



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103641915 B

(45)授权公告日 2017.04.12

(21)申请号 201310558011.7

(22)申请日 2007.03.27

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103641915 A

(43)申请公布日 2014.03.19

(30)优先权数据

60/786,569 2006.03.27 US

(62)分案原申请数据

200780015416.9 2007.03.27

(73)专利权人 医学免疫有限公司

地址 英国剑桥郡

专利权人 深思操作有限公司

(72)发明人 E·S·科汉 R·R·明特

P·R·哈里森 M·A·斯利曼

A·D·纳什 L·J·法布里

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 黄希贵

(51)Int.Cl.

C07K 16/28(2006.01)

A61K 39/395(2006.01)

A61P 29/00(2006.01)

A61P 19/02(2006.01)

A61P 11/06(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

A61P 11/14(2006.01)

(56)对比文件

CN 1675245 A,2005.09.28,全文.

WO 03010202 A1,2003.02.06,全文.

US 7108852 B2,2006.09.19,全文.

WO 2004064859 A1,2004.08.05,全文.

CN 1726227 A,2006.01.25,全文.

审查员 赵天

权利要求书2页 说明书50页

序列表95页 附图6页

(54)发明名称

GM-CSF受体结合元件

(57)摘要

本发明公开了粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体(GM-CSFR)的 α 链的结合元件,尤其抗体分子。本发明还公开了所述结合元件在治疗如风湿性关节炎、哮喘、过敏反应、多发性硬化、髓系白血病和动脉硬化的炎性和自体免疫疾病中的应用。

1. 一种分离的人粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子受体 α 链(GM-CSFR α)的结合元件,其中,所述结合元件:

抑制GM-CSF与人GM-CSFR α 的结合;和

在表面等离子共振试验中,以低于5nM的 K_D 结合人GM-CSFR α ;

且其中所述结合元件包含选自以下的VH域和VL域:

VH域SEQ ID NO:2和VL域SEQ ID NO:208;

VH域SEQ ID NO:12和VL域SEQ ID NO:210;

VH域SEQ ID NO:32和VL域SEQ ID NO:214;

VH域SEQ ID NO:42和VL域SEQ ID NO:216;

VH域SEQ ID NO:52和VL域SEQ ID NO:218;

VH域SEQ ID NO:62和VL域SEQ ID NO:220;

VH域SEQ ID NO:72和VL域SEQ ID NO:222;

VH域SEQ ID NO:82和VL域SEQ ID NO:224;

VH域SEQ ID NO:92和VL域SEQ ID NO:226;

VH域SEQ ID NO:102和VL域SEQ ID NO:228;

VH域SEQ ID NO:112和VL域SEQ ID NO:230;

VH域SEQ ID NO:122和VL域SEQ ID NO:232;

VH域SEQ ID NO:132和VL域SEQ ID NO:234;

VH域SEQ ID NO:142和VL域SEQ ID NO:236;

VH域SEQ ID NO:152和VL域SEQ ID NO:238;

VH域SEQ ID NO:162和VL域SEQ ID NO:240;

VH域SEQ ID NO:172和VL域SEQ ID NO:242;

VH域SEQ ID NO:182和VL域SEQ ID NO:244;和

VH域SEQ ID NO:192和VL域SEQ ID NO:246。

2. 一种用于产生权利要求1的结合元件的方法,包括培养包含核酸分子的宿主细胞,该核酸分子包含编码结合元件的核苷酸序列;然后纯化所述结合元件。

3. 一种组合物,包含分离的抗体分子和药学上可接受的赋形剂,其中所述抗体分子包含抗体VH域和抗体VL域,该抗体VH域包含重链互补决定区HCDR1、HCDR2和HCDR3和该抗体VL域包含轻链互补决定区LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述互补决定区的序列为:

HCDR1SEQ ID NO:53;

HCDR2SEQ ID NO:54;

HCDR3SEQ ID NO:55;

LCDR1SEQ ID NO:58;

LCDR2SEQ ID NO:59;和

LCDR3SEQ ID NO:60。

4. 根据权利要求3所述的组合物,其中所述抗体分子是人抗体分子或人源化抗体分子。

5. 根据权利要求3或4所述的组合物,其中所述抗体分子的抗体VH域的氨基酸序列如SEQ ID NO:52所示。

6. 根据权利要求3所述的组合物,其中所述抗体分子的抗体VL域的氨基酸序列如SEQ

ID NO:218所示。

7.根据权利要求4所述的组合物,其中所述抗体分子是IgG4。

8.根据权利要求7所述的组合物,其中所述抗体分子是人IgG4抗体分子,其VH域的氨基酸序列如SEQ ID NO:52所示和VL域的氨基酸序列如SEQ ID NO:218所示。

9.根据权利要求3-8中任一项所述的组合物在制备用于治疗风湿性关节炎、哮喘、多发性硬化、髓系白血病、动脉硬化、慢性阻塞性肺疾病或吸烟诱导的气道炎症的药物中的用途。

10.根据权利要求9所述的用途,其中所述治疗包括与以下的一种或多种药物结合或在以下的一种或多种药物基础上额外施用所述组合物:NSAID、皮质甾醇和缓解疾病的抗风湿药(DMARD)。

11.根据权利要求10所述的用途,其中所述治疗包括与以下的一种或多种药物结合施用所述组合物:cox抑制剂、强的松、阿达木单抗、氨甲蝶呤、来氟米特、依那西普、英利昔单抗、阿那白滞素、利妥昔单抗、阿巴他塞、氯金酸钠、抗疟药、柳氮磺胺吡啶、D-青霉胺、环孢菌素A、双氯芬酸、环磷酰胺和咪唑硫嘌呤。

12.根据权利要求11所述的用途,其中所述治疗包括与氨甲蝶呤结合施用所述组合物。

GM-CSF受体结合元件

[0001] 本申请是申请日为2007年03月27日和发明名称为“GM-CSF受体结合元件”的200780015416.9号发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子受体 α 链(GM-CSFR α)的结合元件、尤其涉及抗-GMCSFR α 抗体分子。本发明还涉及这些结合元件在治疗GMCSFR α 介导的包括风湿性关节炎、慢性阻塞性肺疾病和多发性硬化的炎性、呼吸和自体免疫疾病中的应用。

背景技术

[0003] GM-CSF为I型促炎细胞因子,其增强包括嗜中性粒细胞、嗜酸性细胞、巨噬细胞及其祖细胞的大范围造血细胞类型的存活、增殖和/或分化。GM-CSF受体为造血因子(haematopoietin)受体超家族的成员。它是异二聚体,由 α 和 β 亚基组成。 α 亚基为GM-CSF高度特异性的,而 β 亚基为包括IL3和IL5的其它细胞因子受体所共有。 β 受体亚基的较广泛的组织分布反映了这点。 α 亚基(GM-CSFR α)主要在骨髓细胞和非造血细胞(如嗜中性粒细胞、巨噬细胞、嗜酸性细胞、树突细胞、内皮细胞和呼吸上皮细胞)上表达。全长GM-CSFR α 为400氨基酸的I型膜糖蛋白,其属于I型细胞因子受体家族,并且包括22个氨基酸的信号肽(1-22位置)、298个氨基酸的细胞外域(23-320位置)、321-345位的跨膜域和55个氨基酸的短的细胞内域。信号肽被切除以产生作为378个氨基酸蛋白的GM-CSFR α 的成熟形式。人和鼠的GM-CSFR α 的cDNA克隆是可获得的,并且在蛋白质水平上其受体亚基具有36%一致性。GM-CSFR能够以相对低的亲和力结合单独的 α 亚基($K_d \sim 5\text{nM}$),但完全不与单独的 β 亚基结合。然而, α 和 β 亚基的同时存在产生高亲和性配体-受体复合物($K_d \approx 100\text{pM}$)。通过GM-CSF最初结合GM-CSFR α 链、然后交联较大亚基(共用 β 链)以产生高亲和相互作用而产生GM-CSF信号发生,其磷酸化JAT-STAT途径。在参考文献[1]中论述了GM-CSFR与GMCSF的结合。这种相互作用也能够通过酪氨酸磷酸化和MAP激酶途径的激活而发生信号。

[0004] 从病理学来说,GM-CSF已显示在加重炎性、呼吸和自体免疫疾病方面起作用。因而,对GM-CSF与GM-CSFR α 结合的中和作用成为治疗GM-CSFR介导的疾病和状态的治疗途径。

[0005] Nicola等[2]描述了抗人GM-CSFR α 的鼠抗体,命名为2B7-17-A或“2B7”,据报道其具有相对高的对人GM-CSFR α 的亲合性、并且在多个不同的生物试验中是人GM-CSF生物活性的有效抑制因子。抗体2B7可从Chemicon以MAB1037的名称购得,且MAB1037的产品数据页注明其为GM-CSF生物活性的有效抑制因子。2B7也在W094/09149中公开。

发明内容

[0006] 通过利用天然scFv噬菌体库的选择、无规突变诱变和适当设计的生化和生物分析(参见以下试验部分)的组合,我们已鉴定了结合人GM-CSFR α 、并且抑制人GM-CSF在其受体上的作用的高效抗体分子。此处给出的结果说明与已知抗-GM-CSFR α 抗体2B7相比,我们的抗体结合GM-CSFR α 的不同区或表位,并且令人惊奇的是,在各种生物试验中证明甚至比2B7

更有效。

[0007] 因此,本发明涉及结合人GM-CSFR α 、并且抑制人GM-CSF与GM-CSFR α 的结合的结合元件。本发明的结合元件可能为GM-CSFR的拮抗剂。所述结合元件可能是通过GM-CSFR的GM-CSF信号转导的竞争性可逆抑制剂。

[0008] 本发明的抗体和其它结合元件在结合和中和GM-CSFR α 方面是特别有意义的,因此,如此处包含的实验研究和其它支持技术文献所表明的,其治疗GM-CSFR α 介导的包括炎症和自体免疫疾病的疾病方面是有用的。例如,我们已在基于细胞的试验中证实,本发明的抗体能够抑制由天然GM-CSF结合其受体所诱导的细胞因子(如IL-6和TNF α)的释放。如以下更详细地解释的,通过阻断与GM-CSFR α 的结合抑制GM-CSF活性是一种治疗如风湿性关节炎(RA)、哮喘、吸烟诱导的气道炎症、慢性阻塞性肺疾病(COPD)、过敏反应、多发性硬化(MS)、髓系白血病或动脉硬化的疾病的治疗途径。

[0009] 根据本发明的结合元件通常结合GM-CSFR α 的细胞外域。优选地,本发明的结合元件结合位于成熟人GM-CSFR α (SEQ ID No:206)的226~230位的Tyr-Leu-Asp-Phe-Gln(YLDFQ)(SEQ ID NO:201)中至少一个残基。所述结合元件可以结合人GM-CSFR α 的YLDFQ序列中的至少一个残基,例如其可以结合YLDFQ序列中的一个、两个、三个或四个残基。因此,所述结合元件可以识别该序列中的一个或多个残基,并且任选地,其也可以结合GM-CSFR α 细胞外域中的附加侧翼残基或结构相邻的残基。

[0010] 可以通过任何适当的方法确定结合,例如,可以使用如本发明其它部分所详细描述肽结合扫描,如基于PEPSCAN的酶链免疫试验(ELISA)。在如PEPSCAN系统提供的种类的肽结合扫描中,源自抗原的短重叠肽被系统地针对其与结合元件的结合进行筛选。所述肽可以共价地连接于载体表面,以形成肽阵列。简言之,肽结合扫描(如“PEPSCAN”)包括鉴定(如使用ELISA)结合元件与其结合的一组肽,其中所述肽具有SEQ ID NO:206的片段(如约15个SEQ ID NO:206的连续残基的肽)所相应的氨基酸序列,以及定位(aligining)所述肽以确定结合元件结合的残基的足迹,其中所述足迹包括与重叠肽共用的残基。根据本发明,通过肽结合扫描或PEPSCAN鉴定的足迹可能包括相应于SEQ ID NO:206的226~230位的YLDFQ的至少一个残基。所述足迹可以包括YLDFQ的一个、两个、三个、四个或所有残基。如通过此处描述的肽结合扫描或PEPSCAN方法所确定的,根据本发明的结合元件可以结合包括一个或多个、优选全部相应于SEQ ID NO:206的226~230位的YLDFQ残基的SEQ ID NO:206的肽片段(如15个残基)。因此本发明的结合元件可以结合具有SEQ ID NO:206的15个连续残基的氨基酸序列的肽,其中所述15个残基序列包括SEQ ID NO:206的226~230位的YLDFQ中的至少一个残基、或者至少与YLDFQ部分重叠。在本说明书的其它部分详细描述了用于确定结合的肽结合扫描方法的细节。本领域中公知的、并且可以用于确定抗体结合的残基和/或确认肽结合扫描(如PEPSCAN)结果的其它方法包括定点突变、氢氘交换、质谱、NMR和X射线结晶学。

[0011] 因此,本发明的结合元件优选地中和GM-CSFR α 。中和意味着降低或抑制GM-CSFR α 的生物活性,如通过GM-CSFR α 介导的反应进行测量显示GM-CSF与GM-CSFR α 的结合、或者通过GM-CSFR α 的信号转导的减少或抑制。生物学活性的降低或抑制可以是部分的或者全部的。抗体中和GM-CSFR α 的程度被称作其中和效力。所述效力可以使用一种或多种本领域普通技术人员已知的、和/或如此处所描述或引用的试验进行判断或测量。例如,结合元件可

以在一个或多个以下试验中具有中和活性：

[0012] ●生化配体结合试验

[0013] ●TF-1增殖试验

[0014] ●人粒细胞形态改变试验

[0015] ●猕猴非人灵长类粒细胞形态改变试验

[0016] ●单核细胞TNF α 释放试验

[0017] ●粒细胞存活试验

[0018] ●集落形成试验(GM-CSF介导的血细胞祖细胞体外分化的抑制)

[0019] ●体内(如具有表达人GM-CSFR的转基因骨髓的嵌合小鼠)GM-CSF生物活性的抑制

[0020] ●外周血单核细胞细胞因子释放试验

[0021] 除非另有说明,所述效力通常表示为以pM为单位的IC₅₀值。在功能试验中,IC₅₀为生物反应降低其最大值的50%的浓度。在配体结合研究中,IC₅₀为受体结合降低最大特异结合水平的50%的浓度。通过绘制%最大生物反应(如在增殖试验中以细胞增殖表示,细胞增殖可以通过以cpm计的³H胸腺嘧啶掺入量测量;在形态改变试验中以形态变化表示;在TNF α 释放试验中以TNF α 释放表示;在存活试验中以存活率表示;在集落形成试验中以集落的数目表示;或者在生物活性测试中以具有表达人GM-CSFR的转基因骨髓的嵌合小鼠的脾重量增加或循环单核细胞的减少表示)或作为结合元件浓度的对数函数的%特异性受体结合图,并且使用如Prism(GraphPad)的软件程序将 Σ 函数与产生IC₅₀值的数据匹配,从而可以计算IC₅₀。

[0022] IC₅₀值可以表示多个测量的平均数。因此,例如,可以由三重试验的结果获得IC₅₀值,并且然后可以计算平均IC₅₀值。

[0023] 在TF-1增殖试验中,本发明的结合元件通常具有不到1500pM的IC₅₀。例如,IC₅₀可以<300、<60、<10或<1.5pM,如约1.0pM。通常地,IC₅₀为至少0.5或1.0nM。已知的鼠抗体2B7在该试验中具有约1600pM的IC₅₀。此处使用的TF-1增殖试验使用7pM的人GM-CSF终浓度。因此,TF-1增殖试验中的IC₅₀中和效力代表结合元件抑制由7pM人GM-CSF诱导的TF-1细胞增殖的能力。更详细的内容参见试验方法和材料部分。

[0024] 本发明的结合元件在TF-1增殖试验中具有比-6、-7、-8、-9、-10、-10.5或-11更低的pA₂。例如,pA₂可以为约-10.5或-11。在试验方法和材料的试验部分详细讨论pA₂值的计算和含义。

[0025] 在人粒细胞形态改变试验中,本发明的结合元件通常具有不到100pM的IC₅₀,如不到50pM或不到30、25、20、15或10pM的IC₅₀。通常地,IC₅₀至少为5、6或7pM。作为对照的已知鼠抗体2B7在该试验中具有477pM的IC₅₀测量值的较低效力。此处使用的人粒细胞形态改变试验使用7pM人GM-CSF的终浓度。因此,人粒细胞形态改变试验中的IC₅₀中和效力代表结合元件抑制由7pM人GM-CSF诱导的人粒细胞形态改变的能力。更多的细节参见试验方法和材料部分。

[0026] 在猕猴粒细胞形态改变试验中,本发明的结合元件通常具有不到20pM的IC₅₀,典型地不到10、5或2.5pM的IC₅₀。IC₅₀可以至少为0.5、1或1.5pM。已知的鼠抗体2B7在该试验中测试时具有26pM的IC₅₀。此处使用的猕猴粒细胞形态改变试验具有7pM人GM-CSF终浓度。因此,猕猴粒细胞形态改变试验中的IC₅₀中和效力代表结合元件抑制由7pM人GM-CSF诱导

的猕猴粒细胞形态改变的能力。更详细的内容参见试验方法和材料部分。

[0027] 本发明的结合元件在人和/或猕猴形态改变试验中具有比-6、-7、-8、-9、-10、-10.5或-11更低的 pA_2 。优选地， pA_2 为约-10或-11。

[0028] 在单核细胞TNF α 释放试验中，本发明的结合元件通常具有不到150pM的IC₅₀，典型地不到110pM，如不到100pM。IC₅₀可以至少为30或40pM。此处使用的单核细胞TNF α 释放试验具有1nM人GM-CSF终浓度。因此，单核细胞TNF α 释放试验中的IC₅₀中和效力代表结合元件抑制由1nM人GM-CSF刺激的人单核细胞TNF α 释放的能力。更详细的内容参见试验方法和材料部分。

[0029] 在粒细胞存活试验中，本发明的结合元件通常具有不到1000pM的IC₅₀，典型地不到850pM的IC₅₀。IC₅₀可以小于500、250、150、100、50、30、20或10pM。IC₅₀可以至少为5pM。在该试验中，已知的鼠抗体2B7直到83nM浓度仍为无活性的。此处使用的粒细胞存活试验具有7pM人GM-CSF终浓度。因此，粒细胞存活试验中的IC₅₀中和效力代表结合元件抑制由7pM人GM-CSF诱导的粒细胞存活的能力。更详细的内容参见试验方法和材料部分。

[0030] 在集落形成试验中，本发明的结合元件可能具有不到5、不到2.5、不到1或不到0.3 $\mu\text{g/ml}$ 的IC₅₀。优选地，IC₅₀为0.25 $\mu\text{g/ml}$ 或更低，如不到0.1 $\mu\text{g/ml}$ 。IC₅₀可以至少为0.05 $\mu\text{g/ml}$ 。在该试验中，已知鼠抗体2B7直到10 $\mu\text{g/ml}$ (67nM)仍具有很低的活性(如果有的话)。此处使用的集落形成试验使用10ng/ml人GM-CSF终浓度。因此，集落形成试验中的IC₅₀中和效力代表结合元件抑制由10ng/ml人GM-CSF诱导的集落形成的能力。更详细的内容参见试验方法和材料部分。

[0031] 本发明的结合元件可以显示出剂量依赖性地抑制具有表达人GM-CSFR的转基因骨髓的嵌合鼠用人GM-CSF处理后的脾重量增加和/或抑制GM-CSF诱导的循环单核细胞降低的能力。抑制脾重量增加的IC₅₀可以不到5、不到2.5、不到2、不到1或不到0.75mg/kg。在一些实施方式中IC₅₀可以至少为0.5mg/kg。

[0032] 此外，结合元件对人GM-CSFR α 的结合动力学和亲和性可以通过表面等离子共振(如使用BIAcore)测定。本发明的结合元件通常具有不到5nM、更优选地不到4、3、2或1nM的KD。优选地，KD为不到0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2或0.15nM。

[0033] 除人GM-CSFR α 外，本发明的结合元件通常结合如猕猴GM-CSFR α 的非人灵长类GM-CSFR α 。因为人和鼠GM-CSF受体之间具有低同源性(约36%)，因此，本发明的结合元件一般不与鼠受体结合或发生交叉反应。

[0034] 如以下更详细说明的，通常地，本发明的结合元件包括如完整抗体或抗体片段的抗体分子。优选地，本发明的抗体分子为人抗体分子。

[0035] 本发明的结合元件通常包括抗体VH和VL域。结合元件的VH域和VL域也作为本发明的一部分被提供。互补决定区(“CDR”)和框架区(“FR”)在各个VH和VL域内。VH域包括一组HCDR，且VL域包括一组LCDR。抗体分子典型地包括包含VH CDR1、CDR2和CDR3及框架的抗体VH域。其可以替代地或同时包括含VL CDR1、CDR2和CDR3及框架的抗体VL域。VH或VL域框架包括以下结构的用CDR间隔的四个框架区FR1、FR2、FR3和FR4：

[0036] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

[0037] 根据本发明的抗体VH和VL域、FR和CDR的例子列于形成本公开内容的一部分的附加序列表中。所有此处公开的VH和VL序列、CDR序列、CDR组和HCDR组及LCDR组代表本发明的

多个方面和实施方式。因此,本发明的一方面为根据本发明的结合元件的VH域。“CDR组”包括CDR1、CDR2和CDR3。因此,HCDR组意味着HCDR1、HCDR2和HCDR3,LCDR组意味着LCDR1、LCDR2和LCDR3。除非另有说明,“CDR组”包括HCDR和LCDR。本发明的结合元件典型地为单克隆抗体(mAb)。

[0038] 如试验部分更详细地描述的,我们鉴定了结合GM-CSFR α 的抗体分子的组(panel)。我们也鉴定了VH和VL域的互补决定区(CDR)中对于受体结合和中和效力尤其重要的特定残基。因为CDR主要负责决定结合元件的结合和特异性,所以如本发明其它处详细内容所述,一个或多个具有此处限定的适当残基的CDR可以用于或引入任何适当框架(如抗体VH和/或VL域框架)或非抗体蛋白质支架(scaffold)内。例如,一个或多个CDR或抗体的CDR组可以被接合到框架(如人框架)内以提供抗体分子或不同的抗体分子。例如,抗体分子可以包括此处所公开的CDR和人胚系基因片段序列的框架区。抗体在可被胚系化(germlining)的框架内具有CDR组,其中,改变该框架内一个或多个残基以匹配最相似的人胚系框架内的相应位置处的残基。因此,优选抗体框架区为胚系的和/或人的。

[0039] 按照试验部分阐述的方法,我们进行了对于抗原识别重要的候选抗体残基的研究,然后对在生物试验中显示出比亲本抗体至少高5倍的效力的160个克隆进行了序列分析。结果表明以下位置有助于抗原结合:VL域中的Kabat残基27A、27B、27C、32、51、52、53、90、92和96,以及VH域中的Kabat残基17、34、54、57、95、97、99和100B。在本发明的优选实施方式中,这些Kabat残基中的一个或多个为其序列在附加序列表中公开的编码1、2和4~20的一个或多个抗体克隆在该位置出现的Kabat残基。在各个不同实施方式中,该残基可以与抗体3中该位置出现的残基相同或不同。

[0040] 我们的分析显示在CDR中对受体结合有特别强的影响的4个残基位置:H97、H100B、L90和L92(Kabat编号)。优选地,VH CDR3的H97为S。在所有160个克隆中都观察到了该位置的丝氨酸残基,因此其表现为抗原识别的重要残基。

[0041] 优选地,VH CDR3包括一个或多个以下残基:

[0042] 在Kabat残基H95处的V、N、A或L,最优选V;

[0043] 在Kabat残基H99处的S、F、H、P、T或W,最优选S;

[0044] 在Kabat残基H100B处的A、T、P、S、V或H,最优选A或T。

[0045] 优选地,VH CDR1中的Kabat残基H34为I。优选地VH CDR2包括Kabat残基H54处的E和/或Kabat残基H57处的I。

[0046] 当结合元件包括抗体VH域时,在VH域框架中的Kabat残基H17优选为S。Kabat残基H94优选地为I或其保守置换(如L、V、A或M)。通常H94为I。

[0047] 优选地,VL CDR3包括一个或多个以下残基:

[0048] 在Kabat残基L90处的S、T或M,最优选S或T;

[0049] 在Kabat残基L92处的D、E、Q、S、M或T,最优选D或E;

[0050] 在Kabat残基L96处的A、P、S、T、I、L、M或V,最优选S、P、I或V,尤其是S。

[0051] 在VL CDR3中的Kabat残基L95A优选为S。

[0052] 优选地,VL CDR1包括一个或多个以下残基:

[0053] 在Kabat残基27A处的S;

[0054] 在Kabat残基27B处的N;

[0055] 在Kabat残基27C处的I;

[0056] 在Kabat残基32处的D。

[0057] 优选地,VL CDR2包括一个或多个以下残基:

[0058] 在Kabat残基51处的N;

[0059] 在Kabat残基52处的N;

[0060] 在Kabat残基53处的K。

[0061] 在优选实施方式中,本发明的结合元件包含一个或多个选自VH和VL CDR的CDR,即,序列表所示抗体1、2或4~20中任一个、或亲本抗体3的VH CDR1、2和/或3和/或VL CDR1、2和/或3。在优选实施方式中,本发明的结合元件包含以下抗体分子中任一的VH CDR3:抗体1(SEQ ID N05);抗体2(SEQ ID N015);抗体3(SEQ ID N025);抗体4(SEQ ID N035);抗体5(SEQ ID N045);抗体6(SEQ ID N055);抗体7(SEQ ID N065);抗体8(SEQ ID N075);抗体9(SEQ ID N085);抗体10(SEQ ID N095);抗体11(SEQ ID N0105);抗体12(SEQ ID N0115);抗体13(SEQ ID N0125);抗体14(SEQ ID N0135);抗体15(SEQ ID N0145);抗体16(SEQ ID N0155);抗体17(SEQ ID N0165);抗体18(SEQ ID N0175);抗体19(SEQ ID N0185);抗体20(SEQ ID N0195)。优选地,所述结合元件另外包含SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:173的VH CDR1和/或SEQ ID NO:4的VH CDR2。优选地,包含SEQ ID NO:175的VH CDR3的结合元件包含SEQ ID NO:173的VH CDR1,但可以替代地包含SEQ ID NO:3的VH CDR1。

[0062] 优选地,所述结合元件包括以下抗体之一的一组VH CDR:抗体1(SEQ ID3~5);抗体2(SEQ ID13~15);抗体3(SEQ ID23~25);抗体4(SEQ ID33~35);抗体5(SEQ ID43~45);抗体6(SEQ ID53~55);抗体7(SEQ ID63~65);抗体8(SEQ ID73~75);抗体9(SEQ ID83~85);抗体10(SEQ ID93~95);抗体11(SEQ ID103~105);抗体12(SEQ ID113~115);抗体13(SEQ ID123~125);抗体14(SEQ ID133~135);抗体15(SEQ ID143~145);抗体16(SEQ ID153~155);抗体17(SEQ ID163~165);抗体18(SEQ ID173~175);抗体19(SEQ ID183~185);抗体20(SEQ ID193~95)。任选地,其也可以包括这些抗体之一的一组VL CDR,并且所述VL CDR可以来自与VH CDR相同或不同的抗体。尽管在一些实施方式中,单独的VH或VL域可以被用于结合抗体,但是一般地,VH域与VL域配对以提供抗体抗原结合位点。在本领域中轻链广宿(promiscuity)已被很好确立,因此VH和VL域不必源自如此处所公开的相同的克隆。

[0063] 结合元件可以包含在公开的H和/或L CDR组内具有一个或多个、例如10个或更少、如1、2、3、4或5个取代的抗体1~20任一的一组H和/或L CDR。优选的取代在VL域中的Kabat残基27A、27B、27C、32、51、52、53、90、92和96以及VH域中的Kabat残基34、54、57、95、97、99和100B以外的Kabat残基处。当在这些位置进行取代时,取代优选为在此处表明为该位置的优选残基的残基取代。

[0064] 在优选实施方式中,本发明的结合元件为具有包含人源胚系框架(如来自重链VH1或VH3家族的人胚系框架)中的一组HCDR的VH域的分离的人抗体分子。在优选实施方式中,该分离的人抗体分子具有包含人胚系框架VH1DP5或VH3DP47中的一组HCDR的VH域。因此,VH域框架区可以包括人胚系基因片段VH1DP5或VH3DP47的框架区。VH FR1的氨基酸序列可以为SEQ ID NO:251。VH FR2的氨基酸序列可以为SEQ ID NO:252。VH FR3的氨基酸序列可以为SEQ ID NO:253。VH FR4的氨基酸序列可以为SEQ ID NO:254。

[0065] 通常地,该结合元件也具有包含优选人胚系框架(如来自轻链V λ 1或V λ 6家族的人胚系框架)中的一组LCDR的VL域。在优选实施方式中,该分离的人抗体分子具有包含人胚系框架V λ 1DPL8或V λ 1DPL3或V λ 6_6a中的一组LCDR的VL域。因此,VL域框架可以包含人胚系基因片段V λ 1DPL8、V λ 1DPL3或V λ 6_6a的框架区。VL域FR4可以包括人胚系基因片段JL2的框架区。VL FR1的氨基酸序列可以为SEQ ID NO:255。VL FR2的氨基酸序列可以为SEQ ID NO:256。VL FR3的氨基酸序列可以为SEQ ID NO:257。VL FR4的氨基酸序列可以为SEQ ID NO:258。

[0066] 与胚系化(germlined)抗体相比,非胚系化抗体具有相同的CDR,但具有不同的框架。

[0067] 本发明的结合元件可以与任何此处公开的任一结合元件(如抗体3或抗体1、2或4~20中任一种)竞争结合GM-CSFR α 。因此,结合元件可以与包含抗体1、2或4~20中任一的VH域和VL域的抗体分子竞争结合GM-CSFR α 。结合元件之间的竞争可以在体外方便地分析,例如通过将可以在一种或多种其它未标记结合元件存在时被检测的示踪分子(reporter molecule)标记到一种结合元件上,从而使能够鉴别与相同表位或重叠表位结合的结合元件。

[0068] 可以例如使用ELISA测定竞争,其中如GM-CSFR α 的细胞外域或该细胞外域的肽被固定于板上、并且第一标记的结合元件与一种或多种未标记的结合元件一起被加入到板中。通过标记的结合元件发射的信号降低观察与标记的结合元件竞争的未标记结合元件的存在。类似地,表面等离子共振试验可以被用于测定结合元件之间的竞争。

[0069] 在竞争检测中,可以使用抗原的肽片段,尤其是包括或主要由表位或目标结合区组成的肽。可以使用具有在任一端加上一个或多个氨基酸的表位或靶序列的肽。可以使得根据本发明的结合元件与抗原的结合被具有或包括给定序列的肽抑制。

[0070] 例如,结合肽的结合元件可以通过用所述肽筛选(panning)从噬菌体呈现文库中分离。

[0071] 本发明也提供了上述结合元件在竞争试验中测量抗原水平的应用,也就是说,通过在竞争试验中使用本发明提供的结合元件测量样品中的抗原水平的方法。这可以是不需要对结合的和未结合的抗原进行物理分离的情况。示踪分子与结合元件连接使得结合时发生物理或光学变化,这是一种可能性。示踪分子可以直接或间接产生可检测的、优选可测量的信号。示踪分子的连接可以为直接或间接的、共价(如通过肽键的)或非共价的。通过肽键的连接可以是编码抗体和示踪分子的基因融合进行重组表达的结果。

[0072] 本发明也提供通过在例如生物传感器系统中使用根据本发明的结合元件直接测量抗原水平的方法。

[0073] 本发明提供一种包括引起或使得此处提供的结合元件与GM-CSFR α 结合的方法。这种结合可以在体内发生,例如在施用结合元件或编码结合元件的核酸后,或者其可以在体外发生,例如在ELISA、蛋白质印迹、免疫细胞化学、免疫沉淀、亲和层析或如TF-1试验的基于细胞的试验中。

[0074] 可以测定结合元件与GM-CSFR α 结合的量。定量可能与测试样品中的抗原的量相关,其可能具有诊断或预后的意义。

[0075] 包含根据本发明的任何方面或实施方式的结合元件或抗体分子的试剂盒也作为

本发明的一个方面。在本发明的试剂盒中,结合元件或抗体分子可以被标记以使其在样品中的反应性能能够被测定,如下面进一步所述的。试剂盒的组分通常是无菌的,并置于密封小瓶或其它容器内。可以在诊断分析或抗体分子可以使用的其它方法中使用试剂盒。试剂盒可以含有在某一方法(如根据本发明的方法)中使用该组分的说明书。本发明的试剂盒中可以包括参与该方法或使得该方法能够进行的辅助物质。

[0076] 可以通过任何适当的手段测定样品中抗体的反应性。放射免疫试验(RIA)为一种可能。放射标记的抗原与未标记抗原(测试样品)混合,并且使其结合抗体。结合的抗原与未结合的抗原被物理分离,并且测定与抗体结合的放射抗原的量。测试样品中抗原越多,则越少的放射抗原结合到抗体上。通过使用与示踪分子连接的抗原或类似物,竞争结合试验也可以利用非放射抗原进行。示踪分子可以为具有光谱分离的吸收或发射特征的荧光染料、磷光体或激光染料。适合的荧光染料包括荧光素、罗丹明、藻红蛋白、和德克萨斯红(Texas Red)。适合的显色染料包括二氨基联苯胺。其它示踪物包括大分子胶体颗粒或如有色、磁性或顺磁性的乳胶珠的颗粒物质、以及可以直接或间接产生可以视觉观察、电检测或以其它方式记录的可检测信号的生物或化学活性物质。例如,这些分子可以为催化生色或变色或引起电学性质变化的反应的酶。它们可以是可分子激发的,从而能态之间的电子跃迁导致特征光谱吸收或发射。它们可以包括与生物传感器联合使用的化学体。可以使用生物素/亲和素或生物素/抗生蛋白链菌素和碱性磷酸酶检测系统。

[0077] 由个别的抗体-示踪物偶联物产生的信号可以用于得出样品(正常和测试)中相关抗体结合的可计量的绝对或相对数据。

[0078] 在本发明的另一方面中,本发明提供了包括编码根据本发明的结合元件、VH域和/或VL域的序列的分离的核酸。该核酸可以包括DNA和/或RNA,并且可以全部或部分合成。如此处所述的核苷酸序列所指包括具有特定序列的DNA分子,并且包括具有其中,除非上下文特别要求外,以U代替T的特定序列的RNA分子。在优选的方面中,本发明提供了编码如此处限定的本发明的CDR或CDR组或VH域或VL域或抗体抗原结合位点或抗体分子(如IsCFv或IgG1或IgG4)的核酸。本发明也提供包括至少一种上述多核苷酸的质粒、载体、转录或表达盒形式的构建体。

[0079] 本发明的再一方面为用本发明的核酸转化的或含有本发明的核酸的宿主细胞。该宿主细胞可以为体外的、并且可以为培养中的。该宿主细胞可以为体内的。所述宿主细胞在体内的存在可以使得本发明的结合元件作为“内抗体”(intrabodies)或细胞内抗体进行细胞内表达。内抗体可以被用于基因治疗。

[0080] 本发明的再另一方面提供包括将所述核酸引入宿主细胞的方法。引入可以使用任何可用的技术。对于真核细胞,适合的技术可能包括磷酸钙转染、DEAE-葡聚糖、电穿孔、脂质体介导的转染和使用逆转录酶病毒或其它病毒(如牛痘病毒或对于昆虫细胞的杆状病毒)的转导。在宿主细胞、尤其真核细胞中引入核酸可以使用基于病毒或质粒的系统。质粒系统可以保持为游离基因,或者可以整合到宿主细胞或人工染色体。整合可以是在单个或多个位点随机或靶向整合一个或多个复本。对于细菌细胞,适合的技术可以包括氯化钙转化、电穿孔和使用噬菌体的转染。

[0081] 引入后可以引发或使得核酸进行表达,例如通过在该基因表达的条件下培养宿主细胞。

[0082] 在一个实施方式中,本发明的核酸被整合到宿主细胞的基因组(如染色体)中。可以根据标准技术通过包含促进基因组重组的序列来促进整合。

[0083] 本发明也提供在表达系统中使用上述构建体以表达上述结合元件或多肽的方法。因此,制备本发明的结合元件、VH域和/或VL域的方法为本发明的再一方面。方法可以包括在导致所述结合元件、VH域和/或VL域产生的条件下表达所述核酸、并进行回收。该方法可以包括在产生所述结合元件或抗体域的条件下培养宿主细胞。

[0084] 制备方法可以包括分离和/或纯化产物的步骤。制备方法可以包括将产品配制为包括如药学可接受的赋形剂的至少一种附加组分的组合物。

[0085] 在各种不同的宿主细胞中克隆和表达多肽的系统是公知的。适合的宿主细胞包括细菌、哺乳动物细胞、植物细胞、酵母和杆状病毒系统以及转基因植物和动物。抗体和抗体片段在原核细胞中的表达已在本领域中被很好地建立[3]。通用的优选细菌宿主为大肠杆菌(E.coli)。

[0086] 在培养的真核细胞进行表达也可被本领域普通技术人员用作产生结合元件的可选方案[4、5、6]。本领域中可用于表达异源多肽的哺乳动物细胞系包括中国仓鼠卵巢细胞(CHO)、HeLa细胞、幼地鼠肾细胞、NS0小鼠黑色素瘤细胞、YB2/0大鼠骨髓瘤细胞、人胚肾细胞、人胚视网膜细胞以及许多其它细胞。

[0087] 适合的载体可以经选择或构建为包含适当的调控序列,包括启动子序列、终止子序列、多聚腺苷酸序列、增强子序列、标记基因和其它适当的序列。载体可以为适当的质粒(如噬粒)或病毒(如噬菌体)[7]。例如,Ausubel等[8]详细描述了在例如核酸构建体制备、基因诱变、测序、DNA引入细胞和基因表达、以及蛋白质分析中的许多核酸操作的已知技术和方案。

[0088] 本发明提供了获得一个或多个能够结合抗原的结合元件的方法,该方法包括使根据本发明的结合元件的库与所述抗原接触,以及选择所述库中一个或多个能够结合所述抗原的结合元件。

[0089] 所述库可以在颗粒或分子复合物,例如可复制的遗传包(genetic package)(如酵母、细菌或如T7噬菌体颗粒)上呈现,或在共价的、核糖体或其它体外呈现系统上呈现,各个颗粒或分子复合物包含编码在其上呈现的抗体VH可变域的核酸,并且任选地也包含呈现的VL域(如果存在)。在选择能够结合抗原并且在噬菌体或其它文库颗粒或者分子复合物上呈现的结合元件后,可以从呈现所述挑选的结合元件的噬菌体或其它颗粒或分子复合物获取核酸。这种核酸可以通过表达具有从呈现所述挑选的结合元件的噬菌体或其它颗粒或分子复合物获取的核酸序列的核酸而被用于随后的结合元件或抗体VH或VL可变域的制备。

[0090] 具有所述选择的结合元件的抗体VH可变域氨基酸序列的抗体VH可变域可以以独立形式产生,也可以是包含该VH域的结合元件的形式。

[0091] 具有所述选择的结合元件的抗体VL可变域氨基酸序列的抗体VL可变域可以以独立形式产生,也可以是包含该VL域的结合元件的形式。

[0092] 结合GM-CSFR α 的能力可以进一步测试,与抗体1~20(如scFv形式和/或IgG形式,如IgG1或IgG4)中任一竞争结合GM-CSFR α 的能力也可以被进一步测试。中和GM-CSFR α 的能力可以被测试。

[0093] 包括具有此处所列氨基酸序列的本发明的VH和VL域以及CDR的突变体可以通过序

列变换或突变以及筛选的方法获得,且可以用于GM-CSFR α 的结合元件中。随着在多变量数据分析技术应用于结构/特性-活性关系中计算机化学的引导[9],可以使用如统计回归、模式识别和分类的公知数学技术推导抗体的定量活性-性质关系[10、11、12、13、14、15]。可以从抗体序列、功能和三维结构的经验和理论模型(例如,可能的接触残基或计算的理化性质的分析)推知抗体的性质,并且这些性质可以被单独或组合地考虑。

[0094] 包括VH域和VL域的抗体抗原结合位点由六个多肽环形成:三个来自轻链可变域(VL)、三个来自重链可变域(VH)。已知原子结构的抗体的分析已经阐明了序列和抗体结合部位的三维结构之间的关系[16、17]。这些关系暗示,除了VH域的第三区(环)之外,结合位点环具有少数主链构象之一:正则结构。在特定环内形成的正则结构已表明是通过其大小和特定残基在环和框架区两者内的关键位点处的存在来确定[16、17]。

[0095] 该序列-结构关系的研究可以被用于预测已知序列、但未知三维结构的抗体中那些对于维持其CDR环的三维结构重要的、进而维持结合的残基。这些预测可以得到所述预测与先导物优化试验的结果之间的对比的支持。在结构方法中,可以使用任何免费获得或者市售的包(如WAM)[19]建立抗体分子模型[18]。然后,可以使用如Insight II(Accelrys, Inc.)或Deep View[20]的蛋白可视化和分析软件包估计CDR中各个位置可能的取代。然后,该信息可以被用于进行很可能对活性有最小或有益影响的取代。

[0096] 进行CDR、抗体VH或VL域以及结合元件的氨基酸序列中的取代所需的技术通常是可在本领域获得的。变异体序列可以利用可能或不能被预测对活性有最小的或有益的影响的取代产生,并且可以对其结合和/或中和GM-CSFR α 的能力和/或任何其它所需性质进行测试。

[0097] 如上所述,根据本发明,可以使用其序列在此处特别公开的任何VH和VL域的可变域氨基酸序列变异体。特定变异体可以包括一个或多个氨基酸序列变换(氨基酸残基的添加、缺失、取代和/或插入),可以为少于约20个变换、少于约15个变换、少于约10个变换或少于约5个变换,可能是5、4、3、2或1个。可以在各个或多个框架区和/或一个或多个CDR中进行变换。

[0098] 优选地,变换不导致功能丧失,从而包含这样变换的氨基酸序列的结合元件优选地保留结合和/或中和GM-CSFR α 的能力。更优选地,例如,如此处所述试验中所测得的,其保留与其中未进行变换的结合元件一样的定量结合和/或中和能力。最优选地,例如,如此处所述试验中所测得的,与其中未进行变换的结合元件相比,包含这样变换的氨基酸序列的结合元件具有改善的结合或中和GM-CSFR α 的能力。

[0099] 变换可以包括用非天然形成的或非标准的氨基酸替代一个或多个氨基酸残基、将一个或多个氨基酸残基修饰为非天然形成或非标准的形式、或者在序列中插入一个或多个非天然形成或非标准的氨基酸。本发明的序列中变换的优选数目和位置在其它处进行描述。天然形成的氨基酸包括由其标准单字母编码标明为G、A、V、L、I、M、P、F、W、S、T、N、Q、Y、C、K、R、H、D、E的20种“标准”L氨基酸。非标准氨基酸包括可以被整合到多肽骨架之中或由修饰已存在的氨基酸残基所得的任何其它残基。非标准氨基酸可为天然形成的或非天然形成的。几种天然形成的非标准氨基酸在本领域中是已知的,如4-羟基脯氨酸、5-羟基赖氨酸、3-甲基组氨酸、N-乙基丝氨酸等[21]。那些在其N- α 位置处衍生的氨基酸残基仅位于氨基酸序列的N末端。一般地,在本发明中,氨基酸为L氨基酸,但是在一些实施方式中,其可以为D-

氨基酸。因而,变换可以包括将L-氨基酸改变为D-氨基酸、或用D-氨基酸取代L-氨基酸。氨基酸的甲基化、乙酰化和/或磷酸化形式也是已知的,并且在本发明中的氨基酸可以进行这样的修饰。

[0100] 本发明的抗体域和结合元件中的氨基酸序列可以包括上述非天然或非标准氨基酸。在一些实施方式中,非标准氨基酸(如D-氨基酸)可以在合成过程中并入氨基酸序列中,而在其它实施方式中,可以在氨基酸序列合成后通过修饰或取代“原始”标准氨基酸引入非标准氨基酸。

[0101] 非标准和/或非天然形成的氨基酸的使用增加结构和功能多样性,并且,因此能够增加实现本发明的结合元件所需的GM-CSFR α 结合和中和性质的可能。此外,由于在给予动物后具L-氨基酸的多肽的体内降解,与标准L-氨基酸相比,D-氨基酸和类似物已显示具有更好的药物动力学性质。

[0102] 如上所述,基本如此处所述的CDR氨基酸序列优选地作为CDR被负载在人抗体可变域或其主要部分中。基本如此处所述的HCDR3序列代表本发明的优选实施方式,并且优选其中各个作为HCDR3被负载在人重链可变域或其主要部分中。

[0103] 本发明中使用的可变域可以从任何胚系或重排的人可变域获得或来源于此,或者可以为基于已知人可变域的通用或真实序列的合成可变域。使用重组DNA技术,本发明的CDR序列(如CDR3)可以被引入缺少CDR(如CDR3)的可变域的组成集合(repertoire)中。

[0104] 例如,Marks等(1992)[22]描述了产生抗体可变域组成集合的方法,其中定位于可变域区的5'末端处或与其邻近的通用引物与人VH基因的第三框架区的通用引物联合使用,从而提供缺少CDR3的VH可变域的组成集合。Marks等进一步描述了该组成集合如何能与特定抗体的CDR3组合。使用类似技术,本发明的CDR3源序列可以与缺少CDR3的VH或VL域组成集合混合,并且该混合的完整VH或VL域与同源VL或VH域组合,从而提供本发明的结合元件。然后,该组成集合可以在如W092/01047中的噬菌体呈现系统或后面的参考文献的大部分(包括参考文献[23])中的任一种的合适的宿主系统中呈现,从而可以选择适当的结合元件。组成集合可以由来自 10^4 以上个体成员(例如 10^6 至 10^8 或 10^{10} 中成员)的任何部分组成。其它适合的宿主系统包括酵母呈现、细菌呈现、T7呈现、病毒呈现、细胞呈现、核糖体呈现和共价呈现。类似的混合或组合技术也被Stemmer(1994)[24]公开,其除观察该技术可以被用于抗体的产生外,还描述了与 β -内酰胺酶基因相关的技术。

[0105] 进一步的替代方式为利用一个或多个选择的VH和/或VL基因的随机突变以在全可变域中产生突变,从而产生携带本发明的CDR源序列的新VH或VL区域。Gram等(1992)[25]描述了这种技术,其使用了易错PCR(error-prone PCR)。在优选实施方式中,在一组HCDR和/或LCDR内进行一个或两个氨基酸取代。另一可使用的方法是对VH或VL基因的CDR区域的引导基因突变。

[0106] 本发明的再一方面提供了获得GM-CSFR α 抗原的抗体抗原结合位点的方法,该方法包括通过在此处所述的VH域氨基酸序列中一个或多个氨基酸的添加、缺失、取代或插入从而提供作为VH域的氨基酸序列变异体的VH域,任选地将如此获得的VH域与一种或多种VL域结合,以及测试VH域或VH/VL的组合或多个组合以鉴别任选地具有一种或多种优选性质(优选中和GM-CSFR α 活性的能力)的GM-CSFR α 抗原的结合元件或抗体抗原结合位点。所述VL域可具有基本为如此处所述的氨基酸序列。

[0107] 可以使用其中一个或多个此处公开的VL域的序列变异体与一个或多个VH域组合的类似方法。

[0108] 本发明的再一方面提供了制备GM-CSFR α 抗原结合元件的方法,该方法包括:

[0109] (a)提供对包括待取代的CDR3或缺少CDR3编码区的VH域进行编码的核酸的起始组成集合;

[0110] (b)组合所述组成集合和编码基本如此处所述的VH CDR3氨基酸序列的供体核酸,从而所述供体核酸被插入所述组成集合的CDR3区以提供编码VH域的核酸的产物组成集合;

[0111] (c)表达具有所述产物组成集合的核酸;

[0112] (d)选择GM-CSFR α 结合元件;以及

[0113] (e)回收所述结合元件或编码所述结合元件的核酸。

[0114] 同样,可以使用其中本发明的VL CDR3与编码包括待取代CDR3或缺少CDR3编码区的VL域的核酸组合的类似方法。

[0115] 类似地,一种或多种、或者所有三种CDR可以被接合到随后被用于筛选GM-CSFR α 的结合元件或多种结合元件的VH或VL域的组成集合中。

[0116] 在优选实施方式中,可以使用一种或多种HCDR1、HCDR2和HCDR3,如抗体1(SEQ ID NOS:3~5);抗体2(SEQ ID NOS:13~15);抗体4(SEQ ID NOS:33~35);抗体5(SEQ ID NOS:43~45);抗体6(SEQ ID NOS:53~55);抗体7(SEQ ID NOS:63~65);抗体8(SEQ ID NOS:73~75);抗体9(SEQ ID NOS:83~85);抗体10(SEQ ID NOS:93~95);抗体11(SEQ ID NOS:103~105);抗体12(SEQ ID NOS:113~115);抗体13(SEQ ID NOS:123~125);抗体14(SEQ ID NOS:133~135);抗体15(SEQ ID NOS:143~145);抗体16(SEQ ID NOS:153~155);抗体17(SEQ ID NOS:163~165);抗体18(SEQ ID NOS:173~175);抗体19(SEQ ID NOS:183~185)或抗体20(SEQ ID NOS:193~195);或者任选地抗体3(SEQ ID NOS:23~25)的一组HCDR,和/或可以使用一种或多种LCDR1、LCDR2和LCDR3,如抗体1(SEQ ID NOS:8~10);抗体2(SEQ ID NOS:18~20);抗体4(SEQ ID NOS:38~40);抗体5(SEQ ID NOS:48~50);抗体6(SEQ ID NOS:58~60);抗体7(SEQ ID NOS:68~70);抗体8(SEQ ID NOS:78~80);抗体9(SEQ ID NOS:88~90);抗体10(SEQ ID NOS:98~100);抗体11(SEQ ID NOS:108~110);抗体12(SEQ ID NOS:118~120);抗体13(SEQ ID NOS:128~130);抗体14(SEQ ID NOS:138~140);抗体15(SEQ ID NOS:148~150);抗体16(SEQ ID NOS:158~160);抗体17(SEQ ID NOS:168~170);抗体18(SEQ ID NOS:178~180);抗体19(SEQ ID NOS:188~190)或抗体20(SEQ ID NOS:198~200);或者任选地抗体3(SEQ ID NOS:28~30)的一组LCDR。

[0117] 免疫球蛋白可变域的主要部分包括至少三个CDR区以及其居间框架区。优选地,所述部分也包括至少约50%的第一和第四框架区之一或两者,该50%为第一框架区的C-末端50%和第四框架区的N-末端50%。可变域主要部分的N-末端或C-末端的附加残基可以为那些通常不与天然形成的可变域区相关的残基。例如,通过重组DNA技术进行本发明结合元件的构建可以导致引入由促进克隆或其它操作步骤的连接子所编码的N-或C-末端残基。其它操控步骤包括引入连接子以连接本发明的可变域和另外的蛋白序列,其包括抗体恒定区、其它可变域(例如在双体(diabody)的制备中)或如本发明的其它处的更详细内容所述的可检测的/功能性的标记。

[0118] 尽管在本发明的优选方面中,优选的是包括一对VH和VL域的结合元件,但是基于

VH或VL域序列的单结合域形成本发明的另一方面。已知单免疫球蛋白域、尤其VH域能够结合靶抗原。例如,参见本发明其它处的关于dAb的讨论。

[0119] 当为单结合域之一时,这些域可以被用于筛选能够形成可结合GM-CSFR α 的双域结合元件的互补域。这可以通过使用如W092/01047中所公开的所谓等级双重组合方法(hierarchical dual combinatorial approach)的噬菌体呈现筛选方法实现,其中含H或L链克隆的单独集落被用于感染编码另一链(L或H)的克隆的完整库,并且根据噬菌体呈现技术(如该参考文献和参考文献[22]所描述的噬菌体呈现技术)对所得双链结合元件进行选择。

[0120] 本发明的再一方面提供了含本发明的结合元件和至少一种额外组分的组合物,例如包括结合元件和药物上可接受的赋形剂的组合物。该组合物可以在抑制或中和GM-CSFR α 的方法(包括通过治疗处理人或动物体的方法)中使用。

[0121] 本发明提供包括抗GM-CSFR α 抗体分子的异质制剂。例如,该制剂可以为具有全长重链和缺少C末端赖氨酸的重链、具有不同程度糖基化和/或具有衍生氨基酸(如N-末端谷氨酸环化以形成焦谷氨酸残基)的抗体的混合物。

[0122] 本发明的多个方面包括治疗方法(该方法包括给予所提供的结合元件)、包含该结合元件的药物组合物、和该结合元件在制备药物中的应用,如在包括将所述几何元件和药物可接受的赋形剂进行配制的制备药物或药物组合物的方法中的应用。

[0123] 抗-GM-CSFR α 治疗可以口服(如纳米抗体(nanobody))、通过注射(例如,皮下、静脉内、动脉内、关节内、腹膜内或肌肉内)、通过吸入、通过泡内途径(如膀胱内的灌输)、或局部(如眼内、鼻内、直肠、伤口内或皮肤上)进行。该治疗可以通过脉冲输入(pulse infusion)实施,特别是以结合元件的递减剂量。给药途径可以根据治疗的理化特性、对疾病的特殊考虑、或者使功效最优或使副作用最小的需要决定。可以设想抗GM-CSFR α 治疗将不限于临床应用。因此,使用无针设备的皮下注射也是优选的。

[0124] 根据需要进行治疗的状态,组合物可以单独或者与其它治疗组合(同时或顺序地)给予。组合治疗、尤其抗-GM-CSFR α 结合元件与一种或多种其它药物的组合可以用于提供显著的协同效应。根据本发明的结合元件可以与以下物质中的一种或多种进行组合或作为它们的附加被提供:NSAID(例如,如塞来昔布的环氧合酶抑制剂和其它类似的cox2抑制剂)、皮质甾醇(如强的松)和缓解疾病的抗风湿药(DMARD)如修美乐(Humira)(阿达木单抗(adalimumab))、氨甲蝶呤、来氟米特(Arava)、依那西普(Enbrel)(依坦西普(Etanercept))、类克(Remicade)(英利昔单抗(Infliximab))、Kineret(阿那白滞素(Anakinra))、美罗华(Rituxan)(利妥昔单抗(Rituximab))、Orencia(阿巴他塞(abatacept))、氯金酸钠(gold salt)、抗疟药、柳氮磺胺吡啶(Ssulfasalazine)、D-青霉素、环孢菌素A、双氯芬酸、环磷酰胺和咪唑硫嘌呤。

[0125] 根据本发明,提供的组合物可以施用予个体。优选以“治疗有效量”施用,该量足以对病人显示有利效果。这种有利效果可以为至少一种症状的至少改善。给药的量和给药的速度和时间过程取决于治疗对象的状态和严重程度。治疗的处方,如决定剂量等,为一般执业医师和其它医生的责任范围,并且可能取决于症状的严重性和/或被治疗疾病的进展。抗体的适当剂量为本领域公知的[28、29]。可以使用此处表明的或如“Physician's Desk Reference”(2003)所示的对于被给予药物的类型所适合的特定剂量。本发明的结合

元件的治疗有效量或适当量可以通过对比其体外活性和在动物模型中的体内活性确定。将小鼠和其它测试动物中的有效剂量外推到人的方法是已知的。精准剂量取决于多个因素,包括抗体是用于诊断还是用于治疗、治疗部位的大小和位置、抗体的精确性质(如全抗体、片段或双体)、以及任何可检测标记或其它与抗体连接的分子的性质。典型的抗体剂量对于全身施用 $100\mu\text{g}\sim 1\text{g}$ 的范围内、对于局部施用在 $1\mu\text{g}\sim 1\text{mg}$ 的范围内。典型地,抗体为全抗体,优选IgG1、IgG2或更优选IgG4。这是对成年患者单次治疗的剂量,其对于儿童和婴儿可以适当调整,并且对于其它抗体形式也可以按分子量成比例地调整。治疗可以按照医生的判断以每日、一周两次、每周或每月的间隔重复。在本发明的优选实施方式中,治疗为周期性的,并且给药之间的期间约为两周或更长、优选约3周或更长、更优选约4周或更长、或约每月一次。在本发明的其它优选实施方式中,可以在手术之前和/或之后给予治疗,并且更优选地,可以在手术治疗的切开位置直接给予或施用。

[0126] 本发明的结合元件通常以药物组合物的形式被给予,该药物组合物可以包括至少一种结合元件以外的组分。因此,根据本发明的药物组合物以及用于本发明的应用的药物组合物除活性组分外还可以包括药物可接受的赋形剂、载体、缓冲剂、稳定剂或其它本领域普通技术人员公知的物质。该物质应为无毒的,并且不应干扰活性组分的效力。载体或其它物质的准确性质取决于给药途径,其可以为口服、或者通过如静脉内的注射。口服给药的药物组合物可以为片剂、胶囊、粉末、液体或半固体形式。片剂可以包括如凝胶或佐剂的固体载体。液体药物组合物通常包括如水、石油、动物或植物油、矿物油或合成油的液体载体。可以包括生理盐水、葡萄糖或其它糖类溶液或如乙二醇、丙二醇或聚乙二醇的二醇类。对于静脉注射或病痛处的注射,活性组分为无热原并具有适当pH值、等渗性和稳定性的肠道外可接受的水溶液形式。例如,本领域相关技术人员能够使用如氯化钠注射液、林格氏注射液、乳酸化林格氏注射液的等渗载体制备适当的溶液。可以根据需要包含防腐剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂和/或其它添加剂。本发明的结合元件可以根据分子的理化性质和递送途径配制成液体、半固体或固体形式。制剂可以包括赋形剂或赋形剂的组合,例如:糖、氨基酸和表面活性剂。液体制剂可以包括宽范围的抗体浓度和pH。例如,固体制剂可以通过冷冻干燥、喷雾干燥或通过超临界流体技术的干燥进行制备。抗-GM-CSFR α 的制剂取决于预定的递送途径:例如,用于肺部递送的制剂可以由具有确保在吸入时渗透到深肺部的物理性质的颗粒组成;局部制剂可以包括延长药物在作用部位滞留的时间的粘性改性剂。在特定实施方式中,结合元件可以采用防止结合元件快速释放的载体进行制备,例如包括植入物、透皮贴片和微胶囊化递送系统的控释制剂。如乙烯醋酸乙烯酯、多聚酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸的生物可降解、生物相容的聚合物可以被使用。制备该制剂的许多方法对于本领域普通技术人员是已知的。例如参见Robinson,1978[30]。

[0127] 根据本发明的结合元件可以在人或动物体的治疗或诊断方法中使用,如在治疗人类患者的疾病或病症(其可以包括预防治疗)的方法中,包括给予所述患者有效剂量的本发明的结合元件。根据本发明的可治疗的状态包括其中GM-CSFR α 起作用的任何疾病。公开的技术文件显示了GM-CSF在总结如下的许多疾病中的作用。由于GM-CSF特异性结合GM-CSFR α ,因此GM-CSF的病理和/或症状效应可以通过抑制GM-CSF与GM-CSFR α 的结合被抵消。因此,除此处在试验部分所描述的抗体分子呈现的体内和体外药理学数据外,公开出版的证据显示本发明的结合元件可以在治疗如风湿性关节炎、哮喘、过敏反应、多发性硬化、髓系白血

病和动脉硬化的自体免疫和/或炎性状态、疾病和病症中应用。关于这些状态的公开出版的证据总结如下：

[0128] 哮喘和过敏反应

[0129] 支气管哮喘是一种肺的常见的持久的炎性病症，特征为气道高反应性、粘液过量产生、纤维变性和升高的IgE水平。气道高反应性(AHR)为气道对非特异性刺激的过度收缩。AHR和粘液过量产生两者被认为是造成导致哮喘发作(恶化)的呼吸短促特征的可变气道阻塞的原因，并且是造成与该疾病相关的死亡(在英国每年约2000例死亡)的原因。

[0130] 最近的研究已经证明在哮喘中GM-CSF及其受体在蛋白质和mRNA水平上都是上调的。此外，表达水平与疾病的严重程度相互关联。与非哮喘对象相比时，哮喘患者的支气管肺泡灌洗(BAL)液、BAL细胞、唾液、支气管上皮细胞和抗原刺激的外周血单核细胞中已测到GM-CSF产生增加[31、32]。此外，在过敏原激发后GM-CSF的气道表达水平显示出与组织嗜酸性细胞增多的水平和延期哮喘反应的严重程度相关[33]。随后的研究将上调的GM-CSFR表达与内源性或非变应性哮喘关联，将表达水平与非功能数据关联[34]。在小鼠卵清蛋白致敏和激发模型中，在卵清蛋白激发前通过鼻内给药产生的以羊多克隆抗体对GM-CSF活性的中和防止了气道高反应性并同时减少了气道内嗜酸性细胞的浸润和粘液分泌[35]。类似地，在通过鼻内给予柴油机废气颗粒引发的小鼠过敏性呼吸疾病模型中，再次通过鼻内给予羊多克隆抗体中和GM-CSF防止了对乙酰甲胆碱的气道高反应性、降低了BAL嗜酸性细胞计数并且也减少粘液产生杯形细胞在气道上皮上的表达[36]。

[0131] GM-CSF在过敏反应中的作用进一步在鼠诱导耐受模型中研究。暴露于每日反复剂量的雾状卵清蛋白而不进行预先致敏的小鼠形成对卵清蛋白的耐受并且不会引起气道的嗜酸性细胞炎症。GM-CSF通过腺病毒构建体在肺中表达改变了这些动物的反应，并且促进嗜酸性细胞流入BAL中、表型过敏组织学的产生和相关杯状细胞增生。该典型Th2反应的产生通过IL-5的血清和BAL浓度的增加和血清IL-4的增加进一步得到证实。在采用MHC II KO小鼠的该模型中进行进一步研究显示GM-CSF调节气道中抗原呈递细胞和T细胞之间的相互作用，从而促进T细胞介导的对卵清蛋白的反应[37]。值得注意的是，GM-CSF作为Th2反应的有效活化剂的活性也可以在缺少IL-3和/或IL-4的小鼠中被证实，说明GM-CSF活性的中和提供了完全不同于这些细胞因子的活性的可选择的治疗途径。

[0132] 在另一鼠模型中已进行了类似的观察，其中鼻内反复暴露于豚草导致再暴露于抗原时的Th2型致敏和轻微气道炎症[38]。抗GM-CSF抗体与豚草联合给予减少了Th2相关的细胞因子产生，大概是通过内源GM-CSF的抑制。相反，向通过多次共同施用重组GM-CSF或单次递送携带GM-CSF转基因的腺病毒载体向富有GM-CSF的气道微环境递送豚草导致显著增强的嗜酸性细胞气道炎症和豚草特异性的Th2记忆性反应。

[0133] 风湿性关节炎(RA)

[0134] RA为影响到工业化世界中约1%人口的慢性炎症和破坏性关节疾病。RA的特征为滑膜的增生和炎症、滑液内炎症、以及通常导致显著失能的周围骨骼和软骨的渐进破坏。

[0135] 尽管RA的原因仍未知，但是有GM-CSF在RA的发展中起作用的累积证据。RA被认为通过T细胞介导的抗原特异性过程被引发和驱动。简言之，在易感宿主中的未鉴定抗原的存在被认为引发导致T细胞细胞因子产生的T细胞反应，结果增加了包括嗜中性粒细胞、巨噬细胞和B细胞的炎症细胞。

[0136] 许多促炎症和抗炎症细胞因子在风湿性关节中产生。而且,疾病发展、复发和静息都由关节内细胞因子产生的动态变化介导。特别地,TNF- α 和IL-1被认为在RA的发病过程中起关键作用,并且许多更新的已研究完成的或正在研制过程中的对该病的治疗方法注意到抑制这两种促炎症细胞因子的活性。

[0137] 最近在啮齿类动物模型中的研究已显示GM-CSF在RA的发生和进展中发挥着中心的和非多余的作用。外源重组GM-CSF的使用在胶原诱导关节炎(CIA)[39]和单关节炎模型[40]的两种不同小鼠RA模型中增强了病理症状。除此之外,另外已证实GM-CSF敲除(GM-CSF^{-/-})小鼠对CIA发生具有抗性,并且与野生型小鼠相比,在滑膜关节液中发现的IL-1和肿瘤坏死因子(TNF- α)水平降低[41、42]。类似地,与野生型小鼠相比,在GM-CSF^{-/-}小鼠中利用关节内注射甲基化牛血清白蛋白和IL-1诱导单关节炎产生的疾病严重程度降低[43]。

[0138] 此外,给予鼠抗GM-CSF mAb显著改善CIA和单关节炎模型中的疾病严重程度。在CIA模型中,mAb治疗在处理已确立疾病的发展、组织病理学和显著降低关节IL-1和TNF- α 水平方面是有效的。此外,在关节炎发作之前的mAb治疗减轻CIA疾病严重程度[44、43]。

[0139] 许多研究已经分析了来自人体组织的关节滑液和膜活体组织样品中存在的细胞因子和受体的水平。通过使用PE标记的GM-CSF,对27位RA患者、13位健康志愿者和14位骨质疏松患者的循环系统单核细胞的GM-CSFR水平进行了测定[45]。在该研究中证实与健康对照(20%)和经调查有骨质疏松的患者(25%)相比,在RA患者(53%)中检测到两倍之多的受体阳性细胞,因此说明单核细胞可能很容易对局部产生的GM-CSF作出反应。利用SF细胞的原位杂交,RA患者的细胞因子基因表达证明GM-CSF、IL-1、TNF- α 和IL-6水平的提高。此外,分离和培养的源自正常志愿者的纤维原细胞的滑膜细胞显示出响应于IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 和TNF- β 的GM-CSF蛋白水平的升高[47]。RA患者中GM-CSF血清水平的定量[48]显示,严重(366pg/ml,n=26)和中度(376pg/ml,n=58)RA患者的蛋白质水平与对照组(174pg/ml,n=43)相比增加,此外,也显示在患RA患者的SF中GM-CSF显著提高(1300pg/ml)。

[0140] 以前已观察到在治疗嗜中性白血球减少症的患者中给予重组GM-CSF可能导致RA加重[49]。对费尔蒂综合征(Felty's syndrome)治疗后的患者施用重组GM-CSF也观察类似的现象[50]。

[0141] 慢性阻塞性肺疾病(COPD)

[0142] 慢性阻塞性肺疾病(COPD)被定义为以不可完全恢复的气流限制为特征的疾病状态。慢性气流限制通常为渐进性的并且与肺对毒性颗粒或气体的异常炎症反应相关。该气流限制由小的气道疾病(闭塞性支气管炎)和薄壁组织破坏(肺气肿)的混合导致,其对于COPD的相对影响因人而异。COPD的最终特征症状为咳嗽、生痰、以及用力时呼吸困难。COPD为重要的公众健康问题并且在美国为导致慢性病和死亡的第四位的原因。目前使用最初研制用于哮喘病的药物治疗该病,如带有或不带有支气管扩张剂(包括 β 拮抗剂)的皮质类甾醇。然而,这些药物中无一显示出减缓COPD的发展的功效[51]。例如,显著抑制哮喘中嗜酸性细胞炎症的皮质类甾醇未显示出对主要为中性粒细胞介导的COPD中所见炎症有任何作用[52]。因此,需要以该病的病理学为基础研制特异性以炎症过程为目标的新的COPD治疗药物。GM-CSF通过其在中性粒细胞和巨噬细胞功能方面的作用可能在COPD病理发生方面起重要作用。

[0143] 在使用定量PCR的研究中,已显示出相对于非阻碍吸烟者的痰,在年龄匹配的COPD

患者的痰中GM-CSF复本数显著提高[53]。此外,在吸烟诱导的肺炎症的啮齿类模型中,在烟雾暴露前2天、4小时和1小时用GM-CSF抗体鼻内处理的动物与同种型对照抗体对比,在激发后5天BAL的中性粒细胞、巨噬细胞和MMP-9水平显示出显著下降[54]。我们自己在大的COPD严重程度范围内的患者的诱导痰中GM-CSF水平的研究中观察的结果也支持这些研究。在这些研究中,我们表明,无论疾病的严重程度,在约40%测试的COPD患者的痰中GM-CSF增加,在某些情况下GM-CSF水平接近500pg/ml。在不吸烟或吸烟的匹配对照患者中GMCSF不表现出增加。这些数据暗示GM-CSF可能为吸烟诱导的气道炎症和COPD中的关键介体之一。

[0144] 多发性硬化(MS)

[0145] GM-CSF参与到自体免疫疾病多发性硬化中。通过向啮齿类动物给予髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(MOG)抗原,可以诱导人多发性硬化模型,其显示了如中枢神经系统炎症和能够导致MS样麻痹的髓鞘脱失的许多MS表型。在GM-CSF空白小鼠中,MOG不能诱导EAE表型[55]。此外,这些小鼠显示具有对MOG抗原的T细胞增殖反应降低和Th1细胞因子IL-6和IFN- γ 的产生下降。在抗原激发的同时施用GM-CSF中和抗体在治疗后的10天内防止了疾病发作,同时具有明显的损伤减少。如果在疾病发作之后给药,小鼠在治疗的20天内完全康复[55]。

[0146] 白血病

[0147] GM-CSF也与髓系白血病、幼年慢性髓系白血病(JCML)相关。该状态为主要侵袭不到四岁的患者的骨髓增生性疾病。在体外,JCML外周血粒细胞-巨噬细胞祖细胞(CFU-GM)显示了在低细胞密度下的自发增殖,这是先前对于其它骨髓增生性疾病未描述过的现象。此外,从这些培养物中耗竭单核细胞消除了该增殖。随后,已证实这种自发增殖由JCML祖细胞对单核细胞源的细胞因子GM-CSF的超敏性介导[56、57、58、59、60、61]。JCML祖细胞的超敏性表现为通过下调的GM-CSF诱导的Ras信号转导途径,而非在JCML患者中GM-CSF过量产生或水平升高[62]。最近利用GM-CSF类似物(E21R)(其拮抗GM-CSF在结合研究和功能分析两个方面中的作用)的研究已显示出通过抑制GM-CSF的作用可以在重度复合免疫缺陷/非肥胖糖尿病(SCID/NOD)小鼠的JCML异种移植模型中显著降低JCML细胞负载[63]。在移植时的E21R的预防性系统给药防止在骨髓中建立JCML祖细胞、并且在移植后4周给予E21R导致JCML的缓解,同时细胞负载减少。此外,向以正常人骨髓和JCML骨髓共同移植的SCID/NOD小鼠给予E21R导致JCML负载下降,然而正常骨髓细胞保持未受影响。

[0148] 动脉硬化症

[0149] 缺血性心脏病为世界范围内最常见的死亡原因。近些年来,炎症在动脉硬化的病理形成中起重要作用的观点已得到加强,因为随着动脉壁的脂类积累同时发生炎症细胞积累。

[0150] 一旦驻留于动脉壁中,炎症细胞(如单核细胞和巨噬细胞)就参与和保持局部炎症反应。这些巨噬细胞也表达各种脂蛋白的清道夫受体,因而有助于细胞分化为“泡沫细胞(foamy cell)”。正是这些“泡沫细胞”的死亡有助于形成脂质核,这是这些损伤的典型特征。由于炎症在这些动脉硬化样斑块内持续,因此,这些活化的炎症细胞释放促进平滑肌细胞(SMC)增殖和斑块纤维化的纤维发生介体和生长因子。除了促进纤维化外,这些细胞也释放有助于弱化纤维变性斑块的蛋白水解酶,如基质金属蛋白酶(MMPs),从而使其易于破裂。一旦这些斑块破裂,其释放细胞碎片和如组织因子的凝血因子到血管内,刺激凝血连锁和血栓块的形成。然后,所导致的动脉血栓能够导致心肌缺血或梗死。

[0151] 最近发现,在动脉硬化的疾病发展的许多方面涉及GM-CSF。在胆固醇饲喂的兔的动脉硬化损伤中,GM-CSF被发现与巨噬细胞共同定位并且达到更低水平的内皮细胞和SMC[64]。此外,已显示在巨噬细胞积累处的人动脉硬化血管内及在中间SMC和内皮细胞内GM-CSF表达增加[65]。这种GM-CSF水平的增加部分由于在动脉硬化损伤形成和病理发生过程中单核细胞/巨噬细胞与内皮细胞的直接细胞-细胞接触[66]。动脉损伤(atherotic lesion)中另一关键因素为“泡沫细胞”,即已通过表面上的清道夫受体摄取氧化的低密度脂蛋白(LDL)的巨噬细胞。在体外,该ox-LDL的摄取可以通过GM-CSF依赖的机制进一步刺激巨噬细胞增殖[67]。

[0152] 由于动脉硬化为慢性炎症过程,已对如糖皮质激素的抗炎剂进行了研究。地塞米松(一种抗炎症糖皮质激素)在各种试验动物模型中抑制动脉硬化的形成[68、69、70、71]。其功效归因于抑制SMC迁移[72]和增殖[73]及循环单核细胞和白细胞的趋化性[74]。最近的研究显示ox-LDL可以诱导鼠腹膜巨噬细胞释放GM-CSF[75]。此外,在使用地塞米松治疗后,这种GM-CSF释放受到剂量依赖性的抑制,暗示地塞米松的抗炎症作用是通过抑制ox-LDL诱导的GM-CSF合成介导的。由于GM-CSF在动脉硬化中显示出具有核心作用,因此根据这一启示,替代糖皮质激素的方式可以抑制GM-CSF活性。

[0153] 术语

[0154] 此处使用的“和/或”被理解为明确公开两种特定特征或组分中的任一种而同时具有或不具有另一种。例如“A和/或B”理解为明确地公开了(i)A、(ii)B和(iii)A和B中的各个情形,正如它们在此处单独给出。

[0155] GM-CSFR α 和GM-CSF

[0156] GM-CSFR α 为粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体的 α 链。人GM-CSFR α 的全长序列以登录号S06945(gi:106355)进行保藏[76],并且此处作为SEQ ID NO:202列出。人GM-CSFR α 的成熟形式,即剪去信号肽的形式在此处作为SEQ ID NO:206列出。除非上下文另有说明,此处对GM-CSFR α 的引用指人或非人灵长类(如猕猴)的GM-CSFR α ,通常指人的GM-CSFR α 。GM-CSFR α 可以为天然形成的GM-CSFR α 或重组的GM-CSFR α 。

[0157] 人GM-CSF受体 α 的298个氨基酸的细胞外域具有SEQ ID NO:205所示氨基酸序列。

[0158] 除非上下文另有说明,此处对GM-CSF的引用指人或非人灵长类(如猕猴)的GM-CSF,通常指人的GM-CSF。

[0159] GM-CSF通常结合成熟GM-CSF受体 α 链(SEQ ID NO:206)的细胞外域(SEQ ID NO:205)。如本发明其它内容所述,该结合被本发明的结合元件抑制。

[0160] 天然形成的GM-CSFR α 剪接变异体已被鉴定-参见例如参考文献[77和78]。在这些剪接变异体中细胞外域是高度保守的。本发明的结合元件可以结合或不结合一种或多种GM-CSFR α 的剪接变异体,并且可以抑制或不抑制GM-CSF与一种或多种GM-CSFR α 的结合变异体的结合。

[0161] 结合元件

[0162] 此处描述了一对互相结合的分子的一个成员。该结合对的成员可以天然形成或全部或部分合成产生。该分子对的一个成员其表面上具有与分子对的另一成员的特定空间和极性组织结合并因而互补的区域或孔穴。结合对的类型的例子为抗原-抗体、生物素-抗生物素蛋白、激素-激素受体、受体-配体、酶-底物。本发明涉及抗原-抗体型反应。

[0163] 结合元件通常包括具有抗原结合位点的分子。例如,结合元件可以是抗体分子或包括抗原结合位点的非抗体蛋白。可以通过CDR在如人纤连蛋白或细胞色素B等的非抗体蛋白支架上的排列[80、81、82],或者通过使蛋白支架内的环的氨基酸残基随机化或发生突变而赋予与期望目标结合的能力来提供抗原结合位点。对蛋白质中新结合位点进行工程化的支架已被详细评述[82]。在W0/0034784中公开了用于抗体模拟物的蛋白支架,其中发明人描述了包括具有至少一个随机环的III型纤连蛋白域的蛋白质(抗体模拟物)。可以通过免疫球蛋白基因超家族的任何域成员提供其中接合一个或多个CDR(如一组HCDR)的合适支架。

[0164] 非抗体蛋白支架的优点为其可以在比至少某些抗体分子更小和/或更易操作的支架分子中提供抗原结合位点。结合元件的小尺寸可以赋予其有利的生理特性,如进入细胞、渗透到组织内深处或到达其它结构内的目标的能力、或者结合到靶抗原的蛋白孔穴内的能力。

[0165] 在参考文献[79]中综述了抗原结合位点在非抗体蛋白支架中的应用。典型的为具有稳定的骨架和一个或多个可变环的蛋白质,其中一个或多个环的氨基酸序列被特意地或随机地突变以产生结合靶抗原的抗原结合位点。这种蛋白质包括来自金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)的蛋白A的IgG结合域、转铁蛋白、四连接素(tetranectin)、纤连蛋白(如第10III型纤连蛋白域)和脂笼蛋白(lipocalin)。其它的途径包括合成的“微体”(Selecore GmbH),其基于植物大环寡肽(cyclotide)-具有分子内二硫键的小蛋白质。

[0166] 除抗体序列和/或抗原结合位点外,根据本发明的结合元件可以包括如形成肽或多肽(如折叠域)的、或者赋予分子除结合抗原能力外的另一功能特性的其它氨基酸。本发明的结合元件可以携带可检测标记,或者可以与毒素或者靶向结构或酶偶联(如经肽键或连接物)。例如,结合元件可以包括催化位点(如在酶域内)以及抗原结合位点,其中抗原结合位点结合抗原,而因此将催化位点指向抗原。催化位点可以通过例如切割来抑制抗原的生物功能。

[0167] 尽管如所述的,CDR可以由如纤连蛋白或细胞色素B的支架携带[80、81、82],但是携带本发明的CDR或CDR组的结构通常为抗体重或轻链序列或其基本部分,其中CDR或CDR组位于相应于由重排的免疫球蛋白基因所编码的天然形成VH和VL抗体可变域的CDR或CDR组的位置。免疫球蛋白可变域的结构和位置可以参照现在在互联网上可获得的(<http://immuno.bme.nwu.edu>或用任何搜索引擎寻找“Kabat”)文献kabat等,1987[98]及其更新来确定。

[0168] 本发明的结合元件可以包括抗体恒定区或其部分、优选人抗体恒定区或其部分。例如,VL域可以在其C末端与包括人C κ 或C λ 链(优选C λ 链)的抗体轻链恒定域连接。类似地,基于VH域的结合元件可以在其C末端与源自如IgG、IgA、IgE和IgM的任何抗体同种型和任何同种型亚类(特别是IgG1、IgG2和IgG4)的免疫球蛋白重链的全部或部分(如CH1域)连接。优选为IgG1、IgG2或IgG4。因为IgG4不结合补体且不产生效应子功能,所以IgG4是优选的。具有这些特性且使可变区稳定的任何合成的或其它恒定区变异体在本发明的实施方式中的应用中也是优选的。

[0169] 本发明的结合元件可以用可检测的或功能性的标记物标记。可检测的标记物包括如¹³¹I或⁹⁹Tc的放射性标记物,其可以使用抗体成像领域中已知的常规化学方法连接于本发

明的抗体。标记物也包括如辣根过氧化物酶的酶标记物。标记物进一步包括可以通过结合特定同源可检测结构(如标记的抗生物素蛋白)进行检测的化学结构(如生物素)。因此,本发明的结合元件或抗体分子可以为包括任选地经连接物(如肽)联接的结合元件和标记物的缀合物的形式。例如,结合元件可以与酶(如过氧化物酶、碱性磷酸酶)或包括,但不限于生物素、荧光色素、绿色荧光蛋白的荧光标记物偶联。此外,标记物可以包括毒素结构,如选自假单胞菌外毒素(PE或其细胞毒性片段或突变体)、白喉毒素(其细胞毒性片段或突变体)、肉毒杆菌毒素A~F、蓖麻毒素或其细胞毒性片段、相思豆毒素或其细胞毒性片段、皂草毒蛋白(saporin)或其细胞毒性片段、美洲商陆抗病毒毒素或其细胞毒性片段以及异株泻根毒蛋白1(bryodin1)或其细胞毒性片段的组的毒素结构。当结合元件包括抗体分子时,标记的结合元件可被称作免疫缀合物(immunoconjugate)。

[0170] 抗体分子

[0171] 这描述了天然产生的或者部分或全部合成产生的免疫球蛋白。该术语也涵盖任何包括抗体抗原结合位点的多肽或蛋白。包括抗体抗原结合位点的抗体片段为如Fab、F(ab')₂、Fab'、Fab'-SH、scFV、Fv、dAb、Fd和双体的分子。

[0172] 取得单克隆和其它抗体分子并且利用重组DNA技术制备其它抗体或保留原始抗体的特异性的嵌合分子是可能的。这种技术可以涉及向不同免疫球蛋白的恒定区(或恒定区加框架区)引入编码抗体的免疫球蛋白可变区(或CDR)的DNA。例如,参见EP-A-184187、GB2188638A或EP-A-239400以及大量的后续文献。杂交瘤或其它产生抗体的细胞可以发生遗传突变或其它改变,这可能改变或不改变产生的抗体的靶结合。

[0173] 因为抗体可以以许多方式被修饰,因此,术语“抗体分子”应理解为涵盖任何具有抗体抗原结合位点的结合元件或物质。因此,该术语涵盖抗体片段和衍生物,包括任何含抗体抗原结合位点的多肽,而无论其是天然的或全部或部分合成的。因而包括与另一多肽融合的包含抗体结合位点的嵌合分子、或者其等价物。在EP-A-0120694和EP-A-0125023以及大量的后续文献中描述了嵌合抗体的克隆和表达。

[0174] 抗体工程领域中可获得的进一步的技术使得分离人和人源抗体成为可能。人和人源抗体为本发明的优选实施方式,并且可以使用任何适当的方法制备。例如,可以制备人杂交瘤[83]。噬菌体呈现(用于制备结合元件的另一种已建立技术)已在如参考文献[83]和W092/01047(以下进一步讨论)的许多公开文献中进行了详细描述。其中小鼠抗体基因被灭活并且用人抗体基因功能性取代、而同时小鼠免疫系统的其它组分保持完整的转基因小鼠可以被用于分离人抗体[84]。可以利用如在W091/09967、US5585089、EP592106、US565332和W093/17105中公开的本领域中的已知技术制备人源抗体。此外W02004/006955描述了基于通过对比非人抗体的可变区CDR序列的正则CDR结构类型和来自人抗体序列库(如胚系抗体基因片段)的相应CDR的正则CDR结构类型从人抗体基因选择可变区框架序列的用于抗体人源化的方法。具有与非人CDR类似的正则CDR结构类型的人抗体可变区构成从其中选择人框架序列的人抗体序列成员子集。可以通过人和非人CDR序列之间的氨基酸类似性进一步对子集成员分级。在W02004/006955的方法中,顶级的人序列被选择来提供用于利用选择的子集成员人框架构建以非人CDR对应部分功能性取代人CDR序列的嵌合抗体的框架序列,从而提供高亲和性和低免疫原性的人源化抗体而无需在非人和人抗体之间对比框架序列。根据本发明的方法制备的嵌合抗体也被公开。

[0175] 通过表达由在适当的表达载体内合成和组装的寡核苷酸产生的基因可以制备合成抗体分子[85、86]。

[0176] 已表明完整抗体的片段可以实行结合抗原的功能。结合片段的例子为(i)由VL、VH、CL和CH1域组成的Fab片段;(ii)由VH和CH1域组成的Fd片段;(iii)由单个抗体的VL和VH域组成的Fv片段;(iv)由VH或VL域组成的dAb片段[87,88,89];(v)分离的CDR区;(vi)F(ab')₂片段,为包括两个连接的Fab片段的双价片段;(vii)单链Fv分子(scFv),其中VH域和VL域通过使得两个域联合的肽连接物连接以形成抗原结合位点[90、91];(viii)双特异性的单链Fv二聚体(PCT/US92/09965)和(ix)“双体”,通过基因融合构建的多价或多特异性片段(W094/13804;[92])。可以通过引入连接VH和VL域的二硫桥稳定Fv、scFv或双体分子[93]。包括与CH3域联接的scFv的微体也可以被制备[94]。

[0177] dAb(域抗体)为抗体的小型单体抗原结合片段,即抗体重或轻链的可变区[89]。VH dAb在驼类(如骆驼、美洲驼)中自然形成,并且可以通过用特定抗原免疫骆驼、分离抗原特异性B细胞并直接克隆来自个体B细胞的dAb基因而被制备。dAb也在细胞培养中产生。其较小的尺寸、良好的溶解性和温度稳定性使其在生理上尤其有用,且适于选择和亲和力成熟。本发明的结合元件可以为包括基本如此处所示的VH或VL域或者包括包含基本如此处所示的一组CDR的VH或VL域的dAb。“基本如所示”意味着本发明的相关CDR或者VH或VL域与序列在此被给出的特定区域相同或高度相似。“高度相似”意味着在CDR和/或VH或VL域内可以进行1~5个、优选1~4个(如1~3个,或1个、或2个、或3个或4个)氨基酸的取代。

[0178] 当使用双特异性抗体时,其可以为通过多种方法[95]制备的(如化学或杂交瘤制备的)常规双特异性抗体,或者可以为任何上述双特异性抗体片段。双特异性抗体的例子包括BiTE™技术的双特异性抗体,其中具有不同特异性的两种抗体的结合域可以被使用和经短的柔性肽直接连接。这将两种抗体组合在短的单个多肽链上。通过仅使用可变域可构建双体和scFv而无Fc域,从而潜在地降低了抗个体型反应的效应。

[0179] 因为其可以在大肠杆菌中容易地构建和表达,所以与双特异性全抗体相比,双特异性双体也可能是特别有利的。利用文库的噬菌体呈现(W094/13804)可以容易地选择具有适当结合特异性的双体(和如抗体片段的许多其它多肽)。如果双体的一个臂保持恒定,例如对准GM-CSFR α ,则可以形成其中另一臂被改变且选择具有适当目标结合的抗体的库。可以通过杵臼(knob-into-hole)工程产生双特异全抗体[96]。

[0180] 抗原结合位点

[0181] 这描述了与靶抗原的全部或部分结合并互补的分子的部分。在抗体分子中,其被称作抗体抗原结合位点,并且包括与靶抗原的全部或部分结合并互补的抗体部分。当抗原较大时,抗体可以仅结合抗原的特定部分,该部分被称为表位。抗体抗原结合位点可以由一个或多个抗体可变域提供。优选地,抗体抗原结合位点包括抗体轻链可变区(VL)和抗体重链可变区(VH)。

[0182] Kabat编号

[0183] 此处的抗体序列的残基通常利用如Kabat等,1971[97]中所定义的Kabat编号指称。也参见参考文献[98、99]。

[0184] 分离的

[0185] 这指其中本发明的结合元件或编码该结合元件的核酸按照本发明一般所处的状

态。分离的元件和分离的核酸没有或基本没有其天然相关的物质,如在其自然环境或当通过体外或体内实施的重组DNA技术制备时在其被制备的环境(如细胞培养)中被发现的其它多肽或核酸。元件和核酸可以利用稀释液或辅剂进行配制,并且出于实际目的可以仍然是分离的-例如,如果在免疫试验中用于涂覆微滴定板,元件通常与凝胶或者其它载体混合,或者当用于诊断或治疗时与药物可接受的载体或稀释液混合。结合元件可以天然地或通过异源真核细胞系统(如CHO或NS0(ECACC85110503))被糖基化,或者其可以是未糖基化的(例如,如果通过原核细胞中表达产生)。

[0186] 具体地,本发明涉及以下各项:

[0187] 1、一种分离的人GM-CSFR α 结合元件,其中,所述结合元件抑制GM-CSF与GM-CSFR α 的结合,并且其中所述结合元件结合如SEQ ID NO:206所示人GM-CSFR α 的226~230位的Tyr-Leu-Asp-Phe-Gln中的至少一个残基。

[0188] 2、根据第1项的结合元件,在表面等离子共振试验中,其以5nM或更低的亲和性(KD)结合到人GM-CSFR α 的细胞外域。

[0189] 3、根据第1或2项的结合元件,其包括抗体分子。

[0190] 4、根据第3项的结合元件,包括抗体VH域,所述抗体VH域包含一组互补决定区CDR1、CDR2和CDR3及框架,其中,所述互补决定区组包括具有SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1、具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2、以及具有选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:165、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:195的氨基酸序列的CDR3;

[0191] 或者包含具有一个或两个氨基酸取代的该CDR序列组。

[0192] 5、根据第3或4项的结合元件,包括包含互补决定区CDR1、CDR2和CDR3以及框架的抗体VH域,并且其中VH CDR3中的Kabat残基H97为S。

[0193] 6、根据第5项的结合元件,其中VH CDR3进一步包含一个或多个以下残基:

[0194] 在Kabat残基H95处的V、N、A或L;

[0195] 在Kabat残基H99处的S、F、H、P、T或W;

[0196] 在Kabat残基H100B处的A、T、P、S、V或H。

[0197] 7、根据第6项的结合元件,其中Kabat残基H95为V。

[0198] 8、根据第6或7项的结合元件,其中Kabat残基H99为S。

[0199] 9、根据第6-8项中任一项的结合元件,其中Kabat残基H100B为A或T。

[0200] 10、根据第6-9项中任一项的结合元件,其中,VH CDR3具有选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:165、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:195的氨基酸序列。

[0201] 11、根据第5-10项任一项的结合元件,其中,在VH CDR1中Kabat残基H34为I。

[0202] 12、根据第5-11项中任一项的结合元件,其中VH CDR1具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列。

- [0203] 13、根据第5-12项中任一项的结合元件,其中VH CDR2包含位于Kabat残基H54处的E和/或位于Kabat残基H57处的I。
- [0204] 14、根据第5-13项中任一项的结合元件,其中VH CDR2具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列。
- [0205] 15、根据第5-14项中任一项的结合元件,其中在VH域框架中的Kabat残基H17为S。
- [0206] 16、根据第5-15项中任一项的结合元件,包含抗体VL域,所述抗体VL域包含互补决定区CDR1、CDR2和CDR3以及框架。
- [0207] 17、根据第16项的结合元件,其中VL CDR3包含一个或多个以下残基:
- [0208] 在Kabat残基L90处的S、T或M;
- [0209] 在Kabat残基L92处的D、E、Q、S、M或T;
- [0210] 在Kabat残基L96处的S、P、I或V。
- [0211] 18、根据第17项的结合元件,其中Kabat残基L90为S。
- [0212] 19、根据第17或18的项结合元件,其中Kabat残基L92为D或E。
- [0213] 20、根据第17-19项中任一项的结合元件,其中Kabat残基L95A为S。
- [0214] 21、根据第17-20项中任一项的结合元件,其中Kabat残基L96为S。
- [0215] 22、根据第16或17项任一项的结合元件,其中VL CDR3具有选自SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:170、SEQ ID NO:180、SEQ ID NO:190和SEQ ID NO:200的氨基酸序列。
- [0216] 23、根据第16-22项中任一项的结合元件,其中VL CDR1包含一个或多个以下残基:
- [0217] 在Kabat残基27A处的S;
- [0218] 在Kabat残基27B处的N;
- [0219] 在Kabat残基27C处的I;
- [0220] 在Kabat残基32处的D。
- [0221] 24、根据第16-23项中任一项的结合元件,其中VL CDR1具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列。
- [0222] 25、根据第16-24项中任一项的结合元件,其中VL CDR2包含一个或多个以下残基:
- [0223] 在Kabat残基51处的N;
- [0224] 在Kabat残基52处的N;
- [0225] 在Kabat残基53处的K。
- [0226] 26、根据第16-25项中任一项的结合元件,其中VL CDR2具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列。
- [0227] 27、根据第3-26项中任一项的结合元件,包括其中Kabat残基H94为I的抗体VH域。
- [0228] 28、一种分离的人GM-CSFR α 结合元件,其中所述结合元件抑制GM-CSF与GM-CSFR α 的结合,并且其中在表面等离子共振试验中,所述结合元件以5nM或更低的亲和性(KD)结合人GM-CSFR α 细胞外域。
- [0229] 29、根据第28项的结合元件,其包括抗体分子。
- [0230] 30、一种分离的人GM-CSFR α 结合元件,其中所述结合元件抑制GM-CSF与GM-CSFR α

的结合,并且其中所述结合元件包括与具有选自以下的氨基酸序列的VH域和VL域的抗体分子竞争结合人GM-CSFR α 的细胞外域的人或人源化抗体分子:

- [0231] VH域SEQ ID NO:2和VL域SEQ ID NO:7;
- [0232] VH域SEQ ID NO:12和VL域SEQ ID NO:17;
- [0233] VH域SEQ ID NO:22和VL域SEQ ID NO:27;
- [0234] VH域SEQ ID NO:32和VL域SEQ ID NO:37;
- [0235] VH域SEQ ID NO:42和VL域SEQ ID NO:47;
- [0236] VH域SEQ ID NO:52和VL域SEQ ID NO:57;
- [0237] VH域SEQ ID NO:62和VL域SEQ ID NO:67;
- [0238] VH域SEQ ID NO:72和VL域SEQ ID NO:77;
- [0239] VH域SEQ ID NO:82和VL域SEQ ID NO:87;
- [0240] VH域SEQ ID NO:92和VL域SEQ ID NO:97;
- [0241] VH域SEQ ID NO:102和VL域SEQ ID NO:107;
- [0242] VH域SEQ ID NO:112和VL域SEQ ID NO:117;
- [0243] VH域SEQ ID NO:122和VL域SEQ ID NO:127;
- [0244] VH域SEQ ID NO:132和VL域SEQ ID NO:137;
- [0245] VH域SEQ ID NO:142和VL域SEQ ID NO:147;
- [0246] VH域SEQ ID NO:152和VL域SEQ ID NO:157;
- [0247] VH域SEQ ID NO:162和VL域SEQ ID NO:167;
- [0248] VH域SEQ ID NO:172和VL域SEQ ID NO:177;
- [0249] VH域SEQ ID NO:182和VL域SEQ ID NO:187;或
- [0250] VH域SEQ ID NO:192和VL域SEQ ID NO:197。

[0251] 31、一种分离的人GM-CSFR α 结合元件,其中所述结合元件抑制GM-CSF与GM-CSFR α 的结合,并且其中所述结合元件包括含抗体VH域的抗体分子,所述抗体VH域包含一组互补决定区HCDR1、HCDR2和HCDR3以及框架,其中所述互补决定区组包括具有SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:173的氨基酸序列的HCDR1、具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HCDR2和具有选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:165、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:195的氨基酸序列的HCDR3。

[0252] 32、根据第3-27项中任一项或第29-31项中任一项所述的结合元件,其中所述抗体分子为人或人源化抗体分子。

[0253] 33、根据第32项所述的结合元件,其中所述VH域框架为人种系VH1DP5或VH3DP47框架。

[0254] 34、根据第32或33项的结合元件,包括VL域,其中所述VL域框架为人种系V λ 1DPL8、V λ 1DPL3或V λ 6_{6a}框架。

[0255] 35、一种分离的人GM-CSFR α 抗体分子,其抑制GM-CSF与GM-CSFR α 的结合,并且其包括:

[0256] 具有如SEQ ID NO:52所示VH域氨基酸序列的VH域或具有一个或两个氨基酸改变

的其变异体,和

[0257] 具有如SEQ ID NO:57所示VL域氨基酸序列的VL域或具有一个或两个氨基酸改变的其变异体;

[0258] 其中所述氨基酸改变选自替代、插入和缺失。

[0259] 36、根据第3-27或29-34项中任一项的结合元件,或者根据第35项的抗体分子,其中所述抗体分子为IgG4。

[0260] 37、根据第1-36项中任一项的结合元件或抗体分子,其在表面等离子共振试验中,以1nM或更低的亲和性(KD)结合人GM-CSFR α 细胞外域。

[0261] 38、根据第37项的结合元件或抗体分子,其在表面等离子共振试验中,以0.5nM或更低的亲和性(KD)结合人GM-CSFR α 细胞外域。

[0262] 39、根据上述各项中任一项的结合元件或抗体分子,其在使用7pM人GM-CSF的TF-1细胞增殖试验中具有60pM或更低的IC50中和效力。

[0263] 40、根据第38项的结合元件或抗体分子,在使用7pM人GM-CSF的TF-1细胞增殖试验中具有10pM或更低的IC50中和效力。

[0264] 41、根据上述各项中任一项的结合元件或抗体分子,其在使用7pM人GM-CSF的人粒细胞形态改变试验中具有50pM或更低的IC50中和效力。

[0265] 42、根据第41项的结合元件或抗体分子,其在使用7pM人GM-CSF的人粒细胞形态改变试验中具有25pM或更低的IC50中和效力。

[0266] 43、根据上述各项中任一项的结合元件或抗体分子,其在使用1nM人GM-CSF的单核细胞TNF α 释放试验中具有100pM或更低的IC50中和效力。

[0267] 44、包含上述各项中任一项的结合元件或抗体分子和药物可接受的赋形剂的组合物。

[0268] 45、一种包含编码第1-43项中任一项的结合元件或抗体分子的核酸序列的分离的核酸分子。

[0269] 46、一种含第43项的核酸分子的体外宿主细胞。

[0270] 47、一种制备第1-43项中任一项的结合元件或抗体分子的方法,包括培养第46项的宿主细胞。

[0271] 48、根据第47项的方法,进一步包括纯化所述结合元件。

[0272] 49、一种制备人GM-CSFR α 抗体分子的方法,所述方法包括

[0273] 通过包括HCDR1、HCDR2和HCDR3的亲本VH域的氨基酸序列中一个或多个氨基酸的插入、缺失或取代提供为亲本VH域的氨基酸序列变异体的VH域;其中

[0274] 所述亲本VH CDR1具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列;

[0275] 所述亲本VH CDR2具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列;并且

[0276] 所述亲本VH CDR3具有选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:165、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:195的氨基酸序列;或者其中

[0277] 所述亲本VH CDR1具有SEQ ID NO:173的氨基酸序列、所述亲本VH CDR2具有SEQ ID NO:174的氨基酸序列和所述亲本VH CDR3具有SEQ ID NO:175的氨基酸序列;

[0278] 和

[0279] 任选地组合如此提供的VH域和一个或多个VL域,从而提供一个或多个VH/VL组合;以及

[0280] 检测所述VH域或所述VH/VL组合或多个组合,以识别人GM-CSFR α 的抗体分子。

[0281] 50、根据第49项所述的方法,其中通过在包括LCDR1、LCDR2和LCDR3的亲本VL域的氨基酸序列中一个或多个氨基酸的插入、缺失或取代提供所述一个或多个VL域;其中

[0282] 所述亲本VL CDR1具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列;

[0283] 所述亲本VL CDR2具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列;并且

[0284] 所述亲本VL CDR3具有选自SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:170、SEQ ID NO:180、SEQ ID NO:190和SEQ ID NO:200的氨基酸序列。

[0285] 51、根据第49或50项的方法,包括测试所述抗体分子抑制人GM-CSF与人GM-CSFR α 的结合的能力。

[0286] 52、一种制备抗体分子组合物的方法,包括使用第49-51项中任一项的方法获得抗体分子和将所述抗体分子配制为包含至少一种额外组分的组合物。

[0287] 53、第1-43项中任一项的结合元件或抗体分子在制备用于治疗炎性、呼吸或自体免疫状态或疾病的药物中的用途。

[0288] 54、根据第53项的用途,其中所述状态或疾病为风湿性关节炎、哮喘、慢性阻塞性肺疾病、过敏反应、多发性硬化、髓系白血病或动脉硬化。

[0289] 附图简要说明

[0290] 图1、在TF-1增殖试验中两种抗GM-CSFR α 抗体的pA₂分析。当存在浓度增加的两种优化IgG4(分别为抗体6(图1A)和抗体1(图1B))时,利用浓度增加的GM-CSF诱导TF-1细胞增殖。对于曲线图1A和曲线图1B所显示的数据,氘标记的胸腺嘧啶的掺入被测量,并且各抗体浓度下GM-CSF的EC₅₀被计算。然后对于曲线图1C和曲线图1D中所显示的数据,通过schild回归对剂量比进行计算和分析以获得pA₂值。

[0291] 图2、在粒细胞形态变化试验中抗GM-CSFR α 抗体,即抗体6的pA₂分析。当存在浓度增加的IgG4时,用浓度增加的GM-CSF处理人(曲线图2A或2C)或猕猴(2B和2D)粒细胞。利用流式细胞仪测量粒细胞形态改变,并且各抗体浓度下GM-CSF的EC₅₀被计算(曲线图2A和曲线图2B)。然后通过schild回归对剂量比进行计算和分析以获得pA₂值。

[0292] 图3、在测量由7pM人GM-CSF诱导的TF-1细胞增殖的试验中,两种作为IgG4的抗体(即分别为抗体1和抗体6)的拮抗效力。也显示了阳性对照IgG42B7和同种型对照IgG4的数据。数据代表在同一试验内三次测定的平均值加标准差条。

[0293] 图4、在测量由7pM人GM-CSF诱导的人粒细胞形态变化的试验中,两种作为IgG4的抗体(即分别为抗体1和抗体6)的拮抗效力。也显示了对照IgG42B7和同种型对照IgG4的数据。数据代表在同一试验内三次测定的平均值加标准差条。

[0294] 图5、在测量由1nM人GM-CSF刺激的人单核细胞TNF α 释放的试验中,两种作为IgG4的抗体(即分别为抗体1和抗体6)的拮抗效力。也显示了对照抗体2B7和同种型对照IgG4的

数据。数据代表在同一试验内三次测定的平均值加标准差条。

[0295] 图6、在测量由7pM人GM-CSF诱导的人粒细胞存活的试验中,两种作为IgG4的抗体(即分别为抗体1和抗体6)的拮抗剂力。也显示了对照抗体2B7和同种型对照IgG4的数据。数据代表在同一试验内三次测定的平均值加标准差条。

[0296] 图7、亲合力成熟的人mAb抗体1和抗体6,而不是亲本人mAb28G5(抗体3)或已知的鼠抗体2B7,抑制人的造血祖细胞的GM-CSF驱动分化。来自脱落(apheresis)样品的 5×10^4 个解冻单核细胞在存在10ng/ml GM-CSF和所示浓度的mAb的情况下在半固体琼脂中培养。在第14天进行集落计数。曲线图显示了对抗 $\mu\text{g/ml}$ 浓度的mAb的集落数。

[0297] 图8、在huGM-CSFR Tg嵌合小鼠中亲合力成熟的mAb的效力的剂量-反应分析。用500ng huGM-CSF(或PBS)处理5Tg嵌合小鼠的组(皮下注射,每天两次,共4天(D.1-D.4)),并在D.0施用对照(CAT001)或所示浓度的测试mAb(抗体6)。在D.5时测定脾重量。

[0298] 图9、抗体6在人外周血单核细胞内源细胞因子释放试验中的效力的剂量-反应分析。 1×10^6 个细胞在存在和无抗体条件下培养72小时,并且对上清液进行IL-6和TNF α ELISA分析。数据代表在同一试验中两次测定的平均抑制加标准差条。

具体实施方式

[0299] 试验部分

[0300] 背景

[0301] 人抗体片段可以在体外从在丝状噬菌体的表面上呈现的组成集合中选择。该过程称作噬菌体呈现并且提供了获得人抗体片段的方法。该过程可以用于分离人抗人特异性并且可以进行特别修饰以得到具有特定亲合特征的抗体。

[0302] 仅由通过短肽连接物联合在一起的重链可变(VH)和轻链可变(VL)域组成的抗体片段包含确定抗原结合所需的全部信息。该片段已知为单链Fv(scFv)。当在噬菌体表面呈现时,scFv显示正确的折叠和与抗原的结合。通过该方法已经构建了大的人scFv组成集合,并且其提供了从其中分离用于开发为候选药物的单个克隆的来源。然后,候选的scFv被重组为用于治疗用途的全IgG(典型地人IgG)分子。

[0303] 摘要

[0304] 为了富集与人GM-CSFR α 结合的噬菌体群,对源自人脾淋巴细胞的scFv噬菌体呈现库进行选择。我们分离了具有选择的特征的scFv抗体,并且将这些scFv转化为IgG4。利用各种试验,抗体组(panel)被分离、优化和胚系化以产生具有治疗抗体的适当规格的IgG4。

[0305] 其序列在序列表中显示为抗体1、2和4~20的19个抗体克隆得自亲本抗体。该亲本在序列表中显示为抗体3,且在此也称为28G5。该19个克隆由于在如试验部分所描述的多种生物试验中显示出特别优良的性状而被选择,并且被赋予抗体号码1、2以及4~20。

[0306] 生物试验设计为反映如风湿性关节炎的疾病的炎症性质。例如,将中性粒细胞募集到作用位点所必须的中性粒细胞的形态变化、单核细胞的促炎症因子释放和响应于特定信号的炎症细胞类型的存活增加。抗体在这些试验中显示有效的中和活性。

[0307] 所用的试验方法的详细方案在下面名为“试验材料和方法”的部分中提供。

[0308] 抗体引导分离

[0309] 大的单链Fv(scFv)人抗体库被用于进行选择。这源自20位健康供体的脾淋巴细胞

并且被克隆至噬粒载体内。识别GM-CSFR α 的ScFv在对由HEK293T细胞中的受体的纯化标记、可溶、细胞外域的超表达得到的纯化GM-CSFR α 进行的系列重复选择循环中从噬菌体呈现库中分离。这基本按照Vaughan等所述实行[102]。简言之,在生物素化的受体暴露于噬菌体库之后,在抗生蛋白链菌素包被的磁珠上捕获具有结合的噬菌体的蛋白。未结合的噬菌体被洗去。然后,如Vaughan等所述得到结合的噬菌体,并且重复选择过程。在降低抗原浓度的情况下下进行三轮选择。对来自选择循环输出的scFv的代表性部分进行DNA测序。

[0310] 在这些对噬菌体呈现库的最初选择后,在被设计为确认能够抑制GM-CSF与纯化的GM-CSFR α 细胞外域结合的噬菌体表达scFv抗体的配体结合试验中鉴定了独特的scFv组。在配体结合试验中这些scFv的中和效力为0.65~3.3nM。

[0311] 在生化配体结合试验中有活性的抗体在TF-1增殖试验中测定其生物活性,F-1增殖试验通过测试抗体抑制GM-CSF刺激的TF-1细胞增殖的能力测量中和效力。TF-1为从红白血病患者建立的人前骨髓(premyeloid)细胞系。该细胞系的存活和增殖是因子依赖的,并且常规地在人GM-CSF中维持。通过测量在分裂细胞的新合成DNA中氘标记的胸腺嘧啶的掺入量的降低确定GM-CSF依赖的增殖的抑制。在该试验中,所有scFv都具有可测量的效力,IC₅₀值范围为约180~1200nM。

[0312] 最有效的scFv克隆被重排(reformat)为具人 γ 4重链恒定域和人 λ 轻链恒定域的人IgG4抗体分子。为了使抗体能够表达为经过一些修饰的Persic等描述的全IgG4抗体[100],对于最有效的scFv克隆构建载体。所述载体中包括oriP片段,以有利于与HEK-EBNA293细胞一起应用并允许游离型复制。VH可变域被克隆至表达载体pEU8.1(+)的分泌前导序列和人 γ 4恒定域之间的多接头内。VL可变域被克隆至表达载体pEU4.1(-)的分泌前导序列和人 λ 恒定域之间的多接头内。HEK-EBNA293细胞用表达重和轻链的构建体共转染,并且全抗体使用蛋白A亲和层析从条件培养基中纯化。纯化的抗体制剂被无菌过滤、并且在测试前在4℃下保存于磷酸缓冲盐水(PBS)中。通过使用BCA方法(Pierce)测量在280nm处的吸收值确定蛋白浓度。

[0313] 在TF-1增殖试验中,重排的IgG与已知鼠抗体2B7进行比较。IgG4在该试验中保留或增加了活性,IC₅₀值范围为6~约1600nM。

[0314] 在炎症性疾病中,中性粒细胞的形态变化对于其募集到作用位点是必须的。人粒细胞形态变化试验被设计为利用荧光活化细胞分选(FACS)测量从血液中分离的粒细胞在暴露于GM-CSF后的形态改变而模拟该生物反应。测定了抗GM-CSFR α IgG4抗体抑制中性粒细胞对GM-CSF的形态改变反应的能力,并且确定克隆的IC₅₀值范围为约15~350nM。代表性抗体28G5在猕猴粒细胞形态改变试验中以约5nM的IC₅₀中和猕猴GM-CSFR。已知的鼠抗体2B7也能够中和由GM-CSF结合猕猴受体所导致的生物反应。

[0315] 然后,使用BIAcore测量抗体的受体结合亲和力。计算的K_D值范围为32~377nM。

[0316] 优化

[0317] 为了提高28G5的效力,启动了优化程序。在完成V_H或V_L CDR3的随机诱变的情况下产生了抗体库。各个CDR3在两个6氨基酸的块中被随机化以覆盖整个CDR,从而产生H1(VH CDR3中的6aa的N末端块)、H2(VH CDR3中的6aa的C末端块)、L1(VL CDR3中的6aa的N末端块)和L2(VL CDR3中的6aa的C末端块)库。所获得的库进行人GM-CSFR α 结合的重复选择循环。然后,由该选择过程分离的克隆被用于构建包含具有变异重链CDR3和变异轻链CDR3的scFv的

组合噬菌体库。这些库也被进行相同的选择过程。

[0318] 在优化过程的各个阶段,利用28G5和受体的表位竞争试验鉴定能够抑制28G5IgG4结合GM-CSF受体的scFv,并且然后在如下所述的TF-1增殖试验中进行测试。

[0319] 在28G5的重链CDR3序列的随机诱变后,scFv的组利用在TF-1试验中可测量的中和效力进行鉴定。当VH CDR3的3'末端被随机化时,获得了大多数效力改善。

[0320] 在28G5的轻链CDR3序列的随机诱变后,scFv的组利用在TF-1试验中可测量的中和效力进行鉴定。当VL CDR3的3'末端被随机化时,获得了所有的效力改善。

[0321] 在重和轻链CDR3随机突变库组合后,scFv的组利用在TF-1增殖试验中具有超过亲本scFv28G5的较高效力进行确认。分离具有超过亲本>60000倍的效力提高的scFv。所有库组合产生改进的scFv,即H1/L1、H1/L2、H2/L1、H2/L2。因为没有从L1库分离出改进的scFv,所以这是特别有趣的现象。

[0322] 使用上述方法,在28G5的优化过程中被鉴定的19个scFv的组被重排并表达为IgG4。所述组包括抗体克隆1、2和4~20。在该组中某些最有效的克隆从组合的H和L CDR3突变库获得。在TF-1增殖试验中测试该组中的IgG4抗体的活性,并且与已知鼠抗体2B7对比。在该试验中,所有优化的IgG4比2B7更有效。此时,2B7具有约1.6nM的计算IC50,而这些克隆具有约1pM~约1100pM的IC50计算值范围。数据列于以下表1中,并总结如下:

[0323] IC50<1500pM抗体1、2和4~20

[0324] IC50<300pM抗体1、2、4-12和14-20

[0325] IC50<60pM抗体1、2、4-6、8-11、14和16-20

[0326] IC50<10pM抗体1、5、6、11和20。

[0327] 图3说明在TF-1增殖试验中,与已知的抗体2B7相比,本发明的两种代表性抗体,抗体1和抗体6的拮抗效力。

[0328] BIAcore2000系统(Pharmacia Biosensor)被用于测定某些先导优化的IgG4与重组纯化标记的GM-CSF受体细胞外域的相互作用的动力学参数。抗体的亲和性被极大改进,具有0.127nM~约5nM的K_d计算值。数据列于表2中。结合速率(on-rate)和解离速率(off-rate)都获得改进。IgG4对GM-CSFR α 可溶性细胞外域的亲和性与其在TF-1试验中的性能之间的相关性是极好的,具有0.85(p<0.0001)的皮尔逊系数。通过对比,2B7的KD被单独计算并且显示为约7nM。

[0329] 在28G5的优化过程中鉴定的IgG4抗体在人粒细胞形态改变试验中进行测试,并且与已知鼠抗体2B7比较。所有在该试验中测试的抗体(抗体1、2、5、6、9-11、16和20)都是非常有效的,具有7.8~90pM的IC50值范围。其中,抗体1、2、5、6、9、16和20具有不到50pM的IC50,且抗体1、2、6、16和20具有不到25pM的IC50。我们的抗体比具有477pM的IC50的2B7更有效。数据显示在表3中。图4说明在人粒细胞形态改变试验中,与已知抗体2B7相比,本发明的两个代表性抗体,抗体1和抗体6的拮抗效力。

[0330] 在28G5的优化过程中鉴定的IgG4抗体在猕猴形态变化试验中进行测试。所有抗体能够中和GM-CSF对猕猴受体以及人受体的活性,并且所有抗体都比2B7更有效。2B7具有26pM的IC50,而抗体组中的代表性抗体(抗体6、抗体1和抗体2)分别具有1.73、2.03和3.2pM的IC50值。

[0331] 在单核细胞TNF α 释放试验中,对在28G5的优化过程中鉴定的IgG4组进行中和效力

测试。该试验测试抑制人单核细胞在用GM-CSF处理时释放促炎症因子TNF α 的能力。抗体1、2、5、6、9和10被测试,它们在该试验中都是有活性的,并且能够完全中和GM-CSF对受体的作用(IC₅₀范围为约43~139),而333nM浓度的2B7仅能够实现GM-CSF诱导的TNF α 释放的50%抑制,表明在该试验中该抗体仅为部分抑制因子。图5说明在单核细胞TNF α 释放试验中,与已知抗体2B7相比,本发明的两个代表性抗体的拮抗效力。数据在表4中显示,并且总结如下:

[0332] <150pM抗体1、2、5、6、9和10号

[0333] <110pM抗体1、2、5、6和9号

[0334] <100pM抗体1、5、6和9号

[0335] 炎症疾病的特点为炎症细胞类型响应于特定信号而增加存活。粒细胞在GM-CSF存在时能够存活更长,因此,在粒细胞存活试验中测试在28G5优化过程中分离的IgG4抗体抑制该反应的能力。所有来自先导物优化的抗GM-CSFR α IgG4在该试验中都是有活性的,代表性中和效力(IC₅₀)的范围为7.0~843.7pM。这与已知鼠抗体2B7相反,其直到83nM浓度时还是完全无活性的。图6说明在粒细胞存活试验中,与已知抗体2B7相比,本发明的两个代表性抗体,抗体1和抗体6的拮抗效力。

[0336] 如图3~6所示的这些数据表明与已知鼠抗体2B7相比,我们的抗体具有显著不同的特性。例如,在粒细胞存活和TF-1增殖试验中,本发明的代表性抗体分别抑制用7pM GM-CSF刺激的粒细胞存活和TF-1增殖,而2B7不抑制粒细胞存活、但抑制TF-1增殖(虽然是比我们的抗体低的程度)。数据显示,与已知GM-CSFR α 抗体相比,本发明的结合元件具有较高的亲和性和较高的抑制各种由GM-CSF-R介导的生物效应的能力。

[0337] 28G5的衍生氨基酸序列及其衍生物与VBASE数据库中的已知人胚系序列比对,并且通过序列相似性鉴定最接近的胚系。28G5及其衍生物的VH域的最接近胚系被鉴定为VH1DP5。28G5VH在框架区内具有与VH1-24(DP5)胚系相比的14个改变。

[0338] VL域的最接近胚系为V λ VL1-e(DPL8),其在框架区内仅具有胚系的5个改变。28G5及其衍生物的框架区通过定点突变返回胚系以同样地匹配天然的人抗体。除了一个氨基酸以外的所有这些氨基酸可以被转变为在抗体效力方面仅具有适当改变的胚系。重链的94位的氨基酸异亮氨酸(使用Kabat编号,Kabat等1971)不能被改变为胚系苏氨酸而不完全丧失活性。因此,在抗体框架区内保持胚系的该单一改变。

[0339] 在TF-1增殖试验中进行抗-GM-CSFR α 抗体中的两个,抗体6和抗体1,的全pA₂分析。数据证实在该系统中这些抗体是高度有效的拮抗剂,计算的pA₂值分别为-11.3 $\pm$ 0.2和-11.0 $\pm$ 0.2(图1)。

[0340] 在人和猕猴粒细胞形态改变试验中进行抗-GM-CSFR α 抗体之一(抗体6)的全pA₂分析。数据证实在这些系统中该抗体是高度有效的拮抗剂,在人和猕猴试验中计算的pA₂值分别为-10.58和-10.78(图2)。

[0341] 在半固体琼脂试验中,GM-CSF驱动造血祖细胞分化为粒细胞和巨噬细胞集落。因此,在集落形成试验中,使用源自外周血的祖细胞测试亲和力成熟抗体6和抗体1、亲本mAb抗体3(28G5)和阴性对照(CAT001)的拮抗该GM-CSF特异性活性的能力。图7中显示的数据表明两种亲和力成熟的代表性mAb都为人GM-CSF介导的体外造血集落形成的有效抑制因子。

[0342] 对于亲和力成熟的mAb,大致的IC₅₀值为0.08 μ g/ml(抗体6)和0.25 μ g/ml(抗体1)。

有趣的是已知的鼠抗体2B7在该试验中直到66nM浓度时仍表现出很少(如果有的话)的抑制活性。

[0343] 在对照试验中,如所预想的,亲和力成熟的mAb对SCF+IL-3+G-CSF的组合所介导的集落形成没有影响,并且当无细胞因子时,集落形成可以忽略(<4个集落/培养物)。

[0344] 对于huGM-CSFR α 特异性mAb拮抗活性的体内分析,表达人GM-CSFR的 α 和 β 两条链的转基因(Tg)小鼠的骨髓移植至野生型小鼠中可以被用于产生嵌合动物,从而转基因的huGM-CSFR表达限于骨髓源的造血细胞、并且因此更类似内源受体的表达特征(expression profile)。在这些Tg嵌合小鼠中,给予huGM-CSF导致脾重量增加和循环血液单核细胞的边缘化。对亲和力成熟的抗体6和阴性对照mAb(CAT001)测试其拮抗这些GM-CSF介导的体内反应的能力。对于剂量反应分析,包括5只Tg嵌合鼠的6个组用500ng的huGM-CSFR α 皮下注射,每天处理2次,共4天(第1-4天),则5只动物组成的第七对照组仅接受PBS。6组huGM-CSF处理的动物中的4组在D.0时以16mg/kg、5.3mg/kg、1.78mg/kg或0.59mg/kg的量接受测试mAb(抗体6),而第五组huGM-CSF处理的动物在D.0时以16mg/kg的量接受对照CAT001。图8中呈现的结果证明,与对照PBS相比,使用huGM-CSF处理诱导了脾重量的显著增加和循环血单核细胞的降低。如预想的,使用16mg/kg对照CAT001进行处理对脾重量的增加或血液单核细胞的降低都没有影响。相反,在以测试mAb抗体6处理后,具有清晰的剂量-反应效应,如在16mg/kg时,该抗体消除了脾重量的增加,尽管在使用0.59mg/kg的mAb时仍然有明显的反应,但效应被显著降低。IC₅₀似乎在0.59mg/kg和1.78mg/kg之间的某处。对于GM-CSF诱导的循环单核细胞的减少观察到类似结果-使用16mg/kg的测试mAb抗体6的处理消除了降低,而0.59mg/kg的mAb对该反应仅有很小影响。这些数据显示抗-GM-CSFR α 抗体为人GM-CSFR α 的体内拮抗剂。

[0345] 为了进一步研究这些抗-GM-CSFR α 抗体的抗炎特性,在外周血单核细胞细胞因子释放试验中测试抗体6。在该试验中,TNF α 和IL-6可以内源释放,这取决于供体。在该试验中,GM-CSF也是由细胞内源产生的,而非外源添加,并且因此在该试验中观察到的结果代表天然的内源GM-CSF结合其受体的生物学效应的抑制。

[0346] 在给予抗体6后,如图9所示,这两种细胞因子都受到剂量依赖性的抑制。这些数据表明这些抗体可以抑制天然GM-CSF的活性,以及通过抑制GM-CSF信号发生,可以抑制如IL-6和TNF α 的关键促炎症细胞因子,两者都与多种如风湿性关节炎的炎症指征相关。

[0347] 此外,基于抗体6的这一结果,可以预计抗体1~20中每个在该试验中表现抑制作用,因为所有抗体1~20被认为结合GM-CSFR α 的相同区域。

[0348] 重要的抗原识别残基的定位、以及序列分析

[0349] 为了鉴定哪个位置对于配体结合通常是保守的、以及在仍保留配体结合活性的抗体中哪个位置是可变的,我们确定了在胚系化抗体6scFv序列中多个位置的残基的可变性。

[0350] 对抗原结合有作用的位置显示为VL域中的Kabat残基27A、27B、27C、32、51、52、53、90、92和96,以及VH域中的Kabat残基17、34、54、57、95、97、99和 00B。

[0351] 确认了7个显示为对抗原结合重要的位置:H95、H97、H99、H100B、L90、L92和L96。然后我们分析了在28G5抗体优化过程中分离的160个变异体的序列中这些位置处的残基,所有这些变异体在TF-1增殖试验中都显示出最少5倍的效力提高。

[0352] 以下表5中的数据总结了在这些位置中的各处和L95A处观察到的不同氨基酸(来

自可能的20种当中)。28G5和/或抗体6中这些位置的氨基酸是极保守的,这很好地证明了那些氨基酸对于结合抗原是关键的。例如,以下位置的氨基酸是极保守的:H97、H100B、L90、L92。

[0353] 方法

[0354] 基本如参考文献[101]所述,编码亲和力成熟的和胚系化抗体6scFv的DNA序列被转化为核糖体呈现形式。为了产生含随机点突变的变异体574D04序列的库,采用制造商的方案(BD Bioscience)中的高突变条件(7.2个突变/1000bp)对抗体6序列进行易错PCR。该库在核糖体上表达,并且与纯化示踪的GM-CSFR α 共培养以使得结合发生。能够结合标记的GM-CSFR α 的变异体被捕获,并且利用蛋白G(Dynal)包被的顺磁珠移除。群体中残留的未结合变异体被加入到四种生物素化的抗一个体型抗体的池中,其预先得自如参考文件[102]所述的大的人抗体噬菌体呈现库并且已知与抗体6scFv结合。生物素化的抗一个体型抗体结合的变异体利用抗生蛋白链菌素珠捕获,而未结合的变异体被洗去。根据参考文件[101]中的一般方法,该过程重复进行核糖体呈现选择的另两个循环。

[0355] 使用与Edwards BM等(2003)Journal of Molecular Biology Vol334:103中所述相同的方法,来自选择结果的变异体的代表性部分被克隆至噬粒载体中,并且在噬菌体上表达scFv变异体以用于通过ELISA进行测试。那些不显示与纯化标记的GM-CSFR α 结合的突变体被测试与在选择中使用的四种抗一个体型抗体池的结合。在抗一个体型结合试验中表现出等于或大于抗体6scFv的结合的变异体被测序,并且对序列进行分析以发现具有高频突变的位置。

[0356] 使用486个V_H链序列和451个V_L链序列,发现变异体群的平均突变率为每V_H或V_L链3.05个氨基酸。对他们分析突变热点,测绘与其沿scFv的位置相关的突变频率。该分析集中于每V_H或V_L具有至少一个CDR突变且每V_H或V_L具有不到4个突变的那些克隆。从该123个V_H和148个V_L序列的组中,热点被限定为具有5%或更高突变频率的位置。

[0357] 使用核糖体呈现负选择方法,抗体6的V_HCDR3和V_LCDR3中的七个位置作为抗原结合重要的推定位置而受到特别关注。然后对在28G5抗体优化过程中分离的、其中V_HCDR3和V_LCDR3的整个序列被随机化且选择较高亲和性的160个序列变异体进行分析。

[0358] 线性表位的确定

[0359] 利用PEPSCAN方法,我们对抗体6和已知抗体2B7抗各代表GM-CSFR α 细胞外部分氨基酸序列的短区域的2442个肽的信号进行了筛选。各抗体抗所有肽的结合信号被平均以产生平均的背景信号,并且对于各个肽计算信号/背景比。对于抗体6和2B7两者,4或更高的信号/背景比被记作特异性的阳性信号。分析产生特异性阳性信号的肽序列的保守结合基序,并且发现抗体6优先结合相应于成熟人GM-CSFR α 的226~230残基的YLDFQ基序,且2B7优先结合相应于成熟的人GM-CSFR α 的278~281残基的DVRI基序。对于成熟受体的氨基酸序列的编号如SEQ ID NO:206所示。

[0360] PEPSCAN方法(肽结合扫描)

[0361] 如先前文献所述[103],合成具有源自GMCSF的序列的大部分重叠的15-mer合成肽,并且使用信用卡式(credit-card format)mini-PEPSCAN卡(具有3 μ l孔的455-孔板)进行筛选。在基于PEPSCAN的酶联免疫试验(ELISA)中测试抗体与各个肽的结合。含共价连接肽的455-孔信用卡式聚丙烯卡与样品(例如10 μ g/ml抗体,或以PBS溶液稀释1000倍的血清,

其含5%马血清(v/v)和5%卵清蛋白(w/v))和1%Tween80,或者在PBS溶液中温和封闭的情况下,与4%马血清(v/v)和1%Tween80共孵育(40℃,过夜)。清洗后,肽与抗-抗体过氧化物酶共孵育(1/1000稀释液,例如兔-抗-小鼠过氧化物酶,Dako)(1小时,25℃),然后,在清洗后,加入过氧化物酶底物2,2'-连氨基-双-3-乙基苯并噻唑磺酸盐(ABTS)和2μl/ml的3% H₂O₂。一小时后,测量显色。用CCD相机和图像处理系统定量ELISA的显色。装置包括CCD-相机和55mm镜头(Sony CCD Video Camara XC-77RR,Nikon micro-nikkor55mmf/2.8镜头)、相机适配器(Sony相机适配器DC-77RR)和图像处理软件包Optima6.5版(Media Cybernetics, Silver Spring,MD20910,U.S.A.)。Optima运行于奔腾计算机系统上。

[0362] 试验材料和方法

[0363] 生化配体结合试验

[0364] 如W001/66754[104]的实施例3所述制备纯化的scFv制剂。使用BAC方法[105]确定纯化的scFv制剂的蛋白质浓度。以50μl/孔用PBS稀释到2.5μg/ml的抗人IgG4在4℃下涂覆Fluoronuc™96孔微滴定板过夜。以300μl/孔的PBS/0.1%Tween-20清洗板3次,然后用300μl/孔的溶于PBS的3%BSA在室温下封闭一小时。该板用300μl/孔的PBS/0.1%Tween-20再清洗3次,然后向各个孔中加入50μl在1%BSA/PBS中稀释至62.5ng/ml的人GM-CSFR α ,并且板在室温下孵育1小时。如上所述清洗3次后,向各个孔中加入25μl样品材料,然后加入25μl在1%BSA/PBS中稀释至2nM的生物素化GM-CSF。为了确定全结合,仅缓冲液被用作样品材料。为了确定非特异性结合,在1%BSA中稀释至100nM的未标记GM-CSF被用作样品材料。在如上所述清洗3次前,板在室温下孵育1小时。向板的各个孔中加入50μl在DELFIATM分析缓冲液中稀释至100ng/ml的铕标记抗生蛋白链菌素(PerkinElmer),并且在用DELFIATM清洗缓冲液清洗7次之前,在室温下孵育30~60分钟。向板中加入50μl/孔的DELFIATM增强液,在读板器上于615nm处对样品进行读数。

[0365] TF-1增殖试验

[0366] 从R&D系统获得的、并且常规地保持在RPMI1640、10%FBS、1mM丙酮酸钠和4ng/ml GM-CSF中的TF-1细胞通过的分析培养基(RPMI1640、5%FBS、1mM丙酮酸钠)中清洗3次、在分析培养基中重悬、以及在37℃下5%CO₂中孵育7~24小时而使细胞饥饿。然后将细胞以1×10⁵/ml的浓度重悬在分析培养基中,并且向96孔平底组织培养板的各个孔中加入100μl。在用分析培养基稀释之前,测试样品通过无菌过滤原液样品进行制备。然后,向各个细胞孔中加入50μl测试材料,并且将其在37℃下5%CO₂中孵育45~60分钟。然后,向各个孔中加入50μl的以分析培养基稀释至EC₈₀值的GM-CSF(或者对于某些批次的GM-CSF为0.4ng/ml),将板在加湿室内在37℃下5%CO₂中孵育16小时。这代表了7pM GM-CSF的终浓度。为了测量细胞的增殖,向板的各个孔中加入20μl在分析培养基中稀释到5.0μCi/ml的³H-胸腺嘧啶,并将板在37℃下5%CO₂中孵育4小时±30分钟。然后使用板收集器在96孔GF/C Unifilter™板上收获细胞,并且清洗。在向过滤板的各孔中加入50μl MicroScint20™后,密封板,并且在TopCount读板器上计数。

[0367] 人粒细胞形态改变试验

[0368] 人的血沉棕黄层(来自输血服务的人血包装)与溶于0.9%NaCl的3%Dextran T-500等体积混合。然后将混合物以竖直位置孵育直至形成界面。收集上层,并且在histopaque1.077密度梯度顶上成层,然后以400g离心40分钟,并且使其无制动停止。去除

该梯度的上层,留下粒细胞球。通过在20ml冰水中重悬细胞30秒、然后立即加入冰冷的1.8%氯化钠裂解该球粒中残留的任何红血球。然后以1200rpm使细胞重新成球,并且以 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 的浓度在分析培养基(RPMI1640、10%FBS、100u/ml青霉素、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 链霉素、25mM HEPES)中重悬。然后向96孔平底组织培养板的各个孔中加入100 μl 细胞。测试样品通过无菌过滤原液样品、并且在分析培养基中适当稀释而制备。

[0369] 对于先导分离(lead isolation),50 μl 的测试样品随后加入细胞中,且将板在37 $^{\circ}\text{C}$ 下5% CO_2 中孵育45~60分钟。这代表了7pM GM-CSF的终浓度。然后向各个孔内加入50 μl 在分析培养基中稀释到0.4ng/ml的GM-CSF,并且在加湿箱内、在37 $^{\circ}\text{C}$ 下5% CO_2 中孵育4小时。

[0370] 对于先导物优化,在分析培养基中稀释的过滤IgG4与溶于分析培养基的0.4ng/ml GM-CSF等体积混合。这代表了7pM GM-CSF的终浓度。然后向各个孔内加入100 μl 抗体/GM-CSF混合物。然后在加湿箱内、在37 $^{\circ}\text{C}$ 下5% CO_2 中孵育3小时。

[0371] 加入冷甲醛达到1.25%的终浓度,并且细胞在4 $^{\circ}\text{C}$ 固定过夜。每孔通过流式细胞仪分析2000~5000个事件。然后,使用CellQuest得出各个样品的前向散射(FSC)的几何平均值。当计算几何平均值时,细胞被屏蔽(gate)以排除不相关的群体(如死亡细胞/碎片)。

[0372] 猕猴粒细胞形态改变试验

[0373] 在测量用GM-CSF刺激后的猕猴粒细胞的形态改变的试验中对抗体进行测试。从猕猴全血中纯化粒细胞,并且基本如人粒细胞形态改变试验所述进行试验。

[0374] 使用生物传感器分析的结合亲和力和数据

[0375] BIAcore200系统(Pharmacia Biosensor)用于测定scFv和IgG4与重组受体之间相互作用的动力学参数。Biosensor利用表面等离子共振的光学效应研究分析物分子与共价连接到右旋糖酐基质上的配体分子的相互作用所导致的表面浓度变化。典型地,在自由溶液中的分析物物质放过偶联的配体,并且随着局部SPR信号增加检测到任何结合。然后进入清洗期,在此期间,随着SPR信号降低观察到分析物物质的解离,其后,任何保留的分析物与配体剥离并以几个不同的分析物浓度重复该过程。在试验期间通常使用系列对照以确保绝对结合能力或偶联配体的动力学特征不发生显著改变。专有的hepes缓冲盐水(HBS-EP)通常被用作分析样品的主稀释液和解离相溶剂。试验数据相对于时间以共振单位(直接对应于SPR信号)记录。共振单位直接与结合的分析物的大小和量成正比。然后,BIA评估软件包可以被用于指定解离相(解离速率单位 s^{-1})和缔合相(缔合速率单位 $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)的速率常数。然后,这些数字使得能够计算缔合和解离亲和常数。

[0376] 使用其中IgG4通过氨基蛋白A表面非共价捕获的单个试验估计IgG4的亲合性。然后重组纯化-标记的GM-CSF受体细胞外域的系列稀释液(从100~6.25nM)顺序经过IgG4。利用浓度(Bradford)和预测的非翻译后修饰的成熟多肽质量(39.7kDa)计算受体的摩尔浓度。以相同的模式分析两个独立的数据集中的每一个。使用设置为对缔合和解离速率进行同时整体计算的1:1朗缪尔模型对参考细胞校正数据进行拟合,Rmax值设定为全局的(global)。测定在各个周期中捕获的IgG4的水平以确保捕获的量在整个试验过程中保持稳定。此外,IgG4的解离速率被测定以判断是否需要对于基线漂移进行校正。然而,两种蛋白A相互作用被证明是可充分再现的和足够稳定的。数据的有效性由计算出的 χ^2 和T值(参数值/偏移量)限制,其分别必须为 <2 和 >100 。

[0377] 纯化标记的GM-CSFR α 细胞外域的制备:

[0378] 整合编码人GM-CSF受体 α 细胞外域的序列(SEQ ID NO:205,代表成熟GM-CSF R的1-298氨基酸)和鼠IL-3信号序列并且加入N-末端纯化标记的pEFBOS表达载体[106]被用于产生重组的N末端标记的GM-CSF受体细胞外域(ECD)多肽。利用标准程序标记的ECD多肽在CHO细胞内使用pEFBOS载体表达。该多肽也可称作纯化的GM-CSFR α 细胞外域、或称作GM-CSFR α 的可溶性细胞外域。

[0379] 如Flag肽(DYKDDDE-SEQ ID NO:204)、Fc、生物素或his标签的任何适当的纯化标签都可以使用。可以使用任何适当的技术进行纯化,例如,Flag标记的ECD多肽(SEQ ID NO:203)可以在M2亲和层析柱上纯化,并且用FLAG肽洗脱。

[0380] 单核细胞TNF α 释放试验

[0381] 单核细胞的纯化(单核细胞分离试剂盒-Miltenyi Biotec-130-053-301):

[0382] 人血沉棕黄层(来自输血服务的人血包装)在histopaque1.077密度梯度(Sigma, 货号1077-1)顶上成层,并且细胞以400 $\times$ g离心40分钟。在停止离心时不施加制动。然后,由界面处收集PBMC细胞。细胞在PBS中清洗,并以300 $\times$ g离心10分钟成球,然后残留的红血球通过在20ml冰水中重悬15秒,接着立即加入冰冷的1.8%氯化钠进行裂解。然后将细胞以1200rpm离心5分钟成球,并且在600 μ l MACS缓冲液(PBS, 2mM EDTA)中重悬。在加入200 μ l 半抗原-抗体混合体(Hapten-antibody cocktail)(也是由试剂盒提供的)并混合之前,200 μ l 由试剂盒提供的Fc封闭试剂被加入到细胞中并且混合。然后,在50ml MACS缓冲液中清洗两次之前,将细胞于4 $^{\circ}$ C孵育15分钟。在加入200 μ l 半抗原-抗体混合体并混合之前,将细胞球重悬在600 μ l MACS缓冲液中,然后加入200 μ l MACS抗-半抗原微球并混合。细胞于4 $^{\circ}$ C孵育45分钟,然后在50ml MACS缓冲液中清洗并在500 μ l MACS缓冲液中重悬。在将细胞悬浮液加到柱子上之前,通过用3ml MACS缓冲液清洗准备单柱(Miltenyi Biotec130-042-401)。收集的流出液为富集的单核细胞部分。用2 $\times$ 3ml MACS缓冲液洗柱,并且收集流出液。使用标准的流式细胞仪方法,通过以抗-CD14-PE染色检查单核细胞纯度。最终将细胞以4 $\times$ 10⁶/ml浓度重悬在分析培养基中(RPMI1640、10%FBS、100u/ml青霉素、100 μ g/ml链霉素)。

[0383] 单核细胞的刺激:

[0384] 向Costar96孔平底组织培养板的各个孔内加入50 μ l细胞。向所有孔内加入25 μ l的150 μ g/ml rhIFN γ (R&D systyems)。在分析培养基中稀释的过滤IgG4与溶于分析培养基的56ng/ml (4nM)GM-CSF等体积混合。这代表1nM的GM-CSF终浓度。然后,将75 μ l的抗体/GM-CSF混合物加入到各个孔内。对照为仅具有GM-CSF的孔、或无GM-CSF和无抗体的孔。然后,将板在加湿室内、在37 $^{\circ}$ C下以5%CO₂孵育18小时。然后收集上清液以通过ELISA测试TNF α 水平。

[0385] TNF α ELISA(R&D Systems ELISA Development System DY210):

[0386] 用100 μ l溶于PBS中的4 μ g/ml捕获抗体室温下涂覆Fluoronunc Immunosorb ELISA板过夜。然后,用PBS/0.1%Tween清洗板三次,并且用300 μ l/孔的溶于PBS中的3%Marvel在室温封闭1小时。用PBS/0.1%Tween清洗板三次。100 μ l来自测试板的上清液被移至ELISA板,并且在分析培养基中稀释的TNF- α 被滴定液被加入到对照孔内。在以PBS/0.1%Tween清洗4-5次之前,将板在室温下孵育2小时。100 μ l在1%Marvel/PBS中稀释至300ng/ml的检测抗体被加入到板的各个孔内,并在以PBS/0.1%Tween清洗4-5次之前,将板在室温下再孵育2小时。抗生蛋白链菌素-钨(PerkinElmer1244-360)于DELFI A分析缓冲液

(PerkinElmer4002-0010)中以1:1000进行稀释,并且以100 μ l/孔加入,然后在室温下孵育45分钟。然后,将板在DELTA清洗缓冲液中洗7次,然后加入100 μ l/孔增强液(PerkinElmer4001-0010),并且使用读板器在615nm处读数。

[0387] 粒细胞存活试验

[0388] 如中性粒细胞活化试验(形态改变试验)所述,从人血沉棕黄层中纯化细胞、在分析培养基(RPMI1640、Glutamax、10%FBS、100U/ml青霉素、100 μ g/ml链霉素)中清洗,并且以 1×10^6 /ml的浓度在分析培养基中重悬。100 μ l细胞被加入到Costar96孔平底组织培养板的各个孔内。过滤的抗体原液在分析培养基中稀释,并且与0.4ng/ml的GM-CSF等体积混合。这代表7pM GM-CSF的终浓度。对照孔只含培养基或只含GM-CSF。然后,100 μ l测试样品/GM-CSF混合物被加入板的各个孔内,并且将细胞在加湿箱内37 $^{\circ}$ C/5%CO₂下孵育68小时。向各孔中加入20 μ l的AlamarBlue,并且板在加湿箱内37 $^{\circ}$ C/5%CO₂下再孵育24小时。然后,使用读板器在560nm和590nm处读数。

[0389] 抗-GM-CSFR α 抗体在TF-1增殖试验中及在人和猕猴粒细胞形态改变试验中的pA₂分析

[0390] 定量竞争性拮抗剂的亲和性的主要药理学工具为Schild分析。使用该途径,可以确定在功能试验中估测拮抗剂亲和性的系统独立的手段。该方法基于拮抗剂浓度及其亲和性决定激动剂反应的对抗作用的概念。因为对抗作用可以被量化并且拮抗剂的浓度是已知的,所以,拮抗剂的亲和性可以被确定。通过测量(在有或无拮抗剂时测量)激动剂的等活性浓度比值(称作剂量比(DR))对该对抗作用进行量化。

[0391] 可以通过使用激动剂(典型地GM-CSF)在无结合元件时的EC₅₀与该激动剂在有单浓度的结合元件存在时的EC₅₀的比值计算剂量比。然后,表达为log(DR-1)的剂量比可以在关于log[结合元件]的线性回归中使用以产生Schild回归。因此,对于结合元件的每个浓度存在相应的DR值;将这些值绘制为关于log[结合元件]上的log(DR-1)的回归。如果对抗作用是竞争性的,则根据方程式如下的Schild公式在log(DR-1)和log[结合元件]之间具有线性关系:

[0392] $\text{Log}(\text{DR}-1) = \log[A] - \log K_A$

[0393] 在这些条件下,坐标的0值给出其中log[a]=log K_A的X轴的截距。因此,给出log(DR-1)=0的结合元件浓度等于log K_A,结合元件-受体复合物的平衡分离常数。这是与系统无关的、对于每一个含该受体的细胞系统都精准的结合元件亲和性定量方法。

[0394] 因为K_A值由对数曲线获得,因此其为log标准分布。该特定浓度的负对数被经验地称作pA₂,产生激动剂剂量效应曲线的两倍移动的拮抗剂浓度。拮抗效力可以通过以下公式由产生单一剂量比值的单一拮抗剂浓度计算pA₂进行量化,其中

[0395] $\text{pA}_2 = \log(\text{DR}-1) - \log[a]$

[0396] [a]=必须使拮抗剂浓度加倍以得到原始第二大反应的拮抗剂摩尔浓度。

[0397] DR=通过测量在有和无拮抗剂时测量的激动剂的等活性浓度的比值而量化的剂量比。

[0398] pA₂可以从剂量效应试验数据计算。

[0399] 在集落形成试验中GM-CSF介导的血细胞祖细胞体外分化的抑制

[0400] 造血祖细胞富集的外周血单核细胞从进行祖细胞动员和脱落作为其标准临床处

理的部分的供者获得。样品进行去识别化(de-identified),并且细胞在使用前不进行冷冻保藏。 5×10^4 单核细胞在终浓度为10ng/ml的人GM-CSF存在下在半固体琼脂中培养[107]。测试的亲合力成熟人mAb和已知的鼠抗体2B7以10、5、1、0.5、0.1或0.05 μ g/ml的终浓度被加到琼脂培养物内。亲本的人mAb28G5和同种型匹配的阴性对照人mAb(CAT001)以10 μ g/ml的单一浓度进行测定。出于对照目的,mAb也测定其阻断由SCF、IL-3和G-CSF组合(Crocker等2004)所激发的集落形成的能力以及在无细胞因子存在时其对集落形成的影响。在具有10%CO₂的空气中孵育14天后评估集落形成(>40个细胞的聚集)。集落用戊二醛固定,并且使用解剖显微镜以35倍放大率进行计数。

[0401] 人GM-CSFR $\alpha\beta$ 转基因小鼠中的GM-CSF体内生物活性的抑制

[0402] 产生在MHC I类促进因子的调控下表达人GM-CSFR的 α 和 β 链两者的转基因(Tg)小鼠,并且已有文献描述了对于给予huGM-CSF的体内脾和血细胞反应[108]。为对huGM-CSFR α 特异性mAb拮抗剂活性进行体内分析,从Tg小鼠移植骨髓至野生型鼠体内可以产生嵌合型动物,从而转基因huGM-CSFR $\alpha\beta$ 表达被限于骨髓来源的造血细胞,并且因此更类似于内源受体的表达特征。在这些huGM-CSFR $\alpha\beta$ Tg嵌合小鼠中,给予huGM-CSF导致脾重量的增加和循环血单核细胞的边缘化。

[0403] Tg嵌合小鼠的产生

[0404] 供体Tg鼠的股骨和胫骨被去除,并且以无菌PBS加3%小牛血清(FCS)冲洗骨髓。然后通过23G针抽取骨髓塞以获得单细胞悬浮液,然后用冷PBS+3%FCS清洗细胞一次,并且通过不锈钢丝网。然后通过0.168M氯化铵缓冲液中裂解去除红细胞,之后用磷酸缓冲盐水(PBS)+3%FCS再清洗细胞2次,然后再次通过不锈钢丝网。为了进一步去除死细胞和细胞碎片,悬浮液通过FCS垫离心。活细胞以球粒回收,用PBS清洗一次,并且以 2.5×10^7 /ml在PBS中重悬。5-8周龄的接受体C57/BL6小鼠以3小时间隔的550Rad两次致死剂量进行照射。接受体小鼠被静脉(i.v.)注射0.2ml细胞悬浮液(即 5×10^6 细胞/小鼠),并且随后其饮用水中加入0.02M新霉素在带盖的盒中圈养3周。6周后,通过使用对huGM-CSFR α 和 β 链特异性的mAb对外周血进行FACS分析以测定再造。

[0405] Tg嵌合小鼠的GM-CSF处理和后续分析:

[0406] Tg嵌合小鼠用500ng huGM-CSF经皮下途径(s.c)每日处理2次,处理4天。对于抗体拮抗剂活性的分析,在开始GM-CSF处理之前,在第一天,5只小鼠构成的组经腹膜(i.p)途径给予选择剂量的mAb(参见下文)。在第5天,抽取0.2ml血液用于使用ADVIA™血液学系统(Bayer Diagnostics)对循环白细胞群(特别是血单核细胞)进行分析。然后,致死动物,取出脾以进行重量测量。

[0407] 人外周血单核细胞内源表达人TNF α 和IL-6的抑制

[0408] 人血沉棕黄层(来自输血服务的人血包装)在histopaque1.077密度梯度(Sigma, 货号1077-1)顶上成层,并且细胞以 $400 \times g$ 离心40分钟。当停止离心时不施加制动。然后,由界面处收集PBMC细胞。细胞在PBS中清洗,并以 $300 \times g$ 离心10分钟成球,然后通过20ml冰水中重悬15秒,接着立即加入冰的1.6%氯化钠裂解残留的红细胞。然后将细胞以1200rpm离心5分钟成球,并且在10ml的10%FBS/RPMI和1%青霉素链霉素中重悬。然后将细胞稀释到 5×10^6 /ml浓度。每个孔分配110 μ l的细胞(5.5×10^5 /孔),并使细胞在5%CO₂中在37℃下放置1小时。以下试剂作为单一终浓度对照被加入:PHA(5 μ g/ml)、LPS(25 μ g/ml)、GM-CSF

(10ng/ml)和同种型对照(50μg/ml)。抗体6以最终起始浓度达到50μg/ml的5倍稀释系列加入。然后,将板在5%CO₂中、在37℃下孵育72小时。72小时后收集上清液,并且使用以下R&D ELISA试剂盒(hTNF-αR&D DuoSet ELISA development system DY210和hIL-6R&D DuoSet ELISA development system DY206)计算TNFα和IL-6的水平。根据供货商的建议进行ELISA。

[0409] 表1:从28G5的优化分离得到的IgG4非胚系抗体对GM-CSF诱导的TF-1细胞增殖的抑制。在存在浓度增加的IgG4抗体的情况下,以单一浓度的GM-CSF诱导TF-1细胞的增殖。氘标记的胸腺嘧啶的掺入被测量,并且计算抗体的IC₅₀值。数据为n≥3的代表数据。SEM(平均值的标准误)被显示。

[0410]

IgG4	IC₅₀ ± SEM (pM)
2B7	1575±490.5
抗体 1	5.3±0.33
抗体 2	15.0±4.71
抗体 4	48.0±8.33
抗体 5	9.3±5.39
抗体 6	0.97±0.033
抗体 7	93.8±24.6
抗体 8	34.5±2.63
抗体 9	40.8±7.15
抗体 10	55.3±3.73
抗体 11	9.0±1.0
抗体 12	246.3±19.8
抗体 13	1106.0±174.9
抗体 14	16.3±4.9
抗体 15	163.8±7.3
抗体 16	12.8±3.3
抗体 17	14.3±2.8

[0411]	抗体 18	13.3±3.4
	抗体 19	23.8±4.3
	抗体 20	9.8±2.8

[0412] 表2:在28G5的优化过程中分离的抗-GM-CSFR α IgG4非胚系抗体的动力学分析。IgG4抗体被固定于蛋白-A覆盖的芯片的表面,并且一系列的纯化标记的GM-CSFR α ECD稀释液经过IgG4。使用允许质量传递的Langmuir1:1同时 k_{ad} 对数据进行拟合。

[0413]

IgG4	KD(nM)
抗体1	0.264
抗体2	0.376
抗体4	4.07
抗体5	0.847
抗体6	0.139
抗体7	3.93
抗体8	0.552
抗体10	1.50
抗体12	3.02
抗体14	0.502
抗体15	1.03
抗体16	1.14
抗体17	0.193
抗体19	0.388
抗体20	0.127

[0414] 抗体9和11的数据是双相的。

[0415] 表3:在28G5的优化过程中分离的IgG4非胚系抗体对GM-CSF诱导的人粒细胞形态改变的抑制。在存在浓度增加的IgG4抗体的情况下,以单一浓度的GM-CSF处理人粒细胞。使用流式细胞仪测量粒细胞的形态改变,并且计算抗体的IC50值。

[0416]

IgG4	IC₅₀ ± SD (pM)
2B7	477±491
抗体 1	12.6±8.0
抗体 2	20.7±11.0
抗体 5	30.0
抗体 6	13.3±11.8
抗体 9	44.0
抗体 10	62.0
抗体 11	90.0
抗体 16	16.0
抗体 20	7.8

[0417] 表4:GM-CSF诱导的单核细胞TNF α 释放的抑制。在存在浓度增加的IgG4非胚系抗体的情况下,以单一浓度的GM-CSF处理人单核细胞。通过ELISA测量TNF α 的释放,并且计算抗体的IC₅₀值。

[0418]

IgG4	IC₅₀ ± SD (pM)
抗体 1	78.8±54.6
抗体 2	103.3±63.1
抗体 5	67.0
抗体 6	43.0±19.7
抗体 9	74.0
抗体 10	139.0

[0419]

表 5

KABAT 残基		28G5	LEAD	残基的出现百分比																		
H95		V	V	A	N	L	V															
				1.250	26.875	1.250	70.625															
H97		S	S	S																		
				100.00																		
H99		S	S	P	S	T	H	F	W													
				1.250	70.625	0.625	0.625	26.250	0.625													
H100B		A	T	A	P	S	T	H	V													
				63.125	2.500	2.500	28.75	0.625	2.500													
I90		S	T	S	T	M																
				90.00	9.375	0.625																
L92		D	E	S	T	D	Q	E	M													
				2.500	0.625	91.875	1.875	2.500	0.625													
L95A		S	S	G	P	S	T	N	D	Q	E	H	R	K	I	L	M	V	F	Y		
				9.375	1.250	45.000	3.125	6.250	6.875	5.625	4.375	4.375	3.125	2.500	1.250	1.875	0.625	0.625	0.625	3.125		
L96		S	S	A	P	S	T	I	L	M	V											
				1.250	26.250	43.750	1.250	17.500	0.625	1.250	8.125											

[0420] 序列表的索引

[0421] 在附加的序列表中,列出包括亲本克隆和19个来自优化组的克隆的20个抗体克隆

的核酸和氨基酸(“PRT”)序列。抗体被编号为Ab1~Ab20。亲本克隆为抗体3,由SEQ ID NOS: 21~23和SEQ ID NOS:211~212代表。

[0422] 以下列表通过SEQ ID NOS号码定位,其中所示分子的序列显示如下:

[0423] (nt=核苷酸序列;aa=氨基酸序列)

1 抗体 01 VH nt	22 抗体 03 VH aa
2 抗体 01 VH aa	23 抗体 03 VH CDR1 aa
3 抗体 01 VH CDR1 aa	24 抗体 03 VH CDR2 aa
4 抗体 01 VH CDR2 aa	25 抗体 03 VH CDR3 aa
5 抗体 01 VH CDR3 aa	26 抗体 03 VL nt
6 抗体 01 VL nt	27 抗体 03 VL aa
7 抗体 01 VL aa	28 抗体 03 VL CDR1 aa
8 抗体 01 VL CDR1 aa	29 抗体 03 VL CDR2 aa
9 抗体 01 VL CDR2 aa	30 抗体 03 VL CDR3 aa
10 抗体 01 VL CDR3 aa	31 抗体 04 VH nt
[0424] 11 抗体 02 VH nt	32 抗体 04 VH aa
12 抗体 02 VH aa	33 抗体 04 VH CDR1 aa
13 抗体 02 VH CDR1 aa	34 抗体 04 VH CDR2 aa
14 抗体 02 VH CDR2 aa	35 抗体 04 VH CDR3 aa
15 抗体 02 VH CDR3 aa	36 抗体 04 VL nt
16 抗体 02 VL nt	37 抗体 04 VL aa
17 抗体 02 VL aa	38 抗体 04 VL CDR1 aa
18 抗体 02 VL CDR1 aa	39 抗体 04 VL CDR2 aa
19 抗体 02 VL CDR2 aa	40 抗体 04 VL CDR3 aa
20 抗体 02 VL CDR3 aa	41 抗体 05 VH nt
21 抗体 03 VH nt	42 抗体 05 VH aa

43 抗体 05 VH CDR1 aa	72 抗体 08 VH aa
44 抗体 05 VH CDR2 aa	73 抗体 08 VH CDR1 aa
45 抗体 05 VH CDR3 aa	74 抗体 08 VH CDR2 aa
46 抗体 05 VL nt	75 抗体 08 VH CDR3 aa
47 抗体 05 VL aa	76 抗体 08 VL nt
48 抗体 05 VL CDR1 aa	77 抗体 08 VL aa
49 抗体 05 VL CDR2 aa	78 抗体 08 VL CDR1 aa
50 抗体 05 VL CDR3 aa	79 抗体 08 VL CDR2 aa
51 抗体 06 VH nt	80 抗体 08 VL CDR3 aa
52 抗体 06 VH aa	81 抗体 09 VH nt
53 抗体 06 VH CDR1 aa	82 抗体 09 VH aa
54 抗体 06 VH CDR2 aa	83 抗体 09 VH CDR1 aa
55 抗体 06 VH CDR3 aa	84 抗体 09 VH CDR2 aa
56 抗体 06 VL nt	85 抗体 09 VH CDR3 aa
[0425] 57 抗体 06 VL aa	86 抗体 09 VL nt
58 抗体 06 VL CDR1 aa	87 抗体 09 VL aa
59 抗体 06 VL CDR2 aa	88 抗体 09 VL CDR1 aa
60 抗体 06 VL CDR3 aa	89 抗体 09 VL CDR2 aa
61 抗体 07 VH nt	90 抗体 09 VL CDR3 aa
62 抗体 07 VH aa	91 抗体 10 VH nt
63 抗体 07 VH CDR1 aa	92 抗体 10 VH aa
64 抗体 07 VH CDR2 aa	93 抗体 10 VH CDR1 aa
65 抗体 07 VH CDR3 aa	94 抗体 10 VH CDR2 aa
66 抗体 07 VL nt	95 抗体 10 VH CDR3 aa
67 抗体 07 VL aa	96 抗体 10 VL nt
68 抗体 07 VL CDR1 aa	97 抗体 10 VL aa
69 抗体 07 VL CDR2 aa	98 抗体 10 VL CDR1 aa
70 抗体 07 VL CDR3 aa	99 抗体 10 VL CDR2 aa
71 抗体 08 VH nt	100 抗体 10 VL CDR3 aa

101	抗体	11	VH nt	130	抗体	13	VL CDR3 aa
102	抗体	11	VH aa	131	抗体	14	VH nt
103	抗体	11	VH CDR1 aa	132	抗体	14	VH aa
104	抗体	11	VH CDR2 aa	133	抗体	14	VH CDR1 aa
105	抗体	11	VH CDR3 aa	134	抗体	14	VH CDR2 aa
106	抗体	11	VL nt	135	抗体	14	VH CDR3 aa
107	抗体	11	VL aa	136	抗体	14	VL nt
108	抗体	11	VL CDR1 aa	137	抗体	14	VL aa
109	抗体	11	VL CDR2 aa	138	抗体	14	VL CDR1 aa
110	抗体	11	VL CDR3 aa	139	抗体	14	VL CDR2 aa
111	抗体	12	VH nt	140	抗体	14	VL CDR3 aa
112	抗体	12	VH aa	141	抗体	15	VH nt
113	抗体	12	VH CDR1 aa	142	抗体	15	VH aa
114	抗体	12	VH CDR2 aa	143	抗体	15	VH CDR1 aa
[0426] 115	抗体	12	VH CDR3 aa	144	抗体	15	VH CDR2 aa
116	抗体	12	VL nt	145	抗体	15	VH CDR3 aa
117	抗体	12	VL aa	146	抗体	15	VL nt
118	抗体	12	VL CDR1 aa	147	抗体	15	VL aa
119	抗体	12	VL CDR2 aa	148	抗体	15	VL CDR1 aa
120	抗体	12	VL CDR3 aa	149	抗体	15	VL CDR2 aa
121	抗体	13	VH nt	150	抗体	15	VL CDR3 aa
122	抗体	13	VH aa	151	抗体	16	VH nt
123	抗体	13	VH CDR1 aa	152	抗体	16	VH aa
124	抗体	13	VH CDR2 aa	153	抗体	16	VH CDR1 aa
125	抗体	13	VH CDR3 aa	154	抗体	16	VH CDR2 aa
126	抗体	13	VL nt	155	抗体	16	VH CDR3 aa
127	抗体	13	VL aa	156	抗体	16	VL nt
128	抗体	13	VL CDR1 aa	157	抗体	16	VL aa
129	抗体	13	VL CDR2 aa	158	抗体	16	VL CDR1 aa

	159	抗体	16	VL CDR2 aa		188	抗体	19	VL CDR1 aa
	160	抗体	16	VL CDR3 aa		189	抗体	19	VL CDR2 aa
	161	抗体	17	VH nt		190	抗体	19	VL CDR3 aa
	162	抗体	17	VH aa		191	抗体	20	VH nt
	163	抗体	17	VH CDR1 aa		192	抗体	20	VH aa
	164	抗体	17	VH CDR2 aa		193	抗体	20	VH CDR1 aa
	165	抗体	17	VH CDR3 aa		194	抗体	20	VH CDR2 aa
	166	抗体	17	VL nt		195	抗体	20	VH CDR3 aa
	167	抗体	17	VL aa		196	抗体	20	VL nt
	168	抗体	17	VL CDR1 aa		197	抗体	20	VL aa
	169	抗体	17	VL CDR2 aa		198	抗体	20	VL CDR1 aa
	170	抗体	17	VL CDR3 aa		199	抗体	20	VL CDR2 aa
	171	抗体	18	VH nt		200	抗体	20	VL CDR3 aa
	172	抗体	18	VH aa		201	GM-CSFR α 线性残基序列		
[0427]	173	抗体	18	VH CDR1 aa		202	人 GM-CSFR α 全长氨基酸序列		
	174	抗体	18	VH CDR2 aa		203	FLAG-示踪人 GM-CSFR α 细胞外域		
	175	抗体	18	VH CDR3 aa		204	FLAG 肽		
	176	抗体	18	VL nt		205	人 GM-CSFR α 细胞外域的氨基酸序列		
	177	抗体	18	VL aa		206	成熟 GM-CSFR α		
	178	抗体	18	VL CDR1 aa		207	抗体	1	VL nt
	179	抗体	18	VL CDR2 aa		208	抗体	1	VL aa
	180	抗体	18	VL CDR3 aa		209	抗体	2	VL nt
	181	抗体	19	VH nt		210	抗体	2	VL aa
	182	抗体	19	VH aa		211	抗体	3	VL nt
	183	抗体	19	VH CDR1 aa		212	抗体	3	VL aa
	184	抗体	19	VH CDR2 aa		213	抗体	4	VL nt
	185	抗体	19	VH CDR3 aa					
	186	抗体	19	VL nt					
	187	抗体	19	VL aa					

	214	抗体 4 VL aa		237	抗体 16 VL nt
	215	抗体 5 VL nt		238	抗体 16 VL aa
	216	抗体 5 VL aa		239	抗体 17 VL nt
	217	抗体 6 VL nt		240	抗体 17 VL aa
	218	抗体 6 VL aa		241	抗体 18 VL nt
	219	抗体 7 VL nt		242	抗体 18 VL aa
	220	抗体 7 VL aa		243	抗体 19 VL nt
	221	抗体 8 VL nt		244	抗体 19 VL aa
	222	抗体 8 VL aa		245	抗体 20 VL nt
	223	抗体 9 VL nt		246	抗体 20 VL aa
	224	抗体 9 VL aa		247	抗体 6 VH nt
[0428]	225	抗体 10 VL nt		248	抗体 6 VH aa
	226	抗体 10 VL aa		249	抗体 6 VL nt
	227	抗体 11 VL nt		250	抗体 6 VL aa
	228	抗体 11 VL aa		251	VH FR1 aa
	229	抗体 12 VL nt		252	VH FR2 aa
	230	抗体 12 VL aa		253	VH FR3 aa
	231	抗体 13 VL nt		254	VH FR4 aa
	232	抗体 13 VL aa		255	VL FR1 aa
	233	抗体 14 VL nt		256	VL FR2 aa
	234	抗体 14 VL aa		257	VL FR3 aa
	235	抗体 15 VL nt		258	VL FR4 aa
	236	抗体 15 VL aa			

[0429] 抗体1~20的VL域核苷酸序列不包括在SEQ ID NOS:6、16、26、36、46、56、66、76、86、96、106、116、126、136、146、156、166、176、186和196中的3'末端所示的gcg密码子。相应地,VL域氨基酸序列各不包括SEQ ID NOS:7、17、27、37、47、57、67、77、87、97、107、117、127、137、147、157、167、177、187和197中的C末端Ala残基。Ala113残基和相应的gcg密码子不在抗体1~20中表达。书面序列与胚系片段、尤其JL2的对比表明Ala残基和相应gcg密码子不形成VL域的部分。

[0430] 112位置处的Gly残基在表达的scFv和IgG序列中出现。然而,该残基并未在形成VL域的框架4区的人胚系j片段序列(如JL2)中出现。Gly残基不被认为是VL域的部分。

[0431] 为了表达IgG的轻链,编码抗体轻链的核苷酸序列被提供,包括编码VL域的第一外显子、编码CL域的第二外显子和分隔第一外显子和第二外显子的内含子。在正常条件下,内含子通过细胞的mRNA加工机制剪切掉,从而将第一外显子的3'端与第二外显子的5'端连接。因此,当具有所述核苷酸序列的DNA表达为RNA时,第一和第二外显子被剪接到一起。剪

接的RNA的翻译产生包括VL和CL域的多肽。剪接后,在112位的Gly由VL域框架4序列的最后一个碱基和CL域的前两个碱基编码。

[0432] 抗体1~20的VL域序列为如上所示的SEQ ID NOS:186~246。VL域核苷酸序列以作为最终密码子的eta结束,并且Leu为相应的VL域氨基酸序列中的最终氨基酸残基。

[0433] 除以SEQ ID NOS:51、52、56、57、216和217表示的胚系VH和VL域序列外,抗体6的非胚系VH和VL域序列在SEQ ID NOS:247~250中显示。

[0434] 参考文献

[0435] 在该公开内容中提及的所有文献都通过引用被包含于此。

[0436] 1 Haman等,Journal of Biological Chemistry274(48):34155-341631999

[0437] 2 Nicola NA;Wycherley A;Boyd AW;Layton JE;Cary D;Metcalfe D Blood,82(6)p1724-31(1993)

[0438] 3 Plückthun,A.Bio/Technology9:545-551(1991)

[0439] 4 Chadd HE和Chamow SM(2001)Current Opinion in Biotechnology12:188-194

[0440] 5 Andersen DC和Krummen L(2002)Current Opinion in Biotechnology13:117

[0441] 6 Larrick JW和Thomas DW(2001)Current Opinion in Biotechnology12:411-418

[0442] 7 Sambrook和Russell,Molecular Cloning:a Laboratory Manual:3rd edition,2001,Cold Spring Harbor Laboratory Press

[0443] 8 Ausubel等编辑,Short Protocols in Molecular Biology:A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons,第4版1999

[0444] 9 Wold等Multivariate data analysis in chemistry.Chemometrics-Mathematics and Statistics in Chemistry(编辑:B.Kowalski),D.Reidel Publishing Company,Dordrecht,Holland,1984(ISBN90-277-1846-6)

[0445] 10 Norman等Applied Regression Analysis.Wiley-Interscience;第3版(April1998)ISBN:0471170828

[0446] 11 Kandel,Abraham&Backer,Eric.Computer-Assisted Reasoning in Cluster Analysis.Prentice Hall PTR,(May11,1995),ISBN:0133418847

[0447] 12 Krzanowski,Wojtek.Principles of Multivariate Analysis:A User's Perspective(Oxford Statistical Science Series,No22(Paper)).Oxford University Press;(December2000),ISBN:0198507089

[0448] 13 Witten,Ian H.&Frank,Eibe.Data Mining:Practical Machine Learning Tools and Techniques with Java Implementations.Morgan Kaufmann;(October11,1999),ISBN:1558605525

[0449] 14 Denison David G.T.(编者),Christopher C.Holmes,Bani K.

[0450] 15 Ghose,Arup K.&Viswanadhan,Vellarkad N.Combinatorial Library Design and Evaluation Principles,Software,Tools,and Applications in Drug Discovery.ISBN:0-8247-0487-8

[0451] 16 Chothia C.等Journal Molecular Biology(1992)227,799-817

[0452] 17 Al-Lazikani等Journal Molecular Biology(1997)273(4),927-948

- [0453] 18 Chothia等Science,223,755-758(1986)
- [0454] 19 Whitelegg,N.R.u.和Rees,A.R(2000).Prot.Eng.,12,815-824
- [0455] 20 Guex,N.和Peitsch,M.C.Electrophoresis(1997)18,2714-2723
- [0456] 21 Voet&Voet,Biochemistry,第2版,(Wiley)1995.
- [0457] 22 Marks等Bio/Technology,1992,10:779-783
- [0458] 23 Kay,B.K.,Winter,J.,和McCafferty,J.(1996)Phage Display of Peptides and Proteins:A Laboratory Manual,San Diego:Academic Press.
- [0459] 24 Stemmer,Nature,1994,370:389-391
- [0460] 25 Gram等,1992,Proc.Natl.Acad.Sci.,USA,89:3576-3580
- [0461] 26 Barbas等,1994,Proc.Natl.Acad.Sci.,USA,91:3809-3813
- [0462] 27 Schier等,1996,J.Mol.Biol.263:551-567
- [0463] 28 Ledermann J.A.等(1991)Int.J.Cancer47:659-664
- [0464] 29 Bagshawe K.D.等(1991)Antibody,Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals4:915-922
- [0465] 30 Robinson,J.R.编辑,Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems,Marcel Dekker,Inc.,New York,1978
- [0466] 31 Ritz,S.A.,M.J.Cundall等(2002).Am J Respir Cell Mol Biol127(4):428-35.
- [0467] 32 Ritz,S.A.,M.R.Stampfli,等(2002).Trends Immunol23(8):396-402.
- [0468] 33 Woolley,K.L.等(1995).Am J Respir Crit Care Med,151,1915-24.
- [0469] 34 Kotsimbos,A.T.,M.Humbert等(1997).J Allergy Clin Immunol199(5):666-72.
- [0470] 35 Yamashita N.等,Cell.Immunol2002oct;219(2):92-97
- [0471] 36 Ohta K.等J Allergy Clin Immunol.1999Nov;104(5):1024-30
- [0472] 37 Stampfli,M.R.,R.E.Wiley等(1998).J Clin Invest102(9):1704-14.
- [0473] 38 Gates,E.C,B.U.Gajewska等(2003).J Allergy Clin Immunol111(5):1076-86.
- [0474] 39 Campbell,I.K.等(1997)Annal Res Dis,56,364-368.
- [0475] 40 BLSCHOF,R.J.,D.ZAFIROPOULOS,J.A.HAMILTON和I.K.CAMPBELL(2000)Clin Exp Immunol,119,361-367.
- [0476] 41 Campbell,I.K.,M.J.Rich等(1998).J Immunol161(7):3639-44.
- [0477] 42 Hamilton,J.A.(2002).Trends Immunol23(8):403-8.
- [0478] 43 Yang,Y.H.和J.A.Hamilton(2001)Arthritis Rheumatol,44,111-119
- [0479] 44 Cook,A.D.,E.L.Braine等(2001).Arthritis Res3(5):293-8.
- [0480] 45 Field,M.和L.Clinton(1993).The Lancet342:1244.
- [0481] 46 Firestein GS,Alvaro-Gracia JM,Maki R.1990J.Immunol may1;144(9):3347-53
- [0482] 47 Leizer T等1990Blood1990Nov15;76(10):1989-96
- [0483] 48 Fiehn C等,Z Rheumatol1992May-Jun;51(3):1221-126

- [0484] 49 de Vries,E.G.等(1991)Lancet,338,517-518.
- [0485] 50 Hazenberg BP等Blood1989Dec;74(8):2769-70
- [0486] 51 Barnes和Hansel(2004).Lancet,364:985-96.
- [0487] 52 Barnes,P.J.(2000).Chest,117:10S-14S
- [0488] 53 McManus,T.E.等(2005)American Thoracic Society Meeting,May2005.
- [0489] 54 Vlahos,R.等(2005)."GM-CSF is a key pathogenic mediator in experimental COPD."European Respiratory Society Meeting,Sept2005
- [0490] 55 McQualter JL等(2001)J Exp Med.194:873-82
- [0491] 56 Bagby GC Jr等1988J Clin Invest.4:1430-6.
- [0492] 57 Estrov Z等(1986)Cancer Res.46:6456-61.
- [0493] 58 Barak Y等1981Am J Hematol.10:269-75.
- [0494] 59 Gualtieri RJ等1988Exp Hematol.16:613-9.
- [0495] 60 Suda T等1982Leuk Res.6:43-53.
- [0496] 61 Gualtieri RJ等1989Blood.74:2360-7
- [0497] 62 Largaespada DA等(1996)Nat.Genet.12:137-43
- [0498] 63 Iversen,P.O.等(1997).Blood90(12):4910-7.
- [0499] 64 Wang等,1994Exp mol Pathol
- [0500] 65 Plenz等,Art.Thrombosis and Vascular biology1997
- [0501] 66 Takashi等,1996Circulation93,1185-1193
- [0502] 67 Biwa T等,JBC1998273:28305-28313
- [0503] 68 Makheja等,Atherosclerosis1989,76155-661
- [0504] 69 Naito等,1992J Nutri sci Vitamin38:255-264
- [0505] 70 Hayashi等,Atherosclerosis199191:107-116
- [0506] 71 Villa等1994J Clin Invest93:1243
- [0507] 72 Van Put DJ等,1995Eur J Pharmacol294:753-761
- [0508] 73 Voisard等,1994Int J Cardiol43:257-267
- [0509] 74 Yamada等,1993:Artery20:253-267
- [0510] 75 Sakai等,1999Arterioscler Thromb vase biol19:1726-1733
- [0511] 76 Gearing等EMBO J.8(12):3667-3676(1989)
- [0512] 77 Crosier,K.等PNAS88:7744-77481991
- [0513] 78 Raines,M.等PNAS88:8203-82071991
- [0514] 79 Wess,L.In:BioCentury,The Bernstein Report on BioBusiness,12(42), A1-A7,2004
- [0515] 80 Haan&Maggos(2004)BioCentury,12(5):A1-A6
- [0516] 81 Koide等(1998)Journal of Molecular Biology,284:1141-1151
- [0517] 82 Nygren等(1997)Current Opinion in Structural Biology,7:463-469
- [0518] 83 Kontermann,R&Dubel,S,Antibody Engineering,Springer-Verlag New York,LLC;2001,ISBN:3540413545
- [0519] 84 Mendez,M.等(1997)Nature Genet,15(2):146-156

- [0520] 85 Knappik等J.Mol.Biol.(2000)296,57-86
- [0521] 86 Krebs等Journal of Immunological Methods254200167-84
- [0522] 87 Ward,E.S.等,Nature341,544-546(1989)
- [0523] 88 McCafferty等(1990)Nature,348,552-554
- [0524] 89 Holt等(2003)Trends in Biotechnology21,484-490
- [0525] 90 Bird等,Science,242,423-426,1988;
- [0526] 91 Huston等,PNAS USA,85,5879-5883,1988
- [0527] 92 Holliger,P.等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA906444-6448,1993
- [0528] 93 Reiter,Y.等,Nature Biotech,14,1239-1245,1996
- [0529] 94 Hu,S.等,Cancer Res.,56,3055-3061,1996.
- [0530] 95 Holliger,P.和Winter G.Current Opinion Biotechnol4,446-4491993
- [0531] 96 Ridgeway,J.B.B.等,Protein Eng.,9,616-621,1996
- [0532] 97 Ann N Y Acad Sci.1971Dec31,190:382-93.
- [0533] 98 Kabat,E.A.等,Sequences of Proteins of Immunological Interest.第4版
US Department of Health and Human Services.1987
- [0534] 99 Kabat,E.A.等(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,
第5版US Department of Health and Human Services,Public Service,NIH,
Washington.
- [0535] 100 Persic等1997Gene187;9-18
- [0536] 101 Hanes J等(2000)Methods in Enzymology,Vol328:24.
- [0537] 102 Vaughan TJ等(1996)Nature Biotechnology Vol14:309
- [0538] 103 Slootstra-JW;Puijk-WC;Ligtvoet-GJ;Langeveld-JP;Meloan-RH(1996)
.Mol-Divers.1:87-96
- [0539] 104 W001/66754Cambridge Antibody Technology Limited;Vaughan;Wilton;
Smith;Main
- [0540] 105 P.K.Smith,等,Anal.Biochem.150(1985),pp.76-85
- [0541] 106 S.Mizushima和S.Nagata Nucleic Acids Research,Vol18;No171990pp5322
- [0542] 107 Clin Haematol.1979Jun;8(2):263-85.Metcalf D.
- [0543] 108 Nishijima,I.,T.Nakahata,等(1997).Blood90(3):1031-8.

<110> 剑桥抗体技术公司和沉思操作有限公司
Cohen, Emma Suzanne

Minter, Ralph Raymond

Harrison, Paula Rosamund

Sleeman, Matthew Alexander

Nash, Andrew Donald

Fabri, Louis Jerry

<120> BINDING MEMBER FOR GM-CSF RECEPTOR

<130> HMK/CP6442578

<140> PCT/GB2007/001108

<141> 2007-03-27

<150> US 60/786569

<151> 2006-03-27

<160> 258

<170> Cambridge Antibody Technology patent software version 1.0

<210> 1

<211> 360

<212> DNA

<213> 智人

[0001]

<220>

<223> Ab1

<400> 1

cagggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60
tcatgttaaag ttccggata caccctcact gaactgtcca tccactgggt gcgacaggct	120
cccggaaaag gacttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac	180
gcacagagggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctacaga caggcctac	240
atggaactga gcagcctgag atccgaggac acggccgttt attattgtgc aatagtgggg	300
tctttcagtg gcatcgcta tcgcccctgg ggccaaggga caatggtcac cgtctcctca	360

<210> 2

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab1

<400> 2

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

5

10

15

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

<210> 3
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab1
 <400> 3

[0002]

Glu Leu Ser Ile His
 5

<210> 4
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab1
 <400> 4

Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln
 5 10 15

Gly

<210> 5
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人

[0003]

<220>
 <223> Ab1
 <400> 5
 Val Gly Ser Phe Ser Gly Ile Ala Tyr Arg Pro
 5 10
 <210> 6
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab1
 <400> 6
 cagtctgtgc tgactcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tcctgtactg ggagcggtc caacatcgga gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 ctccaggaa cagccccaa actcctcacc taccataaca acaagcgccc ctccagggtc 180
 cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggtc 240
 caggctgagg atgaggtga ttattactgc cagtcctatg acagcagctc gatcagcacg 300
 attttcgggc gagggaccaa gctcacgctc ctagggtgcg 339
 <210> 7
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab1
 <400> 7
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro
 20 25 30
 Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
 85 90 95
 Ser Ile Ser Thr Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

	100	105	110
	Ala		
<210>	8		
<211>	14		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab1		
<400>	8		
	Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser		
	5	10	
<210>	9		
<211>	7		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab1		
<400>	9		
[0004]	His Asn Asn Lys Arg Pro Ser		
	5		
<210>	10		
<211>	11		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab1		
<400>	10		
	Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Ser Ile Ser Thr Ile		
	5	10	
<210>	11		
<211>	360		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab2		
<400>	11		
	caggatgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc		60
	tcattgtaaaa ttcccggaaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact		120

	cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac	180
	gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac	240
	ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgttc aatagtgggg	300
	tctttcagtg gccccgccct gcgccctgg ggcaaaggga caatggtcac cgtctcgagt	360
<210>	12	
<211>	120	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab2	
<400>	12	
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
	5 10 15	
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu	
	20 25 30	
	Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met	
	35 40 45	
	Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe	
[0005]	50 55 60	
	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr	
	65 70 75 80	
	Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
	Ser Ile Val Gly Ser Phe Ser Gly Pro Ala Leu Arg Pro Trp Gly Lys	
	100 105 110	
	Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser	
	115 120	
<210>	13	
<211>	5	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab2	
<400>	13	
	Glu Leu Ser Ile His	
	5	
<210>	14	
<211>	17	

[0006]

<212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab2
 <400> 14
 Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln
 5 10 15
 Gly
 <210> 15
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab2
 <400> 15
 Val Gly Ser Phe Ser Gly Pro Ala Leu Arg Pro
 5 10
 <210> 16
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab2
 <400> 16
 caggctgtgc tgactcagcc gicctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 ctccaggaa cagccccaa actcctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180
 cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccttgccat cactgggctc 240
 caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgggttcg 300
 gttttcggeg gagggaccaa ggtcaccgtc ctaggtgcc 339
 <210> 17
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab2
 <400> 17
 Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																						</
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----

[0008]

<400> 20
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Val
5 10

<210> 21
<211> 360
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<223> Ab3
<400> 21
cagggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcatgtaaaa tttccggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact 120
ccccaaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac 180
gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac 240
ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgttc aatagtgggg 300
tctttcagtg gctgggcctt tgactactgg ggcaaaggga caatggtcac cgtctcgagt 360

<210> 22
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<223> Ab3
<400> 22
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu
20 25 30
Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ser Ile Val Gly Ser Phe Ser Gly Trp Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Lys
100 105 110
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

	115	120	
<210>	23		
<211>	5		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab3		
<400>	23		
	Glu Leu Ser Ile His		
	5		
<210>	24		
<211>	17		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab3		
<400>	24		
	Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln		
[0009]	5	10	15
	Gly		
<210>	25		
<211>	11		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab3		
<400>	25		
	Val Gly Ser Phe Ser Gly Trp Ala Phe Asp Tyr		
	5	10	
<210>	26		
<211>	339		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab3		
<400>	26		
	caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc		60

	tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120
	cttccaggaa cagcccccaa actctctatc tatcataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180
	cttgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240
	cagcctgacg atgaggtga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtggttcg	300
	gttttcgggg gagggaccaa ggtcacgctc ctaggtgcg	339
	<210> 27	
	<211> 113	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab3	
	<400> 27	
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
	5 10 15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro	
	20 25 30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu	
	35 40 45	
[0010]	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe	
	50 55 60	
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
	65 70 75 80	
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser	
	85 90 95	
	Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly	
	100 105 110	
	Ala	
	<210> 28	
	<211> 14	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab3	
	<400> 28	
	Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser	
	5 10	
	<210> 29	
	<211> 7	

[0011]

<212> PRT
<213> 智人
<220>
<223> Ab3
<400> 29
His Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5
<210> 30
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<223> Ab3
<400> 30
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Val
5 10
<210> 31
<211> 360
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<223> Ab4
<400> 31
caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcatgtaaaa ttcccgaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact 120
cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac 180
gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac 240
ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgtgc aatagtgggg 300
tctttcagtc ccccgaccta cgggtactgg ggcaaaggga caatgggtcac cgtctcgagt 360
<210> 32
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<223> Ab4
<400> 32
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu

20

25

30

Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met

35

40

45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe

50

55

60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Ile Val Gly Ser Phe Ser Pro Pro Thr Tyr Gly Tyr Trp Gly Lys

100

105

110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

[0012]

<223> Ab4

<400> 33

Glu Leu Ser Ile His

5

<210> 34

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab4

<400> 34

Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

[0013]

<223> Ab4
 <400> 35
 Val Gly Ser Phe Ser Pro Pro Thr Tyr Gly Tyr
 5 10
 <210> 36
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab4
 <400> 36
 caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tctgtactg ggagcggtc caacatcggt gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 cttccaggaa cagcccccaa actctcctc tctcataaca acaagcggcc ctccagggtc 180
 cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccttgccat cactgggtc 240
 caggctgacg atgaggtga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gactgggtc 300
 gttttcggtg gagggaccaa ggtcaccgtc ctagggtgc 339
 <210> 37
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab4
 <400> 37
 Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro
 20 25 30
 Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
 85 90 95
 Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

Ala	
<210>	38
<211>	14
<212>	PRT
<213>	智人
<220>	
<223>	Ab4
<400>	38
Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser	
	5 10
<210>	39
<211>	7
<212>	PRT
<213>	智人
<220>	
<223>	Ab4
<400>	39
His Asn Asn Lys Arg Pro Ser	
	5
[0014]	
<210>	40
<211>	11
<212>	PRT
<213>	智人
<220>	
<223>	Ab4
<400>	40
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Val	
	5 10
<210>	41
<211>	360
<212>	DNA
<213>	智人
<220>	
<223>	Ab5
<400>	41
caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60
tcatgtaaaa ttccggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact	120
cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac	180

	gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac	240
	ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgtgc aatagtgggg	300
	tctttcagtg gctaccctta ccgcccggtg ggccaaggga caatggtcac cgtctcgagt	360
	<210> 42	
	<211> 120	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab5	
	<400> 42	
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
	5 10 15	
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu	
	20 25 30	
	Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met	
	35 40 45	
	Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe	
	50 55 60	
[0015]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr	
	65 70 75 80	
	Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
	Ala Ile Val Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Pro Tyr Arg Pro Trp Gly Gln	
	100 105 110	
	Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser	
	115 120	
	<210> 43	
	<211> 5	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab5	
	<400> 43	
	Glu Leu Ser Ile His	
	5	
	<210> 44	
	<211> 17	
	<212> PRT	

[0016]

<213> 智人

<220>

<223> Ab5

<400> 44

Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 45

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab5

<400> 45

Val Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Pro Tyr Arg Pro

5

10

<210> 46

<211> 339

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> Ab5

<400> 46

caggctgtgc tgactcagcc gtctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atglaagctg gtaccagcag 120
cttcaggaa cagcccccaa actctcctc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180
cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240
caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgggttcg 300
gttttcggcg gagggaccaa ggtcacccgc ctaggtgctg 339

<210> 47

<211> 113

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab5

<400> 47

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

5

10

15

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

Ala

<210> 48

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab5

<400> 48

Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser

5

10

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab5

<400> 49

His Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab5

<400> 50

[0017]

[0018]

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Val

5

10

<210> 51

<211> 360

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> Ab6

<400> 51

cagggtccagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcatgtaaag ttcccgata caccctcact gaactgtcca tccactgggt gcgacaggct 120
 cccgaaaag gacttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac 180
 gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctacaga cacggcctac 240
 atggaactga gcagcctgag atccgaggac acggccgttt attattgtgc aatagtgggg 300
 tctttcagtc ccttgacett gggcctctgg ggccaaggga caatggtcac cgtctcctca 360

<210> 52

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab6

<400> 52

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu

20

25

30

Ser Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe

50

55

60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Ile Val Gly Ser Phe Ser Pro Leu Thr Leu Gly Leu Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

120

	cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240
	caggctgagg atgaggtga ttattactgc gcgaccgttg aggccggcct gagggttcg	300
	gttttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc ctaggtgcg	339
	<210> 57	
	<211> 113	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab6	
	<400> 57	
	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
	5 10 15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro	
	20 25 30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu	
	35 40 45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe	
	50 55 60	
[0020]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
	65 70 75 80	
	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Val Glu Ala Gly	
	85 90 95	
	Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly	
	100 105 110	
	Ala	
	<210> 58	
	<211> 14	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab6	
	<400> 58	
	Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser	
	5 10	
	<210> 59	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 智人	

[0021]

<220>
 <223> Ab6
 <400> 59
 His Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5
 <210> 60
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab6
 <400> 60
 Ala Thr Val Glu Ala Gly Leu Ser Gly Ser Val
 5 10
 <210> 61
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab7
 <400> 61
 cagggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcatgtaaaa ttccgggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt ggcacagact 120
 cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac 180
 gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac 240
 ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgtgc aatagtgggg 300
 tctttcagtg gccccgtgta cggcctctgg ggcaaaggga caatggtcac cgtctcgagt 360
 <210> 62
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab7
 <400> 62
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu
 20 25 30

Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met

35

40

45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe

50

55

60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Ile Val Gly Ser Phe Ser Gly Pro Val Tyr Gly Leu Trp Gly Lys

100

105

110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 63

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab7

<400> 63

[0022]

Glu Leu Ser Ile His

5

<210> 64

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab7

<400> 64

Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 65

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab7

<400> 65

[0023]

Val Gly Ser Phe Ser Gly Pro Val Tyr Gly Leu

5

10

<210> 66

<211> 339

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> Ab7

<400> 66

caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggccaccatc 60
 tcctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcacattatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 cttccaggaa cagcccccaa actcctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180
 cctgaccgat tctctgcctc caagctcggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240
 caggtctacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgggttcg 300
 gttttcggcg gagggaccaa ggccaccgtc ctagggtcgc 339

<210> 67

<211> 113

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab7

<400> 67

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

5

10

15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro

20

25

30

Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

35

40

45

Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

50

55

60

Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu

65

70

75

80

Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser

85

90

95

Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

100

105

110

Ala

<210> 68

[0024]

<211> 14
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab7
 <400> 68
 Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser
 5 10
 <210> 69
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab7
 <400> 69
 His Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5
 <210> 70
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab7
 <400> 70
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Val
 5 10
 <210> 71
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab8
 <400> 71
 cagggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcatgtaaaa ttccggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact 120
 cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac 180
 gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac 240
 ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgtgc aatagtgggg 300

	tctttcagtc ccccgcccta ccgcccctgg ggcaaaggga caatggtcac cgtctcgagt	360
<210>	72	
<211>	120	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab8	
<400>	72	
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
	5 10 15	
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu	
	20 25 30	
	Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met	
	35 40 45	
	Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe	
	50 55 60	
	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr	
	65 70 75 80	
[0025]	Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
	Ala Ile Val Gly Ser Phe Ser Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Trp Gly Lys	
	100 105 110	
	Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser	
	115 120	
<210>	73	
<211>	5	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab8	
<400>	73	
	Glu Leu Ser Ile His	
	5	
<210>	74	
<211>	17	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		

[0026]

<223> Ab8
 <400> 74
 Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln
 5 10 15
 Gly
 <210> 75
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab8
 <400> 75
 Val Gly Ser Phe Ser Pro Pro Ala Tyr Arg Pro
 5 10
 <210> 76
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab8
 <400> 76
 caggctgtgc tgactcagcc gtccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tctgttactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 ctccaggaa cagcccccaa actcctcadc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180
 cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240
 caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagggtgtcg 300
 gttttcggcg gagggaccaa ggtaaccgtc ctagggtcg 339
 <210> 77
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab8
 <400> 77
 Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro
 20 25 30

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

Ala

<210> 78

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab8

<400> 78

[0027]

Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser
5 10

<210> 79

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab8

<400> 79

His Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 80

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab8

<400> 80

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Val
5 10

[0028]

<210> 81
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab9
 <400> 81
 cagggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcatgtaaaa ttccgggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact 120
 cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac 180
 gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac 240
 ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgtgc aatagtgagg 300
 tctttcagtc cggtcacgta cggectctgg ggccaaggga caatggtcac cgtctcgagt 360
 <210> 82
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab9
 <400> 82
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu
 20 25 30
 Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ile Val Gly Ser Phe Ser Pro Val Thr Tyr Gly Leu Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 83
 <211> 5

[0029]

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab9

<400> 83

Glu Leu Ser Ile His

5

<210> 84

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab9

<400> 84

Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 85

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab9

<400> 85

Val Gly Ser Phe Ser Pro Val Thr Tyr Gly Leu

5

10

<210> 86

<211> 339

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> Ab9

<400> 86

caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60
tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120
cttcaggaa cagcccccaa actctcctc tctcataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180
cctgaccgat tctctgctc caagtctgga acctcagcct ccttggecat cactgggctc	240

	caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgggttcg	300
	gttttcggcg gagggaccaa ggtcaccgtc ctaggtgcg	339
	<210> 87	
	<211> 113	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab9	
	<400> 87	
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
	5 10 15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro	
	20 25 30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu	
	35 40 45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe	
	50 55 60	
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
[0030]	65 70 75 80	
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser	
	85 90 95	
	Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly	
	100 105 110	
	Ala	
	<210> 88	
	<211> 14	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab9	
	<400> 88	
	Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser	
	5 10	
	<210> 89	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 智人	

[0031]

<220>

<223> Ab9

<400> 89

His Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 90

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab9

<400> 90

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Val

5

10

<210> 91

<211> 360

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> Ab10

<400> 91

caggtgcagc tgggtcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60
tcatgtaaaa tttccggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact	120
cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga tttgatcctg aagagaatga aatagtctac	180
gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac	240
ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgtgc aatagtgggg	300
tctttcagtg gcctcgcgta caggccctgg ggcaaaggga caatggtcac catctcgagt	360

<210> 92

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab10

<400> 92

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu

20

25

30

Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met

35

40

45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe

50

55

60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Ile Val Gly Ser Phe Ser Gly Leu Ala Tyr Arg Pro Trp Gly Lys

100

105

110

Gly Thr Met Val Thr Ile Ser Ser

115

120

<210> 93

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab10

<400> 93

[0032]

Glu Leu Ser Ile His

5

<210> 94

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab10

<400> 94

Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 95

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab10

<400> 95

[0033]

Val Gly Ser Phe Ser Gly Leu Ala Tyr Arg Pro

5 10

<210> 96

<211> 339

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> Ab10

<400> 96

caggctgtgc tgactcagcc gtctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60

tctgtactg ggagcgctc caacatcgga gcacctatg atgtaagctg gtaccagcag 120

cttcaggaa cagccccaa actctcctc taccataaca acaagcgcc ctcaggggtc 180

cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccttgccat cactgggtc 240

caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gactgggtcg 300

gttttcggcg gagggaccaa ggtcaccgtc ctagggtcg 339

<210> 97

<211> 113

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab10

<400> 97

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro

20 25 30

Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

50 55 60

Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser

85 90 95

Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

100 105 110

Ala

<210> 98

[0034]

<211> 14
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab10
 <400> 98
 Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser
 5 10
 <210> 99
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab10
 <400> 99
 His Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5
 <210> 100
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab10
 <400> 100
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Val
 5 10
 <210> 101
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab11
 <400> 101
 caggtgcagc tgggtcaatc tggcgctgag gtgaagaagc ctgaggcctc agtgaaggtc 60
 tcatgtaaaa ttccgggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact 120
 cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac 180
 gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac 240
 ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgtgc aatagtgggg 300

	tctttcagtc cgatcacgta cggcctctgg ggcaaaggga caatggtcac cgtctcgagt	360
<210>	102	
<211>	120	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab11	
<400>	102	
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Glu Ala	
	5 10 15	
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Pro Gly His Ser Leu Ser Glu Leu	
	20 25 30	
	Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met	
	35 40 45	
	Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe	
	50 55 60	
	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr	
	65 70 75 80	
[0035]	Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
	Ala Ile Val Gly Ser Phe Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Leu Trp Gly Lys	
	100 105 110	
	Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser	
	115 120	
<210>	103	
<211>	5	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab11	
<400>	103	
	Glu Leu Ser Ile His	
	5	
<210>	104	
<211>	17	
<212>	PRT	
<213>	智人	

[0036]

<220>
 <223> Ab11
 <400> 104
 Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln
 5 10 15
 Gly
 <210> 105
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab11
 <400> 105
 Val Gly Ser Phe Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Leu
 5 10
 <210> 106
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab11
 <400> 106
 caggctgtgc tgactcagcc gtctcagtg tctggggtcc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 ctccaggaa cagcccccaa actctcatc tatcataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180
 cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct cctggccat cactgggctc 240
 caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtggttcg 300
 gttttcggcg gagggaccaa ggtcacccgc ctaggtgcg 339
 <210> 107
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab11
 <400> 107
 Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Pro Gly Gln
 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro

																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					</
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----

	5	10	
<210>	111		
<211>	360		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab12		
<400>	111		
	cagggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60	
	tcatgtaaaa ttccggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggl gcgacagact	120	
	cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatacctg aagagaatga aatagtctac	180	
	gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac	240	
	ctgacctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attatigttc aatagtgggg	300	
	tctttcagtg gctgggcctt tgactactgg ggcaaaggga caatggtcac cgtctcgagt	360	
<210>	112		
<211>	120		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
[0038] <223>	Ab12		
<400>	112		
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
	5 10 15		
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu		
	20 25 30		
	Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met		
	35 40 45		
	Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe		
	50 55 60		
	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr		
	65 70 75 80		
	Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85 90 95		
	Ser Ile Val Gly Ser Phe Ser Gly Trp Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Lys		
	100 105 110		
	Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser		
	115 120		
<210>	113		

<211> 5
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab12
 <400> 113
 Glu Leu Ser Ile His
 5

<210> 114
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab12
 <400> 114
 Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln
 5 10 15

[0039]

Gly
 <210> 115
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab12
 <400> 115
 Val Gly Ser Phe Ser Gly Trp Ala Phe Asp Tyr
 5 10

<210> 116
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab12
 <400> 116
 caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tctgtacttg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 cttccaggaa cagcccccaa actcctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180

	cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240
	caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcgagcc gaccgagatc	300
	cgttcgggg gagggaccaa gctcaccgtc ctaggtgcg	339
	<210> 117	
	<211> 113	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab12	
	<400> 117	
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
	5 10 15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro	
	20 25 30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu	
	35 40 45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe	
	50 55 60	
[0040]	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
	65 70 75 80	
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Glu	
	85 90 95	
	Pro Thr Glu Ile Arg Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly	
	100 105 110	
	Ala	
	<210> 118	
	<211> 14	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab12	
	<400> 118	
	Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser	
	5 10	
	<210> 119	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 智人	

[0041]

<220>
 <223> Ab12
 <400> 119
 His Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5
 <210> 120
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab12
 <400> 120
 Gln Ser Tyr Asp Ser Glu Pro Thr Glu Ile Arg
 5 10
 <210> 121
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab13
 <400> 121
 caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaage ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcatgtaaaa ttccgggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact 120
 cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac 180
 gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac 240
 ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgttc aatagtgggg 300
 tctttcagtg gctgggcctt tgactactgg ggcaaaggga caatggtcac cgtctcgagt 360
 <210> 122
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab13
 <400> 122
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu
 20 25 30

Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met

35

40

45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe

50

55

60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ser Ile Val Gly Ser Phe Ser Gly Trp Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Lys

100

105

110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 123

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab13

<400> 123

[0042]

Glu Leu Ser Ile His

5

<210> 124

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab13

<400> 124

Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 125

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab13

<400> 125

[0043]

Val Gly Ser Phe Ser Gly Trp Ala Phe Asp Tyr
 5 10
 <210> 126
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab13
 <400> 126
 caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 cttccaggaa cagcccccaa actcctcadc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180
 cctgaccgat tctctgcctc caagctctgc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240
 caggtctacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcaggac gggcatcadc 300
 gtcttcgggg gagggaccaa ggtcacccgc ctaggctgcg 339
 <210> 127
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab13
 <400> 127
 Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro
 20 25 30
 Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Arg
 85 90 95
 Thr Gly Ile Ile Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110
 Ala
 <210> 128

[0044]

<211> 14
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab13
 <400> 128
 Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser
 5 10
 <210> 129
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab13
 <400> 129
 His Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5
 <210> 130
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab13
 <400> 130
 Gln Ser Tyr Asp Ser Arg Thr Gly Ile Ile Val
 5 10
 <210> 131
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab14
 <400> 131
 caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcatgtaaaa ttccggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact 120
 cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac 180
 gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cagggcctac 240
 ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgttc aatattgggg 300

	agcgtgaccg cctgggcctt tgactactgg ggcaaaggga caatgggtcac cgtctcgagt	360
<210>	132	
<211>	120	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab14	
<400>	132	
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
	5 10 15	
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu	
	20 25 30	
	Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met	
	35 40 45	
	Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe	
	50 55 60	
	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr	
	65 70 75 80	
[0045]	Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
	Ser Ile Leu Gly Ser Val Thr Ala Trp Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Lys	
	100 105 110	
	Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser	
	115 120	
<210>	133	
<211>	5	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab14	
<400>	133	
	Glu Leu Ser Ile His	
	5	
<210>	134	
<211>	17	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		

	<223>	Ab14	
	<400>	134	
	Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln		
		5 10 15	
	Gly		
	<210>	135	
	<211>	11	
	<212>	PRT	
	<213>	智人	
	<220>		
	<223>	Ab14	
	<400>	135	
	Leu Gly Ser Val Thr Ala Trp Ala Phe Asp Tyr		
		5 10	
	<210>	136	
	<211>	339	
	<212>	DNA	
	<213>	智人	
[0046]	<220>		
	<223>	Ab14	
	<400>	136	
	caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc		60
	tctgtactg ggagcggctc caacatcgga gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag		120
	cttcaggaa cagcccccaa actcctcacc tatcataaca acaagcggcc ctcaggggtc		180
	cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc		240
	caggetgacg atgaggetga ttattactgc cagtcctatg acagcgagga caggatgacg		300
	gagttcgggg gagggaccaa ggtcaccgtc ctaggtgcg		339
	<210>	137	
	<211>	113	
	<212>	PRT	
	<213>	智人	
	<220>		
	<223>	Ab14	
	<400>	137	
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln		
		5 10 15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro		

	20	25	30
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu		
	35	40	45
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe		
	50	55	60
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu		
	65	70	75
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Glu		
	85	90	95
	Asp Arg Met Thr Glu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly		
	100	105	110
	Ala		
	<210> 138		
	<211> 14		
	<212> PRT		
	<213> 智人		
	<220>		
	<223> Ab14		
	<400> 138		
[0047]	Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser		
	5	10	
	<210> 139		
	<211> 7		
	<212> PRT		
	<213> 智人		
	<220>		
	<223> Ab14		
	<400> 139		
	His Asn Asn Lys Arg Pro Ser		
	5		
	<210> 140		
	<211> 11		
	<212> PRT		
	<213> 智人		
	<220>		
	<223> Ab14		
	<400> 140		
	Gln Ser Tyr Asp Ser Glu Asp Arg Met Thr Glu		

	5	10	
<210>	141		
<211>	360		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab15		
<400>	141		
	cagggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60	
	tcatgtaaaa tttccggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact	120	
	cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagctac	180	
	gcacagaggt tccagggcag agtcaccaig accgaggaca catctataga cacggcctac	240	
	ctgacctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attatigtic aatagccggg	300	
	agcatccccg gctgggcctt tgactactgg ggcaaaggga caatggtcac cgtctcgagt	360	
<210>	142		
<211>	120		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
[0048] <223>	Ab15		
<400>	142		
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
	5 10 15		
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu		
	20 25 30		
	Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met		
	35 40 45		
	Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe		
	50 55 60		
	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr		
	65 70 75 80		
	Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85 90 95		
	Ser Ile Ala Gly Ser Ile Pro Gly Trp Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Lys		
	100 105 110		
	Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser		
	115 120		
<210>	143		

[0049]

<211> 5
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab15
 <400> 143
 Glu Leu Ser Ile His
 5
 <210> 144
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab15
 <400> 144
 Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln
 5 10 15
 Gly
 <210> 145
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab15
 <400> 145
 Ala Gly Ser Ile Pro Gly Trp Ala Phe Asp Tyr
 5 10
 <210> 146
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab15
 <400> 146
 caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 ctccaggaa cagcccccaa actcctcattc taccataaca acaagcggcc ctccagggtc 180
 cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240

	caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagccagtt gattagcgcc	300
	gccttcgggg gagggaccaa ggtcaccgtc ctaggtgcg	339
	<210> 147	
	<211> 113	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab15	
	<400> 147	
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
	5 10 15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro	
	20 25 30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu	
	35 40 45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe	
	50 55 60	
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
	65 70 75 80	
[0050]	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Gln	
	85 90 95	
	Leu Ile Ser Ala Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly	
	100 105 110	
	Ala	
	<210> 148	
	<211> 14	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab15	
	<400> 148	
	Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser	
	5 10	
	<210> 149	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	

[0051]

<223> Ab15
 <400> 149
 His Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5
 <210> 150
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab15
 <400> 150
 Gln Ser Tyr Asp Ser Gln Leu Ile Ser Ala Ala
 5 10
 <210> 151
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab16
 <400> 151
 caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcatgtaaaa ttccggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact 120
 cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac 180
 gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac 240
 ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgttc aatagtgggg 300
 tctttcagtc cgttgaccat gggcctctgg ggcaaaggga caatggtcac cgtctcgagt 360
 <210> 152
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab16
 <400> 152
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu
 20 25 30
 Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

	5	10	
<210>	156		
<211>	339		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab16		
<400>	156		
	caggctgtgc tgactcagcc gtccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60	
	tcctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120	
	cttcaggaa cagcccccaa actcctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180	
	cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccttggecat cactgggctc	240	
	caggctgagg atgaggctga ttattactgc gcgacctccg acgagatcct gagtgggttcg	300	
	gttttcgggg gagggaccaa ggtcaccgtc ctaggtgcg	339	
<210>	157		
<211>	113		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
[0053] <223>	Ab16		
<400>	157		
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln		
	5 10 15		
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro		
	20 25 30		
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu		
	35 40 45		
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe		
	50 55 60		
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu		
	65 70 75 80		
	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Ser Asp Glu Ile		
	85 90 95		
	Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly		
	100 105 110		
	Ala		
<210>	158		
<211>	14		

[0054]

<212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab16
 <400> 158
 Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser
 5 10
 <210> 159
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab16
 <400> 159
 His Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5
 <210> 160
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab16
 <400> 160
 Ala Thr Ser Asp Glu Ile Leu Ser Gly Ser Val
 5 10
 <210> 161
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab17
 <400> 161
 caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcatgtaaaa ttccggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact 120
 cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac 180
 gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac 240
 ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgttc aatagtgggg 300
 tctttcagtc ccctgacgat ggggttgtgg ggcaaaggga caatggteac cgtctcgagt 360

<210>	162
<211>	120
<212>	PRT
<213>	智人
<220>	
<223>	Ab17
<400>	162
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
	5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu	
	20 25 30
Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met	
	35 40 45
Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe	
	50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr	
	65 70 75 80
Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95
[0055]	Ser Ile Val Gly Ser Phe Ser Pro Leu Thr Met Gly Leu Trp Gly Lys
	100 105 110
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser	
	115 120
<210>	163
<211>	5
<212>	PRT
<213>	智人
<220>	
<223>	Ab17
<400>	163
Glu Leu Ser Ile His	
	5
<210>	164
<211>	17
<212>	PRT
<213>	智人
<220>	
<223>	Ab17

Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

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

Ala

<210> 168

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab17

<400> 168

Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser

[0057]

5

10

<210> 169

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab17

<400> 169

His Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 170

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab17

<400> 170

Ala Thr Val Glu Asp Gly Leu Ser Gly Ser Val

5

10

<210> 171

<211>	360	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab18	
<400>	171	
	cagggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60
	tcatgtaaaa tttccggaca cagcctcagt gaactgttca tccactgggt gcgacagact	120
	ccccaaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac	180
	gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac	240
	ctgacctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgttc aacagtgggg	300
	tctttcagtg ggccccccct tcacctctgg ggcaaaggga caatggtcac cgtctcgagt	360
<210>	172	
<211>	120	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab18	
<400>	172	
[0058]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
	5 10 15	
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu	
	20 25 30	
	Phe Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met	
	35 40 45	
	Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe	
	50 55 60	
	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr	
	65 70 75 80	
	Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
	Ser Thr Val Gly Ser Phe Ser Gly Pro Ala Leu His Leu Trp Gly Lys	
	100 105 110	
	Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser	
	115 120	
<210>	173	
<211>	5	
<212>	PRT	

[0059]

<213> 智人
 <220>
 <223> Ab18
 <400> 173
 Glu Leu Phe Ile His
 5
 <210> 174
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab18
 <400> 174
 Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln
 5 10 15
 Gly
 <210> 175
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab18
 <400> 175
 Val Gly Ser Phe Ser Gly Pro Ala Leu His Leu
 5 10
 <210> 176
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab18
 <400> 176
 caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tcctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 ctccaggaa cagcccccaa actcctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180
 cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240
 caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagccagtg gaaccagccc 300
 ctcttcgggg gagggaccaa ggtcaccgtc ctaggtgcg 339

<210> 177
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<223> Ab18
<400> 177

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro
20 25 30
Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60
Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Gln
85 90 95
[0060] Trp Asn Gln Pro Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
100 105 110

Ala

<210> 178
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<223> Ab18
<400> 178

Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser
5 10

<210> 179
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<223> Ab18
<400> 179

	His Asn Asn Lys Arg Pro Ser	
	5	
<210>	180	
<211>	11	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab18	
<400>	180	
	Gln Ser Tyr Asp Ser Gln Trp Asn Gln Pro Leu	
	5 10	
<210>	181	
<211>	360	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab19	
<400>	181	
[0061]	cagggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60
	tcatgtaaaa ttccgggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact	120
	cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac	180
	gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac	240
	ctgaccctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgtgc aatagtgggg	300
	tctgtcagtc gcatcacgta cggtttcttg ggcaaaggga caatggtcac cgtctcagat	360
<210>	182	
<211>	120	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab19	
<400>	182	
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
	5 10 15	
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu	
	20 25 30	
	Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met	
	35 40 45	
	Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe	

	50	55	60
	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr		
	65	70	75 80
	Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90	95
	Ala Ile Val Gly Ser Val Ser Arg Ile Thr Tyr Gly Phe Trp Gly Lys		
	100	105	110
	Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser		
	115	120	
<210>	183		
<211>	5		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab19		
<400>	183		
	Glu Leu Ser Ile His		
	5		
[0062] <210>	184		
<211>	17		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab19		
<400>	184		
	Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln		
	5	10	15
	Gly		
<210>	185		
<211>	11		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab19		
<400>	185		
	Val Gly Ser Val Ser Arg Ile Thr Tyr Gly Phe		
	5	10	
<210>	186		

<211>	339	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab19	
<400>	186	
	caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggccaccatc	60
	tcctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120
	cttcaggaa cagcccccaa actcctcatc tatcataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180
	cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240
	caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagccggaa cccccacgtc	300
	atcttcgggg gagggaccaa gctcaccgtc ctaagtgcg	339
<210>	187	
<211>	113	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab19	
<400>	187	
[0063]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
	5 10 15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro	
	20 25 30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu	
	35 40 45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe	
	50 55 60	
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
	65 70 75 80	
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Arg	
	85 90 95	
	Asn Pro His Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser	
	100 105 110	
	Ala	
<210>	188	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	智人	

[0064]

<220>

<223> Ab19

<400> 188

Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser

5

10

<210> 189

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab19

<400> 189

His Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 190

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab19

<400> 190

Gln Ser Tyr Asp Ser Arg Asn Pro His Val Ile

5

10

<210> 191

<211> 360

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> Ab20

<400> 191

caggtgcage tgggtcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcattgtaaaa ttcccgagaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact 120

cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac 180

gcacagaggt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctataga cacggcctac 240

ctgacctga gcagcctgag atccgacgac acggccgttt attattgttc aatagtgggg 300

tccttcagtc ccctgacgct ggccctctgg ggcaaaggga caatgggtcac cgtctcgagt 360

<210> 192

<211> 120

<212> PRT
<213> 智人
<220>
<223> Ab20
<400> 192
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu
20 25 30
Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ser Ile Val Gly Ser Phe Ser Pro Leu Thr Leu Gly Leu Trp Gly Lys
100 105 110

[0065]

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 193
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<223> Ab20
<400> 193

Glu Leu Ser Ile His
5

<210> 194
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<223> Ab20
<400> 194

Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe Gln

	5	10	15
Gly			
<210>	195		
<211>	11		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab20		
<400>	195		
Val Gly Ser Phe Ser Pro Leu Thr Leu Gly Leu			
	5	10	
<210>	196		
<211>	339		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab20		
<400>	196		
[0066]	caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc		60
	tctgtactg ggagcggtc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag		120
	cttcaggaa cagccccaa actctcacc taccataaca acaagcgcc ctcaggggtc		180
	cccgaccgat tctctgcctc caagtcggc acctcagcct ccctggccat cactggggtc		240
	caggctgacg atgaggtga ttattactgc gcgaccglg acgagggcct gagggttcg		300
	gttttcggcg gagggaccaa ggtcaccgtc ctaagtgcg		339
<210>	197		
<211>	113		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab20		
<400>	197		
Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln			
	5	10	15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro			
	20	25	30
Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu			
	35	40	45
Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe			

	50	55	60
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu		
	65	70	75 80
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Val Asp Glu Ala		
		85	90 95
	Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Ser		
	100	105	110
	Ala		
	<210> 198		
	<211> 14		
	<212> PRT		
	<213> 智人		
	<220>		
	<223> Ab20		
	<400> 198		
	Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser		
	5	10	
	<210> 199		
	<211> 7		
	<212> PRT		
	<213> 智人		
	<220>		
	<223> Ab20		
	<400> 199		
	His Asn Asn Lys Arg Pro Ser		
	5		
	<210> 200		
	<211> 11		
	<212> PRT		
	<213> 智人		
	<220>		
	<223> Ab20		
	<400> 200		
	Ala Thr Val Asp Glu Ala Leu Ser Gly Ser Val		
	5	10	
	<210> 201		
	<211> 5		
	<212> PRT		

[0067]

[0068]

<213> 智人
<400> 201
Tyr Leu Asp Phe Gln
5
<210> 202
<211> 385
<212> PRT
<213> 智人
<400> 202
Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro
1 5 10 15
Ala Phe Leu Leu Ile Pro Glu Lys Ser Asp Leu Arg Thr Val Ala Pro
20 25 30
Ala Ser Ser Leu Asn Val Arg Phe Asp Ser Arg Thr Met Asn Leu Ser
35 40 45
Trp Asp Cys Gln Glu Asn Thr Thr Phe Ser Lys Cys Phe Leu Thr Asp
50 55 60
Lys Lys Asn Arg Val Val Glu Pro Arg Leu Ser Asn Asn Glu Cys Ser
65 70 75 80
Cys Thr Phe Arg Glu Ile Cys Leu His Glu Gly Val Thr Phe Glu Val
85 90 95
His Val Asn Thr Ser Gln Arg Gly Phe Gln Gln Lys Leu Leu Tyr Pro
100 105 110
Asn Ser Gly Arg Glu Gly Thr Ala Ala Gln Asn Phe Ser Cys Phe Ile
115 120 125
Tyr Asn Ala Asp Leu Met Asn Cys Thr Trp Ala Arg Gly Pro Thr Ala
130 135 140
Pro Arg Asp Val Gln Tyr Phe Leu Tyr Ile Arg Asn Ser Lys Arg Arg
145 150 155 160
Arg Glu Ile Arg Cys Pro Tyr Tyr Ile Gln Asp Ser Gly Thr His Val
165 170 175
Gly Cys His Leu Asp Asn Leu Ser Gly Leu Thr Ser Arg Asn Tyr Phe
180 185 190
Leu Val Asn Gly Thr Ser Arg Glu Ile Gly Ile Gln Phe Phe Asp Ser
195 200 205
Leu Leu Asp Thr Lys Lys Ile Glu Arg Phe Asn Pro Pro Ser Asn Val
210 215 220
Thr Val Arg Cys Asn Thr Thr His Cys Leu Val Arg Trp Lys Gln Pro

225	230	235	240
Arg Thr Tyr Gln Lys Leu Ser Tyr Leu Asp Phe Gln Tyr Gln Leu Asp			
245	250	255	
Val His Arg Lys Asn Thr Gln Pro Gly Thr Glu Asn Leu Leu Ile Asn			
260	265	270	
Val Ser Gly Asp Leu Glu Asn Arg Tyr Asn Phe Pro Ser Ser Glu Pro			
275	280	285	
Arg Ala Lys His Ser Val Lys Ile Arg Ala Ala Asp Val Arg Ile Leu			
290	295	300	
Asn Trp Ser Ser Trp Ser Glu Ala Ile Glu Phe Gly Ser Asp Asp Gly			
305	310	315	320
Asn Leu Gly Ser Val Tyr Ile Tyr Val Leu Leu Ile Val Gly Thr Leu			
325	330	335	
Val Cys Gly Ile Val Leu Gly Phe Leu Phe Lys Arg Phe Leu Arg Ile			
340	345	350	
Gln Arg Leu Phe Pro Pro Val Pro Gln Ile Lys Asp Lys Leu Asn Asp			
355	360	365	
Asn His Glu Val Glu Asp Glu Ile Ile Trp Glu Glu Phe Thr Pro Glu			
370	375	380	
[0069] Glu			
385			
<210> 203			
<211> 316			
<212> PRT			
<213> 智人			
<220>			
<223> 具有FLAG标签的人序列			
<400> 203			
Ala Ser Ile Ser Ala Arg Gln Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Thr			
1 5 10 15			
Arg Gln Glu Lys Ser Asp Leu Arg Thr Val Ala Pro Ala Ser Ser Leu			
20 25 30			
Asn Val Arg Phe Asp Ser Arg Thr Met Asn Leu Ser Trp Asp Cys Gln			
35 40 45			
Glu Asn Thr Thr Phe Ser Lys Cys Phe Leu Thr Asp Lys Lys Asn Arg			
50 55 60			
Val Val Glu Pro Arg Leu Ser Asn Asn Glu Cys Ser Cys Thr Phe Arg			
65 70 75 80			

[0070]

Glu Ile Cys Leu His Glu Gly Val Thr Phe Glu Val His Val Asn Thr
 85 90 95
 Ser Gln Arg Gly Phe Gln Gln Lys Leu Leu Tyr Pro Asn Ser Gly Arg
 100 105 110
 Glu Gly Thr Ala Ala Gln Asn Phe Ser Cys Phe Ile Tyr Asn Ala Asp
 115 120 125
 Leu Met Asn Cys Thr Trp Ala Arg Gly Pro Thr Ala Pro Arg Asp Val
 130 135 140
 Gln Tyr Phe Leu Tyr Ile Arg Asn Ser Lys Arg Arg Arg Glu Ile Arg
 145 150 155 160
 Cys Pro Tyr Tyr Ile Gln Asp Ser Gly Thr His Val Gly Cys His Leu
 165 170 175
 Asp Asn Leu Ser Gly Leu Thr Ser Arg Asn Tyr Phe Leu Val Asn Gly
 180 185 190
 Thr Ser Arg Glu Ile Gly Ile Gln Phe Phe Asp Ser Leu Leu Asp Thr
 195 200 205
 Lys Lys Ile Glu Arg Phe Asn Pro Pro Ser Asn Val Thr Val Arg Cys
 210 215 220
 Asn Thr Thr His Cys Leu Val Arg Trp Lys Gln Pro Arg Thr Tyr Gln
 225 230 235 240
 Lys Leu Ser Tyr Leu Asp Phe Gln Tyr Gln Leu Asp Val His Arg Lys
 245 250 255
 Asn Thr Gln Pro Gly Thr Glu Asn Leu Leu Ile Asn Val Ser Gly Asp
 260 265 270
 Leu Glu Asn Arg Tyr Asn Phe Pro Ser Ser Glu Pro Arg Ala Lys His
 275 280 285
 Ser Val Lys Ile Arg Ala Ala Asp Val Arg Ile Leu Asn Trp Ser Ser
 290 295 300
 Trp Ser Glu Ala Ile Glu Phe Gly Ser Asp Asp Gly
 305 310 315
 <210> 204
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成的FLAG肽
 <400> 204
 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5
 <210> 205
 <211> 298
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 205
 Glu Lys Ser Asp Leu Arg Thr Val Ala Pro Ala Ser Ser Leu Asn Val
 1 5 10 15
 Arg Phe Asp Ser Arg Thr Met Asn Leu Ser Trp Asp Cys Gln Glu Asn
 20 25 30
 Thr Thr Phe Ser Lys Cys Phe Leu Thr Asp Lys Lys Asn Arg Val Val
 35 40 45
 Glu Pro Arg Leu Ser Asn Asn Glu Cys Ser Cys Thr Phe Arg Glu Ile
 50 55 60
 Cys Leu His Glu Gly Val Thr Phe Glu Val His Val Asn Thr Ser Gln
 65 70 75 80
 Arg Gly Phe Gln Gln Lys Leu Leu Tyr Pro Asn Ser Gly Arg Glu Gly
 85 90 95
 Thr Ala Ala Gln Asn Phe Ser Cys Phe Ile Tyr Asn Ala Asp Leu Met
 [0071] 100 105 110
 Asn Cys Thr Trp Ala Arg Gly Pro Thr Ala Pro Arg Asp Val Gln Tyr
 115 120 125
 Phe Leu Tyr Ile Arg Asn Ser Lys Arg Arg Arg Glu Ile Arg Cys Pro
 130 135 140
 Tyr Tyr Ile Gln Asp Ser Gly Thr His Val Gly Cys His Leu Asp Asn
 145 150 155 160
 Leu Ser Gly Leu Thr Ser Arg Asn Tyr Phe Leu Val Asn Gly Thr Ser
 165 170 175
 Arg Glu Ile Gly Ile Gln Phe Phe Asp Ser Leu Leu Asp Thr Lys Lys
 180 185 190
 Ile Glu Arg Phe Asn Pro Pro Ser Asn Val Thr Val Arg Cys Asn Thr
 195 200 205
 Thr His Cys Leu Val Arg Trp Lys Gln Pro Arg Thr Tyr Gln Lys Leu
 210 215 220
 Ser Tyr Leu Asp Phe Gln Tyr Gln Leu Asp Val His Arg Lys Asn Thr
 225 230 235 240
 Gln Pro Gly Thr Glu Asn Leu Leu Ile Asn Val Ser Gly Asp Leu Glu
 245 250 255

[0072]

Asn Arg Tyr Asn Phe Pro Ser Ser Glu Pro Arg Ala Lys His Ser Val
 260 265 270
 Lys Ile Arg Ala Ala Asp Val Arg Ile Leu Asn Trp Ser Ser Trp Ser
 275 280 285
 Glu Ala Ile Glu Phe Gly Ser Asp Asp Gly
 290 295
 <210> 206
 <211> 378
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 206
 Glu Lys Ser Asp Leu Arg Thr Val Ala Pro Ala Ser Ser Leu Asn Val
 1 5 10 15
 Arg Phe Asp Ser Arg Thr Met Asn Leu Ser Trp Asp Cys Gln Glu Asn
 20 25 30
 Thr Thr Phe Ser Lys Cys Phe Leu Thr Asp Lys Lys Asn Arg Val Val
 35 40 45
 Glu Pro Arg Leu Ser Asn Asn Glu Cys Ser Cys Thr Phe Arg Glu Ile
 50 55 60
 Cys Leu His Glu Gly Val Thr Phe Glu Val His Val Asn Thr Ser Gln
 65 70 75 80
 Arg Gly Phe Gln Gln Lys Leu Leu Tyr Pro Asn Ser Gly Arg Glu Gly
 85 90 95
 Thr Ala Ala Gln Asn Phe Ser Cys Phe Ile Tyr Asn Ala Asp Leu Met
 100 105 110
 Asn Cys Thr Trp Ala Arg Gly Pro Thr Ala Pro Arg Asp Val Gln Tyr
 115 120 125
 Phe Leu Tyr Ile Arg Asn Ser Lys Arg Arg Arg Glu Ile Arg Cys Pro
 130 135 140
 Tyr Tyr Ile Gln Asp Ser Gly Thr His Val Gly Cys His Leu Asp Asn
 145 150 155 160
 Leu Ser Gly Leu Thr Ser Arg Asn Tyr Phe Leu Val Asn Gly Thr Ser
 165 170 175
 Arg Glu Ile Gly Ile Gln Phe Phe Asp Ser Leu Leu Asp Thr Lys Lys
 180 185 190
 Ile Glu Arg Phe Asn Pro Pro Ser Asn Val Thr Val Arg Cys Asn Thr
 195 200 205
 Thr His Cys Leu Val Arg Trp Lys Gln Pro Arg Thr Tyr Gln Lys Leu

	210	215	220	
	Ser Tyr Leu Asp Phe Gln Tyr Gln Leu Asp Val His Arg Lys Asn Thr			
	225	230	235	240
	Gln Pro Gly Thr Glu Asn Leu Leu Ile Asn Val Ser Gly Asp Leu Glu			
	245	250	255	
	Asn Arg Tyr Asn Phe Pro Ser Ser Glu Pro Arg Ala Lys His Ser Val			
	260	265	270	
	Lys Ile Arg Ala Ala Asp Val Arg Ile Leu Asn Trp Ser Ser Trp Ser			
	275	280	285	
	Glu Ala Ile Glu Phe Gly Ser Asp Asp Gly Asn Leu Gly Ser Val Tyr			
	290	295	300	
	Ile Tyr Val Leu Leu Ile Val Gly Thr Leu Val Cys Gly Ile Val Leu			
	305	310	315	320
	Gly Phe Leu Phe Lys Arg Phe Leu Arg Ile Gln Arg Leu Phe Pro Pro			
	325	330	335	
	Val Pro Gln Ile Lys Asp Lys Leu Asn Asp Asn His Glu Val Glu Asp			
	340	345	350	
	Glu Ile Ile Trp Glu Glu Phe Thr Pro Glu Glu Gly Lys Gly Tyr Arg			
	355	360	365	
[0073]	Glu Glu Val Leu Thr Val Lys Glu Ile Thr			
	370	375		
<210>	207			
<211>	333			
<212>	DNA			
<213>	智人			
<220>				
<223>	Ab1			
<400>	207			
	cagtctgtgc tgactcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60		
	tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120		
	cttccaggaa cagcccccaa actctctcgc tctcataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180		
	cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240		
	caggetgagg atgaggetga ttattactgc cagtcctatg acagcagctc gatcagcacg	300		
	attttcggcg gagggaccaa gctcaccgtc cta	333		
<210>	208			
<211>	111			
<212>	PRT			
<213>	智人			

[0074]

<220>

<223> Ab1

<400> 208

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro

20 25 30

Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser

85 90 95

Ser Ile Ser Thr Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 209

<211> 333

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> Ab2

<400> 209

caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggccaccatc 60

tcctgtactg ggagcggtc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120

cttcaggaa cagccccaa actcctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180

cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240

caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagggttctg 300

gttttcggcg gagggaccaa ggtcaccgtc cta 333

<210> 210

<211> 111

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab2

<400> 210

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

	5	10	15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro			
20	25	30	
Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu			
35	40	45	
Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe			
50	55	60	
Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu			
65	70	75	80
Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser			
85	90	95	
Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu			
100	105	110	
<210>	211		
<211>	333		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab3		
<400>	211		
caggetgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggteaccatc			60
tctgtactg ggagcggtc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag			120
cttcaggaa cagccccaa actcctcadc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc			180
cctgaccgat tctctgctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggtc			240
caggetgacg atgaggetga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gattgggttcg			300
gttttcgggg gagggaccaa ggtcacctgc cta			333
<210>	212		
<211>	111		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab3		
<400>	212		
Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln			
5	10	15	
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro			
20	25	30	
Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu			

	35	40	45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe			
	50	55	60	
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu			
	65	70	75	80
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser			
	85	90	95	
	Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu			
	100	105	110	
<210>	213			
<211>	333			
<212>	DNA			
<213>	智人			
<220>				
<223>	Ab4			
<400>	213			
	caggctgtgc tgactcagcc gtccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60		
	tctgtacttg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120		
[0076]	cttcaggaa cagcccccaa actcctcacc tatcataaca acaagcgccc ctcaggggtc	180		
	cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccttggccat cactgggctc	240		
	caggetgacg atgaggetga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtggttcg	300		
	gttttcggcg gagggaccaa ggtcaccgtc cta	333		
<210>	214			
<211>	111			
<212>	PRT			
<213>	智人			
<220>				
<223>	Ab4			
<400>	214			
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln			
	5	10	15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro			
	20	25	30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu			
	35	40	45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe			
	50	55	60	

	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
65	70	75
	80	
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser	
	85	90
	95	
	Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu	
	100	105
	110	
<210>	215	
<211>	333	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab5	
<400>	215	
	caggctgtgc tgactcagcc gtccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggteaccate	60
	tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120
	cttcaggaa cagccccaa actcctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180
	ccagaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccttgcccat cactgggctc	240
	caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgggtcg	300
	gttttcggcg gagggaccaa ggtcaccgtc cta	333
[0077]		
<210>	216	
<211>	111	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab5	
<400>	216	
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
	5	10
	15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro	
	20	25
	30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu	
	35	40
	45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe	
	50	55
	60	
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
65	70	75
	80	
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser	
	85	90
	95	

[0078]

Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

100

105

110

<210> 217

<211> 333

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> Ab6

<400> 217

cagtctgtgc tgactcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 ctccaggaa cagccccaa actcctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180
 cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccttgccat cactgggctc 240
 caggtctagg atgaggtga ttattactgc gcgaccgttg aggccggcct gactggttcg 300
 gttttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 218

<211> 111

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab6

<400> 218

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

5

10

15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro

20

25

30

Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

35

40

45

Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

50

55

60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu

65

70

75

80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Val Glu Ala Gly

85

90

95

Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100

105

110

<210> 219

<211> 333

<212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab7
 <400> 219
 caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tcctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 ctccaggaa cagcccccaa actcctcatc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180
 cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240
 caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgggtcg 300
 gttttcggcg gagggaccaa ggtcaccgtc cta 333

<210> 220
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab7
 <400> 220

[0079]

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

<210> 221
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab8

[0080]	<400>	221	
		caggctgtgc tgactcagcc gtctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60
		tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120
		cttcaggaa cagcccccaa actctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180
		cctgaccgat tctctgctc caagtctggc acctcagcct ccttgccat cactgggctc	240
		caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgggttcg	300
		gttttcggcg gagggaccaa ggtcaccgtc cta	333
	<210>	222	
	<211>	111	
	<212>	PRT	
	<213>	智人	
	<220>		
	<223>	Ab8	
	<400>	222	
		Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
		5 10 15	
		Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro	
		20 25 30	
		Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu	
		35 40 45	
		Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe	
		50 55 60	
		Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
		65 70 75 80	
		Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser	
		85 90 95	
		Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu	
		100 105 110	
	<210>	223	
	<211>	333	
	<212>	DNA	
	<213>	智人	
	<220>		
	<223>	Ab9	
	<400>	223	
		caggctgtgc tgactcagcc gtctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60
		tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120
		cttcaggaa cagcccccaa actctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180

	cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240
	caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgggttcg	300
	gttttcggcg gagggaccaa ggtcaccgtc cta	333
<210>	224	
<211>	111	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab9	
<400>	224	
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
	5 10 15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro	
	20 25 30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu	
	35 40 45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe	
	50 55 60	
[0081]	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
	65 70 75 80	
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser	
	85 90 95	
	Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu	
	100 105 110	
<210>	225	
<211>	333	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab10	
<400>	225	
	caggctgtgc tgactcagcc gtctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60
	tctglactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120
	cttcaggaa cagcccccaa actctcctc tctcataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180
	cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240
	caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgggttcg	300
	gttttcggcg gagggaccaa ggtcaccgtc cta	333
<210>	226	

<211>	111	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab10	
<400>	226	
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
	5 10 15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro	
	20 25 30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu	
	35 40 45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe	
	50 55 60	
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
	65 70 75 80	
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser	
	85 90 95	
	Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu	
[0082]	100 105 110	
<210>	227	
<211>	333	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab11	
<400>	227	
	caggctgtgc tgactcagcc gtctcagtg tctgggggtcc cagggcagag ggtcaccatc	60
	tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcacctatg atgtaagctg gtaccagcag	120
	cttcaggaa cagccccaa actctcadc tatcataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180
	cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccttgccat cactgggctc	240
	caggctgacg atgaggtga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagggttcg	300
	gttttcggcg gagggaccaa ggtcacgctc cta	333
<210>	228	
<211>	111	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		

[0083]

<223> Ab11
 <400> 228
 Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Pro Gly Gln
 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro
 20 25 30
 Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
 85 90 95
 Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 229

<211> 333

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> Ab12

<400> 229

caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60

tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120

cttcaggaa cagcccccaa actcctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180

cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240

caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcgagcc gaccgagatc 300

cgttcgggg gagggaccaa gctcaccgtc cta 333

<210> 230

<211> 111

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab12

<400> 230

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

	5	10	15
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro		
	20	25	30
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu		
	35	40	45
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe		
	50	55	60
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu		
	65	70	75
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Glu		
	85	90	95
	Pro Thr Glu Ile Arg Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
	100	105	110
<210>	231		
<211>	333		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab13		
[0084] <400>	231		
	caggctgtgc tgactcagcc gtcttcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60	
	tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120	
	cttcaggaa cagecccaaa actctcctc tatecataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180	
	cctgaccgat tctctgectc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240	
	caggctgacg atgaggtgta ttattactgc cagtcctatg acagcaggac gggcatcatc	300	
	gtcttcgggg gagggaccaa ggtcaccgtc cta	333	
<210>	232		
<211>	111		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab13		
<400>	232		
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln		
	5	10	15
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro		
	20	25	30
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu		

	35	40	45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe			
	50	55	60	
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu			
	65	70	75	80
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Arg			
	85	90	95	
	Thr Gly Ile Ile Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu			
	100	105	110	
<210>	233			
<211>	333			
<212>	DNA			
<213>	智人			
<220>				
<223>	Ab14			
<400>	233			
[0085]	caggctgtgc tgactcagcc gtctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc			60
	tcctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag			120
	cttcaggaa cagccccaa actctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc			180
	cccgaccgat tctctgcctc caagctcggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc			240
	caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcgagga caggatgacg			300
	gagttcgggg gagggaccaa ggtcaccgtc cta			333
<210>	234			
<211>	111			
<212>	PRT			
<213>	智人			
<220>				
<223>	Ab14			
<400>	234			
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln			
	5	10	15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro			
	20	25	30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu			
	35	40	45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe			
	50	55	60	
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu			

	65	70	75	80
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Glu			
	85	90	95	
	Asp Arg Met Thr Glu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu			
	100	105	110	
<210>	235			
<211>	333			
<212>	DNA			
<213>	智人			
<220>				
<223>	Ab15			
<400>	235			
	caggetgtgc tgactcagcc gtccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60		
	tccgtgactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120		
	cttcaggaa cagccccaa actcctcatic tatcataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180		
	cctgaccgat tetctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240		
	caggetgacg atgaggtga ttattactgc cagtcctatg acagccagtt gattagcgcc	300		
	gccttcgggg gagggaccaa ggtcaccgtc cta	333		
[0086]	<210>	236		
	<211>	111		
	<212>	PRT		
	<213>	智人		
	<220>			
	<223>	Ab15		
	<400>	236		
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln			
	5	10	15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro			
	20	25	30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu			
	35	40	45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe			
	50	55	60	
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu			
	65	70	75	80
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Gln			
	85	90	95	
	Leu Ile Ser Ala Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu			

	100	105	110
<210>	237		
<211>	333		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab16		
<400>	237		
	caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60	
	tcctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120	
	cttcaggaa cagcccccaa actcctcatc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180	
	cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240	
	caggctgagg atgaggctga ttattactgc gcgacctccg acgagatcct gagtgggttcg	300	
	gttttcgggg gagggaccaa ggtcaccgtc cta	333	
<210>	238		
<211>	111		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab16		
<400>	238		
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln		
	5 10 15		
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro		
	20 25 30		
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu		
	35 40 45		
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe		
	50 55 60		
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu		
	65 70 75 80		
	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Ser Asp Glu Ile		
	85 90 95		
	Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu		
	100 105 110		
<210>	239		
<211>	333		
<212>	DNA		

[0087]

<213> 智人
 <220>
 <223> Ab17
 <400> 239
 caggctgtgc tgactcagcc gtctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 cttccaggaa cagcccccaa actctcctc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180
 cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240
 caggctgacg atgaggctga ttattactgc gcgaccgtcg aggacggcct gagtgggttcg 300
 gttttcgggg gagggaccaa ggtcaccgtc cta 333

<210> 240
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab17
 <400> 240

[0088]

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

<210> 241
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab18

[0089]	<400> 241	
	caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60
	tcctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120
	cttcaggaa cagcccccaa actcctcacc tatcataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180
	cccgaccgat tctctgctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240
	caggctgacg atgagctga ttattactgc cagtcctatg acagccagtg gaaccagccc	300
	ctcttcgggg gagggaccaa ggtcaccgtc cta	333
	<210> 242	
	<211> 111	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab18	
[0089]	<400> 242	
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
	5 10 15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro	
	20 25 30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu	
	35 40 45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe	
	50 55 60	
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
[0089]	65 70 75 80	
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Gln	
	85 90 95	
	Trp Asn Gln Pro Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu	
	100 105 110	
	<210> 243	
	<211> 333	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<220>	
	<223> Ab19	
	<400> 243	
	caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60
	tcctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120
	cttcaggaa cagcccccaa actcctcacc tatcataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180

	cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240
	caggctgacg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagccggaa cccccacgtc	300
	atcttcgggg gagggaccaa gctcaccgtc cta	333
<210>	244	
<211>	111	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab19	
<400>	244	
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
	5 10 15	
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro	
	20 25 30	
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu	
	35 40 45	
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe	
	50 55 60	
[0090]	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu	
	65 70 75 80	
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Arg	
	85 90 95	
	Asn Pro His Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu	
	100 105 110	
<210>	245	
<211>	333	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<220>		
<223>	Ab20	
<400>	245	
	caggctgtgc tgactcagcc gtctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60
	tctgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag	120
	cttcaggaa cagcccccaa actctcacc taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc	180
	cctgaccgat tctctgcctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240
	caggctgacg atgaggctga ttattactgc gcgaccgtgg acgagggcct gactgggttcg	300
	gttttcggcg gagggaccaa ggtcaccgtc cta	333
<210>	246	

<211>	111		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab20		
<400>	246		
	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln		
	5 10 15		
	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro		
	20 25 30		
	Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu		
	35 40 45		
	Leu Ile Tyr His Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe		
	50 55 60		
	Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu		
	65 70 75 80		
	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Val Asp Glu Ala		
	85 90 95		
[0091]	Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu		
	100 105 110		
<210>	247		
<211>	360		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<220>			
<223>	Ab 6非种系的		
<400>	247		
	cagggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60	
	tcatgtaaaa tttccggaca cagcctcagt gaactgtcca tccactgggt gcgacagact	120	
	cccacaaaag gatttgagtg gatgggagga ttgatcctg aagagaatga aatagtctac	180	
	gcacagaggt tccagggcag agtcacatg accgaggaca catctataga cacggcctac	240	
	ctgaccctga gcagcctgag atccgaagac acggccgttt attattgttc aatagtgggg	300	
	tctttcagtc cgctaacgtt gggcctcttg ggcaaaggga caatggtcac cgtctcgagt	360	
<210>	248		
<211>	120		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<220>			

<223> Ab 6非种系的
 <400> 248
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Ser Leu Ser Glu Leu
 20 25 30
 Ser Ile His Trp Val Arg Gln Thr Pro Thr Lys Gly Phe Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Asn Glu Ile Val Tyr Ala Gln Arg Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Thr Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Ile Val Gly Ser Phe Ser Pro Leu Thr Leu Gly Leu Trp Gly Lys
 100 105 110
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

[0092]

<210> 249
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab 6非种系的
 <400> 249
 caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tectgtactg ggagcggctc caacatcggg gcaccttatg atgtaagctg gtaccagcag 120
 cttccaggaa cagcccccaa actcctcatt taccataaca acaagcggcc ctcaggggtc 180
 cctgaccgat tctctgccct caagtcgggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240
 caggctgacg atgaggetga ttattactgc ggcacggctg aggccggcct gactgggttc 300
 gttttcgggg gagggaccaa gctcaccgtc cta 333
 <210> 250
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <223> Ab 6非种系的
 <400> 250

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

<210> 251

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab 6

<400> 251

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr
20 25 30

<210> 252

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab 6

<400> 252

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

<210> 253

<211> 32

<212> PRT

<213> 智人

[0093]

[0094]

<220>

<223> Ab 6

<400> 253

Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr Met Glu

5

10

15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ile

20

25

30

<210> 254

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab 6

<400> 254

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

5

10

<210> 255

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab 6

<400> 255

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

5

10

15

Arg Val Thr Ile Ser Cys

20

<210> 256

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab 6

<400> 256

Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

5

10

15

<210> 257

<211> 32

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab 6

<400> 257

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser

5

10

15

Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys

20

25

30

[0095]

<210> 258

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> Ab 6

<400> 258

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

5

10

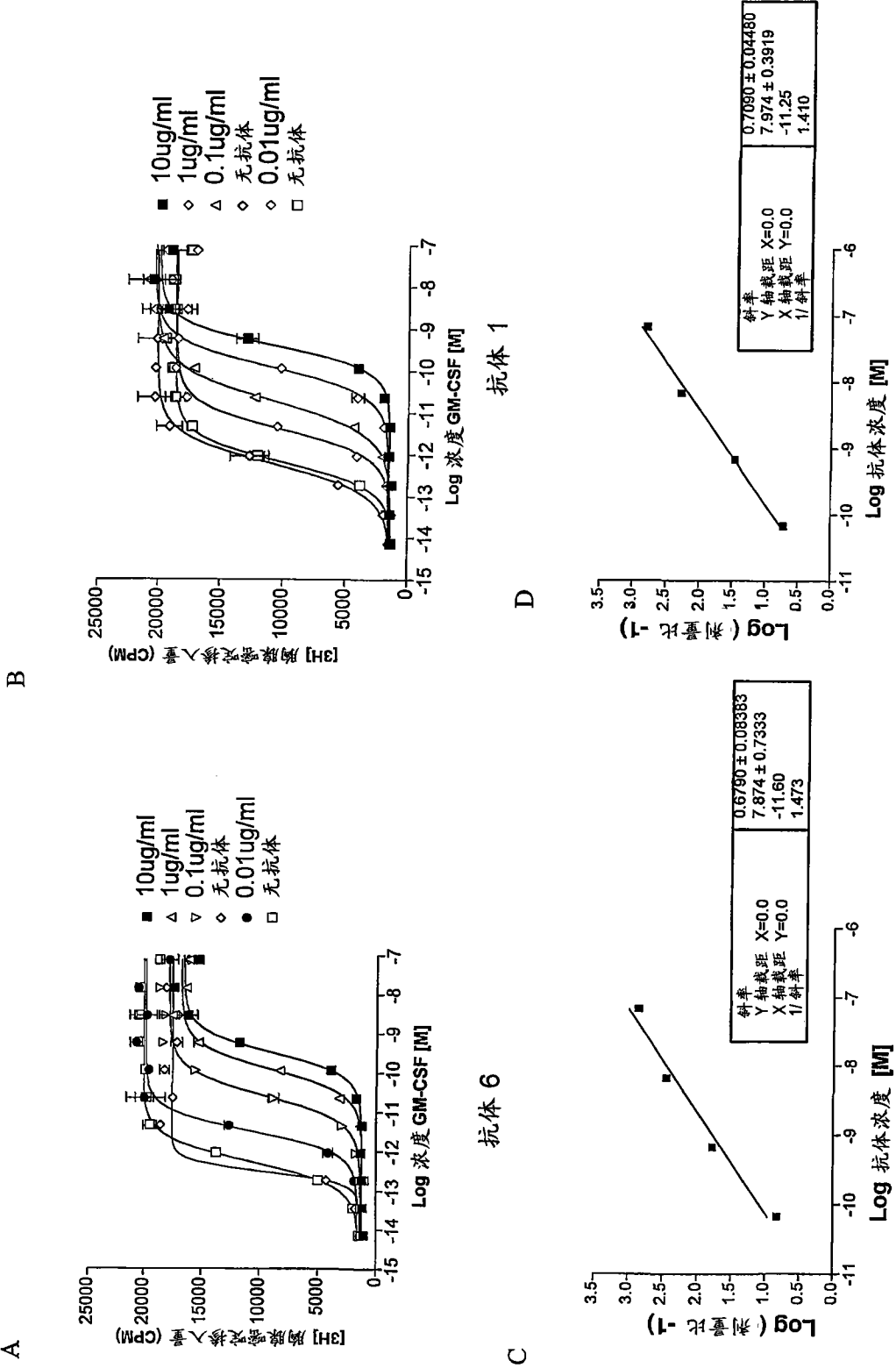


图1

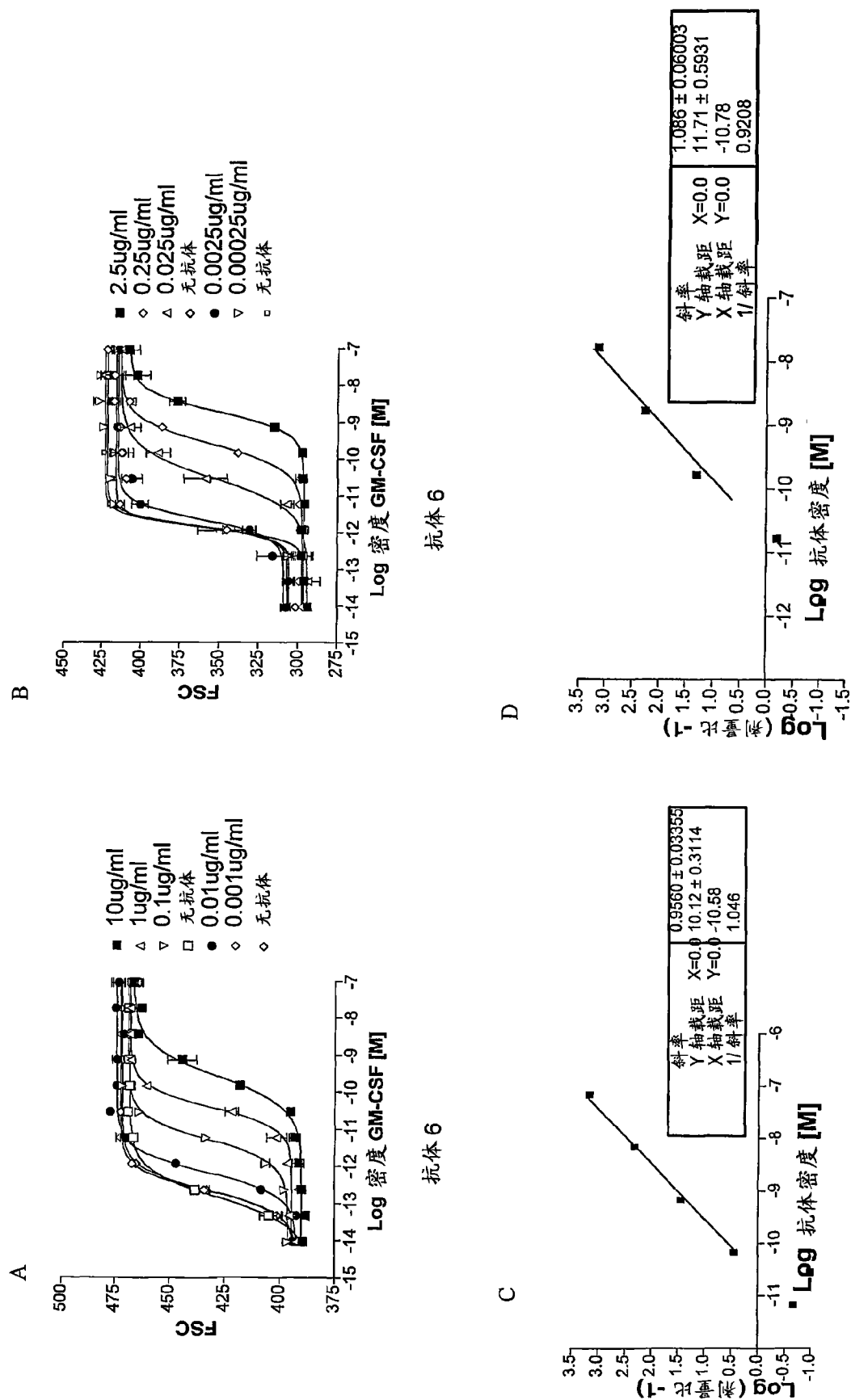


图2

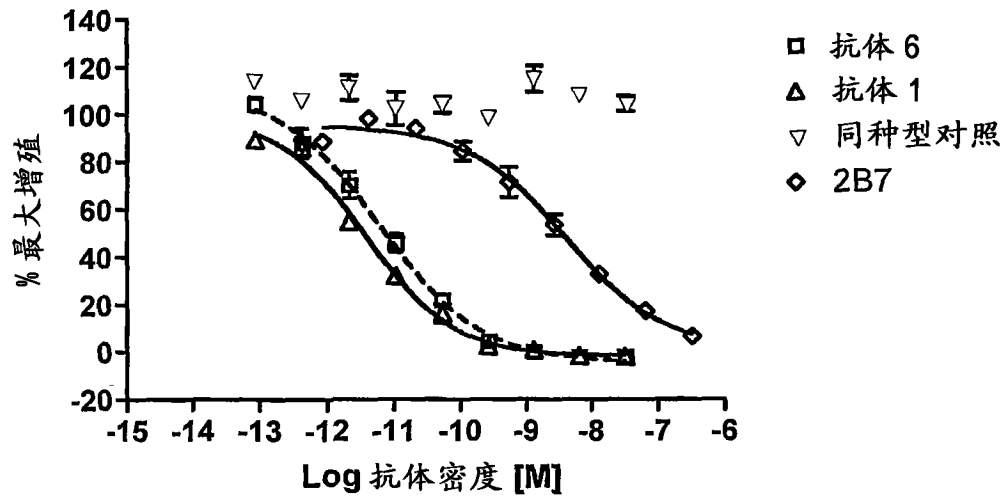


图3

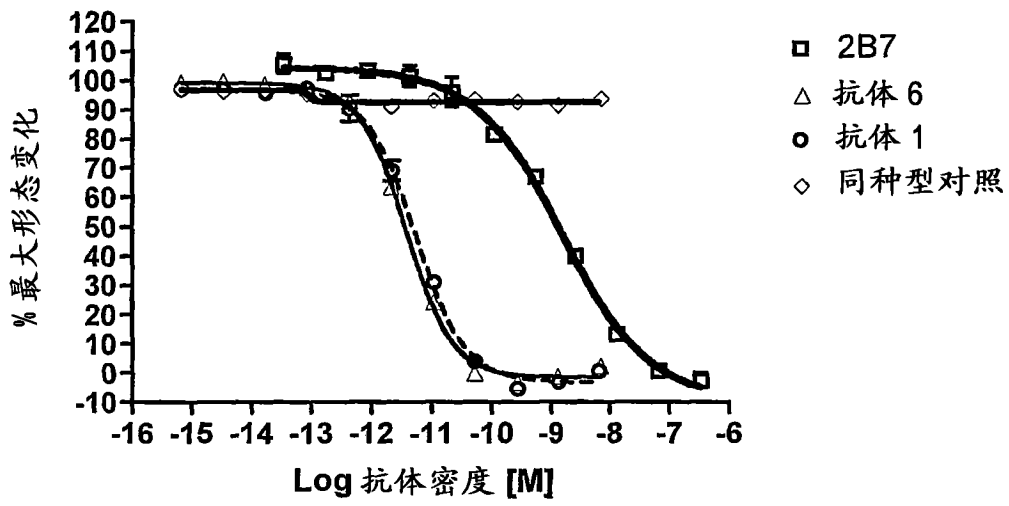


图4

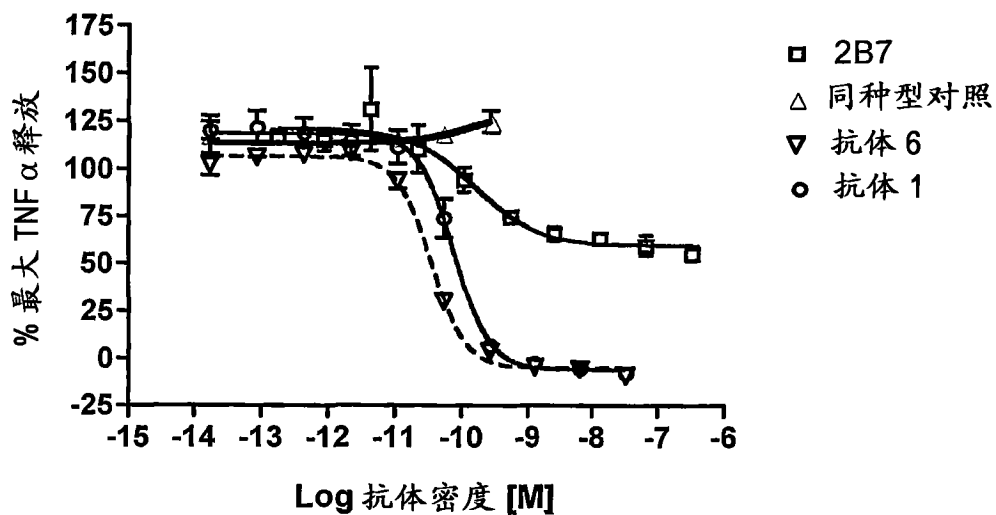
单核细胞 TNF α 释放

图5

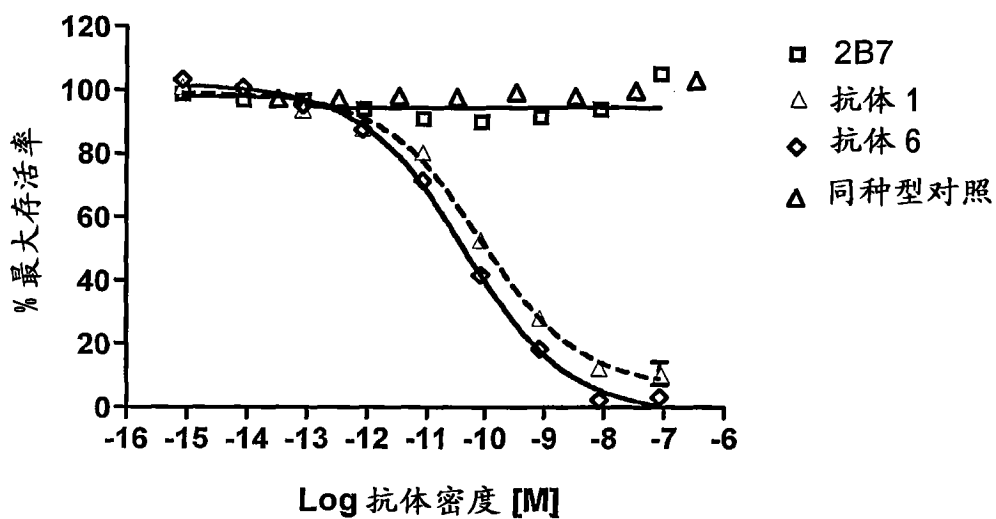


图6

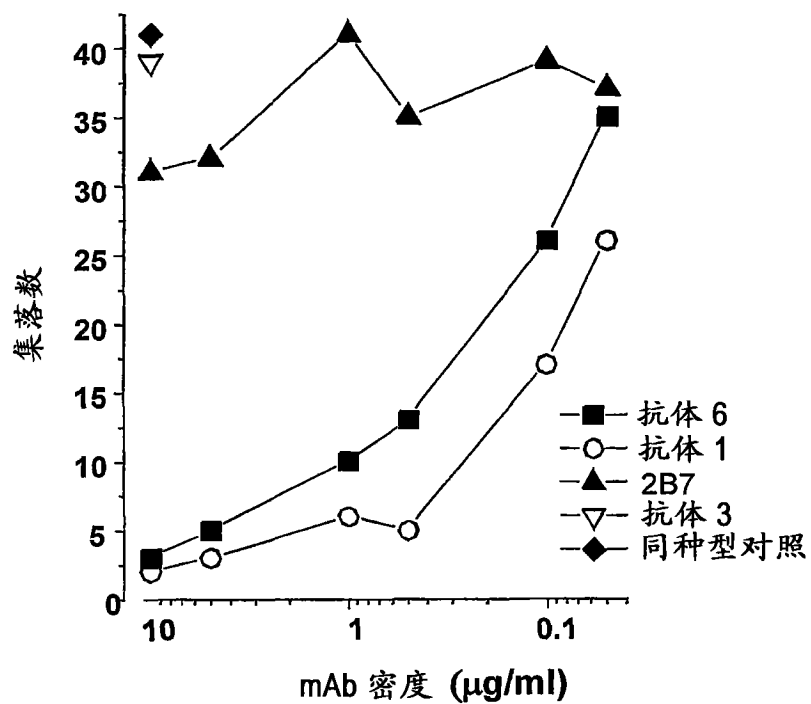


图7

作为体重百分比的脾重量
 2 x 500 ng hGMCSF, 测试 mAb 的滴定 (1 次注射)

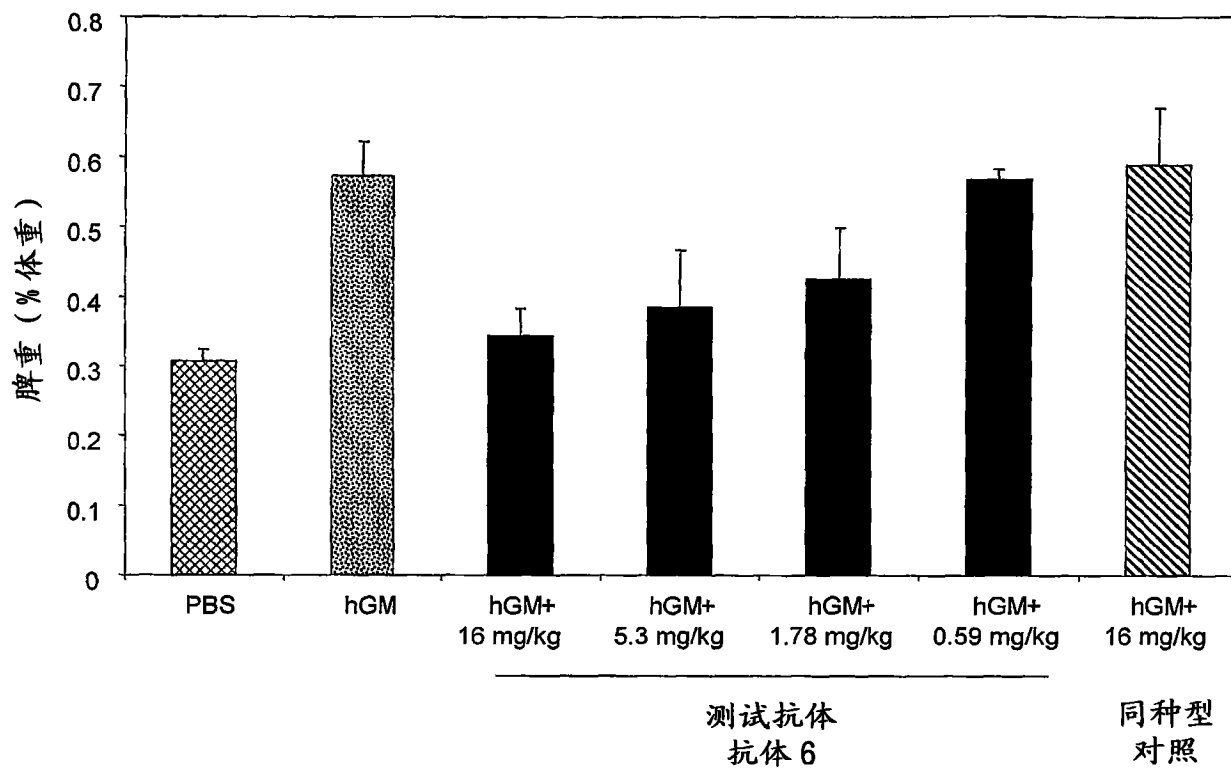
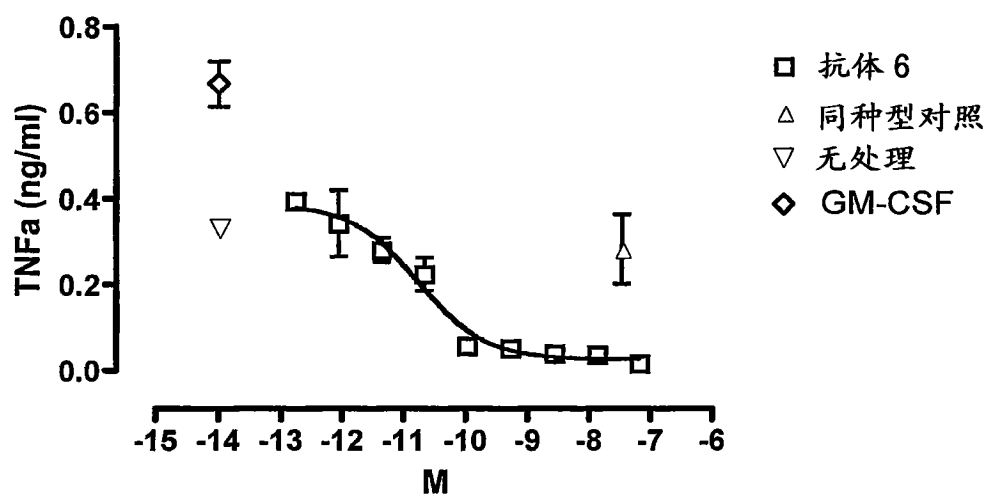


图8

A



B

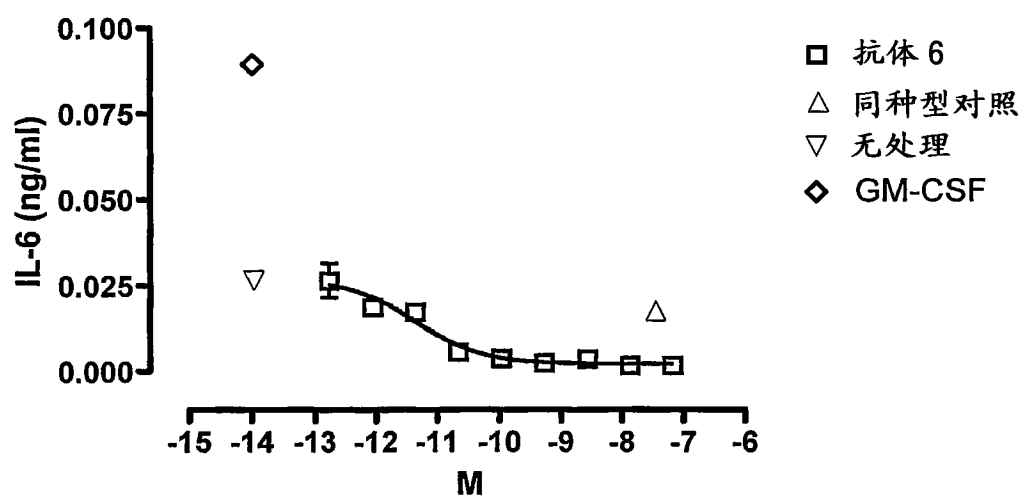


图9