自 SEQ ID NO：110、SEQ ID NO：111、及 SEQ ID NO：112 所組成的群組之輕鏈變異域序列。

[0158] 在一些實施態樣中，該人化抗體包含選自 SEQ ID NO：115、SEQ ID NO：116、SEQ ID NO：117、SEQ ID NO：118、SEQ ID NO：106、及 SEQ ID NO：119 所組成的群組之重鏈變異域序列（圖 27A；h2120）。在一些實施態樣中，該人化抗體包含選自 SEQ ID NO：121、SEQ ID NO：122、及 SEQ ID NO：123 所組成的群組之輕鏈變異域序列（圖 27B；h2120）。在另一實施態樣中，該人化抗體包含輕鏈變異域序列 SEQ ID NO：123 及選自 SEQ ID NO：115、SEQ ID NO：116、及 SEQ ID NO：117 所組成的群組之重鏈變異域序列。在一其他實施態樣中，該人化抗體包含輕鏈變異域序列 SEQ ID NO：123 及選自 SEQ ID NO：108 及 SEQ ID NO：109 所組成的群組之重鏈變異域序列。在一實施態樣中，該人化抗體包含重鏈變異域序列 SEQ ID NO：115 及選自 SEQ ID NO：121 及 122 所組成的群組之輕鏈變異域序列。

[0159] 在一實施態樣中，本發明提供經分離之人化 h1749 抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其包含二個重鏈（VH1 及 VH2）及二個輕鏈（VL1 及 VL2）。該 VH1 重鏈包含 SEQ ID NO：94；三個重鏈高變異區（HVR-

HC)，其分別包含 SEQ ID NO：66、67、及 68；及四個重鏈骨架區（FR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：155、125、126、及 127。該 h1749 的 VH2 重鏈包含 SEQ ID NO：95；三個重鏈高變異區（HVR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：66、67、及 68；及四個重鏈骨架區（FR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：155、128、126、及 127。該 h1749 的 VL1 輕鏈包含 SEQ ID NO：98；三個輕鏈高變異區（HVR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：61、62、及 63；及四個輕鏈骨架區（FR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：128、129、130、及 131。該 h1749 的 VL2 輕鏈包含 SEQ ID NO：99；三個輕鏈高變異區（HVR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：61、62、及 63；及四個輕鏈骨架區（FR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：128、129、132、及 131。

[0160] 在另一實施態樣中，本發明提供經分離之人化 h2107 抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其包含六個重鏈（VH1、VH2、VH3、VH4、VH5、及 VH6）及三個輕鏈（VL1、VL2、及 VL3）。該 VH1 重鏈包含 SEQ ID NO：102；三個重鏈高變異區（HVR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：90 或 151、91、及 92；及四個重鏈骨架區（FR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：133、134、135、及 136。該 h2107 的 VH2 重鏈包含 SEQ ID NO：103；三個重鏈高變異區（HVR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：90 或 151、91、及 92；及四個重鏈骨架區（FR-

HC)，其分別包含 SEQ ID NO：133、134、137、及 136。該 h2107 的 VH3 重鏈包含 SEQ ID NO：104；三個重鏈高變異區（HVR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：90 或 151、91、及 92；及四個重鏈骨架區（FR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：133、134、138、及 136。該 h2107 的 VH4 重鏈包含 SEQ ID NO：105；三個重鏈高變異區（HVR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：139 或 152、91、及 92；及四個重鏈骨架區（FR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：133、134、135、及 136。該 h2107 的 VH5 重鏈包含 SEQ ID NO：106；三個重鏈高變異區（HVR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：140、91、92；及四個重鏈骨架區（FR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：133、134、135、及 136。該 h2107 的 VH6 重鏈包含 SEQ ID NO：107；三個重鏈高變異區（HVR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：141、91、及 92；及四個重鏈骨架區（FR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：133、134、135、及 136。

[0161] 該 h2107 的 VL1 輕鏈包含 SEQ ID NO：110；三個輕鏈高變異區（HVR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：85、86、及 87；及四個輕鏈骨架區（FR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：142、143、144、及 145。該 h2107 的 VL2 輕鏈包含 SEQ ID NO：111；三個輕鏈高變異區（HVR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：85、86、及 87；及四個輕鏈骨架區（FR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：

142、146、144、及 145。該 h2107 的 VL3 輕鏈包含 SEQ ID NO：112；三個輕鏈高變異區（HVR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：85、86、及 87；及四個輕鏈骨架區（FR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：147、143、144、及 145。

[0162] 在另一實施態樣中，本發明提供經分離之人化 h2120 抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其包含五個重鏈（VH1、VH2、VH3、VH4、及 VH5）及三個輕鏈（VL1、VL2、及 VL3）。該 VH1 重鏈包含 SEQ ID NO：115；三個重鏈高變異區（HVR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：78、79、及 153；及四個重鏈骨架區（FR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：133、134、135、及 136。該 h2120 的 VH2 重鏈包含 SEQ ID NO：116；三個重鏈高變異區（HVR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：78、79、及 153；及四個重鏈骨架區（FR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：133、134、138、及 136。該 h2120 的 VH3 重鏈包含 SEQ ID NO：117；三個重鏈高變異區（HVR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：139、79、及 153；及四個重鏈骨架區（FR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：133、134、135、及 136。該 h2120 的 VH4 重鏈包含 SEQ ID NO：118；三個重鏈高變異區（HVR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：140、79、及 153；及四個重鏈骨架區（FR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：133、134、135、及 136。該 h2120 的 VH5 重鏈包含 SEQ ID NO：

119；三個重鏈高變異區（HVR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：141、79、及 153；及四個重鏈骨架區（FR-HC），其分別包含 SEQ ID NO：133、134、135、及 136。

[0163] 該 h2120 的 VL1 輕鏈包含 SEQ ID NO：121；三個輕鏈高變異區（HVR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：73、74、及 75；及四個輕鏈骨架區（FR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：142、148、149、及 150。該 h2120 的 VL2 輕鏈包含 SEQ ID NO：122；三個輕鏈高變異區（HVR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：73、74、及 75；及四個輕鏈骨架區（FR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：142、148、154、及 150。該 h2120 的 VL3 輕鏈包含 SEQ ID NO：123；三個輕鏈高變異區（HVR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：73、74、及 75；及四個輕鏈骨架區（FR-LC），其分別包含 SEQ ID NO：147、148、149、及 150。

[0164] 在一些實施態樣中，本發明提供結合至 MCAM 的抗體，其中該抗體包含重鏈變異域，其具有與選自 SEQ ID NO：94、SEQ ID NO：95、SEQ ID NO：102、SEQ ID NO：103、SEQ ID NO：104；SEQ ID NO：105、SEQ ID NO：106、SEQ ID NO：107、SEQ ID NO：115、SEQ ID NO：116、SEQ ID NO：117、SEQ ID NO：118、及 SEQ ID NO：119 的胺基酸序列至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、

至少 97%、至少 98%、或至少 99%序列相同度 (sequence identity)。在一些實施態樣中，該抗 MCAM 抗體包含輕鏈變異域，其具有與選自 SEQ ID NO：98、SEQ ID NO：99、SEQ ID NO：110、SEQ ID NO：111、SEQ ID NO：112、SEQ ID NO：121、SEQ ID NO：122、及 SEQ ID NO：123 所組成的群組之胺基酸序列至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、或至少 99%序列相同度。在一些實施態樣中，該抗體包含重鏈變異域，其具有與選自 SEQ ID NO：94、SEQ ID NO：95、SEQ ID NO：102、SEQ ID NO：103、SEQ ID NO：104；SEQ ID NO：105、SEQ ID NO：106、SEQ ID NO：107、SEQ ID NO：115、SEQ ID NO：116、SEQ ID NO：117、SEQ ID NO：118、及 SEQ ID NO：119 的胺基酸序列至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、或至少 99%序列相同度，且該抗體進一步包含輕鏈變異域，其具有與選自 SEQ ID NO：98、SEQ ID NO：99、SEQ ID NO：110、SEQ ID NO：111、SEQ ID NO：112、SEQ ID NO：121、SEQ ID NO：122、及 SEQ ID NO：123 所組成的群組之胺基酸序列至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、或至少 99%序列相同度。

[0165] 在一些實施態樣中，本發明提供一種抗體，

其為任何上述抗體具有一或多個胺基酸取代、刪除、插入、或修飾之變異體，且其保留該抗體的生物功能。在一些實施態樣中，本發明提供一種結合至表現於細胞表面上的 MCAM 且抑制 MCAM 結合至層黏蛋白 411 的抗體。在一些實施態樣中，該抗 MCAM 抗體結合至表現於細胞表面上之 MCAM 且抑制疾病進展。在一些實施態樣中，自體免疫疾病的進展受抑制。在一實施態樣中，多發性硬化症的進展受抑制。在一些實施態樣中，本發明提供一種抗體，其為任一上述之抗體的變異體，其相對於未修飾之抗體，在一或多種性質有所改善，例如結合親和性、專一性、熱穩定性、表現量、效應功能、醣基化、致免疫性降低、或溶解度。

[0166] 在其他實施態樣中，該抗 MCAM 抗體結合至表現於細胞表面上之 MCAM 且抑制轉移癌之進展。在一實施態樣中，該轉移癌係選自攝護腺癌、肺癌、及胰腺癌所組成的群組。

[0167] 本文之發明包括 MCAM 拮抗劑抗體的製造與使用。用於產生抗體的示例性方法於本文有詳述。MCAM 抗體可包括但不限於多株、單株、多重專一性、人、人化、靈長動物化、或嵌合抗體、單鏈抗體（例如 scFv）、Fab 片段、F(ab') 片段、藉由 Fab 表現庫所製造之片段、抗遺傳性型（抗 Id）抗體（包括例如本實施態樣之抗體的抗 Id 抗體）、及任何上述之結合抗原決定區之片段。人結合抗原之抗體片段包括但不限於 Fab、Fab'、及

$F(ab')_2$ 、Fd、單鏈 Fvs (scFv)、單鏈抗體、經雙硫鍵連接之 Fvs (sdFv)、及包含 VL 或 VH 結構域之片段。包括單鏈抗體的結合抗原之抗體片段可包含單一變異區或下列的全部或部分組合：鉸鏈區、CH1、CH2、及 CH3 結構域。亦包括結合抗原之片段，其可包含變異區與鉸鏈區、CH1、CH2、及 CH3 結構域的任何組合。該抗體可來自任何動物來源，包括鳥類或哺乳動物。典型上，該抗體係來自人或其他靈長類動物、鼠類（例如小鼠及大鼠）、驢、綿羊、猴、兔、山羊、天竺鼠、豬、駱駝、馬、或雞（或其他禽類）。如本文所用，"人"抗體包括具有人免疫球蛋白的胺基酸序列之抗體，且包括自人免疫球蛋白庫或其他經轉殖一或多種人免疫球蛋白而不表現內源性免疫球蛋白之動物所分離的抗體，例如美國專利第 5,939,598 號中所述。

[0168] 在其他實施態樣中，MCAM 抗體可為單株抗體。在又進一步之實施態樣中，該抗體可經化學修飾，例如聚乙二醇化。此外，可使用本技術領域中可取得之技術鑑定其他抗體。舉例而言，能夠專一性結合至 MCAM 的抗體可使用噬菌體展示技術製造。選擇性結合至 MCAM 的抗體片段可接著被分離。用於經由噬菌體展示製造此種抗體示例性方法揭示於例如美國專利第 6,225,447 號。

[0169] 單株抗體亦可使用習知融合瘤方法製造。這些方法已廣泛應用至製造分泌高量抗許多特定抗原的單株抗體之融合瘤細胞株，且亦可用於製造能夠專一性結合至

MCAM 的單株抗體。舉例而言，小鼠（例如 Balb/c 小鼠）可用抗原性 MCAM 抗原決定區藉由腹膜內注射來免疫化。在經過足夠的時間以允許免疫反應後，將小鼠犧牲，且使用本技術領域中熟知技術，取得脾細胞並與骨髓瘤細胞融合。所獲得的融合細胞為融合瘤接著生長於選擇性培養基中，且使用限數稀釋法（limiting dilution）條件在此種培養基中生長存活細胞。在選殖及再選殖後，融合瘤可分離以用於分泌專一性結合至 MCAM 的抗體（例如分泌 IgG 或 IgM 類或 IgG1 次類）。為製造特別供人用之藥劑，經分離之單株抗體可接著用於製造嵌合及人化抗體。

[0170] MCAM 拮抗劑抗體係使用源自哺乳動物物種之抗原來選擇。較佳的是，該抗原係人 MCAM 或層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈，例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈。然而，來自其他物種的多肽，例如鼠 MCAM 或層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈，亦可用作為標的抗原。來自各種哺乳動物物種之抗原可從天然來源分離。在其他實施態樣中，該抗原係以重組製造或用其他本技術領域已知之合成方法產製。所選擇的抗體通常對該抗原具有足夠強的結合親和性。舉例而言，該抗體可以不超過 5 nM、較佳為不超過 2 nM、更佳為不超過 500 pM 的 K_d 值結合人 MCAM 或層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈，例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈。抗體親和性可藉由例如以表面電漿子共振為基礎之分析法（例如實例中所述之 BIAcore 分析）；酶聯免疫吸附檢定法（ELISA）；及競爭分析法（例如 RIA）來

測定。

[0171] 又，該抗體可予以進行其他生物活性分析法，以例如為評估其作為治療劑的有效性。此種分析法為本技術領域已知且取決於標的抗原及此抗體之使用目的。實例包括實驗性自體免疫性腦脊髓炎（EAE）（如下文實例 7 所述），及本文中為鑑定 MCAM 拮抗劑所述之體外及體內分析法。

[0172] 為篩選結合至所關注之抗原上的特定抗原決定區的抗體，可進行如 *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane（1988）中所述的常規交叉阻斷（cross-blocking）分析法。或者，抗原決定區對映作圖，可進行例如 Champe 等人（1995）*J. Biol. Chem.* 270：1388-1394 中所述，以判定是否該抗體結合所關注之抗原決定區。

[0173] 在較佳實施態樣中，該拮抗劑抗體係使用獨特的噬菌體展示方式來選擇。該方式涉及依單一骨架模板產生合成抗體噬菌體庫、在變異域中設計足夠多樣化、呈現具有該多樣化變異域的多肽、選擇對標的抗原具有高親和性的候選抗體、以及分離該選定的抗體。噬菌體展示方法的細節可見於例如 2003 年 12 月 11 日公開之 WO03/102157。自噬菌體庫所產生之抗體可進一步修飾以產生具有較親代抗體改善之物理、化學及/或生物性質的抗體突變體。若所用之分析法為生物活性分析法時，該抗體突變體較佳為在所選的分析法中具有的生物活性優於該

分析法中親代抗體生物活性至少約 10 倍、較佳為至少約 20 倍、更佳為至少約 50 倍、且有時至少約 100 倍或 200 倍。舉例而言，抗 MCAM 抗體突變體較佳為對 MCAM 具有的結合親和性強於親代抗 MCAM 抗體（例如抗體株 15 或 17）的結合親和性至少約 10 倍、較佳為至少約 20 倍、更佳為至少約 50 倍、且有時至少約 100 倍或 200 倍。

[0174] 嵌合及人化抗體可自非人抗體製造，且可具有相同或類似於製造抗體來源的結合親和性。用於製造嵌合抗體的示例性技術包括將例如有適當抗原專一性之小鼠抗體分子之基因與來自具有適當生物活性的人抗體分子之基因剪接。參見例如 Morrison 等人，1984 *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 81: 6851; Neuberger 等人，1984 *Nature* 312: 604; 以及 Takeda 等人，1985 *Nature* 314: 452。舉例而言，編碼小鼠單株抗體變異（V）區的核酸可接至編碼人恆定（C）區（例如 IgG1 或 IgG4）的核酸。獲得的抗體因此為物種雜合體，通常具有來自非人抗體的抗原結合結構域及來自人或靈長類抗體的 C 或效應結構域。

[0175] 人化抗體為具有主要來自人抗體（接受者抗體）的變異區、但其具有實質上來自非人抗體（供體抗體）的互補決定區之抗體。參見例如 Queen 等人，*Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 86: 10029-10033 (1989)；WO 90/07861、美國專利第 7,435,802；6,054,297；5,693,761；5,585,089；5,530,101；及 5,224,539 號。該恆

定區或這些抗體之區域通常亦來自人抗體。人變異域典型上係選自具有呈現與所欲非人變異區結合結構域為高同源之序列的人抗體。重鏈及輕鏈變異殘基可源自相同抗體或不同人抗體。此外，序列可經選擇為數種人抗體共有（consensus），如 WO 92/22653 中所述者。

[0176] "靈長類化TM抗體"係含有靈長類變異序列或抗原結合部分以及人恆定域序列的重組抗體。參見例如 Newman, *Bio/Technology*, 1992, 10: 1455-60。抗體的靈長類化導致產生含有靈長類（例如猴）變異域及人恆定序列之抗體。參見例如美國專利第 6,113,898 號。此技術修飾抗體使得它們於投予人時不會被排斥（因為它們為抗原性）。此技術有賴於以人抗原或受體使馬來猴免疫化。此技術係開發以創造針對人細胞表面抗原的高親和性單株抗體。

[0177] 在另一態樣中，在人變異區中的特定胺基酸可依預測構形及抗原結合性質選擇以供取代。此可使用諸如電腦模型建立、預測在變異區中於特定位置的胺基酸之行爲及結合性質、以及觀察取代效果之技術來決定。舉例而言，當非人變異區及人變異區的胺基酸不同時，人變異區可被改變以反映非人變異區的胺基酸組成。在特定實施態樣中，用於慢性劑量方案的抗體可為如美國專利第 5,840,299 號中所揭示之人化抗體。在另一實施態樣中，含有人抗體基因的基因轉殖小鼠可用抗原性 MCAM 結構免疫化，且融合瘤技術可用以產生選擇性結合至 MCAM

的人抗體。

[0178] 嵌合、人、和/或人化抗體可藉由使用重組表現、例如於人融合瘤中表現（Cole 等人，*Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77（1985））、於骨髓瘤細胞中表現、或於中國倉鼠卵巢（CHO）細胞中表現來製造。或者，編碼抗體的序列可併入供導入基因轉殖動物基因組中且後續表現於基因轉殖動物的乳內之轉殖基因內。參見例如美國專利第 6,197,946 號。示例性適合的轉殖基因包括但不限於具有來自乳腺特定基因（例如酪蛋白或 β -乳球蛋白）的啟動子和/或增強子之轉殖基因。

6.3 抗體變異體類

[0179] 除了本文所述之 MCAM 拮抗劑抗體之外，其涵蓋可製備此些抗體的變異體類。抗 MCAM 拮抗劑抗體變異體類可藉由將適當核苷酸改變導入至編碼 DNA 中、和/或藉由合成該所欲之抗體來製備。熟習本技術領域者將理解，胺基酸改變可更改抗 MCAM 抗體的轉譯後過程，例如改變醣化位點的數目及位置。

[0180] 本文所述之 MCAM 拮抗劑抗體變異，可例如使用任何針對像是美國專利第 5,364,934 號中所述及保守性及非保守性突變的技術及導引來產製。變異可為一或多個編碼該抗體之密碼子的取代、刪除、或插入，其導致相較於天然序列抗體在胺基酸序列有所改變。隨意地，該變

異係藉由 MCAM 拮抗劑抗體的一或多個結構域中至少一個胺基酸取代成任何其他胺基酸。決定那個胺基酸殘基可為插入、取代、或刪除而無不良影響所欲活性的導引，可藉由比較 MCAM 拮抗劑抗體與同源性已知蛋白質分子的序列來發現，並使高同源性區域中的胺基酸序列改變數量減至最少。胺基酸取代可為將一個胺基酸置換成另一個具有類似結構性和/或化學性性質的胺基酸的結果，例如以絲胺酸置換白胺酸，即，保守性胺基酸置換。插入或刪除可隨意地在約 1 至 5 個胺基酸的範圍內。所允許之變異可藉由系統性製造序列中的胺基酸插入、刪除、或取代並測試所獲得的變異體類之全長或成熟天然序列展現之活性來決定。

[0181] 共價修飾抗 MCAM 抗體包括在本發明範圍內。共價修飾包括將抗 MCAM 抗體的標的胺基酸殘基與能夠與抗 MCAM 抗體的選定側鏈或 N 端或 C 端殘基反應的有機衍生劑反應。其他修飾包括麩醯胺醯基及天冬醯胺醯基殘基脫醯胺分別成為對應的麩胺醯基及天冬胺醯基殘基；脯胺酸及離胺酸的羥化；絲胺醯基或蘇胺醯基殘基的羥基之磷酸化；離胺酸、精胺酸、及組胺酸側鏈的 α -胺基之甲基化（T.E. Creighton, *Proteins : Structure and Molecular Properties*, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79-86 (1983)）；N 端胺基之乙醯化；以及任何 C 端羧基的醯胺化。

[0182] 在一態樣中，本發明之 MCAM 拮抗劑抗體於

胺基酸序列中包含一或多個脫醯胺突變。胺基酸殘基的脫醯胺化係重組多肽中常見結構修飾，其可導致異天冬胺酸的形成，造成穩定性降低。脫醯胺作用可與甘胺酸（G）-天冬醯胺酸（N）序列有關，包括 G-N 及 N-G 序列。在一實施態樣中，該抗體包含脫醯胺突變。在另一實施態樣中，該脫醯胺突變係 N 胺基酸殘基或 G 胺基酸殘基的取代。在一些實施態樣中，該取代係選自 N→S、N→A、及 G→Q 所組成的群組。在一實施態樣中，該脫醯胺突變係位在 Kabat 殘基 N32 或 G33。

[0183] 包括在本發明範圍內的其他類型之抗 MCAM 抗體共價修飾包括更改抗體或多肽的天然醯化型態（Beck 等人，Curr. Pharm. Biotechnol. 9：482-501, 2008；Walsh, Drug Discov. Today 15：773-780, 2010），且將抗體連接至各種非蛋白質性聚合物之一，例如聚乙二醇（PEG）、聚丙二醇、或聚氧伸烷基（以美國專利第 4,640,835；4,496,689；4,301,144；4,670,417；4,791,192 或 4,179,337 號中所述方式）。

[0184] 在一態樣中，本發明之 MCAM 拮抗劑抗體於胺基酸序列中包含一或多個醯化突變。該突變可去除或回復/導入醯化位置。通常該醯化突變與天冬醯胺酸（N）殘基有關。在一實施態樣中，該抗體包含醯化突變。在另一實施態樣中，該醯化突變導入 N 胺基酸殘基。在一些實施態樣中，該導入係以 N 殘基置換天冬胺酸（D）（D→N）。在一實施態樣中，該突變係位在 Kabat 殘基

72。

[0185] 本文提供 MCAM 拮抗劑抗體片段。此種片段相較於全長天然抗體時，可例如截斷在 N 端或 C 端，或可缺少內部殘基。某些片段缺少 MCAM 拮抗劑抗體所欲之生物活性的非必要胺基酸殘基。

[0186] MCAM 拮抗劑抗體片段可藉由許多習知技術中的任何者來製備。所欲之胜肽片段可經化學合成。替代方式涉及藉由酶消化產生抗體或多肽片段，例如藉由用已知截切蛋白質於特定胺基酸殘基所界定之位置的酶處理蛋白質，或藉由以適合的限制酶消化 DNA 並分離所欲之片段。又另一適合的技術涉及分離並藉由聚合酶連鎖反應（PCR）擴增編碼所欲抗體或多肽片段的 DNA 片段。界定所欲之 DNA 片段末端的寡核苷酸係用在 PCR 中的 5'及 3'引子。較佳的是，抗 MCAM 拮抗劑抗體片段與本文揭示之天然 MCAM 拮抗劑抗體共有至少一生物和/或免疫活性。

[0187] 在特別實施態樣中，所關注之保守性取代示於下文表 1 中的較佳取代項目下。若此種取代產生生物活性的改變，則參照胺基酸類型進一步如下述的更多實質改變予以導入並篩選產物。

[0188] MCAM 拮抗劑抗體功能或免疫識別實質修飾係藉由選擇對維持下列效果明顯不同的取代來達成：

（a）取代區中的多肽骨架結構，例如為折板或螺旋構形；（b）在標的位置的分子電荷或疏水性；或（c）側

鏈的主體。天然發生殘基依通常的側鏈性質分成數群：

- (1) 疏水性：正白胺酸, met, ala, val, leu, ile；
- (2) 中性親水性：cys, ser, thr；
- (3) 酸性：asp, glu；
- (4) 鹼性：asn, gln, his, lys, arg；
- (5) 影響鏈定向的殘基：gly, pro；及
- (6) 芳族：trp, tyr, phe。

[0189] 非保守性取代涉及將這些類中一者的成員改變成另一類。此種經取代殘基亦可導入至保守性取代位點，或更佳為導入剩餘（非保守性）位點。

表 1

原始殘基	示例性取代	較佳取代
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; lys; arg	gln
Asp (D)	glu	glu
Cys (C)	ser	ser
Gln (Q)	asn	asn
Glu (E)	asp	asp
Gly (G)	pro; ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; 正白胺酸	leu
Leu (L)	正白胺酸; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	leu
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; 正白胺酸	leu

[0190] 該變異可使用本技術領域已知之方法產製，例如經寡核苷酸調介（定點）突變、丙胺酸掃描、及 PCR 突變。定點突變[Carter 等人，Nucl. Acids Res., 13：4331（1986）；Zoller 等人，Nucl. Acids Res., 10：6487（1987）]、匣式突變[Wells 等人，Gene, 34：315（1985）]、限制酶突變[Wells 等人，Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317：415（1986）] 或其他已知技術可於經選殖之 DNA 上進行以製造 MCAM 拮抗劑抗體變異體 DNA。

[0191] 掃描胺基酸分析亦可用於沿連續序列鑑定一或多種胺基酸。其中，較佳掃描胺基酸係較小、中性胺基酸。此種胺基酸包括丙胺酸、甘胺酸、絲胺酸、及半胱胺酸。在此群組中，丙胺酸典型上為較佳掃描胺基酸，這是因為其消除超過 β 碳的側鏈，且較不可能更改變異體的主鏈構形[Cunningham and Wells, Science, 244：1081-1085（1989）]。丙胺酸典型上亦為較佳，這是因為其為最常見胺基酸。再者，其常見於深埋及暴露位置[Creighton, The Proteins, (W.H. Freeman & Co., N.Y.)；Chothia, J. Mol. Biol., 150：1（1976）]。若丙胺酸取代未產生適量變異體，則可用等配（isoteric）胺基酸。

[0192] 任何未涉及維持 MCAM 拮抗劑抗體適當構形的半胱胺酸殘基亦可以通常以絲胺酸取代，以改善分子氧化穩定性且預防異常交聯。相反地，半胱胺酸鍵結可加至 MCAM 拮抗劑抗體以改善其穩定性（特別當該抗體為諸如

Fv 片段之抗體片段）。

[0193] 特佳取代變異體類型涉及取代親代抗體的一或多個高變異區殘基（例如人化或人抗體）。通常，經選擇供進一步開發所獲得之變異體（類），相對於產生它們的親代抗體，將具有經改善之生物性質。產生此種取代變異體類的便利方法涉及使用噬菌體展示的親和性成熟。簡言之，將數個高變異區位置（例如 6-7 個位置）突變，以在各個位置產生所有可能的胺基酸取代。由此產生的抗體變異體，以單價方式以融合至包裝於各顆粒中的 M13 基因 III 產物自絲狀噬菌體顆粒來展示。接著以本文所揭示者，篩選經噬菌體展示之變異體類它們的生物活性（例如結合親和性）。爲了鑑定供修飾用之候選高變異區位置，可進行丙胺酸掃描突變以鑑定明顯促成抗原結合之高變異區殘基。或者、或另外有益的是，分析抗原-抗體複體晶體結構，以鑑定抗體與人 MCAM 或層黏蛋白 411 多肽的接觸點。根據本文闡述的技術，此種接觸殘基及鄰近殘基爲供取代用之候選者。一旦產生此種變異體，將該系列的變異體進行如本文所述之篩選，且在一或多個相關分析法中具有優異性質的抗體可選出用於進一步開發。

[0194] 較佳的經親和性成熟之抗體具有的親和性大於用於製備該成熟抗體的起始抗體（通常爲鼠、人化或人）的五倍、更佳爲 10 倍、再更佳爲 20 或 30 倍。

[0195] 編碼 MCAM 拮抗劑抗體的胺基酸序列變異體類之核酸分子，係藉由本技術領域中已知的各種方法來製

備。這些方法包括但不限於自天然來源分離（在天然存在胺基酸序列變異體類的情況下），或藉由較早製備變異體或非變異體版本的 MCAM 拮抗劑抗體經寡核苷酸調介（或定點）突變、PCR 突變、及匣式突變製備。

[0196] 結合至與本文所述抗體相同抗原決定區的抗體亦包括在本發明中。舉例而言，本發明之抗體專一性結合至包含人 MCAM 上的一或多個胺基酸殘基之抗原決定區（登錄號 AAA20922.1/CAA48332）。在一些實施態樣中，本發明之抗體專一性結合 MCAM，其中該抗體結合至人 MCAM 上的抗原決定區（例如登錄號 AAA20922.1/CAA48332）。

[0197] 熟習本技術領域者將明瞭，可不需過度實驗，藉由確認前者是否防止後者結合至 MCAM，確定是否單株抗體（例如完整人單株抗體）具有與本發明之單株抗體相同專一性。若被測試之單株抗體與本發明之單株抗體競爭，顯示降低本發明之單株抗體的結合，則該二者單株抗體結合至相同或極為相關之抗原決定區。

[0198] 用於測定單株抗體是否具有本發明之單株抗體之專一性的替代方法，係將本發明之單株抗體與 MCAM（例如實例中示例之 MCAM-Fc 分子）預溫育並接以加入被測定之單株抗體，以確認是否該被測定之單株抗體其結合至 MCAM 的能力被抑制。若該被測試之單株抗體被抑制，則很有可能其具有與本發明之單株抗體相同或功能上等效的抗原決定區專一性。

[0199] 若使用抗體片段，專一性結合至標的蛋白的結合結構域的最小抑制性片段為較佳者。舉例而言，依照抗體變異區序列，胜肽分子可經設計保留結合該標的蛋白序列之能力。此等胜肽可化學合成和/或藉由重組 DNA 技術來製造。參見例如 Marasco 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993)。

[0200] 在進一步實際態樣中，本發明包含一種實質上結合至與本文所揭示之任何抗體相同的抗原決定區之結合劑。在一實施態樣中，該結合劑能夠結合至細胞表面上的 MCAM 蛋白質。在一些實施態樣中，該結合劑抑制 MCAM（例如細胞表面 MCAM）與其配體（一種包含層黏蛋白 α -4 鏈的蛋白質）的交互作用。在一些實施態樣中，該結合劑係抗體或其功能性片段。

[0201] 在一實施態樣中，本發明提供一種能夠結合至 MCAM 之結合劑，其中任一上文所揭示之抗體在競爭性結合分析法中取代結合劑位置。在一些實施態樣中，該結合劑係抗體，或其功能性片段。在另一實施態樣中，本發明提供一種結合至 MCAM 之結合劑，其中該結合劑在競爭性結合分析法中取代任一上文所揭示之抗體位置。在一些實施態樣中，該結合劑係抗體，或其功能性片段。

[0202] 在其他實施態樣中，該結合劑係替代性結合劑。這些替代性結合劑可包括例如任何本技術領域中已知的經工程改造蛋白質構架。此等構架包括例如抗運載蛋白（anticalin），其係基於載脂蛋白（lipocalin）構架，一

種特徵為堅固 β 圓桶的蛋白質結構，支撐形成配體結合位置的四個高變異環。新穎結合專一性係藉由在環區域中標的隨機突變合併功能性呈現及導引選擇來工程改造（Skerra (2008) FEBS J. 275 : 2677-2683）。其他適合的構架可包括例如以人纖維黏連蛋白 III 第十胞外結構域為基礎之黏連蛋白素（adnectin）或單擬抗體（monobody）（Koide and Koide (2007) Methods Mol. Biol. 352 : 95-109）；親和體（affibody），以葡萄球菌蛋白質 A 的 Z 結構域為基礎（Nygren 等人，(2008) FEBS J. 275 : 2668-2676）；DARPin（經設計之融合素重複蛋白），以融合素（ankyrin）重複蛋白為基礎（Stumpp 等人，(2008) Drug. Discov. Today 13 : 695-701）；fynomer，以人 Fyn 蛋白質激酶的 SH3 結構域為基礎（Grabulovski 等人，(2007) J. Biol. Chem. 282 : 3196-3204）；affitin，以來自酸熱硫化裂片菌（*Sulfolobus acidolarius*）的 Sac7d 為基礎（Krehenbrink 等人，(2008) J. Mol. Biol. 383 : 1058-1068）；affilin，以人 γ -B-晶體蛋白為基礎（Ebersbach 等人，(2007) J. Mol. Biol. 372 : 172-185）；avimers，以膜受體蛋白之 A 結構域為基礎（Silverman 等人，(2005) Biotechnol. 23 : 1556-1561）；富半胱氨酸 knottin 胜肽（Kolmar (2008) FEBS J. 275 : 2684-2690）；及經工程改造之 Kunitz 型抑制劑（Nixon and Wood (2006) Curr. Opin. Drug. Discov. Dev. 9 : 261-268）。有關回顧性論

文，參見 Gebauer and Skerra (2009) *Curr. Opin. Chem. Biol.* 13: 245-255。在其他實施態樣中，該結合劑係抗運載蛋白、adnectin、affibody、DARPin、fynomer、affitin、affilin、avimer、富半胱胺酸 knottin 胜肽、或經工程改造之 Kunitz 型抑制劑。

7. 使用方法

[0203] 本發明提供 MCAM 拮抗劑作為神經發炎性病況、癌症、及自體免疫疾病的治療劑。為預防、治療或減少特定疾病或病況的嚴重性，本發明化合物的適當劑量將取決於如上文界定的待治療之疾病或病況類型、疾病或病況嚴重性及病程、是否該藥劑係為預防或治療目的而投與、先前療法、病患臨床病史及對化合物的反應、以及主治醫師的判斷。該化合物適合一次或在一系列治療中投與病患。較佳的是，宜在人體測試前，先體外決定劑量-反應曲線及本發明醫藥組成物，並接著用於動物模式。

[0204] 在一態樣中，本發明提供用於抑制或阻斷表現於 T 細胞上的 MCAM 與層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈（例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈）的交互作用之方法，其包含將該 T 細胞以（如本文所述之）MCAM 拮抗劑處理，藉此抑制 MCAM 與層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈的交互作用。在一實施態樣中，該層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈係被表現於例如內皮細胞之細胞的表面。在較佳實施態樣中，該 MCAM 拮抗劑係抗 MCAM 抗體。在另一實施態樣中，該 T 細胞係 TH17 細胞。在一其他實施態

樣中，以 MCAM 拮抗劑治療係於體內進行。在又另一實施態樣中，該治療係於哺乳動物個體進行。在一實施態樣中，該哺乳動物個體為人。

[0205] 在另一態樣中，本發明提供一種用於抑制或預防 MCAM 表現 T 細胞外滲 (extravasation) 至中樞神經系統 (CNS) 中的方法，其包含將該 T 細胞以 (如本文所述之) MCAM 拮抗劑處理，藉此或預防 MCAM 表現 T 細胞外滲至 CNS 中。在一實施態樣中，該 MCAM 拮抗劑阻斷 MCAM 與層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈 (例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈) 的交互作用。在較佳實施態樣中，該 MCAM 拮抗劑係抗 MCAM 抗體。在一其他實施態樣中，該層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈係被表現於例如內皮細胞之細胞的表面。在另一實施態樣中，該 T 細胞係 TH17 細胞。在一其他實施態樣中，以 MCAM 拮抗劑治療係於體內進行。在又另一實施態樣中，該治療係於哺乳動物個體進行。在一實施態樣中，該哺乳動物個體為人。

[0206] 在一其他態樣中，本發明提供治療神經發炎性病況、癌症病況、或自體免疫疾病的方法。在一實施態樣中，該方法包含將治療有效量之 MCAM 拮抗劑投與至有需求的哺乳動物個體。在另一態樣中，本發明提供用於推遲或放慢神經發炎性病況、癌症病況、或自體免疫疾病進展之方法。在一實施態樣中，該方法包含將有效量之 MCAM 拮抗劑投與至經診斷具有病況或疾病的個體。在另一態樣中，本發明提供用於預防神經發炎性病況、癌症病

況、或自體免疫疾病指標徵候（indicia）之方法。在一實施態樣中，該方法包含將有效量之 MCAM 拮抗劑投與至具有該病況或疾病風險之個體，其中該 MCAM 拮抗劑係有效抵抗該病況或疾病之指標徵候的發展。在一另外態樣中，本發明提供治療轉移癌之方法。

[0207] 在一實施態樣中，本發明提供用於作為藥物、或用於治療本文所述之疾病、病況、或失調的 MCAM 拮抗劑。在另一實施態樣中，本發明提供 MCAM 拮抗劑用於製造供治療本文所述之疾病、病況、或失調的藥物之用途。在一其他實施態樣中，本發明提供本文所述之 MCAM 拮抗劑用於製造供治療中樞神經系統（CNS）發炎性失調的藥物之用途，該失調特徵為表現 MCAM 之細胞浸潤至 CNS 中。

7.1 神經發炎性病況

[0208] 在一態樣中，該 MCAM 拮抗劑提供抵抗個體神經發炎性病況臨床和/或組織學和/或生化和/或病理指標徵候（包括症狀及徵象兩者）的發展或進展之阻礙性或預防性效果。在一實施態樣中，該神經發炎性病況特徵為 CNS 發炎和/或細胞/組織損害。在一實施態樣中，該徵兆包括神經膠細胞活化增加、前發炎性細胞介素/趨化激素量增加（例如 $\text{TNF}\alpha$ 、 $\text{INF}\gamma$ 、 $\text{IL-1}\beta$ ）、血腦屏障穿透性增加、和/或免疫細胞（例如白血球）募集/侵入 CNS 增加。在另一實施態樣中，該神經發炎係與免疫系統細胞慢性活

化（例如自體免疫相關神經發炎）相關進展型或慢性神經發炎。慢性神經發炎病況包括且不限於復發型多發性硬化症（MS）、慢性進展型 MS、不活化 MS、及帕金森病（PD）。在另一實施態樣中，該個體係處於神經發炎性病況風險。通常，處於風險個體先前曾有如本文所述之神經發炎性病況，或具有罹患神經發炎性病況的遺傳性傾向。

[0209] 治療神經發炎性病況的療效可藉由各種常用於評估神經發炎性病況的評量來測量。舉例而言，CNS 健康可藉由測試 MS 症狀來評估，該 MS 症狀包括但不限於視覺障礙（例如視力模糊或複視、紅-綠辨色失真、或失明）；肢端肌肉無力；協調及平衡障礙；部分或完全麻痺、感覺異常、感官感受暫時性異常（例如麻木、刺痛、或"發麻"感）；疼痛；語言障礙；震顫；頭暈；聽覺喪失；認知障礙（例如難以專心、注意、記憶、及判斷不良）；及抑鬱。MS 測試亦可包括腰椎穿刺（spinal tap）以供腦脊髓液（CSF）測試（例如 CSF 寡株帶暗示 CNS 發炎）；頭部或脊柱的磁振造影（MRI）掃描；及神經功能測試（例如誘發電位檢查）。

[0210] CNS 健康亦可藉由測試 PD 症狀來評估，其包括但不限於震顫（例如手、臂、腳、下巴、及臉顫）；四肢及軀幹僵硬或僵直；運動遲緩或動作緩慢；姿勢保持障礙或平衡及協調障礙；抑鬱及其他情緒改變；吞嚥、咀嚼、及言語困難；排尿問題或便秘；皮膚問題；睡眠障

礙；及腦部掃描或其他測試以排除其他疾病。

7.2 自體免疫疾病

[0211] 針對自體免疫疾病，用語"治療"係指針對自體免疫疾病治療及預防性或阻礙性措施兩者，其中該目的係為避免或減緩（舒緩）標的病理病況或失調。需要治療者包括已經患有自體免疫疾病以及易患自體免疫疾病或者其中意欲預防該自體免疫疾病者。

[0212] 在一態樣中，該 MCAM 拮抗劑提供抵抗個體自體免疫疾病臨床和/或組織學和/或生化和/或病理指標徵候（包括症狀及徵象兩者）的發展或進展之阻礙性或預防性效果。在另一實施態樣中，該個體係處於自體免疫疾病或自體免疫疾病風險驟發風險。通常，處於風險個體先前曾有自體免疫疾病和/或一或多次自體免疫疾病驟發，或具有罹患自體免疫疾病的遺傳性傾向。

7.3 轉移癌

[0213] 針對轉移癌，用語"治療"係指針對轉移癌治療及預防性或阻礙性措施兩者，其中該目的係為避免或減緩（舒緩）標的病理病況或失調。需要治療者包括已經患有轉移癌以及易患轉移癌或者其中意欲預防該轉移癌者。

[0214] 在一態樣中，該 MCAM 拮抗劑提供抵抗個體轉移癌臨床和/或組織學和/或生化和/或病理指標徵候（包括症狀及徵象兩者）的發展或進展之阻礙性或預防性效

果。在一實施態樣中，該轉移癌係選自攝護腺癌、肺癌、及胰癌所組成的群組。

7.4 合併療法

[0215] 本發明之抗體在治療中可單獨使用或與其他組成物併用。例如，本發明之抗體可與至少一種額外治療劑共同投與。在某些實施態樣中，額外治療劑係一或多種下列疾病修飾劑：特立氟胺（teriflunomide）、干擾素 β -1a、干擾素 β -1b、乙酸格拉替雷（glatiramer acetate）、芬戈莫德（fingolimod）、及邁杜蔥酮（mitoxantrone）。在另一實施態樣中，額外治療劑係治療疾病急性惡化之用劑。在一實施態樣中，用於急性惡化的額外治療劑係一或多種皮質類固醇。在一實施態樣中，該一或多種皮質類固醇係選自於由培尼皮質酮（prednisone）、甲基培尼皮質醇（methylprednisolone）、及地塞米松（dexamethasone）所組成的群組。在另一實施態樣中，該疾病係多發性硬化症且該急性惡化係復發或發作（例如 CNS 發炎）。

[0216] 此種上述所指之合併療法涵蓋合併投與（二或多種治療劑包含在相同或分開的調合物中）、以及分開投與，此例中，本發明之抗體的投與可發生於投與該額外治療劑之前、同時及/或之後。

8. 醫藥組成物

[0217] 專一性結合 MCAM 或層黏蛋白 $\alpha 4$ 鏈（例如層黏蛋白 411 的 $\alpha 4$ 鏈）的 MCAM 拮抗劑抗體，以及其他本文前述所揭示之篩選分析法所鑑定之 MCAM 拮抗劑分子，可以醫藥組成物形式投予以供治療各種失調，特別是神經發炎性疾病或受益於抑制表現 MCAM 之細胞浸潤至 CNS 的疾病。

[0218] 在一態樣中，本發明有關包含如本文所述之抗體、或其抗原結合片段的醫藥組成物。在一實施態樣中，該醫藥組成物包含

（i）一種經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其結合至包含如 SEQ ID NO：22 所示之胺基酸序列的 MCAM 的免疫球蛋白結構域；

（ii）一種經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其結合至包含如 SEQ ID NO：23 所示之胺基酸序列的 MCAM 的免疫球蛋白結構域；或

（iii）一種經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其結合至包含如 SEQ ID NO：22 及 23 所示之胺基酸序列的 MCAM 的結構域。

[0219] 在另一實施態樣中，該醫藥組成物包含經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其包含下列高變異區（HVR）：

（i）HVR-L1，其包含胺基酸序列 KASKNIDTYLA（SEQ ID NO：3）；

（ii）HVR-L2，其包含胺基酸序列 SGSTL（SEQ ID

NO : 4) ;

(iii) HVR-L3 , 其包含胺基酸序列 QQHNEYPLT
(SEQ ID NO : 5) ;

(iv) HVR-H1 , 其包含胺基酸序列 GFTFSNYUMA
(SEQ ID NO : 8) ;

(v) HVR-H2 , 其包含胺基酸序列
SISFEGNRNHYGDSVK (SEQ ID NO : 9) ; 和/或

(vi) HVR-H3 , 其包含胺基酸序列
HRGYSTNFIYHDVLDWVGQ (SEQ ID NO : 10) 。

[0220] 在一其他實施態樣中，該醫藥組成物包含經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其包含下列高變異區 (HVR) :

(i) HVR-L1 , 其包含胺基酸序列
KSSQSLLYSGTQKNYLA (SEQ ID NO : 14) ;

(ii) HVR-L2 , 其包含胺基酸序列 WASTRQS (SEQ
ID NO : 15) ;

(iii) HVR-L3 , 其包含胺基酸序列 QQYYDTLTDT
(SEQ ID NO : 16) ;

(iv) HVR-H1 , 其包含胺基酸序列 GFKFSNYUMS
(SEQ ID NO : 19) ;

(v) HVR-H2 , 其包含胺基酸序列
SISDGGGDTFCRDLVKG (SEQ ID NO : 20) ; 和/或

(vi) HVR-H3 , 其包含胺基酸序列
RGAAMGGVMDWVGQ (SEQ ID NO : 21) 。

[0221] 在另一實施態樣中，該醫藥組成物包含經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其包含下列高變異區（HVR）：

（i）HVR-L1，其包含 SEQ ID NO：31 的胺基酸序列；

（ii）HVR-L2，其包含 SEQ ID NO：32 的胺基酸序列；

（iii）HVR-L3，其包含 SEQ ID NO：33 的胺基酸序列；

（iv）HVR-H1，其包含 SEQ ID NO：36 的胺基酸序列；

（v）HVR-H2，其包含 SEQ ID NO：37 的胺基酸序列；和/或

（vi）HVR-H3，其包含 SEQ ID NO：38 的胺基酸序列。

[0222] 在另一實施態樣中，該醫藥組成物包含經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其包含下列高變異區（HVR）：

（i）HVR-L1，其包含 SEQ ID NO：41 的胺基酸序列；

（ii）HVR-L2，其包含 SEQ ID NO：42 的胺基酸序列；

（iii）HVR-L3，其包含 SEQ ID NO：43 的胺基酸序列；

(iv) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO：46 的胺基酸序列；

(v) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO：47 的胺基酸序列；和/或

(vi) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO：48 的胺基酸序列。

[0223] 在另一實施態樣中，該醫藥組成物包含經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其包含下列高變異區（HVR）：

(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO：51 的胺基酸序列；

(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO：52 的胺基酸序列；

(iii) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO：53 的胺基酸序列；

(iv) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO：56 的胺基酸序列；

(v) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO：57 的胺基酸序列；和/或

(vi) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO：58 的胺基酸序列。

[0224] 在另一實施態樣中，該醫藥組成物包含經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其包含下列高變異區（HVR）：

(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO：61 的胺基酸序列；

(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO：62 的胺基酸序列；

(iii) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO：63 的胺基酸序列；

(iv) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO：66 的胺基酸序列；

(v) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO：67 的胺基酸序列；和/或

(vi) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO：68 的胺基酸序列。

[0225] 在另一實施態樣中，該醫藥組成物包含經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其包含下列高變異區（HVR）：

(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO：73 的胺基酸序列；

(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO：74 的胺基酸序列；

(iii) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO：75 的胺基酸序列；

(iv) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO：78 的胺基酸序列；

(v) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO：79 的胺基酸序列

列；和/或

(vi) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO：80 的胺基酸序列。

[0226] 在另一實施態樣中，該醫藥組成物包含經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其包含下列高變異區 (HVR)：

(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO：85 的胺基酸序列；

(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO：86 的胺基酸序列；

(iii) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO：87 的胺基酸序列；

(iv) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO：90 的胺基酸序列；

(v) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO：91 的胺基酸序列；和/或

(vi) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO：92 的胺基酸序列。

[0227] 在另一實施態樣中，該醫藥組成物包含經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其包含

(a) 包含如 SEQ ID NO：2 所示之胺基酸序列的輕鏈變異區，及包含如 SEQ ID NO：7 所示之胺基酸序列的重鏈變異區；

(b) 包含如 SEQ ID NO：13 所示之胺基酸序列的輕

鏈變異區，及包含如 SEQ ID NO：18 所示之胺基酸序列的重鏈變異區；

(c) 包含如 SEQ ID NO：30 所示之胺基酸序列的輕鏈變異區，及包含如 SEQ ID NO：35 所示之胺基酸序列的重鏈變異區；

(d) 包含如 SEQ ID NO：40 所示之胺基酸序列的輕鏈變異區，及包含如 SEQ ID NO：45 所示之胺基酸序列的重鏈變異區；

(e) 包含如 SEQ ID NO：50 所示之胺基酸序列的輕鏈變異區，及包含如 SEQ ID NO：55 所示之胺基酸序列的重鏈變異區；

(f) 包含如 SEQ ID NO：60 所示之胺基酸序列的輕鏈變異區，及包含如 SEQ ID NO：65 所示之胺基酸序列的重鏈變異區；

(g) 包含如 SEQ ID NO：70、71、或 72 中任一者所示之胺基酸序列的輕鏈變異區，及包含如 SEQ ID NO：77 所示之胺基酸序列的重鏈變異區；或

(h) 包含如 SEQ ID NO：83 或 84 中任一者所示之胺基酸序列的輕鏈變異區，及包含如 SEQ ID NO：89 所示之胺基酸序列的重鏈變異區。

[0228] 在又另一實施態樣中，該醫藥組成物包含經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其實質上與本文所述之抗體結合至相同的抗原決定區。在一其他實施態樣中，該醫藥組成物包含經分離之抗 MCAM 抗體、或

其抗原結合片段，其與本文所述之抗體競爭結合至人 MCAM。在另外實施態樣中，本發明提供本文所述之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段用於製造供治療中樞神經系統（CNS）發炎性失調的藥物之用途，該失調特徵為表現 MCAM 之細胞浸潤至 CNS 中。

[0229] 本發明用於預防或治療神經發炎性病況或自體免疫疾病的化合物典型上係藉由靜脈注射投與。亦可使用其他投與方法，其包括但不限於局部、腸胃外、皮下、腹膜內、肺內、鼻內、眼、眼內、玻璃體內、病灶內、腦脊髓內、關節內、滑膜內、鞘內、口服、局部、或吸入投與。腸胃外輸注包括肌內、靜脈內、動脈內、腹膜內、或皮下投與。此外，本文所述之化合物係依已知方法投與至人個體，例如以大量輸注（bolus）靜脈投與或連續輸注一段時間。

[0230] 本發明提供以 MCAM 拮抗劑為基礎之治療劑的劑量。舉例而言，取決於疾病的種類及嚴重性，不論是例如藉由一或多次分別投與或連續輸注，約 1 $\mu\text{g/kg}$ 至 15 mg/kg （例如 0.1-20 mg/kg ）的多肽係投與至病患的起始候選劑量。典型每日劑量取決於上述之因素，可約 1 $\mu\text{g/kg}$ 至 100 mg/kg 或更高的範圍。針對數日或更久的重複投與，取決於病況，治療可持續直至所欲之疾病症狀抑制發生為止。然而，可使用其他劑量方案（dosage regimen）。此療法的進度可輕易地藉由習知技術及分析法監測。

[0231] 本文之 MCAM 拮抗劑（包括 MCAM 拮抗劑抗體）組成物將以符合優良醫療執業的方式調配、用藥及投與。在此情境下，考慮的因素包括所治療的特定失調、所治療的哺乳動物、個體病患的臨床病況、該失調的病因、投遞藥劑處、投與方法、投與排程、及其他臨床執業者已知的因素。所欲投與的"治療有效量"的拮抗劑將依此等考量來管理，且為預防、緩和或治療特定疾病或病況的最小量。

[0232] 在一些實施態樣中，該組成物係用於預防個體發生或再發生該疾病或病況疾病。在一實施態樣中，本發明可用於增加易罹患或經診斷患有該疾病或病況疾病的人類病患之存活期間。存活期間係定義為自第一次投與藥物至死亡的時間。

[0233] 治療調合物係使用本技術領域已知之標準方法、藉由混合具有所欲純化程度之活性成分及隨意之生理上可接受之載體、賦形劑、或穩定劑活性成分來製備（參見例如 Alfonso R Gennaro (ed), Remington: The Science and Practice of Pharmacy, formerly Remington's Pharmaceutical Sciences 20th ed., Lippincott, Williams & Wilkins, 2003，全部以參照方式併入）。可接受之載體、包括生理食鹽水、或緩衝液，例如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸；低分子量（小於約 10 個殘基）多肽；蛋白質，例如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，例如聚乙烯吡咯啉酮；胺基

酸，例如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣、及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖、或糊精；螯合劑，例如 EDTA；糖醇，例如甘露醇或山梨糖醇；形成鹽之相對離子，例如鈉；和/或非離子界面活性劑，例如 TWEEN™、PLURONICS™、或 PEG。

[0234] 隨意但較佳的是，該調合物含有醫藥上可接受之鹽、較佳為氯化鈉，且較佳為約生理濃度。

[0235] 隨意地，本發明之調合物可含有醫藥上可接受之防腐劑。在一些實施態樣中，該防腐劑濃度範圍在 0.1 至 2.0%，典型上為 v/v。適合的防腐劑包括醫藥技術中已知者。苯甲醇、苯酚、間甲酚、對羥苯甲酸甲酯、及對羥苄酸丙酯係較佳之防腐劑。隨意地，本發明之調合物可包括濃度 0.005 至 0.02% 的醫藥上可接受之界面活性劑。

[0236] 該活性成分亦可包裹於微膠囊，其藉由例如凝聚技術或藉由界面聚合來製備，例如羥甲基纖維素或明膠-微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊分別於膠態藥物投遞系統（例如微脂體、白蛋白微球、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊）或於巨乳液。此等技術係揭示於 Remington's Pharmaceutical Sciences，參照前文。

[0237] 可製備緩釋製劑。緩釋製劑的適當實例包括含有抗體之固體疏水性聚合物半透性基質，該基質係經成形物件形式，例如薄膜或微膠囊。緩釋基質的實例包括聚酯、水凝膠（例如聚（2-羥乙基-甲基丙烯酸酯）、或聚

(乙烯醇)) 、聚乳酸類 (美國專利第 3,773,919 號) 、L-麩胺酸及 γ 乙基-L-麩胺酸酯之共聚物、不可降解乙烯-乙酸乙烯酯、可降解乳酸-乙醇酸共聚物 (例如 LUPRON DEPOT™ (由乳酸-乙醇酸共聚物與柳菩林 (leuprolide acetate) 組成之可注射微球)) 、及聚-D- (-) -3-羥基丁酸。雖然諸如乙烯-乙酸乙烯酯及乳酸-乙醇酸之共聚物使分子能夠釋放超過 100 天，但特定水凝膠釋放蛋白達較短時間。當膠囊化之抗體長時間停留於體內時，在 37°C 下暴露於潮濕環境中會使其變性或聚集，導致生物活性損失及致免疫性之可能改變。端視所涉及機制可設計合理策略以保持穩定性。舉例而言，若發現聚集機制係經由硫醇基-雙硫鍵對換 (thio-disulfide interchange) 形成分子間 S-S 鍵，則穩定性可藉由修飾巯基殘基、自酸溶液凍乾、控制水分含量、使用合適添加劑及形成特定聚合物基質組成物而達成。

9. 製品及套組

[0238] 本發明進一步包括含有本發明之 MCAM 拮抗劑及相關材料 (例如使用說明) 的套組。使用說明可含有例如投與 MCAM 拮抗劑及隨意一或多種額外用劑之說明。本發明亦提供用於治療特徵為表現 MCAM 之細胞浸潤至中樞神經系統 (CNS) 中的 CNS 發炎性失調的套組。該失調包括且不限於神經發炎性病況，例如像是多發性硬化症及帕金森病，以及自體免疫疾病。本發明之套組包含

至少一種 MCAM 拮抗劑、較佳為抗體的一或多個容器，併以一組關於用於治療失調的 MCAM 拮抗劑之使用及劑量說明、通常為書面說明。包括在套組的說明通常包括治療標的失調（例如神經發炎性病況或自體免疫疾病）的劑量、用藥排程、及投與途徑之資訊。該 MCAM 拮抗劑的容器可為單位劑量、大包裝（例如多重劑量包裝）、或次單位劑量。

[0239] 在一實施態樣中，本發明提供一種套組，其包含如本文所述之 MCAM 拮抗劑及用於治療中樞神經系統（CNS）發炎性失調的使用說明，該失調特徵為 MCAM 表現細胞浸潤至 CNS 中。在一實施態樣中，本發明提供一種用於治療特徵為 MCAM 表現細胞浸潤至中樞神經系統（CNS）中的 CNS 發炎性失調之套組，該套組包含：

（a）容器，包含 MCAM 拮抗劑抗體；及（b）投與該抗體以治療該 CNS 發炎性失調的標籤或說明。較佳的是，該 CNS 發炎性失調係神經發炎性病況或自體免疫疾病。在一實施態樣中，該 CNS 發炎性失調係多發性硬化症或帕金森病。

[0240] 亦提供治療用製品，包含容器及容器上或連於容器的標籤或包裝插頁。適合容器包含（例如）瓶、小瓶、注射器等等。該容器可自諸如玻璃或塑料之各種材料形成。該容器存放有效治療病況的組成物，且可具有無菌出入口（例如該容器可為靜脈注射溶液袋或具有可用皮下注射針穿刺的塞子之小藥瓶）。該組成物中至少一活性劑

為本發明之 MCAM 拮抗劑。該標籤或包裝插頁指出組成物係用於治療特定病況。該標籤或包裝插頁進一步包含將抗體組成物投與病患的說明。包含本文所述之組合治療的製品及套組亦有涵蓋。

[0241] 包裝插頁用於係指通常包括於治療產品之商業包裝中的說明書，其含有有關以下內容之資訊：適應症、用法、劑量、投與、禁忌症、及/或與該等治療產品之使用相關之警示。

[0242] 此外，該製品可進一步包含第二容器，其包含醫藥上可接受緩衝劑，諸如用於注射之抑菌水（BWFI）、磷酸鹽緩衝鹽液、林格氏溶液（Ringer's solution）及右旋糖溶液。其可進一步包括商業及使用者認為較佳的其他材料，其包括其他緩衝劑、稀釋劑、填料、針、及注射器。

[0243] 本案所引用之所有專利、專利公開案、及參考文獻在此全部以引用方式併入本文中。

實例

[0244] 下列實例不欲解讀為所揭示之使用方法的限制性手段，而為示例性手段。

材料與方法

動物及細胞操作

[0245] 8-16 週齡的 SJL 小鼠（Jackson）以在 CFA 中

乳化之 PLP 139-151 胜肽來免疫化。針對此免疫作用實驗，使用商業套組 EK-0122 (Hooke Laboratories)。針對一些實驗，於 11 日後移除脾，並經處理成單一細胞懸浮液。針對一些實驗，脾細胞經處理以供如下述的體外分析之用。針對 EAE 研究，小鼠於 PLP 免疫作用後第 5、9、13、及 17 日予以 PBS、同型對照抗體 (BioXcell)、或抗 MCAM 抗體株 17 注射。每日監測疾病進展，並藉由標準技術以盲性方式計分。於 PLP 免疫作用後 35 日犧牲小鼠，且將腦及脊髓針對免疫細胞浸潤進行分析。

[0246] 針對 MCAM-Fc 結合至 EAE 組織之分析，將 8-16 週齡 C57BL6 小鼠以乳化於 CFA 中之髓鞘質寡樹突細胞糖蛋白 (MOG) 35-55 來免疫化。針對此免疫作用實驗，使用商業套組 EK-0111 (Hooke laboratories)。經免疫化動物於疾病高峰時犧牲。腦及脊髓於 OCT (最佳切割溫度介質) 中急速冷凍並藉由如下述之螢光顯微鏡檢查術來分析。

流動式細胞測量術/標記染色及偵測/FACS 實驗操作程序

[0247] 膚色血球層自健康人捐贈者獲得 (Stanford Blood Center, Palo Alto, CA)，且 CD4 T 細胞以 RosetteSep (Stem Cell Technologies) 負性富集。若有指明時，CD4+/CD45RO+記憶型 T 細胞係以磁珠 (Miltenyi Biotec) 經進一步負性純化。T 細胞平板培養 (2×10^5 細胞/孔) 於經抗 CD3 ($5 \mu\text{g/ml}$, BD Pharmingen) 塗層之 96

孔 U 型底部孔盤中、於含有 10%熱去活化 FCS (HyClone Laboratories)、青黴素、鏈黴素、L-麩醯胺酸 (L-glutamFine)、抗 IFN γ (5 μ g/ml; R&D Systems)、抗 IL4 (0.5 μ g/ml, R&D Systems)、及抗 CD28 (2 μ g/ml; BD Pharmingen) 的 RPMI 中共五日。若有指明時，加入 TGF β (2 ng/ml, 除非另有指明)、IL12、IL1 β 、和/或 IL-23 (均為 20 ng/ml)。所有細胞介素均自 R&D Systems 獲得。胞內細胞介素的分析於存有 PMA (50 ng/ml) 及離子黴素 (Ionomycin) (500 ng/ml; 兩者均來自 Sigma-Aldrich) 和 GolgiStop (BD Pharmingen) 之下五小時後進行。固定、通透化、及以抗 IL-17A (Ebioscience)、IL-22 (R&D Systems)、CCL20 (R&D Systems)、和/或 FOXP3 (使用 FOXP3 染色套組 (Biolegend)) 染色後，以抗 MCAM (Pharmingen) 染色。在一些實驗中，針對表面表現，未經處理全血以抗 CCR7、抗 CCR6、抗整合素 α 4、抗整合素 β 7、或抗整合素 β 1 (均來自 BD Pharmingen) 染色。

抗體產生/特徵分析

[0248] 為產生能夠結合至鼠 MCAM 的抗體，使用標準技術，藉由將鼠 MCAM 的胞外結構域融合至人 IgG 且於 CHO 細胞中製造來產生 MCAM-Fc。Lou/M 大鼠以在 CFA 中的 100 μ g 之 MCAM-Fc 蛋白質 (1:1 體積) 免疫化。大鼠以在不完全佛朗氏佐劑 (IFA) 中的 MCAM-Fc

蛋白質（1：1 體積）在二週間隔下增幅（boost）二次。使用標準實驗操作程序，自經免疫化大鼠產生融合瘤，且藉由 Clonепix 選擇抗體株。將全長之鼠 MCAM 基因轉染至 CHO 細胞，並使用新黴素及標準技術選擇穩定表現者。使用標準技術將親代 CHO 細胞（MCAM 陰性）以羧基螢光黃琥珀醯亞胺基酯（CFSE）螢光標定，並以 1：1 比例與未經標定的經 MCAM 轉染 CHO 細胞混合。將融合瘤上清液與此細胞混合物溫育 30 分鐘，且藉由流動式細胞測量術、以經螢光標定抗大鼠二級抗體（Jackson Immuno）偵測潛在之 MCAM 專一性抗體結合。

[0249] 在加入表現層黏蛋白 $\alpha 4$ 的細胞株 WM2664 前，將來自經篩選為 MCAM 專一性抗體陽性的融合瘤之上清液與經螢光標定小鼠 MCAM-Fc 蛋白質（5 $\mu\text{g/mL}$ ）預溫育 30 分鐘，且藉由流動式細胞測量術測定 MCAM-Fc 蛋白質結合至細胞株的中和作用。

[0250] 為產生能夠結合至人 MCAM 的大鼠抗體，使用標準技術，藉由將人 MCAM 的胞外結構域融合至人 IgG 且於 CHO 細胞中製造來產生 hMCAM-Fc。Lou/M 大鼠以在 CFA 中的 250 μg 之 hMCAM-Fc 蛋白質（1：1 體積）免疫化。大鼠以在不完全佛朗氏佐劑（IFA）中的 hMCAM-Fc 蛋白質（1：1 體積）在二週間隔下增幅（boost）二次。使用標準實驗操作程序，自經免疫化大鼠產生融合瘤，且藉由 Clonепix 選擇抗體株。將全長之人 MCAM 基因轉染至 CHO 細胞，並使用新黴素及標準技

術選擇穩定表現者。使用標準技術將親代 CHO 細胞（MCAM 陰性）以羧基螢光黃琥珀醯亞胺基酯（CFSE）螢光標定，並以 1：1 比例與未經標定的經人 MCAM 轉染 CHO 細胞混合。將融合瘤上清液與此細胞混合物溫育 30 分鐘，且藉由流動式細胞測量術、以經螢光標定抗大鼠二級抗體（Jackson Immuno）偵測潛在之人 MCAM 專一性抗體結合。

[0251] 為產生能夠結合至人 MCAM 的小鼠抗體，使用標準技術，藉由將人 MCAM 的胞外結構域融合至人 IgG 且於 CHO 細胞中製造來產生 hMCAM-Fc。Balb/c 小鼠以在 CFA 中的 50 μ g 之 hMCAM-Fc 蛋白質（1：1 體積）免疫化。小鼠以在不完全佛朗氏佐劑（IFA）中的 hMCAM-Fc 蛋白質（1：1 體積）在二週間隔下增幅（boost）二次。使用標準實驗操作程序，自經免疫化小鼠產生融合瘤，且藉由 Clonepix 選擇抗體株。將全長之人 MCAM 基因轉染至 CHO 細胞，並使用新黴素及標準技術選擇穩定表現者。使用標準技術將親代 CHO 細胞（MCAM 陰性）以羧基螢光黃琥珀醯亞胺基酯（CFSE）螢光標定，並以 1：1 比例與未經標定的經人 MCAM 轉染 CHO 細胞混合。將融合瘤上清液與此細胞混合物溫育 30 分鐘，且藉由流動式細胞測量術、以經螢光標定抗小鼠二級抗體（Jackson Immuno）偵測潛在之人 MCAM 專一性抗體結合。

[0252] 在加入表現層黏蛋白 $\alpha 4$ 的細胞株 WM2664

前，將來自經篩選為人 MCAM 專一性抗體陽性的融合瘤之上清液與經螢光標定 hMCAM-Fc 蛋白質（5 $\mu\text{g/mL}$ ）預溫育 30 分鐘，且藉由流動式細胞測量術測定 hMCAM-Fc 蛋白質結合至細胞株的中和作用。

核酸及蛋白質操作

[0253] 針對微陣列實驗，人 CD4⁺ T 細胞如上述分離、對 CD161 及 CCR6 染色（兩者均來自 BD Pharmingen）、以及分選成 CD4⁺/CD161⁻/CCR6⁻（非 TH17）及 CD4⁺/CD161⁺/CCR6⁺（TH17）細胞（自三位不同健康捐贈者）。立即從來自各捐贈者細胞的一半（循環型）分離 RNA，而另一半於未有外源性細胞介素之下以連結於平板的抗 CD3 及可溶性抗 CD28 刺激 4 天（活化型），再分離 RNA。RNA 經擴增（Nugen）且於人 U133 Plus 2.0 Array（Affymetrix）上雜交。所有微陣列實驗均於 Expression Analysis, Inc.（Durham, NC）進行。

[0254] 為確認 CDR，使用 RNAqueous-4PCR 套組（Ambion）自融合瘤細胞分離全 RNA，用以供 cDNA 合成。使用自 Marathon cDNA 擴增（Clontech）修改之方法合成第一及第二股 cDNA（cDNA 轉接子（adaptor）連接至所獲得之雙股 cDNA 的 5'端）。反股專一性引子依重鏈及輕鏈兩者專一性抗體同型恆定區域序列設計，且其與轉接子引子併用，使用 Pfu Ultra DNA 聚合酶（Stratagene），PCR 擴增 VL 及 VH 片段。經擴增之 PCR

產物選殖至 pCR-Blunt-TOPO (Invitrogen) 中，並確認核酸序列。針對輕鏈及重鏈兩者，相同 VL 及 VH 序列（抗體株 17）從 5 株個別抗體株中至少 3 株鑑定出。

[0255] 為測定上清液中的 IL-17 濃度，使用商業套組（R&D Systems）進行 ELISA。

螢光顯微鏡檢查術/標準免疫螢光方法

[0256] 來自經 EAE 誘發小鼠的組織於 OCT 中急速冷凍並於 10 μ M 切片。切片於冷丙酮中固定，並以直接經共軛之抗泛層黏蛋白（Novus Biologicals）、MCAM-Fc、及抗 CD31（BD Pharmingen）、或抗層黏蛋白 α 4（Novus biological）染色。在一些實驗中，於加至組織前，MCAM-Fc 與抗 MCAM 抗體預溫育，以確認在組織上 MCAM 結合至其配體的中和作用。

小鼠極化實驗

[0257] 將來自經在 CFA 中的 PLP 免疫化 11 日的小鼠之脾細胞分離並於 PLP（5 μ g/mL, Hooke Laboratories）存在下培養。若有指明，加入人 TGF β （5 ng/ml）和/或鼠 IL-23（20 ng/mL）、及鼠 IL-1 β （20 ng/mL）五日（於含有 10% 經熱去活化 FCS（HyClone Laboratories）、青黴素、鏈黴素、L-麩醯胺酸、抗 IFN γ （5 μ g/ml；R&D Systems）、抗 IL4（0.5 μ g/ml, R&D Systems）、及 β -ME（50 μ M）的 RPMI 中）。所有細胞

介素均來自 R&D Systems。如上述，以抗 CD4、抗 NK1.1（兩者均來自 BD Pharmingen）、及所產生之抗 MCAM 來染色細胞。

實例 1.MCAM 於 IL-17 製造的人 CD4+T 細胞中係上調的基因

[0258] 為鑑定與 TH17 細胞浸潤 CNS 有關的新穎可作為標的之分子，來自三位健康捐贈者的人 CD4+T 細胞以上文材料與方法中所述之磁性負篩選來富集。該經富集之人 CD4+T 細胞針對表面表現 CD161 及 CCR6 予以染色後，細胞經 FACS 分選成二個族群：CCR6-/CD161-（代表循環型非 TH17 細胞）及 CCR6+/CD161+（代表循環型 TH17 細胞），其如上文之材料與方法中所述。如上文的材料與方法中所述，各族群中的細胞，其中一半細胞的 RNA 立即分離。另一半於未有外源性細胞介素之下以連結於平板的抗 CD3 及可溶性抗 CD28 培養四天，以分別獲得經活化之非 TH17 細胞及經活化之 TH17 細胞。同樣自這二類經活化細胞分離 RNA。如上文材料與方法所述，將 RNA 予以微陣列分析，以鑑定專一性表現於 TH17 細胞中的基因。

[0259] 如圖 1A 中所示，一種已知的 TH17 轉錄因子 ROR γ t，於循環型及經活化之 TH17 細胞兩者中均上調，而為經活化之 TH-17 的標記 IL-17 幾近僅表現於經活化之 Th-17 族群中。這些結果顯示上述分離及活化程序成功。

微陣列分析鑑定出於循環型及經活化之 TH17 細胞兩者中 MCAM 為上調基因-此與 ROR γ 的數據類似（圖 1A）。

[0260] MCAM 表現型 T 細胞先前已描述從多發性硬化症病患所產生的 T 細胞株中具有富集表現，且在發炎位置特別顯著。參見例如 Brucklacher-Waldert 等人，*Brian* 132 : 3329-3341（2009）；亦參見 Pickl 等人，*J. Immunol.* 158 : 2107-2115（1997）。在此，MCAM 蛋白質經發現存在於小族群的 CD4+T 細胞（典型上 3-5%的健康捐贈者）表面上。MCAM 蛋白質亦發現幾乎完全存在於 CD45RO+記憶型 T 細胞族群內（圖 1B）。人 CD4+T 細胞如上述分離，並以肉豆蔻酸乙酸巴豆酯（PMA）/離子黴素刺激四小時。如上文材料與方法中所述，將經刺激之 CD4+T 細胞進行胞內 IL-17 及表面 MCAM 量分析。如圖 1C 中所示，雖然多數製造 IL-17 的 T 細胞在這些條件下為 MCAM 陰性，但 MCAM 蛋白質富集於 IL-17 製造細胞中。僅 2.3%的 MCAM 陰性細胞（ $2.18\% / (2.18\% + 92.62\%)$ ）經染色為 IL-17 陽性；而 11.9%的表現 MCAM 之細胞（ $0.62\% / (0.62\% + 4.58\%)$ ）為 IL-17 陽性。由這些數據，MCAM 係富集於製造 IL-17 之人 CD4+T 細胞中。

[0261] 又，當 CD4+/CD45RO+記憶型 T 細胞分成經純化 MCAM 陽性及 MCAM 陰性細胞族群、且於體外以抗 CD3 及抗 CD28 刺激時，MCAM 陽性族群製造幾近十倍 IL-17（數據未顯示）。多數潛在 IL-17 製造經發現係來自

小族群的表現 MCAM 之細胞。在一捐贈者中，僅有 MCAM 陽性族群製造可偵測量的 IL-17。因此，多數潛在 IL-17 製造係來自小族群的表現 MCAM 之 T 細胞。

實例 2.表現 MCAM 之 T 細胞為具有獨特整合素表現數據特徵的作用記憶型 T 細胞

[0262] CD45RO+人 CD4 T 細胞的記憶型族群可分為 (1) 作用記憶型細胞，具有組織向性；以及 (2) 中央記憶型細胞 (central memory cell)，具有基於 CCR7 表現的淋巴組織返回。參見例如 Sallusto 等人，*Nature* 401: 708-712 (1999)。

[0263] 為判定那個次族群包括表現 MCAM 之 T 細胞，如上文材料與方法中所述，在 T 細胞中的 MCAM 表現進一步以不同標記 (CCR6、CCR7、整合素次單元 $\alpha 4$ 、 $\beta 1$ 、及 $\beta 7$) 染色周邊人 T 細胞來特徵分析。表現 MCAM 之 CD4+ T 細胞大多為 CCR7 陰性，代表多數為作用記憶型 T 細胞，且較可能為返回組織 (圖 2A)。TH17 富集實驗操作程序暗示所獲得的表現 MCAM 之 T 細胞不成比例地為 CCR6+。如圖 2A 中所示，約 64% 的 MCAM+細胞 ($2.8\% / (2.8\% + 1.6\%)$) 表現 CCR6，而僅 16.1% 的 MCAM 陰性細胞 ($15.4\% / (15.4\% + 80\%)$) 表現 CCR6 (圖 2A)。這些數據暗示了 MCAM 陽性細胞大多為趨向 CCR6 配體、即 CCL20 高的區域。參見例如 Liao 等人，*J. Immunol.* 162: 186-194 (1999)。

[0264] 進一步特徵分析表現 MCAM 之 T 細胞的整合素表現型態。表現 MCAM 的 T 細胞主要為整合素 $\alpha 4$ 陽性，但大多為整合素 $\beta 7$ 陰性及 $\beta 1$ 陽性（圖 2B），此係與涉及 EAE（實驗性自體免疫性腦脊髓炎）發病機制的 T 細胞相關的表型。參見例如 Bauer 等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 106：1920-1925（2009）。

實例 3.於 TH17 條件下表現 MCAM 之 T 細胞藉由 IL1 β 擴大且製造多數的 IL-17 及 IL-22

[0265] 表現 MCAM 之 CD4+T 細胞僅占 3-5%，為占 T 細胞族群的極少數。令人關注的是測定族群在何種條件下擴大及發揮 TH17 效應功能。為此，如上文材料與方法中所述，純化人 CD4+/CD45RO+T 細胞，並於體外以抗 CD3 及抗 CD28 且在許多細胞介素存在條件下（TGF β 、IL-12、IL-1 β 、IL-23、及不同組合）刺激，且表現 MCAM 之細胞以及表現 IL-17 的細胞之百分比藉由流動式細胞測量術測定（圖 3A）。在單獨以 IL-1 β 刺激下，MCAM 表現擴大（未有 IL-1 β 為 16.4% 相對於存有 IL-1 β 為 38.1%，圖 3B）。又，雖然單用 TGF β 未大量擴大 MCAM 陽性族群，但併用兩者細胞介素造成超過半數記憶型 T 細胞族群成為 MCAM 陽性，所以其與 IL-1 β 具協同性作用。在擴大表現 MCAM 之細胞族群的相同條件下，製造 IL-17 之細胞的族群伴隨增加，於 MCAM+族群中在所有測試之細胞介素條件下具有相當大的富集量（圖 3C）。

事實上，在 $TGF\beta$ 及 $IL-1\beta$ 存在下，製造 $IL-17$ 之細胞中超過 80% ($20.2\% / (20.2\% + 4.4\%)$) 為 MCAM 陽性。

[0266] 除了 $IL-17$ 之外，在表現 MCAM 之 T 細胞中，已知的 TH17 相關細胞介素 $IL-22$ (Liang 等人, *J. Exp. Med.* 203: 2271-2279 (2006)) 也上升。 $IL-22$ 受體大都表現於例如上皮細胞之非免疫細胞上，且作為抗微生物反應以及組織重塑。參見例如 Dumoutier 等人, *J. Immunol.* 167: 3545-3549 (2001)；亦參見 Zenewicz 等人, *Int. Immunol.* 23: 159-163 (2011)。雖然 $IL-22$ 業經顯示涉及血腦屏障，其並非為誘發 EAE 進展所絕對需要。參見例如 Kreymborg 等人, *J. Immunol.* 179: 8098-8104 (2007)；亦參見 Kebir 等人, *Nat. Med.* 13: 1173-1175 (2007)。與 $IL-17$ 同樣方式，明顯較高百分比的 MCAM+細胞表現 $IL-22$ (圖 3D)。

[0267] TH17 細胞亦曾被報導會表現 CCL20。參見例如 Hirota 等人, *J. Exp. Med.* 204: 2803-2812 (2007)。類似於 $IL-17$ 及 $IL-22$ ，表現 MCAM 之 T 細胞中有相當多的族群為 CCL20 陽性 (圖 3E)，暗示在 CCR6+T 細胞的遷移中可能有正性反饋迴圈環路。

[0268] 雖然上述數據暗示 T 細胞族群具有特定致病性表型，但未預期會觀察到 MCAM 表現與胞內 FOXP3 並非互斥，且事實上，有稍高百分比 MCAM+T 細胞為 FOXP3 陽性 (圖 3F)。在 $TGF\beta$ 劑量增加存在下，MCAM+細胞為 FOXP3+的百分比有增加，而表現 FOXP3

之細胞在 MCAM-族群中的百分比大體上仍未改變。這些結果暗示表現 MCAM 之細胞在 TGF β 存在下具有作用於免疫調節性角色的可能性。

實例 4.於已知 T 細胞浸潤 CNS 位置處 MCAM 結合至 ECM，且 MCAM 配體為層黏蛋白 411

[0269] MCAM 的功能已於腫瘤模式中說明，其顯示 MCAM 表現將黏附性、浸潤性、及最終轉移性表型賦予腫瘤細胞。參見例如 Xie 等人，*Cancer Res.* 57: 2295-2303 (1997)。然而，MCAM 結合的配體仍待鑑定。雖然上述數據指出 MCAM 於 TH17 細胞中為富集的，但仍未知 MCAM 是否功能性涉及 T 細胞浸潤 CNS。因此，極為關注確認 (1) MCAM 結合於何處，即，確認 MCAM 配體；(2) 是否 MCAM 對 TH17 細胞開始浸潤至未發炎腦是關鍵的；以及 (3) 是否 MCAM 配體表現為建立進入 CNS 的位點所需。

[0270] 產生 MCAM-Fc 融合蛋白質（如上文材料與方法中所述），以偵測 MCAM 結合於健康小鼠組織上、特別為已知涉及 T 細胞浸潤之區域。由於脈絡叢經顯示為 TH17 細胞進入未發炎腦的途徑，健康脈絡叢組織以 MCAM-Fc 及抗層黏蛋白染色。如圖 4A 及 4B 所示，脈絡叢廣泛地表現 MCAM 配體，但為 MCAM 陰性。這些結果強烈暗示 (1) MCAM 不可能透過同型 MCAM/MCAM 交互作用調介黏附至脈絡叢組織；以及 (2) 有額外

MCAM 配體其較 MCAM 更顯著廣泛表現，其表現侷限於健康組織內的血管內皮（圖 4C）。未預期的是，MCAM-Fc 幾乎普遍地結合健康小鼠脊髓（圖 4D），其型態暗示為胞外基質（ECM）蛋白質，且專一性地為層黏蛋白。MCAM-Fc 及抗層黏蛋白在健康小鼠脊髓上位置重疊（圖 4E），暗示 MCAM 配體或許為某一型的層黏蛋白。MCAM 配體於 ECM 中確認，由 CD31 共染色決定，係於血管分佈中內皮細胞層外部（圖 4F）。

[0271] 雖然 MCAM 與層黏蛋白於健康小鼠組織內位置重疊，但 MCAM 配體的鑑定係進一步藉由以層黏蛋白及 MCAM-Fc 共染色 EAE 組織確認。在淋巴球浸潤區域中，已發現基底膜分為二個不同的膜，即內皮基底膜及實質基底膜，兩者具有在層黏蛋白異構體組成有重要的不同處。參見例如 Sixt 等人，*J. Cell Biol.* 153：933-945（2001）。當使用 MCAM-Fc 染色這些區域的 MCAM 配體內，發現 MCAM-Fc 僅染色內皮基底膜，而泛層黏蛋白染色內皮基底膜及實質基底膜兩者（圖 4G）。曾有注意到層黏蛋白 411（層黏蛋白 8（ $\alpha 4 \beta 1 \gamma 1$ ））有此相同表現型態。藉由使用層黏蛋白 $\alpha 4$ 專一性抗體，觀察到 MCAM-Fc 蛋白質及層黏蛋白 $\alpha 4$ 位置重疊（圖 4H），暗示層黏蛋白 411 係 MCAM 的配體。包含 $\alpha 4$ 鏈的層黏蛋白分子為 MCAM 配體及其促成 TH17 細胞獨特遷移能力的確認，係描述於 Flanagan 等人，*PLoS ONE* 7（7）：e40443. doi：10.1371/journal.pone.0040443（2012）。

實例 5. 抗 MCAM 抗體阻斷 MCAM 結合至層黏蛋白 411

[0272] 抗小鼠 MCAM 單株抗體如上文之材料與方法中所述來產生。單株抗體及 MCAM 之間的專一性結合係藉由評估單株抗體結合至經轉染小鼠或人 MCAM 的細胞之能力來確認。為此，將未經轉染細胞以羧基螢光黃琥珀醯亞胺基酯（CFSE）標定並與未經標定之經 MCAM 轉染細胞混合。未經轉染細胞（藍色）也因此可辨別。如圖 5A 中所示，抗體株 15 及 17 顯示專一性結合至小鼠 MCAM（最上處，橙色），同時僅抗體株 17 結合至人 MCAM（最下處，橙色）。

[0273] 接著，使用單株抗體以測試彼等阻斷 MCAM 結合至其配體的能力。鼠或人 MCAM-Fc 蛋白質（5 $\mu\text{g/mL}$ ）於 PBS 中以同型對照組抗體、抗體株 15、或抗體株 17（10 $\mu\text{g/mL}$ ）預溫育 30 分鐘。將該混合物加至健康脊髓組織切片，且後續如上文之材料與方法中所述藉由螢光顯微鏡檢查術特徵分析。

[0274] 如圖 5B 中所示，抗體株 15 及 17 兩者均可阻斷鼠 MCAM-Fc 蛋白質結合至組織，而僅抗體株 17 可阻斷人 MCAM-Fc 蛋白質結合至組織。抗體株 17 的 CDR 已定序並呈現於圖 6A（SEQ ID NO：2，輕鏈）及 6B（SEQ ID NO：7，重鏈）中。使用抗體株 17 對 MCAM 個別 Fc 結構域的未變性西方印漬分析，確認抗體株 17 專一性結合至包含 MCAM 胺基酸殘基 19 至 129 的結構域。此結合藉由 ForteBio 分析進一步證實。

[0275] 又，MCAM 單株抗體顯示抑制介於 MCAM 及其配體層黏蛋白 411 之間的交互作用。親代 CHO 細胞（CHOK1）或經小鼠 MCAM 基因轉染的 CHO 細胞於 37°C 下以 CHO 培養基（DMEM）、重組層黏蛋白 411（10 $\mu\text{g/ml}$ ）、或重組層黏蛋白 511（即層黏蛋白 10（ $\alpha 5\beta 1\gamma 1$ ））（10 $\mu\text{g/ml}$ ）預溫育 45 分鐘。細胞經洗滌、且藉由流動式細胞測量術以泛層黏蛋白抗體偵測層黏蛋白 411 而非層黏蛋白 511 專一性結合至 MCAM（圖 5C，最右上圖）。經小鼠 MCAM 轉染之 CHO 細胞在層黏蛋白溫育前與抗 MCAM 抗體預溫育（抗體株 15 或抗體株 17，各為 20 $\mu\text{g/ml}$ ），消除 MCAM 結合至層黏蛋白 411（圖 5C，底部圖）。

[0276] 上文呈現的數據，暗示能夠專一性阻斷人 MCAM 結合至其配體的抗體株 17，藉由抑制經 MCAM 調介之 TH17 細胞黏附至血管分佈並阻斷 TH17 細胞遷移至中樞神經系統，或許可用於預防或治療各種經 TH17 調介的疾病。

實例 6.MCAM 不表現於循環型小鼠 T 細胞上，但於 TH17 極化後被誘發

[0277] 使用上文之抗體，如上文之材料與方法中所述，周邊小鼠血液經染色以偵測小鼠表現 MCAM 之 T 細胞。如先前所述，小鼠 T 細胞缺少 MCAM 表現，同時於 NK 細胞族群上有觀察到表現（圖 7A）。在人體，MCAM

表現僅在記憶型 T 細胞上，暗示若小鼠生活於乾淨環境、具有少量先前 T 細胞活化，則必須被極化以產生表現 MCAM 之 T 細胞的族群。考慮到人體中的 MCAM 與 TH17 細胞之關聯，進行實驗以測定是否在小鼠中可能誘發表現 MCAM 之 T 細胞的族群。如上文之材料與方法中所述，髓鞘質蛋白脂蛋白（PLP）專一性 T 細胞係藉由以存有完全佛朗氏佐劑（CFA）之 PLP 來免疫化野生型小鼠而產生。脾細胞於體外以 5 $\mu\text{g/mL}$ PLP 且在所指明的細胞介素存在下再度刺激，並於五日後分析 MCAM 表現（圖 7B）。在未有外源性細胞介素存在下，再度刺激未誘發 CD4⁺細胞的統計上顯著性 MCAM 表現（相較於同型對照組）。在 IL-23 存在下，可偵測到少量表現 MCAM 之 CD4⁺ T 細胞族群。雖然 TGF β 單獨存在不誘發多量的表現 MCAM 之 T 細胞族群，但 TGF β 及 IL-23 併用在 CD4⁺ T 細胞間協同性產生 MCAM 表現。這兩者細胞介素在小鼠 TH17 細胞的極化及效應功能中具有重要角色。值得注意的是，MCAM 表現於 CD4 高量的 T 細胞族群，其曾被描述在 EAE 中僅含有致病性 T 細胞。參見例如 Li 等人，*J. Neuroimmunol.* 192 : 57-67 (2007)。因此，不同於人，小鼠不具有循環型 CD4⁺MCAM⁺ T 細胞族群，但於 TH17 條件下併以 TGF β 及 IL-23 的極化，則足以產生此類族群。小鼠仍為研究 MCAM 於致病性 T 細胞浸潤 CNS 中的角色之存活性模式。

實例 7.藉由抗 MCAM 抗體封鎖 MCAM 來抑制 EAE 疾病進展

[0278] EAE 係一種經產生之實驗室動物的疾病，以製造類似人的多發性硬化症（MS）症狀。EAE 通常藉由將來自其他動物中樞神經系統的不同蛋白質（例如髓鞘質鹼性蛋白及全脊髓或腦組織萃取物）或專一性與髓鞘質反應的 T 細胞注射至動物來製造。EAE 通常用於追蹤 MS 復發或進展型的病程。EAE 已用作為開發 MS 治療劑及研究 MS 專一性疾病過程的適合動物模式。參見例如 Gold 等人，*Brain* 129：1953-1971（2006）；亦參見 Steinman 等人，*Ann. Neurol.* 60：12-21（2006）。

[0279] 進一步於 EAE 治療模式中檢測封鎖 MCAM 對於疾病進展的效果，其中 TH17 極化於體內發生（見實例 6）。如上文之材料與方法中所述，小鼠經 PLP 139-151 胜肽免疫化。經免疫化小鼠依臨床分數及發作日隨機分組。在疾病發作的第二天（EAE 症狀於免疫化後的 12 至 14 天出現）及之後的每一天，小鼠經腹腔處理（每組 N = 15）抗 MCAM 抗體（抗體株 15）或同型對照組（Bioxcell）（10 mg/kg 體重）。以盲性方式每日監測小鼠並計分（圖 8A），且每 2-3 日取得體重數據（圖 8B）。雖然封鎖 MCAM 似乎不影響持續中的疾病急性期嚴重性或期間，但在經抗 MCAM 抗體（抗體株 15）處理的小鼠中復發遲緩且明顯較不嚴重。這些結果與 MCAM 對於存在發炎性病程的期間的免疫細胞浸潤並非關鍵、但

可能涉及後續募集經歷抗原先鋒 T 細胞以啓動新的發炎性位置的概念一致。

實例 8.新的抗 MCAM 單株抗體之結構域結合分析

[0280] 使用下列實驗操作程序：ForteBio 結構域對映（Domain Mapping）實驗操作程序。ForteBio 抗人 IgG Fc 生物感測器係用以固定化各種包括全長小鼠 MCAMhFc 蛋白質的小鼠 MCAMhFc 結構域於生物感測器表面上。這些感測器浸入抗體株 15 或 17 的 MCAM 專一性抗體，以偵測與這些結構域或全長蛋白質的結合。在將這些樣品填注至黑色 96 孔孔盤中後，將 Octet Red 程式設定如下：基線#1 爲 60 秒；填注不同結構域爲 180 秒；基線#2 爲 60 秒；抗體結合至結構域爲 180 秒；以及抗體自結構域解離爲 240 秒。

所使用之試劑及供應品：

- 1.小鼠 MCAMhFc，最終濃度在 5 ug/ml
- 2.抗體株 15 或 17，濃度 5 ug/ml
- 3.ForteBio 抗人 IgG Fc Capture（AHC）生物感測器供動力學實驗，目錄# 18-5060
- 4.96 孔盤，來自 Greiner Bio-one，目錄# 655209
- 5.ForteBio Octet Red 機器
- 6.新鮮組織培養培養基，DMEM 帶有 20% FCS，用作爲稀釋緩衝劑

[0281] 圖 10A 闡明抗體株 15 專一性結合至 MCAM

Fc 結構域 1 及 2、但不結合至單一 Fc 結構域 1。圖 10B 闡明抗體株 17 專一性結合至 MCAM Fc 結構域 1 及 2、或結合至單一 Fc 結構域 1。針對圖 10A-B，抗體株 15 及 17 經測試抗下列蛋白質樣品（均具有人 IgG Fc 標籤）：

鼠 MCAM；人 Fc 全長蛋白質；鼠 MCAM 結構域 1（Ig1）；鼠 MCAM 結構域 2（Ig2）；及鼠 MCAM 結構域 1 及 2（Ig1-2A）。

實例 9.MCAM 結構域結合層黏蛋白 A4 ($\alpha 4$) 鏈

[0282] 人層黏蛋白- $\alpha 4$ 與人 MCAM IgG1-2A 的結合親和性藉由 Biacore T200 機器上表面電漿子共振來測量。使用胺偶合，將人 Fc-專一性 F(ab')₂ IgG (Jackson Laboratories) 固定化於 CM5 晶片上。CM5 晶片聚葡萄糖表面的四種流動細胞藉由在 5 μ l/分鐘的流速下 7 分鐘注入新鮮製備 1:1 50 mM NHS:EDC 來活化。將 70 μ l 的 IgG 溶液 (pH 4.5) 注入共 3 分鐘，至密度達到 3 000 RU。接著以 7 分鐘注入 1M 的乙醇胺去活化殘基反應位置來阻斷偶合。於經除氣及過濾、含有 12mg/ml BSA 及 12 mg/ml 的羧基-經甲基化聚葡萄糖鈉鹽之 HBS-P 緩衝劑中的重組人經 Fc 標籤 MCAM IgG1-2A 藉由抗 Fc IgG 捕捉，捕捉量為 1560 RU。於 5 μ l/分鐘的流速下注射 20 分鐘以通過含抗 Fc IgG 表面上之前，重組人經 Fc 標籤 MCAM IgG1-2A 在 4°C 下以 14 000 rpm 離心 5 分鐘。流動細胞 1 在未有 IgG 下離開，以作為對照表面。一流動細胞用於捕

提重組人 IgG1 Fc (R&D systems) 以作為陰性對照。重組人層黏蛋白- α 4 (R&D systems) 或重組人層黏蛋白 411 (Biolamina) 或重組人層黏蛋白 511 (Biolamina) (陰性對照) 稀釋於經除氣及過濾、含有 12mg/ml BSA 及 12 mg/ml 的羧基-經甲基化聚葡萄糖鈉鹽之 HBS-P 緩衝劑中，至濃度跨度 5 - 175nM，並且以 10 μ l/分鐘的流速下注射 (1 分鐘結合、3 分鐘解離) 經過 MCAM IgG1-2A 表面上及對照表面上。緩衝劑注射液作為陰性對照。數據評估：扣除來自緩衝劑注射液及對照組表面的數據，以移除人為誤差。使用 Biaevaluation 軟體或 Scrubber，數據全面擬合至 1 : 1 交互作用模型。

[0283] 層黏蛋白 α -4 鏈經發現係專一性結合至 MCAM Fc 結構域 1 及 2、但不結合至單一 Fc 結構域 1 (數據未顯示)。陰性對照組包括：未結合至任何結構域的層黏蛋白 511，以及未結合至 hIgG1-Fc 的層黏蛋白 411。重組人層黏蛋白- α 4 (R&D systems) 結合至人經 Fc 標籤 MCAM IgG1-2A (數據未顯示) 親和性為 60 nM，但不結合至重組人 IgG1 Fc (R&D systems) (數據未顯示)。藉由穩定態動力學測量 (數據未顯示)，重組人層黏蛋白 411 (Biolamina) 結合至人經 Fc 標籤 MCAM IgG1-2A 親和性為 66 nM，但不結合至重組人 IgG1 Fc (R&D systems) (數據未顯示)。陰性對照組重組人層黏蛋白 511 (Biolamina) 不會結合至人經 Fc 標籤 MCAM IgG1-2A (數據未顯示)。

實例 10.產生新的抗 MCAM 單株抗體。

[0284] 如上文材料與方法中所述，產生直接抗人 MCAM 蛋白質的小鼠及大鼠單株抗體。介於單株抗體及人 MCAM 之間的專一性結合藉由評估單株抗體結合至經轉染人 MCAM 的細胞之能力來證實。為此，將未經轉染細胞以羧基螢光黃琥珀醯亞胺基酯（CFSE）標定並與未經標定之經人 MCAM 轉染細胞混合。未經轉染細胞因此可辨別。

[0285] 使用這些技術，將 823 株獨立小鼠融合株分離，且顯示表現能夠結合至人 MCAM 的抗體。額外地，將 152 株獨立大鼠融合株分離，且顯示表現能夠結合至人 MCAM 的抗體。

[0286] 接著，使用抗人 MCAM 單株抗體以測試彼等阻斷人 MCAM 結合至其配體的能力。人 MCAM-Fc 蛋白質（5 $\mu\text{g/mL}$ ）於 PBS 中以同型對照組抗體或 10 $\mu\text{g/mL}$ 的測試單株抗體預溫育 30 分鐘。將該混合物加至健康脊髓組織切片，且後續如上文之材料與方法中所述藉由螢光顯微鏡檢查術特徵分析。又，親代 CHO 細胞（CHOK1）或經人 MCAM 基因轉染的 CHO 細胞於 37°C 下以 CHO 培養基（DMEM）、重組層黏蛋白 411（10 $\mu\text{g/ml}$ ）、或重組層黏蛋白 511（即層黏蛋白 10（ $\alpha 5\beta 1\gamma 1$ ））（10 $\mu\text{g/ml}$ ）預溫育 45 分鐘。細胞經洗滌、且藉由流動式細胞測量術以泛層黏蛋白抗體偵測層黏蛋白 411 而非層黏蛋白 511 專一性結合至 MCAM。經人 MCAM 轉染之 CHO 細胞在層黏蛋

白溫育前與抗 MCAM 抗體預溫育 (20 $\mu\text{g/ml}$)，消除人 MCAM 結合至層黏蛋白 411。

[0287] 使用此技術，顯示上述的 823 株獨立的小鼠融合株的 87 株及 152 株獨立的大鼠融合株的 26 株表現能夠阻斷人 MCAM 蛋白質及其配體層黏蛋白的 α -4 鏈之交互作用之抗體。

實例 11.進一步特徵分析新的抗 MCAM 單株抗體。

[0288] 將上文中實例 10 中所述之能夠 (i) 結合至人 MCAM；以及 (ii) 阻斷 MCAM 及層黏蛋白 α -4 鏈之間的交互作用的 87 株獨立小鼠融合株及 26 株獨立大鼠融合株進一步特徵分析如下。首先，針對單株抗體阻斷人 MCAM 結合至層黏蛋白 α -4 鏈的能力之 IC50 定量係測定如下。表現人 MCAM 的 CHO 細胞與抗人 MCAM 抗體（於不同濃度下）在攝氏 4 度下溫育 30 分鐘。接著將未結合之抗體洗掉，且將細胞於攝氏 37 度下與 20 $\mu\text{g/ml}$ 的重組人層黏蛋白 411 溫育 45 分鐘。接著將未結合之層黏蛋白洗掉，且結合至細胞表面的層黏蛋白以經螢光標定之抗層黏蛋白抗體偵測。於洗滌後，結合至表面的層黏蛋白量藉由流動式細胞測量術偵測，且依照平均螢光強度計算 IC50。

[0289] 使用上文描述之分析法，六株獨立抗人 MCAM 單株抗體株經鑑定結合至人 MCAM，且具有最大的阻斷表現於細胞表面上之人 MCAM 與其結合配體人層

黏蛋白 411 的交互作用之能力。彼等六株抗 MCAM 單株抗體株在本文中係指 (i) 小鼠抗人 MCAM 單株抗體株 1174.1.3、1414.1.2、1415.1.1、及 1749.1.3；以及 (ii) 大鼠抗人 MCAM 單株抗體株 2120.4.19 及 2107.4.10。這些抗體的重鏈及輕鏈之胺基酸及核酸序列提供於圖 13-24 中。更特定地，在上文之分析法中，單株抗體株 1174.1.3、1414.1.2、1415.1.1、1749.1.3、2120.4.19、及 2107.4.10 的 IC₅₀ 經測定分別為 0.469 ug/ml、0.431 ug/ml、0.307 ug/ml、0.545 ug/ml、0.888 ug/ml、及 0.290 ug/ml。再者，為測定各單株抗體專一性結合親和性所進行的實驗，顯示各可以高親和性結合至人 MCAM 蛋白質（數據未顯示）。同樣地，這些專一性單株抗體各可結合至人 MCAM 且抑制經細胞表現之人 MCAM 與其 α -4 層黏蛋白結合配體的交互作用。相反地，非專一性人 IgG1 抗體及先前描述、稱為 ABX-MA1 的完全人抗 MCAM 抗體（例如參見 Mills 等人，Cancer Res.62：5106（2002）、及美國專利第 6,924,360、7,067,131、及 7,090,844 號）這二個對照抗體均無法阻斷人 MCAM 及其層黏蛋白 411 對應配體之間的交互作用。同樣地，上述六個所鑑定之專一性單株抗體具有下列二項新穎能力：(i) 與活細胞表面上的人 MCAM 以高親和性結合；以及 (ii) 阻斷表現人 MCAM 之細胞與包含 α -4 層黏蛋白多肽鏈的層黏蛋白蛋白質之交互作用。

實例 12.針對新的抗 MCAM 單株抗體之結構域結合分析。

[0290] 利用描述於上文實例 8 中的技術，以測定單株抗體 1174.1.3、1414.1.2、1415.1.1、1749.1.3、2120.4.19、及 2107.4.10 所辨認及結合之人 MCAM 蛋白質上的抗原決定區位置。這些分析的結果如下。

[0291] 單株抗體株 1174.1.3、1414.1.2、1415.1.1、及 1749.1.3 均顯示結合至見於人 MCAM 蛋白質結構域 3 的抗原決定區，其特別由人 MCAM 蛋白質胺基酸 244-321 (SEQ ID NO: 24) 所界定。這些單株抗體無法結合至人 MCAM 結構域 1 (即胺基酸 19-129, SEQ ID NO: 22)、結構域 2 (即胺基酸 139-242, SEQ ID NO: 23)、或結構域 1 及 2 之組合 (即胺基酸 19-242)。因此，單株抗體株 1174.1.3、1414.1.2、1415.1.1、及 1749.1.3 界定了位於人 MCAM 蛋白質的結構域 3 中之新穎抗原決定區。

[0292] 單株抗體株 2120.4.19 及 2107.4.10 各顯示結合至人 MCAM 結構域 1 (即胺基酸 19-129, SEQ ID NO: 22) 及結構域 2 (即胺基酸 139-242, SEQ ID NO: 23) 之組合所界定的抗原決定區。這二株單株抗體均無法結合至人 MCAM 結構域 1 本身。因此，單株抗體株 2120.4.19 及 2107.4.10 界定由人 MCAM 蛋白質結構域 1 及 2 兩者存在所決定的新穎抗原決定區。

[0293] 相較於上文，先前描述完全人抗 MCAM 抗體 ABX-MA1 結合至與上述者不同的抗原決定區，即完全僅以人 MCAM 結構域 1 界定及涵蓋之抗原決定區。

[0294] 由這些結果，因為單株抗體株 1174.1.3、1414.1.2、1415.1.1、1749.1.3、2120.4.19、及 2107.4.10 各可 (i) 結合至人 MCAM；及 (ii) 阻斷人 MCAM 及含 α -4 層黏蛋白之蛋白質的交互作用，而 ABX-MA1 抗體係僅可與人 MCAM 結合、但無法阻斷人 MCAM 及含 α -4 層黏蛋白之蛋白質的交互作用，所以這些結果闡明人 MCAM 結構域 2、人 MCAM 結構域 3、及其組合在與 α -4 層黏蛋白鏈的結合交互作用中扮演一角色。有鑒於此，明顯地，結合至人 MCAM 結構域 2、人 MCAM 結構域 3、和/或其組合之抗體可作為能夠阻斷人 MCAM 及 α -4 層黏蛋白之間交互作用、且藉此用於抑制本文所述之由該交互作用造成的各種結果之藥劑。相反地，結合至僅由人 MCAM 結構域 1 所界定之抗原決定區的抗體（例如本文所述之 ABX-MA1 抗體）無法用於阻斷 MCAM / α -4 層黏蛋白交互作用及其各種下游生物結果。

實例 13.產生人化抗 MCAM 抗體。

[0295] 各種人化抗 MCAM 抗體依據下列實驗操作程序產生。首先，變異區的三維分子模型使用 JN Biosciences 取得專利之演算法構築。第二，使用該分子模型，鑑定對形成 CDR 結構重要的、或結合至抗原必要的骨架胺基酸殘基。同時，選定分別具有與 VH 及 VL 胺基酸序列高度同源的源自 cDNA 的人 VH 及 VL 胺基酸序列。最後，CDR 序列連同對於 CDR 結構或抗原結合重要

的骨架胺基酸殘基自 VH 及 VL 移植至對應經選定的人骨架序列。

[0296] 圖 25-27 描繪各種 1749、2107、及 2120 重鏈及輕鏈序列的序列比對。殘基編號係根據 Kabat 編號。依不同版本抗體找到對涉及 CDR 形成及抗原結合的骨架 (FR) 胺基酸殘基的不同突變。舉例而言，1749 抗體的示例性突變繪示於圖 25A (介於 CDR-H2 及 CDR-H3 (A93T) 之間的加框殘基影響 CDR 接觸；A93T 突變合併介於 CDR-H1 及 CDR-H2 (G44R) 之間的加框殘基之突變影響 VH/VL 界面及 CDR 構形) 及圖 25B (介於 CDR-L2 及 CDR-L3 (S63T) 之間的加框殘基之突變影響 CDR2 及抗原接觸)。2107 抗體的示例性突變繪示於圖 26A (CDR-H1 前 (S30T)、CDR-H1 及 CDR-H2 之間 (I37V 及 L48I)、及 CDR-H2 及 CDR-H3 之間 (K71R) 之加框殘基影響 CDR 接觸；且 S30T、I37V、L48I、及 K71R 突變合併緊接於 CDR-H2 後的加框殘基突變 (T68S) 影響抗原/抗體交互作用)；及圖 26B (CDR-L1 及 CDR-L2 之間 (Y36F)、及 CDR-L2 及 CDR-L3 之間的加框殘基 (V58I) 影響 CDR 接觸；且 Y36F 及 V58I 突變併以 (i) 額外 CDR-L1 及 CDR-L2 之間的加框殘基突變 (Q38L) 影響 CDR 結構；或 (ii) 額外 CDR-L1 前之突變 (T22N) 影響抗體抗原交互作用)。2120 抗體的示例性突變繪示於圖 27A (CDR-H1 內 (S30T)、CDR-H1 及 CDR-H2 之間 (I37V 及 L48I)、及 CDR-H2 和 CDR-H3 之間

(K71R) 的加框殘基影響 CDR 接觸；且 S30T、I37V、L48I、及 K71R 突變合併額外 CDR-H2 後的加框殘基突變 (T68S) 影響 CDR 接觸)；及圖 27B (CDR-L1 及 CDR-L2 之間 (L46V 及 Y49F) 及 CDR-L2 和 CDR-L3 之間 (V58I) 的加框殘基影響 CDR 接觸；CDR-L1 及 CDR-L2 之加框殘基 (L46V 及 Y49F) 影響 CDR 接觸；且 L46V、Y49F、及 V58I 突變合併 CDR-L1 前的額外突變 (T22N) 影響抗體/抗原交互作用)。

[0297] 設計各鏈的數種版本 (標準相對於攻擊素或保守性)。針對含有 N-去醯胺化模體 (motif) (NG) 之抗體，突變至天冬醯胺酸或甘胺酸則被引入標準版本。不同人化 V 區以異種訊息序列合成並經選殖至含有人 CK (VL) 或人 IgG1 (VH) 之表現載體。

[0298] 重鏈和輕鏈質體以 FreeStyle™ MAX 轉染試劑 (Invitrogen) 根據製造商操作程序共轉染至 293F 細胞中。經表現之抗體以蛋白質 A PhyTip 管柱 (Phynexus) 純化，並經由 OD280 定量。

[0299] 根據下列操作程序，於競爭性 ELISA 中比較人化抗體與親代齧齒動物或嵌合抗體的表觀親和性。

[0300] ELISA 盤以重組 hMCAM-His 塗覆，且以酪蛋白緩衝液封填以預防非專一性結合。於存有或未有 3x 增加濃度之未標定競爭物下 (人化抗體、齧齒動物或嵌合)，加入經生物素化齧齒動物或嵌合抗體於次飽和濃度。於洗滌除去未結合抗體後，加入卵白素 HRP，以便偵

測經生物素化抗體。ELISA 以 TMB 基質顯影，並測量 OD450。未標定競爭物的 IC50 以 GraphPad Prism5 軟體測定。

[0301] 表 2 總結人化序列之設計（亦參見圖 25-27 及 30-32）。

表 2

1749	供體骨架	突變
VH1	U96282 IGHV3-7*02	A93T
VH2	U96282 IGHV3-7*02	VH1 + G44R
VL1	X02990 IGKV4-1*01	無
VL2	X02990 IGHKV-1*01	VL1 + S63T
2107	供體骨架	突變
VH1	AF062133 IGHV2-26*01	S30T*, I37V, L48I 及 K71R
VH2	AF062133 IGHV2-26*01	VH1 突變 + T68S
VH3	AF062133 IGHV2-26*01	VH1 突變 + D72N
VH4	AF062133 IGHV2-26*01	VH1 突變 + N32S
VH5	AF062133 IGHV2-26*01	VH1 突變 + N32Q
VH6	AF062133 IGHV2-26*01	VH1 突變 + G33A
VL1	U86803 IGKV1-27*01	Y36F, V58I
VL2	U86803 IGKV1-27*01	VL1 突變 + Q38L
VL3	U86803 IGKV1-27*01	VL1 突變 + T22N
2120	供體骨架	突變
VH1	AF062133 IGHV2-26*01	S30T*, I37V, L48I 及 K71R
VH2	AF062133 IGHV2-26*01	VH1 突變 + T68S
VH3	AF062133 IGHV2-26*01	VH1 突變 + N32S
VH4	AF062133 IGHV2-26*01	VH1 突變 + N32Q
VH5	AF062133 IGHV2-26*01	VH1 突變 + G33A
VL1	X84343 IGKV1-39*01	L46V, Y49F 及 V58I
VL2	X84343 IGKV1-39*01	L46V, Y49F
VL3	X84343 IGKV1-39*01	VL1 + T22N

[0302] 重鏈和輕鏈質體以 FreeStyle™ MAX 轉染試劑

(Invitrogen) 根據製造商操作程序共轉染至 293F 細胞中。經表現之抗體以蛋白質 A PhyTip 管柱 (Phynexus) 純化，並經由 OD280 定量。

[0303] 根據下列操作程序，於競爭性 ELISA 中比較人化抗體與親代齧齒動物或嵌合抗體的表觀親和性：

[0304] ELISA 盤以重組 hMCAM-His 塗覆，且以酪蛋白緩衝液封填以預防非專一性結合。於存有或未有 3x 增加濃度之未標定競爭物下（人化抗體、齧齒動物或嵌合），加入經生物素化齧齒動物或嵌合抗體於次飽和濃度。於洗滌除去未結合抗體後，加入卵白素 HRP，以便偵測經生物素化抗體。ELISA 以 TMB 基質顯影，並測量 OD450。未標定競爭物的 IC50 以 GraphPad Prism5 軟體測定。

[0305] 使用 ForteBio Octet Red 測量親和性。使用抗人 Fc 感測器以捕捉人化抗體，且使用數種 hMCAMHis 分析物濃度以測定親和性（使用 1：1 擬合模型）。

[0306] 抗體效價根據下列操作程序於層黏蛋白/FACS 分析法中測量：於存有或未有不同濃度的人化、齧齒動物、或嵌合抗體下，重組層黏蛋白 411 (Biolaminat) 加至表現 hMCAM 之 CHO 細胞。溫育 30-45 分鐘後，細胞經洗滌，並加入共軛至 AF650 的抗層黏蛋白 (NovusBio)，以偵測結合之層黏蛋白。細胞流過流動式細胞測量儀，以測量層黏蛋白結合訊號。

[0307] 表 3 提供用於轉染的構築體。

表 3

構築體	說明
h1749VH1	標準
h1749VH2	保守
h1749VL1	標準
h1749VL2	保守
h2120_VH1	標準
h2120_VH2	保守
h2120_VH3	標準 +N-S
h2120_VH4	標準 +N-Q
h2120_VH5	標準 +G-A
h2120_VL1	標準
h2120_VL2	激進
h2120_VL3	保守
h2107_VH1	標準
h2107_VH2	保守
h2107_VH3	標準+glyc
h2107_VH4	標準+N-S
h2107_VH5	標準+N-Q
h2107_VH6	標準+G-A
h2107_VL1	標準
h2107_VL2	保守--rec
h2107_VL3	保守

[0308] 表 4 說明特定轉染實驗。

表 4

轉染--第1回	
h1749VH1+h1749VL1	標準 VH 及 VL
h1749VH2+h1749VL2	保守 VH 及 VL
h2120_VH1+h2120_VL3	標準 VH+ 保守 VL
h2120_VH2+h2120_VL3	保守 VH+ 保守 VL
h2120_VH3+h2120_VL3	N-S 脫醯胺 VH+ 保守 VL
h2107_VH1+h2107_VL2	標準 VH+ 保守 VL
h2107_VH2+h2107_VL2	保守 VH+ 保守 VL
h2107_VH3+h2107_VL2	標準 VH/ 回復 N- 醣基 + 保守 VL
h2107_VH4+h2107_VL2	N-S 脫醯胺 突變 VH+ 保守 VL

轉染--第2回	
h1749VH1+h1749VL2	標準 VH 及 保守 VL
h1749VH2+h1749VL1	保守 VH 及 標準 VL
h2120_VH4+h2120_VL3	N-Q 脫醯胺 VH+ 保守 VL
h2120_VH5+h2120_VL3	G-A 脫醯胺 VH+ 保守 VL
h2120_VH1+h2120_VL1	標準 VH+ 標準 VL
h2120_VH1+h2120_VL2	標準 VH+ 激進 VL
h2107_VH1+h2107_VL1	標準 VH 及 標準 VL
h2107_VH1+h2107_VL3	標準 VH 及 其他 VL
h2107_VH5+h2107_VL2	N-Q 脫醯胺 VH+ 保守 VL
h2107_VH6+h2107_VL2	G-A 脫醯胺 VH+ 保守 VL
h2107_VH5+h2107_VL3	N-Q 脫醯胺 VH+其他 VL
h2107_VH6+h2107_VL3	G-A 脫醯胺 VH+其他 VL
h2107_VH5+h2107_VL1	N-Q 脫醯胺 VH+ 標準 VL
h2107_VH6+h2107_VL1	G-A 脫醯胺 VH+ 標準 VL

[0309] 表 5 顯示以 ForteBio 及競爭性 ELISA 測量人化抗體相較於齧齒動物親代的相對親和性力，以及第一回轉染的表現量。圖 28A-C 比較各種 1749、2120、及 2107 抗體對來自第一回轉染的 MCAM 結合至層黏蛋白的阻斷。

表 5

	Forte		ELISA		
	實驗 #1	實驗 #2	實驗 #1	實驗 #2	
轉染--第1回	相對齧齒動物之倍數	相對齧齒動物之倍數	相對齧齒動物之倍數	相對齧齒動物之倍數	表現量
齧齒動物 1749	1.00	1.00	1.00	1.00	
h1749VH1+h1749VL1	2.50	2.41	1.26	1.35	7.2mg/L
h1749VH2+h1749VL2	0.73	1.09	1.28	1.46	7.2mg/L
嵌合1749		0.79	0.81	0.97	
嵌合1749 TM				1.07	
齧齒動物 2120	1.00	1.00	1.00	1.00	
h2120_VH1+h2120_VL3	5.64	6.21	2.23	2.42	22mg/L
h2120_VH2+h2120_VL3	6.57	6.43	1.93	2.62	16mg/L
h2120_VH3+h2120_VL3	16.14		3.47		22mg/L
嵌合2120			0.97	1.72	
齧齒動物 2107	1.00	1.00	1.00	1.00	
h2107_VH1+h2107_VL2	2.37	3.40	1.29	1.32	12mg/L
h2107_VH2+h2107_VL2	2.54	3.58	1.32	1.48	26.7mg/L
h2107_VH3+h2107_VL2	2.54		1.62		14.6mg/L
h2107_VH4+h2107_VL2	5.59		11.72		26.7mg/L
嵌合2107			0.68	1.01	
嵌合2107 TM				0.96	

[0310] 表 6 顯示來自第二回轉染相較齧齒動物親代的由 ForteBio 測量之親和性，競爭性 ELISA、及功能性阻斷數據（層黏蛋白/FACS 分析）以及表現量。

表 6

	Forte	Forte		阻斷		
			ELISA	實驗#1	實驗#2	
轉染--第2回	相對齧齒動物之倍數	相對齧齒動物之倍數	相對齧齒動物之倍數	相對齧齒動物之倍數	相對齧齒動物之倍數	表現量
h1749VH1+h1749VL2	2.5		1.0	1.1	1.2	6.9mg/L
h1749VH2+h1749VL1	1.2		1.0	1.5	1.8	3.2mg/L
h1749VH1+h1749VL1	2.5		1.0	1.4	1.4	7.2mg/L
h1749VH2+h1749VL2	0.7		1.1	1.8	1.7	7.2mg/L
嵌合1749	0.6			1.4	1.4	
齧齒動物1749	1.0		1.0	1.0	1.0	
h2120_VH4+h2120_VL3	17.4		5.0	3.8	5.6	15mg/L
h2120_VH5+h2120_VL3	1.1	1.2	2.4	1.2	1.5	22mg/L
h2120_VH1+h2120_VL1	8.8		3.1	2.0	3.5	17mg/L
h2120_VH1+h2120_VL2	10.8		3.1	4.6	12.6	2mg/L
h2120_VH1+h2120_VL3	5.9	5.8	1.8	1.7	2.8	22mg/L
齧齒動物2120	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
h2107_VH1+h2107_VL1	12.9		2.1	2.3	2.1	25 mg/L
h2107_VH1+h2107_VL3	16.3		2.3	2.6	2.0	22mg/L
h2107_VH5+h2107_VL2	5.9	6.0	1.3	1.6	1.5	19mg/L
h2107_VH6+h2107_VL2	5.2	5.5	3.5	4.8	2.3	3mg/L
h2107_VH5+h2107_VL3	33.2		3.4			19mg/L
h2107_VH6+h2107_VL3	22.1		9.9			3mg/L
h2107_VH5+h2107_VL1	28.2		3.7			18mg/L
h2107_VH6+h2107_VL1	36.8		15.3			3 mg/L
h2107_VH1+h2107_VL2	3.0	2.8	1.4	1.9	1.4	12mg/L
h2107_VH2+h2107_VL2	2.7	2.9	1.3	1.4	1.5	26.7mg/L
齧齒動物2107	1.0	1.0	1.0	1.0		
嵌合2107					1.0	

[0311] 整體上，數據闡明各種 1749 人化抗體相較於齧齒動物（抗體）於效價及親和性具有<2x 的減少。如 ForteBio 所測量，各種 2120 人化抗體於親和性具有>5x 的減少，且如競爭性 ELISA 及層黏蛋白阻斷分析法所測量，多數於表觀親和性及效價具有>2-3x 的減少，例外為 VH5VL3（G-A N-去鹽胺基突變型 VH/保守 VL），其於親和性及效價具有<2x 的減少。許多 2107 人化抗體失去大

量親和性及效價，惟 VH1VL2、VH2VL2、及 VH3VL2 除外（具有標準、保守性輕鏈，且經恢復之 N-糖化作用位置 D72N 重鏈）；這些通常具有<3x 的減少及親和性及效價，同時保留 N-去醯胺作用位置。

[0312] 某些候選抗體經再表現並藉由 ForteBio 及其 IC₅₀ 測試其親和性。結果提供於下面表 7 及圖 29 中。

表 7

	Forte kD	阻斷性 IC50	表現
h2120VH5VL3	1.3	0.7	12.7mg/L
h2107VH2VL2	1.4	0.8	20mg/L
h1749VH2VL1	0.67	0.4	3.3mg/L

實例 14.藉由人化抗 MCAM 抗體封鎖 MCAM 及抑制 EAE 疾病進展的分析

[0313] 根據實例 7 所提供的操作程序，測試本文所述之人化抗體（例如實例 13）對於 EAE 疾病進展的效果。

實例 15.使用人化抗體以分析 TH17 極化後的 MCAM 表現

[0314] 根據實例 6 所提供的操作程序，使用本文所述之人化抗體（例如實例 13）以分析 TH17 極化後的 MCAM 表現。

實例 16.在小鼠中的經 DNFB 誘發之皮膚發炎

[0315] DNFB（2,4-二硝基氟苯，Sigma）以丙酮及橄

欖油稀釋（4/1）。BALB/c 小鼠（6-10 週齡）的腹部剔毛並於第 0 日及第 1 日以 25ul 的 0.5% DNFB 溶液敏化，以作為過敏性接觸性皮膚炎及牛皮癬之模式。動物於第 6 及 7 日時接受腹膜內抗體處理（抗 MCAM 抗體株 15 及同型，10mg/kg）。第 7 日時，將小鼠右耳以 5ul 的 0.2% DNFB、左耳接受媒液（丙酮/橄欖油）的挑激（Nakae 等人，Immunity. 2002 Sep; 17（3）：375-871）。第 8 日時將小鼠安樂死，並用測微器（Mitutoyo, USA）監測耳厚度或腫脹。耳腫脹的計算為 $[(T1+T2+T3+T4)/4 \text{ 左耳}] - [(T1+T2+T3+T4)/4 \text{ 右耳}]$ ，其中 T 代表四個不同耳厚度值。圖 30 顯示該抗體顯著抑制發炎。

實例 17.抑制裸 SCID 小鼠的腫瘤生長

[0316] 5×10^5 個表現人 MCAM 之黑色素瘤細胞（WM2664）皮下注射至雄性重症聯合免疫缺陷小鼠（SCID）裸小鼠。從腫瘤植入後第 4 日開始，每週一次以 1 mg 的全抗體（在合併組，各抗體為 0.5 mg）處理小鼠。所使用之抗體為抗小鼠 MCAM 抗體株 15 或抗人 MCAM 抗體株 2120.4.19 或其組合。以盲性方式，每週 2X 以測徑器測量腫瘤，且腫瘤體積以標準式測得（體積 = $(\text{寬度})^2 \times \text{長度}/2$ ）（圖 31A）。於腫瘤植入後第 40 日，將小鼠安樂死，且將腫瘤完整移出，並稱重（圖 31B）。各抗體均抑制腫瘤生長，且於合併組中抑制作用最為顯著。咸信在含有人的癌細胞之小鼠中合併治療係最

具效率。人的癌細胞表現人 MCAM 及人層黏蛋白，且該小鼠表現小鼠 MCAM 及小鼠層黏蛋白。因為小鼠及人 MCAM/層黏蛋白互相結合，所以對人及小鼠 MCAM 具專一性的抗體協同作用以抑制腫瘤生長。在人體中，當所有 MCAM 及層黏蛋白為人時，人抗 mCAM 抗體株 2120.4.19（或相似抗體）預期會有如同小鼠中的合併治療的類似效用。

序列表

<110> 弗蘭根 肯尼士
貝克 琴尼
伊德諾克 希歐多爾 A.

<120> 抗 MCAM 抗體及相關使用方法

<130> 057450/436599

<150> 61/797,179

<151> 2012-11-30

<150> 61/797,356

<151> 2012-12-05

<150> 61/698,916

<151> 2012-09-10

<160> 155

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 428

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成聚核苷酸

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(426)

<400> 1

atg agg gtc cag att cag ttt ctg ggg ctc ctt ctg ctc tgg aca tca	48
Met Arg Val Gln Ile Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Thr Ser	
1 5 10 15	
gtt gtc cag tgt gat gtc cag atg acc cag tct cca tct tat ctt gct	96
Val Val Gln Cys Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala	
20 25 30	
acg tct cct gga gag agt gtt tcc atc agt tgc aag gca agt aaa aac	144
Thr Ser Pro Gly Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Lys Asn	
35 40 45	
att gac aca tac tta gcc tgg tat cag gag aaa cct ggg aaa acg aat	192
Ile Asp Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn	
50 55 60	
aag ctt ctt atc tac tct ggg tca act ttg caa tct gga act cca tcg	240
Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser	
65 70 75 80	
aga ttc agt ggc agt gga tct ggt aca gat ttc acg ctc acc atc aga	288
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg	
85 90 95	
aac ctg gag tct gaa gat ttt gca gtc tac tac tgt caa cag cat aat	336
Asn Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn	
100 105 110	
gaa tac ccg ctc acg ttc ggt tct ggg acc aag ctg gag atc aaa cgg	384
Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg	
115 120 125	
gct gat gct gca cca act gta tcc atc ttc cca cca tcc tcg	426
Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser	
130 135 140	

ga428

<210> 2<211> 142<212> PRT<213> 人工序列<220><223> 合成構築<400> 2Met Arg Val Gln Ile Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Thr Ser151015Val Val Gln Cys Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala202530Thr Ser Pro Gly Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Lys Asn354045Ile Asp Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn505560Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser65707580Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg859095Asn Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn100105110Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg115120125Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser130135140<210> 3<211> 11<212> PRT<213> 人工序列<220><223> 合成胜肽<400> 3Lys Ala Ser Lys Asn Ile Asp Thr Tyr Leu Ala1510<210> 4<211> 5<212> PRT<213> 人工序列<220><223> 合成胜肽<400> 4Ser Gly Ser Thr Leu15<210> 5<211> 9<212> PRT<213> 人工序列<220><223> 合成胜肽<400> 5Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu Thr15<210> 6<211> 483<212> DNA<213> 人工序列

871881

- 2 -

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(483)

<400> 6
atg gac acc agg ctc tgc ttg gtt ttc ctt gtc ctt ttc ata aaa ggt 48
Met Asp Thr Arg Leu Cys Leu Val Phe Leu Val Leu Phe Ile Lys Gly
1 5 10 15
gtc cag tgt gag gtg cag ctg gtg gag tct ggt gga ggc tta gtg cag 96
Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30
cct gga agg tcc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tca gga ttc act ttc 144
Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
agt aac tat tac atg gcc tgg gtc cgc cag gct cca acg aag ggt ctg 192
Ser Asn Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu
50 55 60
gag tgg gtc gca tcc att agt ttt gag ggt aat aga aat cac tat gga 240
Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Phe Glu Gly Asn Arg Asn His Tyr Gly
65 70 75 80
gac tcc gtg aag ggc cga atc act atc tcc aga gat aat gca aaa agc 288
Asp Ser Val Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95
acc cta tac ctg caa atg acc agt ctg agg cct gag gac acg gcc act 336
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110
tat tat tgt gca aga cat cgg ggg tat agt acg aat ttt tat cac gac 384
Tyr Tyr Cys Ala Arg His Arg Gly Tyr Ser Thr Asn Phe Tyr His Asp
115 120 125
gtt ttg gat gcc tgg ggt caa gga gct tta gtc act gtc tcc tca gct 432
Val Leu Asp Ala Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
130 135 140
gaa aca aca gcc cca tct gtc tat cca ctg gct cct gga act gct ctc 480
Glu Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Leu
145 150 155 160
aaa 483
Lys

<210> 7
<211> 161
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築

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

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Thr
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg His Arg Gly Tyr Ser Thr Asn Phe Tyr His Asp
 115 120 125
 Val Leu Asp Ala Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140
 Glu Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Leu
 145 150 155 160
 Lys

<210> 8
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 8
 Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Tyr Met Ala
 1 5 10

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

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 9
 Ser Ile Ser Phe Glu Gly Asn Arg Asn His Tyr Gly Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

<210> 10
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 10
 His Arg Gly Tyr Ser Thr Asn Phe Tyr His Asp Val Leu Asp Ala Trp
 1 5 10 15
 Gly Gln Gly

<210> 11
 <211> 646
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 11
 Met Gly Leu Pro Arg Leu Val Cys Ala Phe Leu Leu Ala Ala Cys Cys
 1 5 10 15
 Cys Cys Pro Arg Val Ala Gly Val Pro Gly Glu Ala Glu Gln Pro Ala
 20 25 30
 Pro Glu Leu Val Glu Val Glu Val Gly Ser Thr Ala Leu Leu Lys Cys
 35 40 45
 Gly Leu Ser Gln Ser Gln Gly Asn Leu Ser His Val Asp Trp Phe Ser
 50 55 60
 Val His Lys Glu Lys Arg Thr Leu Ile Phe Arg Val Arg Gln Gly Gln
 65 70 75 80
 Gly Gln Ser Glu Pro Gly Glu Tyr Glu Arg Leu Ser Leu Gln Asp
 85 90 95
 Arg Gly Ala Thr Leu Ala Leu Thr Gln Val Thr Pro Gln Asp Glu Arg
 100 105 110
 Ile Phe Leu Cys Gln Gly Lys Arg Pro Arg Ser Gln Glu Tyr Arg Ile
 115 120 125

106年3月31日修正替換頁
第5頁

第102132203號

民國106年3月31日修正

Gln Leu Arg Val Tyr Lys Ala Pro Glu Glu Pro Asn Ile Gln Val Asn
130 135 140
Pro Leu Gly Ile Pro Val Asn Ser Lys Glu Pro Glu Glu Val Ala Thr
145 150 155 160
Cys Val Gly Arg Asn Gly Tyr Pro Ile Pro Gln Val Ile Trp Tyr Lys
165 170 175
Asn Gly Arg Pro Leu Lys Glu Glu Lys Asn Arg Val His Ile Gln Ser
180 185 190
Ser Gln Thr Val Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Thr Leu Gln Ser Ile Leu
195 200 205
Lys Ala Gln Leu Val Lys Glu Asp Lys Asp Ala Gln Phe Tyr Cys Glu
210 215 220
Leu Asn Tyr Arg Leu Pro Ser Gly Asn His Met Lys Glu Ser Arg Glu
225 230 235 240
Val Thr Val Pro Val Phe Tyr Pro Thr Glu Lys Val Trp Leu Glu Val
245 250 255
Glu Pro Val Gly Met Leu Lys Glu Gly Asp Arg Val Glu Ile Arg Cys
260 265 270
Leu Ala Asp Gly Asn Pro Pro Pro His Phe Ser Ile Ser Lys Gln Asn
275 280 285
Pro Ser Thr Arg Glu Ala Glu Glu Thr Thr Asn Asp Asn Gly Val
290 295 300
Leu Val Leu Glu Pro Ala Arg Lys Glu His Ser Gly Arg Tyr Glu Cys
305 310 315 320
Gln Ala Trp Asn Leu Asp Thr Met Ile Ser Leu Leu Ser Glu Pro Gln
325 330 335
Glu Leu Leu Val Asn Tyr Val Ser Asp Val Arg Val Ser Pro Ala Ala
340 345 350
Pro Glu Arg Gln Glu Gly Ser Ser Leu Thr Leu Thr Cys Glu Ala Glu
355 360 365
Ser Ser Gln Asp Leu Glu Phe Gln Trp Leu Arg Glu Glu Thr Asp Gln
370 375 380
Val Leu Glu Arg Gly Pro Val Leu Gln Leu His Asp Leu Lys Arg Glu
385 390 395 400
Ala Gly Gly Gly Tyr Arg Cys Val Ala Ser Val Pro Ser Ile Pro Gly
405 410 415
Leu Asn Arg Thr Gln Leu Val Lys Leu Ala Ile Phe Gly Pro Pro Trp
420 425 430
Met Ala Phe Lys Glu Arg Lys Val Trp Val Lys Glu Asn Met Val Leu
435 440 445
Asn Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly His Pro Arg Pro Thr Ile Ser Trp
450 455 460
Asn Val Asn Gly Thr Ala Ser Glu Gln Asp Gln Asp Pro Gln Arg Val
465 470 475 480
Leu Ser Thr Leu Asn Val Leu Val Thr Pro Glu Leu Leu Glu Thr Gly
485 490 495
Val Glu Cys Thr Ala Ser Asn Asp Leu Gly Lys Asn Thr Ser Ile Leu
500 505 510
Phe Leu Glu Leu Val Asn Leu Thr Thr Leu Thr Pro Asp Ser Asn Thr
515 520 525
Thr Thr Gly Leu Ser Thr Ser Thr Ala Ser Pro His Thr Arg Ala Asn
530 535 540
Ser Thr Ser Thr Glu Arg Lys Leu Pro Glu Pro Glu Ser Arg Gly Val
545 550 555 560
Val Ile Val Ala Val Ile Val Cys Ile Leu Val Leu Ala Val Leu Gly
565 570 575
Ala Val Leu Tyr Phe Leu Tyr Lys Lys Gly Lys Leu Pro Cys Arg Arg
580 585 590
Ser Gly Lys Gln Glu Ile Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Thr Glu Leu
595 600 605
Val Val Glu Val Lys Ser Asp Lys Leu Pro Glu Glu Met Gly Leu Leu
610 615 620
Gln Gly Ser Ser Gly Asp Lys Arg Ala Pro Gly Asp Gln Gly Glu Lys
625 630 635 640
Tyr Ile Asp Leu Arg His
645

- <210> 12
- <211> 474
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 合成聚核苷酸

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(474)

<400> 12
atg gaa tca cag acc cag gtc ctc atg tcc ctg ctg ctc tgg att tct 48
Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Met Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15
ggg acc tgt ggg gac att gtg atg acc cag tct cca tcc tct ctg gct 96
Gly Thr Cys Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala
20 25 30
gtg tca gct ggg gag acg gtc tct ata cac tgc aag tcc agt cag agt 144
Val Ser Ala Gly Glu Thr Val Ser Ile His Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45
ctt tta tac agt gga acc caa aag aac tac ttg gcc tgg ttc cag cag 192
Leu Leu Tyr Ser Gly Thr Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln
50 55 60
aaa cca gga cag tct cct aaa ctg ctg atc ttc tgg gca tct act agg 240
Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg
65 70 75 80
cag tct ggt gtc cct gat cgc ttc ata ggc cgt gga tct ggg aca gac 288
Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ile Gly Arg Gly Ser Gly Thr Asp
85 90 95
ttc act ctg acc atc agc ggt gtg cag gca gaa gat ctg gca att tat 336
Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr
100 105 110
tac tgt caa caa tat tat gat act ctc acg gac acg ttt gga gcg ggg 384
Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Asp Thr Leu Thr Asp Thr Phe Gly Ala Gly
115 120 125
acc aag ctg gaa ctg aaa cgg gct gat gct gca cca act gta tct atc 432
Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile
130 135 140
ttc cca cca tcc acg gaa cag tta gca act gga ggt gcc tca 474
Phe Pro Pro Ser Thr Glu Gln Leu Ala Thr Gly Gly Ala Ser
145 150 155

<210> 13
<211> 158
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築

<400> 13
Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Met Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15
Gly Thr Cys Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala
20 25 30
Val Ser Ala Gly Glu Thr Val Ser Ile His Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45
Leu Leu Tyr Ser Gly Thr Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln
50 55 60
Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg
65 70 75 80
Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ile Gly Arg Gly Ser Gly Thr Asp
85 90 95
Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr
100 105 110
Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Asp Thr Leu Thr Asp Thr Phe Gly Ala Gly
115 120 125
Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile
130 135 140

Phe Pro Pro Ser Thr Glu Gln Leu Ala Thr Gly Gly Ala Ser
145 150 155

<210> 14
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 14
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Gly Thr Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 15
Trp Ala Ser Thr Arg Gln Ser
1 5

<210> 16
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 16
Gln Gln Tyr Tyr Asp Thr Leu Thr Asp Thr
1 5 10

<210> 17
<211> 469
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(468)

<400> 17
atg gac atc agg ctc agc ttg gct ttc ctg gtc ctt ttc ata aaa ggt 48
Met Asp Ile Arg Leu Ser Leu Ala Phe Leu Val Leu Phe Ile Lys Gly
1 5 10 15
gtc cag tgt gag gtg cgg ctg gtg gag tct ggg gga ggc tta gtg cag 96
Val Gln Cys Glu Val Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30
cct gga aag tcc atg aaa ctc tcc tgt gta gcc tcg gga ttc aaa ttc 144
Pro Gly Lys Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Lys Phe
35 40 45
agt aac tat tac atg tcc tgg gtc cgc cag gct cca gcg aag ggt ctg 192
Ser Asn Tyr Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Ala Lys Gly Leu
50 55 60
gag tgg gtc gca tcc att agt gat ggt ggt ggt gac act ttc tgt cga 240

Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Asp Gly Gly Gly Asp Thr Phe Cys Arg
65 70 75 80
gac ttg gtg aag ggc cga ttc act atc tcc aga gat aat gca aaa agt 288
Asp Leu Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95
acc ctt tac ctg caa atg gac agt ctg agg cct gag gac acg gcc act 336
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110
tat tac tgt gca aga cgg gga gca gct atg ggg ggt gtt atg gat gcc 384
Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Ala Ala Met Gly Gly Val Met Asp Ala
115 120 125
tgg ggt caa gga act tca gtc act gtc tcc tca gct gaa aca aca gcc 432
Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Glu Thr Thr Ala
130 135 140
cca tct gtc tat cca ctg gct cct gga act gct ctc a 469
Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Leu
145 150 155

<210> 18
<211> 156
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築

<400> 18
Met Asp Ile Arg Leu Ser Leu Ala Phe Leu Val Leu Phe Ile Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Glu Val Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30
Pro Gly Lys Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Lys Phe
35 40 45
Ser Asn Tyr Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Ala Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Asp Gly Gly Gly Asp Thr Phe Cys Arg
65 70 75 80
Asp Leu Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Ala Ala Met Gly Gly Val Met Asp Ala
115 120 125
Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Glu Thr Thr Ala
130 135 140
Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Leu
145 150 155

<210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 19
Gly Phe Lys Phe Ser Asn Tyr Tyr Met Ser
1 5 10

<210> 20
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 20
 Ser Ile Ser Asp Gly Gly Gly Asp Thr Phe Cys Arg Asp Leu Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 21
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 21
 Arg Gly Ala Ala Met Gly Gly Val Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly
 1 5 10 15

<210> 22
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 22
 Pro Arg Val Ala Gly Val Pro Gly Glu Ala Glu Gln Pro Ala Pro Glu
 1 5 10 15
 Leu Val Glu Val Glu Val Gly Ser Thr Ala Leu Leu Lys Cys Gly Leu
 20 25 30
 Ser Gln Ser Gln Gly Asn Leu Ser His Val Asp Trp Phe Ser Val His
 35 40 45
 Lys Glu Lys Arg Thr Leu Ile Phe Arg Val Arg Gln Gly Gln Gly Gln
 50 55 60
 Ser Glu Pro Gly Glu Tyr Glu Gln Arg Leu Ser Leu Gln Asp Arg Gly
 65 70 75 80
 Ala Thr Leu Ala Leu Thr Gln Val Thr Pro Gln Asp Glu Arg Ile Phe
 85 90 95
 Leu Cys Gln Gly Lys Arg Pro Arg Ser Gln Glu Tyr Arg Ile Gln
 100 105 110

<210> 23
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 23
 Pro Asn Ile Gln Val Asn Pro Leu Gly Ile Pro Val Asn Ser Lys Glu
 1 5 10 15
 Pro Glu Glu Val Ala Thr Cys Val Gly Arg Asn Gly Tyr Pro Ile Pro
 20 25 30
 Gln Val Ile Trp Tyr Lys Asn Gly Arg Pro Leu Lys Glu Glu Lys Asn
 35 40 45
 Arg Val His Ile Gln Ser Ser Gln Thr Val Glu Ser Ser Gly Leu Tyr
 50 55 60
 Thr Leu Gln Ser Ile Leu Lys Ala Gln Leu Val Lys Glu Asp Lys Asp
 65 70 75 80
 Ala Gln Phe Tyr Cys Glu Leu Asn Tyr Arg Leu Pro Ser Gly Asn His
 85 90 95
 Met Lys Glu Ser Arg Glu Val Thr
 100

<210> 24
 <211> 78
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 24
 Pro Val Phe Tyr Pro Thr Glu Lys Val Trp Leu Glu Val Glu Pro Val
 1 5 10 15
 Gly Met Leu Lys Glu Gly Asp Arg Val Glu Ile Arg Cys Leu Ala Asp
 20 25 30

106年3月31日修正替換頁
第10-14頁

第102132203號

民國106年3月31日修正

Gly Asn Pro Pro Pro His Phe Ser Ile Ser Lys Gln Asn Pro Ser Thr
35 40 45
Arg Glu Ala Glu Glu Glu Thr Asn Asp Asn Gly Val Leu Val Leu
50 55 60
Glu Pro Ala Arg Lys Glu His Ser Gly Arg Tyr Glu Cys Gln
65 70 75

<210> 25
<211> 90
<212> PRT
<213> 智人

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

<210> 26
<211> 81
<212> PRT
<213> 智人

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

<210> 27
<211> 1823
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27
Met Ala Leu Ser Ser Ala Trp Arg Ser Val Leu Pro Leu Trp Leu Leu
1 5 10 15
Trp Ser Ala Ala Cys Ser Arg Ala Ala Ser Gly Asp Asp Asn Ala Phe
20 25 30
Pro Phe Asp Ile Glu Gly Ser Ser Ala Val Gly Arg Gln Asp Pro Pro
35 40 45
Glu Thr Ser Glu Pro Arg Val Ala Leu Gly Arg Leu Pro Pro Ala Ala
50 55 60
Glu Lys Cys Asn Ala Gly Phe Phe His Thr Leu Ser Gly Glu Cys Val
65 70 75 80
Pro Cys Asp Cys Asn Gly Asn Ser Asn Glu Cys Leu Asp Gly Ser Gly
85 90 95
Tyr Cys Val His Cys Gln Arg Asn Thr Thr Gly Glu His Cys Glu Lys
100 105 110
Cys Leu Asp Gly Tyr Ile Gly Asp Ser Ile Arg Gly Ala Pro Gln Phe
115 120 125
Cys Gln Pro Cys Pro Cys Pro Leu Pro His Leu Ala Asn Phe Ala Glu
130 135 140
Ser Cys Tyr Arg Lys Asn Gly Ala Val Arg Cys Ile Cys Asn Glu Asn
145 150 155 160
Tyr Ala Gly Pro Asn Cys Glu Arg Cys Ala Pro Gly Tyr Tyr Gly Asn

165 170 175
 Pro Leu Leu Ile Gly Ser Thr Cys Lys Lys Cys Asp Cys Ser Gly Asn
 180 185 190
 Ser Asp Pro Asn Leu Ile Phe Glu Asp Cys Asp Glu Val Thr Gly Gln
 195 200 205
 Cys Arg Asn Cys Leu Arg Asn Thr Thr Gly Phe Lys Cys Glu Arg Cys
 210 215 220
 Ala Pro Gly Tyr Tyr Gly Asp Ala Arg Ile Ala Lys Asn Cys Ala Val
 225 230 235 240
 Cys Asn Cys Gly Gly Gly Pro Cys Asp Ser Val Thr Gly Glu Cys Leu
 245 250 255
 Glu Glu Gly Phe Glu Pro Pro Thr Gly Met Asp Cys Pro Thr Ile Ser
 260 265 270
 Cys Asp Lys Cys Val Trp Asp Leu Thr Asp Asp Leu Arg Leu Ala Ala
 275 280 285
 Leu Ser Ile Glu Glu Gly Lys Ser Gly Val Leu Ser Val Ser Ser Gly
 290 295 300
 Ala Ala Ala His Arg His Val Asn Glu Ile Asn Ala Thr Ile Tyr Leu
 305 310 315 320
 Leu Lys Thr Lys Leu Ser Glu Arg Glu Asn Gln Tyr Ala Leu Arg Lys
 325 330 335
 Ile Gln Ile Asn Asn Ala Glu Asn Thr Met Lys Ser Leu Leu Ser Asp
 340 345 350
 Val Glu Glu Leu Val Glu Lys Glu Asn Gln Ala Ser Arg Lys Gly Gln
 355 360 365
 Leu Val Gln Lys Glu Ser Met Asp Thr Ile Asn His Ala Ser Gln Leu
 370 375 380
 Val Glu Gln Ala His Asp Met Arg Asp Lys Ile Gln Glu Ile Asn Asn
 385 390 395 400
 Lys Met Leu Tyr Tyr Gly Glu Glu His Glu Leu Ser Pro Lys Glu Ile
 405 410 415
 Ser Glu Lys Leu Val Leu Ala Gln Lys Met Leu Glu Glu Ile Arg Ser
 420 425 430
 Arg Gln Pro Phe Phe Thr Gln Arg Glu Leu Val Asp Glu Glu Ala Asp
 435 440 445
 Glu Ala Tyr Glu Leu Leu Ser Gln Ala Glu Ser Trp Gln Arg Leu His
 450 455 460
 Asn Glu Thr Arg Thr Leu Phe Pro Val Val Leu Glu Gln Leu Asp Asp
 465 470 475 480
 Tyr Asn Ala Lys Leu Ser Asp Leu Gln Glu Ala Leu Asp Gln Ala Leu
 485 490 495
 Asn Tyr Val Arg Asp Ala Glu Asp Met Asn Arg Ala Thr Ala Ala Arg
 500 505 510
 Gln Arg Asp His Glu Lys Gln Gln Glu Arg Val Arg Glu Gln Met Glu
 515 520 525
 Val Val Asn Met Ser Leu Ser Thr Ser Ala Asp Ser Leu Thr Thr Pro
 530 535 540
 Arg Leu Thr Leu Ser Glu Leu Asp Asp Ile Ile Lys Asn Ala Ser Gly
 545 550 555 560
 Ile Tyr Ala Glu Ile Asp Gly Ala Lys Ser Glu Leu Gln Val Lys Leu
 565 570 575
 Ser Asn Leu Ser Asn Leu Ser His Asp Leu Val Gln Glu Ala Ile Asp
 580 585 590
 His Ala Gln Asp Leu Gln Gln Glu Ala Asn Glu Leu Ser Arg Lys Leu
 595 600 605
 His Ser Ser Asp Met Asn Gly Leu Val Gln Lys Ala Leu Asp Ala Ser
 610 615 620
 Asn Val Tyr Glu Asn Ile Val Asn Tyr Val Ser Glu Ala Asn Glu Thr
 625 630 635 640
 Ala Glu Phe Ala Leu Asn Thr Thr Asp Arg Ile Tyr Asp Ala Val Ser
 645 650 655
 Gly Ile Asp Thr Gln Ile Ile Tyr His Lys Asp Glu Ser Glu Asn Leu
 660 665 670
 Leu Asn Gln Ala Arg Glu Leu Gln Ala Lys Ala Glu Ser Ser Ser Asp
 675 680 685
 Glu Ala Val Ala Asp Thr Ser Arg Arg Val Gly Gly Ala Leu Ala Arg
 690 695 700
 Lys Ser Ala Leu Lys Thr Arg Leu Ser Asp Ala Val Lys Gln Leu Gln
 705 710 715 720
 Ala Ala Glu Arg Gly Asp Ala Gln Gln Arg Leu Gly Gln Ser Arg Leu
 725 730 735
 Ile Thr Glu Glu Ala Asn Arg Thr Thr Met Glu Val Gln Gln Ala Thr
 740 745 750
 Ala Pro Met Ala Asn Asn Leu Thr Asn Trp Ser Gln Asn Leu Gln His
 755 760 765

Phe Asp Ser Ser Ala Tyr Asn Thr Ala Val Asn Ser Ala Arg Asp Ala
 770 775 780
 Val Arg Asn Leu Thr Glu Val Val Pro Gln Leu Leu Asp Gln Leu Arg
 785 790 795 800
 Thr Val Glu Gln Lys Arg Pro Ala Ser Asn Val Ser Ala Ser Ile Gln
 805 810 815
 Arg Ile Arg Glu Leu Ile Ala Gln Thr Arg Ser Val Ala Ser Lys Ile
 820 825 830
 Gln Val Ser Met Met Phe Asp Gly Gln Ser Ala Val Glu Val His Ser
 835 840 845
 Arg Thr Ser Met Asp Asp Leu Lys Ala Phe Thr Ser Leu Ser Leu Tyr
 850 855 860
 Met Lys Pro Pro Val Lys Arg Pro Glu Leu Thr Glu Thr Ala Asp Gln
 865 870 875 880
 Phe Ile Leu Tyr Leu Gly Ser Lys Asn Ala Lys Lys Glu Tyr Met Gly
 885 890 895
 Leu Ala Ile Lys Asn Asp Asn Leu Val Tyr Val Tyr Asn Leu Gly Thr
 900 905 910
 Lys Asp Val Glu Ile Pro Leu Asp Ser Lys Pro Val Ser Ser Trp Pro
 915 920 925
 Ala Tyr Phe Ser Ile Val Lys Ile Glu Arg Val Gly Lys His Gly Lys
 930 935 940
 Val Phe Leu Thr Val Pro Ser Leu Ser Ser Thr Ala Glu Glu Lys Phe
 945 950 955 960
 Ile Lys Lys Gly Glu Phe Ser Gly Asp Asp Ser Leu Leu Asp Leu Asp
 965 970 975
 Pro Glu Asp Thr Val Phe Tyr Val Gly Gly Val Pro Ser Asn Phe Lys
 980 985 990
 Leu Pro Thr Ser Leu Asn Leu Pro Gly Phe Val Gly Cys Leu Glu Leu
 995 1000 1005
 Ala Thr Leu Asn Asn Asp Val Ile Ser Leu Tyr Asn Phe Lys His Ile
 1010 1015 1020
 Tyr Asn Met Asp Pro Ser Thr Ser Val Pro Cys Ala Arg Asp Lys Leu
 1025 1030 1035 1040
 Ala Phe Thr Gln Ser Arg Ala Ala Ser Tyr Phe Phe Asp Gly Ser Gly
 1045 1050 1055
 Tyr Ala Val Val Arg Asp Ile Thr Arg Arg Gly Lys Phe Gly Gln Val
 1060 1065 1070
 Thr Arg Phe Asp Ile Glu Val Arg Thr Pro Ala Asp Asn Gly Leu Ile
 1075 1080 1085
 Leu Leu Met Val Asn Gly Ser Met Phe Phe Arg Leu Glu Met Arg Asn
 1090 1095 1100
 Gly Tyr Leu His Val Phe Tyr Asp Phe Gly Phe Ser Gly Gly Pro Val
 1105 1110 1115 1120
 His Leu Glu Asp Thr Leu Lys Lys Ala Gln Ile Asn Asp Ala Lys Tyr
 1125 1130 1135
 His Glu Ile Ser Ile Ile Tyr His Asn Asp Lys Lys Met Ile Leu Val
 1140 1145 1150
 Val Asp Arg Arg His Val Lys Ser Met Asp Asn Glu Lys Met Lys Ile
 1155 1160 1165
 Pro Phe Thr Asp Ile Tyr Ile Gly Gly Ala Pro Pro Glu Ile Leu Gln
 1170 1175 1180
 Ser Arg Ala Leu Arg Ala His Leu Pro Leu Asp Ile Asn Phe Arg Gly
 1185 1190 1195 1200
 Cys Met Lys Gly Phe Gln Phe Gln Lys Lys Asp Phe Asn Leu Leu Glu
 1205 1210 1215
 Gln Thr Glu Thr Leu Gly Val Gly Tyr Gly Cys Pro Glu Asp Ser Leu
 1220 1225 1230
 Ile Ser Arg Arg Ala Tyr Phe Asn Gly Gln Ser Phe Ile Ala Ser Ile
 1235 1240 1245
 Gln Lys Ile Ser Phe Phe Asp Gly Phe Glu Gly Gly Phe Asn Phe Arg
 1250 1255 1260
 Thr Leu Gln Pro Asn Gly Leu Leu Phe Tyr Tyr Ala Ser Gly Ser Asp
 1265 1270 1275 1280
 Val Phe Ser Ile Ser Leu Asp Asn Gly Thr Val Ile Met Asp Val Lys
 1285 1290 1295
 Gly Ile Lys Val Gln Ser Val Asp Lys Gln Tyr Asn Asp Gly Leu Ser
 1300 1305 1310
 His Phe Val Ile Ser Ser Val Ser Pro Thr Arg Tyr Glu Leu Ile Val
 1315 1320 1325
 Asp Lys Ser Arg Val Gly Ser Lys Asn Pro Thr Lys Gly Lys Ile Glu
 1330 1335 1340
 Gln Thr Gln Ala Ser Glu Lys Lys Phe Tyr Phe Gly Gly Ser Pro Ile
 1345 1350 1355 1360
 Ser Ala Gln Tyr Ala Asn Phe Thr Gly Cys Ile Ser Asn Ala Tyr Phe

1365 1370 1375
 Thr Arg Val Asp Arg Asp Val Glu Val Glu Asp Phe Gln Arg Tyr Thr
 1380 1385 1390
 Glu Lys Val His Thr Ser Leu Tyr Glu Cys Pro Ile Glu Ser Ser Pro
 1395 1400 1405
 Leu Phe Leu Leu His Lys Lys Gly Lys Asn Leu Ser Lys Pro Lys Ala
 1410 1415 1420
 Ser Gln Asn Lys Lys Gly Gly Lys Ser Lys Asp Ala Pro Ser Trp Asp
 1425 1430 1435 1440
 Pro Val Ala Leu Lys Leu Pro Glu Arg Asn Thr Pro Arg Asn Ser His
 1445 1450 1455
 Cys His Leu Ser Asn Ser Pro Arg Ala Ile Glu His Ala Tyr Gln Tyr
 1460 1465 1470
 Gly Gly Thr Ala Asn Ser Arg Gln Glu Phe Glu His Leu Lys Gly Asp
 1475 1480 1485
 Phe Gly Ala Lys Ser Gln Phe Ser Ile Arg Leu Arg Thr Arg Ser Ser
 1490 1495 1500
 His Gly Met Ile Phe Tyr Val Ser Asp Gln Glu Glu Asn Asp Phe Met
 1505 1510 1515 1520
 Thr Leu Phe Leu Ala His Gly Arg Leu Val Tyr Met Phe Asn Val Gly
 1525 1530 1535
 His Lys Lys Leu Lys Ile Arg Ser Gln Glu Lys Tyr Asn Asp Gly Leu
 1540 1545 1550
 Trp His Asp Val Ile Phe Ile Arg Glu Arg Ser Ser Gly Arg Leu Val
 1555 1560 1565
 Ile Asp Gly Leu Arg Val Leu Glu Glu Ser Leu Pro Thr Glu Ala
 1570 1575 1580
 Thr Trp Lys Ile Lys Gly Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Ala Pro Gly
 1585 1590 1595 1600
 Lys Ala Val Lys Asn Val Gln Ile Asn Ser Ile Tyr Ser Phe Ser Gly
 1605 1610 1615
 Cys Leu Ser Asn Leu Gln Leu Asn Gly Ala Ser Ile Thr Ser Ala Ser
 1620 1625 1630
 Gln Thr Phe Ser Val Thr Pro Cys Phe Glu Gly Pro Met Glu Thr Gly
 1635 1640 1645
 Thr Tyr Phe Ser Thr Glu Gly Gly Tyr Val Val Leu Asp Glu Ser Phe
 1650 1655 1660
 Asn Ile Gly Leu Lys Phe Glu Ile Ala Phe Glu Val Arg Pro Arg Ser
 1665 1670 1675 1680
 Ser Ser Gly Thr Leu Val His Gly His Ser Val Asn Gly Glu Tyr Leu
 1685 1690 1695
 Asn Val His Met Lys Asn Gly Gln Val Ile Val Lys Val Asn Asn Gly
 1700 1705 1710
 Ile Arg Asp Phe Ser Thr Ser Val Thr Pro Lys Gln Ser Leu Cys Asp
 1715 1720 1725
 Gly Arg Trp His Arg Ile Thr Val Ile Arg Asp Ser Asn Val Val Gln
 1730 1735 1740
 Leu Asp Val Asp Ser Glu Val Asn His Val Val Gly Pro Leu Asn Pro
 1745 1750 1755 1760
 Lys Pro Ile Asp His Arg Glu Pro Val Phe Val Gly Gly Val Pro Glu
 1765 1770 1775
 Ser Leu Leu Thr Pro Arg Leu Ala Pro Ser Lys Pro Phe Thr Gly Cys
 1780 1785 1790
 Ile Arg His Phe Val Ile Asp Gly His Pro Val Ser Phe Ser Lys Ala
 1795 1800 1805
 Ala Leu Val Ser Gly Ala Val Ser Ile Asn Ser Cys Pro Ala Ala
 1810 1815 1820

<210> 28
 <211> 1816
 <212> PRT
 <213> 智人

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

Pro Cys Asp Cys Asn Gly Asn Ser Asn Glu Cys Leu Asp Gly Ser Gly
85 90 95
Tyr Cys Val His Cys Gln Arg Asn Thr Thr Gly Glu His Cys Glu Lys
100 105 110
Cys Leu Asp Gly Tyr Ile Gly Asp Ser Ile Arg Gly Ala Pro Gln Phe
115 120 125
Cys Gln Pro Cys Pro Cys Pro Leu Pro His Leu Ala Asn Phe Ala Glu
130 135 140
Ser Cys Tyr Arg Lys Asn Gly Ala Val Arg Cys Ile Cys Asn Glu Asn
145 150 155 160
Tyr Ala Gly Pro Asn Cys Glu Arg Cys Ala Pro Gly Tyr Tyr Gly Asn
165 170 175
Pro Leu Leu Ile Gly Ser Thr Cys Lys Lys Cys Asp Cys Ser Gly Asn
180 185 190
Ser Asp Pro Asn Leu Ile Phe Glu Asp Cys Asp Glu Val Thr Gly Gln
195 200 205
Cys Arg Asn Cys Leu Arg Asn Thr Thr Gly Phe Lys Cys Glu Arg Cys
210 215 220
Ala Pro Gly Tyr Tyr Gly Asp Ala Arg Ile Ala Lys Asn Cys Ala Val
225 230 235 240
Cys Asn Cys Gly Gly Gly Pro Cys Asp Ser Val Thr Gly Glu Cys Leu
245 250 255
Glu Glu Gly Phe Glu Pro Pro Thr Gly Cys Asp Lys Cys Val Trp Asp
260 265 270
Leu Thr Asp Asp Leu Arg Leu Ala Ala Leu Ser Ile Glu Glu Gly Lys
275 280 285
Ser Gly Val Leu Ser Val Ser Ser Gly Ala Ala Ala His Arg His Val
290 295 300
Asn Glu Ile Asn Ala Thr Ile Tyr Leu Leu Lys Thr Lys Leu Ser Glu
305 310 315 320
Arg Glu Asn Gln Tyr Ala Leu Arg Lys Ile Gln Ile Asn Asn Ala Glu
325 330 335
Asn Thr Met Lys Ser Leu Leu Ser Asp Val Glu Glu Leu Val Glu Lys
340 345 350
Glu Asn Gln Ala Ser Arg Lys Gly Gln Leu Val Gln Lys Glu Ser Met
355 360 365
Asp Thr Ile Asn His Ala Ser Gln Leu Val Glu Gln Ala His Asp Met
370 375 380
Arg Asp Lys Ile Gln Glu Ile Asn Asn Lys Met Leu Tyr Tyr Gly Glu
385 390 395 400
Glu His Glu Leu Ser Pro Lys Glu Ile Ser Glu Lys Leu Val Leu Ala
405 410 415
Gln Lys Met Leu Glu Glu Ile Arg Ser Arg Gln Pro Phe Phe Thr Gln
420 425 430
Arg Glu Leu Val Asp Glu Glu Ala Asp Glu Ala Tyr Glu Leu Leu Ser
435 440 445
Gln Ala Glu Ser Trp Gln Arg Leu His Asn Glu Thr Arg Thr Leu Phe
450 455 460
Pro Val Val Leu Glu Gln Leu Asp Asp Tyr Asn Ala Lys Leu Ser Asp
465 470 475 480
Leu Gln Glu Ala Leu Asp Gln Ala Leu Asn Tyr Val Arg Asp Ala Glu
485 490 495 500
Asp Met Asn Arg Ala Thr Ala Ala Arg Gln Arg Asp His Glu Lys Gln
505 510 515
Gln Glu Arg Val Arg Glu Gln Met Glu Val Val Asn Met Ser Leu Ser
520 525
Thr Ser Ala Asp Ser Leu Thr Thr Pro Arg Leu Thr Leu Ser Glu Leu
530 535 540
Asp Asp Ile Ile Lys Asn Ala Ser Gly Ile Tyr Ala Glu Ile Asp Gly
545 550 555 560
Ala Lys Ser Glu Leu Gln Val Lys Leu Ser Asn Leu Ser Asn Leu Ser
565 570 575
His Asp Leu Val Gln Glu Ala Ile Asp His Ala Gln Asp Leu Gln Gln
580 585 590
Glu Ala Asn Glu Leu Ser Arg Lys Leu His Ser Ser Asp Met Asn Gly
595 600 605
Leu Val Gln Lys Ala Leu Asp Ala Ser Asn Val Tyr Glu Asn Ile Val
610 615 620
Asn Tyr Val Ser Glu Ala Asn Glu Thr Ala Glu Phe Ala Leu Asn Thr
625 630 635 640
Thr Asp Arg Ile Tyr Asp Ala Val Ser Gly Ile Asp Thr Gln Ile Ile
645 650 655
Tyr His Lys Asp Glu Ser Glu Asn Leu Leu Asn Gln Ala Arg Glu Leu
660 665 670
Gln Ala Lys Ala Glu Ser Ser Ser Asp Glu Ala Val Ala Asp Thr Ser

Arg	Arg	Val	Gly	Gly	Ala	Leu	Ala	Arg	Lys	Ser	Ala	Leu	Lys	Thr	Arg
690	690					695					700				
Leu	Ser	Asp	Ala	Val	Lys	Gln	Leu	Gln	Ala	Ala	Glu	Arg	Gly	Asp	Ala
705					710					715					720
Gln	Gln	Arg	Leu	Gly	Gln	Ser	Arg	Leu	Ile	Thr	Glu	Glu	Ala	Asn	Arg
				725					730					735	
Thr	Thr	Met	Glu	Val	Gln	Gln	Ala	Thr	Ala	Pro	Met	Ala	Asn	Asn	Leu
			740					745						750	
Thr	Asn	Trp	Ser	Gln	Asn	Leu	Gln	His	Phe	Asp	Ser	Ser	Ala	Tyr	Asn
	755					760						765			
Thr	Ala	Val	Asn	Ser	Ala	Arg	Asp	Ala	Val	Arg	Asn	Leu	Thr	Glu	Val
	770					775						780			
Val	Pro	Gln	Leu	Leu	Asp	Gln	Leu	Arg	Thr	Val	Glu	Gln	Lys	Arg	Pro
785					790					795					800
Ala	Ser	Asn	Val	Ser	Ala	Ser	Ile	Gln	Arg	Ile	Arg	Glu	Leu	Ile	Ala
				805					810					815	
Gln	Thr	Arg	Ser	Val	Ala	Ser	Lys	Ile	Gln	Val	Ser	Met	Met	Phe	Asp
			820					825					830		
Gly	Gln	Ser	Ala	Val	Glu	Val	His	Ser	Arg	Thr	Ser	Met	Asp	Asp	Leu
	835						840					845			
Lys	Ala	Phe	Thr	Ser	Leu	Ser	Leu	Tyr	Met	Lys	Pro	Pro	Val	Lys	Arg
	850					855					860				
Pro	Glu	Leu	Thr	Glu	Thr	Ala	Asp	Gln	Phe	Ile	Leu	Tyr	Leu	Gly	Ser
865					870					875					880
Lys	Asn	Ala	Lys	Lys	Glu	Tyr	Met	Gly	Leu	Ala	Ile	Lys	Asn	Asp	Asn
				885					890					895	
Leu	Val	Tyr	Val	Tyr	Asn	Leu	Gly	Thr	Lys	Asp	Val	Glu	Ile	Pro	Leu
			900					905					910		
Asp	Ser	Lys	Pro	Val	Ser	Ser	Trp	Pro	Ala	Tyr	Phe	Ser	Ile	Val	Lys
	915						920					925			
Ile	Glu	Arg	Val	Gly	Lys	His	Gly	Lys	Val	Phe	Leu	Thr	Val	Pro	Ser
	930					935						940			
Leu	Ser	Ser	Thr	Ala	Glu	Glu	Lys	Phe	Ile	Lys	Lys	Gly	Glu	Phe	Ser
945					950					955					960
Gly	Asp	Asp	Ser	Leu	Leu	Asp	Leu	Asp	Pro	Glu	Asp	Thr	Val	Phe	Tyr
				965					970					975	
Val	Gly	Gly	Val	Pro	Ser	Asn	Phe	Lys	Leu	Pro	Thr	Ser	Leu	Asn	Leu
			980					985					990		
Pro	Gly	Phe	Val	Gly	Cys	Leu	Glu	Leu	Ala	Thr	Leu	Asn	Asn	Asp	Val
	995							1000					1005		
Ile	Ser	Leu	Tyr	Asn	Phe	Lys	His	Ile	Tyr	Asn	Met	Asp	Pro	Ser	Thr
	1010					1015						1020			
Ser	Val	Pro	Cys	Ala	Arg	Asp	Lys	Leu	Ala	Phe	Thr	Gln	Ser	Arg	Ala
1025					1030					1035					1040
Ala	Ser	Tyr	Phe	Phe	Asp	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ala	Val	Val	Arg	Asp	Ile
				1045					1050					1055	
Thr	Arg	Arg	Gly	Lys	Phe	Gly	Gln	Val	Thr	Arg	Phe	Asp	Ile	Glu	Val
			1060					1065					1070		
Arg	Thr	Pro	Ala	Asp	Asn	Gly	Leu	Ile	Leu	Leu	Met	Val	Asn	Gly	Ser
	1075						1080					1085			
Met	Phe	Arg	Leu	Glu	Met	Arg	Asn	Gly	Tyr	Leu	His	Val	Phe	Tyr	
	1090				1095						1100				
Asp	Phe	Gly	Phe	Ser	Gly	Gly	Pro	Val	His	Leu	Glu	Asp	Thr	Leu	Lys
1105					1110					1115					1120
Lys	Ala	Gln	Ile	Asn	Asp	Ala	Lys	Tyr	His	Glu	Ile	Ser	Ile	Ile	Tyr
				1125					1130					1135	
His	Asn	Asp	Lys	Lys	Met	Ile	Leu	Val	Val	Asp	Arg	Arg	His	Val	Lys
			1140					1145					1150		
Ser	Met	Asp	Asn	Glu	Lys	Met	Lys	Ile	Pro	Phe	Thr	Asp	Ile	Tyr	Ile
	1155						1160					1165			
Gly	Gly	Ala	Pro	Pro	Glu	Ile	Leu	Gln	Ser	Arg	Ala	Leu	Arg	Ala	His
	1170					1175					1180				
Leu	Pro	Leu	Asp	Ile	Asn	Phe	Arg	Gly	Cys	Met	Lys	Gly	Phe	Gln	Phe
1185					1190					1195					1200
Gln	Lys	Lys	Asp	Phe	Asn	Leu	Leu	Glu	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Gly	Val
			1205						1210					1215	
Gly	Tyr	Gly	Cys	Pro	Glu	Asp	Ser	Leu	Ile	Ser	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe
			1220					1225					1230		
Asn	Gly	Gln	Ser	Phe	Ile	Ala	Ser	Ile	Gln	Lys	Ile	Ser	Phe	Phe	Asp
	1235						1240					1245			
Gly	Phe	Glu	Gly	Gly	Phe	Asn	Phe	Arg	Thr	Leu	Gln	Pro	Asn	Gly	Leu
	1250					1255					1260				
Leu	Phe	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Gly	Ser	Asp	Val	Phe	Ser	Ile	Ser	Leu	Asp
1265					1270					1275					1280

Asn Gly Thr Val Ile Met Asp Val Lys Gly Ile Lys Val Gln Ser Val
 1285 1290 1295
 Asp Lys Gln Tyr Asn Asp Gly Leu Ser His Phe Val Ile Ser Ser Val
 1300 1305 1310
 Ser Pro Thr Arg Tyr Glu Leu Ile Val Asp Lys Ser Arg Val Gly Ser
 1315 1320 1325
 Lys Asn Pro Thr Lys Gly Lys Ile Glu Gln Thr Gln Ala Ser Glu Lys
 1330 1335 1340
 Lys Phe Tyr Phe Gly Gly Ser Pro Ile Ser Ala Gln Tyr Ala Asn Phe
 1345 1350 1355 1360
 Thr Gly Cys Ile Ser Asn Ala Tyr Phe Thr Arg Val Asp Arg Asp Val
 1365 1370 1375
 Glu Val Glu Asp Phe Gln Arg Tyr Thr Glu Lys Val His Thr Ser Leu
 1380 1385 1390
 Tyr Glu Cys Pro Ile Glu Ser Ser Pro Leu Phe Leu Leu His Lys Lys
 1395 1400 1405
 Gly Lys Asn Leu Ser Lys Pro Lys Ala Ser Gln Asn Lys Lys Gly Gly
 1410 1415 1420
 Lys Ser Lys Asp Ala Pro Ser Trp Asp Pro Val Ala Leu Lys Leu Pro
 1425 1430 1435 1440
 Glu Arg Asn Thr Pro Arg Asn Ser His Cys His Leu Ser Asn Ser Pro
 1445 1450 1455
 Arg Ala Ile Glu His Ala Tyr Gln Tyr Gly Gly Thr Ala Asn Ser Arg
 1460 1465 1470
 Gln Glu Phe Glu His Leu Lys Gly Asp Phe Gly Ala Lys Ser Gln Phe
 1475 1480 1485
 Ser Ile Arg Leu Arg Thr Arg Ser Ser His Gly Met Ile Phe Tyr Val
 1490 1495 1500
 Ser Asp Gln Glu Glu Asn Asp Phe Met Thr Leu Phe Leu Ala His Gly
 1505 1510 1515 1520
 Arg Leu Val Tyr Met Phe Asn Val Gly His Lys Lys Leu Lys Ile Arg
 1525 1530 1535
 Ser Gln Glu Lys Tyr Asn Asp Gly Leu Trp His Asp Val Ile Phe Ile
 1540 1545 1550
 Arg Glu Arg Ser Ser Gly Arg Leu Val Ile Asp Gly Leu Arg Val Leu
 1555 1560 1565
 Glu Glu Ser Leu Pro Pro Thr Glu Ala Thr Trp Lys Ile Lys Gly Pro
 1570 1575 1580
 Ile Tyr Leu Gly Gly Val Ala Pro Gly Lys Ala Val Lys Asn Val Gln
 1585 1590 1595 1600
 Ile Asn Ser Ile Tyr Ser Phe Ser Gly Cys Leu Ser Asn Leu Gln Leu
 1605 1610 1615
 Asn Gly Ala Ser Ile Thr Ser Ala Ser Gln Thr Phe Ser Val Thr Pro
 1620 1625 1630
 Cys Phe Glu Gly Pro Met Glu Thr Gly Thr Tyr Phe Ser Thr Glu Gly
 1635 1640 1645
 Gly Tyr Val Val Leu Asp Glu Ser Phe Asn Ile Gly Leu Lys Phe Glu
 1650 1655 1660
 Ile Ala Phe Glu Val Arg Pro Arg Ser Ser Ser Gly Thr Leu Val His
 1665 1670 1675 1680
 Gly His Ser Val Asn Gly Glu Tyr Leu Asn Val His Met Lys Asn Gly
 1685 1690 1695
 Gln Val Ile Val Lys Val Asn Asn Gly Ile Arg Asp Phe Ser Thr Ser
 1700 1705 1710
 Val Thr Pro Lys Gln Ser Leu Cys Asp Gly Arg Trp His Arg Ile Thr
 1715 1720 1725
 Val Ile Arg Asp Ser Asn Val Val Gln Leu Asp Val Asp Ser Glu Val
 1730 1735 1740
 Asn His Val Val Gly Pro Leu Asn Pro Lys Pro Ile Asp His Arg Glu
 1745 1750 1755 1760
 Pro Val Phe Val Gly Gly Val Pro Glu Ser Leu Leu Thr Pro Arg Leu
 1765 1770 1775
 Ala Pro Ser Lys Pro Phe Thr Gly Cys Ile Arg His Phe Val Ile Asp
 1780 1785 1790
 Gly His Pro Val Ser Phe Ser Lys Ala Ala Leu Val Ser Gly Ala Val
 1795 1800 1805
 Ser Ile Asn Ser Cys Pro Ala Ala
 1810 1815

<210> 29
 <211> 334
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成聚核苷酸

<220>

<223> 抗體株 1174.1.3 - 變異輕鏈

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(333)

<400> 29

gac att gtg ctg aca cag tct cct gct tcc tta gct gta tct ctg ggg 48
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

cag agg gcc acc atc tca tgc agg gcc agc aaa agt gtc agt aca tct 96
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

ggc tat agt tat atg tac tgg tac caa cag aaa cca gga cag cca ccc 144
Gly Tyr Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

aaa ctc ctc atc tat ctt gca tcc aac cta gaa tct ggg gtc cct gcc 192
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

agg ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc acc ctc aac atc cat 240
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

cct gtg gag gag gag gat gct gca acc tat tac tgt caa cac agt agg 288
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95

gag ctt cca ttc acg ttc ggc tgc ggg aca aag ttg gaa ata aaa 333
Glu Leu Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

c

334

<210> 30

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築

<400> 30

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95

Glu Leu Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 31

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 1174.1.3 - CDR-L1

<400> 31
Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met Tyr
1 5 10 15

<210> 32
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 1174.1.3 - CDR-L2

<400> 32
Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 33
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 1174.1.3 - CDR-L3

<400> 33
Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Phe Thr
1 5

<210> 34
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<223> 抗體株 1174.1.3 - 變異重鏈

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(363)

<400> 34
cag att cag ttg gtg cag tct gga cct gag ctg aag aag cct gga gag 48
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

aca gtc aag atc tcc tgc aag gct tct ggg tat acc ttc aca aac tat 96
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

gga atg aac tgg gtg aag cag gct cca gga aag ggt tta aag tgg atg 144
Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

ggc tgg ata aac acc tac act gga gag cca aca tat gct gat gac ttc 192
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

aag gga cgg ttt gcc ttg tct ttg gaa acc tct gcc agc act gcc tat 240
Lys Gly Arg Phe Ala Leu Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

ttg cag atc aac aac ctc aaa aat gag gac atg gct aca tat ttc tgt 288
Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

gca aga tat agg tat aat aaa tac gag agg gct atg gac tac tgg ggt 336
Ala Arg Tyr Arg Tyr Asn Lys Tyr Glu Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

caa gga acc tca gtc acc gtc tcc tca 363
Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築

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

<210> 36
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗体株 1174.1.3 - CDR-H1

<400> 36
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn
1 5 10

<210> 37
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗体株 1174.1.3 - CDR-H2

<400> 37

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 38
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗体株 1174.1.3 - CDR-H3

<400> 38
Tyr Arg Tyr Asn Lys Tyr Glu Arg Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 39
<211> 338
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<223> 抗体株 1414.1.2 - 變異輕鏈

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(336)

<400> 39
gac att gtg atg tca cag tct cca tcc tcc ctg gct gtg tca gca gga 48
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

gag aag gtc act atg agc tgc aaa tcc agt cag agt ctg ctc aac agt 96
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

agc acc cga aag aac ttc ttg gct tgg tac cag cag aaa cca ggg cag 144
Ser Thr Arg Lys Asn Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

tct cct aaa ctg ctg atc tac tgg gca tcc act agg gaa tct ggg gtc 192
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

cct gat cgc ttc aca ggc agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc 240
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

atc agc agt gtg cag gct gaa gac ctg gca gtt tat tac tgc aag caa 288
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

tct tat aat cgg tac acg ttc gga ggg ggg acc aag ctg gaa ata aaa 336
Ser Tyr Asn Arg Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

cg 338

<210> 40
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築

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

<210> 41
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗体株 1414.1.2 - CDR-L1

<400> 41
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Ser Thr Arg Lys Asn Phe Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 42
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗体株 1414.1.2 - CDR-L2

<400> 42
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 43
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗体株 1414.1.2 - CDR-L3

<400> 43
Lys Gln Ser Tyr Asn Arg Tyr Thr
1 5

<210> 44
<211> 351

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<223> 抗體株 1414.1.2 - 變異重鏈

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(351)

<400> 44
gag atc cag ctg cag cag act gga cct gag ctg gtg aag cct ggg gct 48
Glu Ile Gln Leu Gln Gln Thr Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
tca gtg aag ata tcc tgc aag gct tct ggt tat tca ttc act gac tac 96
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
atc atg ctc tgg gtg aag cag agc cat gga aag agc ctt gag tgg att 144
Ile Met Leu Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
gga aat att aat cct tac tct ggt agt agt ggc tac aat ctg aag ttc 192
Gly Asn Ile Asn Pro Tyr Ser Gly Ser Ser Gly Tyr Asn Leu Lys Phe
50 55 60
aag ggc aag gcc aca ttg act gta gac aaa tct tcc agc aca gcc tac 240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
atg cag ctc aac agt ctg aca tct gag gac tct gca gtc tat tac tgt 288
Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
gca aga ggg aag gac ttt gct atg gac tac tgg ggt caa gga acc tca 336
Ala Arg Gly Lys Asp Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
100 105 110
gtc acc gtc tcc tca 351
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 45
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築

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

<210> 46
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 1414.1.2 - CDR-H1

<400> 46
Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Ile Met Leu
1 5 10

<210> 47
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 1414.1.2 - CDR-H2

<400> 47
Asn Ile Asn Pro Tyr Ser Gly Ser Ser Gly Tyr Asn Leu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 48
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 1414.1.2 - CDR-H3

<400> 48
Gly Lys Asp Phe Ala Met Asp
1 5

<210> 49
<211> 322
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<223> 抗體株 1415.1.1 - 變異輕鏈

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(321)

<400> 49
gac att gtg atg act cag tct cca gcc acc cgt tct gtg act cca gga 48
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
gat aga gtc tct ctt tca tgc agg gcc agc cag agt att agc gac tac 96

Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr
20 25 30
tta cac tgg tat caa caa aaa tca cat gag tct cca agg ctt ctc atc 144
Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
aaa tat gct tcc caa tcc atc tct ggg atc ccc tcc agg ttc agt ggc 192
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
agt gga tca ggg tca gat ttc act ctc agt atc aac agt gtg gaa cct 240
Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro
65 70 75 80
gaa gat gtt gga gtg tat tac tgt caa aat ggt cac aac ttt cct cgg 288
Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Asn Phe Pro Arg
85 90 95
acg ttc ggt gga ggc acc aag ctg gaa atc aaa c 322
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 50
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築

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

<210> 51
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗体株 1415.1.1 - CDR-L1

<400> 51
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr Leu His
1 5 10

<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>

<223> 抗體株 1415.1.1 - CDR-L2

<400> 52
Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 1415.1.1 - CDR-L3

<400> 53
Gln Asn Gly His Asn Phe Pro Arg Thr
1 5

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

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<223> 抗體株 1415.1.1 - 變異重鏈

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(366)

<400> 54
cag gtc caa ctg cag cag cct ggg gct gag ctt gtg cag cct ggg gct 48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Gln Pro Gly Ala
1 5 10 15
cca gtg aag ctg tcc tgc aag gct tct ggc tac att ttc acc agc tac 96
Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
tgg atg aac tgg gtg aag cag agg cct gga cga ggc ctc gag tgg att 144
Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
gga agg att gat cct tcc gat agt aaa att cac tac aat caa aag ttc 192
Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Lys Ile His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
aaa gac aag gcc aca ctg act gta gac aga tcc tcc agc aca gcc tac 240
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
atc caa ctc ggc agc ctg aca tct gag gac tct gcg gtc tat tat tgt 288
Ile Gln Leu Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
gca aaa gag ggg ggt tta cga cgg ggg gac tat gct atg gac tac tgg 336
Ala Lys Glu Gly Gly Leu Arg Arg Gly Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110
ggt caa gga acc tca gtc acc gtc tcc tca 366
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 55
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築

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

<210> 56
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<220>
 <223> 抗體株 1415.1.1 - CDR-H1

<400> 56
 Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn
 1 5 10

<210> 57
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<220>
 <223> 抗體株 1415.1.1 - CDR-H2

<400> 57
 Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Lys Ile His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Asp

<210> 58
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<220>
 <223> 抗體株 1415.1.1 - CDR-H3

<400> 58
Glu Gly Gly Leu Arg Arg Gly Asp Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 59
<211> 337
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<223> 抗體株 1749.1.3 - 變異輕鏈

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(336)

<400> 59
gac att gtg atg tca cag tct cca tcc tcc ctg gct gtg tca gca gga 48
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15
gag aag gtc act atg aac tgc aaa tcc agt cgg agt ctg ctc aac agt 96
Glu Lys Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Arg Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
aga atc cga aag aac tac ttg gct tgg tac cag cag aaa cca ggg cag 144
Arg Ile Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
tct cct aaa ctg ctg atc tac tgg gca tcc act agg gaa tct ggg gtc 192
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
cct gat cgc ttc aca ggc agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc 240
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
atc agc agt gtg cag gct gaa gac ctg gca git tat tac tgc aag caa 288
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
tct tat aat ctg ctc acg ttc ggt gct ggg acc aag ctg gag ctg aaa 336
Ser Tyr Asn Leu Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110
c 337

<210> 60
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築

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

<210> 61
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 1749.1.3 - CDR-L1

<400> 61
Lys Ser Ser Arg Ser Leu Leu Asn Ser Arg Ile Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 1749.1.3 - CDR-L2

<400> 62
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 63
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 1749.1.3 - CDR-L3

<400> 63
Lys Gln Ser Tyr Asn Leu Leu Thr
1 5

<210> 64
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<223> 抗體株 1749.1.3 - 變異重鏈

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(360)

<400> 64
gac gtg aag ctg gtg gag tct ggg gga gac tta gtg aag cct gga ggg 48
Asp Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

```

tcc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc act ttc agt agc tat 96
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                20                25                30

atc atg tct tgg gtt cgt cag act ccg gag aag agg ctg gag tgg gtc 144
Ile Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
                35                40                45

gca acc att agt agt ggt ggt agt tcc acc tac tat cca gac agt gtg 192
Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
                50                55                60

aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac acc ctg tac 240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
                65                70                75                80

ctg caa atg agc agt ctg aag tct gag gac aca gcc atg tat tac tgt 288
Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                85                90                95

aca aga gat gat gat tac gac gta aag gta ttt gct tac tgg ggc caa 336
Thr Arg Asp Asp Asp Tyr Asp Val Lys Val Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
                100                105                110

ggg act ctg gtc act gtc tct gca 360
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
                115                120

```

<210> 65
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築

```

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

```

<210> 66
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<220>
 <223> 抗体株 1749.1.3 - CDR-H1

```

<400> 66
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ile Met Ser
1          5          10

```

<210> 67

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗体株 1749.1.3 - CDR-H2

<400> 67
Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 68
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗体株 1749.1.3 - CDR-H3

<400> 68
Asp Asp Asp Tyr Asp Val Lys Val Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 69
<211> 319
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<223> 抗体株 2120.4.19 - 變異輕鏈

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(318)

<400> 69
gat atc cgg atg act cag tct cct tca ctc ctg tct gca tct gtg ggg 48
Asp ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

gac aga gtc act ctc aac tgc aaa gca agt cag aat att tat aac agc 96
Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Asn Ser
20 25 30

tta gcc tgg tat cag caa aag ctt gga gaa ggt ccc aaa gtc ctg att 144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Glu Gly Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

ttt aat gca aac agt ttg caa acg ggc atc cca tca agg ttc agt ggc 192
Phe Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

agt gga tct ggt aca gat ttc aca ctc acc atc agc agc ctg cag cct 240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

gaa gat ttt gcc aca tat ttc tgc cag cag ttt tat agc ggg tac acg 288
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Phe Tyr Ser Gly Tyr Thr
85 90 95

ttt gga gct ggg acc aag ctg gaa ctg aaa c
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

319

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

<220>
<223> 合成構築

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

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

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 2120.4.19 - 變異輕鏈

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

<210> 72
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 2120.4.19 - 變異輕鏈

<400> 72
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

<210> 73
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 2120.4.19 - CDR-L1

<400> 73
Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Asn Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 74
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 2120.4.19 - CDR-L2

<400> 74
Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr
1 5

<210> 75
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 2120.4.19 - CDR-L3

<400> 75
Gln Gln Phe Tyr Ser Gly Tyr Thr
1 5

<210> 76
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<223> 抗體株 2120.4.19 - 變異重鏈

```

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(354)

<400> 76
cag gtg cag ctg aag gag tca gga cct ggt ctg gtg cag ccc tca cag 48
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

acc ctg tct ctc acc tgc act gtc tct gga ttc tca tta acc agc aat 96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
20 25 30

ggt gta agc tgg gtt cgc cag cct cca gga aag ggt ctg gag tgg att 144
Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

gca gca ata tca tct ggt gga acc aca tat tat aat tca gcg ttc aaa 192
Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
50 55 60

tcc cga ctg agc atc agc agg aac acc tcc aag agc caa gtt ctc tta 240
Ser Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asn Thr Ser Lys Ser Gln Val Leu Leu
65 70 75 80

aaa atg aac agt ctg caa act gaa gac aca gcc atg tac ttc tgt gcc 288
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

aga cgg tat ggg tac ggg tgg tac ttt gac ttc tgg ggc cca gga acc 336
Arg Arg Tyr Gly Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Pro Gly Thr
100 105 110

atg gtc aca gtc tcc tca 354
Met Val Thr Val Ser Ser
115

```

```

<210> 77
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<223> 合成構築

```

```

<400> 77
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
20 25 30
Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
50 55 60
Ser Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asn Thr Ser Lys Ser Gln Val Leu Leu
65 70 75 80
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys Ala
85 90 95
Arg Arg Tyr Gly Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Pro Gly Thr
100 105 110
Met Val Thr Val Ser Ser
115

```

```

<210> 78
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<223> 合成胜肽

```

第102132203號

105年9月6日修正替換頁

民國105年9月6日修正

<220>
<223> 抗體株 2120.4.19 - CDR-H1

<400> 78
Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn Gly Val Ser
1 5 10

<210> 79
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 2120.4.19 - CDR-H2

<400> 79
Ala Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys Ser
1 5 10 15

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

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 2120.4.19 - CDR-H3

<400> 80
Arg Tyr Gly Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Phe
1 5 10

<210> 81
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<223> 抗體株 2107.4.10 - 變異輕鏈

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(318)

<400> 81
gac atc cgg gtg act cag tct cct tca ctc ctg tct gca tct gtg gga 48
Asp Ile Arg Val Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
gac aga gtc act ctc aac tgc aaa gga agt cag aat att tat aag agc 96
Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
20 25 30
tta gcc tgg ttt cgg cta aag cgt gga gaa gct ccc aag ctc ctg att 144
Leu Ala Trp Phe Arg Leu Lys Arg Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
tat gat gca aac agt ttg caa acg gcc atc cca tca agg ttc agt gcc 192
Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

agt gga tct ggt aca gat ttc aca ctc acc atc acc agc cta cag cct 240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

gaa gat gtt gcc aca tat ttc tgc cag cag tat tat agc ggt tac acg 288
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
85 90 95

ttt gga gct ggg acc aag ctg gaa ctg aaa 318
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 82
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築

<400> 82
Asp Ile Arg Val Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
20 25 30
Leu Ala Trp Phe Arg Leu Lys Arg Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 83
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<223> 抗體株 2107.4.10 - 變異輕鏈

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(318)

<400> 83
gac atc cag gtg act cag tct cct tca ctc ctg tct gca tct gtg gga 48
Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
gac aga gtc act ctc aac tgc aaa gga agt cag aat.att tat aag agc 96
Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
20 25 30
tta gcc tgg ttt cgg cta aag cgt gga gaa gct ccc aag ctc ctg att 144
Leu Ala Trp Phe Arg Leu Lys Arg Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
tat gat gca aac agt ttg caa acg ggc atc cca tca agg ttc agt ggc 192
Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
agt gga tct ggt aca gat ttc aca ctc acc atc acc agc cta cag cct 240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

gaa gat gtt gcc aca tat ttc tgc cag cag tat tat agc ggt tac acg 288
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
85 90 95

ttt gga gct ggg acc aag ctg gaa ctg aaa 318
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 84
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築

<400> 84
Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
20 25 30
Leu Ala Trp Phe Arg Leu Lys Arg Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 85
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 2107.4.10 - CDR-L1

<400> 85
Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 86
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<223> 抗體株 2107.4.10 - CDR-L2

<400> 86
Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr
1 5

<210> 87
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<220>

<223> 抗體株 2107.4.10 - CDR-L3

<400> 87

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
1 5

<210> 88

<211> 348

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成聚核苷酸

<220>

<223> 抗體株 2107.4.10 - 變異重鏈

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(348)

<400> 88

cag gtg cag ctg aag gag tca gga cct ggt ctg gtg cag tcc tca cag	48
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Ser Ser Gln	
1 5 10 15	
acc ctg tct ctc acc tgc act gtc tct gga ttc tca tta acc agt aat	96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn	
20 25 30	
ggt gta agc tgg gtt cgc cag cct cca gga aag ggt ctg gag tgg att	144
Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile	
35 40 45	
gca gca ata tca agt ggt gga agc aca tat tat aat tca gcg ttc aaa	192
Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys	
50 55 60	
tcc cga ctg agc atc agc agg aac acc tcc aag agc caa gtt ctc tta	240
Ser Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asn Thr Ser Lys Ser Gln Val Leu Leu	
65 70 75 80	
aaa atg aac agt ctg caa act gaa gac aca ggc atg tac ttc tgt gcc	288
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Glu Asp Thr Gly Met Tyr Phe Cys Ala	
85 90 95	
aga cat aga ccg ttc tac ttt gat tac tgg ggc caa gga gtc atg gtc	336
Arg His Arg Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val	
100 105 110	
aca gtc tcc tca	348
Thr Val Ser Ser	
115	

<210> 89

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築

<400> 89

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Ser Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
20 25 30
Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

```

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

```

<210> 90
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<220>
 <223> 抗体株 2107.4.10 - CDR-H1

```

<400> 90
Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn Gly Val Ser
  1           5           10

```

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

<220>
 <223> 合成胜肽

<220>
 <223> 抗体株 2107.4.10 - CDR-H2

```

<400> 91
Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys Ser
  1           5           10           15

```

<210> 92
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<220>
 <223> 抗体株 2107.4.10 - CDR-H3

```

<400> 92
His Arg Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr
  1           5

```

<210> 93
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

```

<400> 93
Asp Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
  1           5           10           15

```

```

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

```

<210> 94
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

```

<400> 94
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
Ile Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35      40      45
Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Pro 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
Thr Arg Asp Asp Asp Tyr Asp Val Lys Val Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
      100      105      110
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
      115      120

```

<210> 95
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

```

<400> 95
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
Ile Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Val
      35      40      45
Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Pro 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
Thr Arg Asp Asp Asp Tyr Asp Val Lys Val Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
      100      105      110
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
      115      120

```

<210> 96
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 96

```

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 Trp Val
 35          40          45
Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys 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 Asp Gly Ala Ile Phe Gly Val Val Ser His Ile Trp Gly Gln
 100          105          110
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115          120

```

<210> 97

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 97

```

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

```

<210> 98

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 98

```

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 Asn Cys Lys Ser Ser Arg Ser Leu Leu Asn Ser
 20          25          30
Arg Ile Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35          40          45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr 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 Lys Gln
 85          90          95
Ser Tyr Asn Leu Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100          105          110

```

<210> 99

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 99

```

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

```

<210> 100

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 100

```

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 Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Ser
          20           25           30
Ser Asp Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
          35           40           45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr 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 Asn Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
          100          105          110
Lys

```

<210> 101

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 101

```

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

```

<210> 102
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 102
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
20 25 30
Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
50 55 60
Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
65 70 75 80
Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg His Arg Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 103
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 103
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
20 25 30
Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
50 55 60
Ser Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
65 70 75 80
Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg His Arg Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 104
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 104
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
20 25 30
Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
50 55 60
Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asn Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
65 70 75 80
Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

1966年3月21日修正替換頁

第102132203號

民國106年3月31日修正

Arg His Arg Pro⁸⁵ Phe Tyr Phe Asp Tyr⁹⁰ Trp Gly Gln Gly Thr⁹⁵ Leu Val
 100
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 105
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

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

<210> 106
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

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

<210> 107
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 107
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
 20 25 30
 Ala Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Ile

Ala Ala 35 Ser Ser Gly Gly 40 Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
 50 Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
 65 Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
 85 Arg His Arg Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 108
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 108
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala
 20 Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
 50 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val
 65 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 Cys Ala Arg Ile Gly Glu Ser Ala Ser Asp Arg Tyr Cys Ser Gly Gly
 100 Ser Cys Phe Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 115 Val Ser Ser
 130

<210> 109
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 109
 Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
 20 Leu Ala Trp Phe Arg Leu Lys Arg Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
 65 Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
 85 Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105

<210> 110
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

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

<210> 111
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 111
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
 20 25 30
 Leu Ala Trp Phe Gln Leu Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 112
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 112
 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 Asn Cys Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
 20 25 30
 Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 113
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 113
 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 Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Thr 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Pro
 85 90 95
 Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 114
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 114
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
 20 25 30
 Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asn Thr Ser Lys Ser Gln Val Leu Leu
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys Ala
 85 90 95
 Arg Arg Tyr Gly Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Pro Gly Thr
 100 105 110
 Met Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 115
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

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

<210> 116
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 116

```

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

<210> 117

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 117

```

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

<210> 118

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 118

```

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

<210> 119
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 119
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
 20 25 30
 Ala Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
 65 70 75 80
 Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Arg Tyr Gly Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 120
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

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

<210> 121
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 121
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Asn Ser
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
 35 40 45
 Phe Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Tyr Ser Gly Tyr Thr
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 122
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

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

<210> 123
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 123
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 Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Asn Ser
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45
Phe Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Tyr Ser Gly Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 124
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 124
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Arg
85 90 95

Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 125
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 125
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10

<210> 126
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 126
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg
20 25 30

<210> 127
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 127
Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 128
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 128
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10

<210> 129
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 129
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 130
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 130

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 131

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 131

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 132

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 132

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 133

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 133

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser
 20 25

<210> 134

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 134

Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Ile Ala
 1 5 10

<210> 135

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 135
 Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr
 1 5 10 15
 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 136
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 136
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 137
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 137
 Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr
 1 5 10 15
 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 138
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 138
 Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asn Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr
 1 5 10 15
 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 139
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 139
 Gly Phe Ser Leu Thr Ser Ser Gly Val Ser
 1 5 10

<210> 140
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 140
 Gly Phe Ser Leu Thr Ser Gln Gly Val Ser
 1 5 10

<210> 141
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 141
 Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn Ala Val Ser
 1 5 10

<210> 142
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 142
 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
 20

<210> 143
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 143
 Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 144
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 144
 Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 145
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽

<400> 145
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 146
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽
 <400> 146
 Trp Phe Gln Leu Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 147
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽
 <400> 147
 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 Asn Cys
 20

<210> 148
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽
 <400> 148
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Phe
 1 5 10 15

<210> 149
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽
 <400> 149
 Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 150
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽
 <400> 150
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 151
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成胜肽
 <400> 151
 Ser Asn Gly Val Ser
 1 5

<210> 152
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 152
Ser Ser Gly Val Ser
1 5

<210> 153
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 153
Arg Tyr Gly Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Phe
1 5 10

<210> 154
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 154
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 155
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 155
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
20 25

申請專利範圍

1. 一種經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含三條輕鏈高變異區（HVR-L1、HVR-L2、及 HVR-L3）及三條重鏈高變異區（HVR-H1、HVR-H2、及 HVR-H3），其中：

HVR-L1 包含 SEQ ID NO：73 之胺基酸序列，HVR-L2 包含 SEQ ID NO：74 之胺基酸序列，HVR-L3 包含 SEQ ID NO：75 之胺基酸序列，HVR-H1 包含 SEQ ID NO：78 或 141 之胺基酸序列，HVR-H2 包含 SEQ ID NO：79 之胺基酸序列，以及 HVR-H3 包含 SEQ ID NO：80 之胺基酸序列。

2. 如申請專利範圍第 1 項之經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其中該抗體包含具有與 SEQ ID NO：119 至少 95%序列相同度之重鏈變異區，及具有與 SEQ ID NO：123 至少 95%序列相同度之輕鏈變異區。

3. 如申請專利範圍第 1 項之經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其中該抗體包含具有與 SEQ ID NO：119 至少 99%序列相同度之重鏈變異區，及具有與 SEQ ID NO：123 的序列之輕鏈變異區。

4. 如申請專利範圍第 1 項之經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其中該抗體包含具有 SEQ ID NO：119 的序列之重鏈變異區，及具有 SEQ ID NO：123 的序列之輕鏈變異區。

5. 如申請專利範圍第 1 項之經分離之抗 MCAM 抗

體、或其抗原結合片段，其中該抗體係嵌合或人化抗體。

6. 如申請專利範圍第 1 至 5 項中任一項之經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其中該抗體係 IgG1 抗體。

7. 如申請專利範圍第 1 至 5 項中任一項之經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段，其係於細菌或 CHO 細胞中所製造。

8. 一種醫藥組成物，其包含如申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段。

9. 一種如申請專利範圍第 1 至 8 項中任一項之經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段用於製造供治療哺乳動物個體的特徵為體內表現 MCAM 之細胞浸潤至發炎部位中之發炎性失調或供治療哺乳動物個體的特徵為表現 MCAM 之細胞浸潤至中樞神經系統（CNS）中之 CNS 發炎失調的藥物之用途。

10. 一種如申請專利範圍第 1 至 9 項中任一項之經分離之抗 MCAM 抗體、或其抗原結合片段用於製造供治療哺乳動物個體的多發性硬化症、牛皮癬、肉狀瘤病(sarcoidosis)、牛皮癬性關節炎、帕金森病、或過敏性接觸性皮膚炎的藥物之用途。

11. 如申請專利範圍第 9 至 10 項中任一項之用途，其中該哺乳動物個體係人。