



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112424357 B

(45) 授权公告日 2024.12.24

(21) 申请号 201980043858.7

A61K 39/395 (2006.01)

(22) 申请日 2019.06.26

A61K 47/56 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61K 47/60 (2006.01)

申请公布号 CN 112424357 A

A61K 47/68 (2006.01)

(43) 申请公布日 2021.02.26

A61K 50/00 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 51/10 (2006.01)

2018-120476 2018.06.26 JP

A61P 25/00 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61P 29/00 (2006.01)

2020.12.28

A61P 35/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

C07K 16/28 (2006.01)

PCT/JP2019/025450 2019.06.26

C12N 1/15 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

C12N 1/19 (2006.01)

W02020/004490 JA 2020.01.02

C12N 1/21 (2006.01)

(73) 专利权人 协和麒麟株式会社

C12N 5/10 (2006.01)

地址 日本东京都

C12P 21/08 (2006.01)

专利权人 国立大学法人鹿儿岛大学

(72) 发明人 高桥信明 中野了辅 前田彩夏

(56) 对比文件

CN 107530426 A, 2018.01.02

Oohira A et al..Neuroglycan C, a brain-specific part-time proteoglycan, with a particular multidomain structure.《Glycoconjugate Journal》.2004,第21卷(第1-2期),摘要,第56页右栏第2段.

审查员 陈永强

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限公司

权利要求书3页 说明书59页

责任公司 11219

序列表74页 附图5页

专利代理人 金海霞 刘慧

(51) Int.Cl.

脑中抗体量的方法、等等。

C12N 15/13 (2006.01)

(54) 发明名称

与硫酸软骨素蛋白聚糖5结合的抗体

(57) 摘要

本发明涉及：与硫酸软骨素蛋白聚糖5 (CSPG5) 结合的抗体或所述抗体的片段、产生所述抗体或抗体片段的杂交瘤、含有编码所述抗体或抗体片段的碱基序列的核酸、包含含有所述核酸的载体的转化细胞、生产所述抗体或抗体片段的方法、含有所述抗体或抗体片段的组合物、通过使用所述抗体或抗体片段检测或测量脑中存在的抗原的方法、用于诊断或治疗脑部疾病的方法、用于提高抗体在脑中保留的方法、用于增加

1. 一种与硫酸软骨素蛋白聚糖5(CSPG5)结合的抗体或其抗体片段，其中所述抗体和所述抗体片段包含选自以下(a)至(o)的互补决定区(CDR)：

(a) 重链可变结构域(VH)的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:53、54和55表示的氨基酸序列，并且轻链可变结构域(VL)的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:58、59和60表示的氨基酸序列；

(b) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:3、4和5表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:8、9和10表示的氨基酸序列；

(c) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:13、14和15表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:18、19和20表示的氨基酸序列；

(d) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:23、24和25表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:28、29和30表示的氨基酸序列；

(e) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:33、34和35表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:38、39和40表示的氨基酸序列；

(f) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:43、44和45表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:48、49和50表示的氨基酸序列；

(g) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:63、64和65表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:68、69和70表示的氨基酸序列；

(h) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:73、74和75表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:78、79和80表示的氨基酸序列；

(i) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:83、84和85表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:88、89和90表示的氨基酸序列；

(j) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:93、94和95表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:98、99和100表示的氨基酸序列；

(k) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:103、104和105表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:108、109和110表示的氨基酸序列；

(l) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:113、114和115表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:118、119和120表示的氨基酸序列；

(m) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:123、124和125表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:128、129和130表示的氨基酸序列；

(n) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:133、134和135表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:138、139和140表示的氨基酸序列；和

(o) VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:143、144和145表示的氨基酸序列，并且VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别是由SEQ ID NO:148、149和150表示的氨基酸序列。

2. 根据权利要求1所述的抗体或其抗体片段，其中所述抗体和所述抗体片段包含选自

以下(A)至(O)的VH和VL：

(A) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:52表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:57表示的氨基酸序列；

(B) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:2表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:7表示的氨基酸序列；

(C) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:12表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:17表示的氨基酸序列；

(D) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:22表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:27表示的氨基酸序列；

(E) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:32表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:37表示的氨基酸序列；

(F) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:42表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:47表示的氨基酸序列；(G) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:62表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:67表示的氨基酸序列；

(H) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:72表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:77表示的氨基酸序列；

(I) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:82表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:87表示的氨基酸序列；

(J) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:92表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:97表示的氨基酸序列；

(K) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:102表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:107表示的氨基酸序列；

(L) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:112表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:117表示的氨基酸序列；

(M) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:122表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:127表示的氨基酸序列；

(N) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:132表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:137表示的氨基酸序列；和

(O) VH的氨基酸序列是由SEQ ID NO:142表示的氨基酸序列，并且VL的氨基酸序列是由SEQ ID NO:147表示的氨基酸序列。

3. 根据权利要求1或2所述的抗体或其抗体片段，其中所述抗体是双特异性抗体。

4. 根据权利要求3所述的抗体或其抗体片段，其中所述双特异性抗体与CSPG5和脑中存在的抗原结合。

5. 根据权利要求3所述的抗体或其抗体片段，其中所述双特异性抗体包含与CSPG5结合的抗原结合位点和与脑中存在的抗原结合的抗原结合位点。

6. 根据权利要求1或2所述的抗体或其抗体片段，其中所述抗体片段选自Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、单链抗体(scFv)、二聚化V区(双体抗体)和二硫键稳定化的V区(dsFv)。

7. 根据权利要求1或2所述的抗体或其抗体片段，其中所述抗体是遗传重组抗体。

8. 根据权利要求1或2所述的抗体或其抗体片段，其中所述抗体选自小鼠抗体、大鼠抗

体、兔抗体、羊驼抗体、骆驼抗体、美洲驼抗体、嵌合抗体、人源化抗体和人类抗体。

9. 一种核酸，其包含编码根据权利要求1至8中的任一项所述的抗体或其抗体片段的核苷酸序列。

10. 一种转化细胞，其包含含有根据权利要求9所述的核酸的载体。

11. 一种用于生产根据权利要求1至8中的任一项所述的抗体或其抗体片段的方法，所述方法包含：

培养根据权利要求10所述的转化细胞，以及

从培养溶液收集根据权利要求1至8中的任一项所述的抗体或其抗体片段。

12. 一种组合物，其包含根据权利要求1至8中的任一项所述的抗体或其抗体片段。

## 与硫酸软骨素蛋白聚糖5结合的抗体

### 技术领域

[0001] 本发明涉及例如与硫酸软骨素蛋白聚糖5(CSPG5)结合的抗体或其抗体片段、产生所述抗体或其抗体片段的杂交瘤、包含编码所述抗体或其抗体片段的核苷酸序列的核酸、包含含有所述核酸的载体的转化体细胞、生产所述抗体或其抗体片段的方法、包含所述抗体或其抗体片段的组合物，以及用于检测或测量脑中存在的抗原的方法、用于诊断或治疗脑部疾病的方法、用于提高抗体在脑中积累的性质的方法和用于增加脑中抗体量的方法等，每种所述方法均使用所述抗体或其抗体片段。

### 背景技术

[0002] 自从FDA在1986年批准小鼠抗CD3抗体莫罗单抗-CD3(OKT3)作为第一种抗体药物以来，已开发了许多抗体药物。1994年，嵌合抗体阿昔单抗获得批准，在所述抗体中将小鼠抗体的可变区和人类抗体的恒定区相连以降低小鼠抗体的抗原性。

[0003] 为了进一步降低抗原性，开发了人源化抗体技术，其中将小鼠抗体可变区的在与抗原的结合中发挥重要作用的互补决定区(CDR)移植到人类抗体的构架区(FR)中，并在1997年批准了人源化抗CD20抗体dacetumab。

[0004] 此外，利用人类抗体序列文库的噬菌体展示技术已被使用，并且完全人类的抗TNF- $\alpha$ 抗体阿达木单抗作为使用噬菌体展示技术获得的第一种抗体在2002年获得批准。靶向抗原例如CD20、CD52、TNF- $\alpha$ 、HER2和EGFR的六十种以上的抗体药物已被批准(NPL 1)。

[0005] 通过这种方式，抗体已变成一种被广泛认可的药物格式。到目前为止已被批准的大多数抗体药物是用于癌症和免疫疾病的抗体药物，占所有抗体药物的约75%以上。

[0006] 在中枢神经系统疾病的治疗中，生物制品例如抗体的重要性也越来越高，已报道在阿兹海默氏病中研究了一种针对淀粉样肽 $\beta$ 的单克隆抗体，并且在动物模型中各种不同类型的具有神经保护作用的神经营养因子(脑源性神经营养因子BDNF和胶质细胞源性神经营养因子GDNF)在中枢神经系统疾病中表现出神经保护作用(NPL 2)。

[0007] 然而，当抗体被外周给药时，递送到中枢神经系统的量低于递送到其他器官的量，并且据报道抗体迁移率(在脑脊液(CSF)中的浓度与血清浓度的比率)为0.1至0.3%(NPL 3至5)。

[0008] 药物递送量在包含脑和骨髓的中枢神经系统中降低的原因是被称为血脑屏障(BBB)的机制，其限制物质在血液与脑的间质液之间的转运。血脑屏障具有由血管内皮细胞的细胞间黏附造成的物理/非特异性控制机制和由外排转运蛋白造成的底物特异性外排机制，保护中枢神经系统免受外来物质或药物的影响，并在维持体内平衡中发挥重要作用。

[0009] 然而，由于血脑屏障的存在，不容易获得给药时中枢神经系统中的有效浓度，并且药物开发困难。例如，尽管通过向亨特氏综合征(I型黏多糖贮积症)静脉内给药 $\alpha$ -L-艾杜糖醛酸酶或向亨特氏综合征(II型黏多糖贮积症)静脉内给药艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶进行了酶替代疗法，但所述酶由于分子量高而不通过血脑屏障，因此没有观察到针对中枢神经系统症状的功效(NPL 6至9)。此外，据报道，由于一定量的重组酶被定期连续给药，引起了副

作用例如中和抗体的产生 (NPL10)。

[0010] 此外,也已进行了将生物制品直接给药到骨髓腔或脑中的尝试以提高在脑中的浓度。例如,报道了一种将艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶给药到患有亨特氏综合征 (II型黏多糖贮积症) 的患者的脑中以阻止所述患者的脑部障碍的进展的方法 (PTL 1)。然而,直接给药到骨髓腔或脑中是高度侵入性的 (NPL 11)。

[0011] 因此,已研究了各种不同的递送技术以提高具有高分子量的物质例如生物制品在脑中的浓度。例如,已报道了通过将具有高分子量的物质与在脑血管内皮细胞中表达的膜蛋白结合以形成所述物质与所述膜蛋白的复合体,并允许其通过内吞作用而通过血脑屏障的方法。

[0012] 大多数已报道的技术使用受体介导的转胞吞作用 (RMT),并且在脑血管内皮细胞中表达的充当靶的受体包含例如转铁蛋白受体、胰岛素受体、胰岛素样生长因子受体、低密度脂蛋白受体家族 (LDLRf) 等。

[0013] 已报道了通过产生抗转铁蛋白受体抗体与神经生长因子的融合蛋白,经由转铁蛋白受体通过血脑屏障的技术。作为使用抗转铁蛋白受体抗体的技术,已报道了抗转铁蛋白受体抗体和抗 $\beta$ 分泌酶 (BACE1) 抗体的双特异性抗体 (PTL 2和3以及NPL 12和13),以及通过将单价抗转铁蛋白受体抗体融合到抗淀粉样肽 $\beta$ 抗体的羧基端一侧而获得的融合抗体 (PTL 4和NPL 14)。

[0014] 已报道,对于使用抗转铁蛋白受体抗体和抗BACE1抗体的双特异性抗体的脑部递送而言,当所述抗体以20mg/kg体重的剂量给药到小鼠时,并入到脑中的所述抗体的量与对照的量相比提高约4倍 (NPL 13)。

[0015] 此外,报道了通过将药物用表面上具有抗转铁蛋白受体抗体的脂质体包封而允许所述药物通过血脑屏障的技术。已报道,通过抗大鼠转铁蛋白受体抗体和免疫胶束的融合体,并入到大鼠脑中的量提高约2至5倍 (NPL 15)。

[0016] 此外,报道了通过产生将神经营养因子、酶或抗淀粉样肽抗体融合到抗胰岛素受体抗体的羧基端一侧的融合蛋白,经由胰岛素受体通过血脑屏障的技术 (NPL 16至19)。

[0017] 已报道在恒河猴中,在标记的抗人类胰岛素受体抗体和GDNF的融合抗体给药后2小时,与GDNF相比脑中并入的量为约15倍 (NPL 17)。

[0018] 然而,转铁蛋白受体和胰岛素受体不仅在脑血管内皮细胞中表达,而且在全身包含肝脏等中表达,因此,当在这些技术中递送到中枢神经系统的药物的量增加时,所述药物也被递送到肝脏等 (NPL 20)。此外,由于抗原在全身表达,因此所述抗体在血液中的半衰期短 (NPL12)。

[0019] 另外已报道,针对在脑血管内皮细胞膜上表达的抗原TMEM30A的抗体 (Fc5) 显示出RMT样活性 (PTL 5以及NPL 21和22)。Fc5是一种源自于美洲驼的单结构域的重链抗体的重链可变结构域 (后文中的VHH) 的抗体,并且在体外BBB模型中和大鼠体内模型中证实了与对照IgG相比,递送到脑的Fc5和人类Fc的融合体的量增加。

[0020] 报道了在大鼠模型中,Fc5来源的单链抗体 (scFv) 和I型亲代谢性谷氨酸受体 (mGluRI) 抗体的融合体与对照单链抗体和mGluRI抗体的融合体相比CSF暴露提高,但所述量的提高为5倍左右 (NPL 23)。

[0021] 还已报道,IgG抗体通过新生Fc受体 (FcRn) 从脑快速排出到循环血 (NPL 24和25),

并且例如在大鼠中,在给药到脑中之后IgG在脑中的半衰期短至48分钟(NPL 24)。

[0022] CSPG5是一种跨膜硫酸软骨素蛋白聚糖,并且只存在于中枢神经系统组织中(NPL 26、27和28)。在免疫组织化学染色中,确认了神经纤维网、神经元(神经细胞)例如树突和神经纤维和/或星形胶质细胞的染色(NPL 28、29、30和36)。CSPG5在大鼠中枢神经系统中的表达从胚胎期就被观察到,并在出生后3周达到峰值,并在成年期降低到峰值水平的大约一半(NPL 26和30)。

[0023] 此外,从使用CSPG5敲除小鼠的实验发现,CSPG5为小脑 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)门控的突触的成熟所需,但浦肯野细胞树突不受影响(NPL 31)。CSPG5以蛋白聚糖形式存在于发育中的中枢神经系统组织中,并且以非蛋白聚糖形式存在于成熟的中枢神经系统组织中(NPL 28和30)。

[0024] CSPG5具有120kDa的核心蛋白。所述核心蛋白被分成5个不同的结构,例如与硫酸软骨素链结合的N-端结构域、酸性氨基酸簇、包含表皮生长因子(EGF)样模块的富含半胱氨酸的结构域、跨膜区段和胞质结构域(NPL 26和27)。CSPG5的胞外结构域通过酸性氨基酸簇与肌腱蛋白-C和肌腱蛋白-R结合(NPL 29、32和33),并与ErbB3融合蛋白相互作用(NPL 34)。此外已报道了几种与CSPG5结合的抗体(PTL 6以及NPL 26和35)。

[0025] 引文表

[0026] 专利文献

[0027] PTL 1:WO 2012/023623

[0028] PTL 2:WO 2016/081640

[0029] PTL 3:WO 2016/081643

[0030] PTL 4:WO 2014/033074

[0031] PTL 5:加拿大专利号2623841

[0032] PTL 6:WO 2016/175307

[0033] 非专利文献

[0034] NPL 1:Kyla RR. 和Richard CC., Biotechnol Adv, pii:S0734-9750(16) ,30091-X, 2016

[0035] NPL 2:Pardridge WM., Bioconjugate Chem., 19, 1327-1338, 2008

[0036] NPL 3:Wang W. 等, Clin. pharmacol. Ther. , 84, 548-558, 2008

[0037] NPL 4:Garg A. 等, AAPS J. , 11, 553-557, 2009

[0038] NPL 5:Kaj B. 等, Arch. Neurol. , 69(8) , 1002-1010, 2012

[0039] NPL 6:Wraith JE. 等, J. Pediatr. 144(5) , 581-588, 2004

[0040] NPL 7:Muenzer J. 等, Genet Med. 8(8) , 465-473, 2006

[0041] NPL 8:2.9mg Aldurazyme(注册商标)静脉内输注液的包装说明书(2016年7月,第8版)

[0042] NPL 9:6mg Elaprase(注册商标)静脉内输注液的包装说明书(2016年7月,第6版)

[0043] NPL 10:Brooks,D.A. 等, Trends Mol. Med. 9, 450-453, 2003

[0044] NPL 11:Sorrentino NC. 等, Pediatr Endocrinol Rev. 1, 630-638, 2016

[0045] NPL 12:Couch JA. 等, Science Translational Medicine, 5, 183ra57, 2013

[0046] NPL 13:Yu YJ. 等, Science Translational Medicine, 6, 261ra154, 2014

- [0047] NPL 14:Nieuwoehner J.等,Neuron.81,49-60,2014
- [0048] NPL 15:Jun Y.等,Macromol.Biosci.12,1209-1219,2012
- [0049] NPL 16:Pardridge WM.和Boado RJ.,Methods in Enzymology,503,269-292,2012
- [0050] NPL 17:Boado RJ.等,Drug Metab.Dispos.,37(12),2299-2304,2009
- [0051] NPL 18:Boado RJ.等,J.Pharmacol.Exp.Ther.,333(3),961-969,2010
- [0052] NPL 19:Boado RJ.等,Bioconjugate Chem.,1,97-104,2012
- [0053] NPL 20:Yun Zhang.等,J.Pharmacol.Exp.Ther.,313(3),1075-1081,2005
- [0054] NPL 21:Abulrob A.等,J.Neurochem.,95(4),1201-1214,2005
- [0055] NPL 22:Farrington GK.等,FASEB J.,28,4764-4778,2014
- [0056] NPL 23:Webster CI.等,FASEB J.,30,1927-1940,2016
- [0057] NPL 24:Zhang Y.等,J.Neuroimmunol.,114(1-2),168-172,2001
- [0058] NPL 25:Philip RC.等,Brain Research,1534,13-21,2013
- [0059] NPL 26:Watanabe E.等,J.Biol.Chem.,270,26876-26882,1995
- [0060] NPL 27:Yasuda Y.等,Neurosci.Res.,32,313-322,1998
- [0061] NPL 28:Aono S.等,J.Biol.Chem.,275,337-342,2000
- [0062] NPL 29:Schumacher S.等,J.Cell Biol.,136,895-906,1997
- [0063] NPL 30:Inatani M.等,Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.,41,4338-46,2000
- [0064] NPL 31:Juttner R.等,Eur.J.Neurosci.,38,3270-3280,2013
- [0065] NPL 32:Schumacher S.等,J.Biol.Chem.,276,7337-7345,2001
- [0066] NPL 33:Schumacher S.&Stube E.M.,J.Neurochem.,87,1213-1223,2003
- [0067] NPL 34:Kinugasa Y.等,Biochem.Biophys.Res.Co.,321,1045-1049,2004
- [0068] NPL 35:Aono S.等,J.Neurosci.Res.,83,110-118,2006
- [0069] NPL 36:Mark A.等,Nature,532,195-200,2016

## 发明内容

[0070] 技术问题

[0071] 本发明涉及例如与CSPG5结合的CSPG5结合分子和使用所述分子的方法等。具体来说,目的是提供与CSPG5结合的抗体或其抗体片段、产生所述抗体或其抗体片段的杂交瘤、包含编码所述抗体或其抗体片段的核苷酸序列的核酸、包含含有所述核酸的载体的转化体细胞、用于生产所述抗体或其抗体片段的方法、包含所述抗体或其抗体片段的组合物以及用于检测或测量脑中存在的抗原的方法、用于诊断或治疗脑部疾病的方法、用于提高抗体在脑中积累的性质的方法和用于提高脑中抗体量的方法等,每种所述方法均使用所述抗体或其抗体片段。

[0072] 问题的解决方案

[0073] 作为解决所述问题的手段,本发明提供了一种与CSPG5结合的CSPG5结合分子和使用所述分子的方法,具体来说提供了一种与CSPG5结合的抗体或其抗体片段。

[0074] 也就是说,本发明涉及以下(1)至(23)。

[0075] (1)一种与硫酸软骨素蛋白聚糖5(CSPG5)结合的抗体或其抗体片段。

- [0076] (2) 根据(1)所述的抗体或其抗体片段,其中所述抗体具有在脑中积累的性质。
- [0077] (3) 根据(2)所述的抗体或其抗体片段,其中所述抗体对神经元和/或星形胶质细胞具有亲和性。
- [0078] (4) 根据(1)至(3)中的任一项所述的抗体或其抗体片段,其中所述抗体选自以下(a)至(s):
- [0079] (a) 一种抗体,其中重链可变结构域(VH)的互补决定区(CDR)1至3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:3、4和5表示的氨基酸序列,并且其中轻链可变结构域(VL)的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:8、9和10表示的氨基酸序列
- [0080] (b) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:13、14和15表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:18、19和20表示的氨基酸序列;
- [0081] (c) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:23、24和25表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:28、29和30表示的氨基酸序列;
- [0082] (d) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:33、34和35表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:38、39和40表示的氨基酸序列;
- [0083] (e) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:43、44和45表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:48、49和50表示的氨基酸序列;
- [0084] (f) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:53、54和55表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:58、59和60表示的氨基酸序列;
- [0085] (g) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:63、64和65表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:68、69和70表示的氨基酸序列;
- [0086] (h) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:73、74和75表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:78、79和80表示的氨基酸序列;
- [0087] (i) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:83、84和85表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:88、89和90表示的氨基酸序列;
- [0088] (j) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:93、94和95表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:98、99和100表示的氨基酸序列;
- [0089] (k) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:103、104和105表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:108、109和110表示的氨基酸序列;
- [0090] (l) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:113、114

和115表示的氨基酸序列，并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:118、119和120表示的氨基酸序列；

[0091] (m)一种抗体，其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:123、124和125表示的氨基酸序列，并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:128、129和130表示的氨基酸序列；

[0092] (n)一种抗体，其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:133、134和135表示的氨基酸序列，并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:138、139和140表示的氨基酸序列；

[0093] (o)一种抗体，其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:143、144和145表示的氨基酸序列，并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:148、149和150表示的氨基酸序列；

[0094] (p)一种抗体，其与(a)至(o)中描述的抗体中的至少一者竞争与CSPG5的结合；

[0095] (q)一种抗体，其与包含(a)至(o)中描述的抗体中的任一者所结合的表位的表位结合；

[0096] (r)一种抗体，其结合到与(a)至(o)中描述的抗体中的任一者所结合的表位相同的表位；和

[0097] (s)一种抗体，其包含与(a)至(o)中描述的抗体中的任一者的氨基酸序列具有85%或更高同源性的氨基酸序列。

[0098] (5)根据(1)至(4)中的任一项所述的抗体或其抗体片段，其中所述抗体选自以下(A)至(P)：

[0099] (A)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:2表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:7表示的氨基酸序列；

[0100] (B)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:12表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:17表示的氨基酸序列；

[0101] (C)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:22表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:27表示的氨基酸序列；

[0102] (D)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:32表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:37表示的氨基酸序列；

[0103] (E)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:42表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:47表示的氨基酸序列；

[0104] (F)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:52表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:57表示的氨基酸序列；

[0105] (G)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:62表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:67表示的氨基酸序列；

[0106] (H)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:72表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:77表示的氨基酸序列；

[0107] (I)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:82表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:87表示的氨基酸序列；

[0108] (J)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:92表示的氨基酸序列，并且

其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:97表示的氨基酸序列；

[0109] (K)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:102表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:107表示的氨基酸序列；

[0110] (L)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:112表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:117表示的氨基酸序列；

[0111] (M)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:122表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:127表示的氨基酸序列；

[0112] (N)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:132表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:137表示的氨基酸序列；

[0113] (O)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:142表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:147表示的氨基酸序列；和

[0114] (P)一种抗体，其包含与(A)至(O)中描述的抗体中的任一者的氨基酸序列具有85%或更高同源性的氨基酸序列。

[0115] (6)根据(1)至(5)中的任一项所述的抗体或其抗体片段，其中所述抗体或其抗体片段是双特异性抗体。

[0116] (7)根据(6)所述的双特异性抗体，其中所述双特异性抗体与CSPG5和脑中存在的抗原结合。

[0117] (8)根据(6)或(7)所述的双特异性抗体，其中所述双特异性抗体包含与CSPG5结合的抗原结合位点和与脑中存在的抗原结合的抗原结合位点。

[0118] (9)根据(1)至(8)中的任一项所述的抗体片段，其中所述抗体片段选自Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、单链抗体(scFv)、二聚化V区(双体抗体)、二硫键稳定化的V区(dsFv)、重链抗体的重链可变结构域(VHH)和包含CDR的肽。

[0119] (10)根据(1)至(9)中的任一项所述的抗体及其抗体片段，其中所述抗体是遗传重组抗体。

[0120] (11)根据(1)至(10)中的任一项所述的抗体及其抗体片段，其中所述抗体选自小鼠抗体、大鼠抗体、兔抗体、羊驼抗体、骆驼抗体、美洲驼抗体、嵌合抗体、人源化抗体和人类抗体。

[0121] (12)一种融合抗体或其融合抗体片段，其中将选自以下(i)至(iii)的至少一者连接到根据(1)至(11)中的任一项所述的与CSPG5结合的抗体或其抗体片段来获得：

[0122] (i)亲水性聚合物；

[0123] (ii)两亲性聚合物；和

[0124] (iii)功能性分子。

[0125] (13)一种杂交瘤，其产生根据(1)至(12)中的任一项所述的抗体、其抗体片段、融合抗体或其融合抗体片段。

[0126] (14)一种核酸，其包含编码根据(1)至(12)中的任一项所述的抗体、其抗体片段、融合抗体或其融合抗体片段的核苷酸序列。

[0127] (15)一种转化体细胞，其包含含有根据(14)所述的核酸的载体。

[0128] (16)一种用于生产根据(1)至(12)中的任一项所述的抗体、其抗体片段、融合抗体或其融合抗体片段的方法，所述方法包含：

- [0129] 培养根据(13)所述的杂交瘤或根据(15)所述的转化体细胞,以及
- [0130] 从培养溶液收集根据(1)至(12)中的任一项所述的抗体、其抗体片段、融合抗体或其融合抗体片段。
- [0131] (17)一种组合物,其包含根据(1)至(12)中的任一项所述的抗体、其抗体片段、融合抗体或其融合抗体片段。
- [0132] (18)根据(17)所述的组合物,其是用于检测或测量脑中存在的抗原的组合物。
- [0133] (19)根据(17)所述的组合物,其是用于诊断或治疗脑部疾病的组合物。
- [0134] (20)一种用于检测或测量脑中存在的抗原的方法,所述方法使用根据(1)至(12)中的任一项所述的抗体、其抗体片段、融合抗体或其融合抗体片段或根据(17)所述的组合物。
- [0135] (21)一种用于诊断或治疗脑部疾病的方法,所述方法使用根据(1)至(12)中的任一项所述的抗体、其抗体片段、融合抗体或其融合抗体片段或根据(17)所述的组合物。
- [0136] (22)一种用于提高抗体、其抗体片段、融合抗体或其融合抗体片段在脑中积累的性质的方法,所述方法使用根据(1)至(12)中的任一项所述的抗体、其抗体片段、融合抗体或其融合抗体片段或根据(17)所述的组合物。
- [0137] (23)一种用于增加脑中的抗体的量、其抗体片段的量、融合抗体的量或其融合抗体片段的量的方法,所述方法使用根据(1)至(12)中的任一项所述的抗体、其抗体片段、融合抗体或其融合抗体片段或根据(17)所述的组合物。
- [0138] 本发明的有利效果
- [0139] 本发明的CSPG5结合分子不仅通过与CSPG5特异性结合而提高所述结合分子本身在脑中积累的性质,而且可以通过用另一个靶分子修饰所述CSPG5结合分子并将所述靶分子转运并保留在脑中而应用于脑部疾病的治疗。作为本发明的特异性CSPG5结合分子,示例了抗体或其抗体片段。本发明的抗体或其抗体片段是通过与脑中的CSPG5结合而具有在脑中积累的性质的抗体或其抗体片段。因此,本发明的抗体或其抗体片段可以用作用于检测或测量脑中存在的抗原(CSPG5,或CSPG5和脑中存在的另一种抗原)的组合物、用于诊断脑部疾病的组合物和用于治疗脑部疾病的药物组合物。

## 附图说明

- [0140] [图1]图1(A)至(D)示出了测量组织中每种抗体的浓度的结果。图1(A)示出了在给药抗体后3天血清中的抗体浓度。竖直轴表示抗体浓度(ng/mL),水平轴表示给药的抗体。图1(B)示出了在给药抗体后3天脑组织中的抗体浓度。竖直轴表示抗体浓度(ng/g脑),水平轴表示给药的抗体。图1(C)示出了在给药抗体后9天血清中的抗体浓度。竖直轴表示抗体浓度(ng/mL),水平轴表示给药的抗体。图1(D)示出了在给药抗体后9天脑组织中的抗体浓度。竖直轴表示抗体浓度(ng/g脑),水平轴表示给药的抗体。
- [0141] [图2]图2(A)和(B)示出了测量组织中每种抗体的浓度的结果。图2(A)示出了在给药抗体后7天血清中的抗体浓度。竖直轴表示抗体浓度(ng/mL),水平轴表示给药的抗体。图2(B)示出了在给药抗体后7天脑组织中的抗体浓度。竖直轴表示抗体洗脱量(ng/g脑),水平轴表示给药的抗体。所述抗体浓度被表示为使用单克隆抗体的分子量(150kDa)从摩尔浓度转变而获得的值。

[0142] [图3]图3(A)至(D)示出了测量组织中每种抗体的浓度的结果。图3(A)和(C)各自示出了在给药抗体后7天血清中的抗体浓度。竖直轴表示抗体浓度(ng/mL),水平轴表示给药的抗体。图3(B)和(D)各自示出了在给药抗体后7天脑组织中的抗体浓度。竖直轴表示抗体洗脱量(ng/g脑),水平轴表示给药的抗体。所述抗体浓度被表示为使用单克隆抗体的分子量(150kDa)从摩尔浓度转变而获得的值。

[0143] [图4]图4(A)和(B)示出了每种抗体在小鼠脑中的迁移能力的成像评估的结果。图4(A)示出了在给药抗体后9天脑的成像图像。图4(B)示出了用给药的抗体的荧光强度校正过的脑中的荧光量的值与抗AVM抗体的比率。竖直轴表示与抗AVM抗体的比率,水平轴表示给药的抗体。

[0144] [图5]图5示出了CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5219scFv-hG4PE(R409K)和CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)在hCSPG5/L929#09中的内化分析的结果。水平轴表示抗体浓度(ng/mL),竖直轴表示细胞存活率(%)。虚线图示出了作为阴性对照的抗AVM抗体,实线图示出了样品。黑色三角形标志(▲)示出了CSPG5202scFv-hG4PE(R409K)的数据,菱形标志(◇)示出了CSPG5219scFv-hG4PE(R409K)的数据,并且黑色正方形标志(■)示出了CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)的数据。

[0145] [图6]图6示出了CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5219scFv-hG4PE(R409K)和CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)在IMR-32中的内化分析的结果。水平轴表示抗体浓度(ng/mL),竖直轴表示细胞存活率(%)。虚线图示出了作为阴性对照的抗AVM抗体,实线图示出了样品。黑色三角形标志(▲)示出了CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)的数据,菱形标志(◇)示出了CSPG5219 scFv-hG4PE(R409K)的数据,并且黑色正方形标志(■)示出了CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)的数据。

#### [0146] 实施方式描述

[0147] 本发明涉及与CSPG5结合的抗原结合分子。更具体来说,本发明涉及与CSPG5结合的抗体或其抗体片段。

[0148] 本发明的CSPG5结合分子可以为任何分子形式,只要所述分子与CSPG5特异性结合并且得到的分子保留在脑中即可,并且可以是任何分子例如蛋白质、核酸或通过有机合成获得的低分子量化合物/高分子量化合物。具体来说,所述CSPG5结合分子可以是重组蛋白、抗体、适体、通过低分子量筛选获得的低分子量化合物等中的任一者,但优选地示例了抗体及其抗体片段。所述CSPG5结合分子优选为与CSPG5的胞外结构域结合的分子。

[0149] CSPG5是一种跨膜硫酸软骨素蛋白聚糖。例如包含信号序列的全长人类CSPG5由539个氨基酸构成,并且CSPG5主要存在于中枢神经系统组织中,并在中枢神经组织的发育过程中小脑 $\gamma$ -氨基丁酸门控的突触的成熟以及分子间相互作用等中发挥作用。

[0150] 本发明的CSPG5结合分子结合的CSPG5的动物物种是小鼠、大鼠、恒河猴和/或人类等,但不特别限于这些物种,并且可以根据抗体的用途来选择适合的动物物种。例如,当本发明的抗体用于医学目的用于人类时,所述抗体优选为至少与人类CSPG5结合的抗体。

[0151] 在本发明中,作为人类CSPG5,示例的是包含由SEQ ID NO:160表示的氨基酸序列或NCBI登记号NP\_006565.2的氨基酸序列的多肽,由其中在SEQ ID NO:160表示的氨基酸序列或NCBI登记号NP\_006565.2的氨基酸序列中一个或多个氨基酸被缺失、替换或添加的氨基酸序列构成并具有人类CSPG5的功能的多肽,由与SEQ ID NO:160表示的氨基酸序列或

NCBI登记号NP\_006565.2的氨基酸序列具有60%或更高、优选地80%或更高、更优选地90%或更高、最优选地95%或更高同源性的氨基酸序列构成并具有人类CSPG5的功能的多肽等。

[0152] 所述具有其中在SEQ ID NO:160表示的氨基酸序列或NCBI登记号NP\_006565.2表示的氨基酸序列中一个或多个氨基酸被缺失、替换或添加的氨基酸序列的多肽,可以例如通过使用定点突变方法[《分子克隆实验指南》(Molecular Cloning, A Laboratory Manual),第二版,Cold Spring Harbor Laboratory Press(1989);《分子生物学现代方法》(Current Protocols in Molecular Biology),John Wiley&Sons(1987-1997);Nucleic Acids Research,10,6487(1982);Proc.Natl.Acad.Sci.USA,79,6409(1982);Gene,34,315(1985);Nucleic Acids Research,13,4431(1985);Proc.Natl.Acad.Sci.USA,82,488(1985)]在编码包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列的多肽的DNA中引入位点特异性突变等来获得。

[0153] 被缺失、替换或添加的氨基酸的数目没有特别限制,但优选为一至几十个例如1至20个、更优选地一至几个例如1至5个氨基酸。

[0154] 这同样适用于小鼠CSPG5的氨基酸序列[SEQ ID NO:162或NCBI登记号NP\_038912.3]和恒河猴CSPG5的氨基酸序列[SEQ ID NO:164或NCBI登记号AFE76329.1]。

[0155] 在本发明中,作为编码人类CSPG5的基因,实例是由SEQ ID NO:159表示的核苷酸序列或NCBI登记号NM\_006574.3的核苷酸序列。由其中在SEQ ID NO:159表示的核苷酸序列或NCBI登记号NM\_006574.3的核苷酸序列中一个或多个核苷酸被缺失、替换或添加的核苷酸序列构成并包含编码具有CSPG5的功能的多肽的DNA的基因,由与SEQ ID NO:159表示的核苷酸序列或NCBI登记号NM\_006574.3的核苷酸序列具有至少60%或更高同源性的核苷酸序列、优选地具有80%或更高同源性的核苷酸序列、更优选地具有95%或更高同源性的核苷酸序列构成并包含编码具有CSPG5的功能的多肽的DNA的基因,或由在严紧条件下与包含SEQ ID NO:159表示的核苷酸序列或NCBI登记号NM\_006574.3的核苷酸序列的DNA杂交并编码具有CSPG5的功能的多肽的DNA构成的基因等,在本发明中也包含在所述编码CSPG5的基因中。

[0156] 所述在严紧条件下杂交的DNA是指使用包含由SEQ ID NO:159表示的核苷酸序列或NCBI登记号NM\_006574.3的核苷酸序列的DNA作为探针,通过集落杂交方法、噬斑杂交方法、southern印迹杂交方法、DNA微阵列方法等获得的可杂交的DNA。

[0157] 具体来说,可以示例的是可以如下鉴定的DNA:在65°C下,在0.7至1.0mol/L氯化钠存在下,使用其上固定有源自于被杂交的集落或噬斑的DNA或具有所述序列的PCR产物或寡聚DNA的滤膜或显微镜载片来执行杂交方法[《分子克隆实验指南》(Molecular Cloning, ALaboratory Manual),第二版,Cold Spring Harbor Laboratory Press(1989);《分子生物学现代方法》(Current Protocols in Molecular Biology),John Wiley&Sons(1987-1997);《DNA克隆1:核心技术实用方法》(DNA Cloning 1:Core Techniques, A Practical Approach),第二版,Oxford University(1995)],然后在65°C条件下使用0.1至2倍浓度的盐水柠檬酸钠(SSC)溶液(1倍浓度的SSC溶液的组合物由150mmol/L氯化钠和15mmol/L柠檬酸钠构成)清洗所述滤膜或显微镜载片。

[0158] 作为所述可杂交DNA,可以示例的是与SEQ ID NO:159表示的核苷酸序列或NCBI登记号NM\_006574.3的核苷酸序列具有至少60%或更高同源性的DNA,优选地具有80%或更高

同源性的DNA,更优选地具有95%或更高同源性的DNA。

[0159] 这同样适用于小鼠CSPG5的核苷酸序列[SEQ ID NO:161或NCBI登记号NM\_013884.3]和恒河猴CSPG5的核苷酸序列[SEQ ID NO:163或NCBI登记号XM\_015131074.1]。

[0160] CSPG5的功能的实例包含参与如上所述中枢神经组织的发育过程中小脑 $\gamma$ -氨基丁酸门控的突触的成熟以及分子间相互作用等。

[0161] 在真核生物的编码蛋白质的基因的核苷酸序列中常常观察到基因多态性。其中由于本发明中使用的基因中的这种多态性而造成在核苷酸序列中已发生小规模突变的基因,在本发明中也包含在所述编码CSPG5的基因中。

[0162] 在本发明中,除非另有指明,否则同源性的数值可以是使用本领域技术人员已知的同源性搜索程序计算的数值,然而,对于核苷酸序列来说,实例是使用BLAST中的默认参数[J.Mol.Biol.,215,403(1990)]等计算的数值,并且对于氨基酸序列来说,实例是使用BLAST2中的默认参数[Nucleic Acids Res.,25,3389(1997),Genome Res.,7,649(1997),<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Education/BLASTinfo/information3.html>]等计算的数值。

[0163] 关于所述默认参数,G(开放空位成本)在核苷酸序列的情况下是5,并且在氨基酸序列的情况下是11;-E(延长空位成本)在核苷酸序列的情况下是2,并且在氨基酸序列的情况下是1;-q(核苷酸错配罚分)是-3;-r(核苷酸匹配奖励)是1,-e(期望值)是10;-W(字长)在核苷酸序列的情况下是11,并且在氨基酸序列的情况下是3;-y[对于blast延伸来说以位为单位的衰减(X)]在blastn的情况下是20,并且在blastn之外的程序的情况下是7;-X(对于带空位比对来说以位为单位的X衰减值)是15;并且-Z(对于带空位比对来说以位为单位的最终X衰减值)在blastn的情况下是50,并且在blastn之外的程序的情况下是25(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/html/blastcgihelp.html>)。

[0164] 包含上面提到的各种不同类型的CSPG5中的任一者的氨基酸序列的部分序列的多肽可以通过本领域技术人员已知的方法来生产。具体来说,所述多肽可以通过将编码上面提到的各种不同类型的CSPG5中的任一者的氨基酸序列的DNA缺失一部分,并培养用包含所述得到的DNA的表达载体转染的转化体来生产。另外,具有其中在各种不同类型的CSPG5中的任一者的氨基酸序列中一个或多个氨基酸被缺失、替换或添加的氨基酸序列的多肽,可以与上述相同的方式来获得。

[0165] 此外,由各种不同类型的CSPG5中的任一者的氨基酸序列构成的多肽或具有其中在各种不同类型的CSPG5中的任一者的氨基酸序列中一个或多个氨基酸被缺失、替换或添加的氨基酸序列的多肽,也可以通过化学合成方法例如芴基甲氧基羰基(Fmoc)方法或叔丁氧基羰基(tBoc)方法来生产。

[0166] 在本发明中,人类CSPG5的胞外结构域是指在由SEQ ID NO:160或NCBI登记号NP\_006565.2表示的氨基酸序列中从第31位至第423位的氨基酸序列。

[0167] 小鼠CSPG5的胞外结构域是指在由SEQ ID NO:162或NCBI登记号NP\_038912.3表示的氨基酸序列中从第31位至第423位的氨基酸序列。

[0168] 恒河猴CSPG5的胞外结构域是指在由SEQ ID NO:164或NCBI登记号AFE76329.1表示的氨基酸序列中从第31位至第414位的氨基酸序列。

[0169] 通过使用酶联免疫吸附测定法(ELISA)、流式细胞术、表面等离子体共振方法等测

量本发明的抗体对表达CSPG5的细胞或重组CSPG5蛋白的亲和性,可以确认本发明的抗体与CSPG5的胞外结构域结合。此外,也可以组合使用已知的免疫检测方法[《单克隆抗体原理和实践》(Monoclonal Antibodies-Principles and practice),第三版,Academic Press (1996);《抗体实验指南》(Antibodies-A Laboratory Manual),Cold Spring Harbor Laboratory (1988);《单克隆抗体实验手册》(Manual for monoclonal antibody experiments),Kodansha scientific books (1987)]等来确认它。

[0170] 本发明的CSPG5结合分子是通过与脑中的CSPG5特异性结合而具有在脑中积累的性质的分子,并且例如,本发明的抗体是通过与脑中的CSPG5结合而具有在脑中积累的性质的抗体。此外,本发明的抗体是当将所述抗体在动物的外周给药时,通过从外周穿过脑中的血脑屏障、迁移到脑中并与脑中的CSPG5结合而具有在脑中积累的性质的抗体。本发明的抗体优选为具有出色的在脑中积累的性质的抗体或具有增强的在脑中积累的性质的抗体。

[0171] 在本发明中,所述“在脑中积累的性质”是指其中当将靶主体给药到试验动物时,所述靶主体保留在脑中的性质。也就是说,它意味着所述靶主体在脑中的浓度(或在脑中的量)提高,或者所述靶主体以固定浓度存在,使得它由于选自以下的至少任一原因而可以被检测:向脑中的迁移增加,在脑中的积累增加,从脑内部向外部的迁移减少,从脑内部向外部的外排减少,和在脑中的分解减少。

[0172] 在本发明中,“具有出色的在脑中积累的性质”、“具有高的在脑中积累的性质”或“具有增强的在脑中积累的性质”意味着当将靶主体给药到试验动物时,所述靶主体与对照相比在从给药起经过同样的天数后在脑中的浓度(或在脑中的量)提高,或者所述靶主体以固定浓度(量)存在,使得它可以在脑中长时间被检测到。

[0173] 出现这种现象是由于至少任一下述原因:所述靶主体与所述对照相比向脑中的迁移增加,在脑中的积累增加,从脑内部向外部的迁移减少,从脑内部向外部的外排减少,和在脑中的分解减少。

[0174] 在本发明中,“具有出色的在脑中积累的性质”、“具有高的在脑中积累的性质”或“具有增强的在脑中积累的性质”包含例如当将所述靶主体给药到试验动物时,所述靶主体与所述对照相比在给药后1至10天、优选地在给药后2至10天、3至10天、更优选地4至10天在脑中的浓度(量)更高,或者所述靶主体在脑中的浓度(或在脑中的量)在给药后第4天或更晚,优选地在给药后第5天或更晚、第6天或更晚、第7天或更晚、第8天或更晚、第9天或更晚,更优选地第10天或更晚达到其峰值,等等。

[0175] 所述具有出色的在脑中积累的性质的抗体、具有高的在脑中积累的性质的抗体或具有增强的在脑中积累的性质的抗体可以是任何抗体,只要所述抗体是在脑中的抗体浓度(抗体量)比对照抗体更高的抗体或者是具有能够长时间存在于脑中的特征的抗体即可。

[0176] 例如,实例是具有向脑中迁移的能力和/或在脑中积累的能力比对照抗体更高的特征,从脑内部向外部迁移的能力、外排的能力和/或在脑中分解的能力比对照抗体更低的特征,以及向脑中迁移的能力和/或在脑中积累的能力比从脑内部向外部迁移的能力、外排的能力和/或在脑中分解的能力更高的特征等的抗体。

[0177] 因此,作为本发明的抗体或其抗体片段,实例是当所述抗体或其抗体片段被给药到动物时,与对照抗体相比在从给药起经过同样的天数后在脑中的抗体浓度(或抗体量)更高的抗体或其抗体片段,或能够在脑中长时间存在的抗体或其抗体片段等。

[0178] 脑中的抗体浓度(或抗体量)的变化可以是任何变化,实例是例如在所述脑中的抗体浓度在测量期间一旦达到峰值后,所述抗体浓度逐渐下降的情况,在所述脑中的抗体浓度已达到峰值后,所述抗体浓度继续维持的情况,或在所述抗体给药后所述脑中的抗体浓度持续提高的情况,等等。

[0179] 作为本发明的抗体或其抗体片段,实例是例如在给药到小鼠后第3天或第9天脑中的抗体浓度或抗体量比对照抗体更高的抗体,在给药到小鼠后第3天至第9天的时间段中脑中的抗体浓度或抗体量维持或提高的抗体,或甚至在给药到小鼠后第9天或更晚时间在脑中的存在可以被清楚地确认的抗体等,但不限于此。

[0180] 所述对照抗体可以是任何抗体,只要所述对照抗体是与所述试验抗体同一类型或亚类的抗体即可,但可以使用例如抗阿维菌素(AVM)抗体等。

[0181] 在本发明中,作为“在脑中”,实例是在脑实质中、在脑室中、在脑脊液中等,但不限于此。

[0182] 在CSPG5的免疫组织化学染色中,例如确认了神经纤维网、神经元(神经细胞)例如树突和神经纤维和/或星形胶质细胞的染色(NPL 28,29和30)。因此,作为本发明的CSPG5结合分子的一种情况,实例是通过与神经元和/或星形胶质细胞上的CSPG5特异性结合而对神经元和/或星形胶质细胞具有亲和性,从而具有在脑中积累的性质的分子。作为本发明的抗体的一种情况,实例是例如通过与神经元和/或星形胶质细胞上的CSPG5结合而对神经元和/或星形胶质细胞具有亲和性,从而具有在脑中积累的性质的抗体。

[0183] 在本发明中,作为将抗体给药到动物的方法,实例是例如静脉内给药、脑室内给药、腹膜内给药、皮下给药、真皮内给药、鼻内给药、鞘内给药等,但不限于此。

[0184] 在本发明中,作为测量抗体在脑中积累的性质的方法,实例是例如在将抗体给药到动物后几天收集脑组织,然后匀浆并离心,然后测量得到的上清液中的抗体浓度并计算每单位脑重量的抗体量的方法,使用收集的脑组织通过已知的免疫学方法检测抗体的存在方法,将标记的抗体给药到动物并使用体内成像系统随时间检测所述抗体存在的方法,等等。

[0185] 作为本发明的抗体,实例是选自以下(a)至(s)的抗体。其中,从所述抗体在脑中积累的性质和内化能力的观点来看,抗体(e)是优选的。

[0186] (a)一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:3、4和5表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:8、9和10表示的氨基酸序列;

[0187] (b)一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:13、14和15表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:18、19和20表示的氨基酸序列;

[0188] (c)一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:23、24和25表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:28、29和30表示的氨基酸序列;

[0189] (d)一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:33、34和35表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:38、39和40表示的氨基酸序列;

[0190] (e) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:43、44和45表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:48、49和50表示的氨基酸序列;

[0191] (f) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:53、54和55表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:58、59和60表示的氨基酸序列;

[0192] (g) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:63、64和65表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:68、69和70表示的氨基酸序列;

[0193] (h) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:73、74和75表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:78、79和80表示的氨基酸序列;

[0194] (i) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:83、84和85表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:88、89和90表示的氨基酸序列;

[0195] (j) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:93、94和95表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:98、99和100表示的氨基酸序列;

[0196] (k) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:103、104和105表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:108、109和110表示的氨基酸序列;

[0197] (l) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:113、114和115表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:118、119和120表示的氨基酸序列;

[0198] (m) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:123、124和125表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:128、129和130表示的氨基酸序列;

[0199] (n) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:133、134和135表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:138、139和140表示的氨基酸序列;

[0200] (o) 一种抗体,其中VH的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:143、144和145表示的氨基酸序列,并且其中VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别包含由SEQ ID NO:148、149和150表示的氨基酸序列;

[0201] (p) 一种抗体,其与(a)至(o)中描述的抗体中的至少一者竞争与CSPG5的结合;

[0202] (q) 一种抗体,其与包含(a)至(o)中描述的抗体中的任一者所结合的表位的表位结合;

[0203] (r) 一种抗体,其结合到与(a)至(o)中描述的抗体中的任一者所结合的表位相同的表位;和

[0204] (s) 一种抗体,其包含与(a)至(o)中描述的抗体中的任一者的氨基酸序列具有

85%或更高同源性的氨基酸序列。

[0205] 作为本发明的抗体,包括包含与(a)至(o)中描述的抗体中的任一者的VH的CDR1至CDR3和VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列具有85%或更高、优选地90%或更高的同源性的抗体的VH的CDR1至CDR3和VL的CDR1至CDR3的氨基酸序列的抗体。所述90%或更高的同源性更优选为91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同源性等。

[0206] 在本发明中,作为在(a)至(o)中描述的抗体的一种情况,实例是各自作为人类抗CSPG5单克隆抗体的CSPG5115抗体、CSPG5120抗体、CSPG5168抗体、CSPG5201抗体、CSPG5202抗体、CSPG5205抗体、CSPG5206抗体、CSPG5207抗体、CSPG5208抗体、CSPG5214抗体、CSPG5219抗体、CSPG5222抗体、CSPG5227抗体、CSPG5230抗体和CSPG5234抗体等。其中,从所述抗体在脑中积累的性质和内化能力的观点来看,CSPG5202抗体是优选的。

[0207] 在本发明中,所述抗体(p)是指当(a)至(o)中描述的抗体中的任一者被定义为第一种抗体时,抑制所述第一种抗体与CSPG5的结合的第二种抗体。

[0208] 在本发明中,所述抗体(q)是指当(a)至(o)中描述的抗体中的任一者被定义为第一种抗体,并且所述第一种抗体结合的表位被定义为第一表位时,与包含所述第一表位的第二表位结合的第二种抗体。

[0209] 此外,本发明的抗体(r)是指当(a)至(o)中描述的抗体中的任一者被定义为第一种抗体,并且所述第一种抗体结合的表位被定义为第一表位时,与所述第一表位结合的第二种抗体。

[0210] 此外,作为本发明的抗体,具体来说还示例了选自以下(A)至(P)的抗体。其中,从所述抗体在脑中积累的性质和内化能力的观点来看,抗体(E)是优选的。

[0211] (A)一种抗体,其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:2表示的氨基酸序列,并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:7表示的氨基酸序列;

[0212] (B)一种抗体,其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:12表示的氨基酸序列,并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:17表示的氨基酸序列;

[0213] (C)一种抗体,其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:22表示的氨基酸序列,并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:27表示的氨基酸序列;

[0214] (D)一种抗体,其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:32表示的氨基酸序列,并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:37表示的氨基酸序列;

[0215] (E)一种抗体,其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:42表示的氨基酸序列,并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:47表示的氨基酸序列;

[0216] (F)一种抗体,其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:52表示的氨基酸序列,并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:57表示的氨基酸序列;

[0217] (G)一种抗体,其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:62表示的氨基酸序列,并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:67表示的氨基酸序列;

[0218] (H)一种抗体,其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:72表示的氨基酸序列,并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:77表示的氨基酸序列;

[0219] (I)一种抗体,其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:82表示的氨基酸序列,并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:87表示的氨基酸序列;

[0220] (J)一种抗体,其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:92表示的氨基酸序列,并且

其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:97表示的氨基酸序列；

[0221] (K)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:102表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:107表示的氨基酸序列；

[0222] (L)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:112表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:117表示的氨基酸序列；

[0223] (M)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:122表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:127表示的氨基酸序列；

[0224] (N)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:132表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:137表示的氨基酸序列；

[0225] (O)一种抗体，其中VH的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:142表示的氨基酸序列，并且其中VL的氨基酸序列包含由SEQ ID NO:147表示的氨基酸序列；和

[0226] (P)一种抗体，其包含与(A)至(O)中描述的抗体中的任一者的氨基酸序列具有85%或更高同源性的氨基酸序列。

[0227] 作为本发明的抗体，包括包含与(A)至(O)中描述的抗体中的任一者的VH和VL的氨基酸序列具有85%或更高、优选地90%或更高同源性的抗体的VH和VL的氨基酸序列的抗体。所述90%或更高的同源性更优选为91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同源性等。

[0228] 在本发明中，作为(A)至(O)中描述的抗体的一种情况，实例是各自作为人类抗CSPG5单克隆抗体的CSPG5115抗体、CSPG5120抗体、CSPG5168抗体、CSPG5201抗体、CSPG5202抗体、CSPG5205抗体、CSPG5206抗体、CSPG5207抗体、CSPG5208抗体、CSPG5214抗体、CSPG5219抗体、CSPG5222抗体、CSPG5227抗体、CSPG5230抗体和CSPG5234抗体等。其中，从所述抗体在脑中积累的性质和内化能力的观点来看，CSPG5202抗体是优选的。

[0229] 在本发明中，EU指数是指根据《免疫学重要蛋白质的序列》(Sequences of Proteins of Immunological Interest)第5版(1991)所述的氨基酸残基的位置。除非另有规定，否则下文示出的氨基酸残基的位置都是指根据EU指数的氨基酸残基的位置。

[0230] 抗体分子也被称为免疫球蛋白(Ig)，并且它的基本结构是四聚体，具有两条被称为重链(H链)的多肽和两条被称为轻链(L链)的多肽。

[0231] 此外，每条H链从N-端一侧起由H链的可变结构域(也被称为VH)和H链的恒定结构域(也被称为CH)的相应结构域构成，并且每条L链从N-端一侧起由L链的可变结构域(也被称为VL)和L链的恒定结构域(也被称为CL)的相应结构域构成。

[0232] 作为CH，对于每个亚类来说已知有 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 和 $\mu$ 链。所述CH从N-端一侧起进一步由CH1结构域、铰链结构域、CH2结构域和CH3结构域的相应结构域构成。

[0233] 所述结构域是指组成抗体分子的每条多肽的功能结构单元。此外，所述CH2结构域和CH3结构域被合称为Fc(可结晶片段)区或简称Fc。作为CL，已知有 $C_{\lambda}$ 链和 $C_{\kappa}$ 链。

[0234] 其中CH是 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 和 $\mu$ 链的抗体的亚类分别被称为IgA、IgD、IgE、IgG和IgM。对于每种抗体的亚类来说，取决于动物，有时存在同种型。在人类中，对于IgA来说存在IgA1和IgA2同种型，对于IgG来说存在IgG1、IgG2、IgG3和IgG4同种型。

[0235] 在本发明中，所述CH1结构域、铰链结构域、CH2结构域、CH3结构域和Fc区可以按照EU指数从N-端起的氨基酸残基编号来规定。

[0236] 具体来说,CH1被规定为根据EU指数第118至215位处的氨基酸序列,铰链被规定为根据EU指数第216至230位处的氨基酸序列,CH2被规定为根据EU指数第231至340位处的氨基酸序列,CH3被规定为根据EU指数第341至447位处的氨基酸序列,并且Fc区被规定为根据EU指数第231至447位处的氨基酸序列。

[0237] 作为本发明的抗体,多克隆抗体、单克隆抗体和寡克隆抗体均被包含。所述多克隆抗体是指由不同克隆的抗体产生细胞分泌的一组抗体分子。所述单克隆抗体是由单一克隆的抗体产生细胞分泌的抗体,并且是指仅仅识别一个表位(也被称为抗原决定簇)的抗体,并且其中构成所述单克隆抗体的氨基酸序列(一级序列)是均质的。所述寡克隆抗体是指其中混合了多种不同单克隆抗体的一组抗体分子。

[0238] 作为本发明中的单克隆抗体,实例是由杂交瘤产生的抗体或由用包含抗体基因的表达载体转化的转化体产生的遗传重组抗体。

[0239] 作为所述表位,实例是各自被所述单克隆抗体识别并结合的单一氨基酸序列、由氨基酸序列构成的构象、翻译后修饰的氨基酸序列和由翻译后修饰的氨基酸序列构成的构象等。

[0240] 作为所述翻译后修饰的氨基酸序列,实例是其中聚糖被附连到具有OH取代基的Tyr和Ser的O-连接的聚糖,其中聚糖被附连到具有NH<sub>2</sub>取代基的Gln和Asn的N-连接的聚糖,以及其中硫酸分子被附连到具有OH取代基的Tyr的酪氨酸硫酸化的氨基酸序列。

[0241] 本发明的抗体结合的CSPG5的表位可以通过使用其中CSPG5的某些结构域被缺失的缺失变体、其中CSPG5的某些结构域被源自于另一种蛋白质的结构域替换的突变体、CSPG5的部分肽片段等进行抗体结合试验来鉴定。此外,所述抗体结合试验也可以使用表达所述缺失变体或所述突变体的细胞来进行。

[0242] 可选地,本发明的抗体结合的CSPG5的表位也可以通过向使用蛋白酶消化获得的CSPG5的肽片段添加本发明的抗体并使用已知的质谱术进行表位作图来鉴定。

[0243] 作为本发明的抗体,还包含通过遗传重组技术产生的遗传重组抗体,例如小鼠抗体、大鼠抗体、仓鼠抗体、兔抗体、美洲驼抗体、骆驼抗体、羊驼抗体、嵌合抗体、人源化抗体(也被称为“CDR-移植抗体”)和人类抗体。

[0244] 在本发明中,所述嵌合抗体是指其中VH和VL源自于与CH和CL不同的动物物种的抗体。由人类之外的动物(非人类动物)的抗体的VH和VL和人类抗体的CH和CL构成的抗体被称为人类嵌合抗体,由小鼠之外的动物的抗体的VH和VL和小鼠抗体的CH和CL构成的抗体被称为小鼠嵌合抗体。其他嵌合抗体也以相同方式命名。

[0245] 作为非人类动物,可以使用任何动物例如小鼠、大鼠、仓鼠、兔、美洲驼、骆驼或羊驼,只要它是能够产生杂交瘤或抗体噬菌体文库的动物即可。

[0246] 所述杂交瘤是指通过用抗原免疫接种非人类动物获得的B细胞与源自于小鼠等的骨髓瘤细胞的细胞融合获得的并产生具有所需抗原特异性的单克隆抗体的细胞。

[0247] 抗体噬菌体文库是指通过将免疫球蛋白可变区的基因克隆到噬菌体中并在其表面上表达抗原结合分子的文库。作为所使用的噬菌体,实例是M13噬菌体等,但不特别限制。

[0248] 在噬菌体上展示的抗原结合分子可以是以任何形式,但优选为抗体片段例如scFv、Fab或VHH。

[0249] 在本发明中,所述抗体噬菌体文库可以是免疫文库、天然文库和合成文库中的任

何文库。

[0250] 所述免疫文库是指在源自于用抗原免疫接种的动物或患者的淋巴细胞的抗体基因的基础上构建的抗体噬菌体文库。所述天然文库是指在源自于正常动物或健康人类的淋巴细胞的抗体基因的基础上构建的抗体噬菌体文库。所述合成文库是指其中基因组DNA中的V基因或重建的功能性V基因的CDR被编码适合长度的随机氨基酸序列的寡核苷酸替换的文库。

[0251] 作为产生嵌合抗体的方法,下面将描述一种用于产生人类嵌合抗体的方法。其他嵌合抗体也可以以相同的方式产生。

[0252] 所述人类嵌合抗体可以如下产生:从源自于产生单克隆抗体的非人类动物细胞的杂交瘤获得编码VH和VL的cDNA,将每个所述cDNA插入到具有编码人类抗体的CH和CL的DNA的用于动物细胞的表达载体中,由此构建人类嵌合抗体表达载体,然后将所述载体引入到动物细胞中并表达所述抗体。

[0253] 此外,所述人类嵌合抗体也可以如下产生:从源自于非人类动物的抗体噬菌体文库克隆编码VH和VL的基因,将每个所述基因插入到具有编码人类抗体的CH和CL的DNA的用于动物细胞的表达载体中,由此构建人类嵌合抗体表达载体,然后将所述载体引入到动物细胞中并表达所述抗体。

[0254] 所述人源化抗体是指其中将非人类动物抗体的VH和VL的CDR的氨基酸序列移植到人类抗体的VH和VL的相应CDR中的抗体。VH和VL的CDR之外的区域被称为FR。

[0255] 所述人源化抗体可以如下产生:构建编码由非人类动物抗体的VH的CDR的氨基酸序列和任意人类抗体的VH的FR的氨基酸序列构成的VH的氨基酸序列的cDNA以及编码由非人类动物抗体的VL的CDR的氨基酸序列和任意人类抗体的VL的FR的氨基酸序列构成的VL的氨基酸序列的cDNA,将每个所述cDNA插入到具有编码人类抗体的CH和CL的DNA的用于动物细胞的表达载体中,由此构建人源化抗体表达载体,然后将所述载体引入到动物细胞中并表达所述抗体。

[0256] 所述人类抗体最初是指天然存在于人体中的抗体,但也包含从人类抗体噬菌体文库或产生人类抗体的转基因动物获得的抗体等。

[0257] 所述人类抗体可以通过用所需抗原免疫接种具有人类免疫球蛋白基因的小鼠来获得(Tomizuka K.等,Proc Natl Acad Sci USA.97,722-7,2000)。此外,所述人类抗体可以不使用免疫接种,通过使用从人类来源的B细胞扩增抗体基因而获得的噬菌体展示文库来选择具有所需结合活性的人类抗体来获得(Winter G.等,Annu Rev Immunol.12:433-55.1994)。

[0258] 此外,所述人类抗体可以通过使用EB病毒将人类B细胞永生化以产生生产具有所需结合活性的人类抗体的细胞来获得(Rosen A.等,Nature 267,52-54.1977)。

[0259] 所述人类抗体噬菌体文库是通过将从人类(健康人类或患者)的淋巴细胞制备的抗体基因插入到噬菌体基因中而获得的在表面上表达抗体片段例如Fab、scFv或VHH的噬菌体的文库。可以使用与其上固定有抗原的基材的结合活性作为指标,从所述文库收集表达具有所需抗原结合活性的抗体片段的噬菌体。所述抗体片段也可以使用遗传工程技术进一步转变成由两条完整H链和两条完整L链构成的人类抗体分子。

[0260] 所述产生人类抗体的转基因动物是指其中人类抗体基因被并入到宿主动物的染

色体中的动物。具体来说，产生人类抗体的转基因动物可以如下产生：将人类抗体基因引入到小鼠ES细胞中，将所述ES细胞植入到另一只小鼠的早期胚胎中，然后允许所述胚胎发育成动物。

[0261] 从所述产生人类抗体的转基因动物生产人类抗体可以如下进行：对通过使用人类之外的哺乳动物进行的通用杂交瘤生产方法获得的产生人类抗体的杂交瘤进行培养以便在培养物中产生并积累所述人类抗体，并从所述培养物纯化所述抗体。

[0262] 本发明的抗体包含仅由重链构成的重链抗体。所述重链抗体是指从骆驼科动物例如美洲驼、骆驼和羊驼获得的抗体或在所述抗体的基础上产生的遗传重组抗体。

[0263] 在本发明中，所述抗体片段是抗体的片段，并且是指具有抗原结合活性的片段。其实例包含Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、scFv、双体抗体、dsFv、包含多个CDR的肽、VHH等。此外，本发明的抗体片段还包含任何抗体片段，只要所述抗体片段包含抗体的部分片段并具有CSPG5结合活性即可，例如通过将抗体的全长或一部分恒定区或Fc融合到所述抗体片段而获得的抗体片段或包含恒定区或Fc的抗体片段。

[0264] 所述Fab是在通过用木瓜蛋白酶(在H链中第224位处的氨基酸残基处切割)处理IgG抗体而获得的片段中的一种抗体片段，其具有约50,000的分子量并具有抗原结合活性，并且其中在N-端一侧约一半的H链和整个L链通过二硫键(S-S键)连接。

[0265] 所述F(ab')<sub>2</sub>是在通过用胃蛋白酶(在H链中第234位处的氨基酸残基处切割)处理IgG而获得的片段中的一种抗体片段，其具有约100,000的分子量并具有抗原结合活性，并且比通过铰链区中的S-S键连接Fab而获得的分子略大。

[0266] 所述Fab'是一种具有约50,000的分子量并具有抗原结合活性，并且其中上述F(ab')<sub>2</sub>的铰链区中的S-S键被切开的抗体片段。

[0267] 所述scFv是VH-P-VL或VL-P-VH多肽，其中使用适合的肽连接物(P)例如通过连接任意数目的由4个Gly残基和1个Ser残基构成的连接物(G4S)而获得的连接肽将一个VH和一个VL相连，并且是具有抗原结合活性的抗体片段。

[0268] 所述双体抗体是其中具有相同或不同抗原结合特异性的scFv形成二聚体的一种抗体片段，并且是具有对同一抗原的二价抗原结合活性或特异性针对不同抗原的抗原结合活性的抗体片段。

[0269] 所述dsFv是通过将其中VH和VL中的每一者中的一个氨基酸残基被半胱氨酸残基替换的多肽通过所述半胱氨酸残基之间的S-S键相连而获得，并且具有抗原结合活性的一种抗体片段。

[0270] 所述包含CDR的肽被构造成至少包含VH或VL的一个或多个CDR区域，并且是具有抗原结合活性的抗体片段。在包含多个CDR的肽中，所述CDR可以直接或通过适合的肽连接物连接。作为本发明的包含CDR的肽，优选的实例是包含源自于本发明的抗体的6个CDR的肽。

[0271] 所述包含CDR的肽可以如下产生：构建编码本发明的抗体的VH和VL的CDR的DNA，将所述DNA插入到用于原核生物的表达载体或用于真核生物的表达载体中，然后将所述表达载体引入到原核生物或真核生物中并表达所述肽。另外，所述包含CDR的肽也可以通过化学合成方法例如Fmoc方法或tBoc方法来产生。

[0272] 所述VHH是重链抗体的可变结构域，并且也被称为纳米抗体。本发明的抗体片段包含任何抗体片段，只要所述抗体片段包含上述任何抗体片段或其部分片段并具有CSPG5结

合活性即可。

[0273] 在本发明中,具有一个抗原结合位点的抗体或其抗体片段被称为单价抗体。单价抗体的格式的实例包含在WO 2014/054804、WO 2011/090754、WO 2007/048037、WO 2012/116927等中描述的具有一个抗原结合位点的抗体或其抗体片段的格式以及其他格式。

[0274] 在本发明中,一个分子与三种或更多种不同抗原或表位结合的抗体或其抗体片段被称为多特异性抗体。此外,在本发明中,一个分子与两种不同抗原或表位结合的抗体或其抗体片段被称为双特异性抗体。

[0275] 多特异性抗体或双特异性抗体的格式的实例包含在下述文献中描述的格式以及其他格式:WO 2009/131239;WO 2014/054804;WO 01/077342;美国专利申请公布号2007/0071675;WO 2007/024715;Wu等[Nature Biotechnology,2007,25(11),pp.1290-1297];Labrijn等[PNAS 2013,vol.110,no.13,pp.5145-5150];Jong等[<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1002344>];Kontermann等[mAbs2012,vol.4,issue 2,pp.182-197];Spiess等[Molecular Immunology 67 (2015) 95-106];Ridgway等[Protein engineering,1996vol.9,no.7,pp.617-621];WO 2009/080251;WO 2010/151792;WO 2014/033074等。

[0276] 所述双特异性抗体的具体实例包含下述双特异性抗体等。

[0277] (1)一种双特异性抗体,其中氨基酸修饰S354C/T366W被引入到抗体的两条重链中的一条重链(重链A)的CH3中,并且氨基酸修饰Y349C/T366S/L368A/Y407V被引入到另一条重链(重链B)的CH3中。

[0278] (2)一种双特异性抗体,其中抗体片段被融合到抗体的C-端。

[0279] (3)一种双特异性抗体,其中抗体片段被融合到抗体的N-端。

[0280] 所述在(1)中描述的双特异性抗体可以是其中包含重链A的VH的抗原结合位点与CSPG5结合并且其中包含重链B的VH的抗原结合位点与脑中存在的抗原结合的双特异性抗体,或其中抗原结合位点以正好相反的方式结合的双特异性抗体。

[0281] 所述在(2)中描述的双特异性抗体的实例包含其中抗体片段被连接到构成抗体的两条重链之一的C-端的双特异性抗体、其中抗体片段被连接到构成抗体的两条重链两者的C-端的双特异性抗体、其中抗体片段被连接到构成抗体的两条轻链之一的C-端的双特异性抗体、其中抗体片段被连接到构成抗体的两条轻链两者的C-端的双特异性抗体、其中抗体片段被连接到构成抗体的两条轻链的C-端和两条重链的C-端中的每一者的双特异性抗体等。注意在所述抗体的C-端与所述抗体片段之间可能存在适合的连接物。

[0282] 所述包含在(2)中描述的双特异性抗体中的抗体片段优选为scFv、Fab、VHH等,但不特别限于此。

[0283] 所述在(2)中描述的双特异性抗体可以是其中在N-端处的抗原结合位点与CSPG5结合并且其中在C-端处的抗原结合位点与脑中存在的抗原结合的双特异性抗体或其中所述抗原结合位点以正好相反的方式结合的双特异性抗体。

[0284] 所述在(3)中描述的双特异性抗体是指其中抗体片段被连接到构成抗体的两条重链或两条轻链中的至少任一者的N-端的双特异性抗体。此外,在所述抗体的重链和/或轻链的N-端与所述抗体片段之间可能存在适合的连接物。所述包含在(3)中描述的双特异性抗体中的抗体片段优选为scFv、Fab、VHH等,但不特别限于此。

[0285] 此外,所述在(3)中描述的双特异性抗体的实例包含从重链的N-端起具有VH<sub>1</sub>-CH1-VH<sub>2</sub>-CH1-铰链-CH2-CH3结构的双特异性抗体,具有上述重链结构并且其中VH<sub>1</sub>和VH<sub>2</sub>各自与VL一起形成抗原结合位点的双特异性抗体,等等。与VH<sub>1</sub>和VH<sub>2</sub>形成抗原结合位点的VL可以具有相同的氨基酸序列或不同的氨基酸序列。

[0286] 在本发明中,所述多特异性抗体或双特异性抗体可以是任何抗体,只要所述抗体是与CSPG5结合的多特异性抗体或双特异性抗体即可。在这些抗体中,与CSPG5和脑中存在的抗原结合的多特异性抗体或双特异性抗体是优选的,并且包含与CSPG5结合的抗原结合位点和与脑中存在的抗原结合的抗原结合位点的多特异性抗体或双特异性抗体是更加优选的。

[0287] 在本发明中,所述脑中存在的抗原的实例包含蛋白质、聚糖、脂类等,并且在这些抗原中所述抗原优选为蛋白质。

[0288] 脑中存在的蛋白质的实例包含胱蛋白、5T4、AFP、ADAM10、ADAM12、ADAM17、AFP、AXL、BCAM、BSG、C5、C5R、CA9、CA72-4、CSPG5、CCL11、CCL2、CCR1、CCR4、CCR5、CCR6、CD2、CD3E、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD18、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD29、CD30、CD32B、CD33、CD37、CD38、CD40、CD40LG、CD44、CD47、CD52、CD55SC1、CD56、CD66E、CD71、CD72、CD74、CD79a、CD79b、CD80、CD86、CD95、CD98、CD137、CD147、CD138、CD168、CD200、CD248、CD254、CD257、CDH2、CDH3、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CEACAM6、CEACAM8、紧密连接蛋白3、紧密连接蛋白4、CSF-1、CSF2RA、CSPG-4、CSPG5、CTLA4、CRF-1、Cripto、CXCR4、CXCR5、DJ-1、DLL4、DR4、DR5、ED-B、EFNA2、EGFR、EGFRvIII、ETBR、ENPP3、EPCAM、EphA2、EphA4、EPOR、ERBB2、ERBB3、ERBB4、FAP $\alpha$ 、FAS、Fc  $\gamma$  RI、FCER2、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT1、FOLH1、FOLR1、GDF2、GFR、GLP1R、磷脂酰基醇聚糖-3、GPNMB、GRP78、HAPLN4、HB-EGF、HGF、HLA-DR $\beta$ 、HMGB1、ICAM1、ICAM5、IFNA1、IFNB、IgE、IgE-Fc、IGF1R、IL10、IL12B、IL13、IL15、IL17A、IL1A、IL1B、IL2RA、IL4、IL5、IL5RA、IL6、IL6R、IL9、IL2R $\alpha$ 、IL2R $\beta$ 、IL2R  $\gamma$ 、INSR、ITGA2、ITGA2B2、ITGB3、ITGA4、ITGB7、ITGA5、ITGAL、ITGAV、ITGB3、ITGB2、KDR、L1CAM、LAG3、LRP3、间皮素、MAG、MMP14、MMP15、MOG、MST1R、MSTN、MUC1、MUC4、MUC16、MUC5AC、肌生成抑制蛋白、连接蛋白4、NCAN、NGF、NMDAR、NOTCH、NRG1、NRP、OX40、OX40L、P2Y6、PAR1、PDGFA、PDGFB、PDGFRA、PDGFRB、PD1、PDL1、PLP1、PSCA、PTPRZ、RET、RGMA、SLAM7、SLC44A4、TAG-72、TCR、TGFB1、TGFB2、TGFB、TIMP2、TLR9、TNF、TNFR、TNFRSF10A、TNFRSF10B、TNFRSF12A、TNFSF13、TNFSF14、TNFSF2、TNFSF7、TREM2、TRAILR2、TRKA、TRKB、TRKC、转铁蛋白、VEGF、VEGFR、VLA-4、CGRP、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、Tau、FUS、淀粉样肽- $\beta$ (A $\beta$ )、APP、BACE1、早老蛋白、LINGO-1、Nogo、Troy、polyQ、雄激素受体、亨廷顿蛋白、脊髓小脑共济失调蛋白1、脊髓小脑共济失调蛋白2、磷酸化Tau、磷酸化 $\alpha$ -突触核蛋白等,但所述蛋白质不限于这些蛋白质。

[0289] 脑中存在的聚糖的实例包含Lewis-x、Lewis-y、CD15等,但所述聚糖不限于这些聚糖。

[0290] 脑中存在的脂类的实例包含GD1a、GD2、GD3、GM1、GM2、GM3、磷脂酰丝氨酸等,但所述脂类不限于这些脂类。

[0291] 本发明的抗体或其抗体片段还包括包含任何翻译后修饰的氨基酸的抗体。所述翻译后修饰的实例包含H链C-端处赖氨酸残基的缺失(赖氨酸修剪)、多肽N-端处的谷氨酰胺残基转变成焦谷氨酰胺(pyroGlu)等[Beck等,Analytical Chemistry,85,715-736

(2013)]。

[0292] 在本发明的抗体或其抗体片段中,可以进行Fc区的氨基酸修饰。作为所述Fc区的氨基酸修饰,实例是例如用于使所述抗体稳定或调节在血液中的半衰期的氨基酸修饰等。所述Fc区的氨基酸修饰的具体实例包含在WO 2006/033386、WO 2006/075668、WO 2011/122011、WO 2009/125825等中描述的那些。

[0293] 本发明的抗体或其抗体片段还包含通过将所需分子连接到所述抗体或其抗体片段而修饰的融合抗体或其融合抗体片段。用于修饰抗体的方法没有特别限制,并且可以使用任何方法,只要所述方法可以修饰所需氨基酸残基和聚糖即可。

[0294] 例如,实例是使用化学反应的化学修饰[《抗体工程入门》(Introduction to Antibody Engineering), Chijinshokan Co., Ltd. (1994); Kolb等, Angew Chem Int Ed Engl. 40. 2004-21, 2001],通过遗传工程技术进行的修饰,其中使用遗传重组技术将重组蛋白表达载体引入到用于表达的适合宿主细胞中,等等。

[0295] 在本发明中,当所述抗体或其抗体片段通过化学修饰用另一个分子修饰时,作为修饰位点,实例是所述抗体或抗体片段的恒定区,并且具体来说,C-端处的Cys残基或S-S键位点是优选的。也可以通过遗传工程技术事先在所述抗体或抗体片段的任意位置处引入可以在晚些时候被化学修饰的残基。

[0296] 此外,当所述抗体或其抗体片段通过遗传工程技术用另一个分子直接修饰时,作为修饰位点,实例是所述抗体或抗体片段的轻链或重链的N-端或C-端。

[0297] 在本发明中,用于修饰所述抗体或其抗体片段的分子的实例包含亲水性聚合物、两亲性聚合物、功能性分子等。

[0298] 所述亲水性聚合物和两亲性聚合物的实例包含聚氧化烯、包含多元醇或多糖的分子等。

[0299] 所述聚氧化烯的实例包含由直链或支链构成的聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇、聚丙二醇-乙二醇等。

[0300] 所述包含多元醇或多糖的分子的实例包含葡萄糖被聚合在其中的直链或支链多糖,例如直链淀粉、葡聚糖、普鲁兰多糖和糖原等。此外,所述分子不限于同聚多糖,而是可以是异聚多糖。

[0301] 所述包含亲水性聚合物或两亲性聚合物的分子的分子量没有特别限制,但优选为100Da以上,并且优选为例如100Da至100kDa。

[0302] 所述功能性分子的实例包含抗原结合分子、抗原结合分子的片段、药物、生物活性肽、生物活性蛋白质、核酸、放射性标记化合物、聚糖、脂类、荧光化合物等。作为用功能性分子例如抗原结合分子修饰的结果而具有双特异性的分子是双特异性抗体。

[0303] 所述抗原结合分子的实例包含抗体、受体、配体等。

[0304] 所述抗原结合分子的片段可以是任何片段,只要所述片段是抗原结合分子的片段并具有抗原结合活性即可。

[0305] 所述药物的实例包含抗癌药剂例如烷化剂、亚硝基脲药剂、抗代谢物、抗病毒剂、抗生素、植物生物碱、拓扑异构酶抑制剂、微管蛋白聚合抑制剂、激素疗法药剂、激素拮抗剂、芳香酶抑制剂、P-糖蛋白抑制剂、铂络合物衍生物、M期抑制剂和激酶抑制剂[Clinical oncology, Japanese Journal of Cancer and Chemotherapy (1996)]、抗炎剂例如甾体药

剂、非甾体药剂、免疫调节剂、免疫抑制剂和抗组胺药剂 [Inflammation and anti-inflammatory therapy, Ishiyaku Publishers, Inc. (1982)] 等。

[0306] 其更具体的实例包含美坦新 (mertansine)、安坦辛 (emtansine)、阿米福汀 (Ethyol)、顺铂、达卡巴嗪 (DTIC)、更生霉素、二氯甲基二乙胺 (氮芥)、链脲佐菌素、环磷酰胺、异环磷酰胺、卡莫司汀 (BCNU)、洛莫司汀 (CCNU)、多柔比星 (阿霉素)、表柔比星、吉西他滨 (Gemzar)、道诺霉素、丙卡巴肼、丝裂霉素、阿糖胞苷、依托泊苷、5-氟尿嘧啶、氟尿嘧啶、长春碱、长春新碱、博来霉素、道诺霉素、培洛霉素、雌莫司汀、紫杉醇 (Taxol)、多西他赛 (Taxotere)、阿地白介素、天冬酰胺酶、白消安、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、克拉屈滨、喜树碱、10-羟基-7-乙基-喜树碱 (SN38)、氟尿苷、氟达拉滨、羟基脲、伊达比星、美司钠、伊立替康 (CPT-11)、拓扑替康、米托蒽醌、拓扑替康、亮丙瑞林、甲地孕酮、马法兰、巯基嘌呤、羟基脲、普卡霉素、米托坦、培门冬酶、喷司他丁、哌泊溴烷、链脲佐菌素、他莫昔芬、戈舍瑞林、亮丙瑞林、氟他胺、替尼泊苷、睾内酯、硫鸟嘌呤、噻替哌、乌拉莫司汀、长春瑞滨、苯丁酸氮芥、氢化可的松、泼尼松龙、甲基泼尼松龙、长春地辛、尼莫司汀、司莫司汀、卡培他滨、雷替曲塞、阿扎胞苷、UFT、奥沙利铂、吉非替尼 (Iressa)、伊马替尼 (ST1571)、埃罗替尼、FMS样酪氨酸激酶3 (Flt3) 抑制剂、血管内皮生长因子受体 (VEGFR) 抑制剂、成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 抑制剂、表皮生长因子受体 (EGFR) 抑制剂例如特罗凯、根赤壳菌素、17-烯丙基氨基-17-去甲氧基格尔德霉素、雷帕霉素、安吖啶、全反式视黄酸、沙利度胺、来那度胺、阿那曲唑、法乐唑、来曲唑、依西美坦、布西拉明、硫唑嘌呤、咪唑立宾、环孢菌素、雷帕霉素、氢化可的松、替罗非班 (Targretin)、他莫昔芬、地塞米松、孕酮、雌激素、阿那曲唑 (Arimidex)、柳普林、阿司匹林、吲哚美辛、塞来昔布、硫唑嘌呤、青霉胺、硫代苹果酸金、马来酸氯苯那敏、氯苯那敏、克立马丁、维甲酸、砷、硼替佐米、别嘌呤醇、加利车霉素、替伊莫单抗、塔革雷汀、奥唑米星、克拉霉素、四氢叶酸、酮康唑、氨鲁米特、苏拉明、甲氨蝶呤、美登素类生物碱等，并且也可以包含它们的衍生物。

[0307] 用于连接所述药物与所述抗体或其抗体片段的方法的实例除了上述方法之外还包含通过戊二醛连接所述药物与所述抗体的氨基的方法、通过水溶性碳二亚胺连接所述药物的氨基与所述抗体的羧基的方法等。

[0308] 所述生物活性肽或生物活性蛋白的实例包含干扰素 (IFN)- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、白介素 (IL)-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、IL-23、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF)、激活免疫活性细胞例如NK细胞、巨噬细胞或嗜中性粒细胞的细胞因子或生长因子、蛋白酶例如水化酶、裂解酶或异构酶、酶例如酸性鞘磷脂酶和葡萄糖脑苷脂酶、包含细菌毒素和植物毒素例如蓖麻毒素、白喉毒素或ONTAK等的毒素，具有细胞膜损伤活性的抗微生物肽、具有细胞膜亲和性或细胞膜通透性的肽、其衍生物等。

[0309] 所述核酸可以是任何分子，只要它是核苷酸或具有与核苷酸等同的功能的分子被聚合在其中的分子即可，其实例包含 siRNA、microRNA、反义 RNA/DNA、DNA 适体等。

[0310] 所述放射性标记化合物可以是任何放射性标记化合物，只要它是用于诊断或治疗目的的核素即可，并且其实例包含  $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{51}\text{Cr}$ 、 $^{57}\text{Co}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{153}\text{Gd}$ 、 $^{159}\text{Gd}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{68}\text{Ge}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{115}\text{In}$ 、 $^{113}\text{In}$ 、 $^{112}\text{In}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{121}\text{I}$ 、 $^{140}\text{La}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{54}\text{Mn}$ 、 $^{99}\text{Mo}$ 、 $^{103}\text{Pd}$ 、 $^{142}\text{Pr}$ 、 $^{149}\text{Pm}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{105}\text{Rh}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{75}\text{Se}$ 、 $^{85}\text{Sr}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{201}\text{Ti}$ 、 $^{113}\text{Sn}$ 、 $^{117}\text{Sn}$ 、 $^{133}\text{Xe}$ 、 $^{169}\text{Yb}$ 、

$^{175}\text{Yb}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{65}\text{Zn}$ 等,或包含任何所述核素的化合物。

[0311] 所述放射性标记化合物可以通过氯胺T方法等直接连接到所述抗体。此外,可以将螯合所述放射性标记化合物的物质连接到所述抗体。所述螯合剂的实例包含1,4,7,10-四氮杂环十二烷四乙酸(DOTA)、1-[2-(4-氨基苯基)乙基]-1,4,7,10-四氮杂环十二烷四乙酸(PA-DOTA)、1,4,7,10-四氮杂环十三烷四乙酸(TRITA)、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)等,并且用所述螯合剂修饰的抗体和通过所述螯合剂用所述放射性标记化合物标记的修饰抗体也被包含在本发明的抗体中。

[0312] 所述聚糖的实例包含单糖、二糖和寡糖等,并且其更具体的实例包含岩藻糖、甘露糖、葡萄糖、阿洛糖、醛糖(aldose)、古洛糖、艾杜糖、半乳糖、塔洛糖、核糖、阿拉伯糖、木糖、来苏糖、赤藓糖(erythrose)、赤藓糖、苏阿糖、纤维二糖、麦芽糖、异麦芽糖、乳糖、脂阿拉伯糖甘露聚糖、Lewis X三糖、唾液酸化Lewis X四糖等。此外,所述聚糖可以是包含被称为免疫佐剂的聚糖的天然产物,其实例包含 $\beta$ (1→3)葡聚糖(香菇多糖或裂褶菌多糖)、 $\alpha$ -半乳糖昔神经酰胺(KRN7000)等。

[0313] 所述脂类的实例包含简单脂类(中性脂类),其是脂肪酸与各种不同类型的醇中的任一者的酯或其类似物。其实例包含脂肪(例如三酰甘油)、蜡(例如长链醇的脂肪酸酯)、甾醇酯、胆甾醇酯、维生素的脂肪酸酯等,除了脂肪酸和醇之外还具有极性基团例如磷酸、糖、硫酸或胺的复合脂类例如磷脂(例如甘油磷脂、鞘磷脂等)和糖脂(例如甘油糖脂、鞘糖脂等),衍生脂类,其是指在通过简单脂类或复合脂类的水解产生的化合物中的脂溶性化合物例如脂肪酸、长链醇、脂溶性维生素、甾类、糖类等。

[0314] 所述荧光化合物的实例包含荧光染料,包括荧光素系列例如荧光素异硫氰酸酯(FITC)、罗丹明系列例如罗丹明异硫氰酸酯(RITC)、Cy3、Cy5、曙红系列、Alexa Fluor系列、NBD系列等,发光物质例如吖啶酯或洛粉碱,荧光蛋白例如绿色荧光蛋白(GFP)等。

[0315] 所述亲水性聚合物、两亲性聚合物或功能性分子可以直接地或通过适合的连接物连接到本发明的抗体或其抗体片段。所述连接物的实例包含酯、二硫化物、腙、二肽等。

[0316] 当融合抗体或融合抗体片段通过用遗传工程技术修饰本发明的抗体或其抗体片段来产生时,融合抗体或融合抗体片段可以如下产生:将编码蛋白质的cDNA连接到编码抗体的cDNA,由此构建编码所述融合抗体或融合抗体片段的DNA,将所述DNA插入到用于原核生物或真核生物的表达载体中,将所述表达载体引入到原核生物或真核生物中,并表达所述融合抗体或融合抗体片段。

[0317] 本发明的组合物可以是任何组合物,只要所述组合物包含本发明的抗体或其抗体片段即可。除了所述抗体或其抗体片段之外,所述组合物还可以包含适合的载体或添加剂例如稳定剂。

[0318] 本发明的组合物的实例包括包含本发明的抗体或其抗体片段的用于检测或测量的组合物等。本发明的组合物的实例包括包含本发明的抗体或其抗体片段作为活性成分的药物组合物(治疗剂)等,并且所述组合物与可药用载体一起配制成所需剂型。

[0319] 在本发明中,所述用于检测或测量的组合物可以是任何组合物,只要所述组合物包含本发明的抗体或其抗体片段并且可以检测或测量与本发明的抗体或其抗体片段特异性结合的抗原即可。作为与本发明的抗体或其抗体片段特异性结合的抗原,实例是CSPG5或CSPG5和脑中存在的抗原等。

[0320] 本发明的抗体或其抗体片段当给药到动物时,具有与脑中的CSPG5结合并在脑中积累的性质。因此,通过使用包含所述抗体或其抗体片段的用于检测或测量的组合物,所述抗体可以在脑中维持,或者可以提高脑中的抗体浓度,使得CSPG5或CSPG5和脑中存在的抗原可以被长时间检测或测量,和/或也可以以高灵敏度检测或测量CSPG5或CSPG5和脑中存在的抗原。

[0321] 例如,当所述用于检测或测量的组合物是包含与CSPG5和脑中存在的抗原结合的双特异性抗体的组合物时,所述双特异性抗体所结合的CSPG5和脑中存在的抗原可以被长时间检测或测量,和/或可以以高灵敏度检测或测量CSPG5和脑中存在的抗原。

[0322] 此外,例如,当所述用于检测或测量的组合物是包含用放射性标记化合物或荧光染料标记并与CSPG5结合的融合抗体或其融合抗体片段的组合物时,CSPG5可以被长时间检测或测量,和/或可以以高灵敏度检测或测量CSPG5。

[0323] 包含本发明的抗体或其抗体片段的药物组合物(治疗剂)可以是用于任何疾病的治疗剂,只要与本发明的抗体或其抗体片段特异性结合的抗原在所述疾病中表达即可,但优选为用于脑部疾病的治疗剂。

[0324] 所述脑部疾病的实例包含阿兹海默氏病、阿兹海默氏病的前驱期、亨廷顿氏病、帕金森氏病、脑肿瘤、多发性硬化症、肌营养不良症、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、多系统萎缩症、进行性核上性麻痹、黑质纹状体变性、橄榄体脑桥小脑萎缩、脊髓延髓性肌肉萎缩、脊髓小脑变性、脑血管障碍、癫痫、偏头痛、多动症、克雅病、皮质基底节变性、溶酶体贮积病、抑郁症、肌张力障碍等。

[0325] 本发明的抗体或其抗体片段在给药到动物时具有与脑中的CSPG5结合并在脑中积累的性质。因此,通过使用包含所述抗体或其抗体片段的治疗剂,所述抗体或其抗体片段可以在脑中长时间维持,并且可以提高脑中的抗体浓度,以便可以表现出对上述疾病的治疗效果。

[0326] 例如,当所述治疗剂是包含本发明的抗CSPG5抗体的融合抗体的治疗剂时,通过将融合分子递送到脑中,可以表现出所述分子的治疗效果。具体来说,当所述治疗剂是包含其中将药物、酶等融合到抗CSPG5抗体的融合抗体的治疗剂时,可以表现出所述药物或酶的治疗效果,并且当所述治疗剂是包含与CSPG5和脑中存在的抗原结合的双特异性抗体的治疗剂时,可以表现出对与所述脑中存在的并与所述双特异性抗体结合的抗原相关的脑部疾病的治疗效果。

[0327] 此外,例如,当所述治疗剂是用低分子量药物修饰并与CSPG5结合的融合抗体或融合抗体片段时,可以表现出对所述低分子量药物所靶向的脑部疾病的治疗效果。此时,与单独使用所述低分子量药物的情况相比,使用本发明的治疗剂时治疗效果优选更高。

[0328] 所述包含本发明的抗体或其抗体片段的治疗剂可以是仅包含所述抗体或其抗体片段作为活性成分的治疗剂,然而通常情况下,所述治疗剂理想情况下作为使用制药学技术领域中已知的任意方法通过与一种或多种可药用载体混合而生产的药物制剂提供。

[0329] 作为给药途径,优选地使用对治疗最有效的途径,其实例包含口服给药或肠胃外给药例如口内、气道内、直肠内、皮下、真皮内、肌肉内、脑室内、鞘内、鼻内、腹膜内或静脉内给药,并且静脉内或脑室内给药等是特别优选的实例。剂型的实例包含喷雾剂、胶囊、片剂、粉剂、颗粒剂、糖浆、乳液、栓剂、注射剂、软膏、胶带等。

[0330] 给药的剂量或频率随着所打算的治疗效果、给药方法、治疗持续时间、年龄、体重等而变,但通常对于成人来说为每天10 $\mu$ g/kg至20mg/kg。

[0331] 此外,本发明还包含用于将抗体保留在脑中的方法、用于增强抗体在脑中积累的性质的方法和用于提高脑中的抗体浓度(或抗体量)的方法,每种所述方法均使用本发明的抗体或其抗体片段。

[0332] 此外,本发明还涉及与CSPG5结合的肽,包含编码所述肽的核苷酸序列的核酸,包含含有所述核酸的载体的转化体细胞,包含培养所述转化体细胞并从培养溶液收集所述肽的生产所述肽的方法,包含所述肽的组合物,或用于检测或测量脑中存在的抗原的方法,用于诊断或治疗脑部疾病的方法,用于增强肽在脑中积累的性质的方法,或用于提高所述肽在脑中的量的方法,每种所述方法均使用所述肽或组合物。

[0333] 本发明的肽包含其中肽被修饰的融合肽。

[0334] 对于与所述结合到CSPG5等的肽相关的各种不同术语的定义来说,除非另有规定,否则使用与上文为结合到CSPG5等的抗体所描述的术语定义相同的定义。

[0335] 在下文中,将具体描述用于生产本发明的抗体或其抗体片段的方法、用于治疗疾病的方法、用于诊断疾病的方法等。

[0336] 1. 用于生产抗体的方法

[0337] (1) 抗原的制备

[0338] 充当抗原的CSPG5或表达CSPG5的细胞可以通过将包含编码全长CSPG5或其部分长度的cDNA的表达载体引入到大肠杆菌、酵母、昆虫细胞、动物细胞等中来获得。此外,CSPG5也可以通过从CSPG5在其中被大量表达的各种不同类型的动物细胞系、动物细胞、动物组织等纯化CSPG5来获得。

[0339] 此外,所述动物细胞系、动物细胞、动物组织等,也可以将它们作为抗原来使用。此外,使用化学合成方法例如Fmoc方法或tBoc方法制备具有CSPG5的部分序列的合成肽,并且所述合成肽也可以用作抗原。

[0340] 可以向CSPG5或具有CSPG5的部分序列的合成肽的C-端或N-端添加已知的标签例如FLAG或His。

[0341] 在本发明中使用的CSPG5可以使用在《分子克隆实验指南》(Molecular Cloning, A Laboratory Manual)第二版(Cold Spring Harbor Laboratory Press(1989))、《分子生物学现代方法》(Current Protocols In Molecular Biology) (John Wiley&Sons (1987-1997))等中描述的方法等来生产,例如通过下述方法将编码CSPG5的DNA在宿主细胞中表达。

[0342] 首先,通过将在启动子下游包含编码CSPG5的区域的全长cDNA插入到适合的表达载体中来产生重组载体。在所述全长cDNA的基础上制备的具有适合的长度并包含编码多肽的区域的DNA片段可以代替所述全长cDNA使用。随后,通过将得到的重组载体引入到适合于所述表达载体的宿主细胞中,可以获得产生所述多肽的转化体。

[0343] 作为所述表达载体,可以使用任何载体,只要它可以自主复制或者可以整合到待使用的宿主细胞的染色体中,并在能够转录编码所述多肽的DNA的位置处包含适合的启动子即可。作为所述宿主细胞,可以使用任何细胞例如属于埃希氏杆菌属(Escherichia)的微生物例如大肠杆菌(E.coli)、酵母、昆虫细胞、动物细胞等,只要可以表达靶基因即可。

[0344] 在使用原核生物例如大肠杆菌作为宿主细胞的情况下,所述表达载体优选为可以在原核生物中自主复制并且还包含启动子、核糖体结合序列、包含编码人类CSPG5的区域的DNA和转录终止序列的载体。此外,尽管转录终止序列对于表达载体来说不是必需的,但所述转录终止序列优选被放置在紧靠结构基因的下游。此外,所述重组载体可以包含控制启动子的基因。

[0345] 作为所述表达载体,优选地使用其中作为核糖体结合序列的Shine-Dalgarno序列(也被称为SD序列)与起始密码子之间的距离被调整到适合长度(例如6至18个核苷酸)的质粒。

[0346] 此外,在所述编码CSPG5的DNA的核苷酸序列中,核苷酸可以被替换,使得密码子对于在宿主中的表达来说变成最适,并且作为结果可以提高靶CSPG5的生产速率。

[0347] 作为所述表达载体,可以使用任何载体,只要它可以在待使用的宿主细胞中表现出它的功能即可,并且其实例包含pBTrp2、pBTac1、pBTac2(上文中由Roche Diagnostics K.K.制造)、pKK233-2(由Pharmacia Corporation制造)、pSE280(由Invitrogen, Inc.制造)、pGEMEX-1(由Promega Corporation制造)、pQE-8(由QIAGEN, Inc.制造)、pKYP10(JP-A-S58-110600)、pKYP200[Agricultural Biological Chemistry, 48, 669 (1984)]、pLSA1[Agric.Biol.Chem., 53, 277 (1989)]、pGEL1[Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 82, 4306 (1985)]、pBluescript II SK (-)(由Stratagene Corporation制造)、pTrs30[从大肠杆菌JM109/pTrs30(FERM BP-5407制备)]、pTrs32[从大肠杆菌JM109/pTrs32(FERM BP-5408)制备]、pGHA2[从大肠杆菌IGHA2(FERM BP-400)制备,JP-A-S60-221091]、pGKA2[从大肠杆菌IGKA2(FERM BP-6798)制备,JP-A-S60-221091]、pTerm2(美国专利号4,686,191、美国专利号4,939,094和美国专利号160,735)、pSupex、pUB110、pTP5、pC194、pEG400[J.Bacteriol., 172, 2392 (1990)]、pGEX(由Pharmacia Corporation制造)、pET系统(由Novagen, Inc.制造)、pME18SFL3等。

[0348] 作为启动子,可以使用任何启动子,只要它可以在待使用的宿主细胞中表现出它的功能即可。实例是例如源自于大肠杆菌、噬菌体等的启动子如trp启动子(Ptrp)、lac启动子、PL启动子、PR启动子或T7启动子。此外,实例是例如人工设计和修饰的启动子例如其中将两个Ptrp串联连接的串联启动子、tac启动子、lacT7启动子或let I启动子等。

[0349] 宿主细胞的实例包含大肠杆菌XL1-Blue、大肠杆菌XL2-Blue、大肠杆菌DH1、大肠杆菌MC1000、大肠杆菌KY3276、大肠杆菌W1485、大肠杆菌JM109、大肠杆菌HB101、大肠杆菌No.49、大肠杆菌W3110、大肠杆菌NY49、大肠杆菌DH5 $\alpha$ 等。

[0350] 作为将重组载体引入到宿主细胞中的方法,可以使用任何方法,只要它是用于将DNA引入到待使用的宿主细胞中的方法即可,实例是例如使用钙离子的方法[Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 69, 2110 (1972); Gene, 17, 107 (1982); 和Molecular&General Genetics, 168, 111 (1979)]。

[0351] 当使用动物细胞作为宿主时,作为表达载体,可以使用任何载体,只要它可以在动物细胞中表现出它的功能即可,并且其实例包含pcDNA1, pCDM8(由Funakoshi Co., Ltd.制造)、pAGE107[JP-A-H3-22979; Cytotechnology, 3, 133 (1990)]、pAS3-3(JP-A-H2-227075)、pCDM8[Nature, 329, 840 (1987)]、pcDNA1/Amp(由Invitrogen, Inc.制造)、pcDNA3.1(由Invitrogen, Inc.制造)、pREP4(由Invitrogen, Inc.制造)、pAGE103[J.Biochemistry, 101,

1307 (1987) ]、pAGE210、pME18SFL3、pKANTEX93 (WO 97/10354) 、N5KG1val (美国专利号6,001,358) 、INPEP4 (由Biogen-IDEC, Inc. 制造) 、pCI (由Promega Corporation制造) 、转座子载体 (WO 2010/143698) 等。

[0352] 作为启动子, 可以使用任何启动子, 只要它可以在动物细胞中表现出它的功能即可, 并且其实例包含巨细胞病毒(CMV)立即早期(IE)基因启动子、SV40早期启动子、反转录病毒启动子、金属硫蛋白启动子、热休克启动子、SR $\alpha$ 启动子和莫洛尼鼠白血病病毒启动子或增强子。此外, 人类CMV IE基因增强子可以与所述启动子一起使用。

[0353] 宿主细胞的实例包含人类白血病细胞Namalwa细胞、猴细胞COS细胞、中华仓鼠卵巢细胞CHO细胞 [Journal of Experimental Medicine, 108, 945 (1958) ; Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 60, 1275 (1968) ; Genetics, 55, 513 (1968) ; Chromosoma, 41, 129 (1973) ; Methods in Cell Science, 18, 115 (1996) ; Radiation Research, 148, 260 (1997) ; Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 77, 4216 (1980) ; Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 60, 1275 (1968) ; Cell, 6, 121 (1975) ;《分子细胞遗传学》(Molecular Cell Genetics), 附录I、II (pp. 883-900) ]、二氢叶酸还原酶基因(dhfr)缺陷型CHO细胞 (CHO/DG44细胞) [Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 77, 4216 (1980) ]、CHO-K1 (ATCC CCL-61) 、DUkXB11 (ATCC CCL-9096) 、Pro-5 (ATCC CCL-1781) 、CHO-S (Life Technologies, 目录号11619) 、Pro-3、大鼠骨髓瘤细胞YB2/3HL.P2.G11.16Ag.20 (或者也被称为YB2/0) 、小鼠骨髓瘤细胞NS0、小鼠骨髓瘤细胞SP2/0-Ag14、叙利亚仓鼠细胞BHK或HBT5637 (JP-A-S63-000299) 等。

[0354] 作为用于将表达载体引入到宿主细胞中的方法, 可以使用任何方法, 只要它是用于将DNA引入到动物细胞中的方法即可。其实例包含电穿孔方法 [Cytotechnology, 3, 133 (1990) ]、磷酸钙方法 (JP-A-H2-227075) 、脂染法 [Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 84, 7413 (1987) ]等。

[0355] CSPG5可以如下生产: 将如上所述获得的源自于微生物、动物细胞等的具有并入有编码CSPG5的DNA的表达载体的转化体在培养基中培养, 以便在培养溶液中产生并积累CSPG5, 然后从所述培养溶液收集CSPG5。在培养基中培养所述转化体的方法可以按照用于培养宿主的常规方法来进行。

[0356] 在源自于真核生物的细胞中进行表达的情况下, 可以获得添加有糖或聚糖的CSPG5。

[0357] 在培养用使用诱导型启动子的表达载体转化的微生物时, 可以根据需要向培养基添加诱导物。例如, 在培养用使用lac启动子的表达载体转化的微生物时, 可以向培养基添加异丙基- $\beta$ -D-硫代吡喃半乳糖苷等, 并且在培养用使用trp启动子的表达载体转化的微生物时, 可以向培养基添加吲哚丙烯酸等。

[0358] 用于培养使用动物细胞作为宿主获得的转化体的培养基的实例包含常用的RPMI 1640培养基 [The Journal of the American Medical Association, 199, 519 (1967) ]、Eagle's MEM培养基 [Science, 122, 501 (1952) ]、Dulbecco改良的MEM培养基 [Virology, 8, 396 (1959) ]、培养基199 [Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 73, 1 (1950) ]、Iscove改良的Dulbecco's培养基 (IMDM) , 或向任何这些培养基添加了胎牛血清(FBS)等的培养基等。所述培养通常在pH 6至8和30至40°C的条件下, 在存在5%CO<sub>2</sub>的情况下等培养1至7天。此外, 在培养期间, 可以根据需要向所述培养基添加抗生素例如卡那霉素或青霉素。

[0359] 作为表达编码CSPG5的基因的方法,除了直接表达之外,实例是例如分泌生产或融合蛋白表达方法[《分子克隆实验指南》(Molecular Cloning,A Laboratory Manual),第二版,Cold Spring Harbor Laboratory Press(1989)]。

[0360] 用于生产CSPG5的方法的实例包含在宿主细胞中生产CSPG5的方法、将CSPG5分泌到宿主细胞外的方法、在宿主细胞的外膜上生产CSPG5的方法,并且可以通过改变待使用的宿主细胞或待生产的CSPG5的结构来选择适合的方法。

[0361] 当CSPG5在宿主细胞中或宿主细胞的外膜上生产时,可以使用Paulson等人的方法[J.Biol.Chem.,264,17619(1989)]、Lowe等人的方法[Proc.Natl.Acad.Sci.,USA,86,8227(1989);Genes Develop.,4,1288(1990)]或在JP-A-H05-336963、WO 94/23021等中描述的方法将CSPG5主动分泌到宿主细胞外。此外,利用使用二氢叶酸还原酶基因的基因扩增系统等(JP-A-H2-227075),也可以提高CSPG5的生产量。

[0362] 所述得到的CSPG5可以例如如下进行分离和纯化。当CSPG5在细胞中以溶解状态表达时,在培养完成后通过离心收集细胞,悬浮在水性缓冲溶液中,然后使用超声波均质机、French压碎器、Manton Gaulin均质机、Dyno磨等将所述细胞均质化,由此获得无细胞提取溶液。从通过所述无细胞提取溶液的离心获得的上清液,可以使用诸如常规蛋白质分离和纯化方法的方法获得纯化的制备物,所述方法即单独或组合的溶剂萃取法、使用硫酸铵等的盐析法、脱盐法、使用有机溶剂的沉淀法、使用诸如二乙基氨基乙基(DEAE)-琼脂糖凝胶或DIAION HPA-75(由Mitsubishi Chemical Corporation制造)的树脂的阴离子交换层析、使用诸如S-琼脂糖凝胶FF(由Pharmacia Corporation制造)的树脂的阳离子交换层析、使用诸如丁基琼脂糖凝胶或苯基琼脂糖凝胶的树脂的疏水层析、使用分子筛的凝胶过滤法、亲和层析、层析聚焦、电泳例如等电聚焦电泳等。

[0363] 当CSPG5在细胞中通过形成不溶体表达时,收集所述细胞,然后以与上述相同的方式均质化,然后离心,由此将所述CSPG5的不溶体作为沉积分级收集。将所述收集的CSPG5不溶体用蛋白变性剂溶解。通过稀释或透析所述溶解的溶液,CSPG5返回到正常构象,随后可以通过与上述相同的分离和纯化方法获得多肽的纯化制备物。

[0364] 当CSPG5或其衍生物例如糖修饰体被细胞外分泌时,可以在培养上清液中收集CSPG5或其衍生物例如糖修饰体。以与上述相同的方式使用诸如离心的方法对所述培养物进行处理,由此获得可溶性分级,然后使用与上述相同的分离和纯化方法,可以从所述可溶性分级获得纯化的制备物。

[0365] 此外,在本发明中使用的CSPG5也可以使用化学合成方法例如Fmoc方法或tBoc方法来生产。此外,化学合成也可以使用由Advanced Chemtech, Inc.、PerkinElmer, Inc.、Pharmacia Corporation、Protein Technology Instrument, Inc.、Synthechell-Vega Biomolecules Corporation、Perceptive, Inc.、Shimadzu Corporation等制造的肽合成仪来进行。

[0366] (2) 动物的免疫接种和用于融合的抗体产生细胞的制备

[0367] 将3至20周岁的动物例如小鼠、大鼠、兔或仓鼠用在(1)中获得的抗原免疫接种,并在所述动物的脾、淋巴结或外周血中收集抗体产生细胞。此外,诸如美洲驼、羊驼或骆驼的动物也可用作免疫接种的动物。

[0368] 所述免疫接种通过将抗原例如与适合的佐剂如弗氏完全佐剂、氢氧化铝凝胶或百

日咳博德特氏菌疫苗一起皮下、静脉内或腹膜内给药到动物来进行。当所述抗原是部分肽时,产生所述抗原与载体蛋白例如牛血清白蛋白(BSA)或钥孔戚血蓝蛋白(KLH)的偶联物并将其用作免疫原。

[0369] 当小鼠或大鼠被免疫接种时,所述抗原的给药在第一次给药后每1至2周进行5至10次。在每次给药后的第3至7天,从眼底静脉丛收集血液,并使用酶免疫测定法[《抗体实验指南》(Antibodies-A Laboratory Manual),Cold Spring Harbor Laboratory(1988)]等测量其血清的抗体滴度。其血清显示出足够的针对用于免疫接种的抗原的抗体滴度的动物,被用作用于融合的抗体产生细胞的供应源。

[0370] 在抗原的最后一次给药后第3至7天,从被免疫接种的动物摘除包含抗体产生细胞的组织例如脾脏,并收集所述抗体产生细胞。当使用脾细胞时,将脾脏切碎并分散,然后离心,然后除去红细胞,由此获得用于融合的抗体产生细胞。

[0371] 待免疫接种的其他动物也可以以相同方式进行免疫接种,并且可以获得抗体产生细胞。免疫接种的时间间隔和最后一次免疫接种与组织摘除之间的时间长度的适合条件,可以根据待免疫接种的动物物种来选择。

#### [0372] (3) 骨髓瘤细胞的制备

[0373] 作为骨髓瘤细胞,使用从小鼠获得的已建立的细胞系,并且使用例如8-氮杂鸟嘌呤抗性小鼠(源自于BALB/c的)骨髓瘤细胞系P3-X63Ag8-U1(P3-U1)[Current Topics in Microbiology and Immunology,18,1(1978)]、P3-NS1/1-Ag41(NS-1)[European J. Immunology,6,511(1976)]、SP2/0-Ag14(SP-2)[Nature,276,269(1978)]、P3-X63-Ag8653(653)[J. Immunology,123,1548(1979)]、P3-X63-Ag8(X63)[Nature,256,495(1975)]等。

[0374] 将所述骨髓瘤细胞在正常培养基[增补有谷氨酰胺、2-巯基乙醇、庆大霉素、FBS和8-氮杂鸟嘌呤的RPMI 1640培养基]中传代培养,然后在细胞融合前3至4天在正常培养基中传代培养,并在融合当天确保 $2 \times 10^7$ 个以上的细胞。

#### [0375] (4) 细胞融合和产生单克隆抗体的杂交瘤的制备

[0376] 将所述在(2)中获得的用于融合的抗体产生细胞和在(3)中获得的骨髓瘤细胞用最低必需培养基(MEM)或磷酸盐缓冲盐水(PBS:1.83g磷酸氢二钠,0.21g磷酸二氢钾,7.65g氯化钠,1L蒸馏水,pH7.2)充分清洗并混合,以使细胞数变得如下:用于融合的抗体产生细胞:骨髓瘤细胞=5:1至10:1,然后离心,然后除去上清液。

[0377] 在将沉淀的细胞集合体充分打散后,向其添加聚乙二醇1000(PEG-1000)、MEM培养基和二甲基亚砜的混合溶液,同时在37°C下搅拌。此外,每1至2分钟向其添加1至2mL MEM培养基共几次,然后向其添加MEM培养基,使总量变为50mL。

[0378] 在离心后,除去上清液。将沉淀的细胞集合体轻柔打散,然后将所述细胞轻柔地悬浮在HAT培养基[增补有次黄嘌呤、胸腺嘧啶核昔和氨基蝶呤的正常培养基]中。将所述得到的悬液在5%CO<sub>2</sub>培养箱中在37°C培养7至14天。

[0379] 在培养后,取出一部分培养上清液,通过杂交瘤选择方法例如下文描述的结合测定法选择与CSPG5反应但不与CSPG5之外的抗原反应的细胞集合体。随后,通过有限稀释法进行克隆,并选择稳定地观察到高抗体滴度的细胞作为产生单克隆抗体的杂交瘤。

#### [0380] (5) 纯化的单克隆抗体的制备

[0381] 将在(4)中获得的产生单克隆抗体的杂交瘤腹膜内注射到已经历姥鲛烷处理[腹膜内给药0.5mL 2,6,10,14-四甲基十五烷(姥鲛烷),然后饲养2周]的8至10周龄的小鼠或裸小鼠中。在10至21天内,所述杂交瘤转变成腹水瘤。

[0382] 从该小鼠收集腹水,然后离心除去固体,然后使用40至50%硫酸铵进行盐析。随后,通过辛酸沉淀法、DEAE-琼脂糖凝胶柱、蛋白A柱或凝胶过滤柱进行纯化,然后收集IgG或IgM级分,由此制备纯化的单克隆抗体。

[0383] 此外,在将所述在(4)中获得的产生单克隆抗体的杂交瘤在增补有10%FBS的RPMI 1640培养基等中进行培养后,通过离心除去上清液,并将残留物悬浮在杂交瘤-SFM培养基中,然后培养3至7天。

[0384] 将所述得到的细胞悬液离心,从所述得到的上清液通过蛋白A柱或蛋白G柱进行纯化,然后收集IgG级分,由此也可以获得纯化的单克隆抗体。注意也可以向所述杂交瘤-SFM培养基添加5%Daigo's GF21。

[0385] 抗体亚类的确定使用亚类分型试剂盒,通过酶免疫测定法来进行。蛋白量的定量确定可以通过Lowry法或从280nm处的吸光度计算来进行。

#### [0386] (6) 抗体的选择

[0387] 抗体的选择如下所示通过使用流式细胞术等测量所述抗体对表达CSPG5的细胞的亲和性来进行。所述表达CSPG5的细胞可以是任何细胞,只要CSPG5被表达在所述细胞表面上即可,并且其实例包含动物细胞、动物细胞系、在(1)中获得的CSPG5强制表达细胞系等。

[0388] 在将所述表达CSPG5的细胞分发到板例如96孔板中之后,将测试物质例如血清、杂交瘤的培养上清液或纯化的抗体分发在其中作为第一抗体,并允许其进行反应。在反应后将所述细胞用包含1至10%BSA的PBS(在后文中被称为BSA-PBS)等充分清洗,然后将作为第二抗体的用荧光试剂等标记的抗免疫球蛋白抗体分发在其中,并允许其进行反应。在用BSA-PBS等充分清洗后,使用流式细胞仪测量标记的抗体的荧光量,由此选择与表达CSPG5的细胞特异性反应的抗体。

[0389] 此外,抗体的选择也可以通过使用下文描述的ELISA或表面等离子体共振测量单克隆抗体对表达CSPG5的细胞、CSPG5蛋白等的亲和性来进行。所述CSPG5蛋白可以是由CSPG5的某些结构域构成的蛋白质或添加有标签例如GST的蛋白质。

[0390] 在ELISA中,在将所述表达CSPG5的细胞或CSPG5蛋白分发到板例如96孔板中之后,将所述孔用BSA-PBS阻断,将测试物质例如血清、杂交瘤的培养上清液或纯化的抗体分发在其中作为第一抗体,并允许其进行反应。随后,在用PBS等充分清洗后,将作为第二抗体的用荧光试剂等标记的抗免疫球蛋白抗体分发在其中,并允许其进行反应。

[0391] 然后,在用PBS等充分清洗后,添加显色溶液。在结束时,用反应终止溶液终止显色反应,并使用微孔板读板器测量每个孔中的吸光度,由此选择与所述表达CSPG5的细胞或CSPG5蛋白特异性反应的抗体。

[0392] 在表面等离子体共振中,通过使用已知的方案,可以通过将抗体固定化在适合的传感器芯片上并使用CSPG5蛋白作为被分析物,来测量与CSPG5结合的抗体的亲和性。

[0393] 利用得到的抗体的亲和性,可以选择对CSPG5蛋白具有所需亲和性的抗体。此外,与CSPG5结合的抗体的亲和性也可以通过将所述CSPG5蛋白固定化在传感器芯片上并使用所述抗体作为被分析物来测量。

[0394] 此外,与本发明的抗体竞争与CSPG5的结合的抗体,可以通过将测试抗体添加到上述使用流式细胞术或ELISA的测定体系中以引起反应来获得。也就是说,通过筛选在添加测试抗体时抑制本发明的抗体与CSPG5的结合的抗体,可以获得与本发明的抗体竞争与CSPG5的氨基酸序列或其构象的结合的抗体。

[0395] 此外,与包含本发明的抗体所结合的表位的表位结合的抗体可以如下获得:通过已知的方法鉴定通过上述筛选方法获得的抗体的表位,产生包含所述鉴定出的表位的合成肽、被制造成模拟所述表位的构象的合成肽等,然后使用其进行免疫接种。

[0396] 此外,结合到与本发明的抗体所结合的表位相同的表位的抗体可以如下获得:鉴定通过上述筛选方法获得的抗体的表位,产生所述鉴定出的表位的部分合成肽、被制造成模拟所述表位的构象的合成肽等,然后使用其进行免疫接种。

[0397] (7) 通过噬菌体展示方法获得抗体

[0398] (7-1) 产生抗体噬菌体文库的方法

[0399] 在本发明中,作为抗体噬菌体文库,可以使用免疫文库、天然文库和合成文库。相应文库的生产方法将在下文描述。

[0400] 对于免疫文库来说,收集源自于以与上文(1)中描述的相同的方式免疫接种的动物或患者的淋巴细胞,并且对于天然文库来说,收集源自于正常动物或健康人类的淋巴细胞,从所述淋巴细胞提取RNA,并通过反转录反应合成cDNA。

[0401] 将使用每种cDNA作为模板通过PCR扩增的抗体基因片段插入到噬菌粒载体中,并用所述噬菌粒载体转化大肠杆菌。当将所述得到的转化体用辅助噬菌体感染时,可以获得所述抗体基因的抗体噬菌体文库。

[0402] 此外,对于合成文库来说,将基因组DNA中的V基因或重建的功能性V基因的CDR用编码适合长度的随机氨基酸序列的寡核苷酸替换,并用其中插入有所述V基因的噬菌粒载体转化大肠杆菌。当将所述得到的转化体用辅助噬菌体感染时,可以获得抗体噬菌体文库。

[0403] 作为所述源自于淋巴细胞的cDNA和抗体噬菌体文库,也可以使用可商购产品。

[0404] 作为所述噬菌粒载体,可以使用pCANTAB 5E (Amersham Pharmacia Biotech, Inc.)、pUC118/pUC119载体 (TaKaRa, Inc.)、pBlueScript II 噬菌粒载体 (Agilent Technologies, Inc.)、pKSTV-02 (Miyazaki等, Biochem. 158(3), 205-215, 2015) 等。

[0405] 作为所述辅助噬菌体,可以使用M13K07辅助噬菌体 (Invitrogen, Inc.)、VCSM13抗干扰辅助噬菌体 (Agilent Technologies, Inc.)、R408抗干扰辅助噬菌体 (Agilent Technologies, Inc.) 等。

[0406] 在所述噬菌体展示中,也可以使用噬菌体载体。存在其中将丝状噬菌体g3p用作被展示分子的肽噬菌体文库 (由New England Biolabs, Inc.等制造)、其中将g7p、g8p或g9p用作被展示分子的方法等。

[0407] 此外,使用T7噬菌体的噬菌体展示也可以使用。作为在T7噬菌体上的展示系统,存在T7 Select载体 (Novagen, Inc.) 等。

[0408] (7-2) 抗体噬菌体克隆的选择

[0409] 从在(7-1)中产生的抗体噬菌体文库选择抗体噬菌体克隆,可以使用下文示出的ELISA方法来进行。

[0410] 将CSPG5固定化在免疫管上,并将所述管用阻断缓冲液阻断。向所述管的每个孔添

加在(7-1)中产生的抗体噬菌体文库，并允许其进行反应。随后，将所述孔清洗，添加荧光标记的抗噬菌体抗体，并允许其反应。随后，将所述孔再次清洗并添加显色溶液。然后，用反应终止溶液终止显色反应，并使用微孔板读板器测量每个孔中的吸光度。通过这种方式选择出与CSPG5结合的抗体噬菌体克隆。

[0411] 2. 遗传重组抗体的生产

[0412] 作为遗传重组抗体的生产实例，下文将描述人类嵌合抗体和人源化抗体的生产方法。遗传重组小鼠抗体、大鼠抗体、兔抗体、仓鼠抗体、骆驼抗体、美洲驼抗体、羊驼抗体和人类抗体、各种不同类型的嵌合抗体、重链抗体等，也可以以相同的方式生产。

[0413] (1) 用于遗传重组抗体的表达载体的构建

[0414] 用于遗传重组抗体的表达载体是其中并入有编码人类抗体的CH和CL的DNA的用于动物细胞的表达载体，并且可以通过将每个所述编码人类抗体的CH和CL的DNA克隆到用于动物细胞的表达载体中来构建。

[0415] 作为人类抗体的恒定区(C区)，可以使用任意人类抗体的CH和CL。例如，使用人类抗体的 $\gamma$ 1亚型的CH和 $\kappa$ 亚型的CL等。作为编码人类抗体的CH或CL的DNA，使用cDNA，但是也可以使用由外显子和内含子构成的染色体DNA。

[0416] 作为所述用于动物细胞的表达载体，可以使用任何载体，只要它可以并入编码人类抗体的C区的基因并表达所述基因即可。例如，使用pAGE107[Cytotechnol., 3, 133 (1990)]、pAGE103[J.Biochem., 101, 1307 (1987)]、pHSG274[Gene, 27, 223 (1984)]、pKCR[Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 78, 1527 (1981)]、pSG1bd2-4[Cytotechnol., 4, 173 (1990)]、pSE1UK1Sed1-3[Cytotechnol., 13, 79 (1993)]等。

[0417] 作为所述用于动物细胞的表达载体中的启动子和增强子，实例是SV40早期启动子[J.Biochem., 101, 1307 (1987)]、莫洛尼鼠白血病病毒LTR[Biochem.Biophys.Res.Commun., 149, 960 (1987)]或免疫球蛋白H链启动子[Cell, 41, 479 (1985)]和增强子[Cell, 33, 717 (1983)]等。

[0418] 作为所述用于遗传重组抗体的表达载体，从用于遗传重组抗体的表达载体构建的容易程度、引入到动物细胞中的容易程度、抗体H链和L链在所述动物细胞中的表达水平的平衡等的观点来看，使用其中抗体H链和L链存在于同一载体上的类型(串联类型)的用于遗传重组抗体的表达载体[J.Immunol.Methods, 167, 271 (1994)]，但也可以使用其中抗体H链和L链存在于分开的载体上的类型。作为串联类型的用于遗传重组抗体的表达载体，使用pKANTEX93(WO 97/10354)、pEE18[Hybridoma, 17, 559 (1998)]等。

[0419] (2) 编码源自于人类之外的动物的抗体的可变区(V区)的cDNA的获得和氨基酸序列的分析

[0420] 编码非人类抗体的VH和VL的cDNA的获取和氨基酸序列的分析可以如下所述来进行。

[0421] (2-1) 当通过杂交瘤方法获得抗体时

[0422] 从产生非人类抗体的杂交瘤细胞提取mRNA并合成cDNA。将所述合成的cDNA各自克隆到载体例如噬菌体或质粒中，由此产生cDNA文库。

[0423] 使用编码非人类抗体的C区结构域或V区结构域的DNA作为探针，从所述文库分离包含编码VH和VL的每种cDNA的重组噬菌体或重组质粒。确定所述重组噬菌体或重组质粒上

的非人类抗体的靶VH或VL的每个完整的核苷酸序列，并从所述核苷酸序列推定VH或VL各自的整体氨基酸序列。

[0424] 作为用于产生生产非人类抗体的杂交瘤细胞的人类之外的动物，使用小鼠、大鼠、仓鼠、兔、美洲驼、骆驼、羊驼等，但也可以使用任何动物，只要它能够产生杂交瘤细胞即可。

[0425] 对于从杂交瘤细胞制备总RNA来说，使用异硫氰酸胍-三氟乙酸铯方法[*Methods in Enzymol.*, 154, 3 (1987)]或试剂盒例如RNeasy试剂盒(由QIAGEN, Inc.制造)等。

[0426] 在从总RNA制备mRNA中，使用固定有寡聚(dT)的纤维素柱方法[《分子克隆实验指南》(Molecular Cloning, A Laboratory Manual)第二版,Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)]或试剂盒例如Oligo-dT30<Super>mRNA纯化(注册商标)试剂盒(由Takara Bio, Inc.制造)等。此外，也可以使用试剂盒例如Fast Track mRNA分离(注册商标)试剂盒(由Invitrogen, Inc.制造)或QuickPrep mRNA纯化(注册商标)试剂盒(由Pharmacia Corporation制造)从杂交瘤细胞制备mRNA。

[0427] 在cDNA的合成和cDNA文库的产生中，使用已知的方法[《分子克隆实验指南》(Molecular Cloning, A Laboratory Manual)第二版,Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989),《分子生物学现代方法》(Current Protocols in Molecular Biology)补充文件1,John Wiley&Sons (1987-1997)]或试剂盒例如用于cDNA合成和质粒克隆的SuperScript质粒系统(由Invitrogen, Inc.制造)或ZAP-cDNA合成(注册商标)试剂盒(由Stratagene Corporation制造)等。

[0428] 在产生cDNA文库时，作为使用从杂交瘤细胞提取的mRNA作为模板合成的cDNA被并入在其中的载体，可以使用任何载体，只要它是能够并入所述cDNA的载体即可。例如，使用ZAP ExPress [Strategies, 5, 58 (1992)]、pBluescript II SK (+) [Nucleic Acids Research, 17, 9494 (1989)]、λZAPII(由Stratagene Corporation制造)、λgt 10、λgt 11 [DNA Cloning:A Practical Approach, I, 49 (1985)]、Lambda BlueMid(由Clontech Laboratories, Inc.制造)、λExCell、pT7T3-18U(由Pharmacia Corporation制造)、pCD2 [Mol. Cell. Biol., 3, 280 (1983)]、pUC18 [Gene, 33, 103 (1985)]等。

[0429] 作为通过噬菌体或质粒载体构建的cDNA文库被引入到其中的大肠杆菌，可以使用任何大肠杆菌，只要它可以引入、表达并维持所述cDNA文库即可。例如，使用XL1-Blue MRF' [Strategies, 5, 81 (1992)]、C600 [Genetics, 39, 440 (1954)]、Y1088、Y1090 [Science, 222, 778 (1983)]、NM522 [J. Mol. Biol., 166, 1 (1983)]、K802 [J. Mol. Biol., 16, 118 (1966)]、JM105 [Gene, 38, 275 (1985)]等。

[0430] 在从所述cDNA文库选择编码非人类抗体的VH或VL的cDNA克隆中，使用利用同位素或荧光标记的探针的菌落杂交法或噬斑杂交法[《分子克隆实验指南》(Molecular Cloning, A Laboratory Manual)第二版,Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)]等。

[0431] 此外，编码VH或VL的cDNA也可以通过制备引物并使用从mRNA合成的cDNA或所述cDNA文库作为模板执行聚合酶链反应(PCR)方法来制备[《分子克隆实验指南》(Molecular Cloning, A Laboratory Manual)第二版,Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989),《分子生物学现代方法》(Current Protocols in Molecular Biology)补充文件1,John Wiley&Sons (1987-1997)]。

[0432] 将选出的cDNA用适合的限制性酶等切割,然后克隆到质粒例如pBluescript SK (-) (由Stratagene Corporation制造)中,并通过常用的核苷酸序列分析方法等确定所述cDNA的核苷酸序列。在核苷酸序列分析方法中,例如在进行反应如双脱氧法 [Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 74, 5463 (1977)]后,使用自动核苷酸序列分析仪例如ABI Prism 3700(由PE Biosystems, Inc.制造)或A.L.F.DN测序仪(由Pharmacia Corporation制造)等。

[0433] (2-2) 当通过噬菌体展示方法获得抗体时

[0434] 使用编码载体区或V区结构域的DNA作为探针,从所述选出的噬菌体克隆的质粒载体确定VH或VL各自的完整核苷酸序列,然后可以从所述核苷酸序列推定VH或VL各自的完整氨基酸序列。

[0435] 在所述杂交瘤方法或噬菌体展示方法中,通过从确定的核苷酸序列推定VH和VL的完整氨基酸序列,并分别与已知抗体的VH和VL的完整氨基酸序列[《免疫学重要蛋白质的序列》(Sequences of Proteins of Immunological Interest), US Dept.Health and Human Services (1991)]进行比较,确认所述得到的cDNA是否编码包含分泌信号序列的抗体的VH和VL的完整氨基酸序列。

[0436] 对于包含分泌信号序列的抗体的VH和VL的完整氨基酸序列来说,通过与已知抗体的VH和VL的完整氨基酸序列[《免疫学重要蛋白质的序列》(Sequences of Proteins of Immunological Interest), US Dept.Health and Human Services (1991)]进行比较,可以推断所述分泌信号序列的长度和N-端氨基酸序列,进而可以知道它们所属的亚组。

[0437] 此外,也可以通过与已知抗体的VH和VL的氨基酸序列[《免疫学重要蛋白质的序列》(Sequences of Proteins of Immunological Interest), US Dept.Health and Human Services (1991)]进行比较,来找出VH和VL的CDR的氨基酸序列。

[0438] 另外,利用得到的VH和VL的完整氨基酸序列,可以例如通过BLAST方法 [J.Mol.Biol., 215, 403 (1990)]等针对任意数据库例如SWISS-PROT或PIR-Protein进行同源性搜索,来确认所述VH和VL的完整氨基酸序列是否是新的。

[0439] (3) 人类嵌合抗体表达载体的构建

[0440] 通过将编码非人类抗体的VH或VL的cDNA分别克隆到在(1)中获得的用于遗传重组抗体的表达载体中分别编码人类抗体的CH或CL的基因的上游,可以构建人类嵌合抗体表达载体。

[0441] 为了将编码非人类抗体的VH或VL的cDNA的3'末端侧连接到人类抗体的CH或CL的5'末端侧,产生经过设计的VH和VL的cDNA,使得连接区的核苷酸序列编码适合的氨基酸并变成适合的限制性酶识别序列。

[0442] 将所述产生的VH和VL的cDNA分别克隆到在(1)中获得的用于遗传重组抗体的表达载体中分别编码人类抗体的CH或CL的基因的上游,使得所述cDNA以适合的形式表达,由此构建了人类嵌合抗体表达载体。

[0443] 此外,使用在两个末端处包含适合的限制性酶识别序列的合成DNA通过PCR方法来扩增分别编码非人类抗体的VH或VL的cDNA,并且也可以将其克隆到在(1)中获得的用于遗传重组抗体的表达载体中。

[0444] (4) 编码人源化抗体的V区的cDNA的构建

[0445] 编码人源化抗体的VH或VL的cDNA可以如下构建。

[0446] 分别选择出用于移植非人类抗体的VH或VL的CDR的氨基酸序列的人类抗体的VH或VL的FR的氨基酸序列。作为待选择的FR的氨基酸序列,可以使用任何氨基酸序列,只要它源自于人类抗体即可。

[0447] 例如,使用在数据库例如蛋白质数据库(Protein Data Bank)中登记的人类抗体的FR的氨基酸序列或人类抗体的FR的每个亚组中共同的氨基酸序列[《免疫学重要蛋白质的序列》(Sequences of Proteins of Immunological Interest),US Dept. Health and Human Services(1991)]等。为了抑制抗体结合活性的降低,选择与原始抗体的VH或VL的FR的氨基酸序列具有尽可能高的同源性(至少60%以上)的FR的氨基酸序列。

[0448] 接下来,将原始抗体的CDR的氨基酸序列分别移植到所选的人类抗体的VH或VL的FR的氨基酸序列中,并分别设计出人源化抗体的VH或VL的氨基酸序列。通过考虑在抗体基因的核苷酸序列中发现的密码子使用频率[《免疫学重要蛋白质的序列》(Sequences of Proteins of Immunological Interest),US Dept. Health and Human Services(1991)]将所述设计的氨基酸序列转变成DNA序列,分别设计出编码人源化抗体的VH或VL的氨基酸序列的DNA序列。

[0449] 在所述设计的DNA序列的基础上,合成具有100个核苷酸左右的长度的几个合成DNA,并使用所述DNA进行PCR反应。在这种情况下,考虑到PCR反应的反应效率和可合成的DNA的长度,优选地为VH和VL中的每一者设计6个合成DNA。

[0450] 此外,通过在位于两个末端处的合成DNA的5'或3'末端处引入适合的限制性酶识别序列,可以容易地将编码人源化抗体的VH或VL的cDNA克隆到在(1)中获得的用于遗传重组抗体的表达载体中。

[0451] 在所述PCR反应后,将扩增产物分别克隆到质粒例如pBluescript SK(-)(由Stratagene Corporation制造)中,以与(2)中所述相同的方式确定核苷酸序列,并获得具有编码所需人源化抗体的VH或VL的氨基酸序列的DNA序列的质粒。

[0452] 或者,也可以使用在所述设计的DNA序列的基础上各自作为单一长链DNA合成的全长VH和全长VL来代替所述PCR扩增产物。此外,通过在所述合成的长链DNA的两个末端处引入适合的限制性酶识别序列,可以容易地将编码人源化抗体的VH或VL的cDNA克隆到在(1)中获得的用于遗传重组抗体的表达载体中。

[0453] (5)人源化抗体的V区氨基酸序列的修饰

[0454] 与原始的非人类抗体相比,仅通过将非人类抗体的VH和VL的CDR移植到人类抗体的VH和VL的FR中而制备的人源化抗体的抗原结合活性降低[BIO/TECHNOLOGY, 9, 266(1991)]。

[0455] 在所述人源化抗体中,通过鉴定人类抗体的VH和VL的FR的氨基酸序列中直接参与抗原结合的氨基酸残基、与CDR的氨基酸残基相互作用的氨基酸残基和维持所述抗体的构象并间接参与抗原结合的氨基酸残基,并将这种氨基酸残基用原始的非人类抗体的氨基酸残基替换,可以提高所述降低的抗原结合活性。

[0456] 为了鉴定FR的这种参与抗原结合活性的氨基酸残基,可以使用X-射线晶体学[J.Mol.Biol., 112, 535(1977)]或计算机建模[Protein Engineering, 7, 1501(1994)]等来建立并分析抗体的构象。此外,通过为每种抗体产生几种类型的变体并通过试错重复地检

查与其抗原结合活性的相关性,可以获得具有所需抗原结合活性的人源化抗体。

[0457] 通过使用用于修饰的合成DNA进行(4)中描述的PCR反应,可以修饰人类抗体的VH和VL的FR的氨基酸序列。对于所述PCR反应后的扩增产物来说,通过(2)中描述的方法确定核苷酸序列以确认所打算的修饰是否已经进行。

[0458] (6) 人源化抗体表达载体的构建

[0459] 通过将编码构建的遗传重组载体的VH或VL的cDNA分别克隆到在(1)中获得的用于遗传重组抗体的表达载体中分别编码人类抗体的CH或CL的基因的上游,可以构建人源化抗体表达载体。

[0460] 例如,通过在构建(4)和(5)中获得的任何人源化抗体的VH或VL时使用的合成DNA中位于两个末端处的合成DNA的5'或3'末端处引入适合的限制性酶识别序列,在(1)中获得的用于遗传重组抗体的表达载体中分别编码人类抗体的CH或CL的基因的上游进行所述克隆,使得所述cDNA以适合的形式表达。

[0461] (7) 遗传重组抗体的瞬时表达

[0462] 通过使用在(3)和(6)中获得的任何遗传重组抗体表达载体或其修饰的表达载体瞬时表达遗传重组抗体,可以高效地评估产生的许多类型的人类嵌合抗体和人源化抗体的抗原结合活性。

[0463] 作为表达载体被引入到其中的宿主细胞,可以使用任何细胞,只要它是能够表达遗传重组抗体的宿主细胞即可,例如使用COS-7细胞[美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection) (ATCC) 编号CRL1651] [Methods in Nucleic Acids Res., CRC Press, 283(1991)]。

[0464] 在将所述表达载体引入到COS-7细胞中时,使用DEAE-葡聚糖方法[Methods in Nucleic Acids Res., CRC Press (1991)]、脂染法[Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 84, 7413 (1987)]等。

[0465] 在所述表达载体引入后,使用酶免疫测定法[《单克隆抗体原理与实践》(Monoclonal Antibodies-Principles and practice)第三版, Academic Press (1996);《抗体实验指南》(Antibodies-A Laboratory Manual), Cold Spring Harbor Laboratory (1988);《单克隆抗体实验手册》(Monoclonal Antibody Experimental Manual), Kodansha scientific books (1987)]等测量培养上清液中遗传重组抗体的表达水平和抗原结合活性。

[0466] (8) 稳定表达遗传重组抗体的转化体的获得和遗传重组抗体的制备

[0467] 稳定表达遗传重组抗体的转化体可以通过将在(3)和(6)中获得的任何遗传重组抗体表达载体引入到适合的宿主细胞中来获得。

[0468] 在所述表达载体向宿主细胞的引入中,使用电穿孔方法[JP-A-H2-257891; Cytotechnology, 3, 133(1990)]等。

[0469] 作为所述遗传重组抗体表达载体被引入到其中的宿主细胞,可以使用任何细胞,只要它是能够表达遗传重组抗体的宿主细胞即可。例如,使用CHO-K1 (ATCC CCL-61)、DUKXB11 (ATCC CCL-9096)、Pro-5 (ATCC CCL-1781)、CHO-S (Life Technologies, 目录号11619)、大鼠骨髓瘤细胞YB2/3HL.P2.G11.16Ag.20 (ATCC No.CRL1662, 也被称为YB2/0)、小鼠骨髓瘤细胞NS0、小鼠骨髓瘤细胞SP2/0-Ag14 (ATCC No.CRL1581)、小鼠P3X63-Ag8.653细

胞(ATCC No.CRL1580)、dhfr缺陷型CHO细胞(CHO/DG44细胞)[Proc.Natl.Acad.Sci.USA,77,4216(1980)]等。

[0470] 此外,也可以使用其中参与糖核苷酸GDP-岩藻糖的细胞内合成的蛋白质例如酶、参与聚糖修饰使得岩藻糖的1位被 $\alpha$ -连接到N-糖昔连接的复合聚糖的还原端处的N-乙酰葡萄糖胺的6位的蛋白质例如酶、参与糖核苷酸GDP-岩藻糖向高尔基体的细胞内转运的蛋白质等的活性被降低或缺失的宿主细胞,例如 $\alpha$ 1,6-岩藻糖基转移酶基因缺陷型CHO细胞(WO 2005/035586和WO 02/31140)、具有获得性凝集素抗性的Lec13[Somatic Cell and Molecular genetics,12,55(1986)]等。

[0471] 在引入所述表达载体后,通过将所述转化体在包含药物例如G418硫酸盐(在后文中被称为G418)的用于动物细胞培养的培养基中培养,来选择稳定表达遗传重组抗体的转化体(JP-A-H2-257891)。

[0472] 作为用于动物细胞培养的培养基,使用RPMI 1640培养基(由Invitrogen, Inc.制造)、GIT培养基(由Nippon Pharmaceutical Co., Ltd.制造)、EX-CELL 301培养基(由JRH Biosciences, Inc.制造)、IMDM培养基(由Invitrogen, Inc.制造)或杂交瘤-SFM(由Invitrogen, Inc.制造)或向任何这些培养基添加任何各种不同的添加物例如FBS的培养基等。

[0473] 通过将所述得到的转化体在培养基中进行培养,使遗传重组抗体表达并积累在培养上清液中。所述培养上清液中遗传重组抗体的表达水平和抗原结合活性可以通过ELISA方法等来测量。此外,由所述转化体产生的遗传重组抗体的表达水平可以使用dhfr基因扩增系统(JP-A-H2-257891)等来提高。

[0474] 使用蛋白A柱从所述转化体的培养上清液纯化所述遗传重组抗体[《单克隆抗体原理与实践》(Monoclonal Antibodies-Principles and practice)第三版,Academic Press(1996);《抗体实验指南》(Antibodies-ALaboratory Manual),Cold Spring Harbor Laboratory(1988)]。此外,也可以将用于纯化蛋白质的方法例如凝胶过滤、离子交换层析和超滤进行组合。

[0475] 纯化的遗传重组抗体的H链、L链或整个抗体分子的分子量可以使用聚丙烯酰胺凝胶电泳[Nature,227,680(1970)]或Western印迹[《单克隆抗体原理与实践》(Monoclonal Antibodies-Principles and practice)第三版,Academic Press(1996);《抗体实验指南》(Antibodies-ALaboratory Manual),Cold Spring Harbor Laboratory(1988)]等来测量。

[0476] (9)产生抗体片段的方法

[0477] 本发明的抗体片段可以按照已知方法来产生。本发明的抗体片段可以通过将按照上文(1)至(8)中描述的方法生产的抗体用酶等切割来产生,或者可以在制备编码所需抗体片段的核苷酸序列后通过遗传工程技术来产生。

[0478] (10)产生单价抗体的方法

[0479] 在本发明中,单价抗体可以通过在WO 2014/054804、WO 2011/090754、WO 2007/048037、WO 2012/116927等中描述的方法或另一种方法来产生。

[0480] (11)产生双特异性抗体或多特异性抗体的方法

[0481] 本发明的双特异性抗体或多特异性抗体可以按照上述用于产生抗体的方法来产生。例如,所述双特异性抗体或多特异性抗体可以使用在WO 2009/131239、WO 2014/

054804、WO 01/077342、美国专利申请公布号2007/0071675、WO 2007/024715、Wu等[Nature Biotechnology, 2007, 25 (11), pp. 1290-1297]、Labrijn等[PNAS 2013, vol. 110, no. 13, pp. 5145-5150]、Jong等[<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1002344>]、Kontermann等[mAbs 2012, vol. 4, issue 2, pp. 182-197]、Spiess等[Molecular Immunology 67 (2015) 95-106]、Ridgway等[Protein engineering, 1996 vol. 9 no. 7 pp. 617-621]、WO 2009/080251、WO 2010/151792、WO 2014/033074等中描述的方法来产生。

[0482] 例如,用于其中与CSPG5结合的scFv被融合到与脑中存在的抗原结合的IgG抗体的C-端的双特异性抗体的表达载体可以通过下述方法来产生,并且所述双特异性抗体可以按照上述用于表达抗体的方法和用于纯化抗体的方法来生产。此外,其中抗体片段被融合到抗体的C-端的双特异性抗体也可以以相同的方式生产。

[0483] 使用与脑中存在的抗原结合的IgG抗体的重链恒定区的合成基因作为模板,通过PCR方法扩增CH1-铰链-CH2-CH3-连接物区的基因片段。随后,使用与CSPG5结合的抗体的核苷酸序列作为模板,使用PCR方法等制备其中抗体的VH和VL用适合的连接物相连的scFv区的核苷酸序列。将所述两个区域通过PCR方法等相连,并将得到的基因片段插入到适合的载体例如pCI载体中。

[0484] 此外,使用适合的模板通过PCR方法分别扩增与脑中存在的抗原结合的IgG抗体的轻链结构域(VL和CL)的基因片段和所述抗体的VH的基因片段,并将其插入到所述载体的适合位置处。

[0485] 此外,本发明的双特异性抗体也可以通过用化学方法将包含抗原结合位点的抗体片段与IgG抗体相连来产生。

[0486] 3. 抗体或其抗体片段的活性的评估

[0487] 在本发明中,抗体或其抗体片段的活性可以如下进行评估。

[0488] (1) 与CSPG5的结合活性

[0489] 本发明的抗体或其抗体片段与CSPG5的结合活性使用在上文1- (6) 中描述的流式细胞术、ELISA或表面等离子体共振检测等来测量。另外,所述结合活性也可以使用荧光抗体方法[Cancer Immunol. Immunother., 36, 373 (1993)]来测量。

[0490] 当本发明的抗体或其抗体片段是与CSPG5结合的单价抗体时,所述单价抗体与CSPG5的结合活性也可以以相同的方式测量。当本发明的抗体或其抗体片段是与CSPG5和脑中存在的抗原结合的双特异性抗体或多特异性抗体时,所述双特异性抗体或多特异性抗体与CSPG5或脑中存在的抗原的结合活性也可以以相同的方式测量。

[0491] (2) 在脑中积累的性质的测量方法

[0492] 本发明的抗体或其抗体片段在脑中积累的性质可以通过下述方法来测量。

[0493] 实例是下述方法:在将所述抗体或其抗体片段给药到动物后几天收集脑组织,将所述脑组织匀浆并离心,然后测量得到的上清液中所述抗体或其抗体片段的浓度,并计算每单位脑重量的所述抗体或其抗体片段的量的方法;使用收集的脑组织,通过已知的免疫学方法检测所述抗体或其抗体片段的存在方法;等等。此外,实例是将用可药用标记物标记的所述抗体或其抗体片段给药到动物,并通过体内成像系统随时间检测所述抗体或其抗体片段存在的方法等。

[0494] 作为用于所述在脑中积累的性质的动物,可以根据本发明的抗体或其抗体片段的

用途来选择适合的动物。

[0495] (3) 抗体依赖性细胞毒性活性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性活性(CDC)的测量方法

[0496] 本发明的抗体或其抗体片段对表达人类CSPG5的细胞或表达CSPG5和脑中存在的抗原的细胞的CDC或ADCC，可以通过已知的测量方法来测量[Cancer Immunol. Immunother., 36, 373 (1993);《免疫学现代方法》(Current protocols in Immunology)第7章,《人类中的免疫学研究》(Immunologic studies in humans),John E, Coligan等主编,John Wiley&Sons, Inc., (1993)]。

[0497] 4. 控制抗体或抗体片段的效应物活性的方法

[0498] 作为控制本发明的抗体或其抗体片段的效应物活性的方法,已知的有:控制与N-连接的复合聚糖的还原端处存在的N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)结合的 $\alpha$ 1,6-岩藻糖(也被称为核心岩藻糖)的量的方法,所述N-连接的复合聚糖与所述抗体或其包含Fc的抗体片段的Fc区中第297位处的天冬酰胺(Asn)结合(WO 2005/035586、WO 2002/31140、WO 00/61739);通过修饰所述抗体或其抗体片段的Fc区中的氨基酸残基而进行控制的方法;等等。本发明的抗体或其抗体片段的效应物活性可以使用所述方法中的任一者来控制。

[0499] 所述效应物活性是指通过抗体或其抗体片段的Fc区引起的抗体依赖性活性,并且已知的有ADCC、CDC、由吞噬细胞例如巨噬细胞或树突状细胞引起的抗体依赖性细胞吞噬作用(ADP)等。

[0500] 作为效应物活性的测量方法,例如将靶细胞、作为效应物的人类外周血单核细胞(PBMC)和靶细胞特异性抗体或其抗体片段混合,然后温育约4小时,随后可以测量释放出的乳酸脱氢酶(LDH)作为细胞毒性的指标。另外,效应物活性也可以通过 $^{51}\text{Cr}$ 释放法、流式细胞术法等来测量。

[0501] 抗体或包含Fc的抗体片段的效应物活性可以通过控制抗体的Fc的N-连接的复合聚糖中核心岩藻糖的含量来提高或降低。作为用于降低与结合到抗体或其抗体片段的Fc上的N-连接的复合聚糖结合的岩藻糖的含量的方法,可以通过使用 $\alpha$ 1,6-岩藻糖基转移酶基因缺陷的CHO细胞表达抗体或其抗体片段,来获得未结合岩藻糖的抗体或其抗体片段。所述未结合岩藻糖的抗体或其抗体片段具有高的ADCC。

[0502] 另一方面,作为用于提高与结合到抗体或其抗体片段的Fc上的N-连接的复合聚糖结合的岩藻糖的含量的方法,可以通过使用引入有 $\alpha$ 1,6-岩藻糖基转移酶基因的宿主细胞表达抗体或其抗体片段,来获得结合有岩藻糖的抗体或其抗体片段。所述结合有岩藻糖的抗体或其抗体片段与未结合岩藻糖的抗体或其抗体片段相比具有更低的ADCC。

[0503] 此外,通过修饰所述抗体或其抗体片段的Fc区中的氨基酸序列,可以提高或降低ADCC或CDC。例如,使用在美国专利申请公布号2007/0148165中描述的Fc区的氨基酸序列,可以提高所述抗体或其抗体片段的CDC。

[0504] 另外,通过进行美国专利号6,737,056、美国专利号7,297,775或美国专利号7,317,091中描述的氨基酸修饰,可以提高或降低ADCC或CDC。

[0505] 此外,本发明的抗体或其抗体片段还包含通过控制与Fc受体的反应性来控制在血液中的半衰期的抗体或其抗体片段,所述控制例如依照上述抗体或其抗体片段中包含的恒定区中的氨基酸修饰或聚糖修饰,通过在JP-A-2013-165716、JP-A-2012-021004等中描述

的氨基酸修饰来实现。

[0506] 此外,通过将上述方法组合并用于一种抗体或其抗体片段,可以获得效应物活性或在血液中的半衰期受控的抗体或其抗体片段。

[0507] 5. 使用本发明的抗体或其抗体片段治疗疾病的方法

[0508] 本发明的抗体或其抗体片段可用于治疗在脑中表达CSPG5的动物的脑部疾病。

[0509] 所述脑部疾病的实例包含阿兹海默氏病、阿兹海默氏病的前驱期、亨廷顿氏病、帕金森氏病、脑肿瘤、多发性硬化症、肌营养不良症、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、多系统萎缩症、进行性核上性麻痹、黑质纹状体变性、橄榄体脑桥小脑萎缩、脊髓延髓性肌肉萎缩、脊髓小脑变性、脑血管障碍、癫痫、偏头痛、多动症、克雅病、皮质基底节变性、溶酶体贮积病、抑郁症、肌张力障碍等。

[0510] 可以使用本发明的抗体或其抗体片段治疗的脑部疾病根据本发明的抗体或其抗体片段所结合的抗原、在本发明的融合抗体或其融合抗体片段中修饰所述抗体或其抗体片段的分子的类型等而有所不同。

[0511] 包含本发明的抗体或其抗体片段的治疗剂可以是只包含所述抗体或其抗体片段作为活性成分的治疗剂,但通常,所述治疗剂作为使用制药学技术领域中已知的方法通过与一种或多种可药用载体混合而生产的药物制剂提供。

[0512] 给药途径的实例包含口服给药或肠胃外给药例如口内、气道内、直肠内、皮下、肌肉内、脑室内、腹膜内给药、真皮内给药、鼻内给药、鞘内给药或静脉内给药。剂型的实例包含喷雾剂、胶囊、片剂、粉剂、颗粒剂、糖浆、乳液、栓剂、注射剂、软膏、胶带等。

[0513] 适合于口服给药的制剂的实例包含乳液、糖浆、胶囊、片剂、粉剂、颗粒剂等。

[0514] 液体制剂例如乳液或糖浆使用水、糖类例如蔗糖、山梨糖醇或果糖、二醇类例如聚乙二醇或丙二醇、油类例如芝麻油、橄榄油或大豆油、防腐剂例如对羟基苯甲酸酯、调味剂例如草莓调味剂或胡椒薄荷等作为添加剂来生产。

[0515] 胶囊、片剂、粉剂、颗粒剂等使用赋形剂例如乳糖、葡萄糖、蔗糖或甘露糖醇、崩解剂例如淀粉或藻酸钠、润滑剂例如硬脂酸镁或滑石、粘合剂例如聚乙烯醇、羟丙基纤维素或明胶、表面活性剂例如脂肪酸酯、增塑剂例如甘油等作为添加剂来生产。

[0516] 适合于肠胃外给药的制剂的实例包含注射剂、栓剂、喷雾剂等。注射剂使用由盐溶液、葡萄糖溶液或两种溶液的混合物等构成的载体来生产。栓剂使用载体例如可可脂、氢化脂肪或羧酸来生产。

[0517] 喷雾剂使用不刺激接受者的颊或气道粘膜并且将本发明的抗体或其抗体片段分散为细小粒子以便促进其吸收的载体等来生产。作为所述载体,使用例如乳糖、甘油等。此外,喷雾剂也可以作为气溶胶或干粉生产。此外,作为适合于口服给药的制剂的添加剂而示例的组分,也可以添加到上述肠胃外制剂中。

[0518] 6. 使用本发明的抗体或其抗体片段检测或测量脑中存在的抗原的方法或诊断疾病的方法

[0519] 通过使用本发明的抗体或其抗体片段,可以检测或测量CSPG5或CSPG5和脑中存在的抗原。此外,通过检测或测量CSPG5或CSPG5和脑中存在的抗原,可以诊断在脑中表达CSPG5的动物的脑部疾病。

[0520] 所述脑部疾病的实例包含阿兹海默氏病、阿兹海默氏病的前驱期、亨廷顿氏病、帕

金森氏病、脑肿瘤、多发性硬化症、肌营养不良症、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、多系统萎缩症、进行性核上性麻痹、黑质纹状体变性、橄榄体脑桥小脑萎缩、脊髓延髓性肌肉萎缩、脊髓小脑变性、脑血管障碍、癫痫、偏头痛、多动症、克雅病、皮质基底节变性、溶酶体贮积病、抑郁症、肌张力障碍等，然而，可以使用本发明的抗体或其抗体片段诊断的脑部疾病根据本发明的抗体或其抗体片段所结合的抗原、在本发明的融合抗体或其融合抗体片段中修饰所述抗体或其抗体片段的分子的类型等而有所不同。

[0521] 在脑中表达CSPG5的动物的脑部疾病，可以例如通过使用免疫学方法检测或测量在患者或患病动物的脑中存在的CSPG5来诊断。此外，所述脑部疾病可以通过使用免疫学方法例如流式细胞术检测在患者或患病动物的脑中的细胞中表达或存在的CSPG5来诊断。

[0522] 当使用与CSPG5结合的单价抗体作为本发明的抗体或其抗体片段时，脑中的CSPG5可以以与上述相同的方式来测量。当使用与CSPG5和脑中存在的抗原结合的双特异性抗体或多特异性抗体作为本发明的抗体或其抗体片段时，脑中的CSPG5或脑中存在的抗原可以以与上述相同的方式来检测或测量。

[0523] 所述免疫学方法是使用标记的抗原或抗体等检测或测量抗体量或抗原量的方法。例如，使用放射活性物质标记的免疫抗体法、酶免疫测定法、荧光免疫测定法、发光免疫测定法、Western印迹法、物理化学方法等。

[0524] 在所述放射活性物质标记的免疫抗体法中，例如允许本发明的抗体或其抗体片段与抗原或表达抗原的细胞等进行反应，然后进一步允许经历放射性标记的抗免疫球蛋白抗体或其抗体片段与其反应，然后使用闪烁计数器等进行测量。

[0525] 在所述酶免疫测定法中，例如允许本发明的抗体或其抗体片段与抗原或表达抗原的细胞等进行反应，然后进一步允许经历酶等的标记的抗免疫球蛋白抗体或其抗体片段与其反应，然后添加底物并使用吸收光度计测量反应溶液的吸光度。例如，使用夹心ELISA法等。作为在酶免疫测定法中使用的标记物质，可以使用已知的[Enzyme Immunoassay Method, Igaku-Shoin Ltd. (1987)]酶标记物。

[0526] 例如，使用碱性磷酸酶标记物、过氧化物酶标记物、萤光素酶标记物、生物素标记物等。所述夹心ELISA法是在将抗体结合到固相后，捕获待检测或测量的抗原，然后允许第二抗体与所述被捕获的抗原反应的方法。

[0527] 在所述ELISA方法中，制备识别需要被检测或测量的抗原并具有不同抗原识别位点的两种类型的抗体，其中第一抗体被事先吸附在板（例如96孔板）上，接下来将第二抗体预先用荧光物质例如FITC、酶例如过氧化物酶或生物素等标记。

[0528] 允许从活生物体分离的细胞或其匀浆液、组织或其匀浆液、细胞培养上清液、血清、胸腔积液、腹水、眼内液等与吸附有所述第一抗体的板反应，然后允许所述第二抗体反应，随后根据标记物质进行检测反应。从通过将已知浓度的抗原连续稀释而制作的校准曲线来计算测试样品中的抗原浓度。

[0529] 作为在夹心ELISA法中使用的抗体，可以使用多克隆抗体或单克隆抗体中的任一者。此外，可以使用抗体片段例如Fab、Fab' 或F(ab)<sub>2</sub>代替所述抗体。在夹心ELISA法中使用的两种类型的抗体的组合，可以是识别不同表位的单克隆抗体或其抗体片段的组合，也可以是多克隆抗体与单克隆抗体或其抗体片段的组合。

[0530] 在所述荧光免疫测定法中，通过文献中描述的方法[《单克隆抗体原理与实践》

(Monoclonal Antibodies-Principles and practice)第三版,Academic Press(1996);《单克隆抗体实验手册》(Manual for monoclonal antibody experiments),Kodansha scientific books(1987)]等进行测量。作为在荧光免疫测定法中使用的标记物质,可以使用已知的[《荧光抗体方法》(Fluorescent Antibody Method),Soft Science, Inc.(1983)]荧光标记物。例如,使用FITC、RITC等。

[0531] 在所述发光免疫测定法中,通过文献中描述的方法[《生物发光和化学发光》(Bioluminescence and Chemiluminescence),Clinical Test 42,Hirokawa-Shoten Ltd.(1998)]等进行测量。作为在发光免疫测定法中使用的标记物质,实例是已知的发光标记物,并且使用吖啶酯、洛粉碱等。

[0532] 在所述Western印迹法中,在通过SDS(十二烷基硫酸钠)-PAGE(聚丙烯酰胺凝胶)[《抗体实验指南》(Antibodies-A Laboratory Manua),Cold Spring Harbor Laboratory(1988)]将抗原、表达抗原的细胞等分级后,将凝胶转印到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜或硝酸纤维素膜上,允许识别所述抗原的抗体或其抗体片段与所述膜反应,并进一步允许已经历荧光物质例如FITC标记、酶例如过氧化物酶标记、生物素标记等的抗小鼠IgG抗体或结合片段与其进行反应,然后将所述标记物可视化,由此进行测量。实例在下文示出。

[0533] 将表达具有CSPG5的氨基酸序列的多肽的细胞或组织裂解,在还原条件下通过SDS-PAGE方法对每道0.1至30 $\mu$ g的蛋白量进行电泳。将所述电泳后的蛋白质转移到PVDF膜并允许与BSA-PBS在室温下反应30分钟,以进行阻断操作。

[0534] 此时,允许本发明的抗体或其抗体片段进行反应,将所述膜用包含0.05至0.1%聚氧乙烯失水山梨糖醇单月桂酸酯(Tween 20)的PBS(在后文中被称为Tween-PBS)清洗并允许其与过氧化物酶标记的山羊抗小鼠IgG抗体在室温反应2小时。

[0535] 通过用Tween-PBS清洗并使用ECL Western印迹检测试剂(由Amersham, Inc.制造)等检测结合有本发明的抗体或其抗体片段的条带,检测到具有CSPG5的氨基酸序列的多肽。

[0536] 作为利用Western印迹的检测中使用的抗体或其抗体片段,使用能够与不保留天然构象的多肽结合的抗体或其抗体片段。

[0537] 物理化学方法例如通过使作为抗原的CSPG5与本发明的抗体或其抗体片段结合以形成聚集体并检测所述聚集体来进行。作为另一种物理化学方法,还可以使用毛细管法、一维免疫扩散法、免疫比浊法、胶乳免疫比浊法[《临床检查方法提要》(Outline of Clinical Examination Method),KANEHARA&Co., LTD.(1998)]等。

[0538] 在所述胶乳免疫比浊法中,当使用粒径为约0.1-1 $\mu$ m的用抗体或抗原致敏的聚苯乙烯胶乳等载体来引起与相应的抗原或抗体的抗原-抗体反应时,反应溶液中的散射光增加,透射光减少。通过以吸光度或积分球浊度的形式检测这种变化,来测量测试样品中的抗原浓度等。

[0539] 对于表达CSPG5的细胞的检测或测量来说,可以使用已知的免疫学检测方法,但具体来说,优选地使用免疫沉淀法、免疫细胞化学染色法、免疫组织化学染色法、荧光抗体染色法等。

[0540] 在所述免疫沉淀法中,在允许表达CSPG5的细胞等与本发明的抗体或其抗体片段反应后,向其添加与免疫球蛋白具有特异性结合活性的载体例如蛋白G-琼脂糖凝胶来沉淀抗原-抗体复合物。或者,所述方法也可以通过下述方法来进行。

[0541] 将上述本发明的抗体或其抗体片段固定化到用于ELISA的96孔板上,然后用BSA-PBS阻断。当所述抗体处于例如未纯化状态下例如是杂交瘤培养上清液时,将抗小鼠免疫球蛋白抗体、抗大鼠免疫球蛋白抗体、蛋白A、蛋白G等预先固定化在用于ELISA的96孔板上,然后用BSA-PBS阻断,然后分发所述杂交瘤培养上清液并进行结合。

[0542] 接下来,舍弃BSA-PBS,将板用PBS充分清洗,然后允许表达人类CAMD3的细胞或组织的裂解液与其进行反应。从充分清洗后的板用SDS-PAGE用样品缓冲液提取免疫沉淀物,然后通过上述Western印迹法进行检测。

[0543] 所述免疫细胞染色法或免疫组织化学染色法是包含下述步骤的方法:在某些情况下将表达抗原的细胞或组织等用表面活性剂或甲醇等处理,以增加所述抗体的透过性,然后允许其与本发明的抗体反应,并进一步允许其与用FITC等荧光标记、用酶例如过氧化物酶标记或用生物素标记等的抗免疫球蛋白抗体或其结合片段进行反应,然后将所述标记物可视化,然后用显微镜观察。

[0544] 此外,检测也可以通过荧光抗体染色法进行,其中允许荧光标记的抗体与细胞反应并使用流式细胞仪进行分析[《单克隆抗体原理与实践》(Monoclonal Antibodies-Principles and practice) 第三版, Academic Press (1996);《单克隆抗体实验手册》(Monoclonal Antibody Experimental Manual), Kodansha scientific books (1987)]。具体来说,本发明的抗体或其抗体片段能够利用荧光抗体染色法检测表达保留天然构象的检测靶的细胞。

[0545] 此外,当在荧光抗体染色法中使用FMAT 8100HTS系统(由Applied Biosystems, Inc. 制造)等时,可以在不将形成的抗体-抗原复合物与不参与所述抗体-抗原复合物形成的游离抗体或抗原分离的情况下测量抗原量或抗体量。

[0546] 在下文中将利用实施例更具体地描述本发明,然而,本发明不限于下述实施例。

## 实施例

[0547] [实施例1]抗CSPG5抗体的获得

[0548] (1)利用人类抗体噬菌体文库获得抗体

[0549] 通过PCR从源自于人类PBMC的cDNA扩增VH基因片段和VL基因片段。将所述VH基因片段和VL基因片段分别插入到噬菌粒载体pCANTAB 5E(由Amersham Pharmacia Biotech, Inc. 制造)中,并通过转化大肠杆菌TG1(由Lucigen Corporation制造)获得质粒。将所述得到的质粒用M13K07辅助噬菌体(由Invitrogen, Inc. 制造)感染,由此获得VH基因和VL基因的人类抗体M13噬菌体文库。

[0550] 此外,以相同方式产生了在CDR3中引入了随机突变的合成的人类抗体M13噬菌体文库。

[0551] 利用所述人类抗体M13噬菌体文库,使用下述噬菌体展示方法获得抗CSPG5单克隆抗体。将下文描述的实施例4的人类CSPG5-FLAG\_Fc或小鼠CSPG5-FLAG\_Fc固定化在MAXISORP STARTUBE(由NUNC, Inc. 制造)上,然后使用SuperBlock阻断缓冲液(由Thermo Fisher Scientific, Inc. 制造)阻断。

[0552] 允许所述人类抗体M13噬菌体文库与所述管在室温下反应1小时,并使用PBS或包含0.1% Tween 20的PBS(在后文中被称为PBS-T)进行清洗,随后将噬菌体用0.1mol/L甘氨

酸-盐酸缓冲液(Gly-HCl)(pH 2.2)洗脱。通过添加三羟甲基氨基甲烷-盐酸缓冲液(Tris-HCl)(pH 8.5)将所述洗脱液中和。用所述洗脱的噬菌体感染TG1感受态细胞，并扩增所述噬菌体。随后，允许所述噬菌体再次与固定化在MAXISORP STARTUBE上的人类CSPG5-FLAG\_Fc或小鼠CSPG5-FLAG\_Fc进行反应，然后清洗并洗脱。

[0553] 重复这个程序以浓缩展示与人类CSPG5-FLAG\_Fc和小鼠CSPG5-FLAG\_Fc特异性结合的scFv的噬菌体。将所述浓缩的噬菌体单克隆化，并通过ELISA选出对人类CSPG5-FLAG\_Fc和小鼠CSPG5-FLAG\_Fc具有亲和性的克隆。

[0554] 在所述ELISA中，将人类CSPG5-FLAG\_Fc和小鼠CSPG5-FLAG\_Fc固定化在MAXISORP(由NUNC, Inc. 制造)上，然后使用SuperBlock阻断缓冲液(由Thermo Fisher Scientific, Inc. 制造)阻断。作为阴性对照，也制备了其上固定有Fc的板。

[0555] 向每个孔添加各个噬菌体克隆，允许其在室温反应30分钟，然后将每个孔用PBS-T清洗。随后，向每个孔添加用包含10% Block Ace(由Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd. 制造)的PBS-T稀释用辣根过氧化物酶标记的抗M13抗体(由GE Healthcare, Inc. 制造)而获得的溶液，并在室温下温育30分钟。在将所述微孔板用PBS-T清洗3次后，向其添加3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)产色底物溶液(由DAKO, Inc. 制造)，然后在室温下温育。通过向每个孔添加0.5mol/L硫酸来终止所述显色反应，并使用微孔板读板器测量450nm波长处的吸光度(参比波长：570nm)。

[0556] 对结合到人类CSPG5-FLAG\_Fc和小鼠CSPG5-FLAG\_Fc的克隆进行序列分析，并获得下述15种的克隆作为抗CSPG5抗体噬菌粒载体：pCANTAB\_CSPG5115, pCANTAB\_CSPG5120, pCANTAB\_CSPG5168, pCANTAB\_CSPG5201, pCANTAB\_CSPG5202, pCANTAB\_CSPG5205, pCANTAB\_CSPG5206, pCANTAB\_CSPG5207, pCANTAB\_CSPG5208, pCANTAB\_CSPG5214, pCANTAB\_CSPG5219, pCANTAB\_CSPG5222, pCANTAB\_CSPG5227, pCANTAB\_CSPG5230和pCANTAB\_CSPG5234。

[0557] 编码各种不同类型的抗CSPG5抗体的VH和VL的核苷酸序列和从所述核苷酸序列推定的氨基酸序列示出在表1中。

[表 1]

### [0559] [实施例2]抗体的生产

[0560] (1) CSPG5 scFv-hG4PE(R409K)表达载体的构建

[0561] 构建了用于生产scFv-Fc抗体的表达载体,在所述抗体中每个抗CSPG5 scFv抗体被连接到包含根据EU编号S228P、L235E和R409K的氨基酸残基替换的人类IgG4抗体(在后文中有时被简称为“IgG4变体”的Fc区)。

[0562] 使用噬菌粒载体pCANTAB\_CSPG5115作为模板,通过PCR扩增了scFv区的基因片段。使用重链恒定区的合成基因作为模板,通过PCR扩增了铰链-CH2-CH3区的基因片段。将所述得到的基因片段插入到pCI载体(由Promega, Inc. 制造)中,由此产生pCI\_CSPG5115scFv-hG4PE(R409K)载体。

[0563] 以相同的方式产生其中插入有表1中示出的各种不同类型的抗CSPG5抗体中的每一者的scFv区的基因片段的抗体表达载体,并分别命名为pCI\_CSPG5120 scFv-hG4PE(R409K)载体、pCI\_CSPG5168 scFv-hG4PE(R409K)载体、pCI\_CSPG5201 scFv-hG4PE(R409K)载体、pCI\_CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)载体、pCI\_CSPG5205 scFv-hG4PE(R409K)载体、pCI\_CSPG5206 scFv-hG4PE(R409K)载体、pCI\_CSPG5207 scFv-hG4PE(R409K)载体、pCI\_CSPG5208 scFv-hG4PE(R409K)载体、pCI\_CSPG5214 scFv-hG4PE(R409K)载体、pCI\_CSPG5219 scFv-hG4PE(R409K)载体、pCI\_CSPG5222 scFv-hG4PE(R409K)载体、pCI\_CSPG5227 scFv-hG4PE(R409K)载体、pCI\_CSPG5230 scFv-hG4PE(R409K)载体和pCI\_CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)载体。

[0564] (2) pCI\_CSPG5202-hKG4PE(R409K)载体和pCI\_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv载体的构建

[0565] 构建了用于生产其中抗CSPG5202 scFv抗体的抗体可变区被分别连接到人类IgG4变体的CL和CH区的抗CSPG5202-IgG4抗体和其中两个抗CSPG5202 scFv抗体被连接到抗AVM-IgG4抗体的C-端一侧的抗AVM-IgG4-CSPG5 dscFv抗体的表达载体。使用噬菌粒载体pCANTAB\_CSPG5202作为模板,通过PCR扩增了VL和VH的基因片段。使用合成基因作为模板,通过PCR扩增了CL和CH的基因片段。将所述得到的基因片段插入到pCI载体(由Promega, Inc. 制造)中,由此产生了pCI\_CSPG5202-hKG4PE(R409K)载体。

[0566] 使用抗AVM抗体的可变区作为模板,通过PCR扩增了VL和VH的基因片段,使用噬菌粒载体pCANTAB\_CSPG5202作为模板,通过PCR扩增了CSPG5202的scFV区的基因片段,并使用合成基因作为模板,通过PCR扩增了CL和CH1-铰链-CH2-CH3-连接物区的基因片段。

[0567] 将所述得到的基因片段插入到pCI载体(由Promega, Inc. 制造)中,由此产生了pCI\_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv载体。所述抗体表达载体的名称、编码所述轻链或重链的核苷酸序列以及从所述核苷酸序列推定的氨基酸序列示出在表2中。

[0568] [表2]

	pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)	pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv
	SEQ ID NO: 151	SEQ ID NO: 155
[0569]	SEQ ID NO: 152	SEQ ID NO: 156
	SEQ ID NO: 153	SEQ ID NO: 157
	SEQ ID NO: 154	SEQ ID NO: 158

[0570] (3) 抗阿维菌素抗体表达载体和pCI\_AVM-hLG4PE(R409K)\_AVMscFv5载体的构建

[0571] 产生了嵌合抗阿维菌素(AVM)抗体作为阴性对照抗体。将SD大鼠用AVM免疫接种，并通过常规方法建立产抗AVM抗体的杂交瘤。使用源自于所述杂交瘤的可变区作为模板，通过PCR扩增了VL和VH区的基因片段。将编码人类IgG的λ链恒定区的合成的核苷酸序列和所述扩增的可变区插入到N5KG4PE载体(在WO 2002/088186中描述)中，由此产生表达载体N5LG4PE\_AVM。

[0572] 使用合成基因作为模板，通过PCR扩增了CL和CH1-铰链-CH2-CH3-连接物区的基因片段。此外，使用N5LG4PE\_AVM作为模板，通过PCR扩增了AVM的VH区和VL区的基因片段。将所述得到的基因片段插入到pCI载体(由Promega, Inc.制造)中，由此产生了pCI\_AVM-hLG4PE(R409K)-AVMscFv5载体。

[0573] (4) 抗体的制备

[0574] 使用Expi293(商标)表达系统(由Thermo Fisher Scientific, Inc.制造)，将抗体表达质粒载体引入到Expi293F细胞(由Thermo Fisher Scientific, Inc.制造)中，并对所述细胞进行培养，以在瞬时表达系统中表达所述抗体。在所述载体引入后3至4天收集培养上清液，并通过孔径为0.22μm的膜滤器(由Merck Millipore Corporation制造)进行过滤。使用蛋白A树脂(MabSelect SuRe，由GE Healthcare Biosciences, Inc.制造)对该培养上清液中的抗体蛋白进行亲和纯化。使用磷酸盐缓冲液作为洗脱液。将吸附在蛋白A上的蛋白质用20mmol/L柠檬酸钠和50mmol/L NaCl缓冲液(pH 3.4)洗脱，并收集在包含1mol/LTris-HCl(pH 8.0)的管中。随后，通过使用Amicon Ultra(由Merck Millipore Corporation制造)的超滤和NAP柱(由GE Healthcare Biosciences, Inc.制造)，将所述洗脱液中的溶剂用PBS替换。将所述得到的溶液通过孔径为0.22μm的膜滤器(由Merck Millipore Corporation制造)过滤除菌。测量所述抗体溶液在280nm处的吸光度，并计算纯化的抗体的浓度。

[0575] 通过表达在实施例2(1)中产生的载体而获得的抗CSPG5 scFv-Fc抗体分别被命名为CSPG5115 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5120 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5168 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5201 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5205 scFv-

hG4PE (R409K)、CSPG5206 scFv-hG4PE (R409K)、CSPG5207 scFv-hG4PE (R409K)、CSPG5208 scFv-hG4PE (R409K)、CSPG5214 scFv-hG4PE (R409K)、CSPG5219 scFv-hG4PE (R409K)、CSPG5222 scFv-hG4PE (R409K)、CSPG5227 scFv-hG4PE (R409K)、CSPG5230 scFv-hG4PE (R409K) 和CSPG5234 scFv-hG4PE (R409K)。

[0576] 通过表达在实施例2(2)中产生的pCI\_CSPG5202-hKG4PE (R409K)载体而获得的抗CSPG5-IgG4抗体被命名为CSPG5202 IgG4PE (R409K), 并且通过表达在实施例2(2)中产生的pCI\_AVM-hLG4PE (R409K)-CSPG5202scFv载体而获得的抗AVM-IgG4-CSPG5 dscFv双特异性抗体被命名为AVM IgG4PE (R409K)\_CSPG5202 dscFv。此外, 通过表达在实施例2(3)中产生的N5LG4PE\_AVM而获得的抗AVM-IgG4抗体和通过表达在实施例2(3)中产生的pCI\_AVM-hLG4PE (R409K)\_AVMscFv5载体而获得的抗AVM-IgG4\_AVM dscFv双特异性抗体分别被命名为抗AVM抗体和AVM IgG4PE (R409K)\_AVM dscFv5。

[0577] [实施例3]与CSPG5表达细胞的反应性的分析

[0578] 编码人类CSPG5的核苷酸序列由SEQ ID NO:159表示, 从所述核苷酸序列推定的氨基酸序列由SEQ ID NO:160表示, 编码小鼠CSPG5的核苷酸序列由SEQ ID NO:161表示, 从所述核苷酸序列推定的氨基酸序列由SEQ ID NO:162表示, 编码猴CSPG5的核苷酸序列由SEQ ID NO:163表示, 并且从所述核苷酸序列推定的氨基酸序列由SEQ ID NO:164表示。

[0579] 合成了人类CSPG5、小鼠CSPG5和猴CSPG5的全长基因序列, 并将所述基因序列分别插入到pEF6/V5-His (由Thermo Fisher Scientific, Inc. 制造)载体的BamHI-NotI位点中, 由此产生下述用于相应类型的CSPG5的膜表达的质粒载体:pEF6\_人类CSPG5, pEF6\_小鼠CSPG5和pEF6\_猴CSPG5。

[0580] 使用FreeStyle (商标) 293表达系统 (由Thermo Fisher Scientific, Inc. 制造) 将所述相应类型的膜CSPG5抗原表达载体各自引入到Expi293F细胞中, 并对所述细胞进行培养, 以在瞬时表达系统中表达所述膜抗原。使用所述细胞, 按照下述程序通过荧光激活细胞分拣(FACS)方法分析在实施例2中产生的抗体与所述表达CSPG5的细胞的反应性。

[0581] 将Expi293F细胞、人类CSPG5/Expi293F细胞、小鼠CSPG5/Expi293F细胞和猴CSPG5/Expi293F细胞分别悬浮在包含0.1%NaN<sub>3</sub>和1%FBS的PBS的染色缓冲液(SB)中, 并分发到圆底96孔板 (由Becton, Dickinson and Company制造) 中。在离心(2000rpm, 4℃, 2分钟)后, 除去上清液, 向得到的沉淀物添加10μg/mL的在实施例2中获得的每种抗体以悬浮所述沉淀物, 并将得到的悬液在冰上静置30分钟。在再次离心(2000rpm, 4℃, 2分钟)后, 除去上清液, 并将得到的沉淀物用SB清洗, 然后向其添加1μg/mL RPE荧光标记的山羊抗人类抗体 (由Southern Biotech, Inc. 制造), 并将得到的混合物在冰上温育30分钟。在用SB清洗后, 将细胞悬浮在SB中, 使用流式细胞仪FACS CANTO II (由Becton, Dickinson and Company制造) 测量每种细胞的荧光强度。注意作为阴性对照, 使用10μg/mL的抗AVM抗体。

[0582] 分析检测结果, 并使用几何平均值计算平均荧光强度(MFI)。另外, 对于每种抗体的浓度为10μg/mL时的MFI来说, 计算人类CSPG5/Expi293F细胞与Expi293F细胞(母体细胞系)之间的MFI的比率(平均荧光强度比率)。对于猴CSPG5/Expi293F细胞和小鼠CSPG5/Expi293F细胞来说, 也通过相同的程序计算相对于Expi293F细胞(母体细胞系)的平均荧光强度比率, 结果示出在表3中。

[0583] [表3]

	平均荧光强度比率		
	人类 CSPG5 表达 细胞/母体细胞系	猴 CSPG5 表达细 胞/母体细胞系	小鼠 CSPG5 表达 细胞/母体细胞系
抗 AVM 抗体	0.93	1.00	0.94
CSPG5115 scFv-hG4PE(R409K)	3.24	3.56	3.44
CSPG5120 scFv-hG4PE(R409K)	18.48	8.01	20.37
CSPG5168 scFv-hG4PE(R409K)	5.46	3.36	5.81
CSPG5201 scFv-hG4PE(R409K)	2.41	1.73	2.95
CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)	6.16	3.69	5.39
[0584]	CSPG5205 scFv-hG4PE(R409K)	28.50	9.58
	CSPG5206 scFv-hG4PE(R409K)	4.31	3.40
	CSPG5207 scFv-hG4PE(R409K)	4.23	3.87
	CSPG5208 scFv-hG4PE(R409K)	16.85	6.96
	CSPG5214 scFv-hG4PE(R409K)	2.15	4.03
	CSPG5219 scFv-hG4PE(R409K)	4.75	5.74
	CSPG5222 scFv-hG4PE(R409K)	2.52	2.82
	CSPG5227 scFv-hG4PE(R409K)	5.29	4.09
	CSPG5230 scFv-hG4PE(R409K)	3.35	4.45
	CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)	14.10	10.43
			14.32

[0585] 正如表3中所示,在所有抗CSPG5抗体的情况下,与作为阴性对照的抗AVM抗体相比平均荧光强度比率提高,并且所述抗CSPG5抗体显示出与人类CSPG5/Expi293F细胞、小鼠CSPG5/Expi293F细胞和猴CSPG5/Expi293F细胞的反应性。因此,揭示出所述抗CSPG5抗体识别并结合所有人类CSPG5、小鼠CSPG5和猴CSPG5。

[0586] 此外,对于CSPG5202 IgG4PE (R409K)、CSPG5202 scFv-hG4PE (R409K) 和AVM IgG4PE (R409K)\_CSPG5202 dscFv来说,也通过相同的程序分析了与Expi293F细胞、人类CSPG5/Expi293F细胞、猴CSPG5/Expi293F细胞和小鼠CSPG5/Expi293F细胞的反应性,结果,与作为阴性对照的抗AVM抗体相比平均荧光强度比率提高,并且揭示出所述抗体与人类CSPG5/Expi293F细胞、小鼠CSPG5/Expi293F细胞和猴CSPG5/Expi293F细胞反应。

[0587] [实施例4]可溶性CSPG5抗原的生产

[0588] (1)结合有FLAG\_Fc的CSPG5的胞外结构域蛋白的生产

[0589] 作为人类CSPG5或小鼠CSPG5的可溶性抗原,通过下述方法生产了在C-端添加有FLAG\_Fc的CSPG5的胞外结构域蛋白。将人类或小鼠CSPG5的胞外结构域的合成基因和FLAG\_Fc的合成基因插入到pCI载体(由Promega, Inc. 制造)中,由此产生了下述用于表达在C-端

一侧添加有FLAG\_Fc的人类和小鼠CSPG5的胞外结构域的质粒载体:pCI-人类CSPG5-FLAG\_Fc和pCI-小鼠CSPG5-FLAG\_Fc。

[0590] 人类CSPG5-FLAG\_Fc的核苷酸序列由SEQ ID NO:165表示,从所述核苷酸序列推定的氨基酸序列由SEQ ID NO:166表示,小鼠CSPG5-FLAG\_Fc的核苷酸序列由SEQ ID NO:167表示,并且从所述核苷酸序列推定的氨基酸序列由SEQ ID NO:168表示。

[0591] 使用Expi293(商标)表达系统(由Thermo Fisher Scientific, Inc.制造)将pCI-人类CSPG5-FLAG\_Fc和pCI-小鼠CSPG5-FLAG\_Fc分别引入到Expi293F细胞中,并对所述细胞进行培养以在瞬时表达系统中表达所述蛋白质,并将所述蛋白质以与实施例2中相同的方式进行纯化。溶液中纯化的人类和小鼠CSPG5-FLAG\_Fc蛋白的浓度在280nm处的吸光度的基础上确定。

[0592] (2)结合有GST的CSPG5的胞外结构域蛋白的生产

[0593] 作为人类CSPG5或小鼠CSPG5的可溶性抗原,通过下述方法生产了在C-端添加有GST的CSPG5的胞外结构域蛋白。将人类或小鼠CSPG5的胞外结构域的合成基因和GST的合成基因插入到pCI载体(由Promega, Inc.制造)中,由此产生了下述用于表达在C-端一侧添加有GST的人类和小鼠CSPG5的胞外结构域的质粒载体:pCI-人类CSPG5-GST and pCI-小鼠CSPG5-GST。

[0594] 人类CSPG5-GST的核苷酸序列由SEQ ID NO:169表示,从所述核苷酸序列推定的氨基酸序列由SEQ ID NO:170表示,小鼠CSPG5-GST的核苷酸序列由SEQ ID NO:171表示,并且从所述核苷酸序列推定的氨基酸序列由SEQ ID NO:172表示。

[0595] 使用Expi293(商标)表达系统(由Thermo Fisher Scientific, Inc.制造)将pCI-人类CSPG5-GST和pCI-小鼠CSPG5-GST分别引入到Expi293F细胞中,并对所述细胞进行培养以在瞬时表达系统中表达所述蛋白质。在引入载体后3至4天收集培养上清液,并通过孔径为0.22μm的膜滤器(由Merck Millipore Corporation制造)过滤。

[0596] 使用谷胱甘肽琼脂糖凝胶4B(由GE Healthcare Biosciences, Inc.制造)对该培养上清液中的蛋白质进行亲和纯化。使用磷酸盐缓冲液作为清洗溶液。将吸附在谷胱甘肽琼脂糖凝胶4B上的蛋白质用50mmol/L Tris-HCl和10mmol/L还原型谷胱甘肽(pH 8.0)洗脱。

[0597] 随后,通过使用Amicon Ultra(由Merck Millipore Corporation制造)的超滤和NAP柱(由GE Healthcare Biosciences, Inc.制造)将所述溶液中的溶剂用PBS替换。将得到的溶液通过孔径为0.22μm的膜滤器(由Merck Millipore Corporation制造)过滤除菌。所述溶液中纯化的人类和小鼠CSPG5-GST蛋白的浓度在280nm处的吸光度的基础上确定。

[0598] [实施例5]通过表面等离子体共振检测评估对CSPG5的亲和性

[0599] 使用Biacore T-100(GE Healthcare)测量在实施例2中产生的抗CSPG5抗体CSPG5202 IgG4PE(R409K)和AVM IgG4PE(R409K)\_CSPG5202 dscFv对人类CSPG5和小鼠CSPG5的亲和性。

[0600] 使用人类抗体捕获试剂盒将每种抗体固定化在CM5传感器芯片上,并使用在实施例4中生产的人类CSPG5-GST和小鼠CSPG5-GST作为被分析物评估结合能力。使用BIA评估软件分析得到的传感器图,并计算解离常数( $K_d$ 值)。

[0601] 所有所述抗体均对人类CSPG5具有 $1 \times 10^{-8}$ mol/L或更低的解离常数,并且除了

CSPG5214 scFv-hG4PE (R409K) 之外的16种抗体具有 $1 \times 10^{-9}$  mol/L或更低的解离常数。从这些结果证实了所有所述抗体都是对人类CSPG5具有高亲和性的抗体。

[0602] 此外,所有所述抗体均对小鼠CSPG5具有 $1 \times 10^{-8}$  mol/L或更低的解离常数。从这些结果证实了所有所述抗体都是不仅对人类CSPG5、而且对小鼠CSPG5具有高亲和性的抗体。

[0603] [实施例6]在小鼠脑中的迁移能力的评估

[0604] (1) 抗体量的测量

[0605] 将每种抗体以9mg/kg体重的剂量通过尾静脉(i.v.)给药到小鼠,并在3天和9天后收集血液。在收集血液的同一天,在麻醉下进行全身灌注,随后收集脑组织并测量其重量。

[0606] 进一步地,向收集的脑组织添加缓冲液,将脑组织匀浆,然后离心并收集在上清液中洗脱的抗体溶液。测量其体积,并且也使用AlphaLISA(由PerkinElmer, Inc. 制造) 测量抗体浓度。计算每单位脑重量的抗体量。注意使用试剂盒随附的抗体产生标准曲线。

[0607] 在抗体给药后3天血清中的抗体浓度示出在图1(A) 中,脑组织中每单位脑重量的抗体量示出在图1(B) 中,在抗体给药后9天血清中的抗体浓度示出在图1(C) 中,并且脑组织中每单位脑重量的抗体量示出在图1(D) 中。

[0608] 如图1(A) 和(C) 中所示,在抗体给药后3天和9天抗CSPG5scFv-Fc抗体的血清浓度与阴性对照(抗AVM-IgG4抗体)相比没有差异。另一方面,如图1(B) 中所示,证实了所述抗CSPG5 scFv-Fc抗体在脑中的抗体量与阴性对照相比提高约4至17倍。此外,正如在图1(D) 中所示,证实了在抗CSPG5 scFv-Fc抗体CSPG5202scFv-hG4PE (R409K) 的情况下,甚至在抗体给药后9天,脑中的抗体量与阴性对照相比仍提高约10倍。

[0609] 接下来,在不同于上面描述的条件下执行试验方法,结果将在下文示出。将每种抗体分别以35nmol/kg体重的剂量通过尾静脉(i.v.)给药到小鼠,并在7天后收集血液。在收集血液的同一天,在麻醉下进行全身灌注,随后收集脑组织并测量其重量。进一步地,向收集的脑组织添加缓冲液,将脑组织匀浆,然后离心并收集在上清液中洗脱的抗体溶液。测量其体积,并且也使用AlphaLISA(由PerkinElmer, Inc. 制造) 测量抗体浓度,并计算每单位脑重量的抗体量。所述抗体浓度被表示成通过使用单克隆抗体的分子量(150kDa) 从摩尔浓度转换而获得的值。注意使用每种抗体分别产生标准曲线。

[0610] 抗CSPG5 scFv-Fc抗体CSPG5227 scFv-hG4PE (R409K) 在血清中的抗体浓度示出在图2(A) 中,其脑组织中每单位脑重量的抗体量示出在图2(B) 中。证实了脑中的抗体量与阴性对照(抗AVM-IgG4抗体)相比提高。

[0611] 此外,抗CSPG5 scFv-Fc抗体CSPG5202 scFv-hG4PE (R409K) 和抗CSPG5-IgG4抗体CSPG5202 IgG4PE (R409K) 在血清中的抗体浓度示出在图3(A) 中,其脑组织中每单位脑重量的抗体量示出在图3(B) 中。

[0612] 如图3(B) 中所示,证实了与阴性对照(抗AVM-IgG4抗体)相比,脑中的抗体量在抗CSPG5 scFv-Fc抗体CSPG5202scFv-hG4PE (R409K) 的情况下提高约10倍,并且在抗CSPG5-IgG4抗体CSPG5202 IgG4PE (R409K) 的情况下提高约5倍。

[0613] 此外,抗AVM-IgG4\_AVM\_dscFv双特异性抗体AVM IgG4PE (R409K)\_AVM dscFv5和抗AVM-IgG4-CSPG5 dscFv双特异性抗体AVM IgG4PE (R409K)\_CSPG5202 dscFv在血清中的抗体浓度示出在图3(C) 中,并且其脑组织中每单位脑重量的抗体量示出在图3(D) 中。

[0614] 如图3(D) 中所示,证实了抗AVM-IgG4-CSPG5 dscFv双特异性抗体AVM IgG4PE

(R409K)\_CSPG5202 dscFv在脑中的抗体量与作为双特异性抗体的阴性对照的AVM IgG4PE (R409K)\_AVM dscFv5相比提高。因此,证实了与CSPG5结合的双特异性抗体与不结合CSPG5的双特异性抗体相比可以提高脑中的抗体量。

[0615] (2) 成像分析

[0616] 将抗CSPG5 scFv-Fc抗体和阴性对照(抗AVM-IgG4抗体)用Alexa FluorR 488蛋白质标记试剂盒(由Molecular Probes, Inc. 制造)标记。将每种标记的抗体以9mg/kg体重的剂量通过尾静脉(i.v.)给药到小鼠,并在9天后收集血液。

[0617] 在收集血液后,在麻醉下进行全身灌注,随后收集脑组织,并使用IVIS光谱仪(由PerkinElmer, Inc. 制造)测量荧光强度。在抗体给药后9天脑的成像图像示出在图4(A)中。用给药的抗体的荧光强度校正过的脑中的荧光量的值与阴性对照的比率示出在图4(B)中。

[0618] 如图4(B)中所示,证实了任何抗CSPG5 scFv-Fc抗体在脑中的抗体量与阴性对照相比可以提高几倍。尤其是,如图4(B)中所示,抗CSPG5 scFv-Fc抗体CSPG5202 scFv-hG4PE (R409K)在脑中的抗体量提高约20倍,并且如图4(A)中所示,证实了所述抗体的分布均遍及脑的整个区域。

[0619] [实施例7] 抗体内化的评估

[0620] 使用HiLyMax(由Dojindo Laboratories制造)将在实施例3中产生的pEF6\_人类CSPG5引入到小鼠结缔组织来源的成纤维细胞L929[美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection) (ATCC) No.CCL-1]中。使用抗生素杀稻瘟素(由Invitrogen, Inc. 制造)选择转染的细胞,然后通过有限稀释法进行克隆,由此产生在细胞表面上表达CSPG5的L929细胞(在后文中被简称为人类CSPG5/L929#09)。

[0621] 通过下文示出的方法分析在实施例2中产生的抗体的内化能力。在96孔板中,将人类CSPG5/L929#09或人类腹部成神经细胞瘤IMR-32[The European Collection of Authenticated Cell Cultures (ECACC) No.86041809]以 $5 \times 10^3$ 细胞/孔的量接种并在37°C下过夜以附着到孔。

[0622] 将所述抗体稀释以使终浓度在1 $\mu$ g/mL至100fg/mL的范围内,将皂草素标记的抗IgG抗体[Hum-ZAP(由Advanced Targeting Systems, Inc. 制造)]稀释以使终浓度为1 $\mu$ g/mL,并将它们添加到孔中。在人类CSPG5/L929#09的情况下在48小时后并且在IMR-32的情况下在72小时后,使用细胞增殖试剂盒II(XTT测定法)(由Roche Diagnostics, Inc. 制造)检测活细胞。将XTT标记试剂和电子偶联试剂混合,将得到的混合物以50 $\mu$ L/孔的量添加。在反应进行4小时后,测量在490nm波长处的吸光度(参比波长:630nm)。hCSPG5/L929#09的数据示出在图5中,IMR-32的数据示出在图6中。

[0623] 如图5中所示,证实了与阴性对照抗体相比,CSPG5202 scFv-hG4PE (R409K)、CSPG5219 scFv-hG4PE (R409K) 和CSPG5234 scFv-hG4PE (R409K) 在被制造成强制表达CSPG5的L929细胞中以抗体浓度依赖性方式显著诱导细胞死亡。

[0624] 此外,如图6中所示,与阴性对照抗体相比,CSPG5202 scFv-hG4PE (R409K)、CSPG5219 scFv-hG4PE (R409K) 和CSPG5234 scFv-hG4PE (R409K) 在本来就表达CSPG5的IMR-32细胞中也以抗体浓度依赖性方式显著诱导细胞死亡。

[0625] 通过这种方式,证实了在强制表达细胞系和所述细胞系两者中,结合CSPG5的抗体与表达在细胞膜上的CSPG5结合并被内化。

[0626] 本发明已使用具体情况进行了详细解释,但对于本领域技术人员来说,显然可以在不背离本发明的精神和范围的情况下做出各种不同的改变和修改。本申请是基于2018年6月26日提交的日本专利申请(专利申请号2018-120476),其整体通过参考并入本文。

[0627] 序列表自由文本

[0628] SEQ ID NO:1-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5115的VH的核苷酸序列

[0629] SEQ ID NO:2-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5115的VH的氨基酸序列

[0630] SEQ ID NO:3-人工序列的描述:CSPG5115的HCDR1的氨基酸序列

[0631] SEQ ID NO:4-人工序列的描述:CSPG5115的HCDR2的氨基酸序列

[0632] SEQ ID NO:5-人工序列的描述:CSPG5115的HCDR3的氨基酸序列

[0633] SEQ ID NO:6-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5115的VL的核苷酸序列

[0634] SEQ ID NO:7-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5115的VL的氨基酸序列

[0635] SEQ ID NO:8-人工序列的描述:CSPG5115的LCDR1的氨基酸序列

[0636] SEQ ID NO:9-人工序列的描述:CSPG5115的LCDR2的氨基酸序列

[0637] SEQ ID NO:10-人工序列的描述:CSPG5115的LCDR3的氨基酸序列

[0638] SEQ ID NO:11-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5120的VH的核苷酸序列

[0639] SEQ ID NO:12-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5120的VH的氨基酸序列

[0640] SEQ ID NO:13-人工序列的描述:CSPG5120的HCDR1的氨基酸序列

[0641] SEQ ID NO:14-人工序列的描述:CSPG5120的HCDR2的氨基酸序列

[0642] SEQ ID NO:15-人工序列的描述:CSPG5120的HCDR3的氨基酸序列

[0643] SEQ ID NO:16-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5120的VL的核苷酸序列

[0644] SEQ ID NO:17-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5120的VL的氨基酸序列

[0645] SEQ ID NO:18-人工序列的描述:CSPG5120的LCDR1的氨基酸序列

[0646] SEQ ID NO:19-人工序列的描述:CSPG5120的LCDR2的氨基酸序列

[0647] SEQ ID NO:20-人工序列的描述:CSPG5120的LCDR3的氨基酸序列

[0648] SEQ ID NO:21-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5168的VH的核苷酸序列

[0649] SEQ ID NO:22-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5168的VH的氨基酸序列

[0650] SEQ ID NO:23-人工序列的描述:CSPG5168的HCDR1的氨基酸序列

[0651] SEQ ID NO:24-人工序列的描述:CSPG5168的HCDR2的氨基酸序列

[0652] SEQ ID NO:25-人工序列的描述:CSPG5168的HCDR3的氨基酸序列

[0653] SEQ ID NO:26-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5168的VL的核苷酸序列

[0654] SEQ ID NO:27-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5168的VL的氨基酸序列

[0655] SEQ ID NO:28-人工序列的描述:CSPG5168的LCDR1的氨基酸序列

[0656] SEQ ID NO:29-人工序列的描述:CSPG5168的LCDR2的氨基酸序列

- [0657] SEQ ID NO:30-人工序列的描述:CSPG5168的LCDR3的氨基酸序列
- [0658] SEQ ID NO:31-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5201的VH的核苷酸序列
- [0659] SEQ ID NO:32-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5201的VH的氨基酸序列
- [0660] SEQ ID NO:33-人工序列的描述:CSPG5201的HCDR1的氨基酸序列
- [0661] SEQ ID NO:34-人工序列的描述:CSPG5201的HCDR2的氨基酸序列
- [0662] SEQ ID NO:35-人工序列的描述:CSPG5201的HCDR3的氨基酸序列
- [0663] SEQ ID NO:36-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5201的VL的核苷酸序列
- [0664] SEQ ID NO:37-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5201的VL的氨基酸序列
- [0665] SEQ ID NO:38-人工序列的描述:CSPG5201的LCDR1的氨基酸序列
- [0666] SEQ ID NO:39-人工序列的描述:CSPG5201的LCDR2的氨基酸序列
- [0667] SEQ ID NO:40-人工序列的描述:CSPG5201的LCDR3的氨基酸序列
- [0668] SEQ ID NO:41-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5202的VH的核苷酸序列
- [0669] SEQ ID NO:42-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5202的VH的氨基酸序列
- [0670] SEQ ID NO:43-人工序列的描述:CSPG5202的HCDR1的氨基酸序列
- [0671] SEQ ID NO:44-人工序列的描述:CSPG5202的HCDR2的氨基酸序列
- [0672] SEQ ID NO:45-人工序列的描述:CSPG5202的HCDR3的氨基酸序列
- [0673] SEQ ID NO:46-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5202的VL的核苷酸序列
- [0674] SEQ ID NO:47-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5202的VL的氨基酸序列
- [0675] SEQ ID NO:48-人工序列的描述:CSPG5202的LCDR1的氨基酸序列
- [0676] SEQ ID NO:49-人工序列的描述:CSPG5202的LCDR2的氨基酸序列
- [0677] SEQ ID NO:50-人工序列的描述:CSPG5202的LCDR3的氨基酸序列
- [0678] SEQ ID NO:51-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5205的VH的核苷酸序列
- [0679] SEQ ID NO:52-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5205的VH的氨基酸序列
- [0680] SEQ ID NO:53-人工序列的描述:CSPG5205的HCDR1的氨基酸序列
- [0681] SEQ ID NO:54-人工序列的描述:CSPG5205的HCDR2的氨基酸序列
- [0682] SEQ ID NO:55-人工序列的描述:CSPG5205的HCDR3的氨基酸序列
- [0683] SEQ ID NO:56-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5205的VL的核苷酸序列
- [0684] SEQ ID NO:57-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5205的VL的氨基酸序列
- [0685] SEQ ID NO:58-人工序列的描述:CSPG5205的LCDR1的氨基酸序列
- [0686] SEQ ID NO:59-人工序列的描述:CSPG5205的LCDR2的氨基酸序列
- [0687] SEQ ID NO:60-人工序列的描述:CSPG5205的LCDR3的氨基酸序列
- [0688] SEQ ID NO:61-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5206的VH的核苷酸序列

- [0689] SEQ ID NO:62-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5206的VH的氨基酸序列  
[0690] SEQ ID NO:63-人工序列的描述:CSPG5206的HCDR1的氨基酸序列  
[0691] SEQ ID NO:64-人工序列的描述:CSPG5206的HCDR2的氨基酸序列  
[0692] SEQ ID NO:65-人工序列的描述:CSPG5206的HCDR3的氨基酸序列  
[0693] SEQ ID NO:66-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5206的VL的核苷酸序列  
[0694] SEQ ID NO:67-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5206的VL的氨基酸序列  
[0695] SEQ ID NO:68-人工序列的描述:CSPG5206的LCDR1的氨基酸序列  
[0696] SEQ ID NO:69-人工序列的描述:CSPG5206的LCDR2的氨基酸序列  
[0697] SEQ ID NO:70-人工序列的描述:CSPG5206的LCDR3的氨基酸序列  
[0698] SEQ ID NO:71-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5207的VH的核苷酸序列  
[0699] SEQ ID NO:72-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5207的VH的氨基酸序列  
[0700] SEQ ID NO:73-人工序列的描述:CSPG5207的HCDR1的氨基酸序列  
[0701] SEQ ID NO:74-人工序列的描述:CSPG5207的HCDR2的氨基酸序列  
[0702] SEQ ID NO:75-人工序列的描述:CSPG5207的HCDR3的氨基酸序列  
[0703] SEQ ID NO:76-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5207的VL的核苷酸序列  
[0704] SEQ ID NO:77-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5207的VL的氨基酸序列  
[0705] SEQ ID NO:78-人工序列的描述:CSPG5207的LCDR1的氨基酸序列  
[0706] SEQ ID NO:79-人工序列的描述:CSPG5207的LCDR2的氨基酸序列  
[0707] SEQ ID NO:80-人工序列的描述:CSPG5207的LCDR3的氨基酸序列  
[0708] SEQ ID NO:81-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5208的VH的核苷酸序列  
[0709] SEQ ID NO:82-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5208的VH的氨基酸序列  
[0710] SEQ ID NO:83-人工序列的描述:CSPG5208的HCDR1的氨基酸序列  
[0711] SEQ ID NO:84-人工序列的描述:CSPG5208的HCDR2的氨基酸序列  
[0712] SEQ ID NO:85-人工序列的描述:CSPG5208的HCDR3的氨基酸序列  
[0713] SEQ ID NO:86-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5208的VL的核苷酸序列  
[0714] SEQ ID NO:87-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5208的VL的氨基酸序列  
[0715] SEQ ID NO:88-人工序列的描述:CSPG5208的LCDR1的氨基酸序列  
[0716] SEQ ID NO:89-人工序列的描述:CSPG5208的LCDR2的氨基酸序列  
[0717] SEQ ID NO:90-人工序列的描述:CSPG5208的LCDR3的氨基酸序列  
[0718] SEQ ID NO:91-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5214的VH的核苷酸序列  
[0719] SEQ ID NO:92-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5214的VH的氨基酸序列  
[0720] SEQ ID NO:93-人工序列的描述:CSPG5214的HCDR1的氨基酸序列  
[0721] SEQ ID NO:94-人工序列的描述:CSPG5214的HCDR2的氨基酸序列

- [0722] SEQ ID NO:95-人工序列的描述:CSPG5214的HCDR3的氨基酸序列
- [0723] SEQ ID NO:96-人工序列的描述:编码不包含信号序列CSPG5214的的VL的核苷酸序列
- [0724] SEQ ID NO:97-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5214的VL的氨基酸序列
- [0725] SEQ ID NO:98-人工序列的描述:CSPG5214的LCDR1的氨基酸序列
- [0726] SEQ ID NO:99-人工序列的描述:CSPG5214的LCDR2的氨基酸序列
- [0727] SEQ ID NO:100-人工序列的描述:CSPG5214的LCDR3的氨基酸序列
- [0728] SEQ ID NO:101-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5219的VH的核苷酸序列
- [0729] SEQ ID NO:102-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5219的VH的氨基酸序列
- [0730] SEQ ID NO:103-人工序列的描述:CSPG5219的HCDR1的氨基酸序列
- [0731] SEQ ID NO:104-人工序列的描述:CSPG5219的HCDR2的氨基酸序列
- [0732] SEQ ID NO:105-人工序列的描述:CSPG5219的HCDR3的氨基酸序列
- [0733] SEQ ID NO:106-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5219的VL的核苷酸序列
- [0734] SEQ ID NO:107-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5219的VL的氨基酸序列
- [0735] SEQ ID NO:108-人工序列的描述:CSPG5219的LCDR1的氨基酸序列
- [0736] SEQ ID NO:109-人工序列的描述:CSPG5219的LCDR2的氨基酸序列
- [0737] SEQ ID NO:110-人工序列的描述:CSPG5219的LCDR3的氨基酸序列
- [0738] SEQ ID NO:111-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5222的VH的核苷酸序列
- [0739] SEQ ID NO:112-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5222的VH的氨基酸序列
- [0740] SEQ ID NO:113-人工序列的描述:CSPG5222的HCDR1的氨基酸序列
- [0741] SEQ ID NO:114-人工序列的描述:CSPG5222的HCDR2的氨基酸序列
- [0742] SEQ ID NO:115-人工序列的描述:CSPG5222的HCDR3的氨基酸序列
- [0743] SEQ ID NO:116-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5222的VL的核苷酸序列
- [0744] SEQ ID NO:117-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5222的VL的氨基酸序列
- [0745] SEQ ID NO:118-人工序列的描述:CSPG5222的LCDR1的氨基酸序列
- [0746] SEQ ID NO:119-人工序列的描述:CSPG5222的LCDR2的氨基酸序列
- [0747] SEQ ID NO:120-人工序列的描述:CSPG5222的LCDR3的氨基酸序列
- [0748] SEQ ID NO:121-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5227的VH的核苷酸序列
- [0749] SEQ ID NO:122-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5227的VH的氨基酸序列
- [0750] SEQ ID NO:123-人工序列的描述:CSPG5227的HCDR1的氨基酸序列
- [0751] SEQ ID NO:124-人工序列的描述:CSPG5227的HCDR2的氨基酸序列
- [0752] SEQ ID NO:125-人工序列的描述:CSPG5227的HCDR3的氨基酸序列
- [0753] SEQ ID NO:126-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5227的VL的核苷酸序列

- [0754] SEQ ID NO:127-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5227的VL的氨基酸序列
- [0755] SEQ ID NO:128-人工序列的描述:CSPG5227的LCDR1的氨基酸序列
- [0756] SEQ ID NO:129-人工序列的描述:CSPG5227的LCDR2的氨基酸序列
- [0757] SEQ ID NO:130-人工序列的描述:CSPG5227的LCDR3的氨基酸序列
- [0758] SEQ ID NO:131-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5230的VH的核苷酸序列
- [0759] SEQ ID NO:132-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5230的VH的氨基酸序列
- [0760] SEQ ID NO:133-人工序列的描述:CSPG5230的HCDR1的氨基酸序列
- [0761] SEQ ID NO:134-人工序列的描述:CSPG5230的HCDR2的氨基酸序列
- [0762] SEQ ID NO:135-人工序列的描述:CSPG5230的HCDR3的氨基酸序列
- [0763] SEQ ID NO:136-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5230的VL的核苷酸序列
- [0764] SEQ ID NO:137-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5230的VL的氨基酸序列
- [0765] SEQ ID NO:138-人工序列的描述:CSPG5230的LCDR1的氨基酸序列
- [0766] SEQ ID NO:139-人工序列的描述:CSPG5230的LCDR2的氨基酸序列
- [0767] SEQ ID NO:140-人工序列的描述:CSPG5230的LCDR3的氨基酸序列
- [0768] SEQ ID NO:141-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5234的VH的核苷酸序列
- [0769] SEQ ID NO:142-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5234的VH的氨基酸序列
- [0770] SEQ ID NO:143-人工序列的描述:CSPG5234的HCDR1的氨基酸序列
- [0771] SEQ ID NO:144-人工序列的描述:CSPG5234的HCDR2的氨基酸序列
- [0772] SEQ ID NO:145-人工序列的描述:CSPG5234的HCDR3的氨基酸序列
- [0773] SEQ ID NO:146-人工序列的描述:编码不包含信号序列的CSPG5234的VL的核苷酸序列
- [0774] SEQ ID NO:147-人工序列的描述:不包含信号序列的CSPG5234的VL的氨基酸序列
- [0775] SEQ ID NO:148-人工序列的描述:CSPG5234的LCDR1的氨基酸序列
- [0776] SEQ ID NO:149-人工序列的描述:CSPG5234的LCDR2的氨基酸序列
- [0777] SEQ ID NO:150-人工序列的描述:CSPG5234的LCDR3的氨基酸序列
- [0778] SEQ ID NO:151-人工序列的描述:编码pCI\_CSPG5202-hKG4PE (R409K) 的轻链(不包含信号序列的)的核苷酸序列
- [0779] SEQ ID NO:152-人工序列的描述:pCI\_CSPG5202-hKG4PE (R409K) 的轻链(不包含信号序列的)的氨基酸序列
- [0780] SEQ ID NO:153-人工序列的描述:编码pCI\_CSPG5202-hKG4PE (R409K) 的重链(不包含信号序列的)的核苷酸序列
- [0781] SEQ ID NO:154-人工序列的描述:pCI\_CSPG5202-hKG4PE (R409K) 的重链(不包含信号序列的)的氨基酸序列
- [0782] SEQ ID NO:155-人工序列的描述:编码pCI\_AVM-hLG4PE (R409K) -CSPG5202scFv的轻链(不包含信号序列的)的核苷酸序列
- [0783] SEQ ID NO:156-人工序列的描述:pCI\_AVM-hLG4PE (R409K) -CSPG5202scFv的轻链

(不包含信号序列的)的氨基酸序列

[0784] SEQ ID NO:157-人工序列的描述:编码pCI\_AVM-hLG4PE (R409K) -CSPG5202scFv的重链(不包含信号序列的)的核苷酸序列

[0785] SEQ ID NO:158-人工序列的描述:pCI\_AVM-hLG4PE (R409K) -CSPG5202scFv的重链(不包含信号序列的)的氨基酸序列

[0786] SEQ ID NO:159-人工序列的描述:编码人类CSPG5(包含信号序列)的核苷酸序列

[0787] SEQ ID NO:160-人工序列的描述:人类CSPG5(包含信号序列)的氨基酸序列

[0788] SEQ ID NO:161-人工序列的描述:编码小鼠CSPG5(包含信号序列)的核苷酸序列

[0789] SEQ ID NO:162-人工序列的描述:小鼠CSPG5(包含信号序列)的氨基酸序列

[0790] SEQ ID NO:163-人工序列的描述:编码猴CSPG5(包含信号序列)的核苷酸序列

[0791] SEQ ID NO:164-人工序列的描述:猴CSPG5(包含信号序列)的氨基酸序列

[0792] SEQ ID NO:165-人工序列的描述:编码人类CSPG5-FLAG\_Fc(包含信号序列)的核苷酸序列

[0793] SEQ ID NO:166-人工序列的描述:人类CSPG5-FLAG\_Fc(包含信号序列)的氨基酸序列

[0794] SEQ ID NO:167-人工序列的描述:编码小鼠CSPG5-FLAG\_Fc(包含信号序列)的核苷酸序列

[0795] SEQ ID NO:168-人工序列的描述:小鼠CSPG5-FLAG\_Fc(包含信号序列)的氨基酸序列

[0796] SEQ ID NO:169-人工序列的描述:编码人类CSPG5-GST(包含信号序列)的核苷酸序列

[0797] SEQ ID NO:170-人工序列的描述:人类CSPG5-GST(包含信号序列)的氨基酸序列

[0798] SEQ ID NO:171-人工序列的描述:编码小鼠CSPG5-GST(包含信号序列)的核苷酸序列

[0799] SEQ ID NO:172-人工序列的描述:小鼠CSPG5-GST(包含信号序列)的氨基酸序列

- [0001] 序列表  
[0002] <110> 协和发酵麒麟株式会社(Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.)  
[0003] 国立大学法人鹿儿岛大学(Kagoshima University)  
[0004] <120> 与硫酸软骨素蛋白聚糖5结合的抗体  
[0005] <130> W527297  
[0006] <150> JP2018-120476  
[0007] <151> 2018-06-26  
[0008] <160> 172  
[0009] <170> PatentIn version 3.5  
[0010] <210> 1  
[0011] <211> 375  
[0012] <212> DNA  
[0013] <213> 人工序列  
[0014] <220>  
[0015] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5115的VH的碱基序列  
[0016] <400> 1  
[0017] gaggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc actgaaggta 60  
[0018] tcctgcagg cttctggata cagcttcaact gactatatta tacattgggt gcgccaggcc 120  
[0019] cccggacaaa gtcttgagt gatgggatgg atcaacggtg gcagtggtgt cccaaaatat 180  
[0020] tcagacaagt tccagggcag agtcaccatt accagagaca catccgcgaa cacagcctac 240  
[0021] atggagattc gtagcctggg atctgaagac acggctgtgt attactgtgc gagagggggg 300  
[0022] gttttagtg gcgataagt gctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360  
[0023] gtcaccgtct cctca 375  
[0024] <210> 2  
[0025] <211> 125  
[0026] <212> PRT  
[0027] <213> 人工序列  
[0028] <220>  
[0029] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5115的VH的氨基酸序列  
[0030] <400> 2  
[0031] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
[0032] 1 5 10 15  
[0033] Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr  
[0034] 20 25 30  
[0035] Ile Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Met  
[0036] 35 40 45  
[0037] Gly Trp Ile Asn Gly Gly Ser Gly Val Pro Lys Tyr Ser Asp Lys Phe  
[0038] 50 55 60  
[0039] Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Asn Thr Ala Tyr  
[0040] 65 70 75 80  
[0041] Met Glu Ile Arg Ser Leu Gly Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0042]	85	90	95
[0043]	Ala Arg Gly Gly Val Cys Ser Gly Asp Lys Cys Tyr Tyr Gly Met		
[0044]	100	105	110
[0045]	Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser		
[0046]	115	120	125
[0047]	<210> 3		
[0048]	<211> 5		
[0049]	<212> PRT		
[0050]	<213> 人工序列		
[0051]	<220>		
[0052]	<223> 人工序列的描述:CSPG5115的HCDR1的氨基酸序列		
[0053]	<400> 3		
[0054]	Asp Tyr Ile Ile His		
[0055]	1 5		
[0056]	<210> 4		
[0057]	<211> 17		
[0058]	<212> PRT		
[0059]	<213> 人工序列		
[0060]	<220>		
[0061]	<223> 人工序列的描述:CSPG5115的HCDR2的氨基酸序列		
[0062]	<400> 4		
[0063]	Trp Ile Asn Gly Gly Ser Gly Val Pro Lys Tyr Ser Asp Lys Phe Gln		
[0064]	1 5 10 15		
[0065]	Gly		
[0066]	<210> 5		
[0067]	<211> 16		
[0068]	<212> PRT		
[0069]	<213> 人工序列		
[0070]	<220>		
[0071]	<223> 人工序列的描述:CSPG5115的HCDR3的氨基酸序列		
[0072]	<400> 5		
[0073]	Gly Gly Val Cys Ser Gly Asp Lys Cys Tyr Tyr Gly Met Asp Val		
[0074]	1 5 10 15		
[0075]	<210> 6		
[0076]	<211> 315		
[0077]	<212> DNA		
[0078]	<213> 人工序列		
[0079]	<220>		
[0080]	<223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5115的VL的碱基序列		
[0081]	<400> 6		
[0082]	cagtctgtgt tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60		
[0083]	acctgttctg gagataaaatt gggggataaa tatagtttgt ggtatcaaca gaagcctggc 120		

[0084] cagtccctc tattggcat ccatcaagat aacaagcggc cctcaggat ccctgagcga 180  
 [0085] ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcgtcggac ccaggctatg 240  
 [0086] gatgaggctg actattactg ccaggcgtgg gaccgcggcg tggtattcgg cgaggaggacc 300  
 [0087] aagctgaccg tccta 315  
 [0088] <210> 7  
 [0089] <211> 105  
 [0090] <212> PRT  
 [0091] <213> 人工序列  
 [0092] <220>  
 [0093] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5115的VL的氨基酸序列  
 [0094] <400> 7  
 [0095] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Pro Gly Gln  
 [0096] 1 5 10 15  
 [0097] Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ser  
 [0098] 20 25 30  
 [0099] Trp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile His  
 [0100] 35 40 45  
 [0101] Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser  
 [0102] 50 55 60  
 [0103] Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Val Gly Thr Gln Ala Met  
 [0104] 65 70 75 80  
 [0105] Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Arg Gly Val Val Phe  
 [0106] 85 90 95  
 [0107] Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 [0108] 100 105  
 [0109] <210> 8  
 [0110] <211> 11  
 [0111] <212> PRT  
 [0112] <213> 人工序列  
 [0113] <220>  
 [0114] <223> 人工序列的描述:CSPG5115的LCDR1的氨基酸序列  
 [0115] <400> 8  
 [0116] Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ser Trp  
 [0117] 1 5 10  
 [0118] <210> 9  
 [0119] <211> 7  
 [0120] <212> PRT  
 [0121] <213> 人工序列  
 [0122] <220>  
 [0123] <223> 人工序列的描述:CSPG5115的LCDR2的氨基酸序列  
 [0124] <400> 9  
 [0125] Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser

[0126]	1	5	
[0127]	<210>	10	
[0128]	<211>	8	
[0129]	<212>	PRT	
[0130]	<213>	人工序列	
[0131]	<220>		
[0132]	<223>	人工序列的描述:CSPG5115的LCDR3的氨基酸序列	
[0133]	<400>	10	
[0134]	Gln Ala Trp Asp Arg Gly Val Val		
[0135]	1	5	
[0136]	<210>	11	
[0137]	<211>	345	
[0138]	<212>	DNA	
[0139]	<213>	人工序列	
[0140]	<220>		
[0141]	<223>	人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5120的VH的碱基序列	
[0142]	<400>	11	
[0143]	gaggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggc ttgggtccagc ctggggggtc cctcagactc	60	
[0144]	tccctgtgcag cctctggatt caccttagt aactactgga tgacctgggt ccgccaggct	120	
[0145]	ccaggggagg ggccggagtg ggtggccaac ataaatcaag atggaagtca gaaatactat	180	
[0146]	gtggactctg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgaat	240	
[0147]	ctgcaaatga acaacctgag agccgaggac acggccctat attactgtgc gaaaagtaat	300	
[0148]	gccatggacg tctggggcca agggaccctg gtcaccgtct cctca	345	
[0149]	<210>	12	
[0150]	<211>	115	
[0151]	<212>	PRT	
[0152]	<213>	人工序列	
[0153]	<220>		
[0154]	<223>	人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5120的VH的氨基酸序列	
[0155]	<400>	12	
[0156]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[0157]	1	5	10
			15
[0158]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr		
[0159]	20	25	30
[0160]	Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Pro Glu Trp Val		
[0161]	35	40	45
[0162]	Ala Asn Ile Asn Gln Asp Gly Ser Gln Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val		
[0163]	50	55	60
[0164]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Asn		
[0165]	65	70	75
[0166]	Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys		80
[0167]	85	90	95

[0168] Ala Lys Ser Asn Ala Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
[0169] 100 105 110  
[0170] Val Ser Ser  
[0171] 115  
[0172] <210> 13  
[0173] <211> 5  
[0174] <212> PRT  
[0175] <213> 人工序列  
[0176] <220>  
[0177] <223> 人工序列的描述:CSPG5120的HCDR1的氨基酸序列  
[0178] <400> 13  
[0179] Asn Tyr Trp Met Thr  
[0180] 1 5  
[0181] <210> 14  
[0182] <211> 17  
[0183] <212> PRT  
[0184] <213> 人工序列  
[0185] <220>  
[0186] <223> 人工序列的描述:CSPG5120的HCDR2的氨基酸序列  
[0187] <400> 14  
[0188] Asn Ile Asn Gln Asp Gly Ser Gln Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys  
[0189] 1 5 10 15  
[0190] Gly  
[0191] <210> 15  
[0192] <211> 6  
[0193] <212> PRT  
[0194] <213> 人工序列  
[0195] <220>  
[0196] <223> 人工序列的描述:CSPG5120的HCDR3的氨基酸序列  
[0197] <400> 15  
[0198] Ser Asn Ala Met Asp Val  
[0199] 1 5  
[0200] <210> 16  
[0201] <211> 336  
[0202] <212> DNA  
[0203] <213> 人工序列  
[0204] <220>  
[0205] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5120的VL的碱基序列  
[0206] <400> 16  
[0207] gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca ctcctggaga gccggcctcc 60  
[0208] atctcctgca ggtccagtga gagcctcctg catagtaatg gataacaacta cttgaattgg 120  
[0209] tacctgcaga agccaggcga gtctccacaa ctcctgatct atttgggttc gcatcgccc 180

[0210] tccgggtcc ctgacaggct cagttgcagt ggatcagaca cagattcac attgaaaatc 240  
 [0211] agcagagtgg aggctgagga tgtggcatt tattactgta tgcaaggtcg acagactccc 300  
 [0212] atcacttcg gcggaggac caagctggag atcaaa 336  
 [0213] <210> 17  
 [0214] <211> 112  
 [0215] <212> PRT  
 [0216] <213> 人工序列  
 [0217] <220>  
 [0218] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5120的VL的氨基酸序列  
 [0219] <400> 17  
 [0220] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 [0221] 1 5 10 15  
 [0222] Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Glu Ser Leu Leu His Ser  
 [0223] 20 25 30  
 [0224] Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 [0225] 35 40 45  
 [0226] Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser His Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 [0227] 50 55 60  
 [0228] Asp Arg Leu Ser Gly Ser Asp Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 [0229] 65 70 75 80  
 [0230] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Gly  
 [0231] 85 90 95  
 [0232] Arg Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 [0233] 100 105 110  
 [0234] <210> 18  
 [0235] <211> 16  
 [0236] <212> PRT  
 [0237] <213> 人工序列  
 [0238] <220>  
 [0239] <223> 人工序列的描述:CSPG5120的LCDR1的氨基酸序列  
 [0240] <400> 18  
 [0241] Arg Ser Ser Glu Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asn  
 [0242] 1 5 10 15  
 [0243] <210> 19  
 [0244] <211> 7  
 [0245] <212> PRT  
 [0246] <213> 人工序列  
 [0247] <220>  
 [0248] <223> 人工序列的描述:CSPG5120的LCDR2的氨基酸序列  
 [0249] <400> 19  
 [0250] Leu Gly Ser His Arg Ala Ser  
 [0251] 1 5

- [0252] <210> 20
- [0253] <211> 9
- [0254] <212> PRT
- [0255] <213> 人工序列
- [0256] <220>
- [0257] <223> 人工序列的描述:CSPG5120的LCDR3的氨基酸序列
- [0258] <400> 20
- [0259] Met Gln Gly Arg Gln Thr Pro Ile Thr
- [0260] 1 5
- [0261] <210> 21
- [0262] <211> 351
- [0263] <212> DNA
- [0264] <213> 人工序列
- [0265] <220>
- [0266] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5168的VH的碱基序列
- [0267] <400> 21
- [0268] gaggtgcagc tgggtggagac tgggggagcc ttggttcagc ctggagggtc actgagactc 60
- [0269] tcctgtgcag gctctggatt tatcttcagt aaatatgaaa tgacctgggt ccgccaggct 120
- [0270] ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcaact atcggtagtc ttggtctgaa gacctttac 180
- [0271] acagactccg taaagggccg gttcaccacc tccagagaca attccaggga cactttattt 240
- [0272] ctgcaaatgg acaacctgag agtcgaggac acggccatat atttctgtgt gaaaggcggc 300
- [0273] atacgtcggtt cagattactg gggcaaggga accctggta ccgtctcctc a 351
- [0274] <210> 22
- [0275] <211> 117
- [0276] <212> PRT
- [0277] <213> 人工序列
- [0278] <220>
- [0279] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5168的VH的氨基酸序列
- [0280] <400> 22
- [0281] Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Ala Leu Val Gln Pro Gly Gly
- [0282] 1 5 10 15
- [0283] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Ile Phe Ser Lys Tyr
- [0284] 20 25 30
- [0285] Glu Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
- [0286] 35 40 45
- [0287] Ser Thr Ile Gly Ser Leu Gly Leu Lys Thr Phe Tyr Thr Asp Ser Val
- [0288] 50 55 60
- [0289] Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asp Thr Leu Phe
- [0290] 65 70 75 80
- [0291] Leu Gln Met Asp Asn Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys
- [0292] 85 90 95
- [0293] Val Lys Gly Gly Ile Arg Arg Ala Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu

[0294]	100	105	110
[0295]	Val Thr Val Ser Ser		
[0296]	115		
[0297]	<210> 23		
[0298]	<211> 5		
[0299]	<212> PRT		
[0300]	<213> 人工序列		
[0301]	<220>		
[0302]	<223> 人工序列的描述:CSPG5168的HCDR1的氨基酸序列		
[0303]	<400> 23		
[0304]	Lys Tyr Glu Met Thr		
[0305]	1 5		
[0306]	<210> 24		
[0307]	<211> 17		
[0308]	<212> PRT		
[0309]	<213> 人工序列		
[0310]	<220>		
[0311]	<223> 人工序列的描述:CSPG5168的HCDR2的氨基酸序列		
[0312]	<400> 24		
[0313]	Thr Ile Gly Ser Leu Gly Leu Lys Thr Phe Tyr Thr Asp Ser Val Lys		
[0314]	1 5 10 15		
[0315]	Gly		
[0316]	<210> 25		
[0317]	<211> 8		
[0318]	<212> PRT		
[0319]	<213> 人工序列		
[0320]	<220>		
[0321]	<223> 人工序列的描述:CSPG5168的HCDR3的氨基酸序列		
[0322]	<400> 25		
[0323]	Gly Gly Ile Arg Arg Ala Asp Tyr		
[0324]	1 5		
[0325]	<210> 26		
[0326]	<211> 321		
[0327]	<212> DNA		
[0328]	<213> 人工序列		
[0329]	<220>		
[0330]	<223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5168的VL的碱基序列		
[0331]	<400> 26		
[0332]	gaaatagtga tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggta aagagccacc 60		
[0333]	ctctcctgca gggccagtca gagtgtagc agctacttag cctggtagca acagaaaacct 120		
[0334]	ggccaggctc ccaggctct catctatgtat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180		
[0335]	agttcagtgc cagtggttc tggacagac ttcaactctca ccatcagcag cctagagcc 240		

- [0336] gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgttagcaact ggcctctcac tttcgccgga 300
- [0337] gggaccaagg tggaaatcaa a 321
- [0338] <210> 27
- [0339] <211> 107
- [0340] <212> PRT
- [0341] <213> 人工序列
- [0342] <220>
- [0343] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5168的VL的氨基酸序列
- [0344] <400> 27
- [0345] Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
- [0346] 1 5 10 15
- [0347] Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
- [0348] 20 25 30
- [0349] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
- [0350] 35 40 45
- [0351] Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
- [0352] 50 55 60
- [0353] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
- [0354] 65 70 75 80
- [0355] Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
- [0356] 85 90 95
- [0357] Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
- [0358] 100 105
- [0359] <210> 28
- [0360] <211> 11
- [0361] <212> PRT
- [0362] <213> 人工序列
- [0363] <220>
- [0364] <223> 人工序列的描述:CSPG5168的LCDR1的氨基酸序列
- [0365] <400> 28
- [0366] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
- [0367] 1 5 10
- [0368] <210> 29
- [0369] <211> 7
- [0370] <212> PRT
- [0371] <213> 人工序列
- [0372] <220>
- [0373] <223> 人工序列的描述:CSPG5168的LCDR2的氨基酸序列
- [0374] <400> 29
- [0375] Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
- [0376] 1 5
- [0377] <210> 30

- [0378] <211> 9
- [0379] <212> PRT
- [0380] <213> 人工序列
- [0381] <220>
- [0382] <223> 人工序列的描述:CSPG5168的LCDR3的氨基酸序列
- [0383] <400> 30
- [0384] Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
- [0385] 1 5
- [0386] <210> 31
- [0387] <211> 348
- [0388] <212> DNA
- [0389] <213> 人工序列
- [0390] <220>
- [0391] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5201的VH的碱基序列
- [0392] <400> 31
- [0393] gaagtccaaac tgctggaaatc ggggtgggtggt ctggtgcaac cgggcggctc gctgcgtctg 60
- [0394] tcatgtgctg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120
- [0395] ccgggttaaag gtctggaaatg ggttagcgca attagtgct ccggcggtag cacctattac 180
- [0396] gccgattctg ttaaaggctcg tttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240
- [0397] ctgcagatga acagtctgcg cgcaagaat accgctgtct attactgcgc aaaaaaagtgg 300
- [0398] aatctttcg actactgggg ccaaggtacg ctggttacgg ttagcagc 348
- [0399] <210> 32
- [0400] <211> 116
- [0401] <212> PRT
- [0402] <213> 人工序列
- [0403] <220>
- [0404] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5201的VH的氨基酸序列
- [0405] <400> 32
- [0406] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
- [0407] 1 5 10 15
- [0408] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
- [0409] 20 25 30
- [0410] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
- [0411] 35 40 45
- [0412] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
- [0413] 50 55 60
- [0414] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
- [0415] 65 70 75 80
- [0416] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
- [0417] 85 90 95
- [0418] Ala Lys Lys Trp Asn Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
- [0419] 100 105 110

- [0420] Thr Val Ser Ser  
[0421] 115  
[0422] <210> 33  
[0423] <211> 5  
[0424] <212> PRT  
[0425] <213> 人工序列  
[0426] <220>  
[0427] <223> 人工序列的描述:CSPG5201的HCDR1的氨基酸序列  
[0428] <400> 33  
[0429] Ser Tyr Ala Met Ser  
[0430] 1 5  
[0431] <210> 34  
[0432] <211> 17  
[0433] <212> PRT  
[0434] <213> 人工序列  
[0435] <220>  
[0436] <223> 人工序列的描述:CSPG5201的HCDR2的氨基酸序列  
[0437] <400> 34  
[0438] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
[0439] 1 5 10 15  
[0440] Gly  
[0441] <210> 35  
[0442] <211> 7  
[0443] <212> PRT  
[0444] <213> 人工序列  
[0445] <220>  
[0446] <223> 人工序列的描述:CSPG5201的HCDR3的氨基酸序列  
[0447] <400> 35  
[0448] Lys Trp Asn Leu Phe Asp Tyr  
[0449] 1 5  
[0450] <210> 36  
[0451] <211> 333  
[0452] <212> DNA  
[0453] <213> 人工序列  
[0454] <220>  
[0455] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5201的VL的碱基序列  
[0456] <400> 36  
[0457] caatcggtc tgacccaacc ggcaagtgtc tctgggtctc cgggtcaatc aatcacgatc 60  
[0458] tcctgtacgg gtacacctac ggatgtcaac ggctataatt acgtcagctg gtatcagcaa 120  
[0459] tacgcggta aagccccgaa actgattatc tttgatgtta gtaaacgtcc gtcgggcgtt 180  
[0460] agcaaccgct tcagtggctc caaatcaggt gacaccgcct ctctgacgat ttccgggtctg 240  
[0461] caggcagaag atgaagctga ctatcattgc agcttattacc gtaggctgcg gttgcctgtc 300

- [0462] ctgtttggc gtggcacgaa actgaccgtt ctg 333
- [0463] <210> 37
- [0464] <211> 111
- [0465] <212> PRT
- [0466] <213> 人工序列
- [0467] <220>
- [0468] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5201的VL的氨基酸序列
- [0469] <400> 37
- [0470] Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
- [0471] 1 5 10 15
- [0472] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr
- [0473] 20 25 30
- [0474] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu
- [0475] 35 40 45
- [0476] Ile Ile Phe Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
- [0477] 50 55 60
- [0478] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
- [0479] 65 70 75 80
- [0480] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Ser Ser Tyr Arg Arg Leu
- [0481] 85 90 95
- [0482] Arg Leu Pro Val Leu Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
- [0483] 100 105 110
- [0484] <210> 38
- [0485] <211> 14
- [0486] <212> PRT
- [0487] <213> 人工序列
- [0488] <220>
- [0489] <223> 人工序列的描述:CSPG5201的LCDR1的氨基酸序列
- [0490] <400> 38
- [0491] Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
- [0492] 1 5 10
- [0493] <210> 39
- [0494] <211> 7
- [0495] <212> PRT
- [0496] <213> 人工序列
- [0497] <220>
- [0498] <223> 人工序列的描述:CSPG5201的LCDR2的氨基酸序列
- [0499] <400> 39
- [0500] Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser
- [0501] 1 5
- [0502] <210> 40
- [0503] <211> 11

- [0504] <212> PRT
- [0505] <213> 人工序列
- [0506] <220>
- [0507] <223> 人工序列的描述:CSPG5201的LCDR3的氨基酸序列
- [0508] <400> 40
- [0509] Ser Ser Tyr Arg Arg Leu Arg Leu Pro Val Leu
- [0510] 1 5 10
- [0511] <210> 41
- [0512] <211> 354
- [0513] <212> DNA
- [0514] <213> 人工序列
- [0515] <220>
- [0516] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5202的VH的碱基序列
- [0517] <400> 41
- [0518] gaagtccaaac tgctggaatc gggtggtgg ctggtgcaac cggcggttc gctgcgtctg 60
- [0519] tcatgtgctg cgtcgggctt taccttagc tcttatgca tgtcctgggt gcgtcaggca 120
- [0520] ccgggtaaag gtctggaatg ggttagcgca attagtggct ccggcggtag cacctattac 180
- [0521] gccgattctg ttaaaggctcg tttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240
- [0522] ctgcagatga acagtctgcg cgcaagaat accgctgtct attactgcgc aaaaattagt 300
- [0523] aagacgcagg ggttcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagc 354
- [0524] <210> 42
- [0525] <211> 118
- [0526] <212> PRT
- [0527] <213> 人工序列
- [0528] <220>
- [0529] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5202的VH的氨基酸序列
- [0530] <400> 42
- [0531] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
- [0532] 1 5 10 15
- [0533] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
- [0534] 20 25 30
- [0535] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
- [0536] 35 40 45
- [0537] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
- [0538] 50 55 60
- [0539] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
- [0540] 65 70 75 80
- [0541] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
- [0542] 85 90 95
- [0543] Ala Lys Ile Ser Lys Thr Gln Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
- [0544] 100 105 110
- [0545] Leu Val Thr Val Ser Ser

- [0546] 115  
[0547] <210> 43  
[0548] <211> 5  
[0549] <212> PRT  
[0550] <213> 人工序列  
[0551] <220>  
[0552] <223> 人工序列的描述:CSPG5202的HCDR1的氨基酸序列  
[0553] <400> 43  
[0554] Ser Tyr Ala Met Ser  
[0555] 1 5  
[0556] <210> 44  
[0557] <211> 17  
[0558] <212> PRT  
[0559] <213> 人工序列  
[0560] <220>  
[0561] <223> 人工序列的描述:CSPG5202的HCDR2的氨基酸序列  
[0562] <400> 44  
[0563] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
[0564] 1 5 10 15  
[0565] Gly  
[0566] <210> 45  
[0567] <211> 9  
[0568] <212> PRT  
[0569] <213> 人工序列  
[0570] <220>  
[0571] <223> 人工序列的描述:CSPG5202的HCDR3的氨基酸序列  
[0572] <400> 45  
[0573] Ile Ser Lys Thr Gln Gly Phe Asp Tyr  
[0574] 1 5  
[0575] <210> 46  
[0576] <211> 339  
[0577] <212> DNA  
[0578] <213> 人工序列  
[0579] <220>  
[0580] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5202的VL的碱基序列  
[0581] <400> 46  
[0582] gacatcgta tgacgcaaag tccggattca ctggctgtta gtctggcga acgtgctacg 60  
[0583] atcaactgta aatcctctca aagtgtgctg tatactctca acaataaaaaa ctatctggca 120  
[0584] tggtaccaggc aaaaaccggg tcagccgccc aaactgctga tttactggc atctaccgt 180  
[0585] gaatccggtg tcccggatcg ctttcaggc tcgggtageg gcacggactt caccctgacg 240  
[0586] atcagttccc tgcaagcgg a agatgtggcc gtttattact gtcaacaaag tcggacgcgg 300  
[0587] aggctacgt tcggtcaagg caccaaagtg gaaatcaaa 339

- [0588] <210> 47
- [0589] <211> 113
- [0590] <212> PRT
- [0591] <213> 人工序列
- [0592] <220>
- [0593] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5202的VL的氨基酸序列
- [0594] <400> 47
- [0595] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
- [0596] 1 5 10 15
- [0597] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
- [0598] 20 25 30
- [0599] Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
- [0600] 35 40 45
- [0601] Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
- [0602] 50 55 60
- [0603] Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
- [0604] 65 70 75 80
- [0605] Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
- [0606] 85 90 95
- [0607] Ser Arg Thr Arg Arg Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
- [0608] 100 105 110
- [0609] Lys
- [0610] <210> 48
- [0611] <211> 17
- [0612] <212> PRT
- [0613] <213> 人工序列
- [0614] <220>
- [0615] <223> 人工序列的描述:CSPG5202的LCDR1的氨基酸序列
- [0616] <400> 48
- [0617] Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
- [0618] 1 5 10 15
- [0619] Ala
- [0620] <210> 49
- [0621] <211> 7
- [0622] <212> PRT
- [0623] <213> 人工序列
- [0624] <220>
- [0625] <223> 人工序列的描述:CSPG5202的LCDR2的氨基酸序列
- [0626] <400> 49
- [0627] Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
- [0628] 1 5
- [0629] <210> 50

- [0630] <211> 9  
 [0631] <212> PRT  
 [0632] <213> 人工序列  
 [0633] <220>  
 [0634] <223> 人工序列的描述:CSPG5202的LCDR3的氨基酸序列  
 [0635] <400> 50  
 [0636] Gln Gln Ser Arg Thr Arg Arg Pro Thr  
 [0637] 1 5  
 [0638] <210> 51  
 [0639] <211> 354  
 [0640] <212> DNA  
 [0641] <213> 人工序列  
 [0642] <220>  
 [0643] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5205的VH的碱基序列  
 [0644] <400> 51  
 [0645] gaagtccaaac tgctggaaatc ggggtgggtt ctggtgcaac cgggcggctc gtcgcgtctg 60  
 [0646] tcatgtgctg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120  
 [0647] ccgggtaaag gtctggaaatg ggttagcgca attagtgct ccggcggttag cacctattac 180  
 [0648] gccgattctg ttaaaggctcg tttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240  
 [0649] ctgcagatga acagtctgcg cgcaagaat accgctgtct attactgcgc aaaaactaag 300  
 [0650] ccgaataatg ctttcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagc 354  
 [0651] <210> 52  
 [0652] <211> 118  
 [0653] <212> PRT  
 [0654] <213> 人工序列  
 [0655] <220>  
 [0656] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5205的VH的氨基酸序列  
 [0657] <400> 52  
 [0658] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 [0659] 1 5 10 15  
 [0660] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 [0661] 20 25 30  
 [0662] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [0663] 35 40 45  
 [0664] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 [0665] 50 55 60  
 [0666] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 [0667] 65 70 75 80  
 [0668] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [0669] 85 90 95  
 [0670] Ala Lys Thr Lys Pro Asn Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 [0671] 100 105 110

- [0672] Leu Val Thr Val Ser Ser  
[0673] 115  
[0674] <210> 53  
[0675] <211> 5  
[0676] <212> PRT  
[0677] <213> 人工序列  
[0678] <220>  
[0679] <223> 人工序列的描述:CSPG5205的HCDR1的氨基酸序列  
[0680] <400> 53  
[0681] Ser Tyr Ala Met Ser  
[0682] 1 5  
[0683] <210> 54  
[0684] <211> 17  
[0685] <212> PRT  
[0686] <213> 人工序列  
[0687] <220>  
[0688] <223> 人工序列的描述:CSPG5205的HCDR2的氨基酸序列  
[0689] <400> 54  
[0690] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
[0691] 1 5 10 15  
[0692] Gly  
[0693] <210> 55  
[0694] <211> 9  
[0695] <212> PRT  
[0696] <213> 人工序列  
[0697] <220>  
[0698] <223> 人工序列的描述:CSPG5205的HCDR3的氨基酸序列  
[0699] <400> 55  
[0700] Thr Lys Pro Asn Asn Ala Phe Asp Tyr  
[0701] 1 5  
[0702] <210> 56  
[0703] <211> 339  
[0704] <212> DNA  
[0705] <213> 人工序列  
[0706] <220>  
[0707] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5205的VL的碱基序列  
[0708] <400> 56  
[0709] gacatcgta tgacgcaaag tccggattca ctggctgtt gtctggcga acgtgctacg 60  
[0710] atcaactgta aatcctctca aagtgtgctg tatagctcta acaataaaaa ctagtggca 120  
[0711] tggtaccaggc aaaaacctgg tcagccgcgg aaactgctga tttactggc atctaccgt 180  
[0712] gaatccggtg tcccggatcg ctttcaggc tcgggtagcg gcacggactt caccctgacg 240  
[0713] atcagttccc tgcaagcgga agatgtggcc gtttattact gtcaacaac ggcgactcag 300

- [0714] ccgcttacgt tcggtaagg caccaaagtg gaaatcaaa 339
- [0715] <210> 57
- [0716] <211> 113
- [0717] <212> PRT
- [0718] <213> 人工序列
- [0719] <220>
- [0720] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5205的VL的氨基酸序列
- [0721] <400> 57
- [0722] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
- |        |   |   |    |    |
|--------|---|---|----|----|
| [0723] | 1 | 5 | 10 | 15 |
|--------|---|---|----|----|
- [0724] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
- |        |    |    |    |
|--------|----|----|----|
| [0725] | 20 | 25 | 30 |
|--------|----|----|----|
- [0726] Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
- |        |    |    |    |
|--------|----|----|----|
| [0727] | 35 | 40 | 45 |
|--------|----|----|----|
- [0728] Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
- |        |    |    |    |
|--------|----|----|----|
| [0729] | 50 | 55 | 60 |
|--------|----|----|----|
- [0730] Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
- |        |    |    |    |    |
|--------|----|----|----|----|
| [0731] | 65 | 70 | 75 | 80 |
|--------|----|----|----|----|
- [0732] Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
- |        |    |    |    |
|--------|----|----|----|
| [0733] | 85 | 90 | 95 |
|--------|----|----|----|
- [0734] Thr Ala Thr Gln Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
- |        |     |     |     |
|--------|-----|-----|-----|
| [0735] | 100 | 105 | 110 |
|--------|-----|-----|-----|
- [0736] Lys
- [0737] <210> 58
- [0738] <211> 17
- [0739] <212> PRT
- [0740] <213> 人工序列
- [0741] <220>
- [0742] <223> 人工序列的描述:CSPG5205的LCDR1的氨基酸序列
- [0743] <400> 58
- [0744] Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
- |        |   |   |    |    |
|--------|---|---|----|----|
| [0745] | 1 | 5 | 10 | 15 |
|--------|---|---|----|----|
- [0746] Ala
- [0747] <210> 59
- [0748] <211> 7
- [0749] <212> PRT
- [0750] <213> 人工序列
- [0751] <220>
- [0752] <223> 人工序列的描述:CSPG5205的LCDR2的氨基酸序列
- [0753] <400> 59
- [0754] Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
- [0755] 1 5

- [0756] <210> 60  
 [0757] <211> 9  
 [0758] <212> PRT  
 [0759] <213> 人工序列  
 [0760] <220>  
 [0761] <223> 人工序列的描述:CSPG5205的LCDR3的氨基酸序列  
 [0762] <400> 60  
 [0763] Gln Gln Thr Ala Thr Gln Pro Leu Thr  
 [0764] 1 5  
 [0765] <210> 61  
 [0766] <211> 351  
 [0767] <212> DNA  
 [0768] <213> 人工序列  
 [0769] <220>  
 [0770] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5206的VH的碱基序列  
 [0771] <400> 61  
 [0772] gaagtccaaac tgctggaaatc gggtggtgg ctggtgcaac cggcggttc gctgcgtctg 60  
 [0773] tcatgtgctg cgtcgggctt tacctttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120  
 [0774] ccgggtaaag gtctggaaatg ggttagcgca attagtggtt ccggcggttag cacctattac 180  
 [0775] gccgattctg ttaaaggctcg tttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240  
 [0776] ctgcagatga acagtctgcg cgcaagaat accgctgtct attactgcgc aaaaaagcgg 300  
 [0777] tcgctggcgt tcgactactg gggccaaggtt acgctggta cggttagcag c 351  
 [0778] <210> 62  
 [0779] <211> 117  
 [0780] <212> PRT  
 [0781] <213> 人工序列  
 [0782] <220>  
 [0783] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5206的VH的氨基酸序列  
 [0784] <400> 62  
 [0785] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 [0786] 1 5 10 15  
 [0787] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 [0788] 20 25 30  
 [0789] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [0790] 35 40 45  
 [0791] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 [0792] 50 55 60  
 [0793] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 [0794] 65 70 75 80  
 [0795] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [0796] 85 90 95  
 [0797] Ala Lys Lys Arg Ser Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

[0798]	100	105	110
[0799]	Val Thr Val Ser Ser		
[0800]	115		
[0801]	<210> 63		
[0802]	<211> 5		
[0803]	<212> PRT		
[0804]	<213> 人工序列		
[0805]	<220>		
[0806]	<223> 人工序列的描述:CSPG5206的HCDR1的氨基酸序列		
[0807]	<400> 63		
[0808]	Ser Tyr Ala Met Ser		
[0809]	1 5		
[0810]	<210> 64		
[0811]	<211> 17		
[0812]	<212> PRT		
[0813]	<213> 人工序列		
[0814]	<220>		
[0815]	<223> 人工序列的描述:CSPG5206的HCDR2的氨基酸序列		
[0816]	<400> 64		
[0817]	Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
[0818]	1 5 10 15		
[0819]	Gly		
[0820]	<210> 65		
[0821]	<211> 8		
[0822]	<212> PRT		
[0823]	<213> 人工序列		
[0824]	<220>		
[0825]	<223> 人工序列的描述:CSPG5206的HCDR3的氨基酸序列		
[0826]	<400> 65		
[0827]	Lys Arg Ser Leu Ala Phe Asp Tyr		
[0828]	1 5		
[0829]	<210> 66		
[0830]	<211> 333		
[0831]	<212> DNA		
[0832]	<213> 人工序列		
[0833]	<220>		
[0834]	<223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5206的VL的碱基序列		
[0835]	<400> 66		
[0836]	caatcggtct tgacccaacc ggcaagtgtc tctggttctc cgggtcaatc aatcacgatc 60		
[0837]	tcctgtacgg gtacacctac ggatgtcaac ggctataatt acgtcagctg gtatcagcaa 120		
[0838]	tacgcggta aagccccgaa actgattatc tttgatgtta gtaaacgtcc gtcgggcgtt 180		
[0839]	agcaaccgct tcagtggctc caaatcaggt gacaccgcct ctctgacgat ttccgggtctg 240		

- [0840] caggcagaag atgaagctga ctatcattgc agctttaca atcgtaagag gccggccggtc 300
- [0841] ctgtttggtg gtggcaccaa actgaccgtt ctg 333
- [0842] <210> 67
- [0843] <211> 111
- [0844] <212> PRT
- [0845] <213> 人工序列
- [0846] <220>
- [0847] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5206的VL的氨基酸序列
- [0848] <400> 67
- [0849] Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
[0850] 1 5 10 15
- [0851] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr  
[0852] 20 25 30
- [0853] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
[0854] 35 40 45
- [0855] Ile Ile Phe Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
[0856] 50 55 60
- [0857] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
[0858] 65 70 75 80
- [0859] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Ser Ser Tyr Asn Arg Lys  
[0860] 85 90 95
- [0861] Arg Pro Pro Val Leu Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
[0862] 100 105 110
- [0863] <210> 68
- [0864] <211> 14
- [0865] <212> PRT
- [0866] <213> 人工序列
- [0867] <220>
- [0868] <223> 人工序列的描述:CSPG5206的LCDR1的氨基酸序列
- [0869] <400> 68
- [0870] Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr Asn Tyr Val Ser  
[0871] 1 5 10
- [0872] <210> 69
- [0873] <211> 7
- [0874] <212> PRT
- [0875] <213> 人工序列
- [0876] <220>
- [0877] <223> 人工序列的描述:CSPG5206的LCDR2的氨基酸序列
- [0878] <400> 69
- [0879] Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser
- [0880] 1 5
- [0881] <210> 70

- [0882] <211> 11  
[0883] <212> PRT  
[0884] <213> 人工序列  
[0885] <220>  
[0886] <223> 人工序列的描述:CSPG5206的LCDR3的氨基酸序列  
[0887] <400> 70  
[0888] Ser Ser Tyr Asn Arg Lys Arg Pro Pro Val Leu  
[0889] 1 5 10  
[0890] <210> 71  
[0891] <211> 354  
[0892] <212> DNA  
[0893] <213> 人工序列  
[0894] <220>  
[0895] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5207的VH的碱基序列  
[0896] <400> 71  
[0897] gaagtccaaac tgctggaaatc ggggtgggtt ctggtgcaac cgggcggctc gtcgcgtctg 60  
[0898] tcatgtgctg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120  
[0899] ccgggttaaag gtctggaaatg ggttagcgca attagtggct ccggcggttag cacctattac 180  
[0900] gccgattctg ttaaaggctcg tttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240  
[0901] ctgcagatga acagtctgcg cgcaagaat accgctgtct attactgcgc aaaatgggct 300  
[0902] cgacttcgc cttdcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagc 354  
[0903] <210> 72  
[0904] <211> 118  
[0905] <212> PRT  
[0906] <213> 人工序列  
[0907] <220>  
[0908] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5207的VH的氨基酸序列  
[0909] <400> 72  
[0910] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
[0911] 1 5 10 15  
[0912] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
[0913] 20 25 30  
[0914] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
[0915] 35 40 45  
[0916] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
[0917] 50 55 60  
[0918] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
[0919] 65 70 75 80  
[0920] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
[0921] 85 90 95  
[0922] Ala Lys Trp Ala Arg Thr Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
[0923] 100 105 110

- [0924] Leu Val Thr Val Ser Ser
- [0925] 115
- [0926] <210> 73
- [0927] <211> 5
- [0928] <212> PRT
- [0929] <213> 人工序列
- [0930] <220>
- [0931] <223> 人工序列的描述:CSPG5207的HCDR1的氨基酸序列
- [0932] <400> 73
- [0933] Ser Tyr Ala Met Ser
- [0934] 1 5
- [0935] <210> 74
- [0936] <211> 17
- [0937] <212> PRT
- [0938] <213> 人工序列
- [0939] <220>
- [0940] <223> 人工序列的描述:CSPG5207的HCDR2的氨基酸序列
- [0941] <400> 74
- [0942] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
- |        |   |   |    |    |
|--------|---|---|----|----|
| [0943] | 1 | 5 | 10 | 15 |
|--------|---|---|----|----|
- [0944] Gly
- [0945] <210> 75
- [0946] <211> 9
- [0947] <212> PRT
- [0948] <213> 人工序列
- [0949] <220>
- [0950] <223> 人工序列的描述:CSPG5207的HCDR3的氨基酸序列
- [0951] <400> 75
- [0952] Trp Ala Arg Thr Ser Pro Phe Asp Tyr
- |        |   |   |
|--------|---|---|
| [0953] | 1 | 5 |
|--------|---|---|
- [0954] <210> 76
- [0955] <211> 333
- [0956] <212> DNA
- [0957] <213> 人工序列
- [0958] <220>
- [0959] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5207的VL的碱基序列
- [0960] <400> 76
- [0961] caatcggtc tgacccaacc ggcaagtgtc tctggttctc cgggtcaatc aatcacgatc 60
- [0962] tcctgtacgg gtacctctac ggatgtcaac ggctataatt acgtcagctg gtatcagcaa 120
- [0963] tacgcggta aagccccgaa actgattatc tttgatgtta gtaaacgtcc gtcggcggtt 180
- [0964] agcaaccgct tcagtggctc caaatcaggt gacaccgcct ctctgacgat ttccgggtctg 240
- [0965] caggcagaag atgaagctga ctatcattgc agcttataca cgccgagtag ggccgcgggtc 300

- [0966] ctgtttggc gtggcacgaa actgaccgtt ctg 333  
 [0967] <210> 77  
 [0968] <211> 111  
 [0969] <212> PRT  
 [0970] <213> 人工序列  
 [0971] <220>  
 [0972] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5207的VL的氨基酸序列  
 [0973] <400> 77  
 [0974] Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
 [0975] 1 5 10 15  
 [0976] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr  
 [0977] 20 25 30  
 [0978] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
 [0979] 35 40 45  
 [0980] Ile Ile Phe Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
 [0981] 50 55 60  
 [0982] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
 [0983] 65 70 75 80  
 [0984] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Ser Ser Tyr Thr Pro Ser  
 [0985] 85 90 95  
 [0986] Arg Ala Arg Val Leu Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 [0987] 100 105 110  
 [0988] <210> 78  
 [0989] <211> 14  
 [0990] <212> PRT  
 [0991] <213> 人工序列  
 [0992] <220>  
 [0993] <223> 人工序列的描述:CSPG5207的LCDR1的氨基酸序列  
 [0994] <400> 78  
 [0995] Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr Asn Tyr Val Ser  
 [0996] 1 5 10  
 [0997] <210> 79  
 [0998] <211> 7  
 [0999] <212> PRT  
 [1000] <213> 人工序列  
 [1001] <220>  
 [1002] <223> 人工序列的描述:CSPG5207的LCDR2的氨基酸序列  
 [1003] <400> 79  
 [1004] Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser  
 [1005] 1 5  
 [1006] <210> 80  
 [1007] <211> 11

- [1008] <212> PRT  
 [1009] <213> 人工序列  
 [1010] <220>  
 [1011] <223> 人工序列的描述:CSPG5207的LCDR3的氨基酸序列  
 [1012] <400> 80  
 [1013] Ser Ser Tyr Thr Pro Ser Arg Ala Arg Val Leu  
 [1014] 1 5 10  
 [1015] <210> 81  
 [1016] <211> 354  
 [1017] <212> DNA  
 [1018] <213> 人工序列  
 [1019] <220>  
 [1020] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5208的VH的碱基序列  
 [1021] <400> 81  
 [1022] gaagtccaaac tgctggaatc gggtggtgg ctggtgcaac cggcggttc gctgcgtctg 60  
 [1023] tcatgtgctg cgtcgggctt taccttagc tcttatgca tgtcctgggt gcgtcaggca 120  
 [1024] ccgggtaaag gtctggaatg ggttagcgca attagtggct ccggcggttag cacctattac 180  
 [1025] gccgattctg ttaaaggctcg tttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240  
 [1026] ctgcagatga acagtctgcg cgcaagaat accgctgtct attactgcgc aaaatatacg 300  
 [1027] agggagggga gtttcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagc 354  
 [1028] <210> 82  
 [1029] <211> 118  
 [1030] <212> PRT  
 [1031] <213> 人工序列  
 [1032] <220>  
 [1033] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5208的VH的氨基酸序列  
 [1034] <400> 82  
 [1035] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 [1036] 1 5 10 15  
 [1037] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 [1038] 20 25 30  
 [1039] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [1040] 35 40 45  
 [1041] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 [1042] 50 55 60  
 [1043] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 [1044] 65 70 75 80  
 [1045] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [1046] 85 90 95  
 [1047] Ala Lys Tyr Thr Arg Glu Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 [1048] 100 105 110  
 [1049] Leu Val Thr Val Ser Ser

- [1050] 115  
[1051] <210> 83  
[1052] <211> 5  
[1053] <212> PRT  
[1054] <213> 人工序列  
[1055] <220>  
[1056] <223> 人工序列的描述:CSPG5208的HCDR1的氨基酸序列  
[1057] <400> 83  
[1058] Ser Tyr Ala Met Ser  
[1059] 1 5  
[1060] <210> 84  
[1061] <211> 17  
[1062] <212> PRT  
[1063] <213> 人工序列  
[1064] <220>  
[1065] <223> 人工序列的描述:CSPG5208的HCDR2的氨基酸序列  
[1066] <400> 84  
[1067] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
[1068] 1 5 10 15  
[1069] Gly  
[1070] <210> 85  
[1071] <211> 9  
[1072] <212> PRT  
[1073] <213> 人工序列  
[1074] <220>  
[1075] <223> 人工序列的描述:CSPG5208的HCDR3的氨基酸序列  
[1076] <400> 85  
[1077] Tyr Thr Arg Glu Gly Ser Phe Asp Tyr  
[1078] 1 5  
[1079] <210> 86  
[1080] <211> 339  
[1081] <212> DNA  
[1082] <213> 人工序列  
[1083] <220>  
[1084] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5208的VL的碱基序列  
[1085] <400> 86  
[1086] gacatcgta tgacgcaaag tccggattca ctggctgtta gtctggcga acgtgctacg 60  
[1087] atcaactgta aatcctctca aagtgtgctg tatactctca acaataaaaaa ctatctggca 120  
[1088] tggtaccaggc aaaaaccggg tcagccgccc aaactgctga tttactggc atctaccgt 180  
[1089] gaatccggtg tcccggatcg ctttcaggc tcgggtageg gcacggactt caccctgacg 240  
[1090] atcagttccc tgcaagcgg a agatgtggcc gtttattact gtcaacaagc gctggagcgg 300  
[1091] gcgccgacgt tcggtcaagg caccaaagtg gaaatcaa 339

- [1092] <210> 87
- [1093] <211> 113
- [1094] <212> PRT
- [1095] <213> 人工序列
- [1096] <220>
- [1097] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5208的VL的氨基酸序列
- [1098] <400> 87
- [1099] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
[1100] 1 5 10 15
- [1101] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser  
[1102] 20 25 30
- [1103] Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
[1104] 35 40 45
- [1105] Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
[1106] 50 55 60
- [1107] Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
[1108] 65 70 75 80
- [1109] Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln  
[1110] 85 90 95
- [1111] Ala Leu Glu Arg Ala Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
[1112] 100 105 110
- [1113] Lys
- [1114] <210> 88
- [1115] <211> 17
- [1116] <212> PRT
- [1117] <213> 人工序列
- [1118] <220>
- [1119] <223> 人工序列的描述:CSPG5208的LCDR1的氨基酸序列
- [1120] <400> 88
- [1121] Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu  
[1122] 1 5 10 15
- [1123] Ala
- [1124] <210> 89
- [1125] <211> 7
- [1126] <212> PRT
- [1127] <213> 人工序列
- [1128] <220>
- [1129] <223> 人工序列的描述:CSPG5208的LCDR2的氨基酸序列
- [1130] <400> 89
- [1131] Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
- [1132] 1 5
- [1133] <210> 90

- [1134] <211> 9  
 [1135] <212> PRT  
 [1136] <213> 人工序列  
 [1137] <220>  
 [1138] <223> 人工序列的描述:CSPG5208的LCDR3的氨基酸序列  
 [1139] <400> 90  
 [1140] Gln Gln Ala Leu Glu Arg Ala Pro Thr  
 [1141] 1 5  
 [1142] <210> 91  
 [1143] <211> 354  
 [1144] <212> DNA  
 [1145] <213> 人工序列  
 [1146] <220>  
 [1147] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5214的VH的碱基序列  
 [1148] <400> 91  
 [1149] gaagtccaaac tgctggaaatc ggggtgggtt ctggtgcaac cgggcggctc gctgcgtctg 60  
 [1150] tcatgtgctg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120  
 [1151] ccgggttaaag gtctggaaatg ggttagcgca attagtggct ccggcggtag cacctattac 180  
 [1152] gccgattctg ttaaaggctcg tttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240  
 [1153] ctgcagatga acagtctgcg cgcaagaat accgctgtct attactgcgc aaaaacgcgg 300  
 [1154] aggactacta tgttcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagc 354  
 [1155] <210> 92  
 [1156] <211> 118  
 [1157] <212> PRT  
 [1158] <213> 人工序列  
 [1159] <220>  
 [1160] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5214的VH的氨基酸序列  
 [1161] <400> 92  
 [1162] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 [1163] 1 5 10 15  
 [1164] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 [1165] 20 25 30  
 [1166] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [1167] 35 40 45  
 [1168] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 [1169] 50 55 60  
 [1170] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 [1171] 65 70 75 80  
 [1172] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [1173] 85 90 95  
 [1174] Ala Lys Thr Arg Arg Thr Thr Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 [1175] 100 105 110

- [1176] Leu Val Thr Val Ser Ser
- [1177] 115
- [1178] <210> 93
- [1179] <211> 5
- [1180] <212> PRT
- [1181] <213> 人工序列
- [1182] <220>
- [1183] <223> 人工序列的描述:CSPG5214的HCDR1的氨基酸序列
- [1184] <400> 93
- [1185] Ser Tyr Ala Met Ser
- [1186] 1 5
- [1187] <210> 94
- [1188] <211> 17
- [1189] <212> PRT
- [1190] <213> 人工序列
- [1191] <220>
- [1192] <223> 人工序列的描述:CSPG5214的HCDR2的氨基酸序列
- [1193] <400> 94
- [1194] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
- |        |   |   |    |    |
|--------|---|---|----|----|
| [1195] | 1 | 5 | 10 | 15 |
|--------|---|---|----|----|
- [1196] Gly
- [1197] <210> 95
- [1198] <211> 9
- [1199] <212> PRT
- [1200] <213> 人工序列
- [1201] <220>
- [1202] <223> 人工序列的描述:CSPG5214的HCDR3的氨基酸序列
- [1203] <400> 95
- [1204] Thr Arg Arg Thr Thr Met Phe Asp Tyr
- |        |   |   |
|--------|---|---|
| [1205] | 1 | 5 |
|--------|---|---|
- [1206] <210> 96
- [1207] <211> 333
- [1208] <212> DNA
- [1209] <213> 人工序列
- [1210] <220>
- [1211] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5214的VL的碱基序列
- [1212] <400> 96
- [1213] caatcggtc tgacccaacc ggcaagtgtc tctggttctc cgggtcaatc aatcacgatc 60
- [1214] tcctgtacgg gtacctctac ggatgtcaac ggctataatt acgtcagctg gtatcagcaa 120
- [1215] tacgcggta aagccccgaa actgattatc tttgatgtta gtaaacgtcc gtcgggcgtt 180
- [1216] agcaaccgct tcagtggctc caaatcaggt gacaccgcct ctctgacgat ttccgggtctg 240
- [1217] caggcagaag atgaagctga ctatcattgc agcttataca atccgcata tcgggtgtc 300

- [1218] ctgtttggc gtggcacgaa actgaccgtt ctg 333  
 [1219] <210> 97  
 [1220] <211> 111  
 [1221] <212> PRT  
 [1222] <213> 人工序列  
 [1223] <220>  
 [1224] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5214的VL的氨基酸序列  
 [1225] <400> 97  
 [1226] Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
 [1227] 1 5 10 15  
 [1228] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr  
 [1229] 20 25 30  
 [1230] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
 [1231] 35 40 45  
 [1232] Ile Ile Phe Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
 [1233] 50 55 60  
 [1234] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
 [1235] 65 70 75 80  
 [1236] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Ser Ser Tyr Asn Pro His  
 [1237] 85 90 95  
 [1238] His Ser Gly Val Leu Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 [1239] 100 105 110  
 [1240] <210> 98  
 [1241] <211> 14  
 [1242] <212> PRT  
 [1243] <213> 人工序列  
 [1244] <220>  
 [1245] <223> 人工序列的描述:CSPG5214的LCDR1的氨基酸序列  
 [1246] <400> 98  
 [1247] Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr Asn Tyr Val Ser  
 [1248] 1 5 10  
 [1249] <210> 99  
 [1250] <211> 7  
 [1251] <212> PRT  
 [1252] <213> 人工序列  
 [1253] <220>  
 [1254] <223> 人工序列的描述:CSPG5214的LCDR2的氨基酸序列  
 [1255] <400> 99  
 [1256] Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser  
 [1257] 1 5  
 [1258] <210> 100  
 [1259] <211> 11

- [1260] <212> PRT  
 [1261] <213> 人工序列  
 [1262] <220>  
 [1263] <223> 人工序列的描述:CSPG5214的LCDR3的氨基酸序列  
 [1264] <400> 100  
 [1265] Ser Ser Tyr Asn Pro His His Ser Gly Val Leu  
 [1266] 1 5 10  
 [1267] <210> 101  
 [1268] <211> 354  
 [1269] <212> DNA  
 [1270] <213> 人工序列  
 [1271] <220>  
 [1272] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5219的VH的碱基序列  
 [1273] <400> 101  
 [1274] gaagtccaaac tgctggaatc gggtggtggt ctggtgcaac cggcggtctc gctgcgtctg 60  
 [1275] tcatgtgctg cgtcgggctt taccttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120  
 [1276] ccgggtaaag gtctggaatg ggttagcgca attagtggct ccggcggttag cacctattac 180  
 [1277] gccgattctg ttaaaggctcg tttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240  
 [1278] ctgcagatga acagtctgct cgccagaagat accgctgtct attactgcgc aaaaatgaat 300  
 [1279] tcgtggcgtg cgttcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagc 354  
 [1280] <210> 102  
 [1281] <211> 118  
 [1282] <212> PRT  
 [1283] <213> 人工序列  
 [1284] <220>  
 [1285] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5219的VH的氨基酸序列  
 [1286] <400> 102  
 [1287] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 [1288] 1 5 10 15  
 [1289] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 [1290] 20 25 30  
 [1291] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [1292] 35 40 45  
 [1293] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 [1294] 50 55 60  
 [1295] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 [1296] 65 70 75 80  
 [1297] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [1298] 85 90 95  
 [1299] Ala Lys Met Asn Ser Trp Arg Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 [1300] 100 105 110  
 [1301] Leu Val Thr Val Ser Ser

- [1302] 115  
[1303] <210> 103  
[1304] <211> 5  
[1305] <212> PRT  
[1306] <213> 人工序列  
[1307] <220>  
[1308] <223> 人工序列的描述:CSPG5219的HCDR1的氨基酸序列  
[1309] <400> 103  
[1310] Ser Tyr Ala Met Ser  
[1311] 1 5  
[1312] <210> 104  
[1313] <211> 17  
[1314] <212> PRT  
[1315] <213> 人工序列  
[1316] <220>  
[1317] <223> 人工序列的描述:CSPG5219的HCDR2的氨基酸序列  
[1318] <400> 104  
[1319] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
[1320] 1 5 10 15  
[1321] Gly  
[1322] <210> 105  
[1323] <211> 9  
[1324] <212> PRT  
[1325] <213> 人工序列  
[1326] <220>  
[1327] <223> 人工序列的描述:CSPG5219的HCDR3的氨基酸序列  
[1328] <400> 105  
[1329] Met Asn Ser Trp Arg Ala Phe Asp Tyr  
[1330] 1 5  
[1331] <210> 106  
[1332] <211> 324  
[1333] <212> DNA  
[1334] <213> 人工序列  
[1335] <220>  
[1336] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5219的VL的碱基序列  
[1337] <400> 106  
[1338] gaaatcgttc tgacgcaatc tccgggtacg ctgtccctga gtccgggcga acgtgcaacc 60  
[1339] ctgtcctgtc gcgcattcgca atccgtgagc tctagttatc tggcatggta ccagcaaaaa 120  
[1340] ccgggtcagg ctccgcgtct gctgatttat ggtgcaccc cacgtgcaac cggtatcccc 180  
[1341] gatcgctttt cgggcagcgg ttctggcacg gacttcaccc tgacgatttc ccgcctggaa 240  
[1342] ccggaagatt ttgccgtgta ttactgtcaa caacttcgga ggaaggggtc gaccttcgg 300  
[1343] cagggcagca aagtggaaat caaa 324

- [1344] <210> 107  
[1345] <211> 108  
[1346] <212> PRT  
[1347] <213> 人工序列  
[1348] <220>  
[1349] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5219的VL的氨基酸序列  
[1350] <400> 107  
[1351] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
[1352] 1 5 10 15  
[1353] Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
[1354] 20 25 30  
[1355] Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
[1356] 35 40 45  
[1357] Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
[1358] 50 55 60  
[1359] Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
[1360] 65 70 75 80  
[1361] Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Arg Arg Lys Gly  
[1362] 85 90 95  
[1363] Ser Thr Phe Gly Gln Gly Ser Lys Val Glu Ile Lys  
[1364] 100 105  
[1365] <210> 108  
[1366] <211> 12  
[1367] <212> PRT  
[1368] <213> 人工序列  
[1369] <220>  
[1370] <223> 人工序列的描述:CSPG5219的LCDR1的氨基酸序列  
[1371] <400> 108  
[1372] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala  
[1373] 1 5 10  
[1374] <210> 109  
[1375] <211> 7  
[1376] <212> PRT  
[1377] <213> 人工序列  
[1378] <220>  
[1379] <223> 人工序列的描述:CSPG5219的LCDR2的氨基酸序列  
[1380] <400> 109  
[1381] Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr  
[1382] 1 5  
[1383] <210> 110  
[1384] <211> 9  
[1385] <212> PRT

- [1386] <213> 人工序列
- [1387] <220>
- [1388] <223> 人工序列的描述:CSPG5219的LCDR3的氨基酸序列
- [1389] <400> 110
- [1390] Gln Gln Leu Arg Arg Lys Gly Ser Thr
- [1391] 1 5
- [1392] <210> 111
- [1393] <211> 354
- [1394] <212> DNA
- [1395] <213> 人工序列
- [1396] <220>
- [1397] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5222的VH的氨基酸序列
- [1398] <400> 111
- [1399] gaagtccaac tgctggaaatc gggtggtggt ctggtgcaac cggcggttc gctgcgtctg 60
- [1400] tcatgtgctg cgtcgggctt taccttagc tcttatgaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120
- [1401] ccgggtaaag gtctggaaatg gtttagcgca attatggct ccggcggtag cacctattac 180
- [1402] gccgattctg tttaaaggctcg ttttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240
- [1403] ctgcagatga acagtctgcg cgcagaagat accgctgtct attactgcgc aaaaattaag 300
- [1404] cagacggggg ctttcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagc 354
- [1405] <210> 112
- [1406] <211> 118
- [1407] <212> PRT
- [1408] <213> 人工序列
- [1409] <220>
- [1410] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5222的VH的氨基酸序列
- [1411] <400> 112
- [1412] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
- [1413] 1 5 10 15
- [1414] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30
- [1415] 35 40 45
- [1416] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
- [1417] 50 55 60
- [1418] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
- [1419] 65 70 75 80
- [1420] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
- [1421] 85 90 95
- [1422] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
- [1423] Ala Lys Ile Lys Gln Thr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110
- [1424] Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

- [1428] <210> 113  
[1429] <211> 5  
[1430] <212> PRT  
[1431] <213> 人工序列  
[1432] <220>  
[1433] <223> 人工序列的描述:CSPG5222的HCDR1的氨基酸序列  
[1434] <400> 113  
[1435] Ser Tyr Ala Met Ser  
[1436] 1 5  
[1437] <210> 114  
[1438] <211> 17  
[1439] <212> PRT  
[1440] <213> 人工序列  
[1441] <220>  
[1442] <223> 人工序列的描述:CSPG5222的HCDR2的氨基酸序列  
[1443] <400> 114  
[1444] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
[1445] 1 5 10 15  
[1446] Gly  
[1447] <210> 115  
[1448] <211> 9  
[1449] <212> PRT  
[1450] <213> 人工序列  
[1451] <220>  
[1452] <223> 人工序列的描述:CSPG5222的HCDR3的氨基酸序列  
[1453] <400> 115  
[1454] Ile Lys Gln Thr Gly Ala Phe Asp Tyr  
[1455] 1 5  
[1456] <210> 116  
[1457] <211> 339  
[1458] <212> DNA  
[1459] <213> 人工序列  
[1460] <220>  
[1461] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5222的VL的碱基序列  
[1462] <400> 116  
[1463] gacatcgta tgacgcaaag tccggattca ctggctgtta gtctggcga acgtgctacg 60  
[1464] atcaactgta aatcctctca aagtgtgctg tatagctcta acaataaaaaa ctatctggca 120  
[1465] tggtaccagc aaaaaccggg tcagccgccg aaactgctga tttactggc atctaccgt 180  
[1466] gaatccggtg tcccggatcg ctttcaggc tcggtagcg gcacggactt caccctgacg 240  
[1467] atcagttccc tgcaagcgga agatgtggcc gtttattact gtcaacaact tgtgcagggg 300  
[1468] ccggccgacgt tcggtcaagg caccaaagtg gaaatcaaa 339  
[1469] <210> 117

- [1470] <211> 113  
 [1471] <212> PRT  
 [1472] <213> 人工序列  
 [1473] <220>  
 [1474] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5222的VL的氨基酸序列  
 [1475] <400> 117  
 [1476] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
 [1477] 1 5 10 15  
 [1478] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser  
 [1479] 20 25 30  
 [1480] Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
 [1481] 35 40 45  
 [1482] Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
 [1483] 50 55 60  
 [1484] Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 [1485] 65 70 75 80  
 [1486] Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 [1487] 85 90 95  
 [1488] Leu Val Gln Gly Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
 [1489] 100 105 110  
 [1490] Lys  
 [1491] <210> 118  
 [1492] <211> 17  
 [1493] <212> PRT  
 [1494] <213> 人工序列  
 [1495] <220>  
 [1496] <223> 人工序列的描述:CSPG5222的LCDR1的氨基酸序列  
 [1497] <400> 118  
 [1498] Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu  
 [1499] 1 5 10 15  
 [1500] Ala  
 [1501] <210> 119  
 [1502] <211> 7  
 [1503] <212> PRT  
 [1504] <213> 人工序列  
 [1505] <220>  
 [1506] <223> 人工序列的描述:CSPG5222的LCDR2的氨基酸序列  
 [1507] <400> 119  
 [1508] Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
 [1509] 1 5  
 [1510] <210> 120  
 [1511] <211> 9

- [1512] <212> PRT  
 [1513] <213> 人工序列  
 [1514] <220>  
 [1515] <223> 人工序列的描述:CSPG5222的LCDR3的氨基酸序列  
 [1516] <400> 120  
 [1517] Gln Gln Leu Val Gln Gly Pro Pro Thr  
 [1518] 1 5  
 [1519] <210> 121  
 [1520] <211> 354  
 [1521] <212> DNA  
 [1522] <213> 人工序列  
 [1523] <220>  
 [1524] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5227的VH的氨基酸序列  
 [1525] <400> 121  
 [1526] gaagtccaaac tgctggaatc gggtggttgt ctggtgcaac cggcggtctc gctgcgtctg 60  
 [1527] tcatgtgctg cgtcgggctt taccttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120  
 [1528] ccgggtaaag gtctggaatg ggttagcgca attagtggct ccggcggttag cacctattac 180  
 [1529] gccgattctg ttaaaggctcg tttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240  
 [1530] ctgcagatga acagtctgcg cgcaagaat accgctgtct attactgcgc aaaactgaag 300  
 [1531] cgactcagg gtttcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagc 354  
 [1532] <210> 122  
 [1533] <211> 118  
 [1534] <212> PRT  
 [1535] <213> 人工序列  
 [1536] <220>  
 [1537] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5227的VH的氨基酸序列  
 [1538] <400> 122  
 [1539] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 [1540] 1 5 10 15  
 [1541] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 [1542] 20 25 30  
 [1543] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [1544] 35 40 45  
 [1545] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 [1546] 50 55 60  
 [1547] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 [1548] 65 70 75 80  
 [1549] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [1550] 85 90 95  
 [1551] Ala Lys Leu Lys Arg Thr Gln Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 [1552] 100 105 110  
 [1553] Leu Val Thr Val Ser Ser

- [1554] 115  
[1555] <210> 123  
[1556] <211> 5  
[1557] <212> PRT  
[1558] <213> 人工序列  
[1559] <220>  
[1560] <223> 人工序列的描述:CSPG5227的HCDR1的氨基酸序列  
[1561] <400> 123  
[1562] Ser Tyr Ala Met Ser  
[1563] 1 5  
[1564] <210> 124  
[1565] <211> 17  
[1566] <212> PRT  
[1567] <213> 人工序列  
[1568] <220>  
[1569] <223> 人工序列的描述:CSPG5227的HCDR2的氨基酸序列  
[1570] <400> 124  
[1571] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
[1572] 1 5 10 15  
[1573] Gly  
[1574] <210> 125  
[1575] <211> 9  
[1576] <212> PRT  
[1577] <213> 人工序列  
[1578] <220>  
[1579] <223> 人工序列的描述:CSPG5227的HCDR3的氨基酸序列  
[1580] <400> 125  
[1581] Leu Lys Arg Thr Gln Gly Phe Asp Tyr  
[1582] 1 5  
[1583] <210> 126  
[1584] <211> 339  
[1585] <212> DNA  
[1586] <213> 人工序列  
[1587] <220>  
[1588] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5227的VL的碱基序列  
[1589] <400> 126  
[1590] gacatcgta tgacgcaaag tccggattca ctggctgtta gtctggcga acgtgctacg 60  
[1591] atcaactgta aatcctctca aagtgtgctg tatactctca acaataaaaaa ctatctggca 120  
[1592] tggtaccaggc aaaaaccggg tcagccgccc aaactgctga tttactggc atctaccgt 180  
[1593] gaatccggtg tccccggatcg ctttcaggc tcgggtageg gcacggactt caccctgacg 240  
[1594] atcagttccc tgcaagcgg a agatgtggcc gtttattact gtcaacaatc gaatcgtctg 300  
[1595] cctccgacgt tcggtcaagg caccaaagtg gaaatcaaa 339

- [1596] <210> 127  
[1597] <211> 113  
[1598] <212> PRT  
[1599] <213> 人工序列  
[1600] <220>  
[1601] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5227的VL的氨基酸序列  
[1602] <400> 127  
[1603] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
[1604] 1 5 10 15  
[1605] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser  
[1606] 20 25 30  
[1607] Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
[1608] 35 40 45  
[1609] Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
[1610] 50 55 60  
[1611] Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
[1612] 65 70 75 80  
[1613] Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln  
[1614] 85 90 95  
[1615] Ser Asn Arg Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
[1616] 100 105 110  
[1617] Lys  
[1618] <210> 128  
[1619] <211> 17  
[1620] <212> PRT  
[1621] <213> 人工序列  
[1622] <220>  
[1623] <223> 人工序列的描述:CSPG5227的LCDR1的氨基酸序列  
[1624] <400> 128  
[1625] Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu  
[1626] 1 5 10 15  
[1627] Ala  
[1628] <210> 129  
[1629] <211> 7  
[1630] <212> PRT  
[1631] <213> 人工序列  
[1632] <220>  
[1633] <223> 人工序列的描述:CSPG5227的LCDR2的氨基酸序列  
[1634] <400> 129  
[1635] Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
[1636] 1 5  
[1637] <210> 130

- [1638] <211> 9
- [1639] <212> PRT
- [1640] <213> 人工序列
- [1641] <220>
- [1642] <223> 人工序列的描述:CSPG5227的LCDR3的氨基酸序列
- [1643] <400> 130
- [1644] Gln Gln Ser Asn Arg Leu Pro Pro Thr
- [1645] 1 5
- [1646] <210> 131
- [1647] <211> 351
- [1648] <212> DNA
- [1649] <213> 人工序列
- [1650] <220>
- [1651] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5230的VH的氨基酸序列
- [1652] <400> 131
- [1653] gaagtccaaac tgctggaaatc ggggtgggtggt ctggtgcaac cgggcggctc gctgcgtctg 60
- [1654] tcatgtgctg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120
- [1655] ccgggttaaag gtctggaaatg ggttagcgca attagtgct ccggcggtag cacctattac 180
- [1656] gccgattctg tttaaaggctcg ttttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240
- [1657] ctgcagatga acagtctgcg cgcaagaat accgctgtct attactgcgc aaaatcgacg 300
- [1658] ccggcgcggt tcgactactg gggccaaggt acgctggta cggttagcag c 351
- [1659] <210> 132
- [1660] <211> 117
- [1661] <212> PRT
- [1662] <213> 人工序列
- [1663] <220>
- [1664] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5230的VH的氨基酸序列
- [1665] <400> 132
- [1666] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
- [1667] 1 5 10 15
- [1668] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
- [1669] 20 25 30
- [1670] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
- [1671] 35 40 45
- [1672] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
- [1673] 50 55 60
- [1674] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
- [1675] 65 70 75 80
- [1676] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
- [1677] 85 90 95
- [1678] Ala Lys Ser Thr Pro Ala Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
- [1679] 100 105 110

- [1680] Val Thr Val Ser Ser  
[1681] 115  
[1682] <210> 133  
[1683] <211> 5  
[1684] <212> PRT  
[1685] <213> 人工序列  
[1686] <220>  
[1687] <223> 人工序列的描述:CSPG5230的HCDR1的氨基酸序列  
[1688] <400> 133  
[1689] Ser Tyr Ala Met Ser  
[1690] 1 5  
[1691] <210> 134  
[1692] <211> 17  
[1693] <212> PRT  
[1694] <213> 人工序列  
[1695] <220>  
[1696] <223> 人工序列的描述:CSPG5230的HCDR2的氨基酸序列  
[1697] <400> 134  
[1698] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
[1699] 1 5 10 15  
[1700] Gly  
[1701] <210> 135  
[1702] <211> 8  
[1703] <212> PRT  
[1704] <213> 人工序列  
[1705] <220>  
[1706] <223> 人工序列的描述:CSPG5230的HCDR3的氨基酸序列  
[1707] <400> 135  
[1708] Ser Thr Pro Ala Arg Phe Asp Tyr  
[1709] 1 5  
[1710] <210> 136  
[1711] <211> 333  
[1712] <212> DNA  
[1713] <213> 人工序列  
[1714] <220>  
[1715] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5230的VL的碱基序列  
[1716] <400> 136  
[1717] caatcggtc tgacccaacc ggcaagtgtc tctggttctc cgggtcaatc aatcacgatc 60  
[1718] tcctgtacgg gtacctctac ggatgtcaac ggctataatt acgtcagctg gtatcagcaa 120  
[1719] tacgcggta aagccccgaa actgattatc tttgatgtta gtaaacgtcc gtcggcggtt 180  
[1720] agcaaccgct tcagtggctc caaatcaggt gacaccgcct ctctgacgat ttccgggtctg 240  
[1721] caggcagaag atgaagctga ctatcattgc agcttattacc atacgcggcc tgcgactgtc 300

- [1722] ctgtttggc gtggcacgaa actgaccgtt ctg 333
- [1723] <210> 137
- [1724] <211> 111
- [1725] <212> PRT
- [1726] <213> 人工序列
- [1727] <220>
- [1728] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5230的VL的氨基酸序列
- [1729] <400> 137
- [1730] Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
- |        |   |   |    |    |
|--------|---|---|----|----|
| [1731] | 1 | 5 | 10 | 15 |
|--------|---|---|----|----|
- [1732] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr
- |        |    |    |    |
|--------|----|----|----|
| [1733] | 20 | 25 | 30 |
|--------|----|----|----|
- [1734] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu
- |        |    |    |    |
|--------|----|----|----|
| [1735] | 35 | 40 | 45 |
|--------|----|----|----|
- [1736] Ile Ile Phe Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
- |        |    |    |    |
|--------|----|----|----|
| [1737] | 50 | 55 | 60 |
|--------|----|----|----|
- [1738] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
- |        |    |    |    |    |
|--------|----|----|----|----|
| [1739] | 65 | 70 | 75 | 80 |
|--------|----|----|----|----|
- [1740] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Ser Ser Tyr His Thr Arg
- |        |    |    |    |
|--------|----|----|----|
| [1741] | 85 | 90 | 95 |
|--------|----|----|----|
- [1742] Pro Ala Thr Val Leu Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
- |        |     |     |     |
|--------|-----|-----|-----|
| [1743] | 100 | 105 | 110 |
|--------|-----|-----|-----|
- [1744] <210> 138
- [1745] <211> 14
- [1746] <212> PRT
- [1747] <213> 人工序列
- [1748] <220>
- [1749] <223> 人工序列的描述:CSPG5230的LCDR1的氨基酸序列
- [1750] <400> 138
- [1751] Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
- |        |   |   |    |
|--------|---|---|----|
| [1752] | 1 | 5 | 10 |
|--------|---|---|----|
- [1753] <210> 139
- [1754] <211> 7
- [1755] <212> PRT
- [1756] <213> 人工序列
- [1757] <220>
- [1758] <223> 人工序列的描述:CSPG5230的LCDR2的氨基酸序列
- [1759] <400> 139
- [1760] Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser
- |        |   |   |
|--------|---|---|
| [1761] | 1 | 5 |
|--------|---|---|
- [1762] <210> 140
- [1763] <211> 11

- [1764] <212> PRT
- [1765] <213> 人工序列
- [1766] <220>
- [1767] <223> 人工序列的描述:CSPG5230的LCDR3的氨基酸序列
- [1768] <400> 140
- [1769] Ser Ser Tyr His Thr Arg Pro Ala Thr Val Leu
- [1770] 1 5 10
- [1771] <210> 141
- [1772] <211> 354
- [1773] <212> DNA
- [1774] <213> 人工序列
- [1775] <220>
- [1776] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5234的VH的氨基酸序列
- [1777] <400> 141
- [1778] gaagtccaaac tgctggaatc gggtggttgt ctggtgcaac cggcggtctc gctgcgtctg 60
- [1779] tcatgtgctg cgtcgggctt taccttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120
- [1780] ccgggtaaag gtctggaatg ggttagcgca attagtggct ccggcggttag cacctattac 180
- [1781] gccgattctg ttaaaggctcg tttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240
- [1782] ctgcagatga acagtctgcg cgccagaagat accgctgtct attactgcgc aaaaaggcat 300
- [1783] agttatgcgc cttdcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagc 354
- [1784] <210> 142
- [1785] <211> 118
- [1786] <212> PRT
- [1787] <213> 人工序列
- [1788] <220>
- [1789] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5234的VH的氨基酸序列
- [1790] <400> 142
- [1791] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
- [1792] 1 5 10 15
- [1793] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
- [1794] 20 25 30
- [1795] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
- [1796] 35 40 45
- [1797] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
- [1798] 50 55 60
- [1799] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
- [1800] 65 70 75 80
- [1801] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
- [1802] 85 90 95
- [1803] Ala Lys Arg His Ser Tyr Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
- [1804] 100 105 110
- [1805] Leu Val Thr Val Ser Ser

- [1806] 115  
[1807] <210> 143  
[1808] <211> 5  
[1809] <212> PRT  
[1810] <213> 人工序列  
[1811] <220>  
[1812] <223> 人工序列的描述:CSPG5234的HCDR1的氨基酸序列  
[1813] <400> 143  
[1814] Ser Tyr Ala Met Ser  
[1815] 1 5  
[1816] <210> 144  
[1817] <211> 17  
[1818] <212> PRT  
[1819] <213> 人工序列  
[1820] <220>  
[1821] <223> 人工序列的描述:CSPG5234的HCDR2的氨基酸序列  
[1822] <400> 144  
[1823] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
[1824] 1 5 10 15  
[1825] Gly  
[1826] <210> 145  
[1827] <211> 9  
[1828] <212> PRT  
[1829] <213> 人工序列  
[1830] <220>  
[1831] <223> 人工序列的描述:CSPG5234的HCDR3的氨基酸序列  
[1832] <400> 145  
[1833] Arg His Ser Tyr Ala Pro Phe Asp Tyr  
[1834] 1 5  
[1835] <210> 146  
[1836] <211> 333  
[1837] <212> DNA  
[1838] <213> 人工序列  
[1839] <220>  
[1840] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5234的VL的碱基序列  
[1841] <400> 146  
[1842] caatcggtc tgacccaacc ggcaagtgtc tctggttctc cgggtcaatc aatcacgatc 60  
[1843] tcctgtacgg gtacacctac ggatgtcaac ggctataatt acgtcagctg gtatcagcaa 120  
[1844] tacgcggta aagccccaa actgattatc tttgatgtt a gtaaacgtcc gtcggcggt 180  
[1845] agcaaccgct tcagtggctc caaatcaggt gacaccgcct ctctgacgtt ttccggctgt 240  
[1846] caggcagaag atgaagctga ctatcattgc agctcttaca ggccgaaggc taggagtgtc 300  
[1847] ctgtttggtg gtggcacgaa actgaccgtt ctg 333

- [1848] <210> 147  
[1849] <211> 111  
[1850] <212> PRT  
[1851] <213> 人工序列  
[1852] <220>  
[1853] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的CSPG5234的VL的氨基酸序列  
[1854] <400> 147  
[1855] Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
[1856] 1 5 10 15  
[1857] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr  
[1858] 20 25 30  
[1859] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
[1860] 35 40 45  
[1861] Ile Ile Phe Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
[1862] 50 55 60  
[1863] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
[1864] 65 70 75 80  
[1865] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Ser Ser Tyr Arg Pro Lys  
[1866] 85 90 95  
[1867] Ala Arg Ser Val Leu Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
[1868] 100 105 110  
[1869] <210> 148  
[1870] <211> 14  
[1871] <212> PRT  
[1872] <213> 人工序列  
[1873] <220>  
[1874] <223> 人工序列的描述:CSPG5234的LCDR1的氨基酸序列  
[1875] <400> 148  
[1876] Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr Asn Tyr Val Ser  
[1877] 1 5 10  
[1878] <210> 149  
[1879] <211> 7  
[1880] <212> PRT  
[1881] <213> 人工序列  
[1882] <220>  
[1883] <223> 人工序列的描述:CSPG5234的LCDR2的氨基酸序列  
[1884] <400> 149  
[1885] Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser  
[1886] 1 5  
[1887] <210> 150  
[1888] <211> 11  
[1889] <212> PRT

- [1890] <213> 人工序列
- [1891] <220>
- [1892] <223> 人工序列的描述:CSPG5234的LCDR3的氨基酸序列
- [1893] <400> 150
- [1894] Ser Ser Tyr Arg Pro Lys Ala Arg Ser Val Leu
- |        |   |   |    |
|--------|---|---|----|
| [1895] | 1 | 5 | 10 |
|--------|---|---|----|
- [1896] <210> 151
- [1897] <211> 660
- [1898] <212> DNA
- [1899] <213> 人工序列
- [1900] <220>
- [1901] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的pCI\_CSPG5202-hKG4PE(R409K)的轻链抗体序列的碱基序列
- [1902] <400> 151
- [1903] gacatcgta tgacgcaaag tccggattca ctggctgtt gtctggcga acgtgctacg 60
- [1904] atcaactgta aatcctctca aagtgtgctg tatacgctca acaataaaaa ctagtggca 120
- [1905] tggtaccaggc aaaaaccggg tcagccgccc aaactgctga tttactggc atctaccgt 180
- [1906] gaatccggtg tcccgatcg ctttcaggc tcggtagcg gcacggactt caccctgacg 240
- [1907] atcagttccc tgcaagcggg agatgtggcc gtttattact gtcaacaaag tcggacgcgg 300
- [1908] aggccctacgt tcggtcaagg caccaaaatg gaaatcaaac gtacggtagc tgcaccatct 360
- [1909] gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgggtgtgc 420
- [1910] ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgcctc 480
- [1911] caatcgggta actcccgagga gagtgcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc 540
- [1912] ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc 600
- [1913] gaagtccaccc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt 660
- [1914] <210> 152
- [1915] <211> 220
- [1916] <212> PRT
- [1917] <213> 人工序列
- [1918] <220>
- [1919] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的pCI\_CSPG5202-hKG4PE(R409K)的轻链抗体序列的氨基酸序列
- [1920] <400> 152
- [1921] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
- |        |   |   |    |    |
|--------|---|---|----|----|
| [1922] | 1 | 5 | 10 | 15 |
|--------|---|---|----|----|
- [1923] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
- |        |    |    |    |
|--------|----|----|----|
| [1924] | 20 | 25 | 30 |
|--------|----|----|----|
- [1925] Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
- |        |    |    |    |
|--------|----|----|----|
| [1926] | 35 | 40 | 45 |
|--------|----|----|----|
- [1927] Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
- |        |    |    |    |
|--------|----|----|----|
| [1928] | 50 | 55 | 60 |
|--------|----|----|----|
- [1929] Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

[1930]	65	70	75	80
[1931]	Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln			
[1932]		85	90	95
[1933]	Ser Arg Thr Arg Arg Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile			
[1934]		100	105	110
[1935]	Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp			
[1936]		115	120	125
[1937]	Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn			
[1938]		130	135	140
[1939]	Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu			
[1940]		145	150	155
[1941]	Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp			
[1942]		165	170	175
[1943]	Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr			
[1944]		180	185	190
[1945]	Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser			
[1946]		195	200	205
[1947]	Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
[1948]		210	215	220
[1949]	<210> 153			
[1950]	<211> 1335			
[1951]	<212> DNA			
[1952]	<213> 人工序列			
[1953]	<220>			
[1954]	<223> 人工序列的描述:不包括信号序列的pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)的重链抗体序列的碱基序列			
[1955]	<400> 153			
[1956]	gaagtccaaatc tgctggaaatc ggggtgggtt ctgggtcaac cggggcggttc gctgcgtctg 60			
[1957]	tcatgtgctg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120			
[1958]	ccgggttaaag gtctggaaatg gtttagcgca attagtgctt ccggcggttag cacctattac 180			
[1959]	gccgattctg tttaaaggctcg ttttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaaa tacgctgtat 240			
[1960]	ctgcagatga acagtctcg cgccagaagat accgctgtctt attactgcgc aaaaatttagt 300			
[1961]	aagacgcagg gtttcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagcgctagc 360			
[1962]	accaaggggc catccgtt cccctggcg ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca 420			
[1963]	gccgccttgg gctgccttggt caaggactac ttccccgaac cgggtacgggt gtcgtggaaac 480			
[1964]	tcaggcgccc tgaccagcgg cgtcacacc ttcccggtcg tcctacagtc ctcaggactc 540			
[1965]	tactccctca gcagcgttgtt gaccgtgcc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc 600			
[1966]	tgcaacgttag atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagttga gtccaaatat 660			
[1967]	ggtcccccat gcccaccatg cccagcacct gagttcgagg ggggaccatc agtcttcctg 720			
[1968]	ttccccccaa aacccaaggaa cactctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgt 780			
[1969]	gtgggtggacg tgagccagga agaccccgag gtccagttca actggtagt ggatggcgtg 840			
[1970]	gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcgt tcaacagcac gtaccgtgt 900			

[1971] gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcag 960  
 [1972] gtctccaaca aaggcctccc gtccctccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020  
 [1973] ccccgagagc cacaggtgta caccctgccc ccatcccagg aggagatgac caagaaccag 1080  
 [1974] gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc taccccagcg acatgcgtt ggagtggag 1140  
 [1975] agcaatggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200  
 [1976] tccttcttcc tctacagcaa gctaaccgtg gacaagagca ggtggcagga gggaatgtc 1260  
 [1977] ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacacagaa gagcctctcc 1320  
 [1978] ctgtctctgg gtaaa 1335  
 [1979] <210> 154  
 [1980] <211> 445  
 [1981] <212> PRT  
 [1982] <213> 人工序列  
 [1983] <220>  
 [1984] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的pCI\_CSPG5202-hKG4PE(R409K)的重链抗体序列的氨基酸序列  
 [1985] <400> 154  
 [1986] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 [1987] 1 5 10 15  
 [1988] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 [1989] 20 25 30  
 [1990] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [1991] 35 40 45  
 [1992] Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 [1993] 50 55 60  
 [1994] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 [1995] 65 70 75 80  
 [1996] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [1997] 85 90 95  
 [1998] Ala Lys Ile Ser Lys Thr Gln Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 [1999] 100 105 110  
 [2000] Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 [2001] 115 120 125  
 [2002] Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 [2003] 130 135 140  
 [2004] Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 [2005] 145 150 155 160  
 [2006] Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 [2007] 165 170 175  
 [2008] Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 [2009] 180 185 190  
 [2010] Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 [2011] 195 200 205

[2012]	Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys						
[2013]	210	215	220				
[2014]	Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu						
[2015]	225	230	235				
[2016]	Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu						
[2017]	245	250	255				
[2018]	Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln						
[2019]	260	265	270				
[2020]	Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys						
[2021]	275	280	285				
[2022]	Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu						
[2023]	290	295	300				
[2024]	Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys						
[2025]	305	310	315				
[2026]	Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys						
[2027]	325	330	335				
[2028]	Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser						
[2029]	340	345	350				
[2030]	Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys						
[2031]	355	360	365				
[2032]	Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln						
[2033]	370	375	380				
[2034]	Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly						
[2035]	385	390	395				
[2036]	Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln						
[2037]	405	410	415				
[2038]	Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn						
[2039]	420	425	430				
[2040]	His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys						
[2041]	435	440	445				
[2042]	<210>	155					
[2043]	<211>	648					
[2044]	<212>	DNA					
[2045]	<213>	人工序列					
[2046]	<220>						
[2047]	<223> 人工序列的描述:不包括信号序列的pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv的轻链抗体序列的碱基序列						
[2048]	<400>	155					
[2049]	cagtttgtgc	tttctcagcc	aaactctgtg	tctacgaatc	tcggaagcac	agtcaaactg	60
[2050]	tcttgcaaggc	gcagcactgg	taacattgga	agcaattatg	tgagctggta	ccagcagcat	120
[2051]	gagggaagat	ctcccaccac	tatgatttat	agggatgata	agagaccaga	tggagttcct	180
[2052]	gacaggttct	ctggctccat	tgacagatct	tccgactcag	ccctcctgac	aatcaataat	240

[2053] gtgcagactg aagatgaagg tgactacttc tgtcagtctt acagtagtggt tattaaatatt 300  
 [2054] ttccggcggtg gaaccaagct cactgtccta ggtcagccca aggccgcccc ctcggtaact 360  
 [2055] ctgttcccgc cctcctctga ggagcttcaa gccacaagg ccacactggt gtgtctcata 420  
 [2056] agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg gcctggaagg cagatagcag ccccgtaag 480  
 [2057] gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc 540  
 [2058] tacctgagcc tgacgcctga gcagtggaaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacf 600  
 [2059] catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg gcccctacag aatgttca 648  
 [2060] <210> 156  
 [2061] <211> 216  
 [2062] <212> PRT  
 [2063] <213> 人工序列  
 [2064] <220>  
 [2065] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的pCI\_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv的轻链抗体序列的氨基酸序列  
 [2066] <400> 156  
 [2067] Gln Phe Val Leu Ser Gln Pro Asn Ser Val Ser Thr Asn Leu Gly Ser  
 [2068] 1 5 10 15  
 [2069] Thr Val Lys Leu Ser Cys Lys Arg Ser Thr Gly Asn Ile Gly Ser Asn  
 [2070] 20 25 30  
 [2071] Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Glu Gly Arg Ser Pro Thr Thr Met  
 [2072] 35 40 45  
 [2073] Ile Tyr Arg Asp Asp Lys Arg Pro Asp Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
 [2074] 50 55 60  
 [2075] Gly Ser Ile Asp Arg Ser Ser Asp Ser Ala Leu Leu Thr Ile Asn Asn  
 [2076] 65 70 75 80  
 [2077] Val Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Ser Tyr Ser Ser  
 [2078] 85 90 95  
 [2079] Gly Ile Asn Ile Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln  
 [2080] 100 105 110  
 [2081] Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu  
 [2082] 115 120 125  
 [2083] Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr  
 [2084] 130 135 140  
 [2085] Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys  
 [2086] 145 150 155 160  
 [2087] Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr  
 [2088] 165 170 175  
 [2089] Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His  
 [2090] 180 185 190  
 [2091] Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys  
 [2092] 195 200 205  
 [2093] Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

[2094]	210	215
[2095]	<210>	157
[2096]	<211>	2154
[2097]	<212>	DNA
[2098]	<213>	人工序列
[2099]	<220>	
[2100]	<223>	人工序列的描述:不包括信号序列的pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv的重链抗体序列的碱基序列
[2101]	<400>	157
[2102]	gaggtgcagc	tgggtggaaatc tgggggaggc tttagtgcagc ctggaaagatc cctgaaaactc 60
[2103]	tcctgtgcag	cctcaggatt cactttcagt aactatgcc a tggcttgggt ccgcgggct 120
[2104]	ccaacgaagg	gtctggagtg ggtcgcatcc attagtaatg gtggtgtaa cacttactat 180
[2105]	cgcgactccg	tgaagggccg attcactatc tccagagatg atgcaaaaaa caccctatac 240
[2106]	ctgcaa atgg	acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtgc aagacacggg 300
[2107]	aattatata	attatggtc cttctttgat tactgggccc aaggagtcat ggtcacagtc 360
[2108]	tcctcagcta	gcaccaaggg gccatccgtc ttccccctgg cgccctgctc caggagcacc 420
[2109]	tccgagagca	cagccgcctt gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480
[2110]	gtgtcgtgga	actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca cttcccgcc tgcctacag 540
[2111]	tcctcaggac	tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cttccagcag cttggc acg 600
[2112]	aagaccta	cctgcaacgt agatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt 660
[2113]	gagtccaaat	atggtcccccc atgcccacca tgcccagcac ctgagttcga ggggggacca 720
[2114]	tcagtctcc	tgttcccccc aaaacccaag gacactctca tgcattcccg gaccctgag 780
[2115]	gtcacgtgcg	tgggtggtaa cgtgagccag gaagaccccg aggtccagtt caactggta 840
[2116]	gtggatggcg	tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gttcaacagc 900
[2117]	acgtaccgtg	tggtcagcgt ctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 960
[2118]	tacaagtgc	aggctccaa caaaggcctc ccgtcctcca tcgagaaaac catctccaaa 1020
[2119]	gccaaaggc	agcccccaga gccacaggt tacaccctgc ccccatccca ggaggagatg 1080
[2120]	accaagaacc	aggtcagect gacctgcctg gtcaaaggt tctacccag cgacatcgcc 1140
[2121]	gtggagtggg	agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tccctgtctg 1200
[2122]	gactccgacg	gctccttctt cctctacagc aagctaaccg tggacaagag caggtggcag 1260
[2123]	gaggggaatg	tcttctcatg ctccgtatg catgaggctc tgcacaacca ctacacacag 1320
[2124]	aagagcctct	ccctgtctt ggggtggaga ggagggtccg gaggaggagg gtccgggtgga 1380
[2125]	ggtgtggcc	aagtccaaact gctggaatcg ggtgggtggc tggcaacc gggcggctcg 1440
[2126]	ctgcgtctgt	catgtgctgc gtcggctt acctttagt cttatgcaat gtcctgggt 1500
[2127]	cgtcaggcac	cggtaaagg tctggaatgg gttagcgaa tttagtggctc cggcggttagc 1560
[2128]	acctattacg	ccgattctgt taaaggtcgt tttaccatct cacgcgacaa ctcgaaaaat 1620
[2129]	acgctgtatc	tgcagatgaa cagtcgtgcgc gcagaagata cgcgtgtcta ttactgcgc 1680
[2130]	aaaattagta	agacgcaggg gttcgactac tggggccaag gtacgctggt tacggttagc 1740
[2131]	agcgctagca	ccggaggccgg tggcagcgg a gggagggtt ccgggtgggg cggctcggc 1800
[2132]	ggaggtggtt	cagacatcgt catgacgaa agtccggatt cactggctgt tagtctggc 1860
[2133]	gaacgtgcta	cgtcaactg taaatcctt caaatgtgc tgtatagctc taacaataaa 1920
[2134]	aactatctgg	catggtacca gcaaaaacccg gtcagccgc cgaactgct gatttactgg 1980

[2135] gcatctaccc gtgaatccgg tgtcccgat cgctttcag gctcggtag cggcacggac 2040  
 [2136] ttccccctga cgatcaggatc cctgcaagcg gaagatgtgg ccgttattta ctgtcaacaa 2100  
 [2137] agtcggacgc ggaggcctac gttcggtcaa ggcacccaaag tggaaatcaa aggt 2154  
 [2138] <210> 158  
 [2139] <211> 718  
 [2140] <212> PRT  
 [2141] <213> 人工序列  
 [2142] <220>  
 [2143] <223> 人工序列的描述:不包括信号序列的pCI\_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv的重链抗体序列的氨基酸序列  
 [2144] <400> 158  
 [2145] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 [2146] 1 5 10 15  
 [2147] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
 [2148] 20 25 30  
 [2149] Ala Met Ala Trp Val Arg Arg Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [2150] 35 40 45  
 [2151] Ala Ser Ile Ser Asn Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val  
 [2152] 50 55 60  
 [2153] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn Thr Leu Tyr  
 [2154] 65 70 75 80  
 [2155] Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 [2156] 85 90 95  
 [2157] Ala Arg His Gly Asn Tyr Ile Tyr Gly Ser Phe Phe Asp Tyr Trp  
 [2158] 100 105 110  
 [2159] Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro  
 [2160] 115 120 125  
 [2161] Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr  
 [2162] 130 135 140  
 [2163] Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
 [2164] 145 150 155 160  
 [2165] Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
 [2166] 165 170 175  
 [2167] Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
 [2168] 180 185 190  
 [2169] Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp  
 [2170] 195 200 205  
 [2171] His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr  
 [2172] 210 215 220  
 [2173] Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro  
 [2174] 225 230 235 240  
 [2175] Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

[2176]	245	250	255
[2177]	Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp		
[2178]	260	265	270
[2179]	Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
[2180]	275	280	285
[2181]	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
[2182]	290	295	300
[2183]	Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
[2184]	305	310	315
[2185]	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys		
[2186]	325	330	335
[2187]	Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
[2188]	340	345	350
[2189]	Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
[2190]	355	360	365
[2191]	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
[2192]	370	375	380
[2193]	Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
[2194]	385	390	395
[2195]	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
[2196]	405	410	415
[2197]	Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
[2198]	420	425	430
[2199]	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly		
[2200]	435	440	445
[2201]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Glu		
[2202]	450	455	460
[2203]	Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser		
[2204]	465	470	475
[2205]	Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala		
[2206]	485	490	495
[2207]	Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser		
[2208]	500	505	510
[2209]	Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
[2210]	515	520	525
[2211]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		
[2212]	530	535	540
[2213]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
[2214]	545	550	555
[2215]	Lys Ile Ser Lys Thr Gln Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[2216]	565	570	575
[2217]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		

[2218]	580	585	590
[2219]	Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met		
[2220]	595	600	605
[2221]	Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr		
[2222]	610	615	620
[2223]	Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys		
[2224]	625	630	635
[2225]	Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu		
[2226]	645	650	655
[2227]	Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe		
[2228]	660	665	670
[2229]	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu		
[2230]	675	680	685
[2231]	Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Thr Arg		
[2232]	690	695	700
[2233]	Arg Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly		
[2234]	705	710	715
[2235]	<210> 159		
[2236]	<211> 1617		
[2237]	<212> DNA		
[2238]	<213> 人工序列		
[2239]	<220>		
[2240]	<223> 人工序列的描述:包括信号序列的人类CSPG5的碱基序列		
[2241]	<400> 159		
[2242]	atggggcgag ccggggcggt gggcccggt cggggccgc cgccactgct gctgtttctg 60		
[2243]	ggggccgcgc tggtcctggc ctctggggcc gtgccggcgc gtgaggcggtt cagcgcgggtt 120		
[2244]	gaggccgaag agctggtgaa gggcagcccc gcgtggggagc cgccctgccaa cgacacgcgg 180		
[2245]	gaagaagccg gccaccaccgc ggctggggaa gatgaggcgt cgtggacggc gcccgggtggc 240		
[2246]	gagctggccg ggccagaaga ggtgctgcag gagtcggctg cggtgaccgg caccgcctgg 300		
[2247]	ctggaagctg acagcccagg cctggagga gtgaccgcag aggccggcag cggcgatgcc 360		
[2248]	caggcccttc cagctacgct ccaggctccc cacgagggtcc tcggcagtc aatcatgcc 420		
[2249]	cctgccattc ctgaggctac agaggccagc gggccacccct ccccccacccc cggcgacaag 480		
[2250]	ctgagcccag cttctgaact ccccaaggag agcccccctgg aggtttggct gaacctgggg 540		
[2251]	ggcagcacac ccgaccctca agggccagag ctgacttacc catttcaggc caccctggag 600		
[2252]	ccccaaaccgg catcagatat cattgacatc gactacttcg aaggacttggc tggtgagggt 660		
[2253]	cgtggcgcag atctggggag cttcccaggc tcaccaggaa cctcagagaa ccaccctgtat 720		
[2254]	actgaggggag agacccttc ctggagcctg cttgacttat acgatgattt cacccttc 780		
[2255]	gatgaatctg atttctaccc caccacatcc ttttatgtat acttggatga agaggaggag 840		
[2256]	gaagaggagg atgacaaaaga tgcagtagga ggtggagacc tagaagatga aaatgagctt 900		
[2257]	ctagtgccta ctggaaagcc tggctgggg cccgggacag gccagccac cagtcgggtgg 960		
[2258]	catgctgtcc ctccacagca cactctgggg tcggtccccg gcagcagcat cgcctcagg 1020		
[2259]	ccccggccagg gagagccagg cagggacttg gcctccagtg aaaatggcac tgagtgcgc 1080		

[2260] agtggcttg tgccgcataa cggcctgc cggtcagtgt gcgaccttt cccaagttac 1140  
 [2261] tgtcacaatg gcggccagtg ctacctggtg gagaacatag gggcctctg caggtgcaac 1200  
 [2262] acgcaggact acatctggca caagggatg cgctgcgagt ccatcatcac cgacttccag 1260  
 [2263] gtgatgtcg tggcgtgg ctggctgcc ctcgtcctgc tcctgcttt catgtgacg 1320  
 [2264] gtgttcttg ccaagaagct ctacctgctc aagacggaga ataccaagct gcgttaggacc 1380  
 [2265] aacaattcc ggacccatc tgagctccac aatgataact tctcccttc caccattgcc 1440  
 [2266] gagggctctc acccaaatga tgatcctagt gctccccaca aaatccagga gtttctcaag 1500  
 [2267] tcctgcctga aagaggagga gtcatttaac atccagaact ccatgtcgcc caaaacttgag 1560  
 [2268] ggtggcaaag gtgaccaggc tgacttggat gtgaactgta ttcagaataa tttaacc 1617  
 [2269] <210> 160  
 [2270] <211> 539  
 [2271] <212> PRT  
 [2272] <213> 人工序列  
 [2273] <220>  
 [2274] <223> 人工序列的描述:包括信号序列的人类CSPG5的氨基酸序列  
 [2275] <400> 160  
 [2276] Met Gly Arg Ala Gly Gly Pro Gly Arg Gly Pro Pro Pro Leu  
 [2277] 1 5 10 15  
 [2278] Leu Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro  
 [2279] 20 25 30  
 [2280] Ala Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly  
 [2281] 35 40 45  
 [2282] Ser Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly  
 [2283] 50 55 60  
 [2284] Pro Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly  
 [2285] 65 70 75 80  
 [2286] Glu Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu Gln Glu Ser Ala Ala Val Thr  
 [2287] 85 90 95  
 [2288] Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Ser Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr  
 [2289] 100 105 110  
 [2290] Ala Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln Ala Leu Pro Ala Thr Leu Gln  
 [2291] 115 120 125  
 [2292] Ala Pro His Glu Val Leu Gly Gln Ser Ile Met Pro Pro Ala Ile Pro  
 [2293] 130 135 140  
 [2294] Glu Ala Thr Glu Ala Ser Gly Pro Pro Ser Pro Thr Pro Gly Asp Lys  
 [2295] 145 150 155 160  
 [2296] Leu Ser Pro Ala Ser Glu Leu Pro Lys Glu Ser Pro Leu Glu Val Trp  
 [2297] 165 170 175  
 [2298] Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Asp Pro Gln Gly Pro Glu Leu Thr  
 [2299] 180 185 190  
 [2300] Tyr Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu Pro Gln Pro Ala Ser Asp Ile Ile  
 [2301] 195 200 205

[2302]	Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp		
[2303]	210	215	220
[2304]	Leu Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro Asp		
[2305]	225	230	235
[2306]	240		
[2307]	Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp Asp	245	250
[2308]	Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe Tyr	255	
[2309]	260	265	270
[2310]	Asp Asp Leu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Lys Asp Ala		
[2311]	275	280	285
[2312]	Val Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Glu Leu Leu Val Pro Thr		
[2313]	290	295	300
[2314]	Gly Lys Pro Gly Leu Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Ser Arg Trp		
[2315]	305	310	315
[2316]	320		
[2317]	His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Ser Val Pro Gly Ser Ser	325	330
[2318]	Ile Ala Leu Arg Pro Arg Pro Gly Glu Pro Gly Arg Asp Leu Ala Ser	335	
[2319]	340	345	350
[2320]	Ser Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Ser Gly Phe Val Arg His Asn Gly		
[2321]	355	360	365
[2322]	Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly		
[2323]	370	375	380
[2324]	Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn		
[2325]	385	390	395
[2326]	400		
[2327]	Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile	405	410
[2328]	415		
[2329]	Thr Asp Phe Gln Val Met Cys Val Ala Val Gly Ser Ala Ala Leu Val	420	425
[2330]	430		
[2331]	Leu Leu Leu Leu Phe Met Met Thr Val Phe Phe Ala Lys Lys Leu Tyr	435	440
[2332]	445		
[2333]	Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys Leu Arg Arg Thr Asn Lys Phe Arg	450	455
[2334]	460		
[2335]	Thr Pro Ser Glu Leu His Asn Asp Asn Phe Ser Leu Ser Thr Ile Ala	465	470
[2336]	475		
[2337]	480		
[2338]	Glu Gly Ser His Pro Asn Asp Asp Pro Ser Ala Pro His Lys Ile Gln	485	490
[2339]	495		
[2340]	Glu Val Leu Lys Ser Cys Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln	500	505
[2341]	510		
[2342]	Asn Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln Ala Asp	515	520
[2343]	525		
[2342]	Leu Asp Val Asn Cys Leu Gln Asn Asn Leu Thr	530	535

- [2344] <210> 161  
 [2345] <211> 1617  
 [2346] <212> DNA  
 [2347] <213> 人工序列  
 [2348] <220>  
 [2349] <223> 人工序列的描述:包括信号序列的小鼠CSPG5的碱基序列  
 [2350] <400> 161  
 [2351] atgggccgag ctggaggcgg gggcccgac tggggccgc cgccagtgct gctgcttctg 60  
 [2352] ggggtcacgc tggtgctcac cgctgggccc gtaccggcac gggaaacagg cagtgcgatc 120  
 [2353] gaggctgaag agctggtag gagcagcctg gcatggaggt cgctgcca tgacacgcgg 180  
 [2354] gaggaagccg gcctgccagc agctgggaa gatgagacct cgtggacaga gcggggcagt 240  
 [2355] gagatggctg cggtggccc tgggtcggtt ccagaggagg cactagaggc atcggctgca 300  
 [2356] gtgactggca ctgcctggct agagggcagat ggcccaggcc tgggtggagt gactgcagag 360  
 [2357] gctggcagtg gcgacgccccca gacccttcca gctacgctcc aggctcctga tgaggccctt 420  
 [2358] gggcatcta caatgcffff tgcacatccct gaggctactg aaaccagtgg acctccctcc 480  
 [2359] cctgctgtcc atgataagcc tagtgttaggc cctgaactcc ctaaagagat ccccttggag 540  
 [2360] gttcggctga acctgggagg cagcacacca gagccccactt ttcccttca gggcactctc 600  
 [2361] gagacccaaac cagcctcaga tataattgac attgattact ttgaaggatt ggatagtgag 660  
 [2362] ggtcgtggc cagacatggg cagcttcccgg gggtcaccag gaacctcaga aaatcacccct 720  
 [2363] gataccgaag gagagacccc ttccctggagc ctgcttgatt tgtatgtga ctccacccct 780  
 [2364] ttttatgtacttctta cccaccaca tccttctatg atgatttgaa agaggaggaa 840  
 [2365] gaagaggagg aggataagga tacagtagga ggtggagacc tggaagatga aaacgaccctt 900  
 [2366] ctccctgcctt ctcaaaagcc tgggtgtggg cctggacag gacagccac caaccgggtgg 960  
 [2367] catgctgttc ccccacagca tactctggg atggtaacctg gcagcagcat ctctcttagg 1020  
 [2368] ccccgccccgg gagatccagg caaggacactg gcctcaggag aaaatggcac agagtgcgg 1080  
 [2369] gttggcttcg tcagggcaca tggctcctgc cggtcagttt gtgaccttcc tccgagttac 1140  
 [2370] tgtcacaacg gcggccagtg ctacctggc gagaacatag gggcttctg caggtgttaac 1200  
 [2371] acccaggact acatctggca caaggggatg cgctgtgagt ccatcatcac ggacttccag 1260  
 [2372] gtgatgtgcg tggccgttgg ctggctgct ctcgtgcttcc tcctctgtt catgatgact 1320  
 [2373] gtgttcttgc ccaagaagct ctatctgctc aagactgaga ataccaagct gcggaggacc 1380  
 [2374] aataaaattcc ggacccatc tgagctccac aacgacaact tctccctctc caccattgcc 1440  
 [2375] gagggctctc atccaaatga cgaccccgac gctccccaca aaatccagga ccctctcaag 1500  
 [2376] tcccgcttga aggaggaaga gtccttaac atccagaact ccatgtcacc caaacttgag 1560  
 [2377] ggtggcaaag gtgaccagga tgacttggg gtgaactgctc tgcaaaaa cctaacc 1617  
 [2378] <210> 162  
 [2379] <211> 539  
 [2380] <212> PRT  
 [2381] <213> 人工序列  
 [2382] <220>  
 [2383] <223> 人工序列的描述:包括信号序列的小鼠CSPG5的氨基酸序列  
 [2384] <400> 162  
 [2385] Met Gly Arg Ala Gly Gly Gly Pro Asp Trp Gly Pro Pro Pro Val

[2386]	1	5	10	15
[2387]	Leu	Leu	Leu	Leu
	Gly	Val	Thr	Leu
	Val	Leu	Thr	Ala
	Ala	Gly	Ala	Val
[2388]		20	25	30
[2389]	Ala	Arg	Glu	Thr
	Gly	Ser	Ala	Ile
	Ile	Glu	Ala	Glu
	Glu	Leu	Val	Arg
[2390]		35	40	45
[2391]	Ser	Leu	Ala	Trp
	Glu	Ser	Arg	Ala
	Asn	Asp	Thr	Arg
	Arg	Glu	Glu	Ala
[2392]		50	55	60
[2393]	Leu	Pro	Ala	Ala
	Gly	Glu	Asp	Glu
	Thr	Ser	Trp	Thr
	Glu	Arg	Gly	Ser
[2394]		65	70	75
				80
[2395]	Glu	Met	Ala	Ala
	Val	Gly	Pro	Gly
	Val	Gly	Pro	Glu
	Glu	Ala	Leu	Glu
[2396]		85	90	95
[2397]	Ala	Ser	Ala	Ala
	Val	Thr	Gly	Thr
	Ala	Trp	Leu	Glu
	Asp	Gly	Ala	Pro
[2398]		100	105	110
[2399]	Gly	Leu	Gly	Gly
	Val	Thr	Ala	Glu
	Ala	Gly	Ser	Gly
	Asp	Ala	Gln	Thr
[2400]		115	120	125
[2401]	Leu	Pro	Ala	Thr
	Leu	Gln	Ala	Pro
	Asp	Glu	Ala	Leu
	Gly	Ser	Ser	Thr
[2402]		130	135	140
[2403]	Met	Pro	Pro	Ala
	Ile	Pro	Glu	Ala
	Thr	Glu	Thr	Ser
	Gly	Pro	Pro	Ser
[2404]		145	150	155
				160
[2405]	Pro	Ala	Val	His
	Asp	Lys	Pro	Ser
	Val	Gly	Pro	Glu
	Leu	Pro	Glu	Leu
	Pro	Lys	Glu	Glu
[2406]		165	170	175
[2407]	Ile	Pro	Leu	Glu
	Val	Arg	Leu	Asn
	Leu	Gly	Gly	Ser
	Thr	Pro	Glu	Pro
[2408]		180	185	190
[2409]	Thr	Phe	Pro	Leu
	Gln	Gly	Thr	Leu
	Glu	Thr	Glu	Thr
	Gln	Pro	Ala	Ser
	Pro	Asp	Ile	Ile
[2410]		195	200	205
[2411]	Ile	Asp	Ile	Asp
	Tyr	Phe	Glu	Gly
	Gly	Leu	Asp	Ser
	Glu	Gly	Arg	Gly
	Ala			
[2412]		210	215	220
[2413]	Asp	Met	Gly	Ser
	Phe	Pro	Gly	Ser
	Gly	Ser	Pro	Gly
	Thr	Ser	Gly	Thr
	Ser	Glu	Asn	His
[2414]		225	230	235
				240
[2415]	Asp	Thr	Glu	Glu
	Glu	Thr	Pro	Ser
	Trp	Ser	Leu	Leu
	Ser	Leu	Asp	Leu
	Tyr	Asp	Tyr	Asp
[2416]		245	250	255
[2417]	Asp	Phe	Thr	Pro
	Phe	Asp	Glu	Glu
	Asp	Ser	Asp	Phe
	Phe	Tyr	Tyr	Pro
	Asp	Tyr	Pro	Thr
	Thr	Ser	Phe	
[2418]		260	265	270
[2419]	Tyr	Asp	Asp	Leu
	Glu	Glu	Glu	Glu
	Glu	Glu	Glu	Glu
	Glu	Glu	Glu	Glu
	Glu	Glu	Glu	Glu
	Asp	Lys	Asp	Thr
[2420]		275	280	285
[2421]	Val	Gly	Gly	Gly
	Asp	Leu	Glu	Asp
	Glu	Asn	Asp	Leu
	Asp	Leu	Leu	Pro
	Ser			
[2422]		290	295	300
[2423]	Gln	Lys	Pro	Gly
	Val	Gly	Pro	Gly
	Gly	Thr	Gly	Gln
	Pro	Gly	Gly	Pro
	Thr	Gly	Gly	Thr
	Asn	Asn	Asn	Arg
	Arg	Trp		
[2424]		305	310	315
				320
[2425]	His	Ala	Val	Pro
	Pro	Pro	Gln	His
	Gly	Thr	Leu	Gly
	Met	Val	Pro	Gly
	Ser	Ser		
[2426]		325	330	335
[2427]	Ile	Ser	Leu	Arg
	Arg	Pro	Pro	Gly
	Pro	Gly	Lys	Asp
	Gly	Lys	Asp	Leu
	Asp	Leu	Ala	Ser

[2428]	340	345	350
[2429]	Gly Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Val Gly Phe Val Arg His Asn Gly		
[2430]	355	360	365
[2431]	Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly		
[2432]	370	375	380
[2433]	Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn		
[2434]	385	390	395
[2435]	Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile		
[2436]	405	410	415
[2437]	Thr Asp Phe Gln Val Met Cys Val Ala Val Gly Ser Ala Ala Leu Val		
[2438]	420	425	430
[2439]	Leu Leu Leu Leu Phe Met Met Thr Val Phe Phe Ala Lys Lys Leu Tyr		
[2440]	435	440	445
[2441]	Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys Leu Arg Arg Thr Asn Lys Phe Arg		
[2442]	450	455	460
[2443]	Thr Pro Ser Glu Leu His Asn Asp Asn Phe Ser Leu Ser Thr Ile Ala		
[2444]	465	470	475
[2445]	Glu Gly Ser His Pro Asn Asp Asp Pro Ser Ala Pro His Lys Ile Gln		
[2446]	485	490	495
[2447]	Asp Pro Leu Lys Ser Arg Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln		
[2448]	500	505	510
[2449]	Asn Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln Asp Asp		
[2450]	515	520	525
[2451]	Leu Gly Val Asn Cys Leu Gln Asn Asn Leu Thr		
[2452]	530	535	
[2453]	<210> 163		
[2454]	<211> 1605		
[2455]	<212> DNA		
[2456]	<213> 人工序列		
[2457]	<220>		
[2458]	<223> 人工序列的描述:包括信号序列的食蟹猴CSPG5的碱基序列		
[2459]	<400> 163		
[2460]	atggggcgag ccggggcggt gggcccggtc cggggccgc cgccactgct gctgcttctg 60		
[2461]	ggggccgcgc tggtcctggc ctctggggcc gtgccggcgc gtgaggcggtt cagcgccgtc 120		
[2462]	gaggccgaag agctggtaa gggcaggccg gcgtgggagc cgcgtgcacaa cgacacgcga 180		
[2463]	gaagaagccg gcccaccagc ggctgggaa gatgaggcgt cgtggaccgc gcctggcggc 240		
[2464]	gagctggccg ggccagagaga ggtgctgcag gcgaccggca ccgcctggct ggaggctgac 300		
[2465]	aaccctaggcc tgggaggagt gacctcagag gcgggttagtg gcgtatgccta gccccttcca 360		
[2466]	gctacgctcc aggctccccca cgaggtcctc gggcagtcag tcatgcccccc tgccattcc 420		
[2467]	gaggctacag aagccagcggtt gcccaccccttgc gcgacaacct gagcccttgcgtt 480		
[2468]	tctgaactcc ccaaggagag ccccttggag gtttggctga acctgggggg cagcacacccc 540		
[2469]	gaccctcaag ggccagagcc gacttacccc ttccaggagcc ccaaccggca 600		

[2470] tcagatatac ttgacatcga ctacttccaa ggattggatg gtgagggtcg tggcgac 660  
 [2471] ctggggagct tcccagggtc accaggaacc tcagagaacc accctgatac tgagggagag 720  
 [2472] accccttcct ggagcctgct tgacttatac gatgattca ccccctttga tgaatctgat 780  
 [2473] ttctacccca ccacatcatt ttacgatgac ttggatgaag aggaggagga ggaggaggat 840  
 [2474] gacaaagatg cagtaggagg tggagaccta gaagatgaaa atgagcttct agtgcac 900  
 [2475] gggaaagcccg gtctgggccc cgggacaggc cagcccaaca gtcgatggca tgctgtccct 960  
 [2476] ccacagcaca ctctggggtc ggtccccggc agcagcatcg ccctccggcc ccccccagg 1020  
 [2477] gagccaggca gggacctggc ctccagtcaa aatggcactg agtggcgcag tggcttgc 1080  
 [2478] cgccataacg gtcctgtccg gtcagtgtgc gacctcttcc caagttactg tcacaatggc 1140  
 [2479] gcccagtgc acctgggtga gaacataggg gccttctgca ggtgcaacac acaggactac 1200  
 [2480] atctggcaca aggggatgctgctgcgatgcgatccatcacccg acttccaggt gatgtgcgt 1260  
 [2481] gccgtgggct cagctgcct cgtcctgtc ctgtcttca tgatgacggt gttcttcgccc 1320  
 [2482] aagaagctct accttctcaa gacggagaac accaagctgc gtaggaccaa caaattccgg 1380  
 [2483] accccagctg aactccacaa tgataacttc tccctctcca ccattgccga gggctctcac 1440  
 [2484] ccaaatgatg atcctagtgc tccccacaaa atccaggagg ctctcaaatac ctgcctgaaa 1500  
 [2485] gaggaggagt catttaacat ccagaactcc atgtgcggca aacttgaggg tggcaaagg 1560  
 [2486] gaccaggctg acttggatgt gaactgtctt cagaataatt taacc 1605  
 [2487] <210> 164  
 [2488] <211> 535  
 [2489] <212> PRT  
 [2490] <213> 人工序列  
 [2491] <220>  
 [2492] <223> 人工序列的描述:包括信号序列的食蟹猴CSPG5的氨基酸序列  
 [2493] <400> 164  
 [2494] Met Gly Arg Ala Gly Gly Gly Pro Gly Arg Gly Pro Pro Pro Leu  
 [2495] 1 5 10 15  
 [2496] Leu Leu Leu Leu Gly Ala Ala Leu Val Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro  
 [2497] 20 25 30  
 [2498] Ala Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly  
 [2499] 35 40 45  
 [2500] Arg Pro Ala Trp Glu Pro Arg Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly  
 [2501] 50 55 60  
 [2502] Pro Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly  
 [2503] 65 70 75 80  
 [2504] Glu Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu Gln Ala Thr Gly Thr Ala Trp  
 [2505] 85 90 95  
 [2506] Leu Glu Ala Asp Asn Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr Ser Glu Ala Gly  
 [2507] 100 105 110  
 [2508] Ser Gly Asp Ala Gln Ala Leu Pro Ala Thr Leu Gln Ala Pro His Glu  
 [2509] 115 120 125  
 [2510] Val Leu Gly Gln Ser Val Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu Ala Thr Glu  
 [2511] 130 135 140

[2512]	Ala Ser Gly Pro Pro Ser Pro Thr Pro Gly Asp Asn Leu Ser Pro Ala			
[2513]	145	150	155	160
[2514]	Ser Glu Leu Pro Lys Glu Ser Pro Leu Glu Val Trp Leu Asn Leu Gly			
[2515]	165	170	175	
[2516]	Gly Ser Thr Pro Asp Pro Gln Gly Pro Glu Pro Thr Tyr Pro Phe Gln			
[2517]	180	185	190	
[2518]	Gly Thr Leu Glu Pro Gln Pro Ala Ser Asp Ile Ile Asp Ile Asp Tyr			
[2519]	195	200	205	
[2520]	Phe Gln Gly Leu Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp Leu Gly Ser Phe			
[2521]	210	215	220	
[2522]	Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro Asp Thr Glu Gly Glu			
[2523]	225	230	235	240
[2524]	Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp Asp Phe Thr Pro Phe			
[2525]	245	250	255	
[2526]	Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe Tyr Asp Asp Leu Asp			
[2527]	260	265	270	
[2528]	Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Lys Asp Ala Val Gly Gly Gly			
[2529]	275	280	285	
[2530]	Asp Leu Glu Asp Glu Asn Glu Leu Leu Val Pro Thr Gly Lys Pro Gly			
[2531]	290	295	300	
[2532]	Leu Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Asn Ser Arg Trp His Ala Val Pro			
[2533]	305	310	315	320
[2534]	Pro Gln His Thr Leu Gly Ser Val Pro Gly Ser Ser Ile Ala Leu Arg			
[2535]	325	330	335	
[2536]	Pro Arg Pro Gly Glu Pro Gly Arg Asp Leu Ala Ser Ser Glu Asn Gly			
[2537]	340	345	350	
[2538]	Thr Glu Cys Arg Ser Gly Phe Val Arg His Asn Gly Ser Cys Arg Ser			
[2539]	355	360	365	
[2540]	Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly Gly Gln Cys Tyr			
[2541]	370	375	380	
[2542]	Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn Thr Gln Asp Tyr			
[2543]	385	390	395	400
[2544]	Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile Thr Asp Phe Gln			
[2545]	405	410	415	
[2546]	Val Met Cys Val Ala Val Gly Ser Ala Ala Leu Val Leu Leu Leu			
[2547]	420	425	430	
[2548]	Phe Met Met Thr Val Phe Phe Ala Lys Lys Leu Tyr Leu Leu Lys Thr			
[2549]	435	440	445	
[2550]	Glu Asn Thr Lys Leu Arg Arg Thr Asn Lys Phe Arg Thr Pro Ala Glu			
[2551]	450	455	460	
[2552]	Leu His Asn Asp Asn Phe Ser Leu Ser Thr Ile Ala Glu Gly Ser His			
[2553]	465	470	475	480

[2554] Pro Asn Asp Asp Pro Ser Ala Pro His Lys Ile Gln Glu Ala Leu Lys  
[2555] 485 490 495  
[2556] Ser Cys Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln Asn Ser Met Ser  
[2557] 500 505 510  
[2558] Pro Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln Ala Asp Leu Asp Val Asn  
[2559] 515 520 525  
[2560] Cys Leu Gln Asn Asn Leu Thr  
[2561] 530 535  
[2562] <210> 165  
[2563] <211> 1977  
[2564] <212> DNA  
[2565] <213> 人工序列  
[2566] <220>  
[2567] <223> 人工序列的描述:包括信号序列的人类CSPG5-FLAG\_Fc的碱基序列  
[2568] <400> 165  
[2569] atggggcgag ccgggggcgg gggcccgccc cgggggcccgc cgccactgct gctgtttctg 60  
[2570] gggccgcgc tggtcctggc ctctggggcc gtgccggcgc gtgaggcggg cagcgcgggtt 120  
[2571] gaggccgaag agctggtaa gggcagcccg gcgtgggagc cgcctgccaa cgacacgcgg 180  
[2572] gaagaagccg gcccaccagc ggctgggaa gatgaggcgt cgtggacggc gcccggtggc 240  
[2573] gagctggccg ggccagaaga ggtgctgcag gagtcggctg cggtaccgg caccgcctgg 300  
[2574] ctggaagctg acagcccagg cctgggagga gtgaccgcag aggccggcag cggcgatgcc 360  
[2575] caggcccttc cagctacgct ccaggctccc cacgaggctc tcggcagtc aatcatgccc 420  
[2576] cctgccattc ctgaggctac agaggccagc gggccacccct cccccacccc cggcgacaag 480  
[2577] ctgagcccag cttctgaact ccccaaggag agccccttg aggtttggct gaacctgggg 540  
[2578] ggcagcacac cgcaccctca agggccagag ctgacttacc catttcaggc caccctggag 600  
[2579] ccccaaccgg catcagatat cattgacatc gactacttcg aaggacttggaa ttgtgagggt 660  
[2580] cgtggcgcag atctggggag ctccccaggg tcaccaggaa cctcagagaa ccaccctgtat 720  
[2581] actgagggag agacccttc ctggagcctg cttgacttat acgtatgtt cacccttcc 780  
[2582] gatgaatctg atttctaccc caccacatcc ttttatgtt acttggatgtt agaggaggag 840  
[2583] gaagaggagg atgacaaaaga tgcagttagga ggtggagacc tagaagatgtt aaatgagtt 900  
[2584] ctagtgcaca ctgggaagcc tggctgggg cccggacag gccagccac cagtcggcgg 960  
[2585] catgctgtcc ctccacacca cactctgggg tcggccccgc gcagcagcat cggccctcagg 1020  
[2586] ccccgcccaag gagagccagg cagggacttg gcctccagtg aaaatggcac tgagtgcgc 1080  
[2587] agtggctttg tgcggcataa cggctcctgc cggtcagtttgc ggcacccctt cccaaatgttac 1140  
[2588] tgtcacaatg gcggccagtg ctacctgggtt gagaacatggc gggccttctg cagggtcaac 1200  
[2589] acgcaggact acatctggca caagggatg cgctgcgactt ccatcatcac cgacttctct 1260  
[2590] agagcagact acaaggacga cgatgacaag acttagtgcataa aaactcacac atgcccaccc 1320  
[2591] tgcccagcac ctgaactctt ggggggaccg tcagtcttcc tctttccccc aaaacccaag 1380  
[2592] gacaccctca tgcgtcccg gaccctgag gtcacatgcg tggtgggtggc cgtgagccac 1440  
[2593] gaagaccctg aggtcaagtt caactgggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag 1500  
[2594] acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtt tggtcagcgt cctcaccgtc 1560  
[2595] ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgttca aggtctccaa caaagccctc 1620

[2596] ccagccccca tcgagaaaaac catctccaaa gccaaaggc agcccgaga accacaggtg 1680  
 [2597] tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg 1740  
 [2598] gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 1800  
 [2599] aacaactaca agaccacgcc tccctgtctg gactccgacg gctccttctt cctctacagc 1860  
 [2600] aagctcaccg tggacaagag caggtggcag cagggaaacg tcttctcatg ctccgtgatg 1920  
 [2601] catgaggctc tgccacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1977  
 [2602] <210> 166  
 [2603] <211> 659  
 [2604] <212> PRT  
 [2605] <213> 人工序列  
 [2606] <220>  
 [2607] <223> 人工序列的描述:包括信号序列的人类CSPG5的氨基酸序列  
 [2608] <400> 166  
 [2609] Met Gly Arg Ala Gly Gly Gly Pro Gly Arg Gly Pro Pro Pro Leu  
 [2610] 1 5 10 15  
 [2611] Leu Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro  
 [2612] 20 25 30  
 [2613] Ala Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly  
 [2614] 35 40 45  
 [2615] Ser Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly  
 [2616] 50 55 60  
 [2617] Pro Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly  
 [2618] 65 70 75 80  
 [2619] Glu Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu Gln Glu Ser Ala Ala Val Thr  
 [2620] 85 90 95  
 [2621] Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Ser Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr  
 [2622] 100 105 110  
 [2623] Ala Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln Ala Leu Pro Ala Thr Leu Gln  
 [2624] 115 120 125  
 [2625] Ala Pro His Glu Val Leu Gly Gln Ser Ile Met Pro Pro Ala Ile Pro  
 [2626] 130 135 140  
 [2627] Glu Ala Thr Glu Ala Ser Gly Pro Pro Ser Pro Thr Pro Gly Asp Lys  
 [2628] 145 150 155 160  
 [2629] Leu Ser Pro Ala Ser Glu Leu Pro Lys Glu Ser Pro Leu Glu Val Trp  
 [2630] 165 170 175  
 [2631] Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Asp Pro Gln Gly Pro Glu Leu Thr  
 [2632] 180 185 190  
 [2633] Tyr Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu Pro Gln Pro Ala Ser Asp Ile Ile  
 [2634] 195 200 205  
 [2635] Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp  
 [2636] 210 215 220  
 [2637] Leu Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro Asp

[2638]	225	230	235	240
[2639]	Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp Asp			
[2640]	245	250	255	
[2641]	Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe Tyr			
[2642]	260	265	270	
[2643]	Asp Asp Leu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Lys Asp Ala			
[2644]	275	280	285	
[2645]	Val Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Glu Leu Leu Val Pro Thr			
[2646]	290	295	300	
[2647]	Gly Lys Pro Gly Leu Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Ser Arg Trp			
[2648]	305	310	315	320
[2649]	His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Ser Val Pro Gly Ser Ser			
[2650]	325	330	335	
[2651]	Ile Ala Leu Arg Pro Arg Pro Gly Glu Pro Gly Arg Asp Leu Ala Ser			
[2652]	340	345	350	
[2653]	Ser Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Ser Gly Phe Val Arg His Asn Gly			
[2654]	355	360	365	
[2655]	Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly			
[2656]	370	375	380	
[2657]	Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn			
[2658]	385	390	395	400
[2659]	Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile			
[2660]	405	410	415	
[2661]	Thr Asp Phe Ser Arg Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys Thr Ser			
[2662]	420	425	430	
[2663]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly			
[2664]	435	440	445	
[2665]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met			
[2666]	450	455	460	
[2667]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His			
[2668]	465	470	475	480
[2669]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val			
[2670]	485	490	495	
[2671]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr			
[2672]	500	505	510	
[2673]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly			
[2674]	515	520	525	
[2675]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile			
[2676]	530	535	540	
[2677]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val			
[2678]	545	550	555	560
[2679]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser			

[2680]	565	570	575
[2681]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
[2682]	580	585	590
[2683]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
[2684]	595	600	605
[2685]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
[2686]	610	615	620
[2687]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
[2688]	625	630	635
[2689]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
[2690]	645	650	655
[2691]	Pro Gly Lys		
[2692]	<210> 167		
[2693]	<211> 1977		
[2694]	<212> DNA		
[2695]	<213> 人工序列		
[2696]	<220>		
[2697]	<223> 人工序列的描述:包括信号序列的小鼠CSPG5-FLAG_Fc的碱基序列		
[2698]	<400> 167		
[2699]	atggccgag ctggaggcgg gggccggac tggggccgc cgccagtgtct gctgcttctg 60		
[2700]	ggggtcacgc tggtgctcac cgctgggcc gtaccggcac gggaaacagg cagtgcgatc 120		
[2701]	gaggctgaag agctggtag gaggcagcctg gcatgggagt cgctgcca tgacacgcgg 180		
[2702]	gaggaagccg gcctgccagc agctgggaa gatgagacct cgtggacaga gcggggcagt 240		
[2703]	gagatggctg cggtggccc tgggtcggt ccagaggagg cactagaggc atcggctgca 300		
[2704]	gtgactggca ctgcctggct agagggcagat ggcccaggcc tgggtggagt gactgcagag 360		
[2705]	gctggcagtg gcgacgccc gacccttcca gctacgctcc aggctcctga tgaggccctt 420		
[2706]	gggtcatcta caatcccccc tgcctccct gaggctactg aaaccagtgg acctccctcc 480		
[2707]	cctgctgtcc atgataagcc tagtgttaggc cctgaactcc ctaaagagat ccccttggag 540		
[2708]	gttcggctga acctggagg cagcacacca gagcccactt ttccccttca gggcactctc 600		
[2709]	gagacccaaac cagcctcaga tataattgac attgattact ttgaaggatt ggatagttag 660		
[2710]	ggtcgtggc cagacatggg cagcttcccg gggtcaccag gaacctcaga aaatcaccc 720		
[2711]	gataccgaag gagagacccc ttccctggagc ctgcttgatt tgtatgtga cttcacccct 780		
[2712]	ttttagttagt ctgatttcta cccaccaca tccttctatg atgatttggaa agaggaggaa 840		
[2713]	gaagaggagg aggataagga tacagtagga ggtggagacc tggaagatga aaacgaccc 900		
[2714]	ctccctgcct ctc当地agcc tgggtgggg cctggacag gacagccac caaccgggtgg 960		
[2715]	catgctgttc ccccacagca tactctgggg atggcaccc gacagccacat ctctctttagg 1020		
[2716]	cccccgcggc gagatccagg caaggaccc ggcctcaggaaaatggcac agagtggcga 1080		
[2717]	gttggcttcg tcaggcacaa tggctcctgc cggtcagtct gtgacccctt tccgagttac 1140		
[2718]	tgtcacaacg gcggccagtg ctacctggtg gagaacatag gggcttctg caggtgtaac 1200		
[2719]	acccaggact acatctggca caagggatg cgctgtgagt ccatcatcac ggacttctct 1260		
[2720]	agagcagact acaaggacga cgatgacaag actagtgaca aaactcacac atgcccaccc 1320		
[2721]	tgcccgacac ctgaactcc tgggggaccc tcagtcttcc tctttttttttt aaaaacccaa 1380		

[2722] gacaccctca tgatctcccg gaccctgag gtcacatgctc tgggtgttgc cgtgagccac 1440  
 [2723] gaagaccctg aggtcaagtt caactggtagt gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag 1500  
 [2724] acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtc tggcagcgt cctcaccgtc 1560  
 [2725] ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgcg aggtctccaa caaaggccctc 1620  
 [2726] ccagccccca tcgagaaaaac catctccaaa gccaaaggc accacagggtg 1680  
 [2727] tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg 1740  
 [2728] gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 1800  
 [2729] aacaactaca agaccacgcc tccctgtctg gactccgacg gctccttctt cctctacagc 1860  
 [2730] aagctcaccg tggacaagag caggtggcag cagggaaacg tcttctcatg ctccgtgatg 1920  
 [2731] catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1977  
 [2732] <210> 168  
 [2733] <211> 659  
 [2734] <212> PRT  
 [2735] <213> 人工序列  
 [2736] <220>  
 [2737] <223> 人工序列的描述:包括信号序列的小鼠CSPG5-FLAG\_Fc的氨基酸序列  
 [2738] <400> 168  
 [2739] Met Gly Arg Ala Gly Gly Gly Pro Asp Trp Gly Pro Pro Pro Val  
 [2740] 1 5 10 15  
 [2741] Leu Leu Leu Leu Gly Val Thr Leu Val Leu Thr Ala Gly Ala Val Pro  
 [2742] 20 25 30  
 [2743] Ala Arg Glu Thr Gly Ser Ala Ile Glu Ala Glu Glu Leu Val Arg Ser  
 [2744] 35 40 45  
 [2745] Ser Leu Ala Trp Glu Ser Arg Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly  
 [2746] 50 55 60  
 [2747] Leu Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Thr Ser Trp Thr Glu Arg Gly Ser  
 [2748] 65 70 75 80  
 [2749] Glu Met Ala Ala Val Gly Pro Gly Val Gly Pro Glu Glu Ala Leu Glu  
 [2750] 85 90 95  
 [2751] Ala Ser Ala Ala Val Thr Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Gly Pro  
 [2752] 100 105 110  
 [2753] Gly Leu Gly Gly Val Thr Ala Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln Thr  
 [2754] 115 120 125  
 [2755] Leu Pro Ala Thr Leu Gln Ala Pro Asp Glu Ala Leu Gly Ser Ser Thr  
 [2756] 130 135 140  
 [2757] Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu Ala Thr Glu Thr Ser Gly Pro Pro Ser  
 [2758] 145 150 155 160  
 [2759] Pro Ala Val His Asp Lys Pro Ser Val Gly Pro Glu Leu Pro Lys Glu  
 [2760] 165 170 175  
 [2761] Ile Pro Leu Glu Val Arg Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Glu Pro  
 [2762] 180 185 190  
 [2763] Thr Phe Pro Leu Gln Gly Thr Leu Glu Thr Gln Pro Ala Ser Asp Ile

[2764]	195	200	205
[2765]	Ile Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Ser Glu Gly Arg Gly Ala		
[2766]	210	215	220
[2767]	Asp Met Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro		
[2768]	225	230	235
[2769]	Asp Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp		
[2770]	245	250	255
[2771]	Asp Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe		
[2772]	260	265	270
[2773]	Tyr Asp Asp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Lys Asp Thr		
[2774]	275	280	285
[2775]	Val Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Asp Leu Leu Pro Ser		
[2776]	290	295	300
[2777]	Gln Lys Pro Gly Val Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Asn Arg Trp		
[2778]	305	310	315
[2779]	His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Met Val Pro Gly Ser Ser		
[2780]	325	330	335
[2781]	Ile Ser Leu Arg Pro Arg Pro Gly Asp Pro Gly Lys Asp Leu Ala Ser		
[2782]	340	345	350
[2783]	Gly Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Val Gly Phe Val Arg His Asn Gly		
[2784]	355	360	365
[2785]	Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly		
[2786]	370	375	380
[2787]	Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn		
[2788]	385	390	395
[2789]	Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile		
[2790]	405	410	415
[2791]	Thr Asp Phe Ser Arg Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys Thr Ser		
[2792]	420	425	430
[2793]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
[2794]	435	440	445
[2795]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
[2796]	450	455	460
[2797]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
[2798]	465	470	475
[2799]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
[2800]	485	490	495
[2801]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
[2802]	500	505	510
[2803]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
[2804]	515	520	525
[2805]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		

[2806]	530	535	540
[2807]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
[2808]	545	550	555 560
[2809]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
[2810]	565	570	575
[2811]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
[2812]	580	585	590
[2813]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
[2814]	595	600	605
[2815]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
[2816]	610	615	620
[2817]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
[2818]	625	630	635 640
[2819]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
[2820]	645	650	655
[2821]	Pro Gly Lys		
[2822]	<210> 169		
[2823]	<211> 1947		
[2824]	<212> DNA		
[2825]	<213> 人工序列		
[2826]	<220>		
[2827]	<223> 人工序列的描述:包括信号序列的人类CSPG5-GST的碱基序列		
[2828]	<400> 169		
[2829]	atggggcgag ccgggggcgg gggcccgccc cgggggcccgc cgccactgct gctgtttctg 60		
[2830]	ggggccgcgc tggctctggc ctctggggcc gtgcggcgc gtgaggcgg cagcgcgggtt 120		
[2831]	gaggccgaag agctggtaaa gggcagcccg gcgtgggagc cgcctgcca cgcacacgcgg 180		
[2832]	gaagaagcccg gccccaccaggc ggctggggaa gatgaggcgt cgtggacggc gcccgggtggc 240		
[2833]	gagctggcccg ggccagaaga ggtgctgcag gagtcggctg cggtgaccgg caccgcctgg 300		
[2834]	ctggaagctg acagcccaagg cctgggagga gtgaccgcag aggccggcag cggcgatgcc 360		
[2835]	caggcccttc cagctacgct ccaggctccc cacgagggtcc tcggcagtc aatcatgccc 420		
[2836]	cctgcccattc ctgaggctac agaggccagc gggccaccct ccccccacccc cggcgacaag 480		
[2837]	ctgagcccaag cttctgaact ccccaaggag agcccccctgg aggtttggct gaacctgggg 540		
[2838]	ggcagcacac ccgaccctca agggccagag ctgacttacc catttcaggc caccctggag 600		
[2839]	ccccaaccgg catcagatat cattgacatc gactacttcg aaggacttgg a tggtaggg 660		
[2840]	cgtggcgcag atctggggag cttccctggg tcaccaggaa cctcagagaa ccaccctgtat 720		
[2841]	actgagggag agacccttc ctggagcctg cttgacttat acgtatgtt caccacccttc 780		
[2842]	gatgaatctg atttctaccc caccacatcc ttttatgtat acttggatga agaggaggag 840		
[2843]	gaagaggagg atgacaaaaga tgcagtagga ggtggagacc tagaagatga aaatgagtt 900		
[2844]	ctagtgccta ctgggaagcc tggctctgggg cccgggacag gccagccac cagtcgggtgg 960		
[2845]	catgctgtcc ctccacacca cactctgggg tcggccccgg gcagcagcat cgcgcctcagg 1020		
[2846]	ccccgcccag gagagccagg cagggacttg gcctccagtg aaaatggcac tgagtgcgc 1080		
[2847]	agtggctttg tgccgcataa cggctcctgc cggtcagtttgc ggcacctttt cccaaatgttac 1140		

[2848]	tgtcacaatg	gcggccagt	ctacctggtg	gagaacatag	gggccttctg	caggtcaac	1200									
[2849]	acgcaggact	acatctggca	caaggggatg	cgctgcgagt	ccatcatcac	cgacttcggt	1260									
[2850]	acccttggaa	ttctgttcca	ggggcccatt	tcccctatac	tagtttattt	gaaaattaag	1320									
[2851]	ggccttgtgc	aaccactcg	acttctttt	gaatatctt	aagaaaaata	tgaagagcat	1380									
[2852]	ttgtatgagc	gcgatgaagg	tgataaatgg	cgaaacaaaa	agttgaattt	gggttggag	1440									
[2853]	tttcccaatc	ttccttatta	tattgtatgt	gatgttaat	taacacagtc	tatggccatc	1500									
[2854]	atacgttata	tagctgacaa	gcacaacatg	ttgggtggtt	gtccaaaaga	gcgtgcagag	1560									
[2855]	atttcaatgc	ttgaaggagc	ggttttggat	attagatacg	gtgttcgag	aattgcatat	1620									
[2856]	agtaaagact	ttgaaactct	caaagttgat	tttcttagca	agctacctga	aatgctgaaa	1680									
[2857]	atgttcgaag	atcgtttatg	tcataaaaca	tattnaaatg	gtgatcatgt	aaccatct	1740									
[2858]	gacttcatgt	tgtatgacgc	tcttgatgtt	gttttataca	tggacccaaat	gtgcctggat	1800									
[2859]	gcgttccaa	aattagttt	ttttaaaaaa	cgtattgaag	ctatcccaca	aattgataag	1860									
[2860]	tacttgaat	ccagcaagta	tatagcatgg	cctttgcagg	gctggcaagc	cacgtttgg	1920									
[2861]	ggtggcgacc	atcctccaaa	atcgat	1947												
[2862]	<210>	170														
[2863]	<211>	649														
[2864]	<212>	PRT														
[2865]	<213>	人工序列														
[2866]	<220>															
[2867]	<223>	人工序列的描述:包括信号序列的人类CSPG5-GST的氨基酸序列														
[2868]	<400>	170														
[2869]	Met	Gly	Arg	Ala	Gly	Gly	Pro	Gly	Arg	Gly	Pro	Pro	Pro	Leu		
[2870]	1			5			10							15		
[2871]	Leu	Leu	Phe	Leu	Gly	Ala	Ala	Leu	Val	Leu	Ala	Ser	Gly	Ala	Val	Pro
[2872]				20			25							30		
[2873]	Ala	Arg	Glu	Ala	Gly	Ser	Ala	Val	Glu	Ala	Glu	Glu	Leu	Val	Lys	Gly
[2874]		35			40			45								
[2875]	Ser	Pro	Ala	Trp	Glu	Pro	Pro	Ala	Asn	Asp	Thr	Arg	Glu	Glu	Ala	Gly
[2876]		50			55			60								
[2877]	Pro	Pro	Ala	Ala	Gly	Glu	Asp	Glu	Ala	Ser	Trp	Thr	Ala	Pro	Gly	Gly
[2878]		65			70			75				80				
[2879]	Glu	Leu	Ala	Gly	Pro	Glu	Glu	Val	Leu	Gln	Glu	Ser	Ala	Ala	Val	Thr
[2880]				85			90					95				
[2881]	Gly	Thr	Ala	Trp	Leu	Glu	Ala	Asp	Ser	Pro	Gly	Leu	Gly	Gly	Val	Thr
[2882]				100			105					110				
[2883]	Ala	Glu	Ala	Gly	Ser	Gly	Asp	Ala	Gln	Ala	Leu	Pro	Ala	Thr	Leu	Gln
[2884]				115			120					125				
[2885]	Ala	Pro	His	Glu	Val	Leu	Gly	Gln	Ser	Ile	Met	Pro	Pro	Ala	Ile	Pro
[2886]				130			135					140				
[2887]	Glu	Ala	Thr	Glu	Ala	Ser	Gly	Pro	Pro	Ser	Pro	Thr	Pro	Gly	Asp	Lys
[2888]		145			150			155				160				
[2889]	Leu	Ser	Pro	Ala	Ser	Glu	Leu	Pro	Lys	Glu	Ser	Pro	Leu	Glu	Val	Trp

[2890]	165	170	175
[2891]	Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Asp Pro Gln Gly Pro Glu Leu Thr		
[2892]	180	185	190
[2893]	Tyr Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu Pro Gln Pro Ala Ser Asp Ile Ile		
[2894]	195	200	205
[2895]	Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp		
[2896]	210	215	220
[2897]	Leu Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro Asp		
[2898]	225	230	235
[2899]	Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp Asp		
[2900]	245	250	255
[2901]	Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe Tyr		
[2902]	260	265	270
[2903]	Asp Asp Leu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Lys Asp Ala		
[2904]	275	280	285
[2905]	Val Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Glu Leu Leu Val Pro Thr		
[2906]	290	295	300
[2907]	Gly Lys Pro Gly Leu Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Ser Arg Trp		
[2908]	305	310	315
[2909]	His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Ser Val Pro Gly Ser Ser		
[2910]	325	330	335
[2911]	Ile Ala Leu Arg Pro Arg Pro Gly Glu Pro Gly Arg Asp Leu Ala Ser		
[2912]	340	345	350
[2913]	Ser Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Ser Gly Phe Val Arg His Asn Gly		
[2914]	355	360	365
[2915]	Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly		
[2916]	370	375	380
[2917]	Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn		
[2918]	385	390	395
[2919]	400	405	410
[2920]	415	420	425
[2921]	430	435	440
[2922]	445	450	455
[2923]	460	465	470
[2924]	475	480	485
[2925]	490	495	500
[2926]	505	510	515
[2927]	520	525	530
[2928]	535	540	545
[2929]	550	555	560
[2930]	565	570	575
[2931]	580	585	590

[2932]	500	505	510
[2933]	Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu Gly Ala Val		
[2934]	515	520	525
[2935]	Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser Lys Asp Phe		
[2936]	530	535	540
[2937]	Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu Met Leu Lys		
[2938]	545	550	555
[2939]	Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn Gly Asp His		
[2940]	565	570	575
[2941]	Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp Val Val Leu		
[2942]	580	585	590
[2943]	Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu Val Cys Phe		
[2944]	595	600	605
[2945]	Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr Leu Lys Ser		
[2946]	610	615	620
[2947]	Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala Thr Phe Gly		
[2948]	625	630	635
[2949]	Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp		
[2950]	645		
[2951]	<210> 171		
[2952]	<211> 1947		
[2953]	<212> DNA		
[2954]	<213> 人工序列		
[2955]	<220>		
[2956]	<223> 人工序列的描述:包括信号序列的小鼠CSPG5-GST的碱基序列		
[2957]	<400> 171		
[2958]	atggccgag ctggaggcg ggccccggac tggggccgc cgccagtgt gctgcttctg 60		
[2959]	ggggtcacgc tgggtctcac cgctgggcc gtaccggcac gggaaacagg cagtgcgatc 120		
[2960]	gaggctgaag agctggtgag gagcagcctg gcatggagt cgcgtgccaa tgacacgcgg 180		
[2961]	gaggaagccg gcctgccagc agctgggaa gatgagacct cgtggacaga gcggggcagt 240		
[2962]	gagatggctg cgggtggccc tgggtcggt ccagaggagg cactagaggc atcggctgca 300		
[2963]	gtgactggca ctgcctggct agagggcagat ggcgcaggcc tgggtggagt gactgcagag 360		
[2964]	gctggcagtg gcgacgcaca gacccttcca gctacgctcc aggctcctga tgaggccctt 420		
[2965]	gggtcatcta caatgcffff tgcctccct gaggctactg aaaccagtgg acctccctcc 480		
[2966]	cctgctgtcc atgataagcc tagtgttaggc cctgaactcc ctaaagagat ccccttggag 540		
[2967]	gttcggctga acctgggagg cagcacacca gagcccaatt ttccccttca gggcactctc 600		
[2968]	gagacccaaac cagcctcaga tataattgac attgattact ttgaaggatt ggatagtgag 660		
[2969]	ggtcgtggtg cagacatggg cagttcccg gggtcaccag gaacctcaga aaatcaccct 720		
[2970]	gataccgaag gagagacccc ttccctggagc ctgcttgatt tgtatgtga ctccacccct 780		
[2971]	tttgatgagt ctgatttcta cccaccaca tccttctatg atgatttggaa agaggaggaa 840		
[2972]	gaagaggagg aggataagga tacagtagga ggtggagacc tggaagatga aaacgaccc 900		
[2973]	ctccctgcct ctcaaaagcc tggtgtgggg cctggacag gacagcccac caaccgggtgg 960		

[2974] catgctgttc ccccacagca tactctgggg atggtacctg gcagcagcat ctctcttagg 1020  
 [2975] ccccgccccg gagatccagg caaggacctg gcctcaggag aaaatggcac agagtgccga 1080  
 [2976] gttggcttcg tcaggcacaa tggctcctgc cggtcagtct gtgacctctt tccgagttac 1140  
 [2977] tgtcacaacg gcggccagtg ctacctggtg gagaacatag gggcttctg caggtgtaac 1200  
 [2978] acccaggact acatctggca caaggggatg cgctgtgagt ccatcatcac ggacttcgg 1260  
 [2979] accctggaag ttctgttcca gggcccatg tcccctatac tagttattg gaaaattaag 1320  
 [2980] ggccttgtgc aaccactcg acttctttg gaatatctg aaaaaaaaata tgaagagcat 1380  
 [2981] ttgtatgagc gcgtatgaaagg tgataaatgg cgaaacaaaa agttgaatt gggttggag 1440  
 [2982] tttcccaatc ttcccttatta tattgtatggt gatgttaat taacacagtc tatggccatc 1500  
 [2983] atacgttata tagctgacaa gcacaacatg ttgggtgggt gtccaaaaga gcgtgcagag 1560  
 [2984] atttcaatgc ttgaaggagc ggtttggat attagatacg gtgttcgag aattgcatat 1620  
 [2985] agtaaagact ttgaaactct caaagttgat tttcttagca agtacactga aatgctgaaa 1680  
 [2986] atgttcgaag atcgtttatg tcataaaaca tatttaatg gtgatcatgt aaccatcct 1740  
 [2987] gacttcatgt tgtatgacgc tcttgatggt gttttataca tggacccaat gtgcctggat 1800  
 [2988] gcgttcccaa aatttagttt tttaaaaaaa cgtattgaag ctatccaca aattgataag 1860  
 [2989] tacttgaat ccagcaagta tatagcatgg ccttgcagg gctggcaagc cacgtttgg 1920  
 [2990] ggtggcgacc atcctccaaa atcgat 1947  
 [2991] <210> 172  
 [2992] <211> 649  
 [2993] <212> PRT  
 [2994] <213> 人工序列  
 [2995] <220>  
 [2996] <223> 人工序列的描述:包括信号序列的小鼠 CSPG5-GST的氨基酸序列  
 [2997] <400> 172  
 [2998] Met Gly Arg Ala Gly Gly Gly Pro Asp Trp Gly Pro Pro Pro Val  
 [2999] 1 5 10 15  
 [3000] Leu Leu Leu Leu Gly Val Thr Leu Val Leu Thr Ala Gly Ala Val Pro  
 [3001] 20 25 30  
 [3002] Ala Arg Glu Thr Gly Ser Ala Ile Glu Ala Glu Glu Leu Val Arg Ser  
 [3003] 35 40 45  
 [3004] Ser Leu Ala Trp Glu Ser Arg Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly  
 [3005] 50 55 60  
 [3006] Leu Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Thr Ser Trp Thr Glu Arg Gly Ser  
 [3007] 65 70 75 80  
 [3008] Glu Met Ala Ala Val Gly Pro Gly Val Gly Pro Glu Glu Ala Leu Glu  
 [3009] 85 90 95  
 [3010] Ala Ser Ala Ala Val Thr Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Gly Pro  
 [3011] 100 105 110  
 [3012] Gly Leu Gly Gly Val Thr Ala Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln Thr  
 [3013] 115 120 125  
 [3014] Leu Pro Ala Thr Leu Gln Ala Pro Asp Glu Ala Leu Gly Ser Ser Thr  
 [3015] 130 135 140

[3016]	Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu Ala Thr Glu Thr Ser Gly Pro Pro Ser			
[3017]	145	150	155	160
[3018]	Pro Ala Val His Asp Lys Pro Ser Val Gly Pro Glu Leu Pro Lys Glu			
[3019]		165	170	175
[3020]	Ile Pro Leu Glu Val Arg Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Glu Pro			
[3021]		180	185	190
[3022]	Thr Phe Pro Leu Gln Gly Thr Leu Glu Thr Gln Pro Ala Ser Asp Ile			
[3023]		195	200	205
[3024]	Ile Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Ser Glu Gly Arg Gly Ala			
[3025]		210	215	220
[3026]	Asp Met Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro			
[3027]		225	230	235
[3028]	Asp Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp			
[3029]		245	250	255
[3030]	Asp Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe			
[3031]		260	265	270
[3032]	Tyr Asp Asp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Lys Asp Thr			
[3033]		275	280	285
[3034]	Val Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Asp Leu Leu Leu Pro Ser			
[3035]		290	295	300
[3036]	Gln Lys Pro Gly Val Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Asn Arg Trp			
[3037]		305	310	315
[3038]	His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Met Val Pro Gly Ser Ser			
[3039]		325	330	335
[3040]	Ile Ser Leu Arg Pro Arg Pro Gly Asp Pro Gly Lys Asp Leu Ala Ser			
[3041]		340	345	350
[3042]	Gly Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Val Gly Phe Val Arg His Asn Gly			
[3043]		355	360	365
[3044]	Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly			
[3045]		370	375	380
[3046]	Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn			
[3047]		385	390	395
[3048]	Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile			
[3049]		405	410	415
[3050]	Thr Asp Phe Gly Thr Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Met Ser Pro			
[3051]		420	425	430
[3052]	Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro Thr Arg Leu			
[3053]		435	440	445
[3054]	Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Glu Lys Tyr Glu Glu His Leu Tyr Glu Arg			
[3055]		450	455	460
[3056]	Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu Gly Leu Glu			
[3057]		465	470	475
				480

[3058]	Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys Leu Thr Gln			
[3059]		485	490	495
[3060]	Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn Met Leu Gly			
[3061]		500	505	510
[3062]	Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu Gly Ala Val			
[3063]		515	520	525
[3064]	Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser Lys Asp Phe			
[3065]		530	535	540
[3066]	Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu Met Leu Lys			
[3067]		545	550	555
[3068]	Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn Gly Asp His			
[3069]		565	570	575
[3070]	Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp Val Val Leu			
[3071]		580	585	590
[3072]	Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu Val Cys Phe			
[3073]		595	600	605
[3074]	Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr Leu Lys Ser			
[3075]		610	615	620
[3076]	Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala Thr Phe Gly			
[3077]		625	630	635
[3078]	Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp			
[3079]		645		

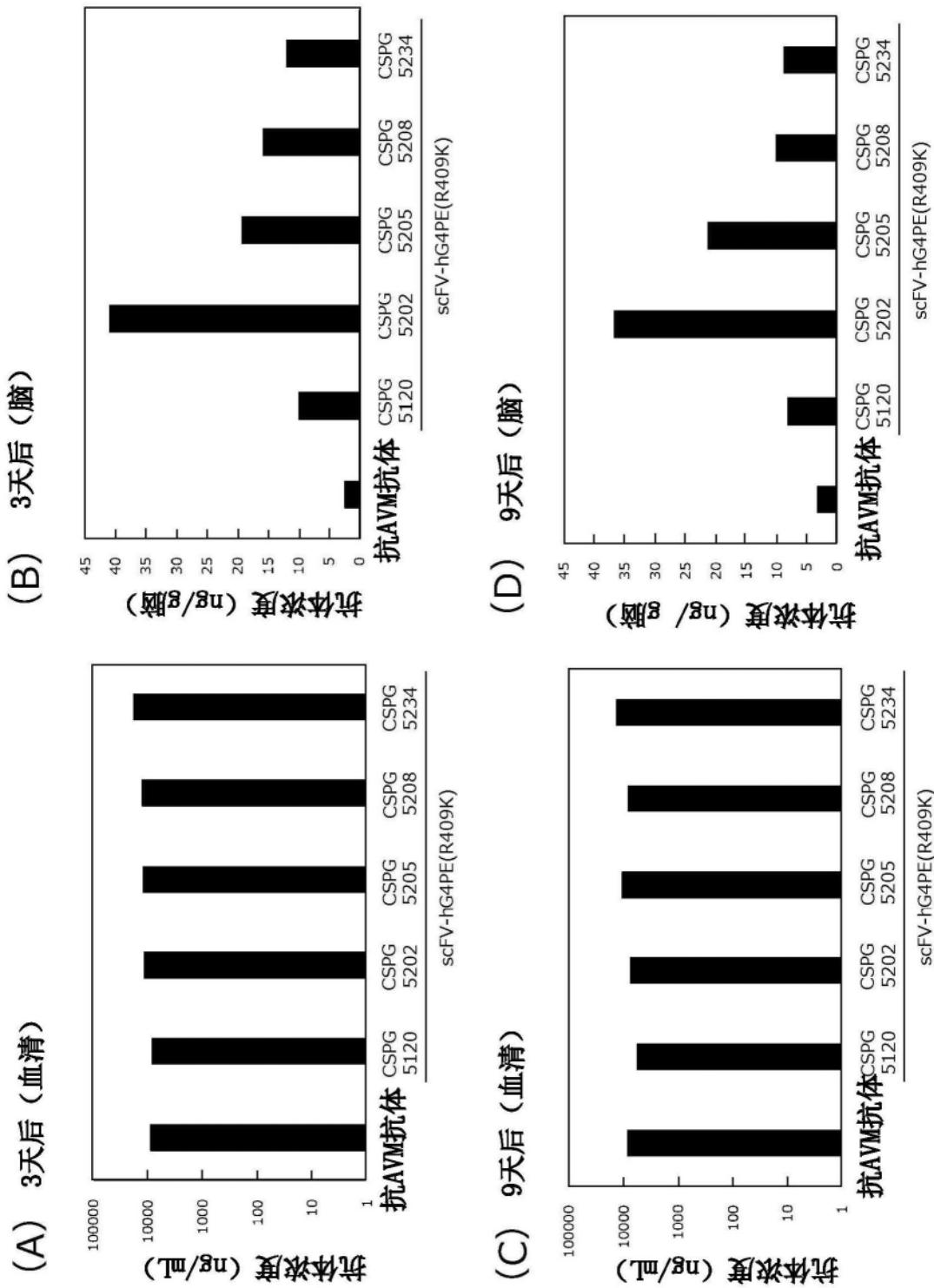


图1

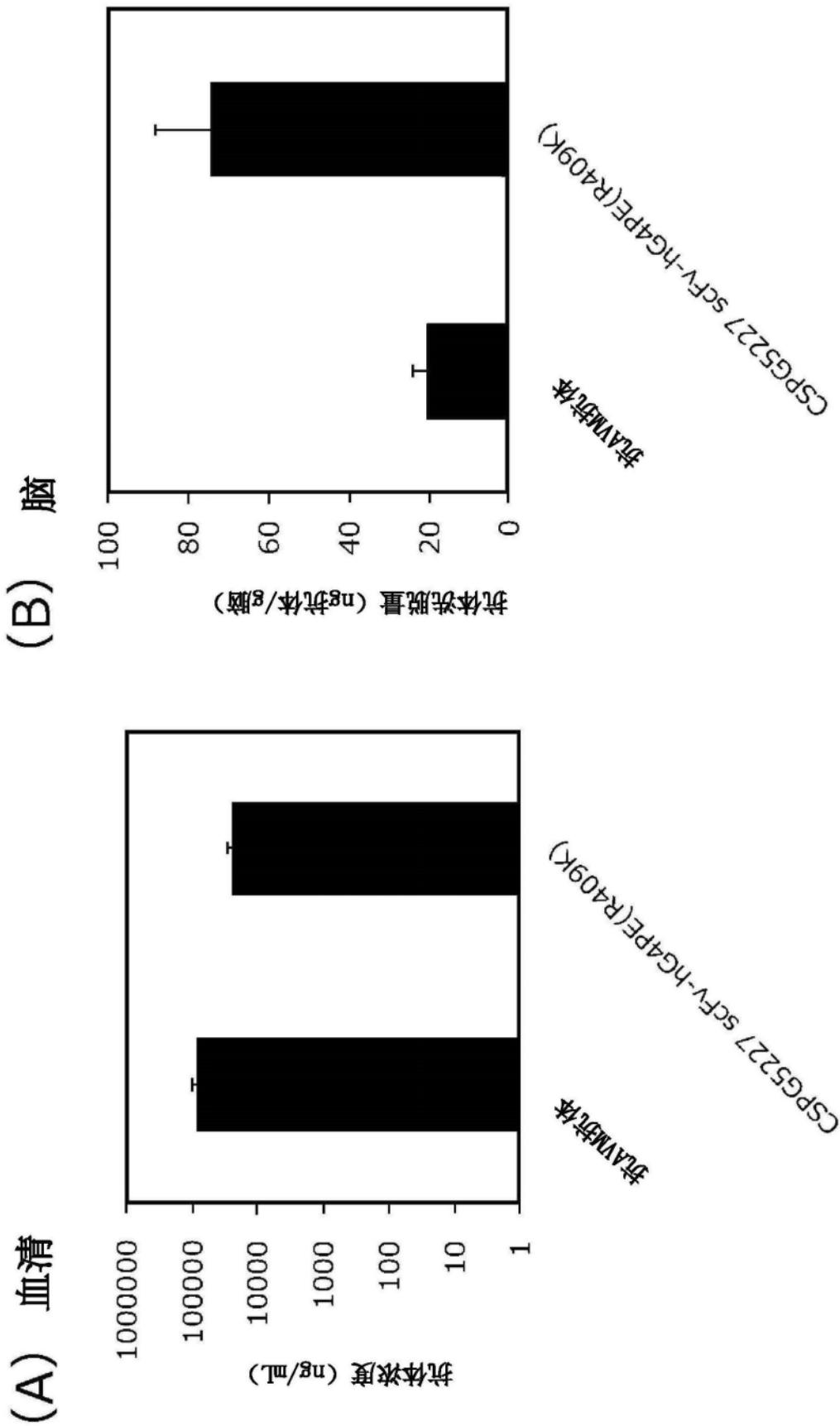


图2

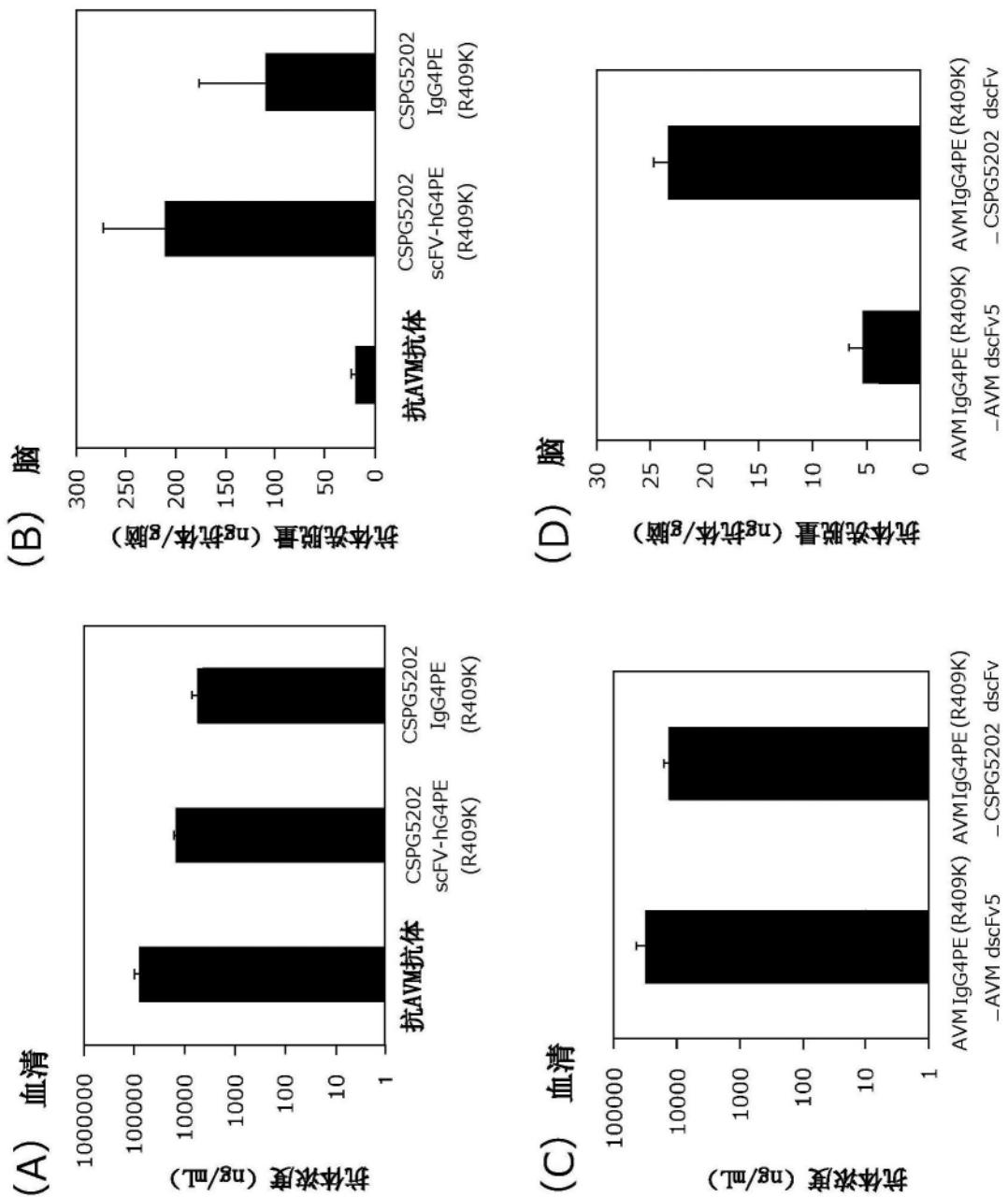
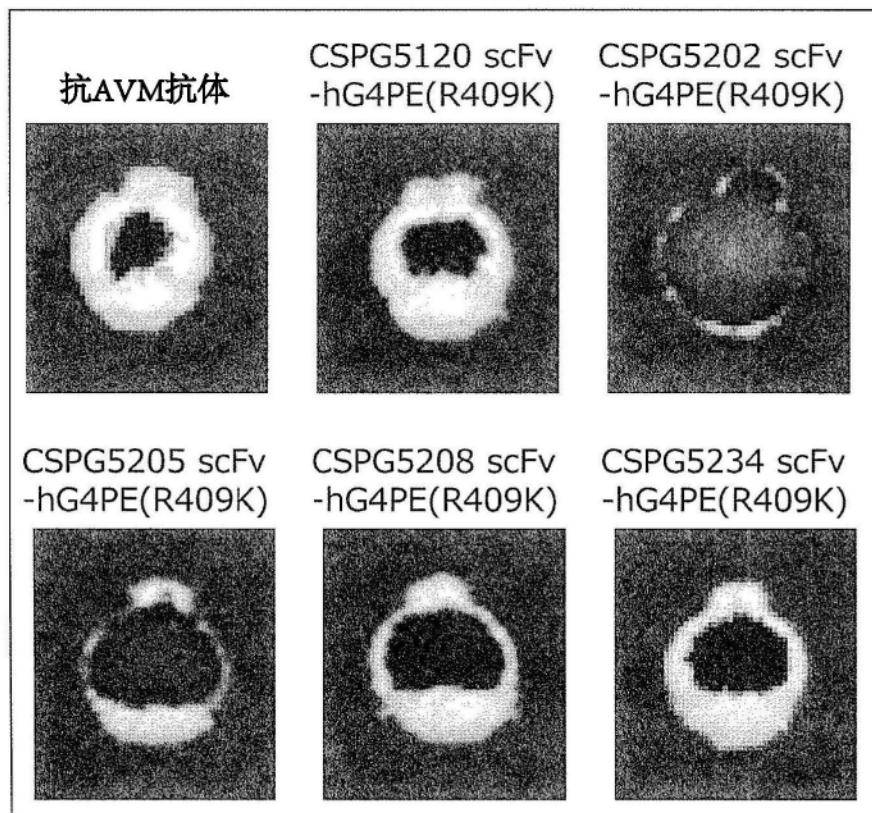


图3

(A)



(B)

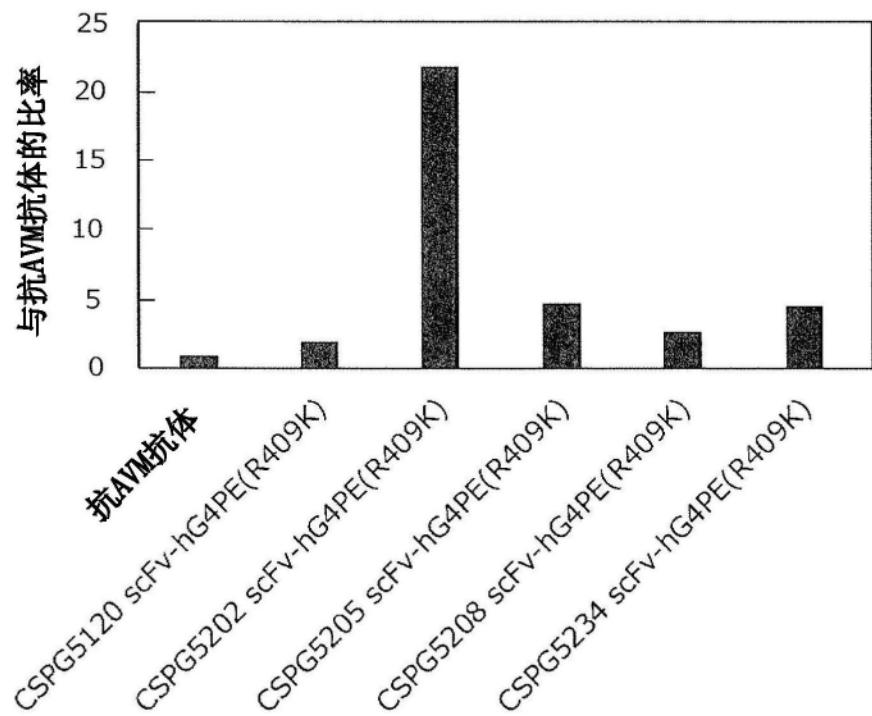


图4

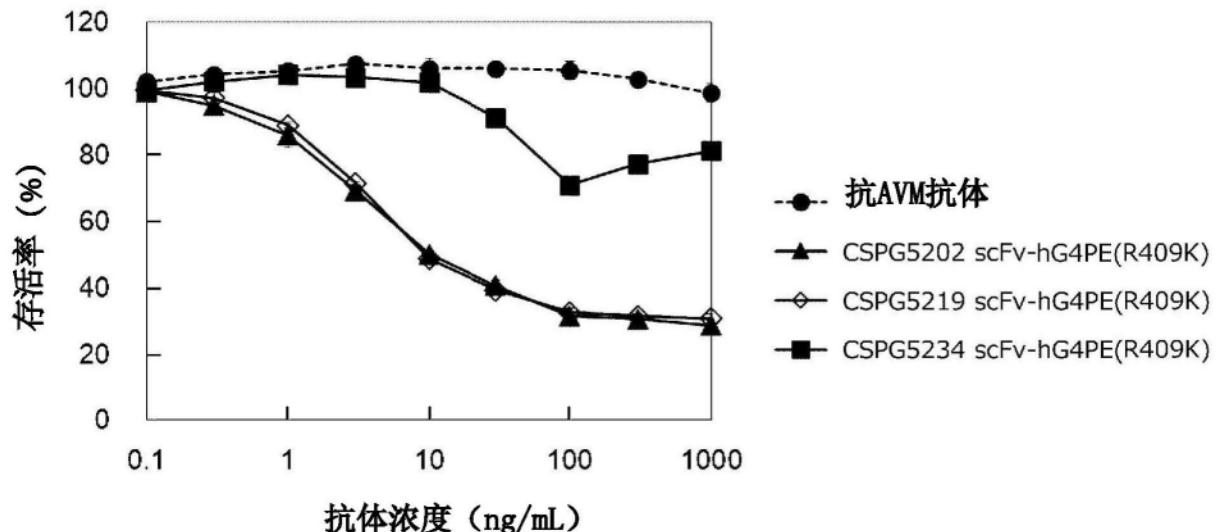


图5

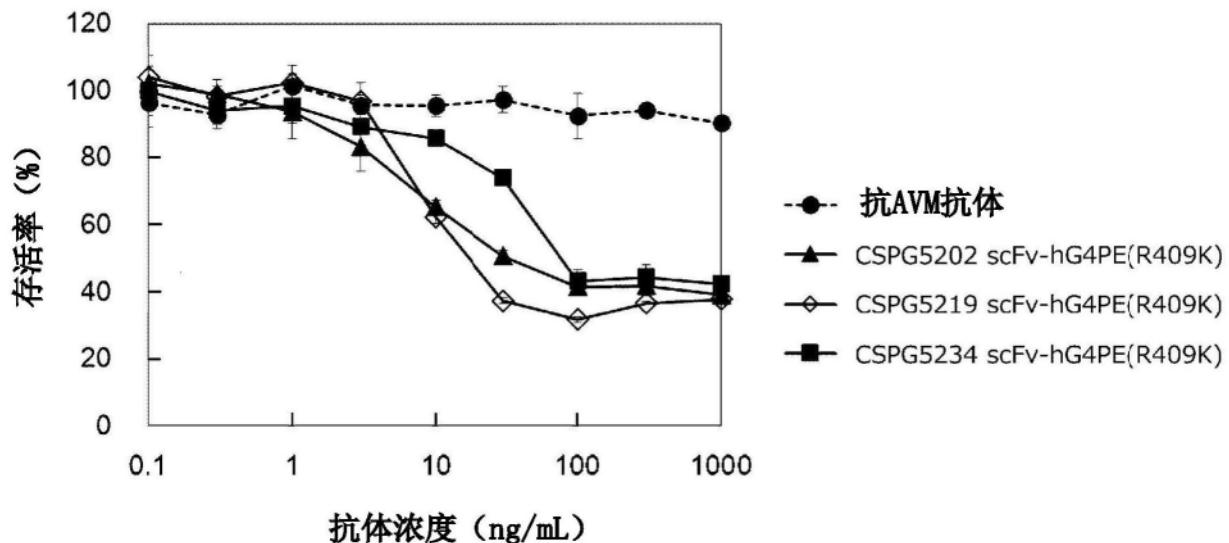


图6