



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201035110 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：099117647

(22)申請日：中華民國 95 (2006) 年 04 月 25 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01) A61K39/395 (2006.01)

(30)優先權：2005/04/26 美國 60/675,311

(71)申請人：輝瑞大藥廠(美國) PFIZER INC. (US)

美國

(72)發明人：鮑爾 克里斯多夫 泰德 BAUER, CHRISTOPHER TODD (US)；茂倫 傑瑞 包尼爾 BOURNER, MAUREEN JERI (US)；鮑伊 瑪雷尼 BOYLE, MELANIE (GB)；卡斯波森 傑若德 法萊斯 CASPERSON, GERALD FRIES (US)；葛吉斯 大衛 威廉 GRIGGS, DAVID WILLIAM (US)；海德 理查 大衛 HEAD, RICHARD DAVID (US)；喬伊 威廉 迪恩 JOY, WILLIAM DEAN (US)；瑪茲雷利 理查 艾倫 MAZZARELLA, RICHARD ALLEN (US)；名特 雷夫 瑞蒙 MINTER, RALPH RAYMOND (GB)；莫菲特 馬克 艾倫 MOFFAT, MARK ALLEN (US)；席利 貝瑞特 理查 THIELE, BARRETT RICHARD (US)；維納戴爾 泰德 里伊 VANARSDALE, TODD LEE (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：14 項 圖式數：1 共 248 頁

(54)名稱

P－鈣黏素抗體

P-CADHERIN ANTIBODIES

(57)摘要

本發明係關於結合於 P-鈣黏素及用於抑制 P-鈣黏素之抗體，包括人類抗體及其抗原結合部位。本發明亦係關於自人類 P-鈣黏素抗體衍生之重鏈及輕鏈免疫球蛋白及編碼此等免疫球蛋白之核酸分子。本發明亦係關於製備人類 P-鈣黏素抗體之方法、包含該等抗體之組合物及使用該等抗體及組合物之方法。本發明亦係關於包含本發明之核酸分子之轉殖基因動物或植物。



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201035110 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：099117647

(22)申請日：中華民國 95 (2006) 年 04 月 25 日

(51)Int. Cl.：

C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

(30)優先權：2005/04/26

美國

60/675,311

(71)申請人：輝瑞大藥廠(美國) PFIZER INC. (US)

美國

(72)發明人：鮑爾 克里斯多夫 泰德 BAUER, CHRISTOPHER TODD (US)；茂倫 傑瑞 包尼爾 BOURNER, MAUREEN JERI (US)；鮑伊 瑪雷尼 BOYLE, MELANIE (GB)；卡斯波森 傑若德 法萊斯 CASPERSON, GERALD FRIES (US)；葛吉斯 大衛 威廉 GRIGGS, DAVID WILLIAM (US)；海德 理查 大衛 HEAD, RICHARD DAVID (US)；喬伊 威廉 迪恩 JOY, WILLIAM DEAN (US)；瑪茲雷利 理查 艾倫 MAZZARELLA, RICHARD ALLEN (US)；名特 雷夫 瑞蒙 MINTER, RALPH RAYMOND (GB)；莫菲特 馬克 艾倫 MOFFAT, MARK ALLEN (US)；席利 貝瑞特 理查 THIELE, BARRETT RICHARD (US)；維納戴爾 泰德 里伊 VANARSDALE, TODD LEE (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：14 項 圖式數：1 共 248 頁

(54)名稱

P－鈣黏素抗體

P-CADHERIN ANTIBODIES

(57)摘要

本發明係關於結合於 P-鈣黏素及用於抑制 P-鈣黏素之抗體，包括人類抗體及其抗原結合部位。本發明亦係關於自人類 P-鈣黏素抗體衍生之重鏈及輕鏈免疫球蛋白及編碼此等免疫球蛋白之核酸分子。本發明亦係關於製備人類 P-鈣黏素抗體之方法、包含該等抗體之組合物及使用該等抗體及組合物之方法。本發明亦係關於包含本發明之核酸分子之轉殖基因動物或植物。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於結合於P-鈣黏素之抗體及其抗原結合部位。本發明亦係關於編碼此等抗體及抗原結合部位之核酸分子、製造P-鈣黏素抗體及抗原結合部位之方法、包含該等抗體及抗原結合部位之組合物及使用該等抗體、抗原結合部位及組合物之方法。

【先前技術】

鈣黏素係一種跨膜糖蛋白之總科，其在發育及組織恆定過程中調節細胞間之黏著 (Gumbiner *J. Cell. Biol.*, 148:399-404 (2000); Yagi等人, *Genes Dev.*, 14:1169-1180 (2000))。鈣黏素之胞內區域與細胞質蛋白，諸如索煙素 (catenin)及p120相互作用，其形成鈣黏素附著於肌動蛋白細胞骨架之基礎。鈣黏素具有五個細胞外 Ca^{2+} 結合區域及高度保留於經典鈣黏素中之小的細胞質區域。經典鈣黏素家族之成員包括P-鈣黏素、E-鈣黏素，及N-鈣黏素。認為諸如鈣黏素之細胞黏著分子在癌與轉移細胞間之細胞連接中起重要作用 (Furukawa等人, *Microscopy Res. Technique* 38 (4):343-352 (1997))。P-鈣黏素在正常成人組織中之表現係低的且主要限制於肌上皮細胞及複層上皮組織的基底層 (Shimoyama等人, *Cancer Res.* 49:2128-33 (1989))。P-鈣黏素在發炎性腸道疾病，諸如克羅恩氏症 (Crohn's disease)及結腸炎中含量升高 (Hardy等人, *Gut* 50:513-519 (2002))。現有大量證據揭示，P-鈣黏素表現異常與細胞增

生及結腸、乳房、肺、甲狀腺及子宮頸的腫瘤有關 (Gamallo, *Modern Pathology*, 14:650-654, (2001); 及 Stefansson 等人, *J. Clin. Oncol.* 22(7):1242-1252 (2004))。據報導, 人類 P-鈣黏素係由自陰門表皮樣癌產生之 NCC-CAD-299 單選殖抗體確認之抗原 (Shimoyama 等人, *Cancer Res.*, 49:2128-2133 (1989))。吾人期望 P-鈣黏素調節之黏著及細胞內發訊之調變導致增生及活體內腫瘤細胞存活之減少。因此, 鑒於 P-鈣黏素在細胞增生及實心腫瘤進程中看起來擁有的關鍵作用, 需要產生可為患有多種癌症之患者提供治療益處之 P-鈣黏素抗體。

【發明內容】

本發明之一態樣係 P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位, 其中該抗體或其抗原結合部位具有在下文 A) 至 K) 描述之若干功能特性之至少一種。

A) 舉例而言, 在一實施例中, 該等抗體或其抗原結合部位與 P-鈣黏素之結合親和力 ($K_D(P)$) 大於與 E-鈣黏素之結合親和力 ($K_D(E)$)。在一實施例中, 本發明之抗體或其抗原結合部位具有大於或等於 1.5 之 $K_D(E)/K_D(P)$ 。在其他實施例中, 本發明之抗體或其抗原結合部位之 $K_D(E)/K_D(P)$ 大於或等於 2, 大於或等於 3, 大於或等於 5, 大於或等於 10, 大於或等於 20, 大於或等於 50, 大於或等於 100, 大於或等於 200, 大於或等於 500, 或者大於或等於 1000。通常 $K_D(E)/K_D(P)$ 值無上限, 因為 $K_D(E)$ 值可以極小, 諸如為 0。然而為實踐目的, $K_D(E)/K_D(P)$ 之上限可係 1×10^6 。用於 P-

鈣黏素及E-鈣黏素之此等 K_D 值可藉由熟習此項技術者所知之任何技術量測，諸如藉由ELISA、RIA、流動式細胞量測術，或表面電漿共振，諸如BIAcore™。

B) 在另一實施例中，藉由表面電漿共振量測之抗體或其部位與P-鈣黏素結合之 K_D 為1000 nM或更小。在其他實施例中，藉由表面電漿共振量測之抗體或部位與P-鈣黏素結合之 K_D 為小於500 nM、小於100 nM、小於50 nM、小於20 nM、小於10 nM、小於1 nM、小於500 pM，或小於100 pM。通常， K_D 值沒有下限。然而為實踐目的，可假定下限為約1 pM。

C) 在另一實施例中，藉由表面電漿共振量測之抗體或其部位對於P-鈣黏素之解離率(k_{off})小於或等於 0.01 s^{-1} 。例如，在某些實施例中，抗體或其部位對於P-鈣黏素之 k_{off} 小於 0.005 s^{-1} 、小於 0.004 s^{-1} 、小於 0.003 s^{-1} 、小於 0.002 s^{-1} ，或小於 0.001 s^{-1} 。通常， K_{off} 值沒有下限。然而為實踐目的，可假定下限為約 $1 \times 10^{-7}\text{ s}^{-1}$ 。

D) 在另一實施例中，藉由P-鈣黏素依賴細胞黏著檢定量測之P-鈣黏素抗體或其部位之 IC_{50} 為100 nM或更小。在其他實施例中，藉由P-鈣黏素依賴細胞黏著檢定量測之 IC_{50} 小於50 nM、小於40 nM、小於20 nM、小於10 nM、小於1 nM、小於500 pM、小於200 pM、小於100 pM，或小於10 pM。通常，藉由P-鈣黏素依賴細胞黏著檢定量測之 IC_{50} 值沒有下限。然而為實踐目的，可假定下限為約1 pM。

E) 在另一實施例中，藉由P-鈣黏素依賴細胞凝集檢定量

測之P-鈣黏素抗體或其部位之 IC_{50} 為100 nM或更小。在其他實施例中，藉由P-鈣黏素依賴細胞凝集檢定量測之 IC_{50} 小於50 nM、小於40 nM、小於20 nM、小於10 nM、小於1 nM、小於500 pM、小於200 pM、小於100 pM，或小於1 pM。通常，藉由P-鈣黏素依賴細胞凝集檢定量測之 IC_{50} 值沒有下限。然而為實踐目的，可假定下限為約1 pM。

F) 在另一實施例中，與不存在IgG之對照樣本相比，P-鈣黏素抗體或其部位在P-鈣黏素依賴球狀體分裂檢定中增加球狀體分裂至少2倍。在其他實施例中，與不存在IgG之對照樣本相比，P-鈣黏素抗體或其部位在P-鈣黏素依賴球狀體分裂檢定中增加球狀體分裂至少3倍、至少4倍、至少6倍、至少10倍或至少15倍。

G) 在另一實施例中，P-鈣黏素抗體或其部位與選自由194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-b09；g-194-g09；g-196-g03；g-196-h02；g-194-e01；g-194-e06；129-1c4；及g-129-1c4組成之群之抗體競爭結合於P-鈣黏素。

H) 在另一實施例中，P-鈣黏素抗體或其部位與選自由194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-b09；g-194-g09；g-196-g03；g-196-h02；g-194-e01；g-194-e06；129-1c4；及g-129-1c4組成之群之抗體交叉競爭結合於P-鈣黏素。

I) 在另一實施例中，P-鈣黏素抗體或其部位與選自由 194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-b09；g-194-g09；g-196-g03；g-196-h02；g-194-e01；g-194-e06；129-1c4；及 g-129-1c4 組成之群之抗體結合於 P-鈣黏素的相同抗原決定基。

J) 在另一實施例中，P-鈣黏素抗體或其部位以與選自由 194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-b09；g-194-g09；g-196-g03；g-196-h02；g-194-e01；g-194-e06；129-1c4；及 g-129-1c4 組成之群之抗體大體相同之 K_D 結合於 P-鈣黏素。

K) 在另一實施例中，P-鈣黏素抗體或其部位以與選自由 194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-b09；g-194-g09；g-196-g03；g-196-h02；g-194-e01；g-194-e06；129-1c4；及 g-129-1c4 組成之群之抗體大體相同之 K_{off} 結合於 P-鈣黏素。

本發明之其他態樣係一種具有上文 A) 至 K) 中描述之功能特性之至少一種的抗體或其抗原結合部位，其包含胺基酸序列與 SEQ ID NO:1 至 13 及 320 至 325 之任一者至少 90% 相同之 V_H 區域。在一實施例中，該 V_H 區域之胺基酸序列與 SEQ ID NO:1 至 12 及 320 至 325 之任一者至少 91%、至少 93%、至少 95%、至少 97%、至少 99%，或 100% 相同。

在其他實施例中，該抗體或其部位具有上文A)至K)中描述之功能特性之至少一種，其包含SEQ ID NO:1至13及320至325之任一者之V_H區域，或藉由具有至少一保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:1至13及320至325之任一者不同。舉例而言，V_H區域可與SEQ ID NO:1至13及320至325之任一者在1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個保守胺基酸取代上有所不同。在其他實施例中，該等保守胺基酸取代之任一者可出現於CDR1、CDR2及/或CDR3區域。

本發明之其他態樣係具有上文A)至K)中描述之功能特性之至少一種之抗體或其抗原結合部位，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO:14至23及326至331之任一者至少90%相同之V_L區域。在一實施例中，該V_L區域之胺基酸序列與SEQ ID NO:14至23及326至331之任一者至少91%、至少93%、至少95%、至少97%、至少99%，或100%相同。

在其他實施例中，該抗體或其部位具有上文A)至K)中描述之功能特性之至少一種，其包含SEQ ID NO:14至23及326至331之任一者之V_L區域，或藉由具有至少一保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:14至23及326至331之任一者不同。舉例而言，V_L區域可與SEQ ID NO:14至23及326至331之任一者在1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個保守胺基酸取代上有所不同。在其他實施例中，該等保守胺基酸取代基之任一者可出現於CDR1、CDR2及/或CDR3區域。

本發明之另一態樣係一種具有上文A)至K)中描述之功能特性至少一種的抗體或其抗原結合部位，其中該V_L及V_H區

域之每一者分別與抗體194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-b09；g-194-g09；g-196-g03；g-196-h02；g-194-e01；g-194-e06；129-1c4；及g-129-1c4之任一者之V_L及V_H區域具有至少90%相同之胺基酸序列。舉例而言，該V_L及V_H區域之每一者分別與抗體194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-b09；g-194-g09；g-196-g03；g-196-h02；g-194-e01；g-194-e06；129-1c4；及g-129-1c4之任一者之V_L及V_H區域具有至少91%、93%、95%、97%、99%或100%相同之胺基酸序列。

本發明之另一態樣係一種選自由如下抗體及其部位組成之群之抗體或其抗原結合部位：a)包含一在SEQ ID NO:1中陳述之V_H區域及一在SEQ ID NO:14陳述之V_L區域之抗體或其部位；b)包含一在SEQ ID NO:2中陳述之V_H區域及一在SEQ ID NO:14陳述之V_L區域之抗體或其部位；c)包含一在SEQ ID NO:2中陳述之V_H區域及一在SEQ ID NO:15陳述之V_L區域之抗體或其部位；d)包含一在SEQ ID NO:3中陳述之V_H區域及一在SEQ ID NO:16陳述之V_L區域之抗體或其部位；e)包含一在SEQ ID NO:4中陳述之V_H區域及一在SEQ ID NO:17陳述之V_L區域之抗體或其部位；f)包含一在SEQ ID NO:4中陳述之V_H區域及一在SEQ ID NO:23陳述之V_L區域之抗體或其部位；g)包含一在SEQ ID NO:5中陳

述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:18 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；h) 包含一在 SEQ ID NO:6 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:23 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；i) 包含一在 SEQ ID NO:7 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:23 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；j) 包含一在 SEQ ID NO:8 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:23 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；k) 包含一在 SEQ ID NO:9 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:23 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；l) 包含一在 SEQ ID NO:10 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:19 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；m) 包含一在 SEQ ID NO:11 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:20 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；n) 包含一在 SEQ ID NO:12 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:21 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；o) 包含一在 SEQ ID NO:13 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:22 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；p) 包含一在 SEQ ID NO:320 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:326 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；q) 包含一在 SEQ ID NO:321 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:327 陳述之 V_L 區域之抗體或其抗原結合部位；r) 包含一在 SEQ ID NO:322 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:328 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；s) 包含一在 SEQ ID NO:323 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:329 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；t) 包含一在 SEQ ID NO:324 中陳述之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:330 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位；及 u) 包含一在 SEQ ID NO:325 中陳述

之 V_H 區域及一在 SEQ ID NO:331 陳述之 V_L 區域之抗體或其部位。

在其他實施例中，對於在上文群 a) 至 u) 中描述之抗體或其部位之任一者而言，該 V_H 及 / 或 V_L 區域與本文引用之特定 SEQ ID NO 可在至少一保守胺基酸取代上有所不同。舉例而言， V_H 及 / 或 V_L 區域可與應用之 SEQ ID NO 在 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個保守胺基酸取代上不同。在其他實施例中，該等保守胺基酸取代之任一者可出現於 CDR1、CDR2 及 / 或 CDR3 區域。

在另一實施例中，本發明提供一種具有上文 A) 至 K) 中描述之功能特性之至少一種的抗體或其抗原結合部位，其包含一獨立選自 SEQ ID NO:1 至 13 及 320 至 325 之任一者之 V_H 區域或一至少一保守胺基酸取代與 SEQ ID NO:1 至 13 及 320 至 325 之任一者不同之序列，且進一步包含一獨立選自 SEQ ID NO:14 至 23 及 326 至 331 之任一者之 V_L 區域或一至少一保守胺基酸取代與 SEQ ID NO:14 至 23 及 326 至 331 之任一者不同之序列。舉例而言，該 V_H 及 V_L 區域之每一者可獨立與 SEQ ID NO:1 至 13、320 至 325、14 至 23 及 326 至 331 之任一者在 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個保守胺基酸取代上不同。

在其他實施例中，本發明提供一種具有上文 A) 至 K) 中描述之功能特性之至少一種的抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或部位包含一選自 SEQ ID NO:26 至 37 及 91 至 256 之任一者之 V_H CDR3，或一至少一保守胺基酸取代與 SEQ ID

NO:26至37及91至256之任一者不同之序列。舉例而言，該V_H CDR3可與SEQ ID NO:26至37及91至256之任一者在1、2、3，或4個保守胺基酸取代上不同。

在其他實施例中，本發明提供一種具有上文A)至K)中描述之功能特性之至少一種的抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或抗原結合部位包含一選自SEQ ID NO:40至47及257至319之任一者之V_L CDR3，或一至少一保守胺基酸取代與SEQ ID NO:40至47及257至319之任一者不同之序列。舉例而言，該V_L CDR3可與SEQ ID NO:40至47及257至319之任一者在1、2、3，4或5個保守胺基酸取代上不同。

在其他實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或其抗原結合部位包含：一在SEQ ID NO:24中陳述之V_H CDR1，或一至少一保守胺基酸取代與SEQ ID NO:24不同之序列；一在SEQ ID NO:25中陳述之V_H CDR2，或一至少一保守胺基酸取代與SEQ ID NO:25不同之序列；及一獨立選自SEQ ID NO:26至37及91至256之任一者之V_H CDR3，或一至少一保守胺基酸取代基與SEQ ID NO:26至37及91至256之任一者不同之序列。舉例而言，上文提到之V_H CDR1、CDR2及CDR3序列之每一者可獨立與分別引用之SEQ ID NO在1、2、3、4或5個保守胺基酸取代上不同。

在另一實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或抗原結合部位包含：一在SEQ ID NO:38中陳述之V_L CDR1，或一至少一保守胺基酸取代與SEQ ID

NO:38 不同之序列；一在 SEQ ID NO:39 中陳述之 V_L CDR2，或一至少一保守胺基酸取代與 SEQ ID NO:39 不同之序列；及一獨立選自 SEQ ID NO:40 至 47 及 257 至 319 之任一者之 V_H CDR3，或一至少一保守胺基酸取代與 SEQ ID NO:40 至 47 及 257 至 319 之任一者不同之序列。舉例而言，上文提到之 V_L CDR1、CDR2，及 CDR3 序列之每一者可獨立與分別引用之 SEQ ID NO 在 1、2、3、4 或 5 個保守胺基酸取代上不同。

本發明進一步提供一種抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或抗原結合部位包含：一在 SEQ ID NO:24 中陳述之 V_H CDR1；一在 SEQ ID NO:25 中陳述之 V_H CDR2；一選自 SEQ ID NO:26 至 37 及 91 至 256 之任一者之 V_H CDR3；一在 SEQ ID NO:38 中陳述之 V_L CDR1；一在 SEQ ID NO:39 中陳述之 V_L CDR2；及一選自 SEQ ID NO:40 至 47 及 257 至 319 之任一者之 V_L CDR3。在其他實施例中，提到之 V_H 及 V_L CDR1、CDR2，及 CDR3 序列之每一者亦可獨立與引用之特定 SEQ ID NO 在至少一保守胺基酸取代上不同。舉例而言，該等 CDR1、CDR2，及 CDR3 序列之每一者可獨立與上文引用之各特定 SEQ ID NO 在 1、2、3、4 或 5 個保守胺基酸取代上不同。

本發明進一步提供一種抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或抗原結合部位包含在抗體 194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-

b09 ; g-194-g09 ; g-196-g03 ; g-196-h02 ; g-194-e01 ; g-194-e06 ; 129-1c4 ; 及 g129-1c4 之任一者發現之 V_H 及 V_L CDR1、 V_H 及 V_L CDR2，及 V_H 及 V_L CDR3。

本發明進一步提供一種抗體或其抗原結合部位，其包含一選自 SEQ ID NO:1 至 13 及 320 至 325 之任一者之 V_H 區域，或其與 SEQ ID NO:1 至 13 及 320 至 325 之任一者在 1 至 10 個保守胺基酸取代上不同。

本發明進一步提供一種抗體或其抗原結合部位，其包含一選自 SEQ ID NO:14 至 23 及 326 至 331 之任一者之 V_L 區域，或其與 SEQ ID NO:14 至 23 及 326 至 331 之任一者在 1 至 10 個保守胺基酸取代上不同。

本發明進一步提供一種抗體或其抗原結合部位，其包含一獨立選自 SEQ ID NO:1 至 13 及 320 至 325 之任一者之 V_H 區域或一與 SEQ ID NO:1 至 13 及 320 至 325 之任一者在 1 至 10 個保守胺基酸取代上不同之序列，且進一步包含一獨立選自 SEQ ID NO:14 至 23 及 326 至 331 之任一者之 V_L 區域或一與 SEQ ID NO:14 至 23 及 326 至 331 之任一者在 1 至 10 個保守胺基酸取代上不同之序列。

本發明進一步提供一種抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或抗原結合部位包含：一在 SEQ ID NO:24 中陳述之 V_H CDR1；或一與 SEQ ID NO:24 在 1 至 4 個保守胺基酸取代上不同之序列；一在 SEQ ID NO:25 中陳述之 V_H CDR2；或一與 SEQ ID NO:25 在 1 至 4 個保守胺基酸取代上不同之序列；及一選自 SEQ ID NO:26 至 37 及 91 至 256 之任一者之 V_H

CDR3，或一與SEQ ID NO:26至37及91至256之任一者在1至4個保守胺基酸取代上不同之序列。

本發明進一步提供一種抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或抗原結合部位包含：一在SEQ ID NO:38中陳述之V_L CDR1；或一與SEQ ID NO:38在1至4個保守胺基酸取代上不同之序列；一在SEQ ID NO:39中陳述之V_L CDR2，或一與SEQ ID NO:39在1至4個保守胺基酸取代上不同之序列；及一選自SEQ ID NO:40至47及257至319之任一者之V_L CDR3，或一與SEQ ID NO:40至47及257至319之任一者在1至4個保守胺基酸取代上不同之序列。

本發明進一步提供一種具有上文A)至K)中描述之功能特性之至少一種的抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或抗原結合部位包含：一在SEQ ID NO:48中陳述之V_H FR1；一在SEQ ID NO:49中陳述之V_H FR2；一選自SEQ ID NO:50至55之任一者之V_H FR3；一選自SEQ ID NO:56及57之任一者之V_H FR4；一選自SEQ ID NO:58及59之任一者之V_L FR1；一選自SEQ ID NO:60至62之任一者之V_L FR2；一選自SEQ ID NO:63至66之任一者之V_L FR3；及一在SEQ ID NO:67中陳述之V_L FR4。在其他實施例中，提到之V_H及V_L FR1、FR2、FR3，及FR4序列之每一者亦可獨立與引用之特定SEQ ID NO在至少一保守胺基酸取代上不同。舉例而言，該等FR1、FR2、FR3，及FR4序列之每一者可獨立與上文引用的各特定SEQ ID NO在1、2、3、4、5、6、7、8、9，或10個保守胺基酸取代上不同。在又一

實施例中，該等FR1、FR2、FR3，及FR4序列之任一者可經獨立突變以與分別之生殖系構架序列相匹配。

本發明之其他實施例係任何上文描述之抗體，其中該抗體係IgG、IgM、IgE、IgA，或IgD分子，或由其衍生而得。舉例而言，該抗體可為IgG₁或IgG₂。舉例而言，在一實施例中，IgG係IgG₁，其中重鏈恆定區包含SEQ ID NO:344且其中輕鏈恆定區包含SEQ ID NO:345，其限制條件為SEQ ID NO:344之C端離胺酸殘基視情況經分裂。

另一實施例提供任何上文描述之抗體或抗原結合部位，其係Fab片段、F(ab')₂片段、F_V片段、單鏈F_V片段、單鏈V_H片段、單鏈V_L片段、人源化抗體、嵌合抗體或雙特異性抗體。

其他實施例係衍生抗體或抗原結合部位，其包含任何本文描述之抗體或其部位及至少一額外分子實體。舉例而言，該至少一額外分子實體可係另一抗體(例如，雙特異性抗體或雙功能抗體)、偵測劑、標記、細胞毒性劑、藥劑，及/或可調節該抗體或抗體部位與另一分子(諸如抗生蛋白鏈菌素核心區域或多聚組胺酸標籤)之締合的蛋白或肽。舉例而言，可用於衍生本發明之抗體或抗原結合部位之有用偵測劑包括螢光化合物，包括螢光素、螢光異硫氰酸鹽、若丹明(rhodamine)、5-二甲胺基-1-萘-磺醯氯、藻紅素、鐳系磷光體，及其類似物。抗體亦可以適於偵測之酶標記，諸如辣根過氧化物酶、β-半乳糖、螢光素酶、鹼性磷酸酶、葡萄糖氧化酶，及其類似物。在其他實施例

中，本發明之抗體及其部位亦可以生物素，或以由二級報導基因(例如，白胺酸拉鏈對序列、用於二級抗體之結合位點、金屬結合區域、抗原決定基標籤)確認之預定多肽抗原決定基標記。在本發明之又一實施例中，任何抗體或其部位亦可經化學基團衍生，諸如聚乙二醇(PEG)、甲基或乙基，或碳水化合物基團。

在一些實施例中，本文揭示之P-鈣黏素抗體或抗原結合部位附著於一撐體。

在一些實施例中，本發明之任何P-鈣黏素抗體之重鏈之C端離胺酸經分裂。在本發明之多個實施例中，P-鈣黏素抗體之重鏈及輕鏈可視情況包括N-端訊號序列。舉例而言，重鏈訊號序列可係SEQ ID NO:346，且輕鏈訊號序列可係SEQ ID NO:347。

在其他實施例中，本發明係關於本文描述之任何抗體或其抗原結合部位，其中該等抗體或其抗原結合部位源於人類。

本發明亦提供一種醫藥組合物，其包含上文描述之任何抗體或其抗原結合部位及醫藥學上可接受之載劑。

在另一實施例中，本發明係關於經分離之核酸分子，其包含編碼本文描述之任何抗體或其抗原結合部位之核苷酸序列。一特定實施例係一種經分離之核酸分子，其包含一在SEQ ID NO:68至90及332至343之任一者陳述之核苷酸序列。本發明進一步係關於一種包含本文描述之任何核酸分子之載體，其中該載體視情況包含一操作上鏈接於該核酸

分子之表現控制序列。

另一實施例提供一種宿主細胞，其包含本文描述之載體之任一者或包含本文描述之核酸分子之任一者。本發明亦提供一種經分離之細胞株，其產生任何本文描述之抗體或抗原結合部位或產生任何該等抗體或該等抗原結合部位之重鏈或輕鏈。

在另一實施例中，本發明係關於一種用於製造P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位之方法，其包含在穩定條件下對本文描述之任何宿主細胞或細胞株進行培養並回收該抗體或抗原結合部位。

本發明亦係關於一種包含本文描述之任何核酸之非人轉殖基因動物或轉殖基因植物，其中該非人轉殖基因動物或轉殖基因植物表現該核酸。

本發明進一步提供一種用於分離結合於P-鈣黏素之抗體或其抗原結合部位之方法，其包含自本文描述之非人轉殖基因動物或轉殖基因植物分離該抗體之步驟。

本發明亦提供一種用於治療有需要之哺乳動物之細胞生長異常之方法，其包含投與該哺乳動物任何本文描述之抗體或其抗原結合部位，或任何醫藥組合物之步驟。本發明進一步提供一種用於以結合於P-鈣黏素之抗體或其抗原結合部位治療有需要之哺乳動物體內細胞生長異常之方法，其包含在適宜條件下投與該哺乳動物有效量之本文描述之任何核酸分子之步驟，該條件允許該等核酸分子之表現。

在另一實施例中，用於治療細胞生長異常之方法進一步包

含投與一定量之一或多種選自抗瘤劑、抗血管生成劑、訊號轉導抑制劑，及抗增生劑之物質，其總量對於治療該細胞生長異常係有效的。在特定實施例中，該細胞生長異常係癌性的。

本發明進一步提供一種用於減少P-鈣黏素依賴細胞凝集之方法，其包含將該等細胞與本文描述之抗體或其抗原結合部位或本文描述之任何醫藥組合物接觸。

本發明之另一態樣係一種抗體或其抗原結合部位，其包含利用人類V_H-3家族基因之重鏈可變區胺基酸序列。舉例而言，在一實施例中，該人類V_H-3家族基因係V_H-3-23。

本發明之另一態樣提供本文描述之任何抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或抗原結合部位係人類抗體。在其他態樣中，該抗體或抗原結合部位係人類重組抗體。

本發明亦提供一種用於製造P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位之方法，其包含如下步驟：在噬菌體上合成人類抗體庫，以P-鈣黏素或其抗原部位篩檢該庫，分離結合P-鈣黏素之噬菌體，並自該噬菌體獲得抗體。

定義及通用技術

除非在本文另外界定，否則與本發明結合使用之科學及技術術語具有一般技術者普遍理解之含義。此外，除非上下文另有要求，否則單數術語應包括複數且複數術語應包括單數。一般而言，關於本文描述之細胞及組織培養、分子生物學、免疫學、微生物學、遺傳學及蛋白及核酸化學及雜交之命名及其技術為此項技術中熟知且普遍使用的。

除非另外指出，否則本發明之方法及技術一般根據此項技術中熟知之習知方法及在本說明書引用及通篇論述之多個一般及更特定文獻中之描述而執行。見，例如，Sambrook等人，*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*，第3版，Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000)；Ausubel，等人，**Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology**，Wiley, John & Sons, Inc. (2002)；Harlow及Lane **Using Antibodies: A Laboratory Manual**，Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1998)；及Coligan，等人，**Short Protocols in Protein Science**，Wiley, John & Sons, Inc. (2003)，其揭示內容以引用之方式併入本文中。酶促反應及純化技術根據產商說明書、如此項技術中普遍完成的或如本文描述而執行。關於本文描述之分析化學、合成有機化學、及醫藥及藥物化學所使用之命名及其實驗室程序係此項技術中熟知的且普遍使用的。在化學合成、化學分析、藥劑製備、形成、傳遞，以及治療病人中使用標準技術。

已知基礎抗體結構單元包含一四聚體。每一四聚體由兩對相同多肽鏈構成，每一對具有一"輕"鏈(約25 kDa)及一"重"鏈(約50-70 kDa)。每一鏈的胺基終端部位包括一具有約100至120或更多胺基酸之可變區，其主要負責抗原識別。每一鏈的羧基終端部位界定一主要負責效應器功能之恆定區。人類輕鏈分為 κ 及 λ 輕鏈。重鏈分為 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ ，且分別界定抗體同型IgM、IgD、IgG、IgA，及IgE。在

輕鏈及重鏈內，可變及恆定區經由約12個或更多胺基酸之 "J" 區域連接，重鏈亦包括約3個或更多胺基酸之 "D" 區域。一般參見，**Fundamental Immunology**, Ch. 7(Paul, W. 編，第2版，Raven Press, N.Y. (1989))(為所有目的，其全文以引用之方式併入本文中)。每一重/輕鏈對之可變區(V_H 及 V_L)形成抗體結合位點。因此，(例如)完整IgG抗體具有兩個結合位點。除了在雙功能或雙特異性抗體中，該等兩個結合位點係相同的。

重鏈及輕鏈之可變區展示相同通式結構，其具有由三個高變區連接之相對保守構架區(FR)，其亦稱為互補判定區或CDR。術語"可變"係指以下事實：可變區的某些部位在抗體序列上差別很大且用於每一特定抗體與其特異抗原之結合及特異性。然而，可變性並非均勻分佈於抗體可變區，而集中於CDR，其由更為高度保守FR分離。來自每一對兩條鏈之CDR由FR比對，使得可結合於一特異性抗原決定基。自N端至C端，輕鏈及重鏈均包含區域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。胺基酸在每一鏈上的分配與Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987及1991))或Chothia & Lesk J., *Mol. Biol.*, 196:901-917 (1987); Chothia等人，*Nature* 342:878-883 (1989)之界定一致，其揭示內容以引用之方式併入本文中。

除非另外指出，否則以如下術語應理解為具有如下含義：

除非另外特定指出，否則術語"P-鈣黏素"係指人類P-鈣黏素，其係貫穿性膜蛋白且係調節細胞間黏著之經典跨膜糖蛋白鈣黏素家族之一員。人類P-鈣黏素之選殖及序列已有報導，例如Shimoyama等人，*J. Cell Biol.* 109 (4 Pt 1), 1787-1794 (1989)，其揭示內容以引用之方式併入本文中。期望術語P-鈣黏素包括重組人類P-鈣黏素及重組嵌合型P-鈣黏素，其可藉由標準重組表現方法製備或可為市售(R&D Systems 861-PC-100)。

除非另外特定指出，否則於本文使用時，術語"E-鈣黏素"係指人類E-鈣黏素，其係貫穿性膜蛋白且係調節細胞間黏著之經典跨膜糖蛋白鈣黏素家族之一員。E-鈣黏素在(例如)Takeichi, *Science*, 251: 1451-1455 (1991)中描述，其揭示內容以引用之方式併入本文中。期望術語E-鈣黏素包括重組人類E-鈣黏素及重組嵌合型E-鈣黏素，其可藉由標準重組表現方法製備或可為市售(R&D 648-EC-100)。

術語"多肽"包含天然或人造蛋白、蛋白序列之蛋白片段及多肽類似物。多肽可係單體或聚合型。

術語"經分離之蛋白"、"經分離之多肽"或"經分離之抗體"係蛋白、多肽或抗體，根據其起源或衍生源，其(1)與天然狀態下伴隨其之天然相關組份無關，(2)不含來自相同物種之其他蛋白，(3)由來自不同物種之細胞表現，或(4)不天然存在。因此，經由化學合成或在不同於其天然起源之細胞的細胞系統內合成的多肽將自其天然相關組份中"分離"出來。使用此項技術中已知之蛋白純化技術，亦可藉由分

離而使得蛋白大體不含天然相關組份。

經分離抗體之實例包括已使用P-鈣黏素進行親和力純化之P-鈣黏素抗體，及已藉由細胞株活體外合成之P-鈣黏素抗體。

當實例之至少約60至75%展示單一物種之多肽時，蛋白或多肽係"大體純淨"、"大體均質"或"大體經純化"。該多肽或蛋白可係單體或多體的。大體純淨之多肽或蛋白通常可含有約50%、60%、70%、80%或90% w/w之蛋白樣本，更通常約95%，且較佳可大於99%純淨。蛋白純度或均質性可由此項技術中熟知之多種方法指示，諸如對蛋白樣本進行聚丙烯醯胺凝膠電泳，隨後以此項技術中熟知之染色劑對凝膠進行染色時對單獨多肽鏈進行觀測。為某些目的，可使用HPLC或其他此項技術中熟知之用於純化之方法提供較高解析度。

如本文所用，術語"多肽片段"係指具胺基終端及/或羧基終端缺失之多肽，但剩餘胺基酸序列與天然存在序列內之相應位置相同。在一些實施例中，片段至少為5、6、8或10個胺基酸長。在其他實施例中，該等片段至少14、至少20、至少50，或至少70、80、90、100、150或200個胺基酸長。

如本文所用之術語"類似物"或"多肽類似物"係指包含與一些參考胺基酸序列具有大體同一性且與該參考胺基酸序列具有大體相同功能之嵌段之多肽。通常，多肽類似物包含一與參考序列相關之保守胺基酸取代(或插入或缺失)。

類似物可係至少20或25胺基酸長，或可係至少50、60、70、80、90、100、150或200胺基酸長或更長，且通常可與全長多肽同樣長。本發明之一些實施例包括具有來自生殖系胺基酸序列之1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17個取代之多肽片段或多肽類似物抗體。抗體或免疫球蛋白分子的片段或類似物可由一般技術者遵循該說明書之教示方便地製備。

在某些實施例中，P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位之胺基酸取代係彼等如下胺基酸取代，其：(1)降低對蛋白水解之易感性，(2)降低對氧化之易感性，(3)變更形成蛋白錯合物之結合親和力，及(4)賦予或改質此等類似物之其他物理化學或功能特性，但仍保持與P-鈣黏素之特異性結合。類似物可包括對正常存在的肽序列之各種取代。例如，單或多個胺基酸取代(較佳為保守胺基酸取代)可存在於正常存在之序列(例如在形成分子間接觸之區域外的多肽部位)。胺基酸取代亦可存在於形成分子間接觸之區域，其可改良多肽活性。保守胺基酸取代不應在實質上改變母序列之結構特徵；例如，代替胺基酸不應改變母序列內出現之組成免疫球蛋白結合區域之反平行 β 片層，或中斷表徵母序列之二級結構之其他類型。一般而言，甘胺酸及脯胺酸將不用於反平行 β 片層。技術確認之多肽二級及三級結構之實例描述於 **Proteins, Structures and Molecular Principles**(Creighton編，W. H. Freeman及Company，New York (1984))；**Introduction to Protein Structure**(C. Branden及J. Tooze

編，Garland Publishing，New York，N.Y. (1991))；及Thornton等人. *Nature* 354:105(1991)，其以參考之方式併入本文中。

如本文所用之術語"抗體"與免疫球蛋白同義且如此項技術中普遍已知的理解。詳言之，術語抗體不限於產生抗體之任何特定方法。舉例而言，術語抗體包括(但不限於)重組抗體、單株抗體及多株抗體。

如本文所用之術語抗體之"抗原結合部位"(或簡稱為"抗體部位")係指保持特異結合於抗原(例如，P-鈣黏素)之能力的抗體之一或多個片段。已展示抗體的抗原結合功能可由全長抗體之片段執行。術語抗體之"抗原結合部位"包含之結合片段之實例包括(i)Fab片段，由 V_L 、 V_H 、 C_L 及 C_{H1} 區域組成之一價片段；(ii) $F(ab')_2$ 片段，包含兩個由二硫橋鍵在鉸鏈區鏈接之片段的二價片段；(iii)Fd片段，其由 V_H 及 C_{H1} 區域組成；(iv)Fv片段，其由抗體單臂之 V_L 及 V_H 區域組成；(v)dAb片段(Ward等人，*Nature*, (1989) 341:544-546)，其由 V_H 區域組成；及(vi)經分離之互補判定區(CDR)。此外，儘管Fv片段的兩個區域 V_L 及 V_H 由不同基因編碼，但其使用重組方法經由合成連接子鏈接，此使得其成為 V_L 及 V_H 區對來形成一價分子之單一蛋白質鏈(稱為單鏈Fv(scFv))；見，例如Bird等人，*Science* (1988) 242:423-426及Huston等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85:5879-5883 (1988)。亦期望術語抗體之"抗原結合部位"包含此等單鏈抗體。亦包括其他形式之單鏈抗體，諸如雙功能抗體。雙功能抗體係二價、雙特異性抗體，其中 V_H 及 V_L 區域

表現於單多肽鏈上，但其使用之連接子太短，不能允許在相同鏈之該兩個區域間進行配對，藉此迫使該等區域與另一鏈的互補區域配對並建立兩個抗原結合位點(見，例如 Holliger 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)；Poljak 等人，*Structure*, 2:1121-1123 (1994))。

此外，抗體或其抗原結合部位可係較大免疫黏著分子之部分，其由抗體或抗體部位與一或多個其他蛋白或肽共價或非共價相連而形成。此等免疫黏著分子之實例包括使用抗生蛋白鏈菌素核心區域製得四體 scFv 分子(Kipriyanov 等人，*Human Antibodies and Hybridomas*, 6:93-101 (1995))及使用半胱胺酸殘基、標記肽及 C 端多聚組胺酸標籤製得二價及生物素化 scFv 分子(Kipriyanov 等人，*Mol. Immunol.*, 31:1047-1058 (1994))。其他實例包括將抗體之一或多個 CDR 共價或非共價併入分子中以使其成為特異性結合於所關注抗原(諸如 P-鈣黏素)之免疫黏附素。在此等實施例中，CDR 可作為較大多肽鏈之部分而併入，或可共價鏈接於另一多肽鏈，或可非共價併入。諸如 Fab 及 F(ab')₂ 片段之抗體部位，可分別使用習知技術，諸如全抗體之木瓜酵素或胃蛋白酶消化，而自全抗體製備。此外，抗體、抗體部位及免疫黏著分子可使用本文描述之標準重組 DNA 技術獲得。

在本文中，關於本發明提到"抗體"時，應理解亦使用其抗原結合部位。抗原結合部位與完整抗體競爭以進行特異性結合。一般可參見，**Fundamental Immunology**, Ch.

7(Paul, W.編，第2版，Raven Press, N.Y. (1989))(其全文為所有目的併入)。抗原結合部位可藉由重組DNA技術，或藉由完整抗體之酶或化學裂解而產生。在一些實施例中，抗原結合部位包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv、dAb，及互補判定區(CDR)片段、單鏈抗體(scFv)、嵌合抗體、雙功能抗體及含有足以賦予多肽特異性抗原結合之至少一部分抗體之多肽。在具有一或多個結合位點之實施例中，該等結合位點可彼此相同或不同。

如本文所用之術語"人類抗體"意謂可變及恆定區序列係人類序列之任何抗體。該術語包含具有自人類基因衍生之序列之抗體，但其已發生改變，例如減少可能的免疫原性、增加親和力、消除可引起不需要折迭之半胱胺酸等。該術語亦包含在非人類細胞中重組產生之此等抗體，其可賦予非典型人類細胞之糖基化。該等抗體可以下文描述之多種方式製備。

本文所用之術語"嵌合抗體"意謂包含來自兩個或兩個以上不同抗體之區域之抗體，包括來自不同物種之抗體。舉例而言，嵌合抗體之一或多個CDR可衍生自人類P-鈣黏素抗體。在一實施例中，來自人類抗體之CDR可與來自非人類抗體(諸如小鼠或大鼠抗體)之CDR組合。在另一實例中，所有CDR可衍生自人類P-鈣黏素抗體。在另一實例中，來自一種以上人類P-鈣黏素抗體之CDR可在嵌合抗體中結合。例如，嵌合抗體可包含來自第一人類P-鈣黏素抗體之輕鏈之CDR1，來自第二人類P-鈣黏素抗體之輕鏈之

CDR2及來自第三人類P-鈣黏素抗體之輕鏈之CDR3，且來自重鏈之CDR可衍生自一或多個其他P-鈣黏素抗體。此外，構架區可衍生自一種P-鈣黏素抗體或一或多種不同人類抗體，自P-鈣黏素抗體可取得一或多種CDR。此外，期望術語"嵌合抗體"包含任何上述組合，其中該等組合涉及人類及非人類抗體。

如本文所用之術語"人源化抗體"係指非人類起源之抗體，其中特徵係非人類物種之抗體序列之胺基酸殘基由在人類抗體之相應位置發現之殘基代替。咸信，該"人源化"過程減小所得抗體在人類之免疫原性。應瞭解，非人類起源之抗體可使用此項技術中熟知之技術進行人源化。見，例如 Winter 等人，*Immunol. Today*, 14:43-46 (1993)。所關注之抗體可經重組DNA技術改造以由相應人類序列取代該等CH1、CH2、CH3、鉸鏈區域，及/或構架區。見，例如 WO 92/02190，及美國專利第 5,530,101、5,585,089、5,693,761、5,693,792、5,714,350及5,777,085號。如本文所用之術語"人源化抗體"在其含義內包括嵌合人類抗體及CDR移植抗體。本發明之嵌合人類抗體包括非人物種之抗體之V_H及V_L以及人類抗體之C_H及C_L區域。本發明之CDR移植抗體來源於分別以彼等除人類外之動物的抗體之V_H及V_L之CDR代替人類抗體之V_H及V_L之CDR。

如本文所用之術語"ELISA"係指酶聯接免疫吸附劑檢定法。熟習此項技術者熟知該檢定法。該檢定之實例可見於 Vaughan, T.J. 等人，*Nat. Biotech.*, 14:309-314 (1996)以及

本申請案之實例7。

如本文所用之術語"表面電漿共振"係指一種光學現象，其允許藉由在生物感測器矩陣內，例如使用BIACORE™系統(Pharmacia Biosensor AB、Uppsala、Sweden and Piscataway、N.J.)偵測蛋白濃度的改變而對即時生物特異性相互作用進行檢定分析。為進一步描述起見，參見Jonsson等人，*Ann. Biol. Clin.*, 51:19-26 (1993)；Jonsson等人，*Biotechniques*, 11:620-627 (1991)；Jonsson等人，*J. Mol. Recognit.*, 8:125-131 (1995)；及 Jonhsson 等人，*Anal. Biochem.*, 198:268-277 (1991)。

術語" K_D "係指一特定抗體-抗原相互作用之結合親和力平衡常數。當 $K_D \leq 1 \text{ mM}$ ，較佳 $\leq 100 \text{ nM}$ 且最佳 $\leq 10 \text{ nM}$ 時，咸信抗體特異性結合於抗原。 K_D 結合親和力常數可藉由表面電漿共振量測，例如使用實例6中論述之BIACORE™系統。

術語" K_{off} "係指一特定抗體-抗原相互作用之解離速率常數。 K_{off} 解離速率常數可藉由表面電漿共振量測，例如使用實例6中論述之BIACORE™系統。

如本文所用之術語"P-鈣黏素依賴細胞黏著分析"係指一種用於量測P-鈣黏素抗體阻斷細胞黏著於已固定於撐體上之受體P-鈣黏素之能力的檢定。該類型之檢定可藉由(例如)將P-鈣黏素固定於撐體(諸如塑料)上執行。接著允許細胞過表現P-鈣黏素來經由P-鈣黏素間之相互作用黏著於撐體上。接著可在P-鈣黏素抗體存在或不存在之情況下量化

鈣黏素含量。接著可將黏著作為抗體濃度的函數用於測定 IC_{50} 值。實例3進一步詳細提供P-鈣黏素依賴細胞黏著檢定，其用於量測P-鈣黏素抗體之 IC_{50} 值。

如本文所用之術語"P-鈣黏素依賴細胞凝集檢定"係指一種用於量測P-鈣黏素抗體阻斷於其表面表現P-鈣黏素之細胞凝集之能力的檢定。舉例而言，該類型之檢定可使用過度表現P-鈣黏素之細胞株，其中將該等細胞置於懸浮液中並允許形成P-鈣黏素依賴凝集。接著藉由量測由存在及不存在抗體導致的細胞凝集尺寸而將該凝集檢定用於量化P-鈣黏素抗體防止該凝集之能力。接著可將細胞凝集尺寸作為P-鈣黏素抗體濃度的函數用於測定 IC_{50} 值。實例4進一步詳細提供P-鈣黏素依賴細胞凝集分析，其用於量測若干P-鈣黏素抗體之 IC_{50} 值。

如本文所用之術語"P-鈣黏素依賴球狀體分裂檢定"係指一種用於量測P-鈣黏素抗體中斷預形成的P-鈣黏素依賴細胞凝集能力之檢定。藉由量測作為抗體濃度之函數的凝集尺寸減小可測定 IC_{50} 值。實例5進一步詳細提供P-鈣黏素依賴球狀體分裂檢定，其係用於量測P-鈣黏素抗體之 IC_{50} 值。

如本文所用之術語"分子選擇性"係指對於特定抗原之抗體的結合親和力大於對相關抗原之結合親和力。舉例而言，本發明之抗體對P-鈣黏素之選擇性大於對E-鈣黏素之選擇性，此意謂對P-鈣黏素之抗體之結合親和力比對E-鈣黏素之結合親和力至少大2倍，例如4倍，或10倍，或50

倍，或100倍或更大。此等結合親和力可使用熟習此項技術者所知之標準技術量測。

術語"抗原決定基"包括可特定結合於免疫球蛋白或T細胞受體或以其他方式與分子相互作用之所有蛋白質決定子。抗原決定子一般由具有化學活性之分子表面基團，諸如胺基酸或碳水化合物或糖側鏈組成且一般具有特異三維結構特徵，以及特異性電荷特徵。抗原決定基可係"線性"或"構形"的。在線性抗原決定基內，在蛋白質與相互作用分子(諸如抗體)間之相互作用的所有點沿該蛋白之主要胺基酸序列成線性發生。在一構形抗原決定基內，相互作用點沿彼此分離之蛋白之胺基酸殘基發生。一旦在抗原上確定所要抗原決定基，則有可能產生該抗原決定基之抗體，例如使用本發明中描述之技術。或者，在發現過程中，抗體之產生及特徵化可說明關於所要抗原決定基之資訊。自該資訊，接著可對競爭性結合於相同抗原決定基之抗體進行篩檢。一種達成此之方法係進行交叉競爭研究以發現彼此競爭結合之抗體，即競爭結合於抗原之抗體。在國際專利申請案第WO 03/48731號中描述用於基於抗體交叉競爭而對其進行"重新方格化(binining)"的高通量方法。

本文所用之關於抗體之術語"競爭"意謂第一抗體或其抗原結合部位與第二抗體或其抗原結合部位競爭結合，其中與該第一抗體在不存在該第二抗體時之結合相比，該第一抗體與其同源抗原決定基之結合在第二抗體存在下可偵測的減少。或者，該第二抗體至其抗原決定基之結合在該第

一抗體存在下亦可偵測地減小，情況可係如此但並非必須如此。意即，第一抗體可抑制第二抗體與其抗原決定基之結合而該第二抗體並不抑制該第一抗體與其各自抗原決定基之結合。然而，當每一抗體可偵測地抑制另一抗體與其同源抗原決定基或配位體之結合時，不管程度相同、較大或較小，均認為該等抗體彼此"交叉競爭"結合於其各自抗原決定基。本發明包括競爭及交叉競爭抗體。無關於此競爭或交叉競爭發生的機制(例如，位阻、構形改變，或結合於一共用抗原決定基或其部位，及其類似機制)，熟練技工基於本文提供之教示將瞭解，此等競爭及/或交叉競爭抗體包含於本文且適用於本文揭示之方法。

本文所用之關於特定基因之術語"利用"意謂抗體特定區域之胺基酸序列最終在B細胞成熟過程中衍生自該基因。舉例而言，短語"利用人類V_H-3家族基因之重鏈可變區胺基酸序列"係指如下情況：該抗體之V_H區係在B細胞成熟過程中衍生自基因的V_H-3家族。在人類B細胞中存在大於30個不同功能之重鏈可變基因，以其產生抗體。因此，特定重鏈可變基因之使用係相對於結合於抗原及功能活性之組合特性之抗體-抗原相互作用之較佳結合基元的指示。如所瞭解，基因利用檢定僅提供抗體結構之有限綜述。當人類B細胞隨機產生V-D-J重鏈及V-J κ 輕鏈轉錄產物時，存在多個二級過程，包括(但不限於)體細胞超突變、正加成(n-addition)及CDR3擴展。見，例如，Mendez等人，*Nature Genetics* 15:146-156 (1997)。

如本文所用，20個習知胺基酸及其縮寫遵循習知用法。見 **Immunology - A Synthesis**(第2版，E.S. Golub及D.R. Gren編，Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991))，其以引用之方式併入本文中。

本文提及之術語"多核苷酸"意謂長度至少為10個鹼基之聚合物形式的核苷酸，或者係核糖核苷酸或者脫氧核苷酸或者係任一種核苷酸類型之改質形式。該術語包括單或雙股形式。

如本文所用之術語"經分離之多核苷酸"意謂染色體組、cDNA，或合成源或其若干組合之核苷酸，根據其起源，該"經分離之多核苷酸"(1)未與所有或部分該"經分離之多核苷酸"以其天然發現之多核苷酸相連，(2)在操作上鏈接於其天然未鏈接之多核苷酸，或(3)不作為較大序列之部分天然出現。

如本文所用之術語"天然存在之核苷酸"包括脫氧核苷酸及核糖核苷酸。如本文所用之術語"經修飾之核苷酸"包括具有經修飾之或經取代之糖基團及其類似物之核苷酸。本文提及之術語"寡核苷酸鏈接"包括諸如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、二硒代磷酸酯、苯胺硫代磷酸酯、苯胺磷酸酯、磷醯胺酸、及其類似物之寡核苷酸鏈接。例如，參見 LaPlanche 等人。 *Nucl. Acids Res.*, 14:9081 (1986)；Stec 等人。 *J. Am. Chem. Soc.* 106:6077 (1984)；Stein 等人。 *Nucl. Acids Res.* 16:3209 (1988)；Zon 等人。 *Anti-Cancer Drug Design*, 6:539 (1991)；Zon 等人。

Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach ,
第 87-108 頁 (F. Eckstein 編 , Oxford University Press ,
Oxford England (1991)) ; 美國專利第 5,151,510 號 ; Uhlmann
及 Peyman. *Chemical Reviews*, 90:543 (1990) , 其揭示內容
以引用之方式併入本文中。若需要 , 寡核苷酸可包括用於
偵測之標記。

"操作上鏈接"序列包括與所關注基因鄰近之表現控制序
列 , 及以反式起作用或處於一定距離以控制所關注基因之
表現控制序列。

如本文所用之術語"表現對照序列"意謂實現其連接之編
碼序列之表現及處理有必要的多核苷酸序列。表現控制序
列包括適當轉錄起始、終止、啟動子及增強子序列 ; 有效
RNA 處理訊號 , 諸如接合及聚腺苷酸化訊號 ; 穩定細胞質
mRNA 之序列 ; 增強轉譯效率之序列 (意即 , Kozak 一致序
列) ; 增強蛋白穩定性之序列 ; 及若需要時 , 增強蛋白分
泌之序列。此等控制序列之性質視宿主機體而不同 ; 對於
原核生物 , 此等對照序列一般包括啟動子、核糖體結合位
點、及轉錄終止序列 ; 對於真核細胞 , 此等對照序列一般
包括啟動子及轉錄終止序列。術語"控制序列"意欲最少包
括其存在對於表現及處理必需之所有部分 , 且亦可包括其
存在具有優勢之額外部分 , 例如引導序列及融合搭配序
列。

如本文所用之術語"載體"意謂核酸分子 , 其可傳送該核
酸分子已鏈接之另一核酸。在一些實施例中 , 該載體係質

體，意即額外DNA片段連接之環狀雙股DNA。在一些實施例中，該載體係病毒載體，其中額外DNA片段可連接於該病毒基因組。在一些實施例中，該等載體可在其引入其中之宿主細胞內進行自主複製(例如，具有複製細菌起源之細菌載體及游離基因哺乳動物載體)。在其他實施例中，該等載體(例如，非游離基因哺乳動物載體)引入宿主細胞時可併入該宿主細胞之基因組，且藉此沿該宿主基因組複製。此外，某些載體可將基因之表現定向於其操作上鏈接之載體。此等載體在本文中係指"重組表現載體"(或簡稱為，"表現載體")。

如本文所用之術語"重組宿主細胞(或簡稱為"宿主細胞")"意謂將重組表現載體引入其中之細胞。應理解"重組宿主細胞"及"宿主細胞"不僅意謂特定目標細胞而且意謂此細胞之後代。因為隨後世代可由於突變或環境影響而發生某些更改，因此此後代實際上與母細胞可不同，但仍包括於本文所用之術語"宿主細胞"之範疇。

如本文所用之術語"生殖系"係指當抗體基因及基因片段經由生殖細胞自親本傳向子代時其核苷酸序列。該生殖系序列不同於編碼成熟B細胞中抗體之核苷酸序列，其已在B細胞成熟過程中經由重組及超突變事件改變。

在核酸序列背景下之術語"序列同一性百分比"意謂當兩個序列進行比對以用於最大對應時，其殘基係相同的。序列同一性比較之長度可延伸至少約9個核苷酸，通常至少約18個核苷酸，更通常至少約24個核苷酸，通常至少約28

個核苷酸，更通常至少約32個核苷酸，且較佳至少約36、48或更多個核苷酸。在此項技術中已知多種不同演算法可用於量測核苷酸序列同一性。例如，可使用FASTA、Gap或Bestfit對多核苷酸序列進行比較，其係Wisconsin Package Version 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin之程式。FASTA包括(例如)FASTA2及FASTA3程式，其提供查詢及搜索序列間之最佳重疊區之比對及序列同一性百分比(Pearson, *Methods Enzymol.*, 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.*, 132:185-219 (2000); Pearson, *Methods Enzymol.*, 266:227-258 (1996); Pearson, *J. Mol. Biol.* 276:71-84 (1998); 以引用之方式併入本文中)。除非另外指出，否則使用用於特定程式或演算法之預設參數。例如，核酸序列間之序列同一性百分比可使用FASTA以其預設參數(字號6及用於記分矩陣之NOPAM因子)或使用Gap以其在GCG Version 6.1中提供之預設參數測定，其以引用之方式併入本文中。

除非另外指出，否則提及核酸序列時包含其互補序列。因此，提及具有特定序列之核酸應理解為包含具有其互補序列之其互補股。

當術語"大體相似"或"大體序列相似"係指核酸或其片段時，意謂當具有適當核苷酸插入或缺失之核酸或其片段與另一核酸(或其互補股)進行最佳比對時，核苷酸鹼基之核苷酸序列同一性至少約85%，較佳至少約90%，且更佳至少約95%、96%、97%、98%或99%，其係藉由序列同一性

之任何熟知演算法量測，諸如上文所述之FASTA、BLAST或Gap。

在胺基酸序列背景下之術語"序列同一性百分比"意謂當兩個序列進行比對以用於最大對應時，其殘基係相同的。序列同一性比較之長度可延伸至少約5個胺基酸，通常至少約20個胺基酸，更通常至少約30個胺基酸，通常至少約50個胺基酸，更通常至少約100個胺基酸，且更通常至少約150、200或更多個胺基酸。在此項技術中已知之多種不用演算法可用於量測胺基酸序列同一性。例如，可使用FASTA、Gap或Bestfit比較胺基酸序列，其係Wisconsin Package Version 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin之程式。

當應用於多肽時，術語"大體同一性"或"大體相似"意謂兩個胺基酸序列當進行最佳比對時，諸如藉由GAP或BESTFIT程式使用該等程式供應之預設間隙重量，共用至少70%、75%或80%序列同一性，較佳至少90%或95%序列同一性，且更佳至少97%、98%或99%序列同一性。在某些實施例中，不同殘基位置藉由保守胺基酸取代區別。

當用於本文時，"保守胺基酸取代"係其中胺基酸殘基經另一具有一具有類似化學特性(例如電荷或疏水性)之側鏈R基團之胺基酸殘基取代。一般而言，保守胺基酸取代不在實質上改變蛋白之功能特性。當兩個或兩個以上胺基酸序列藉由保守取代而彼此不同時，可上調序列同一性百分比以校正取代之保守性質。熟習此項技術者熟知作出此調

整之方法。見，例如 Pearson, *Methods Mol. Biol.*, 243:307-31 (1994)。具有含有類似化學特性之側鏈之胺基酸之群的實例包括 1) 脂族側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、及異白胺酸；2) 脂族-羥基側鏈：絲胺酸及酥胺酸；3) 含醯胺之側鏈：天冬醯胺酸及麩醯胺酸；4) 芳族側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸，及色胺酸；5) 鹼性側鏈：離胺酸、精胺酸，及組胺酸；6) 酸性側鏈：天冬胺酸及麩胺酸；及 7) 含硫側鏈：半胱胺酸及甲硫胺酸。舉例而言，保守胺基酸取代基可係：纈胺酸-白胺酸-異白胺酸、苯丙胺酸-酪胺酸、離胺酸-精胺酸、丙胺酸-纈胺酸、麩胺酸-天門冬胺酸、及天冬醯胺酸-麩醯胺酸。

或者，保守代替係在揭示於 Gonnet 等人，*Science* 256:1443-45 (1992) 之 PAM250 對數概度矩陣中具有正值之任何改變。"適度保守"代替係在 PAM250 對數概度矩陣中具有非負值之任何改變。

用於多肽之序列同一性通常使用序列分析軟體來量測。蛋白分析軟體使用對指定於多個取代、缺失及其他修飾，包括保守胺基酸取代之相似性之量測而將序列進行匹配。例如，GCG 含有諸如 "Gap" 及 "Bestfit" 之程式，其可以由程式指定之預設參數使用以測定緊密聯繫之多肽，諸如來自不同物種之有機體或野生型蛋白與其類似物之同源多肽間之序列同源或序列同一性。見，例如，GCG Version 6.1 (University of Wisconsin, WI)。亦可使用 FASTA 使用預設或推薦參數對多肽序列進行比較，見 GCG Version 6.1。

FASTA(例如 FASTA2及 FASTA3)提供查詢及搜索序列間之最佳重疊區之比對及序列同一性百分比(Pearson, *Methods Enzymol.*, 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.*, 132:185-219 (2000))。當將本發明之序列與含有來自不同有機體之大量序列之資料庫比較時，另一較佳演算法係電腦程式 BLAST，尤其為 blastp 或 tblastn，使用該等程式供應之預設參數。見，例如 Altschul 等人，*J. Mol. Biol.*, 215:403-410 (1990); Altschul 等人，*Nucleic Acids Res.*, 25:3389-402 (1997)。

對同源性進行比較，多肽序列長度一般至少為約 16 個胺基酸殘基，通常至少為約 20 個殘基，更通常至少為約 24 個殘基，通常至少為約 28 個殘基，且較佳為大於約 35 個殘基。當搜索含有來自大量不同有機體之序列之資料庫時，較佳對胺基酸序列進行比較。

如本文所用之術語"標記"或"經標記"係指併入抗體內之另一分子。在一實施例中，標記係可偵測標記，例如經放射性標記之胺基酸併入或附著於生物素部分之多肽，其可由經標記抗生物素蛋白(例如，含有可由光學或比色法偵測之螢光標記或酶活性之抗生蛋白鏈菌素)偵測。在另一實施例中，該標記可係治療性的，例如，藥物共軛物或毒素。在此項技術中已知多種對多肽及糖蛋白進行標記之方法且其可使用。用於多肽之標記之實例包括(但不限於)如下：放射性同位素或放射核種(例如， ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I)、螢光標記(例如，

FITC、若丹明(rhodamine)、釳系磷光體)、酶標記(例如，辣根過氧化物酶、 β -半乳糖、螢光素酶、鹼性磷酸酶)、化學螢光標記、生物素基、由二級報導基因(例如，白胺酸拉鏈對序列、用於二級抗體之結合位點、金屬結合區域、抗原決定基標籤)確認之預定多肽抗原決定基、諸如釳螯合劑之磁性劑(magnetic agent)、諸如百日咳毒素之毒素、紫杉醇鹼、細胞遲緩素B、短桿菌素D、溴化乙錠、吐根素、絲裂黴素、足葉乙甙、特諾波賽(tenoposide)、長春新鹼、長春鹼、秋水仙鹼、阿黴素、道諾黴素、二羥基炭疽菌素二酮、米托蒽醌(mitoxantrone)、光輝黴素(mithramycin)、放線菌素D、1-脫氫鞣固酮、糖皮質素、普魯卡因(procaine)、丁卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛爾(propranolol)，及嘌呤黴素(puromycin)及其類似物或同系物。在一些實施例中，標記由具有多種長度之間隔臂附著以減小潛在位阻。

"治療有效量"係指可在一定程度上舒解所治療病症之一或多種症狀的投與之治療劑之量。參考對癌之治療，治療有效量係指具有至少如下效應之一的量：減小腫瘤尺寸；抑制(意即，在一定程度上減慢，較佳停止)腫瘤轉移；在一定程度上抑制(意即，在一定程度上減慢，較佳停止)腫瘤生長，及在一定程度上舒解(或較佳消除)與癌相關之一或多種症狀。

"治療"係指緩解或消除生物病症及/或其附屬症狀之方法。對於癌症而言，該等術語僅意謂患有癌之個體的預期壽命增加或該疾病之一或多種症狀減少。

"接觸"係指將本發明之抗體或其抗原結合部位與目標P-鈣黏素或其抗原決定基以如下方式放在一起：該抗體可影響P-鈣黏素之生物活性。此"接觸"可"活體外"完成，即在試管、培養皿或其類似物內。在活體外，接觸可僅涉及抗體或其抗原結合部位及P-鈣黏素或其抗原決定基或者其可涉及全細胞。細胞亦可維持或生長於細胞培養皿中並在彼環境中與抗體或其抗原結合部位接觸。在該背景下，特定抗體或其抗原結合部位影響P-鈣黏素相關病症之能力，即抗體之 IC_{50} ，可嘗試在更複雜活有機體活體內使用抗體之前測定。對於有機體外之細胞，存在熟習此項技術者熟知之多種方法將P-鈣黏素與抗體或其抗原結合部位接觸。

除非另外指出，否則如本文所用之"細胞生長異常"係指獨立於正常調節機制(例如，接觸抑制缺失)之細胞生長，包括正常細胞之異常生長及異常細胞生長。此包括(但不限於)如下之異常生長：藉由表現突變之酪胺酸激酶或受體酪胺酸激酶之過表現而增生之腫瘤細胞(腫瘤)；發生酪胺酸激酶活性異常的其他增生性疾病之良性及惡性細胞；藉由受體酪胺酸激酶增生之任何腫瘤；藉由異常絲胺酸/酪胺酸激酶活化增生之任何腫瘤；發生絲胺酸/酪胺酸激酶活性異常之其他增生性疾病之良性及惡性細胞；表現經活化之Ras致癌基因之良性及惡性腫瘤；Ras蛋白由於另一基因內致癌突變而活化之良性及惡性腫瘤細胞；發生Ras活性異常之其他增生性疾病之良性及惡性細胞。此等良性增生性疾病之實例係牛皮癬、良性前列腺肥大、人類乳頭

狀瘤病毒(HPV)，及再狹窄。"細胞生長異常"亦係指且包括良性及惡性的細胞生長異常，其係由法呢基蛋白轉移酶之活性引起。

本申請案中，術語"細胞生長異常"與"高增生病症"可交替使用。

"活體外"係指程序執行於人造環境，諸如(但不限於)在試管或培養基內。

"活體內"係指程序執行於活有機體內，諸如(但不限於)小鼠、大鼠或家兔。

【實施方式】

人類P-鈣黏素抗體

本發明係關於結合於人類P-鈣黏素之經分離人類抗體或其抗原結合部位。較佳地，該等人類抗體係重組人類P-鈣黏素抗體，其對P-鈣黏素之親和力大於對E-鈣黏素之親和力。本發明之多個態樣係關於此等抗體及抗原結合部位，及其醫藥組合物，以及用於製造此等抗體及抗原結合部位之核酸、重組表現載體及宿主細胞。本發明亦包含使用本發明之抗體及抗原結合部位活體外或活體內地偵測人類P-鈣黏素或抑制人類P-鈣黏素活性之方法。

已知來自若干物種(包括人類)之P-鈣黏素胺基酸及核苷酸序列(見，例如入藏登記號NM_001793.3)。人類P-鈣黏素或其抗原部位可根據熟習此項技術者熟知之方法製備或可購自商業供應商(例如，R&D Systems 861-PC-100)。

在某些實施例中，本發明之抗體係IgG，其表示為：

194-e06 ; 194-a02 ; 194-b09 ; 195-e11 ; 194-g09 ; 196-h02 ; 194-e01 ; 196-d10 ; 196-g03 ; 196-e06 ; 195-a09 ; 198-a09 ; 200-h06 ; g-194-b09 ; g-194-g09 ; g-196-g03 ; g-196-h02 ; g-194-e01 ; g-194-e06 ; 129-1c4 ; 及 g-129-1c4 。

如實例1中更詳細論述，使用對scFv噬菌體呈現庫之高通量篩檢來識別129-1c4 scFv，其隨後轉化為IgG。129-1c4表示初始噬菌體呈現篩檢過程中所識別出之主導抗體並且係一譜系之母抗體，自其可衍生出本發明之若干其他抗體。若干此等衍生抗體命名為194-e06 ; 194-a02 ; 194-b09 ; 195-e11 ; 194-g09 ; 196-h02 ; 194-e01 ; 196-d10 ; 196-g03 ; 196-e06 ; 195-a09 ; 198-a09 ; 及200-h06且表示在129-1c4母系中之最佳抗體。g-129-1c4抗體係129-1c4母抗體之生殖系版本，其中在V_H及V_L區域之構架區內的某些胺基酸係經突變以與這些生殖系構架區內之胺基酸相匹配。上文提及之任何抗體亦可經生殖系化以使得構架區序列與g-129-1c4內的生殖系構架序列相同。舉例而言，在本發明一實施例中，抗體g-194-b09、g-194-g09、g-196-g03、g-196-h02、g-194-e01、g-195-e11、g-200-h06，及g-194-e06分別係194-b09、194-g09、196-g03、196-h02、194-e01、195-e11、200-h06，及194-e06之生殖系版本。熟習此項技術者易於藉由將經生殖系化與未經生殖系化之抗體序列比較而瞭解經突變以成為生殖系版本之特異性胺基酸。如下文論述，本發明之抗體之特異性胺基酸序列係描述於表1-3及圖1中。

本發明之抗體強烈偏向於利用重鏈可變區之V_H3基因家族產生。詳言之，129-1c4母抗體係衍生自V_H3-23可變基因片段。在人類B細胞中係存在大於30個不同功能可藉以產生抗體之重鏈可變基因。因此，偏向係相對於結合於抗原及功能活性的組合特性之抗體-抗原相互作用之較佳結合基元之指示。

如所瞭解，基因利用分析僅提供抗體結構之有限綜述。當人類B細胞隨機產生V-D-J重鏈及V-J kappa輕鏈轉錄物時，出現多個二級過程，包括(但不限於)體細胞超突變、n加成及CDR3擴展。見，例如，Mendez等人。*Nature Genetics* 15:146-156 (1997)及美國公開專利申請案2003-0070185，申請於2002年2月19日。因此，為進一步檢驗本發明之抗體結構，抗體之預定胺基酸序列可自由選殖獲得之cDNA產生。此外，N端胺基酸序列係經由蛋白質定序獲得。圖1提供若干本發明抗體之重鏈及輕鏈可變區之核苷酸及胺基酸序列。

上文提及之各特異性抗體可由其指定於表1及表2中之重鏈(V_H)及輕鏈(V_L)可變區序列進行描述。以該等SEQ ID NO提及之特異性序列展示於圖1。如表1及表2所指出，上文提及之相應V_H及V_L胺基酸及抗體的DNA序列係由SEQ ID NO:1-23、68-90及320-343描述。

表1

人類P-鈣黏素抗體				
抗體	序列識別符 (SEQ ID NO:)			
	V_H		V_L	
	胺基酸	DNA	胺基酸	DNA
194-e06	1	68	14	81
194-a02	2	69	14	81
194-b09	2	69	15	82
195-e11	3	70	16	83
194-g09	4	71	17	84
196-h02	4	71	23	90
194-e01	5	72	18	85
196-d10	6	73	23	90
196-g03	7	74	23	90
196-e06	8	75	23	90
195-a09	9	76	23	90
198-a09	10	77	19	86
200-h06	11	78	20	87
129-1c4	12	79	21	88

表 2

生殖系化人類P-鈣黏素抗體				
抗體	序列識別符 (SEQ ID NO:)			
	V_H		V_L	
	胺基酸	DNA	胺基酸	DNA
g-194-b09	320	332	326	338
g-194-g09	321	333	327	339
g-196-g03	322	334	328	340
g-196-h02	323	335	329	341
g-194-e01	324	336	330	342
g-194-e06	325	337	331	343
g-129-1c4	13	80	22	89

本發明之額外抗體及其抗原結合部位亦可描述為包含多種CDR及FR序列，其組成在表1及表2中指出之抗體之重鏈及輕鏈可變區。因此，在表3中指出對應於本發明之抗體的多個CDR及FR序列之SEQ ID NO。此外，亦可對129-

1c4母抗體之重鏈及輕鏈CDR3區執行多個隨機化突變，其產生改良為10至417倍之經改良P-鈣黏素親和力，其係藉由抗原決定基競爭分析量測(見實例8)。下文表3亦包括該等經突變V_H及V_L CDR3序列之SEQ ID NO(SEQ ID NO:91-256，及257-319)。

表 3

SEQ ID NO:	描述
24	V _H CDR1
25	V _H CDR2
26-37、91-256	V _H CDR3
38	V _L CDR1
39	V _L CDR2
40-47、257-319	V _L CDR3
48	V _H FR1
49	V _H FR2
50-55	V _H FR3
56、57	V _H FR4
58、59	V _L FR1
60-62	V _L FR2
63-66	V _L FR3
67	V _L FR4

產生抗體之方法

噬菌體呈現庫

本發明之抗體或抗原結合部位可根據若干在此項技術中已知之方法製備。舉例而言，噬菌體呈現技術可用於提供含有一組具有不同P-鈣黏素親和力之庫。隨後可對該等庫進行篩檢以識別並分離具有所要P-鈣黏素親和力之抗體。

舉例而言，本發明之重組人類P-鈣黏素抗體可藉由對一重組組合抗體庫進行篩檢而分離。較佳地，該庫係scFv噬菌體呈現庫，其係使用自人類B細胞分離之mRNA製備之

人類 V_L 及 V_H cDNA 而產生。用於製備及篩檢此等庫之方法在此項技術中係已知。用於產生噬菌體呈現庫之套組為市售（例如，the Pharmacia Recombinant Phage Antibody System，產品編號 27-9400-01；及 the Stratagene SurfZAP™ 噬菌體呈現套組，產品編號 240612）。亦存在其他方法及試劑可用於產生並篩檢抗體呈現庫（見，例如美國專利第 5,223,409 號；PCT 公開案第 WO 92/18619、WO 91/17271、WO 92/20791、WO 92/15679、WO 93/01288、WO 92/01047，及 WO 92/09690 號；Fuchs 等人，*Bio/Technology* 9:1370-1372 (1991)；Hay 等人，*Hum. Antibod. Hybridomas*, 3:81-85 (1992)；Huse 等人，*Science*, 246:1275-1281 (1989)；McCafferty 等人，*Nature*, 348:552-554 (1990)；Griffiths 等人，*EMBO J.*, 12:725-734 (1993)；Hawkins 等人，*J. Mol. Biol.*, 226:889-896 (1992)；Clackson 等人，*Nature* 352:624-628 (1991)；Gram 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:3576-3580 (1992)；Garrad 等人，*Bio/Technology*, 9:1373-1377 (1991)；Hoogenboom 等人，*Nuc. Acid Res.*, 19:4133-4137 (1991)；Barbas 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:7978-7982 (1991)；及 Griffiths 等人，*EMBO J.*, 13:3245-3260 (1994)；所有均以引用之方式併入本文中）。

另一種用於製備抗體庫以用於噬菌體呈現技術之方法包含如下步驟：對包含人類免疫球蛋白位點之非人類動物以 P-鈣黏素或其抗原部位致免疫以形成免疫反應，自該經免疫動物提取產生抗體之細胞；自該等提取細胞分離編碼本

發明之抗體之重鏈及輕鏈之RNA，逆轉錄該RNA以產生cDNA，使用引子放大該cDNA，及將該cDNA插入至噬菌體呈現載體以使得抗體在該噬菌體上表現。為產生此等組，沒有必要對來自免疫化動物之B細胞進行永生化。相反，初始B細胞可直接用作DNA源。將自B細胞(例如源於脾)獲得之cDNA混合物用於製備呈現庫，例如，轉染入大腸桿菌之噬菌體呈現庫。最後，對產生所要大小之與抗原之結合親和力的來自該庫之純系進行識別並對編碼負責此結合之產物之DNA進行回收操作以用於標準重組表現。噬菌體呈現庫亦可使用先前操縱之核苷酸序列進行建構並以類似方式以篩檢。一般而言，編碼重鏈及輕鏈之cDNA係獨立供應的或可經鏈接以形成Fv類似物用於在噬菌體庫中產生。接著篩檢噬菌體庫中與P-鈣黏素親和力最高之抗體並將該遺傳物質自適當純系回收。進一步篩檢可增加經分離起始抗體之親和力。

在一實施例中，為分離並產生具有所要特徵之人類P-鈣黏素抗體，使用描述於PCT公開案第WO 93/06213號(以引用之方式併入本文中)中之抗原決定基銘印法首先將本文描述之人類P-鈣黏素抗體用於選擇與P-鈣黏素具有類似結合活性之人類重鏈及輕鏈序列。該方法中使用之抗體庫較佳係scFv庫，其按照PCT公開案第WO 92/01047號、McCafferty等人，*Nature*, 348:552-554 (1990)；及Griffiths等人，*EMBO J.* 12:725-734 (1993)中之描述製備及篩檢，該等文獻均以引用之方式併入本文中。可使用人類P-鈣黏

素作為抗原篩檢 scFv 抗體庫。篩檢噬菌體庫中與 P-鈣黏素親和力最高之抗體並將該遺傳物質自適當選殖回收。進一步篩檢可增加經分離起始抗體之親和力。

一旦初始人類 V_L 及 V_H 區域經選擇，隨後可執行"混合及匹配"實驗，其中不同對之初始選擇之 V_L 及 V_H 片段篩檢 P-鈣黏素結合以選擇較佳 V_L/V_H 對組合。該等混合及匹配實驗亦可在 V_H 及 V_L 片段隨機突變以用於下文描述之最佳結合後執行。此外，為進一步改良抗體質量，較佳 V_L/V_H 對之 V_L 及 V_H 片段可隨機突變，較佳在 V_H 及/或 V_L 的 CDR3 區，其過程類似於活體內體細胞突變過程，該過程負責在自然免疫反應中之抗體親和力成熟。該活體外親和力成熟可藉由(例如)使用分別與 V_H CDR3 或 V_L CDR3 互補之 PCR 引子放大 V_H 及 V_L 區域而完成，該等引子已由四個在某些位置的核苷酸鹼基"加強"以使得所得 PCR 產物對隨機突變引入其 V_H 及/或 V_L CDR3 區之 V_H 及 V_L 片段進行編碼。該等隨機突變之 V_H 及 V_L 片段可根據與 P-鈣黏素之結合重新篩檢，且可選擇展示與 P-鈣黏素之高親和力與低解離率之序列。如先前所述，若干隨機突變且展示改良親和力之本發明之 V_H 及 V_L CDR3 序列由 SEQ ID NO:91-256 及 257-319 表示。

在自重組免疫球蛋白呈現庫篩檢並分離本發明之 P-鈣黏素抗體後，編碼經選擇抗體之核酸可自呈現封裝(例如，自噬菌體基因組)回收並藉由標準重組 DNA 技術次選殖入另一表現載體。若需要，核酸可進一步操作以建立如下文所述之本發明之其他抗體形式。為表現藉由篩檢組合庫而

分離之重組人類抗體，如下所述，將編碼該抗體之DNA選殖入重組表現載體並引入宿主細胞。

免疫法

在另一實施例中，人類P-鈣黏素抗體可藉由使非人類轉殖基因動物免疫而產生，其基因組中包含具有P-鈣黏素抗原之一些或所有人類免疫球蛋白重鏈及輕鏈位點。舉例而言，該非人類動物可係XENOMOUSE™動物。(Abgenix, Inc., Fremont, CA)。

XENOMOUSE™小鼠係經設計小鼠品系，其包含大片段人類免疫球蛋白重鏈及輕鏈位點且小鼠抗體產生不足。見，例如Green等人，*Nature Genetics*, 7:13-21 (1994)及美國專利第 5,916,771、5,939,598、5,985,615、5,998,209、6,075,181、6,091,001、6,114,598、6,130,364、6,162,963及6,150,584號。亦見WO 91/10741、WO 94/02602、WO 96/34096、WO 96/33735、WO 98/16654、WO 98/24893、WO 98/50433、WO 99/45031、WO 99/53049、WO 00/09560，及WO 00/037504。

在該等文獻中揭示之方法可如美國專利第5,994,619號中之描述修正改，其以引用之方式併入本文中。美國專利第5,994,619號描述用於產生新穎培養內細胞團(CICM)細胞及細胞株之方法，其源自豬及牛，及已插入異種DNA之轉殖基因CICM細胞。CICM轉殖基因細胞可用於產生純系轉殖基因胚胎、胎兒，及後代。該'619專利亦描述用於產生轉殖基因動物之方法，其可將異種DNA傳遞給其次級子

代。可用於該等方法之非人類動物之實例包括大鼠、綿羊、豬、山羊、牛、雞，及馬。

XENOMOUSE™小鼠產生成年人類所有組成分之全長人類抗體且產生抗原特異性人類抗體。在一些實施例中，XENOMOUSE™小鼠經由在酵母菌人工染色體(YAC)內引入百萬鹼基大小之人類重鏈位點及 κ 輕鏈位點的生殖系組態片段而含有約80%人類抗體V基因組。在其他實施例中，XENOMOUSE™小鼠進一步含有幾乎所有之人類 λ 輕鏈基因座。見Mendez等人。*Nature Genetics* 15: 146-156 (1997)；Green及Jakobovits *J. Exp. Med.* 188: 483-495 (1998)及WO 98/24893，其揭示內容以引用之方式併入本文中。

在一些實施例中，包含人類免疫球蛋白基因之非人類動物係具有人類免疫球蛋白"微小基因座"的動物。在微小基因座方法中，外生Ig基因座藉由包括來自該Ig基因座之個別基因而被仿效。因此，一或多個 V_H 基因、一或多個 D_H 基因、一或多個 J_H 基因、一 μ 恆定區、及一二級恆定區(較佳為一 γ 恆定區)形成一構築體以插入動物。該方法描述於美國專利第5,545,807號、第5,545,806號、第5,569,825號、第5,625,126號、第5,633,425號、第5,661,016號、第5,770,429號、第5,789,650號、第5,814,318號、第5,591,669號、第5,612,205號、第5,721,367號、第5,789,215號及第5,643,763號，其以引用之方式併入本文中。

接著可將上述非人類動物以P-鈣黏素抗原按照下文之描述在允許抗體產生之條件下致免疫。自該等動物分離出產生抗體之細胞，並自該等經分離之產生抗體之細胞或自該等細胞產生之永生化細胞株分離出編碼所關注P-鈣黏素抗體之重鏈及輕鏈之核酸。隨後使用熟習此項技術者已知之技術及按照下文之進一步描述對該等核酸進行設計以減少非人類序列之量，即對該抗體進行人源化以減少人類之免疫反應。

在一些實施例中，該P-鈣黏素抗原可係經分離及/或經純化P-鈣黏素。在一些實施例中，該P-鈣黏素抗原係人類P-鈣黏素。在其他實施例中，該P-鈣黏素抗原可係表現或過表現P-鈣黏素之受體。在其他實施例中，該P-鈣黏素抗原係自酵母、昆蟲細胞、諸如大腸桿菌之細菌，或其他來源藉由重組技術進行表現之重組蛋白。動物的免疫化可藉由此項技術中已知之任何方法。見，例如，Harlow及Lane, **Antibodies: A Laboratory Manual**, New York: Cold Spring Harbor Press (1990)。在此項技術中熟知用於使非人類動物，諸如小鼠、大鼠、綿羊、山羊、豬、牛及馬免疫化之方法。見，例如前述Harlow及Lane，及美國專利第5,994,619號。舉例而言，P-鈣黏素抗原可與佐劑一同施藥以刺激免疫反應。例示性佐劑包括競爭性或非競爭性弗氏佐劑(Freund's adjuvant)、RIBI(胞壁醯二肽)或ISCOM(免疫刺激複合物)。此等佐劑可藉由將多肽螯合於局部位置而防止其快速分散，或其可含有刺激宿主分泌對巨噬細胞及

免疫系統之其他組份具有趨化性的因子之物質。較佳地，若投與多肽，則免疫化時程將涉及投與兩次或兩次以上多肽，延續數週。

舉例而言，在如上所述以P-鈣黏素使轉殖基因動物免疫化後，可將初級細胞(例如，脾或末梢血液B細胞)自該免疫化轉殖基因動物分離且可識別產生對所要抗原具有特異性之抗體的個別細胞。隨後可將來自每一個別細胞之多聚腺嘌呤化mRNA分離並使用黏接於可變區序列之有義引子(例如，確認大多數或所有人類重鏈及輕鏈可變區基因之退化引子及黏接於恆定或連接區序列之反義引子)執行逆轉錄聚合酶鏈反應(RT-PCR)。隨後選殖重鏈及輕鏈可變區之cDNA並表現於任何適宜宿主細胞(例如骨髓瘤細胞)，其係作為具有各自免疫球蛋白恆定區，諸如重鏈及 κ 或 λ 恆定區之嵌合抗體。見Babcock等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93:7843-48, (1996)，以引用之方式併入本文中。接著可識別P-鈣黏素抗體並按本文之描述進行分離。

用於產生抗體之重組方法

本發明之抗體或抗體部位可藉由免疫球蛋白輕鏈及重鏈基因在宿主細胞內之重組表現而製備。舉例而言，為重組性表現抗體，將宿主細胞以承載編碼抗體之免疫球蛋白輕鏈及重鏈之DNA片段之一或多者重組表現載體進行轉染，以使得該等輕鏈及重鏈表現於宿主細胞中且較佳分泌入培養宿主細胞之培養基中，抗體可自該培養基中回收。使用標準重組DNA方法獲得抗體重鏈及輕鏈基因，將該等基因

併入重組表現載體並將該等載體引入宿主細胞，諸如描述於 Sambrook, Fritsch 及 Maniatis (編)，**Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Second Edition**, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), Ausubel, F. M.等人，(編) **Current Protocols in Molecular Biology**, Greene Publishing Associates, (1989)及在美國專利第 4,816,397 號中描述，其揭示內容以引用之方式併入本文中。

突變及修飾

為表現本發明之 P-鈣黏素抗體，可首先使用上述任何方法獲得編碼 V_H 及 V_L 區之 DNA 片段。亦可使用熟習此項技術者已知之標準方法將多種突變、缺失及/或加成引入 DNA 序列。舉例而言，突變作用可使用標準方法執行，諸如 PCR 調節突變，其中已突變之核苷酸併入 PCR 引子以使得 PCR 產物含有所要突變或位點指向之突變。舉例而言，可進行之一種取代係改變一或多個抗體內之半胱胺酸，其可與另一殘基，諸如(但不限於)丙胺酸或絲胺酸發生化學反應。舉例而言，可存在非典型半胱胺酸取代。該取代可發生於可變區之 CDR 或構架區或發生於抗體的恆定區。在一些實施例中，該半胱胺酸係典型的。

抗體亦可在重鏈及/或輕鏈可變區發生突變以(例如)更改抗體之結合特性。舉例而言，突變可發生於一或多個 CDR 區以增大或減小抗體對於 P-鈣黏素之 K_D ，增大或減小 k_{off} ，或更改抗體之結合特異性。位點指向之突變技術在此項技術中係熟知的。見，例如，前述 Sambrook 等人，及

Ausubel等人，其以引用之方式併入本文中。舉例而言，如在實例8中更詳細論述，根據上文論述之程序形成129-1c4母抗體之多個可變V_H及V_L CDR3序列，其表現為圖1中之SEQ ID NO:91至256(V_H CDR3可變)及SEQ ID NO:257至319(V_L CDR3可變)。

突變亦可發生於構架區或恆定區以增加P-鈣黏素抗體之半衰期。見，例如，PCT公開案第WO 00/09560號，其以引用之方式併入本文中。在構架區或恆定區亦可發生突變以更改抗體的免疫原性，提供用於共價或非共價結合於另一分子之位點，或更改諸如補體結合、FcR結合及抗體依賴細胞調節毒性(ADCC)之特性。根據本發明，單一抗體可在可變區任何一或多個CDR或構架區或在恆定區具有突變。

在一稱為"生殖系化"之過程中，在V_H及V_L序列內之若干胺基酸可經突變以與在生殖系V_H及V_L序列中自然發現之胺基酸相匹配。詳言之，在V_H及V_L序列之構架區的胺基酸序列可經突變以與生殖系序列相匹配以減小投與抗體時免疫原性之風險。用於人類V_H及V_L基因之生殖系DNA序列在此項技術中係已知的(見，例如，"Vbase"人類生殖系序列資料庫；亦見Kabat, E. A.等人。(1991) **Sequences of Proteins of Immunological Interest**，第5版，U.S. Department of Health and Human Services, NIH公開案第91-3242號；Tomlinson等人。(1992) *J. Mol. Biol.* 227:776-798；及Cox等人。*Eur. J. Immunol.* 24:827-836 (1994)；其每一者之內容清楚地以引

用之方式併入本文中)。

可發生另一類型之胺基酸取代以移除抗體內潛在的蛋白水解位點。該等位點可出現於可變區之CDR或構架區或出現於抗體恆定區。半胱胺酸殘基之取代及蛋白水解位點之移除可減少抗體產物內之異質性風險且因此增加其均質性。另一類型胺基酸取代係為了藉由更改殘基之一或兩者而消除天冬醯胺酸-甘胺酸對，其形成潛在脫醯胺位點。在另一實例中，本發明P-鈣黏素抗體之重鏈之C端離胺酸可分裂。在本發明之多個實施例中，P-鈣黏素抗體之重鏈及輕鏈可視情況包括N-端訊號序列，諸如彼等SEQ ID NO:346及347表示者。

一旦獲得編碼本發明之 V_H 及 V_L 片段之DNA片段，可進一步藉由標準重組DNA技術操作該等DNA片段以(例如)將可變區基因轉化為全長抗體鏈基因，轉化為Fab片段基因，或轉化為scFv基因。在該等操作中，編碼 V_L 或 V_H 之DNA片段在操作上鏈接於另一編碼另一蛋白之DNA片段，諸如抗體恆定區或彈性連接子。如本文所用之術語"操作上鏈接"意欲意謂兩個DNA片段經連接以使得由兩個DNA片段編碼之胺基酸序列保持對應轉譯。

編碼 V_H 區之經分離DNA可藉由將該 V_H 編碼DNA操作上鏈接於另一編碼重鏈恆定區(CH1、CH2及CH3)之DNA分子而轉化為全長重鏈基因。人類重鏈恆定區基因之序列在此項技術中係已知的(見，例如，Kabat, E. A.等人。(1991) **Sequences of Proteins of Immunological Interest**，第5版，U.S.

Department of Health and Human Services, NIH公開案第91-3242號)且包含該等區之DNA片段可藉由標準PCR放大而獲得。該重鏈恆定區可係IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD恆定區，但最佳係IgG1或IgG2恆定區。IgG1恆定區序列可係已知在不同個體出現之任何多種等位基因或異型，諸如Gm(1)、Gm(2)、Gm(3)，及Gm(17)。該等異型表示在IgG1恆定區內天然存在之胺基酸取代基。舉例而言，重鏈IgG1恆定區可係SEQ ID NO:344。對於Fab片段重鏈基因，編碼 V_H 之DNA可在操作上鏈接於另一僅編碼重鏈CH1恆定區之DNA分子。該CH1重鏈恆定區可衍生自任何重鏈基因。

編碼 V_L 區之經分離DNA可藉由將該編碼 V_L 之DNA操作上鏈接於另一編碼輕鏈恆定區 C_L 之DNA分子而轉化為全長輕鏈基因(以及Fab輕鏈基因)。人類輕鏈恆定區基因之序列在此項技術中係已知的(見，例如，Kabat, E. A.等人。(1991) **Sequences of Proteins of Immunological Interest**, 第5版，U.S. Department of Health and Human Services, NIH公開案第91-3242號)且包含該等區之DNA片段可藉由標準PCR放大而獲得。該輕鏈恆定區可係 κ 或 λ 恆定區。 κ 恆定區可係已知在不同個體出現之任何多種等位基因，諸如Inv(1)、Inv(2)，及Inv(3)。 λ 恆定區可衍生自三個 λ 基因之任一者。舉例而言，輕鏈IgG1恆定區可係SEQ ID NO:347。

為形成scFv基因，將編碼 V_H 及 V_L 之DNA片段在操作上鏈

接於另一編碼彈性連接子(例如，編碼胺基酸序列(Gly₄-Ser)₃)之片段以使得該等V_H及V_L序列可表現為V_L及V_H區由該彈性連接子連接之連續單鏈蛋白(見，例如Bird等人。*Science* 242:423-426 (1988)；Huston等人。*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988)；McCafferty等人，*Nature*, 348:552-554 (1990))。若僅使用單個V_H及V_L，則該單鏈抗體係一價的，若使用兩個V_H及V_L，則其係二價的，若使用兩個以上V_H及V_L，則其係多價的。雙特異性或多價抗體在產生時特異性結合於P-鈣黏素或另一分子。

在另一實施例中，可形成融合抗體或免疫黏附素，其鏈接於另一多肽，包含所有或部分的本發明之P-鈣黏素抗體。在另一實施例中，僅P-鈣黏素抗體的可變區鏈接於多肽。在另一實施例中，P-鈣黏素之V_H區鏈接於第一多肽，而P-鈣黏素抗體之V_L區鏈接於第二多肽，該第二多肽與該第一多肽以如下方式相聯：V_H及V_L區可彼此相互作用以形成抗原結合位點。在另一較佳實施例中，V_H區與V_L區經由一連接子分離以使得該等V_H及V_L區可彼此相互作用。隨後將V_H-連接子-V_L抗體鏈接於所關注之多肽。此外，可建立兩個(或兩個以上)單鏈抗體彼此鏈接之融合抗體。若欲在單一多肽鏈上建立二價或多價抗體，或欲建立雙特異性抗體，則此係有用的。

在其他實施例中，其他經修飾抗體可使用編碼P-鈣黏素抗體之核酸分子製備。例如，"κ抗體"(Ill等人，*Protein Eng.* 10: 949-57 (1997))、"微型抗體"(Martin等人，*EMBO*

J., 13: 5303-9 (1994))、"雙功能抗體"(Holliger等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 6444-6448 (1993)), 或"Janusin"(Traunecker等人, *EMBO J.*, 10:3655-3659 (1991) 及 Traunecker等人, *Int. J. Cancer*, (Suppl.) 7:51-52 (1992)) 可遵循本發明之教示使用標準分子生物技術製備。

雙特異性抗體或抗原結合片段可藉由多種方法產生, 包括融合瘤融合或 Fab' 片段鏈接。見, 例如, Songsivilai & Lachmann, *Clin. Exp. Immunol.*, 79:315-321 (1990), Kostelny 等人, *J. Immunol.*, 148:1547-1553 (1992)。此外, 雙特異性抗體可形成為"雙功能抗體"或"Janusins"。在一些實施例中, 雙特異性抗體結合於 P-鈣黏素之兩個不同抗原決定基。在一些實施例中, 上文描述之經修飾抗體可用於自本文提供之人類 P-鈣黏素抗體之一或多個可變區或 CDR 區製備。

載體及宿主細胞

為表現本發明之抗體及抗原結合部位, 將如上文描述獲得之編碼部分或全長輕鏈及重鏈之 DNA 插入至表現載體以使得該等基因操作上鏈接於轉錄或轉譯控制序列。在本文中, 術語"操作上鏈接"意欲意謂抗體基因接合至載體以使得該載體內轉錄或轉譯控制序列行使其調節該抗體基因轉錄及轉譯之預期功能。該表現載體及表現控制序列經選擇以與所用表現宿主細胞相容。表現載體包括質體、反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒(AAV)、諸如花椰菜嵌紋病毒、煙草嵌紋病毒之植物病毒、黏質體、YAC、EBV 衍生

之離合染色小體，及其類似物。抗體基因接合至載體以使得該載體內轉錄或轉譯控制序列行使其調節該抗體基因轉錄及轉譯之預期功能。該表現載體及表現控制序列經選擇以與所用表現宿主細胞相容。抗體輕鏈基因及抗體重鏈基因可插入至個別載體。在一較佳實施例中，兩基因可插入至相同表現載體。該等抗體基因藉由標準方法插入至表現載體(例如，互補限制性位點在抗體基因片段及載體之結合，或者若不存在限制性位點則可進行鈍端接合)。

便利載體係編碼功能完整之人類 C_H 或 C_L 免疫球蛋白序列之載體，其具有適當限制性位點，該等位點如上所述經設計以使得任何 V_H 或 V_L 序列易於插入及表現。在此等載體內，結合通常發生於經插入J區內之接合給體位點與人類C區前之接合受體位點間，且亦發生於人類 C_H 外顯子內發生之結合區。聚腺甘酸化及轉錄終止發生於編碼區下游之天然染色體位點。重組表現載體亦可編碼促進抗體鏈自宿主細胞分泌之訊號肽。該抗體鏈基因可選殖入載體以使得該訊號肽對應轉譯鏈接於免疫球蛋白鏈之胺基末端。該訊號肽可係免疫球蛋白訊號肽或異種訊號肽(意即來自非免疫球蛋白蛋白之訊號肽)。

除了該等抗體鏈基因，本發明之重組表現載體承載控制抗體鏈基因在宿主細胞表現之調節序列。熟習此項技術者將瞭解，表現載體之設計，包括調節序列之選擇可視此等選擇欲轉化宿主細胞之因子、所要蛋白之表現水平等而定。用於哺乳動物宿主細胞表現之較佳調節序列包括將高

水平蛋白表現定向哺乳動物細胞之病毒元素，諸如源自反轉錄病毒LTR之啟動子及/或強化子，巨細胞病毒(CMV)(諸如CMV啟動子/強化子)、猴病毒40(SV40)(諸如SV40啟動子/強化子)、腺病毒(例如，腺病毒主要晚期啟動子(AdMLP))、多瘤病毒及強哺乳動物啟動子，諸如天然免疫球蛋白及肌動蛋白啟動子。對病毒調節元素及其序列之進一步描述，見，例如美國專利第5,168,062號、美國專利第4,510,245號及美國專利第4,968,615號。用於表現植物中之抗體，包括對啟動子及載體之描述，以及植物轉化之方法在此項技術中係已知的。見，例如，美國專利第6,517,529號，其以引用之方式併入本文中。在細菌細胞或真菌細胞，例如，酵母細胞內表現多肽之方法在此項技術中亦係熟知的。

除了抗體鏈基因及調節序列，本發明之重組表現載體可承載額外序列，諸如調節載體在宿主細胞(例如，複製之起源)及可選擇標記基因內之複製的序列。該可選擇標記基因促進已將載體引入其中之宿主細胞之選擇(見，例如，美國專利第4,399,216號、第4,634,665號及第5,179,017號，其以引用之方式併入本文中)。舉例而言，通常該可選擇標記基因在已引入載體之宿主細胞上賦予抗藥性，諸如G418、勻黴素或甲胺喋呤。較佳可選擇之標記基因包括二氫葉酸還原酶(DHFR)基因(用於具有甲胺喋呤選擇/放大之dhfr-宿主細胞)、新黴素磷酸酶基因(用於G418選擇)，及麩胺酸合成酶基因。

編碼P-鈣黏素抗體之核酸分子及包含該等核酸分子之載體可用於適宜哺乳動物、植物、細菌或酵母宿主細胞之轉染。轉化可藉由任何已知方法將多核苷酸引入宿主細胞。用於將異種多核苷酸引入哺乳動物細胞之方法在此項技術中已為吾人所熟知且包括聚葡萄糖調節轉染、磷酸鈣沉澱、凝聚胺調節轉染、天然體融合、電穿孔、將多核苷酸封裝於脂質體、及直接將DNA顯微注射於細胞核。此外，核酸分子可經由病毒載體引入至哺乳動物細胞。轉化細胞之方法在此項技術中係已知的。見，例如美國專利第4,399,216號、第4,912,040號、第4,740,461號，及第4,959,455號，其以引用之方式併入本文中。用於轉化植物細胞之方法在此項技術中係熟知的，其包括(例如)土壤桿菌屬調節轉化、基因槍轉化、直接注射、電穿孔及病毒轉化。轉化細菌及酵母細胞之方法在此項技術中亦係熟知的。

可用作宿主以用於表現之哺乳動物細胞株在此項技術中係熟知的且包括多種可購自American Type Culture Collection(ATCC)之永生化細胞株。其包括(例如)中國田鼠卵巢(CHO)細胞、NSO細胞、SP2細胞、HEK-293T細胞、NIH-3T3細胞、HeLa細胞、幼倉鼠腎(BHK)細胞、非洲綠猴腎臟細胞(COS)、人類肝細胞癌細胞(例如，Hep G2)、A549細胞，及多種其他細胞株。尤其較佳細胞株係藉由測定何細胞株具有高表現水平而選擇。可用之其他細胞株係昆蟲細胞株，諸如Sf9或Sf21細胞。當將編碼抗體基因之

重組表現載體引入哺乳動物宿主細胞時，該等抗體可藉由將該等細胞株培養一段足以允許抗體在該等細胞株內表現之時間而產生，或更佳地，藉由將抗體分泌於宿主細胞生長之培養基中而產生。可使用標準蛋白純化方法自培養基中回收抗體。植物宿主細胞包括(例如)煙草、芥菜屬、浮萍、穀物、小麥、馬鈴薯等。細菌宿主細胞包括大腸桿菌(*E. coli*)及鏈黴菌類(*Streptomyces*)。酵母宿主細胞包括裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)及甲醇酵母(*Pichia pastoris*)。

此外，可使用多種已知技術增強本發明之抗體自產生細胞株之表現。舉例而言，麩氨胺酸合成酶(GS系統)及DHFR基因表現系統係在某些條件下增強表現之普遍方法。可使用習知技術識別高表現細胞選殖，諸如限制性稀釋選殖及微滴技術。該GS系統論述於歐洲專利第0 216 846號、第0 256 055號、第0 323 997號及第0 338 841號。

由不同細胞株表現或在轉殖基因動物中之抗體彼此可具有不同糖基化。然而，所有由本文提供之核酸分子編碼之抗體或包含本文提供之胺基酸序列之抗體係本發明之部分，無關於該等抗體之糖基化。

轉殖基因動物及植物

本發明之P-鈣黏素抗體亦可藉由所關注之免疫球蛋白重鏈及輕鏈序列係轉殖基因的哺乳動物或植物及產生其可回收形式之抗體而轉殖產生。關於在哺乳動物中之轉殖基因產生，P-鈣黏素抗體可產生並回收於山羊、牛或其他哺乳

動物的奶中。見，例如，美國專利第5,827,690號、第5,756,687號、第5,750,172號及第5,741,957號，其以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，包含人類免疫球蛋白位點之非人類轉殖基因動物如上所述以P-鈣黏素或其免疫原性部位免疫化。用於在植物中製得抗體之方法描述於(例如)美國專利6,046,037及5,959,177中，其以引用之方式併入本文中。

在一些實施例中，非人類轉殖基因動物或植物藉由將一或多個編碼本發明之P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位之核酸分子經由標準轉殖基因技術引入至該動物或植物而產生。見前述Hogan及美國專利6,417,429。用於形成轉殖基因動物的轉殖基因細胞可係胚胎幹細胞或體細胞或受精卵。該等轉殖基因非人類有機體可係嵌合、非嵌合異型合子，及非嵌合同型合子。見，例如，Hogan等人，**Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual**，第2版，Cold Spring Harbor Press (1999)；Jackson等人，**Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach**，Oxford University Press (2000)；及Pinkert，**Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook**，Academic Press (1999)，其所有以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，轉殖基因非人類動物具有由編碼所關注重鏈及/或輕鏈之目標構築體進行之目標分裂及代替。P-鈣黏素抗體可形成於任何轉殖基因動物。在一較佳實施例中，非人類動物係小鼠、大鼠、綿羊、豬、山羊、牛或馬。該非人類轉殖基因動物在血液、奶、尿、唾液、淚液、黏液或其他體

液中表現該等經編碼多肽。

類別轉換

P-鈣黏素抗體之類(例如, IgG、IgM、IgE、IgA, 或IgD)及子類(例如, IgG1、IgG2、IgG3, 或IgG4)可由此項技術中已知之任何方法測定。一般而言, 抗體之類及子類可使用特異於抗體類及子類之抗體測定。此等抗體係市售。類及子類可由ELISA, 或西方墨點法以及其他技術測定。或者, 類及子類可藉由定序所有或部分抗體重鏈及/或輕鏈恆定區、將其胺基酸序列與免疫球蛋白多種類及子類免疫球蛋白的已知胺基酸序列比較, 並測定抗體的類及子類而測定。本發明之P-鈣黏素抗體可係IgG、IgM、IgE、IgA, 或IgD分子。舉例而言, P-鈣黏素抗體可係IgG1、IgG2、IgG3或IgG4子類之IgG。在一實施例中, P-鈣黏素抗體可具有由SEQ ID NO:344表示之重鏈恆定區及由SEQ ID NO:345表示之輕鏈恆定區。

本發明之一態樣提供一種用於將P-鈣黏素抗體之類或子類轉化為另一類或子類之方法。在一些實施例中, 編碼 V_L 或 V_H 且不包括編碼 C_L 或 C_H 之序列之核酸分子使用此項技術中熟知之方法分離。隨後將該核酸分子操作上鏈接於編碼來自所要免疫球蛋白類或子類之 C_L 或 C_H 之核酸序列。此可如上所述使用載體或包含 C_L 或 C_H 鏈之核酸分子達成。舉例而言, 起始為IgM之P-鈣黏素抗體可類別轉換為IgG。此外, 可使用類別轉換將IgG子類轉化為另一子類, 例如自IgG1轉化為IgG2。另一種用於產生包含所要同型之本發明

之抗體之方法包含如下步驟：分離編碼P-鈣黏素抗體重鏈之核酸及編碼P-鈣黏素抗體輕鏈之核酸，分離編碼V_H區之序列，將該V_H序列接合至編碼所要同型之重鏈恆定區之序列，在細胞內表現該輕鏈基因及重鏈構築體，且收集具有所要同型之P-鈣黏素抗體。

去免疫化抗體

在本發明之另一態樣中，抗體或其抗原結合部位可使用描述於(例如)PCT公開案第WO 98/52976及WO 00/34317號(以引用之方式併入本文)之技術去免疫化以減小其免疫原性。

衍生及標記抗體

本發明之P-鈣黏素抗體或抗原結合部位可衍生或鏈接於另一分子(例如，另一肽或蛋白)。一般而言，抗體或其部位係衍生而得以使得P-鈣黏素結合不受衍生或標記之不利影響。因此，本發明之抗體或抗體部位意欲包括本文描述之完整及經改質形式的人類P-鈣黏素抗體。舉例而言，本發明之抗體或抗體部位可功能上鏈接(藉由化學偶合、遺傳融合、非共價相連或其他方式)於一或多個其他分子實體，諸如另一抗體(即雙特異性抗體或雙功能抗體)、偵測劑、標記、細胞毒性劑、藥劑，及/或可調節該抗體或抗體部位與另一分子(諸如抗生蛋白鏈菌素核心區域或多聚組胺酸標籤)之締合之蛋白或肽。

一種類型之衍生抗體係藉由將兩種或兩種以上抗體(具有相同類型或不同類型，例如為建立雙特異性抗體)交聯

而產生。適宜交聯劑包括異基雙功能交聯劑、具有兩個由適當間隔基(例如，間馬來醯亞胺苯甲醯基-N-羥基琥珀醯亞胺酯)分離之不同反應性基團之交聯劑或同基雙功能(例如，二琥珀醯亞胺基辛二酸酯)交聯劑。此等鍵聯劑可購自Pierce Chemical Company, Rockford, IL。

另一種類型之衍生抗體係標記抗體。可用於衍生本發明之抗體或抗原結合部位之有用偵測劑包括螢光化合物，包括螢光素、螢光異硫氰酸鹽、若丹明、5-二甲胺基-1-萘-磺醯氯、藻紅素、矽系磷光體，及其類似物。抗體亦可以適於偵測之酶標記，諸如辣根過氧化物酶、 β -半乳糖、螢光素酶、鹼性磷酸酶、葡萄糖氧化酶，及其類似物。當抗體以可偵測酶標記時，其係藉由加入酶用以產生可辨別反應產物之額外試劑而偵測。舉例而言，當存在辣根過氧化物酶試劑時，加入過氧化氫及二胺基聯苯胺導致一種可偵測之有色反應產物。抗體亦可以生物素標記，且可經由間接量測抗生物素蛋白或抗生蛋白鏈菌素結合而偵測。抗體亦可以由二級報導基因(例如，白胺酸拉鏈對序列、用於二級抗體之結合位點、金屬結合區域、抗原決定基標籤)確認之預定多肽抗原決定基標記。在一些實施例中，標記由不同長度之間隔臂附著以減小潛在位阻。P-鈣黏素抗體亦可由化學基團衍生，諸如聚乙二醇(PEG)、甲基或乙基，或碳水化合物基團。該等基團適用於改良抗體之生物特徵，例如，增加血清半衰期。

P-鈣黏素抗體與P-鈣黏素之結合親和力

P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位與P-鈣黏素之結合親和力(K_D)及解離速率(k_{off})可藉由此項技術中已知之方法測定。結合親和力可藉由ELISA、RIA、流式細胞儀，或表面電漿共振(諸如BIACORE™)量測。解離速率可藉由表面電漿共振量測。較佳地，該結合親和力及解離速率藉由表面電漿共振量測。更佳地，該結合親和力及解離速率使用BIACORE™量測。可使用此項技術中已知之方法確定抗體是否與P-鈣黏素抗體具有大體相同之 K_D 。此等測定 K_D 及 k_{off} 之方法可在初始篩檢階段以及隨後最優化階段使用。

由P-鈣黏素抗體確認之P-鈣黏素抗原決定基之識別

本發明提供人類P-鈣黏素抗體，其結合於P-鈣黏素並與表1或表2描述之任何抗體競爭或交叉競爭及/或結合於相同抗原決定基。可使用此項技術中已知之方法確定抗體是否與相同抗原決定基結合或交叉競爭以結合於本發明之P-鈣黏素抗體。在一實施例中，允許本發明之P-鈣黏素抗體在飽和條件下結合於P-鈣黏素，隨量測測試抗體結合於P-鈣黏素之能力。若檢測抗體與P-鈣黏素抗體可同時結合於P-鈣黏素，隨後檢測抗體與P-鈣黏素抗體結合於不同抗原決定基。然而，若測試抗體不可同時結合於P-鈣黏素，則測試抗體結合於相同抗原決定基，重迭抗原決定基，或與由人類P-鈣黏素抗體結合之抗原決定基鄰近的抗原決定基。該實驗可使用ELISA、RIA、BIACORE™，或流式細胞儀執行。在一較佳實施例中，該實驗使用ELISA執行。

由P-鈣黏素抗體抑制P-鈣黏素活性

抑制P-鈣黏素活性之P-鈣黏素抗體可使用多種分析法識別。舉例而言，細胞凝集分析提供量測P-鈣黏素依賴細胞凝集之方法。該類型之檢定使用過度表現P-鈣黏素之細胞株，其中該等細胞置於懸浮液中並允許形成P-鈣黏素依賴凝集。接著藉由量測由存在及不存在之抗體導致的細胞凝集尺寸而將該凝集檢定用於對P-鈣黏素抗體防止該凝集之性能進行量化。接著可將細胞凝集尺寸作為P-鈣黏素抗體濃度之函數用於測定 IC_{50} 值。實例4進一步詳細提供P-鈣黏素依賴細胞凝集檢定，其係用於量測若干P-鈣黏素抗體之 IC_{50} 值。

亦可使用細胞黏著檢定來量測P-鈣黏素抗體阻斷細胞黏著於已在撐體上永生之受體P-鈣黏素之能力。該類型之檢定可藉由(例如)將P-鈣黏素固定於撐體(諸如塑料)上執行。隨後允許細胞過表現P-鈣黏素經由P-鈣黏素間之相互作用黏著於該撐體。接著可在存在P-鈣黏素抗體或不存在P-鈣黏素抗體之情況下對鈣黏素含量進行量化。接著將黏著作為抗體濃度的函數用於測定 IC_{50} 值。實例3進一步詳細提供P-鈣黏素依賴細胞黏著檢定，其用於量測P-鈣黏素抗體之 IC_{50} 值。

P-鈣黏素活性之抑制亦可使用P-鈣黏素依賴球狀體分裂分析量測。該類型之檢定量測P-鈣黏素抗體分裂預形成之P-鈣黏素依賴細胞凝集之能力。藉由量測作為抗體濃度之函數之凝集尺寸減小可測定 IC_{50} 值。實例5進一步詳細提供P-鈣黏素依賴球狀體分裂檢定，其用於量測P-鈣黏素抗體

之IC₅₀值。上文描述之用於測定P-鈣黏素活性由多種抗體或其抗原結合部位抑制之方法及檢定法可在初始篩檢階段以及隨後之最優化階段使用。

分子選擇性

本發明之P-鈣黏素抗體超過其他鈣黏素(諸如E-鈣黏素)之選擇性可使用此項技術中熟知之方法測定。舉例而言，可使用西方墨點法、流式細胞儀、ELISA、免疫沉澱或RIA測定選擇性。實例7提供ELISA檢定之進一步細節，其係用於量測P-鈣黏素超過E-鈣黏素之特異性抗體之選擇性。上文描述之該等用於測定用於P-鈣黏素之多種抗體或其抗原結合部位之選擇性的方法及檢定法可在初始篩檢階段以及隨後之最優化階段使用。

醫藥組合物及投藥

本發明亦係關於一種用於治療包括人類之哺乳動物細胞生長異常之醫藥組合物，該組合物包含一定量之本文描述之P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位(其對於治療細胞生長異常係有效的)及一種醫藥學上可接受之載劑。

本發明之抗體及抗原結合部位可併入適用於投與受試者之醫藥組合物。通常，該醫藥組合物包含一種本發明之抗體或抗原結合部位及一種醫藥學上可接受之載劑。如本文所用之"醫藥學上可接受之載劑"意謂任何及所有在生理學上相容之溶劑、分散介質、塗料、抗菌及抗真菌劑、等張及吸收延緩劑，及其類似物。一些醫藥學上可接受之載劑之實例係水、生理食鹽水、磷酸鹽緩衝生理食鹽水、右旋

糖、甘油、乙醇及其類似物，以及其組合。在多種情況下，其較佳將包括等張劑，例如糖、多元醇，諸如甘露醇、山梨醇或在組合物中之氯化鈉。醫藥學上可揭示之物質之其他實例係濕潤劑或少量輔助物質，諸如濕潤或乳化劑、防腐劑或緩衝液，其增強了抗體之存放壽命或效用。

本發明之組合物可以多種形式存在，例如液體、半固體及固體劑量形式，諸如液體溶液(例如，可注射及可灌輸溶液)、分散液或懸浮液、錠劑、丸劑、粉末、脂質體及栓劑。較佳形式視預期投藥方式及治療應用而定。通常較佳之組合物係以可注射或可灌注溶液之形式，諸如類似於彼等用於人類被動免疫者之組合物。較佳投藥方式係非經腸(例如，靜脈、皮下、腹膜內、肌肉內)。在一較佳實施例中，抗體藉由靜脈注入或注射投藥。在另一較佳實施例中，抗體藉由肌肉內或皮下注射投藥。用於注射之調配物可以單位劑量形式存在，例如以安瓶或以多劑量容器存在，加入或不加入防腐劑。該等組合物可採用諸如在油或含水媒劑中之懸浮液、溶液或乳液之形式，且可含有調配劑，諸如懸浮劑、穩定劑及/或分散劑。或者，活性成份可以粉末形式存在以用於在使用前與適宜媒劑，諸如無菌無熱原質水組合。

治療組合物通常在製造及儲存條件下必須係無菌且穩定的。該組合物可調配為溶液、微乳液、分散液、脂質體，或其他適用於高藥物濃度之有序結構。無菌注射液可藉由將所要量之P-鈣黏素抗體併入具有一或多種需要的上文列

舉之成份之適當溶劑中，隨後藉由過濾殺菌而製備。一般而言，分散液藉由將活性成份併入無菌媒劑中製備，該媒劑含有鹼性分散介質及來自上文列舉之所要其他成份。在無菌粉末用於製備無菌注射液之情況下，製備較佳方法係真空乾燥及冷凍乾燥，其產生一種具有活性成份及來自其先前無菌過濾溶液之任何其他所要成份之粉末。溶液之適宜流動性可藉由(例如)使用塗層(諸如卵磷脂)在分散液情況下藉由維持所要粒度及藉由使用界面活性劑而維持。注射組合物之延長吸收可藉由在該組合物中包括一種延緩吸收劑，例如單硬脂酸鹽及明膠達成。

本發明之抗體或抗體部位可藉由多種此項技術中已知之方法投藥，儘管治療應用有多種，較佳途徑/投藥方式係皮下、肌肉內，或靜脈注入。熟練技工將易瞭解，投藥途徑及/或方式視所要結果而不同。

在某些實施例中，本發明之抗體組合物可與一種保護該抗體不快速釋放之載劑一同製備，諸如控制釋放調配物，包括植入物、穿透皮膚藥貼，及微膠囊投遞系統。可使用生物可降解、生物相容性聚合物，諸如乙烯醋酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。熟習此項技術者一般已知多種用於製備此等調配物之方法。見，例如，**Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems**, J. R. Robinson，編，Marcel Dekker, Inc., New York, 1978，其以引用之方式併入本文中。

其他活性化合物亦可併入該等組合物。在某些實施例

中，本發明之抑制性P-鈣黏素抗體與一或多種其他治療劑共同調配及/或共同投藥。該等藥劑包括(但不限於)結合其他目標之抗體、抗腫瘤劑、抗血管生成劑、訊號轉導抑制劑、抗增生劑、化學治療劑，或抑制P-鈣黏素之肽類似物。此等組合療法需要較低劑量之抑制性P-鈣黏素抗體以及共同投與之藥劑，因此避免與多種單療法相關之可能毒性或併發症。

本發明之組合物可包括"治療有效量"或"預防有效量"之本發明之抗體或抗原結合部位。"治療有效量"係指在必要劑量及時間下，可有效達成所要治療結果之量。抗體或抗原結合部位之治療有效量可根據諸如疾病病況、年齡、性別及個體體重，及抗體或抗原結合部位誘發個體所要反應能力之因素而不同。治療有效量亦係治療有益效應大於抗體或抗原結合部位之有毒或有害效應之量。"預防有效量"係指在必要劑量及時間下，可有效達成所要預防結果之量。通常，由於受試者使用之預防劑量先於疾病或在疾病早期階段，因此預防有效量可小於治療有效量。

給藥方式可經調整以提供最佳所要反應(例如，治療或預防反應)。舉例而言，可投與單一大丸劑，可隨時間投與若干單獨劑量或該等劑量可根據治療情境之緊迫性所指示適當減少或增加。尤其具有優勢的係以單位劑型調配非經腸組合物以易於投藥及劑量之均一性。如本文所用之單位劑型係指適用作經治療哺乳動物受試者之單次劑量之物理上分開的單位；含有預定量活性化合物之每一單位經計

算以與所要醫藥載劑相關而產生所要治療效應。本發明之單位劑型規格如下指定並直接取決於：(a)P-鈣黏素抗體或其部位之獨特特徵及欲達成之特定治療或預防效應，及(b)此項技術中對混合此抗體以治療個體敏感性之固有限制。

本發明之抗體或抗體部位之治療或預防有效量之例示性、非限制性範圍係 0.025 至 50 mg/kg、更佳 0.1 至 50 mg/kg，更佳 0.1-25、0.1 至 10 或 0.1 to 3 mg/kg。在一些實施例中，調配物含有在 20 mM 檸檬酸鈉，pH 值 5.5，140 mM NaCl，及 0.2 mg/mL 聚山梨醇酯 80 之緩衝液中之 5 mg/mL 的抗體。應注意，劑量值可隨欲緩解之病症之類型及嚴重性而不同。應進一步瞭解，對於任何特定受試者，特定給藥方式應根據個體需要及投與或監督組合物之投藥之人的專業判斷而隨時間調整，且本文陳述之劑量範圍僅為例示性且不欲限制申請組合物之範疇或實踐。

本發明之另一態樣提供包含本發明之 P-鈣黏素抗體或抗原結合部位或包含此抗體或部位之組合物之套組。除該抗體或組合物外，套組可包括診斷或治療劑。套組亦可包括用於在診斷或治療方法中使用之說明書。在一較佳實施例中，該套組包括抗體或包含其之組合物及可用於下述方法之診斷劑。在另一較佳實施例中，該套組包括該抗體或包含其之組合物及一或多種可用於下述方法之治療劑。

有用之診斷方法

P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位可用於診斷方法以活體外或活體內對生物樣本中之 P-鈣黏素進行偵測。舉例而

言，P-鈣黏素抗體可用於習知免疫檢定中，包括(但不限於)ELISA、RIA、流式細胞儀、組織免疫組織化學法、西方墨點法或免疫沉澱。本發明之P-鈣黏素抗體可用於偵測來自人類之P-鈣黏素。P-鈣黏素抗體亦可用於偵測來自小鼠、大鼠及馬來猴之P-鈣黏素。

本發明提供一種用於偵測生物樣本中之P-鈣黏素之方法，其包含將該生物樣本與本發明之P-鈣黏素抗體接觸並偵測該經結合之抗體。在一實施例中，P-鈣黏素抗體以可偵測標記直接標記。在另一實施例中，P-鈣黏素抗體(第一抗體)係未經標記且可結合該P-鈣黏素抗體之第二抗體或其他分子係經標記。如熟習此項技術者所熟知，第二抗體係經選擇以可特異性結合特定物種及該第一抗體之類。舉例而言，若該P-鈣黏素抗體係人類IgG，則該第二抗體可係抗人類IgG。可結合於抗體之其他分子包括(但不限於)蛋白A及蛋白G，其兩者均可購自(例如)Pierce Chemical Co.。

用於該抗體或第二抗體之適宜標記已事先論述過，且包括多種酶、輔基、螢光物質、發光物質及放射性物質。適宜酶之實例包括辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖酶，或乙醯膽鹼脂酶；適宜輔基複合物之實例包括抗生蛋白鏈菌素/生物素及抗生物素蛋白/生物素；適宜螢光物質之實例包括繖形酮、螢光素、螢光異硫氰酸鹽、若丹明、二氯三嗪基胺螢光素、丹磺醯氯(dansyl chloride)或藻紅素；發光物質之實例包括發光胺；且適宜放射性物質之實

例包括 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 或 ^3H 。

在其他實施例中，可利用經可偵測物質標記之 P-鈣黏素標準及未經標記之 P-鈣黏素抗體藉由競爭免疫檢定在生物樣本中對 P-鈣黏素進行分析。在該檢定中，將該生物樣本、該經標記之 P-鈣黏素標準及該 P-鈣黏素抗體組合並測定該經標記 P-鈣黏素標準結合於未經標記抗體之量。P-鈣黏素在該生物樣本中之量係與經標記 P-鈣黏素標準結合於 P-鈣黏素抗體之量成反比。

上文揭示之免疫檢定可用於多種目的。舉例而言，P-鈣黏素抗體可用於偵測培養細胞中之 P-鈣黏素。在一較佳實施例中，P-鈣黏素抗體係用於測定已經多種化合物處理之細胞所產生的 P-鈣黏素之量。該方法可用於識別調節 P-鈣黏素蛋白含量之化合物。根據該方法，一細胞樣本以測試化合物處理一段時間，而另一樣本不進行處理。若欲量測 P-鈣黏素總含量，則對細胞進行溶解並使用上述免疫檢定之一者量測總 P-鈣黏素含量。對 P-鈣黏素在經處理與未經處理細胞內之總含量進行比較以確定測試化合物之效應。

用於量測總 P-鈣黏素含量之較佳免疫檢定係流式細胞儀或免疫組織化學法。諸如 ELISA、RIA、流式細胞儀、西方墨點法、免疫組織化學法、貫穿性膜蛋白之細胞表面標記及免疫沉澱之方法在此項技術中係熟知的。見，例如，前述之 Harlow 及 Lane。此外，該等免疫檢定用於高通量篩檢時可按比例增加以對大量用於激活或抑制 P-鈣黏素表現之化合物進行檢測。

本發明之P-鈣黏素抗體亦可用於測定P-鈣黏素在組織或在自該組織衍生之細胞內之含量。在一些實施例中，該組織係患病組織。在該方法之一些實施例中，組織或其生物檢體係自患者切離。隨後將該組織或生物檢體用於免疫檢定中以藉由上述方法測定(例如)總P-鈣黏素含量或P-鈣黏素定位。

本發明之抗體亦可用於活體內識別表現P-鈣黏素之組織及器官。使用本發明之人類P-鈣黏素抗體之優勢係與非人類起源之抗體或人源化或嵌合抗體不同，其可安全地用於活體內而不在投藥時誘發對抗體的實質免疫反應。

該方法包含如下步驟：對需要此診斷檢測之患者投與可偵測經標記P-鈣黏素抗體或包含其之組合物並使該患者接受影像分析以確定P-鈣黏素表現組織之位置。影像分析在醫學技術中係熟知的，且包括(但不限於)x光分析、磁共振成像(MRI)或電腦斷層攝影(CT)。該抗體可經任何適用於活體內成像之試劑進行標記，例如對比劑(諸如鋇)，其可用於x光分析；或磁性對比劑(諸如釷螯合劑)，其可用於MRI或CT。其他標記劑包括(但不限於)放射性同位素，諸如⁹⁹Tc。在另一實施例中，P-鈣黏素抗體不經標記且藉由投與可偵測且可結合該P-鈣黏素抗體之第二抗體或其他分子來成像。在一實施例中，自患者獲得生物檢體以測定該所關注組織是否表現P-鈣黏素。

有用之治療方法

在另一實施例中，本發明提供一種用於藉由投與有需要

之患者P-鈣黏素抗體而抑制P-鈣黏素活性之方法。本文描述之任何抗體或其抗原結合部位可在治療上使用。在一較佳實施例中，該P-鈣黏素抗體係人類抗體、嵌合抗體或人源化抗體。在另一較佳實施例中，該P-鈣黏素係人類的且該患者係人類患者。或者，該患者可係表現P-鈣黏素之哺乳動物，P-鈣黏素與P-鈣黏素抗體交叉作用。可將該抗體投與表現P-鈣黏素之非人類哺乳動物(例如，大鼠、小鼠，或馬來猴)，P-鈣黏素與P-鈣黏素抗體交叉作用，其係為獸醫目的或作為人類疾病之動物模型。此等動物模型適用於評估本發明之抗體之治療功效。

在另一實施例中，可將P-鈣黏素抗體或其抗體部位投與表現不適當高含量P-鈣黏素之患者。該抗體可投藥一次，但更佳投藥多次。該抗體投藥時自每日三次至每六個月或更長時間一次。該投藥可按照一時程，諸如每日三次、每日兩次、每日一次、每兩日一次、每三日一次、每週一次、每兩週一次、每月一次、每兩個月一次、每三個月一次及每六個月一次。該抗體亦可經由小型泵連續投藥。該抗體可經由黏膜、口腔、鼻內、吸入、靜脈、皮下、肌肉內、非經腸或瘤內途徑投藥。該抗體可投藥一次，至少兩次或至少一段時間直至病症經治療、減輕或治癒。一般只要病症存在即投與該抗體。該抗體投藥時一般作為前述醫藥組合物之部分。抗體劑量範圍一般為0.1至100 mg/kg、更佳0.5至50 mg/kg、更佳1至20 mg/kg，且更佳1至10 mg/kg。該抗體之血清濃度可藉由此項技術中已知之任何

方法量測。

本發明亦係關於一種用於包括人類之治療哺乳動物之細胞生長異常之方法，其包含投與該哺乳動物施治療有效量之本文描述之P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位，其對於治療細胞生長異常係有效的。

在該方法之一實施例中，該細胞生長異常係癌，包括(但不限於)間皮瘤、肝膽癌(肝及膽管)、初級或二級CNS腫瘤、初級或二級腦瘤、肺癌(NSCLC及SCLC)、骨癌、胰腺癌、皮膚癌、頭或頸癌、皮膚或眼內黑素瘤、卵巢癌、結腸癌、直腸癌、肛門區癌、胃癌、胃腸癌(胃、結腸直腸及十二指腸)、乳癌、子宮癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、陰道癌、陰門癌、何傑金氏病(Hodgkin's Disease)、食道癌、小腸癌、內分泌系統癌、甲狀腺癌、副甲狀腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、尿道癌、陰莖癌、前列腺癌、睪丸癌、慢性或急性白血病、慢性骨髓白血病、淋巴瘤(lymphocytic lymphomas)、膀胱癌、腎或輸尿管癌、腎細胞癌、腎盂癌、中樞神經系統(CNS)贅瘤、初級CNS淋巴瘤、非何傑金淋巴瘤(non hodgkins's lymphoma)、脊神經軸腫瘤(spinal axis tumors)、腦幹神經膠質瘤、垂體腺瘤、腎上腺皮質癌、膽囊癌、多發性骨髓瘤、膽管癌、纖維肉瘤、神經母細胞瘤、視網膜胚細胞瘤，或上述癌之一或多種之組合。

在本發明之一較佳實施例中，該癌係選自肺癌(NSCLC及SCLC)、頭或頸癌、卵巢癌、結腸癌、直腸癌、肛門區

癌、胃癌、乳癌、腎或輸尿管癌、腎細胞癌、腎盂癌、中樞神經系統(CNS)贅瘤、初級CNS淋巴瘤、非何傑金淋巴瘤、脊神經軸腫瘤，或上述癌之一或多種之組合。

在本發明之另一較佳實施例中，該癌係選擇肺癌(NSCLC或SCLC)、卵巢癌、結腸癌、直腸癌、肛門區癌，或上述癌之一或多種之組合。

在該方法之另一實施例中，該細胞生長異常係良性增生疾病，其包括(但不限於)牛皮癬、良性前列腺肥大或組織增生。

本發明亦係關於一種用於治療哺乳動物之細胞生長異常之方法，其包含投與該哺乳動物一定量之本文描述之P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位，其對於治療細胞生長異常係有效的，並與一種抗腫瘤劑組合，該抗腫瘤劑選自由有絲分裂抑制劑、烷基化劑、抗代謝物、插入抗生素、生長因子抑制劑、細胞週期抑制劑、酶、拓撲異構酶抑制劑、生物反應改質劑、抗體、細胞毒素、抗激素及抗雄激素組成之群。

本發明亦係關於一種用於包括人類之治療哺乳動物細胞生長異常之醫藥組合物，其包含一定量之本文描述之P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位，其對於治療細胞生長異常係有效的，並與一種醫藥學上可接受之載劑及一種抗腫瘤劑組合，該抗腫瘤劑選自由有絲分裂抑制劑、烷化劑、抗代謝物、插入抗生素、生長因子抑制劑、細胞週期抑制劑、酶、拓撲異構酶抑制劑、生物反應改質劑、抗激素及抗雄

激素組成之群。

本發明亦係關於一種用於治療哺乳動物之高增生病症之方法，其包含投與該哺乳動物治療有效量之本文描述之P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位，並與一種抗腫瘤劑組合，該抗腫瘤劑選自由抗增生劑、激酶抑制劑、血管生成抑制劑、生長因子抑制劑、cox-I抑制劑、cox-II抑制劑、有絲分裂抑制劑、烷基化劑、抗代謝物、插入抗生素、生長因子抑制劑、輻射物、細胞週期抑制劑、酶、拓撲異構酶抑制劑、生物反應改質劑、抗體、細胞毒素、抗激素、抑制素及抗雄激素組成之群。

在本發明之一實施例中，與P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位及本文描述之醫藥組合物結合使用之抗腫瘤劑係抗血管生成劑、激酶抑制劑、泛激酶抑制劑或生長因子抑制劑。較佳泛激酶抑制劑包括SU-11248，其描述於美國專利第6,573,293號(Pfizer, Inc, NY, USA)。

抗血管生成劑包括(但不限於)如下劑：諸如EGF抑制劑、EGFR抑制劑、VEGF抑制劑、VEGFR抑制劑、TIE2抑制劑、IGF1R抑制劑、COX-II(環加氧酶II)抑制劑、MMP-2(基質金屬蛋白酶2)抑制劑，及MMP-9(基質金屬蛋白酶9)抑制劑。較佳VEGF抑制劑包括(例如)癌思停(Avastin)(貝伐單抗(bevacizumab))、Genentech, Inc. of South San Francisco, California之抗VEGF單株抗體。

其他VEGF抑制劑包括CP-547,632(Pfizer Inc., NY, USA)、AG13736(Pfizer Inc.)、ZD-6474(AstraZeneca)、

AEE788(Novartis)、AZD-2171、VEGF Trap(Regeneron/Aventis)、凡塔藍尼(Vatalanib)(亦稱為PTK-787、ZK-222584: Novartis & Schering AG)、哌加他尼鈉(Macugen)(哌加他尼鈉(pegaptanib octasodium)、NX-1838, EYE-001, Pfizer Inc./Gilead/Eyetech)、IM862(Cytran Inc. of Kirkland, Washington, USA); 及血管酶(angiozyme), 來自Ribozyme (Boulder, Colorado)及Chiron(Emeryville, California)之合成核糖核酸酶及其組合。適用於本發明實踐之VEGF抑制劑揭示於美國專利第6,534,524號及第6,235,764號, 其兩者之全文為所有目的併入)。尤其較佳之VEGF抑制劑包括CP-547,632、AG13736、凡塔藍尼、哌加他尼鈉及其組合。

其他VEGF抑制劑揭示於(例如)WO 99/24440(公開於1999年, 5月20日)、PCT國際申請案PCT/IB99/00797(申請於1999年, 5月3日)、WO 95/21613(公開於1995年, 8月17日)、WO 99/61422(公開於1999年, 12月2日)、美國專利6,534,524(揭示AG13736)、美國專利5,834,504 (頒於1998年, 11月10日)、WO 98/50356(公開於1998年, 11月12日)、美國專利5,883,113(頒於1999年, 3月16日)、美國專利5,886,020(頒於1999年, 3月23日)、美國專利5,792,783(頒於1998年, 8月11日)、美國專利第US 6,653,308號(頒於2003年, 11月25日)、WO 99/10349(公開於1999年, 3月4日)、WO 97/32856(公開於1997年, 9月12日)、WO 97/22596(公開於1997年, 6月26日)、WO 98/54093(公開於

1998年，12月3日)、WO 98/02438(公開於1998年，1月22日)、WO 99/16755(公開於1999年，4月8日)，及WO 98/02437(公開於1998年，1月22日)，其所有之全文以引用之方式併入本文中。

其他可與本發明之抗體或其抗原結合部位共同使用之抗增生劑包括法呢基蛋白轉移酶抑制劑及受體酪胺酸激酶PDGFr之抑制劑，包括在如下美國專利申請案中揭示及申請之化合物：09/221946(申請於1998年，12月28日)；09/454058(申請於1999年，12月2日)；09/501163(申請於2000年，2月9日)；09/539930(申請於2000年，3月31日)；09/202796(申請於1997年，5月22日)；09/384339(申請於1999年，8月26日)；及09/383755(申請於1999年，8月26日)；及在如下美國臨時專利申請案中揭示及申請之化合物：60/168207(申請於1999年，11月30日)；60/170119(申請於1999年，12月10日)；60/177718(申請於2000年，1月21日)；60/168217(申請於1999年，11月30日)，及60/200834(申請於2000年，5月1日)。每一上述專利申請案及臨時專利申請案之全文以引用之方式併入本文中。

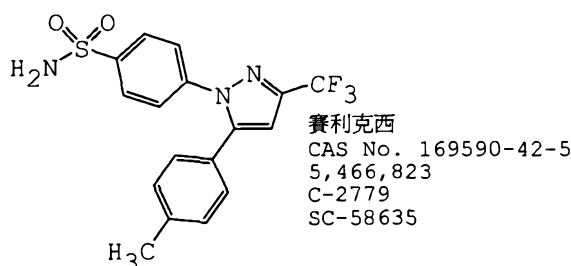
PDGFr抑制劑包括(但不限於)揭示於WO 01/40217，公開於2001年7月7日，及WO 2004/020431，公開於2004年3月11日之抑制劑，其全文內容為所有目的併入。較佳PDGFr抑制劑包括Pfizer's CP-673,451及CP-868,596及其醫藥學上可接受之鹽。

較佳GARF抑制劑包括Pfizer's AG-2037(派利曲克索

(pelitrexol)及其醫藥學上可接受之鹽)。適用於實踐本發明之GARF抑制劑揭示於美國專利第5,608,082號，其全文為所有目的併入。

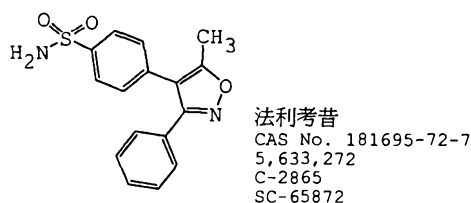
可與本文描述之P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位及本文描述之醫藥組合物結合使用之有用COX-II抑制劑之實例包括 CELEBREXTM(賽利克西(celecoxib))、帕瑞考昔(parecoxib)、迪拉考昔(deracoxib)、ABT-963、MK-663(依託考昔(etoricoxib))、COX-189(盧米羅可(Lumiracoxib))、BMS 347070、RS 57067、NS-398、Bextra(伐地考昔(valdecoxib))、帕瑞考昔(paracoxib)、Vioxx(羅非考昔(rofecoxib))、SD-8381、4-甲基-2-(3,4-二甲基苯基)-1-(4-胺磺基-苯基)-1H-吡咯、2-(4-乙氧基苯基)-4-甲基-1-(4-胺磺基苯基)-1H-吡咯、T-614、JTE-522、S-2474、SVT-2016、CT-3、SC-58125及Arcoxia(依託考昔(etoricoxib))。此外，COX-II抑制劑揭示於美國專利申請案第10/801,446號及第10/801,429號，其全文內容為所有目的併入。

在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係賽利克西，其揭示於美國專利第5,466,823號，其全文內容為所有目的以引用之方式併入。賽利克西之結構展示如下：

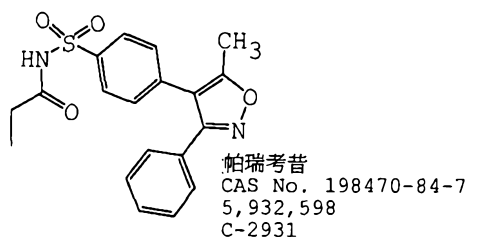


在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係法利考昔，其揭示於

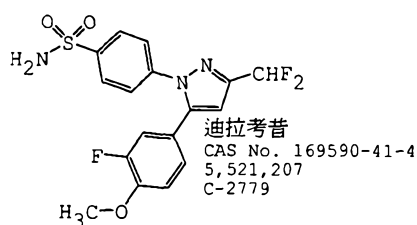
美國專利第5,633,272號，其全文內容為所有目的以引用之方式併入。法利考昔之結構展示如下：



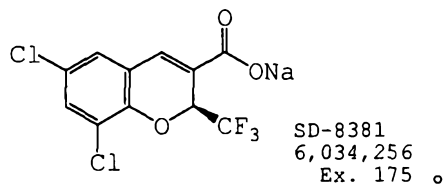
在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係帕瑞考昔，其揭示於美國專利第5,932,598號，其全文內容為所有目的以引用之方式併入。帕瑞考昔之結構展示如下：



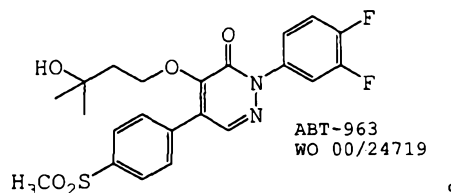
在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係迪拉考昔，其揭示於美國專利第5,521,207號，其全文內容為所有目的以引用之方式併入。迪拉考昔之結構展示如下：



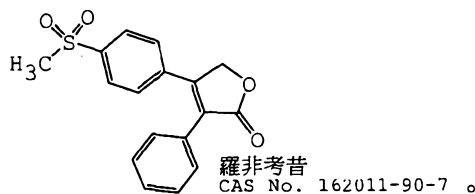
在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係SD-8381，其揭示於美國專利第6,034,256號，其全文內容為所有目的以引用之方式併入。SD-8381之結構展示如下：



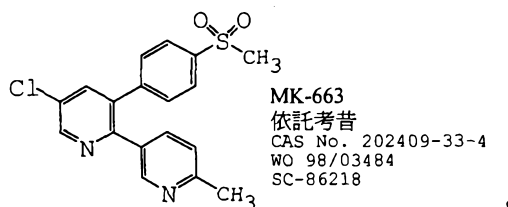
在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係ABT-963，其揭示於國際公開案第WO 2002/24719號，其全文內容為所有目的以引用之方式併入。ABT-963之結構展示如下：



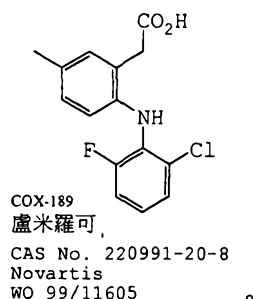
在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係展示如下之羅非考昔：



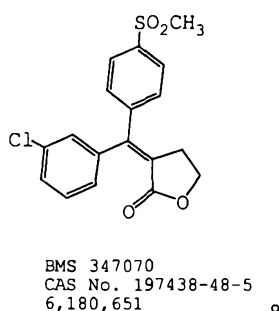
在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係MK-663(依託考昔)，其揭示於國際公開案第WO 1998/03484號，其全文內容為所有目的以引用之方式併入。依託考昔之結構展示如下：



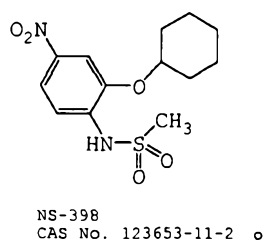
在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係COX-189(盧米羅可)，其揭示於國際公開案第WO 1999/11605號，其全文內容為所有目的以引用之方式併入。盧米羅可之結構展示如下：



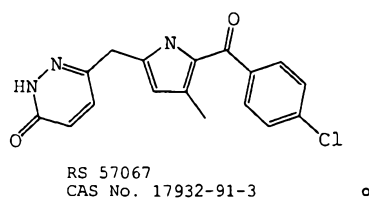
在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係BMS-347070，其揭示於美國專利第6,180,651號，其全文內容為所有目的以引用之方式併入。BMS-347070之結構展示如下：



在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係NS-398(CAS 123653-11-2)。NS-398(CAS 123653-11-2)之結構展示如下：

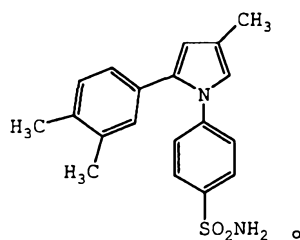


在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係RS 57067(CAS 17932-91-3)。RS-57067(CAS 17932-91-3)之結構展示如下：

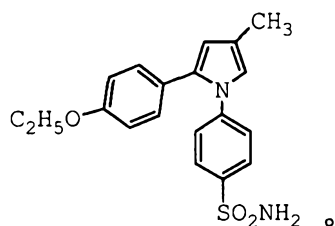


在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係4-甲基-2-(3,4-二甲基

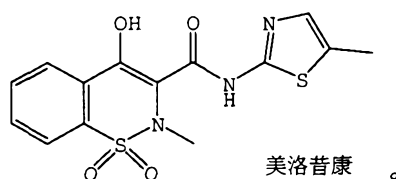
苯基)-1-(4-胺磺醯基-苯基)-1H-吡咯。4-甲基-2-(3,4-二甲
基苯基)-1-(4-胺磺醯基-苯基)-1H-吡咯之結構展示如下：



在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係2-(4-乙氧基苯基)-4-
甲基-1-(4-胺磺醯基苯基)-1H-吡咯。2-(4-乙氧基苯基)-4-
甲基-1-(4-胺磺醯基苯基)-1H-吡咯之結構展示如下：



在一較佳實施例中，該抗腫瘤劑係美洛昔康
(meloxicam)。美洛昔康之結構展示如下：



與本發明之抗體及本文描述之醫藥組合物結合使用之其
他有用的作為抗腫瘤劑之抑制劑包括阿司匹靈(aspirin)及
非類固醇抗發炎藥物(NSAID)，其抑制產生前列腺素之酶
(環加氧酶I及II)，從而導致前列腺素含量低，其包括(但不
限於)如下藥物：雙水楊酸酯(Salsalate、Amigesic)、氟苯
水楊酸(Diflunisal、Dolobid)、布洛芬(Ibuprofen、
Motrin)、酮洛芬(Ketoprofen、Orudis)、萘丁美酮

(Nabumetone、Relafen)、吡羅昔康(Piroxicam、Feldene)、萘普生(Naproxen、Aleve、Naprosyn)、雙氯芬酸(Diclofenac、Voltaren)、吲哚美辛(Indomethacin、Indocin)、舒林酸(Sulindac、Clinoril)、痛滅定(Tolmetin、Tolectin)、依託度酸(Etodolac、Lodine)、酮咯酸(Ketorolac、Toradol)、噁丙嗪(Oxaprozin、Daypro)及其組合。較佳 COX-I 抑制劑包括布洛芬(Motrin)、nuprin(nupri)、萘普生(Aleve)、吲哚美辛(Indocin)、萘丁美酮(Relafen)及其組合。

與本文描述之P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位及本文描述之醫藥組合物結合使用之目標劑包括EGFr抑制劑，諸如易瑞沙(Iressa)(吉非替尼(gefitinib)、阿斯利康(AstraZeneca))、得舒緩(Tarceva)(埃羅替尼(erlotinib)或OSI-774，OSI Pharmaceuticals Inc.)、爾必得舒(Erbitux)(西妥昔單抗(cetuximab)，Imclone Pharmaceuticals, Inc.)、EMD-7200(Merck AG)、ABX-EGF(Amgen Inc.及Abgenix Inc.)、HR3(Cuban Government)、IgA抗體(University of Erlangen-Nuremberg)、TP-38(IVAX)、EGFR融合蛋白質、EGF-疫苗、抗EGFr免疫微脂囊(Hermes Biosciences Inc.)及其組合。

較佳EGFr抑制劑包括易瑞沙、爾必得舒及其組合。

本發明亦係關於抗腫瘤劑，選自pan erb受體抑制劑(pan erb receptor inhibitor)或ErbB2受體抑制劑之抗腫瘤劑，諸如CP-724,714(Pfizer, Inc.)、CI-1033(坎呢替尼

(canertinib), Pfizer, Inc.)、賀癌平(Herceptin)(曲妥珠單抗(trastuzumab), Genentech Inc.)、奧米他(Omitarg)(2C4、派特資脈(pertuzumab), Genentech Inc.)、TAK-165(Takeda)、GW-572016(龍呢法尼(lonafarnib), GlaxoSmithKline)、GW-282974(GlaxoSmithKline)、EKB-569(Wyeth)、PKI-166(Novartis)、dHER2(HER2疫苗, Corixa及GlaxoSmithKline)、APC8024(HER2疫苗, Dendreon)、抗HER2/神經雙特異性抗體(Decof Cancer Center)、B7.her2.IgG3(Agensys)、AS HER2(Research Institute for Rad Biology & Medicine)、三功能雙特異性抗體(University of Munich)及mAB AR-209(Aronex Pharmaceuticals Inc)及mAB 2B-1(Chiron)及其組合。較佳erb選擇性抗腫瘤劑包括賀癌平、TAK-165、CP-724,714、ABX-EGF、HER3及其組合。較佳pan erbb受體抑制劑包括GW572016、CI-1033、EKB-569, 及奧米他及其組合。

其他erbB2抑制劑包括描述於WO 98/02434(公開於1998年1月22日)、WO 99/35146(公開於1999年7月15日)、WO 99/35132(公開於1999年7月15日)、WO 98/02437(公開於1998年1月22日)、WO 97/13760(公開於1997年4月17日)、WO 95/19970(公開於1995年7月27日)、美國專利5,587,458(頒於1996年12月24日), 及美國專利5,877,305(頒於1999年3月2日)之抑制劑, 其每一者之全文以引用之方式併入本文中。適用於本發明之ErbB2受體抑制劑亦描述於美國專利第6,465,449號及第6,284,764號及國際申請案

第 WO 2001/98277 號，其每一者之全文以引用之方式併入本文中。

此外，其他抗腫瘤劑可選自如下藥劑：BAY-43-9006(Onyx Pharmaceuticals Inc.)、根納三思(Genasense)(奧格莫森(augmerosen)，Genta)、盤尼圖姆(Panitumumab)(Abgenix/Amgen)、澤娃靈(Zevalin、Schering)、托西莫(Bexxar)(Corixa/GlaxoSmithKline)、阿巴瑞克(Abarelix)、力比泰(Alimta)、EPO 906(Novartis)、迪斯德莫來(discodermolide)(XAA-296)、ABT-510(Abbott)、癌立消(Neovastat)(Aeterna)、恩澤特林(enzastaurin、Eli Lilly)、風車子阻生素 A4P(Oxigene)、ZD-6126(AstraZeneca)、氟拉皮雷多(flavopiridol、Aventis)、CYC-202(Cyclacel)、AVE-8062(Aventis)、大克塞(DMXAA、Roche/Antisoma)、諾拉曲特(Thymitaq、Eximias)、硝卡芥(Temodar)(替莫唑胺(temozolomide)，Schering Plough)及雷維裏德(Revilimd、Celegene)及其組合。

其他抗腫瘤劑可選自如下藥劑：西皮特(CyPat)(醋酸環丙孕酮)、組胺瑞林(Histerelin、histrelin acetate)、皮雷恩思(Plenaixis、abarelix depot)、阿曲生坦(Atrasentan、ABT-627)、賽特鉑(Satraplatin、JM-216)、沙利度胺(thalomid、Thalidomide)、塞拉特(Theratope)、替米利芬(Temilifene、DPPE)、ABI-007(太平洋紫杉醇)、易維特(Evista)(雷洛昔芬(raloxifene))、阿他美坦(Atamestane)(Biomed-777)、聚穀氨酸紫杉醇(Xyotax、polyglutamate

paclitaxel)、他格停(Targetin、bexarotene)及其組合。

此外，其他抗腫瘤劑可選自如下藥劑：特塞酮(Trizaone)(替拉紫明(tirapazamine))、依昔舒林(Aposyn、exisulind)、奈瓦特(Nevastat)(AE-941)、組胺二鹽酸鹽(Ceplene、histamine dihydrochloride)、盧比替康(Orathecine、rubitecan)、維如利金(Virulizin)、胰腺癌疫苗(Gastrimmune)(G17DT)、DX-8951f(依喜替康甲磺酸鹽(exatecan mesylate))、核糖核酸酶(Onconase)(豹蛙酶(ranpirinase))、BEC2(米圖莫(mitumoab))、莫特沙芬釐(Xcytrin、motexafin gadolinium)及其組合。

其他抗腫瘤劑可選自如下藥劑：昔瓦(CeaVac、CEA)、新特瑞辛(NeuTrexin)(三切葡糖醛酸酯(trimetresate glucuronate))及其組合。其他抗腫瘤劑可選自如下藥劑：奧雷瑞(OvaRex、oregovomab)、奧昔地(Osidem、IDM-1)及其組合。其他抗腫瘤劑可選自如下藥劑：Advexin(ING 201)、替拉紫明(Tirazone、tirapazamine)及其組合。其他抗腫瘤劑可選自如下藥劑：RSR13(乙丙昔羅(efaproxiral))、克他拉(Cotara、¹³¹I chTNT 1/b)、NBI-3001(IL-4)及其組合。其他抗腫瘤劑可選自如下藥劑：癌症疫苗(Canvaxin)、GMK疫苗、PEG病毒抑制因子A(PEG Interon A)、泰克派新(Taxoprexin)(DHA/派昔泰克(paciltaxel))及其組合。其他較佳抗腫瘤劑包括Pfizer's之MEK1/2抑制劑PD325901、Array Biopharm's MEK抑制劑ARRY-142886、Bristol Myers' CDK2抑制劑BMS-

387,032、Pfizer's CDK抑制劑PD0332991及AstraZeneca's AXD-5438及其組合。此外，亦可使用mTOR抑制劑，諸如CCI-779(Wyeth)及雷帕黴素衍生物RAD001(Novartis)及AP-23573(Ariad)、HDAC抑制劑SAHA(Merck Inc./Aton Pharmaceuticals)及其組合。其他抗腫瘤劑包括aurora 2抑制劑VX-680(Vertex)、Chk1/2抑制劑XL844(Exilixis)。

如下細胞毒性劑，例如選自由表柔比星(epirubicin、Ellence)、多烯紫杉醇(docetaxel、Taxotere)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、右雷佐生(Zinecard、dexrazoxane)、美羅華(rituximab、Rituxan)、甲磺酸伊馬替尼(imatinib mesylate、Gleevec)及其組合組成之群之一或多者可與本文描述之P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位及其本文描述之醫藥組合物結合使用。

本發明亦涵蓋本發明之抗體及其抗原結合部位與激素治療之結合使用，其包括(但不限於)依西美坦(exemestane、Aromasin, Pfizer Inc.)、亮丙瑞林(leuprorelin、Lupron或Leuplin, TAP/Abbott/Takeda)、安美達錠(anastrozole、Arimidex、Astrazeneca)、戈舍瑞林(gosrelin、Zoladex, AstraZeneca)、多克卡思羅(doxercalciferol)、法屈唑(fadrozole)、福美司坦(formestane)、枸橼酸他莫昔芬(tamoxifen citrate)(他莫昔芬(tamoxifen)、諾瓦得士(Nolvadex), AstraZeneca)、康士得(Casodex)(AstraZeneca)、阿巴瑞克(Abarelix、Praecis)、普托雷林(Trelstar)，及其組合。

本發明亦係關於激素治療劑，諸如抗雌激素，其包括(但不限於)氟維司群(fulvestrant)、托瑞米芬(toremifene)、雷諾昔酚(raloxifene)、拉索昔芬(lasofloxifene)、來曲唑(letrozole、Femara，Novartis)，抗雄性激素，諸如比卡魯胺(bicalutamide)、氟他胺(flutamide)、美服培酮(mifepristone)、尼魯米特(nilutamide)、Casodex®(4'-氟基-3-(4-氟苯基磺醯基)-2-羥基-2-甲基-3'-(三氟甲基)丙醯胺苯、比卡魯胺(bicalutamide)及其組合。

此外，本發明提供單獨本發明之抗體或與一或多種支持性護理產物，例如一種選自由沙格莫丁(Filgrastim、Neupogen)、昂丹司瓊(ondansetron、Zofran)、法瑪西亞(Fragmin)、促紅細胞生長素(Procrit)、阿樂喜(Aloxi)、止敏吐(Emend)，或其組合組成之群之產物組合的本發明之抗體。

尤其較佳之細胞毒性劑包括伊立替康(Camptosar)、爾必得舒、易瑞沙、格列衛、泰素帝及其組合。

可利用如下拓撲異構酶I抑制劑作為抗腫瘤劑：喜樹鹼(camptothecin)、鹽酸伊立替康(irinotecan HCl) (伊立替康(Camptosar))、艾替卡辛(edotecarin)、盧比替康(orathecin、Supergen)、依喜替康(exatecan、Daiichi)、BN-80915(Roche)及其組合。尤其較佳之拓撲異構酶II抑制劑包括表柔比星(Ellence)。

本發明之抗體可與抗腫瘤劑、烷基化劑、抗代謝物、抗生素、植物源抗腫瘤劑、喜樹鹼衍生物、酪胺酸激酶抑制

劑、其他抗體、干擾素，及/或生物反應改質劑一同使用。

烷基化劑包括(但不限於)氮芥N氧化物、環磷醯胺、異環磷醯胺、美法侖、白消安(busulfan)、二溴甘露醇、卡波醌、塞替派、雷莫司汀(ranimustine)、尼莫司汀(nimustine)、替莫唑胺(temozolomide)、AMD-473、六甲蜜胺(altretamine)、AP-5280、阿帕茲酮(apaziquone)、布羅他辛(brostallicin)、苯達莫司汀(bendamustine)、卡莫司汀(carmustine)、癌腺治(estrामustine)、福莫司汀(fotemustine)、格魯氟醯胺(glufosfamide)、異環磷醯胺、KW-2170、馬磷醯胺(mafosfamide)，及二溴衛矛醇(mitolactol)；鉑配位烷基化化合物，包括(但不限於)順鉑(cisplatin)、必治妥(Paraplatin)(卡鉑(carboplatin))、依鉑(eptaplatin)、絡鉑(lobaplatin)、奈達鉑(nedaplatin)、奧沙利鉑(Eloxatin、oxaliplatin，Sanofi)或塞特鉑(satrplatin)及其組合。尤其較佳之烷基化劑包括奧沙利鉑(oxaliplatin)。

抗代謝物包括(但不限於)單獨之甲胺喋呤、6-硫醇喋呤核糖、硫醇喋呤、5-氟尿嘧啶(5-FU)或與甲醯四氫葉酸組合、喃氟啶、UFT、氟鐵龍(doxifluridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、阿糖胞苷(ocfosfate)、依諾他濱(enocitabine)、S-1、力比泰(Alimta、premetrexed disodium，LY231514，MTA)、健擇(Gemzar)(吉西他汀(gemcitabine)，Eli Lilly)、氟達拉濱(fludarabin)、5-阿紫胞苷(5-azacitidine)、卡西他賓

(capecitabine)、克拉屈濱 (cladribine)、氯法拉濱 (clofarabine)、地西他濱 (decitabine)、依氟鳥胺酸 (eflornithine)、乙炔基胞核 (ethynylcytidine)、阿糖胞苷 (cytosine arabinoside)、羥基尿素 (hydroxyurea)、TS-1、美法倫 (melphalan)、奈拉濱 (nelarabine)、諾拉曲特 (nolatrexed)、奧佛思特 (ocfosfate)、力比泰 (disodium premetrexed)、噴司他丁 (pentostatin)、派利特克 (pelitrexol)、雷替曲塞 (raltitrexed)、特阿平 (triapine)、三甲曲沙 (trimetrexate)、阿糖腺苷 (vidarabine)、長春新鹼 (vincristine)、長春瑞賓 (vinorelbine)；或例如，揭示於歐洲專利申請案第 239362 號之較佳抗代謝物之一，諸如 N-(5-[N-(3,4-二氫-2-甲基-4-氧喹啉-6-基甲基)-N-甲基胺基]-2-噻吩甲鹽基)-L-麩胺酸及其組合。

抗生素包括插入抗生素，但不限於：阿克拉黴素 (aclarubicin)、放線菌素 D、胺柔比星 (amrubicin)、脂質體蒽環黴素 (annamycin)、阿德力黴素 (adriamycin)、博萊黴素 (bleomycin)、道諾黴素 (daunorubicin)、羥道諾紅黴素 (doxorubicin)、依沙蘆星 (elsamitrucin)、表柔比星、格拉柔比星 (galarubicin)、黃膽素 (idarubicin)、絲裂黴素 C、奈莫柔比星 (nemorubicin)、新制黴菌素 (neocarzinostatin)、匹萊黴素 (peplomycin)、吡柔比星 (pirarubicin)、蝴蝶黴素 (rebeccamycin)、司丁拉米 (stimalamer)、鏈脲佐菌素 (streptozocin)、瓦柔比星 (valrubicin)、淨司他丁 (zinostatin) 及其組合。

植物源抗腫瘤物質包括(例如)選自有絲分裂抑制劑，例如長春鹼、多烯紫杉醇(泰素帝)、太平洋紫杉醇及其組合之抗腫瘤物質。

細胞毒素拓撲異構酶抑制劑包括一或多種選自由阿拉柔比星(aclarubicin)、胺萘非特(amonafide)、白龍替康(belotecan)、喜樹鹼(camptothecin)、10-羥基喜樹鹼、9-胺基喜樹鹼、達佛莫替康(diflomotecan)、鹽酸伊立替康(irinotecan HCl、Camptosar)、艾替卡辛、表柔比星、依託泊苷(etoposide)、依喜替康、基脈替康(gimatecan)、勒托替康(lurtotecan)、米托蒽醌(mitoxantrone)、吡柔比星、皮可特酮(pixantrone)、魯比特康(rubitecan)、索布佐生(sobuzoxane)、SN-38、泰魯潑昔(tafluposide)、拓撲替康(topotecan)，及其組合組成之群之藥劑。

較佳細胞毒素拓撲異構酶抑制劑包括一或多種選自由喜樹鹼、10-羥基喜樹鹼、9-胺基喜樹鹼、鹽酸伊立替康、艾替卡辛、表柔比星、依託泊苷、SN-38、拓撲替康，及其組合組成之群之藥劑。

免疫劑包括干擾素及多種其他免疫增強劑。干擾素包括干擾素 α 、干擾素 α -2a、干擾素 α -2b、干擾素 β 、干擾素 γ -1a、干擾素 γ -1b(Actimmune)，或干擾素 γ -n1及其組合。其他藥劑包括非格司亭(filgrastim)、香菇多糖(lentinan)、西佐喃(sizofilan)、塞拉司(TheraCys)、烏苯美司(ubenimex)、WF-10、阿地白介素(aldesleukin)、阿倫單抗(alemtuzumab)、BAM-002、達卡巴仁(dacarbazine)、賽尼哌(daclizumab)、

地尼白介素 (denileukin)、吉妥單抗 (gemtuzumab ozogamicin)、替伊莫單抗 (ibritumomab)、咪喹莫特 (imiquimod)、來格司亭 (lenograstim)、香菇多糖、黑素瘤疫苗 (Corixa)、莫拉司亭 (molgramostim)、OncoVAX-CL、沙格司亭 (sargramostim)、泰松諾米 (tasonermin)、泰克白介素 (tecleukin)、司脈拉辛 (thymalasin)、托西莫單抗 (tositumomab)、維如利金、Z-100、抗 CD22 單抗 (epratuzumab)、米妥莫單抗 (mitumomab)、奧雷瑞 (oregovomab)、派圖莫 (pemtumomab)(Y-muHMFG1)、普拉維格 (Provenge、Dendreon) 及其組合。

生物反應改質劑係更改活有機體或生物反應，諸如生存、生長，或組織細胞分化之防衛機制以使其具有抗腫瘤活性之藥劑。此等藥劑包括雲芝多糖 (krestin)、香菇多糖、西佐糖 (sizofiran)、溶鏈菌製劑 (picibanil)、烏苯美司 (ubenimex) 及其組合。

其他抗癌劑包括亞利崔托寧 (alitretinoin)、阿普林津 (ampligen)、阿曲生坦 (atrasentan)、蓓薩羅丁 (bexarotene)、硼替佐米 (bortezomib)、伯森坦 (Bosentan)、骨化三醇 (calcitriol)、依昔舒林 (exisulind)、非那甯胺 (finasteride)、福莫司汀 (fotemustine)、伊班麟酸 (ibandronic acid)、米替福新 (miltefosine)、米托蒽醌、左旋門冬醯胺酶 (l-asparaginase)、丙卡巴肼 (procarbazine)、氮烯唑胺、羥基脲 (hydroxycarbamide)、培門冬酶 (pegaspargase)、噴司他丁、泰紫羅尼 (tazarotne)、泰司特

(Telcyta、TLK-286, Telik Inc.)、萬珂(Velcade、bortezomib、Millenium)、維甲酸(tretinoin), 及其組合。

其他抗血管生成化合物包括阿曲汀(acitretin)、芬維A胺(fenretinide)、沙立度胺(thalidomide)、唑來膦酸(zoledronic acid)、血管生長抑素、脫氫膜海鞘素B(aplidine)、昔冷特地(cilengitide)、風車子抑鹼A-4(combretastatin A-4)、內皮生長抑素、鹵夫酮(halofuginone)、雷必瑪特(rebimastat)、雷莫氟(removab)、來那度胺(Revlimid)、角鯊胺(squalamine)、烏克蘭(ukrain)、單抗LM609(Vitaxin)及其組合。

鉑配位化合物包括(但不限於)順鉑、卡鉑、奈達鉑、奧沙利鉑, 及其組合。

喜樹鹼衍生物包括(但不限於)喜樹鹼、10-羥基喜樹鹼、9-胺基喜樹鹼、伊立替康、SN-38、艾替卡辛、拓撲替康及其組合。

其他抗腫瘤劑包括米托蒽醌、左旋門冬醯胺酶、丙卡巴肼、達卡巴仁、羥基脲、噴司他丁、維甲酸及其組合。

可利用可增強抗腫瘤免疫反應之抗腫瘤劑, 諸如CTLA4(細胞毒素淋巴細胞抗原4)抗體, 及其他可阻斷CTLA4之藥劑, 諸如揭示於美國專利第6,682,736號之MDX-010(Medarex)及CTLA4化合物; 以及抗增生劑, 諸如其他法呢基蛋白轉移酶抑制劑, 例如法呢基蛋白轉移酶抑制劑。此外, 可用於本發明之特異性CTLA4抗體包括描述於美國臨時申請案60/113,647(申請於1998年12月23

日)、美國專利第6,682,736號之抗體，其兩者之全文以引用之方式併入本文中。

可用於本發明之特異性IGF1R抗體包括描述於國際專利申請案第WO 2002/053596號之抗體，其全文以引用之方式併入本文中。

可用於本發明之特異性CD40抗體包括描述於國際專利申請案第WO 2003/040170號之抗體，其全文以引用之方式併入本文中。

基因治療劑亦可用作抗腫瘤劑，諸如 TNFerade (GeneVec)，其在對放射療法作出反應時表現腫瘤壞死因子(TNFalpha)。

在本發明之一實施例中，士他汀(statin)可與本文描述之P-鈣黏素抗體或其抗原結合部位及其醫藥組合物結合使用。士他汀(HMG-CoA還原酶抑制劑)可選自由阿托伐他汀(Atorvastatin、Lipitor, Pfizer Inc.)、普伐他汀(Provastatin、Pravachol, Bristol-Myers Squibb)、洛伐他汀(Lovastatin、Mevacor, Merck Inc.)、辛伐他汀(Simvastatin、Zocor, Merck Inc.)、氟伐他汀(Fluvastatin、Lescol, Novartis)、薛利伐史達丁(Cerivastatin、Baycol, Bayer)、瑞舒伐他汀(Rosuvastatin、Crestor, AstraZeneca)、洛伐他汀(Lovostatin)及煙鹼酸(Niacin、Advicor, Kos Pharmaceuticals)、衍生物及其組合組成之群。

在一較佳實施例中，抑制素選自由阿托伐他汀(Atovorstatin)及洛伐他汀、衍生物及其組合組成之群。

其他適用作抗腫瘤劑之藥劑包括Caduet。

對於任何使用P-鈣黏素抗體或抗原結合部位與至少一種其他治療劑組合以治療本文描述之高增生病症或細胞生長異常之方法，P-鈣黏素抗體可與其他治療劑共軛或衍生化。該至少一種其他治療劑亦可分別投藥或以非衍生或非共軛方式投藥。當該至少一種其他治療劑不衍生或共軛於抗體時，其可在與該抗體相同之醫藥調配物內投藥，或者其可在單獨調配物中投藥。

基因療法

編碼本發明之抗體或抗體部位之核酸分子可藉由基因療法投與有需要之患者。該療法可在活體內或活體外。在一較佳實施例中，將編碼重鏈及輕鏈之核酸分子投與患者。在一更佳之實施例中，投與核酸分子以使其穩定地整合入B細胞之染色體，因為該等細胞可特異性產生抗體。在一較佳實施例中，前驅B細胞在活體外經轉染或感染並重新轉殖於有需要之患者。在另一實施例中，前驅B細胞或其他細胞使用已知可感染所關注細胞類型之病毒進行活體內感染。用於基因療法之典型載體包括脂質體、質體，及病毒載體。例示性病毒載體係逆轉錄病毒、腺病毒及腺相關病毒。在活體內或活體外感染後，抗體表現水平可藉由自經治療患者取樣並使用此項技術中已知或本文論述之任何免疫檢定監控。

在一較佳實施例中，基因療法包括如下步驟：投與編碼P-鈣黏素抗體之重鏈或其抗原結合部位之經分離核酸分子

且表現該核酸分子。在另一較佳實施例中，基因療法包括如下步驟：投與編碼P-鈣黏素抗體之輕鏈或其抗原結合部位之經分離核酸分子且表現該核酸分子。在一更佳方法中，基因療法包括如下步驟：投與編碼本發明之P-鈣黏素抗體之重鏈或其抗原結合部位之經分離核酸分子及編碼本發明之P-鈣黏素抗體之輕鏈或其抗原結合部位之經分離核酸分子且表現該等核酸分子。該基因療法亦可包含投與另一種治療劑之步驟，諸如先前相對於組合療法論述之任何藥劑。

為更好地理解本發明，陳述如下實例。該等實例僅為說明之目的且不應解釋為以任何方式限制本發明之範疇。

實例

在如下實例及製備中，"BSA"意謂牛血清白蛋白；"EDTA"意謂乙二胺四乙酸；"DMSO"意謂二甲亞砜；"MOPS"意謂3-(N-嗎啉基)丙磺酸；"MES"意謂2-(N-嗎啉基)乙磺酸；"PBS"意謂磷酸鹽緩衝生理食鹽水；"dPBS"意謂Dulbecco's磷酸鹽緩衝生理食鹽水；"HEMA"意謂2-羥基-乙基甲基丙烯酸酯；"DMEM"意謂經Dulbecco改質之eagle培養基(Dulbecco's modified eagle's medium)；"FBS"意謂胎牛血清；"NEAA"意謂非必需胺基酸；"HEPES"意謂N-2-羥乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸；且"DMF"意謂二甲基甲醯胺。

實例1：篩檢一scFv噬菌體呈現庫

使用重組人類P-鈣黏素(R&D Systems 861-PC-100)作為

抗原來篩檢 scFv 噬菌體呈現庫。選殖入噬粒載體之大 scFv 人類抗體庫可用於選擇 (Vaughan, T.J. 等人, *Nat. Biotech.* 14:309-314 (1996))。將確認 P-鈣黏素之 ScFv 在一系列重複選擇週期中在重組人類 P-鈣黏素及表現 P-鈣黏素之匯合成片的單層 HCT116 細胞上自噬菌體呈現庫分離。簡言之，在以該庫培養後，自 P-鈣黏素回收結合噬菌體，洗去未結合噬菌體。隨後將結合噬菌體如 Vaughan, T.J. 等人, *Nat. Biotech.* 14:309-314 (1996) 之描述救護並重複該選擇過程。使來自選擇循環之輸出之代表比例的純系經受噬菌體酶聯結免疫吸附劑檢定 (ELISA) 以測試與 P-鈣黏素之結合，大體如 Vaughan, T.J. 等人, *Nat. Biotech.* 14:309-314 (1996) 中之描述。在該 ELISA 中使用兩種不同抗原：重組人類 P-鈣黏素 (R&D Systems) 及表現 P-鈣黏素之匯合成片的單層 A431 細胞。使 ELISA 陽性純系按照 Vaughan, T.J. 等人, *Nat. Biotech.* 14:309-314 (1996) 及 Osbourn, J.K. 等人, *Immunotechnology* 3:293-302 (1998) 中之描述經受 DNA 定序。將獨特 ELISA 陽性純系轉化為全長 IgG 分子並在實例 4 描述之 P-鈣黏素依賴黏著檢定中測試其中和 P-鈣黏素之能力。基於該篩檢的結果，選擇抗體 129-1c4 (在 A431 黏著檢定中之 IC₅₀ 為 1-3 μ M) 作為主導母系用於進一步最優化。

實例 2：主導最優化

藉由抗體重鏈可變區 (V_H) 及可變輕鏈 (V_L) CDR3 區之寡核苷酸定向之突變建立衍生自 129-1c4 之噬菌體呈現庫。使

用描述於 Clackson 及 Lowman, **Phage Display-A Practical Approach**(Oxford University Press 2004)中之標準分子生物技術對該等庫進行建構。藉此執行基於親和力之選擇；在以該庫培養後，將重組人類 P-鈣黏素(R&D Systems)經由蛋白 G 塗層順磁珠(Dynal 100.03)進行捕捉並將結合噬菌體藉由磁性分離回收而將未結合複合物洗去。以選擇過程中存在之濃度逐漸減小的重組人類 P-鈣黏素(經過4輪自 25 nM 至 10 pM)重複該選擇過程。此外，將自 V_H CDR3 及 V_L CDR3 庫之選擇輸出再組合於其他噬菌體呈現庫並再經兩輪基於親和力之選擇而選擇。使來自選擇循環之輸出之代表比例的純系經受篩檢以作為 129-1c4 抗原決定基競爭檢定中之 scFv，如實例 8 中之描述。

實例 3：P-鈣黏素依賴黏著檢定

使用上文實例 2 中描述之抗體最優相之回收期間轉化為 IgG 之若干最優 scFv，使用如下規程在 P-鈣黏素依賴黏著檢定中對 IC₅₀ 值進行測定。該等抗體之平均量測 IC₅₀ 值展示於下表 4。

將重組人類 P-鈣黏素 Fc(R&D Cat. 861-PC)在使用前 24 小時以溶於超純水(MilliQ water)之 2 mM CaCl₂ 重新建構為濃度 1 mg/mL 並儲存於 4℃。將 A431 細胞如下培養並製備。通常將 A431 細胞 (ECACC No. 85090402) 培養於 Nunc 三倍燒瓶(Nunc triple flask)(面積 3×175 cm²)中在最低基本培養基(MEM)(Invitrogen Cat 31095)中培養，其中含有 10% 胎牛血清 (Invitrogen Cat. 10100-147) 及 1% 非必需胺基酸

(Invitrogen Cat. 11140-035)。經培養細胞在收集以用於檢
定時約80%匯合。為避免可能之通路相關效應，通常將細
胞在通路4與8間使用且在培養48或72小時後收集。將A431
細胞以0.25%胰島素/1 mM EDTA(Gibco Cat 25200-056)收
集足夠長時間以使得細胞離散(7-10 min)，且隨後立即在
組織培養基中稀釋為濃度每毫升約 2×10^6 個細胞。隨後將
A431細胞離心(1200 rpm)、再懸浮於檢定緩衝液(補充為最
終 CaCl_2 最終濃度1 mM之Hanks平衡鹽溶液(無 Mg^{2+} 及
 Ca^{2+} ，無酚紅)(Invitrogen Cat. 14175-053))、再離心並以
最終濃度每毫升 2×10^6 個細胞再次再懸浮於檢定緩衝液
中。

如下執行IgG系列稀釋劑之製備及以A431細胞之預培
養。將180 μL 每一測試IgG或其部分以20 μL 含有10%
BSA(Sigma Cat. A-9576)之檢定緩衝液補充以將BSA濃度
標準化為1%。首先將抗鼠/人類P-鈣黏素參考多株抗體
(R&D Cat. AF-761)再懸浮於超純水中以產生1 mg/mL的原
料。隨後將40 μL 該儲備溶液進一步稀釋為140 μL 之檢定
緩衝液。隨後加入20 μL 含有10% BSA之檢定緩衝液以產
生200 μL 0.2 mg/mL的抗體及0.1% BSA。雙重複系列稀釋
劑可藉由首先在Greiner 96孔聚丙烯稀釋板(Greiner Cat.
780271)之管柱1中加入 2×90 μL 的AF-761多株抗體或測試
IgG而製備。隨後在管柱2-11中加入60 μL 檢定緩衝液。隨
後跨越該板自左至右，自管柱1-11製備30 μL 至60 μL (1:3)
之稀釋劑。隨後將60 μL 檢定緩衝液單獨加入孔12 A-D以

界定最大黏著。最小黏著藉由將60 μL 25 mM EDTA(檢定緩衝液中)加入孔12 E-H界定。隨後將60 μL A431細胞懸浮液(檢定緩衝液中為每毫升 2×10^6 個細胞-如上所述製備)加入所有孔中，攪動後，將該等板在37°C下預培養1小時。

在製備測試IgG系列稀釋劑及以A431細胞預培養同時，如下製備P-鈣黏素塗佈檢定板。將重組人類P-鈣黏素Fc在塗佈緩衝液(PBS，無 Mg^{2+} 及 Ca^{2+} -Invitrogen Cat. 14190-094)中稀釋為濃度10 $\mu\text{g/mL}$ 並分配於Fluoronunc 96(Nunc Cat. 437958)孔檢定板(每孔100 μL)。接著在室溫下將板培養1小時30分鐘。隨後使用Tecan 96板清洗機以PBS將該等板洗滌三次。隨後加入每孔200 μL 檢定緩衝液以用於阻斷並將該等板在室溫下再培養1小時。隨後如前文所述以PBS將該等板洗滌3次。

隨後將每孔100 μL 經預培養之IgG/A431物質自Greiner 96孔稀釋板轉移至P-鈣黏素塗佈檢定板。轉移時，將該IgG/A431物質藉由移液混合以確保細胞係均勻的。隨後藉由在37°C下培養該等檢定板30-45分鐘而允許發生黏著過程。在培養結束時，藉由自該等板輕輕抽取培養基而移除未黏著細胞並以細胞洗滌緩衝液(補充為1 mM CaCl_2 最終濃度之Hanks平衡鹽溶液(無 Mg^{2+} 及 Ca^{2+} ，且無酚紅-Invitrogen Cat. 14175-053))重新填充該等孔。隨後將該等板在細胞洗滌緩衝液浴中顛倒15分鐘以移除殘餘未黏著細胞。在該培養結束時，輕輕抽取該等孔之內容物。

黏著細胞之定量執行如下。藉由加入每孔100 μL 經組合

溶解/鹼性磷酸酶偵測試劑(二乙醇胺基質緩衝液5X濃縮物(Pierce Cat. 34064)以水稀釋為1:5，此後每25 mL 1X溶液溶解15 mg PNPP錠劑(Sigma Cat. N-2640))隨後在37℃下培養30-60分鐘而對黏著細胞進行偵測。隨後藉由加入1 M NaOH(每孔50 μ L)使反應停止以在不存在抑制下產生約為0.8之最大OD。接著使用標準板讀取器對405 nm之吸光度進行量測。

隨後對結果進行如下分析。取管柱12，孔A-D作為100%黏著且管柱12，孔E-H作為0%黏著，首先將原始資料如下轉化為黏著值%：

$$\text{黏著}\% = \{(\text{值} - \text{最小黏著}) / (\text{最大} - \text{最小黏著})\} * 100$$

隨後將黏著百分比與IgG抑制劑濃度繪成圖並使用Prism軟體確定IC₅₀值。當觀察到部分抑制時，IC₅₀引用為與曲線中點相比產生真實50%抑制之IgG濃度。IC₅₀值報導於表4。

表 4

IgG	A431黏著檢定平均數IC ₅₀ (nM)(n=3)
194-e06	0.162
194-a02	0.217
194-b09	0.229
195-e11	0.114
194-g09	0.158
196-h02	0.148
194-e01	0.147
196-d10	0.080
196-g03	0.149
196-e06	0.117
195-a09	0.114
198-a09	0.097
200-h06	0.168

執行兩個單獨A431黏著檢定以研究若干來自129-1c4系之生殖系最優IgG並與其未生殖系化等效物進行比較。對於該等實驗，有必要換成一批新P-鈣黏素(CFR-134041)，其似乎與相較於其他資料略微增加之 IC_{50} 值有關。來自該等兩個實驗之若干生殖系化IgG之平均資料展示於表5。如先前指出，g-194-b09係指194-b09之生殖系版本，等。

表 5

IgG	A431黏著檢定平均數 IC_{50} (nM)(n=2)
g-194-b09	0.77
194-b09	2.10
g-194-g09	1.00
194-g09	0.73
g-196-g03	1.05
196-g03	0.39
g-194-e06	0.77
194-e06	0.46
g-195-e11	0.87
195-e11	0.97
g-200-h06	1.31
200-h06	0.63

實例 4：P-鈣黏素依賴細胞凝集檢定

使用上文實例2所述在抗體回收最優相期間轉化為IgG之若干最優scFv，使用如下規程在P-鈣黏素依賴凝集檢定中測定 IC_{50} 值。由於當置於懸浮液中生長時，P-鈣黏素過表現細胞株形成緊密之多細胞凝集，因此細胞凝集可在干擾細胞凝集之P-鈣黏素抗體存在下量測。若干抗體之平均量測 IC_{50} 值展示於下表6。

板之製備如下執行。將每一96孔檢定板塗佈50 μ L聚HEMA(12 mg/mL，溶於90%乙醇，10%甲醇)，接著蒸發6

小時隔夜，隨後在使用前以 $3 \times 100 \mu\text{L}$ 無菌 H_2O 洗滌。接著如下培養細胞。使來自人類細胞株SW480(穩定表現P-鈣黏素G418 γ)之細胞在全生長培養基(qs DMEM(InVitrogen 11995-065)、10% FBS(Omega Scientific FB-02)、1:100 NEAA(InVitrogen 11140-050)、1:100丙酮酸鈉(InVitrogen 11360-070)、1:100麩醯胺酸(InVitrogen 25030-051)、1:100盤尼西林/鏈球菌溶血素(InVitrogen 15070-063)、1:100遺傳黴素50 mg/mL(Invitrogen 10131-035))+G418(500 $\mu\text{g/mL}$)中傳代，接著分裂為1:3-4，每週兩次。隨後將培養基在生長培養基+10% DMSO中冷凍。

在第一天時，將SW480:pCAD細胞及對照SW480:pCLNX(對照穩定載體)在 5×10^6 細胞/100 mm盤中接種，不大於1:3稀釋。接著使細胞在培養基中生長48小時。每一100 mm盤提供約 10×10^6 細胞，或足夠用於 2×96 孔板。

在第3天時，移除培養基，隨後以dPBS(Dulbecco's PBS(InVitrogen 14040-133))洗滌，此後在3 mL/100 mm盤中將該等細胞進行胰蛋白酶化。接著在以兩體積(6 mL)之全生長培養基釋放後進行中和。隨後將該板使用10 mL吸管洗滌三次以使團塊分裂。隨後計數細胞並使用Beckman離心機在1000 rpm下離心5分鐘獲得離心塊。接著抽取培養基，將離心塊首先藉由指旋(finger vortex)，隨後經p1000吸管再懸浮於<1 mL之全生長培養基中，接著將細胞濃度標準化為1.3 M/mL。單個細胞分散液使用顯微法確定。

隨後藉由以dPBS及5% FBS阻斷96孔板30分鐘來製備試

劑板。接著使用 $1 \times 100 \mu\text{L}$ dPBS 洗滌該板，隨後抽取並輕拂至乾。以 dPBS，使用 $4 \times [\text{IgG}]$ 濃度製備測試 IgG 之稀釋系列，其足夠用於 96 孔之一孔內之處理板之 3 孔。將每孔 $30 \mu\text{L}$ 之 40000 個細胞等分於 96 孔、經洗滌、聚-HEMA 塗佈之 Costar3590 非組織培養板 (Corning 3590)。接著將 $10 \mu\text{L}$ 試劑轉移至該 96 孔板之每一孔。使用 8 通道吸管執行每個處理中三分之一樣本。接著在 250 rpm 培養，在 37°C 下、5% CO_2 潮濕恆溫箱中搖動隔夜 (16-18 小時)。

在第 4 天，將 $40 \mu\text{L}$ 經搖動細胞轉移至經聚離胺酸塗佈之 96 孔板 (BioCoat 聚離胺酸塗佈之 96 孔板：BD 356516)。接著將該等細胞以 $60 \mu\text{L}$ 之全生長培養基沖洗，藉由抽頭搖動該板，並轉移至該經聚離胺酸塗佈之板。若必要，則執行額外之 $50 \mu\text{L}$ 洗滌。隨後在 37°C 下，5% CO_2 潮濕恆溫箱中培養 60 分鐘。在該步驟中小心地定量轉移所有細胞，盡可能緩和且不過量移液。接著藉由加入 $100 \mu\text{L}$ 固定液 (7.4% 甲醛 (37% wt/vol.-Sigma F15587)) 在通風櫥中對細胞進行固定，隨後在室溫下培養 > 30 分鐘。

為洗滌該等細胞，則將液體傾析入收集燒杯或盤中，並輕拂以移除剩餘液體，並在紙巾上輕叩。隨後將 $100 \mu\text{L}$ 每孔之 dPBS 用於洗滌，隨後培養 15 分鐘。接著將該等細胞如上藉由傾析進行染色並塗覆 $100 \mu\text{L}$ 霍斯特 (Hoescht) ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$ Hoescht 溶於 dPBS-Hoescht $10 \text{ mg}/\text{mL}$ Molecular Probes 33342)，隨後培養 30 分鐘。然後將該等細胞洗滌兩次，在孔中留下剩餘 $100 \mu\text{L}$ dPBS 用於顯微法。

隨後對每孔已凝集對象之數目進行計數(Cellomics)並將平均對象計數(使用測試IgG)與IgG(例如，Gt-抗P-鈣黏素 R&D Systems AF761)或單獨之對照培養基的技術進行比較。隨後將對象計數與IgG抑制劑濃度繪成圖並確定IC₅₀值。本發明若干抗體之IC₅₀值報導於表6。

表 6

IgG	SW480凝集檢定平均數IC ₅₀ (nM)
194-e06	0.7
194-a02	1.1
g-194-b09	0.9
g-195-e11	2.2
g-194-g09	2.6
196-h02	3.2
194-e01	1.3
196-d10	1.5
g-196-g03	0.9
196-e06	1.9
195-a09	1.7
198-a09	2.9
g-200-h06	4.7
129-1c4	35

實例5：P-鈣黏素依賴球狀體分裂檢定

如下球狀體分裂檢定係凝集檢定(描述於實例4)之更改，其中細胞凝集係在加入P-鈣黏素及對照抗體前隔夜形成。隨後在分析前再加入測試劑24小時。

板之製備以如下方式進行。將每一96孔檢定板塗以50 μ L聚HEMA(12 mg/mL，溶於90%乙醇，10%甲醇)，隨後蒸發6小時隔夜，接著在使用前以3 $\times$ 100 μ L無菌H₂O洗滌。接著如下培養細胞。使來自人類細胞株SW480(穩定表現P-鈣黏素G418^r)之細胞在全生長培養基(qs DMEM(InVitrogen

11995-065)、10% FBS(Omega Scientific FB-02)、1:100 NEAA(InVitrogen 11140-050)、1:100 丙酮酸鈉(InVitrogen 11360-070)、1:100 麩醯胺酸(InVitrogen 25030-051)、1:100 盤尼西林/鏈球菌溶血素(InVitrogen 15070-063)、1:100 遺傳黴素 50 mg/mL(Invitrogen 10131-035))+G418(500 μ g/mL)中傳代，接著分裂為1:3-4，每週兩次。然後將培養基在生長培養基+10% DMSO中冷凍。

在第一天，將SW480:pCAD細胞及對照SW480:pCLNX(對照穩定載體)在 5×10^6 個細胞/100 mm盤中接種，不大於1:3稀釋。隨後使細胞在培養基中生長48小時。每一100 mm盤提供約 10×10^6 個細胞，或足夠用於 2×96 孔板。

在第3天，移除培養基，隨後以dPBS(Dulbecco's PBS(InVitrogen 14040-133))洗滌，此後在3 mL/100 mm盤中將該等細胞胰蛋白酶化。接著在以兩體積(6 mL)全生長培養基釋放後進行中和。隨後將該板使用10 mL吸管洗滌三次以使團塊分裂。隨後計數細胞並使用Beckman離心機在1000 rpm下離心5分鐘獲得離心塊。接著抽取培養基，將該離心塊首先藉由指旋(finger vortex)，隨後經p1000吸管再懸浮於< 1 mL之全生長培養基中，接著將細胞濃度標準化為 1.0×10^6 /mL。單個細胞分散液使用顯微法確定。

將每孔40 μ L之40000細胞等分於96孔、經洗滌、聚-HEMA塗佈之Costar3590非組織培養板(Corning 3590)。隨後在250 rpm下培養，在37°C下、5% CO₂潮濕恆溫箱中搖動隔夜(16-18小時)。

在第4天，隨後藉由以dPBS及5% FBS阻斷96孔板30分鐘製備試劑板。接著使用1×100 μL dPBS洗滌該板，隨後抽取並輕拂至乾。以dPBS，使用5×[IgG]濃度製備測試IgG之稀釋系列，其足夠用於96孔板之一孔內之處理板之3孔。隨後將10 μL 試劑轉移至該96孔板之每一孔。使用8通道吸管執行每個處理中三分之一的樣本。接著在250 rpm下培養，在37°C下、5% CO₂潮濕恆溫箱中搖動(20-24小時)。

在第5天，將50 μL 經搖動之細胞轉移至經聚離胺酸塗佈之96孔板(BioCoat聚離胺酸塗佈之96孔板：BD 356516)。隨後將該等細胞以50 μL 之全生長培養基沖洗，藉由抽頭搖動該板，並轉移至該經聚離胺酸塗佈之板。若必要，執行額外之50 μL 洗滌。隨後在37°C下，5% CO₂潮濕恆溫箱中培養60分鐘。在該步驟中要小心地定量轉移所有細胞，盡可能緩和且不過量移液。隨後藉由加入100 μL 固定液(7.4%甲醛(37% wt/vol.-Sigma F15587))在通風櫥中對細胞進行固定，隨後在室溫下培養> 30分鐘。

要洗滌該等細胞，則將液體傾析入收集燒杯或盤中，並輕拂以移除剩餘液體，並在紙巾上輕叩。隨後將每孔100 μL 之dPBS用於洗滌，隨後培養15分鐘。接著將該等細胞如上藉由傾析進行染色並塗覆100 μL 霍斯特(Hoescht)(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Hoescht溶於dPBS-Hoescht 10 mg/mL Molecular Probes 33342)，隨後培養30分鐘。接著將該等細胞洗滌兩次，在孔中留下剩餘100 μL dPBS用於顯微法。隨後對每孔已凝集對象之數目進行計數(Cellomics)並將平均對象計

數(使用測試IgG)與IgG(例如，Gt-抗P-鈣黏素R&D Systems AF761)或單獨對照培養基技術進行比較。隨後將對象計數與IgG抑制劑濃度繪成圖以確定IC₅₀值。或者，對象計數表現為分裂倍數與界定濃度之對照，其展示於表7。

表 7

IgG	SW480球狀體分裂檢定 增加之分裂倍數與5 nM之對照
194-e06	10
194-a02	10
g-194-b09	10
g-195-e11	7
g-194-g09	14
196-h02	10
194-e01	16
196-d10	10
g-196-g03	13
196-e06	10
195-a09	10
198-a09	13
g-200-h06	7
129-1c4	4

實例 6：量測 P-鈣黏素抗體之 K_D 及 k_{off}

使用產商之方法，使用 BIACORE™ 3000 器具藉由表面電漿共振如下執行對 P-鈣黏素 scFv 單鏈抗體之親和力量測 (K_D 及 k_{off})。

為執行動力學分析，使用常規胺類偶合法將重組人類 P-鈣黏素/Fc 融合蛋白 (hCad/Fc) 及小鼠 P-鈣黏素/Fc 融合蛋白 (mCad/Fc) 分別固定於 CM5 BIACORE™ 感應片之流通槽上。使用 10 mM pH 值 4.5 之醋酸鹽緩衝液以 2.0 mM CaCl₂ 作為固定緩衝液製備表面，且 hCad/Fc 及 mCad/Fc 融合蛋白分別達成 5800 及 1600 RU 之蛋白濃度。使用 1 M pH 值 8.5 之

乙醇胺氫氯化物執行未反應之N-羥基琥珀醯亞胺酯之失活。將活化/失活空白表面用作對照表面。電泳緩衝液中之ScFv抗體樣本以200至0.78 nM範圍之濃度製備(包含單獨電泳緩衝液之0 nM溶液作為零參考)。將樣本隨機化並使用HBS-P(10 mM HEPES pH值7.4、150 mM NaCl、0.005%界面活性劑P20)以2.0 mM CaCl₂作為電泳緩衝液一式三份穿過流通槽注射1分鐘。使用25 µL/min之流動速率以確定親和力常數。對抗體解離監控5分鐘，表面藉由注射12秒10 mM甘胺酸-HCl pH值1.5(25 µL/min)而再生。將原始資料使用Scrubber(©BioLogic Software)套裝軟體處理並使用CLAMP(©BioLogic Software)套裝軟體分析。資料普遍適於簡單1:1 Langmuir結合模型。

表8列舉了本發明之單鏈抗P-鈣黏素抗體之親和力常數。

表 8

scFv	hCad/Fc K _D (nM)	hCad/Fc K _{off} (1/s)	mCad/Fc K _D (nM)	mCad/Fc K _{off} (1/s)
194-b09	4.0	1.9×10 ⁻⁰³	11	3.6×10 ⁻³
194-g09	2.6	1.6×10 ⁻⁰³	1.8	8.1×10 ⁻⁴
196-g03	1.1	7.0×10 ⁻⁰⁴	0.76	4.7×10 ⁻⁴

實例7：測定P-鈣黏素抗體之選擇性

使用如下規程來測定多種抗體與P-鈣黏素優於E-鈣黏素之選擇性。

將重組人類P-鈣黏素(R&D Systems 861-PC-100)及重組人類E-鈣黏素(R&D Systems 648-EC-100)以1 µg/mL在PBS +0.5 mM CaCl₂中塗佈於Exiqon蛋白固定板(VWR

International) 之孔上。將樣本 IgG 在 3% Marvel/PBS+0.5 mM CaCl_2 中阻斷 1 小時，隨後自 50 nM (7.5 $\mu\text{g/mL}$) 滴定至 0.64 nM (0.096 $\mu\text{g/mL}$) 並一式兩份加入至以兩種不同抗原塗佈之孔。在 4°C 下平衡隔夜後，將該等板以 1×PBS/ 0.1% Tween+0.5mM CaCl_2 洗滌三次，接著以 1×PBS+0.5 mM CaCl_2 洗滌三次。隨後在每一孔中加入在 3% Marvel/PBS+0.5 mM CaCl_2 中稀釋為 1:5000 之 50 μL 抗人類 Fab 結合酵素並在室溫下平衡 1 小時。將板以 1×PBS/0.1% Tween+0.5 mM CaCl_2 洗滌三次並以 1×PBS+0.5 mM CaCl_2 洗滌三次。在每一孔中加入 50 μl 3,3',5,5'-四甲基聯苯胺 (TMB ; Sigma) 並允許反應進行 20 分鐘，隨後藉由加入每孔 25 μL 之 0.5 M H_2SO_4 使其停止。在 450 nm 下讀取吸光度值之後，使用 Graphpad Prism 軟體對資料進行分析以計算每一抗體結合於 P-鈣黏素及 E-鈣黏素之相對 K_D 值。所得資料總結於表 9。

表 9

IgG	P-鈣黏素 K_D (pM)	E-鈣黏素 K_D (pM)	$K_D(\text{E})/K_D(\text{P})$
194-a02	116	682	6
g-194-b09	788	2156	3
g-194-g09	2602	未結合	> 100
194-e01	112	20511	183
g-194-e06	191	794	4
195-a09	120	11516	96
194-e06	56	264	5
196-d10	45	63	1.4
196-e06	62	187	3
g-196-g03	449	7513	17
196-h02	102	33212	326
198-a09	78	19396	249

實例8：抗原決定基競爭檢定

使用如下規程在抗原決定基競爭檢定中對IC₅₀值進行量測以量測母系中之多種scFv自A431細胞表面的天然P-鈣黏素置換母IgG之能力。對在抑制性scFv存在下之生物素化母IgG以鎢抗生蛋白鏈菌素及DELFI A定量偵測。若干scFv之量測IC₅₀值展示於表10。

根據標準方法培養A431細胞(ECACC No. 85090402)，隨後在約80%匯合進行收集，在使用前日，將其在96孔Beckton Dickenson (BD Cat. 6407)膠原蛋白塗佈板內以每孔 2.5×10^4 個細胞進行接種。接著藉由浸入PBS緩衝液(Gibco Cat. 14190-094，無碳酸氫鈣、碳酸氫鎂及碳酸氫鈉)庫而將該等板洗滌三次，隨後加入每孔200 μ L之阻斷緩衝液(PBS Gibco Cat. 14190-094，加3% Marvel(Premier International Foods Ltd.))並在室溫下培養2小時。接著如上以PBS洗滌該等板3次。

對於高通量篩檢及IC₅₀分佈而言，scFv/IgG物質均首先在總體積60 μ L之檢定緩衝液中在Greiner稀釋板(Greiner 96孔聚丙烯板(Greiner Cat. 780271))內製備。接著將50 μ L自從屬Greiner板直接轉移至檢定板並使結合反應在室溫下進行2小時30分鐘。在結合反應結束時，在加入鎢標記之抗生蛋白鏈菌素(Perkin Elmer Cat. 1244-360，在DELFI A檢定緩衝液(Perkin Elmer Cat. 4002-0010)中1:1000稀釋)前將該等板在PBS中洗滌3次，並在室溫下再培養1小時。

接著藉由將該等板重複浸入緩衝液庫而以DELFI A洗滌

緩衝液(Perkin Elmer Cat. 4010-0010)洗滌7次。最後，在加入DELFLIA強化子(Perkin Elmer Cat. 4001-0010-100微升/孔)後，使用標準DELFLIA規程在相容讀取器(例如，Wallac或Envision)讀取板。

Greiner稀釋板建立-HTS

視最優階段而定，高通量篩檢(HTS)條件經組態而不同。對於自個別 V_H 及 V_L 鏈輸出之HTS，將最優之最終[周圍製劑]固定在12.5%以使得母scFv產生部分抑制。對於來自 $V_H:V_L$ 重組庫輸出之後一HTS，最終周圍製劑濃度減小至1.7%，且在該等條件下， V_H 最優化之基準scFv(TOP-108-C01)產生部分抑制。使得相關基準scFv產生部分抑制之周圍製劑濃度之最優化產生一窗口，其中可識別經改良之純系。

為達成該等最終scFv周圍試劑濃度，可採用如下程序：

- i) 使用Cybiwell器具，將所要體積之周圍製劑樣本物質(見下文)自深孔樣本板轉移至在管柱1-11中之Greiner稀釋板。

[最終周圍製劑]	轉移體積
----------	------

[12.5%]	=7.5 μ L
---------	--------------

[1.7%]	=10.0 μ L(1:10稀釋之周圍製劑)
--------	----------------------------

(藉由將10 μ L純周圍製劑自樣本板轉移至含有90 μ L檢定緩衝液之Greiner稀釋板(使用Cybiwell)來製備1:10預稀釋周圍製劑)。

- ii) 藉由加入適當體積之檢定緩衝液使管柱1-11內之體

積成為 30 μL 。

- iii) 隨後將 30 μL 檢定緩衝液加入管柱 12(A-D)(總結合孔)。
- iv) 將檢定緩衝液中之 30 μL 過量未標記母 IgG(129-1c4) 加入管柱 12(E-H)以界定非特異性結合。將此在 1000 nM 濃度下加入以產生 500 nM 之最終濃度。
- v) 使用不溶於水之 EZ-link-NHS-LC-Biotin (Perbio/Pierce 產品號 21336) 將 129-1c4 IgG 生物素化。藉由加入 $1/10^{\text{th}}$ 體積之 1 M NaHCO_3 及 $1/10^{\text{th}}$ 體積之二甲基甲醯胺補充 IgG 溶液。將 EZ-link-NHS-LC-Biotin 試劑溶解於 DMF，接著加入 5 倍莫耳過量之 IgG 並使反應在室溫下進行 20 分鐘。隨後藉由加入 BSA(0.1%) 來穩定化該生物素化 IgG。將溶於檢定緩衝液中之 30 μL 生物素化母 129-1c4 IgG 加入所有孔以在最終 60 μL 體積中產生最終濃度 1.5 nM(即以 $2\times$ 最終濃度加入銷標記 IgG)。
- vi) 藉由攪動混合 Greiner 板內容物後，將 50 μL 直接轉移至檢定板並使結合反應在室溫下進行 2 小時 30 分鐘(如前所述)。

Greiner 稀釋板建立- IC_{50} 分佈

- i) 將 30 μL /孔之檢定緩衝液加入標準 Greiner 稀釋板中之管柱 2-11 及孔 12A 至 12D。
- ii) 將溶於檢定緩衝液之 30 μL 過量未標記 129-1c4 母 IgG 加入管柱 12(E-H)以界定非特異性結合。將此以 1000

nM之濃度加入以產生500 nM之最終濃度。

- iii) 向管柱1中加入2×45 μL之每一未稀釋scFv組胺酸製劑(His-prep)以使得每一96孔檢定板可建立4個雙重複11點IC₅₀滴定。隨後藉由自管柱1取15 μL且混合入管柱2，隨後自管柱2取15 μL且混合入管柱3等，從而執行1:3雙重複系列稀釋。在混合入管柱11後，移除15 μL(意即留下30 μL最終體積)。
- iv) 接著將溶於檢定緩衝液之30 μL生物素化129-1c4母IgG加入所有孔中以在最終60 μL體積中產生最終濃度1.5 nM(意即以2×最終濃度加入銜標記IgG)。
- v) 藉由攪動混合Greiner板內容物後，隨後將50 μL直接轉移至檢定板並使結合反應如先前所述在室溫下進行2小時30分鐘。

對於HTS，scFv在96孔盤中表現為來自含有MOPS/EDTA/Sorbitol pH值7.4(MES pH值7.4)之基礎緩衝液中之細菌周漿之粗萃取物(scFv周圍製劑)。對於IC₅₀分佈，使用scFv組胺酸標籤用於在PBS基礎緩衝液中之親和力純化(scFv組胺酸標籤)來將scFv表現為低通量純化形式。

對於HTS及IC₅₀分析而言，首先將原始資料根據如下方程式轉化為結合百分比資料：

$$\text{結合 \%} = \{ (\text{值} - \text{非特異性結合}) / (\text{總結合} - \text{非特異性結合}) \} * 100$$

隨後進一步使用標準Excel模板對HTS資料進行分析以識別比相關基準scFv產生較大抑制(較低結合%)之採樣數。

對於IC₅₀分析，使用Prism version 4.0曲線擬合軟體(curve fitting software)對結合%資料進行分析。該等scFv係129-1c4母IgG之變體，其中V_H及V_L CDR3區如實例2之描述發生隨機突變。V_H CDR3可變序列在圖1中展示為SEQ ID NO:91至256。V_L CDR3可變序列在圖1中展示為SEQ ID NO:257至319。與母129-1c4 IgG相比展示改良之結合之若干scFv之IC₅₀值展示於表10。129-1c4親本之每一scFv變體由兩個SEQ ID NO識別：V_H CDR3及V_L CDR3。僅供參考，母129-1c4 IgG之IC₅₀為108.3 nM。

表 10

SEQ ID NO : V _H CDR3	SEQ ID NO : V _L CDR3	IC ₅₀ (nM)
37	40	2.49
37	261	1.78
37	43	5.67
37	274	8.73
37	277	2.20
37	287	10.50
37	288	6.67
37	295	0.80
37	297	2.49
37	299	1.97
37	303	1.47
37	304	1.10
37	305	2.19
95	47	2.36
97	47	1.33
113	47	2.06
125	47	0.26
131	47	0.35
31	47	2.05
147	47	1.16
165	47	5.11
167	47	0.60
180	47	0.43
181	47	2.46
27	47	0.54

195	47	1.29
187	43	1.58
27	296	1.16
163	43	2.45
26	40	0.76
26	43	0.93
27	309	1.36
199	310	2.54
201	310	2.26
207	291	2.73
240	313	2.98

本說明書中引用之所有公開案、專利及專利申請案以引用之方式併入本文中，正如特定地及個別地指出每一個別公開案或專利申請案以引用之方式併入本文中。儘管前述發明已為清楚理解之目的而藉由說明及實例詳細地進行描述，但是一般熟習此項技術者易於瞭解，根據本發明之教示，可作出某些改變及修正而不偏離附屬申請專利範圍之精神或範疇。

【圖式簡單說明】

圖1展示SEQ ID NO:1-347之胺基酸及核酸序列。

序 列 表

<110> 美商輝瑞大藥廠

<120> P-鈣黏素抗體

<130> PC32778A

<140> 095114716

<141> 2006-4-25

<150> 60/675,311

<151> 2005-4-26

<160> 347

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 117

<212> PRT

<213> 人類

<400> 1

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Ser Trp Gly Thr Gly Thr Leu Trp Pro Trp Gly Gln Gly Lys Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 2

<211> 117

<212> PRT

<213> 人類

<400> 2

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Trp Gly Asp Gly Thr Leu Asn Pro Trp Gly Gln Gly Lys Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 3
<211> 117
<212> PRT
<213> 人類

<400> 3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

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

<210> 4
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 4

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Asp Thr Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 5
 <211> 117
 <212> PRT

<213> 人類

<400> 5

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Thr Gly Tyr Pro Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 6

<211> 117

<212> PRT

<213> 人類

<400> 6

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Thr Ala Lys Pro Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 7
<211> 117
<212> PRT
<213> 人類

<400> 7

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asn Glu Arg Pro Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 8
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 8

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Gly Ser Arg Thr Val Gln Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 9
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 9

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Asn Ser Pro Gly Thr Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 10
<211> 117
<212> PRT
<213> 人類

<400> 10

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Ile Ala Pro Gly Arg Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 11
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 11

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Gly Leu Asp Arg Val Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 12
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 12

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Trp Gly Gly Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 13

<211> 117

<212> PRT

<213> 人類

<400> 13

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Trp Gly Gly Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 14
<211> 111
<212> PRT
<213> 人類

<400> 14

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly
85 90 95

Leu Pro Trp Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 15
<211> 111
<212> PRT
<213> 人類

<400> 15

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35

40

45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly
 85 90 95

Leu Pro Trp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 16
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 16

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly
 85 90 95

Ile Val Phe Asn Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 17
 <211> 111
 <212> PRT

<213> 人類

<400> 17

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Arg His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Met Gly
85 90 95

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 18

<211> 111

<212> PRT

<213> 人類

<400> 18

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Gly Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Arg Ala Gly
85 90 95

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 19
<211> 111
<212> PRT
<213> 人類

<400> 19

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Thr Met Gly
85 90 95

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 20
<211> 111
<212> PRT
<213> 人類

<400> 20

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

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

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

<400> 22

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly
 85 90 95

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 23
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 23

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Thr Met Gly
85 90 95

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 24
<211> 5
<212> PRT
<213> 人類

<400> 24

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 25
<211> 17
<212> PRT
<213> 人類

<400> 25

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 26
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 26

Trp Gly Thr Gly Thr Leu Trp Pro
1 5

<210> 27
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 27

Trp Gly Asp Gly Thr Leu Asn Pro
1 5

<210> 28
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 28

Trp Gly Leu Gly Ser Asn Glu Asn
1 5

<210> 29
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 29

Thr Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro
1 5

<210> 30
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 30

Thr Gly Tyr Pro Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 31
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 31

Thr Ala Lys Pro Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 32

Asn Glu Arg Pro Ser Phe Asp Pro

1 5

<210> 33 人類
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 33

Ser Arg Thr Val Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 34
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 34

Asn Ser Pro Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 35
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 35

Ile Ala Pro Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 36
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 36

Leu Asp Arg Val Trp Phe Asp Pro
1 5

<210> 37
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 37

Trp Gly Gly Gly Trp Phe Asp Pro
1 5

<210> 38
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 38

Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr Asn Tyr Val Ser
 1 5 10

<210> 39
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 39

Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser
 1 5

<210> 40
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 40

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Leu Pro Trp Val Leu
 1 5 10

<210> 41
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 41

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Leu Pro Trp Val Val
 1 5 10

<210> 42
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 42

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Val Phe Asn Leu
 1 5 10

<210> 43

<211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 43

Thr Ser Tyr Thr Met Gly Ser Thr Phe Met Leu
 1 5 10

<210> 44
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 44

Ser Ser Tyr Thr Met Gly Ser Thr Phe Met Leu
 1 5 10

<210> 45
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 45

Thr Ser Tyr Arg Met Asp Ser Thr Phe Met Leu
 1 5 10

<210> 46
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 46

Thr Ser Tyr Arg Ala Gly Ser Thr Phe Met Leu
 1 5 10

<210> 47
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 47

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ser Thr Phe Met Leu
 1 5 10

<210> 48
 <211> 30
 <212> PRT

<213> 人類

<400> 48

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
 20 25 30

<210> 49

<211> 14

<212> PRT

<213> 人類

<400> 49

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

<210> 50

<211> 32

<212> PRT

<213> 人類

<400> 50

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser
 20 25 30

<210> 51

<211> 32

<212> PRT

<213> 人類

<400> 51

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Asp
 20 25 30

<210> 52

<211> 32

<212> PRT

<213> 人類

<400> 52

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly
 20 25 30

<210> 53

<211> 32

<212> PRT

<213> 人類

<400> 53

Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly
 20 25 30

<210> 54

<211> 32

<212> PRT

<213> 人類

<400> 54

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr
 20 25 30

<210> 55

<211> 32

<212> PRT

<213> 人類

<400> 55

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
 20 25 30

<210> 56

<211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 56

Trp Gly Gln Gly Lys Met Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 57
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 57

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 58
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 58

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys
 20

<210> 59
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 59

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys
 20

<210> 60
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 60

Trp Tyr Gln Arg His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Leu Ser
 1 5 10 15

<210> 61
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 61

Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 62
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 62

Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Leu Ser
 1 5 10 15

<210> 63
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 63

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
 1 5 10 15

Leu Ser Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 64
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 64

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
 1 5 10 15

Leu Ser Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Gly Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 65
<211> 32
<212> PRT
<213> 人類

<400> 65

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 66
<211> 32
<212> PRT
<213> 人類

<400> 66

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
1 5 10 15

Leu Ser Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 67
<211> 10
<212> PRT
<213> 人類

<400> 67

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
1 5 10

<210> 68
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 68
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagttgggga 300

acggggacct tgtggccctg gggccaaggg aaaatggtca ccgtctcgag t 351

<210> 69
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<220>
<221> misc_feature
<222> (330)..(330)
<223> n 為 a、c、g、或 t

<220>
<221> misc_feature
<222> (348)..(348)
<223> n 為 a、c、g、或 t

<400> 69
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggg ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagttgggga 300
gacgggacct tgaaccctg gggccaaggn aaaatggtca ccgtctcnag t 351

<210> 70
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 70
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggg ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagttgggga 300
ctggggagca acgaaaactg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcgag t 351

<210> 71
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 71
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc ggacacgaac 300
tccgccaaagt tcgacccctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcgag t 351

<210> 72
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 72
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gggcacgggg 300
taccctctct tcgacccctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcgag t 351

<210> 73
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 73
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gggcacggcc 300
aagccgagct tcgacccctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcgag t 351

<210> 74
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 74
gaggtgcagc tgttgaggctc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc ggggaacgag 300
aggccgtcgt tcgacccctg gggccaaggg acaatgggtca ccgtctcgag t 351

<210> 75
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 75
gaggtgcagc tgttgaggctc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gggcagccgc 300
acgggtgcagt tcgacccctg gggccaaggg acaatgggtca ccgtctcgag t 351

<210> 76
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 76
gaggtgcagc tgttgaggctc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gacgaactcg 300
ccgggggacgt tcgacccctg gggccaaggg acaatgggtca ccgtctcgag t 351

<210> 77
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 77
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaccatcgcg 300
cccggccggt tcgacccctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcgag t 351

<210> 78
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 78
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc ggggctcgac 300
cgggtgtggt tcgacccctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcgag t 351

<210> 79
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 79
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagttgggga 300
ggaggctggt tcgacccctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcctc a 351

<210> 80
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 80
gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaatgggga 300
ggaggctggg tcgacccttg gggccaaggg acaatgggtca ccgtctcctc a 351

<210> 81
<211> 333
<212> DNA
<213> 人類

<400> 81
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagtaa tgacgttggg gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccaggca aagcccccaa actcattctt tctgaggta ataaacggcc ctgaggggtt 180
tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcggcct ccctgggctc 300
ctcttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 82
<211> 333
<212> DNA
<213> 人類

<400> 82
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagtaa tgacgttggg gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccaggca aagcccccaa actcattctt tctgaggta ataaacggcc ctgaggggtt 180
tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcgggct ccctgggctc 300
gtcttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 83
<211> 333
<212> DNA
<213> 人類

<400> 83
 cagtctgccc tgactcagcc tgctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
 tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcttg gtaccaacaa 120
 caccaggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtca ataaacggcc ctcaggggtt 180
 tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240
 caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcggcat cgtgttcaac 300
 ctgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 84
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> 人類

<400> 84
 cagtctgccc tgactcagcc tgctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
 tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcttg gtaccaacga 120
 caccaggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtca ataaacggcc ctcaggggtt 180
 tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240
 caggctgagg acgaggctga gtattactgc agcagctaca cgatggggag cacttttatg 300
 ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 85
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> 人類

<400> 85
 cagtctgccc tgactcagcc tgctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
 tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcttg gtaccaacaa 120
 caccaggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtca ataaacggcc ctcaggggtt 180
 tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240
 caggctgagg acgaggctgg ttattactgc acgagctacc gggccgggag cacttttatg 300
 ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 86
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> 人類

<400> 86
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggcttc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccaggca aagcccccaa actcattctt tctgaggta ataaacggcc ctgaggggtt 180
tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgta caatgggcag cacttttatg 300
ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 87
<211> 333
<212> DNA
<213> 人類

<400> 87
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccaggca aagcccccaa actcattctt tctgaggta ataaacggcc ctgaggggtt 180
tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgta gcatggacag cacttttatg 300
ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 88
<211> 333
<212> DNA
<213> 人類

<400> 88
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccaggca aagcccccaa actcattctt tctgaggta ataaacggcc ctgaggggtt 180
tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcggcag cacttttatg 300
ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 89
<211> 333
<212> DNA
<213> 人類

<400> 89
cagtctgccc tgactcagcc tgctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagtaa tgacgttggg gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccaggca aagcccccaa actcatgatt tatgagggtca ataaacggcc ctccaggggtt 180
tctaatecgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgacctt ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc agtcatttta caagcggcag cacttttatg 300
ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 90
<211> 333
<212> DNA
<213> 人類

<400> 90
cagtctgccc tgactcagcc tgctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagtaa tgacgttggg gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccaggca aagcccccaa actcattctt tctgagggtca ataaacggcc ctccaggggtt 180
tctaatecgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgacctt ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg 300
ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 91
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 91
Asn Pro Lys Gly Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 92
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 92
Asn Ser Ala Gly Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 93
<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 93

Ser Asn Gly Gly Leu Phe Asp Pro
1 5

<210> 94

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 94

Ser Asn Gly Gly Phe Phe Asp Pro
1 5

<210> 95

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 95

Ser Asp Leu Gly Glu Phe Asp Pro
1 5

<210> 96

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 96

Thr Asn Thr Gly Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 97

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 97

Thr Pro Arg Gly Leu Phe Asp Pro
1 5

<210> 98

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 98

Ser Asn Thr Gly Asn Phe Asp Pro
1 5

<210> 99

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 99

Ser Arg Thr Val Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 100

Leu Gly Val Pro Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 101

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 101

Ser Asp Asn Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 102

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 102

Ile Ala Pro Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 103

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 103

Asn Thr Thr Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 104
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 104

Ser Asp Ala Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 105
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 105

Ile Asn Glu Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 106
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 106

Asn Ser Asn Gly Val Phe Asp Pro
1 5

<210> 107
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 107

Ser His Ser Gly Lys Phe Asp Pro
1 5

<210> 108
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 108

Asn Lys Lys Pro Pro Phe Asp Pro

1 5

<210> 109
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 109

Ser Asp Asn Gly Leu Phe Asp Pro
1 5

<210> 110
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 110

Trp Gly Ala Gly Glu Leu Asp His
1 5

<210> 111
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 111

Trp Gly Thr Gly Ala His Glu Asn
1 5

<210> 112
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 112

Asn Asn Val Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 113
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 113

Thr Asp Arg Pro Val Phe Asp Pro
1 5

<210> 114
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 114

Ile Arg Ser Gly Met Phe Asp Pro
1 5

<210> 115
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 115

Thr Glu Gly Ala Leu Phe Asp Pro
1 5

<210> 116
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 116

Ser Asp Phe Gly Lys Phe Asp Pro
1 5

<210> 117
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 117

Asn Glu Leu Gly Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 118
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 118

Gln Glu Leu Pro Val Phe Asp Pro
1 5

<210> 119

<211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 119

Phe Arg Asp Thr Ala Phe Asp Pro
 1 5

<210> 120
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 120

Ala Asp Met Gly Arg Phe Asp Pro
 1 5

<210> 121
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 121

Leu Gly Val Pro Val Phe Asp Pro
 1 5

<210> 122
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 122

Thr His Ala Gly Met Phe Asp Pro
 1 5

<210> 123
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 123

Val Tyr Ala Gly Arg Phe Asp Pro
 1 5

<210> 124
 <211> 8
 <212> PRT

<213> 人類

<400> 124

Asn Thr Gln Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 125

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 125

Thr Asn Gly Gly Leu Phe Asp Pro
1 5

<210> 126

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 126

Ile Thr Thr Val Lys Phe Asp Pro
1 5

<210> 127

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 127

Arg Leu Val His Gly Phe Asp Pro
1 5

<210> 128

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 128

Ile Arg Leu Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 129

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 129

Ser Glu Arg Pro Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 130

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 130

Thr Ser Arg Pro Leu Phe Asp Pro
1 5

<210> 131

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 131

Val Glu Ser Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 132

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 132

Ser Glu Met Pro Met Phe Asp Pro
1 5

<210> 133

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 133

Val Asn Pro Gly Tyr Phe Asp Pro
1 5

<210> 134

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 134

Asn Asp Ile Ala Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 135
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 135

Val Gly Val Gly Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 136
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 136

Thr Arg Tyr Pro Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 137
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 137

Asn Ser Ala Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 138
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 138

Val Asn Glu Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 139
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 139

Asn Arg Thr Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 140
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 140

Asn Ala Ser Ala Arg Phe Asp Pro
 1 5

<210> 141
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 141

Ile Asn Thr Gly Met Phe Asp Pro
 1 5

<210> 142
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 142

Asn Asp Asn Gly Arg Phe Asp Pro
 1 5

<210> 143
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 143

Val Asp Gln Pro Ser Phe Asp Pro
 1 5

<210> 144
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 144

Val Asp Arg Gly Gln Phe Asp Pro
 1 5

<210> 145
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 145

Asn His Thr Gly Lys Phe Asp Pro
1 5

<210> 146
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 146

Thr Asn Thr Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 147
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 147

Ser Asp Ser Gly Leu Phe Asp Pro
1 5

<210> 148
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 148

Asn Val Leu Ala Leu Phe Asp Pro
1 5

<210> 149
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 149

Asn Tyr Glu Ala Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 150
<211> 8

<212> PRT
 <213> 人類

<400> 150

Pro Asp Asn Gly Thr Phe Asp Pro
 1 5

<210> 151
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 151

Asn Arg Asn Gly Asn Phe Asp Pro
 1 5

<210> 152
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 152

Thr Thr Gly Gly Arg Phe Asp Pro
 1 5

<210> 153
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 153

Thr Gly Tyr Pro Ser Phe Asp Pro
 1 5

<210> 154
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 154

Asn Asn Glu Gly Gln Phe Asp Pro
 1 5

<210> 155
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 155

Asn Ser Lys Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 156

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 156

Thr Glu Asn Pro Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 157

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 157

Thr Asn Gly Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 158

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 158

Asn Ser Tyr Gly Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 159

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 159

Leu Glu Asn Val Val Phe Asp Pro
1 5

<210> 160

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 160

Ala Asn His Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 161
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 161

Ala Asn Gly Gly Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 162
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 162

Trp Gly Asn Asp Ala Ser Leu Gly
1 5

<210> 163
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 163

Trp Gly Pro Thr Ala Ser Leu Asp
1 5

<210> 164
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 164

Trp Gly Arg Gly Thr Asn Glu Tyr
1 5

<210> 165
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 165

Trp Gly Gly Gly Gly His Tyr Asp

1

5

<210> 166

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 166

Trp Gly Ala Asp Ala Thr Leu Asp

1

5

<210> 167

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 167

Thr Glu Phe Gly Thr Phe Asp Pro

1

5

<210> 168

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 168

Asn Ala Thr Gly Thr Phe Asp Pro

1

5

<210> 169

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 169

Thr Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro

1

5

<210> 170

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 170

Val Asn Ser Gly Lys Phe Asp Pro

1

5

<210> 171
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 171

Ser Leu Arg Val Glu Phe Asp Pro
1 5

<210> 172
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 172

Asn Asp Arg Gly Met Phe Asp Pro
1 5

<210> 173
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 173

Asn Ser Pro Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 174
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 174

Asn Thr Ala Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 175
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 175

Val Asn Arg Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 176

<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 176

Thr Glu Lys Pro Met Phe Asp Pro
1 5

<210> 177
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 177

Trp Ser Val Ser Leu Phe Asp Pro
1 5

<210> 178
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 178

Met Glu Val Val Glu Phe Asp Pro
1 5

<210> 179
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 179

Val Asn His Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 180
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 180

Thr Glu Val Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 181
<211> 8
<212> PRT

<213> 人類

<400> 181

Thr Asp Lys Pro Val Phe Asp Pro
1 5

<210> 182

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 182

Leu Glu Leu Pro Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 183

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 183

Thr Asn His Ala Met Phe Asp Pro
1 5

<210> 184

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 184

Thr His Ser Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 185

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 185

Asn Asp Arg Gly Gly Phe Asp Pro
1 5

<210> 186

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 186

Pro His Arg Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 187

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 187

Thr Glu Leu Gly Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 188

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 188

Trp Gly Leu Gly Ser Asn Glu Asn
1 5

<210> 189

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 189

Trp Gly Asn Asp Ala Thr Trp Asn
1 5

<210> 190

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 190

Trp Gly Ser Thr Ala Ser Leu Asp
1 5

<210> 191

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 191

Trp Gly Gly Gly Gly His Gln Asp
1 5

<210> 192

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 192

Trp Gly Arg Gly Asp Trp Arg Ser
1 5

<210> 193

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 193

Trp Gly Ser Thr Ala Ser Leu Ser
1 5

<210> 194

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 194

Trp Gly His Gly Gly His Asp Thr
1 5

<210> 195

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 195

Trp Gly Pro Arg Ala Thr Leu Asp
1 5

<210> 196

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 196

Trp Gly Asn Gly Ala Phe Val Pro
1 5

<210> 197

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 197

Trp Gly Asn Asp Ala Thr Leu Ala
1 5

<210> 198

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 198

Trp Gly Ser Gly Asn Leu Asp Pro
1 5

<210> 199

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 199

Asn Glu Leu Pro Lys Phe Asp Pro
1 5

<210> 200

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 200

Ser Asp Gly Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 201

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 201

Leu Asp Met Val Met Phe Asp Pro
1 5

<210> 202
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 202

Trp Gly Ser Gly Thr Met Asp Pro
1 5

<210> 203
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 203

Pro Asp Arg Gly Lys Phe Asp Pro
1 5

<210> 204
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 204

Thr His Asn Pro Val Phe Asp Pro
1 5

<210> 205
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 205

Asn Ser Ala Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 206
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 206

Leu Asp Ser Val Val Phe Asp Pro
1 5

<210> 207
<211> 8

<212> PRT
<213> 人類

<400> 207

Trp Gly Thr Gly Gln His Glu Asn
1 5

<210> 208
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 208

Trp Gly Thr Gly His His Asp Pro
1 5

<210> 209
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 209

Asn Phe Lys Pro Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 210
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 210

Ala Asn Gly Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 211
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 211

Trp Gly Thr Gly His Leu Glu Pro
1 5

<210> 212
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 212

Thr Gly Leu Pro Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 213

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 213

Ser Asn Val Gly Lys Phe Asp Pro
1 5

<210> 214

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 214

Asn Ala Val Ala Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 215

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 215

Thr Asp Arg Pro Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 216

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 216

Ser Leu Thr Val Asp Phe Asp Pro
1 5

<210> 217

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 217

Thr Glu Met Ala Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 218
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 218

Trp Gly Glu Gly His Leu Glu Tyr
1 5

<210> 219
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 219

Gln Lys Lys Val Glu Phe Asp Pro
1 5

<210> 220
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 220

Thr Gly Tyr Pro Val Phe Asn Pro
1 5

<210> 221
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 221

Ala Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro
1 5

<210> 222
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 222

Val Gly Arg Pro Gln Phe Asp Pro

1

5

<210> 223

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 223

Thr Tyr Asn Pro Met Phe Asp Pro

1

5

<210> 224

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 224

Thr Glu Arg Pro Val Phe Asp Pro

1

5

<210> 225

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 225

Leu Asp Leu Pro Arg Phe Asp Pro

1

5

<210> 226

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 226

Trp Gly Ser Gly Ser Ile Asp His

1

5

<210> 227

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 227

Leu Asp Arg Val Cys Ser Arg Trp

1

5

<210> 228
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 228

Asn Thr Leu Pro Val Phe Asp Pro
1 5

<210> 229
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 229

Ile Lys Pro Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 230
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 230

Thr Gly Tyr Pro Val Phe Asp Pro
1 5

<210> 231
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 231

Ile Lys Pro Gly Met Phe Asp Pro
1 5

<210> 232
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 232

Asn Met Thr Pro Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 233

<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 233

Thr Glu Arg Pro Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 234
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 234

Thr Asn Tyr Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 235
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 235

Thr Ser Arg Pro Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 236
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 236

Thr Tyr Trp Pro Ala Phe Asp Pro
1 5

<210> 237
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 237

Ile Asp Met Pro Trp Phe Asp Pro
1 5

<210> 238
<211> 8
<212> PRT

<213> 人類

<400> 238

Trp Gly Thr Gly His His Asp Pro
1 5

<210> 239

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 239

Asn Ala Arg Pro Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 240

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 240

Asn Gln Ile Val His Phe Asp Pro
1 5

<210> 241

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 241

Asn Val Met Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 242

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 242

Thr Asp Thr Pro Val Phe Asp Pro
1 5

<210> 243

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 243

Asn Arg Thr Val Trp Phe Asp Pro
1 5

<210> 244

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 244

Asn Arg Met Gly Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 245

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 245

Val Lys Pro Gly Phe Phe Asp Pro
1 5

<210> 246

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 246

Ile Asp Gln Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 247

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 247

Gln Ser Leu Pro Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 248

<211> 8

<212> PRT

<213> 人類

<400> 248

Asn Glu Leu Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 249
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 249

Gln Lys Lys Val Glu Phe Asp Pro
1 5

<210> 250
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 250

Ile Asp Thr Pro Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 251
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 251

Trp Gly Tyr Asp Ala Thr Leu Glu
1 5

<210> 252
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 252

Ser Asp Gly Gly Lys Phe Asp Pro
1 5

<210> 253
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 253

Leu Asp Leu Val Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 254
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 254

Ala Asn Ala Gly Leu Phe Asp Pro
 1 5

<210> 255
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 255

Trp Gly Thr Gly Ser Asn Arg Asp
 1 5

<210> 256
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 256

Ser Glu Thr Ile Asn Phe Asp Pro
 1 5

<210> 257
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 257

Gly Ser Tyr Thr His Gly Ser Thr Phe Met Leu
 1 5 10

<210> 258
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 258

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Pro Trp Ala Val
 1 5 10

<210> 259
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 259

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Val Pro Trp Ala Met
1 5 10

<210> 260
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 260

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Leu Gln Trp Val Val
1 5 10

<210> 261
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 261

Ser Ser Phe Thr Ser Gln Ile Pro Trp Ala Leu
1 5 10

<210> 262
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 262

Ser Ser Phe Thr Ser Ala Glu Gln Trp Val Met
1 5 10

<210> 263
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 263

Ser Ser Phe Thr Ser Gln Pro Gln Phe Asn Leu
1 5 10

<210> 264
<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 264

Ser	Ser	Phe	Thr	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp	Val	Leu
1				5					10	

<210> 265

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 265

Ser	Ser	Phe	Thr	Ser	Ala	Val	Pro	Trp	Ala	Ile
1				5					10	

<210> 266

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 266

Ser	Ser	Phe	Thr	Ser	Gly	Ala	Val	Phe	Val	Leu
1				5					10	

<210> 267

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 267

Ser	Ser	Phe	Thr	Ser	Gly	Ile	Val	Phe	Asn	Leu
1				5					10	

<210> 268

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 268

Ala	Ser	Tyr	Arg	Asp	Gly	Ser	Thr	Phe	Met	Leu
1				5					10	

<210> 269

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 269

Ala Ser Phe Gln Ser Gly Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 270
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 270

Ala Ser Tyr Gln Ser Ala Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 271
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 271

Thr Ser Tyr Thr Ala Ser Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 272
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 272

Ser Ala Phe Gln Gln Ser Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 273
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 273

Gly Ser Tyr Ser Gln Gln Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 274
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 274

Gly Ala Tyr Ser Ala Gly Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 275

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 275

Thr Ser Tyr Thr Gln Gly Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 276

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 276

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Arg Ala Phe Thr Cys
1 5 10

<210> 277

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 277

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Asp His Trp Val Leu
1 5 10

<210> 278

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 278

Ser Ser Phe Thr Ser Arg Ile Pro Trp Ala Val
1 5 10

<210> 279

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 279

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Lys Ala Trp Val Ile

1 5 10

<210> 280
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 280

Ser Ser Phe Thr Ser Ala Glu Ala Trp Ala Pro
 1 5 10

<210> 281
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 281

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Asp Arg Phe Asn Leu
 1 5 10

<210> 282
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 282

Ser Ser Phe Thr Ser Tyr Lys Pro His Met Val
 1 5 10

<210> 人類
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 283

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Gln Phe Asn Leu
 1 5 10

<210> 284
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 284

Ser Ser Phe Thr Ser Ala Ala Arg Phe Ala Leu
 1 5 10

<210> 285
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 285

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ser Arg Phe Val Leu
1 5 10

<210> 286
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 286

Ser Ser Phe Thr Ser Ser Leu Pro Trp Ala Leu
1 5 10

<210> 287
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 287

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Lys Phe Thr Leu
1 5 10

<210> 288
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 288

Ser Ser Phe Thr Ser Ala Ile Pro Trp Ser Leu
1 5 10

<210> 289
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 289

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Glu Gln Phe Leu Leu
1 5 10

<210> 290

<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 290

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Pro Arg Trp Asn Leu
1 5 10

<210> 291
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 291

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ser Thr Phe Asn Leu
1 5 10

<210> 292
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 292

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Arg Arg Phe Val Leu
1 5 10

<210> 293
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 293

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Asn Val Trp Val Leu
1 5 10

<210> 294
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 294

Ser Ser Phe Thr Ser Ala Pro Ala Phe Val Val
1 5 10

<210> 295
<211> 11
<212> PRT

<213> 人類

<400> 295

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Lys Thr Phe Val Leu
1 5 10

<210> 296

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 296

Ser Ser Phe Thr Ser Asn Ile Pro Trp Ala Ile
1 5 10

<210> 297

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 297

Ser Ser Phe Thr Ser Ser Ala His Phe Val Leu
1 5 10

<210> 298

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 298

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Pro Val Phe Asn Ile
1 5 10

<210> 299

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 299

Ser Ser Phe Thr Ser Asp Arg Ala Phe Asn Leu
1 5 10

<210> 300

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 300

Ser	Ser	Phe	Thr	Ser	Glu	Trp	Leu	Trp	Val	Leu
1				5					10	

<210> 301

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 301

Ser	Ser	Phe	Thr	Ser	Gln	Pro	Arg	Trp	Ala	Pro
1				5					10	

<210> 302

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 302

Ser	Ser	Phe	Thr	Ser	Gly	Ile	Arg	Phe	Asn	Leu
1				5					10	

<210> 303

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 303

Ser	Ser	Phe	Thr	Ser	Gly	Arg	Ala	Phe	Asn	Leu
1				5					10	

<210> 304

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 304

Ser	Ser	Phe	Thr	Ser	Gly	Pro	Val	Phe	Asn	Leu
1				5					10	

<210> 305

<211> 11

<212> PRT

<213> 人類

<400> 305

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Gln Gln Trp Val Leu
1 5 10

<210> 306
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 306

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Arg Phe Asn Val
1 5 10

<210> 307
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 307

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Val Thr Trp Leu Leu
1 5 10

<210> 308
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 308

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Arg Ile Phe Asn Leu
1 5 10

<210> 309
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 309

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Pro Trp Ile Val
1 5 10

<210> 310
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 310

Thr Ser Tyr Thr Leu Gly Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 311
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 311

Thr Ser Tyr Thr His Gly Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 312
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 312

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Tyr Ala Trp Leu Leu
1 5 10

<210> 313
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 313

Thr Ser Tyr Val Met Gly Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 314
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 314

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ser Thr Phe Thr Leu
1 5 10

<210> 315
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 315

Thr Ser Phe Thr Ser Gly Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 316
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 316

Thr Ser Ser Thr Leu Gly Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 317
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 317

Thr Arg Tyr Val Met Gly Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 318
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 318

Thr Ser Tyr Arg Glu Gly Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 319
<211> 11
<212> PRT
<213> 人類

<400> 319

Ala Ser Tyr Gln Ala Ser Ser Thr Phe Met Leu
1 5 10

<210> 320
<211> 117
<212> PRT
<213> 人類

<400> 320

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Trp Gly Asp Gly Thr Leu Asn Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 321

<211> 117

<212> PRT

<213> 人類

<400> 321

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Thr Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 322

<211> 117

<212> PRT

<213> 人類

<400> 322

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asn Glu Arg Pro Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 323

<211> 117

<212> PRT

<213> 人類

<400> 323

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Thr Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 324

<211> 117

<212> PRT

<213> 人類

<400> 324

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

85

90

95

Ala Lys Thr Gly Tyr Pro Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 325

<211> 117

<212> PRT

<213> 人類

<400> 325

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Trp Gly Thr Gly Thr Leu Trp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 326

<211> 111

<212> PRT

<213> 人類

<400> 326

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly
85 90 95

Leu Pro Trp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 327

<211> 111

<212> PRT

<213> 人類

<400> 327

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Met Gly
85 90 95

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 328

<211> 111

<212> PRT

<213> 人類

<400> 328

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Thr Met Gly
 85 90 95

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 329

<211> 111

<212> PRT

<213> 人類

<400> 329

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35	40	45
Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe		
50	55	60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu		
65	70	75
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Thr Met Gly		
	85	90
Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
	100	105
		110
<210> 330		
<211> 111		
<212> PRT		
<213> 人類		
<400> 330		
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln		
1	5	10
		15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr		
	20	25
		30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu		
	35	40
		45
Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe		
50	55	60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu		
65	70	75
		80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Arg Ala Gly		
	85	90
		95
Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
	100	105
		110
<210> 331		
<211> 111		
<212> PRT		

<213> 人類
<400> 331
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly
85 90 95
Leu Pro Trp Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 332
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類
<400> 332
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaatgggga 300
gacgggacct tgaaccctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctctc a 351

<210> 333
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類
<400> 333

gaggtgcagc tgttgaggatc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt cgcagggt 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaaacgaac 300
tccgccaagt tcgaccctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctctc a 351

<210> 334
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 334
gaggtgcagc tgttgaggatc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt cgcagggt 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaaaacgag 300
aggccgtcgt tcgaccctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctctc a 351

<210> 335
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 335
gaggtgcagc tgttgaggatc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt cgcagggt 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaatgggga 300
gacgggacct tgaaccctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctctc a 351

<210> 336
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 336

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tctctgtcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaaacgggg 300
taccctcctc tgcacccctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcctc a 351

<210> 337
<211> 351
<212> DNA
<213> 人類

<400> 337
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tctctgtcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaatgggga 300
acggggacct tgtggccctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcctc a 351

<210> 338
<211> 333
<212> DNA
<213> 人類

<400> 338
cagctctgcc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccaggga aagcccccaa actcatgatt tctgaggtca ataaacggcc ctcagggggtt 180
tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggetga ttattactgc agctcattta caagcgggct ccctgggctc 300
gtcttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 339
<211> 333
<212> DNA
<213> 人類

<400> 339

```

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc      60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa      120
caccagggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggtca ataaacggcc ctcagggggt      180
tctaatecgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc      240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc agcagctaca cgatggggag cacttttatg      300
ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta                                     333

```

<210> 340
<211> 333
<212> DNA
<213> 人類

```

<400> 340
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc      60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa      120
caccagggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggtca ataaacggcc ctcagggggt      180
tctaatecgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc      240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg      300
ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta                                     333

```

<210> 341
<211> 333
<212> DNA
<213> 人類

```

<400> 341
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc      60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa      120
caccagggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggtca ataaacggcc ctcagggggt      180
tctaatecgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc      240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg      300
ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta                                     333

```

<210> 342
<211> 333
<212> DNA
<213> 人類

<400> 342

```

cagtctgccc tgactcagcc tgccctcgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc      60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa      120
caccagggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggtca ataaacggcc ctcagggggt      180
tctaatecgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc      240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg      300
ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta                                     333

```

<210> 343
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> 人類

```

<400> 343
cagtctgccc tgactcagcc tgccctcgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc      60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa      120
caccagggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggtca ataaacggcc ctcagggggt      180
tctaatecgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc      240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcggggt gccgtgggtg      300
ctcttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta                                     333

```

<210> 344
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 344

```

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1           5           10          15

```

```

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

```

```

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
          35          40          45

```

```

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50          55          60

```

```

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65          70          75          80

```

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 345
<211> 106
<212> PRT
<213> 人類

<400> 345

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 346
<211> 19
<212> PRT
<213> 人類

<400> 346

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 347
<211> 20
<212> PRT
<213> 人類

<400> 347

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

Asp Ala Arg Cys
20

發明專利說明書

分割案

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：99117647

※申請日：95.4.25

※IPC 分類：C07K; A61K; C07H

原申請案號：095114716

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

P-鈣黏素抗體

P-CADHERIN ANTIBODIES

二、中文發明摘要：

本發明係關於結合於P-鈣黏素及用於抑制P-鈣黏素之抗體，包括人類抗體及其抗原結合部位。本發明亦係關於自人類P-鈣黏素抗體衍生之重鏈及輕鏈免疫球蛋白及編碼此等免疫球蛋白之核酸分子。本發明亦係關於製備人類P-鈣黏素抗體之方法、包含該等抗體之組合物及使用該等抗體及組合物之方法。本發明亦係關於包含本發明之核酸分子之轉殖基因動物或植物。

三、英文發明摘要：

The present invention relates to antibodies including human antibodies and antigen-binding portions thereof that bind to P-cadherin, and that function to inhibit P-cadherin. The invention also relates to heavy and light chain immunoglobulins derived from human P-cadherin antibodies and nucleic acid molecules encoding such immunoglobulins. The present invention also relates to methods of making human P-cadherin antibodies, compositions comprising these antibodies and methods of using the antibodies and compositions. The invention also relates to transgenic animals or plants comprising nucleic acid molecules of the present invention.

七、申請專利範圍：

1. 一種抗體或其抗原結合部位，其具有至少一選自由如下特性組成之群之特性：

a) 具有大於或等於1.5之 $K_D(E)/K_D(P)$ ；

b) 藉由表面電漿共振量得以50 nM或更小之 K_D 與P-鈣黏素結合；

c) 藉由表面電漿共振量得對於P-鈣黏素之 K_{off} 係小於或等於 $0.01 s^{-1}$ ；

d) 藉由P-鈣黏素依賴細胞黏著檢定量得之 IC_{50} 為50 nM或更小；

e) 藉由P-鈣黏素依賴細胞凝集檢定量得之 IC_{50} 為50 nM或更小；

f) 與不含IgG之對照樣本相比，在P-鈣黏素依賴球狀體分裂檢定中之球狀體分裂增加2倍或更多；

g) 與選自由194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-b09；g-194-g09；g-196-g03；g-196-h02；g-194-e01；g-194-e06；129-1c4；及g-129-1c4組成之群之抗體競爭以結合於P-鈣黏素；

h) 與選自由194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-b09；g-194-g09；g-196-g03；g-196-h02；g-194-e01；g-194-e06；

129-1c4；及 g-129-1c4 組成之群之抗體交叉競爭以結合於 P-鈣黏素；

i) 如選自由 194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-b09；g-194-g09；g-196-g03；g-196-h02；g-194-e01；g-194-e06；129-1c4；及 g-129-1c4 組成之群之抗體係結合於 P-鈣黏素之相同抗原決定基；

j) 如選自由 194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-b09；g-194-g09；g-196-g03；g-196-h02；g-194-e01；g-194-e06；129-1c4；及 g-129-1c4 組成之群之抗體係以大體相同之 K_D 結合於 P-鈣黏素上；及

k) 如選自由 194-e06；194-a02；194-b09；195-e11；194-g09；196-h02；194-e01；196-d10；196-g03；196-e06；195-a09；198-a09；200-h06；g-194-b09；g-194-g09；g-196-g03；g-196-h02；g-194-e01；g-194-e06；129-1c4；及 g-129-1c4 組成之群之抗體係以大體相同之 K_{off} 結合於 P-鈣黏素上，

其限制條件為抗體或其抗原結合部位不為：

一種經分離之抗體或其抗原結合部位，其結合至 P-鈣黏素，並包含 V_H 區域及 V_L 區域，其中該 V_H 區域包含：

a) 如在 SEQ ID NO:24 中陳述之 V_H CDR1；

b) 如在 SEQ ID NO:25 中陳述之 V_H CDR2；及

c) 如在 SEQ ID NO:26 至 37 及 91 至 256 之任一者中陳述之 V_H CDR3；及其中該 V_L 區域包含：

d) 如在 SEQ ID NO:38 中陳述之 V_L CDR1；

e) 如在 SEQ ID NO:39 中陳述之 V_L CDR2；及

f) 如在 SEQ ID NO:40 至 47 及 257 至 319 之任一者中陳述之 V_L CDR3，或

一種抗體或其抗原結合部位，其中該 V_H 區域包含 SEQ ID NO:13、320、321 及 322 之任一者；且該 V_L 區域包含 SEQ ID NO:22、326、327 及 328 之任一者。

2. 如請求項 1 之抗體或其抗原結合部位，其包含胺基酸序列與 SEQ ID NO:13、320、321 及 322 之任一者至少 90% 相同之 V_H 區域。

3. 如請求項 1 之抗體或其抗原結合部位，其包含胺基酸序列與 SEQ ID NO:22、326、327 及 328 之任一者至少 90% 相同之 V_L 區域。

4. 如請求項 1 之抗體或其抗原結合部位，其係選自由如下抗體或其抗原結合部位組成之群：

a) 包含以 1 至 10 個保守胺基酸取代而與 SEQ ID NO:13 不同之 V_H 區域及以 1 至 10 個保守胺基酸取代而與 SEQ ID NO:22 不同之 V_L 區域之抗體或其抗原結合部位；

b) 包含以 1 至 10 個保守胺基酸取代而與 SEQ ID NO:320 不同之 V_H 區域及以 1 至 10 個保守胺基酸取代而與 SEQ ID NO:326 不同之 V_L 區域之抗體或其抗原結合部位；

c) 包含以1至10個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:321不同之 V_H 區域及以1至10個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:327不同之 V_L 區域之抗體或其抗原結合部位；及

d) 包含以1至10個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:322不同之 V_H 區域及以1至10個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:328不同之 V_L 區域之抗體或其抗原結合部位。

5. 如請求項1之抗體或其抗原結合部位，其包含以1至10個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:1至13及320至325之任一者不同之 V_H 區域；且進一步包含以1至10個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:14至23及326至331之任一者不同之 V_L 區域。

6. 如請求項1之抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或抗原結合部位包含選自SEQ ID NO:26至37及91至256之任一者之 V_H CDR3，或以1或2個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:26至37及91至256之任一者不同之序列。

7. 如請求項1之抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或抗原結合部位包含選自SEQ ID NO:40至47及257至319之任一者之 V_L CDR3，或以1或2個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:40至47及257至319之任一者不同之序列。

8. 如請求項1之抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或抗原結合部位包含：

a) 如在SEQ ID NO:24中陳述之 V_H CDR1，或以1或2個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:24不同之序列；

b) 如在SEQ ID NO:25中陳述之 V_H CDR2，或以1或2個

保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:25不同之序列；及

c)選自SEQ ID NO:26至37及91至256之任一者之V_H CDR3，或以1或2個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:26至37及91至256之任一者不同之序列。

9. 如請求項1之抗體或其抗原結合部位，其中該抗體或抗原結合部位包含：

a)如在SEQ ID NO:38中陳述之V_L CDR1，或以1或2個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:38不同之序列；

b)如在SEQ ID NO:39中陳述之V_L CDR2，或以1或2個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:39不同之序列；及

c)選自SEQ ID NO:40至47及257至319之任一者之V_L CDR3，或以1或2個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:40至47及257至319之任一者不同之序列。

10. 一種抗體或其抗原結合部位，其中V_H區域包含以1至10個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:13、320、321及322之任一者不同之序列；且V_L區域包含以1至10個保守胺基酸取代而與SEQ ID NO:22、326、327及328之任一者不同之序列。

11. 如請求項1至10中任一項之抗體，其係IgG、IgM、IgE、IgA或IgD分子，或係自其衍生而成。

12. 如請求項11之抗體，其中該IgG係IgG₁，其中該重鏈恆定區包含SEQ ID NO:344且其中輕鏈恆定區包含SEQ ID NO:345，其限制條件為SEQ ID NO:344之C端離胺酸殘基視情況已分裂。

13. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1至12中任一項之抗體或抗原結合部位及醫藥學上可接受之載劑。
14. 如請求項1之抗體或其抗原結合部位，其包含利用人類V_H-3家族基因之重鏈可變區胺基酸序列。

八、圖式：

SEQ ID NO.	序列	描述	抗體
1	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCASWG TGTLPWPGQG KMTVSS	全長 V _H	194_e06, 196_a07, 198_f06
2	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCASWG DGTLPWPGQG KMTVSS	全長 V _H	194_a02, 194_b09
3	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCASWG LGSNENWGQG TMVTSS	全長 V _H	195_e11
4	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCADTN SAKFDPMGQG TMVTSS	全長 V _H	194_g09, 196_h02
5	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCAGTG YPSFDPWGQG TMVTSS	全長 V _H	194_e01
6	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCAGTA KPSFDPWGQG TMVTSS	全長 V _H	196_d10
7	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCAGNE RPSFDPWGQG TMVTSS	全長 V _H	196_g03
8	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGREAI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCAGSR TVQFDPWGQG TMVTSS	全長 V _H	196_e06
9	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCATNS PGTFDPWGQG TMVTSS	全長 V _H	195_a09

圖 1A

10	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGETFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNLSRAED TAVYYCATIA PGREDPWGQG TMVTYSS	全長 V_H	198_a09
11	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGETFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNLSRAED TAVYYCAGLD RVWFDPWGQG TMVTYSS	全長 V_H	200_h06
12	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGETFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNLSRAED TAVYYCASWG GGWFDPWGQG TMVTYSS	全長 V_H	129_1c4
13	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGETFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNLSRAED TAVYYCAKMG GGWFDPWGQG TMVTYSS	全長 V_H -生殖系化	g_129_1c4
14	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVYSWYQQ HPGKAPKLIL SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDAEADYYC SSFTSGLPMV LFGGGTKLTV L	全長 V_L	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06
15	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVYSWYQQ HPGKAPKLIL SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDAEADYYC SSFTSGLPMV VFGGGTKLTV L	全長 V_L	194_b09
16	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVYSWYQQ HPGKAPKLIL SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDAEADYYC SSFTSGIVEN LFGGGTKLTV L	全長 V_L	195_e11
17	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVYSWYQR HPGKAPKLIL SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDAEADYYC SSYTMGSTFM LFGGGTKLTV L	全長 V_L	194_g08
18	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVYSWYQQ HPGKAPKLIL SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDAEADYYC TSIRAGSTFM LFGGGTKLTV L	全長 V_L	194_e01
19	QSALTQPASV SGPPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVYSWYQQ HPGKAPKLIL SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDAEADYYC TSYTMGSTFM LFGGGTKLTV L	全長 V_L	198_a09

圖1B

20	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLIL SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC TSRTMGSTFM LFGGGTKLTV L	全長 V _L	200_h06
21	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLIL SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC SSFTSGSTFM LFGGGTKLTV L	全長 V _L	129_1c4
22	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLMI YEYNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC SSFTSGSTFM LFGGGTKLTV L	全長 V _L	g_129_1c4
23	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLIL SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC TSRTMGSTFM LFGGGTKLTV L	全長 V _L	196_h02, 196_d10, 196_g03, 196_e06, 195_a09
24	SYAMS	V _H CDR1	全部
25	AISGGGGTYADSVKG	V _H CDR2	全部
26	WGTTGLWP	V _H CDR3	194_e06, 196_a07, 198_f06
27	WGGTGLNP	V _H CDR3	194_a02, 194_b09
28	WGLGSNEN	V _H CDR3	195_e11
29	TNSAKFDP	V _H CDR3	194_g09, 196_h02
30	TGYPSFDP	V _H CDR3	194_e01
31	TAKPSFDP	V _H CDR3	196_d10
32	NERPSFDP	V _H CDR3	196_g03
33	SRTVQFDP	V _H CDR3	196_e06
34	NSPSTFDP	V _H CDR3	195_a09

圖1C

35	IAFGREDP		V _H CDR3	198_a09
36	LDRVWFDP		V _H CDR3	200_h06
37	WGGGWEDP		V _H CDR3	129_1c4, g_129_1c4
38	TGTSNDVGAYNYVS		V _L CDR1	全部
39	EVNKRPS		V _L CDR2	全部
40	SSFTSGLPWVL		V _L CDR3	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06
41	SSFTSGLPWVV		V _L CDR3	194_b09
42	SSFTSGIVFNL		V _L CDR3	195_e11
43	TSYTMGSTML		V _L CDR3	195_a09, 196_d10, 196_e06, 196_g03, 196_h02, 198_a09
44	SSYTMGSTML		V _L CDR3	194_g09
45	TSYRMDSTML		V _L CDR3	200_h06
46	TSYRAGSTML		V _L CDR3	194_e01
47	SSFTSGSTML		V _L CDR3	129_1c4, g_129_1c4
48	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS		V _H FR1	全部
49	WVRQAPGKGLWVS		V _H FR2	全部
50	RFTISRDNSKNTLYIQMNSLRRAEDTAVYYCAS		V _H FR3	194_e06, 196_a07, 198_f06, 194_a02, 194_b09, 195_e11, 129_1c4

圖 1D

51	RETISRDN SKNTLY LQMN SLRAEDTAVYYC A D	V _H FR3	194_g09, 196_h02
52	RETISRDN SKNTLY LQMN SLRAEDTAVYYC A G	V _H FR3	194_e01, 196_d10, 196_g03, 200_h06
53	REFAISRDN SKNTLY LQMN SLRAEDTAVYYC A G	V _H FR3	196_e06
54	RFTISRDN SKNTLY LQMN SLRAEDTAVYYC A T	V _H FR3	195_a09, 198_a09
55	RETISRDN SKNTLY LQMN SLRAEDTAVYYC A K	V _H FR3	g_129_1c4

56	WGQGMVTVSS	V _H FR4	194_e06, 196_a07, 198_f06, 194_a02, 194_b09
57	WGQGMVTVSS	V _H FR4	195_e11, 194_g09, 196_h02, 194_e01, 196_d10, 196_g03, 196_e06, 195_a09, 198_a09, 200_h06, 129_1c4, g_129_1c4
58	QSALTQPASVSGSPGQSITISC	V _L FR1	198_a09
59	QSALTQPASVSGSPGQSITISC	V _L FR1	除198-a09外之所有
60	WYQRHPGKAPKLILS	V _L FR2	194_g09
61	WYQRHPGKAPKLMIY	V _L FR2	g_129_1c4

圖1E

62	WYQHFQKAPKLILS	V _L FR2	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06, 194_b09, 195_e11, 195_a09, 196_d10, 196_e08, 196_g03, 196_h02, 198_a09, 200_h06, 194_e01, 129_1c4
63	GVSNRFSGSKSGNTASLSISGLQAEDEAEYYC	V _L FR3	194_g09
64	GVSNRFSGSKSGNTASLSISGLQAEDEAGYYC	V _L FR3	194_e01
65	GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC	V _L FR3	g_129_1c4
66	GVSNRFSGSKSGNTASLSISGLQAEDEADYYC	V _L FR3	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06, 194_b09, 195_e11, 195_a09, 196_d10, 196_e08, 196_g03, 196_h02, 198_a09, 200_h06, 129_1c4
67	FGGGTKLTVL	V _L FR4	全部
68	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGCTCCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCGCATGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTAGCACATACACGACACTCCGTGAAGGGCCGTTTCACCATCTCCAGAGACNAATCCAAAGAACAGCTGTATCTGCAAAATGACAGCCTGAGAGCCGAGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGTTGGGGAACGGGGACCTTGTGGCCTGGGCCCAAGGGAAATGGTCACCGTCTCGAG _T	全長 V _H DNA	194_e06, 196_a07, 198_f06

図1F

69	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGAGGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTGGTGGTAGCACATACGACACTCCGTGAAGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTGTATTACTGTGGAGTTGGGGA GACGGACCTTGAACTCCGTGGGGCCAAAGNAAAATGGTCACCGTCTCNAG T	全長 V _H DNA	194_a02, 194_b09
70	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGAGGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTGGTGGTAGCACATACGACACTCCGTGAAGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTGTATTACTGTGGAGTTGGGGA CTGGGAGCAACGAAAACCTGGGGCCAAAGGACAATGGTCACCGTCTCGAG T	全長 V _H DNA	195_e11
71	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGAGGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTGGTGGTAGCACATACGACACTCCGTGAAGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTGTATTACTGTGGGACACGAAC TCCGCCAAGTTCGACCCCTGGGGCCAAAGGACAATGGTCACCGTCTCGAG T	全長 V _H DNA	194_g09, 196_h02

圖1G

72	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGCTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCGAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCACATACTACGAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATTCAGAACACAGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGGACAGGGG TACCCCTCCTTCGACCCCTGGGGCCCAAGGGACAATGGTCAACCGTCTCGAG T	全長 V _H DNA	194_e01
73	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGCTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCGAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCACATACTACGAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATTCAGAACACAGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGGACAGGCC AAGCCGAGCTTCGACCCCTGGGGCCCAAGGGACAATGGTCAACCGTCTCGAG T	全長 V _H DNA	196_d10
74	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGCTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCGAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCACATACTACGAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATTCAGAACACAGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGGACAGGAG AGGCCGTGCTTCGACCCCTGGGGCCCAAGGGACAATGGTCAACCGTCTCGAG T	全長 V _H DNA	196_g03
75	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGCTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCGAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCACATACTACGAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTGCCATCTCCAGAGACAATTCAGAACACAGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGGACAGGCC ACGGTGCAGTTTCGACCCCTGGGGCCCAAGGGACAATGGTCAACCGTCTCGAG T	全長 V _H DNA	196_e06

圖1H

76	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTACACCTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCATACTACGAGACTCCGTGAAGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATTACTGTGCGACCACTCG CCGGGGAGGTTGACCCCTGGGGCCAAAGGGACAATGGTCAACCGTCTCGAG T	全長 V _H DNA	195_a09
77	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTACACCTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCATACTACGAGACTCCGTGAAGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATTACTGTGCGACCACTCGCG CCGGCCCGGTTGACCCCTGGGGCCAAAGGGACAATGGTCAACCGTCTCGAG T	全長 V _H DNA	198_a09
78	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTACACCTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCATACTACGAGACTCCGTGAAGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATTACTGTGCGGGGCTCGAC CGGGTGTGGTTCGACCCCTGGGGCCAAAGGGACAATGGTCAACCGTCTCGAG T	全長 V _H DNA	200_h06
79	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTACACCTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCATACTACGAGACTCCGTGAAGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATTACTGTGCGGAGTTGGGA GGAGGCTGGTTCGACCCCTGGGGCCAAAGGGACAATGGTCAACCGTCTCCTC A	全長 V _H DNA	129_1c4

図1I

80	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGACGCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGTCCGCGAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTAGACACATACTACGAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTTACACCATCTCCAGAGACAAATCCAAAGACACGCTGTATCTGCAATGAACAGCTGAGAGCCGAGGACACGGCGTGTATTACTGTGCAAAATGGGAGGAGCTGGTTCGACCCCTGGGGCCAAAGGACAATGGTCACCGTCTCCTCA	全長 V _H DNA	9_129_1c4
81	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACCTGGAACCAAGTAATGACGTTGGTGTATTAAATATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCAAACTCATTTCTTTCTGAGGTCAATAACGGCCCTCAGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAACTCTGGCAACGGCCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGACGCTCATTTACAAGCGGCCTCCCTGGGTCTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCCTA	全長 V _L DNA	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06
82	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACCTGGAACCAAGTAATGACGTTGGTGTATTAAATATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCAAACTCATTTCTTTCTGAGGTCAATAACGGCCCTCAGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAACTCTGGCAACGGCCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGACGCTCATTTACAAGCGGCCTCCCTGGGTCTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCCTA	全長 V _L DNA	194_b09
83	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACCTGGAACCAAGTAATGACGTTGGTGTATTAAATATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCAAACTCATTTCTTTCTGAGGTCAATAACGGCCCTCAGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAACTCTGGCAACGGCCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGACGCTCATTTACAAGCGGCCTCCGTGTTCAACCTGTTCCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCCTA	全長 V _L DNA	195_e11
84	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACCTGGAACCAAGTAATGACGTTGGTGTATTAAATATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCAAACTCATTTCTTTCTGAGGTCAATAACGGCCCTCAGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAACTCTGGCAACGGCCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGACGAGTACCGATGGGAGCACTTTTATGCTATTCCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCCTA	全長 V _L DNA	194_g09

圖1J

85	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACCTGGAACCACTAATGACGTTGGTGTATTAAT ATGTCTCTGTTACCAACACACCCAGGCAAGCCCAAACTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAACGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCTCTCTGAGCATCTCTGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGTTATTACTGCACGACTACCGGCCCGGAGCAGCTTTTATG CTATTGGCGGAGGAGCAACAGCTGACCGTCCTA	全長 V _L DNA	194_e01
86	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACCTGGAACCACTAATGACGTTGGTGTATTAAT ATGTCTCTGTTACCAACACACCCAGGCAAGCCCAAACTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAACGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCTCTCTGAGCATCTCTGGGTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACCTCGTACACCATGGGCGAGCAGCTTTTATG CTATTGGCGGAGGAGCAACAGCTGACCGTCCTA	全長 V _L DNA	198_a09
87	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACCTGGAACCACTAATGACGTTGGTGTATTAAT ATGTCTCTGTTACCAACACACCCAGGCAAGCCCAAACTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAACGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCTCTCTGAGCATCTCTGGGTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACCTCGTACCGCATGGACAGCAGCTTTTATG CTATTGGCGGAGGAGCAACAGCTGACCGTCCTA	全長 V _L DNA	200_h06
88	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACCTGGAACCACTAATGACGTTGGTGTATTAAT ATGTCTCTGTTACCAACACACCCAGGCAAGCCCAAACTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAACGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCTCTCTGAGCATCTCTGGGTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCATTTACAGCGGCGAGCAGCTTTTATG CTATTGGCGGAGGAGCAACAGCTGACCGTCCTA	全長 V _L DNA	129_1c4
89	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACCTGGAACCACTAATGACGTTGGTGTATTAAT ATGTCTCTGTTACCAACACACCCAGGCAAGCCCAAACTCATTAAT TATGAGGTCAATAAACGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCTCTCTGAGCATCTCTGGGTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCATTTACAGCGGCGAGCAGCTTTTATG CTATTGGCGGAGGAGCAACAGCTGACCGTCCTA	全長 V _L DNA	g_129_1c4

図1K

90	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCGGTGCTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACATCTCCTGCACTGGAACCAAGTAATGACGTTGGTGTATTAATTT ATGTCCTCTGTACCAACAACACCCAGGCAAGCCCAAACTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAACGGCCCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGCTGATTTATTACTGACCTCGTACACATGGGCGACACTTTTATG CTATTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCCTA	全長 V _L DNA	196_h02, 196_d10, 198_g03, 196_e06, 195_a09
91	NPKGFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
92	NSAGSEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
93	SNGGLEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
94	SNGGFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
95	SDLGEFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
96	TNTGFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
97	TPRGLEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
98	SMTGNFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
99	SRTVQFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
100	LGVPFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
101	SDNGTFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
102	IAPGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
103	NTTGTFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
104	SDAGRFPD	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
105	INEGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
106	NSNGVFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
107	SHSGKFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體

圖 1L

108	NKKPFEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
109	SDNGLEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
110	WGAGELDH	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
111	WGTGAHEN	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
112	NNVGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
113	TDRPVFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
114	IRSGMFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
115	TEGALFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
116	SDFGKFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
117	NELGSFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
118	QELPVFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
119	FRDTAFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
120	ADMGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
121	LGVPVFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
122	THAGMFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
123	VYAGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
124	NTQGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
125	TNGGLEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
126	ITTVKFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
127	RLVHGFD	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
128	IRLGTFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
129	SERPQFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體

圖 1M

130	TSRPLFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
131	VESGRFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
132	SEMPMFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
133	VNPGYFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
134	NDIARFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
135	VGVGQFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
136	TRYPTFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
137	NSAGTFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
138	VNEGREFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
139	NRTGRFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
140	NASARFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
141	INTGMEDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
142	NDNGREFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
143	VDQPSFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
144	VDRGQFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
145	NHTGKFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
146	TNTGRFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
147	SDSGLFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
148	NVLALFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
149	NYEARFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
150	PONGTFDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體
151	NRNGNEDP	V _H CDR3	變體	129-1c4	變體

圖 1N

152	TTGGREFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
153	TGYESED	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
154	NNEGQED	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
155	NSKGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
156	TENPTFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
157	TNGGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
158	NSYGSFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
159	LENVVFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
160	ANHGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
161	ANGGQFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
162	WGNDASLG	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
163	WGPTASLD	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
164	WGRGTNEY	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
165	WGGGGHYD	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
166	WGADATLD	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
167	TEFGTFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
168	NATGTFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
169	TNSAKFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
170	VNSGKFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
171	SLARVEFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
172	NDRGMFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
173	NSPGTFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體

圖10

174	NTAGREFD	V _H CDR3變體	129-1c4變體
175	VNRGREFD	V _H CDR3變體	129-1c4變體
176	TEKPMFDP	V _H CDR3變體	129-1c4變體
177	WSVSLFDP	V _H CDR3變體	129-1c4變體
178	MEVVEFDP	V _H CDR3變體	129-1c4變體
179	VNHGREFD	V _H CDR3變體	129-1c4變體
180	TEVGTEDP	V _H CDR3變體	129-1c4變體
181	TDKPVFDP	V _H CDR3變體	129-1c4變體
182	LELPRFDP	V _H CDR3變體	129-1c4變體
183	TNHAMFDP	V _H CDR3變體	129-1c4變體
184	THSGREFD	V _H CDR3變體	129-1c4變體
185	NDRGGFDP	V _H CDR3變體	129-1c4變體
186	PHRGTEDP	V _H CDR3變體	129-1c4變體
187	TELGOFDP	V _H CDR3變體	129-1c4變體
188	WGLGSNEN	V _H CDR3變體	129-1c4變體
189	WGNDATWN	V _H CDR3變體	129-1c4變體
190	WGSTASLD	V _H CDR3變體	129-1c4變體
191	WGGGHQD	V _H CDR3變體	129-1c4變體
192	WGRGDMRS	V _H CDR3變體	129-1c4變體
193	WGSTASLS	V _H CDR3變體	129-1c4變體
194	WGHGGHDT	V _H CDR3變體	129-1c4變體
195	WGPRATLD	V _H CDR3變體	129-1c4變體

圖1P

196	WGNGAFVP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
197	WGNDATLA	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
198	WGSNLDLP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
199	NELPKFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
200	SDGGTFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
201	LDVMEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
202	WGSGMTDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
203	PDRGKFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
204	THNPVEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
205	NSAGREFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
206	LDSVVFP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
207	WGTGQHEN	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
208	WGTGHHDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
209	NFKPSEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
210	ANGGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
211	WGTGHLEP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
212	TGLPRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
213	SNVGKEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
214	NAVAREDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
215	TDRPQFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
216	SLTVDEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
217	TENAQFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體

圖1Q

218	WGEHLEY	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
219	QKKVEFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
220	TGYPVFNP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
221	ANSAKFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
222	VGRPQEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
223	TYNPMEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
224	TERPVEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
225	LDLPRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
226	WGSGSIDH	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
227	LDRVCSRW	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
228	NTLPVFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
229	IKPGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
230	TGYPVFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
231	IKPGMFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
232	NMTPRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
233	TERPSFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
234	TNYGTEDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
235	TSRPSFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
236	TYWPAFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
237	IDMPWFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
238	WGTGHHDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
239	NARPSFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體

圖1R

240	NQIVHFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
241	NVMGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
242	TDTPVFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
243	NRTVWFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
244	NRMGSFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
245	VKPGFFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
246	IDQGRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
247	QSLPQFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
248	NELGTFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
249	QKKVEFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
250	IDTPTFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
251	WGYDATLE	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
252	SDGGKFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
253	LDLVRFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
254	ANAGLFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
255	WGTGSNRD	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
256	SETINFDP	V _H CDR3 變體	129-1c4 變體
257	GSYTHGSTFML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
258	SSFTSGIPWAV	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
259	SSFTSGVPWAM	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
260	SSFTSGLQWVV	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
261	SSFTSQIPWAL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體

圖1S

262	SSFTSAEQVM	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
263	SSFTSQPQNL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
264	SSFTSGSTWVL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
265	SSFTSAVPWAI	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
266	SSFTSGAVFVL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
267	SSFTSGIVENL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
268	ASYRDGSTEML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
269	ASFQSGSTEML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
270	ASYQSASTFML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
271	TSYTASSTEML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
272	SAFQSQSTEML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
273	GSYSQQSTEML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
274	GAYSAGSTEML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
275	TSYTOGSTEML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
276	SSFTSGRAFTC	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
277	SSFTSGDHWVL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
278	SSFTSRIPWAV	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
279	SSFTSGKAWVI	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
280	SSFTSAEAWAP	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
281	SSFTSGDRENL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
282	SSFTSYKPHMV	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
283	SSFTSGIQENL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體

圖 1T

284	SSFTSAAREFAL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
285	SSFTSGSRFVL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
286	SSFTSSSLPWAL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
287	SSFTSGIKETL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
288	SSFTSAIPWNL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
289	SSFTSGEQFLL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
290	SSFTSGPRWNL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
291	SSFTSGSTFNL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
292	SSFTSGRRFVL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
293	SSFTSGNVWVL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
294	SSFTSAPAFVV	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
295	SSFTSGKTFVL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
296	SSFTSNIPWAI	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
297	SSFTSSAHEVL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
298	SSFTSGPVENI	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
299	SSFTSDRAFNL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
300	SSFTSEWLWVL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
301	SSFTSQPRWAP	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
302	SSFTSGIRENL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
303	SSFTSGRAFNL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
304	SSFTSGPVENL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
305	SSFTSGQQWVL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體

圖 1U

306	SSFTSGIRENV	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
307	SSFTSGVTWLL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
308	SSFTSGRIENL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
309	SSFTSGIPWIV	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
310	TSYTLGSTEML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
311	TSYTHGSTFML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
312	SSFTSGYAWLL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
313	TSYVMGSTFML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
314	SSFTSGSTFTL	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
315	TSFTSGSTEML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
316	TSSTLGSTFML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
317	TRYVMGSTFML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
318	TSYREGSTEML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
319	ASYQASSTEML	V _L CDR3 變體	129-1c4 變體
320	EVQLLES GGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRTI SRDMSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCAKMG DGTLPNGQG TMVTVSS	全長 V _H -生殖系化	g-194-b09
321	EVQLLES GGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRTI SRDMSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCAKTN SAKFDPMGQG TMVTVSS	全長 V _H -生殖系化	g-194-g09
322	EVQLLES GGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRTI SRDMSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCAKNE RPSFDPNGQG TMVTVSS	全長 V _H -生殖系化	g-196-g03
323	EVQLLES GGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRTI SRDMSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCAKTN SAKFDPMGQG TMVTVSS	全長 V _H -生殖系化	g-196-h02

圖 1V

324	EVQLLESGGG LVQPGSLRL SCAASGETES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGSTYY ADSVKGRETI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYICAKTG YPSFDPWGQG TMVTYSS	全長 V _H -生殖系化	g-194-e01
325	EVQLLESGGG LVQPGSLRL SCAASGETES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGSTYY ADSVKGRETI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYICAKWG TGTLPWPWGQG TMVTYSS	全長 V _H -生殖系化	g-194-e06
326	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLMI SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC SSFTSGLPMV VFGGGTKLTV L	全長 V _L -生殖系化	g-194-b09
327	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLMI SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC SSYTMGSTFM LFGGGTKLTV L	全長 V _L -生殖系化	g-194-g09
328	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLMI SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC TSYTMGSTFM LFGGGTKLTV L	全長 V _L -生殖系化	g-196-g03
329	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLMI SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC TSYTMGSTFM LFGGGTKLTV L	全長 V _L -生殖系化	g-196-h02
330	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLMI SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC TSYRAGSTFM LFGGGTKLTV L	全長 V _L -生殖系化	g-194-e01
331	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLMI SEVNRKPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC SSFTSGLPMV LFGGGTKLTV L	全長 V _L -生殖系化	g-194-e06
332	GAGGTGACGCTGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCATACTACGAGACTCCGTAAGAGGCGG GTTCCACATCTCCAGAGACAATTCCAAGACAGCTGTATCTGCAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACAGCGCGTGTATTACTGTGCGAAATGGGA GACGGGACCTTGAACCGTGGGGCCCAAGGACAATGCTCACCGTCTCCTC A	全長 V _H DNA - 生殖系化	g-194-b09

圖 1W

333	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAOCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCGG GTTACCATCTCCAGAGACAAATCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGCGCGTATTACTGTGCGGAACGAAC TCCGCCAAGTTCCACCCCTGGGCCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCCTC A	全長 V _H DNA - 生殖系化	g-194-g09
334	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAOCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCGG GTTACCATCTCCAGAGACAAATCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGCGCGTATTACTGTGCGGAACGAAC AGGCCGTGTTCCACCCCTGGGCCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCCTC A	全長 V _H DNA - 生殖系化	g-196-g03
335	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAOCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCGG GTTACCATCTCCAGAGACAAATCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGCGCGTATTACTGTGCGGAATGGGA GACGGGACCTTGAACCCCTGGGCCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCCTC A	全長 V _H DNA - 生殖系化	g-196-h02
336	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAOCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTAGCATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCGG GTTACCATCTCCAGAGACAAATCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGCGCGTATTACTGTGCGGAACGAAC TACCCCTCCTTCCAGCCCTGGGGCCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCCTC A	全長 V _H DNA - 生殖系化	g-194-e01

圖 1X

337	GAGGTGACGCTGTTGGAGTCTGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCTCTGTCGACCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTGTAGTGGTACACATACTACGACACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACACGCTGTCTGCAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAATGGGA ACGGGACCTTGTGGCCCTGGGGCCAAAGGGACAATGGTCACCGTCTCCTC A	全長 V _H DNA - 生殖系化	g-194-e08
338	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCCTCCGTGCTGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGTATTAATT ATGTCCTCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCGCCAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGACGCTCATTTACAAGCGGGCTCCCTGGGTC GTCTCGGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTA	全長 V _L DNA - 生殖系化	g-194-b09
339	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCCTCCGTGCTGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGTATTAATT ATGTCCTCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCGCCAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGACGAGCTACAGCATGGGGAGGACACTTTTATG CTATTGGGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTA	全長 V _L DNA - 生殖系化	g-194-g09
340	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCCTCCGTGCTGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGTATTAATT ATGTCCTCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCGCCAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGACCTCGTACCATGGGAGGACACTTTTATG CTATTGGGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTA	全長 V _L DNA - 生殖系化	g-196-g03
341	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCCTCCGTGCTGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGTATTAATT ATGTCCTCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCGCCAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGACCTCGTACCATGGGAGGACACTTTTATG CTATTGGGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTA	全長 V _L DNA - 生殖系化	g-196-h02

圖1Y

342	CAGTCTGCCCTGACTCAGCGCTGCCCTCGGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAAGTAATGACGTTGGTGGCTTATTAATT ATGTCCTCTGGTACCAACACAGCCAGCAAGCCCAAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAACGGCCCTCAGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCTCTCTGACCATCTCTGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGCAGCACTTTTATG CTATTGGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA	全長 V _L DNA - 生殖系化	g-194-e01
343	CAGTCTGCCCTGACTCAGCGCTGCCCTCGGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAAGTAATGACGTTGGTGGCTTATTAATT ATGTCCTCTGGTACCAACACAGCCAGCAAGCCCAAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAACGGCCCTCAGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCTCTCTGACCATCTCTGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGTTGCCGTGGGTG CTCTTCGGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA	全長 V _L DNA - 生殖系化	g-194-e06
344	ASTKGRSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVELFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKENW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHODWLNKG EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSGSEFELY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK	IgG-重鏈恆定區	全部
345	GQPKAAPSVT LFPSSSEELQ ANKATLVCLLI SDFYFGAVTV ANKADSSPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS	IgG-輕鏈恆定區	全部
346	MEWSWVLEFF LSVTTGVHS	重鏈訊號序列	全部
347	MSVPTQVLGL LLLWLTDARC	輕鏈訊號序列	全部

圖 1Z

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)