



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I880048 B

(45) 公告日：中華民國 114 (2025) 年 04 月 11 日

(21) 申請案號：110143134

(22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 11 月 19 日

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

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2020/11/20 中國大陸

202011307482.7

(71) 申請人：大陸商廣東東陽光藥業股份有限公司 (中國大陸) (CN)

中國大陸

(72) 發明人：任志衡 REN, ZHIHENG (CN)；董軍紀 DONG, JUNJI (CN)；何轉娣 HE, ZHUANDI (CN)；王克柱 WANG, KEZHU (CN)；盧傑聯 LU, JIELIAN (CN)；林樹珊 LIN, SHUSHAN (CN)；劉亮 LIU, LIANG (CN)；李想 LI, XIANG (CN)；張闊 ZHANG, KUO (CN)；蔣燕 JIANG, YAN (CN)；李曉平 LI, XIAOPING (CN)；陳小鋒 CHEN, XIAOFENG (CN)；李文佳 LI, WENJIA (CN)

(74) 代理人：趙嘉文

(56) 參考文獻：

US 2017/0362327A1

審查人員：吳卓翰

申請專利範圍項數：27 項 圖式數：12 共 117 頁

(54) 名稱

人源化抗 TrkA 的抗體及其應用

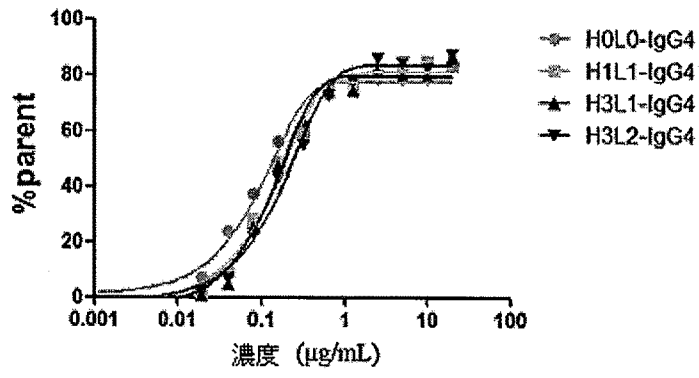
(57) 摘要

本發明提出了一種能夠特異性識別 TrkA 的人源化抗體或其抗原結合片段及其用途。該抗體具有 SEQ ID NO：2-8 任一項所示胺基酸序列的重鏈可變區，SEQ ID NO：10~13 任一項所示胺基酸序列的輕鏈可變區。根據本發明實施例的上述抗體能夠特異性的靶向結合 TrkA 受體，阻斷 NGF 和 TrkA 結合。

指定代表圖：

符號簡單說明：

無



McAb	H0L0-IgG4	H1L1-IgG4	H3L1-IgG4	H3L2-IgG4
EC50	0.08669	0.1307	0.1268	0.1683

圖 2



I880048

**【發明摘要】****【中文發明名稱】** 人源化抗TrkA的抗體及其應用**【英文發明名稱】** Humanized anti-TrkA antibodies and uses thereof

**【中文】** 本發明提出了一種能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段及其用途。該抗體具有SEQ ID NO：2-8任一項所示胺基酸序列的重鏈可變區，SEQ ID NO：10~13任一項所示胺基酸序列的輕鏈可變區。根據本發明實施例的上述抗體能夠特異性的靶向結合TrkA受體，阻斷NGF和TrkA結合。

**【指定代表圖】** 圖2**【代表圖之符號簡單說明】** 無

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 人源化抗TrkA的抗體及其應用

【英文發明名稱】 Humanized anti-TrkA antibodies and uses thereof

### 【技術領域】

【0001】 本發明涉及生物技術領域，具體地，本發明涉及人源化抗TrkA的抗體及其應用，更具體地，本發明涉及能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段、核酸分子、表達載體、重組細胞、藥物組合物、製藥用途以及檢測TrkA的試劑盒。

### 【先前技術】

【0002】 目前臨床上對於輕至中度疼痛，主要使用非阿片類鎮痛藥，如非甾體類抗炎藥（NSAIDs）；對於中至重度疼痛，主要使用阿片類鎮痛藥。然而，NSAIDs存在「封頂效應」，阿片僅能使不到30%的非腫瘤性慢性疼痛得到有效緩解，20%的癌痛患者存在阿片類藥物耐藥。此外，NSAIDs存在胃腸道和心血管安全性隱患，長期用藥過程中尤其明顯。對於阿片類鎮痛藥，多年的藥物改進實驗未能有效的降低其成癮性和其它諸多副作用，患者期許新的更安全有效的藥物。

【0003】 神經生長因數（NGF，nerve growth factor）參與疼痛的病理生理過程，主要通過結合高親和力的酪氨酸激酶（tyrosine-kinase，TrkA）受體啟動NGF-TrkA信號通路，影響炎症介質的釋放、離子通道的開放以及促進神經纖維的生長，從而參與疼痛的發生，傳導以及增敏過程。研究表明，阻斷NGF-

TrkA 信號通路可以有效的緩解疼痛和痛覺過敏，NGF-TrkA信號通路是開發新型鎮痛藥物的有效靶點。然而NGF可能具有多種不期望的激動劑特性。通過TrkA單克隆抗體選擇性的靶向結合TrkA受體，不僅可以阻斷NGF對TrkA信號通路的啟動，有效的抑制疼痛信號的傳遞，又不會發生像使用抗NGF抗體過度中和NGF所帶來的骨關節壞死等不可預測的毒副作用。因此，針對NGF-TrkA靶點的靶向TrkA的鎮痛藥物，可能代表一種更好的治療選擇。

**【0004】** 在人類中動物來源的單克隆抗體的治療性和診斷性應用具有基本禁忌徵候，特別是對於必需重複給藥的治療方案。具體地，鼠單克隆抗體具有相對短的半衰期，並且當用於人類時，缺乏一些免疫球蛋白的基本功能特性，如補體依賴性細胞毒性和細胞介導的細胞毒性。另外，如果注射入患者體內的話，非人源的單克隆抗體包含免疫原性胺基酸序列。儘管所謂嵌合性抗體(可變的鼠區域連接到人源的恆定區)已經產生了一些陽性結果，但仍然會存在免疫原性問題。

#### **【發明內容】**

**【0005】** 本申請是基於發明人對下列問題和事實的發現而提出的：

**【0006】** NGF-TrkA信號通路作為開發新型鎮痛藥物的有效靶點，如果通過TrkA單克隆抗體選擇性的靶向結合TrkA受體，不僅可以阻斷NGF對TrkA信號通路的啟動，有效的抑制疼痛信號的傳遞，又不會發生像使用抗NGF抗體過度中和NGF所帶來的骨關節壞死等不可預測的毒副作用。但由於TrkA分子是受體膜蛋白，篩選阻斷型抗TrkA單克隆抗體的難度比較大，其次，設計阻斷TrkA受體抗體存在由於抗體介導免疫反應導致的安全性風險，因此，設計開發針對

TrkA的單克隆抗體難度比較大。

【0007】 本申請的發明人前期不僅成功地篩選到了一種新型的具有長效鎮痛作用的抗TrkA單克隆抗體，更重要的是，發明人將篩選出來的鼠源抗TrkA單克隆抗體經人源化改造成了人源化單克隆抗體。具體地，將雜交瘤技術篩選得到的鼠源抗TrkA單克隆抗體的FR區和恆定區替換為人源的，保留鼠源抗TrkA單克隆抗體可變區的CDR，得到了一系列的抗TrkA的人源化單克隆抗體。發明人發現，本申請所獲得的這些人源化抗體候選物，具有和人鼠嵌合抗TrkA單克隆抗體23E12基本一致的體內外活性，不僅能夠特異性的靶向結合TrkA受體，阻斷NGF和TrkA結合，有效的抑制疼痛，而且相比於人鼠嵌合抗TrkA單克隆抗體具有更低的免疫原性以及更優的藥代動力學參數。

【0008】 其中，人鼠嵌合抗TrkA單克隆抗體23E12具有SEQ ID NO：1所示胺基酸序列的重鏈可變區VH0，和SEQ ID NO：9所示胺基酸序列的輕鏈可變區VL0。

【0009】 在本發明的的第一方面，本發明提出了一種能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段。根據本發明的實施例，所述抗體或其抗原結合片段具有重鏈可變區，其包含SEQ ID NO:41所示的VH-CDR1、SEQ ID NO:42或SEQ ID NO:43所示的VH-CDR2和SEQ ID NO:44所示的VH-CDR3；和輕鏈可變區，其包含SEQ ID NO:45所示的VL-CDR1、SEQ ID NO:46或SEQ ID NO:47所示的VL-CDR2和SEQ ID NO:48所示的VL-CDR3。

GYAFTNYWLG (SEQ ID NO:41)。

DFYPRTGNTF (SEQ ID NO:42)。

【0010】 GFYPRTGNTF (SEQ ID NO:43)。

【0011】 ARAGTGFDY (SEQ ID NO:44)。

【0012】 ENVGGYVS (SEQ ID NO:45) 。

【0013】 GASSRHT (SEQ ID NO:46) 。

【0014】 GASSRAT (SEQ ID NO:47) 。

【0015】 NYIYPFT (SEQ ID NO:48) 。

【0016】 根據本發明的實施例，所述抗體或其抗原結合片段具有重鏈可變區，其包含SEQ ID NO:41所示的VH-CDR1、SEQ ID NO:42所示的VH-CDR2和SEQ ID NO:44所示的VH-CDR3；和

【0017】 輕鏈可變區，其包含SEQ ID NO:45所示的VL-CDR1、SEQ ID NO:46所示的所示的VL-CDR2和SEQ ID NO:48所示的VL-CDR3 。

【0018】 根據本發明的實施例，所述抗體或其抗原結合片段具有重鏈可變區，其包含SEQ ID NO:41所示的VH-CDR1、SEQ ID NO:43所示的VH-CDR2和SEQ ID NO:44所示的VH-CDR3；和

【0019】 輕鏈可變區，其包含SEQ ID NO:45所示的VL-CDR1、SEQ ID NO:46所示的所示的VL-CDR2和SEQ ID NO:48所示的VL-CDR3 。

【0020】 根據本發明的實施例，所述抗體或其抗原結合片段具有重鏈可變區，其包含SEQ ID NO:41所示的VH-CDR1、SEQ ID NO:42所示的VH-CDR2和SEQ ID NO:44所示的VH-CDR3；和

【0021】 輕鏈可變區，其包含SEQ ID NO:45所示的VL-CDR1、SEQ ID NO:47所示的所示的VL-CDR2和SEQ ID NO:48所示的VL-CDR3 。

【0022】 根據本發明的實施例，所述抗體或其抗原結合片段具有重鏈可變區，其包含SEQ ID NO:41所示的VH-CDR1、SEQ ID NO:43所示的VH-CDR2和SEQ ID NO:44所示的VH-CDR3；和

【0023】 輕鏈可變區，其包含SEQ ID NO:45所示的VL-CDR1、SEQ ID NO:47所示的VL-CDR2和SEQ ID NO:48所示的VL-CDR3 。

【0024】 根據本發明的實施例，所述抗體或其抗原結合片段具有SEQ ID NO：2-8任一項所示胺基酸序列的重鏈可變區，和SEQ ID NO：10~13任一項所示胺基酸序列的輕鏈可變區。在本申請中，所述可變區包含鼠源的CDR和人源的框架區。

【0025】 在本申請中，SEQ ID NO：2-8依次被稱為VH1-VH7。SEQ ID NO：10~13依次被稱為VL1-VL4。

【0026】 **VH0**:QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWM  
KQRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNENFKGKVTLTADKSSNTAYMQLSSLTSE  
DSAVYLCARAGTGFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:1)。

【0027】 **VH1**:EVQLLES GGGLVQP GGSLKL SCKASGYAFTNYWLGWM  
KQRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNENFKGKVTLTADKSSNTAYMQLSSLTSE  
DSAVYLCARAGTGFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:2)。

【0028】 **VH2**:EVQLLES GGGLVQP GGSLKL SCKASGYAFTNYWLGWM  
KQRPGHGLEWIGGFYPRTGNTFYNNENFKGKVTLTADKSSNTAYMQLSSLTSE  
DSAVYLCARAGTGFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:3)。

【0029】 **VH3**:EVQLLES GGGLVQP GGSLKL SCKASGYAFTNYWLGWM  
KQRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNENFKGQVTMSVDKSITTAYLQWNSLKA  
SDTAMY YCARAGTGFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:4)。

【0030】 **VH4**:QVQLVQSGVEVKKPGASVKV SCKASGYAFTNYWLGW  
MKQRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNENFKGQVTMSVDKSITTAYLQWNSLK  
ASDTAMY YCARAGTGFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:5)。

【0031】 **VH5**:QVQLVQSGVEVKKPGASVKV SCKASGYAFTNYWLGW  
MKQRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNENFKGKVTITADKSSNTAYMQLSSLKA

SDTAVYYCCARAGTGFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:6) 。

【0032】 **VH6:**QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYWLGW  
VKQRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNENFKGKVTITADKSITTAAYMQLSSLKA  
SDTAVYYCCARAGTGFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:7) 。

【0033】 **VH7:**QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYWLGW  
MKQRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNENFKGKVTLTADKSSNTAAYMQLSSLT  
SEDSAVYLCCARAGTGFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:8) 。

【0034】 **VL0:**SIVMTQSPKSMMSVGERVTLSCKASENVGGYVSWYQQ  
KPDQSPKLLIYGASSRHTGVPDRFTGSGSETDFTLTISSVQAEDLAAYHCGQN  
YIYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:9) 。

【0035】 **VL1:**EIVMTQSPATLSLSVGERVTLSCKASENVGGYVSWYQQ  
KPDQSPKLLIYGASSRHTGVPDRFTGSGSETDFTLTISSVQAEDLAAYHCGQN  
YIYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:10) 。

【0036】 **VL2:**EIVMTQSPATLSLSVGERVTLSCKASENVGGYVSWYQQ  
KPDQSPKLLIYGASSRATGVPDRFTGSGSETDFTLTISSVQAEDLAAYHCGQN  
YIYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:11) 。

【0037】 **VL3:**EIVMTQSPATLSLSVGERVTLSCKASENVGGYVSWYQQ  
KPDQSPKLLIYGASSRHTGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYHCGQN  
YIYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:12) 。

【0038】 **VL4:**EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASENVGGYVSWYQQK  
PDQSPKLLIYGASSRHTGVPDRFTGSGSETDFTLTISSVQAEDLAAYHCGQNY  
IYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:13) 。

【0039】 其中，劃線部分分別為重鏈可變區CDR序列和輕鏈可變區CDR  
序列。

【0040】 根據本發明的實施例，所述抗體或其抗原結合片段具有選自下述的重鏈可變區和輕鏈可變區：

【0041】 (a) 由SEQ ID NO：2所示胺基酸序列的重鏈可變區和由SEQ ID NO：10所示胺基酸序列的輕鏈可變區；

【0042】 (b) 由SEQ ID NO：4所示胺基酸序列的重鏈可變區和由SEQ ID NO：10所示胺基酸序列的輕鏈可變區；或

【0043】 (c) 由SEQ ID NO：4所示胺基酸序列的重鏈可變區和由SEQ ID NO：11所示胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0044】 根據本發明的實施例，所述抗體或其抗原結合片段特異性識別TrkA的胞外區。

【0045】 根據本發明的實施例，所述抗體含有重鏈框架區序列和輕鏈框架區序列的至少之一，所述重鏈框架區序列和輕鏈框架區均來自於人源IgG抗體或其突變體。進而所述抗體的免疫原性可以得到有效降低。

【0046】 根據本發明的實施例，所述抗體的輕鏈恆定區來自於人源的Kappa輕鏈恆定區；重鏈恆定區來自於人源IgG4的重鏈恆定區。

【0047】 根據本發明的實施例，所述抗體的Fc區域與人源IgG4野生型的Fc相比具有S10P，F16A，L17A，R191K突變以及229 K缺失突變。其中，上述胺基酸位置的定位是以人源IgG4野生型Fc序列SEQ ID NO:16所示胺基酸序列進行定位的，如S10P，是指SEQ ID NO:16所示胺基酸序列的第10位S突變為P，依次類推。發明人發現，所述抗體的Fc區域具有上述突變以及缺失後，抗體的安全性、穩定性可以得到顯著提高，抗體在體內的半衰期也顯著延長。

【0048】 ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV  
VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD  
WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS

第7頁，共 47 頁(發明說明書)

LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR  
WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO:16)。

【0049】 根據本發明的實施例，所述抗體恆定區的全長序列如SEQ ID  
NO: 14或15所示。

【0050】 RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK  
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEEKHKVYACEVTHQG  
LSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:14)。

【0051】 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS  
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQKTYTCNVDPKPSNTKVD  
KRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSD  
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE  
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG  
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVF  
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG (SEQ ID NO:15)。

【0052】 其中，上述SEQ ID NO:14所示的抗體恆定區的全長序列為IgG4  
輕鏈恆定區。上述SEQ ID NO:15所示的抗體恆定區的全長序列包括IgG4重鏈恆  
定區和Fc區，其中，IgG4重鏈恆定區序列為

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF  
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQKTYTCNVDPKPSNTKVDKRV，Fc區序列  
為

ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSD  
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK  
CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY

SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCS  
VMHEALHNHYTQKSLSLGLG。

【0053】 根據本發明的實施例，所述抗體具有SEQ ID NO:17~23任一項所示胺基酸序列的重鏈和具有SEQ ID NO:24~27任一項所示胺基酸序列的輕鏈。在本申請中，SEQ ID NO：17~23依次被稱為H1-H7。SEQ ID NO：24~27依次被稱為L1-L4。另外，人鼠嵌合抗TrkA單克隆抗體23E12具有SEQ ID NO：28所示胺基酸序列的重鏈H0，和SEQ ID NO：29所示胺基酸序列的輕鏈L0。

【0054】 **H1:**EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCKASGYAFTNYWLGWMK  
QRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNENFKGKVTLTADKSSNTAYMQLSSLTSED  
SAVYLCARAGTGFDYWGQGTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG  
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTK  
TYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL  
MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV  
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS  
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL  
YSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG (SEQ ID  
NO:17)。

【0055】 **H2:**EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCKASGYAFTNYWLGWMK  
QRPGHGLEWIGGFYPRTGNTFYNENFKGKVTLTADKSSNTAYMQLSSLTSED  
SAVYLCARAGTGFDYWGQGTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG  
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTK  
TYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL  
MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV

VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS  
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL  
YSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG (SEQ ID  
NO:18)。

【0056】 H3:EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCKASGYAFTNYWLGWMK  
QRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNFKGQVTMSVDKSITAYLQWNSLKAS  
DTAMYYCARAGTGFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL  
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT  
KTYTCNVDPKPKSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT  
LMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR  
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP  
SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF  
LYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG (SEQ ID  
NO:19)。

【0057】 H4:QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYWLGWM  
KQRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNFKGQVTMSVDKSITAYLQWNSLKA  
SDTAMYYCARAGTGFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA  
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG  
TKTYTCNVDPKPKSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD  
TLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY  
RVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP  
PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF  
FLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG (SEQ ID  
NO:20)。

【0058】 H5:QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYWLGWM  
KQRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNFKGKVTITADKSITAYMQLSSLKAS  
DTAVYYCARAGTGFDYWGQGTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL  
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT  
KTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT  
LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR  
VVSVELTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP  
SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF  
LYSKLTVDKSRWQEGRVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSTLG (SEQ ID  
NO:21)。

【0059】 H6:QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYWLGWV  
KQRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNFKGKVTITADKSITAYMQLSSLKAS  
DTAVYYCARAGTGFDYWGQGTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL  
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT  
KTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT  
LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR  
VVSVELTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP  
SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF  
LYSKLTVDKSRWQEGRVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSTLG (SEQ ID  
NO:22)。

【0060】 H7:QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYWLGWM  
KQRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNFKGKVTITADKSSNTAYMQLSSLTSE  
DSAVYLCARAGTGFDYWGQGTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL  
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT

第11頁，共 47 頁(發明說明書)

KTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDT  
LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR  
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP  
SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF  
LYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG (SEQ ID  
NO:23)。

【0061】 L1:EIVMTQSPATLSLSVGERVTLSCKASENVGGYVSWYQQK  
PDQSPKLLIYGASSRHTGVPDRFTGSGSETDFTLTISSVQAEDLAAYHCGQNY  
IYPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV  
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTKADYEEKHKVYACEVT  
HQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:24)。

【0062】 L2:EIVMTQSPATLSLSVGERVTLSCKASENVGGYVSWYQQK  
PDQSPKLLIYGASSRATGVPDRFTGSGSETDFTLTISSVQAEDLAAYHCGQNY  
IYPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV  
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTKADYEEKHKVYACEVT  
HQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:25)。

【0063】 L3:EIVMTQSPATLSLSVGERVTLSCKASENVGGYVSWYQQK  
PDQSPKLLIYGASSRHTGVPARFSGSGGTDFTLTISSLEPEDFAVYHCGQNYI  
YPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV  
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTKADYEEKHKVYACEVT  
HQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:26)。

【0064】 L4:EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASENVGGYVSWYQQK  
DQSPKLLIYGASSRHTGVPDRFTGSGSETDFTLTISSVQAEDLAAYHCGQNYI  
YPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV

第12頁，共 47 頁(發明說明書)

QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYKHKVYACEVT  
HQGLSSPVTKSFNRGEC ( SEQ ID NO:27 ) 。

【0065】 H0:QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWMK  
QRPGHGLEWIGDFYPRTGNTFYNNFKGKVTLTADKSSNTAYMQLSSLTSED  
SAVYLCARAGTGFYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG  
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTK  
TYTCNVDHKPSNTKVKRVEVKYGPCCPCPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTL  
MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV  
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS  
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL  
YSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG ( SEQ ID  
NO:28 ) 。

【0066】 L0:SIVMTQSPKSMSSVGERVTLSCKASENVGGYVSWYQQK  
PDQSPKLLIYGASSRHTGVPDRFTGSGSETDFTLTISSVQAEDLAAYHCGQNY  
IYPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRKAV  
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYKHKVYACEVT  
HQGLSSPVTKSFNRGEC ( SEQ ID NO:29 ) 。

【0067】 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS  
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKD  
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV  
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG  
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN  
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK ( SEQ ID NO:49 ) 。

【0068】 上述SEQ ID NO:49所示的抗體恆定區的全長序列包括IgG1重鏈恆定區和Fc區，其中，IgG1重鏈恆定區序列為  
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF  
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVK，Fc區序列  
為  
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE  
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY  
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF  
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS  
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK。

【0069】 根據本發明的實施例，所述抗體具有所述抗體選自下述的重鏈和輕鏈：

【0070】 (a) 由SEQ ID NO：17所示胺基酸序列的重鏈和由SEQ ID NO：24所示胺基酸序列的輕鏈；

【0071】 (b) 由SEQ ID NO：19所示胺基酸序列的重鏈和由SEQ ID NO：24所示胺基酸序列的輕鏈；或

【0072】 (c) 由SEQ ID NO：19所示胺基酸序列的重鏈和由SEQ ID NO：25所示胺基酸序列的輕鏈。

【0073】 在本申請中，上述H1和L1所組成的具有IGHG4重鏈同型和Kappa同型輕鏈的人源化單克隆抗體被稱為H1L1-IgG4，上述H3和L1所組成的具有IGHG4重鏈同型和Kappa同型輕鏈的抗體被稱為H3L1-IgG4，上述H3和L2所組成的具有IGHG4重鏈同型和Kappa同型輕鏈的抗體被稱為H3L2-IgG4，上述H1和L1所組成的具有IGHG1重鏈同型和Kappa同型輕鏈的人源化單克隆抗體被稱為H1L1-IgG1。依次類推。

【0074】 根據本發明的實施例，所述抗體為單鏈抗體、多聚體抗體、CDR移植抗體。

【0075】 根據本發明的實施例，所述單鏈抗體包括SEQ ID NO:2-8任一項所示胺基酸序列的重鏈可變區和SEQ ID NO:10-13任一項所示胺基酸序列的輕鏈可變區，其中所述重鏈可變區的C端通過連接肽linker與所述輕鏈可變區的N端相連，或所述輕鏈可變區的C端通過連接肽linker與所述重鏈可變區的N端相連。需要說明的是，本申請所述的單鏈抗體的「連接肽linker」為用於連接抗體重鏈可變區和輕鏈可變區的連接肽，其可為製備單鏈抗體的常用連接肽linker，也可為經過科研工作者改造後的連接肽Linker。在某些實施方式中，所述連接肽可以為富含G的多肽，例如，其可以選自(G)3-S(即“GGGS”)、(G)4-S(即“GGGS”)和(G)5-S(即“GGGGGS”)，例如GGGGSGGGGSGGGGS。

【0076】 根據本發明的實施例，所述抗原結合片段包括Fab、Fab'、F(ab)2、F(ab')2、Fv、scFv-Fc融合蛋白、scFv-Fv融合蛋白以及最小識別單位的至少之一。

【0077】 在本發明的第二方面，本發明提出了一種核酸分子。根據本發明的實施例，所述核酸分子編碼前面所述的抗體或其抗原結合片段。根據本發明實施例的核酸分子所編碼的抗體或抗原結合片段可特異性靶向結合TrkA，阻斷NGF和TrkA的結合。

【0078】 根據本發明的實施例，上述核酸分子還可以進一步包括如下附加技術特徵至少之一：

【0079】 根據本發明的實施例，所述核酸分子為DNA。

【0080】 根據本發明的實施例，所述核酸分子具有如SEQ ID NO:30~36任一項所示核苷酸序列或具有SEQ ID NO:37~40任一項所示核苷酸序列。

【0081】 GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGCAGC

第15頁，共 47 頁(發明說明書)

CAGGAGGCTCTCTGAAGCTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACGCTTTCACC  
AACTATTGGCTGGGATGGATGAAGCAGAGGCCAGGACACGGACTGGAGT  
GGATCGGCGACTTTTACCCTCGGACCGGCAACACATTCTATAACGAGAAC  
TTCAAGGGCAAGGTGACCCTGACAGCCGATAAGTCCAGCAATACCGCTTA  
CATGCAGCTGTCTTCCCTGACATCCGAGGACTCCGCCGTGTACCTGTGCG  
CTAGGGCTGGAACCGGATTCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACACTGACA  
GTGAGCTCTGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTTG  
TAGCCGGTCCACCTCCGAGTCCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGG  
ACTACTTTCCCGAACCCGTTACCGTGAGCTGGAATAGCGGGCGCTTTAACCC  
TCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTCCAGTCCTCCGGTTTATACTCT  
TTATCCTCCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCCAGCCTCGGCACCAAGACCTAC  
ACTTGTAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGG  
TGGAGTCCAAGTACGGACCTCCTTGTCCTCCCTTGCCCCGCCCCCGAGGCC  
GCTGGCGGACCCTCCGTGTTCCCTCTTCCCCCCCCAAACCCAAGGACACTTTA  
ATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACTTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCA  
AGAAGACCCCGAGGTGCAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTG  
CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACC  
GGGTGGTGTCCGTGCTCACCGTGCTGCATCAAGATTGGCTGAACGGCAAG  
GAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGGACTGCCAGCTCCATCGAGA  
AGACCATCAGCAAGGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCTCAAGTTTATAC  
ACTGCCCCCAGCCAAGAAGAGATGACCAAGAACCAAGTTTCTTTAACTT  
GTTTAGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCTGTGGAGTGGGAGTCC  
AATGGCCAGCCCGAAAACAATTATAAGACCACCCCCCCCCGTGCTGGACTC  
CGATGGTTCTTTTTTTTTTATACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTCGTTG

GCAAGAAGGCAACGTGTTCTCTTGTAGCGTGATGCACGAGGCTTTACACA  
ACCACTACACCCAGAAGTCTTTATCTCTGTCTTTAGGC (SEQ ID  
NO:30)。

【0082】 GAGGTGCAGCTGCTGGAGAGCGGCGGGCGGCCTGGTGCAGC  
CCGGCGGCAGCCTGAAGCTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACGCCTTCACC  
AACTACTGGCTGGGCTGGATGAAGCAGAGGCCCGGCCACGGCCTGGAGT  
GGATCGGCGGCTTCTACCCAGGACCGGCAACACCTTCTACAACGAGAAC  
TTCAAGGGCAAGGTGACCCTGACCGCCGACAAGAGCAGCAACACCGCCT  
ACATGCAGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACCTGTG  
CGCCAGGGCCGGCACCGGCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACACCCTG  
ACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCTGGCTCC  
TTGTAGCCGGTCCACCTCCGAGTCCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTCGTGA  
AGGACTACTTTCCCGAACCCGTTACCGTGAGCTGGAATAGCGGGCGCTTTA  
ACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTCCAGTCCTCCGGTTTATAC  
TCTTTATCCTCCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCCAGCCTCGGCACCAAGACC  
TACACTTGTAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA  
GGGTGGAGTCCAAGTACGGACCTCCTTGTCCTCCCTTGCCCCGCCCCCGAG  
GCCGCTGGCGGACCCTCCGTGTTCCCTCTTCCCCCCAAACCCAAGGACAC  
TTTAATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACTTGTGTGGTGGTGGACGTGT  
CCCAAGAAGACCCCGAGGTGCAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGA  
GGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGGGAGGAACAGTTCAACTCCACC  
TACCGGGTGGTGTCCGTGCTCACCGTGCTGCATCAAGATTGGCTGAACGG  
CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGGACTGCCAGCTCCATC  
GAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCTCAAGTTT

第17頁，共 47 頁(發明說明書)

ATACACTGCCCCCAGCCAAGAAGAGATGACCAAGAACCAAGTTTCTTTA  
ACTTGTTTAGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCTGTGGAGTGGGA  
GTCCAATGGCCAGCCCGAAAACAATTATAAGACCACCCCCCCCCGTGCTGG  
ACTCCGATGGTTCTTTTTTTTTTATACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTC  
GTTGGCAAGAAGGCAACGTGTTCTCTTGTAGCGTGATGCACGAGGCTTTA  
CACAACCACTACACCCAGAAGTCTTTATCTCTGTCTTTAGGC (SEQ ID  
NO:31)。

【0083】 GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGAGGAGGACTGGTGCAGC  
CAGGAGGCTCTCTGAAGCTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACGCTTTCACC  
AACTATTGGCTGGGATGGATGAAGCAGAGGCCAGGACACGGACTGGAGT  
GGATCGGCGACTTTTACCCTCGGACCGGCAATACATTCTATAACGAGAAC  
TTCAAGGGCCAGGTGACAATGTCTGTGGATAAGTCCATCACCACAGCCTA  
CCTGCAGTGGAACAGCCTGAAGGCCTCTGACACCGCTATGTACTATTGTG  
CCAGGGCTGGCACAGGCTTCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACACTGACC  
GTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTTG  
TAGCCGGTCCACCTCCGAGTCCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGG  
ACTACTTTCCCGAACCCGTTACCGTGAGCTGGAATAGCGGCGCTTTAACC  
TCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTCCAGTCCTCCGGTTTATACTCT  
TTATCCTCCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCCAGCCTCGGCACCAAGACCTAC  
ACTTGTAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGG  
TGGAGTCCAAGTACGGACCTCCTTGTCCCCCTTGCCCCGCCCCCGAGGCC  
GCTGGCGGACCCTCCGTGTTCTCTTCCCCCCCCAAACCCAAGGACACTTTA  
ATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACTTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCA  
AGAAGACCCCGAGGTGCAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTG

第18頁，共 47 頁(發明說明書)

CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACC  
GGGTGGTGTCCGTGCTCACCGTGCTGCATCAAGATTGGCTGAACGGCAAG  
GAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGGACTGCCAGCTCCATCGAGA  
AGACCATCAGCAAGGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCTCAAGTTTATAC  
ACTGCCCCCAGCCAAGAAGAGATGACCAAGAACCAAGTTTCTTTAACTT  
GTTTAGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCTGTGGAGTGGGAGTCC  
AATGGCCAGCCCGAAAACAATTATAAGACCACCCCCCGTGCTGGACTC  
CGATGGTTCTTTTTTTTTATACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTCGTTG  
GCAAGAAGGCAACGTGTTCTCTTGTAGCGTGATGCACGAGGCTTTACACA  
ACCACTACACCAGAAGTCTTTATCTCTGTCTTTAGGC ( SEQ ID  
NO:32) 。

【0084】 CAAGTGCAACTGGTTCAATCTGGAGTGGAAAGTTAAGAAGC  
CTGGTGCCAGCGTTAAAGTGAGTTGCAAAGCCAGCGGATATGCCTTTACC  
AACTATTGGCTGGGCTGGATGAAACAGAGGCCTGGCCATGGTCTGGAATG  
GATCGGAGACTTTTATCCACGCACCGGCAACACATTCTATAACGAGAACT  
TCAAAGGTCAGGTGACCATGTCCGTGGATAAGAGCATCACTACCGCTTAC  
CTCCAGTGGAACAGTCTGAAGGCTTCTGACACCGCCATGTACTACTGCGC  
TAGGGCAGGCACCGGGTTCGACTACTGGGGTCAAGGGACCACCCTCACC  
GTGAGTAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTTG  
TAGCCGGTCCACCTCCGAGTCCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGG  
ACTACTTTCCCGAACCCTGTTACCGTGAGCTGGAATAGCGGCGCTTTAACC  
TCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTCCAGTCCTCCGGTTTATACTCT  
TTATCCTCCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCCAGCCTCGGCACCAAGACCTAC  
ACTTGTAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGG

第19頁，共 47 頁(發明說明書)

TGGAGTCCAAGTACGGACCTCCTTGTCCCCCTTGCCCCGCCCCCGAGGCC  
GCTGGCGGACCCTCCGTGTTCTTCTTCCCCCCAAACCCAAGGACACTTTA  
ATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACTTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCA  
AGAAGACCCCGAGGTGCAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTG  
CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACC  
GGGTGGTGTCCGTGCTCACCGTGCTGCATCAAGATTGGCTGAACGGCAAG  
GAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGGACTGCCAGCTCCATCGAGA  
AGACCATCAGCAAGGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCTCAAGTTTATAC  
ACTGCCCCCAGCCAAGAAGAGATGACCAAGAACCAAGTTTCTTTAACTT  
GTTTAGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCTGTGGAGTGGGAGTCC  
AATGGCCAGCCCGAAAACAATTATAAGACCACCCCCCCCCGTGCTGGACTC  
CGATGGTTCTTTTTTTTTATACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTCGTTG  
GCAAGAAGGCAACGTGTTCTTGTAGCGTGATGCACGAGGCTTTACACA  
ACCACTACACCAGAAGTCTTTATCTCTGTCTTTAGGC ( SEQ ID  
NO:33) 。

【0085】 CAAGTGCAGCTGGTTCAAAGTGGTGTGAAGTTAAGAAGC  
CTGGAGCTAGTGTGAAGGTGTCCTGTAAGGCCTCCGGCTATGCCTTTACA  
AACTACTGGCTCGGGTGGATGAAGCAGCGCCAGGACACGGTCTGGAAT  
GGATTGGCGACTTTTACCCACGGACAGGAAATACATTCTATAATGAAAAC  
TTCAAAGGCAAAGTGACCATCACAGCCGATAAGTCCATTACCACTGCATA  
CATGCAGCTCAGTAGTCTCAAAGCTAGTGATACAGCAGTGTATTACTGCG  
CCAGGGCCGGCACCGGGTTCGACTACTGGGGGCAGGGAACCACCCTCAC  
CGTGAGCTCTGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTT  
GTAGCCGGTCCACCTCCGAGTCCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAG

第20頁，共 47 頁(發明說明書)

GACTACTTTCCCGAACCCGTTACCGTGAGCTGGAATAGCGGCGCTTTAAC  
CTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTCCAGTCCTCCGGTTTATACTC  
TTTATCCTCCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCCAGCCTCGGCACCAAGACCTA  
CACTTGTAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGG  
GTGGAGTCCAAGTACGGACCTCCTTGTCCCCCTTGCCCCGCCCCCGAGGC  
CGCTGGCGGACCCTCCGTGTTCTTCTTCCCCCCAAACCCAAGGACACTTT  
AATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACTTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCC  
AAGAAGACCCCGAGGTGCAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGT  
GCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGGGAGGAAACAGTTCAACTCCACCTAC  
CGGGTGGTGTCCGTGCTCACCGTGCTGCATCAAGATTGGCTGAACGGCAA  
GGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGGACTGCCAGCTCCATCGAG  
AAGACCATCAGCAAGGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCTCAAGTTTATA  
CACTGCCCCCCAGCCAAGAAGAGATGACCAAGAACCAAGTTTCTTTAACT  
TGTTTAGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCTGTGGAGTGGGAGTC  
CAATGGCCAGCCCGAAAACAATTATAAGACCACCCCCCGTGCTGGACT  
CCGATGGTTCTTTTTTTTTTATACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTCGTT  
GGCAAGAAGGCAACGTGTTCTTGTAGCGTGATGCACGAGGCTTTACAC  
AACCACTACACCAGAAGTCTTTATCTCTGTCTTTAGGC (SEQ ID  
NO:34)。

【0086】 CAAGTCCAAGTGGTTCAATCTGGCGTGGAAGTCAAGAAGC  
CCGGAGCCTCCGTGAAGGTGAGCTGCAAGGCAAGCGGCTATGCATTC  
AACTACTGGCTCGGATGGGTGAAACAACGGCCAGGACATGGCCTGGAAT  
GGATCGGCGACTTCTACCCTAGGACTGGCAACACTTTCTATAACGAGAAC  
TTTAAGGGCAAGGTCACCATTACAGCTGATAAGAGTATCACTACCGCCTA

第21頁，共 47 頁(發明說明書)

CATGCAGCTGTCTTCCCTGAAAGCTAGTGATACAGCCGTTTATTACTGTGC  
TCGGGCTGGCACAGGATTCGATTATTGGGGACAGGGTACCACACTCACAG  
TGTCCTCTGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTTGTA  
GCCGGTCCACCTCCGAGTCCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGAC  
TACTTTCCCGAACCCGTTACCGTGAGCTGGAATAGCGGCGCTTTAACCTC  
CGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTCCAGTCCTCCGGTTTATACTCTTT  
ATCCTCCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCCAGCCTCGGCACCAAGACCTACA  
CTTGTAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGT  
GGAGTCCAAGTACGGACCTCCTTGTCCTCCCTTGCCCCGCCCCCGAGGCCG  
CTGGCGGACCCTCCGTGTTCTCTTCCCCCCCCAAACCCAAGGACACTTTAA  
TGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACTTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAA  
GAAGACCCCGAGGTGCAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGC  
ACAACGCCAAGACCAAGCCTAGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACCG  
GGTGGTGTCCGTGCTCACCGTGCTGCATCAAGATTGGCTGAACGGCAAGG  
AGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGGACTGCCAGCTCCATCGAGAA  
GACCATCAGCAAGGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCTCAAGTTTATACA  
CTGCCCCCAGCCAAGAAGAGATGACCAAGAACCAAGTTTCTTTAACTTG  
TTTAGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCTGTGGAGTGGGAGTCCA  
ATGGCCAGCCCGAAAACAATTATAAGACCACCCCCCCCCGTGCTGGACTCC  
GATGGTTCTTTTTTTTTTATACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTCGTTGG  
CAAGAAGGCAACGTGTTCTCTTGTAGCGTGATGCACGAGGCTTTACACAA  
CCACTACACCAGAAAGTCTTTATCTCTGTCTTTAGGC (SEQ ID NO:35)。

【0087】 CAAGTTCAGCTGGTGCAATCCGGTGTCTCGAGGTGAAGAAAC  
CAGGCGCAAGCGTGAAAGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGCTATGCCTTCACT

第22頁，共 47 頁(發明說明書)

AACTACTGGCTCGGCTGGATGAAGCAGAGGCCCGGACATGGGCTGGAGT  
GGATCGGAGACTTCTATCCCAGAACTGGAAACACCTTTTACAACGAGAAT  
TTCAAGGGCAAGGTCACCCTGACTGCCGACAAATCCTCTAACACAGCTTA  
CATGCAGCTGAGCAGTCTGACATCCGAAGACTCTGCAGTTTACCTGTGTG  
CTCGGGCAGGCACAGGCTTCGATTATTGGGGGCAAGGGACCACTCTGACT  
GTGTCTTCCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTTGT  
AGCCGGTCCACCTCCGAGTCCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGA  
CTACTTTCCCGAACCCGTTACCGTGAGCTGGAATAGCGGCGCTTTAACCT  
CCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTCCAGTCCTCCGGTTTATACTCTT  
TATCCTCCGTGGTGACCGTGCCTTCCCTCCAGCCTCGGCACCAAGACCTAC  
ACTTGTAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGG  
TGGAGTCCAAGTACGGACCTCCTTGTCCTTCCCCCTTGCCCCGCCCCCGAGGCC  
GCTGGCGGACCCTCCGTGTTCCCTCTTCCCCCCCCAAACCCAAGGACACTTTA  
ATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACTTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCA  
AGAAGACCCCGAGGTGCAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTG  
CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACC  
GGGTGGTGTCCGTGCTCACCGTGCTGCATCAAGATTGGCTGAACGGCAAG  
GAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGGACTGCCAGCTCCATCGAGA  
AGACCATCAGCAAGGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCTCAAGTTTATAC  
ACTGCCCCCAGCCAAGAAGAGATGACCAAGAACCAAGTTTCTTTAACTT  
GTTTAGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCTGTGGAGTGGGAGTCC  
AATGGCCAGCCCGAAAACAATTATAAGACCACCCCCCCCCGTGCTGGACTC  
CGATGGTTCTTTTTTTTTTATACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTCGTTG  
GCAAGAAGGCAACGTGTTCTTGTAGCGTGATGCACGAGGCTTTACACA

第23頁，共 47 頁(發明說明書)

ACCACTACACCCAGAAGTCTTTATCTCTGTCTTTAGGC (SEQ ID  
NO:36) 。

**【0088】** GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCAGCCACACTGAGCCTGT  
CTGTGGGAGAGAGGGTGACCCTGTCTTGCAAGGCTTCCGAGAACGTGGGC  
GGCTACGTGAGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGACCAGTCTCCTAAGCTGCT  
GATCTACGGAGCCTCCAGCAGGCACACAGGAGTGCCAGACCGGTTCCACC  
GGATCCGGAAGCGAGACAGACTTCACCCTGACAATCTCTTCCGTGCAGGC  
TGAGGATCTGGCCGCTTATCATTGTGGCCAGAATTACATCTATCCCTTCAC  
CTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGCGGACCGTGGCTGCCCCCT  
CCGTGTTTCATCTTCCCCCCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCT  
AGCGTGGTGTGTTTACTGAACAACCTTCTACCCTCGTGAGGCCAAGGTGCA  
GTGGAAGGTGGACAACGCTTTACAGTCCGGCAACTCCCAAGAATCCGTGA  
CCGAGCAAGATTCCAAGGACTCCACCTACTCTTTATCCTCCACTTTAACTT  
TATCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGGTGTACGCTTGTGAGGTGAC  
CCATCAAGGTTTATCCTCCCCCGTGACCAAGTCCTTCAATCGTGGCGAGT  
GC (SEQ ID NO:37) 。

**【0089】** GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCAGCCACACTGAGCCTGT  
CTGTGGGAGAGAGGGTGACCCTGTCTTGCAAGGCTTCCGAGAACGTGGGC  
GGCTACGTGAGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGACCAGTCTCCTAAGCTGCT  
GATCTACGGAGCCTCCAGCAGGGCTACAGGAGTGCCAGACCGGTTCCACC  
GGATCCGGAAGCGAGACAGACTTCACCCTGACAATCTCTTCCGTGCAGGC  
CGAGGATCTGGCCGCTTATCACTGTGGCCAGAATTACATCTATCCCTTCAC  
CTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGCGGACCGTGGCTGCCCCCT  
CCGTGTTTCATCTTCCCCCCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCT

第24頁，共 47 頁(發明說明書)

AGCGTGGTGTGTTTACTGAACAACCTTCTACCCTCGTGAGGCCAAGGTGCA  
GTGGAAGGTGGACAACGCTTTACAGTCCGGCAACTCCCAAGAATCCGTGA  
CCGAGCAAGATTCCAAGGACTCCACCTACTCTTTATCCTCCACTTTAACTT  
TATCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTTGTGAGGTGAC  
CCATCAAGGTTTATCCTCCCCCGTGACCAAGTCCTTCAATCGTGGCGAGT  
GC (SEQ ID NO:38) 。

【0090】 GAGATCGTGATGACCCAGAGCCCTGCCACACTGAGCCTGT  
CTGTGGGCGAGAGGGTGACCCTGTCCTGCAAGGCCTCCGAGAACGTGGG  
CGGCTACGTGTCTTGGTATCAGCAGAAGCCCGACCAGTCCCCTAAGCTGC  
TGATCTACGGAGCCTCCAGCAGGCACACCGGAGTGCCAGCTCGGTTCTCC  
GGAAGCGGATCTGGCACAGACTTTACCCTGACAATCTCTTCCCTGGAGCC  
AGAGGATTCGCCGTGTATCATTGTGGCCAGAATTACATCTATCCCTTCAC  
CTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGCGGACCGTGGCTGCCCCCT  
CCGTGTTTCATCTTCCCCCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCT  
AGCGTGGTGTGTTTACTGAACAACCTTCTACCCTCGTGAGGCCAAGGTGCA  
GTGGAAGGTGGACAACGCTTTACAGTCCGGCAACTCCCAAGAATCCGTGA  
CCGAGCAAGATTCCAAGGACTCCACCTACTCTTTATCCTCCACTTTAACTT  
TATCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTTGTGAGGTGAC  
CCATCAAGGTTTATCCTCCCCCGTGACCAAGTCCTTCAATCGTGGCGAGT  
GC (SEQ ID NO:39) 。

【0091】 GAAATTGTGCTGACTCAGTCTCCTGCTACTCTGTCCCTGTC  
TCCTGGTGAACGGGCCACTCTGAGCTGCAAGGCCAGTGAAAATGTGGGTG  
GCTATGTTAGCTGGTATCAGCAAAAGCCCGACCAGTCTCCCAAAGTCTG  
ATCTACGGCGCTTCCAGTCGGCACACAGGCGTGCCAGATCGCTTTACTGG

GAGCGGCTCTGAGACTGACTTCACACTGACCATTAGCAGTGTCCAGGCCG  
AAGATCTCGCAGCCTATCATTGCGGCCAGAACTACATCTATCCATTCACC  
TTCGGTGGAGGAACCAAACCTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCTGCCCCCTC  
CGTGTTTCATCTTCCCCCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTA  
GCGTGGTGTGTTTACTGAACAACCTTCTACCCTCGTGAGGCCAAGGTGCAG  
TGGAAGGTGGACAACGCTTTACAGTCCGGCAACTCCCAAGAATCCGTGAC  
CGAGCAAGATTCCAAGGACTCCACCTACTCTTTATCCTCCACTTTAACTTT  
ATCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTTGTGAGGTGACC  
CATCAAGGTTTATCCTCCCCCGTGACCAAGTCCTTCAATCGTGGCGAGTG  
C (SEQ ID NO:40)。

【0092】 其中，上述SEQ ID NO:30~36所示核苷酸序列分別編碼重鏈H1~H7，上述SEQ ID NO:37~40所示核苷酸序列分別編碼輕鏈L1~L4。劃線部分分別編碼重鏈可變區VH1~VH7，以及輕鏈可變區VL1~VL4。

【0093】 在本發明的第三方面，本發明提出了一種表達載體。根據本發明的實施例，所述表達載體攜帶前面所述的核酸分子。根據本發明實施例的表達載體導入合適的受體細胞後，可在調控系統的介導下，有效實現前面所述的特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段表達，進而實現所述人源化抗體或抗原結合片段的體外大量獲得。

【0094】 根據本發明的實施例，上述表達載體還可以進一步包括如下附加技術特徵至少之一：

【0095】 根據本發明的實施例，所述表達載體為真核表達載體。進而實現前面所述的特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段在真核細胞中的表達，如CHO細胞。

【0096】 在本發明的第四方面，本發明提出了一種重組細胞。根據本發

第26頁，共 47 頁(發明說明書)

明的實施例，所述重組細胞攜帶前面所述的核酸分子，或者表達前面所述的人源化抗體或其抗原結合片段。根據本發明實施例的重組細胞可用於前面所述的特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段體外表達和大量獲得。

【0097】 根據本發明的實施例，上述重組細胞還可以進一步包括如下附加技術特徵至少之一：

【0098】 根據本發明的實施例，所述重組細胞是通過將前面所述的表達載體引入至宿主細胞中而獲得的。

【0099】 根據本發明的實施例，通過電轉導的方法將所述表達載體引入所述宿主細胞中。

【0100】 根據本發明的實施例，所述重組細胞為真核細胞。

【0101】 根據本發明的實施例，所述重組細胞為哺乳動物細胞。

【0102】 在本發明的第五方面，本發明提出了一種藥物組合物。根據本發明的實施例，所述藥物組合物含有前面所述的抗體，前面所述的核酸分子，前面所述的表達載體或前面所述的重組細胞。根據本發明實施例的藥物組合物中所包含的人源化抗體或表達的人源化抗體具有和人鼠嵌合抗TrkA單克隆抗體23E12基本一致的體內外活性，不僅能夠特異性的靶向結合TrkA受體，阻斷NGF和TrkA結合，有效的抑制疼痛，基本沒有抗體依賴的細胞介導的細胞毒性作用（ADCC）的特點，而且相比人鼠嵌合抗TrkA單克隆抗體23E12具有更低的免疫原性以及更優的藥代動力學參數。

【0103】 在本發明的第六方面，本發明提出了前面所述的抗體、前面所述的核酸分子、前面所述的表達載體或前面所述的重組細胞、前面所述的藥物組合物在製備藥物中的用途，所述藥物用於治療或者預防疼痛、癌症、炎症或炎性疾病、神經變性疾病、修葛蘭氏綜合症(Sjogren's syndrome)、子宮內膜異位、糖尿病性周圍神經病變、前列腺炎、盆腔疼痛綜合症、與骨重塑調節失衡

相關的疾病以及由結締組織生長因數異常信號傳導引起的疾病。

【0104】 根據本發明的實施例，上述用途還可以進一步包括如下附加技術特徵至少之一：

【0105】 根據本發明的實施例，所述藥物用於治療或預防神經性疼痛、炎性疼痛、與癌症有關的疼痛、與骨折有關的疼痛、與手術有關的疼痛、炎性肺病、間質性膀胱炎、痛性膀胱綜合症、炎性腸疾病、炎性皮膚病、雷諾氏綜合症、特發性肺纖維化、癍痕(肥大型、癍痕瘤型和其他形式)、硬化、心內膜心肌纖維化、心房纖維化、骨髓纖維化、進行性塊狀纖維化(肺)、腎源性系統性纖維化、硬皮病、系統性硬化、關節纖維化、眼部纖維化、非小細胞肺癌、乳頭狀甲狀腺癌、多形性成膠質細胞瘤、結腸直腸癌、黑色素瘤、膽管癌或肉瘤、急性骨髓性白血病、大細胞神經內分泌癌、成神經細胞瘤、前列腺癌、成神經細胞瘤、胰腺癌、黑色素瘤、頭頸鱗狀細胞癌或胃癌。

【0106】 在本發明的第七方面，本發明提出了一種檢測TrkA的試劑盒。根據本發明的實施例，所述試劑盒包括前面任一所述的抗體。前面所述的TrkA抗體能夠特異性靶向結合TrkA，根據本發明實施例的試劑盒可以實現TrkA的特異性檢測，如當抗體結合有螢光基團時，可以採用螢光檢測裝置實現對TrkA的定位或即時檢測。

【0107】 在本發明的第八方面，本發明提出了前面所述的抗體、前面所述的核酸分子、前面所述的表達載體或前面所述的重組細胞在製備試劑盒中的用途，所述試劑盒用於檢測TrkA或者診斷TrkA相關的疾病。

#### 【圖式簡單說明】

【0108】

〔圖1〕是根據本發明實施例的應用SEC-HPLC純度檢測方法評價人源化抗體的單體純度的結果圖。

〔圖2〕是根據本發明實施例的應用流式細胞術檢測人源化抗體與Human-TrKA的結合能力的實驗結果圖。

〔圖3〕是根據本發明實施例的應用流式細胞術檢測人源化抗體與Mouse-TrKA的結合能力的實驗結果圖。

〔圖4〕是根據本發明實施例的應用流式細胞術檢測人源化抗體對Human-NGF和Human-TrKA結合的抑制作用的結果圖。

〔圖5〕是根據本發明實施例的應用流式細胞術檢測人源化抗體對Mouse-NGF和Mouse-TrKA結合的抑制作用的結果圖。

〔圖6〕6A至6D是根據本發明實施例的應用流式細胞術檢測人源化抗體與靶標Human-TrKA結合的特異性的結果圖。

〔圖7〕是根據本發明實施例的應用ELISA方法評價人源化抗體小鼠體內的ADA的結果圖。

〔圖8〕是根據本發明實施例的應用ELISA方法評價人源化抗體小鼠體內的藥代動力學的結果圖。

〔圖9〕是根據本發明實施例的應用螢光素酶報告基因系統檢測人源化抗體的ADCC活性的結果圖。

〔圖10〕是根據本發明實施例的應用完全弗氏佐劑誘導炎疼痛模型評價人源化抗體的體內鎮痛活性的結果圖。

〔圖11〕是根據本發明實施例的應用NIH-3T3-TrkA細胞模型檢測人源化抗體的CDC活性的結果圖。

〔圖12〕是根據本發明實施例的應用NIH-3T3-TrkA細胞模型評價人源化抗體的體外活性的結果圖。

**【實施方式】**

**【0109】** 下面詳細描述本發明的實施例，所述實施例的示例在附圖中示出，其中自始至終相同或類似的標號表示相同或類似的元件或具有相同或類似功能的元件。下面通過參考附圖描述的實施例是示例性的，旨在用於解釋本發明，而不能理解為對本發明的限制。

**【0110】** 在對本發明描述的過程中，對於本文中有關的術語進行了解釋和說明，這些解釋和說明僅僅是為了方便對於方案的理解，並不能看作是對本發明保護方案的限制。

**【0111】 抗體**

**【0112】** 本文中，術語「抗體」是能夠與特異性抗原結合的免疫球蛋白分子。包括兩條分子量較輕的輕鏈和兩條分子量較重的重鏈，重鏈（H鏈）和輕鏈（L鏈）由二硫鍵連接形成一個四肽鏈分子。其中，肽鏈的氨基端（N端）胺基酸序列變化很大，稱為可變區（V區），羧基端（C端）相對穩定，變化很小，稱為恆定區（C區）。抗體的恆定區可介導該免疫球蛋白與宿主組織或因數的結合，所述宿主組織或因數包括免疫系統的多種細胞（例如，效應細胞）和經典補體系統的第一成分（C1q）。L鏈和H鏈的V區分別稱為VL和VH。

**【0113】** 在可變區中某些區域胺基酸組成和排列順序具有更高的變化程度，稱為高變區（Hypervariable region，HVR），高變區為抗原和抗體結合的位置，因此也稱為決定簇互補區（complementarity-determining region，CDR），它們散佈在稱為框架區（FR）的更保守的區域中。每個VH和VL可由三個CDR和四個FR區構成，它們從氨基端至羧基端可按以下順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。。

【0114】本發明利用TrkA胞外段，通過免疫獲得了高特異性的高親和力的抗TrkA的Fab（antigen-binding fragment）抗體片段。利用該抗體片段能夠與TrkA抗原特異性結合，從而可以靶向性治療疼痛或腫瘤等疾病。

【0115】在一些實施方案中，本發明提供了一種人源化抗體或抗原結合片段，所述人源化抗體或抗原結合片段具有SEQ ID NO：2~8任一項所示胺基酸序列的重鏈可變區和具有SEQ ID NO：10~13任一項所示胺基酸序列的輕鏈可變區。發明人通過抗體序列比對資料庫（NCBI、IMGT）可得到上述抗重鏈可變區序列的CDR區和輕鏈可變區序列的CDR區。在另一些實施方案中，所述抗體或抗原結合片段的重鏈可變區序列與SEQ ID NO: 2~8所示胺基酸序列相比，具有保守胺基酸取代。在一些實施方案中，所述抗體或抗原結合片段的輕鏈可變區序列與SEQ ID NO: 10~13任一項所示胺基酸序列相比，具有保守胺基酸取代。“抗原結合片段”是指保持特異性結合抗原（ROR2）能力的抗體片段。抗原結合片段的實施例包括但不限於Fv片段、二硫鍵穩定的Fv片段

（dsFv）、Fab片段、(Fab)<sub>2</sub>、scFv-Fc融合蛋白、scFv-Fv融合蛋白、Fv-Fc融合蛋白、由抗原結合片段形成的多特異性抗體、單結構域抗體、結構域抗體、二價結構域抗體或最小識別單位的至少之一。“保守胺基酸取代”指的是胺基酸被另一胺基酸發生生物學上、化學上或者結構上相似的殘基所取代。當然，這些保守胺基酸取代不會對抗體或者抗原結合片段的生物學功能帶來改變。在一些具體方式中，這些保守胺基酸取代可以發生在重鏈可變區和輕鏈可變區中除了CDR區之外的胺基酸上。生物學上相似的指的是該取代不破壞TrkA抗體或者與TrkA抗原的生物學活性。結構上相似指的是胺基酸具有相似長度的側鏈，如丙氨酸、甘氨酸或絲氨酸，或具有相似大小的側鏈。化學相似性指的是胺基酸具有相同的荷電或者都是親水或者疏水的。例如疏水殘基異亮氨酸、纈氨酸、亮氨酸或者甲硫氨酸相互取代。或者極性胺基酸相互取代，例如用精氨酸取代賴

氨酸、麩氨酸取代天冬氨酸、麩氨醯胺取代天冬醯胺，絲氨酸取代蘇氨酸等等。

【0116】術語「鼠源抗體」通常是指將來源於免疫接種過的小鼠的B細胞與骨髓瘤細胞融合，繼而篩選出既能無限增殖又能分泌抗體的鼠雜交融合細胞，進而篩選、製備抗體以及純化。

【0117】術語「嵌合抗體」是指通過組合非人源遺傳物質與人源遺傳物質而得來的抗體。「嵌合抗體」或「嵌合抗TrkA抗體」在本文中包括可變區序列源自一種物種而恆定區序列源自另一種物種的抗體，例如，可變區序列源自小鼠抗體而恆定區序列源自人抗體的抗體。

【0118】術語「人源化抗體」是指來源於非人物種但其蛋白序列已經被修改以增加其與人天然生成抗體的相似度的抗體。具體地，人源化抗體是指具有基本來源於非人物種免疫球蛋白的抗原結合位點的分子，其中所述分子其餘的免疫球蛋白結構基於人免疫球蛋白的結構和/或序列。所述抗原結合位點可包含融合至恆定結構域的完整可變結構域或僅包含移植(graft)至可變結構域中適當的構架區的互補決定區(CDR)。抗原結合位點可為野生型的，或者通過一個或更多個胺基酸替換進行修飾，例如，進行修飾以與人免疫球蛋白更為類似。一些形式的人源化抗體保留了全部CDR序列(例如，含有來自小鼠抗體的全部六個CDR的人源化小鼠抗體)。其它形式具有一個或更多個相對於原始抗體而言發生了改變的CDR。

【0119】在一些優選方案中，本發明提供了一種人源化抗TrkA抗體，該抗體具有SEQ ID NO:17~23任一項所示胺基酸序列的重鏈和具有SEQ ID NO:24~27任一項所示胺基酸序列的輕鏈。

【0120】在一些優選方案中，本發明提供了一種人源化抗TrkA單鏈抗體，該單鏈抗體包括SEQ ID NO:2-8任一項所示胺基酸序列的重鏈可變區和SEQ

ID NO:10-13任一項所示胺基酸序列的輕鏈可變區，其中，所述重鏈可變區的C端通過連接肽linker與所述輕鏈可變區的N端相連，或所述輕鏈可變區的C端通過連接肽linker與所述重鏈可變區的N端相連。

【0121】 核酸分子、表達載體、重組細胞

【0122】 在製備或者獲取這些抗體的過程中，可以利用表達這些抗體的核酸分子，與不同的載體連接，然後在不同細胞中表達，來獲得相應抗體。

【0123】 為此，本發明還提供了一種分離的核酸分子，所述核酸分子編碼上述所述的抗體或抗原結合片段。

【0124】 在一些實施方案中，所述分離核酸分子具有如SEQ ID NO:30~36任一項所示核苷酸序列或具有SEQ ID NO:37~40任一項所示核苷酸序列。

【0125】 在一些實施方案中，所述分離的核酸分子與上述SEQ ID NO:30~36所示的核苷酸序列至少具有90%以上的同源性，優選具有95%以上的同源性，更優選具有98%、99%以上的同源性。在至少一些實施方案中，所述分離的多核苷酸與所述SEQ ID NO:37~40所示的核苷酸序列至少具有90%以上的同源性，優選具有95%以上的同源性，更優選具有98%、99%以上的同源性。這些與SEQ ID NO:30~36或SEQ ID NO:37~40所示核苷酸序列具有同源性的序列，能夠表達與SEQ ID NO:17~23或SEQ ID NO:24~27相似的胺基酸序列，從而能夠與TrkA抗原特異性結合，實現抗體的靶向性功能。

【0126】 在一些優選實施方式中，所述分離的核酸分子具有SEQ ID NO:30~36所示的重鏈核苷酸序列和SEQ ID NO:37~40所示的輕鏈核苷酸序列。這些核苷酸序列經過種屬優化，更易在哺乳動物細胞中表達。

【0127】 本發明還提供了一種表達載體，所述表達載體包含上述分離的核酸分子。在將上述分離的多核苷酸連接到載體上時，可以將多核苷酸與載體上的控制元件直接或者間接相連，只要這些控制元件能夠控制多核苷酸的翻譯

和表達等即可。當然這些控制元件可以直接來自於載體本身，也可以是外源性的，即並非來自於載體本身。當然，多核苷酸與控制元件進行可操作地連接即可。本文中「可操作地連接」是指將外源基因連接到載體上，使得載體內的控制元件，例如轉錄控制序列和翻譯控制序列等等，能夠發揮其預期的調節外源基因的轉錄和翻譯的功能。當然用來編碼抗體重鏈和輕鏈的多核苷酸，可以分別獨立的插入到不同的載體上，常見的是插入到同一載體上。常用的載體例如可以為質粒、噬菌體等等。例如Plasmid-X質粒。

**【0128】** 本發明還提供了一種重組細胞，該重組細胞中包含有該表達載體。可以將表達載體導入到哺乳動物細胞中，構建獲得重組細胞，然後利用這些重組細胞表達本發明提供的人源化抗體或者抗原結合片段。通過該重組細胞進行培養，即可以獲得相應抗體。這些可用的哺乳動物細胞例如可以為CHO細胞等。

**【0129】** 藥物組合物、試劑盒及製藥用途和在製備試劑盒中的用途。

**【0130】** 本發明還提供了一種藥物組合物，所述藥物組合物包括上述所述的抗體或者抗原結合片段和藥學可接受的載體。

**【0131】** 本文提供的抗TrkA人源化抗體可以摻入適合受試者施用的藥物組合物中。通常，這些藥物組合物包括本文提供的抗TrkA人源化抗體以及藥學上可接受的載體。「藥學上可接受的載體」可以包括生理學上相容的任何和所有溶劑、分散介質、包衣、抗細菌劑和抗真菌劑、等滲劑和延遲吸收劑等等。具體實例可以是水、鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、葡萄糖、甘油、乙醇等以及它們的組合物中的一種或多種。有許多情況下，藥物組合物中包括等滲劑，例如糖類、多元醇(如甘露醇、山梨醇)或氯化鈉等。當然藥學上可接受的載體還可包括微量的輔助物質，例如潤濕劑或乳化劑、防腐劑或緩衝劑，用來延長抗體的保存限期或效力。

【0132】 例如，本發明的抗體可摻入適用於胃腸外施用(例如靜脈內、皮下、腹膜內、肌肉內)的藥物組合物中。這些藥物組合物可以被製備成各種形式。例如液體、半固體和固體劑型等，包括但不限於液體溶液(例如，注射溶液和輸注溶液)、分散劑或懸浮劑、片劑、丸劑、粉末、脂質體和栓劑。典型的藥物組合物為注射溶液或輸注溶液形式。所述抗體可通過靜脈輸注或注射或肌肉內或皮下注射來施用。

【0133】 當然，本文中的抗TrkA人源化抗體還可以根據需要被製成試劑盒或者其他診斷性試劑的一部分。根據本發明的實施例，本發明還提供了一種試劑盒，所述試劑盒包括上述TrkA抗體。應用本發明提供的試劑盒，例如可以用於免疫印跡、免疫沉澱等涉及到利用TrkA抗原和抗體特異性結合性能，來檢測的試劑盒等。這些試劑盒可包含下列中的任意一種或多種：拮抗劑、抗TrkA人源化抗體或者藥物參照材料；蛋白純化柱；免疫球蛋白親和純化緩衝劑；細胞的測定稀釋劑；說明書或者文獻等。抗TrkA人源化抗體可被用於不同類型的診斷測試，例如可以在體外或者體內檢測各種各樣的疾病或者藥物、毒素或者其他蛋白等的存在。例如可以通過對受試者的血清或者血液進行檢測，用來測試相關疾病。這種相關疾病可包括TrkA相關疾病，例如疼痛、癌症、炎症或炎性疾病、神經變性疾病、修葛蘭氏綜合症(Sjogren's syndrome)、子宮內膜異位、糖尿病性周圍神經病變、前列腺炎、盆腔疼痛綜合症、與骨重塑調節失衡相關的疾病以及由結締組織生長因數異常信號傳導引起的疾病等等。當然本文提供的抗體也可以用於上述疾病的放射免疫檢測和放射免疫治療等等。

【0134】 具體地，上述疼痛、炎症或炎性疾病、神經變性疾病、修葛蘭氏綜合症、子宮內膜異位、糖尿病性周圍神經病變、前列腺炎、盆腔疼痛綜合症、與骨重塑調節失衡相關的疾病以及由結締組織生長因數異常信號傳導引起的疾病包括神經性疼痛、炎性疼痛、與癌症有關的疼痛、與骨折有關的疼痛、

與手術有關的疼痛、炎性肺病、間質性膀胱炎、痛性膀胱綜合症、炎性腸疾病、炎性皮膚病、雷諾氏綜合症、特發性肺纖維化、癍痕(肥大型、癍痕瘤型和其他形式)、硬化、心內膜心肌纖維化、心房纖維化、骨髓纖維化、進行性塊狀纖維化(肺)、腎源性系統性纖維化、硬皮病、系統性硬化、關節纖維化、眼部纖維化。

【0135】 這些癌症或者腫瘤可以是任何不受調控的細胞生長。具體地，可以是非小細胞肺癌、乳頭狀甲狀腺癌、多形性成膠質細胞瘤、結腸直腸癌、黑色素瘤、膽管癌或肉瘤、急性骨髓性白血病、大細胞神經內分泌癌、前列腺癌、成神經細胞瘤、胰腺癌、黑色素瘤、頭頸鱗狀細胞癌或胃癌等等。

【0136】 在利用本發明所提供的抗TrkA人源化抗體治療上述疾病時，可以將本發明提供的抗TrkA人源化抗體提供給受試者即可。為此，本發明提供了一種用於治療上述疾病的方法，包括向有需要的受試者施用本發明所提供的抗體或其抗原結合片段。

【0137】 實施例1 鼠源抗TrKA單克隆抗體23E12可變區的人源化設計

【0138】 使用B細胞表位元分析軟體AbEpiMax，針對鼠源抗TrKA單克隆抗體23E12的可變區進行B細胞表位的免疫原性分析，找出抗體FR區具有較強B細胞表位的序列。

【0139】 然後，使用人類抗體FR庫中與原始序列具有高度3D結構同源性並且具有較弱的B細胞表位的序列替換抗體FR區具有強B細胞表位的序列，鼠源抗TrKA單克隆抗體23E12重輕鏈可變區以及23E12改造後的重輕鏈可變區序列如表1。

[表 1]

	重鏈可變區	序列	輕鏈可變區	序列
鼠源抗 TrKA 單克隆抗體 23E12 可變區	VH0	SEQ ID NO:1	VL0	SEQ ID NO:9
23E12 改造後的人源化抗 TrKA 單克隆抗體的可變區	VH1	SEQ ID NO:2	VL1	SEQ ID NO:10
	VH2	SEQ ID NO:3	VL2	SEQ ID NO:11
	VH3	SEQ ID NO:4	VL3	SEQ ID NO:12
	VH4	SEQ ID NO:5	VL4	SEQ ID NO:13
	VH5	SEQ ID NO:6		
	VH6	SEQ ID NO:7		
	VH7	SEQ ID NO:8		

**【0140】** 實施例2 載體的構建

**【0141】** 將採用分子克隆的方法構建一系列（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）人源化抗體表達載體，在CHO表達系統中，重組表達人源化抗體。編碼一系列（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）人源化單克隆抗體輕重鏈的核苷酸序列是委託金斯瑞生物科技有限公司通過化學合成獲得的，所獲得的序列經雙酶切後，插入到真核表達載體的相同酶切位點間，構建一系列（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）人源化單克隆抗體表達載體。然後採用Invitrogen 質粒提取試劑盒提取一系列經驗證正確的表達載體，並用限制性內切酶進行線性化後純化回收，-20 °C保藏。

**【0142】** 實施例3 編碼一系列人源化抗體載體轉染並在細胞中表達

**【0143】** 將CHO宿主細胞用CD CHO培養基復蘇培養後，當細胞密度約 $8 \times 10^5$  cell/mL時收集細胞進行轉染。轉染細胞約 $1 \times 10^7$  cell，載體約40  $\mu$ g，通過電擊方法轉染（Bio-Rad，Gene pulser Xcell）。電擊後細胞於20mL CD CHO培養基中培養。培養第二天，離心收集細胞，並在加入MSX至終濃度50  $\mu$ M的20 mL CD CHO培養基中重懸培養。當細胞密度約 $0.6 \times 10^6$  cell/mL時，對獲得的混合克隆株用CD CHO培養基進行傳代，傳代細胞密度約 $0.2 \times 10^6$  cell/mL。當細胞

存活率約90%時，收集細胞培養液。

【0144】 實施例4 收集細胞發酵培養液純化人源化抗體

【0145】 對一系列人源化單克隆抗體進行翻譯水準上的檢測。採用Protein A層析柱對收集的細胞培養液進行純化，並收集吸收峰，進行質譜檢測，質譜檢測一系列嵌合抗體分子量150KD左右，與理論分子量一致，為二聚體形式。同時對收集的樣品經還原與非還原後通過10% SDS-PAGE電泳檢測，還原型SDS-PAGE電泳圖譜顯示二條帶，分別在25KD和50KD左右，非還原型SDS-PAGE電泳圖譜顯示單一條帶，在150KD左右，電泳圖譜條帶大小與理論一致。純化後樣品採用pH7.0的0.01 M PBS緩衝液在4 °C透析過夜。

【0146】 實施例5 應用SEC-HPLC純度檢測方法評價人源化抗體的單體純度

【0147】 將人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）樣品以及嵌合抗體（H0L0-IgG4）樣品離心，取上清約80 ug注入HPLC檢測，通過SEC-HPLC檢測人源化抗體的單體峰面積百分比，峰面積百分比越高，單體純度越高。結果見圖1。圖中結果顯示，人源化抗體H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4的單體峰面積百分比分別為99.847%，99.738%，99.836%，嵌合抗體H0L0-IgG4的單體峰面積百分比為99.621%。表明，人源化抗體H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4以及嵌合抗體H0L0-IgG4的單體純度高。

【0148】 實施例6 應用流式細胞術評價人源化抗體與Human-TrKA的結合能力

【0149】 利用慢病毒技術構建HEK293T-HumanTrkA細胞模型。將人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）樣品以及嵌合抗體（H0L0-IgG4）樣品分別用PBS緩衝液稀釋至11個濃度梯度（20 µg/mL，10 µg/mL，5 µg/mL，2.5 µg/mL，1.25 µg/mL，0.625 µg/mL，0.313 µg/mL，0.156 µg/mL，

第38頁，共 47 頁(發明說明書)

0.078  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 0.039  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 0.019  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ) , 通過流式細胞術檢測各濃度梯度人源化抗體與HEK293T-HumanTrKA細胞表面Human-TrKA受體的結合情況 , 從細胞水準評價各人源化抗體與Human-TrKA的結合能力 , 結果見圖2。圖中 , EC50(半數結合濃度)值反映抗體與Human-TrKA的結合能力 ; EC50值越小 , 抗體與Human-TrKA的結合能力越強 , 抗體親和力越高。通常認為 , 高親和力抗體的EC50值低於1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。圖中結果顯示 , 人源化抗體H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4的EC50值分別為0.1307  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 0.1268  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 0.1683  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 嵌合抗體H0L0-IgG4的EC50值為0.08669  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。表明 , 人源化抗體H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4以及嵌合抗體H0L0-IgG4與Human-TrKA都有很強的結合能力 ; 與嵌合抗體H0L0-IgG4相比 , 人源化抗體H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4與Human-TrKA結合的親和力基本保持不變。

【0150】 實施例7 應用流式細胞術評價人源化抗體與Mouse-TrKA的結合能力

【0151】 利用慢病毒技術構建HEK293T-MouseTrkA細胞模型。將人源化抗體 (H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4) 樣品以及嵌合抗體 (H0L0-IgG4) 樣品分別用PBS緩衝液稀釋至11個濃度梯度 (20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 1.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 0.625  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 0.313  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 0.156  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 0.078  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 0.039  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 0.019  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ) , 通過流式細胞術檢測各濃度梯度人源化抗體與HEK293T-MouseTrKA細胞表面Human-TrKA受體的結合情況 , 從細胞水準評價各人源化抗體與Mouse-TrKA的結合能力 , 結果見圖3。圖中 , EC50(半數結合濃度)值反映抗體與Mouse-TrKA的結合能力 ; EC50值越小 , 抗體與Mouse-TrKA的結合能力越強 , 抗體親和力越高。通常認為 , 高親和力抗體的EC50值低於1.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。圖中結果顯示 , 人源化抗體H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4的EC50值分別為0.1341  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 0.1110  $\mu\text{g}/\text{mL}$  , 0.1254

$\mu\text{g/mL}$ ，嵌合抗體H0L0-IgG4的EC50值為0.1048  $\mu\text{g/mL}$ 。表明，人源化抗體H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4以及嵌合抗體H0L0-IgG4與Mouse-TrKA都有很強的結合能力；與嵌合抗體H0L0-IgG4相比，人源化抗體H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4與Mouse-TrKA結合的親和力基本保持不變。

**【0152】** 實施例 8 應用流式細胞術檢測人源化抗體對Human-NGF和Human-TrKA結合的抑制作用

**【0153】** 將Human-NGF生物素化，利用Human-NGF可以結合HEK293T-HumanTrkA細胞上的Human-TrkA蛋白胞外區，抗TrkA單克隆抗體也可以結合HEK293T-HumanTrkA細胞上的Human-TrkA蛋白胞外區，設計競爭性實驗，通過流式細胞術，檢測不同濃度（20  $\mu\text{g/mL}$ ，10  $\mu\text{g/mL}$ ，5  $\mu\text{g/mL}$ ，2.5  $\mu\text{g/mL}$ ，1.25  $\mu\text{g/mL}$ ，0.625  $\mu\text{g/mL}$ ，0.313  $\mu\text{g/mL}$ ，0.156  $\mu\text{g/mL}$ ，0.078  $\mu\text{g/mL}$ ，0.039  $\mu\text{g/mL}$ ，0.019  $\mu\text{g/mL}$ ）各人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）以及嵌合抗體（H0L0-IgG4）作用下，Human-NGF與HEK293T-HumanTrkA細胞上Human-TrkA蛋白胞外區結合情況，研究各人源化抗體對Human-NGF和Human-TrKA結合的抑制作用。實驗結果見圖4。圖中，parent %值反映了與HEK293T-HumanTrkA細胞上Human-TrkA蛋白胞外區結合的Human-NGF信號，讀值越低，與HEK293T-HumanTrkA細胞上Human-TrkA蛋白胞外區結合的Human-NGF信號越弱，抗體抑制Human-NGF與Human-TrKA結合的作用越大；如圖所示，隨著各人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）以及嵌合抗體（H0L0-IgG4）濃度的增加，parent %值逐漸降低，直到趨近於零，即與Human-TrkA蛋白胞外區結合的Human-NGF信號逐漸降低，直到沒有Human-NGF結合Human-TrkA蛋白胞外區，Human-NGF與Human-TrkA的結合全部抑制。人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）的IC50分別為0.7963  $\mu\text{g/mL}$ 、0.7405  $\mu\text{g/mL}$ 、0.6653  $\mu\text{g/mL}$ ，嵌合抗體（H0L0-IgG4）的IC50為

第40頁，共 47 頁(發明說明書)

0.8810  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；可見，一定的濃度範圍內，各人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）以及嵌合抗體（H0L0-IgG4）在細胞水準上能夠劑量依賴性的抑制Human-NGF與Human-TrkA的結合；與嵌合抗體（H0L0-IgG4）相比，人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）對Human-NGF和Human-TrkA結合的抑制作用基本保持不變。

【0154】 實施例 9 應用流式細胞術檢測人源化抗體對Mouse-NGF和Mouse-TrkA結合的抑制作用

【0155】 將Mouse-NGF生物素化，利用Mouse-NGF可以結合HEK293T-MouseTrkA細胞上的Mouse-TrkA蛋白胞外區，抗TrkA單克隆抗體也可以結合HEK293T-MouseTrkA細胞上的Mouse-TrkA蛋白胞外區，設計競爭性實驗，通過流式細胞術，檢測不同濃度（20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，1.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，0.625  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，0.313  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，0.156  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，0.078  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，0.039  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，0.019  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）各人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）以及嵌合抗體（H0L0-IgG4）作用下，Mouse-NGF與HEK293T-MouseTrkA細胞上Mouse-TrkA蛋白胞外區結合情況，研究各人源化抗體對Mouse-NGF和Mouse-TrkA結合的抑制作用。實驗結果見圖5。圖中，parent %值反映了與HEK293T-MouseTrkA細胞上Mouse-TrkA蛋白胞外區結合的Mouse-NGF信號，讀值越低，與HEK293T-MouseTrkA細胞上Mouse-TrkA蛋白胞外區結合的Mouse-NGF信號越弱，抗體抑制Mouse-NGF與Mouse-TrkA結合的作用越大；如圖所示，隨著各人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）以及嵌合抗體（H0L0-IgG4）濃度的增加，parent %值逐漸降低，直到趨近於零，即與Mouse-TrkA蛋白胞外區結合的Mouse-NGF信號逐漸降低，直到沒有Mouse-NGF結合Mouse-TrkA蛋白胞外區，Mouse-NGF與Mouse-TrkA的結合全部抑制。人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）的IC50分別為0.3848  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.2826

第41頁，共 47 頁(發明說明書)

$\mu\text{g/mL}$ 、 $0.2524 \mu\text{g/mL}$ ，嵌合抗體（H0L0-IgG4）的 $\text{IC}_{50}$ 為 $0.3959 \mu\text{g/mL}$ ；可見，一定的濃度範圍內，各人源化抗體H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）以及嵌合抗體（H0L0-IgG4）在細胞水準上能夠劑量依賴性的抑制Mouse-NGF與Mouse-TrkA的結合；與嵌合抗體（H0L0-IgG4）相比，人源化抗體H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）對Mouse-NGF和Mouse-TrkA結合的抑制作用基本保持不變。

**【0156】** 實施例 10 應用ELISA方法評價人源化抗體與靶標Human-TrkA結合的特異性

**【0157】** TrkA受體家族屬於受體酪氨酸激酶(RTKs)，包括TrkA、TrkB和TrkC，它們具有很高的同源性。TrkA是神經生長因數(NGF)的受體酪氨酸激酶，選擇性結合NGF，是NGF的功能性受體。除高親和力受體TrkA外，NGF還可與其低親和力受體p75結合。試驗中，通過ELISA方法檢測不同濃度（ $20 \mu\text{g/mL}$ ， $10 \mu\text{g/mL}$ ， $5 \mu\text{g/mL}$ ， $2.5 \mu\text{g/mL}$ ， $1.25 \mu\text{g/mL}$ ， $0.625 \mu\text{g/mL}$ ， $0.313 \mu\text{g/mL}$ ， $0.156 \mu\text{g/mL}$ ， $0.078 \mu\text{g/mL}$ ， $0.039 \mu\text{g/mL}$ ， $0.019 \mu\text{g/mL}$ ）人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）以及嵌合抗體（H0L0-IgG4）分別與TrkA、TrkB、TrkC、P75的結合情況，評價受試抗體與靶標Human-TrkA結合的特異性，結果如圖6所示。圖中，一定的抗體濃度下，OD450值反映抗體與蛋白的結合強弱，讀值越大抗體與蛋白的結合越強。實驗結果顯示，人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）以及嵌合抗體（H0L0-IgG4）與TrkA受體都有很好的結合（受試抗體濃度由 $0 \mu\text{g/mL}$ 增加到 $20 \mu\text{g/mL}$ ，OD450值逐漸增加直至趨近穩定，接近3左右），與TrkB、TrkC、P75基本不結合（各受試抗體濃度由 $0 \mu\text{g/mL}$ 增加到 $20 \mu\text{g/mL}$ ，OD450值基本沒有變化，接近於0）。可見，受試抗體與靶標Human-TrkA結合的特異性都很好。

**【0158】** 實施例 11 應用ELISA方法評價人源化抗體小鼠體內的ADA情況

第42頁，共 47 頁(發明說明書)

【0159】試驗中，將人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）以及嵌合抗體（H0L0-IgG4）分別免疫5隻小鼠，在給藥後第14天D14取尾靜脈血。使用PBS稀釋各人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）以及嵌合抗體（H0L0-IgG4）至1 µg/mL包被酶標板，每孔加入100 µL，4°C過夜反應；使用PBS溶液洗板3次，使用5% milk-PBS在室溫封閉1 hr；然後使用PBS溶液洗板1次；使用5% Milk-PBS緩衝液梯度稀釋小鼠尾血（1:500、1:1000、1:5000、1:10000、1:50000），並室溫放置1 hr，然後再將預反應的尾血加入至酶標板中，每孔100 µL，並設置陰性對照（NC），室溫反應1 hr；然後使用PBS溶液洗板3次，並進行拍乾後，加入1:2000稀釋的HRP標記的羊抗小鼠IgG（Fc）二抗，室溫反應1hr；PBS溶液洗板5次後，拍乾，加入100 µL底物顯色液TMB，避光、室溫條件下反應20 min；然後加入50 µL終止液，混勻後在酶標儀上讀取OD450值，結果見下圖7。圖中，OD450值反映產生的ADA強弱，讀值越大，產生的ADA越強。實驗結果顯示，與嵌合抗體（H0L0-IgG4）相比，人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）產生的ADA較弱；可見，人源化抗體（H1L1-IgG4、H3L1-IgG4、H3L2-IgG4）較嵌合抗體（H0L0-IgG4）具有更低的免疫原性。

【0160】實施例 12 應用ELISA方法評價人源化抗體小鼠體內藥代動力學情況

【0161】雄性ICR小鼠12隻，隨機平均分為4組，3隻/組，按1 mg/kg分別靜脈注射或皮下注射給予嵌合抗體H0L0-IgG4和人源化抗體H1L1-IgG4。分別於給藥後1、6、24、72、168、336、504、672 h采血並分離血漿（EDTA-K2抗凝），靜脈給藥組增加0.25 h采血。採用間接ECLA法分析各樣本中H0L0-IgG4或H1L1-IgG4的濃度。根據血漿藥物濃度計算藥代動力學參數，主要PK參數結

果見表2，藥時曲線見圖8。結果顯示，ICR小鼠靜脈注射H0L0-IgG4或H1L1-IgG4後，平均血漿半衰期分別為97 h和143 h；皮下注射H0L0-IgG4或H1L1-IgG4後，平均達峰時間分別為40 h和56 h，平均C<sub>max</sub>分別為6.61 µg/mL和9.49 µg/mL，平均AUC<sub>last</sub>分別為2120 µg·h/mL和3020 µg·h/mL，平均血漿半衰期分別為75 h和122 h，絕對生物利用度分別為89%和101%。可見，與嵌合抗體H0L0-IgG4相比，人源化抗體H1L1-IgG4具有更優的小鼠體內藥代動力學參數。

[表2]

組別	受試物	批號	給藥方式	劑量 mg/kg	t <sub>1/2</sub> h	T <sub>max</sub> h	C <sub>max</sub> µg/mL	AUC <sub>last</sub> µg·h/mL	V <sub>SS</sub> mL/kg	CL mL/h/kg	MRT h	F %
1	H0L0	20200524	<i>i.v.</i>	1	97	0.25	28.6	2390	76	0.47	170	/
2	H0L0	20200524	<i>s.c.</i>	1	75	40	6.61	2120	/	/	213	89
3	H1L1	20200524	<i>i.v.</i>	1	143	0.25	31.7	3000	71	0.33	200	/
4	H1L1	20200524	<i>s.c.</i>	1	122	56	9.49	3020	/	/	221	101

【0162】 實施例 13 應用螢光素酶報告基因系統檢測人源化抗體的ADCC活性

【0163】 抗體依賴性細胞毒性作用（ADCC）是指，當IgG抗體通過Fab段與靶細胞表面抗原決定簇特異性結合後，其Fc段可與有FcγR的殺傷細胞（NK細胞、單核-巨噬細胞、中性粒細胞）等效應細胞結合，觸發效應細胞的殺傷活性，直接殺傷靶細胞。試驗中，應用了穩定轉染CD16受體和NFAT(Nuclear Factor of Activated T-cells)反應原件的Jurkat-NFAT-Luc-CD16螢光素酶報告基因細胞系。當受試抗體的Fab段與靶細胞HEK293T-HumanTrKA細胞上抗原結合以後，抗體的Fc段與效應細胞Jurkat- NFAT-Luciferase-CD16細胞表面的（FcγRIIIA）結合，引起Jurkat-NFAT-Luciferase -CD16細胞內NFAT相關信號通路活化，進而導致螢光素酶表達水準上升。通過檢測不同濃度（100 µg/mL，20

$\mu\text{g/mL}$  ,  $4 \mu\text{g/mL}$  ,  $0.8 \mu\text{g/mL}$  ,  $0.16 \mu\text{g/mL}$  ,  $0.032 \mu\text{g/mL}$  ,  $0.0064 \mu\text{g/mL}$  ,  $0.00128 \mu\text{g/mL}$  ,  $0.000256 \mu\text{g/mL}$  ,  $0.0000512 \mu\text{g/mL}$  ) 人源化抗體(H1L1-IgG4、H1L1-IgG1)作用下，效應細胞Jurkat- NFAT-Luciferase-CD16的螢光素酶表達水準情況，評價人源化抗體的ADCC活性，結果見下圖9。圖中，Mean Value反映螢光素酶表達水準，讀值越大，表達水準越高，對應抗體的ADCC活性越強。實驗結果顯示，隨著抗體濃度的增高，陰性對照融合蛋白Dulaglutide-IgG4以及人源化抗體H1L1-IgG4的Mean Value基本不變且接近於零，而人源化抗體H1L1-IgG1的Mean Value逐漸增大一直到達平臺值，半數達峰濃度EC50為 $0.02281 \mu\text{g/mL}$ ；可見，人源化抗體H1L1-IgG1具有很強的ADCC活性，H1L1-IgG4基本沒有ADCC活性。

**【0164】** 實施例 14 應用完全弗氏佐劑誘導炎痛模型評價人源化抗體的體內鎮痛活性

**【0165】** 完全弗氏佐劑誘導炎症痛模型通過在小鼠掌心注射完全弗氏佐劑來產生類似骨關節炎症的慢性炎症疼痛刺激及應答的疼痛模型，通過機械痛測試對疼痛測量，機械刺激力度越大，說明動物對疼痛的耐受性越強。試驗中，選用18-25g雄性C57BL/6小鼠，在小鼠右後腳的足底中央注射10 uL的CFA。在造模24 hr後，利用機械痛覺超敏法進行測試，篩選出縮足閾值小於0.5 克力的動物，並根據疼痛敏感隨機分為溶劑對照組、萘普生100 mg/kg劑量組，Tanezumab 2 mg/kg劑量組、MNAC13 2 mg/kg劑量組、H1L1-IgG4 2 mg/kg劑量組，共5組，n=10隻/組。其中，Tanezumab為抗NGF單克隆抗體，MNAC13為抗TrkA單克隆抗體。溶劑對照組、Tanezumab、MNAC13、H1L1-IgG4劑量組經皮下注射給藥後42 hr、96 hr，分別進行機械痛覺超敏測試，萘普生劑量組在測試前2小時灌胃給藥。結果見圖10，縱坐標表示機械刺激力度，小鼠爪子撤離的壓力閾值越大，鎮痛效果越好。結果顯示：陽性對照組萘普生

第45頁，共 47 頁(發明說明書)

以劑量100 mg/kg口服2小時後，表現出抑制C57BL/6小鼠CFA模型誘導的機械痛覺超敏；Tanezumab以劑量2 mg/kg皮下給藥後42小時測試，表現出抑制C57BL/6小鼠CFA模型誘導的機械痛覺超敏，而在給藥後96小時測試，沒有表現出這種抑制；MNAC13以劑量2 mg/kg皮下給藥後42、96小時測試，都沒有表現出抑制C57BL/6小鼠CFA模型誘導的機械痛覺超敏；H1L1-IgG4以劑量2 mg/kg皮下給藥後96小時測試，表現出抑制C57BL/6小鼠CFA模型誘導的機械痛覺超敏，而在給藥後42小時測試，沒有表現出這種抑制。結論：H1L1-IgG4在皮下給藥96小時後顯著抑制C57BL/6小鼠CFA模型誘導的機械痛覺超敏，具有緩解炎症疼痛的活性。

**【0166】** 實施例15 應用NIH-3T3-TrkA細胞模型檢測人源化抗體的CDC活性

**【0167】** 補體依賴的細胞毒性作用（CDC），指的是補體參與的細胞毒作用，即通過特異性抗體與細胞膜表面相應抗原結合，形成複合物而啟動補體經典途徑，所形成的攻膜複合物對靶細胞發揮裂解效應。試驗中，通過CCK8法檢測不同濃度（16.67  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，5.56  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，1.85  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，0.62  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.21  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.069  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.023  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.008  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.003  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）人源化抗體（H1L1-IgG4、H1L1-IgG1）及陰性對照融合蛋白Dulaglutide-IgG4作用下，靶細胞NIH-3T3-TrKA的細胞活力情況，評價人源化Anti-TrKA抗體的CDC活性，結果見圖11。圖中結果顯示，隨著抗體濃度的升高，人源化抗體H1L1-IgG1對靶細胞NIH-3T3-TrKA細胞的殺傷作用逐漸增強，半數達峰濃度IC50為0.2219  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；人源化抗體H1L1-IgG4及陰性對照融合蛋白Dulaglutide-IgG4對靶細胞NIH-3T3-TrKA細胞基本沒有殺傷作用；可見，人源化抗體H1L1-IgG1具有很強的CDC活性，H1L1-IgG4基本沒有CDC活性。

**【0168】** 實施例16 應用NIH-3T3-TrkA細胞模型評價人源化抗體的體外活  
第46頁，共 47 頁(發明說明書)

性

【0169】 在NGF刺激下，NIH-3T3-TrkA細胞膜上的TrkA蛋白酪氨酸磷酸化水準上調，TrkA下游信號通路啟動。人源化Anti-TrKA抗體可以結合NIH-3T3-TrkA細胞膜表面的TrkA蛋白，抑制NGF的刺激，下調TrkA蛋白酪氨酸磷酸化水準。試驗中，通過AlphaLISA的方法檢測不同濃度（1000  $\mu\text{g/mL}$ ，333.33  $\mu\text{g/mL}$ ，111.11  $\mu\text{g/mL}$ ，37.04  $\mu\text{g/mL}$ ，12.35  $\mu\text{g/mL}$ ，4.12  $\mu\text{g/mL}$ ，1.37  $\mu\text{g/mL}$ ，0.45  $\mu\text{g/mL}$ ，0.15  $\mu\text{g/mL}$ ，0.05  $\mu\text{g/mL}$ ，0.017  $\mu\text{g/mL}$ ，0.005  $\mu\text{g/mL}$ ）人源化抗體作用下，TrkA蛋白的酪氨酸磷酸化水準下調情況，衡量受試抗體的體外活性，p-TrkA檢測結果見圖12。實驗結果顯示，人源化Anti-TrKA抗體H1L1-IgG4能夠抑制NGF-TrKA信號通路，劑量依賴性地下調TrkA蛋白酪氨酸磷酸化水準，IC50為0.02072  $\mu\text{g/mL}$ 。可見，人源化Anti-TrKA抗體H1L1-IgG4能夠抑制NGF對TrKA下游信號通路的啟動。

【0170】 下面將結合實施例對本發明的方案進行解釋。本領域技術人員將會理解，下面的實施例僅用於說明本發明，而不應視為限定本發明的範圍。實施例中未注明具體技術或條件的，按照本領域內的文獻所描述的技術或條件或者按照產品說明書進行。所用試劑或儀器未注明生產廠商者，均為可以通過市購獲得的常規產品。

## SEQUENCE LISTING

<110> 廣東東陽光藥業有限公司

<120> 人源化抗TrkA的抗體及其應用

<130> 2021.11.18

<150> 202011307482.7

<151> 2020.11.20

<160> 49

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 重鏈可變區

<400> 1

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

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

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
          35                   40                   45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
          50                   55                   60

Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
65                   70                   75                   80

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

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 2  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 重鏈可變區

<400> 2

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
 50 55 60

Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 3  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 重鏈可變區

<400> 3

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Gly Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
 50 55 60

Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 4  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 重鏈可變區

&lt;400&gt; 4

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
 50 55 60

Lys Gly Gln Val Thr Met Ser Val Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 116

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 重鏈可變區

&lt;400&gt; 5

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr

20

25

30

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
 50 55 60

Lys Gly Gln Val Thr Met Ser Val Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 116

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 重鏈可變區

&lt;400&gt; 6

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe

50

55

60

Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 7  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> 重鏈可變區

<400> 7

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr  
20 25 30

Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
50 55 60

Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 8  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 重鏈可變區

<400> 8

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
 50 55 60

Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 輕鏈可變區

&lt;400&gt; 9

Ser Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Met Ser Val Gly  
 1                    5                    10                    15

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

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
                   35                    40                    45

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
                   50                    55                    60

Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
 65                    70                    75                    80

Glu Asp Leu Ala Ala Tyr His Cys Gly Gln Asn Tyr Ile Tyr Pro Phe  
                   85                    90                    95

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

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 輕鏈可變區

&lt;400&gt; 10

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

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

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
 65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Ala Tyr His Cys Gly Gln Asn Tyr Ile Tyr Pro Phe  
 85 90 95

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

<210> 11  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 輕鏈可變區

<400> 11

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

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

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Ala Tyr His Cys Gly Gln Asn Tyr Ile Tyr Pro Phe  
85 90 95

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

<210> 12

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 輕鏈可變區

<400> 12

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

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

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg His Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr His Cys Gly Gln Asn Tyr Ile Tyr Pro Phe  
85 90 95

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

<210> 13  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 輕鏈可變區

<400> 13

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

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

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
 65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Ala Tyr His Cys Gly Gln Asn Tyr Ile Tyr Pro Phe  
 85 90 95

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

<210> 14  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 抗體恒定區的全長序列

&lt;400&gt; 14

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
 20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
 65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 100 105

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 326

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 抗體恒定區的全長序列

&lt;400&gt; 15

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35

40

45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
 100 105 110

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
 195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
 210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
 225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
 290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
 325

<210> 16  
 <211> 229  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 人源IgG4野生型Fc序列

<400> 16

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe  
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
 20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
 35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val  
 50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser  
65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu  
85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser  
100 105 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln  
130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala  
145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr  
165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu  
180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys  
225

<210> 17

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 重鏈

&lt;400&gt; 17

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr  
20 25 30

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
50 55 60

Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
115 120 125

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180

185

190

Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr  
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn  
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu  
340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly  
405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
435 440

<210> 18

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 重鏈

<400> 18

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr  
20 25 30

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Gly Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
50 55 60

Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 115 120 125

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 180 185 190

Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr  
 195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
 210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
 245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn  
 260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
 275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

290

295

300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
 305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
 325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu  
 340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
 355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
 370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
 385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly  
 405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
 435 440

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 442

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 重鏈

&lt;400&gt; 19

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn  
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu  
340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly

405

410

415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
 435 440

<210> 20  
 <211> 442  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 20

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
 50 55 60

Lys Gly Gln Val Thr Met Ser Val Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115

120

125

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 180 185 190

Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr  
 195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
 210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
 245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn  
 260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
 275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
 290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
 305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
 325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu  
 340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
 355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
 370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
 385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly  
 405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
 435 440

<210> 21  
 <211> 442  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 21

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
50 55 60

Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
115 120 125

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
180 185 190

Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr  
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro



Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
 435 440

<210> 22  
 <211> 442  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 22

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
 50 55 60

Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 115 120 125

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
180 185 190

Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr  
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn  
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu

340

345

350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
 355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
 370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
 385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly  
 405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
 435 440

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 442

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 重鏈

&lt;400&gt; 23

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe

50

55

60

Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
115 120 125

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
180 185 190

Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr  
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn  
 260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
 275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
 290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
 305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
 325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu  
 340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
 355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
 370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
 385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly  
 405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
 435 440

<210> 24

<211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 24

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

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

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
 65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Ala Tyr His Cys Gly Gln Asn Tyr Ile Tyr Pro Phe  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165

170

175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 214

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 輕鏈

&lt;400&gt; 25

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

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

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
 65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Ala Tyr His Cys Gly Gln Asn Tyr Ile Tyr Pro Phe  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100

105

110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 214

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 輕鏈

&lt;400&gt; 26

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

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

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35

40

45

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg His Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr His Cys Gly Gln Asn Tyr Ile Tyr Pro Phe  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 214

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 輕鏈

&lt;400&gt; 27

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

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

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
 65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Ala Tyr His Cys Gly Gln Asn Tyr Ile Tyr Pro Phe  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 28

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 重鏈

<400> 28

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

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

Trp Leu Gly Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Glu Asn Phe  
 50 55 60

Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 115 120 125

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 180 185 190

Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr  
 195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
 210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
 245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn  
 260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
 275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
 290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser



20

25

30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Ala Tyr His Cys Gly Gln Asn Tyr Ile Tyr Pro Phe  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

<210> 30  
 <211> 1326  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 核酸分子

<400> 30  
 gaggtgcagc tgctggagtc tggaggagga ctggtgcagc caggaggctc tctgaagctg 60  
 tcctgcaagg ccagcggcta cgctttcacc aactattggc tgggatggat gaagcagagg 120  
 ccaggacacg gactggagtg gatcggcgac tttaccctc ggaccggcaa cacattctat 180  
 aacgagaact tcaagggcaa ggtgaccctg acagccgata agtccagcaa taccgcttac 240  
 atgcagctgt cttccctgac atccgaggac tccgccgtgt acctgtgcgc tagggctgga 300  
 accggattcg attattgggg ccagggcacc aactgacag tgagctctgc cagcaccaag 360  
 ggccccagcg tgttccctct ggctccttgt agccggtcca cctccgagtc cacagctgct 420  
 ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gaaccctgta ccgtgagctg gaatagcggc 480  
 gctttaacct ccggagtgca caccttcccc gctgtgctcc agtcctccgg tttatactct 540  
 ttatcctccg tggtgaccgt gccttctcctc agcctcggca ccaagacctc cacttgaac 600  
 gtggaccaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaggg tggagtccaa gtacggacct 660  
 ccttgteccc cttgccccgc ccccagggcc gctggcggac cctccgtgtt cctcttcccc 720  
 cccaaacca aggacacttt aatgatctcc cggacccccg aagtgacttg tgtggtggtg 780  
 gacgtgtccc aagaagacct cgagggtcag ttaactggt acgtggatgg cgtggagggtg 840  
 cacaacgcca agaccaagcc tagggaggaa cagttcaact ccacctaccg ggtggtgtcc 900  
 gtgtcaccg tgctgcatca agattggctg aacggcaagg agtacaagtg caaggtgagc 960  
 aacaaggac tgcccagctc catcgagaag accatcagca aggccaaagg ccagccccgg 1020  
 gaacctcaag tttatacact gccccccagc caagaagaga tgaccaagaa ccaagtttct 1080  
 ttaacttgtt tagtgaaggg cttctacctc agcgacatcg ctgtggagtg ggagtccaat 1140  
 ggccagcccc aaaacaatta taagaccacc cccccgtgc tggactccga tggttctttt 1200

tttttatact ccaagctgac agtggacaag tctcgttggc aagaaggcaa cgtgttctct 1200  
 tgtagcgtga tgcacgaggc tttacacaac cactacaccc agaagtcttt atctctgtct 1320  
 ttaggc 1326  
  
 <210> 31  
 <211> 1326  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> 核酸分子  
  
 <400> 31  
 gaggtgcagc tgctggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgaagctg 60  
 agctgcaagg ccagcggcta cgccttcacc aactactggc tgggctggat gaagcagagg 120  
 cccggccacg gcctggagtg gatcggcggc ttctaccca ggaccggcaa caccttctac 180  
 aacgagaact tcaagggcaa ggtgaccctg accgccgaca agagcagcaa caccgcctac 240  
 atgcagctga gcagcctgac cagcaggagc agcgcctgt acctgtgcgc cagggccggc 300  
 accggcttcg actactgggg ccagggcacc accctgaccg tgagcagcgc cagcaccaag 360  
 ggccccagcg tgttcctct ggctccttgt agccggtcca cctccgagtc cacagctgct 420  
 ctgggctgcc tctgaagga ctactttccc gaaccctta ccgtgagctg gaatagcggc 480  
 gctttaacct ccggagtgca caccttcccc gctgtgctcc agtcctccgg tttatactct 540  
 ttatcctccg tggtagcctg gccttcctcc agcctcggca ccaagacct cacttgtaac 600  
 gtggaccaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaggg tgaggtcaa gtacggacct 660  
 ccttgtcccc cttgccccgc ccccaggcc gctggcggac cctccgtgtt cctttcccc 720  
 cccaaacca aggacacttt aatgatctcc cggacccccg aagtgacttg tgtggtggtg 780  
 gacgtgtccc aagaagacct cgaggtgcag ttaactggt acgtggatgg cgtggaggtg 840  
 cacaacgcca agaccaagcc tagggaggaa cagttcaact ccacctaccg ggtggtgtcc 900  
 gtgtcaccg tgctgcatca agattggctg aacggcaagg agtacaagt caaggtgagc 960  
 aacaagggac tgcccagctc catcgagaag accatcagca aggccaaagg ccagccccgg 1020

gaacctcaag tttatacaact gccccccagc caagaagaga tgaccaagaa ccaagtttct 1080  
 ttaacttggt tagtgaaggg cttctaccct agcgacatcg ctgtggagtg ggagtccaat 1140  
 ggccagcccc aaaacaatta taagaccacc cccccctgc tggactccga tggttctttt 1200  
 tttttatact ccaagctgac agtggacaag tctcgttggc aagaaggcaa cgtgttctct 1260  
 tgtagcgtga tgcacgaggc tttacacaac cactacacc agaagtcttt atctctgtct 1320  
 ttaggc 1326

<210> 32

<211> 1326

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 核酸分子

<400> 32

gaggtgcagc tgctggagtc cggaggagga ctggtgcagc caggaggctc tctgaagctg 60  
 tcttgcaagg ccagcggcta cgctttcacc aactattggc tgggatggat gaagcagagg 120  
 ccaggacacg gactggagtg gatcggcgac tttaccctc ggaccggcaa tacattctat 180  
 aacgagaact tcaagggcca ggtgacaatg tctgtggata agtccatcac cacagcctac 240  
 ctgcagtgga acagcctgaa ggctctgac accgctatgt actattgtgc cagggctggc 300  
 acaggcttcg attattgggg ccagggcacc aactgaccg tgtccagcgc cagcaccaag 360  
 gccccagcg tgttcctct ggctccttgt agccggtcca cctccgagtc cacagctgct 420  
 ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gaaccctgta ccgtgagctg gaatagcggc 480  
 gctttaacct ccggagtgca caccttcccc gctgtgetcc agtcctccgg tttatactct 540  
 ttatcctccg tggtgaccgt gccttctctc agcctcggca ccaagacctc cacttgaac 600  
 gtggaccaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaggg tggagtcaa gtacggacct 660  
 ccttgteccc cttgccccgc ccccagggcc gctggcggac cctccgtgtt cctcttcccc 720  
 cccaaacca aggacacttt aatgatctcc cggacccccg aagtgacttg tgtggtggtg 780  
 gacgtgtccc aagaagacc cgagggtcag ttaactggt acgtggatgg cgtggaggtg 840

cacaacgcc agaccaagcc tagggaggaa cagttcaact ccacctaccg ggtggtgtcc 900  
gtgtcaccg tgctgcatca agattggctg aacggcaagg agtacaagtg caaggtgagc 960  
aacaagggac tgcccagctc catcgagaag accatcagca aggccaaagg ccagccccgg 1020  
gaacctcaag tttatacact gccccccagc caagaagaga tgaccaagaa ccaagtttct 1080  
ttaacttgtt tagtgaaggc cttctaccct agcgacatcg ctgtggagtg ggagtccaat 1140  
ggccagcccc aaaacaatta taagaccacc cccccgtgc tggactccga tggttctttt 1200  
ttttatact ccaagctgac agtggacaag tctcgttggc aagaaggcaa cgtgttctct 1260  
tgtagcgtga tgcacgaggc tttacacaac cactacacc agaagtcttt atctctgtct 1320  
ttaggc 1326

<210> 33

<211> 1326

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 核酸分子

<400> 33

caagtgcaac tggttcaatc tggagtggaa gtaagaagc ctggtgccag cgttaaagtg 60  
agttgcaaag ccagcggata tgcctttacc aactattggc tgggctggat gaaacagagg 120  
cctggccatg gtctggaatg gatcggagac ttttatccac gcaccggcaa cacattctat 180  
aacgagaact tcaaaggtca ggtgaccatg tccgtggata agagcatcac taccgcttac 240  
ctccagtgga acagtctgaa ggcttctgac accgccatgt actactgcgc tagggcaggc 300  
accgggttcg actactgggg tcaagggacc accctaccg tgagtagcgc cagcaccaag 360  
ggccccagcg tgttcctctt ggctccttgt agccggtcca cctccgagtc cacagctgct 420  
ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gaaccggtta ccgtgagctg gaatagcggc 480  
gctttaacct ccggagtgca caccttcccc gctgtgctcc agtcctccgg tttatactct 540  
ttatcctccg tggtgaccgt gccttctctc agcctcggca ccaagacctc cacttgtaac 600  
gtggaccaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaggg tggagtccaa gtacggacct 660

ccttgtcccc cttgccccgc cccccaggcc gctggcggac cctccgtgtt cctcttcccc /20  
 cccaaaccca aggacacttt aatgatctcc cygacccccg aagtgacttg tgtggfgggtg 780  
 gacgtgtccc aagaagacct cgagggtcag tttacttggg acgtggatgg cgtggagggtg 840  
 cacaacgcca agaccaagcc tagggaggaa cagttcaact ccacctaccg ggtgggtgtcc 900  
 gtgtctaccg tgctgcatca agattggctg aacggcaagg agtacaagtg caaggfagc 960  
 aacaaggagc tgcccagctc catcgagaag accatcagca aggccaaagg ccagccccgg 1020  
 gaacctcaag tttatacact gccccccagc caagaagaga tgaccaagaa ccaagtttct 1080  
 ttaacttgtt tagtgaaggc cttctaccct agcgacatcg ctgtggagtg ggagtccaat 1140  
 ggccagcccc aaaacaatta taagaccacc cccccgtgc tggactccga tggttctttt 1200  
 tttttatact ccaagctgac agtggacaag tctcgttggc aagaaggcaa cgtgttctct 1260  
 tgtagcgtga tgcacgaggc tttacacaac cactacacc agaagtcttt atctctgtct 1320  
 ttaggc 1326

<210> 34  
 <211> 1326  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 核酸分子

<400> 34  
 caagtgcagc tggttcaaag tgggtgtgaa gtaagaagc ctggagctag tgtgaagggtg 60  
 tcctgtaagg cctccggcta tgcctttaca aactactggc tcgggtggat gaagcagcgc 120  
 ccaggacacg gtctggaatg gattggcagc tttaccac ggacaggaaa tacattctat 180  
 aatgaaaact tcaaaggcaa agtgaccatc acagccgata agtccattac cactgcatac 240  
 atgcagctca gtagtctcaa agctagtgat acagcagtgt attactgcgc cagggccggc 300  
 accgggttcg actactgggg gcagggaacc accctaccg tgagctctgc cagcaccaag 360  
 ggccccagc tgttccctct ggctcctgt agccggtcca cctccgagtc cacagctgct 420  
 ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gaaccgta ccgtgagctg gaatagcggc 480

gctttaacct ccggagtgca caccttcccc gctgtgctcc agtcctccgg tttatactct 340  
 ttatcctccg tggtagacct gccttctcc agcctcggca ccaagacct cacttgtaac 600  
 gtggaccaca agcccagcaa caccaagggt gacaagaggg tggagtccaa gtacggacct 660  
 ccttgtcccc cttgccccgc ccccagggcc gctggcggac cctccgtgtt cctcttcccc 720  
 cccaaacca aggacacttt aatgatctcc cggacccccg aagtgacttg tgtggtggtg 780  
 gacgtgtccc aagaagacct cgagggtcag ttaactggt acgtggatgg cgtggaggtg 840  
 cacaacgcca agaccaagcc tagggaggaa cagttcaact ccacctaccg ggtgggtgtcc 900  
 gtgtctaccg tgctgcatca agattggctg aacggcaagg agtacaagt caaggtagc 960  
 aacaagggtc tgcccagctc catcgagaag accatcagca aggccaaagg ccagccccgg 1020  
 gaacctcaag tttatacact gccccccagc caagaagaga tgaccaagaa ccaagtttct 1080  
 ttaacttgtt tagtgaaggc cttctaccct agcgacatcg ctgtggagt ggagtccaat 1140  
 ggccagcccc aaaacaatta taagaccacc cccccgtgc tggactccga tggttctttt 1200  
 tttttatact ccaagctgac agtggacaag tctcgttggc aagaaggcaa cgtgttctct 1260  
 tgtagcgtga tgcacgaggc tttacacaac cactacacce agaagtcttt atctctgtct 1320  
 ttaggc 1326

<210> 35

<211> 1326

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 核酸分子

<400> 35

caagtccaac tggttcaatc tggcgtggaa gtcaagaagc ccggagcctc cgtgaaggtg 60  
 agctgcaagg caagcggcta tgcattcact aactactggc tcggatgggt gaaacaacgg 120  
 ccaggacatg gcctggaatg gatcggcgac ttctacccta ggactggcaa cactttctat 180  
 aacgagaact ttaagggcaa ggtcaccatt acagctgata agagtatcac taccgcctac 240  
 atgcagctgt cttccctgaa agctagtgat acagccgttt attactgtgc tcgggctggc 300

acaggattcg attattgggg acagggtacc acactcacag tgtcctctgc cagcaccaag 300  
 ggccccagcg tgttccctct ggctccttgt agccggteca cctccgagtc cacagctgct 420  
 ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gaacccgta cctgagctg gaatagcggc 480  
 gctttaacct ccggagtga caccttcccc gctgtgctcc agtcctccgg tttatactct 540  
 ttatcctccg tggtgacctg gccttcctcc agcctcggca ccaagacct cacttgtaac 600  
 gtggaccaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaggg tggagtccaa gtacggacct 660  
 ccttgteccc cttgccccgc ccccagggcc gctggcggac cctccgtgtt cctcttcccc 720  
 cccaaaccca aggacacttt aatgatctcc cggacccccg aagtgacttg tgtggtggtg 780  
 gacgtgtccc aagaagacct cgagggtcag tttaaactggt acgtggatgg cgtggagggtg 840  
 cacaacgcca agaccaagcc tagggaggaa cagttcaact ccacctaccg ggtggtgtcc 900  
 gtgtcaccg tgctgcatca agattggctg aacggcaagg agtacaagt caaggtgagc 960  
 aacaaggac tgcccagctc catcgagaag accatcagca aggccaaagg ccagccccgg 1020  
 gaacctcaag tttatacact gccccagc caagaagaga tgaccaaga ccaagtttct 1080  
 ttaacttgt tagtgaagg cttctacct agcgacatcg ctgtggagt ggagtccaat 1140  
 ggccagcccg aaaacaatta taagaccacc cccccgtgc tgactccga tggttctttt 1200  
 tttttatact ccaagctgac agtggacaag tctcgttggc aagaaggcaa cgtgttctct 1260  
 tgtagcgtga tgcacgaggc ttacacaac cactacacc agaagtcttt atctctgtct 1320  
 ttaggc 1326

<210> 36

<211> 1326

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 核酸分子

<400> 36

caagttcagc tggtgcaatc cgggtgtcgag gtgaagaaac caggcgcaag cgtgaaagtc 60

tcctgcaagg cttctggcta tgccttcaact aactactggc tcggctggat gaagcagagg 120

cccggacatg ggctggagtg gatcggagac ttctatccca gaactggaaa caccttttac 180  
 aacgagaatt tcaagggcaa ggtcaccttg actgccgaca aatcctctaa cacagcttac 240  
 atgcagctga gcagctctgac atccgaagac tctgcagttt acctgtgtgc tcgggcaggc 300  
 acaggcttcg attattgggg gcaagggacc actctgactg tgtcttccgc cagcaccaag 360  
 ggccccagcg tgttccctct ggctccttgt agccggcca cctccgagtc cacagctgct 420  
 ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gaaccgta ccgtgagctg gaatagcggc 480  
 gctttaacct ccggagtga caccttcccc gctgtgctcc agtcctccgg tttatactct 540  
 ttatcctccg tggtgacctg gccttccctc agcctcggca ccaagacctc cacttgtaac 600  
 gtggaccaca agcccagcaa caccaagggt gacaagaggg tggagtcca gtacggacct 660  
 ccttgtcccc cttgccccgc ccccagggcc gctggcggac cctccgtgtt cctcttcccc 720  
 cccaaacca aggacacttt aatgatctcc cggacccccg aagtgacttg tgtggtggtg 780  
 gacgtgtccc aagaagacct cgagggtcag ttaactggt acgtggatgg cgtggaggtg 840  
 cacaacgcca agaccaagcc tagggaggaa cagttcaact ccacctaccg ggtggtgtcc 900  
 gtgtctaccg tgctgcatca agattggctg aacggcaagg agtacaagt caaggtgagc 960  
 aacaaggagc tgcccagctc catcgagaag accatcagca aggccaaagg ccagccccgg 1020  
 gaacctcaag tttatacact gccccccagc caagaagaga tgaccaaga ccaagtttct 1080  
 ttaacttgtt tagtgaaggg cttctaccct agcgacatcg ctgtggagtg ggagtccaat 1140  
 ggccagcccc aaaacaatta taagaccacc cccccgtgc tggactccga tggttctttt 1200  
 tttttatact ccaagctgac agtggacaag tctcgttggc aagaaggcaa cgtgttctct 1260  
 tgtagcgtga tgcacgaggc ttacacaac cactacacc agaagtcttt atctctgtct 1320  
 ttaggc 1326

<210> 37

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 核酸分子

<400> 37  
gagatcgtga tgaccagtc cccagccaca ctgagcctgt ctgtgggaga gagggtgacc 60  
ctgtcttgca aggcctccga gaacgtgggc ggctacgtga gctggtatca gcagaagccc 120  
gaccagtctc ctaagctgct gatctacgga gcctccagca ggccacacagg agtgccagac 180  
cggttcaccg gatccggaag cgagacagac ttaccctga caatctcttc cgtgcaggct 240  
gaggatctgg ccgcttatca ttgtggccag aattacatct atcccttcac ctttggcggc 300  
ggcacaaaagc tggagatcaa gcggaccgtg gctgccccct ccgtgttcat cttccccct 360  
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgct agcgtgggtg gtttactgaa caactctac 420  
cctcgtgagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgctt tacagtccgg caactcccaa 480  
gaatccgtga ccgagcaaga ttccaaggac tccacctact ctttatectc cactttaact 540  
ttatccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgctt gtgagggtgac ccatcaaggt 600  
ttatcctccc ccgtgaccaa gtccttcaat cgtggcgagt gc 642

<210> 38  
<211> 642  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> 核酸分子

<400> 38  
gagatcgtga tgaccagtc cccagccaca ctgagcctgt ctgtgggaga gagggtgacc 60  
ctgtcttgca aggcctccga gaacgtgggc ggctacgtga gctggtatca gcagaagccc 120  
gaccagtctc ctaagctgct gatctacgga gcctccagca gggctacagg agtgccagac 180  
cggttcaccg gatccggaag cgagacagac ttaccctga caatctcttc cgtgcaggcc 240  
gaggatctgg ccgcttatca ctgtggccag aattacatct atcccttcac ctttggcggc 300  
ggcacaaaagc tggagatcaa gcggaccgtg gctgccccct ccgtgttcat cttccccct 360  
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgct agcgtgggtg gtttactgaa caactctac 420  
cctcgtgagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgctt tacagtccgg caactcccaa 480

gaatccgtga ccgagcaaga ttccaaggac tccacctact ctttatectc cactttaact 340

ttatccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgctt gtgaggtgac ccatcaagg 600

ttatcctccc ccgtgaccaa gtccttcaat cgtggcgagt gc 642

<210> 39

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 核酸分子

<400> 39

gagatcgtga tgaccagag ccctgccaca ctgagcctgt ctgtgggcga gagggtgacc 60

ctgtcctgca aggcctccga gaacgtgggc ggctacgtgt cttggtatca gcagaagccc 120

gaccagtccc ctaagctgct gatctacgga gcctccagca ggcacaccgg agtgccagct 180

cggttctccg gaagcggatc tggcacagac ttaccctga caatctcttc cctggagcca 240

gaggatttcg ccgtgtatca ttgtggccag aattacatct atcccttcac ctttggcggc 300

ggcacaaagc tggagatcaa gcggaccgtg gctgccccct ccgtgttcat ctccccct 360

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgct agcgtgggtg gtttactgaa caacttctac 420

cctcgtgagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgctt tacagtccgg caactcccaa 480

gaatccgtga ccgagcaaga ttccaaggac tccacctact ctttatectc cactttaact 540

ttatccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgctt gtgaggtgac ccatcaagg 600

ttatcctccc ccgtgaccaa gtccttcaat cgtggcgagt gc 642

<210> 40

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 核酸分子

<400> 40

gaaattgtgc tgactcagtc tctgctact ctgtccctgt ctctggtga acgggccact 60

ctgagctgca aggccagtga aaatgtgggt ggctatgta gctggtatca gcaaaagccc 120  
 gaccagtctc ccaaactgct gatctacggc gcttccagtc ggcacacagg cgtgccagat 180  
 cgccttactg ggagcggctc tgagactgac ttcacactga ccattagcag tgtccaggcc 240  
 gaagatctcg cagcctatca ttgcggccag aactacatct atccattcac cttcgggtgga 300  
 ggaaccaaac tggaaatcaa gcggaccgtg gctgccccct ccgtgttcat cttccccct 360  
 tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgct agcgtgggtg gtttactgaa caacttctac 420  
 cctcgtgagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgctt tacagtccgg caactcccaa 480  
 gaatccgtga ccgagcaaga ttccaaggac tccacctact ctttatectc cactttaact 540  
 ttatccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgctt gtgaggtgac ccatcaaggt 600  
 ttatcctccc ccgtgaccaa gtccttcaat cgtggcgagt gc 642

<210> 41  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 重鏈CDR1

<400> 41

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

<210> 42  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> 重鏈CDR2

<400> 42

Asp Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe  
 1                    5                    10

<210> 43

<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> 重鏈CDR2

<400> 43

Gly Phe Tyr Pro Arg Thr Gly Asn Thr Phe  
1                   5                   10

<210> 44  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> 重鏈CDR3

<400> 44

Ala Arg Ala Gly Thr Gly Phe Asp Tyr  
1                   5

<210> 45  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> 輕鏈CDR1

<400> 45

Glu Asn Val Gly Gly Tyr Val Ser  
1                   5

<210> 46  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> 輕鏈CDR2

<400> 46

Gly Ala Ser Ser Arg His Thr  
1 5

<210> 47  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> 輕鏈CDR2

<400> 47

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr  
1 5

<210> 48  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> 輕鏈CDR3

<400> 48

Asn Tyr Ile Tyr Pro Phe Thr  
1 5

<210> 49  
<211> 330  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> 抗體恒定區的全長序列

<400> 49

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225                      230                      235                      240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
    245                      250                      255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
    260                      265                      270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
    275                      280                      285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
    290                      295                      300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
    305                      310                      315                      320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
    325                      330

## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段，其中，所述抗體或其抗原結合片段具有重鏈可變區，其包含SEQ ID NO：2-8任一項所示胺基酸序列的重鏈可變區、SEQ ID NO:41所示的VH-CDR1、SEQ ID NO:42或SEQ ID NO:43所示的VH-CDR2和SEQ ID NO:44所示的VH-CDR3；和輕鏈可變區，其包含SEQ ID NO：10~13任一項所示胺基酸序列的輕鏈可變區、SEQ ID NO:45所示的VL-CDR1、SEQ ID NO:46或SEQ ID NO:47所示的所示的VL-CDR2和SEQ ID NO:48所示的VL-CDR3。

【請求項2】 如請求項1所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段，其中，所述抗體或其抗原結合片段具有選自下述的重鏈可變區和輕鏈可變區：

(a) 由SEQ ID NO：2所示胺基酸序列的重鏈可變區和由SEQ ID NO：10所示胺基酸序列的輕鏈可變區；

(b) 由SEQ ID NO：4所示胺基酸序列的重鏈可變區和由SEQ ID NO：10所示胺基酸序列的輕鏈可變區；或

(c) 由SEQ ID NO：4所示胺基酸序列的重鏈可變區和由SEQ ID NO：11所示胺基酸序列的輕鏈可變區。

【請求項3】 如請求項1所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段，其中，所述抗體或其抗原結合片段特異性識別TrkA的胞外區。

【請求項4】 如請求項1所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段，其中，所述抗體含有重鏈恆定區和輕鏈恆定區的至少之一，所述重鏈恆定區和輕鏈恆定區均來自於人源IgG抗體或其突變體。

【請求項5】 如請求項1所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段，其中，所述抗體的輕鏈恆定區來自於人源的Kappa輕鏈恆定區；重鏈恆定區來自於人源IgG4的重鏈恆定區。

【請求項6】 如請求項5所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段，其中，所述抗體的Fc區域與人源IgG4野生型的Fc相比具有S10P，F16A，L17A，R191K突變以及229 K缺失突變，其中人源IgG4野生型的Fc具有SEQ ID NO:16所示胺基酸序列。

【請求項7】 如請求項5所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段，其中，所述抗體恆定區的全長序列如SEQ ID NO:14或15所示。

【請求項8】 如請求項1所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段，其中，所述抗體具有SEQ ID NO:17~23任一項所示胺基酸序列的重鏈和具有SEQ ID NO:24~27任一項所示胺基酸序列的輕鏈。

【請求項9】 如請求項1所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段，其中，所述抗體選自下述的重鏈和輕鏈：

(a) 由SEQ ID NO：17所示胺基酸序列的重鏈和由SEQ ID NO：24所示胺基酸序列的輕鏈；

(b) 由SEQ ID NO：19所示胺基酸序列的重鏈和由SEQ ID NO：24所示胺基酸序列的輕鏈；或

(c) 由SEQ ID NO：19所示胺基酸序列的重鏈和由SEQ ID NO：25所示胺基酸序列的輕鏈。

【請求項10】 如請求項1所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段，其中，所述抗體為單鏈抗體、多聚體抗體、CDR移植抗體。

【請求項11】 如請求項10所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原

第2頁，共5頁(發明申請專利範圍)

結合片段，其中，所述單鏈抗體包括SEQ ID NO:2-8任一項所示胺基酸序列的重鏈可變區和SEQ ID NO:10-13任一項所示胺基酸序列的輕鏈可變區，其中所述重鏈可變區的C端通過連接肽linker與所述輕鏈可變區的N端相連，或所述輕鏈可變區的C端通過連接肽linker與所述重鏈可變區的N端相連。

【請求項12】 如請求項1所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段，其中，所述抗原結合片段包括Fab、Fab'、F(ab)2、F(ab')2、Fv、scFv-Fc融合蛋白、scFv-Fv融合蛋白以及最小識別單位的至少之一。

【請求項13】 一種核酸分子，其中，所述核酸分子編碼請求項1~12任一項所述的人源化抗體或其抗原結合片段。

【請求項14】 如請求項13所述的核酸分子，其中，所述核酸分子為DNA。

【請求項15】 如請求項14所述的核酸分子，其中，所述核酸分子具有如SEQ ID NO:30~36任一項所示核苷酸序列或具有SEQ ID NO:37~40任一項所示核苷酸序列。

【請求項16】 一種表達載體，其中，攜帶請求項13至15中任一項所述的核酸分子。

【請求項17】 如請求項16所述的表達載體，其中，所述表達載體為真核表達載體。

【請求項18】 一種重組細胞，其中，所述重組細胞攜帶請求項13至15中任一項所述的核酸分子，或者表達請求項1至12中任一項所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段。

【請求項19】 如請求項18所述的重組細胞，其中，所述重組細胞是通過將請求項17或18所述的表達載體引入至宿主細胞中而獲得的。

【請求項20】 如請求項19所述的重組細胞，其中，通過電轉導的方法將所

述表達載體引入所述宿主細胞中。

【請求項21】 如請求項18所述的重組細胞，其中，所述重組細胞為真核細胞。

【請求項22】 如請求項18所述的重組細胞，其中，所述重組細胞為哺乳動物細胞。

【請求項23】 一種藥物組合物，其中，含有請求項1至12中任一項所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段，請求項13至15中任一項所述的核酸分子，請求項16或17所述的表達載體或請求項18至22中任一項所述的重組細胞。

【請求項24】 一種如請求項1至12中任一項所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段、請求項13至15中任一項所述的核酸分子、請求項16或17所述的表達載體、請求項18至22中任一項所述的重組細胞或請求項23所述的藥物組合物在製備藥物中的用途，所述藥物用於治療或者預防疼痛、癌症、炎症或炎性疾病、神經變性疾病、修葛蘭氏綜合症、子宮內膜異位、糖尿病性周圍神經病變、前列腺炎、盆腔疼痛綜合症、與骨重塑調節失衡相關的疾病以及由結締組織生長因數異常信號傳導引起的疾病。

【請求項25】 如請求項24所述的用途，其中，所述藥物用於治療或預防神經性疼痛、炎性疼痛、與癌症有關的疼痛、與骨折有關的疼痛、與手術有關的疼痛、炎性肺病、間質性膀胱炎、痛性膀胱綜合症、炎性腸疾病、炎性皮膚病、雷諾氏綜合症、特發性肺纖維化、癥痕(肥大型、癥痕瘤型和其他形式)、硬化、心內膜心肌纖維化、心房纖維化、骨髓纖維化、進行性塊狀纖維化(肺)、腎源性系統性纖維化、硬皮病、系統性硬化、關節纖維化、眼部纖維化、非小細胞肺癌、乳頭狀甲狀腺癌、多形性成膠質細胞瘤、結腸直腸癌、黑色素瘤、膽管癌或肉瘤、急性骨髓性白血病、大細胞神經內分泌癌、成神經細

胞瘤、前列腺癌、成神經細胞瘤、胰腺癌、黑色素瘤、頭頸鱗狀細胞癌或胃癌。

【請求項26】 一種檢測TrkA的試劑盒，其中，包括請求項1至12中任一項所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段。

【請求項27】 一種如請求項1至12中任一項所述能夠特異性識別TrkA的人源化抗體或其抗原結合片段、請求項13至15中任一項所述的核酸分子、請求項16或17所述的表達載體或請求項18至22中任一項所述的重組細胞在製備試劑盒中的用途，所述試劑盒用於檢測TrkA或者診斷TrkA相關的疾病。

【發明圖式】

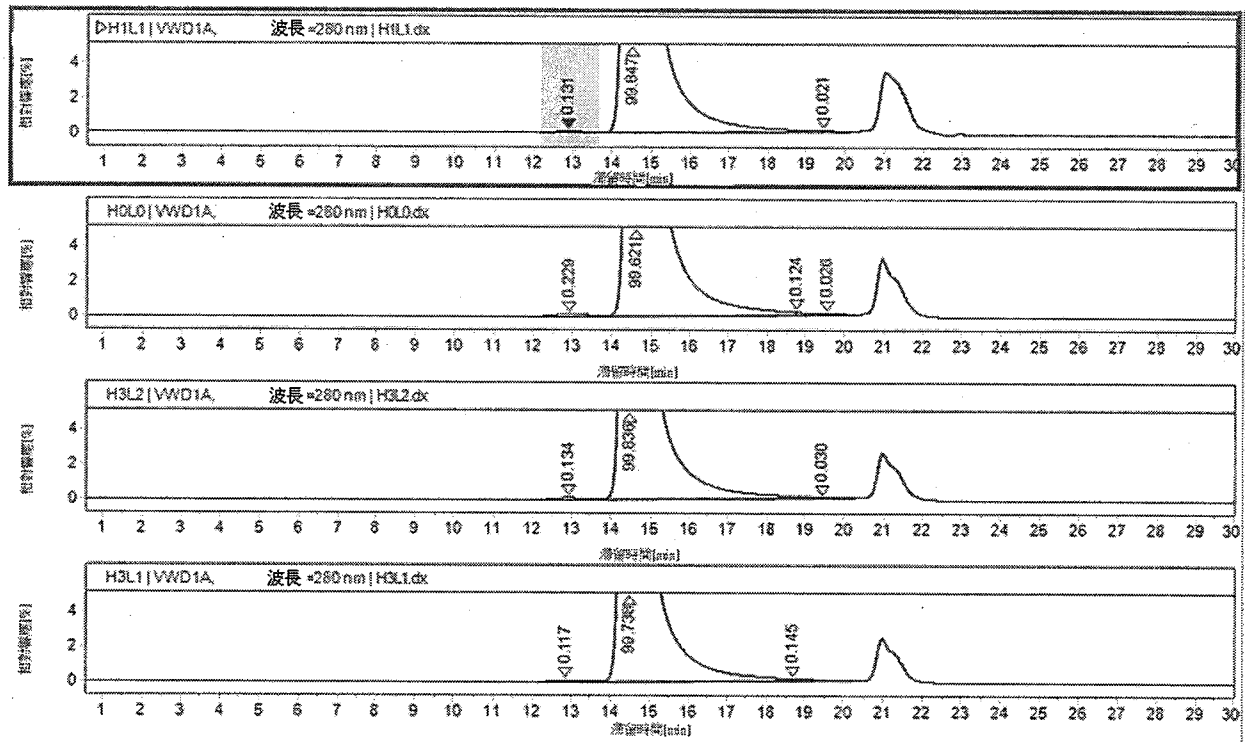
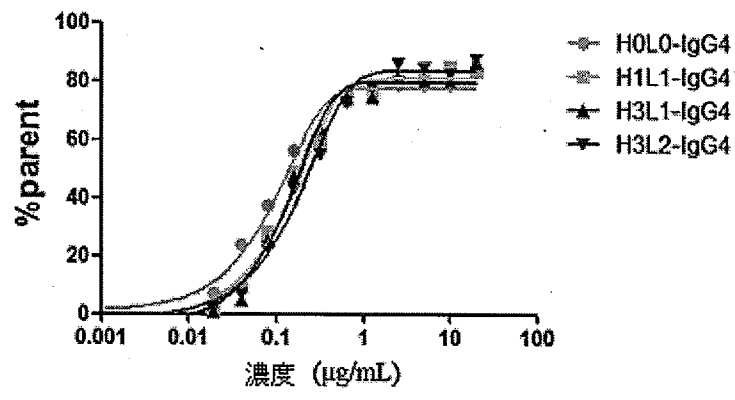


圖 1



McAb	H0L0-IgG4	H1L1-IgG4	H3L1-IgG4	H3L2-IgG4
EC50	0.08669	0.1307	0.1268	0.1683

圖 2



圖 3

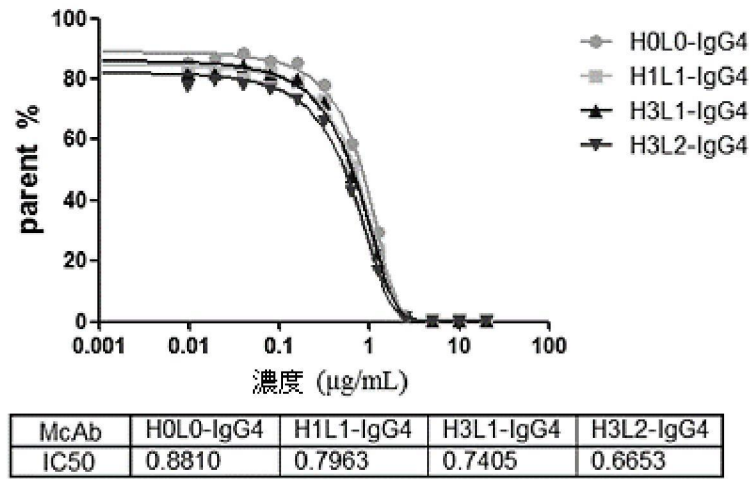


圖 4

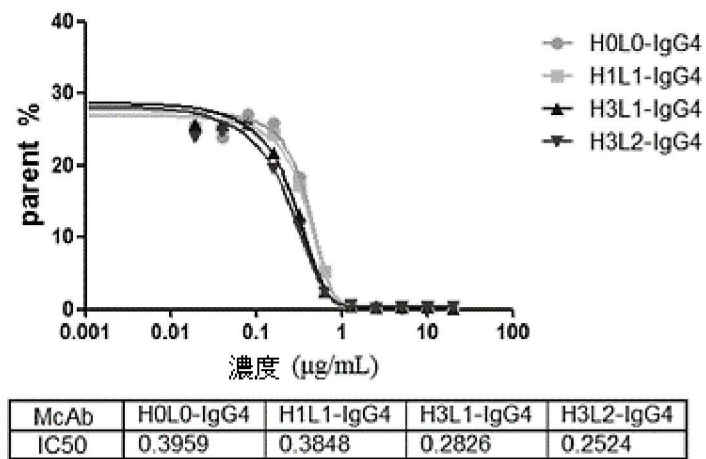


圖 5

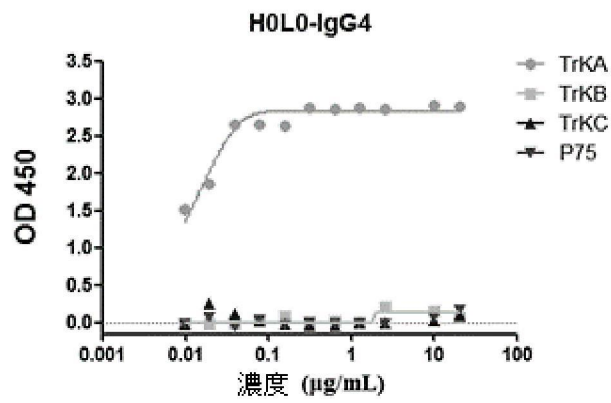


圖 6A

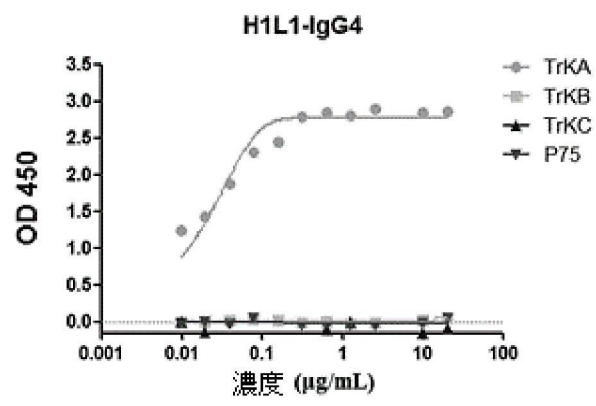


圖 6B

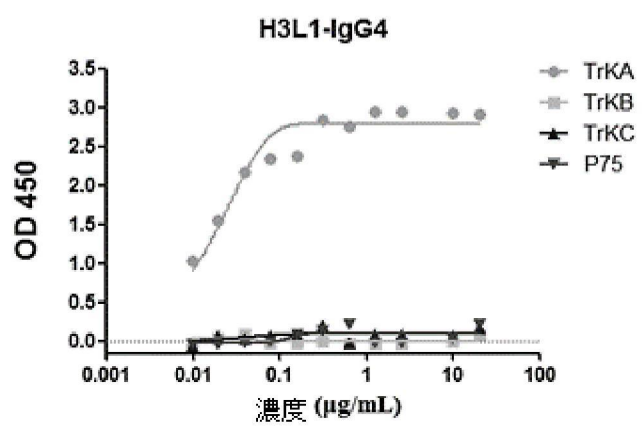


圖 6C

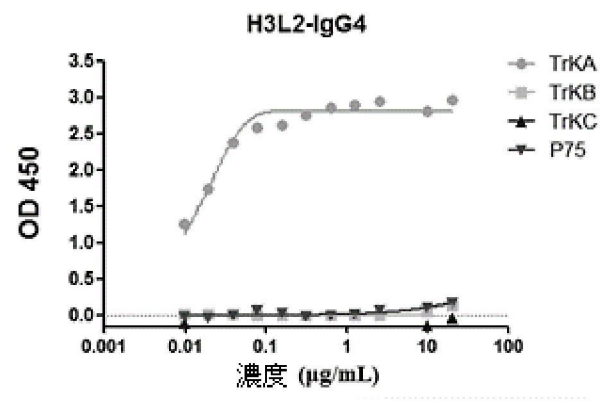


圖 6D

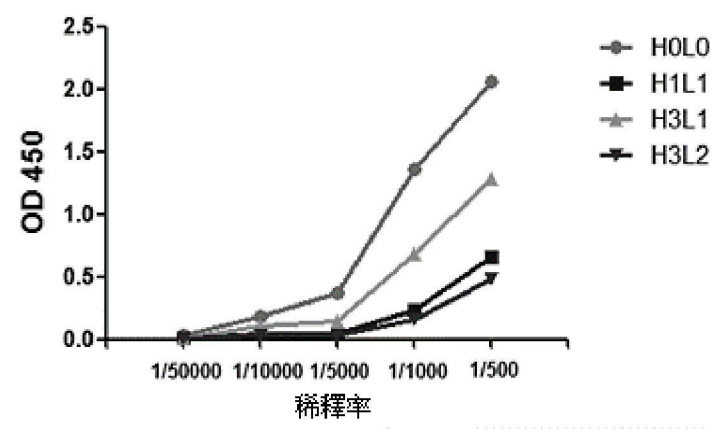


圖 7

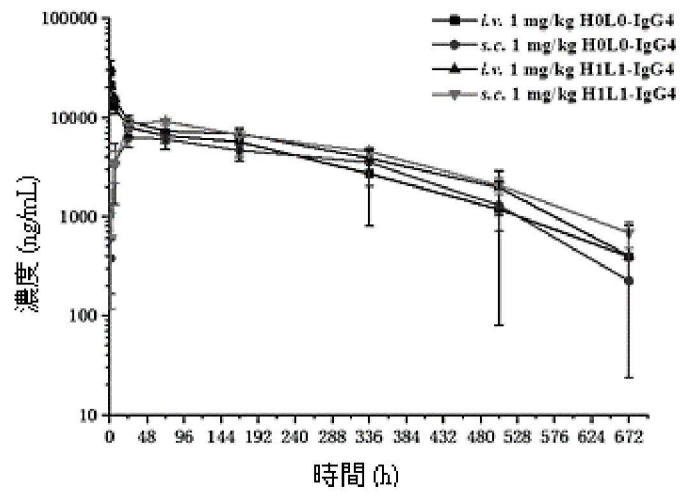


圖 8

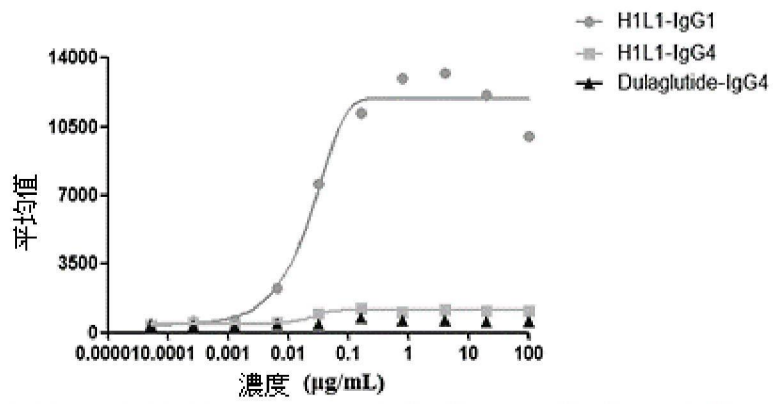


圖 9

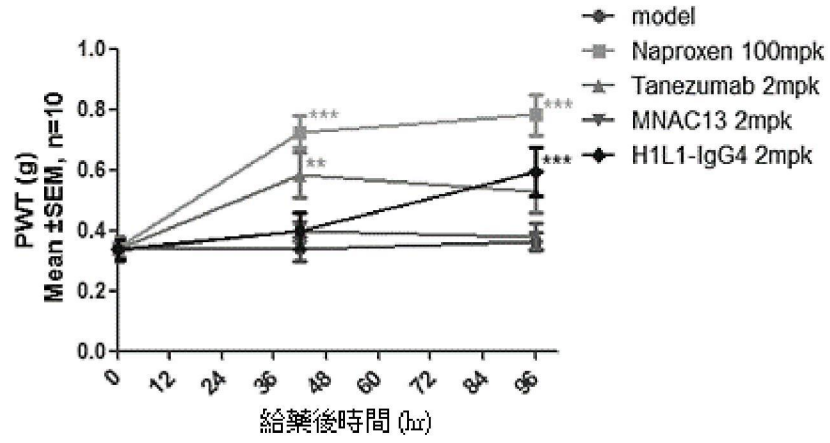


圖 10

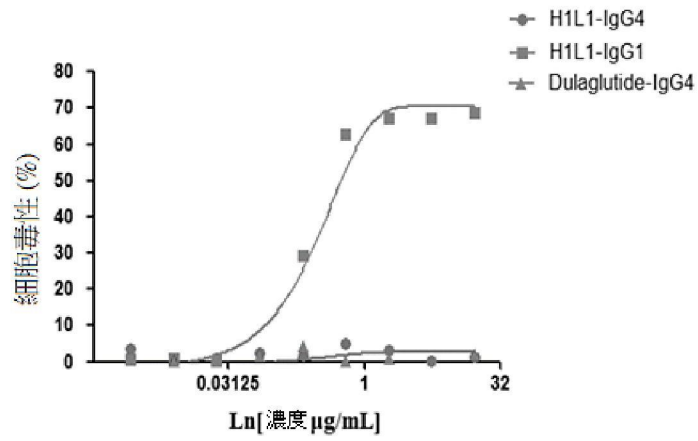


圖 11

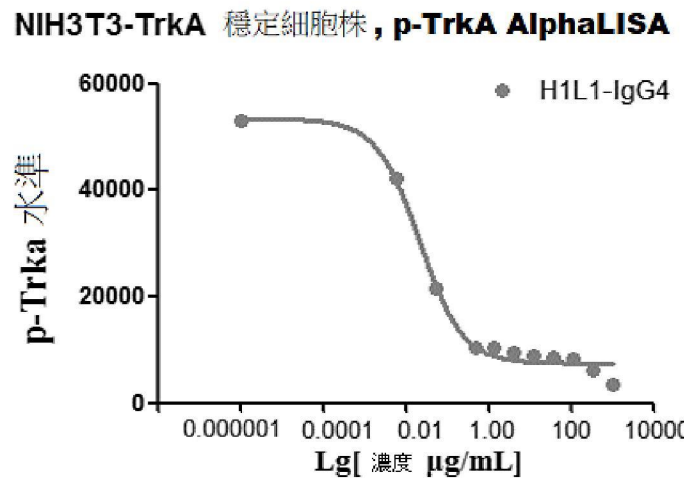


圖 12