



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1596313 B

(45) 授权公告日 2010.05.26

(21) 申请号 02826412.6

(22) 申请日 2002.11.26

(30) 优先权数据

09/995,529 2001.11.26 US

10/011,250 2001.12.06 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2004.06.28

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2002/038147 2002.11.26

(87) PCT申请的公布数据

W02003/046204 EN 2003.06.05

(73) 专利权人 细胞基质公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J·D·沃特金斯 W·D·休斯 唐英

D·布勒克 P·C·布鲁克斯

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司

公司 11245

代理人 戈泊 程伟

(51) Int. Cl.

C12P 21/08 (2006.01)

(56) 对比文件

WO 9748418 A1, 1997.12.24, 全文.

WO 0157226 A1, 2001.08.09, 全文.

WO 0023593 A2, 2000.04.27, 全文.

EP 0528767 A1, 1993.02.24, 全文.

审查员 叶青

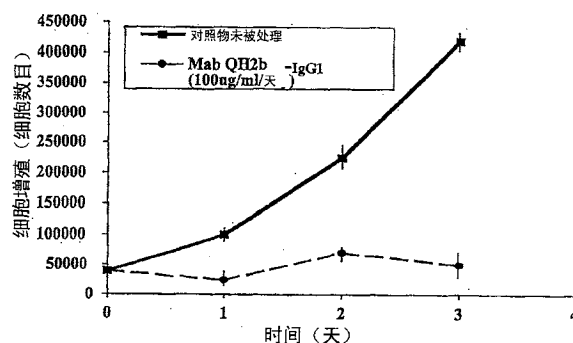
权利要求书 9 页 说明书 138 页 附图 18 页

(54) 发明名称

人源化的胶原抗体及相关方法

(57) 摘要

本发明提供一种经接枝的抗体或其功能性片段,其包括在重链互补决定区(CDR)的一个或多个CDR中具有至少一个氨基酸替换的一个或多个CDR,其中经接枝的抗体或其功能性片段对隐蔽胶原表位具有特异结合活性。本发明还提供一种使用对隐蔽胶原表位具有特异结合活性的抗体的方法,包括抑制血管生成、肿瘤生长及转移的方法。



1. 一种抗体或其功能性片段,所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,所述抗体或其功能片段在一个或多个互补决定区(CDR)包含至少一个氨基酸替换,所述抗体或其功能片段因此特异性与隐蔽胶原表位结合,并且

所述重链可变区包含:

(i) 重链 CDR1,其氨基酸序列为 SEQ ID NO:38,或者氨基酸序列为具有一个或多个以下替换的 SEQ ID NO:38:

(a) 7 位的丝氨酸被脯氨酸或色氨酸替换;或

(b) 12 位的甘氨酸被色氨酸、亮氨酸或丙氨酸替换;

(ii) 重链 CDR2,其氨基酸序列为 SEQ ID NO:40,或者氨基酸序列为具有一个或多个以下替换的 SEQ ID NO:40:

(a) 10 位的酪氨酸被丝氨酸、丙氨酸、脯氨酸或苏氨酸替换;或

(b) 15 位的赖氨酸被脯氨酸替换;和

(iii) 重链 CDR3,其氨基酸序列为 SEQ ID NO:42,或者氨基酸序列为具有一个或多个以下替换的 SEQ ID NO:42:

(a) 1 位的精氨酸被脯氨酸、谷氨酰胺、亮氨酸、苏氨酸或缬氨酸替换;

(b) 6 位的天冬酰胺被缬氨酸或色氨酸替换;

(c) 11 位的蛋氨酸被谷氨酰胺、天冬酰胺或苏氨酸替换;或

(d) 13 位的酪氨酸被亮氨酸、苏氨酸、蛋氨酸或组氨酸替换;

且所述轻链可变区包含:

(iv) 轻链 CDR1,其氨基酸序列为 SEQ ID NO:32,或者氨基酸序列为具有一个或多个以下替换的 SEQ ID NO:32:

(a) 7 位的缬氨酸被脯氨酸或色氨酸替换;

(b) 8 位的组氨酸被亮氨酸或丝氨酸替换;

(c) 9 位的丝氨酸被色氨酸替换;

(d) 10 位的天冬酰胺被酪氨酸、色氨酸或谷氨酰胺替换;

(e) 12 位的天冬酰胺被酪氨酸替换;或

(f) 15 位的亮氨酸被苯丙氨酸或缬氨酸替换;

(v) 轻链 CDR2,其氨基酸序列为 SEQ ID NO:34,或者氨基酸序列为具有一个或多个以下替换的 SEQ ID NO:34:

(a) 1 位的赖氨酸被丝氨酸替换;

(b) 2 位的缬氨酸被丙氨酸替换;

(c) 4 位的天冬酰胺被丝氨酸替换;

(d) 5 位的天冬酰胺被亮氨酸替换;或

(e) 7 位的丝氨酸被色氨酸或苯丙氨酸替换;和

(vi) 轻链 CDR3,其氨基酸序列为 SEQ ID NO:36,或者氨基酸序列为具有一个或多个以下替换的 SEQ ID NO:36:

(a) 1 位的苯丙氨酸被缬氨酸或组氨酸替换;

(b) 2 位的谷氨酰胺被精氨酸或色氨酸替换;

(c) 3 位的甘氨酸被丝氨酸替换;

- (d) 4 位的丝氨酸被色氨酸或谷氨酸替换；
- (e) 5 位的组氨酸被亮氨酸、苏氨酸、丝氨酸、丙氨酸或谷氨酰胺替换；
- (f) 6 位的缬氨酸被苏氨酸或苯丙氨酸替换；或
- (g) 9 位的苏氨酸被丙氨酸、精氨酸、组氨酸、赖氨酸或异亮氨酸替换；

且所述抗体或其抗原结合片段因此具有至少一个所述任何替换；或者是，所述重链可变区包含：

(i) 重链 CDR1，其氨基酸序列为 SEQ ID NO :26，或者氨基酸序列为具有一个或多个以下替换的 SEQ ID NO :26：

- (a) 6 位的精氨酸被组氨酸替换；
- (b) 9 位的蛋氨酸被异亮氨酸替换；或
- (c) 10 位的丝氨酸被苏氨酸、丙氨酸或甘氨酸替换；

(ii) 重链 CDR2，其氨基酸序列为 SEQ ID NO :28，或者氨基酸序列为具有一个或多个以下替换的 SEQ ID NO :28：

- (a) 9 位的异亮氨酸被丙氨酸、丝氨酸、缬氨酸替换；
- (b) 14 位的丝氨酸被酪氨酸、丙氨酸、组氨酸或甘氨酸替换；
- (c) 16 位的赖氨酸被天冬氨酸或谷氨酰胺替换；或
- (d) 17 位的天冬氨酸被赖氨酸或丝氨酸替换；和

(iii) 重链 CDR3，其氨基酸序列为 SEQ ID NO :30，或者氨基酸序列为具有一个或多个以下替换的 SEQ ID NO :30：

- (a) 3 位的天冬氨酸被脯氨酸、甘氨酸、苏氨酸或丙氨酸替换；
- (b) 4 位的甘氨酸被脯氨酸、丙氨酸或组氨酸替换；或
- (c) 11 位的酪氨酸被脯氨酸或天冬酰胺或苏氨酸替换；

且所述轻链可变区包含：

(iv) 轻链 CDR1，其氨基酸序列为 SEQ ID NO :20，或者氨基酸序列为具有一个或多个以下替换的 SEQ ID NO :20：

- (a) 4 位的谷氨酰胺被精氨酸或丝氨酸替换；
- (b) 8 位的天冬酰胺被丝氨酸替换；
- (c) 9 位的丝氨酸被酪氨酸、色氨酸、组氨酸或精氨酸替换；
- (d) 10 位的甘氨酸被酪氨酸、精氨酸、组氨酸或异亮氨酸替换；或
- (e) 12 位的谷氨酰胺被赖氨酸替换；

(v) 轻链 CDR2，其氨基酸序列为 SEQ ID NO :22；和

(vi) 轻链 CDR3，其氨基酸序列为 SEQ ID NO :24，或者氨基酸序列为具有一个或多个以下替换的 SEQ ID NO :24：

(a) 5 位的丝氨酸被谷氨酰胺、甘氨酸、亮氨酸、丙氨酸、苏氨酸或缬氨酸替换；或

(b) 6 位的酪氨酸被天冬酰胺、丝氨酸、脯氨酸或蛋氨酸替换；且所述抗体或其抗原结合片段因此具有至少一个所述任何替换。

2. 根据权利要求 1 所述的抗体或其功能性片段，所述的 CDR 选自如下的 CDR:SEQ ID NO :26 的氨基酸 6-10；SEQ ID NO :28；SEQ ID NO :30；SEQ ID NO :20；SEQ ID NO :22；SEQ ID NO :24；SEQ ID NO :43 的氨基酸 6-10；SEQ ID NO :44 的氨基酸 6-10；SEQ ID NO :45 的氨基

酸6-10;SEQ ID NO:46的氨基酸6-10;SEQ ID NO:47的氨基酸6-10;SEQ ID NO:48;SEQ ID NO:49;SEQ ID NO:50;SEQ ID NO:51;SEQ ID NO:52;SEQ ID NO:53;SEQ ID NO:54;SEQ ID NO:55;SEQ ID NO:56;SEQ ID NO:57;SEQ ID NO:58;SEQ ID NO:59;SEQ ID NO:60;SEQ ID NO:61;SEQ ID NO:62;SEQ ID NO:63;SEQ ID NO:64;SEQ ID NO:65;SEQ ID NO:66;SEQ ID NO:67;SEQ ID NO:68;SEQ ID NO:69;SEQ ID NO:70;SEQ ID NO:71;SEQ ID NO:72;SEQ ID NO:73;SEQ ID NO:74;SEQ ID NO:75;SEQ ID NO:76;SEQ ID NO:77;SEQ ID NO:78;SEQ ID NO:79;SEQ ID NO:80;SEQ ID NO:81;SEQ ID NO:82;SEQ ID NO:83;SEQ ID NO:84;SEQ ID NO:85;SEQ ID NO:86;SEQ ID NO:154;SEQ ID NO:155;SEQ ID NO:156;SEQ ID NO:157;SEQ ID NO:158;SEQ ID NO:159;SEQ ID NO:160;SEQ ID NO:161;或SEQ ID NO:162。

3. 根据权利要求2所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作SEQ ID NO:26的氨基酸6-10的重链CDR1;被称作SEQ ID NO:28的重链CDR2;被称作SEQ ID NO:63的重链CDR3;被称作SEQ ID NO:20的轻链CDR1;被称作SEQ ID NO:22的轻链CDR2;和被称作SEQ ID NO:77的轻链CDR3。

4. 根据权利要求2所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作SEQ ID NO:26的氨基酸6-10的重链CDR1;被称作SEQ ID NO:28的重链CDR2;被称作SEQ ID NO:63的重链CDR3;被称作SEQ ID NO:72的轻链CDR1;被称作SEQ ID NO:22的轻链CDR2;和被称作SEQ ID NO:77的轻链CDR3。

5. 根据权利要求2所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作SEQ ID NO:26的氨基酸6-10的重链CDR1;被称作SEQ ID NO:48的重链CDR2;被称作SEQ ID NO:63的重链CDR3;被称作SEQ ID NO:20的轻链CDR1;被称作SEQ ID NO:22的轻链CDR2;和被称作SEQ ID NO:77的轻链CDR3。

6. 根据权利要求2所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作SEQ ID NO:45的氨基酸6-10的重链CDR1;被称作SEQ ID NO:154的重链CDR2;被称作SEQ ID NO:63的重链CDR3;被称作SEQ ID NO:157的轻链CDR1;被称作SEQ ID NO:22的轻链CDR2;和被称作SEQ ID NO:77的轻链CDR3。

7. 根据权利要求2所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作SEQ ID NO:26的氨基酸6-10的重链CDR1;被称作SEQ ID NO:155的重链CDR2;被称作SEQ ID NO:63的重链CDR3;被称作SEQ ID NO:158的轻链CDR1;被称作SEQ ID NO:22的轻链CDR2;和被称作SEQ ID NO:77的轻链CDR3。

8. 根据权利要求2所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作SEQ ID NO:46的氨基酸6-10的重链CDR1;被称作SEQ ID NO:155的重链CDR2;被称作SEQ ID NO:63的重链CDR3;被称作SEQ ID NO:159的轻链CDR1;被称作SEQ ID NO:22的轻链CDR2;和被称作SEQ ID NO:77的轻链CDR3。

9. 根据权利要求2所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作SEQ ID NO:26的氨基酸6-10的重链CDR1;被称作SEQ ID NO:48的重链CDR2;被称作SEQ ID NO:63的重链CDR3;被称作SEQ ID NO:160的轻链CDR1;被称作SEQ ID NO:22的轻链CDR2;和被称作SEQ ID NO:77的轻链CDR3。

10. 根据权利要求2所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作SEQ ID NO:45的氨

基酸 6-10 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :155 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :72 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。

11. 根据权利要求 2 所述的抗体或其功能性片段,其包括 :被称作 SEQ ID NO :26 的氨基酸 6-10 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :155 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :157 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。

12. 根据权利要求 2 所述的抗体或其功能性片段,其包括 :被称作 SEQ ID NO :45 的氨基酸 6-10 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :155 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :160 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。

13. 根据权利要求 2 所述的抗体或其功能性片段,其包括 :被称作 SEQ ID NO :46 的氨基酸 6-10 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :155 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :160 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。

14. 根据权利要求 2 所述的抗体或其功能性片段,其包括 :被称作 SEQ ID NO :45 的氨基酸 6-10 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :162 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :158 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。

15. 根据权利要求 2 所述的抗体或其功能性片段,其包括 :被称作 SEQ ID NO :45 的氨基酸 6-10 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :156 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :157 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。

16. 根据权利要求 2 所述的抗体或其功能性片段,其包括 :被称作 SEQ ID NO :26 的氨基酸 6-10 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :154 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :157 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。

17. 根据权利要求 2 所述的抗体或其功能性片段,其包括 :被称作 SEQ ID NO :45 的氨基酸 6-10 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :155 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :157 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。

18. 根据权利要求 2 所述的抗体或其功能性片段,其包括 :被称作 SEQ ID NO :46 的氨基酸 6-10 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :154 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :161 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。

19. 根据权利要求 2 所述的抗体或其功能性片段,其包括 :被称作 SEQ ID NO :46 的氨基酸 6-10 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :156 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :161 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。

20. 根据权利要求 2 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:46 的氨基酸 6-10 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:28 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:20 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3。

21. 根据权利要求 1 所述的抗体或其功能性片段,其包括重链多肽,该重链多肽包含第一、第二和第三 CDR,所述的第一 CDR 选自:SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:43;SEQ ID NO:44;SEQ ID NO:45;SEQ ID NO:46;或 SEQ ID NO:47,所述的第二 CDR 选自:SEQ ID NO:28,SEQ ID NO:48,SEQ ID NO:49,SEQ ID NO:50,SEQ ID NO:51,SEQ ID NO:52,SEQ ID NO:53,SEQ ID NO:54 或 SEQ ID NO:55,所述的第三 CDR 选自:SEQ ID NO:30,SEQ ID NO:56,SEQ ID NO:57,SEQ ID NO:58,SEQ ID NO:59,SEQ ID NO:60,SEQ ID NO:61,SEQ ID NO:62,SEQ ID NO:63 或 SEQ ID NO:64。

22. 根据权利要求 1 所述的抗体或其功能性片段,其包括轻链多肽,该轻链多肽包含第一、第二和第三 CDR,所述的第一 CDR 选自:SEQ ID NO:20,65,66,67,68,69,70,71,72,73,74,75 或 76,所述的第二 CDR 由 SEQ ID NO:22 组成,所述的第三 CDR 选自:SEQ ID NO:24,77,78,79,80,81,82,83,84,85 或 86。

23. 根据权利要求 1 所述的抗体或其功能性片段,所述的 CDR 选自:SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;SEQ ID NO:36;SEQ ID NO:87;SEQ ID NO:88;SEQ ID NO:89;SEQ ID NO:90;SEQ ID NO:91;SEQ ID NO:92;SEQ ID NO:93;SEQ ID NO:94;SEQ ID NO:95;SEQ ID NO:96;SEQ ID NO:97;SEQ ID NO:98;SEQ ID NO:99;SEQ ID NO:100;SEQ ID NO:101;SEQ ID NO:102;SEQ ID NO:103;SEQ ID NO:104;SEQ ID NO:105;SEQ ID NO:106;SEQ ID NO:107;SEQ ID NO:108;SEQ ID NO:109;SEQ ID NO:110;SEQ ID NO:111;SEQ ID NO:112;SEQ ID NO:113;SEQ ID NO:114;SEQ ID NO:115;SEQ ID NO:116;SEQ ID NO:117;SEQ ID NO:118;SEQ ID NO:119;SEQ ID NO:120;SEQ ID NO:121;SEQ ID NO:122;SEQ ID NO:123;SEQ ID NO:124;SEQ ID NO:125;SEQ ID NO:126;SEQ ID NO:127;SEQ ID NO:127;SEQ ID NO:128;SEQ ID NO:129;SEQ ID NO:130;SEQ ID NO:131;SEQ ID NO:132;SEQ ID NO:133;SEQ ID NO:134;SEQ ID NO:135;SEQ ID NO:136;SEQ ID NO:137;SEQ ID NO:138;SEQ ID NO:139;SEQ ID NO:140;SEQ ID NO:141;SEQ ID NO:142;SEQ ID NO:143;SEQ ID NO:144;SEQ ID NO:145;SEQ ID NO:146;SEQ ID NO:147;SEQ ID NO:148;SEQ ID NO:149;SEQ ID NO:150;SEQ ID NO:151;SEQ ID NO:152;SEQ ID NO:153;或 SEQ ID NO:358。

24. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:38 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:40 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:32 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;及被称作 SEQ ID NO:36 的轻链 CDR3。

25. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:38 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:92 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:32 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;及被称作 SEQ ID NO:130 的轻链 CDR3。

26. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的

重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :92 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :149 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :130 的轻链 CDR3。

27. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :92 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :150 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :130 的轻链 CDR3。

28. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :93 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :149 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :130 的轻链 CDR3。

29. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :144 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :149 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :130 的轻链 CDR3。

30. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :93 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :151 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :130 的轻链 CDR3。

31. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :92 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :151 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :130 的轻链 CDR3。

32. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :93 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :152 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 ;及被称作 SEQ ID NO :358 的轻链 CDR3。

33. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO :148 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :93 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :150 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :130 的轻链 CDR3。

34. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :93 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :115 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :130 的轻链 CDR3。

35. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :40 的重链 CDR2 ;被称作 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;被称作 SEQ ID NO :153 的轻链 CDR1 ;被称作 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 ;和被称作 SEQ ID NO :130 的轻链 CDR3。

36. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:92 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:116 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:130 的轻链 CDR3。

37. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:93 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:116 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:130 的轻链 CDR3。

38. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:38 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:93 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:32 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:130 的轻链 CDR3。

39. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:38 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:92 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:32 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:36 的轻链 CDR3。

40. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:92 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:149 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:36 的轻链 CDR3。

41. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:92 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:150 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:36 的轻链 CDR3。

42. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:93 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:149 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:36 的轻链 CDR3。

43. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:144 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:149 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:36 的轻链 CDR3。

44. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:93 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:151 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:36 的轻链 CDR3。

45. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:92 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:151 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:

36 的轻链 CDR3。

46. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:93 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:152 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:145 的轻链 CDR3。

47. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:148 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:93 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:150 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:36 的轻链 CDR3。

48. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:93 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:115 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:36 的轻链 CDR3。

49. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:40 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:153 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:36 的轻链 CDR3。

50. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:92 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:116 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:36 的轻链 CDR3。

51. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括:被称作 SEQ ID NO:147 的重链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:93 的重链 CDR2;被称作 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;被称作 SEQ ID NO:116 的轻链 CDR1;被称作 SEQ ID NO:34 的轻链 CDR2;和被称作 SEQ ID NO:36 的轻链 CDR3。

52. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括重链多肽,该重链多肽包含第一,第二,及第三 CDR,所述的第一 CDR 选自 SEQ ID NOS:38;87;88;89;90;91;147;或 148;所述的第二 CDR 选自 SEQ ID NOS:40,92,93,94,95 或 144;所述的第三 CDR 选自 SEQ ID NOS:42,96,97,98,99,100,101,102,103,104,105,106,107,108 或 109。

53. 根据权利要求 23 所述的抗体或其功能性片段,其包括轻链多肽,该轻链多肽包含第一,第二,及第三 CDR,所述的第一 CDR 选自 SEQ ID NOS:32,110,111,112,113,114,115,116,117,118,119,146,149,150,151,152 或 153;所述的第二 CDR 选自 SEQ ID NOS:34,120,121,122,123,124 或 125;所述的第三 CDR 选自 SEQ ID NOS:36,126,127,128,129,130,131,132,133,134,135,136,137,138,139,140,141,142,143,145 或 358。

54. 根据权利要求 41-53 中任一项所述的功能性片段,其中所述功能性片段选自 Fv、Fab、F(ab)₂ 或 scFV。

55. 一种核苷酸,其编码根据权利要求 1-53 中任一项所述的抗体或其功能性片段。

56. 根据权利要求 1-54 任一项所述的抗体或其功能性片段在制备用于靶向血管生成脉管系统的药物中的应用。

57. 根据权利要求 56 所述的应用,其中所述抗体或其功能性片段另外包括治疗性半族。

58. 根据权利要求 56 所述的应用,其中所述抗体或其功能性片段另外包括可探测性半族。

59. 根据权利要求 1-54 任一项所述的抗体或其功能性片段在制备用于抑制血管生成的药物中的应用。

60. 根据权利要求 59 所述的应用,其中所述抗体或其功能性片段另外包括治疗性半族。

61. 根据权利要求 1-54 任一项所述的抗体或其功能性片段在制备用于靶向肿瘤的药物中的应用。

62. 根据权利要求 61 的应用,其中所述抗体或其功能性片段另外包括治疗性半族。

63. 根据权利要求 61 的应用,其中所述抗体或其功能性片段另外包括可探测性半族。

64. 根据权利要求 1-54 任一项所述的抗体或其功能性片段在制备用于抑制肿瘤生长的药物中的应用。

65. 根据权利要求 64 所述的应用,其中所述的抗体或其功能性片段另外包括治疗性半族。

66. 根据权利要求 1-54 任一项所述的抗体或其功能性片段在制备用于探测血管生成的脉管系统的药物中的应用。

67. 根据权利要求 66 的应用,其中所述抗体或其功能性片段另外包括可探测性半族。

68. 根据权利要求 1-54 任一项所述的抗体或其功能性片段,其中重链 CDR 被接枝到被称作 SEQ ID NO :8 的 VHIII/JH6 重链可变框架区。

人源化的胶原抗体及相关方法

技术领域

[0001] 本发明一般性涉及免疫学且更具体而言涉及人源化的抗体及其用途。

背景技术

[0002] 细胞外基质 (ECM) 在正常和病理过程的调控中起主要作用。在 ECM 中所发现的表达最多的成份是胶原。已知三螺旋胶原对蛋白水解分裂作用抵抗力很强,除非通过基质金属蛋白酶 (MMP) 家族酶的成员进行该作用。

[0003] 血管生成和肿瘤生长取决于细胞与细胞外基质之间的相互作用。血管生成和肿瘤侵袭期间,皮内细胞和肿瘤细胞都经蛋白水解重塑其细胞外的微环境。然后这些侵袭性细胞与此新近重塑的细胞外基质相互作用,接着进行迁移和侵袭。所以,血管周围的基底膜主要成份是 IV 型胶原。另外, I 型胶原是细胞间基质的主要成份。

[0004] 癌症进展主要的不利影响之一是在原发性肿瘤部位之外的转移。此转移常常需要更积极的治疗,并且转移一旦发生,那么癌症患者生存的预后急剧下降。

[0005] 所有实性肿瘤的生长都需要新的血管生长以用于肿瘤连续扩张,尤其是最小尺寸之外的肿瘤连续扩张。因为肿瘤生长需要血管生成,所以抑制血管生成是抑制肿瘤生长的一种途径。因此,希望鉴别以血管生成的脉管系统为目标的分子。尤其引人注意的瞄准血管生成脉管系统的分子是能与血管生成脉管系统特异结合的抗体。然而,由于大多数抗体在非人类动物(例如小鼠)中发展出来,因此这些抗体经常具有限制其对人用治疗效能的不良致免疫活性。

[0006] 一种克服非人类抗体不良特性的途径是通过使用经剪接的人类抗体框架区序列和提供结合特异性的结合结构域一起来使抗体人源化。然而,这些被成为互补决定区 (CDR) 的结合结构域移植人类框架中经常导致结合亲合力的丧失。

[0007] 因此,需要鉴别对血管生成脉管系统具有特异性的抗体并需要人源化和优化用于治疗目的的抗体。以下发明满足了此需要并且也提供了相关优势。

发明内容

[0008] 本发明提供经接枝的抗体或其功能性片断,包括在重链互补决定区 (CDR) 的一个或多个 CDR 中具有至少一个氨基酸替换的一个或多个 CDR,其中经接枝的抗体或其功能性片断具有对隐蔽胶原表位的特异结合活性。本发明也提供

[0009] 使用对隐蔽胶原表位具有特异结合活性的抗体的方法,包括抑制血管生成、肿瘤生长及转移的方法。

[0010] 本发明提供了一种经接枝的抗体或其功能性片段,其包括以下互补决定区 (CDR) : SEQ ID NO :26 ;SEQ ID NO :28 ;SEQ ID NO :30 ;SEQ ID NO :20 ;SEQ IDNO :22 ;和SEQ ID NO :24 ;其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一个氨基酸替换,而且,该经接枝的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0011] 本发明还提供了一种抗体或其功能性片段,其包括六个 CDR,其中,所述的 CDR 选

自引证如下的 CDR:SEQ ID NO:26 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;SEQ ID NO:24;SEQ ID NO:43 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:44 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:45 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:46 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:47 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:48;SEQ ID NO:49;SEQ ID NO:50;SEQ ID NO:51;SEQ ID NO:52;SEQ ID NO:53;SEQ ID NO:54;SEQ ID NO:55;SEQ ID NO:56;SEQ ID NO:57;SEQ ID NO:58;SEQ ID NO:59;SEQ ID NO:60;SEQ ID NO:61;SEQ ID NO:62;SEQ ID NO:63;SEQ ID NO:64;SEQ ID NO:65;SEQ ID NO:66;SEQ ID NO:67;SEQ ID NO:68;SEQ ID NO:69;SEQ ID NO:70;SEQ ID NO:71;SEQ ID NO:72;SEQ ID NO:73;SEQ ID NO:74;SEQ ID NO:75;SEQ ID NO:76;SEQ ID NO:77;SEQ ID NO:78;SEQ ID NO:79;SEQ ID NO:80;SEQ ID NO:81;SEQ ID NO:82;SEQ ID NO:83;SEQ ID NO:84;SEQ ID NO:85;SEQ ID NO:86;SEQ ID NO:154;SEQ ID NO:155;SEQ ID NO:156;SEQ ID NO:157;SEQ ID NO:158;SEQ ID NO:159;SEQ ID NO:160;SEQ ID NO:161;或 SEQ ID NO:162;上述的抗体或功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。其中所述的抗体或功能片段不包括以下 6 个 CDR:SEQ ID NO:26 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;及 SEQ ID NO:24。

[0012] 本发明还提供了一种抗体或其功能性片段,其包括由第一、第二和第三 CDR 组成的重链多肽,所述的第一 CDR 选自:SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:43;SEQ ID NO:44;SEQ ID NO:45;SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:47,所述的第二 CDR 选自:SEQ ID NO:28,SEQ ID NO:48,SEQ ID NO:49,SEQ ID NO:50,SEQ ID NO:51,SEQ ID NO:52,SEQ ID NO:53,SEQ ID NO:54,或 SEQ ID NO:55,所述的第三 CDR 选自:SEQ ID NO:30,SEQ ID NO:56,SEQ ID NO:57,SEQ ID NO:58,SEQ ID NO:59,SEQ ID NO:60,SEQ ID NO:61,SEQ ID NO:62,SEQ ID NO:63,或 SEQ ID NO:64,其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0013] 本发明还提供了一种抗体或其功能性片段,其包括由第一、第二和第三 CDR 组成的轻链多肽,所述的第一 CDR 选自:SEQ ID NO:20,65,66,67,68,69,70,71,72,73,74,75,或 76,所述的第二 CDR 由 SEQ ID NO:22 组成,所述的第三 CDR 选自:SEQ ID NO:24,77,78,79,80,81,82,83,84,85,或 86,其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0014] 本发明进一步提供了编码上述任一抗体的核苷酸。

[0015] 本发明还提供了包括互补决定区 (CDR):SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22 和 SEQ ID NO:24 的抗体或其功能性片段在制备用于瞄准血管生成脉管系统的药物中的应用,其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0016] 本发明进一步提供抗体或其功能性片段在制备用于瞄准血管生成脉管系统的药物中的应用,其中所述的抗体或功能性片段包括选自于引证如下的六个 CDR:SEQ ID NO:26 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;SEQ ID NO:24;SEQ ID NO:43 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:44 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:45 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:46 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:47 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:48;SEQ ID NO:49;SEQ ID NO:50;SEQ ID NO:51;SEQ ID NO:52;SEQ ID NO:53;SEQ ID NO:54;SEQ

ID NO:55;SEQ ID NO:56;SEQ IDNO:57;SEQ ID NO:58;SEQ ID NO:59;SEQ ID NO:60;SEQ ID NO:61;SEQ IDNO:62;SEQ ID NO:63;SEQ ID NO:64;SEQ ID NO:65;SEQ ID NO:66;SEQ IDNO:67;SEQ ID NO:68;SEQ ID NO:69;SEQ ID NO:70;SEQ ID NO:71;SEQ IDNO:72;SEQ ID NO:73;SEQ ID NO:74;SEQ ID NO:75;SEQ ID NO:76;SEQ IDNO:77;SEQ ID NO:78;SEQ ID NO:79;SEQ ID NO:80;SEQ ID NO:81;SEQ IDNO:82;SEQ ID NO:83;SEQ ID NO:84;SEQ ID NO:85;SEQ ID NO:86;SEQ IDNO:154;SEQ ID NO:155;SEQ ID NO:156;SEQ ID NO:157;SEQ ID NO:158;SEQID NO:159;SEQ ID NO:160;SEQ ID NO:161;或SEQ ID NO:162;其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,而且其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个CDR:SEQ ID NO:26的氨基酸6-10;SEQ IDNO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;和SEQ ID NO:24。

[0017] 本发明还提供了抗体或其功能性片段在制备用于抑制血管生成的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括互补决定区(CDR):SEQ ID NO:26;SEQ IDNO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;和SEQ ID NO:24;其中,至少有一个所述的CDR具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0018] 本发明还提供了抗体或其功能性片段在制备用于抑制血管生成的药物中的应用,其中所述抗体或其功能性片段包括选择于以下组的六个CDR:SEQ ID NO:26的氨基酸6-10;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;SEQID NO:24;SEQ ID NO:43的氨基酸6-10;SEQ ID NO:44的氨基酸6-10;SEQ IDNO:45的氨基酸6-10;SEQ ID NO:46的氨基酸6-10;SEQ ID NO:47的氨基酸6-10;SEQ ID NO:48;SEQ ID NO:49;SEQ ID NO:50;SEQ ID NO:51;SEQ ID NO:52;SEQID NO:53;SEQ ID NO:54;SEQ ID NO:55;SEQ ID NO:56;SEQ ID NO:57;SEQ IDNO:58;SEQ ID NO:59;SEQ ID NO:60;SEQ ID NO:61;SEQ ID NO:62;SEQ IDNO:63;SEQ ID NO:64;SEQ ID NO:65;SEQ ID NO:66;SEQ ID NO:67;SEQ IDNO:68;SEQ ID NO:69;SEQ ID NO:70;SEQ ID NO:71;SEQ ID NO:72;SEQ IDNO:73;SEQ ID NO:74;SEQ ID NO:75;SEQ ID NO:76;SEQ ID NO:77;SEQ IDNO:78;SEQ ID NO:79;SEQ ID NO:80;SEQ ID NO:81;SEQ ID NO:82;SEQ IDNO:83;SEQ ID NO:84;SEQ ID NO:85;SEQ ID NO:86;SEQ ID NO:154;SEQ IDNO:155;SEQ ID NO:156;SEQ ID NO:157;SEQ ID NO:158;SEQ ID NO:159;SEQID NO:160;SEQ ID NO:161;或SEQ ID NO:162;其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个CDR:SEQ ID NO:26的氨基酸6-10;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;和SEQ ID NO:24。

[0019] 本发明还提供了抗体或其功能性片段在制备用于瞄准肿瘤的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括互补决定区(CDR):SEQ ID NO:26;SEQ IDNO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;和SEQ ID NO:24;其中,至少有一个所述的CDR具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0020] 本发明还提供了抗体或其功能性片段在制备用于瞄准肿瘤的药物中的应用,其中所述抗体或其功能性片段包括选自引证如下的六个CDR:SEQ ID NO:26的氨基酸6-10;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;SEQ IDNO:24;SEQ ID NO:43的氨

氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :44 的氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :45 的氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :46 的氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :47 的氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :48 ;SEQ ID NO :49 ;SEQ ID NO :50 ;SEQ ID NO :51 ;SEQ ID NO :52 ;SEQ ID NO :53 ;SEQ ID NO :54 ;SEQ ID NO :55 ;SEQ ID NO :56 ;SEQ ID NO :57 ;SEQ ID NO :58 ;SEQ ID NO :59 ;SEQ ID NO :60 ;SEQ ID NO :61 ;SEQ ID NO :62 ;SEQ ID NO :63 ;SEQ ID NO :64 ;SEQ ID NO :65 ;SEQ ID NO :66 ;SEQ ID NO :67 ;SEQ ID NO :68 ;SEQ ID NO :69 ;SEQ ID NO :70 ;SEQ ID NO :71 ;SEQ ID NO :72 ;SEQ ID NO :73 ;SEQ ID NO :74 ;SEQ ID NO :75 ;SEQ ID NO :76 ;SEQ ID NO :77 ;SEQ ID NO :78 ;SEQ ID NO :79 ;SEQ ID NO :80 ;SEQ ID NO :81 ;SEQ ID NO :82 ;SEQ ID NO :83 ;SEQ ID NO :84 ;SEQ ID NO :85 ;SEQ ID NO :86 ;SEQ ID NO :154 ;SEQ ID NO :155 ;SEQ ID NO :156 ;SEQ ID NO :157 ;SEQ ID NO :158 ;SEQ ID NO :159 ;SEQ ID NO :160 ;SEQ ID NO :161 ;或 SEQ ID NO :162 ;其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个 CDR :SEQ ID NO :26 的氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :28 ;SEQ ID NO :30 ;SEQ ID NO :20 ;SEQ ID NO :22 ;和 SEQ ID NO :24。

[0021] 本发明还提供了抗体或其功能性片段在制备用于抑制肿瘤生长的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括互补决定区 (CDR) :SEQ ID NO :26 ;SEQ ID NO :28 ;SEQ ID NO :30 ;SEQ ID NO :20 ;SEQ ID NO :22 ;和 SEQ ID NO :24 ;其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0022] 本发明还提供了抗体或其功能性片段在制备用于抑制肿瘤生长的药物中的应用,其中所述抗体或其功能性片段包括选自引证如下的六个 CDR :SEQ ID NO :26 的氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :28 ;SEQ ID NO :30 ;SEQ ID NO :20 ;SEQ ID NO :22 ;SEQ ID NO :24 ;SEQ ID NO :43 的氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :44 的氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :45 的氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :46 的氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :47 的氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :48 ;SEQ ID NO :49 ;SEQ ID NO :50 ;SEQ ID NO :51 ;SEQ ID NO :52 ;SEQ ID NO :53 ;SEQ ID NO :54 ;SEQ ID NO :55 ;SEQ ID NO :56 ;SEQ ID NO :57 ;SEQ ID NO :58 ;SEQ ID NO :59 ;SEQ ID NO :60 ;SEQ ID NO :61 ;SEQ ID NO :62 ;SEQ ID NO :63 ;SEQ ID NO :64 ;SEQ ID NO :65 ;SEQ ID NO :66 ;SEQ ID NO :67 ;SEQ ID NO :68 ;SEQ ID NO :69 ;SEQ ID NO :70 ;SEQ ID NO :71 ;SEQ ID NO :72 ;SEQ ID NO :73 ;SEQ ID NO :74 ;SEQ ID NO :75 ;SEQ ID NO :76 ;SEQ ID NO :77 ;SEQ ID NO :78 ;SEQ ID NO :79 ;SEQ ID NO :80 ;SEQ ID NO :81 ;SEQ ID NO :82 ;SEQ ID NO :83 ;SEQ ID NO :84 ;SEQ ID NO :85 ;SEQ ID NO :86 ;SEQ ID NO :154 ;SEQ ID NO :155 ;SEQ ID NO :156 ;SEQ ID NO :157 ;SEQ ID NO :158 ;SEQ ID NO :159 ;SEQ ID NO :160 ;SEQ ID NO :161 ;或 SEQ ID NO :162 ;其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个 CDR :SEQ ID NO :26 的氨基酸 6-10 ;SEQ ID NO :28 ;SEQ ID NO :30 ;SEQ ID NO :20 ;SEQ ID NO :22 ;和 SEQ ID NO :24。

[0023] 本发明提供了抗体或其功能性片段在制备用于探测血管生成的脉管系统的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括互补决定区 (CDR) :SEQ ID NO :26 ;SEQ ID NO :28 ;SEQ ID NO :30 ;SEQ ID NO :20 ;SEQ ID NO :22 ;和 SEQ ID NO :24 ;其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0024] 本发明还提供了抗体或其功能性片段在制备用于探测血管生成的脉管系统的药物中的应用,其中所述抗体或其功能性片段包括选自引证如下的六个 CDR:SEQ ID NO:26 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;SEQ ID NO:24;ID NO:43;SEQ ID NO:44 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:45 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:46 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:47 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:48;SEQ ID NO:49;SEQ ID NO:50;SEQ ID NO:51;SEQ ID NO:52;SEQ ID NO:53;SEQ ID NO:54;SEQ ID NO:55;SEQ ID NO:56;SEQ ID NO:57;SEQ ID NO:58;SEQ ID NO:59;SEQ ID NO:60;SEQ ID NO:61;SEQ ID NO:62;SEQ ID NO:63;SEQ ID NO:64;SEQ ID NO:65;SEQ ID NO:66;SEQ ID NO:67;SEQ ID NO:68;SEQ ID NO:69;SEQ ID NO:70;SEQ ID NO:71;SEQ ID NO:72;SEQ ID NO:73;SEQ ID NO:74;SEQ ID NO:75;SEQ ID NO:76;SEQ ID NO:77;SEQ ID NO:78;SEQ ID NO:79;SEQ ID NO:80;SEQ ID NO:81;SEQ ID NO:82;SEQ ID NO:83;SEQ ID NO:84;SEQ ID NO:85;SEQ ID NO:86;SEQ ID NO:154;SEQ ID NO:155;SEQ ID NO:156;SEQ ID NO:157;SEQ ID NO:158;SEQ ID NO:159;SEQ ID NO:160;SEQ ID NO:161;或 SEQ ID NO:162;其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个 CDR:SEQ ID NO:26 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;和 SEQ ID NO:24。

[0025] 本发明提供了抗体或其功能性片段在制备用于抑制转移的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括互补决定区 (CDR):SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;和 SEQ ID NO:24;其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0026] 本发明还提供了抗体或其功能性片段在制备用于抑制转移的药物中的应用,其中所述抗体或其功能性片段包括选自引证如下的六个 CDR:SEQ ID NO:26 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;SEQ ID NO:24;SEQ ID NO:43 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:44 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:45 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:46 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:47 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:48;SEQ ID NO:49;SEQ ID NO:50;SEQ ID NO:51;SEQ ID NO:52;SEQ ID NO:53;SEQ ID NO:54;SEQ ID NO:55;SEQ ID NO:56;SEQ ID NO:57;SEQ ID NO:58;SEQ ID NO:59;SEQ ID NO:60;SEQ ID NO:61;SEQ ID NO:62;SEQ ID NO:63;SEQ ID NO:64;SEQ ID NO:65;SEQ ID NO:66;SEQ ID NO:67;SEQ ID NO:68;SEQ ID NO:69;SEQ ID NO:70;SEQ ID NO:71;SEQ ID NO:72;SEQ ID NO:73;SEQ ID NO:74;SEQ ID NO:75;SEQ ID NO:76;SEQ ID NO:77;SEQ ID NO:78;SEQ ID NO:79;SEQ ID NO:80;SEQ ID NO:81;SEQ ID NO:82;SEQ ID NO:83;SEQ ID NO:84;SEQ ID NO:85;SEQ ID NO:86;SEQ ID NO:154;SEQ ID NO:155;SEQ ID NO:156;SEQ ID NO:157;SEQ ID NO:158;SEQ ID NO:159;SEQ ID NO:160;SEQ ID NO:161;或 SEQ ID NO:162;其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个 CDR:SEQ ID NO:26 的氨基酸 6-10;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:20;SEQ ID NO:22;和 SEQ ID NO:24。

[0027] 本发明还提供了一种经接枝的抗体或其功能性片段,其包括以下的互补决定区 (CDR):SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;和 SEQ

ID NO:36;其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的经接枝的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0028] 本发明还提供了一种抗体或其功能性片段,其包括六个 CDR,其中所述的 CDR 选自:SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;SEQ ID NO:36;SEQ ID NO:87;SEQ ID NO:88;SEQ ID NO:89;SEQ ID NO:90;SEQ ID NO:91;SEQ ID NO:92;SEQ ID NO:93;SEQ ID NO:94;SEQ ID NO:95;SEQ ID NO:96;SEQ ID NO:97;SEQ ID NO:98;SEQ ID NO:99;SEQ ID NO:100;SEQ ID NO:101;SEQ ID NO:102;SEQ ID NO:103;SEQ ID NO:104;SEQ ID NO:105;SEQ ID NO:106;SEQ ID NO:107;SEQ ID NO:108;SEQ ID NO:109;SEQ ID NO:110;SEQ ID NO:111;SEQ ID NO:112;SEQ ID NO:113;SEQ ID NO:114;SEQ ID NO:115;SEQ ID NO:116;SEQ ID NO:117;SEQ ID NO:118;SEQ ID NO:119;SEQ ID NO:120;SEQ ID NO:121;SEQ ID NO:122;SEQ ID NO:123;SEQ ID NO:124;SEQ ID NO:125;SEQ ID NO:126;SEQ ID NO:127;SEQ ID NO:127;SEQ ID NO:128;SEQ ID NO:129;SEQ ID NO:130;SEQ ID NO:131;SEQ ID NO:132;SEQ ID NO:133;SEQ ID NO:134;SEQ ID NO:135;SEQ ID NO:136;SEQ ID NO:137;SEQ ID NO:138;SEQ ID NO:139;SEQ ID NO:140;SEQ ID NO:141;SEQ ID NO:142;SEQ ID NO:143;SEQ ID NO:144;SEQ ID NO:145;SEQ ID NO:146;SEQ ID NO:147;SEQ ID NO:148;SEQ ID NO:149;SEQ ID NO:150;SEQ ID NO:151;SEQ ID NO:152;SEQ ID NO:153;或 SEQ ID NO:358;其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个 CDR:SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;和 SEQ ID NO:36。

[0029] 本发明提供了一种抗体或其功能性片段,其包括由第一,第二,及第三 CDR 组成的一个重链多肽,所述的第一 CDR 选自 SEQ ID NOS:38;87;88;89;90;91;147;或 148;所述的第二 CDR 选自 SEQ ID NOS:40,92,93,94,95 或 144;所述的第三 CDR 选自 SEQ ID NOS:42,96,97,98,99,100,101,102,103,104,105,106,107,108 或 109,其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0030] 本发明还提供了一种抗体或其功能性片段,其包括由第一,第二,及第三 CDR 组成的一个轻链多肽,所述的第一 CDR 选自 SEQ ID NOS:32,110,111,112,113,114,115,116,117,118,119,146,149,150,151,152 或 153;所述的第二 CDR 选自 SEQ ID NOS:34,120,121,122,123,124 或 125;所述的第三 CDR 选自 SEQ ID NOS:36,126,127,128,129,130,131,132,133,134,135,136,137,138,139,140,141,142,143,145 或 358,其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0031] 本发明提供了抗体或其功能性片段在制备用于瞄准血管生成脉管系统的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括互补决定区(CDR):SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;和 SEQ ID NO:36,其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0032] 本发明还提供了抗体或其功能性片段在制备用于瞄准血管生成脉管系统的药物

中的应用,所述抗体或其功能性片段包括选自引证如下的六个 CDR:SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;SEQ ID NO:36;SEQ ID NO:87;SEQ ID NO:88;SEQ ID NO:89;SEQ ID NO:90;SEQ ID NO:91;SEQ ID NO:92;SEQ ID NO:93;SEQ ID NO:94;SEQ ID NO:95;SEQ ID NO:96;SEQ ID NO:97;SEQ ID NO:98;SEQ ID NO:99;SEQ ID NO:100;SEQ ID NO:101;SEQ ID NO:102;SEQ ID NO:103;SEQ ID NO:104;SEQ ID NO:105;SEQ ID NO:106;SEQ ID NO:107;SEQ ID NO:108;SEQ ID NO:109;SEQ ID NO:110;SEQ ID NO:111;SEQ ID NO:112;SEQ ID NO:113;SEQ ID NO:114;SEQ ID NO:115;SEQ ID NO:116;SEQ ID NO:117;SEQ ID NO:118;SEQ ID NO:119;SEQ ID NO:120;SEQ ID NO:121;SEQ ID NO:122;SEQ ID NO:123;SEQ ID NO:124;SEQ ID NO:125;SEQ ID NO:126;SEQ ID NO:127;SEQ ID NO:127;SEQ ID NO:128;SEQ ID NO:129;SEQ ID NO:130;SEQ ID NO:131;SEQ ID NO:132;SEQ ID NO:133;SEQ ID NO:134;SEQ ID NO:135;SEQ ID NO:136;SEQ ID NO:137;SEQ ID NO:138;SEQ ID NO:139;SEQ ID NO:140;SEQ ID NO:141;SEQ ID NO:142;SEQ ID NO:143;SEQ ID NO:144;SEQ ID NO:145;SEQ ID NO:146;SEQ ID NO:147;SEQ ID NO:148;SEQ ID NO:149;SEQ ID NO:150;SEQ ID NO:151;SEQ ID NO:152;SEQ ID NO:153;或 SEQ ID NO:358;其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个 CDR:SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34 和 SEQ ID NO:36。

[0033] 本发明提供了抗体或其功能性片段在制备用于抑制血管生成的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括互补决定区(CDR):SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;和 SEQ ID NO:36,其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0034] 本发明提供了抗体或其功能性片段在制备用于抑制血管生成的药物中的应用,其中所述抗体或其功能性片段包括选自引证如下的六个 CDR:SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;SEQ ID NO:36;SEQ ID NO:87;SEQ ID NO:88;SEQ ID NO:89;SEQ ID NO:90;SEQ ID NO:91;SEQ ID NO:92;SEQ ID NO:93;SEQ ID NO:94;SEQ ID NO:95;SEQ ID NO:96;SEQ ID NO:97;SEQ ID NO:98;SEQ ID NO:99;SEQ ID NO:100;SEQ ID NO:101;SEQ ID NO:102;SEQ ID NO:103;SEQ ID NO:104;SEQ ID NO:105;SEQ ID NO:106;SEQ ID NO:107;SEQ ID NO:108;SEQ ID NO:109;SEQ ID NO:110;SEQ ID NO:111;SEQ ID NO:112;SEQ ID NO:113;SEQ ID NO:114;SEQ ID NO:115;SEQ ID NO:116;SEQ ID NO:117;SEQ ID NO:118;SEQ ID NO:119;SEQ ID NO:120;SEQ ID NO:121;SEQ ID NO:122;SEQ ID NO:123;SEQ ID NO:124;SEQ ID NO:125;SEQ ID NO:126;SEQ ID NO:127;SEQ ID NO:127;SEQ ID NO:128;SEQ ID NO:129;SEQ ID NO:130;SEQ ID NO:131;SEQ ID NO:132;SEQ ID NO:133;SEQ ID NO:134;SEQ ID NO:135;SEQ ID NO:136;SEQ ID NO:137;SEQ ID NO:138;SEQ ID NO:139;SEQ ID NO:140;SEQ ID NO:141;SEQ ID NO:142;SEQ ID NO:143;SEQ ID NO:144;SEQ ID NO:145;SEQ ID NO:146;SEQ ID NO:147;SEQ ID NO:148;SEQ ID NO:149;SEQ ID NO:150;SEQ ID NO:151;SEQ ID NO:152;SEQ ID NO:153;或 SEQ ID NO:358;其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个 CDR:SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:

40 ;SEQ ID NO :42 ;SEQ ID NO :32 ;SEQ IDNO :34 ;和 SEQ ID NO :36。

[0035] 本发明还提供了抗体或其功能性片段在制备用于瞄准肿瘤的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括互补决定区(CDR):SEQ ID NO :38 ;SEQ IDNO :40 ;SEQ ID NO :42 ;SEQ ID NO :32 ;SEQ ID NO :34 ;和 SEQ ID NO :36,其中,至少有一个所述的CDR具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0036] 本发明提供了抗体或其功能性片段在制备用于瞄准肿瘤的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括选自引证如下的六个CDR:SEQ ID NO :38 ;SEQID NO :40 ;SEQ ID NO :42 ;SEQ ID NO :32 ;SEQ ID NO :34 ;SEQ ID NO :36 ;SEQ IDNO :87 ;SEQ ID NO :88 ;SEQ ID NO :89 ;SEQ ID NO :90 ;SEQ ID NO :91 ;SEQ IDNO :92 ;SEQ ID NO :93 ;SEQ ID NO :94 ;SEQ ID NO :95 ;SEQ ID NO :96 ;SEQ IDNO :97 ;SEQ ID NO :98 ;SEQ ID NO :99 ;SEQ ID NO :100 ;SEQ ID NO :101 ;SEQ IDNO :102 ;SEQ ID NO :103 ;SEQ ID NO :104 ;SEQ ID NO :105 ;SEQ ID NO :106 ;SEQID NO :107 ;SEQ ID NO :108 ;SEQ ID NO :109 ;SEQ ID NO :110 ;SEQ ID NO :111 ;SEQ ID NO :112 ;SEQ ID NO :113 ;SEQ ID NO :114 ;SEQ ID NO :115 ;SEQ ID NO :116 ;SEQ ID NO :117 ;SEQ ID NO :118 ;SEQ ID NO :119 ;SEQ ID NO :120 ;SEQ ID NO :121 ;SEQ ID NO :122 ;SEQ ID NO :123 ;SEQ ID NO :124 ;SEQ ID NO :125 ;SEQ IDNO :126 ;SEQ ID NO :127 ;SEQ ID NO :127 ;SEQ ID NO :128 ;SEQ ID NO :129 ;SEQID NO :130 ;SEQ ID NO :131 ;SEQ ID NO :132 ;SEQ ID NO :133 ;SEQ ID NO :134 ;SEQ ID NO :135 ;SEQ ID NO :136 ;SEQ ID NO :137 ;SEQ ID NO :138 ;SEQ IDNO :139 ;SEQ ID NO :140 ;SEQ ID NO :141 ;SEQ ID NO :142 ;SEQ ID NO :143 ;SEQID NO :144 ;SEQ ID NO :145 ;SEQ ID NO :146 ;SEQ ID NO :147 ;SEQ ID NO :148 ;SEQ ID NO :149 ;SEQ ID NO :150 ;SEQ ID NO :151 ;SEQ ID NO :152 ;SEQ IDNO :153 ;或 SEQ ID NO :358 ;所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个CDR:SEQID NO :38 ;SEQ ID NO :40 ;SEQ ID NO :42 ;SEQ ID NO :32 ;SEQ ID NO :34 ;和 SEQID NO :36。

[0037] 本发明还提供了抗体或其功能性片段在制备用于抑制肿瘤生长的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括互补决定区(CDR):SEQ ID NO :38 ;SEQID NO :40 ;SEQ ID NO :42 ;SEQ ID NO :32 ;SEQ ID NO :34 ;和 SEQ ID NO :36,其中,至少有一个所述的CDR具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0038] 本发明提供了抗体或其功能性片段在制备用于抑制肿瘤生长的药物中的应用,其中所述抗体或其功能性片段包括选自引证如下的六个CDR:SEQ ID NO :38 ;SEQ ID NO :40 ;SEQ ID NO :42 ;SEQ ID NO :32 ;SEQ ID NO :34 ;SEQ ID NO :36 ;SEQID NO :87 ;SEQ ID NO :88 ;SEQ ID NO :89 ;SEQ ID NO :90 ;SEQ ID NO :91 ;SEQ IDNO :92 ;SEQ ID NO :93 ;SEQ ID NO :94 ;SEQ ID NO :95 ;SEQ ID NO :96 ;SEQ IDNO :97 ;SEQ ID NO :98 ;SEQ ID NO :99 ;SEQ ID NO :100 ;SEQ ID NO :101 ;SEQ IDNO :102 ;SEQ ID NO :103 ;SEQ ID NO :104 ;SEQ ID NO :105 ;SEQ ID NO :106 ;SEQID NO :107 ;SEQ ID NO :108 ;SEQ ID NO :109 ;SEQ ID NO :110 ;SEQ ID NO :111 ;SEQ ID NO :112 ;SEQ ID NO :113 ;SEQ ID NO :114 ;SEQ ID NO :115 ;SEQ ID NO :116 ;SEQ ID NO :117 ;SEQ ID NO :118 ;SEQ ID NO :119 ;SEQ ID NO :120 ;SEQ ID NO :121 ;SEQ ID NO :122 ;SEQ ID NO :123 ;SEQ ID NO :124 ;SEQ ID NO :125 ;SEQ IDNO :126 ;SEQ ID

NO:127;SEQ ID NO:127;SEQ ID NO:128;SEQ ID NO:129;SEQ ID NO:130;SEQ ID NO:131;SEQ ID NO:132;SEQ ID NO:133;SEQ ID NO:134;SEQ ID NO:135;SEQ ID NO:136;SEQ ID NO:137;SEQ ID NO:138;SEQ ID NO:139;SEQ ID NO:140;SEQ ID NO:141;SEQ ID NO:142;SEQ ID NO:143;SEQ ID NO:144;SEQ ID NO:145;SEQ ID NO:146;SEQ ID NO:147;SEQ ID NO:148;SEQ ID NO:149;SEQ ID NO:150;SEQ ID NO:151;SEQ ID NO:152;SEQ ID NO:153;或 SEQ ID NO:358;其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个 CDR:SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;和 SEQ ID NO:36。

[0039] 本发明提供了抗体或其功能性片段在制备用于探测血管生成的脉管系统的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括互补决定区(CDR):SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;和 SEQ ID NO:36,其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0040] 本发明还提供了抗体或其功能性片段在制备用于探测血管生成的脉管系统的药物中的应用,其中所述抗体或其功能性片段包括选自引证如下的六个 CDR:SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;SEQ ID NO:36;SEQ ID NO:87;SEQ ID NO:88;SEQ ID NO:89;SEQ ID NO:90;SEQ ID NO:91;SEQ ID NO:92;SEQ ID NO:93;SEQ ID NO:94;SEQ ID NO:95;SEQ ID NO:96;SEQ ID NO:97;SEQ ID NO:98;SEQ ID NO:99;SEQ ID NO:100;SEQ ID NO:101;SEQ ID NO:102;SEQ ID NO:103;SEQ ID NO:104;SEQ ID NO:105;SEQ ID NO:106;SEQ ID NO:107;SEQ ID NO:108;SEQ ID NO:109;SEQ ID NO:110;SEQ ID NO:111;SEQ ID NO:112;SEQ ID NO:113;SEQ ID NO:114;SEQ ID NO:115;SEQ ID NO:116;SEQ ID NO:117;SEQ ID NO:118;SEQ ID NO:119;SEQ ID NO:120;SEQ ID NO:121;SEQ ID NO:122;SEQ ID NO:123;SEQ ID NO:124;SEQ ID NO:125;SEQ ID NO:126;SEQ ID NO:127;SEQ ID NO:127;SEQ ID NO:128;SEQ ID NO:129;SEQ ID NO:130;SEQ ID NO:131;SEQ ID NO:132;SEQ ID NO:133;SEQ ID NO:134;SEQ ID NO:135;SEQ ID NO:136;SEQ ID NO:137;SEQ ID NO:138;SEQ ID NO:139;SEQ ID NO:140;SEQ ID NO:141;SEQ ID NO:142;SEQ ID NO:143;SEQ ID NO:144;SEQ ID NO:145;SEQ ID NO:146;SEQ ID NO:147;SEQ ID NO:148;SEQ ID NO:149;SEQ ID NO:150;SEQ ID NO:151;SEQ ID NO:152;SEQ ID NO:153;或 SEQ ID NO:358;其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个 CDR:SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;和 SEQ ID NO:36。

[0041] 本发明提供了抗体或其功能性片段在制备用于抑制肿瘤生长的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括互补决定区(CDR):SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;和 SEQ ID NO:36,其中,至少有一个所述的 CDR 具有至少一种氨基酸替代,其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍。

[0042] 本发明提供了抗体或其功能性片段在制备用于抑制肿瘤生长的药物中的应用,所述抗体或其功能性片段包括选自引证如下的六个 CDR:SEQ ID NO:38;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:34;SEQ ID NO:36;SEQ ID NO:87;SEQ ID NO:88;SEQ

ID NO :89 ;SEQ ID NO :90 ;SEQ ID NO :91 ;SEQ ID NO :92 ;SEQ ID NO :93 ;SEQ ID NO :94 ;SEQ ID NO :95 ;SEQ ID NO :96 ;SEQ ID NO :97 ;SEQ ID NO :98 ;SEQ ID NO :99 ;SEQ ID NO :100 ;SEQ ID NO :101 ;SEQ ID NO :102 ;SEQ ID NO :103 ;SEQ ID NO :104 ;SEQ ID NO :105 ;SEQ ID NO :106 ;SEQ ID NO :107 ;SEQ ID NO :108 ;SEQ ID NO :109 ;SEQ ID NO :110 ;SEQ ID NO :111 ;SEQ ID NO :112 ;SEQ ID NO :113 ;SEQ ID NO :114 ;SEQ ID NO :115 ;SEQ ID NO :116 ;SEQ ID NO :117 ;SEQ ID NO :118 ;SEQ ID NO :119 ;SEQ ID NO :120 ;SEQ ID NO :121 ;SEQ ID NO :122 ;SEQ ID NO :123 ;SEQ ID NO :124 ;SEQ ID NO :125 ;SEQ ID NO :126 ;SEQ ID NO :127 ;SEQ ID NO :127 ;SEQ ID NO :128 ;SEQ ID NO :129 ;SEQ ID NO :130 ;SEQ ID NO :131 ;SEQ ID NO :132 ;SEQ ID NO :133 ;SEQ ID NO :134 ;SEQ ID NO :135 ;SEQ ID NO :136 ;SEQ ID NO :137 ;SEQ ID NO :138 ;SEQ ID NO :139 ;SEQ ID NO :140 ;SEQ ID NO :141 ;SEQ ID NO :142 ;SEQ ID NO :143 ;SEQ ID NO :144 ;SEQ ID NO :145 ;SEQ ID NO :146 ;SEQ ID NO :147 ;SEQ ID NO :148 ;SEQ ID NO :149 ;SEQ ID NO :150 ;SEQ ID NO :151 ;SEQ ID NO :152 ;SEQ ID NO :153 ;或 SEQ ID NO :358 ;其中所述的抗体或其功能性片段与变性胶原的结合力至少是天然胶原的二倍,其中所述的抗体或其功能性片段不包括以下六个 CDR :SEQ ID NO :38 ;SEQ ID NO :40 ;SEQ ID NO :42 ;SEQ ID NO :32 ;SEQ ID NO :34 ;和 SEQ ID NO :36。

[0043] 本发明提供了一种抗体或其功能性片段,其中所述抗体或其功能性片段包括:引证为 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :144 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :149 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 ;和引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3。

[0044] 本发明还提供了一种抗体或其功能性片段,其中所述的抗体或其功能性片段包括:由 SEQ ID NO :45 的氨基酸 6-10 组成的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :155 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :157 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和引证为 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。

[0045] 本发明提供了一种经接枝的抗体或其功能性片段,其中所述的经接枝的抗体或其功能性片段包括:SEQ ID NO :45 的氨基酸 6-10 组成的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :155 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :157 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和引证为 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。其中重链 CDR 被接枝到引证为 SEQ ID NO :8 的 VHIII/JH6 重链易变框架区。

[0046] 本发明还提供了一种经接枝的抗体或其功能性片段,其中所述的经接枝的抗体或其功能性片段包括:引证为 SEQ ID NO :45 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :155 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :63 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :157 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :22 的轻链 CDR2 ;和引证为 SEQ ID NO :77 的轻链 CDR3。其中重链 CDR 被接枝到引证为 SEQ ID NO :8 的 VHIII/JH6 重链易变框架区。

附图说明

[0047] 图 1 显示用于克隆编码 HUIV26 和 HDI77 抗体的核酸的引物的序列。图 1A 显示用于小鼠抗体重链的信号肽的一组 5' 引物 (SEQ ID NO :184-192)。图 1B 显示用于小鼠抗体重链的一组 5' 引物 (SEQ ID NO :193-211)。图 1C 显示用于小鼠重链及轻链恒定区的一组引物。引物 2650 (SEQ ID NO :212) 是用于小鼠 κ 轻链恒定区 (氨基酸 123-115) 的 3' 引

物。引物 2656 (SEQ ID NO :213) 是用于小鼠 IgM CH1 区域 (氨基酸 121-114) 的 3' 引物。引物 2706 (SEQ ID NO :214) 是用于 IgM CH1 区域 (氨基酸 131-124) 的 3' 引物。

[0048] 图 2 显示抗隐蔽胶原位点抗体 HUIV26 的可变区序列。图 2A 显示 HUIV26 可变区轻链的核苷酸序列 (SEQ ID NO :1)。图 2B 显示 HUIV26 可变区重链的核苷酸序列 (SEQ ID NO :3)。图 2C 显示 HUIV26 的 HUIV26 轻链 (V_L) 结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO :2) 与人类可变区融合 VKIV/JK2 (SEQ ID NO :6) 的比对及 HUIV26 重链 (V_H) 结构域 (SEQ ID NO :4) 与人类可变区融合 VHIII/JH6 (SEQ ID NO :8) 的比对, 其中 CDR 加了下划线。通过直线来表示框架区中在所述经比对的序列之间不同的氨基酸。

[0049] 图 3 显示抗隐蔽胶原位点抗体 HUI77 的可变区的序列。图 3A 显示 HUI77 可变区轻链的核苷酸序列 (SEQ ID NO :9)。图 3B 显示 HUI77 可变区重链的核苷酸序列 (SEQ ID NO :11)。图 3C 显示 HUI77 的 HUI77 轻链 (V_L) 结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO :10) 与人类可变区融合 (VKII/JK1 (SEQ ID NO :14)) 的比对及 HUI77 重链 (V_H) 结构域 (SEQ ID NO :12) 与人类可变区融合 VHIII/JH6 (SEQ ID NO :16) 的比对, 其中 CDR 加了下划线。通过直线来表示在框架区中所对比的序列之间不同的氨基酸。图 3D 显示 HUI77 可变区的核苷酸序列与 DPK13 及 JK1 的人类框架融合的序列 (SEQ ID NO :17) 的比对。

[0050] 图 4 显示用于抗隐蔽胶原位点抗体 HUIV26 的有益 CDR 突变。图 4A 显示用于在 HUIV26 的 LCDR3 及 HCDR3 中产生随机突变的一组引物 (HUIV26LCDR3 引物, SEQ ID NO :224-232; HDIV26 HCDR3 引物, SEQ ID NO :233-243)。图 4B 显示在 HDIV26 的 LCDR1a (SEQ ID NO :266-273)、LCDR1b (SEQ ID NO :274-282)、LCDR2 (SEQ ID NO :283-289)、HCDR1 (SEQ ID NO :290-294)、HCDR2a (SEQ ID NO :295-303) 及 HCDR2b (SEQ ID NO :304-311) 中产生随机突变的一组引物。图 4C 显示 HUIV26 抗体的有益 CDR 突变。

[0051] 图 5 显示用于抗隐蔽胶原位点抗体 HDI77 的有益 CDR 突变。图 5A 显示用于在 HDI77 的 LCDR3 和 HCDR3 中产生随机突的一组引物。图 5B 显示用于在 HUI77 的 LCDR1a (SEQ ID NO :312-319)、LCDR1b (SEQ ID NO :320-327)、LCDR2 (SEQ ID NO :328-334)、HCDR1 (SEQ ID NO :335-341)、HCDR2a (SEQ ID NO :342-349) 及 HCDR2b (SEQ ID NO :350-357) 中产生随机突变的引物。图 5C 显示 HUI77 抗体的有益 CDR 突变。

[0052] 图 6 显示在 HUIV26 抗体的组合变体中的突变。显示了氨基酸的位置, 以粗体显示了不同于野生型的突变。组合变体的相对活性显示为 "SPEK_{on}" 和 "SPEK_{off}" (最后一列)。也显示了用于产生组合库的引物 (SEQ ID NO :163-173)。

[0053] 图 7 显示在 HUI77 抗体的组合变体中的突变。显示了氨基酸的位置, 其中不同于以粗体来显示的野生型。组合突变的相对活性显示为 "SPEK_{on}" 和 "SPEK_{off}" (最后一列)。也显示了用于产生组合库的引物 (SEQ ID NO :174-18)。

[0054] 图 8 显示 HUIV26 变体的活性和特异性。显示了含有野生型 HUIV26CDR 和 HUIV26 变体 2D4H1-C3 及 DhuG5 的 IX-IV26 的经提纯的 Fab 对变性胶原 IV (图 8A)、变性胶原 I (图 8B) 和天然胶原 IV (图 8C) 的结合。

[0055] 图 9 显示 HUI77 变体的活性和特异性。显示了含有野生型 HUI77CDR 和 HUI77 变体 Qh2b-B7 及 QhuD9 的 IX-I77 的经提纯的 Fab 对变性胶原 I (图 9A)、变性胶原 IV (图 9B) 和天然胶原 I (图 9C) 的结合。

[0056] 图 10 显示 HDIV26 变体 DhuH8 的结合活性。显示了该抗体的 Fab 形式和 IgG 形式

对变性 (d-IV) 和天然 (n-IV) 人类胶原 IV 的结合活性。

[0057] 图 11 显示 HUI77 变体 QH2b 对 B16 黑素瘤细胞增殖的影响。培养中生长的 B16 黑素瘤细胞未经处理 (对照; 方形) 或者用 QH2b 变体的 IgG 形式来处理 (圆形)。

具体实施方式

[0058] 本发明提供对隐蔽胶原部位特异的抗体, 其中此部位在血管生成和肿瘤细胞侵袭期间经由胶原组织暴露出来并且因此充当能以血管生成的脉管系统为目标的抗体。优化这些抗体对隐蔽胶原部位的结合活性。为诊断或治疗目的可将这些抗体用于瞄准血管生成脉管系统。这些抗体也能用于抑制肿瘤生长。

[0059] 文中所用术语“CDR”或“互补决定区”旨在表示在重链和轻链多肽可变区内部所发现的非相邻抗原结合部位。这些特殊区在 Kabat 等人的 J. Biol. Chem. 252 : 6609-6616 (1977), Kabat 等人的 U. S. Dept. of Health and Human Services, " Sequences of proteins of immunological interest" (1991); 在 Chothia 等人的 J. Mol. Biol. 196 : 901-917 (1987) 和 MacCallum 等人的 J. Mol. Biol. 262 : 732-745 (1996) 中有所描述, 其中当互相对比时, 这些定义包括氨基酸残基的重叠或子区。尽管如此, 对用来指抗体或经接枝的抗体或其变体的 CDR 的两个定义中的任一个的应用旨在处于文中所定义及所用术语的范围之内。如容纳了上面所引用的每一篇参考文献所定义的 CDR 的氨基酸残基陈述于下表 1 中作为对照。

[0060] 表 1 CDR 定义

[0061]

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
V _H CDR1	31-35	26-32	30-35
V _H CDR2	50-65	53-55	47-58
V _H CDR3	95-102	96-101	93-101
V _L CDR1	24-34	26-32	30-36
V _L CDR2	50-56	50-52	46-55
V _L CDR3	89-97	91-96	89-96

[0062] ¹ 残基编号遵循 Kabat 等命名法, 见上

[0063] ² 残基编号遵循 Chothia 等命名法, 见上

[0064] ³ 残基编号遵循 MacCallum 等命名法, 见上

[0065] 文中所用术语“框架”用来指抗体可变区时, 旨在表示抗体可变区内部除 CDR 区外的所有氨基酸残基。可变区框架通常约 100-120 个氨基酸之间长度但是旨在仅引用除 CDR 之外的氨基酸。文中所用术语“框架区”旨在表示通过 CDR 分开的每个框架结构域。

[0066] 文中所用术语“供体”旨在表示衍生出一部分的母抗体分子或其片断, 其中将此部分给予或赠与另一抗体分子或其片断使得给该接受分子赋予母体分子的结构或功能特征。关于 CDR 移植的特定实例, 衍生出经移植的 CDR 的母体分子是供体分子。供体 CDR 将母体分子的结合亲和力赋予接受分子。供体分子与接受分子可以是不同物种或相同物种。如果供体和接受分子属相同物种, 那么当然供体肯定是与接受分子分开且不同的分子。

[0067] 文中所用术语“受体”旨在表示接受来自母体或供体抗体分子或其片断的所赠部分的抗体分子或其片断。因此将母体分子的所赠部分的结构或功能特征传授给受体抗体分子或其片断。关于 CDR 移植的特定实例, 包括框架和 / 或其他抗体片断在内的受体分子是 CDR 所移植于其中的接受分子。将供体 CDR 或母体分子的结合亲和力传授给受体抗体分子。当然与供体分子的情况一样受体分子可以是与此供体相同或不同的物种。

[0068] 若用于指抗体或其重链或轻链时, “可变区”旨在表示向分子赋予抗原结合性且不是恒定区的抗体的氨基末端。此术语旨在包括其维持整个可变区所有结合功能中的一部分的功能性片断。因此, 术语“异侧 (heteromeric) 可变区结合片断”旨在表示被组装成异侧复合体的至少一个重链可变区和至少一个轻链可变区或其功能性片断。异侧可变区结合片断包括 (例如) 功能性片断 (诸如 Fab、F(ab)₂、Fv)、单链 Fv (scFv) 等等。此等功能性片断已为所属领域的技术人员所熟知。因此, 使用这些术语来描述异侧可变区功能性片断旨在符合已为所属领域的技术人员熟知的定义。所述术语, 例如在 Harlow 和 Lane 的 Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 纽约 (1989); Molec. Biology and Biotechnology 以及 A Comprehensive Desk Reference (Myers, R. A. (编), 纽约: VCH Publisher 公司); Huston 等人的 Cell Biophysics, 22:189-224 (1993); Plückthun 和 Skerra 的 Meth. Enzymol., 178:497-515 (1989); 和 Day, E. D., Advanced Immunochimistry, 第二版, Wiley-Liss 公司, 纽约, NY (1990) 中有所描述。

[0069] 文中所用术语“群体”旨在表示两个或多个不同分子的群组。一个群组可以与当前使用者可得到的个体分子数目一样大或者能够由所属领域技术人员制备而成。群体可以小至 2-4 个分子或者大至 10¹³ 个分子。通常, 一个群体将含有两个或两个以上、三个或三个以上、五个或五个以上、九个或九个以上、十个或十个以上、十二个或十二个以上、十五个或十五个以上或者二十个或二十个以上的不同分子。一个群体也可含有几十个或几百个不同分子或者甚至几千个不同分子。举例来说, 一个群体可含有约 20 个至约 100000 个不同分子或更多 (例如约 25 或 25 以上、30 或 30 以上、40 或 40 以上、50 或 50 以上、75 或 75 以上、100 或 100 以上、150 或 150 以上、200 或 200 以上、300 或 300 以上、500 或 500 以上或者 1000 或 1000 以上的不同分子), 且可含有 10,000, 100,000 或者甚至 1×10⁶ 或更多的不同分子。所属领域的技术人员将会知道一个群体的何种尺寸及何种差异适合于特殊应用。

[0070] 文中所用术语“变更的”用于指抗体可变区时, 旨在表示含有相比母体氨基酸序列

而言在框架区、CDR 或二者于相同位置的一个或多个氨基酸改变的重链或轻链可变区。若经变更的可变区衍生自供体和受体区或由它们所组成,那么对比其各自氨基酸位置而言在此经变更的物种内的经改变的氨基酸残基位于母体供体和受体区内。

[0071] 文中所用术语“核酸”(nucleic acid 或 nucleic acids)”旨在表示单股或双股 DNA 或 RNA 分子。本发明的核酸分子可为线型、圆形或分枝构型且可代表核酸分子的义链或反义链或全部两种链。此术语也旨在包括合成和天然全部两种来源的核酸分子。天然来源的核酸分子可衍生于任何动物,例如人类、非人类灵长类动物、小鼠、大鼠、兔、牛、猪、绵羊、犬、猫或两栖动物,或者来源于低级真核生物,例如果蝇 (*Drosophila*)、线虫 (*C. elegans*)、酵母等。合成核酸包括(例如)化学合成物和酶合成物。术语“核酸(nucleic acid 或 nucleic acids)”同样旨在包括具有与参考核酸类似功能特性且可用类似于自然发生核苷酸及核苷的方式来利用的天然核苷酸类似物。

[0072] 文中所用术语“抗体”以其最广义来使用以包括多克隆及单克隆抗体,以及所述抗体的抗原结合片断。可用于本发明的抗体或该抗体的抗原结合片断的特征为:具有对多肽或其至少约 $1 \times 10^5 M^{-1}$ 肽部分的特异结合活性。因此,此抗体定义也包括对多肽保留了特异结合活性的抗体的 Fab、F(ab')₂、Fd、Fv、单链 Fv(scFv) 片断等等。所属领域的技术人员能(例如)通过比较抗体对特殊多肽的结合活性与对非特殊多肽的对照多肽的结合活性来很容易的确定抗体对多肽的特异结合活性。制备多克隆或单克隆抗体的方法已为所属领域的技术人员熟知(参看,(例如)Harlow 和 Lane 的 Antibodies: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press(1988))。

[0073] 此外,文中所用术语“抗体”包括自然发生的抗体和非自然发生的抗体,其包括(例如)单链抗体、嵌合的、双功能及人源化的抗体,也包括其抗原结合片断。所述非自然发生的抗体可利用固相肽合成法来构建,可重组产生或者可(例如)通过如 Huse 等人在 (*Science* 246:1275-1281(1989)) 中所述的筛选由可变重链和可变轻链所组成的组合库来获得。这些及其他制造功能性抗体的方法已为所属领域的技术人员所熟知(Winter 和 Harris 的 Immunol. Today 14:243-246(1993); Ward 等人的 Nature 341:544-546(1989); Harlow 和 Lane, 见上, (1988); Hilyard 等人的 Protein Engineering: A practical approach(IRLPRESS 1992); Borrabeck 的 Antibody Engineering. 第二版(Oxford University Press 1995))。

[0074] 文中所用特异性结合意谓显著不同于非特异相互作用的结合。特异性结合可进行测定,(例如)可以通过确定与通常是不具有结合活性的类似结构的分子(例如,结合不同抗原结合部位或抗原的抗体)的对照分子相比的分子结合性。也可以(例如)通过与对照分子的竞争(例如与过量相同分子竞争)来确定结合特异性。该情况下,如果分子的结合竞争性地通过自身进行抑制,那么表示特异性结合。因此,抗体与抗原之间的特异性结合显著不同于非特异相互作用且经抗体的抗原结合位点而发生。

[0075] 文中所用选择性结合是指分子之间既为特异的又为辨别的结合相互作用,例如与单分子或密切相关的分子结合的抗体。举例来说,如果分子的表位是独特的,那么抗体对抗原所展示的特异性对抗原而言既是特异的又是选择性的。因此,如通过对独特于一个分子或密切相关分子的表位具有特异性的抗体所例证,具有选择性结合的分子可区别分子。或者,抗体可对许多分子所共有的表位具有特异性,例如,在许多分子上表达的碳水化合物。

所述抗体对一个分子或密切相关分子具有特异结合但不具有选择性。

[0076] 文中所用术语“结合亲合力”旨在表示结合相互作用的强度且包括实际结合亲合力及表观结合亲合力。实际结合亲合力是结合速率与解离速率的比率。因此,提供或优化结合亲合力包括变更这些成份的任一方或双方以达到所希望的结合亲合力水平。表观亲合力可包括(例如)相互作用的活动性。举例来说,二价异侧可变区结合片断可展示出由于其化合价而变更或优化的结合亲合力。

[0077] 文中所用术语“大致相同”用于指结合亲合力时,旨在表示类似或相同的结合亲合力,其中在亲合力测定的实验可变性之内一个分子具有类似于另一分子的结合亲合力。结合亲合力测定的实验可变性依赖于所用的特定分析且已为所属领域的技术人员所熟知。

[0078] 文中所用术语“优化”用于指可变区或其功能性片断时,旨在表示相比母体可变区或供体可变区的活性而言可变区的功能活性经修饰导致活性上想要的变化。显示优化活性的可变区或其片断可展示(例如)比未更改可变区更高亲合力或更低亲合力结合活性或者增强的或降低的结合或解离速率。若须要显示优化活性的可变区或其功能性片断也可展示增强的稳定性,例如在特殊有机体中增强的半衰期。举例来说,通过降低对蛋白分解的敏感度可使抗体活性优化以增强稳定性。若须要,显示优化活性的抗体也可展示更低的亲合力结合,其包括降低的结合速率或增强的分解速率。展示了更低亲合力结合的优化可变区可用于(例如)渗透实性肿瘤。与更高的亲合力可变区(此区可与肿瘤的边缘区结合但是由于其高亲合力而不能渗透至肿瘤内区)相反,更低的亲合力可变区可能更有利于渗透肿瘤的内区。若进行上述结合亲合力的优化,那么催化可变区的优化可以(例如)提高或降低催化速率、解离常数或结合常数。

[0079] 文中所用“隐蔽胶原位点”或“或隐蔽胶原表位”是指抗体或其功能性片断的结合在天然胶原中比在变性胶原中更不易达到的胶原分子表位。对隐蔽胶原表位具有结合活性的抗体先于天然胶原而优先识别变性胶原,即是说,此抗体具有对变性胶原比对天然胶原的更高的结合亲合力。举例来说,此抗体对变性胶原可具有超过天然胶原至少约 2 倍或更高优选(即是说,至少约 2 倍高)结合活性,且可展示对变性胶原超出天然胶原约 3 倍或更高优选、约 5 倍或更高优选、约 10 倍或更高优选、约 15 倍或更高优选、约 20 倍或更高优选、约 25 倍或更高优选、约 50 倍或更高优选、约 100 倍或更高优选或者甚至更高的优选。

[0080] 文中天然胶原是指其中有三个 α 链编制在一个三螺旋分子中的分子。天然胶原可为翻译后加工的不同阶段,例如原胶原(pro-collagen)和在产生成熟组织形式的胶原中的中间体或者在不破坏胶原三螺旋结构条件下通过组织的有限蛋白分解而分离出的胶原分子。因此,天然胶原可以是无损伤的的胶原分子或者可含有位于三螺旋区侧面的非三螺旋序列(只要未破坏三螺旋)。本文中变性胶原是指其中三螺旋被完全或部分破坏使得隐蔽表位易于达到的变性胶原。胶原变性可在原位通过蛋白酶(例如,基质金属蛋白酶)作用发生,该作用可使胶原在三螺旋区内部裂开,其使得生成的三螺旋片断不稳定。胶原变性可在体外通过天然胶原的热变性或化学变性来进行诱发。也可在体外通过在所生成的三螺旋片断热不稳定的温度下,用能使三螺旋区裂开的蛋白酶(一般称为溶胶原酶)处理天然胶原来制备变性胶原。变性胶原可通过翻译之后加工的不同阶段的天然胶原变性或者通过由有限蛋白分解而从组织所分离的天然胶原的变性而得到。所属领域的技术人员应知道分离天然胶原的多种方法和使含有隐蔽胶原表位的三螺旋变性的多种方法。

[0081] 本发明抗体具有对隐蔽胶原抗体决定部位的结合活性,此与各自母体小鼠抗体相同。例如,具有衍生自 HUIV26 的 CDR 的本发明抗体可具有与小鼠 HUIV26 抗体基本上相同的结合特异性,该小鼠抗体在 Xu 等人的 Hybridoma 19:375-385 (2000); Xu 等人的 J. Cell Biol. 154:1069-1079 (2001); 及 W000/40597 中有所描述,每一篇以引用的方式并入本文中。类似地,具有衍生自 HUI77 的 CDR 的本发明抗体可具有与小鼠 HUI77 抗体基本上相同的结合特异性,该小鼠抗体在 Xu 等人,见上,2000; Xu 等人,见上,2001; 及 W0 00/40597 中有所描述。此结合特异性可通过文中所揭示的方法来测试,例如,通过对比本发明抗体与对应母体小鼠抗体的活性。举例来说,可将衍生自 HUIV26 的本发明抗体与具有图 2C 中所示可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:2 及 4) 的对应小鼠抗体进行对比。类似地,可将衍生自 HUI77 的本发明抗体与具有图 3C 中所示可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:10 和 12) 的对应小鼠抗体进行对比。例如可通过与对应母抗体竞争性结合来确定相似的结合特异性。当然本发明抗体可具有与对应母抗体基本上相同的特异性或者可具有变更的特异性(只要抗体对隐蔽胶原表位具有结合活性)。

[0082] 本发明提供对隐蔽胶原表位具有特异结合活性的抗体。所述抗体包括了在结合到隐蔽胶原位点的抗体 HUIV26 及 HUI77 的 CDR 中具有至少一个氨基酸替换的至少一个 CDR。本发明也提供编码这些抗体的核酸。本发明还提供使用所述抗体的方法。

[0083] 已经开发了识别人类胶原隐蔽结构域的高特异性单克隆抗体,其被指定为 HUIV26 和 HUI77(参看 Xu 等人的 Hybridoma 19:375-385 (2000); Xu 等人的 J. Cell Biol. 154:1069-1079 (2001); W0 00/40597,每一篇均以引用的方式并入本文中)。单克隆抗体 HUIV26 识别人类 IV 型胶原的隐蔽结构域,而 HUI77 识别人类 I 和 IV 型胶原的隐蔽结构域,该结构域为 II、III 和 V 型胶原所共有。在多数正常生理条件下不易达到该(等)隐蔽结构域,但是胶原三螺旋在体内的蛋白水解重塑之后变得易达到。因此,在侵袭性细胞过程中隐蔽胶原表位变得更易达到。重要的是,已显示出由这些抗体所定义的隐蔽结构域暴露于肿瘤基底膜内,该基底膜结合了来自于人类肿瘤(包括乳房、膀胱和黑素瘤肿瘤)的血管生成的血管。然而,此隐蔽结构域很少暴露于所测试血管或正常组织内。所以,抗体 HUIV26 及 HUI27 代表血管生成血管的重要和特异标志。这些隐蔽结构域在调控血管生成和肿瘤生长中其起重要作用,因为在全身投用之后,单克隆抗体 HUIV26 和 HUI77 有效抑制在小鸡胚胎、老鼠及小鼠模型中的血管生成和人类肿瘤生长(Xu 等人,见上,2001)。因此,这些对所述隐蔽胶原位点具有特异结合活性的单克隆抗体和本发明抗体是供治疗以异常新血管形成为特征的疾病的强有力及有效的治疗剂。

[0084] 本发明核酸序列可包括与明确叙述的 SEQ ID NO 相同或基本相同的序列。类似地,本发明氨基酸序列可包括与明确叙述的 SEQ ID NO 相同或基本相同的序列。文中所用术语“基本上”或“基本相同”当用于指核苷酸或氨基酸序列时,旨在表示当与参考序列(例如母抗体序列)对比时,核苷酸或氨基酸序列显示相当大程度、数量或范围的序列同一性。我们还认为所述相当大程度、数量或范围的序列同一性是重要的和有意义的且因此展示了确定可识别的或已知的特征。因此,与本发明抗体(包括其片断)的重链或轻链核苷酸序列基本相同的核苷酸序列是指展示了确定已知的或可识别为编码或作为如同母抗体序列的氨基酸序列的特征的序列。对其的微小修饰只要可识别为母抗体序列就可包括在内。类似地,与本发明抗体或其功能性片段的重链或轻链氨基酸序列基本相同的氨基酸序列是指

展示了确定已知的或可识别为代表母抗体氨基酸序列及其微小修饰的特征的序列。当确定核苷酸或氨基酸序列是否与母抗体基本相同时,需考虑相对于该母抗体变化的数目和连同其功能是否得到维持,例如本发明抗体结合到隐蔽胶原位点的功能是否维持。

[0085] 将这些核苷酸序列和 / 或氨基酸的微小修饰作为编码核酸及其功能片断的重链和轻链来包括在内。所述微小修饰包括(例如)由于遗传密码的简并而未改变经编码的氨基酸序列的微小修饰,以及仅导致经编码的氨基酸序列的保守替换的微小修饰。经编码的氨基酸序列的保守替换包括(例如)属于以下群组内的氨基酸:(1) 非极性氨基酸(Gly、Ala、Val、Leu 及 Ile);(2) 极性中性氨基酸(Cys、Met、Ser、Thr、Asn 及 Gln);(3) 极性酸性氨基酸(Asp 及 Glu);(4) 极性碱性氨基酸(Lys、Arg 及 His);及(5) 芳香族氨基酸(Phe、Trp、Tyr 及 His)。只要核酸或经编码的多肽保留文中所述的一些或全部功能,那么其他微小修饰可包括在对本发明的重链及轻链多肽进行编码的核酸之内。

[0086] 为了产生对隐蔽胶原表位具有特异结合活性的本发明抗体,克隆且定序了抗体 HUIV26 及 HUI77 的重链及轻链可变区(参看实例 I 和图 2 及 3)。鉴别了重链及轻链可变区的 CDR。如通过 Kabat 编号法所确定,典型的重链及轻链 CDR 已显示于图 2C 及 3C 中(已加了下划线)。HUIV26 的典型重链及轻链 CDR 包括(例如): V_L CDR1, KSSQSLLNSGNQKNYLA (SEQ ID NO:20); V_L CDR2, GASTRES (SEQ ID NO:22); V_L CDR3, QNDHSYPYT (SEQ ID NO:24); V_H CDR1, GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:26); V_H CDR2, EINPDSSTINYTPSLKD (SEQ ID NO:28) 及 V_H CDR3, PVDGYDAMDY (SEQ ID NO:30)。HUI77 的典型重链及轻链 CDR 包括(例如) V_L CDR1, RSSQSIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO:32); V_L CDR2, KVSNRFS (SEQ ID NO:34); V_L CDR3, FQGSHVPWT (SEQ ID NO:36); V_H CDR1, GFSLSTSGMGVG (SEQ ID NO:38); V_H CDR2, DIWWDDNKYYNPSLKS (SEQ ID NO:40) 及 V_H CDR3, RANYGNPYAMDY (SEQ ID NO:42)。

[0087] 产生了含有单一氨基酸替换的 CDR 变体库(实例 II)。筛选所述库以与隐蔽胶原位点相结合,且鉴别除了具有有益活性的单一氨基酸突变。针对活性而联合并进行筛选了组合突变体(实例 III),在所述组合突变体中含有至少一个氨基酸替换的两个或两个以上变体 CDR 是相关于母体 HUIV26 或 HUI77 CDR 而言的。鉴别了许多具有与隐蔽胶原位点相结合优化活性的组合突变体。

[0088] 本发明抗体对隐蔽胶原表位具有结合活性。如文中所揭示,只要暴露出在天然胶原中不易达到的抗原决定簇,那么可通过多种方法中的任一种来使此胶原变性。所述方法包括(例如):蛋白酶分解、加热或热变性、化学变性等等。所属领域的技术人员应知道适合于使胶原分子变性以显露隐蔽胶原位点或表位的多种方法。而且,变性方法可以是两个或两个以上变性方法的联合,例如与化学和 / 或热变性相联合的蛋白分解。举例来说,蛋白分解可用来分裂胶原,产生更易于受热或化学变性影响的胶原分子。用于使胶原变性的典型蛋白酶是基质金属蛋白酶,其可在体外使用且可在体内起作用以在三螺旋区内部及在哺乳动物中体温下分裂胶原。

[0089] 本发明提供 HUIV26 和 HUI77 抗体的经接枝的抗体。在一个实施例中,本发明提供 HUIV26 的经接枝的抗体。经接枝的抗体或其功能性片断包括了在重链 CDR 或轻链 CDR 的一个或多个 CDR 中具有至少一个氨基酸替换的一个或多个互补决定区(CDR),其中重链 CDR 选自 SEQ ID NO:26、28 和 30,轻链 CDR 选自 SEQ ID NO:20、22 和 24,该经接枝的抗体或其功能性片断对隐蔽胶原表位具有特异结合活性。

[0090] 在另一实施例中,本发明提供了 HUI77 的经接枝的抗体。此经接枝的抗体或其功能性片段包括在重链 CDR 或轻链 CDR 的一个或多个 CDR 中具有至少一个氨基酸替换的一个或多个互补决定区 (CDR),其中重链 CDR 选自 SEQ ID NO :38、40 和 42,轻链 CDR 选自 SEQ ID NO :32、34 和 36,该经接枝的抗体或其功能性片段对隐蔽胶原表位具有特异结合活性。

[0091] 本发明还提供包括明确叙述的 CDR 的抗体或其功能性片断,其中该抗体或其功能性片段对隐蔽胶原表位具有特异结合活性。所述抗体包括具有至少单一氨基酸替换并保留对隐蔽胶原表位结合活性的抗体。所述 CDR 变体之中包括在图 4 及 5 中所描述的变体。

[0092] 在 HUIV26 的 CDR 中具有单一氨基酸替换的本发明的典型 CDR 包括(例如)下述 CDR,其中表示了 in Kabat 编号法中氨基酸突变体的位置连同自野生型至突变体(野生型-突变体)的氨基酸替换。所述典型 CDR 包括:HuIV26 V_H CDR131R-H(SEQ ID NO :43);HuIV26 V_H CDR1 34M-I(SEQ ID NO :44);HuIV26 V_HCDR1 35S → T(SEQ ID NO :45);HuIV26 V_H CDR1 35S → A(SEQ ID NO :46);HuIV26 V_H CDR1 35S-G(SEQ ID NO :47);HuIV26 V_H CDR2 57I-A(SEQ ID NO :48);HUIV26 V_H CDR2 57I-S(SEQ ID NO :49);HuIV26 V_HCDR2 62S → Y(SEQ ID NO :50);HuIV26 V_H CDR2 62S → A(SEQ ID NO :51);HuIV26 V_H CDR2 62S-H(SEQ ID NO :52);HuIV26 V_H CDR2 62S → G(SEQ ID NO :53);HuIV26 V_H CDR2 64K → Q(SEQ ID NO :54);HuIV26 V_HCDR2 65D-S(SEQ ID NO :55);HuIV26 V_H CDR3 97D-P(SEQ ID NO :56);HuIV26 V_H CDR3 97D → G(SEQ ID NO :57);HuIV26 V_H CDR397D → T(SEQ ID NO :58);HuIV26 V_H CDR3 97D → A(SEQ ID NO :59);HUIV26 V_H CDR3 98G → P(SEQ ID NO :60);HuIV26 V_H CDR398G → A(SEQ ID NO :61);HuIV26 V_H CDR3 98G-H(SEQ ID NO :62);HuIV26V_H CDR3 102Y → P(SEQ ID NO :63);HuIV26 V_H CDR3 102Y-N(SEQ ID NO :64);HuIV26 V_L CDR1 27Q-R(SEQ ID NO :65);HuIV26 V_L CDR1 27Q-S(SEQ ID NO :66);HuIV26 V_L CDR1 27dN-S(SEQ ID NO :67);HuIV26 V_LCDR1 27eS-Y(SEQ ID NO :68);HuIV26 V_L CDR1 27eS → W(SEQ ID NO :69);HUIV26 V_L CDR1 27eS → H(SEQ ID NO :70);HuIV26 V_L, CDR127eS-R(SEQ ID NO :71);HuIV26 V_L CDR1 27fG → Y(SEQ ID NO :72);HuIV26 V_L CDR1 27fG → R(SEQ ID NO :73);HuIV26 V_L CDR127fG → H(SEQ ID NO :74);HuIV26 V_L CDR1 27fG → I(SEQ ID NO :75);HuIV26 V_L CDR1 29Q → K(SEQ ID NO :76);HuIV26 V_L CDR393S → Q(SEQ ID NO :77);HuIV26 V_L CDR3 93S-G(SEQ ID NO :78);HuIV26 V_L CDR3 93S → L(SEQ ID NO :79);HUIV26 V_L CDR393S → A(SEQ ID NO :80);HuIV26 V_L CDR3 93S → T(SEQ ID NO :81);HuIV26 V_L CDR3 93S → V(SEQ ID NO :82);HUIV26 V_L CDR394Y → N(SEQ ID NO :83);HuIV26 V_L CDR3 94Y-S(SEQ ID NO :84);HUIV26 V_L CDR3 94Y → P(SEQ ID NO :85);HuIV26 V_L CDR394Y → -M(SEQ ID NO :86)及 HuIV26 VL CDR2 S7I-V(SEQ ID NO :162)。

[0093] 在 HUI77 的 CDR 中具有单一氨基酸替换的本发明典型 CDR 包括(例如)下述 CDR,其中表示了 in Kabat 编号法中氨基酸突变位置连同自野生型至突变体(野生型-突变体)的氨基酸替换。所述典型 CDR 包括:HUI77 V_H CDR1 32S-P(SEQ ID NO :87);HUI77 V_H CDR1 32S → W(SEQ ID NO :88);HUI77 V_H CDR135bG → W(SEQ ID NO :89);HUI77 V_H CDR1 35bG → L(SEQ ID NO :90);HUI77 V_H CDR1 35bG-A(SEQ ID NO :91);HUI77 V_H CDR2 59Y → S(SEQ ID NO :92);HUI77 V_H CDR2 59Y → A(SEQ ID NO :93);HUI77 V_H CDR259Y → P(SEQ ID NO :94);HUI77 V_H CDR2 64K → P(SEQ ID NO :95);

HUI77 V_H CDR3 95R → P(SEQ ID NO:96); HUI77 V_H CDR3 95R → Q(SEQ ID NO:97);
HUI77 V_H CDR3 95R → L(SEQ ID NO:98); HUI77 V_H CDR3 95R → T(SEQ ID NO:99);
HUI77 V_H CDR3 95R → V(SEQ ID NO:100); HUI77 V_H CDR3 100N → V(SEQ ID NO:101);
HUI77 V_H CDR3 100N → W(SEQ ID NO:102); HUI77 V_H CDR3 100eM → Q(SEQ ID NO:103);
HUI77 V_H CDR3 100eM → N(SEQ ID NO:104); HUI77 V_H CDR3 100eM → T(SEQ ID NO:
105); HUI77 V_H CDR3 102Y → K(SEQ ID NO:106); HUI77 V_H CDR3 102Y → T(SEQ ID NO:
107); HUI77 V_H CDR3 102Y → M(SEQ ID NO:108); HUI77 V_H CDR3 102Y-H(SEQ ID NO:
109); HUI77 V_L CDR1 27cV → P(SEQ ID NO:110); HUI77 V_L CDR1 27cV → W(SEQ ID NO:
111); HUI77 V_L CDR1 27dH → L(SEQ ID NO:112); HUI77 V_L CDR1 27dH-S(SEQ ID NO:
113); HUI77 V_L CDR1 27eS → W(SEQ ID NO:114); HUI77 V_L CDR1 28N → Y(SEQ ID NO:
115); HUI77 V_L CDR1 28N → W(SEQ ID NO:116); HUI77 V_L CDR1 30N → Y(SEQ ID NO:
117); HUI77 V_L CDR1 33L → F(SEQ ID NO:118); HUI77 V_L CDR1 33L → V(SEQ ID NO:
119); HUI77 V_L CDR2 50K → S(SEQ ID NO:120); HUI77 V_L CDR2 51V → A(SEQ ID NO:
121); HUI77 V_L CDR2 53N → S(SEQ ID NO:122); HUI77 V_L CDR2 54R → L(SEQ ID NO:
123); HUI77 V_L CDR2 56S → W(SEQ ID NO:124); HUI77 V_L CDR2 56S → F(SEQ ID NO:
125); HUI77 V_L CDR3 89F → V(SEQ ID NO:126); HUI77 V_L CDR3 89F → H(SEQ ID NO:
127); HUI77 V_L CDR3 90Q → R(SEQ ID NO:128); HUI77 V_L CDR3 90Q → W(SEQ ID NO:
129); HUI77 V_L CDR3 91G → S(SEQ ID NO:130); HUI77 V_L CDR3 92S → W(SEQ ID NO:
131); HUI77 V_L CDR3 92S → E(SEQ ID NO:132); HUI77 V_L CDR3 93H → L(SEQ ID NO:
133); HUI77 V_L CDR3 93H → T(SEQ ID NO:134); HUI77 V_L CDR3 93H-S(SEQ ID NO:135);
HUI77 V_L CDR3 93H → A(SEQ ID NO:136); HUI77 V_L CDR3 93H → Q(SEQ ID NO:137);
HUI77 V_L CDR3 94V → T(SEQ ID NO:138); HUI77 V_L CDR3 97T → A(SEQ ID NO:139);
HUI77 V_L CDR3 97T-R(SEQ ID NO:140); HUI77 V_L CDR3 97T → H(SEQ ID NO:141); HUI77 V_L
CDR3 97T → K(SEQ ID NO:142); HUI77 V_L CDR3 97T → I(SEQ ID NO:143); HUI77 V_H CDR2
59Y → T(SEQ ID NO:144); HUI77 V_L CDR3 94V → F(SEQ ID NO:145) 及 HUI77 V_L CDR1
28N-Q(SEQ ID NO:146)。

[0094] 除具有单一氨基酸替换的 CDR 之外, 本发明还提供具有两个或两个以上氨基酸替换的 HUIV26 和 HUI77CDR。在 HUIV26 中具有两个或两个以上氨基酸替换的典型 CDR 包括例如: HDIV26 V_H CDR2 57I → A/62S → A(SEQ ID NO:154); HOIV26 V_H CDR2 57I-A/62S → Y(SEQ ID NO:155); HUIV26 V_H CDR2 57I-A/62S-H(SEQ ID NO:156); HUIV26 V_L CDR1 27eS-W/27fG-Y(SEQ ID NO:157); HUIV26 V_L CDR1 27eS → Y/27fG → Y(SEQ ID NO:158); HUIV26 V_L CDR1 27eS → Y/27fG → H(SEQ ID NO:159); HUIV26 V_L CDR1 27eS → R/27fG → Y(SEQ ID NO:160) 及 HDIV26 V_L CDR1 27eS → W/27fG → H(SEQ ID NO:161) (参看图 6)。在 HUI77 中具有两个或两个以上氨基酸替换的典型 CDR 包括例如: HUI77 V_H CDR1 32S-P/35bG-W(SEQ ID NO:147); HUI77 V_H CDR1 32S-P/35bG-A(SEQ ID NO:148); HUI77 V_L CDR1 27dH-S/28N-W(SEQ ID NO:149); HUI77 V_L CDR1 27dH → S/28N → Y(SEQ ID NO:150); HUI77 V_L CDR1 27dH → S/28N → Q(SEQ ID NO:151); HUI77 V_L CDR1 28N → Q/33L → F(SEQ ID NO:152) 及 HUI77 V_L CDR1 27dH → S/28N → W/33L → F(SEQ ID NO:153) (参看图 7)。

[0095] 本发明提供具有至少一个上述变体 CDR 序列的抗体。当然只要能维持对隐蔽胶原位点的结合活性,那么 HUIV26 CDR 的任意联合可与突变体和 / 或野生型 CDR 联合以产生 HUIV26 移植抗体。类似地,只要能维持对隐蔽胶原位点的结合活性,那么 HUI77 CDR 的任意联合可与突变体和 / 或野生型 CDR 联合以产生经 HUI77 移植的抗体。因此,单一氨基酸替换任意联合可与其他 CDR 突变体联合以产生具有至少两种变体 CDR 的抗体。可将在相同 CDR 内不同位置的任意单一突变进行联合以产生在两个或两个以上位置具有 2 个或 2 个以上氨基酸替换的 CDR。只要能维持对隐蔽胶原位点的结合活性,那么可联合任意单一或多种突变。

[0096] 因此,本发明提供抗体或其功能性片断,其包括选自以下所引用的 CDR 的一个或多个 CDR:SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:156、SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:158、SEQ ID NO:159、SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:161 及 SEQ ID NO:162,此抗体或其功能性片断对隐蔽胶原表位具有特异结合活性。

[0097] 本发明还提供抗体或其功能性片断,其包括选自以下所引用的 CDR 的一个或多个 CDR:SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:144、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:147、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:149、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:151、SEQ ID NO:152 及 SEQ ID NO:153,该抗体或其功能性片断对隐蔽胶原表位具有特异结合活性。

[0098] 本发明还包括抗体或其功能性片断,其包括由在一个或多个重链 CDR 中具有至少一个氨基酸替换的一个或多个 CDR 所组成的重链多肽,其中重链 CDR 选自重链 CDR1、重链 CDR2 及重链 CDR3:重链 CDR1 选自引证为 SEQ ID NO:26、43、44、45、46 及 47 的 CDR;重链 CDR2 选自引证为 SEQ ID NO:28、48、49、50、51、52、53、54 及 55 的 CDR;重链 CDR3 选自引证为 SEQ ID NO:30、56、57、58、59、60、61、62、63 及 64 的 CDR 所,该抗体或其功能性片断对隐蔽胶原表位具有特异结合活性。

[0099] 本发明也提供抗体或其功能性片断,其包括由在一个或多个轻链 CDR 中具有至少一个氨基酸替换的一个或多个 CDR 所组成的轻链多肽,其中轻链多肽选自轻链 CDR1、轻链 CDR2 及轻链 CDR3;轻链 CDR1 选自引证为 SEQ ID NO:20、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75 及 76 的 CDR;轻链 CDR2 引证为 SEQ ID NO:22 及轻链 CDR3 选自引证为 SEQ ID NO:24、77、78、79、80、81、82、83、84、85 及 86 的 CDR,该抗体或其功能性片断对隐蔽胶原表位具有特异结合活性。

[0100] 本发明还提供抗体或其功能性片断,其包括由在一个或多个重链 CDR 中具有至少一个氨基酸替换的一个或多个 CDR 所组成的重链多肽,其中重链 CDR 选自重链 CDR1、重链 CDR2 及重链 CDR3;重链 CDR1 选自引证为 SEQ ID NO:38、87、88、89、90、91、47 及 148 的 CDR;重链 CDR2 选自引证为 SEQ ID NO:40、92、93、94、95 及 144 的 CDR;重链 CDR3 选自引证为 SEQ ID NO:42、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108 及 109 的 CDR,该抗体及其功能性片断对隐蔽胶原表位具有特异结合活性。

[0101] 另外提供的是抗体或其功能性片断,其含有由在一个或多个轻链 CDR 中具有至少一个氨基酸替换的一个或多个 CDR 所组成的轻链多肽,其中轻链 CDR 选自轻链 CDR1、轻链 CDR2 及轻链 CDR3;轻链 CDR1 选自引证为 SEQ ID NO:32、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、146、149、150、151、152 及 153 的 CDR;轻链 CDR2 引证为 SEQ ID NO:34、120、121、122、123、124 及 125 及轻链 CDR3 选自引证为 SEQ ID NO:36、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143 及 145 的 CDR,该抗体或其功能性片断对隐蔽胶原表位具有特异结合活性。

[0102] 如上所述,只要能维持对隐蔽胶原位点的结合活性,那么本发明抗体可从变体和/或野生型 CDR 的任意联合产生。如文中所揭示,鉴别出了含有具有至少单一氨基酸替换的多种 CDR 的不同组合抗体对隐蔽胶原位点具有结合活性。除了含有文中所揭示的各自 CDR 任意联合的抗体之外,本发明也提供了 CDR 的以下特定联合。

[0103] 典型 HUIV26 变体包括(例如)以下抗体:包括引证为 SEQ ID NO:26 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:28 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:20 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体(4.1-2D4)。包括引证为 SEQ ID NO:26 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:28 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:72 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体(L1b-F11)。包括引证为 SEQ ID NO:26 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:48 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:20 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体(H2a-G8)。包括引证为 SEQ ID NO:45 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:154 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:157 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体(DcomA2)。包括引证为 SEQ ID NO:26 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:155 的 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的 CDR3;引证为 SEQ ID NO:158 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体(DcomA4)。

[0104] 包括引证为 SEQ ID NO:46 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:155 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:159 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:

22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (DcomB1)。包括引证为 SEQ ID NO:26 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:48 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:160 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (DcomD2)。包括引证为 SEQ ID NO:45 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:155 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:72 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (DcomD3)。包括引证为 SEQ ID NO:26 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:155 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:157 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (DcomD6)。

[0105] 包括引证为 SEQ ID NO:45 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:155 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:160 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (DcomE3)。

[0106] 包括引证为 SEQ ID NO:46 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:155 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:160 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (DcomG2)。

[0107] 包括引证为 SEQ ID NO:45 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:162 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:158 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (DcomA7)。

[0108] 包括引证为 SEQ ID NO:45 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:156 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:157 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (DcomB10)。

[0109] 含有引证为 SEQ ID NO:26 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:154 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:157 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (DcomC8)。

[0110] 包括引证为 SEQ ID NO:45 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:155 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:157 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (DcomD7)。

[0111] 包括引证为 SEQ ID NO:46 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:154 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:161 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (DcomD11)。

[0112] 包括引证为 SEQ ID NO:46 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:156 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:161 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (DcomE11)。

[0113] 包括引证为 SEQ ID NO:46 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:28 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:63 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:20 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:22 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO:77 的轻链 CDR3 的抗体 (2D4H1-C3)。

[0114] 典型的 HUI77 变体包括 (例如) 以下抗体:

[0115] 包括引证为 SEQ ID NO:38 的重链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:40 的重链 CDR2;引证为 SEQ ID NO:103 的重链 CDR3;引证为 SEQ ID NO:32 的轻链 CDR1;引证为 SEQ ID NO:34

的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3 的抗体 (12F10Q)。

[0116] 包括引证为 SEQ ID NO :38 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :92 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :32 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3 的抗体 (QH2b-A3)。

[0117] 包括引证为 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :92 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :149 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3 的抗体 (Qcom1B6)。

[0118] 包括引证为 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :92 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :150 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3 的抗体 (Qcom1B8)。

[0119] 包括引证为 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :93 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :149 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR2 的抗体 (Qcom1C3)。

[0120] 包括引证为 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :144 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :149 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3 的抗体 (Qcom1D3)。

[0121] 包括引证为 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :93 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :151 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3 的抗体 (Qcom1E3)。

[0122] 包括引证为 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :92 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :151 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的 CDR3 的抗体 (Qcom1H6)。

[0123] 包括引证为 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :93 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :152 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :145 的轻链 CDR3 的抗体 (Qcom1H7)。

[0124] 包括引证为 SEQ ID NO :148 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :93 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :150 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3 的抗体 (Qcom2A4)。

[0125] 包括引证为 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :93 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :115 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3 的抗体 (Qcom2B11)。

[0126] 包括引证为 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :40 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :153 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3 的抗体 (Qcom2C1)。

[0127] 包括引证为 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :92 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :116 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3 的抗体 (Qcom2D9)。

[0128] 包括引证为 SEQ ID NO :147 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :93 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :116 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :

34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3 的抗体 (Qcom2E3)。

[0129] 包括引证为 SEQ ID NO :38 的重链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :93 的重链 CDR2 ;引证为 SEQ ID NO :103 的重链 CDR3 ;引证为 SEQ ID NO :32 的轻链 CDR1 ;引证为 SEQ ID NO :34 的轻链 CDR2 及引证为 SEQ ID NO :36 的轻链 CDR3 的抗体 (Qh2b-B7)。

[0130] 本发明也提供含有分别衍生自 HDIV26 和 HDI77 的 CDR 的经接枝的抗体。所述经移植的 CDR 包括人源化的抗体,其中来自 HUIV26 或 HUI77 的 CDR 已经被移植或者其中移植了含有一个或多个氨基酸替换的 CDR。如文中所述,可将 CDR 直接移植到人类框架中。若须要,通过产生框架库也可以合并框架变化。如下文更详细的描述,CDR 和 / 或框架序列的优化可独立执行及继而联合或者可同时执行。

[0131] 因此,本发明另外提供经接枝的抗体,其中将 HUIV26 CDR (SEQ ID NO :20、22、24、26、28 及 30) 移植到人类框架序列。也提供经接枝的抗体,其中将 HUI77 CDR (SEQ ID NO :32、34、36、38、40 及 42) 移植到人类框架。

[0132] 为产生经接枝的抗体,将胶原特异性抗体的供体 CDR 移植到抗体受体可变区框架上。用于经接枝的抗体及产生 CDR 变体以优化活性的方法先前已有所描述 (WO 98/33919、WO 00/78815 及 WO 01/27160)。可执行此程序以在同时进行的过程中实现供体 CDR 的移植和重新取得亲合力。类似地,这些方法可单独或与 CDR 移植联合使用以修饰或优化可变区的结合亲合力。用于将供体 CDR 结合亲合力提供到受体可变区上的方法对于重链及轻链可变区都适用且同样可用于同时进行移植和优化抗体可变区的结合亲合力。

[0133] 供体 CDR 可变更以在供体 CDR 内全部或所选位置处含有多数不同氨基酸残基变化。举例来说,可将二十个自然发生的氨基酸残基或预选子群的随机或有偏向合并引入至供体 CDR 以产生 CDR 物种的不同群体。CDR 变体物种内含到可变区的不同群体中以供产生展示了对预定抗原已优化的结合亲合力的变体物种之用。

[0134] 在供体 CDR 位置中可以制成可能变化的范围。可将为变化而选择的某些或所有的可能变化引入到经移植的供体 CDR 的群体中。可选择 CDR 中的单一位置以引进变化或者可为活性而联合或筛选具有变更氨基酸的多种位置。

[0135] 沿 CDR 改变所有氨基酸位置的一种途径是通过用 (例如) 全部二十个自然发生的氨基酸来替代每一个位置。每个位置的替代可在其他供体 CDR 氨基酸位置的范围中发生以使得 CDR 的重要部分维持可靠的供体 CDR 序列且因此维持供体 CDR 的结合亲合力。举例来说,受体可变区框架或者天然或变更的框架可由在 CDR 内的每个位置含有单一位置替代的 CDR 群体进行移植。类似地,可瞄准受体可变区框架以用于由含有经改变至合并了所有二十个氨基酸残基或氨基酸子群的多于一个位置的 CDR 群体进行移植。在将要移植的 CDR 或 CDR 组之内的一个或多个氨基酸位置可进行变更并移植到受体可变区框架中以产生经接枝的抗体群体。当然,若须要,具有一个或多个变更位置的 CDR 可与具有一个或多个变更位置的一个或多个其他 CDR 进行联合。

[0136] 具有一个或多个变更位置的 CDR 变体物种群体可与构成可变区的结合区的任意或全部 CDR 进行联合。所以,可瞄准受体可变区框架以用于在重链或轻链中一个、两个或全部三个可接受 CDR 位置同时合并供体 CDR 变体群体。由氨基酸位置变化瞄准的 CDR 或 CDR 的数目的选择将取决于 (例如) 是否须要将全部 CDR 移植到受体中或者此方法是否是为结合亲合力的优化而执行。

[0137] 用于选择供体 CDR 氨基酸以达到提供供体 CDR 结合亲合力至抗体受体可变区框架之上的途径是选择高度可变的已知的或容易鉴别的 CDR 位置。举例来说,可变区 CDR3 通常高度可变。所以如文中所述,可选择性地瞄准该区以用于移植程序期间的氨基酸位置变化从而确保重新取得或增加结合亲合力,其中氨基酸位置变化可是单独的或是与相应受体可变变化一起。

[0138] 若须要,具有一个或多个变更氨基酸位置的 CDR 变体群体可方便地与具有一个或多个变更氨基酸位置的框架变体群体进行联合。此联合可导致变化的有益联合,此联合可通过筛选其优化活性而得以鉴别。

[0139] 因此生成的经 CDR 移植的可变区群体含有在每个位置对应于可靠母体氨基酸残基的物种,也含有在每个所选 CDR 位置对应可靠母体氨基酸残基连同变体残基的可能联合及置换的不同数目的不同物种。为保留供体 CDR 结合活性或已优化结合活性的变更可变区物种而筛选所述经 CDR 移植的可变区的不同群体。

[0140] 可选择受体使得其与接纳供体 CDR 的可变区氨基酸序列密切相似。另外,可使用与供体抗体不太密切相关的多种抗体。或者,在受体框架中所有可能或相应变化的库可被构成且接着筛选该库以得到维持或展示了对比供体分子而言增加的结合亲合力的可变区或其异侧结合片断。可将供体 CDR 移植到具有一个或多个变化的多种自然发生的受体框架或变更框架中或者甚至将其移植到在一个或多个位置含有变化的库中。因此,其适用性不以与供体框架可变区相似的受体框架可变区的可获得性或寻求为前提条件。

[0141] 用于将供体 CDR 结合亲合力提供至可变区上的所述方法可涉及鉴别受体框架中的相应氨基酸位置(所述位置是已知的或经预测会影响 CDR 构型,或者是已知的或经预测会影响在参与结合的 CDR 之内的氨基酸侧链空间范围),且接着产生在那些氨基酸位置处合并了复数个氨基酸残基的变更的可变区物种的群体。举例来说,在那些位置的不同氨基酸残基可随意或以预定偏向进行合并并且在每个相应位置包括全部二十个自然发生氨基酸残基。为在相应框架位置进行结合,可另外选择包括少于全部自然发生氨基酸的子群。在每个相应框架位置包括复数个不同氨基酸残基确保了在具有框架变化的群体之内存在至少一个物种,其中框架变化允许在受体框架可变区范围中 CDR 重获其供体结合亲合力。

[0142] 为使抗体人源化,可选择任意的多种人类框架用于 CDR 移植。举例来说,可将 HUIV26 或 HUI77 的 CDR 克隆至多种人类框架序列。使用人类生殖细胞系基因编码重链及轻链可变区和 J 区可产生框架以得到用于 CDR 移植的人类框架序列。典型的人类框架核苷酸序列包括(例如):DPK24(VKIV)(SEQ ID NO:5)、DP-54(VHIII)(SEQ ID NO:7)、DPK13(VKII)(SEQ ID NO:13)、DP-28(VHII)(SEQ ID NO:15)及 J 区 JK1(SEQ ID NO:217)、JK2(SEQ ID NO:218)和 JH6(SEQ ID NO:219)的框架序列。当然,来自任意可用的生殖细胞系序列的框架区可与任意可用的 J 序列联合以(若须要)产生用于移植 CDR 的人类框架。举例来说,HUIV26 和 HUI77 的小鼠可变区与典型人类框架的比对分别显示于图 2C 和 3C 中。VKIV/JK2 轻链可变区和 VHIII 重链可变区的融合与 HUIV26 比对(图 2C)。VKII/JK1 轻链可变区和 VHIII/JH6 重链可变区的融合与 HUI77 比对(图 3C)。生殖细胞系和 J 区的典型融合显示于图 3D,其与 HUI77 轻链进行比对。当然,可选择任意可用的人类框架用于 CDR 移植且(若须要)通过文中所揭示的方法进行优化。如文中所揭示,可将具有有益突变的 CDR 移植到多种框架中且具有保留的或增加的活性(参看实例 III)。

[0143] 用以变更的相应框架氨基酸位置的选择取决于所属领域的技术人员所熟知的多种标准。选择用以改变的相应框架氨基酸的一种标准是在供体分子与受体分子之间在氨基酸框架残基上的相对差。使用该途径来选择用以变更的相应框架位置是简单的且具有避免在残基确定中的主观偏差或避免在通过残基的 CDR 结合亲合力影响中的任意偏差的优势。

[0144] 用于确定用以改变的相应氨基酸位置的另一标准可以是（例如）选择已知是重要的或有助于 CDR 构型的框架残基。举例来说，规范的框架残基对于 CDR 构型或结构而言是重要的。瞄准规范框架残基作为用以改变的相应位置可鉴别在其相关联的供体 CDR 序列范围中更适合的氨基酸残基。

[0145] 氨基酸残基在特殊框架位置的频率是另一个标准，其可用于选择所要改变的相应框架氨基酸位置。举例来说，所选框架与其亚科内其他框架序列的比较可显露在一特殊位置或多个特殊位置以较小频率发生的残基。接纳不太充足的残基的所述位置可类似适用于选择作为在受体可变区框架中所要变更的位置。

[0146] 例如，也可基于对 CDR 的近似度来选择用以改变的相应氨基酸位置。在某种范围中，所述残基能参与 CDR 构型或抗原结合。而且，此标准可类似用于使文中所述的通过其他标准选择的相应位置按优先次序比对。因此，区分一个或多个 CDR 的近侧和远侧的残基是减少所要改变的相应位置的数目的有效方法。

[0147] 用于选择所要变更的相应氨基酸框架位置的其他标准包括（例如）已知的或已预测存在于抗原-CDR 界面附近的三维空间中的或已预测调控 CDR 活性的残基。类似地，可选择已知的或已预测在重 (V_H) 链和轻 (V_L) 链可变区界面之间形成接触的框架残基。所述框架位置通过调控 CDR 结合区、抗原相互作用或 V_H 和 V_L 相互作用可影响 CDR 的构型或亲合力。因此，选择这些氨基酸位置来构建用于筛选结合活性的不同群体可用于鉴别框架变化，此框架变化替代对 CDR 构型具有不利影响的残基或抵偿对框架中别处存在的残基的不利影响。

[0148] 可选择用于变更的其他框架残基包括难以接近溶剂的氨基酸位置。所述残基通常隐匿在可变区中且因此可以影响 CDR 的构型或 V_H 和 V_L 相互作用。例如，可从由多肽的氨基酸侧链或由已知的三维结构数据所创造的环境的相对疏水性来预测溶剂的可接近性。

[0149] 在于供体 CDR 中选择相应氨基酸位置，及在想要改变的框架区中选择任意相应氨基酸位置之后，在某些或全部所选位置上的氨基酸变化可并入用于受体可变区框架和供体 CDR 的编码核酸。变更的框架或 CDR 序列可单独构成及进行测试，或者可同时联合或进行测试（若须要）。

[0150] 在任意或全部变更位置的可变性可从少数至多数不同氨基酸残基范围，其包括所有二十个自然发生氨基酸或其功能等价物和其类似物。

[0151] 用以改变的氨基酸位置的数目及定位的选择是灵活的且可取决于用来鉴别具有理想活性（例如相比供体可变区而言基本相同或更高的结合亲合力）的变更可变区的预期用途和所想要的效率。在这方面，并入经变更的可变区群体的变化数目越大，则对展示了理想活性（例如，与供体基本相同的或高于供体的结合亲合力）的至少一个物种的鉴别更有效。或者，如果使用者具有关于某些氨基酸残基或位置不均衡地有助于结合亲和力的影响的经验或实际数据，那么可希望产生集中在那些经鉴别的残基或位置之内或周围的变化变更可变区的有限群体。

[0152] 举例来说,若需要 CDR 移植可变区,则经变更的可变区的大的不同的群体可包括在供体和受体框架与所有单一 CDR 氨基酸位置变化之间的所有非相同框架区位置。或者中间差异的群体可包括(例如)仅为要合并的近侧非相同框架位置的子群连同所有单一 CDR 氨基酸位置变化的子群。(例如)通过另外包括所有成对 CDR 氨基酸位置变化可进一步增加上述群体的差异。相反,集中在预定残基或位置(其在少至一个框架和/或一个 CDR 氨基酸残基位置处来合并变体残基)上的群体可类似进行构建以用于筛选和鉴别本发明的变更的抗体可变区。若用上述群体,则所述集中群体的差异可通过另外扩展所选择用以改变的位置以包括在框架和 CDR 区的任一个或全部两者中的其他相应位置来进一步得到增加。在另外采用的框架和 CDR 的任一个或全部两者中存在从很少变化到许多变化的范围的许多其他联合,所有这些联合将导致经变更的可变区群体,该经变更的可变区可经筛选以鉴别具有所想要活性(例如,对隐蔽胶原位点的结合活性)的至少一个 CDR 移植经变更的可变区。所属领域的技术人员应知道或者可确定在框架或供体 CDR 或其子群中哪个所选的残基位置可进行改变以产生用于根据文中所提供的教导和引导筛选和鉴别经变更的抗体的群体。

[0153] 所有 CDR 编码核酸和所有所选氨基酸位置变化的同时合并可通过所属领域技术人员已知的多种方法来完成,其包括(例如)重组和化学合成法。举例来说,可通过(例如)以化学方法合成用于与供体 CDR 编码核酸一起相融合的受体可变区的核苷酸序列和以化学方法在为接纳可变氨基酸残基而选择的位置上结合多数相应氨基酸密码子来实现同时结合。

[0154] 一种为所属领域中熟知的用于快速及有效地在已知氨基酸序列中产生大量变更或用于产生可变序列或随机序列的不同群体的所述方法是基于密码子的合成法或诱变法。此方法是美国第 5,264,563 和第 5,523,388 号专利的主题且在 Glaser 等人的 *J. Immunology* 149:3903(1992)中也有所描述。简要地说,例如,用于指定遗传密码氨基酸的所有二十个密码子的随机化的偶合反应在分开的反应导管(vessel)中执行且用于特殊密码子位置的随机化通过混合每个所述反应导管中的产物来发生。混合之后,将对应于给全部二十个氨基酸的同等混合物编码的密码子的随机化反应产物分至用于每个随机化密码子在下个位置合成的分开的反应导管。对于全部二十个氨基酸同等频率的合成,可在每个反应导管中进行合成高达两个密码子。

[0155] 对这些合成方法的变化也存在且包括(例如)在所想要位置的预定密码子合成法和在一个或多个密码子位置的预定序列的有偏向合成法。有偏向的合成法涉及两个反应导管的使用,其中预定密码子或母体密码子在一个导管中合成且随机密码子在第二个导管中合成。可将第二个导管分成多重反应导管,例如上述的用于指定在特殊位置的完全随机的氨基酸的密码子合成的反应导管。或者,例如通过 NNG/T 核苷酸的偶合(其中 N 是所有四个核苷酸的混合物),简并的密码子群体可在第二个反应导管中合成。预定密码子和随机密码子合成之后,混合两个反应导管每一个中的反应产物且接着将其再分至用于在下一个密码子位置合成的另外两个导管。

[0156] 对用来产生不同数目变体序列的上述基于密码子的合成法的修饰可用于文中所述变体群体的产生。此修饰基于上述两导管方法,其使合成法偏向于母体序列且允许使用者将变体分成含有具有随机密码子变化的特定数目密码子位置的群体。

[0157] 简要地说,此合成法可通过在每个密码子位置合成之后继续将反应导管分成两个新导管来执行。划分之后,以第二导管开始,将来自每个连续成对反应导管的反应产物进行混合。此混合集合了具有含随机变化的相同数目密码子位置的反应产物。然后将第一和最末导管的产物及来自每个连续成对反应导管的最新混合产物分至及再分至两个新导管而使合成继续进行。在一个新导管中合成了母体密码子且在第二个导管中合成了随机密码子。举例来说,在第一密码子位置的合成必然伴有在一个反应导管中母体密码子的合成和在第二反应导管中随机密码子的合成。

[0158] 对于在第二个密码子位置的合成,将最初的两个反应导管的每一个分成两个导管,其产生两对导管。对于每对导管而言,母体密码子在一个导管合成且随机密码子在第二个导管中合成。若进行线性比对,则将第二及第三导管中的反应产物进行混合以集合在单一密码子位置具有随机密码子序列的那些产物。此混合也将产物群体减至三个,其是用于下一轮合成的起始群体。类似地,对于第三、第四和每个剩余位置而言,可将用于前述位置的每个反应产物群体进行划分且合成了母体及随机密码子。

[0159] 随基于密码子的合成法的上述修饰之后,在一个、两个、三个及四个位置及其他位置含有随机密码子变化的群体可基于个体的需要方便地进行分离和使用。另外,此合成方案也允许用于随机化序列群体在母体序列的富集,因为仅含有母体序列合成的导管类似地从随机密码子合成中分离出来。

[0160] 所属领域已熟知的用于在已知氨基酸序列中产生大量变更或者用于产生可变序列或随机序列的不同群体的其他方法包括(例如)简并的或部分简并的寡核苷酸合成。指定全部四个核苷酸单体同等混合物的密码子(成为NNN)导致简并合成。不过,部分简并的合成可使用例如前述NNG/T密码子来完成。所属领域已熟知的其他方法可选择性地使用,例如使用统计学上预定的或杂合的密码子合成,其是美国第5,223,409号和第5,403,484号专利的主题。

[0161] 一旦变更的可变区编码核酸的群体如上述进行构建,那么他们可经表达产生经变更的可变区多肽的群体,其中对经变更的可变区多肽群体进行筛选其结合亲和力。举例来说,可将经变更的可变区编码核酸克隆至用于繁殖、操纵和表达的适当载体中。所述载体是已知的或者可以由所属领域的技术人员进行构建且应当包括足够用于变更的可变区多肽的转录、翻译、调节和(若须要)分选及分泌的所有表达元素。只要表达核调节元素在各自的宿主体系中起作用那么所述载体适用于原核的或真核宿主体系中的表达。该等表达载体可另外包括用于诱导表达或细胞类型特异表达的调节元素。所属领域的技术人员应知道哪些宿主体系与特殊载体相适合及哪些调节元素或功能元素足够完成以可溶的、分泌的或细胞表面形式的多肽的表达。

[0162] 适当的宿主细胞包括(例如)细菌和相应的噬菌体表达体系,酵母、鸟、昆虫和哺乳动物的细胞。用于不同宿主体系中所述群体之内的变更可变区或变更可变区多肽的群组的重组表达、筛选、净化的方法已为所属领域熟知且(例如)在Sambrook等人的Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold SpringHarbor Laboratory,纽约(1992年)和Ausubel等人的Current Protocols inMolecular Biology, (增刊54),John Wiley & Sons,纽约(2001年)中有所描述。用于经变更的可变区的表达和筛选的特殊载体和宿主细胞的选择已为所属领域的技术人员所知且取决于使用者的偏好。另外,使用细丝状噬

菌体载体 / 宿主体系来表达以可溶或细胞表面形式的杂受体不同群体在所属领域已为人熟知且是美国第 5,871,974 号专利的主题。

[0163] 可对经变更的可变区多肽经表达的群体进行筛选以用于鉴别展示了已优化结合活性（例如与供体 CDR 可变区基本相同或更高的结合亲合力）的一个或多个经变更的可变区物种。可通过所属领域已熟知的不同方法来完成筛选以确定多肽或化合物的结合亲合力。另外，基于通过比较经变更的可变区多肽与供体 CDR 可变区之间的结合量来确定分子与其伙伴结合的相对亲合力的方法可类似用于鉴别展示了与供体 CDR 可变区基本相同或更高的结合亲合力的物种。所有所述方法可（例如）在液相或在固相中执行。而且，结合分析的不同格式已为所属领域熟知且包括（例如）固定至过滤器（诸如尼龙、硝化纤维素）、二维比对、酶联免疫吸附法（ELISA）、放射线免疫测定（RIA）、淘筛（panning）和等离子共振。已发现所述方法在（例如）Harlow 和 Lane, 见上, 1988 年中有所描述。

[0164] 对于多肽群体（例如由本发明方法产生的变更的可变区群体）的筛选，将变更的可变区的群体固定至过滤器或其他固态基质是有利的，因为大量不同物种可有效地进行筛选抗原结合性。所述过滤器提升（lift）允许用于鉴别展示了相比供体 CDR 可变区而言基本相同或更高的结合亲合力的经变更的可变区。或者，如果经变更的可变区的群体被表达在细胞或噬菌体的表面上，那么对经固定的抗原进行淘筛可用于有效地筛选具有抗原结合活性的变体或者用于确定群体之内物种的相对结合亲合力。

[0165] 用于筛选变更的可变区多肽的另一亲合力方法是捕获提升法（capture lift assay），该方法可用于鉴别具有对配合体的选择性亲合力的结合分子（Watkins 等人的（1997 年）；WO 99/06834）。此方法采用经变更的可变区至固态支撑物的选择性固定且然后是筛选所述经选择性地固定的变更可变区以用于针对同源抗原或结合伙伴的结合相互作用。选择性固定起增加正测定的结合相互作用灵敏度的作用，因为变更可变区群体至固态支撑物上的初始固定减少了与不相关分子或存在于反应中的污染物之间的非特异结合相互作用。

[0166] 用于筛选群体或测定个体经变更的可变区多肽的亲合力的另一种方法是通过表面等离子共振（SPR）。此方法是基于在金属 / 液体界面激发表面等离子波时发生的现象。光被指向于及反射自未与样品接触的表面侧，且 SPR 引起角及波长的特定联合上反射强度的减少。生物分子结合事件引起作为 SPR 信号中的变化来探测的表层折射率的变化。此结合事件可以是受体 - 配合体对之间的结合结合或结合解离。折射率的变化可基本上实时测定且因此允许测定亲合常数的单个成份。更明确的说，此方法能够精确测定结合速率（ k_{on} ）和解离速率（ k_{off} ）。

[0167] k_{on} 和 k_{off} 值的测定可用于鉴别经变更的可变区或在治疗上更有效的优化的可变区。举例来说，变更的可变区或其异侧结合片断可以是更有效的，因为其具有（例如）相比展示了相似结合亲合力的可变区或异侧结合片断而言估计为更高的 k_{on} 值。因为更具高 k_{on} 值的分子能以较快速率特异地结合及抑制其目标物因而提供了增强的功效。类似地，本发明的分子可以更有效，因为其展示了相比具有相似结合亲合力的分子而言更低的 k_{off} 值。可观测到用具有更低 k_{off} 速率的分子观测到的增强功效，因为一旦得以结合，所述分子更慢地自其目标物解离。尽管已描述了关于本发明的经变更的可变区和优化可变区，但是上述用于测定结合及分解速率的方法基本上可适用于任意抗体或其片断以鉴别用于治疗或诊断

目的的更有效结合剂。

[0168] 使用表面等离子共振来测定亲和力（包括结合及分解速率）的方法已为所属领域熟知且可发现在例如Jönsson和Malmquist的 *Advances in Biosensors*, 2:291-336(1992) 及Wu等人的 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95:6037-6042(1998) 中已有所描述。另外，一种已为所属领域熟知的用于测定结合相互作用的装置是在通过Pharmacia Biosensor(瑞典, 乌普萨拉) 在商业上可购得的BIAcore 2000 仪器。

[0169] 使用任意上述筛选方法及所属领域中熟知的其他方法, 通过将探测群体内至少一个经变更可变区结合到其抗原或同源配合体上来鉴别具有优化结合活性的经变更的可变区, 例如与供体CDR可变区基本相同或更高的结合亲和力。除了优化对抗原的结合活性, 催化活性也包括于本发明抗体中且使用文中所揭示的用于结合亲和力优化的方法来进行优化。因此, 可对上述方法进行修饰以包括为筛选其优化催化活性而进行的添加基质和反应物。在相同的筛选中与供体可变区独立或同时进行的比较可鉴别那些具有与供体基本相同或更高结合亲和力的结合剂。所属领域的技术人员应知道或可以确定使用供体可变区、足以鉴别经非特异结合的选择性相互作用的结合条件。

[0170] 用于在经变更的可变区群体之内鉴别结合物种的探测方法可以是直接的或间接的且可包括例如光发射、放射性同位素、比色染料及荧光物的测定。直接探测包括不用中间物或二次测定程序起作用以评估已结合的抗原或配合体的量的方法。所述方法通常采用其自身由可探测性半族（例如放射性的、光发射的、荧光的、比色的或酶半族）来示踪 (label) 的配合体。相反, 间接探测包括通过中间物或二次测定程序起作用的方法。所述方法通常采用与抗原或配合体特异反应且自身可直接由可探测性半族来示踪或可由第二试剂来探测的分子。举例而言, 可使用能够与对配合体特异的第一抗体相互作用的第二抗体, 再使用上述用于直接探测的探测方法来探测对该配合体特异的抗体。另外, 对于筛选催化抗体的特定实例, 基质消失或产物出现可用作结合亲和力或催化活性的间接测定。

[0171] 在没有与其各自的 V_H 或 V_L 子单位组装成异侧结构的情况下, 所述分离的可变区展示了同单一链一样的结合亲和力。同样, V_H 和 V_L 经变更的可变区多肽群可单独进行表达并筛选其结合活性, 例如具有相比CDR供体 V_H 或 V_L 可变区而言基本相同或更高的结合亲和力的优化活性。或者, V_H 和 V_L 经变更的可变区多肽群可以进行共同表达致使其自组装成异侧经变更的可变区结合片断。可对异侧结合片断群体进行筛选以得到展示了与CDR供体可变区结合片断基本相同或更高结合亲和力的物种。

[0172] 采用用于同时移植和优化的方法或用于优化的方法, 产生具有比约2倍、3倍、4倍、5倍、8倍或10倍更高的增加的亲和力的异侧可变区结合片断是可能的。尤其是, 能够产生具有相比供体或母体分子而言高于12倍、15倍、20倍和25倍增加的亲和力及高于50倍、100倍、200倍、500倍或1000倍的亲和力的异侧可变区结合片断。

[0173] 另外, 文中所述用于优化的方法也适用于产生催化异侧可变区片断或用于优化其催化活性。例如通过改变基质结合的结合或解离速率、基质结合亲和力、过渡态结合亲和力及转换率(kcat) 或 K_m 来优化催化活性。测定这些特性的方法已为所属领域熟知（参看例如Segel的 *Enzyme Kinetics*, John Wiley & Sons, 纽约(1975)）。当用于优化异侧可变区结合片断时可将所述方法用于上述方法的筛选步骤。

[0174] 此外, 用于提供供体CDR在抗体受体可变区框架上的结合亲和力的方法适用如由

Kabat 等人, 见上; Chothia 等人, 见上或 MacCallum 等人, 见上所述的移植 CDR。该等方法可类似用于如在 Kabat 等人, 见上; Chothia 等人, 见上或 MacCallum 等人, 见上中所述的 CDR 的联合。通常, 通过鉴别由一种所属领域已知及文中提出的 CDR 定义所述的边界来移植可变区 CDR。然而, 因为所述方法是针对构建和筛选 CDR 经移植变更的可变区的群体 (其可合并并在框架及 CDR 区中的相应氨基酸位置变化), 且所述变体可 (例如) 抵偿或增加可变区中其他处的氨基酸变化, 所以特殊 CDR 或可变区 CDR 组的准确边界可以发生变化。因此, 不管对于移植的准确 CDR 区是由 Kabat 等人、Chothia 等人或 MacCallum 等人所述区还是这些区域任意联合, 所述 CDR 区基本取决于使用者的偏好。

[0175] 类似地, 前述用于优化抗体结合亲合力的方法也适用于以基本上任意可变区的方式使用, 对于可变区, 编码核酸可以获得或变得可获得。若以用于提供供体 CDR 结合亲合力的方法, 则用于优化结合亲合力的方法在修饰具有人类框架的 CDR 移植可变区的结合亲合力上有许多应用。此外, 所述分子在人类患者中是显著低抗原性的且因此从治疗学上讲在治疗人类疾病中是有价值的。然而, 用于优化可变区结合亲合力的本发明方法适用于可变区所有物种。因此, 本发明包括衍生自人类、小鼠、大鼠、兔、山羊和小鸡或其他所希望物种的可变区的结合亲合力优化。

[0176] 本发明方法关于可变区和异侧可变区结合片断已经进行了描述。所属领域技术人员应了解: 所有所述方法适用于全部抗体及其功能性片断, 也 (若须要) 适用于除抗原结合可变区之外的区域及功能结构域。

[0177] 结合速率可在任意非平衡混合物中进行确定, 其中非平衡混合物包括例如, 通过快速接触结合多肽及配合体或通过快速改变温度来形成的一种混合物。非平衡混合物可以是预平衡混合物。例如, 总配合体和总结合多肽在探测腔室中的数目恒定的情况下, 通过接触可溶结合多肽和可溶配合体可形成预平衡混合物。以在毫秒时标或更快时提供结合多肽与配合体的快速混合及改变结合多肽或配合体性质的快速探测的形式完成在预平衡混合物中结合速率的测定。停流 (stopped flow) 及快速淬流 (quench flow) 仪器 (例如上述仪器) 提供测定非平衡动力学的便利方式。结合速率也可以在非平衡混合物中进行测定, 其中非平衡混合物包括 (例如) 含有结合多肽、配合体或已与配合体结合的结合多肽的不可溶物种的溶液, 或者含有可变浓度的总配合体或总结合多肽的溶液。

[0178] 可在提供将配合体附着于表面上含结合多肽的溶液的表面流和连续流的形式中来完成非平衡混合物中结合速率的测定, 或者反过来, 与改变结合多肽、配合体或表面性质的快速探测进行联合致使测定以毫秒时标或更快完成。提供结合速率非平衡测定的形式的实例包括表面等离子共振仪和衰减波仪。

[0179] 可通过探测存在于经结合或未经结合状态之间的结合多肽或配合体的性质的改变或者当结合多肽与配合体结合时周围环境的变化来完成结合速率的测定。依据结合而改变并可用于测定结合速率的结合多肽或配合体的性质包括 (例如): 热的吸收和放出、电磁辐射的吸收和放出、对受体的亲合力、分子重量、密度、质量、电荷、传导率、核磁矩、电子自旋态、极性、分子形状或分子尺寸。当结合多肽与配合体相结合时可改变的周围环境的性质包括 (例如) 周围溶剂的温度和折射率。

[0180] 测定预平衡混合物中结合速率的形式包括 (例如) 停流动力仪和快速淬流仪。停流仪可用于将含有来自分开的储蓄器的结合多肽和配位体的溶液仅在通入探测细胞之前

推动至混合腔室中。然后该仪器可探测在一个或多个上述特性中的变化以监控结合事件的进度。快速淬流仪可用于快速混合含结合多肽的溶液与含配合体的溶液,接着在限量时间之后中止结合反应。对于混合后在不同时间通过淬火所产生的经淬流混合物,可探测在一个或多个上述特性中的变化。只要淬火步骤不抑制为测定结合速率而依赖的性质探测,例如,可通过冷冻或添加化学淬火剂来执行淬火。因而,快速淬火仪适用于在(例如)分光镜探测不便利的情形。多种仪器在商业上可自(例如)KinTek 公司(宾夕法尼亚,州立大学)和 Hi-Tech Scientific(英国,Salisbury)的卖主购得。

[0181] 用于测定在非平衡混合物中结合速率的形式包括(例如)表面等离子共振和衰减波仪。表面等离子共振和衰减波技术利用了附着于分别含有结合多肽或配合体两种中任一种的生物传感器和溶液的配合体或结合多肽,其从生物传感器表面上穿过。当结合多肽与配合体相结合时可用随时间而定的方式来测定在芯片表面发生的溶液折射率的改变。举例来说,表面等离子共振是基于在金属/液体界面激发表面等离子波时发生的现象。光指向于并反射自未与样品接触的表面侧面,且 SPR 引起角及波长的特异性结合时反射光强度的减少。生物分子结合事件引起表层折射率的改变,这以 SPR 信号的变化来探测。结合事件可以是受体-配合体对之间的结合关联或结合解离。基本上可实时测定折射率的变化且因此允许确定亲合常数的个体成份。更具体地说,该方法能够精确测定结合速率(k_{on})和解离速率(k_{off})。表面等离子共振仪在所属领域可得到(包括,例如 BIAcore 仪器、IBIS 系统、SPR-CELLIA 系统、Spreeta 和 Plasmon SPR),且衰减波技术在如(例如)Rich 和 Myszka 的 *Curr. Opin. Biotech.* 11:54-61(2000)所述的 Iasys 系统中是用得到的。

[0182] 用于测定结合亲合力的另一方法包括相当的 ELISA。如文中所揭示,基于半极大结合移位的亲合力改变近似值可用于鉴别相对于野生型的 k_{on} 和 k_{off} 值(实例 III)。所述方法尤其适用于筛选大量变体,而上述方法适用于结合活性的详细分析。

[0183] 结合活性可在结合事件进行期间使用(例如)上述所述方法通过以一个或多个离散(discreet)时间间隔测定配合体或结合多肽的性质变化来进行确定。结合事件期间以离散时间间隔确定的测定可用于确定结合速率的定量测定或结合速率的相对测定。结合速率的定量测定可包括(例如)结合速率值或 k_{on} 值。结合速率或 k_{on} 的定量值可从依时间而定的数学分析或图形分析来确定。所述分析已为所属领域熟知且包括用于拟合数据到总的指数项及线性项的运算法则或用于计算机模拟以拟合数据到结合模型的运算法则,其(例如)在 Johnson 的 *Cur. Opin. Biotech.* 9:87-89(1998)中有所描述,其以引用的方式并入本文。

[0184] 如果反应中质传(mass transport)的效应已得到解释,那么可使用如上述该等分析的数学分析和图形分析从含有不可溶物种或可变浓度的总配合体或总结合多肽的混合物来确定结合速率。所属领域技术人员可通过在具有关于质传的相似局限性的情况下比较结合速率或通过根据在所属领域可得的模型(包括,例如 Myszka 等人的 *Biophys. J.* 75:583-594(1998)中所述的模型,其以引用的方式并入本文)调整已计算的结合速率来解释质传。

[0185] 结合速率或 k_{on} 的更高值通常表现出改良的治疗效力。因此,定量测定通过允许由不同方法(只要所用方法已为所属领域技术人员了解可得到一致结果)确定的结合多肽结合速率与治疗性控制之间的比较来提供优势。

[0186] 结合速率的相对测定可包括(例如)在相似条件下与配合体相结合的两个或两个以上结合多肽的结合速率的比较或以预定速率与配合体相结合的结合多肽的结合速率的比较。两个或两个以上结合多肽的结合速率的比较可包括已知结合速率的标准或已知治疗作用的分子。可通过相对于包括(例如)科学文献中可知或资料库中的速率在内的先前已测速率校准该测定来确定用于比较的预定义速率。与预定速率相比较的一个实例是通过使用时间驱动的选择设备在由预定义速率所定义的离散时间间隔与配合体结合的结合多肽物种的选择。

[0187] 为比较的目的,结合多肽与配合体的结合速率可相对于适合治疗性控制和相同配合体的结合速率来进行确定。也可按照相比对于治疗性控制与配合体的定量结合速率而言对于结合多肽与配合体的定量结合速率来进行比较。相对的或定量的结合速率可通过上述方法来确定。与配合体结合的结合多肽的结合速率的确定可与结合多肽与治疗性控制同时执行或者以分开的时间执行,只要每个分析中条件足够相似以允许有效的比较。因此,为结合多肽确定的结合速率可与先前为治疗性控制确定的结合速率相比较。

[0188] 具有改良治疗效力的结合多肽可区别于具有对配合体增加的 K_a 但不具有改良治疗效力的结合多肽。基于 K_a 鉴别治疗性结合多肽的方法依赖于平衡测定,其中在非平衡条件下完成的缺乏时间相依性的测定用于鉴别具有增加的结合速率且因而具有改良治疗效力的结合多肽是不精确的。根据关系式 $K_a = k_{on}/k_{off}$,对于结合多肽与配合体的结合的增加的 K_a 可归因于 k_{on} 或 k_{off} 的改变。举例来说,如果发生 k_{on} 的增加过于补偿了 k_{off} 的减少,那么具有改良治疗效力的结合多肽可具有减少的 K_a 。因此,受 k_{off} 的改变影响的 K_a 的改变与治疗效力的改变没有明显关系,因为具有改良治疗效力的结合多肽可显示减少的或增加的 K_a 。

[0189] 为了优化本发明抗体的结合活性,结合速率的倍数增加可通过 k_{on} 的增加来表示。因此,使用文中所述方法, k_{on} 可以是约 2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍或 10 倍或 10 以上。 k_{on} 可以是至少约 $1 \times 10^2 M^{-1} s^{-1}$ 、 $2 \times 10^2 M^{-1} s^{-1}$ 、 $5 \times 10^2 M^{-1} s^{-1}$ 、 $1 \times 10^3 M^{-1} s^{-1}$ 、 $2 \times 10^3 M^{-1} s^{-1}$ 、 $5 \times 10^3 M^{-1} s^{-1}$ 、 $1 \times 10^4 M^{-1} s^{-1}$ 、 $2 \times 10^4 M^{-1} s^{-1}$ 、 $5 \times 10^4 M^{-1} s^{-1}$ 、 $1 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 、 $2 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 或 $3 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 。 k_{on} 也可以增加到至少约 $5 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 、 $7 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 、 $9 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 、 $1 \times 10^6 M^{-1} s^{-1}$ 、 $3 \times 10^6 M^{-1} s^{-1}$ 、 $5 \times 10^6 M^{-1} s^{-1}$ 、 $7 \times 10^6 M^{-1} s^{-1}$ 、 $9 \times 10^6 M^{-1} s^{-1}$ 或 $1 \times 10^7 M^{-1} s^{-1}$ 或以上。而且,导致了改良治疗效力的 k_{on} 增加不依赖于 K_a 的改变对结合多肽的影响。 k_{on} 增加的结合多肽可具有与其母体多肽的 K_a 相似的 K_a 值或低于其母体多肽的 K_a 的 K_a 值。

[0190] 本发明也提供给本发明抗体和 CDR 编码的核酸。本发明还提供编码小鼠抗体 HUIV26 (SEQ ID NO:1 及 3) 和 HUI77 (SEQ ID NO:5 及 7) (参看图 2 和图 3) 的核酸。另外提供的是编码 HUIV26 CDR (SEQ ID NO:20、22、24、26、28 和 30) 及 HUI77 CDR (SEQ ID NO:32、34、36、38、40 和 42) 的核酸。所述核酸包括具有给 CDR 中任意或全部氨基酸编码的简并密码子的核酸。举例来说,本发明提供编码 HUIV26 CDR 的核酸: V_L CDR1, SEQ ID NO:19; V_L CDR2, SEQ ID NO:21; V_L CDR3, SEQ ID NO:23; V_H CDR1, SEQ ID NO:25; V_H CDR2, SEQ ID NO:27 和 V_H CDR3, SEQ ID NO:29。本发明也提供对 HUI77 CDR 编码的核酸: V_L CDR1, SEQ ID NO:31; V_L CDR2, SEQ ID NO:33; V_L CDR3, SEQ ID NO:35; V_H CDR1, SEQ ID NO:37; V_H CDR2, SEQ ID NO:39 和 V_H CDR3, SEQ ID NO:41。也包括此所述核酸的简并形式以使其编码引证为 HUIV26 的 SEQ ID NO:20、22、24、26、28 和 30 及 HUI77 的 SEQ ID NO:32、34、36、38、40 和 42

的氨基酸序列。

[0191] 进一步提供对含有一个或多个氨基酸替换的 HUIV26 CDR 或 HUI77 CDR 编码的核酸。举例来说,本发明提供对具有单一或多种氨基酸替换(如文中所揭示)的 HUIV26 和 HUI77 的 CDR 进行编码的核酸。如果编码具有一个或多个氨基酸替换的 CDR 的核酸衍生自(例如)HUIV26 的 SEQ ID NO:19、21、23、25、27 或 29 或者 HUI77 的 SEQ ID NO:31、33、35、37、39 或 41 中之一,那么所述可通过任何所述氨基酸的相应的简并密码子来编码这些氨基酸替换。对所述 CDR 变体编码的核酸也包括在任意或全部野生型氨基酸位置的简并密码子。

[0192] 应用期间,不同的核酸和寡核苷酸引物(除自然发生的核苷酸 A、C、G、T 或 U 之外)是指标准缩略语:R = G 或 A;Y = T/U 或 C;M = A 或 C;K = G 或 T/U;S = G 或 C;W = A 或 T/U;B = G, C 或 T/U;D = A, G 或 T/U;H = A, C 或 T/U;V = A, G 或 C;N = 任意核苷酸。

[0193] 本发明抗体对隐蔽胶原表位具有结合活性。已经显示出 HUIV26 和 HUI77 抗体瞄准血管生成的脉管系统(参看 Xu 等人,见上,2001;WO 00/40597)。因此,本发明的与隐蔽胶原表位特异性结合的经移植的 HUIV26 和 HUI77 抗体可同样瞄准血管生成脉管系统。单克隆抗体 HUIV26 和 HUI77 及其在文中所揭示的移植形式的最显著和重要的方面之一是其特异性方面。预期本发明抗体的全身投用具有最小(即便有)毒副作用,因为通过 HUIV26 和 HUI77 抗体识别的隐蔽表位暴露于成熟的天然三螺旋胶原,但是仅在变性过程中暴露,例如热变性或蛋白水解变性。因此,预期有(即便有)正常生理学条件下微小的结合。

[0194] 而且,HUIV26 和 HUI77 所结合的隐蔽胶原结构域代表用于治疗众多新血管疾病的新颖治疗目标,包括肿瘤生长和转移、糖尿病性视网膜病及其他相关眼病,诸如黄斑变性、牛皮癣和风湿性关节炎。与血管生成有关的其他典型疾病包括(但不限于)炎性病症,诸如免疫和非免疫炎症、慢性关节风湿病和牛皮癣;与不合适的或不合时宜的脉管侵袭有关的病症,诸如糖尿病视网膜病、新血管性青光眼、再狭窄、动脉粥样硬化斑和骨质疏松症中的毛细管增殖;及与癌症有关的病症,诸如实性肿瘤、实性肿瘤转移、血管角质瘤、晶体后纤维组织增生症、血管瘤、卡波济式肉瘤(Kaposi's sarcoma)等需要血管形成以支撑肿瘤生长的癌症。其他典型肿瘤包括黑素瘤、癌、肉瘤、纤维肉瘤、神经胶质瘤和星形细胞瘤等。

[0195] 因此,本发明方法可用于治疗宦游包括上述疾病的与血管生成有关的疾的个体。所述方法可用于改善与疾病相关的征兆和症状。举例来说,在癌症治疗的情况下,所述方法可用于抑制肿瘤生长。所属领域的技术人员应知道或可容易确定疾病相关的适合于使用本发明抗体来测定治疗应用效能的适当症状或征兆。

[0196] 本发明抗体也可用作初期探测与侵袭性肿瘤生长和转移有关的异常新血管形成的重要诊断剂及成像剂。本发明抗体也可用于肿瘤的分级和分段,因为与良性病变相反的侵袭性肿瘤很可能与周围基底膜的降解有关。

[0197] 因此,本发明提供瞄准血管生成脉管系统的方法,其包括投用对隐蔽胶原表位具有特异结合活性的抗体或其功能性片段,其中该抗体或其功能性片段是本发明抗体。举例来说,如文中所揭示,所述抗体可包括 HUIV26 和 HUI77 抗体的一个或多个 CDR,包括野生型 CDR 或其变体。瞄准血管生成脉管系统的方法可用于治疗和/或诊断目的。

[0198] 为治疗目的,该抗体或其功能性片段自身可用作治疗剂或可另外包括治疗性半族。在治疗性半族情况下,该半族可以是诸如化疗剂、细胞毒素剂、毒素或抗血管生成剂的

药物,其是指减少或抑制血管生成的分子。举例来说,细胞毒素剂可以是放射性核素或化学化合物。可用作治疗剂的典型放射性核素包括(例如)X射线发射体或 γ 射线发射体。另外,半族可以是含有诸如药物或核酸的试剂的药物传送媒介,例如隔成腔室的微装置、细胞、脂质体或病毒。

[0199] 典型的治疗剂包括(例如):连接至抗体的蒽环霉素(anthracyclin)、阿霉素,且抗体/阿霉素联合在治疗肿瘤中治疗学上已经是有效的(Sivam等人的 Cancer Res. 55:2352-2356(1995);Lau等人的 Bioorg. Med. Chem. 3:1299-1304(1995);Shih等人的 Cancer Immunol. Immunother. 38:92-98(1994))。类似地,包括伊达比星(idarubicin)和道诺霉素(daunorubicin)的其他蒽环霉素以化学方法联合至抗体,其传送有效剂量的试剂至肿瘤(Rowland等人的 Cancer Immunol. Immunother. 37:195-202(1993);Aboud-Pirak等人的 Biochem. Pharmacol. 38:641-648(1989))。

[0200] 除蒽环霉素之外,已经将诸如美法仑(melphalan)和瘤可宁(chlorambucil)的烷化剂连接至抗体产生了治疗学上有效的联合(Rowland等人的 Cancer Immunol. Immunother. 37:195-202(1993);Smyth等人的 Immunol. Cell Biol. 65:315-321(1987)),如同(诸如)长春地辛(vindesine)和长春碱(vinblastine)的长春花生物碱已连接至抗体一样(Aboud-Pirak等人,见上,1989;Starling等人的 Bioconj. Chem. 3:315-322(1992))。类似地,抗体与抗代谢物(例如5-氟尿嘧啶、5-氟尿嘧啶核苷及其衍生物)的联合在治疗肿瘤上已经是有效的(Krauer等人的 Cancer Res. 52:132-137(1992);Henn等人的 J. Med. Chem. 36:1570-1579(1993))。当其他的化疗剂与不同抗体一起联合投用时,所述化疗剂在治疗上也是有效的,其中所述化疗剂包括顺氯氨铂(cis-platinum)(Schechter等人的 Int. J. Cancer 48:167-172(1991))、氨甲喋呤(methotrexate)(Shawler等人的 J. Biol. Resp. Mod. 7:608-618(1988);Fitzpatrick和Garnett的 Anticancer Drug Des. 10:11-24(1995))和丝裂霉素C(Dillman等人的 Mol. Biother. 1:250-255(1989))。治疗剂也可以是毒素,例如蓖麻毒。

[0201] 治疗剂也可以是物理的、化学的或生物学的物质(例如脂质体、微胶囊、微泵或其他隔成腔室的微装置),其可用作(例如)药物传送系统。通常,所述微装置应当是无毒的且(若须要)生物可降解的。含有试剂的不同半族(包括微胶囊)和使半族(包括隔成腔室的微装置)连接至本发明抗体的方法已为所属领域熟知且在市面上有售(参看,例如“Remington's Pharmaceutical Sciences”第18版.(Mack Publishing Co.1990),第89-91章;Harlow和Lane, Antibodies: A laboratory manual(Cold Spring Harbor Laboratory Press 1988))。

[0202] 为诊断目的,抗体或其功能性片断可另外包括可探测性半族。可探测性半族可以是(例如)放射性核素、荧光的、磁性的、比色的半族等等。为体内诊断目的,诸如发射了射线核素(例如铟-111或镓-67)的 γ 射线的半族可连接至本发明抗体,且在投用予主体之后,可使用固体闪烁探测器来进行探测。类似地,发射放射性核素的正电子(例如碳-11)或顺磁性自旋示踪物(例如碳-13)可连接至该分子,且在投用予主体之后,该半族的定位可分别使用正电子发射横断层摄影(positron emission transaxial tomography)或磁共振成像(magnetic resonance imaging)来进行探测。所述方法可鉴别原发性肿瘤和转移性病变。

[0203] 为诊断目的,本发明抗体可用于确定组织中或体液中变性胶原的含量。变性胶原的含量可在(例如)通过组织活检而从个体获得的组织样品中进行确定。典型的体液包括(但不限于)血清、血浆、尿、滑液等等。

[0204] 本发明也提供通过投用抗体或其功能性片断来抑制血管生成的方法,其中该抗体或其功能性片断对隐蔽胶原表位具有特异结合活性。举例来说,本发明抗体可进行投用以使个体组织中的血管生成得到抑制。本发明另外提供通过投用发明抗体来瞄准肿瘤的方法。本发明也提供通过投用本发明抗体或其功能性片断来抑制肿瘤生长的方法。

[0205] 本发明抗体也可用于体内或体外诊断应用。因此,本发明提供通过使血管生成脉管系统与本发明的抗体或其功能性片断相接触来探测血管生成脉管系统的方法。血管生成脉管系统可在体内通过将本发明抗体单独或附着于可探测性半族来投用至个体来成像。因而该血管生成脉管系统可在体内进行探测。或者,可将抗体授予从个体获得的组织(例如组织活检)以使得本发明抗体可在体外用于诊断目的以探测血管生成脉管系统。

[0206] 可通过许多已为人熟知的用于偶联或联合半族的方法中之任一种来使治疗性半族或可探测性半族偶联至本发明抗体或其功能性片断。当然,在不干扰或不抑制抗体结合活性(即结合隐蔽胶原位点的能力)之下所述偶联方法允许治疗性半族或可探测性半族的附着。用于使半族联合于本发明抗体或其功能性片段的方法已为所属领域技术人员所熟知(参看,例如 Hermanson 的 Bioconjugate Techniques, Academic Press, San Diego (1996))。

[0207] 当将本发明抗体投于主体时,其作为含有(例如)抗体和医药上可接受载剂的药用组合物来投用。如文中所揭示,该抗体可偶联到治疗性半族或可探测性半族。医药上可接受的载剂已为所属领域熟知且包括(例如)诸如水或生理学上的缓冲盐水的水溶液或其他溶剂或媒介(例如乙二醇、甘油)或油类(例如橄榄油)或可注射的有机酯。

[0208] 医药上可接受的载剂可含有(例如)起稳定或增加该联合的吸收的生理学上可接受的化合物。所述生理学上可接受的化合物包括(例如):碳水化合物,例如葡萄糖、蔗糖或葡聚糖;抗氧化剂,例如抗坏血酸或谷胱甘肽;螯合剂;低分子量蛋白质或其他的稳定剂或赋形剂。所属领域技术人员应知道:医药上可接受的载剂(包括生理学上可接受的化合物)的选择(例如)取决于组合物的投用路线。医药组合物也可包括诸如癌症治疗剂的试剂。

[0209] 所属领域技术人员应知道:含有本发明抗体的医药组合物可通过不同路线(举例来说,包括经口方式或非经肠道方式,例如静脉注射方式)向主体投用。该组合物可通过注射或通过插管法来投用。该医药组合物也可以是连接至脂质体或其他聚合物基体的抗体,其可将(例如)化疗剂的药物并入其中(Gregoriadis, Liposome Technology, 第 I-III 卷, 第 2 版 (CRC Press, Boca Raton FL (1993), 其以引用的方式并入本文)。举例来说,由磷脂或其他脂质组成的脂质体是无毒的、生理学上可接受的且可代谢的载剂,其制备和投用相对简单。

[0210] 对于文中所揭示的治疗或诊断的方法而言,向主体投用有效量的抗体和治疗性半族。文中所用术语“有效量”表示产生想要影响的医药组合物的量。有效量常常取决于是否投用抗体本身或抗体是否连接至半族以及半族的类型。因此,与为治疗目的而所投用的放射性药物/抗体联合的量相比而言,需要更少量经放射性同位素示踪的分子用于成像。用于特定目的的特殊抗体/半族的有效量可利用所属领域技术人员熟知的方法进行确定。所

属领域技术人员可针对治疗或诊断目的的有效量而容易确定本发明抗体的适当剂量。

[0211] 为治疗或体内诊断目的,只要该投用对所想要的目的有效,那么当然可使用多种投用方法的任一种。所述投用方法包括(例如):静脉内方式、经皮肤方式、滑膜内方式、肌肉内方式、瘤体内方式、眼内方式、鼻内方式、鞘内方式、局部方式、经口方式等等。所属领域技术人员可容易确定取决于所想要治疗结果或所想要诊断目的的合适投用方式。

[0212] 而且,为治疗或诊断应用,本发明抗体当然通常投于哺乳动物,例如人类。本发明抗体对于家畜或农业目的的应用包括其他哺乳动物,例如非人灵长类、猪、牛、马、山羊、绵羊、骡、驴、狗、猫、兔、小鼠、大鼠等等。

[0213] 当然,文中所揭示的使用本发明抗体的任意治疗方法可与其他治疗方法联合使用。举例来说,本发明抗体(抗体自身或附着于治疗剂的抗体)可与其他治疗处理体系(regimen)同时投用或相继投用。例如,本发明抗体可单独投用或与另一治疗处理联合投用,包括文中所揭示的任意治疗药物以及已为所属领域技术人员熟知的用于治疗特殊疾病的其他药物。举例来说,在治疗癌症情况下,本发明抗体可与另一化疗剂(例如药物或放射性核素)同时或相继投用。类似地,本发明抗体可与例如外科手术的其他处理体系相联合,其中在手术前、手术中或手术后投用该抗体。若须要,所属领域技术人员应知道或可容易确定待与本发明抗体联合使用的理想治疗处理。因此,本发明抗体可与其他治疗体系联合投用,包括(但不限于)化疗法、放射疗法、外科手术等等。

[0214] 本发明额外提供使用本发明抗体来抑制转移的方法。该方法可包括投用对隐蔽胶原表位具有结合活性的抗体或其功能性片段的步骤。该抗体可以是(例如)包括在抗体 HUIV26 和 HUI77 的一个或多个重链或轻链 CDR 中具有至少一个氨基酸替换的一个或多个 CDR 的抗体。文中所用的抑制转移是指减少自原发性肿瘤位点远离的转移位点的数目和/或尺寸。该抑制转移的方法可涉及到使用阻碍了肿瘤细胞至隐蔽胶原表位(该表位在通过由肿瘤细胞分泌的胶原降解酶的作用来重塑组织之后暴露)的粘附的本发明抗体。

[0215] 如文中所揭示,在一个或多个 CDR 具有一个或多个氨基酸替换的 HUI77 的变体抑制了黑素瘤细胞在体内的增殖(实例 VI)。本发明抗体可以阻断被传送至肿瘤细胞的生存信号或增殖信号的通道或抑制所传送信号对肿瘤细胞的结合。因此,本发明也提供通过投用对隐蔽胶原表位具有结合活性的本发明抗体来瞄准肿瘤细胞的方法,其中该抗体能够通过隐蔽胶原位点阻碍被传送至肿瘤细胞的生存信号或增殖信号的通道。

[0216] 对于抑制血管生长的方法,该血管生成脉管系统可能与肿瘤有关。本发明方法也可用于直接、单独或与抑制肿瘤的血管生成脉管系统联合来抑制肿瘤生长。本发明方法还可用于单独或与抑制肿瘤血管生成脉管系统及/或肿瘤生长联合抑制转移。典型肿瘤包括(但不限于)文中所述肿瘤,包括黑素瘤、癌、肉瘤、纤维肉瘤、神经胶质瘤、星形细胞瘤等等。可如先前所述,使用(例如)诸如大鼠角膜微区血管生成分析法、小鸡胚胎肿瘤生长法或 SCID 小鼠肿瘤生长分析法(该等方法在 Xu 等人,见上,2001 中有所描述)的方法,或者使用其他为人所熟知的用于测定血管生成抑制性、肿瘤生长抑制性或转移抑制性的分析来执行用于检测 HUIV26 或 HUI77 变体对抑制血管生成或抑制肿瘤生长的效果的方法。

[0217] 本发明方法也可用于抑制非肿瘤血管生成脉管系统。对非肿瘤血管生成脉管系统的所述应用可包括发炎并在其中发生血管生成的组织。适合于用本发明抗体进行治疗的与血管生成脉管系统相关的典型非肿瘤疾病包括(但不限于)文中所揭示的疾病,包括关节

炎、眼病、视网膜疾病、血管瘤等等。本发明抗体也可用于抑制牛皮癣、黄斑变性、再狭窄等，或者与隐蔽胶原表位（本发明抗体对其具有结合活性）的可接近性增加有关的任意肿瘤或非肿瘤疾病。

[0218] 当然，在文中所规定的本发明定义之内也提供了基本上不影响本发明各种实施例活性的修饰。因此，以下实例旨在说明而非限制本发明。

[0219] 实例 I

[0220] HUIV26 和 HUI77 抗体的重链及轻链可变区的克隆

[0221] 本实例描述 HUIV26 和 HUI77 抗体可变区的克隆。

[0222] 自表达这些小鼠单克隆抗体的杂交瘤来克隆 HUIV26 和 HUI77 抗体的可变区并进行定序。简要地说，使用 Oligotex® Direct mRNA Micro 盒 (kit) (Qiagen; Valencia CA) 从各自小鼠杂交瘤细胞分离总 mRNA。使用 Superscript Preamplification System (GibcoBRL/Invitrogen; Carlsbad CA) 自 mRNA 合成了第一链 cDNA。抗体可变区序列通过聚合酶链反应 (PCR) 得到扩增，其使用为小鼠轻链或重链信号序列而设计的一组 5' 引物与小鼠 V_L 的 κ 链恒定区或 V_H 序列 IgM CH1 区域的单一 3' 引物配对。用于小鼠抗体重链及轻链信号肽的 5' 引物的序列和恒定区引物序列显示于图 1。小鼠 κ 轻链恒定区的 3' 引物（引物 2650; SEQ ID NO:212）对应于氨基酸 115-123。小鼠 IgM CH1 区域的 3' 引物（引物 2656; SEQ ID NO:213）对应于氨基酸 121-114。小鼠 IgM CH1 区域的 3' 引物（引物 2706; SEQ ID NO:214）对应于氨基酸 131-124。

[0223] 自聚合酶链反应分离出 DNA 片断，得到约 400bp 长度的主产物。将所述 DNA 片断克隆至 pCR2.1 载体。这些插入的 DNA 片断用前向及反相 13M 引物来定序。所述 DNA 序列与抗体序列数据库进行比较。确定 HUIV26 和 HUI77 抗体的 N 末端氨基酸序列，且所述 DNA 片断序列也与相应抗体的 N 末端氨基酸序列相比较。

[0224] 用 5' 引物 mK2（引物 2664; SEQ ID NO:185）和 3' 引物 2650（SEQ ID NO:212）来克隆编码核酸的 HUIV26 V_L。HUIV25 V_L 的部分序列是 ATCTTCTTGCTGTTCTGG *GTATCTGGAACCTGTGGG* (SEQ ID NO:215)，其中 MK2 引物加了下划线，且该部分序列为斜体的小鼠信号肽译码。用 5' 引物 MH12（引物 2731; SEQ ID NO:203）和 3' 引物 2706（SEQ ID NO:214）来克隆编码核酸的 HUIV26 V_H。

[0225] 编码核酸的 HUI77 V_L 用 5' 引物 mK1（引物 2663; SEQ ID NO:184）和 3' 引物 2650（SEQ ID NO:212）进行克隆。HUI77 V_L 的部分序列是 TTGGTGCTGATGTTCTGGATTCTGCTCCAGCAGT (SEQ ID NO:216)，其中 mK1 引物加了下划线且该部分序列为斜体的小鼠信号肽译码。编码核酸的 HUI77 用 5' 引物 MH15（引物 2734; SEQ ID NO:206）或 MH16（引物 2735; SEQ ID NO:207）和 3' 引物 2656（SEQ ID NO:213）来克隆。

[0226] HUIV26 和 HUI77 的重链及轻链核苷酸的序列和氨基酸序列分别显示于图 2 和图 3。使用 Kabat 编号系统，见上，为每个 HUIV26 和 HUI77 抗体鉴别了重链及轻链的 CDR（在图 2C 和图 3C 中加了下划线）。

[0227] HUI77 V_L 核苷酸序列 (SEQ ID NO:9) 与人类框架融合 DPK13/JK1 (SEQ ID NO:17) 核苷酸序列的比对显示于图 3D。相应轻链氨基酸序列分别引证为 HUI77 及 DPK13/JK1 的 SEQ ID NO:10 和 SEQ ID NO:18。

[0228] 所述实例描述小鼠抗体 HUIV26 和 HUI77 的克隆和序列。

[0229] 实例 II

[0230] HUIV26 和 HUI77 抗体的 CDR 变体库的产生

[0231] 本实例描述用于 CDR 优化的 HUIV26 和 HUI77 抗体 CDR 变体库的产生。

[0232] 抗体 HUIV26 和 HUI77 的 CDR3 区域通过产生 CDR 变体库来优化。轻链 CDR3 和重链 CDR3 的引物用于产生 CDR3 变体库,其中合成该引物以编码 CDR3 中一个或多个位置的一个以上氨基酸。合成编码 CDR3 变体的引物之后,将所述 CDR3 区域组装至轻链 (V_L) 和重链 (V_H) 区。

[0233] 简要地说,使用 PCR 或引物延长连接,将 HUI77 和 HUIV26 抗体的人源化 V_L 和 V_H 基因与本别显示于图 4A 和图 5A 的引物进行组装。。含 CDR3 突变的可变区基因通过用对应所述 CDR 的突变型引物群组替代野生型 CDR3 引物 (IV26-17、IV26-h7、I77-17 或 I77-h7) 来进行组装。然后使用对于 V_L 的引物 B-pe1B 和 224 与的和对于 H_V 基因的 B-phA 和 1200a 通过 PCR 来将经组装的可变区扩增和不对称地生物素化至正链 (plus strand) 上。用于扩增人源化的 V_L 和 V_H 序列及分离负链 DNA 的引物是 :B-pe1B, Biotin-TTA CTC GCT GCC CAA CCA GCC ATGGCC (SEQ ID NO :220) ;224, GAC AGA TGG TGC AGC CAC AGT (SEQ IDNO :221) ; B-phoA, Biotin-TTA CTG TTT ACC CCT GTG ACA AAA GCC (SEQID NO :222) ;及 1200a, GAA GAC CGA TGG GCC CTT GGT (SEQ ID NO :223)。

[0234] 将经组装的 V_L 和 V_H 区域通过诱变引至 Fab 表达载体。简要地说,在将 PCR 产物结合至经抗生素蛋白 (NeutrAvidin) 联合的磁珠之后,分离所述未经生物素化的负链,并通过杂交诱变将其引至 Fab 表达载体 IX-104CSA (Kristensson 等人, Vaccines 95, 第 39-43 页, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (1995) ;Kunkel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82 :488-492 (1985) ;Wu 等人, J. Mol. Bio. 294 :151-162 (1999))。

[0235] 为每个 HUI77 和 HUIV26 抗体构建了三个个人源化 CDR3 突变库。这三个文库引入了随机突变但是不同于 CDR3 突变。一个文库仅在 LCDR3 中有突变,第二个文库仅在 HCDR3 中有突变,及第三个文库在 LCDR3 和 HCDR3 中都有突变。

[0236] 可在 HUIV26 和 HUI77 抗体的 CDR1 和 CDR2 上执行与上述用于 CDR3 诱变的方法基本相同的方法。组装至 Fab 表达载体之后,含有 HUIV26 和 HUI77 变体 CDR 的该等 Fab 在细菌中进行表达且测试其对变性胶原的结合性。用过滤器提升筛选法和 ELISA 筛选突变体文库。基本上如先前所述执行所述方法 (Huse 等人, J. Immunol. 149 :3914-3920 (1992) ;Watkins 等人, Anal. Biochem. 253 :37-45 (1997))。简要地说,用热变性的人类胶原 I 或 IV 预涂覆硝化纤维膜并将其用于从噬菌体盘提升大肠杆菌 (E. coli) 表达的变体 FAB。然后由抗体来培养该等硝化纤维膜,抗人类 κ 链或抗血球凝集素 (HA) 标记物中的任一个结合至碱性磷酸酶以探测被结合的变体 Fab。为结合至变性的生物化素胶原 I 和 IV,再次通过单点 ELISA (Watkins 等人, 见上, 1997) 相对地筛选阳性克隆。通过 ELISA 来表征有益的变体对天然的胶原和热变性形式的胶原的结合性。如 ELISA 所展示,将有益突变确定为相对于相应的野生型 Fab 而言具有与变性胶原结合的更高亲合力的突变。

[0237] 图 4B 和图 5B 所显示的分别是在 HUIV26 和 HUI77 抗体中的有益 CDR 突变的概总。图 4B 概述了在 HUIV26 的重链 CDR1、CDR2 和 CDR3 及轻链 CDR1 和 CDR3 中的有益单一氨基酸突变。具有单一氨基酸替换的典型 HUIV26 变体是 12F10Q 变体,其展示了如通过基于自 ELISA 滴定获得的半极大结合中移位的倍数改良所估计的 0.055 的 k_{on} 和 0.049 的 k_{off} 。

[0238] 图 5B 概述了在 HUI77 的重链 CDR1、CDR2 和 CDR3 及轻链 CDR1、CDR2 和 CDR3 中的有益单一氨基酸突变。如我们所看到,发现各种 CDR 中的许多单一氨基酸突变维持或提高了对隐蔽胶原位点的结合。

[0239] 所述实例描述了具有有益突变的 HUIV26 和 HUI77 的 CDR 变体。

[0240] 实例 III

[0241] 具有提高活性的 HUIV26 和 HUI77 抗体的组合变体的鉴别

[0242] 本实例描述合并了 HUIV26 和 HUI77 中各种有益 CDR 突变的组合变体的产生及鉴别。

[0243] 为了进一步优化 HUIV26 和 HUI77 抗体 CDR 变体,产生合并了含一个或多个突变的至少两个 CDR 的组合变体并测试其对隐蔽胶原位点的结合。使用具有编码如实例 II 所述的变体氨基酸的一个或多个位置的引物合成了组合变体。所用的所述引物显示于图 6 和图 7。

[0244] 图 6 和图 7 所示的分别是 HUIV26 和 HUI77 抗体的有益组合变体的概总。图 6 和图 7 所示的 k_{on} 和 k_{off} 值 (“SPEKon”和“SPEKoff”)估计为基于从 ELISA 滴定获得的半极大结合中的移位的变体倍数改良。也显示了具有相同的有益 CDR 突变但具有不同框架序列的几个变体。所述结果显示:有益 CDR 突变可移植至多种框架且可保持或具有改良的结合活性。

[0245] 所述实例显示产生了 HUIV26 和 HUI77 的组合 CDR 变体。鉴别出具有相对于各自抗体野生型形式亲和力增加的许多变体。

[0246] 实例 IV

[0247] HUIV26 和 HUI77 变体的结合活性和特异性

[0248] 本实例描述 HUIV26 和 HUI77 抗体对天然及变性胶原的结合活性和特异性。

[0249] 确定了野生型及经选择的典型 HUIV26 和 HUI77 抗体的活性和特异性。如图 8 所示,确定了 IX-IV26、含野生型 HUIV26 CDR 的 Fab、及 HUIV26 变体 2D4H1-C3 和 DhuG5 的活性和特异性。测试了该等抗体对变性胶原 IV(图 8A)、变性胶原 I(图 8B)和天然胶原 IV(图 8C)的结合。所述抗体中没有一个对天然胶原 IV(图 8C)具有显著结合活性。三个抗体对变性胶原 IV(图 8A)都展示了结合活性。但是,2D4H1-C3 及 DhuG5 变体展示了相对于 IX-IV26(图 8A)而言显著增加的结合活性。在抗体的最高测定浓度时,IX-IV26 对变性胶原 I 没有展示显著的结合活性,而且 2D4H1-C3 和 DhuG5 展示了低结合活性(图 8B)。该等结果表明:所述 HUIV26 变体具有相似于野生型 HUIV26 的结合活性和特异性并维持了对隐蔽胶原表位的活性和特异性。所述结果进一步显示:具有变异 CDR 的变体可具有相对于野生型而言维持的或增加的结合亲合性。

[0250] 如图 9 所示,确定了 IX-I77、含有野生型 HUI77 CDR 的 Fab 及 HDI77 变体 Qh2b-B7 和 QhuD9 的活性和特异性。测试所述抗体对变性胶原 I(图 9A)、变性胶原 IV(图 9B)和天然胶原 I(图 9C)的结合,且结果表明:所述变体展示出与野生型相似的结合特异性。以较高浓度时,尽管变体 QhuD9 对天然胶原展示了适中的结合活性,但是 IX-I77 和 Qh2b-B7 都没有对天然胶原 I 展示出显著的结合活性。所述抗体对变性胶原 I(图 9A)和变性胶原 IV(图 9B)都展示了结合活性。但是,Qhu2b-B7 和 QhuD9 变体对变性胶原 I 和 IV 都展示了相对于 IX-I77 而言显著增加的结合活性。该等结果表明:具有突变的 CDR 的变体可具有相对于野

生型而言维持的或增加的结合亲合力。

[0251] 为了进一步检验 CDR 突变对结合活性的影响,选择 HUIV26 变体 DhuH8 并以两种形式将其表达为 Fab 和免疫球蛋白 (IgG)。确定了这两种形式对天然 (n-IV) 和变性 (d-IV) 人类胶原 IV 的结合活性。如图 10 所示,Dhu8 变体的 Fab 和 IgG 形式都未展示出对天然胶原 IV 的显著结合。Fab 形式对变性胶原 IV 展示了结合活性,且 IgG 形式的结合亲合力显著增加。所述结果表明:具有相对野生型而言一个或多个 CDR 氨基酸替换的 HUIV26 变体可展示出对隐蔽胶原表位的结合且在 IgG 形式中相对抗体变体的 Fab 形式而言可显著增加该结合亲合力。

[0252] 所述结果表明:具有一个或多个 CDR 氨基酸替换的 HUIV26 和 HUI77 变体可展示相对野生型而言相似的结合特异性及增加的结合亲合力。

[0253] 实例 V

[0254] 具有优化 CDR 的经移植的 HUIV26 和 HUI77 抗体的产生

[0255] 本实例描述合并了有益 CDR 突变的人源化的 HUIV26 和 HUI77 抗体的产生。

[0256] 如实例 II 和 III 所述鉴别具有有益突变的 CDR 变体。一旦有益 CDR 变体得到鉴别,那么将该 CDR 变体移植至人类框架序列。除具有有益突变的 CDR 变体之外,其他的 CDR 可以是各自抗体的野生型序列或者一个或多个变体 CDR。至少一个 CDR 是含有有益突变的变体。举例来说,如果经接枝的抗体含有重链和轻链,那么至少一个重链或轻链 CDR 会具有相对相应野生型而言至少一个氨基酸突变。

[0257] 选择人类框架序列作为移植的接受者。该人类框架可与供体抗体框架序列密切相关或者可相对偏离母体供体抗体。一旦选择人类框架用于移植,那么合成重叠寡核苷酸来编码所选人类框架和适当供体 CDR,包括含至少一个有益突变的至少一个变体 CDR。重叠寡核苷酸用于组装编码包括所选人类框架、CDR 变体和其他适当的 CDR 的可变区的核酸以产生对隐蔽胶原位点具有结合活性的抗体或片段。

[0258] 将经组装的可变区克隆至表达载体,例如诸如实例 II 所述载体的 Fab 表达载体,并如实例 II 和 III 所述来测试对变性胶原的结合活性。

[0259] 所述实例描述了含有 HUIV26 和 HUI77 抗体的有益 CDR 突变的人源化的抗体的产生。

[0260] 实例 VI

[0261] 通过变体 HUI77 抗体对 B16 黑素瘤细胞增殖的抑制

[0262] 本实例描述 HUI77 变体 QH2b 对 B16 黑素瘤细胞增殖的影响。

[0263] 将指定 QH2b 的人源化 Fab(HUI77 抗体的 QH2b-B7 变体)设计到全长 IgG1 抗体(QH2b-IgG1)。使该 QH2b-IgG1 抗体在 NSO 细胞的哺乳动物细胞培养中进行表达并提纯该抗体。

[0264] 经提纯的 QH2b-IgG1 用于体外细胞增殖分析。将 B16 黑素瘤细胞覆盖于变性的人类 I 型胶原上。将 QH2b-IgG1(100 μ g/ml/天)添加至培养皿并在所指示的时间确定细胞数目(图 11)。作为对照,所述细胞未用抗体处理。

[0265] 如图 11 所示,B16 黑素瘤细胞在变性的 I 型胶原上增殖,如经 3 天时细胞数目的增加所示。经 3 天时间,用 QH2b-IgG1 处理的 B16 黑素瘤细胞培养基本上未展示细胞生长,其表明:在 HUI77 变体 QH2b-IgG1 存在下所述黑素瘤细胞不增殖。

[0266] 所述结果表明:具有一个或多个 CDR 氨基酸替换的 HDI77 变体可抑制 B16 黑素瘤细胞的细胞增殖。

[0267] 本申请案自始至终引用了各种出版物。这些出版物的揭示内容以引用的方式全部并入本申请案以便于更充分地描述本发明在所属领域的发展水平。尽管已经参考以上所提供的实例来描述本发明,但是应了解:在不脱离本发明精神的情况下可进行各种改动。

[0268] 序列表

[0269] <110> 细胞基质公司

[0270] <120> 人源化的胶原抗体及相关方法

[0271] <130>66797-164 (IX 5532)

[0272] <140>PCT/US02/38147

[0273] <141>2002-11-26

[0274] <150>US 09/995,529

[0275] <151>2001-11-26

[0276] <160>358

[0277] <170>FastSEQ for Windows Version 4.0

[0278] <210>1

[0279] <211>339

[0280] <212>DNA

[0281] <213> 小家鼠

[0282] <220>

[0283] <221>CDS

[0284] <222>(1)... (339)

[0285] <400>1

[0286] gac att gtg atg aca cag tct cca tct ttg ttg agt gtg tca gca gga 48

[0287] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Val Ser Ala Gly

[0288] 1 5 10 15

[0289] gag aag gtc act atg agc tgc aag tcc agt cag agt ctg tta aac agt 96

[0290] Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

[0291] 20 25 30

[0292] gga aat caa aag aac tac ttg gcc tgg tac cag cag aaa cca ggg cag 144

[0293] Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

[0294] 35 40 45

[0295] cct cct aaa ctg ttg atc tat ggg gca tcc act agg gaa tct ggg gtc 192

[0296] Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

[0297] 50 55 60

[0298] cct gat cgc ttc aca ggc agt gga tct gga acc gat ttc act ctt atc 240

[0299] Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ile

[0300] 65 70 75 80

[0301] atc agc agt gtg cag gct gaa gac ctg gca gtt tat tac tgt cag aat 288

[0302] Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 [0303] 85 90 95
 [0304] gat cat agt tat ccg tac acg ttc gga ggg ggg acc aag ctg gaa ata 336
 [0305] Asp His Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 [0306] 100 105 110
 [0307] aaa 339
 [0308] Lys
 [0309] <210>2
 [0310] <211>113
 [0311] <212>PRT
 [0312] <213> 小家鼠
 [0313] <400>2
 [0314] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Val Ser Ala Gly
 [0315] 1 5 10 15
 [0316] Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 [0317] 20 25 30
 [0318] Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 [0319] 35 40 45
 [0320] Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 [0321] 50 55 60
 [0322] Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ile
 [0323] 65 70 75 80
 [0324] Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 [0325] 85 90 95
 [0326] Asp His Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 [0327] 100 105 110
 [0328] Lys
 [0329] <210>3
 [0330] <211>360
 [0331] <212>DNA
 [0332] <213> 小家鼠
 [0333] <220>
 [0334] <221>CDS
 [0335] <222>(1)... (360)
 [0336] <400>3
 [0337] gag gtg aag ctt ctc gag tct gga ggt ggc ctg gtg cag cct gga gga 48
 [0338] Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 [0339] 1 5 10 15
 [0340] tcc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tca gga ttc gat ttt agt aga tac 96

[0341]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr	
[0342]	20	25 30
[0343]	tgg atg agt tgg gtc cgg cag gct cca ggg aaa ggg cta gaa tgg att	144
[0344]	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile	
[0345]	35	40 45
[0346]	gga gaa att aat cca gat agc agt acg ata aac tat acg cca tct cta	192
[0347]	Gly Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu	
[0348]	50	55 60
[0349]	aag gat aaa ttc atc atc tcc aga gac aac gcc aaa aat acg ctg tac	240
[0350]	Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr	
[0351]	65	70 75 80
[0352]	ctg caa atg agc aaa gtg aga tct gag gac aca gcc ctt tat tac tgt	288
[0353]	Leu Gln Met Ser Lys Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys	
[0354]	85	90 95
[0355]	gca aga ccg gtt gat ggt tac tac gat gct atg gac tac tgg ggt caa	336
[0356]	Ala Arg Pro Val Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln	
[0357]	100	105 110
[0358]	gga acc tca gtc acc gtc tcc tca	360
[0359]	Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser	
[0360]	115	120
[0361]	<210>4	
[0362]	<211>120	
[0363]	<212>PRT	
[0364]	<213> 小家鼠	
[0365]	<400>4	
[0366]	Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[0367]	1	5 10 15
[0368]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr	
[0369]	20	25 30
[0370]	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile	
[0371]	35	40 45
[0372]	Gly Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu	
[0373]	50	55 60
[0374]	Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr	
[0375]	65	70 75 80
[0376]	Leu Gln Met Ser Lys Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys	
[0377]	85	90 95
[0378]	Ala Arg Pro Val Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln	
[0379]	100	105 110

[0380] Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 [0381] 115 120
 [0382] <210>5
 [0383] <211>305
 [0384] <212>DNA
 [0385] <213> 智人
 [0386] <400>5
 [0387] gac atc gtg atg acc cag tct cca gac tcc ctg gct gtg tct ctg ggc 48
 [0388] gag agg gcc acc atc aac tgc aag tcc agc cag agt gtt tta tac agc 96
 [0389] tcc aac aat aag aac tac tta gct tgg tac cag cag aaa cca gga cag 144
 [0390] cct cct aag ctg ctc att tac tgg gca tct acc cgg gaa tcc ggg gtc 192
 [0391] cct gac cga ttc agt ggc agc ggg tct ggg aca gat ttc act ctc acc 240
 [0392] atc agc agc ctg cag gct gaa gat gtg gca gtt tat tac tgt cag caa 288
 [0393] tat tat agt act cct cc 305
 [0394] <210>6
 [0395] <211>113
 [0396] <212>PRT
 [0397] <213> 智人
 [0398] <400>6
 [0399] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 [0400] 1 5 10 15
 [0401] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
 [0402] 20 25 30
 [0403] Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 [0404] 35 40 45
 [0405] Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 [0406] 50 55 60
 [0407] Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 [0408] 65 70 75 80
 [0409] Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 [0410] 85 90 95
 [0411] Asp His Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 [0412] 100 105 110
 [0413] Lys
 [0414] <210>7
 [0415] <211>294
 [0416] <212>DNA
 [0417] <213> 智人
 [0418] <400>7

[0419] gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtc cag cct ggg ggg 48
 [0420] tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt agt agc tat 96
 [0421] tgg atg agc tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtg 144
 [0422] gcc aac ata aag caa gat gga agt gag aaa tac tat gtg gac tct gtg 192
 [0423] aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aac gcc aag aac tca ctg tat 240
 [0424] ctg caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt 288
 [0425] gcg aga 294
 [0426] <210>8
 [0427] <211>120
 [0428] <212>PRT
 [0429] <213> 智人
 [0430] <400>8
 [0431] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 [0432] 1 5 10 15
 [0433] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 [0434] 20 25 30
 [0435] Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [0436] 35 40 45
 [0437] Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 [0438] 50 55 60
 [0439] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 [0440] 65 70 75 80
 [0441] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [0442] 85 90 95
 [0443] Ala Arg Pro Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
 [0444] 100 105 110
 [0445] Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 [0446] 115 120
 [0447] <210>9
 [0448] <211>336
 [0449] <212>DNA
 [0450] <213> 小家鼠
 [0451] <220>
 [0452] <221>CDS
 [0453] <222>(1)... (336)
 [0454] <400>9
 [0455] gat gtt ttg atg acc caa act cca ctc tcc ctg cct gtc agt ctt gga 48
 [0456] Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 [0457] 1 5 10 15

[0458] gat caa gcc tcc atc tct tgc aga tct agt cag agc att gta cat agt 96
 [0459] Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
 [0460] 20 25 30
 [0461] aat gga aac acc tat tta gaa tgg tac ctg cag aaa cca ggc cag tct 144
 [0462] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 [0463] 35 40 45
 [0464] cca aag ctc ctg atc tac aaa gtt tcc aac cga ttt tct ggt gtc cca 192
 [0465] Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 [0466] 50 55 60
 [0467] gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggg aca gat ttc aca ctc aag atc 240
 [0468] Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 [0469] 65 70 75 80
 [0470] agc aga gtg gag gct gag gat ctg gga gtt tat tac tgc ttt caa ggt 288
 [0471] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 [0472] 85 90 95
 [0473] tca cat gtt ccg tgg acg ttc ggt gga ggc acc aag ctg gaa atc aaa 336
 [0474] Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 [0475] 100 105 110
 [0476] <210>10
 [0477] <211>112
 [0478] <212>PRT
 [0479] <213> 小家鼠
 [0480] <400>10
 [0481] Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 [0482] 1 5 10 15
 [0483] Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
 [0484] 20 25 30
 [0485] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 [0486] 35 40 45
 [0487] Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 [0488] 50 55 60
 [0489] Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 [0490] 65 70 75 80
 [0491] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 [0492] 85 90 95
 [0493] Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 [0494] 100 105 110
 [0495] <210>11
 [0496] <211>369

[0497] <212>DNA
 [0498] <213> 小家鼠
 [0499] <220>
 [0500] <221>CDS
 [0501] <222>(1)... (369)
 [0502] <400>11
 [0503] cag gtt act ctg aaa gag act ggc cct ggg ata ttg cag ccc tcc cag 48
 [0504] Gln Val Thr Leu Lys Glu Thr Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
 [0505] 1 5 10 15
 [0506] acc ctc agt ctg act tgt tct ttc tct ggg ttt tca ctg agc act tct 96
 [0507] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 [0508] 20 25 30
 [0509] ggt atg ggt gta ggc tgg att cgt cag cct tca gga gag ggt cta gag 144
 [0510] Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Glu Gly Leu Glu
 [0511] 35 40 45
 [0512] tgg ctg gca gac att tgg tgg gat gac aat aag tac tat aac cca tcc 192
 [0513] Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 [0514] 50 55 60
 [0515] ctg aag agc cgg ctc aca atc tcc aag gat acc tcc agc aac cag gta 240
 [0516] Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Ser Asn Gln Val
 [0517] 65 70 75 80
 [0518] ttc ctc aag atc acc agt gtg gac act gca gat act gcc act tac tac 288
 [0519] Phe Leu Lys Ile Thr Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 [0520] 85 90 95
 [0521] tgt gct cga aga gct aac tat ggt aac ccc tac tat gct atg gac tac 336
 [0522] Cys Ala Arg Arg Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
 [0523] 100 105 110
 [0524] tgg ggt caa gga acc tca gtc acc gtc tcc tca 369
 [0525] Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 [0526] 115 120
 [0527] <210>12
 [0528] <211>123
 [0529] <212>PRT
 [0530] <213> 小家鼠
 [0531] <400>12
 [0532] Gln Val Thr Leu Lys Glu Thr Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
 [0533] 1 5 10 15
 [0534] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 [0535] 20 25 30

[0536]	Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Glu Gly Leu Glu	
[0537]	35	40 45
[0538]	Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser	
[0539]	50	55 60
[0540]	Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Ser Asn Gln Val	
[0541]	65	70 75 80
[0542]	Phe Leu Lys Ile Thr Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr	
[0543]	85	90 95
[0544]	Cys Ala Arg Arg Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr	
[0545]	100	105 110
[0546]	Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser	
[0547]	115	120
[0548]	<210>13	
[0549]	<211>305	
[0550]	<212>DNA	
[0551]	<213> 智人	
[0552]	<400>13	
[0553]	gat att gtg atg acc cag act cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga	48
[0554]	gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ttg gat agt	96
[0555]	gat gat gga aac acc tat ttg gac tgg tac ctg cag aag cca ggg cag	144
[0556]	tct cca cag ctc ctg atc tat acg ctt tcc tat cgg gcc tct gga gtc	192
[0557]	cca gac agg ttc agt ggc agt ggg tca ggc act gat ttc aca ctg aaa	240
[0558]	atc agc agg gtg gag gct gag gat gtt gga gtt tat tac tgc atg caa	288
[0559]	cgt ata gag ttt cct tc	305
[0560]	<210>14	
[0561]	<211>111	
[0562]	<212>PRT	
[0563]	<213> 智人	
[0564]	<400>14	
[0565]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly	
[0566]	1	5 10 15
[0567]	Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser	
[0568]	20	25 30
[0569]	Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser	
[0570]	35	40 45
[0571]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro	
[0572]	50	55 60
[0573]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile	
[0574]	65	70 75 80

[0575] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser
 [0576] 85 90 95
 [0577] His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 [0578] 100 105 110
 [0579] <210>15
 [0580] <211>288
 [0581] <212>DNA
 [0582] <213> 智人
 [0583] <400>15
 [0584] caggtcacct tgaaggagtc tggctctgcg ctggtgaaac ccacacagac cctcacactg 60
 [0585] acctgcacct tctctgggtt ctcactcagc actagtggaa tgcgtgtgag ctggatccgt 120
 [0586] cagccccag ggaaggccct ggagtggctt gcacgcattg attggg atg atg ata 175
 [0587] aat tct aca gca cat ctc tga agaccagget caccatctcc aaggacacct 226
 [0588] ccaaaaacca ggtggctctt acaatgacca acatggaccc tgtggacaca gccacgtatt 286
 [0589] ac 288
 [0590] <210>16
 [0591] <211>123
 [0592] <212>PRT
 [0593] <213> 智人
 [0594] <400>16
 [0595] Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 [0596] 1 5 10 15
 [0597] Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 [0598] 20 25 30
 [0599] Gly Met Arg Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 [0600] 35 40 45
 [0601] Trp Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Phe Tyr Ser Thr Ser
 [0602] 50 55 60
 [0603] Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 [0604] 65 70 75 80
 [0605] Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 [0606] 85 90 95
 [0607] Cys Ala Arg Arg Ala Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Val
 [0608] 100 105 110
 [0609] Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 [0610] 115 120
 [0611] <210>17
 [0612] <211>340
 [0613] <212>DNA

[0614] <213> 智人
 [0615] <220>
 [0616] <221>CDS
 [0617] <222>(1)... (339)
 [0618] <400>17
 [0619] gat att gtg atg acc cag act cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
 [0620] Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 [0621] 1 5 10 15
 [0622] gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ttg gat agt 96
 [0623] Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 [0624] 20 25 30
 [0625] gat gat gga aac acc tat ttg gac tgg tac ctg cag aag cca ggg cag 144
 [0626] Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 [0627] 35 40 45
 [0628] tct cca cag ctc ctg atc tat acg ctt tcc tat cgg gcc tct gga gtc 192
 [0629] Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
 [0630] 50 55 60
 [0631] cca gac agg ttc agt ggc agt ggg tca ggc act gat ttc aca ctg aaa 240
 [0632] Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 [0633] 65 70 75 80
 [0634] atc agc agg gtg gag gct gag gat gtt gga gtt tat tac tgc atg caa 288
 [0635] Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln
 [0636] 85 90 95
 [0637] cgg ttc aca tgt tcc gtg gac gtt cgg cca agg gac caa ggt gga aat 336
 [0638] Arg Phe Thr Cys Ser Val Asp Val Arg Pro Arg Asp Gln Gly Gly Asn
 [0639] 100 105 110
 [0640] caa a 340
 [0641] Gln
 [0642] <210>18
 [0643] <211>113
 [0644] <212>PRT
 [0645] <213> 智人
 [0646] <400>18
 [0647] Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 [0648] 1 5 10 15
 [0649] Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 [0650] 20 25 30
 [0651] Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 [0652] 35 40 45

[0653] Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
 [0654] 50 55 60
 [0655] Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 [0656] 65 70 75 80
 [0657] Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln
 [0658] 85 90 95
 [0659] Arg Phe Thr Cys Ser Val Asp Val Arg Pro Arg Asp Gln Gly Gly Asn
 [0660] 100 105 110
 [0661] Gln
 [0662] <210>19
 [0663] <211>51
 [0664] <212>DNA
 [0665] <213> 小家鼠
 [0666] <220>
 [0667] <221>CDS
 [0668] <222>(1)... (51)
 [0669] <400>19
 [0670] aag tcc agt cag agt ctg tta aac agt gga aat caa aag aac tac ttg 48
 [0671] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
 [0672] 1 5 10 15
 [0673] gcc 51
 [0674] Ala
 [0675] <210>20
 [0676] <211>17
 [0677] <212>PRT
 [0678] <213> 小家鼠
 [0679] <400>20
 [0680] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
 [0681] 1 5 10 15
 [0682] Ala
 [0683] <210>21
 [0684] <211>21
 [0685] <212>DNA
 [0686] <213> 小家鼠
 [0687] <220>
 [0688] <221>CDS
 [0689] <222>(1)... (21)
 [0690] <400>21
 [0691] ggg gca tcc act agg gaa tct 21

[0692]	Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser	
[0693]	1 5	
[0694]	<210>22	
[0695]	<211>7	
[0696]	<212>PRT	
[0697]	<213> 小家鼠	
[0698]	<400>22	
[0699]	Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser	
[0700]	1 5	
[0701]	<210>23	
[0702]	<211>27	
[0703]	<212>DNA	
[0704]	<213> 小家鼠	
[0705]	<220>	
[0706]	<221>CDS	
[0707]	<222>(1)... (27)	
[0708]	<400>23	
[0709]	cag aat gat cat agt tat ccg tac acg	27
[0710]	Gln Asn Asp His Ser Tyr Pro Tyr Thr	
[0711]	1 5	
[0712]	<210>24	
[0713]	<211>9	
[0714]	<212>PRT	
[0715]	<213> 小家鼠	
[0716]	<400>24	
[0717]	Gln Asn Asp His Ser Tyr Pro Tyr Thr	
[0718]	1 5	
[0719]	<210>25	
[0720]	<211>30	
[0721]	<212>DNA	
[0722]	<213> 小家鼠	
[0723]	<220>	
[0724]	<221>CDS	
[0725]	<222>(1)... (30)	
[0726]	<400>25	
[0727]	gga ttc gat ttt agt aga tac tgg atg agt	30
[0728]	Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr Trp Met Ser	
[0729]	1 5 10	
[0730]	<210>26	

- [0731] <211>10
- [0732] <212>PRT
- [0733] <213> 小家鼠
- [0734] <400>26
- [0735] Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr Trp Met Ser
- [0736] 1 5 10
- [0737] <210>27
- [0738] <211>51
- [0739] <212>DNA
- [0740] <213> 小家鼠
- [0741] <220>
- [0742] <221>CDS
- [0743] <222>(1)... (51)
- [0744] <400>27
- [0745] gaa att aat cca gat agc agt acg ata aac tat acg cca tct cta aag 48
- [0746] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Lys
- [0747] 1 5 10 15
- [0748] gat 51
- [0749] Asp
- [0750] <210>28
- [0751] <211>17
- [0752] <212>PRT
- [0753] <213> 小家鼠
- [0754] <400>28
- [0755] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Lys
- [0756] 1 5 10 15
- [0757] Asp
- [0758] <210>29
- [0759] <211>33
- [0760] <212>DNA
- [0761] <213> 小家鼠
- [0762] <220>
- [0763] <221>CDS
- [0764] <222>(1)... (33)
- [0765] <400>29
- [0766] ccg gtt gat ggt tac tac gat gct atg gac tac 33
- [0767] Pro Val Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
- [0768] 1 5 10
- [0769] <210>30

- [0770] <211>11
[0771] <212>PRT
[0772] <213> 小家鼠
[0773] <400>30
[0774] Pro Val Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
[0775] 1 5 10
[0776] <210>31
[0777] <211>48
[0778] <212>DNA
[0779] <213> 小家鼠
[0780] <220>
[0781] <221>CDS
[0782] <222>(1)... (48)
[0783] <400>31
[0784] aga tct agt cag agc att gta cat agt aat gga aac acc tat tta gaa 48
[0785] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[0786] 1 5 10 15
[0787] <210>32
[0788] <211>16
[0789] <212>PRT
[0790] <213> 小家鼠
[0791] <400>32
[0792] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[0793] 1 5 10 15
[0794] <210>33
[0795] <211>21
[0796] <212>DNA
[0797] <213> 小家鼠
[0798] <220>
[0799] <221>CDS
[0800] <222>(1)... (21)
[0801] <400>33
[0802] aaa gtt tcc aac cga ttt tct 21
[0803] Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
[0804] 1 5
[0805] <210>34
[0806] <211>7
[0807] <212>PRT
[0808] <213> 小家鼠

[0809]	<400>34	
[0810]	Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser	
[0811]	1 5	
[0812]	<210>35	
[0813]	<211>27	
[0814]	<212>DNA	
[0815]	<213> 小家鼠	
[0816]	<220>	
[0817]	<221>CDS	
[0818]	<222>(1)... (27)	
[0819]	<400>35	
[0820]	ttt caa ggt tca cat gtt ccg tgg acg	27
[0821]	Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr	
[0822]	1 5	
[0823]	<210>36	
[0824]	<211>9	
[0825]	<212>PRT	
[0826]	<213> 小家鼠	
[0827]	<400>36	
[0828]	Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr	
[0829]	1 5	
[0830]	<210>37	
[0831]	<211>36	
[0832]	<212>DNA	
[0833]	<213> 小家鼠	
[0834]	<220>	
[0835]	<221>CDS	
[0836]	<222>(1)... (36)	
[0837]	<400>37	
[0838]	ggg ttt tca ctg agc act tct ggt atg ggt gta ggc	36
[0839]	Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly	
[0840]	1 5 10	
[0841]	<210>38	
[0842]	<211>12	
[0843]	<212>PRT	
[0844]	<213> 小家鼠	
[0845]	<400>38	
[0846]	Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly	
[0847]	1 5 10	

[0848] <210>39
 [0849] <211>48
 [0850] <212>DNA
 [0851] <213> 小家鼠
 [0852] <220>
 [0853] <221>CDS
 [0854] <222>(1)... (48)
 [0855] <400>39
 [0856] gac att tgg tgg gat gac aat aag tac tat aac cca tcc ctg aag agc 48
 [0857] Asp Ile Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 [0858] 1 5 10 15
 [0859] <210>40
 [0860] <211>16
 [0861] <212>PRT
 [0862] <213> 小家鼠
 [0863] <400>40
 [0864] Asp Ile Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 [0865] 1 5 10 15
 [0866] <210>41
 [0867] <211>39
 [0868] <212>DNA
 [0869] <213> 小家鼠
 [0870] <220>
 [0871] <221>CDS
 [0872] <222>(1)... (39)
 [0873] <400>41
 [0874] aga gct aac tat ggt aac ccc tac tat gct atg gac tac 39
 [0875] Arg Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
 [0876] 1 5 10
 [0877] <210>42
 [0878] <211>13
 [0879] <212>PRT
 [0880] <213> 小家鼠
 [0881] <400>42
 [0882] Arg Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
 [0883] 1 5 10
 [0884] <210>43
 [0885] <211>10
 [0886] <212>PRT

- [0887] <213> 人工序列
- [0888] <220>
- [0889] <223> 合成的抗体突变体
- [0890] <400>43
- [0891] Gly Phe Asp Phe Ser His Tyr Trp Met Ser
- [0892] 1 5 10
- [0893] <210>44
- [0894] <211>10
- [0895] <212>PRT
- [0896] <213> 人工序列
- [0897] <220>
- [0898] <223> 合成的抗体突变体
- [0899] <400>44
- [0900] Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr Trp Ile Ser
- [0901] 1 5 10
- [0902] <210>45
- [0903] <211>10
- [0904] <212>PRT
- [0905] <213> 人工序列
- [0906] <220>
- [0907] <223> 合成的抗体突变体
- [0908] <400>45
- [0909] Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr Trp Met Thr
- [0910] 1 5 10
- [0911] <210>46
- [0912] <211>10
- [0913] <212>PRT
- [0914] <213> 人工序列
- [0915] <220>
- [0916] <223> 合成的抗体突变体
- [0917] <400>46
- [0918] Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr Trp Met Ala
- [0919] 1 5 10
- [0920] <210>47
- [0921] <211>10
- [0922] <212>PRT
- [0923] <213> 人工序列
- [0924] <220>
- [0925] <223> 人工序列

- [0926] <400>47
[0927] Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr Trp Met Gly
[0928] 1 5 10
[0929] <210>48
[0930] <211>17
[0931] <212>PRT
[0932] <213> 人工序列
[0933] <220>
[0934] <223> 人工序列
[0935] <400>48
[0936] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ala Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Lys
[0937] 1 5 10 15
[0938] Asp
[0939] <210>49
[0940] <211>17
[0941] <212>PRT
[0942] <213> 人工序列
[0943] <220>
[0944] <223> 人工序列
[0945] <400>49
[0946] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ser Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Asp
[0947] 1 5 10 15
[0948] Lys
[0949] <210>50
[0950] <211>17
[0951] <212>PRT
[0952] <213> 人工序列
[0953] <220>
[0954] <223> 人工序列
[0955] <400>50
[0956] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Tyr Leu Lys
[0957] 1 5 10 15
[0958] Asp
[0959] <210>51
[0960] <211>17
[0961] <212>PRT
[0962] <213> 人工序列
[0963] <220>
[0964] <223> 合成的抗体突变体

- [0965] <400>51
[0966] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ala Leu Lys
[0967] 1 5 10 15
[0968] Asp
[0969] <210>52
[0970] <211>17
[0971] <212>PRT
[0972] <213> 人工序列
[0973] <220>
[0974] <223> 人工序列
[0975] <400>52
[0976] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro His Leu Lys
[0977] 1 5 10 15
[0978] Asp
[0979] <210>53
[0980] <211>17
[0981] <212>PRT
[0982] <213> 人工序列
[0983] <220>
[0984] <223> 合成的抗体突变体
[0985] <400>53
[0986] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Gly Leu Lys
[0987] 1 5 10 15
[0988] Asp
[0989] <210>54
[0990] <211>17
[0991] <212>PRT
[0992] <213> 人工序列
[0993] <220>
[0994] <223> 合成的抗体突变体
[0995] <400>54
[0996] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Gln
[0997] 1 5 10 15
[0998] Asp
[0999] <210>55
[1000] <211>17
[1001] <212>PRT
[1002] <213> 人工序列
[1003] <220>

- [1004] <223> 合成的抗体突变体
- [1005] <400>55
- [1006] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Lys
- [1007] 1 5 10 15
- [1008] Ser
- [1009] <210>56
- [1010] <211>11
- [1011] <212>PRT
- [1012] <213> 人工序列
- [1013] <220>
- [1014] <223> 合成的抗体突变体
- [1015] <400>56
- [1016] Pro Val Pro Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
- [1017] 1 5 10
- [1018] <210>57
- [1019] <211>11
- [1020] <212>PRT
- [1021] <213> 人工序列
- [1022] <220>
- [1023] <223> 合成的抗体突变体
- [1024] <400>57
- [1025] Pro Val Gly Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
- [1026] 1 5 10
- [1027] <210>58
- [1028] <211>11
- [1029] <212>PRT
- [1030] <213> 人工序列
- [1031] <220>
- [1032] <223> 合成的抗体突变体
- [1033] <400>58
- [1034] Pro Val Thr Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
- [1035] 1 5 10
- [1036] <210>59
- [1037] <211>11
- [1038] <212>PRT
- [1039] <213> 人工序列
- [1040] <220>
- [1041] <223> 合成的抗体突变体
- [1042] <400>59

- [1043] Pro Val Ala Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
[1044] 1 5 10
[1045] <210>60
[1046] <211>11
[1047] <212>PRT
[1048] <213> 人工序列
[1049] <220>
[1050] <223> 合成的抗体突变体
[1051] <400>60
[1052] Pro Val Asp Pro Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
[1053] 1 5 10
[1054] <210>61
[1055] <211>11
[1056] <212>PRT
[1057] <213> 人工序列
[1058] <220>
[1059] <223> 合成的抗体突变体
[1060] <400>61
[1061] Pro Val Asp Ala Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
[1062] 1 5 10
[1063] <210>62
[1064] <211>11
[1065] <212>PRT
[1066] <213> 人工序列
[1067] <220>
[1068] <223> 合成的抗体突变体
[1069] <400>62
[1070] Pro Val Asp His Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
[1071] 1 5 10
[1072] <210>63
[1073] <211>11
[1074] <212>PRT
[1075] <213> 人工序列
[1076] <220>
[1077] <223> 合成的抗体突变体
[1078] <400>63
[1079] Pro Val Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Pro
[1080] 1 5 10
[1081] <210>64

- [1082] <211>11
- [1083] <212>PRT
- [1084] <213> 人工序列
- [1085] <220>
- [1086] <223> 人工序列
- [1087] <400>64
- [1088] Pro Val Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Asn
- [1089] 1 5 10
- [1090] <210>65
- [1091] <211>17
- [1092] <212>PRT
- [1093] <213> 人工序列
- [1094] <220>
- [1095] <223> 合成的抗体突变体
- [1096] <400>65
- [1097] Lys Ser Ser Arg Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
- [1098] 1 5 10 15
- [1099] Ala
- [1100] <210>66
- [1101] <211>17
- [1102] <212>PRT
- [1103] <213> 人工序列
- [1104] <220>
- [1105] <223> 合成的抗体突变体
- [1106] <400>66
- [1107] Lys Ser Ser Ser Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
- [1108] 1 5 10 15
- [1109] Ala
- [1110] <210>67
- [1111] <211>17
- [1112] <212>PRT
- [1113] <213> 人工序列
- [1114] <220>
- [1115] <223> 合成的抗体突变体
- [1116] <400>67
- [1117] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
- [1118] 1 5 10 15
- [1119] Ala
- [1120] <210>68

- [1121] <211>17
[1122] <212>PRT
[1123] <213> 人工序列
[1124] <220>
[1125] <223> 合成的抗体突变体
[1126] <400>68
[1127] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Tyr Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1128] 1 5 10 15
[1129] Ala
[1130] <210>69
[1131] <211>17
[1132] <212>PRT
[1133] <213> 人工序列
[1134] <220>
[1135] <223> 合成的抗体突变体
[1136] <400>69
[1137] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Trp Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1138] 1 5 10 15
[1139] Ala
[1140] <210>70
[1141] <211>17
[1142] <212>PRT
[1143] <213> 人工序列
[1144] <220>
[1145] <223> 合成的抗体突变体
[1146] <400>70
[1147] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn His Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1148] 1 5 10 15
[1149] Ala
[1150] <210>71
[1151] <211>17
[1152] <212>PRT
[1153] <213> 人工序列
[1154] <220>
[1155] <223> 合成的抗体突变体
[1156] <400>71
[1157] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Arg Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1158] 1 5 10 15
[1159] Ala

- [1160] <210>72
[1161] <211>17
[1162] <212>PRT
[1163] <213> 人工序列
[1164] <220>
[1165] <223> 合成的抗体突变体
[1166] <400>72
[1167] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Tyr Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1168] 1 5 10 15
[1169] Ala
[1170] <210>73
[1171] <211>17
[1172] <212>PRT
[1173] <213> 人工序列
[1174] <220>
[1175] <223> 合成的抗体突变体
[1176] <400>73
[1177] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1178] 1 5 10 15
[1179] Ala
[1180] <210>74
[1181] <211>17
[1182] <212>PRT
[1183] <213> 人工序列
[1184] <220>
[1185] <223> 合成的抗体突变体
[1186] <400>74
[1187] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser His Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1188] 1 5 10 15
[1189] Ala
[1190] <210>75
[1191] <211>17
[1192] <212>PRT
[1193] <213> 人工序列
[1194] <220>
[1195] <223> 合成的抗体突变体
[1196] <400>75
[1197] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Ile Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1198] 1 5 10 15

- [1199] Ala
[1200] <210>76
[1201] <211>17
[1202] <212>PRT
[1203] <213> 人工序列
[1204] <220>
[1205] <223> 合成的抗体突变体
[1206] <400>76
[1207] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Lys Lys Asn Tyr Leu
[1208] 1 5 10 15
[1209] Ala
[1210] <210>77
[1211] <211>9
[1212] <212>PRT
[1213] <213> 人工序列
[1214] <220>
[1215] <223> 合成的抗体突变体
[1216] <400>77
[1217] Gln Asn Asp His Gln Tyr Pro Tyr Thr
[1218] 1 5
[1219] <210>78
[1220] <211>9
[1221] <212>PRT
[1222] <213> 人工序列
[1223] <220>
[1224] <223> 合成的抗体突变体
[1225] <400>78
[1226] Gln Asn Asp His Gly Tyr Pro Tyr Thr
[1227] 1 5
[1228] <210>79
[1229] <211>9
[1230] <212>PRT
[1231] <213> 人工序列
[1232] <220>
[1233] <223> 合成的抗体突变体
[1234] <400>79
[1235] Gln Asn Asp His Leu Tyr Pro Tyr Thr
[1236] 1 5
[1237] <210>80

- [1238] <211>9
[1239] <212>PRT
[1240] <213> 人工序列
[1241] <220>
[1242] <223> 合成的抗体突变体
[1243] <400>80
[1244] Gln Asn Asp His Ala Tyr Pro Tyr Thr
[1245] 1 5
[1246] <210>81
[1247] <211>9
[1248] <212>PRT
[1249] <213> 人工序列
[1250] <220>
[1251] <223> 合成的抗体突变体
[1252] <400>81
[1253] Gln Asn Asp His Thr Tyr Pro Tyr Thr
[1254] 1 5
[1255] <210>82
[1256] <211>9
[1257] <212>PRT
[1258] <213> 人工序列
[1259] <220>
[1260] <223> 合成的抗体突变体
[1261] <400>82
[1262] Gln Asn Asp His Val Tyr Pro Tyr Thr
[1263] 1 5
[1264] <210>83
[1265] <211>9
[1266] <212>PRT
[1267] <213> 人工序列
[1268] <220>
[1269] <223> 合成的抗体突变体
[1270] <400>83
[1271] Gln Asn Asp His Ser Asn Pro Tyr Thr
[1272] 1 5
[1273] <210>84
[1274] <211>9
[1275] <212>PRT
[1276] <213> 人工序列

- [1277] <220>
[1278] <223> 合成的抗体突变体
[1279] <400>84
[1280] Gln Asn Asp His Ser Ser Pro Tyr Thr
[1281] 1 5
[1282] <210>85
[1283] <211>9
[1284] <212>PRT
[1285] <213> 人工序列
[1286] <220>
[1287] <223> 合成的抗体突变体
[1288] <400>85
[1289] Gln Asn Asp His Ser Pro Pro Tyr Thr
[1290] 1 5
[1291] <210>86
[1292] <211>9
[1293] <212>PRT
[1294] <213> 人工序列
[1295] <220>
[1296] <223> 合成的抗体突变体
[1297] <400>86
[1298] Gln Asn Asp His Ser Met Pro Tyr Thr
[1299] 1 5
[1300] <210>87
[1301] <211>12
[1302] <212>PRT
[1303] <213> 人工序列
[1304] <220>
[1305] <223> 合成的抗体突变体
[1306] <400>87
[1307] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro Gly Met Gly Val Gly
[1308] 1 5 10
[1309] <210>88
[1310] <211>12
[1311] <212>PRT
[1312] <213> 人工序列
[1313] <220>
[1314] <223> 合成的抗体突变体
[1315] <400>88

- [1316] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Trp Gly Met Gly Val Gly
 [1317] 1 5 10
 [1318] <210>89
 [1319] <211>12
 [1320] <212>PRT
 [1321] <213> 人工序列
 [1322] <220>
 [1323] <223> 合成的抗体突变体
 [1324] <400>89
 [1325] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Trp
 [1326] 1 5 10
 [1327] <210>90
 [1328] <211>12
 [1329] <212>PRT
 [1330] <213> 人工序列
 [1331] <220>
 [1332] <223> 合成的抗体突变体
 [1333] <400>90
 [1334] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Leu
 [1335] 1 5 10
 [1336] <210>91
 [1337] <211>12
 [1338] <212>PRT
 [1339] <213> 人工序列
 [1340] <220>
 [1341] <223> 合成的抗体突变体
 [1342] <400>91
 [1343] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Ala
 [1344] 1 5 10
 [1345] <210>92
 [1346] <211>16
 [1347] <212>PRT
 [1348] <213> 人工序列
 [1349] <220>
 [1350] <223> 合成的抗体突变体
 [1351] <400>92
 [1352] Asp Ile Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 [1353] 1 5 10 15
 [1354] <210>93

- [1355] <211>16
[1356] <212>PRT
[1357] <213> 人工序列
[1358] <220>
[1359] <223> 合成的抗体突变体
[1360] <400>93
[1361] Asp Ile Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr Ala Asn Pro Ser Leu Lys Ser
[1362] 1 5 10 15
[1363] <210>94
[1364] <211>16
[1365] <212>PRT
[1366] <213> 人工序列
[1367] <220>
[1368] <223> 合成的抗体突变体
[1369] <400>94
[1370] Asp Ile Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr Pro Asn Pro Ser Leu Lys Ser
[1371] 1 5 10 15
[1372] <210>95
[1373] <211>16
[1374] <212>PRT
[1375] <213> 人工序列
[1376] <220>
[1377] <223> 合成的抗体突变体
[1378] <400>95
[1379] Asp Ile Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Pro Ser
[1380] 1 5 10 15
[1381] <210>96
[1382] <211>13
[1383] <212>PRT
[1384] <213> 人工序列
[1385] <220>
[1386] <223> 合成的抗体突变体
[1387] <400>96
[1388] Pro Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
[1389] 1 5 10
[1390] <210>97
[1391] <211>13
[1392] <212>PRT
[1393] <213> 人工序列

- [1394] <220>
[1395] <223> 合成的抗体突变体
[1396] <400>97
[1397] Gln Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
[1398] 1 5 10
[1399] <210>98
[1400] <211>13
[1401] <212>PRT
[1402] <213> 人工序列
[1403] <220>
[1404] <223> 合成的抗体突变体
[1405] <400>98
[1406] Leu Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
[1407] 1 5 10
[1408] <210>99
[1409] <211>13
[1410] <212>PRT
[1411] <213> 人工序列
[1412] <220>
[1413] <223> 合成的抗体突变体
[1414] <400>99
[1415] Thr Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
[1416] 1 5 10
[1417] <210>100
[1418] <211>13
[1419] <212>PRT
[1420] <213> 人工序列
[1421] <220>
[1422] <223> 合成的抗体突变体
[1423] <400>100
[1424] Val Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
[1425] 1 5 10
[1426] <210>101
[1427] <211>13
[1428] <212>PRT
[1429] <213> 人工序列
[1430] <220>
[1431] <223> 合成的抗体突变体
[1432] <400>101

- [1433] Arg Ala Asn Tyr Gly Val Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
[1434] 1 5 10
[1435] <210>102
[1436] <211>13
[1437] <212>PRT
[1438] <213> 人工序列
[1439] <220>
[1440] <223> 合成的抗体突变体
[1441] <400>102
[1442] Arg Ala Asn Tyr Gly Trp Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
[1443] 1 5 10
[1444] <210>103
[1445] <211>13
[1446] <212>PRT
[1447] <213> 人工序列
[1448] <220>
[1449] <223> 合成的抗体突变体
[1450] <400>103
[1451] Arg Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Gln Asp Tyr
[1452] 1 5 10
[1453] <210>104
[1454] <211>13
[1455] <212>PRT
[1456] <213> 人工序列
[1457] <220>
[1458] <223> 合成的抗体突变体
[1459] <400>104
[1460] Arg Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Asn Asp Tyr
[1461] 1 5 10
[1462] <210>105
[1463] <211>13
[1464] <212>PRT
[1465] <213> 人工序列
[1466] <220>
[1467] <223> 合成的抗体突变体
[1468] <400>105
[1469] Arg Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Thr Asp Tyr
[1470] 1 5 10
[1471] <210>106

- [1472] <211>13
[1473] <212>PRT
[1474] <213> 人工序列
[1475] <220>
[1476] <223> 合成的抗体突变体
[1477] <400>106
[1478] Arg Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Lys
[1479] 1 5 10
[1480] <210>107
[1481] <211>13
[1482] <212>PRT
[1483] <213> 人工序列
[1484] <220>
[1485] <223> 合成的抗体突变体
[1486] <400>107
[1487] Arg Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Thr
[1488] 1 5 10
[1489] <210>108
[1490] <211>13
[1491] <212>PRT
[1492] <213> 人工序列
[1493] <220>
[1494] <223> 合成的抗体突变体
[1495] <400>108
[1496] Arg Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Met
[1497] 1 5 10
[1498] <210>109
[1499] <211>13
[1500] <212>PRT
[1501] <213> 人工序列
[1502] <220>
[1503] <223> 合成的抗体突变体
[1504] <400>109
[1505] Arg Ala Asn Tyr Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Met Asp His
[1506] 1 5 10
[1507] <210>110
[1508] <211>16
[1509] <212>PRT
[1510] <213> 人工序列

- [1511] <220>
[1512] <223> 合成的抗体突变体
[1513] <400>110
[1514] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Pro His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[1515] 1 5 10 15
[1516] <210>111
[1517] <211>16
[1518] <212>PRT
[1519] <213> 人工序列
[1520] <220>
[1521] <223> 合成的抗体突变体
[1522] <400>111
[1523] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Trp His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[1524] 1 5 10 15
[1525] <210>112
[1526] <211>16
[1527] <212>PRT
[1528] <213> 人工序列
[1529] <220>
[1530] <223> 合成的抗体突变体
[1531] <400>112
[1532] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Leu Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[1533] 1 5 10 15
[1534] <210>113
[1535] <211>16
[1536] <212>PRT
[1537] <213> 人工序列
[1538] <220>
[1539] <223> 合成的抗体突变体
[1540] <400>113
[1541] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Ser Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[1542] 1 5 10 15
[1543] <210>114
[1544] <211>16
[1545] <212>PRT
[1546] <213> 人工序列
[1547] <220>
[1548] <223> 合成的抗体突变体
[1549] <400>114

[1550]	Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[1551]	1 5 10 15
[1552]	<210>115
[1553]	<211>16
[1554]	<212>PRT
[1555]	<213> 人工序列
[1556]	<220>
[1557]	<223> 合成的抗体突变体
[1558]	<400>115
[1559]	Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[1560]	1 5 10 15
[1561]	<210>116
[1562]	<211>16
[1563]	<212>PRT
[1564]	<213> 人工序列
[1565]	<220>
[1566]	<223> 合成的抗体突变体
[1567]	<400>116
[1568]	Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Trp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[1569]	1 5 10 15
[1570]	<210>117
[1571]	<211>16
[1572]	<212>PRT
[1573]	<213> 人工序列
[1574]	<220>
[1575]	<223> 合成的抗体突变体
[1576]	<400>117
[1577]	Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Glu
[1578]	1 5 10 15
[1579]	<210>118
[1580]	<211>16
[1581]	<212>PRT
[1582]	<213> 人工序列
[1583]	<220>
[1584]	<223> 合成的抗体突变体
[1585]	<400>118
[1586]	Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Phe Glu
[1587]	1 5 10 15
[1588]	<210>119

- [1589] <211>16
[1590] <212>PRT
[1591] <213> 人工序列
[1592] <220>
[1593] <223> 合成的抗体突变体
[1594] <400>119
[1595] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Val Glu
[1596] 1 5 10 15
[1597] <210>120
[1598] <211>7
[1599] <212>PRT
[1600] <213> 人工序列
[1601] <220>
[1602] <223> 合成的抗体突变体
[1603] <400>120
[1604] Ser Val Ser Asn Arg Phe Ser
[1605] 1 5
[1606] <210>121
[1607] <211>7
[1608] <212>PRT
[1609] <213> 人工序列
[1610] <220>
[1611] <223> 合成的抗体突变体
[1612] <400>121
[1613] Lys Ala Ser Asn Arg Phe Ser
[1614] 1 5
[1615] <210>122
[1616] <211>7
[1617] <212>PRT
[1618] <213> 人工序列
[1619] <220>
[1620] <223> 合成的抗体突变体
[1621] <400>122
[1622] Lys Val Ser Ser Arg Phe Ser
[1623] 1 5
[1624] <210>123
[1625] <211>7
[1626] <212>PRT
[1627] <213> 人工序列

- [1628] <220>
[1629] <223> 合成的抗体突变体
[1630] <400>123
[1631] Lys Val Ser Asn Leu Phe Ser
[1632] 1 5
[1633] <210>124
[1634] <211>7
[1635] <212>PRT
[1636] <213> 人工序列
[1637] <220>
[1638] <223> 合成的抗体突变体
[1639] <400>124
[1640] Lys Val Ser Asn Arg Phe Trp
[1641] 1 5
[1642] <210>125
[1643] <211>7
[1644] <212>PRT
[1645] <213> 人工序列
[1646] <220>
[1647] <223> 合成的抗体突变体
[1648] <400>125
[1649] Lys Val Ser Asn Arg Phe Phe
[1650] 1 5
[1651] <210>126
[1652] <211>9
[1653] <212>PRT
[1654] <213> 人工序列
[1655] <220>
[1656] <223> 合成的抗体突变体
[1657] <400>126
[1658] Val Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr
[1659] 1 5
[1660] <210>127
[1661] <211>9
[1662] <212>PRT
[1663] <213> 人工序列
[1664] <220>
[1665] <223> 合成的抗体突变体
[1666] <400>127

- [1667] His Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr
[1668] 1 5
[1669] <210>128
[1670] <211>9
[1671] <212>PRT
[1672] <213> 人工序列
[1673] <220>
[1674] <223> 合成的抗体突变体
[1675] <400>128
[1676] Phe Arg Gly Ser His Val Pro Trp Thr
[1677] 1 5
[1678] <210>129
[1679] <211>9
[1680] <212>PRT
[1681] <213> 人工序列
[1682] <220>
[1683] <223> 合成的抗体突变体
[1684] <400>129
[1685] Phe Trp Gly Ser His Val Pro Trp Thr
[1686] 1 5
[1687] <210>130
[1688] <211>9
[1689] <212>PRT
[1690] <213> 人工序列
[1691] <220>
[1692] <223> 合成的抗体突变体
[1693] <400>130
[1694] Phe Gln Ser Ser His Val Pro Trp Thr
[1695] 1 5
[1696] <210>131
[1697] <211>9
[1698] <212>PRT
[1699] <213> 人工序列
[1700] <220>
[1701] <223> 合成的抗体突变体
[1702] <400>131
[1703] Phe Gln Gly Trp His Val Pro Trp Thr
[1704] 1 5
[1705] <210>132

- [1706] <211>9
[1707] <212>PRT
[1708] <213> 人工序列
[1709] <220>
[1710] <223> 合成的抗体突变体
[1711] <400>132
[1712] Phe Gln Gly Glu His Val Pro Trp Thr
[1713] 1 5
[1714] <210>133
[1715] <211>9
[1716] <212>PRT
[1717] <213> 人工序列
[1718] <220>
[1719] <223> 合成的抗体突变体
[1720] <400>133
[1721] Phe Gln Gly Ser Leu Val Pro Trp Thr
[1722] 1 5
[1723] <210>134
[1724] <211>9
[1725] <212>PRT
[1726] <213> 人工序列
[1727] <220>
[1728] <223> 合成的抗体突变体
[1729] <400>134
[1730] Phe Gln Gly Ser Thr Val Pro Trp Thr
[1731] 1 5
[1732] <210>135
[1733] <211>9
[1734] <212>PRT
[1735] <213> 人工序列
[1736] <220>
[1737] <223> 合成的抗体突变体
[1738] <400>135
[1739] Phe Gln Gly Ser Ser Val Pro Trp Thr
[1740] 1 5
[1741] <210>136
[1742] <211>9
[1743] <212>PRT
[1744] <213> 人工序列

- [1745] <220>
[1746] <223> 合成的抗体突变体
[1747] <400>136
[1748] Phe Gln Gly Ser Ala Val Pro Trp Thr
[1749] 1 5
[1750] <210>137
[1751] <211>9
[1752] <212>PRT
[1753] <213> 人工序列
[1754] <220>
[1755] <223> 合成的抗体突变体
[1756] <400>137
[1757] Phe Gln Gly Ser Gln Val Pro Trp Thr
[1758] 1 5
[1759] <210>138
[1760] <211>9
[1761] <212>PRT
[1762] <213> 人工序列
[1763] <220>
[1764] <223> 合成的抗体突变体
[1765] <400>138
[1766] Phe Gln Gly Ser His Thr Pro Trp Thr
[1767] 1 5
[1768] <210>139
[1769] <211>9
[1770] <212>PRT
[1771] <213> 人工序列
[1772] <220>
[1773] <223> 合成的抗体突变体
[1774] <400>139
[1775] Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Ala
[1776] 1 5
[1777] <210>140
[1778] <211>9
[1779] <212>PRT
[1780] <213> 人工序列
[1781] <220>
[1782] <223> 合成的抗体突变体
[1783] <400>140

- [1784] Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Arg
 [1785] 1 5
 [1786] <210>141
 [1787] <211>9
 [1788] <212>PRT
 [1789] <213> 人工序列
 [1790] <220>
 [1791] <223> 合成的抗体突变体
 [1792] <400>141
 [1793] Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp His
 [1794] 1 5
 [1795] <210>142
 [1796] <211>9
 [1797] <212>PRT
 [1798] <213> 人工序列
 [1799] <220>
 [1800] <223> 合成的抗体突变体
 [1801] <400>142
 [1802] Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Lys
 [1803] 1 5
 [1804] <210>143
 [1805] <211>9
 [1806] <212>PRT
 [1807] <213> 人工序列
 [1808] <220>
 [1809] <223> 合成的抗体突变体
 [1810] <400>143
 [1811] Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Ile
 [1812] 1 5
 [1813] <210>144
 [1814] <211>16
 [1815] <212>PRT
 [1816] <213> 人工序列
 [1817] <220>
 [1818] <223> 合成的抗体突变体
 [1819] <400>144
 [1820] Asp Ile Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr Thr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 [1821] 1 5 10 15
 [1822] <210>145

- [1823] <211>9
[1824] <212>PRT
[1825] <213> 人工序列
[1826] <220>
[1827] <223> 合成的抗体突变体
[1828] <400>145
[1829] Phe Gln Gly Ser His Phe Pro Trp Thr
[1830] 1 5
[1831] <210>146
[1832] <211>16
[1833] <212>PRT
[1834] <213> 人工序列
[1835] <220>
[1836] <223> 合成的抗体突变体
[1837] <400>146
[1838] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Gln Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[1839] 1 5 10 15
[1840] <210>147
[1841] <211>12
[1842] <212>PRT
[1843] <213> 人工序列
[1844] <220>
[1845] <223> 合成的抗体突变体
[1846] <400>147
[1847] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro Gly Met Gly Val Trp
[1848] 1 5 10
[1849] <210>148
[1850] <211>12
[1851] <212>PRT
[1852] <213> 人工序列
[1853] <220>
[1854] <223> 合成的抗体突变体
[1855] <400>148
[1856] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro Gly Met Gly Val Ala
[1857] 1 5 10
[1858] <210>149
[1859] <211>16
[1860] <212>PRT
[1861] <213> 人工序列

- [1862] <220>
[1863] <223> 合成的抗体突变体
[1864] <400>149
[1865] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Ser Ser Trp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[1866] 1 5 10 15
[1867] <210>150
[1868] <211>16
[1869] <212>PRT
[1870] <213> 人工序列
[1871] <220>
[1872] <223> 合成的抗体突变体
[1873] <400>150
[1874] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Ser Ser Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[1875] 1 5 10 15
[1876] <210>151
[1877] <211>16
[1878] <212>PRT
[1879] <213> 人工序列
[1880] <220>
[1881] <223> 合成的抗体突变体
[1882] <400>151
[1883] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Ser Ser Gln Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[1884] 1 5 10 15
[1885] <210>152
[1886] <211>16
[1887] <212>PRT
[1888] <213> 人工序列
[1889] <220>
[1890] <223> 合成的抗体突变体
[1891] <400>152
[1892] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Gln Gly Asn Thr Tyr Phe Glu
[1893] 1 5 10 15
[1894] <210>153
[1895] <211>16
[1896] <212>PRT
[1897] <213> 人工序列
[1898] <220>
[1899] <223> 合成的抗体突变体
[1900] <400>153

- [1901] Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Ser Ser Trp Gly Asn Thr Tyr Phe Glu
 [1902] 1 5 10 15
 [1903] <210>154
 [1904] <211>17
 [1905] <212>PRT
 [1906] <213> 人工序列
 [1907] <220>
 [1908] <223> 合成的抗体突变体
 [1909] <400>154
 [1910] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ala Asn Tyr Thr Pro Ala Leu Lys
 [1911] 1 5 10 15
 [1912] Asp
 [1913] <210>155
 [1914] <211>17
 [1915] <212>PRT
 [1916] <213> 人工序列
 [1917] <220>
 [1918] <223> 合成的抗体突变体
 [1919] <400>155
 [1920] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ala Asn Tyr Thr Pro Tyr Leu Lys
 [1921] 1 5 10 15
 [1922] Asp
 [1923] <210>156
 [1924] <211>17
 [1925] <212>PRT
 [1926] <213> 人工序列
 [1927] <220>
 [1928] <223> 合成的抗体突变体
 [1929] <400>156
 [1930] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ala Asn Tyr Thr Pro His Leu Lys
 [1931] 1 5 10 15
 [1932] Asp
 [1933] <210>157
 [1934] <211>17
 [1935] <212>PRT
 [1936] <213> 人工序列
 [1937] <220>
 [1938] <223> 合成的抗体突变体
 [1939] <400>157

[1940]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Trp Tyr Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1941]	1 5 10 15
[1942]	Ala
[1943]	<210>158
[1944]	<211>17
[1945]	<212>PRT
[1946]	<213> 人工序列
[1947]	<220>
[1948]	<223> 合成的抗体突变体
[1949]	<400>158
[1950]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Tyr Tyr Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1951]	1 5 10 15
[1952]	Ala
[1953]	<210>159
[1954]	<211>17
[1955]	<212>PRT
[1956]	<213> 人工序列
[1957]	<220>
[1958]	<223> 合成的抗体突变体
[1959]	<400>159
[1960]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Tyr His Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1961]	1 5 10 15
[1962]	Ala
[1963]	<210>160
[1964]	<211>17
[1965]	<212>PRT
[1966]	<213> 人工序列
[1967]	<220>
[1968]	<223> 合成的抗体突变体
[1969]	<400>160
[1970]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Arg Tyr Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1971]	1 5 10 15
[1972]	Ala
[1973]	<210>161
[1974]	<211>17
[1975]	<212>PRT
[1976]	<213> 人工序列
[1977]	<220>
[1978]	<223> 合成的抗体突变体

- [1979] <400>161
- [1980] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Trp His Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
- [1981] 1 5 10 15
- [1982] Ala
- [1983] <210>162
- [1984] <211>17
- [1985] <212>PRT
- [1986] <213> 人工序列
- [1987] <220>
- [1988] <223> 合成的抗体突变体
- [1989] <400>162
- [1990] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Val Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Lys
- [1991] 1 5 10 15
- [1992] Asp
- [1993] <210>163
- [1994] <211>39
- [1995] <212>DNA
- [1996] <213> 人工序列
- [1997] <220>
- [1998] <223> 引物
- [1999] <400>163
- [2000] tctctggaga tggtgaattt acgtactgct atctggatt 39
- [2001] <210>164
- [2002] <211>41
- [2003] <212>DNA
- [2004] <213> 人工序列
- [2005] <220>
- [2006] <223> 引物
- [2007] <400>164
- [2008] ctaagtagtt cttttggttg ttataacaga ctctggctgg a 41
- [2009] <210>165
- [2010] <211>51
- [2011] <212>DNA
- [2012] <213> 人工序列
- [2013] <220>
- [2014] <223> 引物
- [2015] <400>165
- [2016] tggagcctgg cggacccagg hcatccaata tctactaaag gtgaatccag a 51
- [2017] <210>166

- [2018] <211>65
- [2019] <212>DNA
- [2020] <213> 人工序列
- [2021] <220>
- [2022] <223> 引物
- [2023] <400>166
- [2024] tctctggaga tggatgaatyt atccttttagg gmtggcgat agttggccgt actgctatct 60
- [2025] ggatt 65
- [2026] <210>167
- [2027] <211>65
- [2028] <212>DNA
- [2029] <213> 人工序列
- [2030] <220>
- [2031] <223> 引物
- [2032] <400>167
- [2033] tctctggaga tggatgaatyt atccttttagg trtggcgat agttggccgt actgctatct 60
- [2034] ggatt 65
- [2035] <210>168
- [2036] <211>46
- [2037] <212>DNA
- [2038] <213> 人工序列
- [2039] <220>
- [2040] <223> 引物
- [2041] <400>168
- [2042] ctaagtagtt ctttttggttg trgtgrytta acagactctg gctgga 46
- [2043] <210>169
- [2044] <211>46
- [2045] <212>DNA
- [2046] <213> 人工序列
- [2047] <220>
- [2048] <223> 引物
- [2049] <400>169
- [2050] ctaagtagtt ctttttggttg csgtrgytta acagactctg gctgga 46
- [2051] <210>170
- [2052] <211>46
- [2053] <212>DNA
- [2054] <213> 人工序列
- [2055] <220>
- [2056] <223> 引物

[2057]	<400>170	
[2058]	ctaagtagtt ctttttggttg trgckgytta acagactctg gctgga	46
[2059]	<210>171	
[2060]	<211>46	
[2061]	<212>DNA	
[2062]	<213> 人工序列	
[2063]	<220>	
[2064]	<223> 引物	
[2065]	<400>171	
[2066]	ctaagtagtt ctttttggttg csgckgytta acagactctg gctgga	46
[2067]	<210>172	
[2068]	<211>46	
[2069]	<212>DNA	
[2070]	<213> 人工序列	
[2071]	<220>	
[2072]	<223> 引物	
[2073]	<400>172	
[2074]	ctaagtagtt ctttttggttg trccagytta acagactctg gctgga	46
[2075]	<210>173	
[2076]	<211>46	
[2077]	<212>DNA	
[2078]	<213> 人工序列	
[2079]	<220>	
[2080]	<223> 引物	
[2081]	<400>173	
[2082]	ctaagtagtt ctttttggttg csgccagytta acagactctg gctgga	46
[2083]	<210>174	
[2084]	<211>40	
[2085]	<212>DNA	
[2086]	<213> 人工序列	
[2087]	<220>	
[2088]	<223> 引物	
[2089]	<400>174	
[2090]	cttctgcagg taccattcgt tatacaatgc tctgactaga	40
[2091]	<210>175	
[2092]	<211>57	
[2093]	<212>DNA	
[2094]	<213> 人工序列	
[2095]	<220>	

- [2096] <223> 引物
- [2097] <400>175
- [2098] tgggggctga cggatccacm acacacccat tccacragtg ctgagtgaga acccaga 57
- [2099] <210>176
- [2100] <211>57
- [2101] <212>DNA
- [2102] <213> 人工序列
- [2103] <220>
- [2104] <223> 引物
- [2105] <400>176
- [2106] tgggggctga cggatccags ccacacccat tccacractg ctgagtgaga acccaga 57
- [2107] <210>177
- [2108] <211>40
- [2109] <212>DNA
- [2110] <213> 人工序列
- [2111] <220>
- [2112] <223> 引物
- [2113] <400>177
- [2114] gctcttcaga gatgggttag vgtattttatt gtcacccac 40
- [2115] <210>178
- [2116] <211>60
- [2117] <212>DNA
- [2118] <213> 人工序列
- [2119] <220>
- [2120] <223> 引物
- [2121] <400>178
- [2122] cttctgcagg taccattcma aataggtggt tccccaactc ratacaatgc tctgactaga 60
- [2123] <210>179
- [2124] <211>60
- [2125] <212>DNA
- [2126] <213> 人工序列
- [2127] <220>
- [2128] <223> 引物
- [2129] <400>179
- [2130] cttctgcagg taccattcma aataggtggt tccgtaactc ratacaatgc tctgactaga 60
- [2131] <210>180
- [2132] <211>60
- [2133] <212>DNA
- [2134] <213> 人工序列

- [2135] <220>
[2136] <223> 引物
[2137] <400>180
[2138] cttctgcagg taccattcma aataggtggt tccctgactc ratacaatgc tctgactaga 60
[2139] <210>181
[2140] <211>60
[2141] <212>DNA
[2142] <213> 人工序列
[2143] <220>
[2144] <223> 引物
[2145] <400>181
[2146] cttctgcagg taccattcma aataggtggt tccccaactg tgtacaatgc tctgactaga 60
[2147] <210>182
[2148] <211>60
[2149] <212>DNA
[2150] <213> 人工序列
[2151] <220>
[2152] <223> 引物
[2153] <400>182
[2154] cttctgcagg taccattcma aataggtggt tccctaactg tctacaatgc tctgactaga 60
[2155] <210>183
[2156] <211>60
[2157] <212>DNA
[2158] <213> 人工序列
[2159] <220>
[2160] <223> 引物
[2161] <400>183
[2162] cttctgcagg taccattcma aataggtggt tccctcactg tgtacaatgc tctgactaga 60
[2163] <210>184
[2164] <211>18
[2165] <212>DNA
[2166] <213> 人工序列
[2167] <220>
[2168] <223> 引物
[2169] <400>184
[2170] ttggtgctga tgttctgg 18
[2171] <210>185
[2172] <211>18
[2173] <212>DNA

[2174]	<213> 人工序列	
[2175]	<220>	
[2176]	<223> 引物	
[2177]	<400>185	
[2178]	atcttcttgc tgttctgg	18
[2179]	<210>186	
[2180]	<211>18	
[2181]	<212>DNA	
[2182]	<213> 人工序列	
[2183]	<220>	
[2184]	<223> 引物	
[2185]	<400>186	
[2186]	tgggtgctgc tgctctgg	18
[2187]	<210>187	
[2188]	<211>18	
[2189]	<212>DNA	
[2190]	<213> 人工序列	
[2191]	<220>	
[2192]	<223> 引物	
[2193]	<400>187	
[2194]	gggctgcttg tgctctgg	18
[2195]	<210>188	
[2196]	<211>18	
[2197]	<212>DNA	
[2198]	<213> 人工序列	
[2199]	<220>	
[2200]	<223> 引物	
[2201]	<400>188	
[2202]	ggaatcttgt tgctctgg	18
[2203]	<210>189	
[2204]	<211>18	
[2205]	<212>DNA	
[2206]	<213> 人工序列	
[2207]	<220>	
[2208]	<223> 引物	
[2209]	<400>189	
[2210]	rtrttsetgc tgctrctgg	18
[2211]	<210>190	
[2212]	<211>18	

[2213]	<212>DNA	
[2214]	<213> 人工序列	
[2215]	<220>	
[2216]	<223> 引物	
[2217]	<400>190	
[2218]	ggctctcctgt tgctctgt	18
[2219]	<210>191	
[2220]	<211>18	
[2221]	<212>DNA	
[2222]	<213> 人工序列	
[2223]	<220>	
[2224]	<223> 引物	
[2225]	<400>191	
[2226]	atatttctac tgctctgt	18
[2227]	<210>192	
[2228]	<211>18	
[2229]	<212>DNA	
[2230]	<213> 人工序列	
[2231]	<220>	
[2232]	<223> 引物	
[2233]	<400>192	
[2234]	gtcataatrt ccagagga	18
[2235]	<210>193	
[2236]	<211>17	
[2237]	<212>DNA	
[2238]	<213> 人工序列	
[2239]	<220>	
[2240]	<223> 引物	
[2241]	<400>193	
[2242]	ctgagctgtg tattcct	17
[2243]	<210>194	
[2244]	<211>17	
[2245]	<212>DNA	
[2246]	<213> 人工序列	
[2247]	<220>	
[2248]	<223> 引物	
[2249]	<400>194	
[2250]	ctcarmttga ttttcct	17
[2251]	<210>195	

[2252]	<211>17	
[2253]	<212>DNA	
[2254]	<213> 人工序列	
[2255]	<220>	
[2256]	<223> 引物	
[2257]	<400>195	
[2258]	tggrtcatst tcttct	17
[2259]	<210>196	
[2260]	<211>17	
[2261]	<212>DNA	
[2262]	<213> 人工序列	
[2263]	<220>	
[2264]	<223> 引物	
[2265]	<400>196	
[2266]	tkstrtctttc tcttct	17
[2267]	<210>197	
[2268]	<211>17	
[2269]	<212>DNA	
[2270]	<213> 人工序列	
[2271]	<220>	
[2272]	<223> 引物	
[2273]	<400>197	
[2274]	tgtatcatse tcttctt	17
[2275]	<210>198	
[2276]	<211>17	
[2277]	<212>DNA	
[2278]	<213> 人工序列	
[2279]	<220>	
[2280]	<223> 引物	
[2281]	<400>198	
[2282]	tggrtctttc tcttttt	17
[2283]	<210>199	
[2284]	<211>18	
[2285]	<212>DNA	
[2286]	<213> 人工序列	
[2287]	<220>	
[2288]	<223> 引物	
[2289]	<400>199	
[2290]	ttaaacttgg gtttttct	18

[2291]	<210>200	
[2292]	<211>17	
[2293]	<212>DNA	
[2294]	<213> 人工序列	
[2295]	<220>	
[2296]	<223> 引物	
[2297]	<400>200	
[2298]	gkgctgytcy tctgcct	17
[2299]	<210>201	
[2300]	<211>18	
[2301]	<212>DNA	
[2302]	<213> 人工序列	
[2303]	<220>	
[2304]	<223> 引物	
[2305]	<400>201	
[2306]	ttaagtcttc tgtacctg	18
[2307]	<210>202	
[2308]	<211>20	
[2309]	<212>DNA	
[2310]	<213> 人工序列	
[2311]	<220>	
[2312]	<223> 引物	
[2313]	<400>202	
[2314]	tcagtaactg caggtgtcca	20
[2315]	<210>203	
[2316]	<211>20	
[2317]	<212>DNA	
[2318]	<213> 人工序列	
[2319]	<220>	
[2320]	<223> 引物	
[2321]	<400>203	
[2322]	ttttaaaagg tgtccagtgt	20
[2323]	<210>204	
[2324]	<211>20	
[2325]	<212>DNA	
[2326]	<213> 人工序列	
[2327]	<220>	
[2328]	<223> 引物	
[2329]	<400>204	

[2330]	gcaacagcta caggtgtcca	20
[2331]	<210>205	
[2332]	<211>20	
[2333]	<212>DNA	
[2334]	<213> 人工序列	
[2335]	<220>	
[2336]	<223> 引物	
[2337]	<400>205	
[2338]	cagctacagr tgtccactcc	20
[2339]	<210>206	
[2340]	<211>22	
[2341]	<212>DNA	
[2342]	<213> 人工序列	
[2343]	<220>	
[2344]	<223> 引物	
[2345]	<400>206	
[2346]	atttccaagc tgtgtcctgt cc	22
[2347]	<210>207	
[2348]	<211>23	
[2349]	<212>DNA	
[2350]	<213> 人工序列	
[2351]	<220>	
[2352]	<223> 引物	
[2353]	<400>207	
[2354]	ctcctgtcag gaactgcagg tgt	23
[2355]	<210>208	
[2356]	<211>23	
[2357]	<212>DNA	
[2358]	<213> 人工序列	
[2359]	<220>	
[2360]	<223> 引物	
[2361]	<400>208	
[2362]	cagtggttac aggggtcaat tca	23
[2363]	<210>209	
[2364]	<211>21	
[2365]	<212>DNA	
[2366]	<213> 人工序列	
[2367]	<220>	
[2368]	<223> 引物	

[2369]	<400>209	
[2370]	ctgttsacag cchtteckgg t	21
[2371]	<210>210	
[2372]	<211>21	
[2373]	<212>DNA	
[2374]	<213> 人工序列	
[2375]	<220>	
[2376]	<223> 引物	
[2377]	<400>210	
[2378]	ctgatggcag ctgccc aaag t	21
[2379]	<210>211	
[2380]	<211>20	
[2381]	<212>DNA	
[2382]	<213> 人工序列	
[2383]	<220>	
[2384]	<223> 引物	
[2385]	<400>211	
[2386]	tttatcaagg tgtgcattgt	20
[2387]	<210>212	
[2388]	<211>27	
[2389]	<212>DNA	
[2390]	<213> 人工序列	
[2391]	<220>	
[2392]	<223> 引物	
[2393]	<400>212	
[2394]	tcaactggatg gtgggaagat ggataca	27
[2395]	<210>213	
[2396]	<211>24	
[2397]	<212>DNA	
[2398]	<213> 人工序列	
[2399]	<220>	
[2400]	<223> 引物	
[2401]	<400>213	
[2402]	gacatttggg aaggactgac tctc	24
[2403]	<210>214	
[2404]	<211>24	
[2405]	<212>DNA	
[2406]	<213> 人工序列	
[2407]	<220>	

[2408]	<223> 引物	
[2409]	<400>214	
[2410]	cagggggctc tcgcaggaga cgag	24
[2411]	<210>215	
[2412]	<211>36	
[2413]	<212>DNA	
[2414]	<213> 人工序列	
[2415]	<220>	
[2416]	<223> 引物	
[2417]	<400>215	
[2418]	atcttcttgc tgttctgggt atctggaacc tgtggg	36
[2419]	<210>216	
[2420]	<211>36	
[2421]	<212>DNA	
[2422]	<213> 人工序列	
[2423]	<220>	
[2424]	<223> 引物	
[2425]	<400>216	
[2426]	ttgggtgctga tgttctggat tcctgcttcc agcagt	36
[2427]	<210>217	
[2428]	<211>38	
[2429]	<212>DNA	
[2430]	<213> 人工序列	
[2431]	<220>	
[2432]	<223> 引物	
[2433]	<400>217	
[2434]	gtggacgttc ggccaaggga ccaaggtgga aatcaaac	38
[2435]	<210>218	
[2436]	<211>39	
[2437]	<212>DNA	
[2438]	<213> 人工序列	
[2439]	<220>	
[2440]	<223> 引物	
[2441]	<400>218	
[2442]	tgtacacttt tggccagggg accaagctgg agatcaaac	39
[2443]	<210>219	
[2444]	<211>63	
[2445]	<212>DNA	
[2446]	<213> 人工序列	

[2447]	<220>	
[2448]	<223> 引物	
[2449]	<400>219	
[2450]	attactacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacgggc accgtctcct	60
[2451]	cag	63
[2452]	<210>220	
[2453]	<211>27	
[2454]	<212>DNA	
[2455]	<213> 人工序列	
[2456]	<220>	
[2457]	<223> 引物	
[2458]	<400>220	
[2459]	ttactcgctg cccaaccagc catggcc	27
[2460]	<210>221	
[2461]	<211>21	
[2462]	<212>DNA	
[2463]	<213> 人工序列	
[2464]	<220>	
[2465]	<223> 引物	
[2466]	<400>221	
[2467]	gacagatggt gcagccacag t	21
[2468]	<210>222	
[2469]	<211>27	
[2470]	<212>DNA	
[2471]	<213> 人工序列	
[2472]	<220>	
[2473]	<223> 引物	
[2474]	<400>222	
[2475]	ttactgttta cccctgtgac aaaagcc	27
[2476]	<210>223	
[2477]	<211>21	
[2478]	<212>DNA	
[2479]	<213> 人工序列	
[2480]	<220>	
[2481]	<223> 引物	
[2482]	<400>223	
[2483]	gaagaccgat gggcccttgg t	21
[2484]	<210>224	
[2485]	<211>66	

[2486]	<212>DNA	
[2487]	<213> 人工序列	
[2488]	<220>	
[2489]	<223> 引物	
[2490]	<221>misc_feature	
[2491]	<222>44, 45	
[2492]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2493]	<400>224	
[2494]	cttgggtcccc tggccaaaag tgtacggata actatgatca ttmnacagt aataaactgc	60
[2495]	cacatc	66
[2496]	<210>225	
[2497]	<211>66	
[2498]	<212>DNA	
[2499]	<213> 人工序列	
[2500]	<220>	
[2501]	<223> 引物	
[2502]	<221>misc_feature	
[2503]	<222>41, 42	
[2504]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2505]	<400>225	
[2506]	cttgggtcccc tggccaaaag tgtacggata actatgatcm nnctgacagt aataaactgc	60
[2507]	cacatc	66
[2508]	<210>226	
[2509]	<211>66	
[2510]	<212>DNA	
[2511]	<213> 人工序列	
[2512]	<220>	
[2513]	<223> 引物	
[2514]	<221>misc_feature	
[2515]	<222>38, 39	
[2516]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2517]	<400>226	
[2518]	cttgggtcccc tggccaaaag tgtacggata actatgmna ttctgacagt aataaactgc	60
[2519]	cacatc	66
[2520]	<210>227	
[2521]	<211>66	
[2522]	<212>DNA	
[2523]	<213> 人工序列	
[2524]	<220>	

- [2525] <223> 引物
- [2526] <221>misc_feature
- [2527] <222>35, 36
- [2528] <223>n = A, T, C 或 G
- [2529] <400>227
- [2530] cttggtcccc tggccaaaag tgtacggata actmnnatca ttctgacagt aataaactgc 60
- [2531] cacatc 66
- [2532] <210>228
- [2533] <211>66
- [2534] <212>DNA
- [2535] <213> 人工序列
- [2536] <220>
- [2537] <223> 引物
- [2538] <221>misc_feature
- [2539] <222>32, 33
- [2540] <223>n = A, T, C 或 G
- [2541] <400>228
- [2542] cttggtcccc tggccaaaag tgtacggata mnnatgatca ttctgacagt aataaactgc 60
- [2543] cacatc 66
- [2544] <210>229
- [2545] <211>66
- [2546] <212>DNA
- [2547] <213> 人工序列
- [2548] <220>
- [2549] <223> 引物
- [2550] <221>misc_feature
- [2551] <222>29, 30
- [2552] <223>n = A, T, C 或 G
- [2553] <400>229
- [2554] cttggtcccc tggccaaaag tgtacggmnn actatgatca ttctgacagt aataaactgc 60
- [2555] cacatc 66
- [2556] <210>230
- [2557] <211>66
- [2558] <212>DNA
- [2559] <213> 人工序列
- [2560] <220>
- [2561] <223> 引物
- [2562] <221>misc_feature
- [2563] <222>26, 27

- [2564] <223>n = A, T, C 或 G
- [2565] <400>230
- [2566] cttgggtcccc tggccaaaag tgtamnata actatgatca ttctgacagt aataaactgc 60
- [2567] cacatc 66
- [2568] <210>231
- [2569] <211>66
- [2570] <212>DNA
- [2571] <213> 人工序列
- [2572] <220>
- [2573] <223> 引物
- [2574] <221>misc_feature
- [2575] <222>23, 24
- [2576] <223>n = A, T, C 或 G
- [2577] <400>231
- [2578] cttgggtcccc tggccaaaag tmnncggata actatgatca ttctgacagt aataaactgc 60
- [2579] cacatc 66
- [2580] <210>232
- [2581] <211>66
- [2582] <212>DNA
- [2583] <213> 人工序列
- [2584] <220>
- [2585] <223> 引物
- [2586] <221>misc_feature
- [2587] <222>20, 21
- [2588] <223>n = A, T, C 或 G
- [2589] <400>232
- [2590] cttgggtcccc tggccaaamn ngtagcgata actatgatca ttctgacagt aataaactgc 60
- [2591] cacatc 66
- [2592] <210>233
- [2593] <211>69
- [2594] <212>DNA
- [2595] <213> 人工序列
- [2596] <220>
- [2597] <223> 引物
- [2598] <221>misc_feature
- [2599] <222>50, 51
- [2600] <223>n = A, T, C 或 G
- [2601] <400>233
- [2602] cgtgggttctt tgccccagc agtccatagc atcgtagtaa ccatcaacmn ntctcgaca 60

[2603]	gtaatacac	69
[2604]	<210>234	
[2605]	<211>69	
[2606]	<212>DNA	
[2607]	<213> 人工序列	
[2608]	<220>	
[2609]	<223> 引物	
[2610]	<221>misc_feature	
[2611]	<222>47, 48	
[2612]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2613]	<400>234	
[2614]	cgtggttcct tgccccagc agtccatagc atcgtagtaa ccatcmnncg gtctcgaca	60
[2615]	gtaatacac	69
[2616]	<210>235	
[2617]	<211>69	
[2618]	<212>DNA	
[2619]	<213> 人工序列	
[2620]	<220>	
[2621]	<223> 引物	
[2622]	<221>misc_feature	
[2623]	<222>44, 45	
[2624]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2625]	<400>235	
[2626]	cgtggttcct tgccccagc agtccatagc atcgtagtaa ccmnaaccg gtctcgaca	60
[2627]	gtaatacac	69
[2628]	<210>236	
[2629]	<211>69	
[2630]	<212>DNA	
[2631]	<213> 人工序列	
[2632]	<220>	
[2633]	<223> 引物	
[2634]	<221>misc_feature	
[2635]	<222>41, 42	
[2636]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2637]	<400>236	
[2638]	cgtggttcct tgccccagc agtccatagc atcgtagtam nnatcaaccg gtctcgaca	60
[2639]	gtaatacac	69
[2640]	<210>237	
[2641]	<211>69	

[2642]	<212>DNA	
[2643]	<213> 人工序列	
[2644]	<220>	
[2645]	<223> 引物	
[2646]	<221>misc_feature	
[2647]	<222>38, 39	
[2648]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2649]	<400>237	
[2650]	cgtgggttcct tgccccccagt agtccatagc atcggtamtna ccatcaaccg gtctcgcaca	60
[2651]	gtaatacac	69
[2652]	<210>238	
[2653]	<211>69	
[2654]	<212>DNA	
[2655]	<213> 人工序列	
[2656]	<220>	
[2657]	<223> 引物	
[2658]	<221>misc_feature	
[2659]	<222>35, 36	
[2660]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2661]	<400>238	
[2662]	cgtgggttcct tgccccccagt agtccatagc atcmnngtaa ccatcaaccg gtctcgcaca	60
[2663]	gtaatacac	69
[2664]	<210>239	
[2665]	<211>69	
[2666]	<212>DNA	
[2667]	<213> 人工序列	
[2668]	<220>	
[2669]	<223> 引物	
[2670]	<221>misc_feature	
[2671]	<222>32, 33	
[2672]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2673]	<400>239	
[2674]	cgtgggttcct tgccccccagt agtccatagc mnngtagtaa ccatcaaccg gtctcgcaca	60
[2675]	gtaatacac	69
[2676]	<210>240	
[2677]	<211>69	
[2678]	<212>DNA	
[2679]	<213> 人工序列	
[2680]	<220>	

- [2681] <223> 引物
- [2682] <221>misc_feature
- [2683] <222>29, 30
- [2684] <223>n = A, T, C 或 G
- [2685] <400>240
- [2686] cgtggttctt tgccccagc agtccatmn atcgtagtaa ccatcaaccg gtctcgaca 60
- [2687] gtaatacac 69
- [2688] <210>241
- [2689] <211>69
- [2690] <212>DNA
- [2691] <213> 人工序列
- [2692] <220>
- [2693] <223> 引物
- [2694] <221>misc_feature
- [2695] <222>26, 27
- [2696] <223>n = A, T, C 或 G
- [2697] <400>241
- [2698] cgtggttctt tgccccagc agtcmnagc atcgtagtaa ccatcaaccg gtctcgaca 60
- [2699] gtaatacac 69
- [2700] <210>242
- [2701] <211>69
- [2702] <212>DNA
- [2703] <213> 人工序列
- [2704] <220>
- [2705] <223> 引物
- [2706] <221>misc_feature
- [2707] <222>23, 24
- [2708] <223>n = A, T, C 或 G
- [2709] <400>242
- [2710] cgtggttctt tgccccagc amnncatagc atcgtagtaa ccatcaaccg gtctcgaca 60
- [2711] gtaatacac 69
- [2712] <210>243
- [2713] <211>69
- [2714] <212>DNA
- [2715] <213> 人工序列
- [2716] <220>
- [2717] <223> 引物
- [2718] <221>misc_feature
- [2719] <222>20, 21

- [2720] <223>n = A, T, C 或 G
- [2721] <400>243
- [2722] cgtggttctt tgeccccamn ngtecatagc atcgtagtaa ccatcaaccg gtctcgcaca 60
- [2723] gtaatacac 69
- [2724] <210>244
- [2725] <211>66
- [2726] <212>DNA
- [2727] <213> 人工序列
- [2728] <220>
- [2729] <223> 引物
- [2730] <221>misc_feature
- [2731] <222>44, 45
- [2732] <223>n = A, T, C 或 G
- [2733] <400>244
- [2734] cttggtgccc tggccgaacg tccacggaac atgtgaacct tgmnnagcagt aataaactcc 60
- [2735] aacatc 66
- [2736] <210>245
- [2737] <211>66
- [2738] <212>DNA
- [2739] <213> 人工序列
- [2740] <220>
- [2741] <223> 引物
- [2742] <221>misc_feature
- [2743] <222>41, 42
- [2744] <223>n = A, T, C 或 G
- [2745] <400>245
- [2746] cttggtgccc tggccgaacg tccacggaac atgtgaaccm nnaaagcagt aataaactcc 60
- [2747] aacatc 66
- [2748] <210>246
- [2749] <211>66
- [2750] <212>DNA
- [2751] <213> 人工序列
- [2752] <220>
- [2753] <223> 引物
- [2754] <221>misc_feature
- [2755] <222>38, 39
- [2756] <223>n = A, T, C 或 G
- [2757] <400>246
- [2758] cttggtgccc tggccgaacg tccacggaac atgtgamnnt tgaaagcagt aataaactcc 60

[2759]	aacatc	66
[2760]	<210>247	
[2761]	<211>66	
[2762]	<212>DNA	
[2763]	<213> 人工序列	
[2764]	<220>	
[2765]	<223> 引物	
[2766]	<221>misc_feature	
[2767]	<222>35, 36	
[2768]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2769]	<400>247	
[2770]	cttggtgccc tggccgaacg tccacggaac atgmnnacct tgaaagcagt aataaactcc	60
[2771]	aacatc	66
[2772]	<210>248	
[2773]	<211>66	
[2774]	<212>DNA	
[2775]	<213> 人工序列	
[2776]	<220>	
[2777]	<223> 引物	
[2778]	<221>misc_feature	
[2779]	<222>32, 33	
[2780]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2781]	<400>248	
[2782]	cttggtgccc tggccgaacg tccacggaac mnntgaacct tgaaagcagt aataaactcc	60
[2783]	aacatc	66
[2784]	<210>249	
[2785]	<211>66	
[2786]	<212>DNA	
[2787]	<213> 人工序列	
[2788]	<220>	
[2789]	<223> 引物	
[2790]	<221>misc_feature	
[2791]	<222>29, 30	
[2792]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2793]	<400>249	
[2794]	cttggtgccc tggccgaacg tccacggmn atgtgaacct tgaaagcagt aataaactcc	60
[2795]	aacatc	66
[2796]	<210>250	
[2797]	<211>66	

[2798]	<212>DNA	
[2799]	<213> 人工序列	
[2800]	<220>	
[2801]	<223> 引物	
[2802]	<221>misc_feature	
[2803]	<222>26, 27	
[2804]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2805]	<400>250	
[2806]	cttggtgccc tggccgaacg tccamnaac atgtgaacct tgaaagcagt aataaactcc	60
[2807]	aacatc	66
[2808]	<210>251	
[2809]	<211>66	
[2810]	<212>DNA	
[2811]	<213> 人工序列	
[2812]	<220>	
[2813]	<223> 引物	
[2814]	<221>misc_feature	
[2815]	<222>23, 24	
[2816]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2817]	<400>251	
[2818]	cttggtgccc tggccgaacg tmnncggaac atgtgaacct tgaaagcagt aataaactcc	60
[2819]	aacatc	66
[2820]	<210>252	
[2821]	<211>66	
[2822]	<212>DNA	
[2823]	<213> 人工序列	
[2824]	<220>	
[2825]	<223> 引物	
[2826]	<221>misc_feature	
[2827]	<222>20, 21	
[2828]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2829]	<400>252	
[2830]	cttggtgccc tggccgaamn nccacggaac atgtgaacct tgaaagcagt aataaactcc	60
[2831]	aacatc	66
[2832]	<210>253	
[2833]	<211>75	
[2834]	<212>DNA	
[2835]	<213> 人工序列	
[2836]	<220>	

- [2837] <223> 引物
- [2838] <221>misc_feature
- [2839] <222>56,57
- [2840] <223>n = A, T, C 或 G
- [2841] <400>253
- [2842] cgtggttcct tgccccagc agtccatagc atagtagggg ttaccatagt tagcmntcg 60
- [2843] agcacagtaa tacgt 75
- [2844] <210>254
- [2845] <211>75
- [2846] <212>DNA
- [2847] <213> 人工序列
- [2848] <220>
- [2849] <223> 引物
- [2850] <221>misc_feature
- [2851] <222>53,54
- [2852] <223>n = A, T, C 或 G
- [2853] <400>254
- [2854] cgtggttcct tgccccagc agtccatagc atagtagggg ttaccatagt tmntcttcg 60
- [2855] agcacagtaa tacgt 75
- [2856] <210>255
- [2857] <211>75
- [2858] <212>DNA
- [2859] <213> 人工序列
- [2860] <220>
- [2861] <223> 引物
- [2862] <221>misc_feature
- [2863] <222>50,51
- [2864] <223>n = A, T, C 或 G
- [2865] <400>255
- [2866] cgtggttcct tgccccagc agtccatagc atagtagggg ttaccatamn nagctcttcg 60
- [2867] agcacagtaa tacgt 75
- [2868] <210>256
- [2869] <211>75
- [2870] <212>DNA
- [2871] <213> 人工序列
- [2872] <220>
- [2873] <223> 引物
- [2874] <221>misc_feature
- [2875] <222>47,48

- [2876] <223>n = A, T, C 或 G
- [2877] <400>256
- [2878] cgtgggttcct tgccccccagt agtccatagc atagtagggg ttaccmngt tagctcttcg 60
- [2879] agcacagtaa tacgt 75
- [2880] <210>257
- [2881] <211>75
- [2882] <212>DNA
- [2883] <213> 人工序列
- [2884] <220>
- [2885] <223> 引物
- [2886] <221>misc_feature
- [2887] <222>44, 45
- [2888] <223>n = A, T, C 或 G
- [2889] <400>257
- [2890] cgtgggttcct tgccccccagt agtccatagc atagtagggg ttmnatagt tagctcttcg 60
- [2891] agcacagtaa tacgt 75
- [2892] <210>258
- [2893] <211>75
- [2894] <212>DNA
- [2895] <213> 人工序列
- [2896] <220>
- [2897] <223> 引物
- [2898] <221>misc_feature
- [2899] <222>41, 42
- [2900] <223>n = A, T, C 或 G
- [2901] <400>258
- [2902] cgtgggttcct tgccccccagt agtccatagc atagtagggm nnaccatagt tagctcttcg 60
- [2903] agcacagtaa tacgt 75
- [2904] <210>259
- [2905] <211>75
- [2906] <212>DNA
- [2907] <213> 人工序列
- [2908] <220>
- [2909] <223> 引物
- [2910] <221>misc_feature
- [2911] <222>38, 39
- [2912] <223>n = A, T, C 或 G
- [2913] <400>259
- [2914] cgtgggttcct tgccccccagt agtccatagc atagtamng ttaccatagt tagctcttcg 60

[2915]	agcacagtaa tacgt	75
[2916]	<210>260	
[2917]	<211>75	
[2918]	<212>DNA	
[2919]	<213> 人工序列	
[2920]	<220>	
[2921]	<223> 引物	
[2922]	<221>misc_feature	
[2923]	<222>35, 36	
[2924]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2925]	<400>260	
[2926]	cgtggttcct tgccccagct agtccatagc atamnnngggg ttaccatagt tagctcttcg	60
[2927]	agcacagtaa tacgt	75
[2928]	<210>261	
[2929]	<211>75	
[2930]	<212>DNA	
[2931]	<213> 人工序列	
[2932]	<220>	
[2933]	<223> 引物	
[2934]	<221>misc_feature	
[2935]	<222>32, 33	
[2936]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2937]	<400>261	
[2938]	cgtggttcct tgccccagct agtccatagc mnngtagggg ttaccatagt tagctcttcg	60
[2939]	agcacagtaa tacgt	75
[2940]	<210>262	
[2941]	<211>75	
[2942]	<212>DNA	
[2943]	<213> 人工序列	
[2944]	<220>	
[2945]	<223> 引物	
[2946]	<221>misc_feature	
[2947]	<222>29, 30	
[2948]	<223>n = A, T, C 或 G	
[2949]	<400>262	
[2950]	cgtggttcct tgccccagct agtccatmnn atagtagggg ttaccatagt tagctcttcg	60
[2951]	agcacagtaa tacgt	75
[2952]	<210>263	
[2953]	<211>75	

- [2954] <212>DNA
[2955] <213> 人工序列
[2956] <220>
[2957] <223> 引物
[2958] <221>misc_feature
[2959] <222>26, 27
[2960] <223>n = A, T, C 或 G
[2961] <400>263
[2962] cgtgggttcct tgccccccagt agtcmmnagc atagtagggg ttaccatagt tagctcttcg 60
[2963] agcacagtaa tacgt 75
[2964] <210>264
[2965] <211>75
[2966] <212>DNA
[2967] <213> 人工序列
[2968] <220>
[2969] <223> 引物
[2970] <221>misc_feature
[2971] <222>23, 24
[2972] <223>n = A, T, C 或 G
[2973] <400>264
[2974] cgtgggttcct tgccccccagt amnncatagc atagtagggg ttaccatagt tagctcttcg 60
[2975] agcacagtaa tacgt 75
[2976] <210>265
[2977] <211>75
[2978] <212>DNA
[2979] <213> 人工序列
[2980] <220>
[2981] <223> 引物
[2982] <221>misc_feature
[2983] <222>20, 21
[2984] <223>n = A, T, C 或 G
[2985] <400>265
[2986] cgtgggttcct tgcccccamn ngtcacatagc atagtagggg ttaccatagt tagctcttcg 60
[2987] agcacagtaa tacgt 75
[2988] <210>266
[2989] <211>60
[2990] <212>DNA
[2991] <213> 人工序列
[2992] <220>

- [2993] <223> 引物
[2994] <221>misc_feature
[2995] <222>41,42
[2996] <223>n = A, T, C 或 G
[2997] <400>266
[2998] gttctttttgg ttcccgwgt ttaacagact ctggctggam nngcagttga tggtaggcct 60
[2999] <210>267
[3000] <211>60
[3001] <212>DNA
[3002] <213> 人工序列
[3003] <220>
[3004] <223> 引物
[3005] <221>misc_feature
[3006] <222>38,39
[3007] <223>n = A, T, C 或 G
[3008] <400>267
[3009] gttctttttgg ttcccgwgt ttaacagact ctggctmnnc ttgcagttga tggtaggcct 60
[3010] <210>268
[3011] <211>60
[3012] <212>DNA
[3013] <213> 人工序列
[3014] <220>
[3015] <223> 引物
[3016] <221>misc_feature
[3017] <222>35,36
[3018] <223>n = A, T, C 或 G
[3019] <400>268
[3020] gttctttttgg ttcccgwgt ttaacagact ctgmnnngac ttgcagttga tggtaggcct 60
[3021] <210>269
[3022] <211>60
[3023] <212>DNA
[3024] <213> 人工序列
[3025] <220>
[3026] <223> 引物
[3027] <221>misc_feature
[3028] <222>32,33
[3029] <223>n = A, T, C 或 G
[3030] <400>269
[3031] gttctttttgg ttcccgwgt ttaacagact mnngctggac ttgcagttga tggtaggcct 60

- [3032] <210>270
[3033] <211>60
[3034] <212>DNA
[3035] <213> 人工序列
[3036] <220>
[3037] <223> 引物
[3038] <221>misc_feature
[3039] <222>29, 30
[3040] <223>n = A, T, C 或 G
[3041] <400>270
[3042] gttcttttgg ttccgcwgt ttaacagmn ctggctggac ttgcagttga tggtaggcct 60
[3043] <210>271
[3044] <211>60
[3045] <212>DNA
[3046] <213> 人工序列
[3047] <220>
[3048] <223> 引物
[3049] <221>misc_feature
[3050] <222>26, 27
[3051] <223>n = A, T, C 或 G
[3052] <400>271
[3053] gttcttttgg ttccgcwgt ttaamnact ctggctggac ttgcagttga tggtaggcct 60
[3054] <210>272
[3055] <211>60
[3056] <212>DNA
[3057] <213> 人工序列
[3058] <220>
[3059] <223> 引物
[3060] <221>misc_feature
[3061] <222>23, 24
[3062] <223>n = A, T, C 或 G
[3063] <400>272
[3064] gttcttttgg ttccgcwgt tmncagact ctggctggac ttgcagttga tggtaggcct 60
[3065] <210>273
[3066] <211>60
[3067] <212>DNA
[3068] <213> 人工序列
[3069] <220>
[3070] <223> 引物

- [3071] <221>misc_feature
[3072] <222>20, 21
[3073] <223>n = A, T, C 或 G
[3074] <400>273
[3075] gttcttttgg ttccgcwmm ntaacagact ctggctggac ttgcagttga tggtaggcct 60
[3076] <210>274
[3077] <211>63
[3078] <212>DNA
[3079] <213> 人工序列
[3080] <220>
[3081] <223> 引物
[3082] <221>misc_feature
[3083] <222>44, 45
[3084] <223>n = A, T, C 或 G
[3085] <400>274
[3086] tggtttctgc tggtagcaag ctaagtagtt cttttggttt ccmngttta acagactctg 60
[3087] gct 63
[3088] <210>275
[3089] <211>63
[3090] <212>DNA
[3091] <213> 人工序列
[3092] <220>
[3093] <223> 引物
[3094] <221>misc_feature
[3095] <222>41, 42
[3096] <223>n = A, T, C 或 G
[3097] <400>275
[3098] tggtttctgc tggtagcaag ctaagtagtt cttttggttm nngcwggtta acagactctg 60
[3099] gct 63
[3100] <210>276
[3101] <211>63
[3102] <212>DNA
[3103] <213> 人工序列
[3104] <220>
[3105] <223> 引物
[3106] <221>misc_feature
[3107] <222>38, 39
[3108] <223>n = A, T, C 或 G
[3109] <400>276

- [3110] tggtttctgc tggtagcaag ctaagtagtt cttttgmntt ccgcwgttta acagactctg 60
[3111] gct 63
[3112] <210>277
[3113] <211>63
[3114] <212>DNA
[3115] <213> 人工序列
[3116] <220>
[3117] <223> 引物
[3118] <221>misc_feature
[3119] <222>35, 36
[3120] <223>n = A, T, C 或 G
[3121] <400>277
[3122] tggtttctgc tggtagcaag ctaagtagtt cttmngttt ccgcwgttta acagactctg 60
[3123] gct 63
[3124] <210>278
[3125] <211>63
[3126] <212>DNA
[3127] <213> 人工序列
[3128] <220>
[3129] <223> 引物
[3130] <221>misc_feature
[3131] <222>32, 33
[3132] <223>n = A, T, C 或 G
[3133] <400>278
[3134] tggtttctgc tggtagcaag ctaagtagtt mnnttggttt ccgcwgttta acagactctg 60
[3135] gct 63
[3136] <210>279
[3137] <211>63
[3138] <212>DNA
[3139] <213> 人工序列
[3140] <220>
[3141] <223> 引物
[3142] <221>misc_feature
[3143] <222>29, 30
[3144] <223>n = A, T, C 或 G
[3145] <400>279
[3146] tggtttctgc tggtagcaag ctaagtamnn ctttttggttt ccgcwgttta acagactctg 60
[3147] gct 63
[3148] <210>280

- [3149] <211>63
[3150] <212>DNA
[3151] <213> 人工序列
[3152] <220>
[3153] <223> 引物
[3154] <221>misc_feature
[3155] <222>26, 27
[3156] <223>n = A, T, C 或 G
[3157] <400>280
[3158] tggtttctgc tggtagcaag ctaamngtt cttttgggtt ccgcwgttta acagactctg 60
[3159] gct 63
[3160] <210>281
[3161] <211>63
[3162] <212>DNA
[3163] <213> 人工序列
[3164] <220>
[3165] <223> 引物
[3166] <221>misc_feature
[3167] <222>23, 24
[3168] <223>n = A, T, C 或 G
[3169] <400>281
[3170] tggtttctgc tggtagcaag cmngtagtt cttttgggtt ccgcwgttta acagactctg 60
[3171] gct 63
[3172] <210>282
[3173] <211>63
[3174] <212>DNA
[3175] <213> 人工序列
[3176] <220>
[3177] <223> 引物
[3178] <221>misc_feature
[3179] <222>20, 21
[3180] <223>n = A, T, C 或 G
[3181] <400>282
[3182] tggtttctgc tggtagcamn ntaagtagtt cttttgggtt ccgcwgttta acagactctg 60
[3183] gct 63
[3184] <210>283
[3185] <211>57
[3186] <212>DNA
[3187] <213> 人工序列

- [3188] <220>
[3189] <223> 引物
[3190] <221>misc_feature
[3191] <222>38, 39
[3192] <223>n = A, T, C 或 G
[3193] <400>283
[3194] gaatcgggtca gggacccccgg attccctggt agatgcmnng taaatgagca gcttagg 57
[3195] <210>284
[3196] <211>57
[3197] <212>DNA
[3198] <213> 人工序列
[3199] <220>
[3200] <223> 引物
[3201] <221>misc_feature
[3202] <222>35, 36
[3203] <223>n = A, T, C 或 G
[3204] <400>284
[3205] gaatcgggtca gggacccccgg attccctggt agamnccccg taaatgagca gcttagg 57
[3206] <210>285
[3207] <211>57
[3208] <212>DNA
[3209] <213> 人工序列
[3210] <220>
[3211] <223> 引物
[3212] <221>misc_feature
[3213] <222>32, 33
[3214] <223>n = A, T, C 或 G
[3215] <400>285
[3216] gaatcgggtca gggacccccgg attccctggt mnntgccccg taaatgagca gcttagg 57
[3217] <210>286
[3218] <211>57
[3219] <212>DNA
[3220] <213> 人工序列
[3221] <220>
[3222] <223> 引物
[3223] <221>misc_feature
[3224] <222>29, 30
[3225] <223>n = A, T, C 或 G
[3226] <400>286

- [3227] gaatcgggtca gggacccccgg attccctmn agatgccccg taaatgagca gcttagg 57
- [3228] <210>287
- [3229] <211>57
- [3230] <212>DNA
- [3231] <213> 人工序列
- [3232] <220>
- [3233] <223> 引物
- [3234] <221>misc_feature
- [3235] <222>26, 27
- [3236] <223>n = A, T, C 或 G
- [3237] <400>287
- [3238] gaatcgggtca gggacccccgg attcmnnggt agatgccccg taaatgagca gcttagg 57
- [3239] <210>288
- [3240] <211>57
- [3241] <212>DNA
- [3242] <213> 人工序列
- [3243] <220>
- [3244] <223> 引物
- [3245] <221>misc_feature
- [3246] <222>23, 24
- [3247] <223>n = A, T, C 或 G
- [3248] <400>288
- [3249] gaatcgggtca gggacccccgg amnncctggt agatgccccg taaatgagca gcttagg 57
- [3250] <210>289
- [3251] <211>57
- [3252] <212>DNA
- [3253] <213> 人工序列
- [3254] <220>
- [3255] <223> 引物
- [3256] <221>misc_feature
- [3257] <222>20, 21
- [3258] <223>n = A, T, C 或 G
- [3259] <400>289
- [3260] gaatcgggtca gggacccccmn ntccctggt agatgccccg taaatgagca gcttagg 57
- [3261] <210>290
- [3262] <211>51
- [3263] <212>DNA
- [3264] <213> 人工序列
- [3265] <220>

- [3266] <223> 引物
- [3267] <221>misc_feature
- [3268] <222>32,33
- [3269] <223>n = A, T, C 或 G
- [3270] <400>290
- [3271] tggagcctgg cggacccagc tcatccaata mnactaaag gtgaatccag a 51
- [3272] <210>291
- [3273] <211>51
- [3274] <212>DNA
- [3275] <213> 人工序列
- [3276] <220>
- [3277] <223> 引物
- [3278] <221>misc_feature
- [3279] <222>29,30
- [3280] <223>n = A, T, C 或 G
- [3281] <400>291
- [3282] tggagcctgg cggacccagc tcatccamn tctactaaag gtgaatccag a 51
- [3283] <210>292
- [3284] <211>51
- [3285] <212>DNA
- [3286] <213> 人工序列
- [3287] <220>
- [3288] <223> 引物
- [3289] <221>misc_feature
- [3290] <222>26,27
- [3291] <223>n = A, T, C 或 G
- [3292] <400>292
- [3293] tggagcctgg cggacccagc tcatmnata tctactaaag gtgaatccag a 51
- [3294] <210>293
- [3295] <211>51
- [3296] <212>DNA
- [3297] <213> 人工序列
- [3298] <220>
- [3299] <223> 引物
- [3300] <221>misc_feature
- [3301] <222>23,24
- [3302] <223>n = A, T, C 或 G
- [3303] <400>293
- [3304] tggagcctgg cggacccagc tmnccaata tctactaaag gtgaatccag a 51

- [3305] <210>294
- [3306] <211>51
- [3307] <212>DNA
- [3308] <213> 人工序列
- [3309] <220>
- [3310] <223> 引物
- [3311] <221>misc_feature
- [3312] <222>20, 21
- [3313] <223>n = A, T, C 或 G
- [3314] <400>294
- [3315] tggagcctgg cggacccamn ncatccaata tctactaaag gtgaatccag a 51
- [3316] <210>295
- [3317] <211>67
- [3318] <212>DNA
- [3319] <213> 人工序列
- [3320] <220>
- [3321] <223> 引物
- [3322] <221>misc_feature
- [3323] <222>44, 45
- [3324] <223>n = A, T, C 或 G
- [3325] <400>295
- [3326] tagagatggc gtatagttaa tcgtactgct atctggattt atmngccaa yccactccag 60
- [3327] ccctttc 67
- [3328] <210>296
- [3329] <211>67
- [3330] <212>DNA
- [3331] <213> 人工序列
- [3332] <220>
- [3333] <223> 引物
- [3334] <221>misc_feature
- [3335] <222>41, 42
- [3336] <223>n = A, T, C 或 G
- [3337] <400>296
- [3338] tagagatggc gtatagttaa tcgtactgct atctggattm nnttcgccaa yccactccag 60
- [3339] ccctttc 67
- [3340] <210>297
- [3341] <211>67
- [3342] <212>DNA
- [3343] <213> 人工序列

- [3344] <220>
[3345] <223> 引物
[3346] <221>misc_feature
[3347] <222>38, 39
[3348] <223>n = A, T, C 或 G
[3349] <400>297
[3350] tagagatggc gtatagttta tcgtactgct atctggmnnt atttcgccaa yccactccag 60
[3351] ccctttc 67
[3352] <210>298
[3353] <211>67
[3354] <212>DNA
[3355] <213> 人工序列
[3356] <220>
[3357] <223> 引物
[3358] <221>misc_feature
[3359] <222>35, 36
[3360] <223>n = A, T, C 或 G
[3361] <400>298
[3362] tagagatggc gtatagttta tcgtactgct atcmnnatnt atttcgccaa yccactccag 60
[3363] ccctttc 67
[3364] <210>299
[3365] <211>67
[3366] <212>DNA
[3367] <213> 人工序列
[3368] <220>
[3369] <223> 引物
[3370] <221>misc_feature
[3371] <222>32, 33
[3372] <223>n = A, T, C 或 G
[3373] <400>299
[3374] tagagatggc gtatagttta tcgtactgct mnntggatnt atttcgccaa yccactccag 60
[3375] ccctttc 67
[3376] <210>300
[3377] <211>67
[3378] <212>DNA
[3379] <213> 人工序列
[3380] <220>
[3381] <223> 引物
[3382] <221>misc_feature

- [3383] <222>29, 30
- [3384] <223>n = A, T, C 或 G
- [3385] <400>300
- [3386] tagagatggc gtatagttta tcgtactmn atctggattt atttcgccaa yccactccag 60
- [3387] ccctttc 67
- [3388] <210>301
- [3389] <211>67
- [3390] <212>DNA
- [3391] <213> 人工序列
- [3392] <220>
- [3393] <223> 引物
- [3394] <221>misc_feature
- [3395] <222>26, 27
- [3396] <223>n = A, T, C 或 G
- [3397] <400>301
- [3398] tagagatggc gtatagttta tcgtmngct atctggattt atttcgccaa yccactccag 60
- [3399] ccctttc 67
- [3400] <210>302
- [3401] <211>67
- [3402] <212>DNA
- [3403] <213> 人工序列
- [3404] <220>
- [3405] <223> 引物
- [3406] <221>misc_feature
- [3407] <222>23, 24
- [3408] <223>n = A, T, C 或 G
- [3409] <400>302
- [3410] tagagatggc gtatagttta tmnactgct atctggattt atttcgccaa yccactccag 60
- [3411] ccctttc 67
- [3412] <210>303
- [3413] <211>67
- [3414] <212>DNA
- [3415] <213> 人工序列
- [3416] <220>
- [3417] <223> 引物
- [3418] <221>misc_feature
- [3419] <222>20, 21
- [3420] <223>n = A, T, C 或 G
- [3421] <400>303

- [3422] tagagatggc gtatagttmn negtactgct atctggattt atttcgcca yccactccag 60
[3423] ccctttc 67
[3424] <210>304
[3425] <211>67
[3426] <212>DNA
[3427] <213> 人工序列
[3428] <220>
[3429] <223> 引物
[3430] <221>misc_feature
[3431] <222>48, 49
[3432] <223>n = A, T, C 或 G
[3433] <400>304
[3434] cgttgctctt ggagatgrtg aatytatcct ttagagatgg cgtatamnnt atcgactgc 60
[3435] tatctgg 67
[3436] <210>305
[3437] <211>67
[3438] <212>DNA
[3439] <213> 人工序列
[3440] <220>
[3441] <223> 引物
[3442] <221>misc_feature
[3443] <222>45, 46
[3444] <223>n = A, T, C 或 G
[3445] <400>305
[3446] cgttgctctt ggagatgrtg aatytatcct ttagagatgg cgtmnngttt atcgactgc 60
[3447] tatctgg 67
[3448] <210>306
[3449] <211>67
[3450] <212>DNA
[3451] <213> 人工序列
[3452] <220>
[3453] <223> 引物
[3454] <221>misc_feature
[3455] <222>42, 43
[3456] <223>n = A, T, C 或 G
[3457] <400>306
[3458] cgttgctctt ggagatgrtg aatytatcct ttagagatgg mnatagttt atcgactgc 60
[3459] tatctgg 67
[3460] <210>307

- [3461] <211>67
[3462] <212>DNA
[3463] <213> 人工序列
[3464] <220>
[3465] <223> 引物
[3466] <221>misc_feature
[3467] <222>39,40
[3468] <223>n = A, T, C 或 G
[3469] <400>307
[3470] cggtgtctct ggagatgrtg aatytatcct ttagagamnn cgtatagttt atcgactgc 60
[3471] tatctgg 67
[3472] <210>308
[3473] <211>67
[3474] <212>DNA
[3475] <213> 人工序列
[3476] <220>
[3477] <223> 引物
[3478] <221>misc_feature
[3479] <222>36,37
[3480] <223>n = A, T, C 或 G
[3481] <400>308
[3482] cggtgtctct ggagatgrtg aatytatcct ttagmnntgg cgtatagttt atcgactgc 60
[3483] tatctgg 67
[3484] <210>309
[3485] <211>67
[3486] <212>DNA
[3487] <213> 人工序列
[3488] <220>
[3489] <223> 引物
[3490] <221>misc_feature
[3491] <222>33,34
[3492] <223>n = A, T, C 或 G
[3493] <400>309
[3494] cggtgtctct ggagatgrtg aatytatcct tmnnagatgg cgtatagttt atcgactgc 60
[3495] tatctgg 67
[3496] <210>310
[3497] <211>67
[3498] <212>DNA
[3499] <213> 人工序列

- [3500] <220>
[3501] <223> 引物
[3502] <221>misc_feature
[3503] <222>30,31
[3504] <223>n = A, T, C 或 G
[3505] <400>310
[3506] cgttgtctct ggagatgrtg aatytatcmn ntagagatgg cgtatagttt atcgtactgc 60
[3507] tatctgg 67
[3508] <210>311
[3509] <211>67
[3510] <212>DNA
[3511] <213> 人工序列
[3512] <220>
[3513] <223> 引物
[3514] <221>misc_feature
[3515] <222>27,28
[3516] <223>n = A, T, C 或 G
[3517] <400>311
[3518] cgttgtctct ggagatgrtg aatytmmnct ttagagatgg cgtatagttt atcgtactgc 60
[3519] tatctgg 67
[3520] <210>312
[3521] <211>58
[3522] <212>DNA
[3523] <213> 人工序列
[3524] <220>
[3525] <223> 引物
[3526] <221>misc_feature
[3527] <222>41,42
[3528] <223>n = A, T, C 或 G
[3529] <400>312
[3530] ataggtgttt ccattactat gtacaatgct ctgactagam nngcaggaga tggaggcc 58
[3531] <210>313
[3532] <211>58
[3533] <212>DNA
[3534] <213> 人工序列
[3535] <220>
[3536] <223> 引物
[3537] <221>misc_feature
[3538] <222>38,39

- [3539] <223>n = A, T, C 或 G
- [3540] <400>313
- [3541] ataggtgttt ccattactat gtacaatgct ctgactmnnc ctgcaggaga tggaggcc 58
- [3542] <210>314
- [3543] <211>58
- [3544] <212>DNA
- [3545] <213> 人工序列
- [3546] <220>
- [3547] <223> 引物
- [3548] <221>misc_feature
- [3549] <222>35, 36
- [3550] <223>n = A, T, C 或 G
- [3551] <400>314
- [3552] ataggtgttt ccattactat gtacaatgct ctgmnnagac ctgcaggaga tggaggcc 58
- [3553] <210>315
- [3554] <211>58
- [3555] <212>DNA
- [3556] <213> 人工序列
- [3557] <220>
- [3558] <223> 引物
- [3559] <221>misc_feature
- [3560] <222>32, 33
- [3561] <223>n = A, T, C 或 G
- [3562] <400>315
- [3563] ataggtgttt ccattactat gtacaatgct mnactagac ctgcaggaga tggaggcc 58
- [3564] <210>316
- [3565] <211>58
- [3566] <212>DNA
- [3567] <213> 人工序列
- [3568] <220>
- [3569] <223> 引物
- [3570] <221>misc_feature
- [3571] <222>29, 30
- [3572] <223>n = A, T, C 或 G
- [3573] <400>316
- [3574] ataggtgttt ccattactat gtacaatmn ctgactagac ctgcaggaga tggaggcc 58
- [3575] <210>317
- [3576] <211>58
- [3577] <212>DNA

- [3578] <213> 人工序列
- [3579] <220>
- [3580] <223> 引物
- [3581] <221>misc_feature
- [3582] <222>26,27
- [3583] <223>n = A, T, C 或 G
- [3584] <400>317
- [3585] ataggtgttt ccattactat gtacmngct ctgactagac ctgcaggaga tggaggcc 58
- [3586] <210>318
- [3587] <211>58
- [3588] <212>DNA
- [3589] <213> 人工序列
- [3590] <220>
- [3591] <223> 引物
- [3592] <221>misc_feature
- [3593] <222>23,24
- [3594] <223>n = A, T, C 或 G
- [3595] <400>318
- [3596] ataggtgttt ccattactat gmnaatgct ctgactagac ctgcaggaga tggaggcc 58
- [3597] <210>319
- [3598] <211>58
- [3599] <212>DNA
- [3600] <213> 人工序列
- [3601] <220>
- [3602] <223> 引物
- [3603] <221>misc_feature
- [3604] <222>20,21
- [3605] <223>n = A, T, C 或 G
- [3606] <400>319
- [3607] ataggtgttt ccattactmn ntacaatgct ctgactagac ctgcaggaga tggaggcc 58
- [3608] <210>320
- [3609] <211>60
- [3610] <212>DNA
- [3611] <213> 人工序列
- [3612] <220>
- [3613] <223> 引物
- [3614] <221>misc_feature
- [3615] <222>41,42
- [3616] <223>n = A, T, C 或 G

- [3617] <400>320
- [3618] ttgctttctgc aggtaccatt ccaaataagggt gtttccattm nnatgtacaa tgctctgact 60
- [3619] <210>321
- [3620] <211>60
- [3621] <212>DNA
- [3622] <213> 人工序列
- [3623] <220>
- [3624] <223> 引物
- [3625] <221>misc_feature
- [3626] <222>38, 39
- [3627] <223>n = A, T, C 或 G
- [3628] <400>321
- [3629] ttgctttctgc aggtaccatt ccaaataagggt gtttccmna ctatgtacaa tgctctgact 60
- [3630] <210>322
- [3631] <211>60
- [3632] <212>DNA
- [3633] <213> 人工序列
- [3634] <220>
- [3635] <223> 引物
- [3636] <221>misc_feature
- [3637] <222>35, 36
- [3638] <223>n = A, T, C 或 G
- [3639] <400>322
- [3640] ttgctttctgc aggtaccatt ccaaataagggt gttmnnatta ctatgtacaa tgctctgact 60
- [3641] <210>323
- [3642] <211>60
- [3643] <212>DNA
- [3644] <213> 人工序列
- [3645] <220>
- [3646] <223> 引物
- [3647] <221>misc_feature
- [3648] <222>32, 33
- [3649] <223>n = A, T, C 或 G
- [3650] <400>323
- [3651] ttgctttctgc aggtaccatt ccaaataagggt mnntccatta ctatgtacaa tgctctgact 60
- [3652] <210>324
- [3653] <211>60
- [3654] <212>DNA
- [3655] <213> 人工序列

- [3656] <220>
[3657] <223> 引物
[3658] <221>misc_feature
[3659] <222>29, 30
[3660] <223>n = A, T, C 或 G
[3661] <400>324
[3662] `tggtttctgc aggtaccatt ccaaataamn gtttccatta ctatgtacaa tgctctgact` 60
[3663] <210>325
[3664] <211>60
[3665] <212>DNA
[3666] <213> 人工序列
[3667] <220>
[3668] <223> 引物
[3669] <221>misc_feature
[3670] <222>26, 27
[3671] <223>n = A, T, C 或 G
[3672] <400>325
[3673] `tggtttctgc aggtaccatt ccaamnggt gtttccatta ctatgtacaa tgctctgact` 60
[3674] <210>326
[3675] <211>60
[3676] <212>DNA
[3677] <213> 人工序列
[3678] <220>
[3679] <223> 引物
[3680] <221>misc_feature
[3681] <222>23, 24
[3682] <223>n = A, T, C 或 G
[3683] <400>326
[3684] `tggtttctgc aggtaccatt cmnataggt gtttccatta ctatgtacaa tgctctgact` 60
[3685] <210>327
[3686] <211>60
[3687] <212>DNA
[3688] <213> 人工序列
[3689] <220>
[3690] <223> 引物
[3691] <221>misc_feature
[3692] <222>20, 21
[3693] <223>n = A, T, C 或 G
[3694] <400>327

- [3695] tggtttctgc aggtaccamn ncaaataggt gtttccatta ctatgtacaa tgctctgact 60
- [3696] <210>328
- [3697] <211>57
- [3698] <212>DNA
- [3699] <213> 人工序列
- [3700] <220>
- [3701] <223> 引物
- [3702] <221>misc_feature
- [3703] <222>38,39
- [3704] <223>n = A, T, C 或 G
- [3705] <400>328
- [3706] gaacctgtct gggactccag aaaaccggtt ggaaacmna tagatcagga gctgtgg 57
- [3707] <210>329
- [3708] <211>57
- [3709] <212>DNA
- [3710] <213> 人工序列
- [3711] <220>
- [3712] <223> 引物
- [3713] <221>misc_feature
- [3714] <222>35,36
- [3715] <223>n = A, T, C 或 G
- [3716] <400>329
- [3717] gaacctgtct gggactccag aaaaccggtt ggamnnttta tagatcagga gctgtgg 57
- [3718] <210>330
- [3719] <211>57
- [3720] <212>DNA
- [3721] <213> 人工序列
- [3722] <220>
- [3723] <223> 引物
- [3724] <221>misc_feature
- [3725] <222>32,33
- [3726] <223>n = A, T, C 或 G
- [3727] <400>330
- [3728] gaacctgtct gggactccag aaaaccggtt mnaacttta tagatcagga gctgtgg 57
- [3729] <210>331
- [3730] <211>57
- [3731] <212>DNA
- [3732] <213> 人工序列
- [3733] <220>

- [3734] <223> 引物
- [3735] <221>misc_feature
- [3736] <222>29,30
- [3737] <223>n = A, T, C 或 G
- [3738] <400>331
- [3739] gaacctgtct gggactccag aaaaccgmn ggaaacttta tagatcagga gctgtgg 57
- [3740] <210>332
- [3741] <211>57
- [3742] <212>DNA
- [3743] <213> 人工序列
- [3744] <220>
- [3745] <223> 引物
- [3746] <221>misc_feature
- [3747] <222>26,27
- [3748] <223>n = A, T, C 或 G
- [3749] <400>332
- [3750] gaacctgtct gggactccag aaaamngtt ggaaacttta tagatcagga gctgtgg 57
- [3751] <210>333
- [3752] <211>57
- [3753] <212>DNA
- [3754] <213> 人工序列
- [3755] <220>
- [3756] <223> 引物
- [3757] <221>misc_feature
- [3758] <222>23,24
- [3759] <223>n = A, T, C 或 G
- [3760] <400>333
- [3761] gaacctgtct gggactccag amnnccggtt ggaaacttta tagatcagga gctgtgg 57
- [3762] <210>334
- [3763] <211>57
- [3764] <212>DNA
- [3765] <213> 人工序列
- [3766] <220>
- [3767] <223> 引物
- [3768] <221>misc_feature
- [3769] <222>20,21
- [3770] <223>n = A, T, C 或 G
- [3771] <400>334
- [3772] gaacctgtct gggactccmn naaaccggtt ggaaacttta tagatcagga gctgtgg 57

- [3773] <210>335
[3774] <211>57
[3775] <212>DNA
[3776] <213> 人工序列
[3777] <220>
[3778] <223> 引物
[3779] <221>misc_feature
[3780] <222>38, 39
[3781] <223>n = A, T, C 或 G
[3782] <400>335
[3783] tgggggctga cggatccagc ccacacccat tccagamnng ctgagtgaga acccaga 57
[3784] <210>336
[3785] <211>57
[3786] <212>DNA
[3787] <213> 人工序列
[3788] <220>
[3789] <223> 引物
[3790] <221>misc_feature
[3791] <222>35, 36
[3792] <223>n = A, T, C 或 G
[3793] <400>336
[3794] tgggggctga cggatccagc ccacacccat tccmnagtg ctgagtgaga acccaga 57
[3795] <210>337
[3796] <211>57
[3797] <212>DNA
[3798] <213> 人工序列
[3799] <220>
[3800] <223> 引物
[3801] <221>misc_feature
[3802] <222>32, 33
[3803] <223>n = A, T, C 或 G
[3804] <400>337
[3805] tgggggctga cggatccagc ccacacccat mnagaagtg ctgagtgaga acccaga 57
[3806] <210>338
[3807] <211>57
[3808] <212>DNA
[3809] <213> 人工序列
[3810] <220>
[3811] <223> 引物

- [3812] <221>misc_feature
- [3813] <222>29, 30
- [3814] <223>n = A, T, C 或 G
- [3815] <400>338
- [3816] tgggggctga cggatccagc ccacacmmn tccagaagtg ctgagtgaga acccaga 57
- [3817] <210>339
- [3818] <211>57
- [3819] <212>DNA
- [3820] <213> 人工序列
- [3821] <220>
- [3822] <223> 引物
- [3823] <221>misc_feature
- [3824] <222>26, 27
- [3825] <223>n = A, T, C 或 G
- [3826] <400>339
- [3827] tgggggctga cggatccagc ccacmmncat tccagaagtg ctgagtgaga acccaga 57
- [3828] <210>340
- [3829] <211>57
- [3830] <212>DNA
- [3831] <213> 人工序列
- [3832] <220>
- [3833] <223> 引物
- [3834] <221>misc_feature
- [3835] <222>23, 24
- [3836] <223>n = A, T, C 或 G
- [3837] <400>340
- [3838] tgggggctga cggatccagc cmnnacccat tccagaagtg ctgagtgaga acccaga 57
- [3839] <210>341
- [3840] <211>57
- [3841] <212>DNA
- [3842] <213> 人工序列
- [3843] <220>
- [3844] <223> 引物
- [3845] <221>misc_feature
- [3846] <222>20, 21
- [3847] <223>n = A, T, C 或 G
- [3848] <400>341
- [3849] tgggggctga cggatccamn ncacacccat tccagaagtg ctgagtgaga acccaga 57
- [3850] <210>342

- [3851] <211>60
[3852] <212>DNA
[3853] <213> 人工序列
[3854] <220>
[3855] <223> 引物
[3856] <221>misc_feature
[3857] <222>41,42
[3858] <223>n = A, T, C 或 G
[3859] <400>342
[3860] cagagatggg ttgtagtatt tattgtcate ccaccaaam nntgcaagcc actccagggc 60
[3861] <210>343
[3862] <211>60
[3863] <212>DNA
[3864] <213> 人工序列
[3865] <220>
[3866] <223> 引物
[3867] <221>misc_feature
[3868] <222>38,39
[3869] <223>n = A, T, C 或 G
[3870] <400>343
[3871] cagagatggg ttgtagtatt tattgtcate ccaccamng tctgcaagcc actccagggc 60
[3872] <210>344
[3873] <211>60
[3874] <212>DNA
[3875] <213> 人工序列
[3876] <220>
[3877] <223> 引物
[3878] <221>misc_feature
[3879] <222>35,36
[3880] <223>n = A, T, C 或 G
[3881] <400>344
[3882] cagagatggg ttgtagtatt tattgtcate ccamnaatg tctgcaagcc actccagggc 60
[3883] <210>345
[3884] <211>60
[3885] <212>DNA
[3886] <213> 人工序列
[3887] <220>
[3888] <223> 引物
[3889] <221>misc_feature

- [3890] <222>32, 33
- [3891] <223>n = A, T, C 或 G
- [3892] <400>345
- [3893] cagagatggg ttgtagtatt tattgtcatc mnccaaatg tctgcaagcc actccagggc 60
- [3894] <210>346
- [3895] <211>60
- [3896] <212>DNA
- [3897] <213> 人工序列
- [3898] <220>
- [3899] <223> 引物
- [3900] <221>misc_feature
- [3901] <222>29, 30
- [3902] <223>n = A, T, C 或 G
- [3903] <400>346
- [3904] cagagatggg ttgtagtatt tattgtcmnn ccaccaaag tctgcaagcc actccagggc 60
- [3905] <210>347
- [3906] <211>60
- [3907] <212>DNA
- [3908] <213> 人工序列
- [3909] <220>
- [3910] <223> 引物
- [3911] <221>misc_feature
- [3912] <222>26, 27
- [3913] <223>n = A, T, C 或 G
- [3914] <400>347
- [3915] cagagatggg ttgtagtatt tattmnnatc ccaccaaag tctgcaagcc actccagggc 60
- [3916] <210>348
- [3917] <211>60
- [3918] <212>DNA
- [3919] <213> 人工序列
- [3920] <220>
- [3921] <223> 引物
- [3922] <221>misc_feature
- [3923] <222>23, 24
- [3924] <223>n = A, T, C 或 G
- [3925] <400>348
- [3926] cagagatggg ttgtagtatt tmnngtcate ccaccaaag tctgcaagcc actccagggc 60
- [3927] <210>349
- [3928] <211>60

- [3929] <212>DNA
[3930] <213> 人工序列
[3931] <220>
[3932] <223> 引物
[3933] <221>misc_feature
[3934] <222>20, 21
[3935] <223>n = A, T, C 或 G
[3936] <400>349
[3937] cagagatggg ttgtagtamm nattgtcatc ccaccaaagc tctgcaagcc actccagggc 60
[3938] <210>350
[3939] <211>60
[3940] <212>DNA
[3941] <213> 人工序列
[3942] <220>
[3943] <223> 引物
[3944] <221>misc_feature
[3945] <222>41, 42
[3946] <223>n = A, T, C 或 G
[3947] <400>350
[3948] cttggagatg gtgagcctgc tcttcagaga tgggtttgtam nttttattgt catcccacca 60
[3949] <210>351
[3950] <211>60
[3951] <212>DNA
[3952] <213> 人工序列
[3953] <220>
[3954] <223> 引物
[3955] <221>misc_feature
[3956] <222>38, 39
[3957] <223>n = A, T, C 或 G
[3958] <400>351
[3959] cttggagatg gtgagcctgc tcttcagaga tgggttmnng tattttattgt catcccacca 60
[3960] <210>352
[3961] <211>60
[3962] <212>DNA
[3963] <213> 人工序列
[3964] <220>
[3965] <223> 引物
[3966] <221>misc_feature
[3967] <222>35, 36

- [3968] <223>n = A, T, C 或 G
- [3969] <400>352
- [3970] cttggagatg gtgagcctgc tcttcagaga tggmnngtag tattttattgt catcccacca 60
- [3971] <210>353
- [3972] <211>60
- [3973] <212>DNA
- [3974] <213> 人工序列
- [3975] <220>
- [3976] <223> 引物
- [3977] <221>misc_feature
- [3978] <222>32, 33
- [3979] <223>n = A, T, C 或 G
- [3980] <400>353
- [3981] cttggagatg gtgagcctgc tcttcagaga mnngttgtag tattttattgt catcccacca 60
- [3982] <210>354
- [3983] <211>60
- [3984] <212>DNA
- [3985] <213> 人工序列
- [3986] <220>
- [3987] <223> 引物
- [3988] <221>misc_feature
- [3989] <222>29, 30
- [3990] <223>n = A, T, C 或 G
- [3991] <400>354
- [3992] cttggagatg gtgagcctgc tcttcagmn tgggtttag tattttattgt catcccacca 60
- [3993] <210>355
- [3994] <211>60
- [3995] <212>DNA
- [3996] <213> 人工序列
- [3997] <220>
- [3998] <223> 引物
- [3999] <221>misc_feature
- [4000] <222>26, 27
- [4001] <223>n = A, T, C 或 G
- [4002] <400>355
- [4003] cttggagatg gtgagcctgc tcttmnaga tgggtttag tattttattgt catcccacca 60
- [4004] <210>356
- [4005] <211>60
- [4006] <212>DNA

- [4007] <213> 人工序列
- [4008] <220>
- [4009] <223> 引物
- [4010] <221>misc_feature
- [4011] <222>23,24
- [4012] <223>n = A, T, C 或 G
- [4013] <400>356
- [4014] cttggagatg gtgagcctgc tmncagaga tgggttgtag tatttattgt catccacca 60
- [4015] <210>357
- [4016] <211>60
- [4017] <212>DNA
- [4018] <213> 人工序列
- [4019] <220>
- [4020] <223> 引物
- [4021] <221>misc_feature
- [4022] <222>20,21
- [4023] <223>n = A, T, C 或 G
- [4024] <400>357
- [4025] cttggagatg gtgagcctmn ncttcagaga tgggttgtag tatttattgt catccacca 60
- [4026] <210>358
- [4027] <211>9
- [4028] <212>PRT
- [4029] <213> 人工序列
- [4030] <220>
- [4031] <223> 合成的抗体突变体
- [4032] <400>358
- [4033] Phe Gln Ser Ser His Phe Pro Trp Thr
- [4034] 1 5

寡核苷酸 #	名称	引物序列 (5'-3')
2663	mK1	TTG GTG CTG ATG TTC TGG
2664	mK2	ATC TTC TTG CTG TTC TGG
2665	mK3	TGG GTG CTG CTG CTC TGG
2666	mK4	GGG CTG CTT GTG CTC TGG
2667	mK5	GGA ATC TTG TTG CTC TGG
2668	mK6	RTR TTS CTG CTG CIR TGG
2669	mK7	GGT CTC CTG TTG CTC TGT
2670	mK8	ATA TTT CTA CTG CTC TGT
2671	mK9	GTC ATA ATR TCC AGA GGA

寡核苷酸 #	名称	引物序列 (5'-3')
2672	mH1	CTG AGC TGT GTA TTC CT
2673	mH2	CTC ARM TTG ATT TTC CT
2674	mH3	TGG RTC ATS TTC TTC CT
2675	mH4	TKS RTC TTT CTC TTC CT
2676	mH5	TGT ATC ATS CTC TTC TT
2677	mH6	TGG RTC TTT CTC TTT TT
2678	mH7	TTA AAC TGG GTT TTT CT
2679	mH8	GKG CTG YTC YTC TGC CT
2680	mH9	TTA AGT CTT CTG TAC CTG
2730	MH11	TCAGTAACTGCAGGTGTCCA
2731	MH12	TTTTAAAAGGTGTCCAGTGT
2732	MH13	GCAACAGCTACAGGTGTCCA
2733	MH14	CAGCTACAGRTGTCCACTCC
2734	MH15	ATTTCCAAGCTGTGTCTGTCC
2735	MH16	CTCCTGTCAGGAACTGCAGGTGT
2736	MH17	CAGTGGTTACAGGGGTCATTCA
2737	MH18	CTGTTSACAGCCHTTCKGGT
2738	MH19	CTGATGGCAGCTGCCCAAAGT
2739	MH20	TTTATCAAGGTGTGCATTGT

2650 5' TCACTGGATGGTGGGAAGATGGATACA 3'
 2656 5' GACATTTGGGAAGGACTGACTCTC 3'
 2706 5' CAG GGG GCT CTC GCA GGA GAC GAG 3'

图 1

HuIV-26 VL

GACATTGTGATGACACAGTCTCCATCTTTGTTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAGGTCAC
ATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTGTTAAACAGTGGAAATCAAAGAACTACTTGGCC
TGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCTAAACTGTTGATCTATGGGGCATCCACTAGG
GAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGAACCGATTTCACTCTTATC
ATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAGAATGATCATAGTTAT
CCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA

图 2A

HuIV-26 VH

GAGGTGAAGCTTCTCGAGTCTGGAGGTGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGATCCCTGAAACTC
TCCTGTGCAGCCTCAGGATTCGATTTTAGTAGATACTGGATGAGTTGGGTCCGGCAGGCT
CCAGGGAAAGGGCTAGAATGGATTGGAGAAATTAATCCAGATAGCAGTACGATAAACTAT
ACGCCATCTCTAAAGGATAAATTCATCATCTCCAGAGACAACGCCAAAAATACGCTGTAC
CTGCAAATGAGCAAAGTGAGATCTGAGGACACAGCCCTTTATTACTGTGCAAGACCGGTT
GATGGTTACTACGATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

图 2B

VK 结构域

```

      1          10          20      abcdef  30          40
HUIV26 DIVMTQSPSLLSVSAGEKVTMSCKSSOSLLNSGNOKNYLAWYQOKPGQPPKLLIY
      |||  |||  |||  |||
VKIV   DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSOSVLYSSNNKNYLAWYQOKPGQPPKLLIY

      50          60          70          80          90          100
HUIV26 GASTRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLIISVQAEDLAVYYCONDHSYPYTFGGGTGLEIK
      |          |          |          |          |
VKIV/VK2 WASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQODHSYPYTFGGGTGLEIK

```

VH 结构域

```

      1          10          20          30          40
HUIV26 EVKLLRESGGGLVQPGGSLKLSCAASGPDFSRYWMSNVRQAPGKGLEWIG
      ||          |          ||
VHIII  EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGQTFESSYWMSNVRQAPGKGLEWVA

      50 a          60          70          80 abc          90
HUIV26 EINPDESTINYTPSLKDKPIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCAR
      |          |          |          |          |
VHIII  NIKQDGSSEKYYVDSVKGRTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

      abc
      100          110
HUIV26 PVDGYDAMDYWGQGTSTVTVSS
      |
JH6    PDYYYYYGMDVWGQGTSTVTVSS

```

图 2C

HUI77 VL 序列

```

GATGTTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCAT
CTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTAGAATGGTACC
TGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGT
GTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGT
GGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCGTGGACGTTG
GTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA

```

图 3A

HUI77 VH 序列

CAGGTTACTCTGAAAGAGACTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCCAGACCCTCAGTCTGA
CTTGTTCTTTCTCTGGGTTTTCACTGAGCACTTCTGGTATGGGTGTAGGCTGGATTTCGTCA
GCCTTCAGGAGAGGGTCTAGAGTGGCTGGCAGACATTTGGTGGGATGACAATAAGTACTAT
AACCCATCCCTGAAGAGCCGGCTCACAATCTCCAAGGATACCTCCAGCAACCAGGTATTCC
TCAAGATCACCAGTGTGGACACTGCAGATACTGCCACTTACTACTGTGCTCGAAGAGCTAA
CTATGGTAACCCCTACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCC
TCA

图 3B

VK 结构域

	10	20	abcde	30	40
HUI-77	DVLM	QTPLSLPVSLG	DQASISCRSSQSI	VHNSGNTXXL	EWYLOKPGQSPKLLIY
VKI	DIVM	QTPLSLPVTPGEP	ASISCRSSQSL	LDSDGNTXXL	DWYLOKPGQSPQLLIY
	50	60	70	80	90
HUI-77	KVSNRR	SGVPDRFSGSGSGTDFTL	KISRVEAE	DLGVYYCFQGS	HVPWTFGGG
VKI/JKI	TL	SYRASGVPDRFSGSGSGTDFTL	KISRVEAE	DVGYYCMQGS	HVPWTFGGG

VH 结构域

	10	20	30	abc	40
HUI-77	QVTLKE	TGPGILQPSQTL	SLTCSFSGFSL	STSGMGVGN	IRQPSGEGLEWLA
VHI	QVTLKE	SGPALVKPTQTL	TLTCTFSQFSL	STSGMRVSN	IRQPPGKALEWLA
	50	60	70	80	abc
HUI-77	DIWDDPN	KYYNPSLKSRL	TISKDTSSNQ	VFLKITS	VDTADTATYYCAR
VHI	RIDWDDPD	KFXSTSLKRL	TISKDTSKNQ	VVLTM	TNMDPVD
	100	cde	110		
HUI-77	RAN	YGNPY	YAMDY	WGGT	SVTVSS
JH6	RAN	YXXYY	YAMDY	WGGT	TVTVSS

图 3C

HUI77 VL 序列

HUI77 VL DPK13	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	GAT	GTT	TTG	ATG	ACC	CAA	ACT	CCA	CTC	TCC	CTG	CCT	GTC	AGT	CTT
	---	A--	G--	---	---	--G	---	---	---	---	---	--C	---	--CC	-C-
CDR1															
HUI77 VL DPK13	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	27a	27b	27c
	GGA	GAT	CAA	GCC	TCC	ATC	TCT	TGC	AGA	TCT	AGT	CAG	AGC	ATT	GTA
	---	--G	-CG	---	---	---	--C	---	--G	---	---	---	---	C-C	T-G
CDR2															
HUI77 VL DPK13	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
	CAT	AGT	...	AAT	GGA	AAC	ACC	TAT	TTA	GAA	TGG	TAC	CTG	CAG	AAA
	G--	---	GAT	G--	---	---	---	---	--G	--C	---	---	---	---	--G
CDR3															
HUI77 VL DPK13	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
	CCA	GGC	CAG	TCT	CCA	AAG	CTC	CTG	ATC	TAC	AAA	GTT	TCC	AAC	CGA
	---	--G	---	---	---	C--	---	---	---	--T	-CG	C--	---	T-T	--G
CDR4															
HUI77 VL DPK13	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69
	TTT	TCT	GGT	GTC	CCA	GAC	AGG	TTC	AGT	GGC	AGT	GGA	TCA	GGG	ACA
	GCC	---	--A	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	--C	--T
CDR5															
HUI77 VL DPK13	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
	GAT	TTC	ACA	CTC	AAG	ATC	AGC	AGA	GTG	GAG	GCT	GAG	GAT	CTG	GGA
	---	---	---	--G	--A	---	---	--G	---	---	---	---	---	G-T	---
CDR6															
HUI77 VL DPK13	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99
	GTT	TAT	TAC	TGC	TTT	CAA	GGT	TCA	CAT	GTT	CCG	TGG	ACG	TTC	GGT
	---	---	---	---	A-G	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--C
CDR7															
HUI77 VL JK1	100	101	102	103	104	105	106	107							
	GGA	GGC	ACC	AAG	CTG	GAA	ATC	AAA							
	CA-	--G	---	---	G--	---	---	---							

图 3D

HUIV26 LCDR3

IV26-17.1 CTT GGT CCC CTG GCC AAA AGT GTA CGG ATA ACT ATG ATC ATT MNN ACA GTA ATA AAC TGC CAC ATC
IV26-17.2 CTT GGT CCC CTG GCC AAA AGT GTA CGG ATA ACT ATG ATC MNN CTG ACA GTA ATA AAC TGC CAC ATC
IV26-17.3 CTT GGT CCC CTG GCC AAA AGT GTA CGG ATA ACT ATG MNN ATT CTG ACA GTA ATA AAC TGC CAC ATC
IV26-17.4 CTT GGT CCC CTG GCC AAA AGT GTA CGG ATA ACT MNN ATC ATT CTG ACA GTA ATA AAC TGC CAC ATC
IV26-17.5 CTT GGT CCC CTG GCC AAA AGT GTA CGG ATA MNN ATG ATC ATT CTG ACA GTA ATA AAC TGC CAC ATC
IV26-17.6 CTT GGT CCC CTG GCC AAA AGT GTA CGG MNN ACT ATG ATC ATT CTG ACA GTA ATA AAC TGC CAC ATC
IV26-17.7 CTT GGT CCC CTG GCC AAA AGT GTA MNN ATA ACT ATG ATC ATT CTG ACA GTA ATA AAC TGC CAC ATC
IV26-17.8 CTT GGT CCC CTG GCC AAA AGT MNN CGG ATA ACT ATG ATC ATT CTG ACA GTA ATA AAC TGC CAC ATC
IV26-17.9 CTT GGT CCC CTG GCC AAA MNN GTA CGG ATA ACT ATG ATC ATT CTG ACA GTA ATA AAC TGC CAC ATC

HUIV26 HCDR3

IV26-17.1 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATC GTA GTA ACC ATC AAC MNN TCT CGC ACA GTA ATA CAC
IV26-17.2 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATC GTA GTA ACC ATC MNN CGG TCT CGC ACA GTA ATA CAC
IV26-17.3 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATC GTA GTA ACC MNN AAC CGG TCT CGC ACA GTA ATA CAC
IV26-17.4 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATC GTA GTA MNN ATC AAC CGG TCT CGC ACA GTA ATA CAC
IV26-17.5 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATC GTA MNN ACC ATC AAC CGG TCT CGC ACA GTA ATA CAC
IV26-17.6 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATC MNN GTA ACC ATC AAC CGG TCT CGC ACA GTA ATA CAC
IV26-17.7 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC MNN GTA GTA ACC ATC AAC CGG TCT CGC ACA GTA ATA CAC
IV26-17.8 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT MNN ATC GTA GTA ACC ATC AAC CGG TCT CGC ACA GTA ATA CAC
IV26-17.9 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC MNN AGC ATC GTA GTA ACC ATC AAC CGG TCT CGC ACA GTA ATA CAC
IV26-17.10 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA MNN CAT AGC ATC GTA GTA ACC ATC AAC CGG TCT CGC ACA GTA ATA CAC
IV26-17.11 CGT GGT TCC TTG CCC CCA MNN GTC CAT AGC ATC GTA GTA ACC ATC AAC CGG TCT CGC ACA GTA ATA CAC

图 4A

HUIV26 LCDR1a

IV26L1-1 GTTCTTTTGGTTTCCGCWGTTTAACAGACTCTGGCTGGAMNNGCAGTTGATGGTGGCCCT
IV26L1-2 GTTCTTTTGGTTTCCGCWGTTTAACAGACTCTGGCTMNNCTTGCAGTTGATGGTGGCCCT
IV26L1-3 GTTCTTTTGGTTTCCGCWGTTTAACAGACTCTGMNNGGACTTGCAGTTGATGGTGGCCCT
IV26L1-4 GTTCTTTTGGTTTCCGCWGTTTAACAGACTMNNCTGGACTTGCAGTTGATGGTGGCCCT
IV26L1-5 GTTCTTTTGGTTTCCGCWGTTTAACAGMNNCTGGCTGGACTTGCAGTTGATGGTGGCCCT
IV26L1-6 GTTCTTTTGGTTTCCGCWGTTTAAMNNACTCTGGCTGGACTTGCAGTTGATGGTGGCCCT
IV26L1-7 GTTCTTTTGGTTTCCGCWGTTMNNCAGACTCTGGCTGGACTTGCAGTTGATGGTGGCCCT
IV26L1-8 GTTCTTTTGGTTTCCGCWNNNTAACAGACTCTGGCTGGACTTGCAGTTGATGGTGGCCCT

HUIV26 LCDR1b

IV26L1-9 TGGTTTCTGCTGGTACCAAGCTAAGTAGTTCTTTTGGTTTCCMNGTTTAAACAGACTCTGGCT
IV26L1-10 TGGTTTCTGCTGGTACCAAGCTAAGTAGTTCTTTTGGTTMNNCGWGTTTAACAGACTCTGGCT
IV26L1-11 TGGTTTCTGCTGGTACCAAGCTAAGTAGTTCTTTTGMNNTCCGCWGTTTAACAGACTCTGGCT
IV26L1-12 TGGTTTCTGCTGGTACCAAGCTAAGTAGTTCTTMNNGTTTCCGCWGTTTAACAGACTCTGGCT
IV26L1-13 TGGTTTCTGCTGGTACCAAGCTAAGTAGTTMNNTTGGTTTCCGCWGTTTAACAGACTCTGGCT
IV26L1-14 TGGTTTCTGCTGGTACCAAGCTAAGTAMNNCTTTTGGTTTCCGCWGTTTAACAGACTCTGGCT
IV26L1-15 TGGTTTCTGCTGGTACCAAGCTAAMNNGTTCTTTTGGTTTCCGCWGTTTAACAGACTCTGGCT
IV26L1-16 TGGTTTCTGCTGGTACCAAGCMNNGTAGTTCTTTTGGTTTCCGCWGTTTAACAGACTCTGGCT
IV26L1-17 TGGTTTCTGCTGGTACCAMNNTAAGTAGTTCTTTTGGTTTCCGCWGTTTAACAGACTCTGGCT

HUIV26 LCDR2

IV26L2-1 GAATCGGTCAGGGACCCCGGATTCCCTGGTAGATGCMNNGTAAATGAGCAGCTTAGG
IV26L2-2 GAATCGGTCAGGGACCCCGGATTCCCTGGTAGAMNCCCCTAAATGAGCAGCTTAGG
IV26L2-3 GAATCGGTCAGGGACCCCGGATTCCCTGGTMNNTGCCCGTAAATGAGCAGCTTAGG
IV26L2-4 GAATCGGTCAGGGACCCCGGATTCCCTMNNAGATGCCCGTAAATGAGCAGCTTAGG
IV26L2-5 GAATCGGTCAGGGACCCCGGATTMNNNGTAGATGCCCGTAAATGAGCAGCTTAGG
IV26L2-6 GAATCGGTCAGGGACCCCGAMNNCTGGTAGATGCCCGTAAATGAGCAGCTTAGG
IV26L2-7 GAATCGGTCAGGGACCCCMNNTTCCCTGGTAGATGCCCGTAAATGAGCAGCTTAGG

HUIV26 HCDR1

IV26H1-1 TGGAGCCTGGCGGACCCAGCTCATCCAATAMNNACTAAAGGTGAATCCAGA
IV26H1-2 TGGAGCCTGGCGGACCCAGCTCATCCAMNNTCTACTAAAGGTGAATCCAGA
IV26H1-3 TGGAGCCTGGCGGACCCAGCTCATMNNATATCTACTAAAGGTGAATCCAGA
IV26H1-4 TGGAGCCTGGCGGACCCAGCTMNNCCAATATCTACTAAAGGTGAATCCAGA
IV26H1-5 TGGAGCCTGGCGGACCCAMNNCATCCAATATCTACTAAAGGTGAATCCAGA

HUIV26 HCDR2a

IV26H2-1 TAGAGATGGCGTATAGTTTATCGTACTGCTATCTGGATTATMNNNGCCAAAYCCACTCCAGCCCTTTC
IV26H2-2 TAGAGATGGCGTATAGTTTATCGTACTGCTATCTGGATTMNNNTCGCCAAAYCCACTCCAGCCCTTTC
IV26H2-3 TAGAGATGGCGTATAGTTTATCGTACTGCTATCTGGMNNATTTTCGCCAAAYCCACTCCAGCCCTTTC
IV26H2-4 TAGAGATGGCGTATAGTTTATCGTACTGCTATCMNNATTTATTTGCCAAAYCCACTCCAGCCCTTTC
IV26H2-5 TAGAGATGGCGTATAGTTTATCGTACTGCTMNNNTGGATTATTTTCGCCAAAYCCACTCCAGCCCTTTC
IV26H2-6 TAGAGATGGCGTATAGTTTATCGTACTMNNATCTGGATTATTTTCGCCAAAYCCACTCCAGCCCTTTC
IV26H2-7 TAGAGATGGCGTATAGTTTATCGTMNNGCTATCTGGATTATTTTCGCCAAAYCCACTCCAGCCCTTTC
IV26H2-8 TAGAGATGGCGTATAGTTTATMNNNACTGCTATCTGGATTATTTTCGCCAAAYCCACTCCAGCCCTTTC
IV26H2-9 TAGAGATGGCGTATAGTTMNNCGTACTGCTATCTGGATTATTTTCGCCAAAYCCACTCCAGCCCTTTC

HUIV26 HCDR2b

IV26H2-10 CGTTGTCTCTGGAGATGRTGAATYTATCCTTTAGAGATGGCGTATAMNNATCTGCTACTGCTATCTGG
IV26H2-11 CGTTGTCTCTGGAGATGRTGAATYTATCCTTTAGAGATGGCGTMNNGTTTATCGTACTGCTATCTGG
IV26H2-12 CGTTGTCTCTGGAGATGRTGAATYTATCCTTTAGAGATGGMNNATAGTTTATCGTACTGCTATCTGG
IV26H2-13 CGTTGTCTCTGGAGATGRTGAATYTATCCTTTAGAGAMNNCGTATAGTTTATCGTACTGCTATCTGG
IV26H2-14 CGTTGTCTCTGGAGATGRTGAATYTATCCTTTAGMNNTGCGGTATAGTTTATCGTACTGCTATCTGG
IV26H2-15 CGTTGTCTCTGGAGATGRTGAATYTATCCTTMNNAGATGGCGTATAGTTTATCGTACTGCTATCTGG
IV26H2-16 CGTTGTCTCTGGAGATGRTGAATYTATCMNNTAGAGATGGCGTATAGTTTATCGTACTGCTATCTGG
IV26H2-17 CGTTGTCTCTGGAGATGRTGAATYTMMNCTTTAGAGATGGCGTATAGTTTATCGTACTGCTATCTGG

图 4B

HuIV-26 抗体的有益突变体

CDRs	H1	H2	H3	L1	L2	L3
Kabat 编号	31 34 35	57 62 64 65	97 98 102	27 27d 27e 27f 29		93 94
HuIV-26	R N S	L S K O	D G Y	Q N S G Q		S Y
突变体	R I T A G	A Y Q S S A H G	P P P G A N T K A	R S Y Y K S W R K R R I		Q W G S L P A M T V

图 4C

HUI77 LCDR3
 177-47.1 CTT GGT GCC CTG GCC GAA CGT CCA CGG AAC ATG TGA ACC TTG MNN GCA GTA ATA AAC TCC AAC ATC
 177-47.2 CTT GGT GCC CTG GCC GAA CGT CCA CGG AAC ATG TGA ACC MNN AAA GCA GTA ATA AAC TCC AAC ATC
 177-47.3 CTT GGT GCC CTG GCC GAA CGT CCA CGG AAC ATG TGA MNN TTG AAA GCA GTA ATA AAC TCC AAC ATC
 177-47.4 CTT GGT GCC CTG GCC GAA CGT CCA CGG AAC ATG MNN ACC TTG AAA GCA GTA ATA AAC TCC AAC ATC
 177-47.5 CTT GGT GCC CTG GCC GAA CGT CCA CGG AAC MNN TGA ACC TTG AAA GCA GTA ATA AAC TCC AAC ATC
 177-47.6 CTT GGT GCC CTG GCC GAA CGT CCA CGG MNN ATG TGA ACC TTG AAA GCA GTA ATA AAC TCC AAC ATC
 177-47.7 CTT GGT GCC CTG GCC GAA CGT CCA MNN AAC ATG TGA ACC TTG AAA GCA GTA ATA AAC TCC AAC ATC
 177-47.8 CTT GGT GCC CTG GCC GAA CGT MNN CGG AAC ATG TGA ACC TTG AAA GCA GTA ATA AAC TCC AAC ATC
 177-47.9 CTT GGT GCC CTG GCC GAA MNN CCA CGG AAC ATG TGA ACC TTG AAA GCA GTA ATA AAC TCC AAC ATC
 HUI77 HCDR3
 177-47.1 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATA GTA GGG GTT ACC ATA GTT AGC MNN TCG AGC ACA GTA ATA CGT
 177-47.2 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATA GTA GGG GTT ACC ATA GTT MNN TCT TCG AGC ACA GTA ATA CGT
 177-47.3 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATA GTA GGG GTT ACC ATA MNN AGC TCT TCG AGC ACA GTA ATA CGT
 177-47.4 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATA GTA GGG GTT ACC MNN GTT AGC TCT TCG AGC ACA GTA ATA CGT
 177-47.5 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATA GTA GGG GTT MNN ATA GTT AGC TCT TCG AGC ACA GTA ATA CGT
 177-47.6 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATA GTA GGG MNN ACC ATA GTT AGC TCT TCG AGC ACA GTA ATA CGT
 177-47.7 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATA GTA MNN GTT ACC ATA GTT AGC TCT TCG AGC ACA GTA ATA CGT
 177-47.8 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC ATA MNN GGG GTT ACC ATA GTT AGC TCT TCG AGC ACA GTA ATA CGT
 177-47.9 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT AGC MNN GTA GGG GTT ACC ATA GTT AGC TCT TCG AGC ACA GTA ATA CGT
 177-47.10 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC CAT MNN ATA GTA GGG GTT ACC ATA GTT AGC TCT TCG AGC ACA GTA ATA CGT
 177-47.11 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA GTC MNN AGC ATA GTA GGG GTT ACC ATA GTT AGC TCT TCG AGC ACA GTA ATA CGT
 177-47.12 CGT GGT TCC TTG CCC CCA GTA MNN CAT AGC ATA GTA GGG GTT ACC ATA GTT AGC TCT TCG AGC ACA GTA ATA CGT
 177-47.13 CGT GGT TCC TTG CCC CCA MNN GTC CAT AGC ATA GTA GGG GTT ACC ATA GTT AGC TCT TCG AGC ACA GTA ATA CGT

图 5A

HUI77 LCDR1a

```

3000 ATA GGT GTT TCC ATT ACT ATG TAC AAT GCT CTG ACT AGA MNN GCA GGA GAT GGA GGC C
3001 ATA GGT GTT TCC ATT ACT ATG TAC AAT GCT CTG ACT MNN CCT GCA GGA GAT GGA GGC C
3002 ATA GGT GTT TCC ATT ACT ATG TAC AAT GCT CTG MNN AGA CCT GCA GGA GAT GGA GGC C
3003 ATA GGT GTT TCC ATT ACT ATG TAC AAT GCT MNN ACT AGA CCT GCA GGA GAT GGA GGC C
3004 ATA GGT GTT TCC ATT ACT ATG TAC AAT MNN CTG ACT AGA CCT GCA GGA GAT GGA GGC C
3005 ATA GGT GTT TCC ATT ACT ATG TAC MNN GCT CTG ACT AGA CCT GCA GGA GAT GGA GGC C
3006 ATA GGT GTT TCC ATT ACT ATG MNN AAT GCT CTG ACT AGA CCT GCA GGA GAT GGA GGC C
3007 ATA GGT GTT TCC ATT ACT MNN TAC AAT GCT CTG ACT AGA CCT GCA GGA GAT GGA GGC C

```

HUI77 LCDR1b

```

3008 TGG CTT CTG CAG GTA CCA TTC CAA ATA GGT GTT TCC ATT MNN ATG TAC AAT GCT CTG ACT
3009 TGG CTT CTG CAG GTA CCA TTC CAA ATA GGT GTT TCC MNN ACT ATG TAC AAT GCT CTG ACT
3010 TGG CTT CTG CAG GTA CCA TTC CAA ATA GGT GTT MNN ATT ACT ATG TAC AAT GCT CTG ACT
3011 TGG CTT CTG CAG GTA CCA TTC CAA ATA GGT MNN TCC ATT ACT ATG TAC AAT GCT CTG ACT
3012 TGG CTT CTG CAG GTA CCA TTC CAA ATA MNN GTT TCC ATT ACT ATG TAC AAT GCT CTG ACT
3013 TGG CTT CTG CAG GTA CCA TTC CAA MNN GGT GTT TCC ATT ACT ATG TAC AAT GCT CTG ACT
3014 TGG CTT CTG CAG GTA CCA TTC MNN ATA GGT GTT TCC ATT ACT ATG TAC AAT GCT CTG ACT
3015 TGG CTT CTG CAG GTA CCA MNN CAA ATA GGT GTT TCC ATT ACT ATG TAC AAT GCT CTG ACT

```

HUI77 LCDR2

```

3016 GAA CCT GTC TGG GAC TCC AGA AAA CCG GTT GGA AAC MNN ATA GAT CAG GAG CTG TGG
3017 GAA CCT GTC TGG GAC TCC AGA AAA CCG GTT GGA MNN TTT ATA GAT CAG GAG CTG TGG
3018 GAA CCT GTC TGG GAC TCC AGA AAA CCG GTT MNN AAC TTT ATA GAT CAG GAG CTG TGG
3019 GAA CCT GTC TGG GAC TCC AGA AAA CCG MNN GGA AAC TTT ATA GAT CAG GAG CTG TGG
3020 GAA CCT GTC TGG GAC TCC AGA AAA MNN GTT GGA AAC TTT ATA GAT CAG GAG CTG TGG
3021 GAA CCT GTC TGG GAC TCC AGA MNN CCG GTT GGA AAC TTT ATA GAT CAG GAG CTG TGG
3022 GAA CCT GTC TGG GAC TCC MNN AAA CCG GTT GGA AAC TTT ATA GAT CAG GAG CTG TGG

```

HUI77 HCDR1

```

3023 TGG GGG CTG ACG GAT CCA GCC CAC ACC CAT TCC AGA MNN GCT GAG TGA GAA CCC AGA
3024 TGG GGG CTG ACG GAT CCA GCC CAC ACC CAT TCC MNN AGT GCT GAG TGA GAA CCC AGA
3025 TGG GGG CTG ACG GAT CCA GCC CAC ACC CAT MNN AGA AGT GCT GAG TGA GAA CCC AGA
3026 TGG GGG CTG ACG GAT CCA GCC CAC ACC MNN TCC AGA AGT GCT GAG TGA GAA CCC AGA
3027 TGG GGG CTG ACG GAT CCA GCC CAC MNN CAT TCC AGA AGT GCT GAG TGA GAA CCC AGA
3028 TGG GGG CTG ACG GAT CCA GCC MNN ACC CAT TCC AGA AGT GCT GAG TGA GAA CCC AGA
3029 TGG GGG CTG ACG GAT CCA MNN CAC ACC CAT TCC AGA AGT GCT GAG TGA GAA CCC AGA

```

HUI77 HCDR2a

```

3038 CAG AGA TGG GTT GTA GTA TTT ATT GTC ATC CCA CCA AAT MNN TGC AAG CCA CTC CAG GGC
3039 CAG AGA TGG GTT GTA GTA TTT ATT GTC ATC CCA CCA MNN GTC TGC AAG CCA CTC CAG GGC
3040 CAG AGA TGG GTT GTA GTA TTT ATT GTC ATC CCA MNN AAT GTC TGC AAG CCA CTC CAG GGC
3041 CAG AGA TGG GTT GTA GTA TTT ATT GTC ATC MNN CCA AAT GTC TGC AAG CCA CTC CAG GGC
3042 CAG AGA TGG GTT GTA GTA TTT ATT GTC MNN CCA CCA AAT GTC TGC AAG CCA CTC CAG GGC
3043 CAG AGA TGG GTT GTA GTA TTT ATT MNN ATC CCA CCA AAT GTC TGC AAG CCA CTC CAG GGC
3044 CAG AGA TGG GTT GTA GTA TTT MNN GTC ATC CCA CCA AAT GTC TGC AAG CCA CTC CAG GGC
3045 CAG AGA TGG GTT GTA GTA MNN ATT GTC ATC CCA CCA AAT GTC TGC AAG CCA CTC CAG GGC

```

HUI77 HCDR2b

```

3030 CTT GGA GAT GGT GAG CCT GCT CTT CAG AGA TGG GTT GTA MNN TTT ATT GTC ATC CCA CCA
3031 CTT GGA GAT GGT GAG CCT GCT CTT CAG AGA TGG GTT MNN GTA TTT ATT GTC ATC CCA CCA
3032 CTT GGA GAT GGT GAG CCT GCT CTT CAG AGA TGG MNN GTA GTA TTT ATT GTC ATC CCA CCA
3033 CTT GGA GAT GGT GAG CCT GCT CTT CAG AGA MNN GTT GTA GTA TTT ATT GTC ATC CCA CCA
3034 CTT GGA GAT GGT GAG CCT GCT CTT CAG MNN TGG GTT GTA GTA TTT ATT GTC ATC CCA CCA
3035 CTT GGA GAT GGT GAG CCT GCT CTT MNN AGA TGG GTT GTA GTA TTT ATT GTC ATC CCA CCA
3036 CTT GGA GAT GGT GAG CCT GCT MNN CAG AGA TGG GTT GTA GTA TTT ATT GTC ATC CCA CCA
3037 CTT GGA GAT GGT GAG CCT MNN CTT CAG AGA TGG GTT GTA GTA TTT ATT GTC ATC CCA CCA

```

图 5B

Hul-77 抗体的有益突变体

CDRs	H1	H2	H3	L1	L2	L3
Kabat 编号	32 35b	59 64	95 100 100a 102	27c 27d 27e 28 30 33	50 51 53 54 56	89 90 91 92 93 94 97
Hul-77	S Q	Y K	R N M Y	V H S N N L	K V N R S	P Q Q S H V T
突变体	P W L A	S P A P	P V Q N T H H	P L W Y Y F V	S A S L W F	V R S W L T A H W E S S H K Y

图 5C

组合文库的有益突变体

CDRs	H1	H2	H3	L1	L3	SPEkon	SPEkoff
Kabat 编号	35	57 62	102	27d 27e 27f	93	O.D.580	O.D.560
野生型	S	I S	Y	N S G	S		
HuV-26	S	I S	Y	N S G	S		
突变体	T	A Y	P	S Y Y	Q		
	A	A H		W R			
				H H			
				R			

有益的突变体

4.1-2D4	S	I S	P	N S G	Q		
L1b-F11	S	I S	P	N S Y	Q	0.745	0.483
H2a-G8	S	A S	P	N S G	Q	0.397	0.159
2D4H1-C3	A	I S	P	N S G	Q		
DcomA4	S	A Y	P	N Y Y	Q	0.981	0.769
DcomB1	A	A Y	P	N Y H	Q	1.018	0.714
DcomE1						1.031	0.758
DcomH2						1.07	0.705
DcomD2	S	A S	P	N R Y	Q	1.104	0.729
DcomD3	T	A Y	P	N S Y	Q	1.035	0.736
DcomD6	S	A Y	P	N W Y	Q	1.102	0.753
DcomA11						1.003	0.786
DcomE3	T	A Y	P	N R Y	Q	0.991	0.754
DcomG2	A	A Y	P	N R Y	Q	1.161	0.856
DcomA7	T	V S	P	N Y Y	Q	0.986	0.77
DcomB8	T	A A	P	N W Y	Q	0.998	0.807
DcomA2						1.026	0.74
DcomB10	T	A H	P	N W Y	Q	0.87	0.735
DcomC8	S	A A	P	N W Y	Q	0.978	0.763
DcomD7	T	A Y	P	N W Y	Q	1.083	0.794
DhuG5							
DhuH8							
DcomD11	A	A A	P	N W H	Q	1.125	0.752
DcomE11	A	A H	P	N W H	Q	0.973	0.732

组合突变体的引物

dH5762 TCTCTGGAGATGGTGAATTTACGTA CTGCTATCTGGATT
 dL27def CTAAGTAGTTCTTTTGGTTGTTATAACAGACTCTGGCTGGA
 H1-35 TGGAGCCTGGCGGACCCAGGHCATCCAATATCTACTAAAGGTGAATCCAGA
 H2-5762a TCTCTGGAGATGGTGAATCTATCCTTTAGGGMTGGCGTATAGTTGGCCGTA CTGCTATCTGGATT
 H2-5762b TCTCTGGAGATGGTGAATCTATCCTTTAGGTRTGGCGTATAGTTGGCCGTA CTGCTATCTGGATT
 L1-27def1 CTAAGTAGTTCTTTTGGTTGTRGTRGYTTAACAGACTCTGGCTGGA
 L1-27def2 CTAAGTAGTTCTTTTGGTTGCSGTRGYTTAACAGACTCTGGCTGGA
 L1-27def3 CTAAGTAGTTCTTTTGGTTGTRGCKGYTTAACAGACTCTGGCTGGA
 L1-27def4 CTAAGTAGTTCTTTTGGTTGCSGCKGYTTAACAGACTCTGGCTGGA
 L1-27def5 CTAAGTAGTTCTTTTGGTTGTRCCAGYTTAACAGACTCTGGCTGGA
 L1-27def6 CTAAGTAGTTCTTTTGGTTGCSCCAGYTTAACAGACTCTGGCTGGA

图 6

为组合文库选择的有益突变体

CDRs	H1	H2	H3	L1	L3	筛选	筛选
Kabat 编号	32 35b	59	100e	27d 28 33	94	kon	koff
野生型	S G	Y	M	H N L	V		
HuI-77	S G	Y	M	H N L	V		
突变体	P W L A	S A P	Q	L Y F S W			

有益的组合突变体

Qh2b-B7	S G	A	Q	H N L	V		
Qh2b-A3	S G	S	Q	H N L	V		
Qcom1B6	P W	S	Q	S W L	V	1.319	0.534
Qcom1B8	P W	S	Q	S Y L	V	1.266	0.497
Qcom1E7						1.247	0.48
Qcom1G10						1.282	0.452
Qcom2G2						1.304	0.402
Qcom1C3	P W	A	Q	S W L	V	1.342	0.535
Qcom2A2						1.605	0.847
Qcom1G3						1.274	0.484
Qcom1D3	P W	T	Q	S W L	V	1.647	0.984
QhuD9							
QhuD83							
Qcom1E3	P W	A	Q	S Q L	V	1.225	0.347
Qcom2F6						1.311	0.321
Qcom1H6	P W	S	Q	S Q L	V	1.295	0.323
Qcom1H7	P W	A	Q	H Q F	F	1.634	1.08
Qcom2A4	P A	A	Q	S Y L	V	1.304	0.265
Qcom2B11	P W	A	Q	H Y L	V	1.11	0.221
Qcom2C1	P W	Y	Q	S W F	V	1.189	0.213
Qcom2D9	P W	S	Q	H W L	V	1.101	0.208
Qcom2E3	P W	A	Q	H W L	V	1.117	0.248

组合突变体的引物

4L274-33 CTT CTG CAG GTA CCA TTC GTA TAC AAT GCT CTG ACT AGA

H1-35b1 TGG GGG CTG ACG GAT CCA CMA CAC ACC CAT TCC AGR AGT GCT GAG TGA GAA CCC AGA

H1-35b2 TGG GGG CTG ACG GAT CCA GSC CAC ACC CAT TCC AGR AGT GCT GAG TGA GAA CCC AGA

H2-59 GCT CTT CAG AGA TGG GTT AGV GTA TTT ATT GTC ATC CCA C

L2741 CTT CTG CAG GTA CCA TTC MAA ATA GGT GTT TCC CCA ACT CRA TAC AAT GCT CTG ACT AGA

L2742 CTT CTG CAG GTA CCA TTC MAA ATA GGT GTT TCC GTA ACT CRA TAC AAT GCT CTG ACT AGA

L2743 CTT CTG CAG GTA CCA TTC MAA ATA GGT GTT TCC CTG ACT CRA TAC AAT GCT CTG ACT AGA

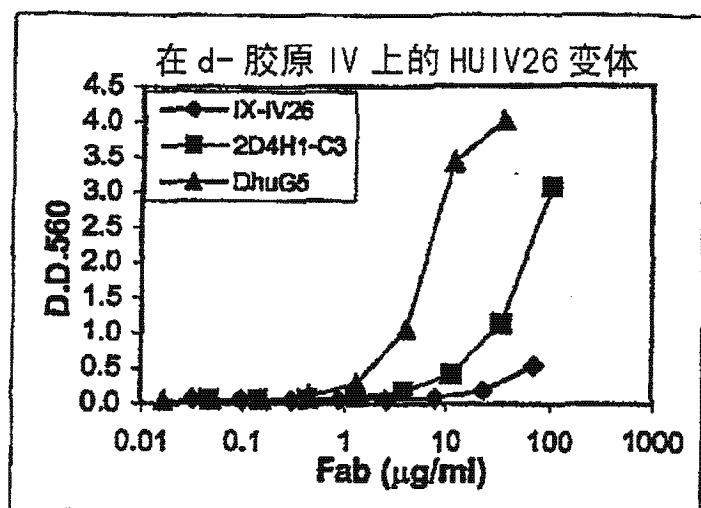
L2744 CTT CTG CAG GTA CCA TTC MAA ATA GGT GTT TCC CCA ACT GTG TAC AAT GCT CTG ACT AGA

L2745 CTT CTG CAG GTA CCA TTC MAA ATA GGT GTT TCC GTA ACT GTG TAC AAT GCT CTG ACT AGA

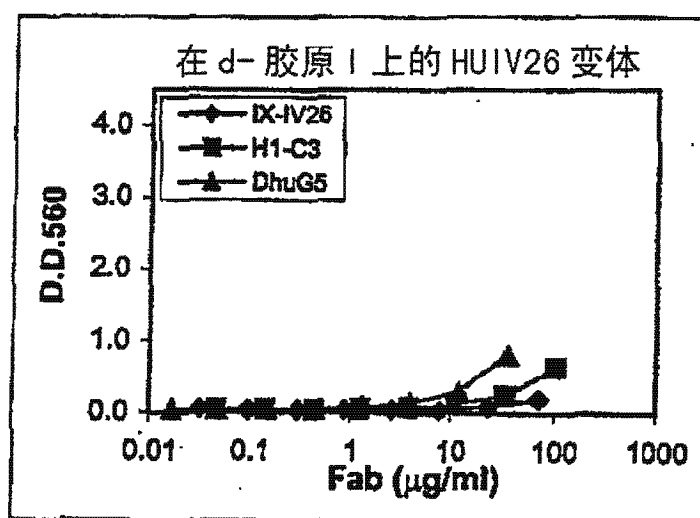
L2746 CTT CTG CAG GTA CCA TTC MAA ATA GGT GTT TCC CTG ACT GTG TAC AAT GCT CTG ACT AGA

图 7

A



B



C

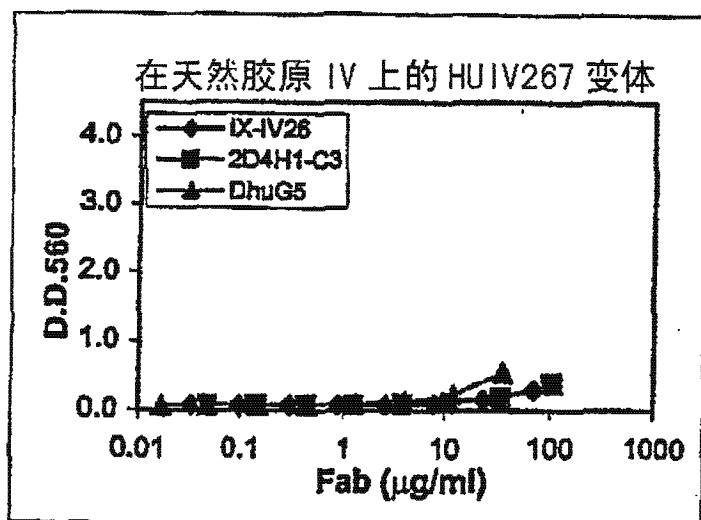
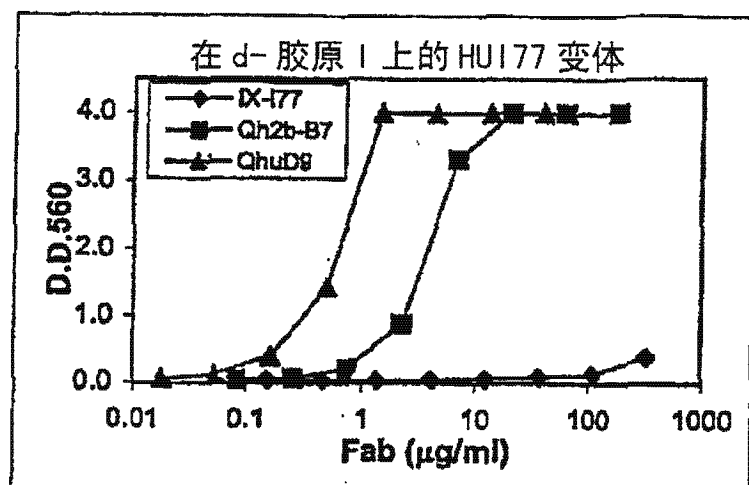
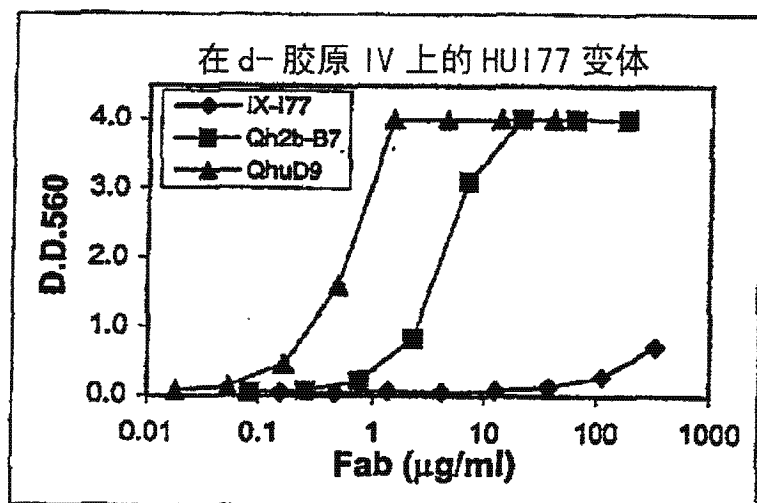


图 8

A



B



C

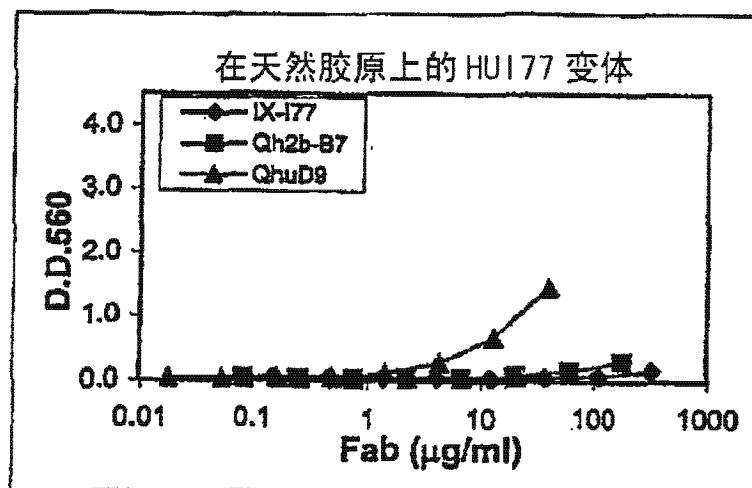


图 9

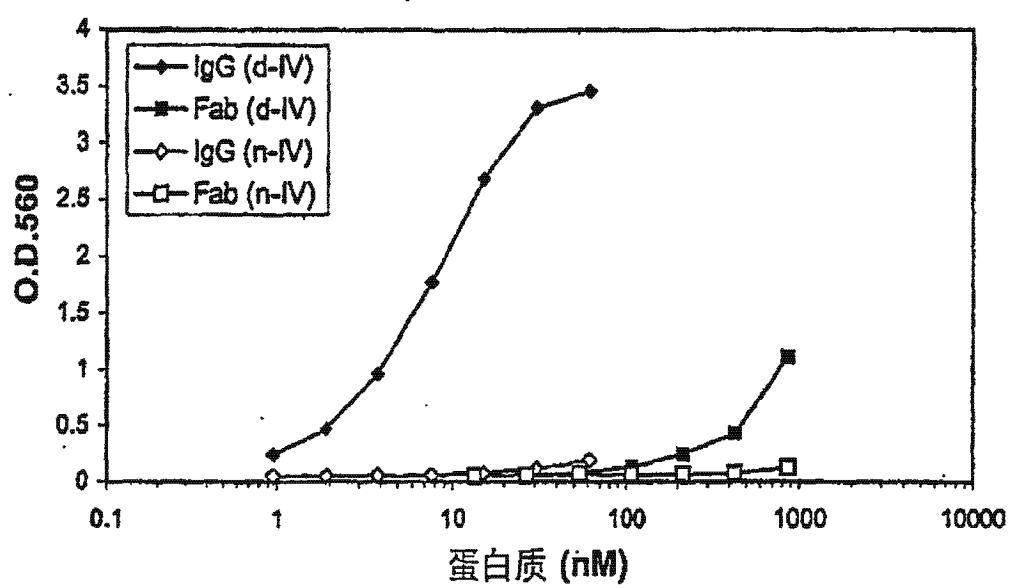


图 10

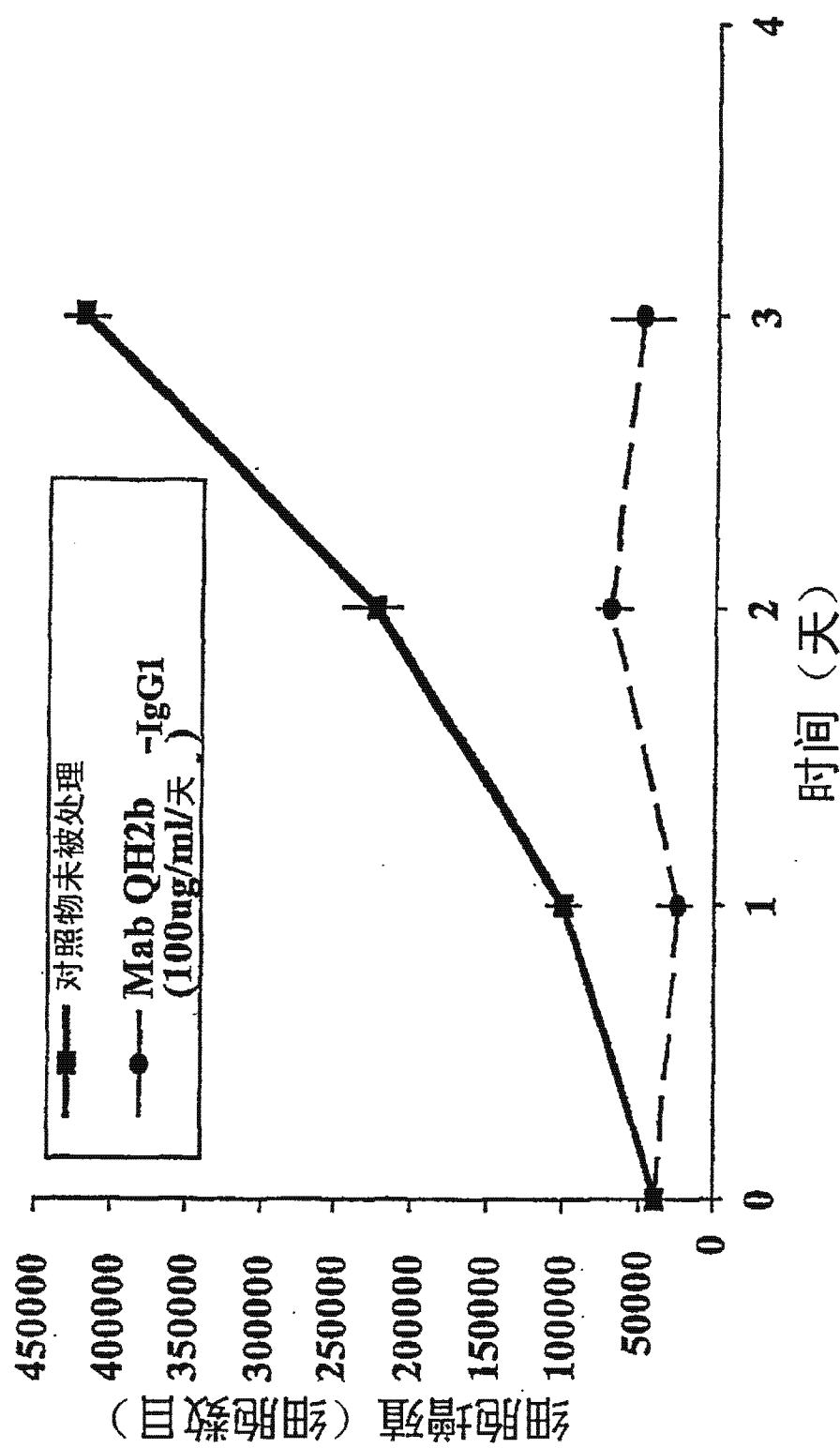


图 11