



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108713027 A

(43)申请公布日 2018.10.26

(21)申请号 201680074259.8

J. 罗 G. 奥摩洛瓦 R. 恩斯特

(22)申请日 2016.12.16

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

(30)优先权数据

62/268570 2015.12.17 US

代理人 彭昶 罗文锋

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.06.15

(51)Int.Cl.

C07K 16/28(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/067235 2016.12.16

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/106684 EN 2017.06.22

(71)申请人 詹森生物科技公司

地址 美国宾夕法尼亚州

(72)发明人 C. 马丁尼斯 Q. 陈 M. 斯维斯基

R. 库恩 H. 周 K. 达非 S. 比卡特

C. 黄 X. 林-舒米特 S-J. 吴

权利要求书7页 说明书101页

序列表162页 附图15页

(54)发明名称

特异性结合HLA-DR的抗体及其用途

(57)摘要

本发明涉及特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段、编码该抗体或片段的多核苷酸以及制备和使用前述物质的方法。

mAb	HCDRI					SEQ ID NO:
	序列					
DR4B117	S	Y	S	I	H	39
DR4B30	S	D	W	I	G	40
DR4B127	S	Y	Y	I	H	41
DR4B98	S	Y	Y	I	H	41
属	S	X ₁	X ₂	I	X ₃	73

SEQ ID NO: 73

SX₁X₂IX₃; 其中X₁为Y或D;X₂为S、W或Y; 并且X₃为H或G。

1. 一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与包含下列的抗体竞争结合HLA-DR:

- i) SEQ ID NO:58的重链可变域(VH)和SEQ ID NO:61的轻链可变域(VL);
- j) SEQ ID NO:56的VH和SEQ ID NO:60的VL;
- k) SEQ ID NO:57的VH和SEQ ID NO:61的VL;
- l) SEQ ID NO:137的VH和SEQ ID NO:61的VL;
- m) SEQ ID NO:138的VH和SEQ ID NO:61的VL;
- n) SEQ ID NO:139的VH和SEQ ID NO:61的VL;
- o) SEQ ID NO:140的VH和SEQ ID NO:142的VL;或者
- p) SEQ ID NO:141的VH和SEQ ID NO:61的VL。

2. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段是HLA-DR的拮抗剂。

3. 根据权利要求1或2所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段在人CD4⁺T细胞与从表达人HLA-DR4的转基因动物分离的树突细胞的共培养物中以1μg/ml的抗体浓度抑制至少30%的CD4⁺T细胞增殖。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段不阻断HLA-DR与同源T细胞受体的相互作用。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述HLA-DR是与SEQ ID NO:7的血凝素肽复合的包含SEQ ID NO:13的HLA-DRα链和SEQ ID NO:14的HLA-DRβ链的HLA-DR4。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段具有以下特性中的一个、两个、三个、四个或五个:

a) 以 5×10^{-8} M或更小的平衡解离常数(K_d)结合与SEQ ID NO:7的血凝素肽复合的包含SEQ ID NO:13的HLA-DRα链和SEQ ID NO:14的HLA-DRβ链的HLA-DR4,其中 K_d 在包含DPBS、0.01% (w/v) 聚山梨酸酯20 (PS-20) 和100μg/ml BSA的缓冲液中于25℃使用Protein XPR36系统进行测量;

b) 以 5×10^{-8} M或更小的平衡解离常数(K_d)结合与SEQ ID NO:7的血凝素肽复合的包含SEQ ID NO:13的HLA-DRα链和SEQ ID NO:15的HLA-DRβ链的HLA-DR1,其中 K_d 在包含DPBS、0.01% (w/v) PS-20和100μg/ml BSA的缓冲液中于25℃使用Protein XPR36系统进行测量;

c) 缺乏诱导B细胞凋亡的能力,其中凋亡通过使用流式细胞术测量人外周血细胞(PBMC)样本中CD3⁻CD20⁺膜联蛋白V⁺活/死⁻B细胞的频数来测定;

d) 缺乏诱导B细胞死亡的能力,其中B细胞的死亡通过使用流式细胞术测量人PBMC样本中CD3⁻CD20⁺膜联蛋白V⁺活/死⁺B细胞的频数来测定;或者

e) 抑制HLA-DR与CD4的结合。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中HLA-DR是HLA-DR4、HLA-DR1、HLA-DR3、HLA-DR10或HLA-DR15。

8. 根据权利要求7所述的抗体或抗原结合片段,其中HLA-DR α链和HLA-DR β包含下列的氨基酸序列:

- a) 分别为SEQ ID NO:13和14;

- b) 分别为SEQ ID NO:13和15;
- c) 分别为SEQ ID NO:13和106;
- d) 分别为SEQ ID NO:13和105;
- e) 分别为SEQ ID NO:13和107;或者
- f) 分别为SEQ ID NO:13和108。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段以小于约 5×10^{-8} M的平衡解离常数(K_d)结合HLA-DR4。

10. 根据权利要求1-9中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中HLA-DR包含由氨基酸序列QKRAA (SEQ ID NO:66)、QRRRA (SEQ ID NO:67)或RRRAA (SEQ ID NO:68)组成的共享表位。

11. 根据权利要求1-10中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中HLA-DR与肽复合。

12. 根据权利要求11所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述肽包含SEQ ID NO:7、8、9、71、72、104或122的氨基酸序列。

13. 根据权利要求12所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述肽由SEQ ID NO:7、8、9、71、72、104或122的氨基酸序列组成。

14. 根据权利要求1-13中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体在氨基酸残基E3、F108、D110和R140处结合SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02, 并且在氨基酸残基V143和Q149处结合SEQ ID NO:14的HLA-DRB1*04:01。

15. 根据权利要求14所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体在氨基酸残基K2、E3、V6、E88、V89、T90、F108、D110、K111、R140、L144、R146和K176处结合SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02, 并且在氨基酸残基L114、K139、V142、V143、S144、T145、L147、I148、Q149和E162处结合SEQ ID NO:14的HLA-DRB1*04:01。

16. 根据权利要求1-13中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体在氨基酸残基K2处结合SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02, 并且在氨基酸残基D41、S126、R130、V142和Q149处结合SEQ ID NO:14的HLA-DRB1*04:01。

17. 根据权利要求16所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体在氨基酸残基I1、K2、E3、D27、R140、E141、D142和H143处结合SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02, 并且在氨基酸残基H16、F17、R23、R25、R29、R39、D41、D43、V44、V50、G125、S126、E128、V129、R130、V142、G146、L147、Q149和V159处结合SEQ ID NO:14的HLA-DRB1*04:01。

18. 根据权利要求1-17中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 包含:

a) 分别为SEQ ID NO:73、74和75的重链互补决定区1、2和3(HCDR1、HCDR2和HCDR3), 以及分别为SEQ ID NO:76、77和78的轻链互补决定区1、2和3(LCDR1、LCDR2和LCDR3);

b) 分别为SEQ ID NO:39、42、46、50、52和54的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

c) 分别为SEQ ID NO:40、43、47、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

d) 分别为SEQ ID NO:41、44、48、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

e) 分别为SEQ ID NO:41、45、49、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和

LCDR3;

f) 分别为SEQ ID NO:123、126、129、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

g) 分别为SEQ ID NO:123、126、130、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

h) 分别为SEQ ID NO:123、126、131、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

i) 分别为SEQ ID NO:124、127、132、134、135和136的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;或者

j) 分别为SEQ ID NO:125、128、133、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

19. 根据权利要求1-18中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体包含来源于IGHV1-69 (SEQ ID NO:62)、IGHV5-51 (SEQ ID NO:63) 或IGHV3_3-23 (SEQ ID NO:161) 的重链框架。

20. 根据权利要求19所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体包含来源于IGKV3-20 (SEQ ID NO:64)、IGKV3-11 (SEQ ID NO:65) 或IGKV1-39 (SEQ ID NO:162) 的轻链框架。

21. 根据权利要求20所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述重链框架和所述轻链框架:

a) 分别来源于IGHV1-69 (SEQ ID NO:62) 和IGKV3-20 (SEQ ID NO:64);

b) 分别来源于IGHV5-51 (SEQ ID NO:63) 和IGKV3-11 (SEQ ID NO:65);

c) 分别来源于IGHV1-69 (SEQ ID NO:62) 和IGKV3-11 (SEQ ID NO:65);

d) 分别来源于IGHV3_3-23 (SEQ ID NO:161) 和IGKV3-11 (SEQ ID NO:65); 或者

e) 来源于IGHV5-51 (SEQ ID NO:63) 和IGKV1-39 (SEQ ID NO:162)。

22. 根据权利要求1-21中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 包含与SEQ ID NO:56、57、58、59、137、138、139、140或141的氨基酸序列有至少84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的VH。

23. 根据权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段, 包含与SEQ ID NO:60、61或142的氨基酸序列有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的VL。

24. 根据权利要求1-23中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 包含SEQ ID NO:56、57、58、59、137、138、139、140或141的VH以及SEQ ID NO:60或61或142的VL, 所述VH和所述VL任选地具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18个氨基酸置换。

25. 根据权利要求24所述的抗体或其抗原结合片段, 包含下列的VH和VL:

a) 分别为SEQ ID NO:56和60;

b) 分别为SEQ ID NO:57和61;

c) 分别为SEQ ID NO:58和61;

d) 分别为SEQ ID NO:59和61;

e) 分别为SEQ ID NO:137和61;

f) 分别为SEQ ID NO:138和61;

- g) 分别为SEQ ID NO:139和61;
- h) 分别为SEQ ID NO:140和142;或者
- i) 分别为SEQ ID NO:141和61。

26. 根据权利要求25所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述VH和所述VL由包含下列的多核苷酸编码:

- a) 分别为SEQ ID NO:79和80;
- b) 分别为SEQ ID NO:81和82;
- c) 分别为SEQ ID NO:83和82;
- d) 分别为SEQ ID NO:121和82;
- e) 分别为SEQ ID NO:143和82;
- f) 分别为SEQ ID NO:144和82;
- g) 分别为SEQ ID NO:145和82;
- h) 分别为SEQ ID NO:146和148;或者
- i) 分别为SEQ ID NO:147和82。

27. 根据权利要求1-26中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体:

- a) 是IgG1同种型;
- b) 是IgG2同种型;
- c) 是IgG3同种型;
- d) 是IgG4同种型;
- e) 在Fc区中包含调节所述抗体与Fc γ R或FcRn的结合的至少一个置换;
- f) 是在相比于野生型IgG2时包含V234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330S和P331S置换的IgG2同种型;
- g) 是在相比于野生型IgG1时包含L234A、L235A、G237A、P238S、H268A、A330S和P331S置换的IgG1同种型;

- h) 是在相比于野生型IgG1时包含L234A和L235A置换的IgG1同种型;或者
- i) 是在相比于野生型IgG4时包含S228P、F234A和L235A置换的IgG4同种型。

28. 根据权利要求27所述的抗体,包含下列的重链(HC)和轻链(LC):

- a) 分别为SEQ ID NO:84和88;
- b) 分别为SEQ ID NO:85和89;
- c) 分别为SEQ ID NO:86和89;
- d) 分别为SEQ ID NO:87和89;
- e) 分别为SEQ ID NO:96和88;
- f) 分别为SEQ ID NO:97和89;
- g) 分别为SEQ ID NO:98和89;
- h) 分别为SEQ ID NO:99和89;
- i) 分别为SEQ ID NO:149和89;
- j) 分别为SEQ ID NO:150和89;
- k) 分别为SEQ ID NO:151和89;
- l) 分别为SEQ ID NO:152和154;或者

m) 分别为SEQ ID NO:153和89。

29. 根据权利要求28所述的抗体, 其中所述HC和所述LC由下列的多核苷酸编码:

- a) 分别为SEQ ID NO:90和94;
- b) 分别为SEQ ID NO:91和95;
- c) 分别为SEQ ID NO:92和95;
- d) 分别为SEQ ID NO:93和95;
- e) 分别为SEQ ID NO:100和94;
- f) 分别为SEQ ID NO:101和95;
- g) 分别为SEQ ID NO:102和95;
- h) 分别为SEQ ID NO:103和95;
- i) 分别为SEQ ID NO:155和95;
- j) 分别为SEQ ID NO:156和95;
- k) 分别为SEQ ID NO:157和95;
- l) 分别为SEQ ID NO:158和160;或者
- m) 分别为SEQ ID NO:159和95。

30. 一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段, 包含:

- a) 分别为SEQ ID NO:39、42、46、50、52和54的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;
- b) SEQ ID NO:56的VH和SEQ ID NO:60的VL; 和/或
- c) SEQ ID NO:84或96的HC和SEQ ID NO:88的LC。

31. 一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段, 包含:

- a) 分别为SEQ ID NO:40、43、47、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;
- b) SEQ ID NO:57的VH和SEQ ID NO:61的VL; 和/或
- c) SEQ ID NO:85或97的HC和SEQ ID NO:89的LC。

32. 一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段, 包含:

- a) 分别为SEQ ID NO:41、44、48、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;
- b) SEQ ID NO:58的VH和SEQ ID NO:61的VL; 和/或
- c) SEQ ID NO:86或98的HC和SEQ ID NO:89的LC。

33. 一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段, 包含:

- a) 分别为SEQ ID NO:41、45、49、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;
- b) SEQ ID NO:59的VL和SEQ ID NO:61的VL; 和/或
- c) SEQ ID NO:87或99的HC和SEQ ID NO:89的LC。

34. 根据权利要求1-33中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体缀合至异源分子。

35. 根据权利要求34所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述异源分子是可检测标签或细胞毒素剂。

36. 根据权利要求1-35中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体是多特异性抗体或双特异性抗体。

37. 一种药物组合物, 包含根据权利要求1-36中任一项所述的抗体或抗原结合片段以及药学上可接受的载体。

38. 一种多核苷酸,

a) 编码SEQ ID NO:56、57、58、59、60、61、84、85、86、87、96、97、98、99、137、138、139、140、141、142、149、150、151、152、153或154的VH、VL、VH与VL、HC、LC、或HC与LC; 或者

b) 包含SEQ ID NO:79、80、81、82、83、90、91、92、93、94、95、100、101、102、103、121、143、144、145、146、147、148、155、156、157、158、159或160的多核苷酸序列。

39. 一种载体, 包含根据权利要求38所述的多核苷酸。

40. 一种宿主细胞, 包含根据权利要求39所述的载体。

41. 一种制备根据权利要求25所述的抗体或其抗原结合片段的方法, 包括在表达所述抗体的条件下培养根据权利要求40所述的宿主细胞, 并且回收所述宿主细胞产生的抗体。

42. 一种治疗或预防HLA-DR介导的疾病的方法, 包括以足以治疗HLA-DR介导的疾病的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的根据权利要求1-36中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或者根据权利要求37所述的药物组合物。

43. 根据权利要求42所述的方法, 其中HLA-DR介导的疾病是自身免疫疾病。

44. 根据权利要求43所述的方法, 其中所述自身免疫疾病是HLA-DRB1-相关的自身免疫疾病、类风湿性关节炎、系统性幼年特发性关节炎、格雷夫病、桥本甲状腺炎、重症肌无力、多发性硬化症、系统性红斑狼疮或1型糖尿病。

45. 根据权利要求42-44中任一项所述的方法, 其中将所述抗体或其抗原结合片段与第二治疗剂联合施用。

46. 根据权利要求45所述的方法, 其中所述第二治疗剂是皮质类固醇或免疫抑制剂。

47. 一种抑制针对自身抗原的免疫应答的方法, 包括以足以抑制针对自身抗原的免疫应答的时间向对其有需要的受试者施用根据权利要求1-36中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或者根据权利要求37所述的药物组合物。

48. 根据权利要求47所述的方法, 其中所述自身抗原存在于患有自身免疫疾病的患者中。

49. 根据权利要求48所述的方法, 其中所述自身免疫疾病是类风湿性关节炎、系统性幼年特发性关节炎、格雷夫病、桥本甲状腺炎、重症肌无力、多发性硬化症、系统性红斑狼疮或1型糖尿病。

50. 一种治疗表达HLA-DR的肿瘤的方法, 包括以足以治疗表达HLA-DR的肿瘤的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的缀合于细胞毒素剂的根据权利要求1-36中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或者根据权利要求37所述的药物组合物。

51. 根据权利要求50所述的方法, 其中表达HLA-DR的肿瘤是血液恶性肿瘤。

52. 根据权利要求51所述的方法, 其中所述血液恶性肿瘤是B细胞非霍奇金淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、B细胞急性淋巴性白血病、伯基特淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、毛细胞白血病、急性髓性白血病、T细胞淋巴瘤、T细胞非霍奇金淋巴瘤、慢性髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性髓性白血病或急性单核细胞白血病(AMoL)。

53. 根据权利要求52所述的方法, 其中所述表达HLA-DR的肿瘤是胶质瘤、卵巢癌、结肠直肠癌、骨肉瘤、宫颈癌、胃癌或者结肠、喉、骨骼肌、乳腺或肺中的肿瘤。

54. 一种与根据权利要求25所述的抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体。

55. 一种试剂盒, 包含根据权利要求25所述的抗体或抗原结合片段。

56. 根据权利要求1-36中任一项所述的抗体或者根据权利要求37所述的药物组合物, 其在使用中使用。

57. 根据权利要求1-36中任一项所述的抗体或者根据权利要求37所述的药物组合物, 其在使用HLA-DR介导的疾病、自身免疫疾病或癌症中使用。

特异性结合HLA-DR的抗体及其用途

[0001] 序列表

[0002] 本申请包含经由EFS-Web提交的序列表,其全部内容以引用方式并入本文。2016年12月15日创建的ASCII文本文件命名为JBI5078WOPCT_ST25.txt,并且大小为254千字节。

技术领域

[0003] 本发明涉及特异性结合HLA-DR的抗体和其抗原结合片段、编码该抗体或片段的多核苷酸以及制备和使用前述物质的方法。

背景技术

[0004] 主要组织相容性复合体(MHC) II类分子用于将抗原衍生肽呈递给CD4⁺ T细胞。人具有三种MHC II类分子:HLA-DP、HLA-DQ和HLA-DR,其各自由alpha/beta(α/β)链异源二聚体构成,结合细胞内的肽并将其携带到细胞表面进行呈递。MHC II类分子表达于包括B细胞、巨噬细胞和树突细胞在内的抗原呈递细胞(APC)的表面。

[0005] 由HLA-DRA1编码的HLA-DR α 链是高度保守的。由HLA-DRB1或其旁系同源物HLA-DRB3、HLA-DRB4或HLA-DRB5之一编码的HLA-DR β 链是超多态性的(hyperpolymorphic)。来自所有个体的抗原呈递细胞表达HLA-DRA1编码的 α 链和HLA-DRB1编码的 β 链,但还可以表达与一种或两种HLA-DRB3、HLA-DRB4和HLA-DRB5-编码的链配对的 α 链。因此,根据遗传的母源和父源等位基因,个体可表达两种至四种HLA-DR同种型。

[0006] HLA-DRB1特别与多种人自身免疫疾病相关联。HLA-DRB1基因的变异可影响HLA-DR所呈递的特异性肽,其继而影响抗原特异性CD4⁺ T细胞对该HLA-DR/肽复合物的识别和响应。HLA-DRB1与自身免疫疾病的遗传关联暗示着肽在疾病发生和/或发展中呈递给辅助T细胞。T细胞活化似乎是自身免疫疾病的早期步骤,表示将自身肽初始识别为外来物。病理性CD4⁺ T可直接导致组织损伤,但也可触发B细胞活化,从而导致自身抗体产生。

[0007] 已发现HLA-DRB1的多态性与包括如下的疾病相关联:类风湿性关节炎(RA)、系统性幼年特发性关节炎、格雷夫病、桥本甲状腺炎、重症肌无力、多发性硬化症、系统性红斑狼疮、以及1型糖尿病(综述见Gough和Simmonds,Curr Genomics 2007;8(7):453-465以及Shiina等人,JHuman Genetics 2009;54:15-19)。 β 链的肽结合凹坑侧面的70-74位氨基酸被称为“共享表位”并且包括带正电的残基(QKRAA、QRRRAA、或RRRAA)。共享表位存在于HLA-DRB1等位基因HLA-DRB1*01:01、*01:02、*04:01、*04:04、*04:05、*04:08和*10:01中,据认为其优先容纳瓜氨酸化肽,即氨基酸精氨酸已被修饰为瓜氨酸的肽。约三分之二的RA患者具有存在于其血清中的称为ACPA(抗瓜氨酸化蛋白质抗体)的自身抗体,推测这是由于经“共享表位”HLA-DR分子呈递之后的瓜氨酸化肽识别所致。

[0008] HLA-DR也表达于多种血液恶性肿瘤以及实体瘤上,并且已寻求这些适应症的基于抗体的疗法(Schweighofer等人,Cancer Immunol Immunotherap 61(12)2367-73,2012; Stein等人,2006,Blood 108:2736-44;Altamonte等人,Oncogene 200322:6564-6569),但该方法存在安全考量。

[0009] 因此,需要治疗HLA-DR-介导的疾病诸如自身免疫疾病和HLA-DR阳性肿瘤的疗法。

发明内容

[0010] 本发明提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与包含下列的抗体竞争结合HLA-DR:

[0011] SEQ ID NO:58的重链可变域(VH)和SEQ ID NO:61的轻链可变域(VL);

[0012] SEQ ID NO:56的VH和SEQ ID NO:60的VL;

[0013] SEQ ID NO:57的VH和SEQ ID NO:61的VL;

[0014] SEQ ID NO:137的VH和SEQ ID NO:61的VL;

[0015] SEQ ID NO:138的VH和SEQ ID NO:61的VL;

[0016] SEQ ID NO:139的VH和SEQ ID NO:61的VL;

[0017] SEQ ID NO:140的VH和SEQ ID NO:142的VL;或者

[0018] SEQ ID NO:141的VH和SEQ ID NO:61的VL。

[0019] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

[0020] 分别为SEQ ID NO:73、74和75的重链互补决定区1、2和3(HCDR1、HCDR2和HCDR3),以及分别为SEQ ID NO:76、77和78的轻链互补决定区1、2和3(LCDR1、LCDR2和LCDR3);

[0021] 分别为SEQ ID NO:39、42、46、50、52和54的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0022] 分别为SEQ ID NO:40、43、47、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0023] 分别为SEQ ID NO:41、44、48、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0024] 分别为SEQ ID NO:41、45、49、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0025] 分别为SEQ ID NO:123、126、129、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0026] 分别为SEQ ID NO:123、126、130、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0027] 分别为SEQ ID NO:123、126、131、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0028] 分别为SEQ ID NO:124、127、132、134、135和136的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;或者

[0029] 分别为SEQ ID NO:125、128、133、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0030] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含如本文所述的特定VH、VL、HC和LC氨基酸序列。

[0031] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含:

[0032] 分别为SEQ ID NO:39、42、46、50、52和54的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和

LCDR3;

[0033] SEQ ID NO:56的VH和SEQ ID NO:60的VL;和/或

[0034] SEQ ID NO:84或96的HC和SEQ ID NO:88的LC。

[0035] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含:

[0036] 分别为SEQ ID NO:40、43、47、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0037] SEQ ID NO:57的VH和SEQ ID NO:61的VL;和/或

[0038] SEQ ID NO:85或97的HC和SEQ ID NO:89的LC。

[0039] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含:

[0040] 分别为SEQ ID NO:41、44、48、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0041] SEQ ID NO:58的VH和SEQ ID NO:61的VL;和/或

[0042] SEQ ID NO:86或98的HC和SEQ ID NO:89的LC。

[0043] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含:

[0044] 分别为SEQ ID NO:41、45、49、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0045] SEQ ID NO:59的VL和SEQ ID NO:61的VL;和/或

[0046] SEQ ID NO:87或99的HC和SEQ ID NO:89的LC。

[0047] 本发明还提供一种缀合至异源分子的本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0048] 本发明还提供一种药物组合物,其包含本发明的抗体或其抗原结合片段以及药学上可接受的载体。

[0049] 本发明还提供了一种多核苷酸,其编码SEQ ID NO:56、57、58、59、60、61、84、85、86、87、96、97、98、99、137、138、139、140、141、142、149、150、151、152、154或154的VH、VL、VH与VL、HC、LC、或HC与LC;或包含SEQ ID NO:79、80、81、82、83、90、91、92、93、94、95、100、101、102、103、121、143、144、145、146、147、148、155、156、157、158、159或160的多核苷酸序列。

[0050] 本发明还提供一种包含本发明的多核苷酸的载体。

[0051] 本发明还提供一种包含本发明的载体的宿主细胞。

[0052] 本发明还提供一种制备本发明抗体或其抗原结合片段的方法,该方法包括在表达该抗体的条件下培养本发明的宿主细胞,并且回收宿主细胞所产生的抗体。

[0053] 本发明还提供一种治疗或预防HLA-DR介导的疾病的方法,该方法包括以足以治疗HLA-DR介导的疾病的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的本发明抗体或其抗原结合片段。

[0054] 本发明还提供一种抑制针对自身抗原的免疫应答的方法,该方法包括以足以抑制针对自身抗原的免疫应答的时间向对其有需要的受试者施用本发明抗体或其抗原结合片段。

[0055] 本发明还提供一种治疗表达HLA-DR的肿瘤的方法,该方法包括以足以治疗表达HLA-DR的肿瘤的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的缀合至细胞毒素剂的本发明抗体或其抗原结合片段。

- [0056] 本发明还提供一种结合本发明抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体。
- [0057] 本发明还提供包含本发明抗体或抗原结合片段的试剂盒。
- [0058] 本发明还提供本发明的抗体在治疗中的使用。

附图说明

- [0059] 图1示出所选抗体的HCDR1氨基酸序列和HCDR1属序列。使用抗体建模的默认协议，通过在MOE (CCG, Montreal) 中对所有Fv (VH/VL对) 生成分子模型来测定属序列。对于具有不同长度的CDR，基于结构保守区来比对这些结构模型，并且鉴定结构等同的CDR位置。
- [0060] 图2示出所选抗体的HCDR2氨基酸序列和HCDR2属序列。HCDR2属序列如图1所述生成。
- [0061] 图3示出所选抗体的HCDR3氨基酸序列和HCDR3属序列。HCDR3属序列如图1所述生成。
- [0062] 图4示出所选抗体的LCDR1氨基酸序列和LCDR1属序列。LCDR1属序列如图1所述生成。
- [0063] 图5示出所选抗体的LCDR2氨基酸序列和LCDR2属序列。LCDR2属序列如图1所述生成。
- [0064] 图6示出所选抗体的LCDR3氨基酸序列和LCDR3属序列。LCDR3属序列如图1所述生成。
- [0065] 图7示出特异性结合HLA-DR的所选抗体的重链可变区 (VH) 的氨基酸序列的比对。VH域在每行起始处由其序列标识号表示。CDR序列 (由Kabat定义) 以下划线标注。
- [0066] 图8示出特异性结合HLA-DR的所选抗体的轻链可变域 (VL) 的氨基酸序列的比对。VL域在每行起始处由其序列标识号表示。CDR序列 (由Kabat定义) 以下划线标注。
- [0067] 图9示出使用Meso Scale Discovery (MSD) 技术测量的所述抗体与DR4G89 (与血凝素肽HA_304-318复合的HLA-DR4) 的结合。ECL: 电化学发光信号。
- [0068] 图10示出使用MSD技术测量的所述抗体与DR4G93 (与血凝素肽HA_304-318复合的HLA-DR1) 的结合。ECL: 电化学发光信号。
- [0069] 图11示出使用MSD技术测量的所述抗体与DR4G90 (与胶原蛋白II肽CII_1236-1249复合的HLA-DR4) 的结合。ECL: 电化学发光信号。
- [0070] 图12示出使用MSD技术测量的所述抗体与DR4G99 (与胶原蛋白II肽CII_1236-1249复合的HLA-DR1) 的结合。ECL: 电化学发光信号。
- [0071] 图13示出如相比于同种型对照，在与2 μ g/ml抗-HLA-DR抗体的培养物中20小时后人PBMC中死亡B细胞的频数 (%膜联蛋白V⁺活/死⁺CD3⁻CD20⁺)。
- [0072] 图14示出如相比于同种型对照，在与2 μ g/ml抗-HLA-DR抗体的培养物中20小时后人PBMC中凋亡B细胞的频数 (%膜联蛋白V⁺活/死⁻CD3⁻CD20⁺)。
- [0073] 图15A示出与DR4B117复合的HLA-DR4 (DR4G86) 的结构。
- [0074] 图15B示出与DR4B127复合的HLA-DR4 (DR4G86) 的结构。
- [0075] 图15C示出了与T细胞受体 (TCR) 复合的HLA-DR4的结构。
- [0076] 图16A示出DR4B117和DR4B127不阻断HLA-DR与同源TCR的相互作用，而DR4B4、DR4B5和DR4B6却有所阻断。

[0077] 图16B示出DR4B22、DR4B30和DR4B33不阻断HLA-DR与同源TCR的相互作用,而DR4B6却有所阻断。

具体实施方式

[0078] 本说明书中所引用的所有出版物,包括但不限于专利和专利申请均以引用方式并入本文,如同在本文中完整给出。

[0079] 应当了解,本文所用的术语只是为了描述具体实施方案的目的,并非旨在进行限制。除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语的含义与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同。

[0080] 虽然与本文所述的那些方法和材料相似或等效的任意方法和材料都可以用于检验本发明的实践中,然而本文中描述示例性材料和方法。在描述和要求保护本发明时,将使用以下术语。

[0081] 如本说明书和所附权利要求中所用,除非内容另有明确说明,否则单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数指代。因此,例如,对“一个细胞”的提及包括两个或更多个细胞的组合等等。

[0082] “特异性结合”、“特异性地结合”、“特异地结合”或“结合”是指抗体以比针对其它抗原更高的亲和力结合至某个抗原或该抗原内的表位。通常,抗体以约 1×10^{-7} M或更小(例如约 5×10^{-8} M或更小、约 1×10^{-8} M或更小、约 1×10^{-9} M或更小、约 1×10^{-10} M或更小、约 1×10^{-11} M或更小、或约 1×10^{-12} M或更小)的平衡解离常数(K_D)结合至抗原或抗原内的表位,通常该 K_D 为该抗体结合至非特异性抗原(如BSA、酪蛋白)的 K_D 的至少百分之一。可使用标准程序来测量解离常数。然而,特异性结合至抗原或抗原内的表位的抗体可能对其它相关的抗原具有交叉反应性,例如,对来自其它物种(同源)(诸如人或猴,例如食蟹猕猴(*Macaca fascicularis*)(*cynomolgus*, cyno)、黑猩猩(*Pan troglodytes*)(*chimpanzee*, chimp))或狨猴(*Callithrix jacchus*)(*common marmoset*, marmoset)的相同抗原具有交叉反应性。虽然单特异性抗体特异性结合一个抗原或一个表位,而双特异性抗体特异性结合两个不同的抗原或两个不同的表位。“特异性结合HLA-DR的抗体”或“抗-HLA-DR抗体”是指至少特异性结合由分别具有SEQ ID NO:13和14中所示氨基酸序列的HLA-DRA1*01:02 α 链和HLA-DRB1*04:01 β 链组成的HLA-DR4的抗体。因为各种HLA-DR蛋白质由编码HLA-DR α 和HLA-DR β 链的基因的等位变体编码,特异性结合HLA-DR的抗体也可特异性结合其它HLA-DR蛋白质,诸如HLA-DR1、HLA-DR3、HLA-DR10和HLA-DR15。

[0083] “抗体”广义上是指并包括免疫球蛋白分子,具体包括单克隆抗体(包括鼠科动物单克隆抗体、人单克隆抗体、人源化单克隆抗体和嵌合单克隆抗体),抗原结合片段,双特异性或多特异性抗体,二聚、四聚或多聚抗体,单链抗体、域抗体,以及包含具有所需特异性的抗原结合位点的免疫球蛋白分子的任何其它经修饰构型。“全长抗体分子”包含由二硫键互连的两条重链(HC)与两条轻链(LC)以及它们的多聚体(例如IgM)。每条重链包含重链可变域(VH)和重链恒定域,该重链恒定域包含亚域CH1、铰链、CH2和CH3。每条轻链包含轻链可变域(VL)和轻链恒定域(CL)。VH和VL可进一步细分为称作互补决定区(CDR)的超变区,间插有框架区(FR)。各个VH和VL由三个CDR和四个FR片段构成,并按以下顺序从氨基端至羧基端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。

[0084] “互补决定区 (CDR)”为抗体中的“抗原结合位点”。可使用不同的术语来定义CDR：(i) 三个在VH中 (HCDR1、HCDR2、HCDR3) 且三个在VL中 (LCDR1、LCDR2、LCDR3) 的互补决定区 (CDR) 是基于序列变异性 (Wu和Kabat, (1970) J Exp Med 132:211-50; Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991)。(ii) 三个在VH (H1、H2、H3) 中且三个在VL (L1、L2、L3) 中的“超变区”、“HVR”或“HV”，是指抗体可变域中的在结构上超变的区域，如Chothia和Lesk所定义 (Chothia和Lesk, (1987) Mol Biol 196:901-17)。国际免疫遗传学 (IMGT) 数据库 (<http://www.imgt.org>) 提供了抗原结合位点的标准化编号和定义。CDR、HV和IMGT描述之间的对应关系在Lefranc等人, (2003) DevComparat Immunol 27:55-77中有所描述。除非在说明书中另有明确说明，如本文所用，术语“CDR”、“HCDR1”、“HCDR2”、“HCDR3”、“LCDR1”、“LCDR2”和“LCDR3”包括上文所述的任何方法 (Kabat、Chothia或IMGT) 所定义的CDR。

[0085] 免疫球蛋白可根据重链恒定区氨基酸序列被指定为五种主要种类IgA、IgD、IgE、IgG和IgM。IgA和IgG进一步亚分类为同种型IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。任何脊椎动物物种的抗体轻链可基于其恒定域的氨基酸序列被指定为两种完全不同的类型中的一种，即kappa (κ) 和lambda (λ)。

[0086] “抗原结合片段”是指免疫球蛋白分子的保留亲本全长抗体的抗原结合特性的部分。示例性的抗原结合片段为重链互补决定区 (HCDR) 1、2和/或3、轻链互补决定区 (LCDR) 1、2和/或3、VH、VL、VH与VL、Fab、F (ab')₂、Fd和Fv片段以及由一个VH域或一个VL域组成的域抗体 (dAb)。VH和VL域可经由合成接头连接在一起以形成各种类型的单链抗体设计，其中在VH域和VL域由单独链表达的情况下，VH/VL域在分子内或分子间配对，以形成单价抗原结合位点，诸如单链Fv (scFv) 或双价抗体；例如在国际专利公开W01998/44001、国际专利公开W01988/01649；国际专利公开W01994/13804；国际专利公开W01992/01047中所描述的。

[0087] “单克隆抗体”是指在每条重链和每条轻链中具有单一氨基酸组成的抗体群，除了可能的熟知改变，诸如从抗体重链中除去C末端赖氨酸之外。单克隆抗体通常结合一个抗原表位，而双特异性单克隆抗体结合两个不同的抗原表位。单克隆抗体可在抗体群内具有异质糖基化。单克隆抗体可以是单特异性的或多特异性的，或者是单价的、二价的或多价的。术语“单克隆抗体”中包括双特异性抗体。

[0088] “分离的”是指已经与分子产生于其中的系统 (例如重组细胞) 中的其它组分基本上分离和/或从其中纯化出来的分子 (诸如合成多核苷酸或蛋白质，如抗体) 的同质群体，以及已经受至少一个纯化或分离步骤的蛋白质。“特异性结合HLA-DR的分离的抗体”是指基本上不含其它细胞材料和/或化学物质的抗体，并且涵盖分离至更高纯度，诸如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%纯度的抗体。

[0089] “人源化抗体”是指其中抗原结合位点来源于非人物种且可变区框架来源于人源免疫球蛋白序列的抗体。人源化抗体在框架中可包含置换，使得该框架可能不是表达的人免疫球蛋白或人免疫球蛋白种系基因序列的精确拷贝。

[0090] “人抗体”是指具有重链和轻链可变域的抗体，其中框架和抗原结合位点均来源于人起源的序列。如果抗体包含恒定域或恒定域的一部分，则该恒定域也来源于人起源的序

列。

[0091] 如果抗体的可变域由使用人种系免疫球蛋白或重排免疫球蛋白基因的系统获得,则人抗体包含“来源于”人起源序列的重链或轻链可变域。此类示例性系统为在噬菌体或哺乳动物细胞上展示的人免疫球蛋白基因文库,以及转基因非人动物,诸如携带如本文所述的人免疫球蛋白基因座的小鼠或大鼠。在与人种系免疫球蛋白基因或重排免疫球蛋白基因进行比较时,人抗体可包含由于例如天然存在的体细胞突变或者在框架或抗原结合位点中特意引入置换或两者所引起的氨基酸差异。通常,“人抗体”的氨基酸序列与由人种系免疫球蛋白基因或重排免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性。在一些情况下,“人抗体”可包含由人框架序列分析得到的共有框架序列(例如Knappik等人,(2000) J Mol Biol 296:57-86中所述);或结合到展示在噬菌体上的人免疫球蛋白基因文库中的合成HCDR3(例如Shi等人,(2010) J Mol Biol 397:385-96和国际专利公开W02009/085462中所述)。

[0092] 来源于人免疫球蛋白序列的人抗体可使用系统诸如噬菌体展示结合合成的CDR和/或合成的框架来生成,或者可对其进行体外诱变以改善抗体特性,从而得到不由体内整套人抗体种系表达的抗体。

[0093] “人抗体”的定义中不包括抗原结合位点来源于非人物种的抗体。

[0094] “重组体”是指以重组手段制备、表达、创建或分离的抗体及其它蛋白质。“重组抗体”包括通过重组方法制备、表达、形成或分离的所有抗体,诸如从动物(例如小鼠)中分离的抗体,即人免疫球蛋白基因的转基因或转染色体,或从其制备的杂交瘤分离的抗体(在下文中进一步描述);从经转化以表达抗体的宿主细胞分离的抗体;从重组的组合抗体文库分离的抗体;以及通过涉及将人免疫球蛋白基因序列与其它DNA序列剪接在一起的任何其它方法制备、表达、创建或分离的抗体,或者使用Fab臂交换体外产生的抗体,如双特异性抗体。

[0095] “表位”是指抗原的与抗体特异性结合的部分。表位通常由部分诸如氨基酸或多糖侧链的化学活性(诸如,极性、非极性或疏水性)表面基团组成,并且可具有特定三维结构特征以及特定电荷特征。表位可由形成构象空间单元的连续和/或不连续氨基酸构成。对于不连续表位,来自抗原的线性序列的不同部分的氨基酸因蛋白质分子的折叠而在三维空间上靠近。

[0096] “互补位”是指抗原特异性结合的抗体部分。互补位可以是本质上线性的,或者可以是不连续的,通过抗体的非邻近氨基酸之间的空间关系形成,而非通过线性系列的氨基酸的空间关系形成。“轻链互补位”和“重链互补位”或“轻链互补位氨基酸残基”和“重链互补位氨基酸残基”分别指与抗原接触的抗体轻链和重链残基,或者一般来讲,“抗体互补位残基”是指与抗原接触的那些抗体氨基酸。

[0097] “双特异性”是指特异性结合两个不同抗原或同一抗原内的两个不同表位的抗体。双特异性抗体可对其它相关抗原具有交叉反应性,或者可结合两个或更多个不同抗原之间所共享的表位。

[0098] “多特异性”是指特异性结合至少两个不同抗原或同一抗原内的至少两个不同表位的抗体。多特异性抗体可结合例如两个、三个、四个或五个不同的抗原或同一抗原内不同

的表位。

[0099] “多核苷酸”是指包含磷酸糖类主链共价连接的核苷酸链或其它等同共价化学物的合成分子。cDNA是合成多核苷酸的典型示例。

[0100] “多肽”或“蛋白质”是指包含由肽键连接以形成多肽的至少两个氨基酸残基的分子。

[0101] “肽”是指长度多至30个氨基酸的短多肽。

[0102] “变体”是指因一处或多处修饰(例如,一个或多个置换、插入或缺失)而不同于参考多肽或参考多核苷酸的多肽或多核苷酸。

[0103] “载体”是指能够在生物系统内复制或可在这类系统之间移动的多核苷酸。载体多核苷酸通常含有元件诸如复制起点、聚腺苷酸化信号或选择标记物,其功能是促进这些多核苷酸在生物系统,例如细胞、病毒、动物、植物、以及利用能够复制载体的生物组分的重组生物系统中的复制或保持。载体多核苷酸可为单链或双链DNA或RNA分子或这些分子的杂合分子。

[0104] “表达载体”是指可用于在生物系统或再造生物系统中以指导由存在于表达载体中的多核苷酸序列所编码的多肽进行翻译的载体。

[0105] 术语“约”意指如由本领域的普通技术人员所确定,在特定值的可接受误差范围内,其部分地取决于如何测量或确定该值,即测量体系的限制。在特定测定、结果或实施方案的上下文中,除非实施例或说明书其它地方内另有明确说明,否则“约”意指在根据本领域惯例的一个标准偏差之内、或多至5%的范围(无论哪个更大)。

[0106] “样本”是指从受试者分离的类似流体、细胞、或组织的采集物,以及存在于受试者体内的流体、细胞或组织。示例性样本为生物流体,诸如血液、血清和浆膜液、血浆、淋巴液、尿液、唾液、囊液、泪液、排泄物、痰、分泌组织和器官的粘膜分泌物、阴道分泌物、腹水、胸膜、心包、腹膜、腹腔和其它体腔的流体、由支气管灌洗液收集的流体、滑液、与受试者或生物来源接触的液体溶液,例如细胞和器官培养基(包括细胞或器官条件培养基)、灌洗液等,组织活检样本、细针穿刺、手术切除的组织、器官培养物或细胞培养物。

[0107] “与……组合”意指将两种或更多种治疗剂以混合物一起、作为单一药剂同时或作为单一药剂以任何顺序依次施用给受试者。

[0108] “拮抗剂”是指当与细胞蛋白质结合时抑制由蛋白质的天然配体诱导的至少一种反应或活性的分子。当至少一种反应或活性被抑制超过在不存在拮抗剂的情况下(例如,阴性对照)被抑制的至少一种反应或活性的至少约30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%时或当与不存在拮抗剂情况下的抑制相比抑制具有统计意义上的显著性时,分子为拮抗剂。示例性拮抗剂是特异性结合HLA-DR的抗体,该抗体抑制T细胞的活化,例如CD4⁺ T细胞的增殖。

[0109] “受试者”包括任何人或非人动物。“非人动物”包括所有的脊椎动物,例如哺乳动物和非哺乳动物,诸如非人灵长类动物、绵羊、狗、猫、马、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。“患者”和“受试者”在本文中可互换使用。

[0110] “人白细胞抗原HLA-DR”或“HLA-DR”是指主要组织相容性复合体(MHC) II类细胞表面受体。HLA-DR是 α 和 β 链的异源二聚体,并且各亚基跨膜一次。HLA-DR α 链由HLA-DRA1编码,并且HLA-DR β 链由HLA-DRB1或其旁系同源物HLA-DRB3、HLA-DRB4、或HLA-DRB5之一编码。如

所公知,HLA-DRB1是超多态性的。各种HLA-DR α 和HLA-DRB链的命名、cDNA和氨基酸序列为人们所熟知。例如,国际ImMunoGeneTics information system[®] (IMGT[®])数据库提供由HLA-DRA1和HLA-DRB编码的蛋白质的氨基酸序列以及它们的氨基酸比对。HLA命名提供HLA基因和蛋白序列以及HLA等位基因数统计,其可见于[Http://_hla_alleles_org](http://_hla_alleles_org),并且提及于Robinson等人,Nucleic Acids Research (2015) 43:D423-431和March等人,Tissue Antigens (2010) 75:291-455中。

[0111] “HLA-DR4”或“DR4”是指血清学组4内的特定HLA抗原。HLA-DR4 α 链由HLA-DRA1*01编码,并且HLA-DR4 β 链由HLA-DRB1*04编码。HLA-DRB1*04呈多态性并且编码各种变体,包括本领域技术人员所公知的HLA-DRB1*04:01、HLA-DRB1*04:02、HLA-DRB1*04:03、HLA-DRB1*04:04、HLA-DRB1*04:05等。

[0112] “HLA-DR1”或“DR1”是指血清学组1内的特定HLA抗原。HLA-DR1 α 链由HLA-DRA1*01编码,并且HLA-DR1 β 链由HLA-DRB1*01基因编码。HLA-DRB1*01呈多态性并且编码各种变体,包括本领域技术人员所公知的HLA-DRB1*01:01、HLA-DRB1*01:02、HLA-DRB1*01:03、HLA-DRB1*01:04、HLA-DRB1*01:05等。

[0113] “HLA-DR3”或“DR3”是指血清学组3内的特定HLA抗原。HLA-DR3 α 链由HLA-DRA1*01编码,并且HLA-DR3 β 链由HLA-DRB1*03基因编码。HLA-DRB1*03呈多态性并且编码各种变体,包括本领域技术人员所公知的HLA-DRB1*03:01、HLA-DRB1*03:02、HLA-DRB1*03:03、HLA-DRB1*03:04、HLA-DRB1*03:05等。

[0114] “HLA-DR10”或“DR10”是指血清学组10内的特定HLA抗原。HLA-DR10 α 链由HLA-DRA1*01编码,并且HLA-DR10 β 链由HLA-DRB1*10基因编码。HLA-DRB1*10呈多态性并且编码各种变体,包括本领域技术人员所公知的HLA-DRB1*10:01、HLA-DRB1*10:02、HLA-DRB1*10:03、HLA-DRB1*10:04、HLA-DRB1*10:05等。

[0115] “HLA-DR15”或“DR15”是指血清学组15内的特定HLA抗原。HLA-DR15 α 链由HLA-DRA1*01编码,并且HLA-DR15 β 链由HLA-DRB1*15基因编码。HLA-DRB1*15呈多态性并且编码各种HLA-DRB1蛋白质,包括本领域技术人员所公知的HLA-DRB1*15:01、HLA-DRB1*15:02、HLA-DRB1*15:03、HLA-DRB1*15:04、HLA-DRB1*15:05等。

[0116] “共享表位”是指在其 β 链的第三高变区中由特定HLA-DRB1等位基因所共享的共享结构基序。该共享基序在肽结合凹坑侧面延伸有五个氨基酸(残基70-74),并具有QKRAA (SEQ ID NO:66)、QRRRAA (SEQ IDNO:67)或RRRAA (SEQ ID NO:68)的氨基酸序列。共享表位存在于HLA-DRB1等位基因HLA-DRB1*01:01、*01:02、*04:01、*04:04、*04:05、*04:08和*10:01中。

[0117] 如本文所用,“凋亡”是指可发生于细胞内的程序性细胞死亡(PCD)的过程。

[0118] “B细胞死亡”是指意外方式(坏死)所致的B细胞死亡,其是急性组织损伤引起并且诱发炎症反应的细胞死亡形式;以及凋亡或任何其它方式所致的细胞死亡。

[0119] “复合”或“复合的”是指HLA-DR α 链、HLA-DR β 链与位于HLA-DR分子中公知的肽结合沟槽中的一个肽的复合物。在体内,肽/HLA-DR相互作用是非共价相互作用。在体外,肽可例如共价连接于例如 β 链的N-末端。因此,“复合”涵盖HLA-DR与非共价和共价结合的肽的复合物。

[0120] “T细胞活化”是指T细胞(例如CD4⁺ T细胞)的一种或多种细胞应答,例如增殖、分

化、细胞因子分泌、细胞毒性效应分子释放、活化标记的细胞毒活性和表达。

[0121] “HLA-DRB1-相关的自身免疫疾病”是指已经或将采用特定HLA-DRB1等位基因或单倍型来鉴定遗传相关性的自身免疫疾病。

[0122] “HLA-DR-介导的疾病”是指至少部分地由与T细胞受体 (TCR) 结合的HLA-DR介导的疾病。

[0123] 除非另有明确说明,否则在整个说明书中,抗体恒定区中的氨基酸残基根据EU索引编号,如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版 Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD. (1991)中有所描述。

[0124] 本文使用如表1中所示的常规单字母和三字母氨基酸代码。

[0125] 表1:

[0126]

氨基酸	三字母代码	单字母代码
丙氨酸	Ala	A
精氨酸	Arg	R
天冬酰胺	Asn	N
天冬氨酸	Asp	D
半胱氨酸	Cys	C
谷氨酸	Gln	E
谷氨酰胺	Glu	Q
甘氨酸	Gly	G
组氨酸	His	H
异亮氨酸	Ile	I
赖氨酸	Lys	K
甲硫氨酸	Met	M
苯丙氨酸	Phe	F
脯氨酸	Pro	P
丝氨酸	Ser	S
苏氨酸	Thr	T
色氨酸	Trp	W
酪氨酸	Tyr	Y
缬氨酸	Val	V

[0127] 物质的组成

[0128] 本发明提供特异性结合HLA-DR的抗体,其抑制CD4⁺ T细胞活化。该抗体任选地是非耗尽性抗体,并且示出不结合HLA-DP或HLA-DQ,因此可通过如下方式提供改善的安全性特征:仅干扰与自身免疫疾病相关的自身肽的呈递,同时对感染期间产生免疫应答所需的HLA-DP或HLA-DQ上其它肽的呈递没有影响。本发明提供了多肽和编码本发明抗体的多核苷酸或其互补核酸、载体、宿主细胞以及制备和使用它们的方法。

[0129] 本发明提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗

体或其抗原结合片段与包含下列的抗体竞争结合HLA-DR:

[0130] a) SEQ ID NO:58的重链可变域(VH)和SEQ ID NO:61的轻链可变域(VL);

[0131] b) SEQ ID NO:56的VH和SEQ ID NO:60的VL;

[0132] c) SEQ ID NO:57的VH和SEQ ID NO:61的VL;

[0133] d) SEQ ID NO:137的VH和SEQ ID NO:61的VL;

[0134] e) SEQ ID NO:138的VH和SEQ ID NO:61的VL;

[0135] f) SEQ ID NO:139的VH和SEQ ID NO:61的VL;

[0136] g) SEQ ID NO:140的VH和SEQ ID NO:142的VL;或者

[0137] h) SEQ ID NO:141的VH和SEQ ID NO:61的VL。

[0138] 包含分别为SEQ ID NO:58和61 (mAb DR4B127) 或56和60 (mAbDR4B117) 的VH和VL的抗体被确认通过独特机制抑制CD4⁺ T细胞活化。DR4B127和DR4B117在CD4结合位点上结合HLA-DR,而非干扰HLA-DR与同源T细胞受体(TCR)的相互作用。不受任何特定理论的约束,DR4B127和DR4B117可诱导HLA-DR分子的构象和/或空间变化,从而防止HLA-DR与同源T细胞受体之间的相互作用或HLA-DR与T细胞共受体CD4的相互作用。DR4B127和DR4B117从而可严重破坏T细胞的信号转导,但也可诱导HLA-DR-限制性T细胞的长期抑制。记忆T细胞与HLA-DR由于存在抗体而长期缺乏接触,可导致T细胞库损失。结合HLA-DR并干扰CD4缔合的抗体可允许持续无价值的HLA-DR/TCR结合而无CD4的缔合,从而消除共刺激并导致无反应性。因此,通过非TCR位点阻断HLA-DR来防止T细胞活化的抗体(例如,DR4B127和DR4B117以及与DR4B127和DR4B117交叉竞争结合HLA-DR的抗体)不仅可能有利于治疗,而且还有利于预防自身免疫疾病。交叉竞争结合HLA-DR的示例性抗体是抗体DR4B30、DR4B117、DR4B127、DR4B78、DR4B38、DR4B70、DR4B22和DR4B33。如本文所示,对照抗体DR4B4、DR4B5和DR4B6阻断HLA-DR与TCR的结合。

[0139] 与包含特定VH和VL序列的本发明抗体或其抗原结合片段对HLA-DR的竞争结合可使用已知方法在体外进行测定。例如,MSD Sulfo-TagTM NHS-酯-标记抗体在未标记抗体存在下与可溶性重组HLA-DR的结合可通过ELISA进行评估,或者可使用Biacore分析法或流式细胞术来证实与本发明的抗体的竞争作用。在一个示例性测定中,使5 μ l的10 μ g/ml可溶性HLA-DR分子DR4G89或DR4G99(本文所述)吸附于Meso Scale Discovery (MSD) HighBind平板(Gaithersburg,MD)上2小时,然后用150 μ l 0.1M HEPES洗涤3X。将平板用5%BSA缓冲液在4 $^{\circ}$ C下封闭过夜。次日,将平板用0.1M HEPES缓冲液(pH 7.4)洗涤3x,然后加入在室温下与1mM的测试HLA-DR mAb一起预温育30分钟的钌(Ru)-标记的参考HLA-DR mAb的混合物。在室温下轻柔振荡温育2小时后,使用0.1M HEPES缓冲液(pH 7.4)洗涤平板3x。将MSD读取缓冲液T用蒸馏水稀释(4倍)并分配到各个孔中,接着用SECTOR成像器6000(Meso Scale Discovery,Gaithersburg,MD)进行分析。当测试抗体抑制80%或更大,例如85%或更大、90%或更大、或95%或更大的参考抗体与HLA-DR的结合时,测试抗体与参考抗体竞争结合HLA-DR。

[0140] 在一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是HLA-DR的拮抗剂。

[0141] 在一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段抑制T细胞活化。

[0142] T细胞活化可为T细胞增殖、分化、细胞因子分泌、细胞毒性效应分子释放、活化标记的细胞毒活性或表达。T细胞可为CD4⁺ T细胞。抑制T细胞活化的示例性抗体是本文所述

的抗体DR4B30、DR4B117、DR4B127、DR4B78、DR4B38、DR4B70、DR4B22、DR4B98和DR4B33。

[0143] T细胞活化可使用将树突细胞或其它抗原呈递细胞与CD4⁺ T细胞共培养的混合淋巴细胞反应 (MLR) 测定,并且细胞的增殖通过3H-胸腺嘧啶核苷掺入并通过使用本文所述的方法来确定。在如下情况下,抗体“抑制T细胞的活化”:当相比于同种型对照,T细胞活化(增殖、分化、细胞因子分泌、细胞毒性效应分子释放、活化标记的细胞毒活性或表达)中的至少一个特征被抑制30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%,或者当相比于存在同种型对照情况下的抑制时以统计意义上显著的方式抑制。“同种型对照”是公知的。另选地,可通过在MLR测定中测量干扰素- γ (IFN- γ) 或TNF- α 分泌的增加来评估CD4⁺ T细胞的活化。

[0144] 在一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段在人CD4⁺ T细胞与从表达人HLA-DR4的转基因动物分离的树突细胞的共培养物中以1 μ g/ml的抗体浓度抑制至少30%的CD4⁺ T细胞增殖。

[0145] 表达人HLA-DR4的示例性转基因动物是小鼠品系4149 (Taconic Biosciences)。这些小鼠表达人HLA-DRA1*01和HLA-DRB1*04:01,被工程化为小鼠I-E (H2-E) 的近膜域。

[0146] 在一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段不抑制HLA-DR与同源T细胞受体 (TCR) 的结合。

[0147] 在一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段不抑制复合于SEQ ID NO:7的血凝素肽的包含SEQ ID NO:13的HLA-DR α 链和SEQ ID NO:14的HLA-DR β 链的HLA-DR4与同源TCR的结合。

[0148] 在一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段抑制HLA-DR与CD4的结合。

[0149] “抑制结合”是指当相比于同种型对照时,在存在抗体情况下HLA-DR与CD4或同源TCR的结合可测量的下降。抑制可例如为在相比于同种型对照时结合下降30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%,或者在相比于在同种型对照存在下的抑制时以统计意义上显著的方式抑制。因此,当相比于同种型对照时抑制小于29%或在统计意义上不显著时,该抗体不抑制HLA-DR与同源TCR的结合。

[0150] HLA-DR与TCR结合的抑制可使用标准ELISA实验进行。在示例性测定法中,将50 μ l的HLA-DR抗原DR4G134 (本文所述) 以5 μ g/ml涂覆于MDS平板上,将该平板在室温下摇动10分钟并于4 $^{\circ}$ C温育过夜。将平板在测试缓冲液 (1xDPBS, 1% BSA, 0.05% tween 20) 中封闭,并将浓度范围为10⁻²至10²mg/ml的测试抗体、5 μ g/ml的重组TCR (DRG79, 本文所述)、10 μ g/ml抗组氨酸抗体以及2 μ g/ml SulfoTag-SA的混合物添加到孔上。将平板温育1小时,洗涤,并在添加150 μ l MSD缓冲液之后于MSD中读取。

[0151] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有以下特性中的一个、两个、三个、四个或五个:

[0152] a) 以5 $\times 10^{-8}$ M或更小的平衡解离常数 (K_D) 结合与SEQ ID NO:7的血凝素肽复合的包含SEQ ID NO:13的HLA-DR α 链和SEQ ID NO:14的HLA-DR β 链的HLA-DR4,其中 K_D 在包含DPBS、0.01% (w/v) 聚山梨酸酯20 (PS-20) 和100 μ g/ml BSA的缓冲液中于25 $^{\circ}$ C使用ProteOnXPR36系统进行测量;

[0153] b) 以5 $\times 10^{-8}$ M或更小的平衡解离常数 (K_D) 结合与SEQ ID NO:7的血凝素肽复合的包含SEQ ID NO:13的HLA-DR α 链和SEQ ID NO:15的HLA-DR β 链的HLA-DR1,其中 K_D 在包含

DPBS、0.01% (w/v) PS-20和100μg/ml BSA的缓冲液中于25℃使用ProteOn XPR36系统进行测量；

[0154] c) 缺乏诱导B细胞凋亡的能力，其中凋亡通过使用流式细胞术测量人外周血细胞(PBMC)样本中CD3⁻CD20⁺膜联蛋白V⁺活/死⁻B细胞的频数来测定；

[0155] d) 缺乏诱导B细胞死亡的能力，其中B细胞的死亡通过使用流式细胞术测量人PBMC样本中CD3⁻CD20⁺膜联蛋白V⁺活/死⁺B细胞的频数来测定；或者

[0156] e) 抑制HLA-DR与CD4的结合。

[0157] 缺乏诱导B细胞凋亡的能力的示例性抗体是本文中所述的抗体DR4B117、DR4B30、DR4B127、DR4B98和DR4B33。当与诱导B细胞死亡的抗体(例如对照抗体DR4B4、DR4B5和DR4B6)相比时，这些抗体可具有改善的安全性特征。

[0158] B细胞凋亡可如下测量：使用流式细胞术，在样本例如人外周血单核细胞(PBMC)样本中，将凋亡B细胞鉴定为CD3⁻CD20⁺膜联蛋白V⁺活/死⁻B细胞。当相比于用同种型对照处理的样本时，用测试抗体处理的样本中的B细胞凋亡在统计意义上不显著的增加时，本发明的抗体“缺乏诱导B细胞凋亡的能力”。“活/死”是指不考虑细胞死亡机制，区分活细胞与死细胞的荧光染料，例如eF660(得自BioLegend)。

[0159] 缺乏诱导B细胞死亡能力的示例性抗体是本文中所述的抗体DR4B117、DR4B30、DR4B127、DR4B98和DR4B33。当与诱导B细胞死亡的抗体(例如对照抗体DR4B4、DR4B5和DR4B6)相比时，这些抗体可具有改善的安全性特征。

[0160] B细胞死亡可如下测量：使用流式细胞术，在样本例如人外周血细胞(PBMC)样本中，将死亡B细胞鉴定为CD3⁻CD20⁺膜联蛋白V⁺活/死⁺B细胞。当相比于用同种型对照处理的样本时，用测试抗体处理的样本中的B细胞死亡在统计意义上不显著的增加时，本发明的抗体“缺乏诱导B细胞死亡的能力”。

[0161] 可使用已知的方案和本文所述的HLA-DR抗原，利用ELISA来测量HLA-DR与CD4结合的抑制。

[0162] 在一些实施方案中，HLA-DR是HLA-DR4、HLA-DR1、HLA-DR3、HLA-DR10或HLA-DR15。

[0163] 在一些实施方案中，HLA-DR4包含SEQ ID NO:13的HLA-DRA*01:02和SEQ ID NO:14的HLA-DRB1*04:01。

[0164] 在一些实施方案中，HLA-DR1包含SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02和SEQ ID NO:15的HLA-DRB1*01:01。

[0165] 在一些实施方案中，HLA-DR4包含SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02和SEQ ID NO:106的HLA-DRB1*4:02。

[0166] 在一些实施方案中，HLA-DR3包含SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02和SEQ ID NO:105的HLA-DRB1*3:01。

[0167] 在一些实施方案中，HLA-DR10包含SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02和SEQ ID NO:107的HLA-DRB1*10:01。

[0168] 在一些实施方案中，HLA-DR15包含SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02和SEQ ID NO:108的HLA-DRB1*15:01。

[0169] 各种HLA-DRα和β链的命名和氨基酸序列为人们所熟知。鉴于HLA-DRB1呈超多态性，本发明的抗体可特异性结合多个HLA-DR分子。

[0170] 本发明还提供特异性结合HLA-DR4的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段以小于约 5×10^{-8} M或更小的平衡解离常数(K_D)结合HLA-DR4。

[0171] 抗体或其抗原结合片段对HLA-DR4或其它HLA-DR分子的亲和力可使用任何合适的方法通过实验测定。这类方法可以采用本领域技术人员已知的ProteOn XPR36、Biacore 3000或KinExA仪器、ELISA或竞争结合测定。如果在不同的条件(例如,同渗容摩、pH)下测量,特定抗体/HLA-DR相互作用的测量亲和力可变化。因此,亲和力和其他结合参数(例如, K_D 、 K_{on} 、 K_{off})的测量通常用标准化条件和标准化缓冲液(诸如本文所述的缓冲液)进行。使用例如Biacore 3000或ProteOn进行亲和力测量的内部误差(测量为标准偏差,SD)通常可在典型检出限内的测量值的5%-33%内。因此, K_D 背景下的术语“约”反映测定中的典型标准偏差。例如, 1×10^{-9} M的 K_D 的典型SD为至多 $+0.33 \times 10^{-9}$ M。

[0172] 用于本文所述实验中的HLA-DR分子可表达为可溶性Fc-融合蛋白。HLA-DR上呈递的肽可共价连接于HLA-DR β 链的N-末端以利于表达。可将诸如六聚组氨酸(SEQ ID NO:3)或StrepII标签(SEQ ID NO:6)之类的标签共价连接于 α 和/或 β 链或Fc上,以利于所表达蛋白质的纯化。接头可插入呈递的肽、 α 和/或 β 链、Fc部分和/或各种标签之间。合适的接头可为甘氨酸/丝氨酸接头(SEQ ID NO:1或4)、烟草蚀纹病毒Nia蛋白酶裂解位点(SEQ ID NO:2)、或人鼻病毒3C蛋白酶裂解位点(SEQ ID NO:5)。可在HLA DR上呈递的合适的肽可为血凝素肽HA₃₀₄₋₃₁₈(SEQ ID NO:7)、胶原蛋白II肽(CII₁₂₃₆₋₁₂₄₉或CII₂₅₇₋₂₇₃(分别为SEQ ID NO:8和SEQ ID NO:9)、波形蛋白肽(SEQ ID NO:71)、聚集蛋白聚糖肽(SEQ ID NO:72)、CLIP肽(SEQ ID NO:104)或胶原蛋白II肽CII₂₅₉₋₂₇₃(SEQ ID NO:122)。可表达的示例性HLA-DR分子可具有以下构型:

[0173] α 链:特定 α 链的胞外域,SEQ ID NO:1的接头,SEQ ID NO:2的接头,SEQ ID NO:1的接头,Fc域,SEQ ID NO:3的标签

[0174] β 链:SEQ ID NO:7的肽,SEQ ID NO:4的接头,SEQ ID NO:5的接头,特定 β 链的胞外域,SEQ ID NO:4的接头,SEQ ID NO:2的接头,SEQ ID NO:4的接头,Fc域,SEQ ID NO:6的标签。 α 和 β 链被共表达,并且所得的异源二聚体可例如使用标准方法采用His6和StrepII标签进行纯化。HLA-DP和HLA-DQ分子可类似地表达。

[0175] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中HLA-DR包含由氨基酸序列QKRAA(SEQ ID NO:66)、QRRAA(SEQ ID NO:67)、或RRRAA(SEQ ID NO:68)组成的共享表位。

[0176] HLA-DR等位基因HLA-DRB1*01:01、*01:02、*04:01、*04:04、*04:05、*04:08和*10:01上的共享表位是HLA-DR β 链中残基位置70-74处五个氨基酸残基QKRAA(SEQ ID NO:66)、QRRAA(SEQ ID NO:67)或RRRAA(SEQ ID NO:68)的基序。

[0177] 具有共享表位的HLA-DR等位基因与自身免疫疾病诸如RA相关联,并且其已显示呈递被T细胞以较高亲和力识别为非自身的瓜氨酸化肽。例如,在RA中,识别瓜氨酸化蛋白质(ACPA)的自身抗体在疾病发作前存在于血清中(疾病前多至14年),并且在RA诊断之前约2年示出显著增加(Rantapaa-Dahlqvist等人,Arthritis Rheum 2003;48(10):2741-9;Nielen等人,Arthritis Rheum 2004;50(2):380-6;Van de Stadt等人,Arthritis Rheum 2011;63(11):3226-33)。已发现HLA-DRB1与健康ACPA+个体发展为患有RA的ACPA+个体的风险相关联(Hensvold等人,Ann Rheum Dis 2015;74(2):375-80)。因此,在RA发作之前,ACPA

的检测示出这样的机会窗口：用特异性结合HLA-DR的抗体治疗可消除T细胞活化，从而防止血清自身抗体水平进一步升高，并抑制导致RA诊断的炎症增加。抗体通过阻断包含共享表位的HLA-DR分子与同源T细胞受体之间的相互作用或者通过诱导HLA-DR分子的构象(和/或空间变化)来抑制T细胞活化，从而防止HLA-DR与同源T细胞受体之间相互作用，可能不仅有利于治疗，而且还有利于预防自身免疫疾病。

[0178] 结合包含共享表位的HLA-DR的示例性抗体是本文所述的抗体DR4B117、DR4B30、DR4B127、DR4B98、DR4B78、DR4B38、DR4B70、DR4B22和DR4B33。

[0179] 在一些实施方案中，HLA-DR与肽复合。

[0180] 在一些实施方案中，肽包含SEQ ID NO:7、8或9、71、72、104或122的氨基酸序列。

[0181] 在一些实施方案中，肽由SEQ ID NO:7、8或9、71、72、104或122的氨基酸序列组成。

[0182] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段，包含分别为SEQ ID NO:73、74和75的重链互补决定区1、2和3(HCDR1、HCDR2和HCDR3)。

[0183] SEQ ID NO:73、74和75分别表示特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段的HCDR1、HCDR2和HCDR3属氨基酸序列。属内的抗体抑制T细胞活化并且缺乏诱导B细胞死亡的能力。示例性的此类抗体是如本文所述的抗体DR4B127和DR4B98。

[0184] 图1示出HCDR1氨基酸序列和HCDR1属序列的比对。

[0185] 图2示出HCDR2氨基酸序列和HCDR2属序列的比对。

[0186] 图3示出HCDR3氨基酸序列和HCDR3属序列的比对。

[0187] SEQ ID NO:73

[0188] $SX_1X_2IX_3$ ；其中

[0189] X_1 为Y或D；

[0190] X_2 为S、W或Y；并且

[0191] X_3 为H或G。

[0192] SEQ ID NO:74

[0193] $GIX_1PIX_2GX_3AX_4YAQKFQG$ ；其中

[0194] X_1 为R或A；

[0195] X_2 为S或Y；

[0196] X_3 为N或T；或者

[0197] X_4 为E或Y。

[0198] SEQ ID NO:75

[0199] $DASX_1X_2RX_3YGFY$ ；其中

[0200] X_1 为Y或W；

[0201] X_2 为Y或A；或者

[0202] X_3 为N或A。

[0203] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段，包含分别为SEQ ID NO:76、77和78的轻链互补决定区1、2和3(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0204] SEQ ID NO:76、77和78分别表示特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段的LCDR1、LCDR2和LCDR3属氨基酸序列。属内的抗体抑制T细胞活化并且缺乏诱导B细胞凋亡和/或死亡的能力。示例性的此类抗体是本文所述的抗体DR4B117、DR4B30、DR4B127和

DR4B98。

[0205] 图4示出LCDR1氨基酸序列和LCDR1属序列的比对。

[0206] 图5示出LCDR2氨基酸序列和LCDR2属序列的比对。

[0207] 图6示出LCDR3氨基酸序列和LCDR3属序列的比对。

[0208] SEQ ID NO:76

[0209] RASQSVSSX₁YLA;其中

[0210] X₁为S或缺失。

[0211] SEQ ID NO:77

[0212] X₁ASX₂RAT;其中

[0213] X₁为G或D;并且

[0214] X₂为S或N。

[0215] SEQ ID NO:78

[0216] QQX₁X₂X₃X₄PLT;其中

[0217] X₁为Y或R;

[0218] X₂为G或S;

[0219] X₃为S或N;以及

[0220] X₄为S或W。

[0221] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:73、74和75的重链互补决定区1、2和3(HCDR1、HCDR2和HCDR3),以及分别为SEQ ID NO:76、77和78的轻链互补决定区1、2和3(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0222] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:56、57、58、59、137、138、139、140或141的重链可变区(VH)中所含的HCDR1、HCDR2和HCDR3,其中HCDR1、HCDR2和HCDR3由Kabat、IMGT或Chothia定义。

[0223] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:60、61或142的轻链可变区(VL)中所含的LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中LCDR1、LCDR2和LCDR3由Kabat、IMGT或Chothia定义。

[0224] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:39、40、41、123、124或125的HCDR1。

[0225] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:42、43、44、45、126、127或128的HCDR2。

[0226] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:46、47、48、49、129、139、131、132或133的HCDR3。

[0227] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:50、51或134的LCDR1。

[0228] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:52、53或135的LCDR2。

[0229] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:54、55或136的LCDR3。

[0230] 在一些实施方案中,特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段包含下列的

HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3:

- [0231] 分别为SEQ ID NO:39、42、46、50、52和54;
- [0232] 分别为SEQ ID NO:40、43、47、51、53和55;
- [0233] 分别为SEQ ID NO:41、44、48、51、53和55;
- [0234] 分别为SEQ ID NO:41、45、49、51、53和55;
- [0235] 分别为SEQ ID NO:123、126、129、51、53和55;
- [0236] 分别为SEQ ID NO:123、126、130、51、53和55;
- [0237] 分别为SEQ ID NO:123、126、131、51、53和55;
- [0238] 分别为SEQ ID NO:124、127、132、134、135和136;或者
- [0239] 分别为SEQ ID NO:125、128、133、51、53和55。
- [0240] 在一些实施方案中,抗体包含下列的VH和VL:
- [0241] 分别为SEQ ID NO:56和60;
- [0242] 分别为SEQ ID NO:57和61;
- [0243] 分别为SEQ ID NO:58和61;
- [0244] 分别为SEQ ID NO:59和61;
- [0245] 分别为SEQ ID NO:137和61;
- [0246] 分别为SEQ ID NO:138和61;
- [0247] 分别为SEQ ID NO:139和61;
- [0248] 分别为SEQ ID NO:140和142;或者
- [0249] 分别为SEQ ID NO:141和61。
- [0250] 在一些实施方案中,VH和VL由包含下列的多核苷酸序列的多核苷酸编码:
- [0251] 分别为SEQ ID NO:79和80;
- [0252] 分别为SEQ ID NO:81和82;
- [0253] 分别为SEQ ID NO:83和82;
- [0254] 分别为SEQ ID NO:121和82;
- [0255] 分别为SEQ ID NO:143和82;
- [0256] 分别为SEQ ID NO:144和82;
- [0257] 分别为SEQ ID NO:145和82;
- [0258] 分别为SEQ ID NO:146和148;或者
- [0259] 分别为SEQ ID NO:147和82。
- [0260] 在一些实施方案中,抗体包含下列的HC和LC:
- [0261] 分别为SEQ ID NO:84和88;
- [0262] 分别为SEQ ID NO:85和89;
- [0263] 分别为SEQ ID NO:86和89;
- [0264] 分别为SEQ ID NO:87和89;
- [0265] 分别为SEQ ID NO:96和88;
- [0266] 分别为SEQ ID NO:97和89;
- [0267] 分别为SEQ ID NO:98和89;
- [0268] 分别为SEQ ID NO:99和89;

- [0269] 分别为SEQ ID NO:149和89;
- [0270] 分别为SEQ ID NO:150和89;
- [0271] 分别为SEQ ID NO:151和89;
- [0272] 分别为SEQ ID NO:152和154;或者
- [0273] 分别为SEQ ID NO:153和89。
- [0274] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:39、42、46、50、52和54的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。
- [0275] 在一些实施方案中,抗体重链框架来源于IGHV1-69 (SEQ ID NO:62) 并且抗体轻链框架来源于IGKV3-20 (SEQ ID NO:64)。
- [0276] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段在氨基酸残基E3、F108、D110和R140处结合SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02,并且在氨基酸残基V143和Q149处结合SEQ ID NO:14的HLA-DRB1*04:01。
- [0277] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段在氨基酸残基K2、E3、V6、E88、V89、T90、F108、D110、K111、R140、L144、R146和K176处结合SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02,并且在氨基酸残基L114、K139、V142、V143、S144、T145、L147、I148、Q149和E162处结合SEQ ID NO:14的HLA-DRB1*04:01。
- [0278] 在这些氨基酸残基处结合HLA-DR的抗体或抗原结合片段在CD结合位点结合HLA-DR,并且不阻断HLA-DR与同源TCR的结合。
- [0279] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:56的重链可变域(VH)和SEQ ID NO:60的轻链可变域(VL)。
- [0280] 在一些实施方案中,抗体VH由SEQ ID NO:79的多核苷酸编码,并且VL由SEQ ID NO:80的多核苷酸编码。
- [0281] 在一些实施方案中,抗体是IgG1同种型。
- [0282] 在一些实施方案中,抗体是IgG2同种型。
- [0283] 在一些实施方案中,抗体是IgG3同种型。
- [0284] 在一些实施方案中,抗体是IgG4同种型。
- [0285] 在一些实施方案中,抗体在Fc区中包含调节抗体与Fc γ R或Fc γ Rn结合的至少一个置换。
- [0286] 在一些实施方案中,抗体在Fc区中具有至少一个置换,导致抗体与Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIb、Fc γ RIIIa或Fc γ RIIIb的结合下降。
- [0287] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG2时包含V234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330S和P331S置换的IgG2同种型。
- [0288] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG1时包含L234A、L235A、G237A、P238S、H268A、A330S和P331S置换的IgG1同种型。
- [0289] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG1时包含L234A和L235A置换的IgG1同种型。
- [0290] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG4时包含S228P、F234A和L235A置换的IgG4同种型。
- [0291] 在一些实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:84的HC和SEQ ID NO:88的LC。

- [0292] 在一些实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:96的HC和SEQ ID NO:88的LC。
- [0293] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含:
- [0294] a) 下列的HCDR1、HCDR2、HCDR3:
- [0295] i) 分别为SEQ ID NO:40、43和47;
- [0296] ii) 分别为SEQ ID NO:41、44和48;或者
- [0297] iii) 分别为SEQ ID NO:41、45和49;以及
- [0298] b) 分别为SEQ ID NO:51、53和55的LCDR1、LCDR2和LCDR3。
- [0299] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:40、43、47、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。
- [0300] 在一些实施方案中,抗体重链框架来源于IGHV5-51 (SEQ ID NO:63) 并且抗体轻链框架来源于IGKV3-11 (SEQ ID NO:65)。
- [0301] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:57的重链可变域 (VH) 和SEQ ID NO:61的轻链可变域 (VL)。
- [0302] 在一些实施方案中,VH由SEQ ID NO:81的多核苷酸编码,并且VL由SEQ ID NO:82的多核苷酸编码。
- [0303] 在一些实施方案中,抗体是IgG1同种型。
- [0304] 在一些实施方案中,抗体是IgG2同种型。
- [0305] 在一些实施方案中,抗体是IgG3同种型。
- [0306] 在一些实施方案中,抗体是IgG4同种型。
- [0307] 在一些实施方案中,抗体在Fc区中包含调节抗体与Fc γ R或FcRn结合的至少一个置换。
- [0308] 在一些实施方案中,抗体在Fc区中具有至少一个置换,导致抗体与Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIb、Fc γ RIIIa或Fc γ RIIIb的结合下降。
- [0309] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG2时包含V234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330S和P331S置换的IgG2同种型。
- [0310] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG1时包含L234A、L235A、G237A、P238S、H268A、A330S和P331S置换的IgG1同种型。
- [0311] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG1时包含L234A和L235A置换的IgG1同种型。
- [0312] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG4时包含S228P、F234A和L235A置换的IgG4同种型。
- [0313] 在一些实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:85的HC和SEQ ID NO:89的LC。
- [0314] 在一些实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:97的HC和SEQ ID NO:89的LC。
- [0315] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:41、44、48、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。
- [0316] 在一些实施方案中,抗体重链框架来源于IGHV1-69 (SEQ ID NO:62) 并且抗体轻链框架来源于IGKV3-11 (SEQ ID NO:65)。
- [0317] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段在氨基酸残基K2处结合SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02,并且在残基D41、S126、R130、V142和Q149处结合SEQ ID NO:14的HLA-

DRB1*04:01。

[0318] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段在氨基酸残基I1、K2、E3、D27、R140、E141、D142和H143处结合SEQ ID NO:13的HLA-DRA1*01:02,并且在氨基酸残基H16、F17、R23、R25、R29、R39、D41、D43、V44、V50、G125、S126、E128、V129、R130、V142、G146、L147、Q149和V159处结合SEQ ID NO:14的HLA-DRB1*04:01。

[0319] 在这些氨基酸残基处结合HLA-DR的抗体或抗原结合片段在CD结合位点结合HLA-DR,并且不阻断HLA-DR与同源TCR的结合。

[0320] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:58的重链可变域(VH)和SEQ ID NO:61的轻链可变域(VL)。

[0321] 在一些实施方案中,VH由SEQ ID NO:83的多核苷酸编码,并且VL由SEQ ID NO:82的多核苷酸编码。

[0322] 在一些实施方案中,抗体是IgG1同种型。

[0323] 在一些实施方案中,抗体是IgG2同种型。

[0324] 在一些实施方案中,抗体是IgG3同种型。

[0325] 在一些实施方案中,抗体是IgG4同种型。

[0326] 在一些实施方案中,抗体在Fc区中包含调节抗体与Fc γ R或FcRn结合的至少一个置换。

[0327] 在一些实施方案中,抗体在Fc区中具有至少一个置换,导致抗体与Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIb、Fc γ RIIIa或Fc γ RIIIb的结合下降。

[0328] 在一些在实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG2时包含V234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330S和P331S置换的IgG2同种型。

[0329] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG1时包含L234A、L235A、G237A、P238S、H268A、A330S和P331S置换的IgG1同种型。

[0330] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG1时包含L234A和L235A置换的IgG1同种型。

[0331] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG4时包含S228P、F234A和L235A置换的IgG4同种型。

[0332] 在一些实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:86的重链(HC)和SEQ ID NO:89的轻链(LC)。

[0333] 在一些实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:98的重链(HC)和SEQ ID NO:89的轻链(LC)。

[0334] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:41、45、49、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0335] 在一些实施方案中,抗体重链框架来源于IGHV1-69(SEQ ID NO:62)并且抗体轻链框架来源于IGKV3-11(SEQ ID NO:65)。

[0336] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:59的重链可变域(VH)和SEQ ID NO:61的轻链可变域(VL)。

[0337] 在一些实施方案中,VH由SEQ ID NO:121的多核苷酸编码,并且VL由SEQ ID NO:82的多核苷酸编码。

- [0338] 在一些实施方案中,抗体是IgG1同种型。
- [0339] 在一些实施方案中,抗体是IgG2同种型。
- [0340] 在一些实施方案中,抗体是IgG3同种型。
- [0341] 在一些实施方案中,抗体是IgG4同种型。
- [0342] 在一些实施方案中,抗体在Fc区中包含调节抗体与Fc γ R或FcRn结合的至少一个置换。
- [0343] 在一些实施方案中,抗体在Fc区中具有至少一个置换,导致抗体与Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIb、Fc γ RIIIa或Fc γ RIIIb的结合下降。
- [0344] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG2时包含V234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330S和P331S置换的IgG2同种型。
- [0345] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG1时包含L234A、L235A、G237A、P238S、H268A、A330S和P331S置换的IgG1同种型。
- [0346] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG1时包含L234A和L235A置换的IgG1同种型。
- [0347] 在一些实施方案中,抗体是在相比于野生型IgG4时包含S228P、F234A和L235A置换的IgG4同种型。
- [0348] 在一些实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:87的重链(HC)和SEQ ID NO:89的轻链(LC)。
- [0349] 在一些实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:99的重链(HC)和SEQ ID NO:89的轻链(LC)。
- [0350] 表2示出了所选HLA-DR抗体的Kabat CDR氨基酸序列的序列标识号。
- [0351] 表2:
- [0352]

mAb	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
DR4B117	39	42	46	50	52	54
DR4B30	40	43	47	51	53	55
DR4B127	41	44	48	51	53	55

[0353]

DR4B98	41	45	49	51	53	55
DR4B78	123	126	129	51	53	55
DR4B70	123	126	130	51	53	55
DR4B38	123	126	131	51	53	55
DR4B33	124	127	132	134	135	136
DR4B22	125	128	133	51	53	55

[0354] 本发明还提供了特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体包含来源于IGHV1-69(SEQ ID NO:62)、IGHV5-51(SEQ ID NO:63)或IGHV3_3-23(SEQ ID NO:161)的重链框架。

[0355] 本发明还提供了特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体包含来源于IGKV3-20(SEQ ID NO:64)、IGKV3-11(SEQ ID NO:65)或IGKV1-39(SEQ ID

NO:162)的轻链框架。

[0356] 本发明还提供了特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中重链框架来源于IGHV1-69 (SEQ ID NO:62),并且轻链框架来源于IGKV3-20 (SEQ ID NO:64)。

[0357] 本发明还提供了特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中重链框架来源于IGHV5-51 (SEQ ID NO:63),并且轻链框架来源于IGKV3-11 (SEQ ID NO:65)。

[0358] 本发明还提供了特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中重链框架来源于IGHV1-69 (SEQ ID NO:62),并且轻链框架来源于IGKV3-11 (SEQ ID NO:65)。

[0359] 本发明还提供了特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中重链框架来源于IGHV3-23 (SEQ ID NO:161),并且轻链框架来源于IGKV3-11 (SEQ ID NO:65)。

[0360] 本发明还提供了特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,其中重链框架来源于IGHV5-51 (SEQ ID NO:63),并且轻链框架来源于IGKV1-39 (SEQ ID NO:162)。

[0361] 包含“来源于”特定框架或种系序列的重链或轻链可变区的本发明抗体是指从使用人种系免疫球蛋白基因的系统获得的抗体,诸如从转基因小鼠或如本文讨论的噬菌体展示文库获得的抗体。“来源于”特定框架或种系序列的抗体相比于其所来源的序列时,可能由于例如天然存在的体细胞突变或特意置换而包含一些氨基酸差异。示例性的具有特定VH和VL框架序列的特异性结合HLA-DR的抗体示于表17中。

[0362] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:56、57、58、59、137、138、139、140或141的VH。

[0363] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:60、61或142的VL。

[0364] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:56的VH和SEQ ID NO:60的VL。

[0365] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:57的VH和SEQ ID NO:61的VL。

[0366] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:58的VH和SEQ ID NO:61的VL。

[0367] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体,包含SEQ ID NO:59的VH和SEQ ID NO:61的VL。

[0368] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:57、58或59的VH和SEQ ID NO:61的VL。

[0369] 示例性的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段的VH和VL氨基酸序列示于表14、表15和表16中。

[0370] 尽管实施例中所示的实施方案包括成对的可变域,一个来自重链并且一个来自轻链,但本领域技术人员将认识到另选实施方案可包括单一重链可变区或单一轻链可变域。单一可变域可用于筛选能够形成能够例如结合HLA-DR的二域特异性抗原结合片段的可变域。筛选可通过噬菌体展示筛选方法来完成,其中使用例如在国际专利公开W01992/01047所公开的分级双组合方法。在此方法中,包含VH链克隆或VL链克隆的单个菌落被用来感染编码另一链(VL或VH)的克隆的完全文库,并且所得的双链特异性抗原结合域使用已知方法和本文所述的那些根据噬菌体展示技术来选择。因此,单独的VH和VL多肽链可用于通过国

际专利公开W01992/01047所公开的方法鉴定特异性结合HLA-DR的附加抗体。

[0371] 同源抗体

[0372] 包含表14、表15和表16中所示VH或VL氨基酸序列的本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段的变体在本发明的范围之内。例如,变体可在VH和/或VL中包含一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四或十五个氨基酸置换,只要同源抗体在相比于亲本抗体时保持或具有改善的功能特性即可。在一些实施方案中,对本发明的VH或VL氨基酸序列的序列同一性可为约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

[0373] 特异性结合HLA-DR的同源抗体或其抗原结合片段是拮抗剂并且具有以下特性中的一个、两个、三个、四个或五个:

[0374] a) 以 5×10^{-8} M或更小的平衡解离常数(K_D)结合与SEQ ID NO:7的血凝素肽复合的包含SEQ ID NO:13的HLA-DR α 链和SEQ ID NO:14的HLA-DR β 链的HLA-DR4,其中 K_D 在包含DPBS、0.01% (w/v) 聚山梨酸酯20 (PS-20) 和100 μ g/ml BSA的缓冲液中于25 $^{\circ}$ C使用ProteOnXPR36系统进行测量;

[0375] b) 以 5×10^{-8} M或更小的平衡解离常数(K_D)结合与SEQ ID NO:7的血凝素肽复合的包含SEQ ID NO:13的HLA-DR α 链和SEQ ID NO:15的HLA-DR β 链的HLA-DR1,其中 K_D 在包含DPBS、0.01% (w/v) PS-20和100 μ g/ml BSA的缓冲液中于25 $^{\circ}$ C使用ProteOn XPR36系统进行测量;

[0376] c) 缺乏诱导B细胞凋亡的能力,其中凋亡通过使用流式细胞术测量人外周血细胞(PBMC)样本中CD3 $^{-}$ CD20 $^{+}$ 膜联蛋白V $^{+}$ 活/死 $^{-}$ B细胞的频数来测定;

[0377] d) 缺乏诱导B细胞死亡的能力,B细胞的死亡通过使用流式细胞术测量人PBMC样本中CD3 $^{-}$ CD20 $^{+}$ 膜联蛋白V $^{+}$ 活/死 $^{+}$ B细胞的频数来测定;或者

[0378] e) 抑制HLA-DR与CD4的结合。

[0379] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:56的VH和SEQ ID NO:60的VL,其中所述VH、VL、或VH与VL两者任选地包含一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四或十五个氨基酸置换。任选地,任何置换不在CDR之内。

[0380] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:57的VH和SEQ ID NO:61的VL,其中所述VH、VL、或VH与VL两者任选地包含一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四或十五个氨基酸置换。任选地,任何置换不在CDR之内。

[0381] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:58的VH和SEQ ID NO:61的VL,其中所述VH、VL、或VH与VL两者任选地包含一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四或十五个氨基酸置换。任选地,任何置换不在CDR之内。

[0382] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:59的VH和SEQ ID NO:61的VL,其中所述VH、VL、或VH与VL两者任选地包含一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四或十五个氨基酸置换。任选地,任何置换不在CDR之内。

[0383] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:137的VH和SEQ ID NO:61的VL,其中所述VH、VL、或VH与VL两者任选地包含一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四或十五个氨基酸置换。任选地,任何置换不在CDR之内。

[0384] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:138的VH和SEQ ID NO:61的VL,其中所述VH、VL、或VH与VL两者任选地包含一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四或十五个氨基酸置换。任选地,任何置换不在CDR之内。

[0385] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:139的VH和SEQ ID NO:61的VL,其中所述VH、VL、或VH与VL两者任选地包含一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四或十五个氨基酸置换。任选地,任何置换不在CDR之内。

[0386] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:140的VH和SEQ ID NO:142的VL,其中所述VH、VL、或VH与VL两者任选地包含一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四或十五个氨基酸置换。任选地,任何置换不在CDR之内。

[0387] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:141的VH和SEQ ID NO:61的VL,其中所述VH、VL、或VH与VL两者任选地包含一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四或十五个氨基酸置换。任选地,任何置换不在CDR之内。

[0388] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含氨基酸序列与SEQ ID NO:56、57、58、59、137、138、139、140或141的VH有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH。任选地,SEQ ID NO的序列的任何变化不在CDR之内。

[0389] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含氨基酸序列与SEQ ID NO:60、61或142的VL有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL。任选地,SEQ ID NO的序列的任何变化不在CDR之内。

[0390] 所选的特异性结合HLA-DR的抗体的VH域的氨基酸序列的比对示于图7中,并且所选的抗体的VL域的氨基酸序列的比对示于图8中。VH和VL链在每行起始处由其序列标识号表示。VH和/或VL中可能的置换位点是抗体之间有差异的残基位置。例如,可在SEQ ID NO:56、57、58或59的VH中的残基位置1、16、18、20、24、27、28、30、40、43、67、71、74、76、81、82、83、87、88、89处进行置换。可进行的示例性置换是保守氨基酸置换,或者被特异性结合HLA-DR的各个抗体的对应残基位置中存在的氨基酸残基置换。例如,在SEQ ID NO:58的VH中,氨基酸残基位置1、16、18、20、24、27、28、30、40、43、67、71、74、76、81、82、83、87、88、89可被SEQ ID NO:56、57或59的VH中存在的对应残基置换,或被导致保守修饰(如本文所述)的氨基酸置换。相似地,在SEQ ID NO:61的VL中,氨基酸残基位置9、61、78可被SEQ ID NO:60的VL中存在的对应残基置换,或被导致保守修饰(如本文所述)的氨基酸残基置换。

[0391] 两个序列之间的百分比同一性是序列所共有的相同位置数目的函数(即,同一性% = 相同位置的数目/位置总数 × 100),考虑到空位的数目和每个空位的长度,需要引入

这些参数用于两个序列的最佳比对。

[0392] 两个氨基酸序列之间的百分比同一性可以采用E.Meyers和W.Miller (Comput Appl Biosci 4:11-17 (1988)) 的算法 (该算法已经并入ALIGN程序 (版本2.0) 中), 使用PAM120加权残基表、空位长度罚分12和空位罚分4来确定。此外, 两个氨基酸序列之间的百分比同一性可以使用Needleman和Wunsch (J Mol Biol 48:444-453 (1970)) 的算法 (该算法已并入GCG软件包 (可在http://_www_gcgc.com获得) 的GAP程序中), 使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵、以及16、14、12、10、8、6、或4的缺口权重和1、2、3、4、5、或6的长度权重来确定。

[0393] 具有保守修饰的抗体

[0394] 本发明还提供包含含有HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的VH和含有LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的VL的特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中一种或多种CDR序列包含基于本文所述抗体 (例如表2或表14所示抗体) 的特定氨基酸序列或它们的保守修饰, 并且其中所述抗体保留了特异性结合HLA-DR的亲本抗体的期望功能特性。

[0395] 具有保守修饰的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段是拮抗剂, 并且具有以下特性中的一个、两个、三个、四个或五个:

[0396] a) 以 5×10^{-8} M或更小的平衡解离常数 (K_D) 结合与SEQ ID NO:7的血凝素肽复合的包含SEQ ID NO:13的HLA-DR α 链和SEQ ID NO:14的HLA-DR β 链的HLA-DR4, 其中 K_D 在包含DPBS、0.01% (w/v) 聚山梨酸酯20 (PS-20) 和100 μ g/ml BSA的缓冲液中于25 $^{\circ}$ C使用ProteOnXPR36系统进行测量;

[0397] b) 以 5×10^{-8} M或更小的平衡解离常数 (K_D) 结合与SEQ ID NO:7的血凝素肽复合的包含SEQ ID NO:13的HLA-DR α 链和SEQ ID NO:15的HLA-DR β 链的HLA-DR1, 其中 K_D 在包含DPBS、0.01% (w/v) PS-20和100 μ g/ml BSA的缓冲液中于25 $^{\circ}$ C使用ProteOn XPR36系统进行测量;

[0398] c) 缺乏诱导B细胞凋亡的能力, 其中凋亡通过使用流式细胞术测量人外周血细胞 (PBMC) 样本中CD3 $^{-}$ CD20 $^{+}$ 膜联蛋白V $^{+}$ 活/死 $^{-}$ B细胞的频数来测定;

[0399] d) 缺乏诱导B细胞死亡的能力, B细胞的死亡通过使用流式细胞术测量人PBMC样本中CD3 $^{-}$ CD20 $^{+}$ 膜联蛋白V $^{+}$ 活/死 $^{+}$ B细胞的频数来测定; 或者

[0400] e) 抑制HLA-DR与CD4的结合。

[0401] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段, 包含分别为SEQ ID NO:39、42和46的HCDR1、HCDR2、HCDR3, 以及分别为SEQ ID NO:50、52和54的LCDR1、LCDR2和LCDR3, 以及它们的保守修饰。

[0402] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段, 包含分别为SEQ ID NO:40、43、47、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3, 以及它们的保守修饰。

[0403] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段, 包含分别为SEQ ID NO:41、44、48、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3, 以及它们的保守修饰。

[0404] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段, 包含分别为SEQ ID NO:41、45、49、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3, 以及它们的保守修饰。

[0405] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:123、126、129、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,以及它们的保守修饰。

[0406] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:123、126、130、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,以及它们的保守修饰。

[0407] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:123、126、131、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,以及它们的保守修饰。

[0408] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:124、127、132、134、135和136的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,以及它们的保守修饰。

[0409] 本发明还提供一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:125、128、133、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,以及它们的保守修饰。

[0410] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:56的VH和SEQ ID NO:60的VL,以及它们的保守修饰。

[0411] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:57的VH和SEQ ID NO:61的VL,以及它们的保守修饰。

[0412] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:58的VH和SEQ ID NO:61的VL,以及它们的保守修饰。

[0413] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:59的VH和SEQ ID NO:61的VL,以及它们的保守修饰。

[0414] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:137的VH和SEQ ID NO:61的VL,以及它们的保守修饰。

[0415] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:138的VH和SEQ ID NO:61的VL,以及它们的保守修饰。

[0416] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:139的VH和SEQ ID NO:61的VL,以及它们的保守修饰。

[0417] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:140的VH和SEQ ID NO:142的VL,以及它们的保守修饰。

[0418] 本发明还提供特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NO:141的VH和SEQ ID NO:61的VL,以及它们的保守修饰。

[0419] “保守修饰”是指不会显著影响或改变含有氨基酸修饰的抗体的结合特征的氨基酸修饰。保守修饰包括氨基酸置换、添加和缺失。保守氨基酸置换是其中氨基酸被具有相似侧链的氨基酸残基替换的置换。具有相似侧链的氨基酸残基家族是明确定义的,包括具有如下侧链的氨基酸:酸性侧链(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、碱性侧链(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、非极性侧链(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸)、不带电极性侧链(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸)。

酸、色氨酸)、芳族侧链(例如,苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸、酪氨酸)、脂族侧链(例如,甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丝氨酸、苏氨酸)、酰胺(例如,天冬酰胺、谷氨酰胺)、 β -分支侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)以及含硫侧链(半胱氨酸、甲硫氨酸)。此外,多肽中的任何天然残基还可利用丙氨酸来置换,如先前对于丙氨酸扫描诱变所述(MacLennan等人,(1988)Acta Physiol Scand Suppl 643:55-67;Sasaki等人,(1988)Adv Biophys 35:1-24)。对本发明的抗体的氨基酸置换可通过已知的方法进行,例如通过PCR诱变(美国专利4,683,195)进行。另选地,可例如使用随机(NNK)或非随机密码子(例如DVK密码子,其编码11个氨基酸(Ala、Cys、Asp、Glu、Gly、Lys、Asn、Arg、Ser、Tyr、Trp))来产生变体文库。可使用本文所述的测定法来测试所得抗体变体的特征。

[0420] 工程化和修饰抗体

[0421] 本发明的抗体或其抗原结合片段可被进一步工程化以产生修饰抗体,在相比于亲本抗体时具有类似或改变的特性。可在本发明的抗体中工程化VH、VL、VH和VL、恒定区、重链框架、轻链框架、或任意或全部六个CDR。

[0422] 本发明的抗体可通过CDR接枝进行工程化。可将本发明的抗体中的一个或多个CDR序列接枝到不同的框架序列上。CDR接枝可使用已知方法和本文所述的方法进行。

[0423] 可使用的框架序列可获自公共DNA数据库或包括种系抗体基因序列的已出版参考文献。例如,人重链和轻链可变域基因的种系DNA和编码蛋白质序列可见于IMGT[®], the international ImMunoGeneTics information system[®] <http://www-imgt.org>。能够被用来置换本发明抗体的现有框架序列的框架序列可为显示在VH或VL的整个长度上、或在FR1、FR2、FR3和FR4的长度上与亲本可变域的百分比(%)同一性最高的那些。此外,合适的框架可基于VH和VL CDR1以及CDR2长度或相同的LCDR1、LCDR2、LCDR3、HCDR1和HCDR2规范结构来进一步选择。合适的框架可使用已知的方法进行选择,例如美国专利8,748,356所述的人框架改型或美国专利7,709,226的超人源化。

[0424] 亲本和工程化抗体的框架序列还可例如通过回复突变来修饰,以恢复和/或改善所产生抗体对抗原的结合,如例如在美国专利6,180,370中有所描述。亲本或工程化抗体的框架序列还可通过使框架区内(或另选地一个或多个CDR区内)的一个或多个残基突变来修饰,以移除T-细胞表位,从而降低抗体的潜在免疫原性。该方法也被称为“去免疫化”并且在美国专利公开US20070014796中进一步详述。

[0425] 可使本发明抗体的CDR残基突变,以改善抗体与HLA-DR的亲合力。

[0426] 可使本发明抗体的CDR残基突变,以使翻译后修饰的风险最小化。脱氨基化(NS)、酸催化的水解(DP)、异构化(DS)或氧化(W)中的推定基序的氨基酸残基可被任何天然存在的氨基酸置换以诱变基序,并且可使用本文所述的方法测定所得抗体的功能性和稳定性。

[0427] 可经修饰以改善稳定性、选择性、交叉反应性、亲和力、免疫原性或其它所需生物学或生物物理学特性的本发明的抗体在本发明的范围之内。抗体的稳定性受许多因素影响,包括(1)影响其内在稳定性的单独域的核心堆叠,(2)对HC和LC配对具有影响的蛋白质/蛋白质界面相互作用,(3)极性和带电残基的包埋,(4)极性和带电残基的H键网络;以及(5)其它分子内力和分子间力中的表面电荷和极性残基分布(Worn等人,(2001)JMolBiol305:989-1010)。潜在的结构不稳定残基可根据该抗体的晶体结构或在某些情况下通过分子建

模来鉴定,并且所述残基对于抗体稳定性的影响可通过生成并评估在所鉴定残基中携带突变的变体来测试。一种增加抗体稳定性的方法是升高由差示扫描量热法(DSC)测量的热转变中间点(T_m)。一般来讲,蛋白质的 T_m 与其稳定性相关联并且与其对溶液中的解折叠和变性以及依赖于该蛋白质解折叠倾向的降解过程的易感性成反向相关(Remmele等人,(2000) Biopharm 13:36-46)。大量的研究已经发现了通过DSC以热稳定性而测量的制剂物理稳定性的级别与通过其它方法测量的物理稳定性之间的相关性(Gupta等人,(2003) AAPSP PharmSci 5E8;Zhang等人,(2004) J Pharm Sci 93:3076-89;Maa等人,(1996) Int J Pharm 140:155-68;Bedu-Addo等人,(2004) Pharm Res 21:1353-61;Remmele等人,(1997) Pharm Res 15:200-8)。制剂研究提示,Fab T_m 对相应mAb的长期物理稳定性有影响。

[0428] 可通过在血流中内源性循环羧肽酶从注射的抗体中移除C-末端赖氨酸(CTL) (Cai等人,(2011) Biotechnol Bioeng 108:404-412)。在制备期间,可通过控制细胞外 Zn^{2+} 、EDTA或EDTA- Fe^{3+} 的浓度,将CTL移除控制到小于最大水平,如美国专利公开US20140273092中有所描述。抗体中的CTL含量可使用已知方法测定。

[0429] 在一些实施方案中,特异性结合HLA-DR的抗体具有约10%至约90%、约20%至约80%、约40%至约70%、约55%至约70%、或约60%的C-末端赖氨酸含量。

[0430] 可对本发明的抗体进行Fc置换,以调节抗体效应子功能和/或药代动力学特性。在传统免疫功能中,抗体-抗原复合物与免疫系统的细胞的相互作用产生多种反应,范围从效应子功能例如抗体依赖的细胞毒性、肥大细胞脱颗粒和噬菌作用,到免疫调节信号例如调节淋巴细胞增殖与抗体分泌。所有这些相互作用是通过抗体的Fc域或者免疫复合物与细胞上的特异细胞表面受体结合而起始的。由抗体和免疫复合物触发的细胞应答的多样性是如下Fc受体的异质性造成的:Fc γ RI (CD64)、Fc γ RIIa (CD32A) 和Fc γ RIII (CD16) 是活化Fc γ 受体(即免疫系统增强),而Fc γ RI Ib (CD32B) 是抑制Fc γ 受体(即免疫系统抑制)。结合FcRn受体调节了抗体半衰期。

[0431] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体在Fc区中包含至少一个置换。

[0432] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体在Fc区中包含一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四、或十五个置换。

[0433] 可被置换以调节抗体半衰期的Fc位置是描述于例如Dall'Acqua等人,(2006) J Biol Chem 281:23514-240;Zalevsky等人,(2010) Nat Biotechnol 28:157-159;Hinton等人,(2004) J Biol Chem 279(8):6213-6216;Hinton等人,(2006) J Immunol 176:346-356;Shields等人,(2001) J Biol Chem 276:6591-6607;Petkova等人,(2006) Int Immunol 18:1759-1769;Datta-Mannan等人,(2007) Drug Metab Dispos, 35:86-94, 2007;Vaccaro等人,(2005) Nat Biotechnol 23:1283-1288;Yeung等人,(2010) Cancer Res, 70:3269-3277和Kim等人,(1999) Eur J Immunol 29:2819中的那些,并且包括位置250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434和435。可单独地或组合进行的示例性置换为置换T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257I、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435A和H435R。可用于增长抗体半衰期的示例性单独或组合置换为置换M428L/N434S、M252Y/S254T/T256E、T250Q/M428L、N434A和T307A/E380A/N434A。可用于减小抗体半衰期的示例性单独或组合置换为置换H435A、P257I/N434H、D376V/N434H、M252Y/S254T/

T256E/H433K/N434F、T308P/N434A和H435R。

[0434] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体在抗体Fc中的氨基酸位置250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434或435处包含至少一个置换。

[0435] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体在抗体Fc中包含选自下列的至少一个置换:T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257I、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435A和H435R。

[0436] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体在抗体Fc中包含选自下列的至少一个置换:M428L/N434S、M252Y/S254T/T256E、T250Q/M428L、N434A、T307A/E380A/N434A、H435A、P257I/N434H、D376V/N434H、M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F、T308P/N434A和H435R。

[0437] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体在Fc区中包含至少一个置换,所述置换降低抗体与活化Fc γ 受体(Fc γ R)的结合并且/或者降低Fc效应子功能,诸如C1q结合、补体依赖性细胞毒性(CDC)、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)或吞噬作用(ADCP)。

[0438] 可被置换以降低抗体与活化Fc γ R结合并随后降低效应子功能的Fc位置是描述于例如Shields等人,(2001)JBiol Chem 276:6591-6604;国际专利公开W02011/066501;美国专利6,737,056和5,624,821;Xu等人,(2000)Cell Immunol,200:16-26;Alegre等人,(1994)Transplantation 57:1537-1543;Bolt等人,(1993)Eur J Immunol 23:403-411;Cole等人,(1999)Transplantation,68:563-571;Rother等人,(2007)Nat Biotechnol 25:1256-1264;Ghevaert等人,(2008)J Clin Invest 118:2929-2938;An等人,(2009)mAbs,1:572-579)中的那些,并且包括位置214、233、234、235、236、237、238、265、267、268、270、295、297、309、327、328、329、330、331和365。可单独地或组合进行的示例性置换为IgG1、IgG2、IgG3或IgG4中的置换K214T、E233P、L234V、L234A、G236缺失、V234A、F234A、L235A、G237A、P238A、P238S、D265A、S267E、H268A、H268Q、Q268A、N297A、A327Q、P329A、D270A、Q295A、V309L、A327S、L328F、A330S和P331S。导致ADCC减小的抗体的示例性组合置换为IgG1上的置换L234A/L235A、IgG2上的V234A、/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S、IgG4上的F234A/L235A、IgG4上的S228P/F234A/L235A、所有Ig同种型上的N297A、IgG2上的V234A/G237A、IgG1上的K214T/E233P/L234V/L235A/G236-缺失/A327G/P331A/D365E/L358M、IgG2上的H268Q/V309L/A330S/P331S、IgG1上的S267E/L328F、IgG1上的L234F/L235E/D265A、IgG1上的L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S、IgG4上的S228P/F234A/L235A/G237A/P238S、以及IgG4上的S228P/F234A/L235A/G236-缺失/G237A/P238S。还可使用杂合IgG2/4Fc域,例如具有来自IgG2的残基117-260和来自IgG4的残基261-447的Fc。

[0439] 公知的S228P置换可在IgG4抗体中进行,以增强IgG4稳定性。

[0440] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体在至少一个残基位置214、233、234、235、236、237、238、265、267、268、270、295、297、309、327、328、329、330、331或365处包含置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0441] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含选自下列的至少一个置换:K214T、E233P、L234V、L234A、G236缺失、V234A、F234A、L235A、G237A、P238A、P238S、D265A、S267E、H268A、H268Q、Q268A、N297A、A327Q、P329A、D270A、Q295A、V309L、A327S、

L328F、A330S和P331S,其中残基根据EU索引进行编号。

[0442] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体在至少一个残基位置228、234、235、237、238、268、330或331处包含置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0443] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含S228P置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0444] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含V234A置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0445] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含F234A置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0446] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含G237A置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0447] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含P238S置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0448] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含H268A置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0449] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含Q268A置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0450] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含A330S置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0451] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含P331S置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0452] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含L234A、L235A、G237A、P238S、H268A、A330S和P331S置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0453] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含V234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330S和P331S置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0454] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含F234A、L235A、G237A、P238S和Q268A置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0455] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含L234A、L235A或L234A和L235A置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0456] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含F234A、L235A或F234A和L235A置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0457] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含S228P、F234A和L235A置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0458] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体包含S228P置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0459] 产生同源抗体、具有保守修饰的抗体、以及工程化和修饰抗体的方法

[0460] 在相比于亲本抗体时氨基酸序列有改变的本发明抗体可使用标准克隆和表达技术产生。例如,可进行定点诱变或PCR介导的诱变以引入突变,并可使用公知的方法和实施例中本文所述的方法评估对抗体结合或其它感兴趣的特性的影响。

[0461] 抗体同种型和同种异型

[0462] 本发明的抗体可为IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

[0463] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体为IgG1同种型。

[0464] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体为IgG2同种型。

[0465] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体为IgG3同种型。

[0466] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体为IgG4同种型。

[0467] 治疗性抗体的免疫原性与增大的输液反应风险和减小的治疗反应持续时间相关联 (Baert等人, (2003) NEngl J Med 348:602-08)。治疗性抗体在宿主中诱导免疫应答的程度可部分通过抗体的同种异型来测定 (Stickler等人, (2011) Genes and Immunity 12:213-21)。抗体同种异型与抗体的恒定区序列中特定位置的氨基酸序列变异相关。表3示出选择的IgG1、IgG2和IgG4同种异型。

[0468] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体为G2m (n) 同种异型。

[0469] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体为G2m (n-) 同种异型。

[0470] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体为G2m (n) / (n-) 同种异型。

[0471] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体为nG4m (a) 同种异型。

[0472] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体为G1m (17) 同种异型。

[0473] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体为G1m (17,1) 同种异型。

[0474] 表3:

同种异型	不同位置处的氨基酸残基 (残基编号: EU 索引)							
	IgG2		IgG4		IgG1			
	189	282	309	422	214	356	358	431
G2m(n)	T	M						
G2m(n-)	P	V						
G2m(n)/(n-)	T	V						
nG4m(a)			L	R				
G1m(17)					K	E	M	A
G1m(17,1)					K	D	L	A

[0476] 抗独特型抗体

[0477] 本发明还提供特异性结合本发明的特异性结合HLA-DR的抗体的抗独特型抗体。

[0478] 本发明还提供特异性结合包含SEQ ID NO:56的VH和SEQ ID NO:60的VL的抗体的抗独特型抗体。

[0479] 本发明还提供特异性结合包含SEQ ID NO:57的VH和SEQ ID NO:61的VL的抗体的抗独特型抗体。

[0480] 本发明还提供特异性结合包含SEQ ID NO:58的VH和SEQ ID NO:61的VL的抗体的抗独特型抗体。

[0481] 本发明还提供特异性结合包含SEQ ID NO:59的VH和SEQ ID NO:61的VL的抗体的抗独特型抗体。

[0482] 本发明还提供特异性结合包含SEQ ID NO:137的VH和SEQ ID NO:61的VL的抗体的抗独特型抗体。

[0483] 本发明还提供特异性结合包含SEQ ID NO:138的VH和SEQ ID NO:61的VL的抗体的

抗独特型抗体。

[0484] 本发明还提供特异性结合包含SEQ ID NO:139的VH和SEQ ID NO:61的VL的抗体的抗独特型抗体。

[0485] 本发明还提供特异性结合包含SEQ ID NO:140的VH和SEQ ID NO:142的VL的抗体的抗独特型抗体。

[0486] 本发明还提供特异性结合包含SEQ ID NO:141的VH和SEQ ID NO:61的VL的抗体的抗独特型抗体。

[0487] 抗独特型(Id)抗体是识别抗体的抗原决定簇(例如互补位或CDR)的抗体。Id抗体可为抗原封闭性或非封闭性的。抗原封闭性Id可用于检测样本中的游离抗体(例如本文所述的本发明抗HLA-DR抗体)。非封闭性Id可用于检测样本中的总抗体(游离,部分结合于抗原,或完全结合于抗原的抗体)。Id抗体可通过用抗体对正在制备抗Id的动物免疫来制备。

[0488] 抗Id抗体还可以用作免疫原以在另一动物中诱导免疫应答,从而产生所谓的抗-抗Id抗体。抗-抗Id抗体可与诱导抗-Id的初始单克隆抗体在表位上相同。因此,通过使用针对单克隆抗体的独特型决定簇的抗体,可以识别出表达相同特异性抗体的其它克隆。抗Id抗体可以改变(从而产生抗Id抗体变体)并且/或者通过任何合适的技术衍生化,例如在本文其它地方针对特异性结合HLA-DR抗体的抗体所述的那些。

[0489] 本发明的特异性结合HLA-DR的抗体的缀合物

[0490] 本发明还提供一种缀合至异源分子的特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段。

[0491] 在一些实施方案中,异源分子是可检测的标签或细胞毒素剂。

[0492] 本发明还提供一种缀合至可检测标签的特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段。

[0493] 本发明还提供一种缀合至细胞毒素剂的特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段。

[0494] 结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段可用于使治疗剂定向至表达HLA-DR的细胞。可用缀合至细胞毒素剂的特异性结合HLA-DR的抗体靶向过表达HLA-DR的肿瘤细胞,该细胞毒素剂在HLA-DR抗体内化时杀死细胞。另选地,可用连接至治疗剂的HLA-DR抗体靶向表达HLA-DR的恶性细胞,该治疗剂旨在一旦内化就改变细胞功能(例如转录因子抑制剂)。已报道血液癌细胞以及组织癌细胞表达HLA-DR(Cabrera等人,Scand J Immunol 1995;41:398-406;Altomonte等人,Oncogene 2003;22:6564-6569),因此使用抗体靶向这些细胞可提供治疗益处。

[0495] 本发明的抗体被细胞内在化,然而,它们任选地不诱导B细胞凋亡和/或死亡。这些抗体可缀合至细胞毒素剂并用于治疗HLA-DR阳性肿瘤,如血液恶性肿瘤。

[0496] 在一些实施方案中,可检测标签也是细胞毒素剂。

[0497] 缀合至可检测标签的本发明的特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段可用于评价多种样本上HLA-DR的表达。

[0498] 可检测标签包括当缀合至本发明的特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段时使得所述抗体可通过光谱、光化学、生物化学、免疫化学或化学手段检测到的组合物。

可用作成像剂来评价肿瘤分布,诊断表达HLA-DR的细胞的存在。

[0515] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段缀合至细胞毒素剂。

[0516] 在一些实施方案中,细胞毒素剂是化疗剂、药物、生长抑制剂、毒素(例如,细菌、真菌、植物或动物来源的酶活性毒素或其片段)或放射性同位素(即,放射性缀合物)。

[0517] 缀合至细胞毒素剂的本发明的特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段可用于将细胞毒素剂靶向递送至例如AML、ALL或MM细胞及其中的胞内积累物,其中系统施用这些未缀合的细胞毒素剂可导致对正常细胞的毒性水平不可接受。

[0518] 在一些实施方案中,细胞毒素剂是道诺霉素、阿霉素、甲氨蝶呤、长春地辛、细菌毒素(诸如,白喉毒素)、蓖麻毒素、格尔德霉素、美登木素生物碱或卡里奇霉素。细胞毒素剂可通过包括微管蛋白结合、DNA结合或拓扑异构酶抑制在内的机制引发其细胞毒素和细胞抑制效应。

[0519] 在一些实施方案中,细胞毒素剂是酶促活性毒素,诸如白喉A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链(来自铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒素A链、相思豆毒素A链、蒴莲根毒素A链、 α -八叠球菌素、油桐(*Aleurites fordii*)蛋白质、石竹素蛋白质、美洲商陆(*Phytolacca americana*)蛋白质(PAPI、PAPII和PAP-S)、苦瓜(*Momordica charantia*)抑制剂、麻疯树毒素、巴豆毒素、肥皂草(*Saponaire officinalis*)抑制剂、白树毒素、迈托毒素、局限曲霉素、酚霉素、伊诺霉素和单端孢霉烯族化合物。

[0520] 在一些实施方案中,细胞毒素剂是放射性核素,诸如 ^{212}Bi 、 ^{131}I 、 ^{131}In 、 ^{90}Y 和 ^{186}Re 。

[0521] 在一些实施方案中,细胞毒素剂是多拉司他汀或多拉司他汀肽类似物和衍生物、奥瑞司他汀或单甲基奥瑞司他汀苯丙氨酸。示例性分子在美国专利5,635,483和5,780,588中公开。多拉司他汀和奥瑞司他汀已被证实可干扰微管动力学、GTP水解以及细胞核和细胞分裂(Woyke等人,(2001) *Antimicrob Agents and Chemother.* 45 (12):3580-3584),并且具有抗癌和抗真菌活性。多拉司他汀和奥瑞司他汀的药物部分可通过肽药物部分的N(氨基)末端或C(羧基)末端(W002/088172)或者经由工程化到FN3域中的任何半胱氨酸连接到本发明的FN3域。

[0522] 可使用已知的方法将本发明的特异性结合HLA-DR的分离的抗体或其抗原结合片段缀合至可检测标签。

[0523] 在一些实施方案中,将可检测标签与螯合剂复合。

[0524] 在一些实施方案中,经由接头将可检测标签缀合至本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0525] 可使用已知的方法将可检测标签或细胞毒性部分直接或间接地连接至本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或抗原结合片段。合适的接头在本领域中是已知的,并且包括例如辅基、非酚类接头(N-琥珀酰亚胺基-苯甲酸盐衍生物;十二硼酸盐)、大环和无环螯合剂两者的螯合部分,诸如1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10,四乙酸(DOTA)衍生物、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)衍生物、S-2-(4-异硫氰酸酯基苄基)-1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)衍生物以及1,4,8,11-四氮杂环十二烷-1,4,8,11-四乙酸(TETA)衍生物、N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二巯基)丙酸酯(SPDP)、亚氨基四氢噻吩(IT)、亚氨酸酯的双功能衍生物(诸如二甲基己二酰亚胺酯HCl)、活性酯(诸如辛二酸二琥珀酰亚胺酯)、醛(诸如戊二

醛)、二叠氮基化合物(诸如双(对叠氮苯甲酰基)己二胺)、双重氮衍生物(诸如双-(对重氮苯甲酰基)-乙二胺)、二异氰酸酯(诸如甲苯2,6-二异氰酸酯)、以及二活性氟化合物(诸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)及其它螯合部分。合适的肽接头是公知的。

[0526] 在一些实施方案中,经由肾清除从血液移除特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0527] 本发明抗体的产生

[0528] 特异性结合HLA-DR的本发明抗体或其抗原结合片段可使用各种技术产生。例如,可使用Kohler和Milstein,Nature 256:495,1975所述的杂交瘤方法来产生单克隆抗体。在杂交瘤方法中,用如本文所述的与肽复合的表达为Fc融合蛋白的人或cyno HLA-DR抗原来免疫小鼠或其它宿主动物(诸如仓鼠、大鼠或猴),之后使用标准方法将来自免疫动物的脾细胞与骨髓瘤细胞融合以形成杂交瘤细胞(Gooding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 第59-103页(Academic Press, 1986))。可筛选出由单个永生化杂交瘤细胞产生的菌落,用以制备具有所需特性(诸如结合特异性、交叉反应性或缺乏结合特异性、缺乏交叉反应性,以及抗原的亲和力)的抗体。

[0529] 包括选择人受体框架的示例性人源化技术包括CDR接枝(美国专利5,225,539)、SDR接枝(美国专利6,818,749)、表面重塑(Padlan, (1991) Mol Immunol 28:489-499)、特异性决定残基表面重塑(美国专利公开2010/0261620)、人框架改型(美国专利8,748,356)或超人源化(美国专利7,709,226)。在这些方法中,亲本抗体的CDR被转移到人框架上,该人框架可基于其与亲本框架的总体同源性,基于CDR长度的相似性、或规范结构同一性、或它们的组合进行选择。

[0530] 可通过如下过程进一步优化人源化抗体以改善其对所需抗原的选择性或亲和力:通过采用诸如国际专利公开W01090/007861和W01992/22653中所述的技术,引入修改的框架支持残基来保持结合亲和力(回复突变),或者通过在任何CDR处引入变体例如来改善抗体的亲和力。

[0531] 基因组中携带人免疫球蛋白(Ig)基因座的转基因动物(诸如小鼠或大鼠)可用于生成抗HLA-DR蛋白质的人抗体,这在例如美国专利6,150,584、国际专利公开W099/45962、国际专利公开W02002/066630、W02002/43478、W02002/043478和W01990/04036、Lonberg等人(1994) Nature 368:856-9; Green等人(1994) Nature Genet. 7:13-21; Green&Jakobovits (1998) Exp. Med. 188:483-95; Lonberg和Huszar (1995) Int Rev Immunol 13:65-93; Bruggemann等人, (1991) Eur J Immunol 21:1323-1326; Fishwild等人, (1996) Nat Biotechnol 14:845-851; Mendez等人, (1997) Nat Genet 15:146-156; Green (1999) J Immunol Methods 231:11-23; Yang等人, (1999) Cancer Res 59:1236-1243; Bruggemann和Taussig (1997) Curr Opin Biotechnol 8:455-458中有所描述。可破坏此类动物中的内源性免疫球蛋白基因座或使该基因座缺失,并且可使用转染色体或微小基因,通过同源或非同源重组将至少一种完整或部分的人免疫球蛋白基因座插入动物的基因组中。可邀请诸如Regeneron (http://_www_regeneron_com)、Harbour Antibodies (http://_www_harbourantibodies_com)、Open Monoclonal Technology, Inc. (OMT) (http://_www_omtinc_net)、KyMab (http://_www_kymab_com)、Trianni (http://_www.trianni_com) 和Ablexis (http://_www_ablexis_com) 等公司使用上述技术以提供抗所选抗原的人抗体。

[0532] 人抗体可选自噬菌体展示文库,其中噬菌体被工程化以表达人免疫球蛋白或其部分,诸如Fab、单链抗体(scFv)或者未配对或配对抗体可变区(Knappik等人,(2000) J Mol Biol 296:57-86;Krebs等人,(2001) J Immunol Meth 254:67-84;Vaughan等人,(1996) Nature Biotechnology 14:309-314;Sheets等人,(1998) PITAS (USA) 95:6157-6162;Hoogenboom和Winter(1991) J Mol Biol 227:381;Marks等人,(1991) J Mol Biol 222:581)。可例如用噬菌体pIX外壳蛋白从将抗体重链和轻链可变区表达为融合蛋白的噬菌体展示文库中分离出本发明的抗体,如Shi等人,(2010) JMolBiol 397:385-96和国际专利公开W009/085462中所述。可从文库中筛选结合到人和/或cyno HLA-DR的噬菌体,并可进一步表征所获得的阳性克隆,从克隆裂解物中分离Fab,并将其表达为全长IgG。用于分离人抗体的此类噬菌体展示方法描述于例如:美国专利5,223,409、5,403,484、5,571,698、5,427,908、5,580,717、5,969,108、6,172,197、5,885,793;6,521,404;6,544,731;6,555,313;6,582,915和6,593,081。

[0533] 可如下产生与参考抗体竞争结合HLA-DR的抗体:使用噬菌体展示文库,分离特异性结合人HLA-DR的抗体,并筛选出所产生的能够与参考抗体竞争结合HLA-DR的抗体。

[0534] 免疫源性抗原的制备以及单克隆抗体的产生可用任何合适的技术诸如重组蛋白产生来进行。免疫原性抗原可以纯化蛋白质或蛋白质混合物(包括全细胞或细胞提取物或组织提取物)的形式施用于动物,或抗原可在动物体内由编码所述抗原或其部分的核酸从头形成。

[0535] 在一些实施方案中,本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段是双特异性抗体。

[0536] 在一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是多特异性抗体。

[0537] 本发明的特异性结合HLA-DR的单特异性抗体可工程改造成双特异性抗体,该双特异性抗体也涵盖于本发明的范围内。可使用已公布的方法将本发明的抗体的VL区和/或VH区改造成结构诸如TandAb[®]设计(国际专利公开W01999/57150;美国专利公开2011/0206672)的单链双特异性抗体,或工程改造成结构如公开于美国专利5,869,620;国际专利公开W01995/15388、国际专利公开W01997/14719或国际专利公开W02011/036460中所公开的那些的双特异性scFV。

[0538] 本发明的抗体的VL区和/或VH区,可工程改造成双特异性全长抗体,其中每个抗体臂结合不同的抗原或表位。可通过调节这两条抗体重链之间的CH3相互作用制备此类双特异性抗体,以使用诸如美国专利7,695,936;国际专利公开W02004/111233;美国专利公开2010/0015133;美国专利公开2007/0287170;国际专利公开W02008/119353;美国专利公开2009/0182127;美国专利公开2010/0286374;美国专利公开2011/0123532;国际专利公开W02011/131746;国际专利公开W02011/143545;或美国专利公开2012/0149876所述的那些技术形成双特异性抗体。

[0539] 例如,双特异性抗体可在体外无细胞环境中通过下列方式产生:在两种单特异性同源二聚抗体的CH3区中引入不对称突变,并在还原条件下由两种亲本单特异性同源二聚抗体形成双特异性异源二聚抗体,从而根据国际专利公开W02011/131746中所述的方法允许二硫键异构化。在所述方法中,将两种单特异性二价抗体工程化为在CH3域处具有促进异源二聚体稳定性的某些置换;将这些抗体在足以使较链区中的半胱氨酸发生二硫键异构化

的还原条件下一同温育；从而通过Fab臂交换产生双特异性抗体。温育条件最理想地可恢复到非还原条件。可使用的示例性还原剂为2-巯基乙胺(2-MEA)、二硫苏糖醇(DTT)、二硫赤藓糖醇(DTE)、谷胱甘肽、三(2-羧乙基)膦(TCEP)、L-半胱氨酸和β-巯基乙醇,优选地为选自2-巯基乙胺、二硫苏糖醇和三(2-羧乙基)膦的还原剂。例如,可使用如下条件:在至少25mM 2-MEA的存在下或至少0.5mM二硫苏糖醇的存在下,在5-8的pH例如pH7.0或pH7.4,至少20℃的温度下,温育至少90分钟。

[0540] 可用于双特异性抗体的第一重链和第二重链的示例性CH3突变是K409R和F405L。

[0541] 可在其中结合本发明的抗体的VL区和/或VH区的另外的多特异性结构是例如双可变免疫球蛋白(Dual Variable Domain Immunoglobulins,DVD)(国际专利公开W02009/134776),或包括多种二聚化域以连接具有不同特异性的两条抗体臂的结构,诸如亮氨酸拉链或胶原二聚化域(国际专利公开W02012/022811、美国专利5,932,448;美国专利6,833,441)。DVD是全长抗体,其包含具有VH1-接头-VH2-CH结构的重链和具有VL1-接头-VL2-CL结构的轻链;接头是任选的。

[0542] 多核苷酸、载体和宿主细胞

[0543] 本发明还提供具有特定VH和VL序列的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段,其中抗体VH由第一多核苷酸编码并且抗体VL由第二多核苷酸编码。多核苷酸可为互补脱氧核酸(cDNA),并且可经密码子优化以在合适的宿主中表达。密码子优化是公知的技术。

[0544] 本发明还提供编码本发明抗体的VH、本发明抗体的VL、本发明抗体的重链或本发明抗体的轻链的分离的多核苷酸。

[0545] 本发明还提供编码SEQ ID NO:56、57、58、59、137、138、139、140或141的VH的分离的多核苷酸。

[0546] 本发明还提供编码SEQ ID NO:60、61或142的VL的分离的多核苷酸。

[0547] 本发明还提供编码SEQ ID NO:56、57、58、59、137、138、139、140或141的VH以及SEQ ID NO:60、61或142的VL的分离的多核苷酸。

[0548] 本发明还提供编码SEQ ID NO:84、85、86、87、96、97、98、99、149、150、151、152或153的重链的分离的多核苷酸。

[0549] 本发明还提供编码SEQ ID NO:88、89或154的轻链的分离的多核苷酸。

[0550] 本发明还提供编码SEQ ID NO:84、85、86、87、96、97、98、99、149、150、151、152或153的重链以及SEQ ID NO:88、89或154的轻链的分离的多核苷酸。

[0551] 本发明还提供包含SEQ ID NO:79、80、81、82、83、90、91、92、93、94、95、100、101、102、103、121、143、144、145、146、147、148、155、156、157、158、159或160的多核苷酸序列的分离的多核苷酸。

[0552] 编码本发明抗体的VH和/或VL或其抗原结合片段、或本发明抗体的重链和轻链的多核苷酸序列能够有效连接至一个或多个调控元件,诸如启动子或增强子,该调控元件允许核苷酸序列在预期宿主细胞中的表达。多核苷酸可为cDNA。

[0553] 本发明还提供了包含本发明的多核苷酸的载体。此类载体可以是质粒载体、病毒载体、用于杆状病毒表达的载体、基于转座子的载体或任何其它适于通过任何手段将本发明的合成多核苷酸引入给定生物体或遗传背景的载体。例如,将可任选地与恒定区连接的编码本发明抗体的轻链可变区和/或重链可变区的多核苷酸插入表达载体中。轻链和/或重

链可被克隆在相同或不同的表达载体中。可将编码免疫球蛋白链的DNA片段可操作地连接到确保免疫球蛋白多肽表达的一个或多个表达载体中的对照序列。对此类对照序列包括信号序列、启动子(例如,天然相关联的或异源的启动子)、增强子元件和转录终止子序列进行选择,以使其与选择用于表达抗体的宿主细胞相容。载体被结合到适当的宿主后,将宿主保持在适于蛋白质的高水平表达的条件下,所述蛋白质由结合的多核苷酸编码。

[0554] 在一些实施方案中,载体包含SEQ ID NO:79的多核苷酸和SEQ ID NO:80的多核苷酸。

[0555] 在一些实施方案中,载体包含SEQ ID NO:81的多核苷酸和SEQ ID NO:82的多核苷酸。

[0556] 在一些实施方案中,载体包含SEQ ID NO:83的多核苷酸和SEQ ID NO:82的多核苷酸。

[0557] 在一些实施方案中,载体包含SEQ ID NO:121的多核苷酸和SEQ ID NO:82的多核苷酸。

[0558] 在一些实施方案中,载体包含SEQ ID NO:143的多核苷酸和SEQ ID NO:82的多核苷酸。

[0559] 在一些实施方案中,载体包含SEQ ID NO:144的多核苷酸和SEQ ID NO:82的多核苷酸。

[0560] 在一些实施方案中,载体包含SEQ ID NO:145的多核苷酸和SEQ ID NO:82的多核苷酸。

[0561] 在一些实施方案中,载体包含SEQ ID NO:146的多核苷酸和SEQ ID NO:148的多核苷酸。

[0562] 在一些实施方案中,载体包含SEQ ID NO:147的多核苷酸和SEQ ID NO:82的多核苷酸。

[0563] 合适的表达载体通常可以在宿主生物体中作为游离基因或宿主染色体DNA的一部分进行复制。通常,表达载体包含选择标记,诸如氨苄青霉素抗性、潮霉素抗性、四环素抗性、卡那霉素抗性或新霉素抗性,以便对那些转化了所需DNA序列的细胞进行检测。

[0564] 合适的启动子和增强子元件是本领域已知的。为了在真核细胞中表达,示例性启动子包括轻链和/或重链免疫球蛋白基因启动子和增强子元件;巨细胞病毒立即早期启动子;单纯疱疹病毒胸苷激酶启动子;早期和晚期SV40启动子;逆转录病毒长末端重复序列中存在的启动子;小鼠金属硫蛋白-I启动子;以及各种已知的组织特异性启动子。选择适当的载体和启动子在本领域普通技术人员的水平范围内。

[0565] 可使用的示例性载体为细菌:pBs、phagescript、PsiX174、pBluescript SK、pBs KS、pNH8a、pNH16a、pNH18a、pNH46a (Stratagene, La Jolla, Calif., USA); pTrc99A、pKK223-3、pKK233-3、pDR540和pRIT5 (Pharmacia, Uppsala, Sweden)。真核:pWLneo、pSV2cat、pOG44、PXR1、pSG (Stratagene)、pSVK3、pBPV、pMSG和pSVL (Pharmacia)、pEE6.4 (Lonza) 和pEE12.4 (Lonza)。

[0566] 本发明还提供一种宿主细胞,其包含本发明的一个或多个载体。“宿主细胞”是指已引入载体的细胞。应该理解,术语宿主细胞不仅旨在指特定的主体细胞,还指此类细胞的子代,并且也指特定主体细胞所产生的稳定细胞系。因为由于突变或者由于环境影响,在后

代中可发生某些修饰,因此这种子代可与母体细胞不同,但仍包括在本文所用的术语“宿主细胞”的范围内。此类宿主细胞可以是真核细胞、原核细胞、植物细胞或古菌细胞。原核宿主细胞的示例是大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、杆菌属 (*bacilli*) 诸如枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和其它肠杆菌科 (*enterobacteriaceae*) 诸如沙门氏菌 (*Salmonella*)、沙雷氏菌 (*Serratia*) 以及各种假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 物种。其他微生物诸如酵母也可用于表达。酵母属 (*Saccharomyces*) (例如,酿酒酵母 (*S.Cerevisiae*)) 和毕赤酵母 (*Pichia*) 是合适的酵母宿主细胞的示例。示例性真核宿主细胞可以是哺乳动物、昆虫、禽类或其它动物来源。哺乳动物真核宿主细胞包括无限增殖化细胞系,诸如杂交瘤或骨髓瘤细胞系,诸如SP2/0 (美国典型培养物保藏中心 (ATCC), Manassas, VA, CRL-1581)、NS0 (欧洲细胞培养物保藏中心 (ECACC), Salisbury, Wiltshire, UK, ECACC No. 85110503)、F0 (ATCC CRL-1646) 和Ag653 (ATCC CRL-1580) 鼠细胞系。一种示例性人骨髓瘤细胞系是U266 (ATCC CRL-TIB-196)。其它可用的细胞系包括衍生自中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞的那些细胞系,诸如CHOK1SV (Lonza Biologics, Walkersville, MD)、Potelligent[®] CHOK2SV (Lonza)、CHO-K1 (ATCC CRL-61) 或DG44。

[0567] 本发明还提供一种制备本发明抗体或其抗原结合片段的方法,该方法包括在表达抗体的条件下培养本发明的宿主细胞,并且回收宿主细胞产生的抗体。制备抗体并将其纯化的方法是本领域所熟知的。一旦被合成 (以化学方式或重组方式) 后,全部抗体、其二聚体、单个轻链和/或重链、或者其它抗体片段诸如VH和/或VI,可以根据标准程序进行纯化,包括硫酸铵沉淀、亲和色谱柱、柱层析法、高效液相色谱 (HPLC) 纯化、凝胶电泳等等 (参见 generally Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, N.Y., (1982))。受试者抗体可以基本上是纯净的,例如,至少约80%至85%纯净、至少约85%至90%纯净、至少约90%至95%纯净、或者至少约98%至99%纯净,或者更加纯净,例如,不含污染物,诸如细胞碎片、除受试者抗体之外的大分子等。

[0568] 本发明还提供一种制备本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段的方法,包括:

[0569] 将编码抗体的VH的第一多核苷酸和编码抗体的VL的第二多核苷酸引入表达载体中;

[0570] 用表达载体转化宿主细胞;

[0571] 在使VL和VH表达并形成抗体的条件下,将宿主细胞在培养基中进行培养;以及

[0572] 从宿主细胞或培养基中回收抗体。

[0573] 可使用标准分子生物学方法将编码本发明的特定VH或VI序列的多核苷酸结合到载体中。使用熟知的方法完成宿主细胞转化、培养、抗体表达和纯化。

[0574] 药物组合物/施用

[0575] 本发明提供包含本发明的抗体或其抗原结合片段以及药学上可接受的载体的药物组合物。就治疗性用途而言,可将本发明的抗体制备为药物组合物,该药物组合物含有有效量的抗体作为药学上可接受的载体中的活性成分。“载体”是指本发明抗体与之一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒介物。此类媒介物可以是液体,诸如水和油,包括来源于石油、动物、植物的油或合成的那些油,诸如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。例如,可使用0.4%盐水和0.3%甘氨酸。这些溶液是无菌的,并且通常不含颗粒物。它们可通过熟知的常

规灭菌技术(例如过滤)进行灭菌。组合物可根据需要含有药学上可接受的辅助物质,以接近生理条件,例如pH调节剂和缓冲剂、稳定剂、增稠剂、润滑剂和着色剂等。在此类药物制剂中本发明的抗体或其抗原结合片段的浓度可从按重量计小于约0.5%,通常到至少约1%到多达15或20%改变,且可根据所选择的具体施用方式,主要基于所需剂量、流体体积、粘度等进行选择。包含其它人蛋白(例如,人血清白蛋白)在内的合适的媒介物和制剂在例如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版, Troy, D.B. 编辑, Lipincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA 2006, 第5部分, Pharmaceutical Manufacturing, 第691-1092页(特别参见第958-989页)中有所描述。

[0576] 用于本发明的抗体或其抗原结合片段的治疗性用途的施用模式可以是将抗体递送至宿主的任何合适途径,诸如胃肠外施用,例如真皮内、肌肉内、腹膜内、静脉内或皮下、肺部,经粘膜(口腔、鼻内、阴道内、直肠),使用片剂、胶囊、溶液、粉末、凝胶、颗粒形式的制剂;以及包含在注射器、植入装置、渗透泵、盒、微型泵中;或技术人员所理解的本领域熟知的其它方式。可通过例如以下方式实现位点特异性施用:瘤内、胃肠外、支气管内、腹内、囊内、软骨内、腔内、体腔内、小脑内、脑室内、结肠内、颈管内、胃内、肝内、心脏内、骨内、骨盆内、心包内、腹膜内、胸膜内、前列腺内、肺内、直肠内、肾内、视网膜内、脊柱内、滑膜内、胸内、子宫内、血管内、膀胱内、病灶内、阴道、直肠、口腔、舌下、鼻内或经皮递送。

[0577] 本发明的抗体或其抗原结合片段可通过任何合适的途径施用给受试者,例如通过静脉内(i.v.)输注或弹丸式注射以非肠道方式、以肌肉内方式或皮下方式或腹膜内方式。可在例如15分钟、30分钟、60分钟、90分钟、120分钟、180分钟或240分钟内,或1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时或12小时内给予静脉内输注。

[0578] 向受试者给予的剂量足以缓解、至少部分地遏止、或预防正在治疗的疾病(“治疗有效量”),并且有时可为0.005mg/kg至约100mg/kg,例如约0.05mg/kg至约30mg/kg,或约5mg/kg至约25mg/kg,或约4mg/kg,约8mg/kg,约16mg/kg或约24mg/kg,或例如约1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg或10mg/kg,但可甚至更高,例如约15mg/kg、16mg/kg、17mg/kg、18mg/kg、19mg/kg、20mg/kg、21mg/kg、22mg/kg、23mg/kg、24mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、40mg/kg、50mg/kg、60mg/kg、70mg/kg、80mg/kg、90mg/kg或100mg/kg。

[0579] 也可以给予固定的单位剂量,例如50mg、100mg、200mg、500mg或1000mg,或者剂量可基于患者的表面积,例如500mg/m²、400mg/m²、300mg/m²、250mg/m²、200mg/m²或100mg/m²。通常可施用介于1和8次之间(例如,1、2、3、4、5、6、7或8次)的剂量来治疗患者,但可给予9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多次的剂量。

[0580] 可在一天、两天、三天、四天、五天、六天、一周、两周、三周、一个月、五周、六周、七周、两个月、三个月、四个月、五个月、六个月或更长时间之后重复施用本发明的抗体或其抗原结合片段。也可以重复治疗过程,按照慢性施用一样。重复施用可为相同剂量或不同剂量。例如,本文所述的本发明抗体或其抗原结合片段可通过静脉内输注以8mg/kg或以16mg/kg按一周的时间间隔施用8周,接着以8mg/kg或以16mg/kg按每两周一次的方式再施用16周,然后以8mg/kg或以16mg/kg按每四周一次的方式施用。

[0581] 例如,本发明的抗体或其抗原结合片段可在治疗开始后第1、2、3、4、5、6、7、8、9、

10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40天中的至少一天,或者另选地,在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20周中的至少一周,或其任何组合,使用单次剂量或者每24、12、8、6、4或2小时一次的分次剂量或其任何组合,以约0.1-100mg/kg的量作为日剂量提供,诸如0.5mg/kg、0.9mg/kg、1.0mg/kg、1.1mg/kg、1.5mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg、10mg/kg、11mg/kg、12mg/kg、13mg/kg、14mg/kg、15mg/kg、16mg/kg、17mg/kg、18mg/kg、19mg/kg、20mg/kg、21mg/kg、22mg/kg、23mg/kg、24mg/kg、25mg/kg、26mg/kg、27mg/kg、28mg/kg、29mg/kg、30mg/kg、40mg/kg、45mg/kg、50mg/kg、60mg/kg、70mg/kg、80mg/kg、90mg/kg或100mg/kg/天。

[0582] 本发明的抗体或其抗原结合片段也可预防性施用,从而降低罹患自身免疫疾病的风险和/或延迟症状发作。

[0583] 本发明的抗体或其抗原结合片段可冻干以便于储存,使用之前可在合适的载体中复原。此项技术已被证实对常规的蛋白制剂有效,并且可采用熟知的冻干和复原技术。

[0584] 方法和用途

[0585] 本发明的抗体或其抗原结合片段具有在体外和体内进行诊断,以及治疗和预防的用途。例如,本发明的抗体可被施用于体外或离体培养的细胞,或者待治疗的受试者,预防和/或诊断各种疾病,诸如HLA-DR介导的疾病,如自身免疫疾病、或表达HLA-DR的肿瘤。

[0586] 本发明还提供一种治疗或预防HLA-DR介导的疾病的方法,包括以足以治疗HLA-DR介导的疾病的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0587] 本发明还提供一种预防HLA-DR介导的疾病的方法,包括以足以治疗HLA-DR介导的疾病的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0588] 在一些实施方案中,HLA-DR介导的疾病是自身免疫疾病。

[0589] 在一些实施方案中,自身免疫疾病是关节炎。

[0590] 在一些实施方案中,关节炎是幼年关节炎、类风湿性关节炎、银屑病性关节炎、莱特尔氏综合征、强直性脊柱炎、或痛风性关节炎。

[0591] 在一些实施方案中,自身免疫疾病是全身型幼年特发性关节炎。

[0592] 在一些实施方案中,自身免疫疾病是格雷夫病。

[0593] 在一些实施方案中,自身免疫疾病是桥本甲状腺炎。

[0594] 在一些实施方案中,自身免疫疾病是重症肌无力。

[0595] 在一些实施方案中,自身免疫疾病是多发性硬化症。

[0596] 在一些实施方案中,自身免疫疾病是狼疮。

[0597] 在一些实施方案中,狼疮是系统性红斑狼疮(SLE)或皮肤型红斑狼疮(CLE)。

[0598] 在一些实施方案中,受试者患有狼疮性肾炎。

[0599] 在一些实施方案中,自身免疫疾病是1型糖尿病。

[0600] 在一些实施方案中,自身免疫疾病是炎性肠病。

[0601] 在一些实施方案中,炎性肠病是克罗恩氏病。

[0602] 在一些实施方案中,炎性肠病是溃疡性结肠炎。

[0603] 本发明还提供一种治疗HLA-DRB1相关的自身免疫疾病的方法,包括以足以治疗自身免疫疾病的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0604] 本发明还提供一种预防HLA-DRB1相关的自身免疫疾病的方法,包括以足以预防自身免疫疾病的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0605] 在一些实施方案中,自身免疫疾病是类风湿性关节炎、系统性幼年特发性关节炎、格雷夫病、桥本甲状腺炎、重症肌无力、多发性硬化症、狼疮或1型糖尿病。

[0606] 本发明还提供一种抑制针对自身抗原的免疫应答的方法,包括以足以抑制针对自身抗原的免疫应答的时间向对其有需要的受试者施用本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0607] 本发明还提供一种治疗HLA-DRB1相关的自身免疫疾病的方法,包括以足以治疗HLA-DRB1相关的自身免疫疾病的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的包含分别为SEQ ID NO:39、42、46、50、52和54的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0608] 在一些实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:56的VH和SEQ ID NO:60的VL。

[0609] 本发明还提供一种治疗HLA-DRB1相关的自身免疫疾病的方法,包括以足以治疗HLA-DRB1相关的自身免疫疾病的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的包含分别为SEQ ID NO:40、43、47、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0610] 在一些实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:57的VH和SEQ ID NO:61的VL。

[0611] 本发明还提供一种治疗HLA-DRB1相关的自身免疫疾病的方法,包括以足以治疗HLA-DRB1相关的自身免疫疾病的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的包含分别为SEQ ID NO:41、44、48、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0612] 在一些实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:58的VH和SEQ ID NO:61的VL。

[0613] 本发明还提供一种治疗HLA-DRB1相关的自身免疫疾病的方法,包括以足以治疗HLA-DRB1相关的自身免疫疾病的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的包含分别为SEQ ID NO:41、45、49、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0614] 在一些实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:59的VH和SEQ ID NO:61的VL。

[0615] 本发明还提供一种治疗表达HLA-DR的肿瘤的方法,包括以足以治疗表达HLA-DR的肿瘤的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的缀合至细胞毒素剂的本发明抗体或其抗原结合片段。

[0616] 在一些实施方案中,表达HLA-DR的肿瘤是血液恶性肿瘤。

[0617] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是B细胞非霍奇金淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、B细胞急性淋巴性白血病、伯基特淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、毛细胞白血病、急性髓性白血病、T细胞淋巴瘤、T细胞非霍奇金淋巴瘤、慢性髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性髓性白血病或急性单核细胞白血病(AMoL)。

[0618] 在一些实施方案中,表达HLA-DR的肿瘤是胶质瘤。

[0619] 在一些实施方案中,表达HLA-DR的肿瘤是卵巢癌。

[0620] 在一些实施方案中,表达HLA-DR的肿瘤是结肠直肠癌。

[0621] 在一些实施方案中,表达HLA-DR的肿瘤是骨肉瘤。

[0622] 在一些实施方案中,表达HLA-DR的肿瘤是宫颈癌。

[0623] 在一些实施方案中,表达HLA-DR的肿瘤是胃癌。

[0624] 在一些实施方案中,受试者在结肠、喉、骨骼肌、乳腺或肺中具有肿瘤。

[0625] 已确认HLA-DR表达在这些癌症中(参见例如Diao等人,Int J Clin Exp Pathol 2015;8(5):5483-90;Rangel等人,Cancer Biol Ther 2004;3(10):1021-7;Cabrera等人,Scand J Immunol 1995;41:398-406;Matsushita等人,Cancer Sci 2005;97(1):57-63;Trieb等人,Pathol Res Pract 1998;194:679-684)。

[0626] 有效治疗由HLA介导的疾病、自身免疫疾病和/或癌症的本发明特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段的“治疗有效量”可通过标准研究技术来确定。例如,可采用体外测定来帮助确定最佳剂量范围。任选地,可有效地治疗自身免疫疾病诸如关节炎或类风湿性关节炎、或癌症的本发明特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段的剂量可通过向本领域已知的相关动物模型施用特异性结合HLA-DR的抗体来确定。对具体的有效剂量的选择可由本领域的技术人员根据对多种因素的考量(例如,经由临床试验)来确定。此类因素包括待治疗或预防的疾病、所涉及的症状、患者体重、患者免疫状态以及技术人员已知的其他因素。在制剂中待使用的精确剂量也将取决于给药途径以及疾病的严重程度,并且应该根据医生的判断和每个患者的情况来决定。有效剂量可通过来自体外或动物模型测试体系的剂量响应曲线来推导。可以使用本文所述模型中的任何一个来测试本发明抗体的功效和有效剂量。

[0627] 联合治疗

[0628] 本发明方法中的特异性结合HLA-DR的抗体或抗原结合片段可以与第二治疗剂组合同时、依序或分开施用。

[0629] 本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段可与任何已知用于自身免疫疾病的疗法联合施用,所述疗法包括已知可用于治疗自身免疫疾病(或已使用或当前使用的)的任何试剂或试剂的组合。此类疗法和治疗剂包括外科手术或手术治疗(例如脾切除术、淋巴结切除术、甲状腺切除术、血浆置换术、白细胞去除术、细胞、组织或器官移植、肠手术、器官灌注等)、放射疗法、诸如类固醇疗法和非类固醇疗法、激素疗法、细胞因子疗法之类的疗法,采用皮肤病药物的疗法(例如,用于治疗皮肤状况如过敏、接触性皮炎和牛皮癣的局部试剂)、免疫抑制疗法和其它抗炎单克隆抗体疗法。

[0630] 第二治疗剂可为皮质类固醇、抗疟药、免疫抑制剂、细胞毒性药物或B细胞调节剂。

[0631] 在一些实施方案中,第二治疗剂是泼尼松、泼尼松龙、甲泼尼龙、deflazcort、羟化氯喹、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、环磷酰胺、麦考酚酸莫酯(MMF)、霉酚酸钠、环孢霉素、来氟米特、他克莫司、利妥昔单抗(Rituxan[®])、或贝利单抗(Benlysta[®])。

[0632] 在一些实施方案中,第二治疗剂是皮质类固醇、非甾体类抗炎药(NSAID)、水杨酸盐、柳氮磺吡啶、细胞毒性药物、免疫抑制药、咪唑立宾、苯丁酸氮芥、环孢霉素、他克莫司(FK506;ProGrafrM)、麦考酚酸莫酯、西罗莫司(雷帕霉素)、脱氧精肌菌素、来氟米特及其

malononitriloamide类似物、氯倍他索、乌倍他索、氢化可的松、曲安西龙、倍他米松、fluocinole、氟轻松醋酸酯、含氨水杨酸药物(称为5-ASA试剂)、塞来考昔、双氯芬酸、依托度酸、fenprofen、氟比洛芬、布洛芬、酮洛芬、甲氯方酸盐(meclofamate)、美洛昔康、萘丁美酮、萘普生、噁丙嗪、吡罗昔康、罗非考昔、水杨酸盐、苏灵大、托美丁;磷酸二酯酶-4抑制剂、抗-TNF α 抗体英夫利昔(REMICADE[®])、戈利木单抗(SIMPONI[®])和阿达木单抗(HUMIRA[®])、沙利度胺或其类似物,如来那度胺。

[0633] 治疗效果或RA可使用效果进行评估,如由美国风湿病学学院(American College of Rheumatology)标准/欧洲风湿病联合会(European League of Rheumatism)标准、或任何其它标准定义的临床反应所测。参见例如Felson等人(1995) Arthritis Rheum.38:727-35和van Gestel等人(1996) Arthritis Rheum.39:34-40。

[0634] 本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段或者缀合至细胞毒素剂的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段可与任何已知的癌症疗法(例如用于治疗血液恶性肿瘤的疗法)联合施用。

[0635] 诊断用途和试剂盒

[0636] 试剂盒

[0637] 本发明还提供一种包含本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段的试剂盒。

[0638] 试剂盒可用于治疗用途并用作诊断试剂盒。

[0639] 试剂盒可用于检测样本中HLA-DR的存在。

[0640] 在一些实施方案中,试剂盒包含本发明的抗体或其抗原结合片段和用于检测抗体的试剂。试剂盒可包含一个或多个其它元件,包含:使用说明;其它试剂,例如标记、治疗剂、或者可用于使抗体与标记或治疗剂螯合或以其它方式偶联的试剂、或辐射防护组合物;用于准备施用抗体的装置或其它材料;药学上可接受的载体;以及向受试者施用的装置或其它材料。

[0641] 在一些实施方案中,试剂盒包含在容器中的本发明抗体或其抗原结合片段和试剂盒的使用说明。

[0642] 在一些实施方案中,试剂盒中的抗体被标记。

[0643] 在一些实施方案中,试剂盒包含含有SEQ ID NO:56的VH和SEQ ID NO:60的VL的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0644] 在一些实施方案中,试剂盒包含含有SEQ ID NO:57的VH和SEQ ID NO:61的VL的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0645] 在一些实施方案中,试剂盒包含含有SEQ ID NO:58的VH和SEQ ID NO:61的VL的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0646] 在一些实施方案中,试剂盒包含含有SEQ ID NO:59的VH和SEQ ID NO:61的VL的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0647] 在一些实施方案中,试剂盒包含含有SEQ ID NO:137的VH和SEQ ID NO:61的VL的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0648] 在一些实施方案中,试剂盒包含含有SEQ ID NO:138的VH和SEQ ID NO:61的VL的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0649] 在一些实施方案中,试剂盒包含含有SEQ ID NO:139的VH和SEQ ID NO:61的VL的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0650] 在一些实施方案中,试剂盒包含含有SEQ ID NO:140的VH和SEQ ID NO:142的VL的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0651] 在一些实施方案中,试剂盒包含含有SEQ ID NO:141的VH和SEQ ID NO:61的VL的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段。

[0652] 检测HLA-DR的方法

[0653] 本发明还提供了一种检测样本中HLA-DR的方法,包括:获得样本,使样本与本发明的特异性结合HLA-DR的抗体或其抗原结合片段接触,并且检测与样本中的HLA-DR结合的抗体。

[0654] 在一些实施方案中,样本可来源于尿液、血液、血清、血浆、唾液、腹水、循环细胞、循环肿瘤细胞、非组织缔合的细胞(即游离细胞)、组织(例如手术切除的肿瘤组织、活体组织切片,包括细针抽吸组织)、组织学制备物等。

[0655] 可使用已知的方法检测结合HLA-DR的本发明的抗体或其抗原结合片段。示例性方法包括使用荧光或化学发光标记、或放射标记物直接标记抗体,或者使易于检测的部分(诸如生物素、酶或表位标签)连接到本发明的抗体上。示例性的标记和部分为钆、¹¹¹In-DOTA、¹¹¹In-二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶和 β -半乳糖苷酶、聚组氨酸(HIS标签)、吖啶染料、花青染料、荧光酮染料、噁嗪染料、菲啶染料、罗丹明染料和Alexafluor[®]染料。

[0656] 本发明的抗体可用于多种测定以检测样本中的HLA-DR。示例性的测定为蛋白质印迹分析、放射性免疫测定、表面等离子共振、免疫沉淀、平衡透析、免疫扩散、电化学发光(ECL)免疫测定、免疫组织化学、荧光激活细胞分选(FACS)或ELISA测定。

[0657] 本发明的其它实施方案

[0658] 下文根据本文别处的公开内容陈述了本发明的某些其它实施方案。上文陈述为与本文所公开的发明相关的本发明的实施方案的特征还涉及所有这些其它带编号的实施方案中的每一者。

[0659] 1) 一种特异性结合HLA-DR的分离的抗体,包含HLA-DR α 链和HLA-DR β 链。

[0660] 2) 根据权利要求1所述的抗体,其中HLA-DR是HLA-DR4。

[0661] 3) 根据权利要求2所述的抗体,其中所述HLA-DR α 链包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列,并且所述HLA-DR β 链包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列。

[0662] 4) 根据权利要求1所述的抗体,其中HLA-DR是HLA-DR1。

[0663] 5) 根据权利要求4所述的抗体,其中所述HLA-DR α 链包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列,并且所述HLA-DR β 链包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列。

[0664] 6) 根据权利要求1-5中任一项所述的抗体,其中所述抗体缺乏诱导B细胞凋亡的能力。

[0665] 7) 根据权利要求6所述的抗体,其中凋亡通过使用流式细胞术测量人外周血细胞(PBMC)样本中CD3⁻CD20⁺膜联蛋白V⁺活/死B细胞的频数来测定。

[0666] 8) 根据权利要求1-7中任一项所述的抗体,其中所述抗体缺乏诱导B细胞死亡的能力。

- [0667] 9) 根据权利要求7所述的抗体,其中所述B细胞的死亡通过使用流式细胞术测量人PBMC样本中CD3⁺CD20⁺膜联蛋白V⁺活/死⁺B细胞的频数来测定。
- [0668] 10) 根据权利要求1所述的抗体,其中HLA-DR包含共享表位。
- [0669] 11) 根据权利要求10所述的抗体,其中所述共享表位包括氨基酸序列QKRAA (SEQ ID NO:66)、QRRRAA (SEQ ID NO:67)、或RRRAA (SEQ ID NO:68)。
- [0670] 12) 根据权利要求10或11所述的抗体,其中所述共享表位由氨基酸序列QKRAA (SEQ ID NO:66)、QRRRAA (SEQ ID NO:67)、或RRRAA (SEQ ID NO:68) 组成。
- [0671] 13) 根据权利要求1-12中任一项所述的抗体,其中HLA-DR与肽复合。
- [0672] 14) 根据权利要求13所述的抗体,其中所述肽是胶原蛋白II (SEQ ID NO:69)、血凝素 (SEQ ID NO:70)、NY-ESO1 (SEQ ID NO:71) 或胰岛素 (SEQ ID NO:72) 的肽片段。
- [0673] 15) 根据权利要求13或14所述的抗体,其中所述肽包含SEQ ID NO:7、8、9、10或11的氨基酸序列。
- [0674] 16) 根据权利要求13-15中任一项所述的抗体,其中所述肽由SEQ ID NO:7、8、9、10或11的氨基酸序列组成。
- [0675] 17) 根据权利要求1-16中任一项所述的抗体,其中所述抗体抑制T细胞活化。
- [0676] 18) 根据权利要求1-17中任一项所述的抗体,其中使用实施例4中所述的测定,所述抗体在人CD4⁺ T细胞与从表达人HLA-DR4的转基因动物分离的树突细胞的共培养物中以1μg/ml的浓度抑制至少30%的CD4⁺ T细胞增殖。
- [0677] 19) 根据权利要求1-18中任一项所述的抗体,包含分别为SEQ ID NO:73、74和75的重链互补决定区1、2和3 (HCDR1、HCDR2和HCDR3)。
- [0678] 20) 根据权利要求1-18中任一项所述的抗体,包含分别为SEQ ID NO:76、77和78的轻链互补决定区1、2和3 (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。
- [0679] 21) 根据权利要求1-20中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:56、57、58或59的重链可变区 (VH) 中所含的HCDR1、HCDR2和HCDR3,其中所述HCDR1、所述HCDR2和所述HCDR3由Kabat、IMGT或Chothia定义。
- [0680] 22) 根据权利要求1-21中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:60或61的轻链可变区 (VL) 中所含的LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述LCDR1、所述LCDR2和所述LCDR3由Kabat、IMGT或Chothia定义。
- [0681] 23) 根据权利要求1-22中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:39、40或41的HCDR1。
- [0682] 24) 根据权利要求1-23中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:42、43、44或45的HCDR2。
- [0683] 25) 根据权利要求1-24中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:46、47、48或49的HCDR3。
- [0684] 26) 根据权利要求1-25中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:50或51的LCDR1。
- [0685] 27) 根据权利要求1-26中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:52或53的LCDR2。
- [0686] 28) 根据权利要求1-27中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:54或55的LCDR3。
- [0687] 29) 根据权利要求1-28中任一项所述的抗体,包含分别为SEQ ID NO:39、42和46的HCDR1、HCDR2、HCDR3,以及分别为SEQ ID NO:50、52和54的LCDR1、LCDR2和LCDR3。
- [0688] 30) 根据权利要求1-28中任一项所述的抗体,包含:

- [0689] a) 下列的HCDR1、HCDR2、HCDR3:
- [0690] i) 分别为SEQ ID NO:40、43和47;
- [0691] ii) 分别为SEQ ID NO:41、44和48;或者
- [0692] iii) 分别为SEQ ID NO:41、45和49;以及
- [0693] b) 分别为SEQ ID NO:51、53和55的LCDR1、LCDR2和LCDR3。
- [0694] 31) 根据权利要求30所述的抗体,包含分别为SEQ ID NO:40、43、47、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。
- [0695] 32) 根据权利要求30所述的抗体,包含分别为SEQ ID NO:41、44、48、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。
- [0696] 33) 根据权利要求30所述的抗体,包含分别为SEQ ID NO:41、45、49、51、53和55的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。
- [0697] 34) 根据权利要求1-33中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含来源于IGHV1-69 (SEQ ID NO:62)或IGHV5-51 (SEQ ID NO:63)的重链框架。
- [0698] 35) 根据权利要求1-34中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含来源于IGKV3-20 (SEQ ID NO:64)或IGKV3-11 (SEQ ID NO:65)的轻链框架。
- [0699] 36) 根据权利要求34或35所述的抗体,其中所述重链骨架来源于IGHV1-69 (SEQ ID NO:62),并且所述轻链框架来源于IGKV3-20 (SEQ ID NO:64)。
- [0700] 37) 根据权利要求34或35所述的抗体,其中所述重链骨架来源于IGHV5-51 (SEQ ID NO:63),并且所述轻链框架来源于IGKV3-11 (SEQ ID NO:65)。
- [0701] 38) 根据权利要求34或35所述的抗体,其中所述重链骨架来源于IGHV1-69 (SEQ ID NO:62),并且所述轻链框架来源于IGKV3-11 (SEQ ID NO:65)。
- [0702] 39) 根据权利要求1-38中任一项所述的抗体,包含与SEQ ID NO:56、57、58或59的氨基酸序列有至少84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的VH。
- [0703] 40) 根据权利要求1-38中任一项所述的抗体,包含与SEQ ID NO:60或61的氨基酸序列有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的VL。
- [0704] 41) 根据权利要求1-40中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:56、57、58或59的VH,所述VH任选地具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18个氨基酸置换。
- [0705] 42) 根据权利要求1-41中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:60或61的VL,所述VL任选地具有1、2、3、4、5、6、7或8个氨基酸置换。
- [0706] 43) 根据权利要求1-42中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:56的VH和SEQ ID NO:60的VL。
- [0707] 44) 根据权利要求1-42中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:57的VH和SEQ ID NO:61的VL。
- [0708] 45) 根据权利要求1-42中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:58的VH和SEQ ID NO:61的VL。
- [0709] 46) 根据权利要求1-42中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:59的VH和SEQ ID NO:61的VL。
- [0710] 47) 根据权利要求1-42中任一项所述的抗体,包含SEQ ID NO:57、58或59的VH,以

及SEQ ID NO:61的VL。

[0711] 48) 根据权利要求1-47中任一项所述的抗体,其中所述抗体是人抗体或人源化抗体。

[0712] 49) 根据权利要求1-48中任一项所述的抗体,其中所述抗体为IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

[0713] 50) 根据权利要求1-49中任一项所述的抗体,其在抗体Fc中包含一、二、三、四、五、六、七、八、九或十个置换。

[0714] 51) 根据权利要求50所述的抗体,其中所述一、二、三、四、五、六、七、八、九或十个置换导致所述抗体与活化Fc γ 受体(Fc γ R)的结合降低。

[0715] 52) 根据权利要求51所述的抗体,其中所述活化Fc γ R是Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIIa、或Fc γ RIIIb。

[0716] 53) 根据权利要求52所述的抗体,包含:

[0717] a) L234A、L235A、G237A、P238S、H268A、A330S和P331S置换;

[0718] b) V234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330S和P331S置换;

[0719] c) F234A、L235A、G237A、P238S和Q268A置换;

[0720] d) L234A、L235A或L234A和L235A置换;

[0721] e) F234A、L235A或F234A和L235A置换;或者

[0722] f) V234A置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0723] 54) 根据权利要求53所述的抗体,包含S228P置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0724] 55) 一种药物组合物,包含根据权利要求1-54中任一项所述的抗体和药学上可接受的载体。

[0725] 56) 一种多核苷酸,其编码根据权利要求19-54中任一项所述的抗体VH、抗体VL、或抗体VH与抗体VL。

[0726] 57) 一种载体,包含根据权利要求56所述的多核苷酸。

[0727] 58) 一种宿主细胞,包含根据权利要求57所述的载体。

[0728] 59) 一种制备根据权利要求19-54中任一项所述的抗体的方法,包括在表达所述抗体的条件下培养根据权利要求58所述的宿主细胞,并且回收所述宿主细胞产生的抗体。

[0729] 60) 一种治疗患有HLA-DRB1相关的自身免疫疾病的受试者的方法,包括以足以治疗所述HLA-DRB1相关的自身免疫疾病的时间向对其有需要的受试者施用治疗有效量的根据权利要求1-54中任一项所述的抗体。

[0730] 61) 根据权利要求60所述的方法,其中所述HLA-DRB1-相关的自身免疫疾病是类风湿性关节炎、系统性幼年特发性关节炎、格雷夫病、桥本甲状腺炎、重症肌无力、多发性硬化症、系统性红斑狼疮或1型糖尿病。

[0731] 62) 一种抑制针对自身抗原的免疫应答的方法,包括以足以抑制针对自身抗原的免疫应答的时间向对其有需要的受试者施用根据权利要求1-54中任一项所述的抗体。

[0732] 63) 根据权利要求62所述的方法,其中所述自身抗原存在于患有自身免疫疾病的患者中。

[0733] 64) 根据权利要求63所述的方法,其中所述自身免疫疾病是类风湿性关节炎、系统性幼年特发性关节炎、格雷夫病、桥本甲状腺炎、重症肌无力、多发性硬化症、系统性红斑狼

疮或1型糖尿病。

[0734] 65) 一种与根据权利要求43-47中任一项所述的抗体结合的抗独特型抗体。

[0735] 66) 一种试剂盒,包含根据权利要求43-47中任一项所述的抗体。

[0736] 67) 根据权利要求66所述的试剂盒,还包含用于检测所述抗体的试剂和使用说明。

[0737] 虽然已经概括地描述了本发明,但是本发明的实施方案还将在以下实施例中进一步公开,以下实施例不应理解为限制权利要求的范围。

[0738] 实施例1:抗原和对照抗体的产生

[0739] HLA-DR、HLA-DQ和HLA-DP异源二聚体抗原表达为Fc融合蛋白,其具有经由可剪切接头连接于HLA β 链的N-末端的共价连接的血凝素、胶原蛋白、胰岛素或NY-ESO肽。 α 和 β 链以如下形式表示:

[0740] α 链:ECD-G4S-TEV-G4S-Fc-His₆

[0741] β 链:肽-3xGS-HRV3C-ECD-G4S-TEV-G4S-Fc-StrepII

[0742] ECD:表达的HLA链的胞外域

[0743] G4S:GGGGS (SEQ ID NO:1)

[0744] TEV:EDLYFQ (SEQ ID NO:2);烟草蚀纹病毒Nia蛋白酶裂解位点

[0745] His₆:HHHHHH (SEQ ID NO:3)

[0746] 3xGS:GSGSGS (SEQ ID NO:4)

[0747] HRV3C:LEVLFQGP (SEQ ID NO:5);人鼻病毒3C蛋白酶裂解位点

[0748] StrepII:WSHPQFEK (SEQ ID NO:6);StrepII标签

[0749] 血凝素肽HA₃₀₄₋₃₁₈:ACPKEYVKQNTLKLAT (SEQ ID NO:7)

[0750] 胶原蛋白II肽CII₁₂₃₆₋₁₂₄₉:LQYMRADQAAGGLR (SEQ ID NO:8)

[0751] 胶原蛋白II肽CII₂₅₇₋₂₇₃:EPGIAGFKGEQGPKGEP (SEQ ID NO:9)

[0752] 胰岛素肽INS₁₋₁₅:FVNQLCGSHLVEAL (SEQ ID NO:10)

[0753] NY-ESO肽NY-ESO₁₅₇₋₁₆₉:SLLMWITQCFLPV (SEQ ID NO:11)

[0754] PLP肽PLP₁₇₈₋₁₈₆:NTWTTCSQSI (SEQ ID NO:37)

[0755] Fc:修饰的IgG4 (SEQ ID NO:12)

[0756] CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSL

[0757] HLA-DRA1*01:02 (SEQ ID NO:13)

[0758] IKEEHVIIQAEFYLNPDQSGEFMFDFDGD E IFHVDMAKKETVWRLEEFGRFASFEAQGALANIAVDKANLEIMTKRSNYTPITNPPEVTVL TNSPVELREPNVLICFIDKFTPPVNVN TWLRNGKPVT TGVSETVFLPREDHLFRKFHYLPFLPSTEDVYDCRVEHWGLDEPLLKHWEFDAPSPLPETTE

[0759] HLA-DRB1*4:01 (SEQ ID NO:14)

[0760] GDTRPRFLEQVKHECHFFNGTERVRFLDRYFYHQEEYVRFDSDVGEYRAVTELGRPDAEYWNSQKDLLEQKRAAVDTYCRHNYGVGESFTVQRRVYPEVTVPYAKTQPLQHNNLLVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTG VVSTGLIQNGDWTFTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSLTSP LTVIEWRARSESAQSK

[0761] HLA-DRB1*1:01 (SEQ ID NO:15)

[0762] GDTRPRFLWQLKFECHEFFNGTERVRLLERCIYNQEESVRFDSDVGEYRAVTELGRPDAEYWNSQKDLLE

QRRRAVDTYCRHNYGVGESFTVQRRVEPKVTVPYPSKTQPLQHNNLLVCSVSGFYPGSIEVRWFRNGQEEKAGVVSTG
LIQNGDWFQTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSVTSPLTVEWRARSESAQSK

[0763] HLA-DQA1 (SEQ ID NO:16)

[0764] EDIVADHVASCNVLYQFYGPSGQYTHEFDGDEQFYVDLERKETAWRWPEFSKFGGFDPPQALRNMAVA
KHNLNIMIKRYNSTAATNEVPEVTVFSKSPVTLGQPNTLICLDNIFPPVNVITWLSNGQSVTEGVSETSFLSKSDH
SFFKISYLTFLPSADEIYDCKVEHWGLDQPLLKHWEPEIPAPMSELTE

[0765] HLA_DQB1*6:02 (SEQ ID NO:17)

[0766] RDSPEDFVFQFKGMCYFTNGTERVRLVTRYIYNREEYARFDSVGVYRAVTPQGRPDAEYWNSQKEVLE
GTRAE LDTVCRHNYEVAFRGILQRRVEPTVTISPSRTEALNHNLLVCSVTDFYPGQIKVRWFRNDQEETAGVVSTP
LIRNGDWFQILVMLEMTPQRGDVYTCHVEHPSLQSPITVEWRAQSESAQSK

[0767] HLA-DPA1 (SEQ ID NO:18)

[0768] AGAIKADHVSTYAAFVQTHRPTGEFMFEFDEDEMFYVDLDKKETVWHLEEFQAFSFEAQGGLANIAIL
NNNLNTLIQRSNHTQATNDPPEVTVFPKEPVELGQPNTLICHIDKFFPPVLNVTWLCNGELVTEGVAESLFLPRTDY
SFHKFHYLTFVPSAEDFYDCRVEHWGLDQPLLKHWEAQEPIQMPETTE

[0769] HLA-DPB1*4:01 (SEQ ID NO:19)

[0770] RATPENYLFQGRQECYAFNGTQRFLERYIYNREEFARFDSVGEFRAVTELGRPAAEYWNSQKDILEEK
RAVPDRMCRHNYELGGPMTLQRRVQPRVNVSPSKKGPLQHNNLLVCHVTDFYPGSIQVRWFLNGQEETAGVVSTNLI
RNGDWFQILVMLEMTPQQGDVYTQVEHTSLDSPVTVEWKAQSDSARSK

[0771] 表4示出表达的HLA融合蛋白的形式。表5示出 α 和 β 链的氨基酸序列。就表达和纯化而言,使HLA α 和 β ECD-Fc融合体在HEK 293Expi细胞中共转染,经由ProteinA/SEC来纯化可溶性HLA-ECD Fc融合蛋白。使用EZ-Link™硫代-NHS-LC-生物素和标记试剂盒(Thermo,目录号21327)将所有HLA-DR抗原缀合至生物素,生物素酰化的成功通过HABA-抗生物素蛋白测定(Thermo,目录号46610)和Octet进行分析。

[0772] 表4:

[0773]

蛋白质名称	蛋白质描述
DR4G89	具有血凝素肽 HA_304-318 (HA) 的人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*04:01 ECD, 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: HA+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G90	具有胶原蛋白 II 肽 CII_1236-1249 (CII_1236) 的人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*04:01 ECD, 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: CII_1236+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G92	具有胶原蛋白 II 肽 CII_257-273 (CII_257) 的人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*04:01 ECD, 形式为:

[0774]

	α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: CII_257+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G93	具有凝血素肽 HA_304-318 (HA) 的人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*1:01 ECD, 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: HA+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G99	具有胶原蛋白肽 CII_1236-1249 (CII_1236) 的人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*1:01 ECD, 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: CII_1236+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G102	具有胶原蛋白 II 肽 CII_257-273 (CII_257) 的人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*1:01 ECD, 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: CII_257+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G111	具有胰岛素肽 INS_1-15 的人 HLA-DQA1*01:02/DQB1*06:02 ECD, 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: INS_1-15+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G112	具有 PLP 肽 PLP_178-186 (PLP_178) 的人 HLA-DQA1*01:02/DQB1*06:02 ECD, 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: PLP_178+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII,
DR4G113	具有 NY-ESO 肽 NY-ESO_157-169 (NYESO-1) 的人 HLA-DPA1*03/DPB1*04:01 ECD, 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: NYESO-1+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII

[0775] 表5:

[0776]

蛋白质名称	α 链氨基酸序列	β 链氨基酸序列
DR4G89 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 21)	IKEEHVIIQAEFYLNPDQSGEF MFDFDGDEIFHVDMAKKETV WRLEEFGRFASF EAQ GALANI AVDKANLEIMTKRSNYTPITN VPPEVTVL TN SPVELREP NVLI CFIDKFTPPVNVNVTWLRNGKP VTTGVSETVFLPREDHLFRKF HYL PFLPSTEDVYDCRVEHW GLDEPLLKHWEFDAPSPLPET TEGGGGSEDLYFQSGGGGGSC PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK	ACPKYVKQNTLKLATGSGSGSLEV LFQGP GDTRPRFLEQVKHECHFFN GTERVRFLDRYFYHQEEYVRFDSD VGEYRAVTELGRPDAEYWNSQKD LLEQKRAAVDTYCRHNYGVGESFT VQRRVYPEVTVPYPAKTQPLQHHNL LVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEE KTG VVSTGLIQNGDWTFQTLVMLE TVPRSGEVYTCQVEHPSLTSPLTVE WRARSESAQSKGGGGSEDLYFQSG GGGSCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK

[0777]

	DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP DPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVY LPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGKHHHHHH	PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGKWSHPQFEK
DR4G90 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 22)	IKEEHVIIQAEFYLNPDQSGEF MFDGDFGDEIFHVDMAKKETV WRLEEFGRFASFEAQGALANI AVDKANLEIMTKRSNYTPITN VPPEVTVLTNPSVELREPNVLI CFIDKFTPPVVNVTVLWLRNGKP VTTGVSETVFLPREDHLFRKF HYLPFLPSTEDVYDCRVEHW GLDEPLLKHWEFDAPSPLPET TEGGGGSEDLYFQSGGGGGSC PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP DPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVY LPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGKHHHHHH	LQYMRADQAAGGLRGSGSGSLE VLFQGPGRDTRPRFLEQVKHECHFFN GTERVRFLDRYFYHQEEYVRFDSD VGEYRAVTELGRPDAEYWNSQKD LLEQKRAAVDTYCRHNYGVGESFT VQRRVYPEVTVPYPAKTQPLQHHNL LVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEE KTGVVSTGLIQNGDWTFQTLVMLE TVPRSGEVYTCQVEHPSLTSPLTVE WRARSESAQSKGGGGSEDLYFQSG GGGGSCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGKWSHPQFEK
DR4G92 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 23)	IKEEHVIIQAEFYLNPDQSGEF MFDGDFGDEIFHVDMAKKETV WRLEEFGRFASFEAQGALANI AVDKANLEIMTKRSNYTPITN VPPEVTVLTNPSVELREPNVLI CFIDKFTPPVVNVTVLWLRNGKP VTTGVSETVFLPREDHLFRKF HYLPFLPSTEDVYDCRVEHW GLDEPLLKHWEFDAPSPLPET TEGGGGSEDLYFQSGGGGGSC PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP DPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVY LPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGKHHHHHH	EPGIAGFKGEQGPKEPGSGSGSLE VLFQGPGRDTRPRFLEQVKHECHFFN NGTERVRFLDRYFYHQEEYVRFDSD DVGEYRAVTELGRPDAEYWNSQKD LLEQKRAAVDTYCRHNYGVGESFT VQRRVYPEVTVPYPAKTQPLQHHNL LVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEE KTGVVSTGLIQNGDWTFQTLVMLE TVPRSGEVYTCQVEHPSLTSPLTVE WRARSESAQSKGGGGSEDLYFQSG GGGGSCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGKWSHPQFEK

[0778]

	TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGKHHHHHH	SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGKWSHPQFEK
DR4G93 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 24)	IKEEHVIIQAEFYLNPDQSGEF MFDFDGDEIFHVDMAKKETV WRLEEFGRFASFEAQGALANI AVDKANLEIMTKRSNYTPITN VPPEVTVLTNSPVELREPNVLI CFIDKFTPPVVNVTLWRNGKP VTTGVSETVFLPREDHLFRKF HYLPFLPSTEDVYDCRVEHW GLDEPLLKHWEFDAPSPLPET TEGGGGSEDLYFQSGGGGGSCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGKHHHHHH	ACPKYVKQNTLKLATGSGSGSLEV LFQGP GDTRPRFLWQLKFECHFFN GTERVRLLERCIYNQEESVRFDSV GEYRAVTELGRPDAEYWNSQKDL LEQRRAAVDITYCRHNYGVGESFTV QRRVEPKVTVYPSKTQPLQHHNLL VCSVSGFYPGSIEVRWFRNGQEEK AGVVSTGLIQNGDWFQTLVMLET VPRSGEVYTCQVEHPSVTSPLTVE WRARSESAQSKGGGGSEDLYFQSG GGGSCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGKWSHPQFEK
DR4G99 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 25)	IKEEHVIIQAEFYLNPDQSGEF MFDFDGDEIFHVDMAKKETV WRLEEFGRFASFEAQGALANI AVDKANLEIMTKRSNYTPITN VPPEVTVLTNSPVELREPNVLI CFIDKFTPPVVNVTLWRNGKP VTTGVSETVFLPREDHLFRKF HYLPFLPSTEDVYDCRVEHW GLDEPLLKHWEFDAPSPLPET TEGGGGSEDLYFQSGGGGGSCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGKHHHHHH	LQYMRADQAAGGLRGSGSGSLEV LFQGP GDTRPRFLWQLKFECHFFN GTERVRLLERCIYNQEESVRFDSV GEYRAVTELGRPDAEYWNSQKDL LEQRRAAVDITYCRHNYGVGESFTV QRRVEPKVTVYPSKTQPLQHHNLL VCSVSGFYPGSIEVRWFRNGQEEK AGVVSTGLIQNGDWFQTLVMLET VPRSGEVYTCQVEHPSVTSPLTVE WRARSESAQSKGGGGSEDLYFQSG GGGSCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGKWSHPQFEK
DR4G102 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链:	IKEEHVIIQAEFYLNPDQSGEF MFDFDGDEIFHVDMAKKETV WRLEEFGRFASFEAQGALANI AVDKANLEIMTKRSNYTPITN	EPGIAGFKGEQGPKEPGSGSGSLE VLFQGP GDTRPRFLWQLKFECHFF NGTERVRLLERCIYNQEESVRFDS VGEYRAVTELGRPDAEYWNSQKD

[0779]

SEQ ID NO: 26)	VPPEVTVLTNSPVELREPNVLI CFIDKFTPPVVNVTLWRNGKP VTTGVSETVFLPREDHLFRKF HYLPFLPSTEDVYDCRVEHW GLDEPLLKHWEFDAPSPLPET TEGGGGSEDLYFQSGGGGSCF PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGKHHHHHH	LLEQRRAAVDTYCRHNYGVGESFT VQRRVEPKVTVPYPSKTQPLQHHNL LVCSVSGFYPGSIEVRWFRNGQEE KAGVVSTGLIQNGDWTFTLVMLE TVPRSGEVYTCQVEHPSVTSPLTVE WRARSESAQSKGGGGSEDLYFQSG GGGSCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGKWSHPQFEK
DR4G111 (α 链: SEQ ID NO: 27; β 链: SEQ ID NO: 28)	EDIVADHVASCGVNLYQFYG PSGQYTHEFDGDEQFYVDLE RKETAWRWPEFSKFGGFDPO GALRNMAVAKHNLNIMIKRY NSTAATNEVPEVTVFSKSPVT LGQPNTLICLDNIFFPPVNVIT WLSNGQSVTEGVSETSFLSKS DHSFFKISYLTFLPSADEIYDC KVEHWGLDQPLLKHWEPEIP APMSELTEGGGGSEDLYFQSG GGGSCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLGG SHHHHHH	FVNQHLCGSHLVEALGSGSGSLEV LFQGPRDSPEDFVFQFKGMCYFTN GTERVRLVTRYIYNREEYARFSD VGVYRAVTPQGRPDAEYWNSQKE VLEGTRAE LDTVCRHNYEVAFRGI LQRRVEPTVTISPSRTEALNHHNLL VCSVTDFYPGQIKVRWFRNDQEET AGVVSTPLIRNGDWTFTQILVMLEM TPQRGDVYTCHVEHPSLQSPITVE WRAQSESAQSKGGGGSEDLYFQSG GGGSCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGKWSHPQFEK
DR4G112 (α 链: SEQ ID NO: 27; β 链: SEQ ID NO: 38)	EDIVADHVASCGVNLYQFYG PSGQYTHEFDGDEQFYVDLE RKETAWRWPEFSKFGGFDPO GALRNMAVAKHNLNIMIKRY NSTAATNEVPEVTVFSKSPVT LGQPNTLICLDNIFFPPVNVIT WLSNGQSVTEGVSETSFLSKS DHSFFKISYLTFLPSADEIYDC KVEHWGLDQPLLKHWEPEIP APMSELTEGGGGSEDLYFQSG	NTWTTCSIGSGSGSLEVLFQGPRD SPEDFVFQFKGMCYFTNGTERVRL VTRYIYNREEYARFSDVGVYRAV TPQGRPDAEYWNSQKEVLEGTRAE LDTVCRHNYEVAFRGILQRRVEPT VTISPSRTEALNHHNLLVCSVTDFY PGQIKVRWFRNDQEETAGVVSTPLI RNGDWTFTQILVMLEMTQQRGDVY TCHVEHPSLQSPITVEWRAQSESAQ SKGGGGSEDLYFQSGGGGGSCPPCP

[0780]

	GGGSCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLG SHHHHHH	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLG WSHPQFEK
DR4G113 (α 链: SEQ ID NO: 29; β 链: SEQ ID NO: 30)	AGAIKADHVSTYAAFVQTHR PTGEFMFEFDEDEMFYVDLD KKETVWHLEEFQAFSFEAQ GGLANIAILNNNLNTLIQRSN HTQATNDPPEVTVPKEPVEL GQPNTLICHIDKFFPPVLNVT WLCNGELVTEGVAESLFLPRT DYSFHKFHLYTFVPSAEDFYD CRVEHWGLDQPLLKHWEAQ EPIQMPETTEGGGGSEDLYFQ SGGGGSCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSL LGSHHHHHH	SLLMWITQCFLPVGSGSGSLEVLQ GPRATPENLYLQGRQECYAFNGTQ RFLERYIYNREEFARFDSVGEFRA VTELGRPAAEYWSQKDILEEKRA VPDRMCRHNYELGGPMTLQRRVQ PRNVVSPSKKGPLQHNNLLVCHVT DFYPGSIQVRWFLNGQEETAGVVS TNLIRNGDWTFQILVMLEMTQQG DVYTCQVEHTSLDSPVTVEWKAQS DSARSKGGGGSEDLYFQSGGGGSC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK KVSNNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLS LSLGLKWSHPQFEK

[0781] 抗体Lym-1、阿泊珠单抗 (apolizumab) (1D10) 和L243在恒定域再工程化为IgG2 σ 同种型之后,用作对照抗体。工程化的IgG2 σ Ab重命名为DR4B4 (Lym-1)、DR4B5 (阿泊珠单抗) 和DR4B6 (L243)。IgG2 σ 是效应子沉默Fc并且在相比于野生型IgG2时具有置换V234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330S和P331S。IgG2 σ 在美国专利8,961,967中有所描述。

[0782] Lym-1 VH (SEQ ID NO:31)

[0783] QVQLKESGPGLVAPSQSLTCTISGFSLTSGVHWVRQPPGKGLEWLVIWSDGSTTYSALKSRLSI
SKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCASHYGSTLAFASWGHGTLVTVSA

[0784] Lym-1 VL (SEQ ID NO:32)

[0785] DIQMTQSPASLSASVGETVTIIICRASVNIYSYLAWYQQKQKGKSPQLLVYNAKILAEGVPSRFSGSGSGT
QFSLKINSLQPEDFGSYQCQHHYGPFTFGSGTKLEIK

[0786] 阿泊珠单抗VH (SEQ ID NO:33)

[0787] QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWIGVKWSSGGSTEYNAAFISRLTI
SKDTSKNQVSLKLNLSLTAADTAVYYCARNDRYAMDYWGQGTLLTVSS

[0788] 阿泊珠单抗VL (SEQ ID NO:34)

[0789] DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASENIYSYLAWYQQKPGKAPKLLVSNAKTLAEGVPSRFSGSGSGK
QFTLTISLQPEDFATYYCQHHYGNSYPFGQGTKLEIK

[0790] L243 VH (SEQ ID NO:35)

[0791] QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGFTFTNYGMNWVKAPGKGLKWMGWINTYTREPTYADDFKGRFA
FSLETSASTAYLQINLNKEDTAKYFCARDITAVVPTGFDYWGQGTLLTVSS

[0792] L243 VL (SEQ ID NO:36)

[0793] DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASENIYSNLAWYRQKQKSPQLLVFAASNLAGVPSRFSGSGSGT
QYSLKINSLQSEDFGDYYCQHFWTTPWAFGGGTNLEIK

[0794] 实施例2:噬菌体展示文库中结合HLA-DR的抗体的分离

[0795] HLA-DR结合Fab选自两组从头合成pIX噬菌体展示文库,如Shi等人,J Mol Biol 397:385-96,2010;国际专利公开W02009/085462中所述。简而言之,通过多样化人支架生成两组文库(称为V3.0和V5.0),其中种系VH基因IGHV1-69*01、IGHV3-23*01和IGHV5-51*01与人IGHJ-4微小基因经由H3环重组(IGHJ-6微小基因也用于V5.0),并且人种系VL κ 基因012(IGKV1-39*01)、L6(IGKV3-11*01)、A27(IGKV3-20*01)和B3(IGKV4-1*01)与IGKJ-1微小基因重组以组装完整VH域和VL域。选择在围绕H1、H2、L1、L2和L3环的重链和轻链可变区中的位置用于多样化,所述位置与被鉴别为经常与蛋白和肽抗原接触的位置相对应。在选定位置处的序列多样性限于在各个IGHV或IGLV基因的IGHV或IGLV种系基因家族中的每个位置处出现的残基。通过使用长度为7-14个氨基酸(对于V3.0文库)和长度为6-19个氨基酸(对于V5.0文库)的短至中等大小的合成环来产生在H3环处的多样性。设计在H3处的氨基酸分布,以模仿在人抗体中观察到的氨基酸变异。根据它们的人VH和VL种系基因起源,命名用于生成文库的支架。就V3.0和V5.0这两组而言,对于每组文库,将三个重链文库各自与四个种系轻链或种系轻链文库组合,以产生12种独特的VH:VL组合,其被用于针对表达HLA-DR或融合于Fc片段的HLA-DR的胞外域并展示出特异性肽的重组细胞系的选择实验。

[0796] 在“基于细胞的”选择中,采用消减策略,即基于针对不希望的表位或天然细胞(亲本细胞系,U937)的初始耗尽步骤,然后进行对靶表位或转染细胞(重组细胞系)的选择步骤。表达HLA-DR15的重组细胞系(Uniprot:P01911)通过在U937细胞中稳定转染而产生。这种消减策略避免选择结合过量的不关注的其它细胞表面受体的噬菌体。在使用经纯化重组抗原的噬菌体选择中,含有HA肽HA_304-318的生物素酰化HLA-DR4(DR4G89)或含有胶原蛋白II肽CII_257-273的HLA-DR4(DR4G92)用作捕获和固定噬菌体结合物的引诱物。在数轮选择之后,使用经纯化的抗原实施多克隆噬菌体ELISA,以检测独立淘选实验的特异性富集。将从示出富集HLA-DR的结合物的那些淘选实验中收集的噬菌体进一步利用单克隆Fab ELISA进行筛选,其中由单独的Fab克隆表达的Fab蛋白质被用作几种不同生物素酰化HLA-DR抗原(DR4G89、DR4G90、DR4G92、DR4G102)以及生物素酰化HLA-DP(DR4G113)和HLA-DQ(DR4G111和DR4G112)的结合物。选择出对HLA-DR的结合信号比阴性对照Fab高五倍且对HLA-DP或HLA-DQ的结合信号比阴性对照Fab小五倍的Fab克隆用于进一步分析。所选择的Fab克隆为IgG2 σ /kappa并用MSD测定进一步表征。

[0797] 实施例3:抗-HLA-DR抗体结合可溶性HLA-DR抗原而与呈递的肽无关

[0798] 表征选择的所产生抗体与各种肽连接于β链的N-末端的可溶性HLA-DR、HLA-DQ或HLA-DP抗原的结合。此外,另外测试对照抗体DR4B4、DR4B5和DR4B6。在4℃下,将可溶性抗原DR、DP和DQ以5μg/ml涂覆于MSD标准平板(Meso Scale Discovery,目录号L15XA-3)上过夜。次日,将平板在自动平板洗涤器(Bio Tek)中用PBST洗涤,用StartingBlock™(Thermo Scientific,目录号37543)封闭30分钟并与抗体一起温育1小时。对DR抗原的结合采用0.04-5μg/ml范围内的四种抗体浓度进行测试。对DP和DQ抗原的结合采用一种浓度即5μg/ml进行测试。在洗涤三次之后,添加SulfoTag抗人/NHPκ二抗(Meso Scale Discovery,目录号D20TF-6)并温育1小时。在再洗涤三次之后,将平板在MSD读取器(Meso Scale Discovery)上读取,并且测量电化学发光(ECL)。因为MSD具有较高的再现性,每个数据点一式两份运行。抗体与DR、DP或DQ抗原结合(以ECL信号表示)的结果示于表6中,对于结合DP和DQ而言抗体浓度为5μg/ml,并且对于结合DR等位基因而言抗体浓度为0.2μg/ml,并且该结果记录为两次平行测定的平均值。抗体结合DR4G89(具有HA_304-318肽的HLA-DR4)的剂量响应曲线示于图9中。抗体结合DR4G93(具有HA_304-318肽的HLA-DR1)的剂量响应曲线示于图10中。抗体结合DR4G90(具有CII_1236-1249肽的HLA-DR4)的剂量响应曲线示于图11中。抗体结合DR4G99(具有CII_1236-1249肽的HLA-DR1)的剂量响应曲线示于图12中。

[0799] 所产生的抗体结合HLA-DR4和HLA-DR1而与HLA-DR上呈递的肽无关,所不同的是DR4B98示出与具有CII_1236-1249肽的HLA-DR的结合下降。抗体示出了与HLA-DQ和HLA-DP的结合最低。

[0800] 表6:

[0801]

HLA	DQB6:02	DP4:01	DRB1*04:01		DRB1*01:01	
抗原名称	DR4G111	DR4G113	DR4G89	DR4G90	DR4G93	DR4G99
附接的肽	INS_1-15	NY-ESO_1 57-169	HA_304-318	CII_1236-1249	HA_304-318	CII_1236-1249
DR4B30	12905	1969	1128453	1248862	1066233	1199978
DR4B98	941	817	774933	889767	140066	49986
DR4B117	927	27683	733860	636052	631598	658790
DR4B127	941	702	1029857	1097830	918166	718806
DR4B4	128	138	1276361	1086146	887698	15503
DR4B5	195	120	1260358	1306176	1295750	1183017
DR4B6	282	298	1337274	1353100	1322424	1242429

[0802] 实施例4:抗HLA-DR抗体的表征

[0803] 测试所产生抗体抑制抗原特异性T细胞活化、与从HLA-DR4转基因动物分离的树突细胞和外周血单核细胞(PBMC)结合的能力,以及其对B细胞活力的影响。

[0804] 方法

[0805] 抗原特异性T细胞的抑制:HLA-DR4转基因小鼠树突细胞混合淋巴细胞反应(MLR)测定(“HLA-DR4 DC MLR”)

[0806] MLR测定用于评估所产生的抗体抑制T细胞活化的能力,其中在人CD4⁺ T细胞和从

表达人HLA-DR4的转基因动物分离的树突细胞的共培养物中测量细胞增殖的抑制。

[0807] 树突细胞来源于Abb敲除/转基因HLA-DR4小鼠骨髓(品系4149, Taconic Biosciences)。这些小鼠表达人HLA-DRA和HLA-DRB1*04:01, 被工程化为小鼠I-E (H2-E) 的近膜域。从小鼠制备骨髓, 并在-80℃下冷冻。将骨髓解冻, 并使细胞重悬于10ml的树突细胞(DC)培养基(RPMI-1640/Glutamax, 包含1%青霉素/链霉素、1%丙酮酸钠、1%最低必需培养基(MEM) 非必需氨基酸(NEAA) 溶液、10%热灭活胎牛血清(全部购自Thermo Fisher Scientific) 和50μM 2-巯基乙醇(Sigma-Aldrich)) 中。将细胞以1200rpm离心10分钟, 然后重悬于10ml DC培养基中, 计数并再次以1200rpm旋转8分钟。将细胞用补充有20ng/ml重组小鼠GM-CSF(Peprotech) 的DC培养基稀释至 0.3×10^6 个细胞/ml。将6ml的经稀释细胞转移到6孔板的各个孔中; 然后将平板在37℃/5%CO₂下温育96小时。从各孔移除3ml培养基并用3ml的新鲜DC培养基+20ng/ml GM-CSF替换。将平板在37℃/5%CO₂下再温育48h。从各孔移除3ml培养基并用3ml的新鲜DC培养基+20ng/ml GM-CSF+2μg/ml LPS(对于1μg/ml LPS的最终浓度)(Enzo Life Sciences) 替换。然后将平板在37℃/5%CO₂下温育18小时。

[0808] 将用于MLR测定的人CD4⁺ T细胞从冷冻的人PBMC(Hemacare) 中分离。将细胞解冻, 转移到50ml锥形管中, 用40ml的完全培养基(RPMI-1640/Glutamax, 包含1%青霉素/链霉素、10%热灭活胎牛血清(全部购自Thermo Fisher Scientific) 和50μM 2-巯基乙醇(Sigma-Aldrich)) 洗涤。将细胞以1000rpm离心8分钟, 抽出上清液, 并使细胞重悬于40ml EasySep缓冲液(PBS+2%热灭活胎牛血清+1mM EDTA) 中。将细胞以1200rpm离心8分钟, 并且以 5×10^7 个细胞/ml的浓度重悬于EasySep缓冲液中并转移至15ml聚苯乙烯圆底管中。使用EasySep人CD4⁺ T细胞分离试剂盒根据制造商的说明书(Stemcell Technologies) 分离人CD4⁺ T细胞。将分离的细胞以 1×10^6 个细胞/ml的浓度重悬于完全培养基中。

[0809] 从平板收获LPS-成熟小鼠骨髓来源的树突细胞, 并将其混入50ml锥形管中。该平板用2ml的PBS洗涤, 然后将2ml PBS+3mM EDTA(Thermo Fisher Scientific) 在37℃/5%CO₂下加入各个孔中10分钟, 以收获剩余的树突细胞。从平板收集细胞并转移到50ml锥形管中。将细胞用40ml完全培养基洗涤三次(以1200rpm离心8分钟)。将DC重悬于完全培养基中至 2.5×10^5 个细胞/ml的浓度。将50μl的细胞加入96孔圆底平板的各个孔中。将抗-HLA-DR抗体以10μg/ml的单剂量加入, 或用完全培养基连续稀释至4X的最终浓度, 并且将50μl的抗体稀释液加入各个孔中。对照孔接受50μl的培养基。将T细胞添加到各个孔(100μl/孔, 1×10^6 个T细胞/ml) 中, 得到200μl/孔的总体积。将平板在37℃/5%CO₂下温育5天。在温育之后, 将25μl的含有1.0mCi/孔³H-胸腺嘧啶核苷(Perkin Elmer) 的完全培养基添加到所有孔中并在37℃/5%CO₂下温育6小时。将细胞收获到Unifilter-96, GF/C板(Perkin Elmer) 上, 使其在室温下干燥过夜。将50μl的Microscint-20(Perkin Elmer) 加入各个孔中并使用TopCount仪器(Perkin Elmer) 进行计数。

[0810] 抗体与HLA-DR4转基因小鼠的树突细胞的结合

[0811] 评估抗-HLA-DR抗体与HLA-DR4转基因小鼠的树突细胞的结合。HLA-DR4 DC如上所述的那样得到。将DC(5×10^5 个细胞/孔) 铺板到96孔圆底平板的完全培养基(RPMI-1640/Glutamax, 包含1%青霉素/链霉素+10%胎牛血清——全部购自Thermo Fisher Scientific) 中。使细胞重悬于50μl的含有TruStain FcX(BioLegend) 的完全培养基中, 并在室温下温育10分钟。将抗-HLA-DR mAb和同种型对照mAb用完全培养基稀释至2X最终测试

浓度(最终浓度10 μ g/ml)。将50 μ l经稀释的mAb加入孔中。该平板在37 $^{\circ}$ C下温育30分钟。将细胞用200 μ l的不含叠氮化物和血清/蛋白质的PBS洗涤两次,并在4 $^{\circ}$ C下以1400rpm离心5分钟。使细胞重悬于1:4000稀释的100 μ l包含Viability Dye eFluor 450(eBioscience)的PBS中或单独的PBS中。将平板在2-8 $^{\circ}$ C下温育30分钟并避光保护。将细胞用150 μ l的FACS缓冲液洗涤并在4 $^{\circ}$ C下以1400rpm离心5分钟。将50 μ l的包含仓鼠抗小鼠CD11c-PE-Cy7(BD Biosciences;1:20,5 μ l/测试)和AF647AffiniPure F(ab')₂片段山羊抗人IgG、Fc γ 特异性片段(Jackson ImmunoResearch;1:2000稀释)的FACS缓冲液添加到各个孔中,并将平板在冰上于暗处温育30分钟。将细胞用150 μ l FACS缓冲液/孔洗涤并在4 $^{\circ}$ C下以1400rpm离心5分钟。细胞是在200 μ l 4%多聚甲醛溶液(Affymetrix)中的重悬细胞,并在冰上温育15分钟。将细胞以1800rpm离心5分钟并重悬于200 μ l的FACS缓冲液中。在LSR II流式细胞仪(BD Biosciences)上采集事件。使用Flowjo软件测定活/死-Cd11c+树突细胞的平均荧光强度(MFI,GeoMean)。将抗-HLA-DR mAb的结合水平与同种型对照进行比较。

[0812] 人B细胞活力测定

[0813] 从Johnson&Johnson从业者供体采集血液,其使用如下临床方案: NOCOMPOUNDNAP1001“Generation of reagents from human whole blood for the development and control of laboratory assays and procedures”。将血液采集到包含肝素钠的BD真空采血管中。将血液用PBS稀释1:1至1:3。将15ml的Ficoll-Paque (GE Healthcare)加入50ml锥形管中,并将30ml经稀释的血液沿倾斜管边用吸管慢慢地铺于Ficoll上。将锥形管在室温下以400g不间断离心30分钟。将PBMC层收集到50ml锥形管中,然后填充PBS,并在1200rpm下离心10分钟。将细胞用PBS再洗涤一次。使细胞重悬于完全培养基中(RPMI-1640/Glutamax,包含1%青霉素/链霉素、1%丙酮酸钠、1%NEAA、1%HEPES和10%热灭活胎牛血清,全部购自Thermo Fisher Scientific)中并计数。将细胞以800,000个细胞/孔的浓度铺板到96孔圆底平板中。将抗-HLA-DR抗体以0.2 μ g/ml和2 μ g/ml的浓度添加到孔中。将平板在37 $^{\circ}$ C/5%CO₂下温育20h。然后,使细胞在室温下重悬于含有100 μ g/ml人IgG(Sigma-Aldrich)的100 μ l FACS缓冲液(含2%热灭活胎牛血清的PBS,ThermoFisher Scientific)中15分钟。通过离心使细胞沉淀,并在冰上重悬于50 μ l抗体混合物中20分钟。抗体混合物包含以下:考马斯染料缓冲液(BD Biosciences)、抗-CD3-PE Cy7克隆OKT3(BioLegend)、抗-CD20-APC Cy7克隆2H7(BioLegend)、抗-CD16-BV605克隆3G8(BioLegend)以及抗-CD14-BV785克隆M5E2(BioLegend)。然后将细胞用PBS洗涤2X,重悬于100 μ l的Live/Dead染色剂-eF660(L/D)(eBioscience;1 μ l/ml PBS)中,并在冰上温育20分钟。将细胞用PBS洗涤一次,然后用膜联蛋白V结合缓冲液(BioLegend)洗涤一次。使细胞在室温下重悬于100 μ l膜联蛋白V结合缓冲液+5 μ l膜联蛋白V-Pacific Blue(BioLegend)中20分钟。将细胞用膜联蛋白V结合缓冲液洗涤一次,并在冰上重悬于100 μ l CytoFix(BD Biosciences)中10分钟。将细胞用FACS缓冲液洗涤一次,然后重悬于200 μ l FACS缓冲液中。在LSR II流式细胞仪(BD Biosciences)上采集事件;使用Ultracomp珠(eBioscience)来建立单色补偿。用Flowjo软件测定活/死(L/D)和膜联蛋白V+/-B细胞的频数并在GraphPad Prism 6中作图。死亡B细胞的频数计算为CD3⁻CD20⁺细胞(也为eF660⁺和膜联蛋白V⁺)的百分比。凋亡B细胞的频数计算为CD3⁻CD20⁺细胞(也为eF660⁻和膜联蛋白V⁺)的百分比。使用t试验确定统计显著性。

[0814] 结合人PBMC的抗体

[0815] 评估抗-HLA-DR抗体与PBMC的结合。如上所述分离人PBMC。将得自各个供体的PBMC以500,000个细胞/孔铺板到96孔圆底平板中。使细胞在室温下重悬于含有100 μ g/ml人IgG (Sigma-Aldrich) 的100 μ l FACS缓冲液(含2%热灭活胎牛血清的PBS)中15分钟。将含1 μ g抗-HLA-DR mAb的25 μ l考马斯染料缓冲液(BD Biosciences)添加到孔中,然后将25 μ l的抗体混合物添加到孔中。抗体混合物包含考马斯染料缓冲液(BD Biosciences)和2 μ l/测试的下列每者:抗-CD3-PE Cy7克隆OKT3 (BioLegend)、抗-CD20-APC Cy7克隆2H7 (BioLegend)、抗-CD16-BV605克隆3G8 (BioLegend) 以及抗-CD14-BV785克隆M5E2 (BioLegend)。将细胞在冰上温育20分钟,然后用FACS缓冲液洗涤两次。然后,在冰上使细胞重悬于50 μ l的AF488-标记的Affinipure F(ab)' 2片段山羊抗人IgG、Fc γ 特异性片段(Jackson Immunoresearch)的1:200稀释液中20分钟。将细胞用PBS洗涤两次,并在冰上重悬于100 μ l的Live/Dead染色剂(eBioscience,0.5 μ l/ml PBS)中30分钟。将细胞用FACS缓冲液洗涤一次,在冰上重悬于100 μ l Cytofix (BD) 中10分钟,用FACS缓冲液洗涤一次,然后重悬于200 μ l FACS缓冲液中。在LSR II流式细胞仪(BD Biosciences)上采集事件;使用得自供体1的细胞来建立单色补偿。使用Flowjo软件测定平均荧光强度(MFI,GeoMean),在GraphPad Prism 6中作图。将抗-HLA-DR mAb的结合水平与同种型对照进行比较。

[0816] 结果

[0817] 在MLR测定中,所有测试抗体在10 μ g/ml的单剂量浓度下抑制T细胞活化。在MLR测定中,抗体以0.11-5.36 μ g/ml范围内的IC₅₀值抑制细胞增殖。对照抗体DR4B6以剂量依赖性方式抑制MLR,而对照抗体DR4B4和DR4B5在10 μ g/ml的最高测试浓度下未达到100%的抑制,因此不可由这些抗体计算出IC₅₀值。

[0818] 所有测试抗体结合人PBMC,并且也结合得自人HLA-DR4转基因动物的DC。一种对照抗体即DR4B5示出HLA-DR4与转基因DC的较低结合。

[0819] 所产生的抗体与测试抗体的不同之处在于其诱导B细胞死亡或凋亡的能力。图13显示,当相比于同种型对照时,所产生的抗HLA-DR抗体对三个独立供体中的死亡B细胞的频数没有影响,而对照抗体DR4B6示出死亡B细胞的频数在统计意义上显著增大。相似地,图14示出所产生的抗HLA-DR抗体不诱导来自三个独立供体的B细胞凋亡,而对照抗体DR4B6却诱导。

[0820] 表7示出所选抗-HLA-DR抗体的特性。

[0821] 已示出DR4B4 (Lym-1) 和DR4B5 (阿泊珠单抗) 诱导B细胞凋亡和死亡(Zhang等人,Cancer Biother Radiopharm 22:342-56,2007;Mone等人,Blood 103:1846-54,2004)。

[0822] 表7:

[0823]

mAb	HLA-DR4 DC MLR 平均抑制百分比 (%) (在 10 μ g/ml mAb 下) *		HLA-DR4 DC MLR 平均抑制百分比 (%) (在 1 μ g/ml mAb 下) *		HLA- DR4 DC 结 合	人 PBMC 结合	人 B 细 胞活力
	供体 1	供体 2	供体 1	供体 2			
DR4B11 7	42.1%	37.6%	25.2%	28.8%	高	高	无作用
DR4B30 [†]	30.2%	48.6%	8.3%	2.8%	高	高	无作用
DR4B12 7	74.4%	92.6%	77.8%	71.8%	高	高	无作用
DR4B98	72.6%	82.4%	40.5%	50.6%	高	高	无作用
DR4B6			89.3%	90.1%	高	高	诱导细 胞死亡
	供体 3	供体 4	供体 3	供体 4			
DR4B4	46.4%	26.9%	26.3%	22.4%			
DR4B5	49.1%	73.4%	25.7%	67.7%	低		
DR4B6	NT	NT	91.4%	100%	高	高	诱导细 胞死亡
*一式三份在孔中测量的平均抑制百分比							
[†] DR4B30 示出在 30 μ g/ml 下分别在供体 1 与 2 中 39.8%和 69.9%的抑制。							

[0824] 实施例5:抗-HLA-DR抗体的结构表征

[0825] 使用标准技术获得抗体的cDNA序列和氨基酸翻译。在多肽序列测定中,一些编码可变区或全长抗体的抗体cDNA用标准方法进行密码子优化以大规模表达。

[0826] 表8示出所选抗HLA-DR抗体的HCDR1氨基酸序列。

[0827] 表9示出所选抗HLA-DR抗体的HCDR2氨基酸序列。

[0828] 表10示出所选抗HLA-DR抗体的HCDR3氨基酸序列。

[0829] 表11示出所选抗HLA-DR抗体的LCDR1氨基酸序列。

[0830] 表12示出所选抗HLA-DR抗体的LCDR2氨基酸序列。

[0831] 表13示出所选抗HLA-DR抗体的LCDR3氨基酸序列。

[0832] 表14示出了所选HLA-DR抗体的VH、VL、HC和LC对的蛋白质序列标识号。

[0833] 表15示出了所选HLA-DR抗体的编码VH、VL、HC和LC的多核苷酸序列标识号。

[0834] 表16示出了所选HLA-DR抗体的VH、VL、HC和LC的氨基酸序列和编码它们的多核苷酸序列。

[0835] 表17示出所选的抗-HLA-DR抗体的框架。

[0836] 表8:

[0837]

mAb	HCDR1					
	序列					SEQ ID NO:
DR4B117	S	Y	S	I	H	39
DR4B30	S	D	W	I	G	40
DR4B127	S	Y	Y	I	H	41
DR4B98	S	Y	Y	I	H	41
DR4B78	S	Y	A	M	S	123
DR4B70	S	Y	A	M	S	123
DR4B38	S	Y	A	M	S	123
DR4B33	S	A	Y	I	N	124
DR4B22	S	Y	A	M	N	125

[0838] 表9:

[0839]

mAb	HCDR2																	SEQ ID NO:
	序列																	
DR4B117	Y	I	I	P	E	Y	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	42
DR4B30	I	I	R	P	G	D	S	D	T	Y	Y	S	P	S	F	Q	G	43
DR4B127	G	I	R	P	I	S	G	N	A	E	Y	A	Q	K	F	Q	G	44
DR4B98	G	I	A	P	I	Y	G	T	A	Y	Y	A	Q	K	F	Q	G	45
DR4B78	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G	126
DR4B70	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G	126
DR4B38	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G	126
DR4B33	I	I	R	P	G	D	S	R	T	R	Y	S	P	S	F	Q	G	127
DR4B22	A	I	S	G	S	G	G	Y	T	N	Y	A	D	S	V	K	G	128

[0840] 表10:

[0841]

mAb	HCDR3 序列																		SEQ ID NO:	
DR4 B117	G	R	Y	Y	I	G	N	R	R	G	S	Y	Y	G	F	D	Y			46
DR4 B30	E	S	Y	Y	Y	V	G	V	R	Y	R	P	S	Y	Y	F	D	Y		47
DR4 B127	D	A	S	Y	Y	R	N	Y	G	F	D	Y								48
DR4 B98	D	A	S	W	A	R	A	Y	G	F	D	Y								49
DR4 B78	D	G	G	Y	Y	R	Y	V	R	T	I	S	G	D	Y	A	F	D	Y	129
DR4 B70	D	S	S	Y	Y	R	Y	I	G	R	Y	L	G	D	Y	A	F	D	Y	130
DR4 B38	D	S	G	Y	Y	R	L	A	A	I	G	R	S	D	Y	A	F	D	Y	131
DR4 B33	D	G	Y	Y	F	V	G	S	I	I	Y	Y	G	M	D	V				132
DR4 B22	D	G	G	Y	Y	R	Y	V	Y	R	Y	P	G	D	Y	A	F	G	Y	133

[0842] 表11:

[0843]

mAb	LCDR1												SEQ ID NO:
	序列												
DR4B117	R	A	S	Q	S	V	S	S	S	Y	L	A	50
DR4B30	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A		51
DR4B127	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A		51
DR4B98	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A		51
DR4B78	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A		51
DR4B70	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A		51
DR4B38	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A		51
DR4B33	R	A	S	Q	S	I	S	S	Y	L	N		134
DR4B22	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A		51

[0844] 表12:

[0845]

mAb	LCDR2								SEQ ID NO:
	序列								
DR4B117	G	A	S	S	R	A	T	52	

[0846]

DR4B30	D	A	S	N	R	A	T	53
DR4B127	D	A	S	N	R	A	T	53
DR4B98	D	A	S	N	R	A	T	53
DR4B78	D	A	S	N	R	A	T	53
DR4B70	D	A	S	N	R	A	T	53
DR4B38	D	A	S	N	R	A	T	53
DR4B33	A	A	S	S	L	Q	S	135
DR4B22	D	A	S	N	R	A	T	53

[0847] 表13:

[0848]

mAb	LCDR3									
	序列									SEQ ID NO:
DR4B117	Q	Q	Y	G	S	S	P	L	T	54
DR4B30	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	55
DR4B127	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	55
DR4B98	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	55
DR4B78	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	55
DR4B70	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	55
DR4B38	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	55
DR4B33	Q	Q	S	Y	S	T	P	L	T	136
DR4B22	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	55

[0849] 表14:

[0850]

mAb	VH 名称	VH 蛋白质 SEQ ID NO:	VL 名称	VL 蛋白质 SEQ ID NO:	HC 蛋白质 SEQ ID NO:	LC 蛋白质 SEQ ID NO:
DR4B117	DR4H4	56	PH9L1	60	84	88
DR4B30	DR4H39	57	PH9L3	61	85	89
DR4B127	DR4H7	58	PH9L3	61	86	89
DR4B98	DR4H50	59	PH9L3	61	87	89
DR4B78	DR4H62	137	PH9L3	61	149	89
DR4B70	DR4H29	138	PH9L3	61	150	89
DR4B38	DR4H56	139	PH9L3	61	151	89
DR4B33	DR4H58	140	PH9L4	142	152	154
DR4B22	DR4H16	141	PH9L3	61	153	89

[0851] 表15:

[0852]

mAb	多核苷酸的 SEQ ID NO:					
	VH 名称	VH SEQ	VL 名称	VL SEQ	HC SEQ	LC SEQ

[0853]

		ID NO:		ID NO:	ID NO:	ID NO:
DR4B117	DR4H4	79	PH9L1	80	90	94
DR4B30	DR4H39	81	PH9L3	82	91	95
DR4B127	DR4H7	83	PH9L3	82	92	95
DR4B98	DR4H50	121	PH9L3	82	93	95
DR4B78	DR4H62	143	PH9L3	82	155	95
DR4B70	DR4H29	144	PH9L3	82	156	95
DR4B38	DR4H56	145	PH9L3	82	157	95
DR4B33	DR4H58	146	PH9L4	148	158	160
DR4B22	DR4H16	147	PH9L3	82	159	95

[0854] 表16:

[0855]

序列名称	序列	SEQ ID NO:
DR4B117 VH (DR4H4) 氨基酸	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYSIHWVR QAPGQGLEWMGYIPEYGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSED TAVYYCARGRYIIGNRRGSYYGFDY WGQGT LVT VSS	56
DR4B30 VH (DR4H39) 氨基酸	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSDWIGWVR QMPGKGLEWMGIIRPGDSDTYSPSFQGGVTISADKSIST AYLQWSSLKASDTAVYYCARESYYYVGVRYPSSYYFD YWGQGT LVT VSS	57
DR4B127 VH (DR4H7) 氨基酸	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFKSYIHWVR QAPGQGLEWMGGIRPISGNAEY AQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSED TAVYYCARDASYRNYGFDYWGQG TLVT VSS	58
DR4B98 VH (DR4H50) 氨基酸	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFKSYIHWVR QAPGQGLEWMGGIAPIYGTAYY AQKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSED TAVYYCARDASWARAYGFDYWGQ GTLVT VSS	59
DR4B117 VL (PH9L1) 氨基酸	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEP EDFAVYYCQQYGSSPLTFGQG GTKVEIK	60
DR4B30、 DR4B127 和 DR4B98 VL (PH9L3) 氨基酸	EIVLTQSPATL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQK PQAPRL LIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGQG GTKVEIK	61
DR4B117 HC 氨基酸	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYSIHWVR QAPGQGLEWMGYIPEYGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSED TAVYYCARGRYIIGNRRGSYYGFDY WGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS	84

[0856]

	VVTVPSSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTVERKCCVE CPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
DR4B30 HC 氨基酸	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSDWIGWVR QMPGKGLEWMGIIRPGDSPTYSPSFQGGVITISADKSIST AYLQWSSLKASDTAVYYCARESYYYVGVRYRPSYYFD YWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTVERKCCV ECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	85
DR4B127 HC 氨基酸	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFKSYIHWVR QAPGQGLEWMGGIRPISGNAEYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDVAVYYCARDASYRNYGFDYWGQ TLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCP APPAAASSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSAEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	86
DR4B98 HC 氨基酸	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFKSYIHWVR QAPGQGLEWMGGIPIYGTAYYAQKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDVAVYYCARDASWARAYGFDYWGQ GTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP PSSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCP APPAAASSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSAEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	87
DR4B117 LC 氨基酸	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEP EDFAVYYCQQYGSSPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIAPP SDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC	88

[0857]

DR4B30、 DR4B127 和 DR4B98 LC 氨基酸	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC	89
DR4B117 VH (DR4H4) 多核苷酸	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAA AAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCG AGCGGCGGCACCTTTAGCAGCTATTCCATTCACTGGG TGCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATGG GCTACATTATTCCGGAGTACGGGACTGCCAATTACGC GCAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCATTACCGCTGAT GAAAGCACCAGCACCAGCGTATATGGAAGTGAAGCAGCC TGCGCAGCGAAGATAACCGCGGTGTATTATTGCGCGCG CGGCCGATACTATATCGGCAACCGTCGTGGCAGTTAT TACGGTTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGA CCGTCTCGAGT	79
DR4B30 VH (DR4H39) 多核苷酸	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAA AAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGC AGCGGCTATAGCTTTACCAGCGACTGGATTGGTTGGG TGCGCCAGATGCCGGGCAAAGGCTTGGAATGGATGGG TATCATTCGCCCCGGGCGATAGCGATACGTATTACAGC CCGAGCTTTCAGGGCCAGGTGACCATTAGCGCGGATA AAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAGTGGAGCAGCCT GAAAGCGAGCGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGT GAATCCTATTATTACGTTGGCGTGCGTTACCGTCCAAG CTATTATTCGATTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTG ACCGTCTCGAGT	81
DR4B127 VH (DR4H7) 多核苷酸	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAA AAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCG AGCGGCGGCACCTTTAAATCCTACTACATTCACTGGG TGCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATGG GTGGTATTCGTCCGATCAGCGGGAATGCTGAGTACGC GCAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCATTACCGCTGAT GAAAGCACCAGCACCAGCGTATATGGAAGTGAAGCAGCC TGCGCAGCGAAGATAACCGCGGTGTATTATTGCGCGCG CGATGCAAGCTATTATCGTAATTACGGTTTTGACTACT GGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTCTCGAGT	83
DR4B98 VH (DR4H50) 多核苷酸	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAA AAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCG AGCGGCGGCACCTTTAAGTCCTATTATATTCAATTGGGT GCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATGGG CGGTATTGCACCAATTTACGGCACCGCTTACTACGCG CAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCATTACCGCTGATG AAAGCACCAGCACCAGCGTATATGGAAGTGAAGCAGCCT GCGCAGCGAAGATAACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGT GATGCAAGTTGGGCACGTGCATACGGTTTTGATTATTG GGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTCTCGAGT	121

[0858]

DR4B117 VL (PH9L1) 多 核苷酸	GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGGCACCCCTGAGCC TGAGCCCCGGCGAGCGGGCCACCCTGAGCTGCCGGGC CAGCCAGAGCGTGAGCAGCAGCTACCTGGCCTGGTAC CAGCAGAAGCCCCGGCCAGGCCCCCGGCTGCTGATCT ACGGCGCCAGCAGCCGGGGCCACCGGCATCCCCGACCG GTTACAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTG ACCATCAGCCGGCTGGAGCCCCGAGGACTTCGCCGTGT ACTACTGCCAGCAGTACGGCAGCAGCCCCCTGACCTT CGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAG	80
DR4B30、 DR4B127 和 DR4B98 VL (PH9L3) 多 核苷酸	GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGCCACCCTGAGCC TGAGCCCCGGCGAGCGGGCCACCCTGAGCTGCCGGGC CAGCCAGAGCGTGAGCAGCTACCTGGCCTGGTACCAG CAGAAGCCCCGGCCAGGCCCCCGGCTGCTGATCTACG ACGCCAGCAACCGGGCCACCGGCATCCCCGCCCGGTT CAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCAGCCTGGAGCCCCGAGGACTTCGCCGTGTACT ACTGCCAGCAGCGGAGCAACTGGCCCCTGACCTTCGG CCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAG	82
DR4B117 HC 多核苷酸	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAA AAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCG AGCGGCGGCACCTTTAGCAGCTATTCCATTCACTGGG TGCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATGG GCTACATTATTCCGGAGTACGGGACTGCCAATTACGC GCAGAAATTTCAGGGCGCGGTGACCATTACCGCTGAT GAAAGCACCCAGCACCGCGTATATGGAAGTGCAGCAGCC TGCGCAGCGAAGATAACCGCGGTGTATTATTGCGCGCG CGGCCGATACTATATCGGCAACCGTCGTGGCAGTTAT TACGGTTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGA CCGTCTCGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC CCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCA CAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCC CGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCTCTG ACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCTTACAGT CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGC AACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC AAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCAC CGTGCCAGCACACCTGCCGCAGCCAGCTCAGTCTT CCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGT GAGCGCCGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGG TCAGCGTCCTCACCGTTCTGCACCAGGACTGGCTGAA CGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGG CCTCCCATCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGC CCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGA	90

[0859]

	CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAAC TACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGA CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
DR4B30 HC 多核苷酸	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAA AAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGC AGCGGCTATAGCTTTACCAGCGACTGGATTGGTTGGG TGCGCCAGATGCCGGGCAAAGGCTTGGAATGGATGGG TATCATTCGCCCCGGGCGATAGCGATACGTATTACAGC CCGAGCTTTCAGGGGCCAGGTGACCATTAGCGCGGATA AAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAGTGGAGCAGCCT GAAAGCGAGCGATAACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGT GAATCCTATTATTACGTTGGCGTGC GTTACCGTCCAAG CTATTATTTCGATTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTG ACCGTCTCGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCT TCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAG CACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTC CCCGAACC GG TGACGGTGTCTGTGGA ACTCAGGCGCTC TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACA GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCT GCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTGAGTGGCC ACCGTGCCCAGCACCACTGCCG CAGCCAGCTCAGTC TTCCTCTTCCCCC CAAAACCCAAGGACACCCTCATGAT CTCCCCG GACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGAC GTGAGCGCCGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGT GGTCAGCGTCCTCACCGTTCTGCACCAGGACTGGCTG AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GGCCTCCCATCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAA CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCT GCCCCCATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAAC TACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTC CGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	91
DR4B127 HC 多核苷酸	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAA AAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCG AGCGGCGGCACCTTTAAATCCTACTACATTCACTGGG TGCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATGG GTGGTATTTCGTCCGATCAGCGGGAATGCTGAGTACGC GCAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCATTACCGCTGAT	92

[0860]

	GAAAGCACCAGCACC GCGTATATGGA ACTGAGCAGCC TGCGCAGCGAAGATAACGCGGTGTATTATTGCGCGCG CGATGCAAGCTATTATCGTAATTACGGTTTTGACTACT GGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTCTCGAGTGCCTC CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCT CCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTG CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTG TCGTGGA ACTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTG CACA CCTTCCCAGCTGTCC TACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCG GCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCC CAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAA ATGTTGTGTCGAGTGCC CACCGTGCC CAGCACCACCT GCCGCAGCCAGCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACC CAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCGCCGAAGACCCCG AGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTT CAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACC GTTC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT GCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCATCCTCCATCGA GAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGA ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAG ATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA AAGGCTTCTACCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAC ACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCT ACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC TCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTG TCTCCGGGTAAA	
DR4B98 HC 多核苷酸	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAA AAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCG AGCGGCGGCACCTTTAAGTCCTATTATATTCATTGGGT GCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATGGG CGGTATTGCACCAATTTACGGCACCGCTTACTACGCG CAGAAATTT CAGGGCCGCGTGACCATTACCGCTGATG AAAGCACCAGCACCGCGTATATGGA ACTGAGCAGCCT GCGCAGCGAAGATAACGCGGTGTATTATTGCGCGCGT GATGCAAGTTGGGCACGTGCATACGGTTTTGATTATTG GGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTCTCGAGTGCCTCC ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTC CAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGT CGTGGA ACTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTG CACAC CTTCCCAGCTGTCC TACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGG CACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAA	93

[0861]

	TGTTGTGTCGAGTGCCCCACCGTGCCCCAGCACACCTG CCGCAGCCAGCTCAGTCTTCCTCTTCCCCC AAAACCC AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCA CGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCGCCGAAGACCCCGA GGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTC AACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTTCT GCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCATCCTCCATCGAG AAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGA TGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGAGAAACA ACTACAAGACCACA CCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTA CAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CTCCGGGTAAA	
DR4B117 LC 多核苷酸	GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGGCACCCCTGAGCC TGAGCCCCGGCGAGCGGGCCACCCTGAGCTGCCGGGC CAGCCAGAGCGTGAGCAGCAGCTACCTGGCCTGGTAC CAGCAGAAGCCCCGGCCAGGCCCCCGGCTGCTGATCT ACGGCGCCAGCAGCCGGGCCACCGGCATCCCCGACCG GTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTG ACCATCAGCCGGCTGGAGCCCCGAGGACTTCGCCGTGT ACTACTGCCAGCAGTACGGCAGCAGCCCCCTGACCTT CGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGGACCGT GGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGAC GAGCAGCTGAAGAGCGGAACCGCAAGCGTGGTGTGC CTGCTGAACA ACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGC AGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACA GCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACA GCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCTGAGCAA GGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTTGCGAG GTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGA GCTTCAACCGGGGCGAGTGC	94
DR4B30、 DR4B127 和 DR4B98 LC 多核苷酸	GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGCCACCCTGAGCC TGAGCCCCGGCGAGCGGGCCACCCTGAGCTGCCGGGC CAGCCAGAGCGTGAGCAGCTACCTGGCCTGGTACCAG CAGAAGCCCCGGCCAGGCCCCCGGCTGCTGATCTACG ACGCCAGCAACCGGGGCCACCGGCATCCCCGCCCGGTT CAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCAGCCTGGAGCCCCGAGGACTTCGCCGTGTACT ACTGCCAGCAGCGGAGCAACTGGCCCCTGACCTTCGG CCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGGACCGTGGC CGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAG CAGCTGAAGAGCGGAACCGCAAGCGTGGTGTGCCTGC TGAACA ACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTG	95

[0862]

	GAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCA GGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC CTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCC GACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTTGCGAGGTGA CCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTT CAACCGGGGCGAGTGC	
DR4B78 VH (DR4H62) 氨基酸	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGGYYRYVRTISGDYAF DYWGQGTLVTVSS	137
DR4B70 VH (DR4H29) 氨基酸	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSSYYRYIGRYLGDYAF DYWGQGTLVTVSS	138
DR4B38 VH (DR4H56) 氨基酸	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGYRLAAIGRSDYAF DYWGQGTLVTVSS	139
DR4B33 VH (DR4H58) 氨基酸	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFDSAYINWVRQ MPGKGLEWMGIIRPGDSRTRYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAVYYCARDGYFVGSIIYYGMDVWG QGTLVTVSS	140
DR4B22 VH (DR4H16) 氨基酸	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGYTNYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGGYYRYVRYRPGDY AFGYWGQGTLVTVSS	141
DR4B33 VL (PH9L4) 氨基酸	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK	142
DR4B78 VH (DR4H62) DNA	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGC AGCCGGGCGGCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAG CGGCTTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG CGCCAGGCGCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGC GCGATCAGCGGCTCCGGTGGCTCCACATATTATGCGG ATAGCGTGAAAGGCCGCTTTACCATTTCACGAGATAA CAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTG CGCGCGGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGCG ATGGCGGTTATTATCGTTATGTGCGTACAATCAGCGGC GATTATGCATTTCGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGG TGACCGTCTCGAGT	143
DR4B70 VH (DR4H29) DNA	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGC AGCCGGGCGGCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAG CGGCTTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG CGCCAGGCGCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGC GCGATCAGCGGCTCCGGTGGCTCCACATATTATGCGG ATAGCGTGAAAGGCCGCTTTACCATTTCACGAGATAA CAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTG CGCGCGGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGCG	144

[0863]

	ACTCCAGCTATTATCGTTACATTGGCCGTTATCTGGGC GACTACGCATTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGG TGACCGTCTCGAGT	
DR4B38 VH (DR4H56) DNA	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGC AGCCGGGCGGCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAG CGGCTTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG CGCCAGGCGCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGC GCGATCAGCGGCTCCGGTGGCTCCACATATTATGCGG ATAGCGTGAAAGGCCGCTTTACCATTTCACGAGATAA CAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTG CGCGCGGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGTG ACTCCGGCTATTATCGTCTGGCAGCAATCGGCCGTTCT GATTACGCATTGATTACTGGGGCCAGGGCACCTGG TGACCGTCTCGAGT	145
DR4B33 VH (DR4H58) DNA	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGA AAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGC AGCGGCTATAGCTTCGATAGCGCATACTTAATTGGG TGCGCCAGATGCCGGGCAAAGGCTTGGAATGGATGGG TATTATTCGTCCTGGCGATTCCCGCACGCGTTACAGCC CGAGCTTTCAGGGCCAGGTGACCATTAGCGCGGATAA AAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAGTGGAGCAGCCTG AAAGCGAGCGATAACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGTG ACGGCTATTATTTTGTGTTGGCAGCATCATCTATTACGGT ATGGACGTATGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTCT CGAGT	146
DR4B22 VH (DR4H16) DNA	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGC AGCCGGGCGGCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAG CGGCTTTACCTTTTCCTCCTATGCAATGAATTGGGTGC GCCAGGCGCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGCG CTATTAGCGGTTCCGGTGGGTATACAAATTATGCGGA TAGCGTGAAAGGCCGCTTTACCATTTCACGAGATAAC AGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGC GCGCGGAAGATAACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGTGA CGGTGGTTACTACCGGTATGTGTACCGTTATCCAGGC GACTATGCATTTGGCTATTGGGGCCAGGGCACCTGG TGACCGTCTCGAGT	147
DR4B33 VL (PH9L4) DNA	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCG CCAGCGTGGGCGACCGGGTGACCATCACCTGCCGGGC CAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTACCAG CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACG CCGCCAGCAGCCTGCAGAGCGGCGTGCCAGCCGGTT CAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACT ACTGCCAGCAGAGCTACAGCACCCCCCTGACCTTCGG CCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAG	148
DR4B78 HC 氨基酸	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDGGYYRYVRTISGDYAF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG	149

[0864]

	CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTVERKCC VECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VV DVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
DR4B70 HC 氨基酸	EVQLLES GGG LVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSSYYRYIGRYLG DYAF DYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTVERKCC VECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VV DVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	150
DR4B38 HC 氨基酸	EVQLLES GGG LVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSSYYRLAAIGRSDYAF DYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTVERKCC VECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VV DVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	151
DR4B33 HC 氨基酸	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFDSAYINWVRQ MPGKGLEWMGIIRPGDSRTRYSPSFQGGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAVYYCARDGYYFVGSIIYYGMDVWG QGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTVERKCCVECPP CPAPPAAASSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSAE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV VSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	152
DR4B22 HC 氨基酸	EVQLLES GGG LVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGYTNYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGGYYRYVYRYPGDY AFGYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY	153

[0865]

	SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKC CVECPCPAPPAAASSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
DR4B33 LC 氨基酸	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC	154
DR4B78 HC DNA	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGC AGCCGGGCGGCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAG CGGCTTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG CGCCAGGCGCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGC GCGATCAGCGGCTCCGGTGGCTCCACATATTATGCGG ATAGCGTGAAAGGCCGCTTTACCATTTCACGAGATAA CAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTG CGCGCGGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGCG ATGGCGGTTATTATCGTTATGTGCGTACAATCAGCGGC GATTATGCATTTCGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGG TGACCGTCTCGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAG AGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGC TCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTAC AGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC TGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTGCGAGTGCCC ACCGTGCCCAGCACCACTGCCGCGAGCCAGCTCAGTC TTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGAT CTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCCTGGTGGTGGAC GTGAGCGCCGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGT GGTCAGCGTCCTACCGTTCTGCACCAGGACTGGCTG AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GGCCTCCCATCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAA CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCT GCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTC CGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG	155

[0866]

	CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
DR4B70 HC DNA	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGC AGCCGGGCGGCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAG CGGCTTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG CGCCAGGCGCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGC GCGATCAGCGGCTCCGGTGGCTCCACATATTATGCGG ATAGCGTGAAAGGCCGCTTTACCATTTCACGAGATAA CAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTG CGCGCGGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGCG ACTCCAGCTATTATCGTTACATTGGCCGTTATCTGGGC GACTACGCATTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGG TGACCGTCTCGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAG AGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGC TCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTAC AGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC TGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTGAGTGCCC ACCGTGCCCAGCACCACTGCCGAGCCAGCTCAGTC TTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGAT CTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCCTGGTGGTGAC GTGAGCGCCGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGT GGTCAGCGTCCTCACCGTTCTGCACCAGGACTGGCTG AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GGCCTCCCATCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAA CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCT GCCCCCATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTG AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTC CGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	156
DR4B38 HC DNA	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGC AGCCGGGCGGCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAG CGGCTTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG CGCCAGGCGCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGC GCGATCAGCGGCTCCGGTGGCTCCACATATTATGCGG ATAGCGTGAAAGGCCGCTTTACCATTTCACGAGATAA CAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTG CGCGCGGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGTG ACTCCGGCTATTATCGTCTGGCAGCAATCGGCCGTTCT GATTACGCATTTGATTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGG TGACCGTCTCGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGT	157

[0867]

	CTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAG AGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTTCGTGGAAGTCAAGGCGC TCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTAC AGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC TGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTGAGTGCCC ACCGTGCCCAGCACACCTGCCGCAGCCAGCTCAGTC TTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGAT CTCCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGAC GTGAGCGCCGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGT GGTCAGCGTCCTCACCGTTCTGCACCAGGACTGGCTG AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GGCCTCCCATCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAA CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCT GCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTG AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTC CGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
DR4B33 HC DNA	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAA AAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGC AGCGGCTATAGCTTCGATAGCGCATACATTAATTGGG TGCGCCAGATGCCGGGCAAAGGCTTGGAATGGATGGG TATTATTCGTCTTGGCGATTCCCGCACGCGTTACAGCC CGAGCTTTCAGGGCCAGGTGACCATTAGCGCGGATAA AAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAGTGGAGCAGCCTG AAAGCGAGCGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGTG ACGGCTATTATTTTGTGTCAGCATCATCTATTACGGT ATGGACGTATGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTCT CGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT GGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCC GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAAC CGGTGACGGTGTTCGTGGAAGTCAAGGCGCTCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCTTACAGTCTCTCAG GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAG ATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAG TTGAGCGCAAATGTTGTGTGAGTGCCCAACCGTGCCC AGCACCACTGCCGCAGCCAGCTCAGTCTTCTCTTCC CCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC CCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCGCC GAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACG	158

[0868]

	GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGG AGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGT CCTCACCGTTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAT CCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCA GCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCC CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACC TGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCG TGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC ACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC AGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAG CCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
DR4B22 HC DNA	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGCCTGGTGC AGCCGGGCGGCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAG CGGCTTTACCTTTTCCTCCTATGCAATGAATTGGGTGC GCCAGGCGCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGCG CTATTAGCGGTTCCGGTGGGTATACAAATTATGCGGA TAGCGTGAAAGGCCGCTTTACCATTTACGAGATAAC AGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGC GCGCGGAAGATAACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGTGA CGGTGGTACTACCGGTATGTGTACCGTTATCCAGGC GACTATGCATTTGGCTATTGGGGCCAGGGCACCTTGG TGACCGTCTCGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAG AGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGC TCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTAC AGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC TGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTGAGTGCCC ACCGTGCCCAGCACCACTGCCGCAGCCAGCTCAGTC TTCCTCTTCCCCCCTGAGGTTACAGTGGTGGTGGAC GTGAGCGCCGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGT GGTCAGCGTCCCTACCGTTCTGCACCAGGACTGGCTG AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GGCCTCCCATCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCT GCCCCCATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTC CGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG	159

[0869]

	CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
DR4B33 LC DNA	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCG CCAGCGTGGGCGACCGGGTGACCATCACCTGCCGGGC CAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTACCAG CAGAAGCCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACG CCGCCAGCAGCCTGCAGAGCGGCGTGCCCAAGCCGGTT CAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCAGCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACT ACTGCCAGCAGAGCTACAGCACCCCCCTGACCTTCGG CCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGGACCGTGCG CGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCCAGCGACGAG CAGCTGAAGAGCGGAACCGCAAGCGTGCGTGTGCCTGC TGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTG GAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCA GGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC CTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCC GACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTTGCGAGGTGA CCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTT CAACCGGGGCGAGTGC	160

[0870] 表17:

[0871]

mAb	VH 框架	VH 框架 SEQ ID NO:	VL 框架	VL 框架 SEQ ID NO:
DR4B117	IGHV1_1-69	62	IGKV3-20 (A27)	64
DR4B30	IGHV5_5-51	63	IGKV3-11 (L6)	65
DR4B127	IGHV1_1-69	62	IGKV3-11 (L6)	65
DR4B98	IGHV1_1-69	62	IGKV3-11 (L6)	65
DR4B78	IGHV3_3-23	161	IGKV3-11 (L6)	65
DR4B70	IGHV3_3-23	161	IGKV3-11 (L6)	65
DR4B38	IGHV3_3-23	161	IGKV3-11 (L6)	65
DR4B33	IGHV5_5-51	63	IGKV1-39 (O12)	162
DR4B22	IGHV3_3-23	161	IGKV3-11 (L6)	65

[0872] IGHV1-69SEQ ID NO:62

[0873] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFS SYAISWVRQAPGQGLEWMG
GIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR

[0874] IGHV5-51SEQ ID NO:63

[0875] EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS DTRYSPSFQGGVT
ISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR

[0876] IGKV3-20 (A27) SEQ ID NO:64

[0877] EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSG
TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSP

[0878] IGKV3-11 (L6) SEQ ID NO:65

[0879] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGT
DFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWP

[0880] IGHV3_3-23SEQ ID NO:161

[0881] EVQLLESGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFT
ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGQGT LVT VSS

[0882] IGKV1-39SEQ ID NO:162

[0883] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP

[0884] 实施例6:抗-HLA-DR抗体与HLA-DR的亲和力

[0885] 在25℃下使用ProteOn XPR36系统通过表面等离子共振 (SPR) 研究抗HLA-DR抗体与包含胶原蛋白II或血凝素肽的HLA-DR1和HLA-DR4复合物的相互作用。使用用于胺偶联化学的制造商说明书,通过使抗HLA-DR抗体与GLC传感器芯片的表面直接偶联来制备生物传感器表面。在偶联缓冲液即10mM醋酸钠 (pH5.0) 稀释的15μg/ml mAb下,约130-500RU (应答单位) 的mAb被固定。在25℃下在运行缓冲液 (DPBS+0.01%P20+100μg/ml BSA) 中进行动力学实验。为了进行动力学实验,在3.7nM至300nM的浓度范围下 (3倍系列稀释度),将分析物 (HLA-DR1和HLA-DR4复合物) 以水平取向注射在偶联的抗-HLA-DR mAb传感器上。将结合相在50μl/min下监测6分钟,然后进行30分钟的缓冲液流动 (解离相)。在100μl/min下,用100mM磷酸 (H₃PO₄) 的两个18秒的脉冲,使芯片表面再生。使用ProteOn Manager软件处理采集的数据。首先,利用区间 (inter-spots) 对数据进行背景校正。然后,对于分析物注射,使用缓冲液注射来实施数据的双基准减法。使用朗缪尔1:1结合模型进行数据的动力学分析。每个mAb的结果以K_a (结合率)、K_d (解离率) 和K_D (平衡解离常数) 的格式记录。

[0886] 表18示出了DR4B117和DR4B127结合HLA-DR4/血凝素肽复合物 (DR4G89) 的亲和力参数。表19示出了DR4B117和DR4B127结合HLA-DR4/胶原肽复合物 (DR4G90) 的亲和力参数。表20示出了DR4B117和DR4B127结合HLA-DR1/血凝素肽复合物 (DR4G93) 的亲和力参数。表21示出了DR4B117和DR4B127结合HLA-DR1/胶原肽复合物 (DR4G99) 的亲和力参数。

[0887] 表18:

[0888] 样本	抗原: DR4G89 (具有 HA_304-318 的 HLA-DR4)		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)
DR4B117	1.39E+04	7.77E-05	5.58E-09
DR4B127	1.68E+04	1.55E-04	9.19E-09

[0889] 表19:

[0890] 样本	抗原: DR4G90 (具有 CII_1236-1249 的 HLA-DR4)		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)
DR4B117	1.60E+04	3.28E-05	2.05E-09
DR4B127	1.41E+04	2.26E-04	1.60E-08

[0891] 表20:

[0892]	样本	抗原: DR4G93 (具有 HA_304-318 的 HLA-DR1)		
		ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)
	DR4B117	2.05E+04	1.36E-04	6.62E-09
	DR4B127	1.93E+04	9.20E-04	4.77E-08

[0893] 表21:

[0894]	样本	抗原: DR4G99 (具有 CII_1236-1249 的 HLA-DR1)		
		ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)
	DR4B117	1.98E+04	1.79E-05	9.04E-10
	DR4B127	2.38E+03	3.47E-04	1.46E-07*
		*结合信号较弱; K _D 为近似值		

[0895] 实施例7:同种型对抗体功能的影响

[0896] 将IgG2 α / κ 抗体DR4B117、DR4B30、DR4B127、DR4B98和DR4B6的可变区克隆为野生型IgG1,以评估可能的功能性差异。

[0897] IgG1/ κ 抗体命名为DR4B391 (DR4B117VH/VL,野生型IgG1上)、DR4B396 (DR4B30VH/VL,野生型IgG1上)、DR4B392 (DR4B127VH/VL,野生型IgG1上)、DR4B401 (DR4B98VH/VL,IgG1上)以及DR4B397 (DR4B6VH/VL,IgG1上)。表22示出了抗体的重链序列。轻链序列与亲本抗体相同。

[0898] 表22:

[0899]

序列	序列	SEQ ID NO:
DR4B391 HC 蛋白质	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYSIHVV RQAPGQGLEWMGYIIEPYGTANYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGRY YIGNRRGSYY GFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGASSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSAEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK	96
DR4B396 HC 蛋白质	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSDWIGWV RQMPPGKGLEWMGIIRPGDSDTYYSPSFQGQV TISADK SISTAYLQWSSLKASDTAVYYCARESYYYVGVRYRPS YYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGASSVFLFPPKPKDTLM ISRTPETCVVVDVSAEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK	97

[0900]

	NKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	
DR4B392 HC 蛋白质	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFKSYIHW VRQAPGQGLEWMGGIRPISGNAEYAQKFQGRVTITAD ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDASYRNYGFDY WGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGASSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSAEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	98
DR4B401 HC 蛋白质	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFKSYIHW VRQAPGQGLEWMGGIAPYGTAYYAQKFQGRVTITA DESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDASWARAYGF DYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAAGASSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSAEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	99
DR4B391 HC 多核苷酸	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAA AAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAG CGAGCGGCGGCACCTTTAGCAGCTATTCCATTCACT GGGTGCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGG ATGGGCTACATTATTCCGGAGTACGGGACTGCCAAT TACGCGCAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCATTACC GCTGATGAAAGCACCAGCACC GCGTATATGGA ACT GAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATAACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCGCGGCCGATACTATATCGGCAACCGTC GTGGCAGTTATTACGGTTTTGACTATTGGGGCCAGG GCACCCTGGTGACCGTCTCGAGTGCCTCCACCAAGG GCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGA GCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGG TCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGT GGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACC TTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGG GCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCC	100

[0901]

	AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGCATCTTCAGTCTTC CTCTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGAC GTGAGCGCCGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGA CAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTC CAACAAAGCCCTCCCATCCTCCATCGAGAAAACCAT CTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGG TGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCC TCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTAC AGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC TCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT GTCTCCGGGTAAA	
DR4B396 HC 多核苷酸	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAA AAAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAG GCAGCGGCTATAGCTTTACCAGCGACTGGATTGGTT GGGTGCGCCAGATGCCGGGCAAAGGCTTGGAATGG ATGGGTATCATTGCCCCGGGCGATAGCGATACGTAT TACAGCCCCAGCTTTCAGGGCCAGGTGACCATTAGC GCGGATAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAGTG GAGCAGCCTGAAAGCGAGCGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCGTGAATCCTATTATTACGTTGGCGTGC GTTACCGTCCAAGCTATTATTTGATTACTGGGGCC AGGGCACCCCTGGTGACCGTCTCGAGTGCCTCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCA AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTG TCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGAC ACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTAC TCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGC TTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGA GCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC GTGCCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGCATCTTCAGT CTTCTCTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCAT GATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGT GGACGTGAGCGCCGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAC GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCA GGA CTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCCCATCCTCCATCGAGAAA	101

[0902]

	CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA CAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCT CTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATG AGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCT CCCTGTCTCCGGGTAA	
DR4B392 HC 多核苷酸	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAA AAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAG CGAGCGGCGGCACCTTTAAATCCTACTACATTCACT GGGTGCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGG ATGGGTGGTATTTCGTCCGATCAGCGGGAATGCTGAG TACGCGCAGAAATTTACAGGGCCGCGTGACCATTACC GCTGATGAAAGCACCAGCACC GCGTATATGGAAC GAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATAACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCGCGATGCAAGCTATTATCGTAATTACG GTTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCG TCTCGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCC CCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCC CTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTA CAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTG ACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGAACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA AAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAG CAGCAGGGGCATCTTCAGTCTTCTCTTCCCCC AACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTG AGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCGCCGAA GACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGA GGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCA AGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC CCATCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAA GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG GAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCAC CGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCT TCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACC ACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA AA	102

[0903]

DR4B401 多 核苷酸	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAA AAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAG CGAGCGGCGGCACCTTTAAGTCCTATTATATTCATT GGGTGCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGG ATGGGCGGTATTGCACCAATTTACGGCACCGCTTAC TACGCGCAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCATTACC GCTGATGAAAGCACCAGCACCGCGTATATGGAAC GAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATAACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCGTGATGCAAGTTGGGCACGTGCATACG GTTTTGATTATTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCG TCTCGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCC CCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCC CTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTA CAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTG ACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA AAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAG CAGCAGGGGCATCTTCAGTCTTCTCTTCCCCCAA AACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTG AGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCGCCGAA GACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGA GGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCA AGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC CCATCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG GAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCAC CGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCT TCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACC ACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA AA	103
------------------	---	-----

[0904] 除了实施例4中所述的测定之外,还使用特异性识别HLA-DR4呈递的胶原蛋白II肽(氨基酸259-273;GIAGFKGEQGPKEP,SEQ ID NO:122)的T细胞杂交瘤(HLA-DR4/胶原蛋白II肽-限制性T细胞杂交瘤测定(“HLA-DR4/ColIII-Tcell”测定)),测试抗体抑制抗原特异性T细胞的能力。

[0905] 在四个独立PBMC供体上的HLA-DR4 DC MLR测定结果汇总于表23中。评价mAb与得自HLA-DR4转基因小鼠的树突细胞(“HLA-DR4 DC结合”测定)或与人PBMC结合的结果、mAb对人B细胞活力的影响以及对HLA-DR4/CIIP肽-限制性T细胞杂交瘤抑制的影响示于表24中。

[0906] 从效应子沉默IgG2 σ 到野生型IgG1的同种型转变对抗体功能性具有影响。例如,

DR4B117同种型转变为野生型IgG1导致mAb的抑制活性改善,而DR4B127同种型转变为野生型IgG1导致mAb的抑制活性下降。同种型对结合PBCM或B细胞活力没有影响。

[0907] 在10 μ g/ml和1 μ g/ml抗体浓度下,DR4B30和DR4B127抑制HLA-DR4/CII-肽-限制性T细胞杂交瘤的IL-2产生。DR4B117在该测定中不是抑制性的,该抗体在所有测试剂量下提高IL-2的产量。对照抗体DR4B6在10 μ g/ml和1 μ g/ml抗体浓度下是抑制性的,但在低于0.1 μ g/ml的剂量下提高IL-2产量(表23)。

[0908] (HLA-DR4/胶原蛋白II肽-限制性T细胞杂交瘤测定(“HLA-DR4/ColIII-Tcell”测定))。

[0909] 从国际组织相容性工作组(International Histocompatibility Working Group)获得Boleth B细胞系(对于HLA-DRB1*04:01是纯合的)。将Boleth细胞洗涤并以1.25 $\times 10^5$ 个细胞/ml重悬于完全培养基(DMEM/Glutamax+1%青霉素/链霉素+10%胎牛血清+50 μ M 2-巯基乙醇)中;将50 μ l的细胞加入96孔圆底平板的各个孔中。将抗-HLA-DR抗体以4X的最终浓度,50 μ l/孔加入(以10 μ g/ml的浓度起始)。然后将该平板在37 $^{\circ}$ C下温育1小时。

[0910] T杂交瘤细胞系DR4.CII.36.8获自田纳西大学健康科学中心(University of Tennessee Health Science Center)的Dr.Edward Rosloniec。将这些细胞用完全培养基洗涤,以2 $\times 10^6$ 个细胞/ml的浓度重悬于完全培养基中,并添加(50 μ l/孔)到含有Boleth细胞的平板中。将CII肽(GIAGFKGEQGPKGEP,SEQ ID NO:121)用完全培养基稀释至8 μ M(2 μ M最终浓度的4X)并以50 μ l/孔加入板中。使用完全培养基使所有孔中的总体积达至200 μ l。将平板在37 $^{\circ}$ C下温育18-21小时。收获上清液以根据制造商的说明书使用mIL-2AlphaLISA试剂盒(Perkin Elmer)进行分析。

[0911] 表23:

[0912]

mAb	HLA-DR4 DC MLR							
	指定 mAb 浓度下的平均抑制百分比 (%)							
	10 μ g/ml mAb				1 μ g/ml mAb			
	供体 5	供体 6	供体 7	供体 8	供体 5	供体 6	供体 7	供体 8
DR4B117	52.4%	58.2%	56.3%	61.8%	27.5%	35.4%	39.1%	52.3%
DR4B391	83.3%	77.5%	77.2%	94.7%	50.9%	72.8%	60.6%	81.4%
DR4B127	86.9%	87.6%	91.8%	101.0%	69.9%	75.2%	80.6%	86.0%
DR4B392	63.4%	59.2%	64.6%	71.9%	46.1%	24.2%	22.3%	65.2%
DR4B6	93.4%	102.3%	94.8%	101.0%	93.3%	97.3%	91.1%	96.3%

[0913] 表24:

[0914]

mAb	HLA-DR4 DC 结合	HLA-DR4/CII 肽-限制性 T 细胞杂交瘤测定		人 PBMC 结合	人 B 细胞活力
		指定 mAb 浓度下的平均抑制百分比 (%)			
		10μg/ml mAb	1μg/ml mAb		
DR4B117	高	0%	0%	高	无作用
DR4B391	高	70.59%	61.00%	高	无作用
DR4B30	高	60.69%	41.24%	高	无作用
DR4B396		67.88%	61.96%		
DR4B127	高	78.08%	77.23%	高	无作用
DR4B392	高	51.53%	49.56%	高	无作用
DR4B98	高			高	无作用
DR4B401		64.54%	47.50%		
DR4B6	高	98.47%	90.97%	高	诱导细胞死亡
DR4B397		99.59%	96.86%		
高: 平均荧光强度高于用 DR4B6 所检测的荧光强度					

[0915] 实施例8: 抗-HLA-DR抗体对与各种肽复合的HLA-DR抗原的谱保持结合

[0916] 进一步表征所选抗体和与共价连接于 β 链的N-末端的各种肽复合的可溶性HLA-DR、HLA-DQ或HLA-DP抗原的结合。使用实施例3中所述的方案评估结合。异源二聚体抗原如实施例1所述表达。表25示出附加表达的HLA融合蛋白的形式, 并且表26示出 α 和 β 链的氨基酸序列。所有附加的HLA蛋白质具有共同的SEQ ID NO: 20的 α 链。没有一种抗体结合与CLIP、LCAP或PLP肽复合的测试DP和DQ抗原。DR4B117和DR4B127示出结合于所有测试的HLA抗原, 包括不包含共享表位的DRB1*04:02、DRB1*15:01和DRB1*03:01。对照抗体DR4B4和DR4B5示出当相比于DR4B117和DR4B127时, 与DRB1*04:01、DRB1*01:01和DRB1*10:01的结合总体下降, 并且不结合DRB1*15:01和DRB1*04:02。DR4B6示出结合所有测试的HLA-肽复合物。表27、表28、表29和表30示出抗体与HLA分子的结合结果。

[0917] SEQ ID NO: 71 波形蛋白L70A突变体66至78肽 (VitL70A) SAVRARSSVPGVR

[0918] SEQ ID NO: 72 聚集蛋白聚糖肽N1 (Aggrecan) EVVLLVATEGRVRVNSAYQDK

[0919] SEQ ID NO: 104; CLIP KMRMATPLLMQALPM

[0920] SEQ ID NO: 105 HLA-DRB1*03:01_P01912

[0921] GDTRPRFLEYSTSECHFFNGTERVRYLDTRYFHNQEENVRFDSDVGEFRAVTELGRPDAEYWNSQKDLLE
QKRGRVDNYCRHNYGVVESFTVQRRVHPKVTVPYPSKTQPLQHHNLLVCSVSGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTG VVSTG
LIHNGDWTFTQTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSVTSLTVEWRARSESAQSK

[0922] SEQ ID NO: 106 HLA-DRB1*04:02_HLA00687ECD

[0923] GDTRPRFLEQVKHECHFFNGTERVRFDRYFYHQEEYVRFDSDVGEYRAVTELGRPDAEYWNSQKDILE
DERAAVDITYCRHNYGVVESFTVQRRVYPEVTVPYPAKTQPLQHHNLLVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTG VVSTG
LIQNGDWTFTQTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSLTSLTVEWRARSESAQSK

[0924] SEQ ID NO: 107 HLA-DRB1*10:01_Q30167_ECD 30-227

[0925] GDTRPRFLEEVKFECHFFNGTERVRLLERRVHNQEEYARYDSVGEYRAVTELGRPDAEYWNSQKDLLE
RRRAAVDITYCRHNYGVGESFTVQRRVQPKVTVPYPSKTQPLQHHNLLVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTG VVSTG

LIQNGDWTFTLVMLETVPQSGEVYTCQVEHPSVMSPLTVEWRARSESAQSK

[0926] SEQ ID NO:108HLA-DRB1*15:01_P01911_ECD 30-277

[0927] GDTRPRFLWQPKRECHFFNGTERVRFLDRYFYNQEESVRFDSVDVGEFRAVTELGRPDAEYWNSQKDILE
QARAAVDTYCRHNYGVVESFTVQRRVQPKVTVPYPSKTQPLQHNNLLVCSVSGFYPGSIEVRWFLNGQEEKAGMVSTG
LIQNGDWTFTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSVTSPLEWRARSESAQSK

[0928] 表25:

[0929]

抗原名称	蛋白质描述
DR4G143	人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*04:01 ECD_波形蛋白 L70A, 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: 波形蛋白 L70A+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G142	人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*3:01 ECD_波形蛋白 L70A, 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: 波形蛋白 L70A+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G119	人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*10:01 ECD, 具有血凝素肽 HA_304-318 (HA), 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: HA+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G117	人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*3:01 ECD, 具有胶原蛋白 II 肽 CII_1236- 1249 (CII_1236), 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: CII_1236+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII

[0930]

DR4G110	人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*4:01 ECD, 具有聚集蛋白聚糖肽 N1 (N1), 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: 聚集蛋白聚糖肽 N1+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G104	人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*4:02 ECD, 具有血凝素肽 HA_304-318 (HA), 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: HA+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G103	人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*15:01 ECD, 具有血凝素肽 HA_304-318 (HA), 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: HA+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G101	人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*4:02 ECD, 具有胶原蛋白 II 肽 CII_257-273 (CII_257), 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: CII_257+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G98	人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*4:02 ECD, 具有胶原蛋白 II 肽 CII_1236-1249 (CII_1236), 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: CII_1236+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G97	人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*15:01 ECD, 具有胶原蛋白 II 肽 CII_1236-1249 (CII_1236), 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: CII_1236+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G96	人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*1:01 ECD, 具有 CLIP 肽, 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: CLIP+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII
DR4G86	人 HLA-DRA1*01:02/DRB1*4:01 ECD, 具有 CLIP 肽, 形式为: α 链: ECD_G4S+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β 链: CLIP+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII

[0931] 表26:

[0932]

蛋白质名称	β 链氨基酸序列
-------	----------

[0933]

DR4G143 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 109)	SAVRARSSVPGVRGSGSGSLEVLFGQPGDTRPRFLEQVKHECHFF NGTERVRFLDRYFYHQEEYVRFDSDVGEYRAVTELGRPDAEYWN SQKDLLEQKRAAVDTYCRHNYGVGESFTVQRRVYPEVTVYPAKT QPLQHHNLLVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTG VVSTGLIQNG DWTFTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSLTSPLTVEWRARSESAQ SKGGGGSEDLYFQSGGGGSCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHE ALHNHYTQKSLSLGLGKWSHPQFEK
DR4G142 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 110)	SAVRARSSVPGVRGSGSGSLEVLFGQPGDTRPRFLEYSTSECHFFN GTERVRYLDRYFHNQEENVRFDSVGEFRAVTELGRPDAEYWNS QKDLLEQKRGRVDNYCRHNYGVVESFTVQRRVHPKVTVYPSKT QPLQHHNLLVCSVSGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTG VVSTGLIHNG DWTFTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSVTSPLTVEWRARSESA QSKGGGGSEDLYFQSGGGGSCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHE ALHNHYTQKSLSLGLGKWSHPQFEK
DR4G119 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 111)	ACPKYVKQNTLKLATGSGSGSLEVLFGQPGDTRPRFLEEVKFECH FFNGTERVRLLERRVHNQEEYARYDSVGEYRAVTELGRPDAEY WNSQKDLLERRRAAVDTYCRHNYGVGESFTVQRRVQPKVTVYP SKTQPLQHHNLLVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTG VVSTGLI QNGDWTFTLVMLETVPQSSEVYTCQVEHPSVMSPLTVEWRARS ESAQSKGGGGSEDLYFQSGGGGSCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGKWSHPQFEK
DR4G117 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 112)	LQYMRADQAAGGLRGSGSGSLEVLFGQPGDTRPRFLEYSTSECHF FNGTERVRYLDRYFHNQEENVRFDSVGEFRAVTELGRPDAEYW NSQKDLLEQKRGRVDNYCRHNYGVVESFTVQRRVHPKVTVYPSK TQPLQHHNLLVCSVSGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTG VVSTGLIHN GDWTFTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSVTSPLTVEWRARSES AQSKGGGGSEDLYFQSGGGGSCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGKWSHPQFEK
DR4G110 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 113)	EVVLLVATEGRVRVNSAYQDKGSGSGSLEVLFGQPGDTRPRFLEQ VKHECHFFNGTERVRFLDRYFYHQEEYVRFDSDVGEYRAVTELG RPDAEYWNSQKDLLEQKRAAVDTYCRHNYGVGESFTVQRRVYP EVTVYPAKTQPLQHHNLLVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTG VVSTGLIQNGDWTFTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSLTSPLTV

[0934]

NO: 113)	EWRARSESAQSKGGGGSEDLYFQSGGGGSCPPCAPEAAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGKWSHPQFEK
DR4G104 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 114)	ACPKYVKQNTLKLATGSGSGSLEVLFQGPGRDTRPRFLEQVKHECH FFNGTERVRFLDRYFYHQEEYVRFDSQDVGEYRAVTELGRPDAEY WNSQKDILEDERAADVDTYCRHNYGVVESFTVQRRVYPEVTVYPA KTQPLQHNNLLVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTGTVSTGLIQ NGDWTFTQTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSLTSPLTVEWRARSES AQSKGGGGSEDLYFQSGGGGSCPPCAPEAAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MEALHNHYTQKSLSLGLGKWSHPQFEK
DR4G103 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 115)	ACPKYVKQNTLKLATGSGSGSLEVLFQGPGRDTRPRFLWQPKREC HFFNGTERVRFLDRYFYHQEESVRFDSQDVGEFRAVTELGRPDAEY WNSQKDILEQARAADVDTYCRHNYGVVESFTVQRRVQPKVTYVPS KTQPLQHNNLLVCSVSGFYPGSIEVRWFLNGQEEKAGMVSTGLIQ NGDWTFTQTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSVTSPLTVEWRARSE SAQSKGGGGSEDLYFQSGGGGSCPPCAPEAAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MEALHNHYTQKSLSLGLGKWSHPQFEK
DR4G101 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 116)	EPGIAGFKGEQGPKEPGSGSGSLEVLFQGPGRDTRPRFLEQVKHEC HFFNGTERVRFLDRYFYHQEEYVRFDSQDVGEYRAVTELGRPDAEY YWNSQKDILEDERAADVDTYCRHNYGVVESFTVQRRVYPEVTVYP AKTQPLQHNNLLVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTGTVSTGLI QNGDWTFTQTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSLTSPLTVEWRARS ESAQSKGGGGSEDLYFQSGGGGSCPPCAPEAAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MEALHNHYTQKSLSLGLGKWSHPQFEK
DR4G98 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 117)	LQYMRADQAAGGLRGSGSGSLEVLFQGPGRDTRPRFLEQVKHECH FFNGTERVRFLDRYFYHQEEYVRFDSQDVGEYRAVTELGRPDAEY WNSQKDILEDERAADVDTYCRHNYGVVESFTVQRRVYPEVTVYPA KTQPLQHNNLLVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTGTVSTGLIQ NGDWTFTQTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSLTSPLTVEWRARSES AQSKGGGGSEDLYFQSGGGGSCPPCAPEAAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV

[0935]

	MHEALHNHYTQKSLSLSLGKWSHPQFEK
DR4G97 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 118)	LQYMRADQAAGGLRGSGSGSLEVLFGPGDTRPRFLWQPKRECH FFNGTERVRFLDRYFYNQEESVRFDSVDGGEFRAVTELGRPDAEYW NSQKDILEQARA AVDTYCRHNYGVVESFTVQRRVQPKVTVPYPSK TQPLQHNNLLVCSVSGFYPGSIEVRWFLNGQEEKAGMVSTGLIQN GDWTFQTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSVTSPLTVEWRARSES AQSKGGGGSEDLYFQSGGGGGSCPPCAPEAAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLGKWSHPQFEK
DR4G96 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 119)	KMRMATPLL MQALPMGSGSGSLEVLFGPGDTRPRFLWQLKFEC HFFNGTERVRLLERCIYNQEESVRFDSVDGEYRAVTELGRPDAEY WNSQKDLLEQRAA AVDTYCRHNYGVGESFTVQRRVEPKVTVPYPS KTQPLQHNNLLVCSVSGFYPGSIEVRWFRNGQEEKAGVVSTGLIQ NGDWTFQTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSVTSPLTVEWRARSE SAQSKGGGGSEDLYFQSGGGGGSCPPCAPEAAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLGKWSHPQFEK
DR4G86 (α 链: SEQ ID NO: 20; β 链: SEQ ID NO: 120)	KMRMATPLL MQALPMGSGSGSLEVLFGPGDTRPRFLEQVKHEC HFFNGTERVRFLDRYFYHQEEYVRFDSVDGEYRAVTELGRPDAE YWNSQKDLLEQKRAA AVDTYCRHNYGVGESFTVQRRVYPEVTY PAKTQPLQHNNLLVCSVNGFYPGSIEVRWFRNGQEEKTG VVSTGL IQNGDWTFQTLVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSLTSPLTVEWRARS ESAQSKGGGGSEDLYFQSGGGGGSCPPCAPEAAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLGKWSHPQFEK

[0936] 表27:

抗原	DR4G86	DR4G92	DR4G110	DR4G143
HLA 类型	DRB1*04:01	DRB1*04:01	DRB1*04:01	DRB1*04:01
肽	CLIP	CII_257-273	聚集蛋白聚糖	VitL70A
DR4B98	167000	310000	283000	278000
DR4B117	784000	911000	689000	1070000
DR4B127	1020000	1210000	954000	1160000
DR4B4	129000	131000	112000	96200
DR4B5	7030	49000	8040	22600
DR4B6	588000	608000	372000	520000

[0937]

[0938]

同种型对照	335	486	1030	410
无 mAb	554	516	705	423
无抗原	125	129	49	126

[0939] 表28:

[0940]

Ag 名称	DR4G96	DR4G102	DR4G119	DR4G104	DR4G98	DR4G101
HLA	DRB1*01:01	DRB1*01:01	DRB1*10:01	DRB1*04:02	DRB1*04:02	DRB1*04:02
肽	CLIP	CII_257	HA	HA	CII-1236	CII-257
DR4B98	9450	15000	94700	421000	350000	354000
DR4B117	823000	1110000	1240000	1080000	1150000	1140000
DR4B127	803000	1080000	1240000	1270000	1260000	1240000
DR4B4	26500	3450	572000	451	521	639
DR4B5	20600	62500	132000	825	469	723
DR4B6	627000	693000	580000	415000	623000	615000
同种型对照	781	392	517	1130	613	1250
无 mAb	694	808	958	702	690	1030
无抗原	91	165	197	147	202	2380

[0941] 表29:

[0942]

Ag 名称	DR4G103	DR4G97	DR4G117	DR4G142	DR4G99
HLA	DRB1*15:01	DRB1*15:01	DRB1*03:01	DRB1*03:01	DRB1*01:01
肽	HA	CII_1236	CII_1236	VitL70A	CII_1236
DR4B98	34700	80800	105000	60500	10000
DR4B117	294000	605000	769000	872000	1170000
DR4B127	334000	748000	966000	748000	882000
DR4B4	287	210	737	862	697
DR4B5	329	256	730	1330	45900
DR4B6	142000	222000	620000	399000	672000
同种型对照	487	393	603	2220	490
无mAb	419	353	590	773	1070
无抗原	55	137	118	116	132

[0943] 表30:

[0944]

Ag 名称	DR4G107	DR4G115	DR4G108	DR4G112	DR4G145	DR4G146
HLA	DPB4:01	DPB4:01	DQB6:02	DQB6:02	DQB2:01	DQB2:01

[0945]

肽	CLIP	LCAP	CLIP	PLP	CLIP	CLIP
DR4B98	328	198	197	460	5960	2500
DR4B117	615	1110	270	421	2880	2960
DR4B127	307	239	248	394	2070	2830
DR4B4	65	57	53	69	297	209
DR4B5	100	70	76	123	1360	736
DR4B6	133	67	76	203	473	1450
同种型对照	153	91	99	250	2780	1470
无 Ab	193	179	294	249	519	485
无 Ag	299	185				

[0946] 实施例9:与DR4B117 Fab复合的HLA-DR4 ECD的晶体结构

[0947] 用于结构研究的HLA-DR4构建体是DR4G86。使蛋白质在瞬时转染的HEK 293S-GnTi细胞中表达。将澄清且浓缩的上清液装载到两个串联的5-mL HiTrapTM MabSelect Sure柱 (GE Healthcare, 目录号11-0034-95) 中,并用0.1M乙酸钠 (pH 3.5) 洗脱并透析到DPBS (pH 7.2) 中。使mAb DR4B117的Fab片段在200mL Expi293FTM细胞中瞬时转染。将澄清的上清液装载到5-mL HisTrapTM HP柱 (GE Healthcare, 目录号17-5248-02) 上,并且使用增大的咪唑浓度梯度逐步洗脱。使用在20mM Tris、50mM NaCl (pH 7.4) 中运行的HiLoad SuperdexTM 200柱 (GE Healthcare, 目录号28-9893-36), 通过尺寸排阻色谱法 (SEC) 进一步纯化蛋白质。

[0948] 为了制备抗体-抗原复合物,将含24mg DR4G86的DPBS (pH 7.2) 以及含11mg Fab DR4B117的20mM Tris、50mM NaCl (pH 7.4) 以1:1摩尔比轻轻混合,并在室温下温育1天。然后用含有TEV蛋白酶的TEV缓冲液 (ThermoFisher, 目录号12575-023) 处理混合物,每3μg总蛋白使用1个单位的酶,并且在30℃下温育过夜。为了分离复合物与Fc,将裂解的材料装载到在DPBS (pH 7.2) 中预平衡的1-mL蛋白A柱 (GE Healthcare, 目录号11-0034-93) 上。将主要含有DR4:Fab复合物的流经物收集在1-mL级分中,合并并装载到SEC柱 (SuperdexTM 200, GE Healthcare, 目录号17-1071-01) 的20mM Tris、50mM NaCl (pH 7.4) 中,以移除其它污染物诸如残余的Fab和TEV蛋白酶。使包含DR4B117:Fab复合物的SEC合并物浓缩至1mg/mL。通过SDS PAGE、A280、SE-HPLC和SEC MALS分析样本。SEC MALS分析表明,复合物的分子量与由序列所计算的相一致。

[0949] 为进行结晶,使用Amicon Ultra 10kDa MWC0装置将DR4:Fab复合物在20mM Tris (pH 7.4)、50mM NaCl中浓缩至14mg/mL。复合物的结晶使用Mosquito自动仪 (TTP Labtech) 和MRC 2-孔结晶板 (Swissci),在20℃下通过直滴式蒸气扩散法进行。对结晶条件的筛选使用PEG筛选 (PEGs screen) (Qiagen, 目录号130904)、晶体筛选HT (Crystal Screen HT) (Hampton Research, 目录号HR2-130) 和内部筛选 (in-house screen) (Obmolova等人 (2014) Acta Crystallogr. F70:1107-1115) 进行。在从18%PEG 3350、1.0M LiCl、0.1M MES缓冲液 (pH 6.5) 优化后,获得衍射质量的晶体。在补充有20%甘油的母液中收获晶体,并在液氮中快速冷却。在阿贡国家实验室 (Argonne National Laboratory) 的先进光子源 (Advanced Photon Source) (光束线17-ID) 采集X射线衍射数据,并用XDS (Kabsch, (2010) Acta Crystallogr. D66:125-132) 处理至1.75Å的分辨率。表31给出详细的X射线数据。

[0950] 使用program Phaser通过分子置换法来测定DR4:Fab结构 (Read, (2001) Acta

Crystallogr.D57:1373-1382)。将得自蛋白质数据库3na9(对于Fab)和4mcz(对于DR4)的晶体结构用作搜索模型。该结构用Phenix(Adams等人,(2004)J.Synchrotron Radiat.11:53-55)精细化,并且用C00T(Emsley和Cowtan,(2004)Acta Crystallogr.D60:2126-2132)进行模型拟合。精修统计在表31中给出。所有图形利用Pymol(www.schrodinger.com)生成。所有其它计算均使用CCP4套件实施(Collaborative Computational Project,Number 4(1994)ActaCrystallogr.D53:240-255)。

[0951] 表31:DR4:B117复合物的X射线数据和精化统计

[0952]	晶体数据		
	空间群	P2	
	单位晶胞轴 (Å)	69.67,54.78,116.03	
	单位晶胞角 (°)	90,95.06,90	
	分子/不对称单元	1 个复合物	
	X射线数据		
	分辨率 (Å)	50-1.75	(1.81-1.75)
	所测反射次数	289,739	(29,609)
	独特反射次数	87,606	(8,744)
	完整度 (%)	99.2	(99.7)
[0953]	冗余性	3.3	(3.4)
	R-合并	0.046	(1.148)
	平均 I/σ(I)	14.2	(1.5)
	B 因子 (得自 Wilson 作图) (Å ²)	29.8	
	精化		
	分辨率 (Å)	35-1.75	
	R-work 因子 (%)	18.7	
	自由 R 因子 (5%数据) (%)	22.2	
	全部原子数	6,925	
	水分子数	466	
	键长 RMSD (Å)	0.016	
	键角 RMSD (°)	1.4	
	平均 B 因子 (得自模型) (Å ²)	40.4	

[0954] *括号中的数字是指最高分辨率。

[0955] 复合物的结构示于图15A中。结构表明,DR4B117的结合表位由DR4的α和β亚基两者的残基构成。表位处于CLIP肽和TCR结合表面的远侧。因此,DR4B117不直接阻断TCR结合DR4。抗体-抗原界面覆盖2500Å²的溶剂可到达表,其中1300Å²在抗体上并且1200Å²在DR4上(α上700Å²在且β上500Å²)。DR4B117的所有六种CDR提供与抗原接触。用4-Å截止鉴定的表位和互补位残基在表32中给出。基于接触数,表位中最重要的残基是α链中的E3、F108、D110、R140(残基根据SEQ ID NO:13进行编号)和β链中的V143和Q149(残基根据SEQ ID NO:14进行编号)。

[0956] 表32:DR4B117的表位残基和互补位残基。*

[0957]

DR4 α 上的表位: K2、E3、V6、E88、V89、T90、F108、D110、K111、R140、L144、R146、K176

DR4 β 上的表位: L114、K139、V142、V143、S144、T145、L147、I148、Q149、E162

B117 的 VH 上的互补位: F29、S31、P53、E54、Y55、G56、Q62、Y101、Y102、I103、N105、R106

[0958]

B117 的 VL 上的互补位: E1、Q27、S31、S32、Y33、Y50、S94、S95、P96

[0959] *残基根据SEQ ID NO:13 (DR4 α)、SEQ ID NO:14 (DR4 β)、SEQ ID NO:56 (VH)、SEQ ID NO:60 (VL) 进行编号。

[0960] 实施例10:与DR4B127 Fab复合的HLA-DR4 ECD的晶体结构

[0961] 除下文之外,如实施例9中所述的那样进行蛋白质表达、复合物制备、结晶、X射线数据采集和结构测定。通过使含27mg DR4W176的DPBS (pH 7.2) 和含13mg Fab DR4B127的20mM Tris、50mM NaCl (pH 7.4) 以1:1摩尔比混合形成复合物。复合物的晶体获自18%PEG 3350、0.1M醋酸钠 (pH 4.5)、0.2M甲酸钠。在2.75Å分辨率下测定结构。表33中给出X射线数据和精修统计。

[0962] 表33:DR4:B127复合物的X射线数据和精化统计

晶体数据		
空间群	C222 ₁	
单位晶胞轴 (Å)	88.97,132.61,199.77	
单位晶胞角 (°)	90,90,90	
分子/不对称单元	1 个复合物	
X射线数据		
分辨率 (Å)	50–2.75	(2.85–2.75)
所测反射次数	206,770	(21,332)
独特反射次数	30,983	(3,052)
完整度 (%)	99.5	(99.4)
[0963] 冗余性	6.7	(7.0)
R-合并	0.081	(1.214)
平均 I/σ(I)	19.3	(2.4)
B 因子 (得自 Wilson 作图) (Å ²)	72.8	
精化		
分辨率 (Å)	40–2.75	
R-work 因子 (%)	22.5	
自由 R 因子 (5%数据) (%)	26.1	
全部原子数	6,451	
水分子数	0	
键长 RMSD (Å)	0.004	
键角 RMSD (°)	0.8	
[0964] 平均 B 因子 (得自模型) (Å ²)	72.1	

[0965] *括号中的数字是指最高分辨壳。

[0966] 复合物的结构示于图15B中。结构表明,DR4B127的结合表位由DR4的α和β亚基两者的残基构成。表位处于CLIP肽和TCR结合表面的远侧。因此,DR4B127不直接阻断TCR结合DR4。抗体-抗原界面覆盖3200Å²的溶剂可到达表面,其中1500Å²在抗体上并且1700Å²在DR4上。六种CDR中仅有四种(CDR-H1、CDR-H3、CDR-L1和CDR-L2)提供与抗原接触。用4-Å截止鉴定的表位和互补位残基在表34中给出。基于接触数,表位中最重要的残基是α链中的K2(残基根据SEQ ID NO:13进行编号)和β链中的D41、S126、R130、V142和Q149(残基根据SEQ ID NO:14进行编号)。

[0967] 表34:DR4B127的表位和互补位残基。

[0968]

DR4 α 上的表位: I1、K2、E3、D27、R140、E141、D142、H143

DR4 β 上的表位: H16、F17、R23、R25、R29、R39、D41、D43、V44、V50、G125、S126、E128、V129、R130、V142、G146、L147、Q149、V159

B127的VH上的互补位: P53、I54、S55、G56、N57、D99、S101、Y102、Y103、R104、N105、Y106、G107、D109、Y110

B127的VL上的互补位: S30、S31、Y49、D50、S52、N53、R54、A55、T56、A60、S63、G64、S65、S67

[0969] *残基根据SEQ ID NO:13 (DR4 α)、SEQ ID NO:14 (DR4 β)、SEQ ID NO:58 (VH)、SEQ ID NO:61 (VL)进行编号。

[0970] 复合于TCR的DR4 (PDB entry 1j8h; Hennecke和Wiley, (2002) J. Exp. Med. 195: 571-581) (图15C)与Fab DR4B117 (图15A)和Fab DR4B127 (图15B)的晶体结构的比较示出这两种抗体均在远离TCR表位的位点结合DR4,因此不直接干扰的TCR结合。DR4B117和DR4B127靠近细胞表面结合DR4,并且可能导致DR4的ECD倾斜偏离mAb而在DR4分子与膜之间容许大体积Fc部分的空间,导致TCR不能与DR4结合。DR4B117和DR4B127这两种抗体的Fab片段不抑制TCR结合。DR4B117和DR4B127阻断CD4与HLA-DR的结合。

[0971] 实施例11:表位分箱 (Epitope Binning)

[0972] 使用MDS或IBIS,将DRG89用作抗原(与胶原蛋白II₁₂₃₆肽复合的HLA-DR1*04:01)或DR4G99(与血凝素肽复合的HLA-DR1:01),在31种HLA-DR抗体的初始矩阵交叉竞争实验中鉴定三个竞争组。DR4B4和DR4B5较差地结合DR4G89,并且不可用于测定。

[0973] 鉴定下列竞争组对DRG89的交叉竞争:

[0974] 组1: DR4B30、DR4B98、DR4B117、DR4B127、DR4B78、DR4B38、DR4B70、DR4B22和DR4B33。组2: DR4B6。

[0975] 鉴定下列竞争组对DRG99的交叉竞争:

[0976] 组1: DR4B30、DR4B117、DR4B127、DR4B78、DR4B38、DR4B70、DR4B22和DR4B33。组2: DR4B6。组3: DR4B98。DR4B98因其对DR4G99的结合最低而未映射到组1。

[0977] 样本和试剂:

[0978] 抗原:

[0979] DR4G89 1.264mg/ml

[0980] DR4G99 0.99mg/ml

[0981] IBIS系统的运行缓冲液:脱气PBST。

[0982] 利用MSD ELISA的交叉竞争:

[0983] 使5 μ l的10 μ g/ml DR4G89或DR4G99吸附于Meso Scale Discovery (MSD) HighBind平板 (Gaithersburg, MD) 上2小时,然后用150 μ l 0.1M HEPES洗涤3X。将平板用5% BSA缓冲液

在4℃下封闭过夜。次日,将平板用0.1M HEPES缓冲液(pH 7.4)洗涤3x,然后加入在室温下与1mM的其它抗DR4mAb一起预温育30分钟的钌(Ru)-标记的抗DR4mAb的混合物。在室温下轻柔振荡温育2小时后,使用0.1M HEPES缓冲液(pH 7.4)洗涤平板3x。将MSD读取缓冲液T用蒸馏水稀释(4倍)并分配到各个孔中,接着用SECTOR成像器6000(Meso Scale Discovery, Gaithersburg,MD)进行分析。

[0984] 利用IBIS的表位分箱(仪器为Biomolecular Interaction Sensing Multiplex 96, IBIS-MX96, Wasatch Microfluidics Inc.):

[0985] 该方案根据文献(Abdiche, Y.N.等人(2014), PLoS One 9, fe92451),如下所述作出一些修改:

[0986] 芯片制备

[0987] 使用CFM 2(Wasatch Microfluidics)来产生96种mAb的芯片。其从96孔微孔板抽取48个70μl样本塞到流体歧管中,该歧管使溶液聚集到SPR基质表面的48个微流池的4×12阵列中(G-COOH涂覆的棱柱,得自Ssens bv, NL),并使溶液以60μl/min来回循环。96孔微孔板制备有含100μl的30μg/ml各mAb的MES偶联缓冲液(pH 4.5),并将其装载到CFM的底板2中。将新鲜混合的活化剂(150μl 0.4M EDC和150μl 0.1M sulfo-NHS,在共5ml的MES偶联缓冲液中,pH 4.5)的第二平板装载到底板1中。然后用系统缓冲液(PBS+0.01%T20)灌注CFM。抗-DR4mAb平板的组包含一式三份排列的42种mAb。一旦对接,就使活化剂在表面上循环7min,紧接着是该组mAb并循环15min。

[0988] 然后将印刷芯片装载到IBIS SPR读取器(MX96, IBIS Technologies bv)中,其使用单一流动池并且自动取样机被构造成致力于使阵列来回循环注射80ml/分析物。一旦装载,将1ml乙醇胺注射在芯片上15分钟,以淬灭过量的反应性酯。然后用系统缓冲液洗涤芯片,并且使用芯片图像定义反应点(即96个配体阵列)和空隙参考点(两个局部参考点/反应点)。对于经典的分箱,使用共注射,其中抗原(DR4G89或DR4G99)和mAb分析物两者以平行线输送至流动池,并且在继续再生之前一个紧接着一个注射。对于实验,注射抗原3分钟,然后再注射20μg/ml mAb 3分钟,接着使表面再生。所有SPRi实验以96×96分析物-配体形式进行。

[0989] 生物传感器数据分析

[0990] 在SPRint软件v.6.15.2.1(在所关注的结合步骤之前校准、局部参考,并在Y轴上对齐为零)中处理数据,并在Wasatch Microfluidics的分箱软件中分析,以用于热图生成、排序和节点绘制。分级群聚用于在热图中将行为类似的mAb集中在一起。热图和节点图是一种可视化表位箱及其箱间关系的可选方式。

[0991] 实施例12:HLA-DR抗体不阻断HLA-DR同源TCR ECD相互作用。

[0992] 晶体结构研究确认,DR4B117和DR1B127不阻断HLA-DR与同源TCR的相互作用。使用MDS测试几种附加抗体对阻断重组TCR的作用。

[0993] 抗体DR4B117、DR4B127、DR4B30、DR4B70、DR4B22、DR4B33、DR4B38和DR4B78不抑制HLA-DR与同源TCR的相互作用,而DR4B98部分抑制该相互作用。DR4B4、DR4B5和DR4B6抑制HLA-DR/TCR相互作用。

[0994] 图16A示出DR4B117、DR4B127、DR4B4、DR4B5和DR4B6抑制HLA-DR/TCR相互作用的剂量响应曲线。

[0995] 图16B示出DR4B22、DR4B30和DR4B33抑制HLA-DR/TCR相互作用的剂量响应曲线。

[0996] 材料

[0997] • MSD平板 (Meso Scale Discovery#L15XA-3)

[0998] • 杜贝氏磷酸盐缓冲盐水 (Gibco, #14190-136)

[0999] • 牛白蛋白级分V (Millipore, 目录号820451)

[1000] • Tween 20 (Sigma, 目录号P1379)

[1001] • HisTag Ab-生物素 (Genscript, #A00613)

[1002] • Sulfo-Tag链霉抗生物素蛋白 (Meso Scale Discovery#R32AD-50)

[1003] • MSD读取缓冲液T (MSD, 目录号R92TC-1)

[1004] • HLA-DR抗原: DR4G134 (DRG89, 不具有六聚组氨酸标签); 具有血凝素肽HA₃₀₄₋₃₁₈ (HA) 的人HLA-DRA1*01:02/DRB1*04:01ECD, 形式为: α链: ECD_{G4S}+TEV+G4S+MMB+6xHisTag; β链: HA+3XGS+HRV3C+ECD+G4S+TEV+G4S+MMB+StrepII

[1005] • DR4G79: TCR受体ECD; 人HA 1.7TCR ECD, 形式为: α链: ECD+TEV+MMB+HisTag; β链: ECD+TEV+huIgG4MMB+Flag+StrepII (DR4G79HC: SEQ ID NO:69; LC SEQ ID NO:70)

[1006] >DR4G79 HC SEQ ID NO:69

[1007] QSVTQLGSHVSVSEGA LVLLRCNYSSSVPPYLFWYVQYPNQGLQLLLKYTSAATLVKGINGFEEFKKSETSFHLTKPSAHMSDAAEYFCVSESPFGNEKLTFGTGTRLTIIPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDSVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKGSGGGGSEDLYFQSGGGGSCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGKGGGGSHHHHHH

[1008] >DR4G79 LC SEQ ID NO:70

[1009] GSVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQMDHENMFWYRQDPGLGLRLIYFSYDVKMKEKGDIPGYSVSR EKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSSTGLPYGYTFGSGTRLTVVEDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWVWNGKEVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYSLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCVQFYGLSENDEW TQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTGGGGGSEDLYFQSGGGGSCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGKGGGGSDYKDDDDKWSHPQFEK

[1010] 方案

[1011] 测试缓冲液: 1XDPBS+1%BSA+0.05% tween 20

[1012] 1. 用50μl DR4G134抗原 (5μg/ml) 涂覆MSD平板, 在室温下摇动10分钟。

[1013] 在4℃下温育过夜

[1014] 2. 使板变空, 在轻柔振荡下用150μl测定缓冲液封闭1小时, 与此同时, 预混DRG79、DR4mAb、抗-His Ab、SulfoTag-SA (最终浓度分别为5μg/ml、10μg/ml和2μg/ml)。

[1015] 3. 使板变空, 加入预混物, 温育1小时

[1016] 4. 用300μl PBST洗涤3X

[1017] 5. 对于MSD平板, 加入150μl MSD读取缓冲液

[1018] 6.在MSD中读取

[1019] 实施例13:DR4B70、DR4B22、DR4B33、DR4B38和DR4B78的功能表征

[1020] DR4B70、DR4B22、DR4B33、DR4B38和DR4B78使用上述测定法进行表征。所有抗体结合HLA-DR4或HLA-DR1,并且没有一个抗体结合DQ或DP。表35示出抗体与各种HLA抗原的结合结果。

[1021] 表35:

[1022]

HLA α 链	HDQA1*01:02	DPA1:03	DRA1*01:02		DRA1*01:02	
HLA β	DQB1*06:02	DPB1*04:01	DRB1*04:01		DRB1*01:01	
肽	胰岛素肽 INS_1-15	NY- ESO_157- 169	HA_304-318	CII_1236-1249	HA_304-318	CII_1236-1249
抗原	DR4G111, 5 μ g/ml 的 Ab	DR4G113, 5 μ g/ml 的 Ab	DR4G89, 0.2 μ g/ml 的 Ab	DR4G90, 0.2 μ g/ml 的 Ab	DR4G93, 0.2 μ g/ml 的 Ab	DR4G99, 0.2 μ g/ml 的 Ab
DR4B78	4250	930	978810	1138295	1061118	1075472
DR4B38	100	148	1218979	1236584	1121123	1205648
DR4B70	3219	1266	887635	1128537	971772	1084766
DR4B22	16300	2185	1014746	1101094	896077	1027522
DR4B30	12905	1969	1128453	1248862	1066233	1199978

[1023] 表36示出功能测定中的抗体特性。所有抗体都是拮抗性的,DR4B78、DR4B38、DR4B70和DR4B22诱导的B细胞凋亡和/或死亡。DR4B30并非如此。

[1024] 表36:

[1025]

mAb	HLA-DR4 DC MLR 10 μ g/ml mAb	DR4 Tg DC 结合*	PBMC 结合	人 B 细胞凋亡和/或死亡?
DR4B78	是	高	中度	诱导细胞死亡
DR4B38	是	高	高	诱导细胞死亡
DR4B70	是	高	高	诱导细胞死亡
DR4B22	是	高	中度	诱导细胞死亡
DR4B30	是	高	高	无作用
是: 在 HLA-DR4 DC MLR 测定中是抑制性的				
*所有测试的抗体表现出双模式结合				
高: 平均荧光强度高于用 DR4B6 所检测的荧光强度				
中度: MFI 与用 DR4B6 所检测的 MFI 得比相当。				

序列表

<110> Janssen Biotech, Inc.
Becart, Stephane
Chen, Qiang
Duffy, Karen
Ernst, Robin
Huang, Chichi
Kuhn, Robert
Lin-Schmidt, Xiefan
Luo, Jinqun
Martinez, Christian
Obomolova, Galina
Swiecki, Melissa
Wu, Sheng-Jiun
Zhou, Hong

<120> 特异性结合 HLA-DR 的抗体及其用途

<130> JBI5078W0PCT

<140> 待转让

<141> 2016-12-16

<150> 62/268570

<151> 2015-12-17

[0001]

<160> 162

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 接头

<400> 1

Gly Gly Gly Gly Ser

1

5

<210> 2

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TEV 裂解位点

<400> 2

Glu Asp Leu Tyr Phe Gln
1 5

<210> 3
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 六聚组氨酸标签

<400> 3

His His His His His His
1 5

<210> 4
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 接头

<400> 4

[0002]

Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5

<210> 5
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HRV3C 裂解位点

<400> 5

Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro
1 5

<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> StrepII 标签

<400> 6

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
1 5

<210> 7

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 7

Ala Cys Pro Lys Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr
1 5 10 15

<210> 8

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 8

Leu Gln Tyr Met Arg Ala Asp Gln Ala Ala Gly Gly Leu Arg
1 5 10

[0003]

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 9

Glu Pro Gly Ile Ala Gly Phe Lys Gly Glu Gln Gly Pro Lys Gly Glu
1 5 10 15

Pro

<210> 10

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 10

Phe Val Asn Gln Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu
1 5 10

<210> 11

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 11

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val
 1 5 10

<210> 12

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 工程化 IgG4 Fc

<400> 12

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
 1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 20 25 30

[0004]

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 35 40 45

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 50 55 60

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

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 85 90 95

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 100 105 110

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 115 120 125

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

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

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

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
180 185 190

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
195 200 205

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
210 215 220

<210> 13

<211> 191

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 13

[0005]

Ile Lys Glu Glu His Val Ile Ile Gln Ala Glu Phe Tyr Leu Asn Pro
1 5 10 15

Asp Gln Ser Gly Glu Phe Met Phe Asp Phe Asp Gly Asp Glu Ile Phe
20 25 30

His Val Asp Met Ala Lys Lys Glu Thr Val Trp Arg Leu Glu Glu Phe
35 40 45

Gly Arg Phe Ala Ser Phe Glu Ala Gln Gly Ala Leu Ala Asn Ile Ala
50 55 60

Val Asp Lys Ala Asn Leu Glu Ile Met Thr Lys Arg Ser Asn Tyr Thr
65 70 75 80

Pro Ile Thr Asn Val Pro Pro Glu Val Thr Val Leu Thr Asn Ser Pro
85 90 95

Val Glu Leu Arg Glu Pro Asn Val Leu Ile Cys Phe Ile Asp Lys Phe
100 105 110

Thr Pro Pro Val Val Asn Val Thr Trp Leu Arg Asn Gly Lys Pro Val
115 120 125

Thr Thr Gly Val Ser Glu Thr Val Phe Leu Pro Arg Glu Asp His Leu
130 135 140

Phe Arg Lys Phe His Tyr Leu Pro Phe Leu Pro Ser Thr Glu Asp Val
145 150 155 160

Tyr Asp Cys Arg Val Glu His Trp Gly Leu Asp Glu Pro Leu Leu Lys
165 170 175

His Trp Glu Phe Asp Ala Pro Ser Pro Leu Pro Glu Thr Thr Glu
180 185 190

<210> 14

<211> 198

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 14

[0006]

Gly Asp Thr Arg Pro Arg Phe Leu Glu Gln Val Lys His Glu Cys His
1 5 10 15

Phe Phe Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg Tyr Phe Tyr
20 25 30

His Gln Glu Glu Tyr Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg
35 40 45

Ala Val Thr Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln
50 55 60

Lys Asp Leu Leu Glu Gln Lys Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg
65 70 75 80

His Asn Tyr Gly Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Tyr
85 90 95

Pro Glu Val Thr Val Tyr Pro Ala Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His
100 105 110

Asn Leu Leu Val Cys Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu
115 120 125

Val Arg Trp Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser
130 135 140

Thr Gly Leu Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met
145 150 155 160

Leu Glu Thr Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu
165 170 175

His Pro Ser Leu Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser
180 185 190

Glu Ser Ala Gln Ser Lys
195

[0007] <210> 15
<211> 198
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 15

Gly Asp Thr Arg Pro Arg Phe Leu Trp Gln Leu Lys Phe Glu Cys His
1 5 10 15

Phe Phe Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Leu Leu Glu Arg Cys Ile Tyr
20 25 30

Asn Gln Glu Glu Ser Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg
35 40 45

Ala Val Thr Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln
50 55 60

Lys Asp Leu Leu Glu Gln Arg Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg
65 70 75 80

His Asn Tyr Gly Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Glu
85 90 95

Pro Lys Val Thr Val Tyr Pro Ser Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His
100 105 110

Asn Leu Leu Val Cys Ser Val Ser Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu
115 120 125

Val Arg Trp Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Ala Gly Val Val Ser
130 135 140

Thr Gly Leu Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met
145 150 155 160

Leu Glu Thr Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu
165 170 175

His Pro Ser Val Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser
180 185 190

Glu Ser Ala Gln Ser Lys
195

[0008]

<210> 16

<211> 194

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 16

Glu Asp Ile Val Ala Asp His Val Ala Ser Cys Gly Val Asn Leu Tyr
1 5 10 15

Gln Phe Tyr Gly Pro Ser Gly Gln Tyr Thr His Glu Phe Asp Gly Asp
20 25 30

Glu Gln Phe Tyr Val Asp Leu Glu Arg Lys Glu Thr Ala Trp Arg Trp
35 40 45

Pro Glu Phe Ser Lys Phe Gly Gly Phe Asp Pro Gln Gly Ala Leu Arg
50 55 60

Asn Met Ala Val Ala Lys His Asn Leu Asn Ile Met Ile Lys Arg Tyr
65 70 75 80

Asn Ser Thr Ala Ala Thr Asn Glu Val Pro Glu Val Thr Val Phe Ser
85 90 95

Lys Ser Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Asn Thr Leu Ile Cys Leu Val
100 105 110

Asp Asn Ile Phe Pro Pro Val Val Asn Ile Thr Trp Leu Ser Asn Gly
115 120 125

Gln Ser Val Thr Glu Gly Val Ser Glu Thr Ser Phe Leu Ser Lys Ser
130 135 140

Asp His Ser Phe Phe Lys Ile Ser Tyr Leu Thr Phe Leu Pro Ser Ala
145 150 155 160

Asp Glu Ile Tyr Asp Cys Lys Val Glu His Trp Gly Leu Asp Gln Pro
165 170 175

Leu Leu Lys His Trp Glu Pro Glu Ile Pro Ala Pro Met Ser Glu Leu
180 185 190

[0009]

Thr Glu

<210> 17

<211> 198

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 17

Arg Asp Ser Pro Glu Asp Phe Val Phe Gln Phe Lys Gly Met Cys Tyr
1 5 10 15

Phe Thr Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Leu Val Thr Arg Tyr Ile Tyr
20 25 30

Asn Arg Glu Glu Tyr Ala Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Val Tyr Arg
35 40 45

Ala Val Thr Pro Gln Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln
50 55 60

Lys Glu Val Leu Glu Gly Thr Arg Ala Glu Leu Asp Thr Val Cys Arg
65 70 75 80

His Asn Tyr Glu Val Ala Phe Arg Gly Ile Leu Gln Arg Arg Val Glu
85 90 95

Pro Thr Val Thr Ile Ser Pro Ser Arg Thr Glu Ala Leu Asn His His
100 105 110

Asn Leu Leu Val Cys Ser Val Thr Asp Phe Tyr Pro Gly Gln Ile Lys
115 120 125

Val Arg Trp Phe Arg Asn Asp Gln Glu Glu Thr Ala Gly Val Val Ser
130 135 140

Thr Pro Leu Ile Arg Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Ile Leu Val Met
145 150 155 160

Leu Glu Met Thr Pro Gln Arg Gly Asp Val Tyr Thr Cys His Val Glu
165 170 175

[0010]

His Pro Ser Leu Gln Ser Pro Ile Thr Val Glu Trp Arg Ala Gln Ser
180 185 190

Glu Ser Ala Gln Ser Lys
195

<210> 18

<211> 194

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 18

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

Gln Thr His Arg Pro Thr Gly Glu Phe Met Phe Glu Phe Asp Glu Asp
20 25 30

Glu Met Phe Tyr Val Asp Leu Asp Lys Lys Glu Thr Val Trp His Leu
35 40 45

Glu Glu Phe Gly Gln Ala Phe Ser Phe Glu Ala Gln Gly Gly Leu Ala
50 55 60

Asn Ile Ala Ile Leu Asn Asn Asn Leu Asn Thr Leu Ile Gln Arg Ser
65 70 75 80

Asn His Thr Gln Ala Thr Asn Asp Pro Pro Glu Val Thr Val Phe Pro
85 90 95

Lys Glu Pro Val Glu Leu Gly Gln Pro Asn Thr Leu Ile Cys His Ile
100 105 110

Asp Lys Phe Phe Pro Pro Val Leu Asn Val Thr Trp Leu Cys Asn Gly
115 120 125

Glu Leu Val Thr Glu Gly Val Ala Glu Ser Leu Phe Leu Pro Arg Thr
130 135 140

Asp Tyr Ser Phe His Lys Phe His Tyr Leu Thr Phe Val Pro Ser Ala
145 150 155 160

[0011]

Glu Asp Phe Tyr Asp Cys Arg Val Glu His Trp Gly Leu Asp Gln Pro
165 170 175

Leu Leu Lys His Trp Glu Ala Gln Glu Pro Ile Gln Met Pro Glu Thr
180 185 190

Thr Glu

<210> 19

<211> 196

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 19

Arg Ala Thr Pro Glu Asn Tyr Leu Phe Gln Gly Arg Gln Glu Cys Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Asn Gly Thr Gln Arg Phe Leu Glu Arg Tyr Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

Glu Glu Phe Ala Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Phe Arg Ala Val
35 40 45

Thr Glu Leu Gly Arg Pro Ala Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp
50 55 60

Ile Leu Glu Glu Lys Arg Ala Val Pro Asp Arg Met Cys Arg His Asn
65 70 75 80

Tyr Gln Leu Gly Gly Pro Met Thr Leu Gln Arg Arg Val Gln Pro Arg
85 90 95

Val Asn Val Ser Pro Ser Lys Lys Gly Pro Leu Gln His His Asn Leu
100 105 110

Leu Val Cys His Val Thr Asp Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Gln Val Arg
115 120 125

Trp Phe Leu Asn Gly Gln Glu Glu Thr Ala Gly Val Val Ser Thr Asn
130 135 140

[0012]

Leu Ile Arg Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Ile Leu Val Met Leu Glu
145 150 155 160

Met Thr Pro Gln Gln Gly Asp Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Thr
165 170 175

Ser Leu Asp Ser Pro Val Thr Val Glu Trp Lys Ala Gln Ser Asp Ser
180 185 190

Ala Arg Ser Lys
195

<210> 20

<211> 436

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4G89, DR4G90, DR4G92, DR4G93, DR4G99, DR4G102 α 链

<400> 20

Ile Lys Glu Glu His Val Ile Ile Gln Ala Glu Phe Tyr Leu Asn Pro

1	5	10	15
Asp Gln Ser Gly Glu Phe Met Phe Asp Phe Asp Gly Asp Glu Ile Phe	20	25	30
His Val Asp Met Ala Lys Lys Glu Thr Val Trp Arg Leu Glu Glu Phe	35	40	45
Gly Arg Phe Ala Ser Phe Glu Ala Gln Gly Ala Leu Ala Asn Ile Ala	50	55	60
Val Asp Lys Ala Asn Leu Glu Ile Met Thr Lys Arg Ser Asn Tyr Thr	65	70	75
Pro Ile Thr Asn Val Pro Pro Glu Val Thr Val Leu Thr Asn Ser Pro	85	90	95
Val Glu Leu Arg Glu Pro Asn Val Leu Ile Cys Phe Ile Asp Lys Phe	100	105	110
[0013]			
Thr Pro Pro Val Val Asn Val Thr Trp Leu Arg Asn Gly Lys Pro Val	115	120	125
Thr Thr Gly Val Ser Glu Thr Val Phe Leu Pro Arg Glu Asp His Leu	130	135	140
Phe Arg Lys Phe His Tyr Leu Pro Phe Leu Pro Ser Thr Glu Asp Val	145	150	155
Tyr Asp Cys Arg Val Glu His Trp Gly Leu Asp Glu Pro Leu Leu Lys	165	170	175
His Trp Glu Phe Asp Ala Pro Ser Pro Leu Pro Glu Thr Thr Glu Gly	180	185	190
Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly Gly Gly Ser	195	200	205
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe	210	215	220

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
225 230 235 240

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
245 250 255

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
260 265 270

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
275 280 285

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
290 295 300

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
305 310 315 320

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
325 330 335

[0014]

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
340 345 350

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
355 360 365

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
370 375 380

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
385 390 395 400

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
405 410 415

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys His His
420 425 430

His His His His
435

<210> 21
<211> 474
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4G89 β 链

<400> 21

Ala Cys Pro Lys Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly Asp Thr
20 25 30

Arg Pro Arg Phe Leu Glu Gln Val Lys His Glu Cys His Phe Phe Asn
35 40 45

Gly Thr Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg Tyr Phe Tyr His Gln Glu
50 55 60

[0015]

Glu Tyr Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg Ala Val Thr
65 70 75 80

Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Leu
85 90 95

Leu Glu Gln Lys Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His Asn Tyr
100 105 110

Gly Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Tyr Pro Glu Val
115 120 125

Thr Val Tyr Pro Ala Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His Asn Leu Leu
130 135 140

Val Cys Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp
145 150 155 160

Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser Thr Gly Leu
165 170 175

Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu Glu Thr
180 185 190

Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Pro Ser
195 200 205

Leu Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu Ser Ala
210 215 220

Gln Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly
225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
275 280 285

[0016]

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
450 455 460

Gly Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 22

<211> 473

<212> PRT

<213> 人工序列

[0017]

<220>

<223> DR4G90 β 链

<400> 22

Leu Gln Tyr Met Arg Ala Asp Gln Ala Ala Gly Gly Leu Arg Gly Ser
1 5 10 15

Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly Asp Thr Arg
20 25 30

Pro Arg Phe Leu Glu Gln Val Lys His Glu Cys His Phe Phe Asn Gly
35 40 45

Thr Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg Tyr Phe Tyr His Gln Glu Glu
50 55 60

Tyr Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg Ala Val Thr Glu
65 70 75 80

Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Leu Leu
85 90 95

Glu Gln Lys Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His Asn Tyr Gly
100 105 110

Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Tyr Pro Glu Val Thr
115 120 125

Val Tyr Pro Ala Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His Asn Leu Leu Val
130 135 140

Cys Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp Phe
145 150 155 160

Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser Thr Gly Leu Ile
165 170 175

Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu Glu Thr Val
180 185 190

Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Pro Ser Leu
195 200 205

[0018]

Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu Ser Ala Gln
210 215 220

Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
245 250 255

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
260 265 270

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
275 280 285

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
290 295 300

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
305 310 315 320

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
325 330 335

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
340 345 350

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
355 360 365

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
370 375 380

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
385 390 395 400

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
405 410 415

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
420 425 430

[0019]

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
450 455 460

Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 23

<211> 476

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4G92 β 链

<400> 23

Glu Pro Gly Ile Ala Gly Phe Lys Gly Glu Gln Gly Pro Lys Gly Glu
1 5 10 15

Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly
20 25 30

Asp Thr Arg Pro Arg Phe Leu Gln Gln Val Lys His Glu Cys His Phe
35 40 45

Phe Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg Tyr Phe Tyr His
50 55 60

Gln Glu Glu Tyr Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg Ala
65 70 75 80

Val Thr Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys
85 90 95

Asp Leu Leu Glu Gln Lys Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His
100 105 110

Asn Tyr Gly Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Tyr Pro
115 120 125

[0020]

Glu Val Thr Val Tyr Pro Ala Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His Asn
130 135 140

Leu Leu Val Cys Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val
145 150 155 160

Arg Trp Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser Thr
165 170 175

Gly Leu Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu
180 185 190

Glu Thr Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His
195 200 205

Pro Ser Leu Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu
210 215 220

Ser Ala Gln Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln
225 230 235 240

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
245 250 255

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
260 265 270

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
275 280 285

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
290 295 300

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
305 310 315 320

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
325 330 335

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
340 345 350

[0021]

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
355 360 365

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
370 375 380

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
385 390 395 400

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
405 410 415

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
420 425 430

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
435 440 445

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Gly Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470 475

<210> 24

<211> 474

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4G93 β 链

<400> 24

Ala Cys Pro Lys Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly Asp Thr
20 25 30

Arg Pro Arg Phe Leu Trp Gln Leu Lys Phe Glu Cys His Phe Phe Asn
35 40 45

[0022]

Gly Thr Glu Arg Val Arg Leu Leu Glu Arg Cys Ile Tyr Asn Gln Glu
50 55 60

Glu Ser Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg Ala Val Thr
65 70 75 80

Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Leu
85 90 95

Leu Glu Gln Arg Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His Asn Tyr
100 105 110

Gly Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Glu Pro Lys Val
115 120 125

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

Val Cys Ser Val Ser Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp
145 150 155 160

Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Ala Gly Val Val Ser Thr Gly Leu
165 170 175

Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu Glu Thr
180 185 190

Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Pro Ser
195 200 205

Val Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu Ser Ala
210 215 220

Gln Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly
225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

[0023]

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
450 455 460

Gly Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

[0024]

<210> 25
<211> 473
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4G99 β 链

<400> 25

Leu Gln Tyr Met Arg Ala Asp Gln Ala Ala Gly Gly Leu Arg Gly Ser
1 5 10 15

Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly Asp Thr Arg
20 25 30

Pro Arg Phe Leu Trp Gln Leu Lys Phe Glu Cys His Phe Phe Asn Gly
35 40 45

Thr Glu Arg Val Arg Leu Leu Glu Arg Cys Ile Tyr Asn Gln Glu Glu
50 55 60

Ser Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg Ala Val Thr Glu
65 70 75 80

Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Leu Leu
85 90 95

Gln Gln Arg Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His Asn Tyr Gly
100 105 110

Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Glu Pro Lys Val Thr
115 120 125

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

Cys Ser Val Ser Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp Phe
145 150 155 160

Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Ala Gly Val Val Ser Thr Gly Leu Ile
165 170 175

Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu Glu Thr Val
180 185 190

[0025]

Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Pro Ser Val
195 200 205

Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu Ser Ala Gln
210 215 220

Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
245 250 255

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
260 265 270

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
275 280 285

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
290 295 300

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
305 310 315 320

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
325 330 335

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
340 345 350

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
355 360 365

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
370 375 380

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
385 390 395 400

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
405 410 415

[0026]

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
420 425 430

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
450 455 460

Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 26

<211> 476

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4G102 β 链

<400> 26

Glu Pro Gly Ile Ala Gly Phe Lys Gly Glu Gln Gly Pro Lys Gly Glu
1 5 10 15

Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly
20 25 30

Asp Thr Arg Pro Arg Phe Leu Trp Gln Leu Lys Phe Glu Cys His Phe
35 40 45

Phe Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Leu Leu Glu Arg Cys Ile Tyr Asn
50 55 60

Gln Glu Glu Ser Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg Ala
65 70 75 80

Val Thr Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys
85 90 95

Asp Leu Leu Glu Gln Arg Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His
100 105 110

[0027]

Asn Tyr Gly Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Glu Pro
115 120 125

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

Leu Leu Val Cys Ser Val Ser Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val
145 150 155 160

Arg Trp Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Ala Gly Val Val Ser Thr
165 170 175

Gly Leu Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu
180 185 190

Glu Thr Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His
195 200 205

Pro Ser Val Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Gln
210 215 220

Ser Ala Gln Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln
225 230 235 240

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
245 250 255

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
260 265 270

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
275 280 285

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
290 295 300

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
305 310 315 320

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
325 330 335

[0028]

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
340 345 350

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
355 360 365

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
370 375 380

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
385 390 395 400

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
405 410 415

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
420 425 430

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

435

440

445

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Gly Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470 475

<210> 27

<211> 440

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4G111, DR4G112 α 链

<400> 27

Glu Asp Ile Val Ala Asp His Val Ala Ser Cys Gly Val Asn Leu Tyr
1 5 10 15

Gln Phe Tyr Gly Pro Ser Gly Gln Tyr Thr His Glu Phe Asp Gly Asp
20 25 30

[0029]

Glu Gln Phe Tyr Val Asp Leu Glu Arg Lys Glu Thr Ala Trp Arg Trp
35 40 45

Pro Glu Phe Ser Lys Phe Gly Gly Phe Asp Pro Gln Gly Ala Leu Arg
50 55 60

Asn Met Ala Val Ala Lys His Asn Leu Asn Ile Met Ile Lys Arg Tyr
65 70 75 80

Asn Ser Thr Ala Ala Thr Asn Glu Val Pro Glu Val Thr Val Phe Ser
85 90 95

Lys Ser Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Asn Thr Leu Ile Cys Leu Val
100 105 110

Asp Asn Ile Phe Pro Pro Val Val Asn Ile Thr Trp Leu Ser Asn Gly
115 120 125

Gln Ser Val Thr Glu Gly Val Ser Glu Thr Ser Phe Leu Ser Lys Ser
130 135 140

Asp His Ser Phe Phe Lys Ile Ser Tyr Leu Thr Phe Leu Pro Ser Ala
145 150 155 160

Asp Glu Ile Tyr Asp Cys Lys Val Glu His Trp Gly Leu Asp Gln Pro
165 170 175

Leu Leu Lys His Trp Glu Pro Glu Ile Pro Ala Pro Met Ser Glu Leu
180 185 190

Thr Glu Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly
195 200 205

Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
210 215 220

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
225 230 235 240

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
245 250 255

[0030]

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
260 265 270

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
275 280 285

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
305 310 315 320

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
325 330 335

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
340 345 350

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

	355	360	365
	Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
	370	375	380
	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys		
	385	390	395 400
	Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
	405	410	415
	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly		
	420	425	430
	Gly Ser His His His His His His		
	435	440	
[0031]	<210>	28	
	<211>	474	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	DR4G111 β 链	
	<400>	28	
	Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Gly		
	1	5	10 15
	Ser Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Arg Asp Ser		
	20	25	30
	Pro Glu Asp Phe Val Phe Gln Phe Lys Gly Met Cys Tyr Phe Thr Asn		
	35	40	45
	Gly Thr Glu Arg Val Arg Leu Val Thr Arg Tyr Ile Tyr Asn Arg Glu		
	50	55	60
	Glu Tyr Ala Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Val Tyr Arg Ala Val Thr		
	65	70	75 80
	Pro Gln Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Glu Val		
	85	90	95

Leu Glu Gly Thr Arg Ala Glu Leu Asp Thr Val Cys Arg His Asn Tyr
100 105 110

Glu Val Ala Phe Arg Gly Ile Leu Gln Arg Arg Val Glu Pro Thr Val
115 120 125

Thr Ile Ser Pro Ser Arg Thr Glu Ala Leu Asn His His Asn Leu Leu
130 135 140

Val Cys Ser Val Thr Asp Phe Tyr Pro Gly Gln Ile Lys Val Arg Trp
145 150 155 160

Phe Arg Asn Asp Gln Glu Glu Thr Ala Gly Val Val Ser Thr Pro Leu
165 170 175

Ile Arg Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Ile Leu Val Met Leu Glu Met
180 185 190

Thr Pro Gln Arg Gly Asp Val Tyr Thr Cys His Val Glu His Pro Ser
195 200 205

[0032]

Leu Gln Ser Pro Ile Thr Val Glu Trp Arg Ala Gln Ser Glu Ser Ala
210 215 220

Gln Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly
225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg

	305		310		315		320
	Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys						
		325		330		335	
	Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu						
		340		345		350	
	Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr						
		355		360		365	
	Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu						
		370		375		380	
	Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp						
	385		390		395		400
	Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val						
		405		410		415	
[0033]	Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp						
		420		425		430	
	Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His						
		435		440		445	
	Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu						
		450		455		460	
	Gly Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys						
	465		470				
	<210> 29						
	<211> 440						
	<212> PRT						
	<213> 人工序列						
	<220>						
	<223> DR4G113 α 链						
	<400> 29						
	Ala Gly Ala Ile Lys Ala Asp His Val Ser Thr Tyr Ala Ala Phe Val						
	1		5		10		15

Gln Thr His Arg Pro Thr Gly Glu Phe Met Phe Glu Phe Asp Glu Asp
20 25 30

Glu Met Phe Tyr Val Asp Leu Asp Lys Lys Glu Thr Val Trp His Leu
35 40 45

Glu Glu Phe Gly Gln Ala Phe Ser Phe Glu Ala Gln Gly Gly Leu Ala
50 55 60

Asn Ile Ala Ile Leu Asn Asn Asn Leu Asn Thr Leu Ile Gln Arg Ser
65 70 75 80

Asn His Thr Gln Ala Thr Asn Asp Pro Pro Glu Val Thr Val Phe Pro
85 90 95

Lys Glu Pro Val Glu Leu Gly Gln Pro Asn Thr Leu Ile Cys His Ile
100 105 110

Asp Lys Phe Phe Pro Pro Val Leu Asn Val Thr Trp Leu Cys Asn Gly
115 120 125

[0034]

Glu Leu Val Thr Glu Gly Val Ala Glu Ser Leu Phe Leu Pro Arg Thr
130 135 140

Asp Tyr Ser Phe His Lys Phe His Tyr Leu Thr Phe Val Pro Ser Ala
145 150 155 160

Glu Asp Phe Tyr Asp Cys Arg Val Glu His Trp Gly Leu Asp Gln Pro
165 170 175

Leu Leu Lys His Trp Glu Ala Gln Glu Pro Ile Gln Met Pro Glu Thr
180 185 190

Thr Glu Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly
195 200 205

Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
210 215 220

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

225	230	235	240
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp	245	250	255
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn	260	265	270
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val	275	280	285
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu	290	295	300
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys	305	310	315
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr	325	330	335
[0035]			
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr	340	345	350
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu	355	360	365
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu	370	375	380
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys	385	390	395
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu	405	410	415
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly	420	425	430
Gly Ser His His His His His His	435	440	

<210> 30
<211> 470
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4G113 β 链

<400> 30

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Gly Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Arg Ala Thr Pro Glu
20 25 30

Asn Tyr Leu Phe Gln Gly Arg Gln Glu Cys Tyr Ala Phe Asn Gly Thr
35 40 45

Gln Arg Phe Leu Glu Arg Tyr Ile Tyr Asn Arg Glu Glu Phe Ala Arg
50 55 60

[0036]

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

Pro Ala Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Ile Leu Glu Glu Lys
85 90 95

Arg Ala Val Pro Asp Arg Met Cys Arg His Asn Tyr Glu Leu Gly Gly
100 105 110

Pro Met Thr Leu Gln Arg Arg Val Gln Pro Arg Val Asn Val Ser Pro
115 120 125

Ser Lys Lys Gly Pro Leu Gln His His Asn Leu Leu Val Cys His Val
130 135 140

Thr Asp Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Gln Val Arg Trp Phe Leu Asn Gly
145 150 155 160

Gln Glu Glu Thr Ala Gly Val Val Ser Thr Asn Leu Ile Arg Asn Gly
165 170 175

Asp Trp Thr Phe Gln Ile Leu Val Met Leu Glu Met Thr Pro Gln Gln

180	185	190
Gly Asp Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Thr Ser Leu Asp Ser Pro		
195	200	205
Val Thr Val Glu Trp Lys Ala Gln Ser Asp Ser Ala Arg Ser Lys Gly		
210	215	220
Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
225	230	235 240
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe		
245	250	255
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro		
260	265	270
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val		
275	280	285
[0037]		
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr		
290	295	300
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val		
305	310	315 320
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys		
325	330	335
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser		
340	345	350
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro		
355	360	365
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val		
370	375	380
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly		
385	390	395 400

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
405 410 415

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
420 425 430

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
435 440 445

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Trp Ser
450 455 460

His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 31
<211> 118
<212> PRT
<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 31

[0038]

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Ile Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Val Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

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

Ser His Tyr Gly Ser Thr Leu Ala Phe Ala Ser Trp Gly His Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 32

<211> 106

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 32

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

Glu Thr Val Thr Ile Ile Cys Arg Ala Ser Val Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

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

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

[0039]

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

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

<210> 33

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 阿泊珠单抗 VH

<400> 33

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Val Lys Trp Ser Gly Gly Ser Thr Glu Tyr Asn Ala Ala Phe Ile
50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Asn Asp Arg Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

[0040]

<210> 34
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 阿泊珠单抗 VL

<400> 34

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Lys Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

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

<210> 35

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 35

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

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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

[0041]

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

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Lys Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Ile Thr Ala Val Val Pro Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 36

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 36

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

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn
20 25 30

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

Phe Ala Ala Ser Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Thr Thr Pro Trp
85 90 95

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

[0042]

<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 37

Asn Thr Trp Thr Thr Cys Gln Ser Ile
1 5

<210> 38
<211> 468
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4G112 β链

<400> 38

Asn Thr Trp Thr Thr Cys Gln Ser Ile Gly Ser Gly Ser Gly Ser Leu
1 5 10 15

Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Arg Asp Ser Pro Glu Asp Phe Val Phe
20 25 30

Gln Phe Lys Gly Met Cys Tyr Phe Thr Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg
35 40 45

Leu Val Thr Arg Tyr Ile Tyr Asn Arg Glu Glu Tyr Ala Arg Phe Asp
50 55 60

Ser Asp Val Gly Val Tyr Arg Ala Val Thr Pro Gln Gly Arg Pro Asp
65 70 75 80

Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Glu Val Leu Glu Gly Thr Arg Ala
85 90 95

Glu Leu Asp Thr Val Cys Arg His Asn Tyr Glu Val Ala Phe Arg Gly
100 105 110

Ile Leu Gln Arg Arg Val Glu Pro Thr Val Thr Ile Ser Pro Ser Arg
115 120 125

Thr Glu Ala Leu Asn His His Asn Leu Leu Val Cys Ser Val Thr Asp
130 135 140

[0043]

Phe Tyr Pro Gly Gln Ile Lys Val Arg Trp Phe Arg Asn Asp Gln Glu
145 150 155 160

Glu Thr Ala Gly Val Val Ser Thr Pro Leu Ile Arg Asn Gly Asp Trp
165 170 175

Thr Phe Gln Ile Leu Val Met Leu Glu Met Thr Pro Gln Arg Gly Asp
180 185 190

Val Tyr Thr Cys His Val Glu His Pro Ser Leu Gln Ser Pro Ile Thr
195 200 205

Val Glu Trp Arg Ala Gln Ser Glu Ser Ala Gln Ser Lys Gly Gly Gly
210 215 220

Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro
225 230 235 240

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

[0044]

Gln Phe Glu Lys
465

<210> 39
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B117 HCDR1

<400> 39

Ser Tyr Ser Ile His
1 5

<210> 40
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B30 HCDR1

<400> 40

[0045]

Ser Asp Trp Ile Gly
1 5

<210> 41
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B127 和 DR4B98 HCDR1

<400> 41

Ser Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 42
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B117 HCDR2

<400> 42

Tyr Ile Ile Pro Glu Tyr Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 43

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B30 HCDR2

<400> 43

Ile Ile Arg Pro Gly Asp Ser Asp Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

[0046]

<210> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B127 HCDR2

<400> 44

Gly Ile Arg Pro Ile Ser Gly Asn Ala Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 45

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B98 HCDR2

<400> 45

Gly Ile Ala Pro Ile Tyr Gly Thr Ala Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 46
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B117 HCDR3

<400> 46

Gly Arg Tyr Tyr Ile Gly Asn Arg Arg Gly Ser Tyr Tyr Gly Phe Asp
1 5 10 15

Tyr

[0047]

<210> 47
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B30 HCDR3

<400> 47

Glu Ser Tyr Tyr Tyr Val Gly Val Arg Tyr Arg Pro Ser Tyr Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 48
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B127 HCDR3

<400> 48

Asp Ala Ser Tyr Tyr Arg Asn Tyr Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 49

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B98 HCDR3

<400> 49

Asp Ala Ser Trp Ala Arg Ala Tyr Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 50

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B117 LCDR1

<400> 50

[0048]

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B30, DR4B127, DR4B98 LCDR1

<400> 51

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 52

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B117 LCDR2

<400> 52

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 53
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B30, DR4B127, DR4B98 LCDR2

<400> 53

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B117 LCDR3

<400> 54

[0049]

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B30, DR4B127, DR4B98 LCDR3

<400> 55

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 56
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B117 VH (DR4H4) 氨基酸

<400> 56

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

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

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

Gly Tyr Ile Ile Pro Glu Tyr Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Tyr Tyr Ile Gly Asn Arg Arg Gly Ser Tyr Tyr Gly
100 105 110

[0050]

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 57

<211> 127

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B30 VH (DR4H39) 氨基酸

<400> 57

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asp
20 25 30

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

Gly Ile Ile Arg Pro Gly Asp Ser Asp Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

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

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

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

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 58

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B127 VH (DR4H7) 氨基酸

[0051]

<400> 58

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Arg Pro Ile Ser Gly Asn Ala Glu Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Ala Ser Tyr Tyr Arg Asn Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly

100

105

110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 59

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B98 VH (DR4H50) 氨基酸

<400> 59

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

[0052]

Gly Gly Ile Ala Pro Ile Tyr Gly Thr Ala Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Ala Ser Trp Ala Arg Ala Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 60

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B117 VL (PH9L1) 氨基酸

<400> 60

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

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

[0053]

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

<210> 61

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B30, DR4B127, DR4B98 VL

<400> 61

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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile 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 Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 62

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 62

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

[0054]

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

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg

<210> 63

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 63

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg

[0055]

<210> 64

<211> 96

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 64

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

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

<210> 65

<211> 95

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 65

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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

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

[0056]

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 Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro
85 90 95

<210> 66

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 66

Gln Lys Arg Ala Ala
1 5

<210> 67

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 67

Gln Arg Arg Ala Ala
1 5

<210> 68
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 68

Arg Arg Arg Ala Ala
1 5

<210> 69
<211> 462
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4G79 HC

<400> 69

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

Leu Val Leu Leu Arg Cys Asn Tyr Ser Ser Ser Val Pro Pro Tyr Leu
20 25 30

Phe Trp Tyr Val Gln Tyr Pro Asn Gln Gly Leu Gln Leu Leu Leu Lys
35 40 45

Tyr Thr Ser Ala Ala Thr Leu Val Lys Gly Ile Asn Gly Phe Glu Ala
50 55 60

Glu Phe Lys Lys Ser Glu Thr Ser Phe His Leu Thr Lys Pro Ser Ala
65 70 75 80

His Met Ser Asp Ala Ala Glu Tyr Phe Cys Ala Val Ser Glu Ser Pro
85 90 95

Phe Gly Asn Glu Lys Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Thr Ile
100 105 110

Ile Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp
115 120 125

[0057]

Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser
130 135 140

Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp
145 150 155 160

Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala
165 170 175

Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn
180 185 190

Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser
195 200 205

Cys Asp Val Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser
210 215 220

Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

[0058]

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

	340	345	350
	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser		
	355	360	365
	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
	370	375	380
	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
	385	390	395 400
	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val		
	405	410	415
	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
	420	425	430
	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
	435	440	445
[0059]	Leu Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser His His His His His His		
	450	455	460
<210>	70		
<211>	508		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	DRG79 LC		
<400>	70		
	Gly Ser Val Lys Val Thr Gln Ser Ser Arg Tyr Leu Val Lys Arg Thr		
	1	5	10 15
	Gly Glu Lys Val Phe Leu Glu Cys Val Gln Asp Met Asp His Glu Asn		
	20	25	30
	Met Phe Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Leu Gly Leu Arg Leu Ile Tyr		
	35	40	45
	Phe Ser Tyr Asp Val Lys Met Lys Glu Lys Gly Asp Ile Pro Glu Gly		
	50	55	60

Tyr Ser Val Ser Arg Glu Lys Lys Glu Arg Phe Ser Leu Ile Leu Glu
65 70 75 80

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

Thr Gly Leu Pro Tyr Gly Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Arg Leu Thr
100 105 110

Val Val Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe
115 120 125

Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val
130 135 140

Cys Leu Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp
145 150 155 160

Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro
165 170 175

[0060]

Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe
195 200 205

Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr
210 215 220

Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp
225 230 235 240

Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu
245 250 255

Tyr Phe Gln Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
260 265 270

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

	275		280		285
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val					
290		295		300	
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp					
305	310		315		320
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe					
	325		330		335
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp					
	340		345		350
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu					
	355		360		365
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg					
	370		375		380
[0061]					
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys					
385		390		395	400
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp					
	405		410		415
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys					
	420		425		430
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser					
	435		440		445
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser					
	450		455		460
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser					
465		470		475	480
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Gly Gly Gly Ser Asp Tyr Lys Asp					
	485		490		495

Asp Asp Asp Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
500 505

<210> 71
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 波形蛋白 L70A 突变型肽

<400> 71

Ser Ala Val Arg Ala Arg Ser Ser Val Pro Gly Val Arg
1 5 10

<210> 72
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 72

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

[0062]

Ala Tyr Gln Asp Lys
20

<210> 73
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HCDRI 属

<220>
<221> 其他特征
<222> (2).. (2)
<223> Xaa 可为 Tyr 或 Asp

<220>
<221> 其他特征
<222> (3).. (3)
<223> Xaa 可为 Ser, Trp 或 Tyr

<220>
<221> 其他特征
<222> (5).. (5)

<223> Xaa 可为 His 或 Gly

<400> 73

Ser Xaa Xaa Ile Xaa
1 5

<210> 74

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCDR2 属

<220>

<221> 其他特征

<222> (3)..(3)

<223> Xaa 可为 Arg 或 Ala

<220>

<221> 其他特征

<222> (6)..(6)

<223> Xaa 可为 Ser 或 Tyr

[0063]

<220>

<221> 其他特征

<222> (8)..(8)

<223> Xaa 可为 Asn 或 Thr

<220>

<221> 其他特征

<222> (10)..(10)

<223> Xaa 可为 Glu 或 Tyr

<400> 74

Gly Ile Xaa Pro Ile Xaa Gly Xaa Ala Xaa Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 75

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCDR3 属

<220>
<221> 其他特征
<222> (4).. (4)
<223> Xaa 可为 Tyr 或 Trp

<220>
<221> 其他特征
<222> (5).. (5)
<223> Xaa 可为 Tyr 或 Ala

<220>
<221> 其他特征
<222> (7).. (7)
<223> Xaa 可为 Asn 或 Ala

<400> 75

Asp	Ala	Ser	Xaa	Xaa	Arg	Xaa	Tyr	Gly	Phe	Asp	Tyr
1			5						10		

<210> 76
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

[0064]

<220>
<223> LCDR1 属

<220>
<221> 其他特征
<222> (9).. (9)
<223> Xaa 可为 Ser 或缺失

<400> 76

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Xaa	Tyr	Leu	Ala
1			5						10		

<210> 77
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCDR2 属

<220>
<221> 其他特征
<222> (1).. (1)
<223> Xaa 可为 Gly 或 Asp

<220>
<221> 其他特征
<222> (4).. (4)
<223> Xaa 可为 Ser 或 Asn

<220>
<221> 其他特征
<222> (4).. (4)
<223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<400> 77

Xaa Ala Ser Xaa Arg Ala Thr
1 5

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCDR3 属

[0065]

<220>
<221> 其他特征
<222> (3).. (3)
<223> Xaa 可为 Tyr 或 Arg

<220>
<221> 其他特征
<222> (4).. (4)
<223> Xaa 可为 Gly 或 Ser

<220>
<221> 其他特征
<222> (5).. (5)
<223> Xaa 可为 Ser 或 Asn

<220>
<221> 其他特征
<222> (6).. (6)
<223> Xaa 可为 Ser 或 Trp

<400> 78

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Leu Thr
1 5

<210> 79
<211> 378
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B117 VII (DR4H4)多核苷酸

<400> 79

```
caggtagcagc tggtagcagag cggcgcggaa gtagaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg      60
agctgcaaag cgagcggcgg cacccttagc agctattcca ttcactgggt gcgccaggcg      120
cggggccagg gcctggaatg gatgggtac attattccgg agtacgggac tgccaattac      180
ggcagaaat ttcagggcgg cgtgaccatt accgctgatg aaagcaccag caccgcgtat      240
atggaactga gcagccctgg cagcgaagat acccgggtgt attattggcg gcggggccga      300
tactatateg gcaaccgtcg tggcagttat tacggttttg actattgggg ccagggcacc      360
ctggtagaccg tctcgagt      378
```

<210> 80

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

[0066] <223> DR4B117 VL (PH9L1)多核苷酸

<400> 80

```
gagatcgtgc tgaccagag ccccggaacc ctgagcctga gccccggcga gcggggcacc      60
ctgagctgcc gggccagcca gaggctgagc agcagctacc tggcctggta ccagcagaag      120
cccgccagg cccccggct gctgatctac ggcgccagca gccgggccac cgcatcccc      180
gaccggttea gcggcagcgg cagcggcacc gacttcacc tgaccatcag ccgctggag      240
cccgaggact tcgcctgta ctactgccag cagtacggca gcagccccct gaccttcgga      300
cagggcacca aggtggagat caag      324
```

<210> 81

<211> 381

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B30 VH (DR4H39)多核苷酸

<400> 81

```
gaagtgcagc tggtagcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt      60
agctgcaaag gcagcggcta tagctttacc agcgactgga ttggttgggt gcgccagatg      120
```

	ccgggcaaag gcttgggaatg gatgggtatc attcggccgg gcgatagcga tacgtattac	180
	agcccagagct ttcagggccca ggtgaccatt agcggcgata aaagcattag caccgcgtat	240
	ctgcagtgga gcagcctgaa agcgagcgat accgcggtgt attattgcgc gcgtgaatcc	300
	tattattacg ttggcgtgcg ttaccgtcca agctattatt tcgattactg ggcccagggc	360
	accctgggtga ccgtctcgag t	381
	<210> 82	
	<211> 321	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> DR4B30, DR4B127, DR4B98 VL	
	<400> 82	
	gagatcgtgc tgaccagag ccccgccacc ctgagcctga gcccggcga gggggccacc	60
	ctgagctgcc ggccagcca gacgctgagc agctacctgg cctggtacca gcagaagccc	120
	ggccaggccc ccggtctgt gatctacgac gccagcaacc ggccaccgg catccccgcc	180
[0067]	cggttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcacctga ccatcagcag cctggagccc	240
	gaggactteg ccgtgtacta ctgccagcag cggagcaact ggccctgac ctteggccag	300
	ggcaccaagg tggagatcaa g	321
	<210> 83	
	<211> 363	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> DR4B127 VH (DR4H7)多核苷酸	
	<400> 83	
	caggtgcagc tggtcagag cggcgcgga gtaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg	60
	agctgcaaag cgagcggcgg caccittaaa tcctactaca ttcactgggt gcgccaggcg	120
	ccgggccagg gcctggaatg gatgggtgtt attcgtcga tcagcgggaa tgetgagtae	180
	gogcagaaat ttcagggcgg cgtgaccatt accgtgatg aaagcaccag caccgcgtat	240
	atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc gcgcgatgca	300
	agctattatc gtaattacgg ttttgactae tggggccagg gcacctggt gaccgtctcg	360

ugt

363

<210> 84

<211> 452

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B117 HC 氨基酸

<400> 84

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

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

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

Gly Tyr Ile Ile Pro Glu Tyr Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

[0068]

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Tyr Tyr Ile Gly Asn Arg Arg Gly Ser Tyr Tyr Gly
100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
130 135 140

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

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
210 215 220

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala
225 230 235 240

Ala Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

Ala Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

[0069]

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
290 295 300

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400
Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro Gly Lys
450
<210> 85
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> DR4B30 HC 氨基酸
[0070] <400> 85
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asp
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Arg Pro Gly Asp Ser Asp Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Ser Tyr Tyr Tyr Val Gly Val Arg Tyr Arg Pro Ser Tyr
100 105 110

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser
130 135 140

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

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
165 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
180 185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr
195 200 205

Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr
210 215 220

[0071]

Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Gln Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro
225 230 235 240

Ala Ala Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser Ala Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
290 295 300

Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser

	325	330	335
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro			
340	345	350	
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln			
355	360	365	
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala			
370	375	380	
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr			
385	390	395	400
Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu			
405	410	415	
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
420	425	430	
[0072]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
435	440	445	
Leu Ser Pro Gly Lys			
450			
<210>	86		
<211>	447		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	DR4BI27 HC 氨基酸		
<400>	86		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Lys Ser Tyr			
20	25	30	
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	

Gly Gly Ile Arg Pro Ile Ser Gly Asn Ala Glu Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Ala Ser Tyr Tyr Arg Asn Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

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

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

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

[0073]

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

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

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

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val
225 230 235 240

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

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu

	260	265	270
	Val Gln Phe Asn Trp Tyr	Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys	
	275	280	285
	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser		
	290	295	300
	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
	305	310	315 320
	Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile		
	325	330	335
	Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
	340	345	350
	Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
	355	360	365
[0074]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
	370	375	380
	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser		
	385	390	395 400
	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
	405	410	415
	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
	420	425	430
	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
	435	440	445
	<210> 87		
	<211> 447		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> DR4B98 HC 氨基酸		

<400> 87

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ala Pro Ile Tyr Gly Thr Ala Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

[0075]

Ala Arg Asp Ala Ser Trp Ala Arg Ala Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys

210	215	220
Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val		
225	230	235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
	245	250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu		
	260	265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
	275	280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser		
	290	295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
305	310	315 320
[0076]		
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile		
	325	330 335
Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
	340	345 350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
	355	360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
	370	375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser		
385	390	395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
	405	410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
	420	425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 88

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B117 LC 氨基酸

<400> 88

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

[0077]

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

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

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

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

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

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

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

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

	165	170	175
	Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val		
	180	185	190
	Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys		
	195	200	205
	Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
	210	215	
	<210> 89		
	<211> 214		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> DR4B30, DR4B127, DR4B98 J.C		
	<400> 89		
[0078]	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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr		
	20 25 30		
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile		
	35 40 45		
	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile 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 Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu		
	85 90 95		
	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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

[0079]

<210> 90
<211> 1356
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B117 HC

<400> 90
caggatgcagc tggatgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg 60
agctgcaaag cgagcggcgg caccatttagc agctattcca ttcactgggt gcgccaggcg 120
cgggcccagg gcctggaatg gatgggctac attattccgg agtacgggac tgccaattac 180
ggcagaaaat ttcagggcgg cgtgaccatt accgctgatg aaagcaccag caccgcgtat 240
atggaactga gcagcctggc cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc gcgcggccga 300
tactatatacg gcaaccgtcg tggcagttat tacggttttg actattgggg ccagggcacc 360
ctggtgaccg tctcgagtgc ctccaccaag ggcccatcgg tcttccccct ggcccccctgc 420
tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc 480
gaaccggtga cgggtgctgt gaaatcagge gctctgacca gcggcgtgca cactttccca 540
gtgttcctac agtctcagg actctactcc ctccagcagc tggtaaccgt gccctccagc 600

aacttcggca cccagaccta caccgtgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg 660
gacaagacag ttgagcgcaa atgtttgttc gagtgccac cgtgccacc accacctgcc 720
gcagccagct cagtcttctt ctcccccca aaacccaagg acacctcat gatctccgg 780
aacctgagg tcaagtgcgt ggtggtggac gtgagcgcc aagacccga ggtccagttc 840
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccacg ggaggagcag 900
ttcaacagca cgttccgtgt ggtcagcgtc ctcacgttc tgcaccagga ctggctgaac 960
ggcaaggagt acaagtgcga ggtctccaac aaaggcctcc catctccat cgagaaaacc 1020
atctccaaaa ccaaggga gccccgagaa ccacagggt acacctgcc cccatccgg 1080
gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccaccg 1140
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccacacct 1200
cccatgctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcacgt ggacaagagc 1260
aggtggcagc aggggaacgt ctctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1320
tacagcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa 1356

[0080]

<210> 91
<211> 1359
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B30 HC

<400> 91
gaagtgcagc tggtcagag eggcgaggaa gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt 60
agctgcaaag gcagcggtta tagctttacc agcgactgga ttggttgggt gcgccagatg 120
ccgggcaaaag gcttggaatg gatgggtatc attcgcccg gcgatatgca tacgtattac 180
agcccagctt ttcaggcca ggtgaccatt agcgcgga taagcattag caccgcgtat 240
ctgcagtgga gcagcctgaa agcgagcgat accgcggtgt attattgcgc gcgtgaatcc 300
tattattacg ttggcgtgcg ttaccgtcca agctattatt tcgattactg gggccagggc 360
accttggtga ccgtctcgag tgcctccacc aagggcccat cggctctccc cctggcgccc 420
tgctccagga gcacctcca gagcacagcc gccctgggt gcctgtgcaa ggactacttc 480
ccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgtctga ccagcggtt gcacaccttc 540
ccagctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc 600

agcaacttcg gcaccagac ctacacctgc aacgtagatc acaagcccag caacaccaag	660
gtggacaaga cagttagcgc caaatgttgt gtcagtgcc caccgtgcc agcaccacct	720
gccgcagcca gctcagtcct cctcttcccc ccaaaaacca aggacacct catgatctcc	780
cggaccctcg aggtcacgtg cgtggtggtg gacgtgagcg ccgaagacc cgaggtccag	840
ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggt cataatgcc agacaaagcc acgggaggag	900
cagtccaaca gcacgttcgg tgtggtcagc gtctcaccg ttctgcacca ggactggctg	960
aaaggcangg agtacangtg caaggctccc acaaaaggcc tccctcttc catcgagaaa	1020
accatctcca aaaccaaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gcccccctcc	1080
cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggicaaagg cttctacccc	1140
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccaca	1200
cctcccctgc tggactccga cggctecttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag	1260
agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgcctcgtga tgcattgagc tctgcacaac	1320
cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaa	1359

[0081]

<210> 92
 <211> 1341
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> DR4B127 HC

<400> 92	
caggctcagc tggctcagag cggcgccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg	60
agctgcaaag cgagcggcgg cacccttaaa tctactaca ttactgggt gcgccagcgc	120
ccgggccagg gcctggaatg gatgggtggt attcgtccga tcagcgggaa tgcctgagtc	180
gcgcagaaat ttcagggccg cgtgaccatt accgctgatg aaagcaccag caccgcgtat	240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc gcgcgatgca	300
agctattatc gtaattacgg ttttgactac tggggccagg gcacctggt gacctctccg	360
agtgcctcca ccaagggccc atcggtcttc cccctggccc cctgctccag gagcacctcc	420
gagagcacag ccgcccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaac ggtgacggtg	480
tctgtggaact caggcgtctt gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtc	540

```

tcaggactct actccctcag cagcgigggtg accgtgccct ccagcaactt cggcaccacg      600
acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag      660
cgcaaatggt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgccgcagc cagctcagtc      720
ttctcttccc ccccaaaaac caaggacacc ctcatgactc cccggacccc tgaggctcag      780
tgcgtgggtg tggaactgag cgcgaagac cccgaggctc agttcaactg gtacgtggac      840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcacgttc      900
cgtgtggta cgcgtctcac cgtctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag      960
tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccatcc tccatcgaga aaacctctc caaaaccaaa     1020
gggcagcccc gagaaccaca gggttacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag     1080
aaccaggtca gctgacctg cctggtaaaa ggtttctacc ccagcgactc cgcgtggag      1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cacttcccat gctggactcc     1200
gaeggtctct tcttctctc cagcaagtc accgtggaca agagcagggt gcagcagggg     1260
aacgtcttct catgctcgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc     1320
ctctccctgt ctccgggtaa a                                     1341

```

[0082]

<210> 93
 <211> 1341
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> DR4B98 HC

```

<400> 93
cagggtgcagc tgggtcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg      60
agctgcaaaag cgagcggcgg cacccttaag tctattata ttcattgggt gcgccaggcg     120
ccgggccagg gccctggaatg gatgggcggt attgcaecaa ttacggcac cgttactac      180
gcgcagaaat ttcagggcgg cgtgaccatt accgtgatg aaagcaccag caccgcgtat      240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgocg gcgtgatgca      300
agttgggcac gtgcatacgg ttctgattat tggggccagg gcacctggt gaccgtctcg      360
agtgccacca ccaagggccc ateggtcttc cccctggcgc cctgcctcag gageaccttc     420
gagagcacag ccgccctggg ctgccggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg      480
tcgtggaact caggcgtctt gaccagcgge gtgcacacct tcccagctgt cctacagtc     540

```

tcaggactct actccctcag cagcgtgggtg accgtgccct ccagcaactt cggcaccacg	600
acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag	660
cgc aaatggtt gigtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgccgcage cagctcagtc	720
ttctcttctc ccccaaaacc caaggacacc ctcattgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
tgcgtgggtg tggacgtgag cgcgaagac cccgagggtc agttcaactg gtacgtggac	840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcagcttc	900
cgtgtgggtc gcgtcctcac cgttctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
tgc aaggctt ccaacaaagg cctcccatcc tccatcgaga aaaccatctc caaaaccaaa	1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccct cccgggagga gatgaccaag	1080
aaccaggtea gcctgacctg cctggtaaaa ggtctctacc ccagcgacat cgcctgggag	1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagaaca cactcctcat gctggactcc	1200
gacggtcctt tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg	1260
aaagtcttct catgtcctgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagage	1320
[0083] ctctccctgt ctcgggtaa a	1341

<210> 94

<211> 645

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B117 LC

<400> 94

gagatcgtgc tgaccagag ccccgccacc ctgagcctga gccctggcga gcgggccacc	60
ctgagctgcc gggccagcca gagcgtgagc agcagctacc tggccttgta ccagcagaag	120
cccgccaggg ccccccggcl gctgatctac ggcgccagca gccgggccac cggcatcccc	180
gaccggttca gcggcagcgg cagcggcacc gacttcacce tgaccatcag ccggttgag	240
cccgaggact tcgccttgta ctactgccag cagtacggca gcagccccct gaccttcggc	300
cagggcacca aggtggagat caagcggacc gtggccgecc ccagcgtgtt catcttcccc	360
cccagcgacg agcagctgaa gagcggaacc gcaagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc	420
tacccccggg aggccaaagt gcagtggaa gttggacaacg cctgcagag cggcaacagc	480

caggagagcg tgaccgagca ggacagcaag gacagcacct acagcctgag cagcaccctg 540
accctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtaag ctggcgaggt gaccaccag 600
ggcctgagca gcccctgac caagagcttc aaccggggcg agtgc 645

<210> 95
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B30, DR4B127, DR4B98 LC

<400> 95
gagatcgtgc tgaccagag ccccgccacc ctgagcctga gcccgggga gggggccacc 60
ctgagctgcc gggccagcca gagegtgagc agctacctgg cctggtagca gcagaagccc 120
ggccaggccc cccggtgct gatctagac gccagcaacc gggccaccgg catccccccc 180
cggttcagcg gcagcggcag cggcacgac ttcacctga ccatcagcag cctggagccc 240
gaggactteg ccgtgtacta ctgccagcag cggagcaact ggcacctgac cttcggccag 300
ggcaccgaagg tggagatcaa gggaccgtg gccgcccga gcgtgttcat ctccccccc 360
agcgacgagc agctgaagag cggaaccgca agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaaegccc tgcagagcgg caacagccag 480
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcactaca gcctgagcag caccctgacc 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgctt gcgaggtgac ccaccagggc 600
ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

[0084]

<210> 96
<211> 456
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B391 HC 蛋白质

<400> 96

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

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

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

Gly Tyr Ile Ile Pro Glu Tyr Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Tyr Tyr Ile Gly Asn Arg Arg Gly Ser Tyr Tyr Gly
100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
130 135 140

[0085]

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

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
195 200 205

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
210 215 220

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
225 230 235 240

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

	245		250		255
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val					
	260		265		270
Val Asp Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val					
	275		280		285
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln					
	290		295		300
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln					
305		310		315	320
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala					
	325		330		335
Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro					
	340		345		350
[0086]					
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr					
	355		360		365
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser					
	370		375		380
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr					
385		390		395	400
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr					
	405		410		415
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe					
	420		425		430
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys					
	435		440		445
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
	450		455		

<210> 97
 <211> 457
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> DR4B396 HC 蛋白质

<400> 97

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asp
 20 25 30

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

Gly Ile Ile Arg Pro Gly Asp Ser Asp Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60

[0087]

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

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

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

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 115 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 130 135 140

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

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 165 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu

180	185	190
Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr 195 200 205		
Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys 210 215 220		
Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro 225 230 235 240		
Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys 245 250 255		
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val 260 265 270		
Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr 275 280 285		
[0088]		
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu 290 295 300		
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His 305 310 315 320		
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys 325 330 335		
Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln 340 345 350		
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met 355 360 365		
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro 370 375 380		
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn 385 390 395 400		

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
405 410 415

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
420 425 430

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
435 440 445

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 98

<211> 451

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B392 HC 蛋白质

<400> 98

[0089]

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Arg Pro Ile Ser Gly Asn Ala Glu Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Ala Ser Tyr Tyr Arg Asn Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

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

115	120	125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
130	135	140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
145	150	155
160		
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		
165	170	175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val		
180	185	190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His		
195	200	205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys		
210	215	220
[0090]		
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly		
225	230	235
240		
Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
245	250	255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala		
260	265	270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
275	280	285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
290	295	300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
305	310	315
320		
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile		
325	330	335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

[0091]

Pro Gly Lys
450

<210> 99

<211> 451

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B401 HC 蛋白质

<400> 99

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ala Pro Ile Tyr Gly Thr Ala Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe

50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90 95
Ala Arg Asp Ala Ser Trp Ala Arg Ala Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly		
100	105	110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		
115	120	125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
130	135	140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
145	150	155 160
[0092]		
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		
	165	170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val		
180	185	190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His		
195	200	205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys		
210	215	220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly		
225	230	235 240
Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
	245	250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala		
260	265	270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

[0093]

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 100

<211> 1368

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B391 HC 多核苷酸

[0094]	<400> 100	
	caggatgcagc tggatgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg	60
	agctgcaaag cgagcggcgg cacccttagc agctattcca ttacatgggt gcgccaggcg	120
	ccgggccagg gcctggaatg gatgggtac attattccgg agtacgggac tgccaattac	180
	gcgcagaaat ttcagggcgg cgtgaccatt accgtgatg aaagcaccag caccgcgtat	240
	atggaaactga gcagcctggc cagcgaagat accgcggigi attatlgcgc gcggggccga	300
	tactatatcg gcaaccgtcg tggcagttat taagggtttg actatgggg ccagggcacc	360
	ctggtgaccg tctcagtgcc ctccaccaag ggcctatcg tcttccccct ggcacctcc	420
	tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtaagga ctacttccc	480
	gaaccggtga cgggtgctg gaactcagge gccctgacca gggcgctgca cacttccc	540
	gtgttctac agtctcagg actctactcc ctcagcagcg tggtagcgt gccctcagc	600
	agcttgggca cccagacctc catctgcaac gtgaatcaca agcccagca caccaagggtg	660
	gacaagaaag ttgagcccaa atctgtgac aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca	720
	cctgaagcag caggggcac ttcagtcttc ctcttcccc caaaacccaa ggacacctc	780
	atgatctccc ggaccttga ggacacatgc ggggtgggg acgtgagcgc cgaagacct	840
	gaggtcaagi tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc ataagccaa gacaaagcgc	900
	cggagaggagc agtacaacag cacttaccgt gtggtcagcg tcttcaccgt cctgcaccag	960
	gaactggtga atggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaagccct cccatctcc	1020
	atcgagaaaa ccctctccaa agccaaaggc cagccccgag aaccacaggt gtacacctg	1080
	cccccatccc gggaggagat gaccaagaac caggtcagcc tgacctgctt ggtaaaagc	1140
	ttctatccca gcgacatgc cgtggagigg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac	1200
	aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac ggctctctct tctctacag caagctcacc	1260
	gtggacaaga gcaggtggca gcagggggaa gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct	1320
	ctgcacaacc actacacgca gaagagcttc tccctgtctc cgggtaaa	1368
	<210> 101	
	<211> 1371	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

<223> DR4B396 HC 多核苷酸

<400> 101

gaagtgcagc tgggtgcagag cggcgccggaa gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt	60
agctgcaaag gcagcggcta tagctttacc agcgactgga ttggttgggt gcgccagatg	120
cggggcaaag gcttggaatg gatgggtate attcgcccg gcgatagega tacgtattac	180
agcccgagct ttcagggcea ggtgaccatt agcgccgata aaagcattag caccgcgtat	240
ctgcagtgga gcagcctgaa agcgagcgat acccggtgtt attattggcg gcgtgaatcc	300
tattattacg ttggcgtgag ttaccgtcca agctattati tcgattactg gggccagggc	360
accttggtga cegtcctgag tgcctccacc aagggeccat cggctctccc cctggaaccc	420
tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gccctggcna ggactacttc	480
cccgaaacgg tgacggtgta gtgaaactca ggccgctga ccagcggcgt gcacaccttc	540
ccggtgttcc tacagtcttc aggaactctc tccctcagca gcgtggtagc cgtgcctccc	600
agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag	660
gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt gacaaaactc acacatgccc accgtgccc	720
gcacctgaag cagcaggggc atcttcagtc ttctctctcc ccccaaaacc caaggacacc	780
ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag cgcgaagac	840
cctgaggcca agttcaactg gtaactggac ggctggagg tgcataatgc caagacaaag	900
ccgcgaggag agcagtaaca cagcacgtac cgtgtggtca gcgtccctac cgtcctgcac	960
caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggctt ccaacaaagc cctcccatcc	1020
tccatcgaga aaacctctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc	1080
ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag aaccaggtea gcctgacctg cctgggtcaaa	1140
ggtttctatc ccagcgacat cgcctggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac	1200
tacaagacca cgcctccctg gctggactcc gacggtctct tcttctctta cagcaagctc	1260
accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtctctt catgctccgt gatgcatgag	1320
gcctctgcaca accactacac gcagaagage ctctccctgt ctccgggtaa a	1371

[0095]

<210> 102

<211> 1353

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B392 HC 多核苷酸

<400> 102

cagggtgcagc tgggtgcagag cggcgccggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg	60
agctgcuaag cgagcggcgg caectttaaa tcciaactaca ttcactgggt gcgccagcgc	120
cggggcccagg gcctggaaatg gatgggtggt attcgtccga tcagcgggaa tgetgagtac	180
gcgcagaaat ttcagggcgc cgtgaaccatt accgtgatg aaagcaccag caccgcgtat	240
atggaactga gcagccctgc cagcgaagat accgcgggtg attattgcgc gcgcgatgca	300
agctattatc gtaattacgg ttltgactac tggggccagg gcacctgggt gacgctctcg	360
agtgcctcca ccaaggcccc atcggctctc cccctggcac cctctccaa gacacacct	420
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg	480
tgttggaact caggcgcct gaccagcggc gtgcacacct tccccgctgt cctacagtc	540
tcaggactct actccctcag cagcgtgggt accgtgcct ccagcagctt ggcacccag	600
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag	660
cccaaattct gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgc cagcactga agcagcaggg	720
gcattctcag tcttctctt cccccaaaa cccaaggaca cctctatgat ctcccgacc	780
cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agcgcggaag accctgaggt caagtccaac	840
tgttacgtgg accgcgtgga ggtgcataat gccaaagaca ncccgcggga ggagcagtac	900
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtctc accgtctgc accaggactg gctgaatgc	960
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctccat cctccatga gaaaaccatc	1020
tccaaagcca aaggcagcc ccgagaacca cagggtgaca cctgcccc atccgggag	1080
gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggta aaggtctcta tcccagcgc	1140
atcgcctgg agtgggagag caatgggcag ccgagaaca actacaagac cagcctccc	1200
gtcttgact ccgacggctc ctcttctctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg	1260
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatctcc gtgatgatg aggtcttga caaccactac	1320
acgcagaaga gccctcccc gctccgggt aaa	1353

[0096]

<210> 103

<211> 1353

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B401 多核苷酸

<400> 103

cagggtgcagc tgggtgcagag cggcgccggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg	60
agctgcaaag cgagcggcgg cacctttaag tctattata ttcatgggt gcgccaggcg	120
ccgggccagg gcctggaatg gatgggcggt attgcacaa ttacggcac cgttactac	180
ggcagaaat tttagggccg cgtgaccatt accgtgatg aaagcaccag caccgcgtat	240
atggaactga gcagcctgg cagcgaagat accgcggtgt attattggc gcgtgatgca	300
agttgggcac gtgcatacgg ttttgattat tggggccagg gcaccctggt gaccgtctcg	360
agtgccctca ccaaggccc atcggcttc cccctggcac cctctctcaa gacacctct	420
gggggcacag cggccctggg ctgcctggc aaggactact tcccgaacc ggtgacggtg	480
tcttggaact cagggccct gaccagcgge gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc	540
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcaccacg	600
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag	660
cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgac cagcactga agcagcaggg	720
gcatcttcag tcttctctt cccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccgacc	780
cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agcgcgaag acctgaggt caagtcaac	840
tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaaa agccgcggga ggagcagtac	900
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtctc accgtctgc accaggactg gctgaatggc	960
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccat cctccatga gaaaaccatc	1020
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca cctgcccc atcccgagg	1080
gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aagcttcta tcccagcac	1140
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccgagaaca actacaagac cagcctccc	1200
gtcctggact ccgacggctc ctctctctc tacagcaagc tcaccgiga caagacagg	1260
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgatg aggtcttgca caaccactac	1320
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaa	1353

[0097]

<210> 104

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 104

Lys Met Arg Met Ala Thr Pro Leu Leu Met Gln Ala Leu Pro Met
1 5 10 15

<210> 105

<211> 198

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 105

Gly Asp Thr Arg Pro Arg Phe Leu Glu Tyr Ser Thr Ser Glu Cys His
1 5 10 15

Phe Phe Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Tyr Leu Asp Arg Tyr Phe His
20 25 30

Asn Gln Glu Glu Asn Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Phe Arg
35 40 45

[0098]

Ala Val Thr Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln
50 55 60

Lys Asp Leu Leu Glu Gln Lys Arg Gly Arg Val Asp Asn Tyr Cys Arg
65 70 75 80

His Asn Tyr Gly Val Val Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val His
85 90 95

Pro Lys Val Thr Val Tyr Pro Ser Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His
100 105 110

Asn Leu Leu Val Cys Ser Val Ser Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu
115 120 125

Val Arg Trp Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser
130 135 140

Thr Gly Leu Ile His Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met
145 150 155 160

Leu Glu Thr Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu
165 170 175

His Pro Ser Val Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser
180 185 190

Glu Ser Ala Gln Ser Lys
195

<210> 106

<211> 198

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 106

Gly Asp Thr Arg Pro Arg Phe Leu Glu Gln Val Lys His Glu Cys His
1 5 10 15

Phe Phe Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg Tyr Phe Tyr
20 25 30

[0099]

His Gln Glu Glu Tyr Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg
35 40 45

Ala Val Thr Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln
50 55 60

Lys Asp Ile Leu Glu Asp Glu Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg
65 70 75 80

His Asn Tyr Gly Val Val Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Tyr
85 90 95

Pro Glu Val Thr Val Tyr Pro Ala Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His
100 105 110

Asn Leu Leu Val Cys Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu
115 120 125

Val Arg Trp Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser
130 135 140

Thr Gly Leu Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met
145 150 155 160

Leu Glu Thr Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu
165 170 175

His Pro Ser Leu Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser
180 185 190

Glu Ser Ala Gln Ser Lys
195

<210> 107

<211> 198

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 107

Gly Asp Thr Arg Pro Arg Phe Leu Glu Glu Val Lys Phe Glu Cys His
1 5 10 15

[0100]

Phe Phe Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Leu Leu Glu Arg Arg Val His
20 25 30

Asn Gln Glu Glu Tyr Ala Arg Tyr Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg
35 40 45

Ala Val Thr Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln
50 55 60

Lys Asp Leu Leu Glu Arg Arg Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg
65 70 75 80

His Asn Tyr Gly Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Gln
85 90 95

Pro Lys Val Thr Val Tyr Pro Ser Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His
100 105 110

Asn Leu Leu Val Cys Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu
115 120 125

Val Arg Trp Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser
130 135 140

Thr Gly Leu Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met
145 150 155 160

Leu Glu Thr Val Pro Gln Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu
165 170 175

His Pro Ser Val Met Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser
180 185 190

Glu Ser Ala Gln Ser Lys
195

<210> 108

<211> 198

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 108

[0101]

Gly Asp Thr Arg Pro Arg Phe Leu Trp Gln Pro Lys Arg Glu Cys His
1 5 10 15

Phe Phe Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg Tyr Phe Tyr
20 25 30

Asn Gln Glu Glu Ser Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Phe Arg
35 40 45

Ala Val Thr Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln
50 55 60

Lys Asp Ile Leu Glu Gln Ala Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg
65 70 75 80

His Asn Tyr Gly Val Val Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Gln
85 90 95

Pro Lys Val Thr Val Tyr Pro Ser Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His
100 105 110

Asn Leu Leu Val Cys Ser Val Ser Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu
115 120 125

Val Arg Trp Phe Leu Asn Gly Gln Glu Glu Lys Ala Gly Met Val Ser
130 135 140

Thr Gly Leu Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met
145 150 155 160

Leu Glu Thr Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu
165 170 175

His Pro Ser Val Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser
180 185 190

Glu Ser Ala Gln Ser Lys
195

<210> 109

<211> 472

<212> PRT

[0102] <213> 人工序列

<220>

<223> DR4G143 β 链

<400> 109

Ser Ala Val Arg Ala Arg Ser Ser Val Pro Gly Val Arg Gly Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly Asp Thr Arg Pro
20 25 30

Arg Phe Leu Glu Gln Val Lys His Glu Cys His Phe Phe Asn Gly Thr
35 40 45

Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg Tyr Phe Tyr His Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg Ala Val Thr Glu Leu
65 70 75 80

Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Leu Leu Glu

85	90	95
Gln Lys Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His Asn Tyr Gly Val		
100	105	110
Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Tyr Pro Glu Val Thr Val		
115	120	125
Tyr Pro Ala Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His Asn Leu Leu Val Cys		
130	135	140
Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp Phe Arg		
145	150	155
160		
Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser Thr Gly Leu Ile Gln		
165	170	175
Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu Glu Thr Val Pro		
180	185	190
[0103]		
Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Pro Ser Leu Thr		
195	200	205
Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu Ser Ala Gln Ser		
210	215	220
Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly Gly		
225	230	235
240		
Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser		
245	250	255
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
260	265	270
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro		
275	280	285
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
290	295	300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

[0104]

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 110

<211> 472

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4G142 β 链

<400> 110

Ser Ala Val Arg Ala Arg Ser Ser Val Pro Gly Val Arg Gly Ser Gly

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

[0105]

Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

[0106]

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 111

<211> 474

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4G119 β 链

<400> 111

Ala Cys Pro Lys Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly Asp Thr
20 25 30

[0107]

Arg Pro Arg Phe Leu Glu Glu Val Lys Phe Glu Cys His Phe Phe Asn
35 40 45

Gly Thr Glu Arg Val Arg Leu Leu Glu Arg Arg Val His Asn Gln Glu
50 55 60

Glu Tyr Ala Arg Tyr Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg Ala Val Thr
65 70 75 80

Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Leu
85 90 95

Leu Glu Arg Arg Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His Asn Tyr
100 105 110

Gly Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Gln Pro Lys Val
115 120 125

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

Val Cys Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp
145 150 155 160

Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser Thr Gly Leu
165 170 175

Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu Glu Thr
180 185 190

Val Pro Gln Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Pro Ser
195 200 205

Val Met Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu Ser Ala
210 215 220

Gln Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly
225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
245 250 255

[0108]

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
450 455 460

[0109] Gly Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 112
<211> 473
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4G117 β 链

<400> 112

Leu Gln Tyr Met Arg Ala Asp Gln Ala Ala Gly Gly Leu Arg Gly Ser
1 5 10 15

Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly Asp Thr Arg
20 25 30

Pro Arg Phe Leu Glu Tyr Ser Thr Ser Glu Cys His Phe Phe Asn Gly
35 40 45

Thr Glu Arg Val Arg Tyr Leu Asp Arg Tyr Phe His Asn Gln Glu Glu
50 55 60

Asn Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Phe Arg Ala Val Thr Glu
65 70 75 80

Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Leu Leu
85 90 95

Glu Gln Lys Arg Gly Arg Val Asp Asn Tyr Cys Arg His Asn Tyr Gly
100 105 110

Val Val Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val His Pro Lys Val Thr
115 120 125

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

Cys Ser Val Ser Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp Phe
145 150 155 160

Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser Thr Gly Leu Ile
165 170 175

[0110]

His Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu Glu Thr Val
180 185 190

Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Pro Ser Val
195 200 205

Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu Ser Ala Gln
210 215 220

Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
245 250 255

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
260 265 270

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
275 280 285

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
290 295 300

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
305 310 315 320

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
325 330 335

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
340 345 350

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
355 360 365

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
370 375 380

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
385 390 395 400

[0111]

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
405 410 415

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
420 425 430

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
450 455 460

Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 113

<211> 480

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4G110 β 链

<400> 113

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

Ala Tyr Gln Asp Lys Gly Ser Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe
20 25 30

Gln Gly Pro Gly Asp Thr Arg Pro Arg Phe Leu Glu Gln Val Lys His
35 40 45

Glu Cys His Phe Phe Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg
50 55 60

Tyr Phe Tyr His Gln Glu Glu Tyr Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly
65 70 75 80

Glu Tyr Arg Ala Val Thr Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp
85 90 95

[0112]

Asn Ser Gln Lys Asp Leu Leu Glu Gln Lys Arg Ala Ala Val Asp Thr
100 105 110

Tyr Cys Arg His Asn Tyr Gly Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg
115 120 125

Arg Val Tyr Pro Glu Val Thr Val Tyr Pro Ala Lys Thr Gln Pro Leu
130 135 140

Gln His His Asn Leu Leu Val Cys Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly
145 150 155 160

Ser Ile Glu Val Arg Trp Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly
165 170 175

Val Val Ser Thr Gly Leu Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr
180 185 190

Leu Val Met Leu Glu Thr Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys
195 200 205

Gln Val Glu His Pro Ser Leu Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg
210 215 220

Ala Arg Ser Glu Ser Ala Gln Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp
225 230 235 240

Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala
245 250 255

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
260 265 270

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
275 280 285

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
290 295 300

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
305 310 315 320

[0113]

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
325 330 335

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
340 345 350

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
355 360 365

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
370 375 380

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

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
405 410 415

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
420 425 430

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
435 440 445

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
450 455 460

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470 475 480

<210> 114

<211> 474

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4G104 β 链

<400> 114

Ala Cys Pro Lys Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly
1 5 10 15

[0114]

Ser Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly Asp Thr
20 25 30

Arg Pro Arg Phe Leu Glu Gln Val Lys His Glu Cys His Phe Phe Asn
35 40 45

Gly Thr Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg Tyr Phe Tyr His Gln Glu
50 55 60

Glu Tyr Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg Ala Val Thr
65 70 75 80

Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Ile
85 90 95

Leu Glu Asp Glu Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His Asn Tyr
100 105 110

Gly Val Val Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Tyr Pro Glu Val
115 120 125

Thr Val Tyr Pro Ala Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His Asn Leu Leu
130 135 140

Val Cys Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp
145 150 155 160

Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser Thr Gly Leu
165 170 175

Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu Glu Thr
180 185 190

Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Pro Ser
195 200 205

Leu Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu Ser Ala
210 215 220

Gln Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly
225 230 235 240

[0115]

Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
450 455 460

[0116]

Gly Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 115

<211> 474

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4G103 β 链

<400> 115

Ala Cys Pro Lys Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly Asp Thr
20 25 30

Arg Pro Arg Phe Leu Trp Gln Pro Lys Arg Glu Cys His Phe Phe Asn
35 40 45

Gly Thr Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg Tyr Phe Tyr Asn Gln Glu
50 55 60

Glu Ser Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Phe Arg Ala Val Thr
65 70 75 80

Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Ile
85 90 95

Leu Glu Gln Ala Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His Asn Tyr
100 105 110

Gly Val Val Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Gln Pro Lys Val
115 120 125

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

Val Cys Ser Val Ser Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp
145 150 155 160

[0117]

Phe Leu Asn Gly Gln Glu Glu Lys Ala Gly Met Val Ser Thr Gly Leu
165 170 175

Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu Glu Thr
180 185 190

Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Pro Ser
195 200 205

Val Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu Ser Ala
210 215 220

Gln Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly
225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

[0118]

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
450 455 460

Gly Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 116

<211> 476

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4G101 β 链

<400> 116

Glu Pro Gly Ile Ala Gly Phe Lys Gly Glu Gln Gly Pro Lys Gly Glu
1 5 10 15

Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly
20 25 30

Asp Thr Arg Pro Arg Phe Leu Glu Gln Val Lys His Glu Cys His Phe
35 40 45

Phe Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg Tyr Phe Tyr His
50 55 60

Gln Glu Glu Tyr Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg Ala
65 70 75 80

[0119]

Val Thr Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys
85 90 95

Asp Ile Leu Glu Asp Glu Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His
100 105 110

Asn Tyr Gly Val Val Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Tyr Pro
115 120 125

Glu Val Thr Val Tyr Pro Ala Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His Asn
130 135 140

Leu Leu Val Cys Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val
145 150 155 160

Arg Trp Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser Thr
165 170 175

Gly Leu Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu
180 185 190

Glu Thr Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His
195 200 205

Pro Ser Leu Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu
210 215 220

Ser Ala Gln Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln
225 230 235 240

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
245 250 255

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
260 265 270

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
275 280 285

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
290 295 300

[0120]

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
305 310 315 320

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
325 330 335

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
340 345 350

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
355 360 365

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
370 375 380

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
385 390 395 400

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr	405	410	415
	420	425	430
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val	435	440	445
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu	450	455	460
Ser Leu Gly Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys	465	470	475

<210> 117
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> DR4G101 β链

[0121] <400> 117

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

Val Val Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Tyr Pro Glu Val Thr
115 120 125

Val Tyr Pro Ala Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His Asn Leu Leu Val
130 135 140

Cys Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp Phe
145 150 155 160

Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser Thr Gly Leu Ile
165 170 175

Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu Glu Thr Val
180 185 190

Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Pro Ser Leu
195 200 205

Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu Ser Ala Gln
210 215 220

[0122]

Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
245 250 255

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
260 265 270

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
275 280 285

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
290 295 300

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
305 310 315 320

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

	325	330	335	
	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys			
	340	345	350	
	Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
	355	360	365	
	Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
	370	375	380	
	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
	385	390	395	400
	Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
	405	410	415	
	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys			
	420	425	430	
[0123]	Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
	435	440	445	
	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly			
	450	455	460	
	Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys			
	465	470		
	<210> 118			
	<211> 473			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> DR4G97 β 链			
	<400> 118			
	Leu Gln Tyr Met Arg Ala Asp Gln Ala Ala Gly Gly Leu Arg Gly Ser			
	1	5	10	15
	Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly Asp Thr Arg			
	20	25	30	

Pro Arg Phe Leu Trp Gln Pro Lys Arg Glu Cys His Phe Phe Asn Gly
35 40 45

Thr Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg Tyr Phe Tyr Asn Gln Glu Glu
50 55 60

Ser Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Phe Arg Ala Val Thr Glu
65 70 75 80

Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Ile Leu
85 90 95

Glu Gln Ala Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His Asn Tyr Gly
100 105 110

Val Val Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Gln Pro Lys Val Thr
115 120 125

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

[0124]

Cys Ser Val Ser Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp Phe
145 150 155 160

Leu Asn Gly Gln Glu Glu Lys Ala Gly Met Val Ser Thr Gly Leu Ile
165 170 175

Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu Glu Thr Val
180 185 190

Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Pro Ser Val
195 200 205

Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu Ser Ala Gln
210 215 220

Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro

	245	250	255
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser			
	260	265	270
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp			
	275	280	285
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn			
	290	295	300
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val			
	305	310	315
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
	325	330	335
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys			
	340	345	350
[0125]			
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
	355	360	365
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
	370	375	380
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
	385	390	395
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
	405	410	415
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys			
	420	425	430
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
	435	440	445
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly			
	450	455	460

Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 119

<211> 474

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4G96 β 链

<400> 119

Lys Met Arg Met Ala Thr Pro Leu Leu Met Gln Ala Leu Pro Met Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly Asp Thr
20 25 30

Arg Pro Arg Phe Leu Trp Gln Leu Lys Phe Glu Cys His Phe Phe Asn
35 40 45

[0126] Gly Thr Glu Arg Val Arg Leu Leu Glu Arg Cys Ile Tyr Asn Gln Glu
50 55 60

Glu Ser Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg Ala Val Thr
65 70 75 80

Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Leu
85 90 95

Leu Glu Gln Arg Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His Asn Tyr
100 105 110

Gly Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Glu Pro Lys Val
115 120 125

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

Val Cys Ser Val Ser Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp
145 150 155 160

Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Ala Gly Val Val Ser Thr Gly Leu

[0127]

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
450 455 460

Gly Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 120

<211> 474

<212> PRT

[0128] <213> 人工序列

<220>

<223> DR4G86 β 链

<400> 120

Lys Met Arg Met Ala Thr Pro Leu Leu Met Gln Ala Leu Pro Met Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly Asp Thr
20 25 30

Arg Pro Arg Phe Leu Glu Gln Val Lys His Glu Cys His Phe Phe Asn
35 40 45

Gly Thr Glu Arg Val Arg Phe Leu Asp Arg Tyr Phe Tyr His Gln Glu
50 55 60

Glu Tyr Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Tyr Arg Ala Val Thr
65 70 75 80

Glu Leu Gly Arg Pro Asp Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln Lys Asp Leu

	85	90	95
Leu Glu Gln Lys Arg Ala Ala Val Asp Thr Tyr Cys Arg His Asn Tyr			
	100	105	110
Gly Val Gly Glu Ser Phe Thr Val Gln Arg Arg Val Tyr Pro Glu Val			
	115	120	125
Thr Val Tyr Pro Ala Lys Thr Gln Pro Leu Gln His His Asn Leu Leu			
	130	135	140
Val Cys Ser Val Asn Gly Phe Tyr Pro Gly Ser Ile Glu Val Arg Trp			
	145	150	155
			160
Phe Arg Asn Gly Gln Glu Glu Lys Thr Gly Val Val Ser Thr Gly Leu			
	165	170	175
Ile Gln Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Thr Leu Val Met Leu Glu Thr			
	180	185	190
[0129]			
Val Pro Arg Ser Gly Glu Val Tyr Thr Cys Gln Val Glu His Pro Ser			
	195	200	205
Leu Thr Ser Pro Leu Thr Val Glu Trp Arg Ala Arg Ser Glu Ser Ala			
	210	215	220
Gln Ser Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asp Leu Tyr Phe Gln Ser Gly			
	225	230	235
			240
Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly			
	245	250	255
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
	260	265	270
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu			
	275	280	285
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His			
	290	295	300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

[0130]

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
450 455 460

Gly Lys Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
465 470

<210> 121

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B98 VH

<400> 121

cagggtgcagc tgggtgcagag cgggcgaggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg

60

agctgcaaag cgagcggcgg cacctttaag tectattata ttcattgggt gcgccaggcg 120
ccgggccagg gccgggaalg gatgggcggg attgcaccaa ttacggcac cgcttactac 180
ggcgagaaat ttcaggcccg cgtgaccatt accgcigalg aaagcaccag caccgcgtat 240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc gcgtgatgca 300
agttgggcac gtcatacgg ttgtgattat tggggccagg gcaccctggt gaccgtctcg 360
agt 363

<210> 122
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 122

Gly Ile Ala Gly Phe Lys Gly Glu Gln Gly Pro Lys Gly Glu Pro
1 5 10 15

<210> 123
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

[0131]

<220>
<223> DR4B78 , DR4B70, DR4B38 HCDR1

<400> 123

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 124
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B33 HCDR1

<400> 124

Ser Ala Tyr Ile Asn
1 5

<210> 125
<211> 5
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B22 HCDR1

<400> 125

Ser Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 126

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B78, DR4B70, DR4B38 HCDR2

<400> 126

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

[0132]

<210> 127

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B33 HCDR2

<400> 127

Ile Ile Arg Pro Gly Asp Ser Arg Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 128

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B22 HCDR2

<400> 128

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

Gly

<210> 129

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B78 HCDR3

<400> 129

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

Phe Asp Tyr

[0133]

<210> 130

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B70 HCDR3

<400> 130

Asp Ser Ser Tyr Tyr Arg Tyr Ile Gly Arg Tyr Leu Gly Asp Tyr Ala
1 5 10 15

Phe Asp Tyr

<210> 131

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B38 HCDR3

<400> 131

Asp Ser Gly Tyr Tyr Arg Leu Ala Ala Ile Gly Arg Ser Asp Tyr Ala
1 5 10 15

Phe Asp Tyr

<210> 132
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B33 HCDR3

<400> 132

Asp Gly Tyr Tyr Phe Val Gly Ser Ile Ile Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 133
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

[0134]

<220>
<223> DR4B22 HCDR3

<400> 133

Asp Gly Gly Tyr Tyr Arg Tyr Val Tyr Arg Tyr Pro Gly Asp Tyr Ala
1 5 10 15

Phe Gly Tyr

<210> 134
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B33 LCDR1

<400> 134

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 135
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B33 LCDR2

<400> 135

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 136
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B33 LCDR3

<400> 136

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

[0135]

<210> 137
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B78 VH (DR4H62)

<400> 137

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

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

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

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

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

65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Asp Gly Gly Tyr Tyr Arg Tyr Val Arg Thr Ile Ser Gly Asp			
100	105	110	
Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
115	120	125	
<210> 138			
<211> 128			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> DR4B70 VH (DR4H29)			
<400> 138			
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1 5 10 15			
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr			
20 25 30			
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35 40 45			
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
50 55 60			
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
65 70 75 80			
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85 90 95			
Ala Arg Asp Ser Ser Tyr Tyr Arg Tyr Ile Gly Arg Tyr Leu Gly Asp			
100 105 110			
Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
115 120 125			

[0136]

<210> 139
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> DR4B38 VH (DR4H56)

<400> 139

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

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

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

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

[0137] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Ser Gly Tyr Tyr Arg Leu Ala Ala Ile Gly Arg Ser Asp
 100 105 110

Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 140
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> DR4B33 VH (DR4H58)

<400> 140

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

1	5	10	15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Asp Ser Ala			
20	25	30	
Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	
Gly Ile Ile Arg Pro Gly Asp Ser Arg Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe			
50	55	60	
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Phe Val Gly Ser Ile Ile Tyr Tyr Gly Met			
100	105	110	
[0138] Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
115	120	125	
<210> 141			
<211> 128			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> DR4B22 VH (DR4H16)			
<400> 141			
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr			
20	25	30	
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	

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

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

Ala Arg Asp Gly Gly Tyr Tyr Arg Tyr Val Tyr Arg Tyr Pro Gly Asp
100 105 110

Tyr Ala Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 142

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B33 VL (PH9L4)

<400> 142

[0139]

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 143
 <211> 384
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> DR4B78 VII (DR4H62)

<400> 143
 gaagtgcagc tgctggaaag cggcggcggc ctggtgcagc cgggcggcag cctgcgcctg 60
 agctgcgcgg cgagcggttt taccittage agctatgcga tgagctgggt gcgccagcgg 120
 ccgggcaaag gcctggaatg ggtgagcgcg atcagcggtt ccggtggctc cacatattat 180
 gcggatagcg tgaaaggcgg ctttaccatt tcacgagata acagcaaaaa caccctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgcg cggggaagat accgcggtgt attattgcgc gcgcgatggc 300
 ggttattatc gttatgtgcg tacaatcagc ggcgattatg cattcgacta ttggggccag 360
 ggcaccctgg tgaccgtctc gagt 384

[0140]

<210> 144
 <211> 384
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> DR4B70 VII (DR4H29)

<400> 144
 gaagtgcagc tgctggaaag cggcggcggc ctggtgcagc cgggcggcag cctgcgcctg 60
 agctgcgcgg cgagcggttt taccittage agctatgcga tgagctgggt gcgccagcgg 120
 ccgggcaaag gcctggaatg ggtgagcgcg atcagcggtt ccggtggctc cacatattat 180
 gcggatagcg tgaaaggcgg ctttaccatt tcacgagata acagcaaaaa caccctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgcg cggggaagat accgcggtgt attattgcgc gcgcgactcc 300
 agctattatc gttacattgg ccgttatctg ggcgactacg cattcgacta ctggggccag 360
 ggcaccctgg tgaccgtctc gagt 384

<210> 145
 <211> 384
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> DR4B38 VH (DR4H56)

<400> 145

```
gaagtgcagc tgctggaaag cggcggcggc ctggtgcagc cgggcggcag cctgcgcctg      60
agctgcgcgg egagcggctt taccttttagc agctatgcga tgagctgggt gcgccaggcg      120
ccgggcaaag gectggaatg ggtgagcgcg atcagcggct ccggtggctc cacatattat      180
gcggatagcg tgaaggccg cttaaccatt tcacgagata acagcaaaaa caccclgtat      240
ctgcagatga acagcctgcg cgcggaagat accgcggtgt attattgcgc gcgtgactcc      300
ggctattatc gtctggcagc aatcgcccg tctgattacg catttgatta ctggggccag      360
ggcaccctgg tgaccgtctc gagt                                         384
```

<210> 146

<211> 375

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B33 VH (DR4H58)

[0141]

<400> 146

```
gaagtgcagc iggtgcagag cggcggcggaa gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt      60
agctgcaaag gcagcggcta tagcttcgat agegcataca ttaattgggt gcgccagatg      120
ccgggcaaag gcttggaatg gatgggtatt atctgtcctg gcgattcccg caccggttac      180
agcccgagct ttcagggcc a ggtgaccatt agcgcggata aaagcattag caccgcgtat      240
ctgcagtgga gcagcctgaa agcagcggat accgcgggtg attattgcgc gcgtgacgga      300
tattattttg ttggcagcat catctattac ggtatggaag tatggggcca gggcaccctg      360
gtgaccgtct cgagt                                         375
```

<210> 147

<211> 384

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B22 VH (DR4H16)

<400> 147

```
gaagtgcagc tgctggaaag cggcggcggc ctggtgcagc cgggcggcag cctgcgcctg      60
agctgcgcgg egagcggctt taccttttcc tctatgcaa tgaattgggt gcgccaggcg      120
```

	ccgggcaaag gcctggaatg ggtgagcgct attagcggtt ccggtgggta taaaaattat	180
	gcggatagcg tgaaaggccg cttaccatt tcacgagata acagcaaaaa caccctgtat	240
	ctgcagatga acagcctgcg ccgggaagat accgcggtgt attattgcgc gcgtgacggt	300
	ggttactacc ggtatgtgta cegttaacca ggcgactatg catttggeta ttggggccag	360
	ggcaccctgg tgaccgtctc gagt	384
	<210> 148	
	<211> 321	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> DR4B33 VI. (PH9L4)	
	<400> 148	
	gacatccaga tgaccagag cccacagcgc ctgagcgcca gcgtgggcga ccgggtgacc	60
	atcacctgce ggccagcca gagcaccagc agctacctga actgglacca gcagaagccc	120
	ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gccacagccc tgcagagcgg cgtgccccc	180
[0142]	eggtteagcg gcagcggcag cggcacccgac ttcacctga ccatcagcag cctgcagccc	240
	gaggaettcg ccacctacta ctgccagcag agctacagca cccccctgac ctccggccag	300
	ggcaccaagg tggagatcaa g	321
	<210> 149	
	<211> 454	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> DR4B78 HC	
	<400> 149	
	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
	1 5 10 15	
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
	20 25 30	
	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
	35 40 45	

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

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

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

Ala Arg Asp Gly Gly Tyr Tyr Arg Tyr Val Arg Thr Ile Ser Gly Asp
100 105 110

Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
130 135 140

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

[0143]

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
195 200 205

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240

Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
245 250 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
260 265 270

Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
275 280 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
290 295 300

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
325 330 335

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380

[0144]

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 150

<211> 454

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B70 HC

<400> 150

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

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

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

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

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

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

[0145]

Ala Arg Asp Ser Ser Tyr Tyr Arg Tyr Ile Gly Arg Tyr Leu Gly Asp
100 105 110

Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
130 135 140

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
195 200 205

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240

Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
245 250 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
260 265 270

Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
275 280 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
290 295 300

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305 310 315 320

[0146]

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
325 330 335

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 151

<211> 454

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B38 HC

<400> 151

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

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

[0147]

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

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

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

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

Ala Arg Asp Ser Gly Tyr Tyr Arg Leu Ala Ala Ile Gly Arg Ser Asp
100 105 110

Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
130 135 140

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
195 200 205

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240

Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
245 250 255

[0148]

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
260 265 270

Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
275 280 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
290 295 300

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
325 330 335

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Gln Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450

[0149]

<210> 152
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DR4B33 HC

<400> 152

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Asp Ser Ala
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Arg Pro Gly Asp Ser Arg Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Phe Val Gly Ser Ile Ile Tyr Tyr Gly Met
100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
130 135 140

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

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

[0150]

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
195 200 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu
210 215 220

Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala
225 230 235 240

Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Gln Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

[0151]

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 153

<211> 454

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B22 HC

<400> 153

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gly Gly Tyr Tyr Arg Tyr Val Tyr Arg Tyr Pro Gly Asp
100 105 110

Tyr Ala Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

[0152]

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
130 135 140

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
195 200 205

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240

Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
245 250 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
260 265 270

Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
275 280 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
290 295 300

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
325 330 335

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350

[0153]

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450

<210> 154

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B33 LC

<400> 154

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

[0154]

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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> 155

<211> 1362

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> DR4B78 HC

<400> 155

[0155] gaagtcgagc tgetggaaag cggcggcggc ctggtgcagc cggcggcag cctgcgcctg 60
agctgcgcgg cgagcggcct taccttttagc agctatgcga tgagctgggt gcgccagggc 120
ccgggcaaaag gcctggaaatg ggtgagcgcg atcagcggct ccggtggctc cacatattat 180
gcggatagcg tgaaaggcgc etttaccatt tcacgagata acagcaaaaa caccctgtat 240
ctgcagatga acagcctgcg cgggaagat accgcggtgt attattgcgc gcgcgatggc 300
ggttattatc gttatgtgcg tacaatcagc ggcgattatg cattcgacta ttggggccag 360
ggcaccctgg tgaccgtctc gaglgectcc accaagggee cctcggtctt cccctggcg 420
ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca gccgccctgg gctgcctggt caaggactac 480
ttcccegaac cggtagcggg gtcttggaac tcaggcgctc tgaccagcgg cgtgcacacc 540
ttccagctg tctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc 600
tcagcaact tcggcaccca gacctacacc tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc 660
aaggtggaca agacagttga gcgcaaatgt tgtgtcaggt gccaccgtg cccagcacca 720
cctgcgcgag ccagctcagt ctctctcttc cccccaaac ccaaggacac cctcatgate 780
tcccggacce ctgaggtcac gtgcgtgggt gtggacgtga gcgcgaaga ccccaggtc 840
cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccacgggag 900
gagcagttca acagcacgtt ccgtgtggct agcgtctctc ccgttctgca ccaggactgg 960

	ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccatc ctccatcgag	1020
	aaaaccatct ccaaaaccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca	1080
	tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggettctac	1140
	cccagcgaca tgcctgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc	1200
	acacctccca tgcctggactc cgaaggctcc ttcttctctt acagcaagct caccgtggac	1260
	aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgtctcg tgatgcatga ggcctcgcac	1320
	aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aa	1362
	<210> 156	
	<211> 1362	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> DR4B70 HC	
	<400> 156	
[0156]	gaagtgcagc tgcctggaaag cggcggcggc ctggtgcagc cggcggcgag cctgcgcctg	60
	agctgcgcgg cgagcggcct tacctttagc agctatgcga tgagctgggt gcgccaggcg	120
	ccgggcaaaag gccctggaatg ggtgagcgcg atcagcggct ccggtggctc cacatattat	180
	gcgatagcgg tgaagggcgg ctttaccatt tcacgagata acagcaaaaa caccctgtat	240
	ctgcagatga acagcctgcg cgcggaagat accgcggtgt attattgcgc gcgcgactcc	300
	agctattatc gttacattgg ccgttatctg ggcgactacg cattcgacta ctggggccag	360
	ggcacctcgg tgaccgtctc gagtgcctcc accaagggcc catcggtctt cccctggcg	420
	ccctgtctca ggagcacctc cgagagcaca gccgccctgg gtgcctgggt caaggactac	480
	ttcccgaac cggtagcggg gtctgtggaac tcaggcgtc tgaccagcgg cgtgcacacc	540
	ttcccagctg tcttacagtc ctccaggactc tactcctca gcagcgtggg gaccgtgcc	600
	tccagcaact tcggcaccca gacctacacc tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc	660
	aaggltgaca agacagltga gcgcaaatgt tgtgtcgagl gccacccgtg ccagcacca	720
	cctgcgcgag ccagctcagt ctctctcttc cccccaaac ccaaggacac cctcatgac	780
	tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtgggt gtggacgtga gcgccgaaga ccccgaggtc	840
	cagttcaact ggtacgtgga cgcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccacgggag	900
	gagcagttca acagcacgtt ccgtgtgggt agcgtctca ccgttctgca ccaggactgg	960

	cigaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccac cccatcgag	1020
	aaaaccatct ccaaaaccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgcccaca	1080
	tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc agectgacct gcctgggtcaa aggtttctac	1140
	cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc	1200
	acacctccca tgctggactc cgacggctcc ttcttctct acagcaagct caccgtggac	1260
	aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgtctcg tgatgatga ggctctgcae	1320
	aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aa	1362
	<210> 157	
	<211> 1362	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> DR4B38 HC	
	<400> 157	
	gaagtgcagc tgctggaaag cggcggcggc ctggtgcagc cggcggcag cctgcgcctg	60
[0157]	agctgcgcgg cgagcggett tacctttage agetatgca tgagctgggt gcgccaggcg	120
	ccgggcaaaag gcctggaatg ggtgagcggc atcagcggt cgggtggctc cacatattat	180
	goggatagcg tgaaaggccg ctttaccatt tcacagata acagcaaaaa caccctgtat	240
	ctgcagatga acagcctgcg cgcggaagat acgcgggtgt attattgcgc gcgtgactcc	300
	ggctattatc gtctggcagc aatcgccgt tctgattacg catttgatta ctggggccag	360
	ggcaccctgg tgaccgtctc gagtgcctcc accaagggcc catcggtctt cccctggcg	420
	ccctgtcca ggagcacctc cgagagcaca gccgccctgg gctgcctggt caaggactac	480
	ttccccgaac cggtgacggt gtcttggaac tcaggcgctc tgaccagcgg cgtgcacacc	540
	ttcccagctg tcttacagtc ctcaggactc taetccctca gcagcgtggt gaccgtgccc	600
	tccagcaact tcggcaccca gacctacac tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc	660
	aaggctggaca agacagtga gcgcaaatgt tgtgtcgagt gccacccgtg cccagcacca	720
	cctgcgcgag ccagctcagt ctctctctc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgac	780
	tcccggacce ctgaggtcac gtgcgtgggt gtggacgtga gcgcgaaga ccccgaggtc	840
	cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccacgggag	900

	gagcagttca acagcacgtt ccgltgggtc agcgccctca ccgttctgca ccaggactgg	960
	cftaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaag gcctcccatc ctccatcgag	1020
	aaaaccatct ccaaaaccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca	1080
	tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctgggtcaa aggcctctac	1140
	cccagcgaca tgcctgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc	1200
	acacctccca tgcctgactc cgcagcctcc ttcttctct acagcaagct caccgtggac	1260
	aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgtctcg tgatgcatga ggctctgcac	1320
	aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggtt aa	1362
	<210> 158	
	<211> 1353	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> DR4B33 HC	
	<400> 158	
[0158]	gaagtgcagc tggatgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt	60
	agctgcaaaag gcagcggcta tagcttcgat agcgcataca ttaattgggt gcgccagatg	120
	ccgggcaaaag gcttggaaatg gatgggtatt attcgtctcg gcgattcccg caccggttac	180
	agcccgagct ttcagggcca ggtgaccatt agcgcggata aaagcattag caccgcgtat	240
	ctgcagtgga gcagcctgan agcgagcgat accgcggtgt attatlgcgc gcgtgacggc	300
	tattattttg ttggcagcat catctattac ggtaatggac tatggggcca gggcaccctg	360
	gtgaccgtct cgagtgctc caccaagggc ccatcggtct tccccctgge gccctgtctc	420
	aggagcacct ccgagagcac agccgccctg ggcctgcctgg tcaaggacta ctccccgaa	480
	ccggtgacgg tgtcgtggaa ctccagcgct ctgaccagcg gcgtgcacac ctccccagct	540
	gtcctacagt cctcaggact ctactcctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcaac	600
	ttcggcaccc agacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caagggtggac	660
	aagacagtgt agcgcaaatg ttgtgtcgag tgcctaccgt gcccgacac acctgccgca	720
	gccagctcag ttctctctt cccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccgacc	780
	cctgaggtca cgtgcgtggt ggtggacgtg agcgccgaag accccgaggt ccagttaac	840
	tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaca agccacggga ggagcagttc	900

	aacagcacgt tccgtgtggt cagcgtecte accgttctgc accaggactg gcigaacggc	960
	aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa ggcctcccat cctccatcga gaaaaccatc	1020
	tccaaaacca aagggcagcc ccgagaacca cagggtgtaca ccttgcctcc atcccgggag	1080
	gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtea aagcttctta ccccagcgac	1140
	atgcctgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacacctccc	1200
	atgctggact ccgacggctc cttcttcttc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg	1260
	tggcagcagg ggaacgtctt ctcatctccc gtgatgcats agctcttgca caaccactac	1320
	acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaa	1353
	<210> 159	
	<211> 1362	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> DR4B22 HC	
	<400> 159	
[0159]	gaagtgcagc tgctggaaag cggcggcggc ctggtgcagc cggcggcag cctgcgcctg	60
	agctgcggcg cgagcggtt tacctttccc tctatgcaa tgaattgggt gcgccaggcg	120
	ccgggcaaag gcctggaatg ggtgagcgct attagcggtt ccggtgggta tacaaattat	180
	gcgatagcg tgaaaggccg clttaccatt tcacagata acagcaaaaa caccctglat	240
	ctgcagatga acagcctgcg cgcggaagat accgcgggtg attattgcgc gcgtgacggt	300
	ggttactacc ggtatgtgta ccgttatcca ggcgactatg catttggcta ttggggccag	360
	ggcaccttgg tgaccgtctc gagtgcctcc accaagggcc catcggtctt ccccttggcg	420
	cctgtctcca ggagcacctc cgagagcaca gcgccttgg gctgccttgt caaggactac	480
	ttccccgaac cggtagcggt gtcttggaa tcaggcgctc tgaccagegg cgtgcacacc	540
	ttcccagctg tcttacagtc ctcaggacte tactccctca gcagcgttgt gaccgtgccc	600
	tccagcaact tcggcaccca gacctacac tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc	660
	aagggtgaca agacagttga gcgcaaatgt tgtgtcgagt gcccaacctg cccagcacca	720
	cctgcgcgag ccagctcagt ctctctcttc cccccaaaac ccaggacac cctcatgate	780
	tcccggacce ctgaggtcac gtgcgttggt gtggacgtga gcgccgaaga ccccagggtc	840

cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccacgggag 900
 gagcagttca acagcacgtt ccgtgtgggc agcgtcctca ccgttctgca ccaggactgg 960
 ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gectcccatc ctccatcgag 1020
 aaaacctatc ccaaaaccna agggcagccc cgagaacca acgtgtacac cctgccccca 1080
 tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctgtgtaa aggtttctac 1140
 cccagcagca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1200
 acacctccca tgcctggactc cgacggctcc ttcttctct acagcaagct caccgtggac 1260
 aagacaggtt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 1320
 aacctactac cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aa 1362

<210> 160
 <211> 642
 <212> DNA
 <213> 人T序列

<220>
 <223> DR4B33 LC

[0160]

<400> 160
 gacatccaga tgaccagag ccccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcca ccgggtgacc 60
 atcactgccc gggccagcca gagcatcagc agctacctga actggtacca gcagaagccc 120
 ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagagcgg cgtgcccagc 180
 cggttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
 gaggactteg ccacctacta ctgccagcag agctacagca cccccctgac ctteggccag 300
 ggcaccaagg tggagatcaa gcggaccgtg gccgcccaca gcgtgttcat ctteccccc 360
 agcagcagac agctgaagag cggaaaccga agcgtggtgt gcctgtgtaa caactttac 420
 ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggta gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480
 gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
 ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgctt gcgaggtgac ccaccagggc 600
 ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 161
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 161

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

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

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

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

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

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

[0161]

Ala Lys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105

<210> 162

<211> 95

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 162

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65

70

75

80

[0162]

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

mAb	HCDR1					
	序列					SEQ ID NO:
DR4B117	S	Y	S	I	H	39
DR4B30	S	D	W	I	G	40
DR4B127	S	Y	Y	I	H	41
DR4B98	S	Y	Y	I	H	41
属	S	X ₁	X ₂	I	X ₃	73

SEQ ID NO: 73

SX₁X₂IX₃; 其中X₁为Y或D;X₂为S、W或Y; 并且X₃为H或G。

图1

mAb	HCDR2																	SEQ ID NO:
	序列																	
DR4B127	G	I	R	P	I	S	G	N	A	E	Y	A	Q	K	F	Q	G	44
DR4B98	G	I	A	P	I	Y	G	T	A	Y	Y	A	Q	K	F	Q	G	45
属	G	I	X ₁	P	I	X ₂	G	X ₃	A	X ₄	Y	A	Q	K	F	Q	G	74

SEQ ID NO: 74

GIX₁PIX₂GX₃AX₄YAQKFQG; 其中X₁为R或A;X₂为S或Y;X₃为N或T; 或者X₄为E或Y。

图2

HCDR3													
mAb	序列												SEQ ID NO:
DR4B127	D	A	S	R	S	R	N	Y	G	F	D	Y	48
DR4B98	D	A	S	A	Y	R	T	Y	G	F	D	Y	49
属	D	A	S	X ₁	X ₂	R	X ₃	Y	G	F	D	Y	75

SEQ ID NO: 75

DASX₁X₂RX₃YGF DY; 其中

X₁为Y或W;

X₂为Y或A; 或者

X₃为N或A。

图3

mAb	LCDR1												
	序列												SEQ ID NO:
DR4B117	R	A	S	Q	S	V	S	S	S	Y	L	A	50
DR4B30	R	A	S	Q	S	V	S	S		Y	L	A	51
DR4B127	R	A	S	Q	S	V	S	S		Y	L	A	51
DR4B98	R	A	S	Q	S	V	S	S		Y	L	A	51
属	R	A	S	Q	S	V	S	S	X ₁	Y	L	A	76

SEQ ID NO: 76

RASQSVSSX₁YLA; 其中

X₁为S或缺失。

图4

mAb	LCDR2							SEQ ID NO:
	序列							
DR4B117	G	A	S	S	R	A	T	52
DR4B30	D	A	S	N	R	A	T	53
DR4B127	D	A	S	N	R	A	T	53
DR4B98	D	A	S	N	R	A	T	53
属	X ₁	A	S	X ₂	R	A	T	77

SEQ ID NO: 77

X₁ASX₂RAT; 其中
X₁为G或D; 并且
X₂为S或N。

图5

mAb	LCDR3									SEQ ID NO.
	序列									
DR4B117	Q	Q	Y	G	S	S	P	L	T	54
DR4B30	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	55
DR4B127	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	55
DR4B98	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	55
属	Q	Q	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	P	L	T	78

SEQ ID NO: 78

QQX₁X₂X₃X₄PLT; 其中
X₁为Y或R;
X₂为G或S;
X₃为S或N; 并且
X₄为S或W。

图6

图7

```
SEQ
ID
NO:
1 30
60 EIVLTQSPGTL1SLSPGERATL2SCRASQSVS3
61 EIVLTQSPATL4SLSPGERATL5SCRASQSVS6
*****.*****

31 60
60 SSYLA7WYQQKPGQAPRLLI8YGASSRATGIP9
61 S-YLA10WYQQKPGQAPRLLI11YDASNRATGIP12
* *****.***.*****

61 90
60 DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ13
61 ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQ14
*****

91 108
60 QYGSSPLT15FGQGTKVEIK16
61 QRSNWPLT17FGQGTKVEIK18
* .. *****
```

图8

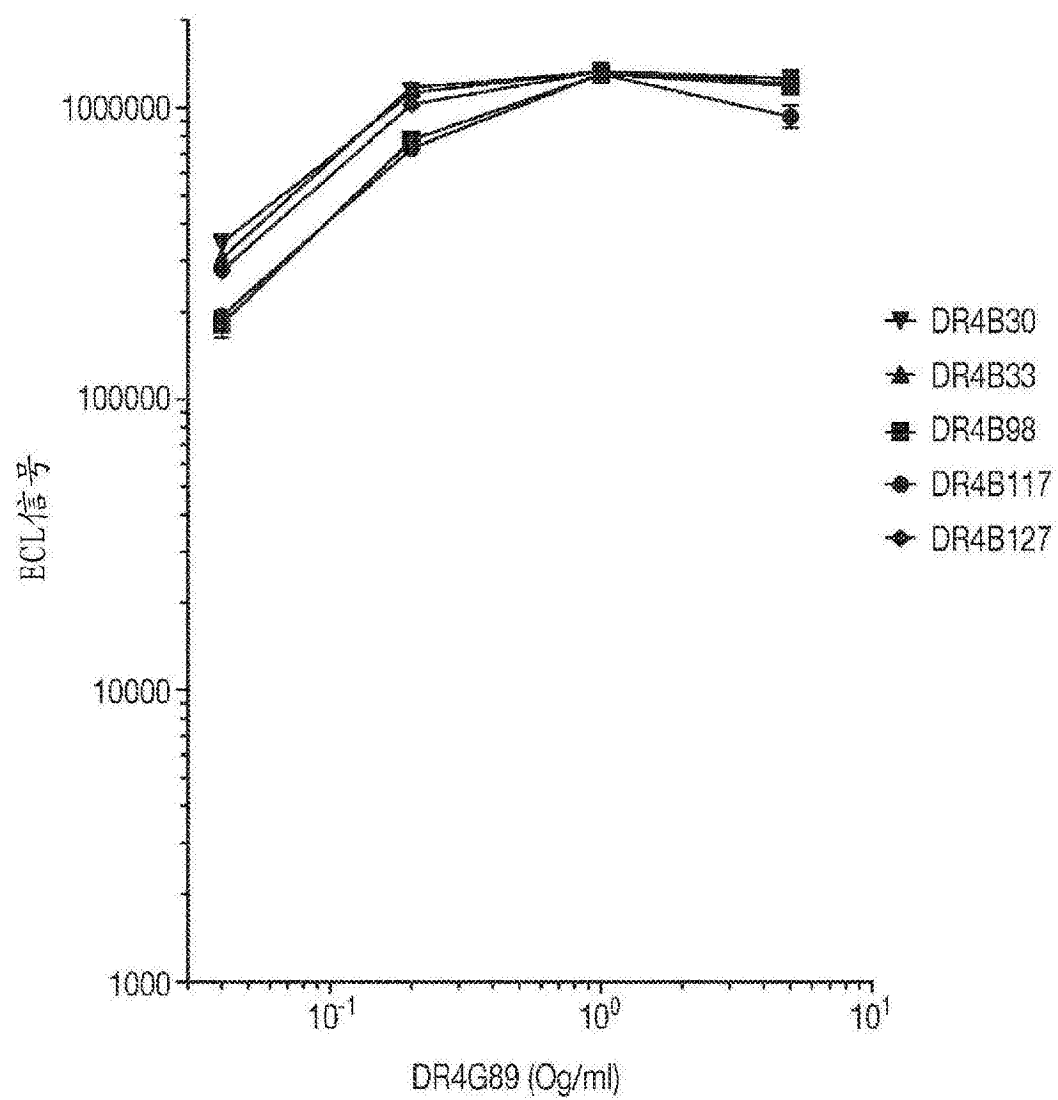


图9

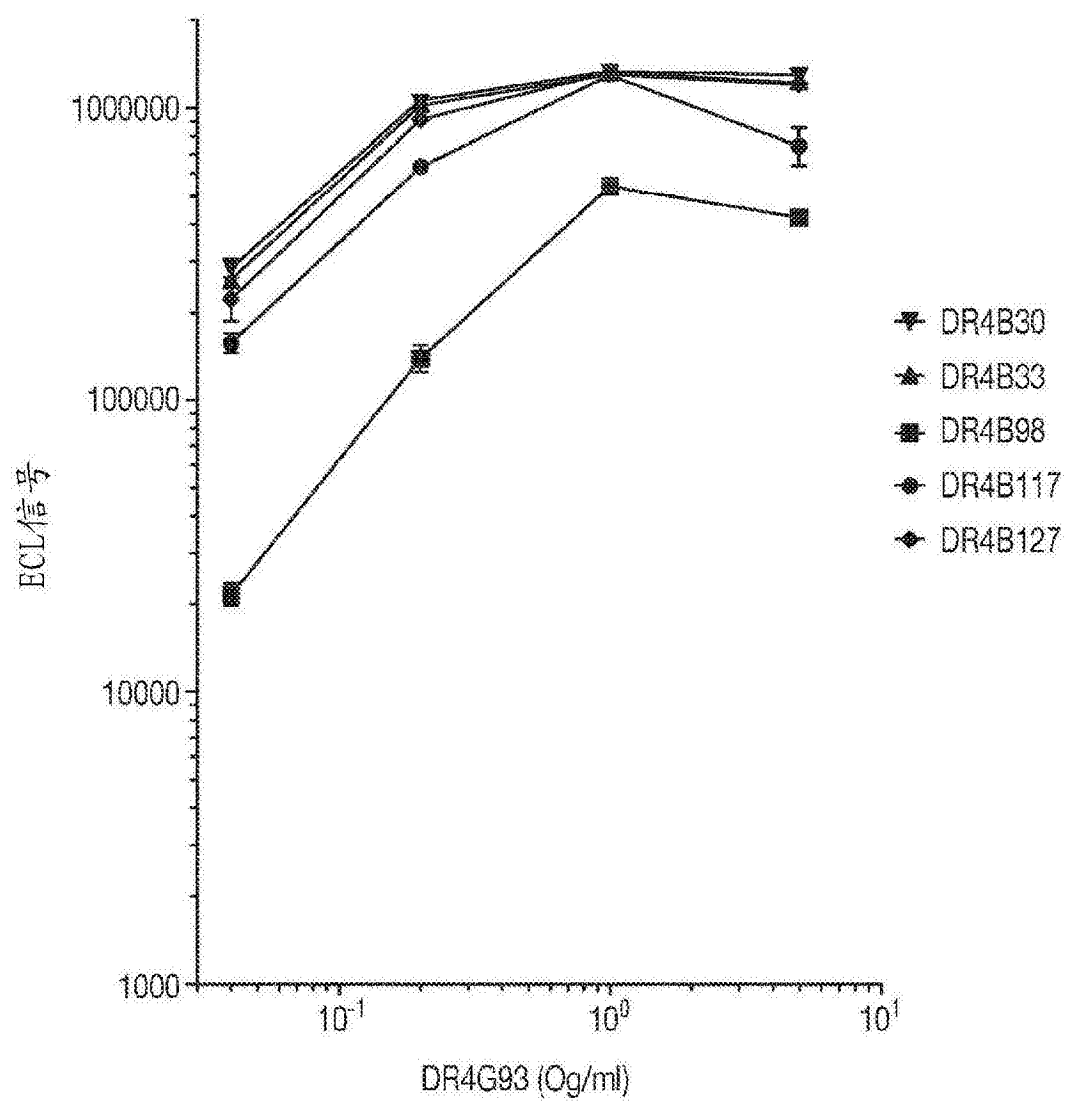


图10

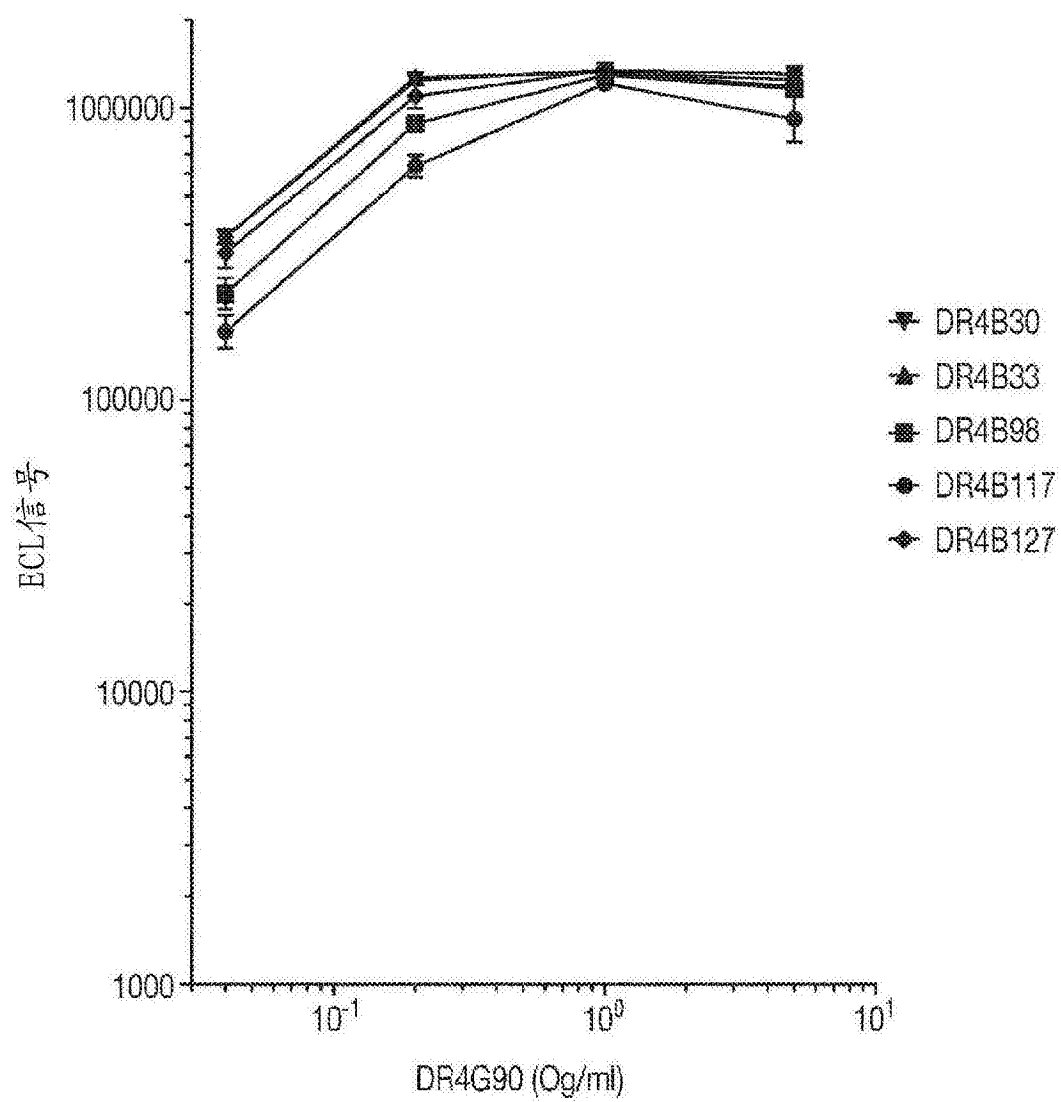


图11

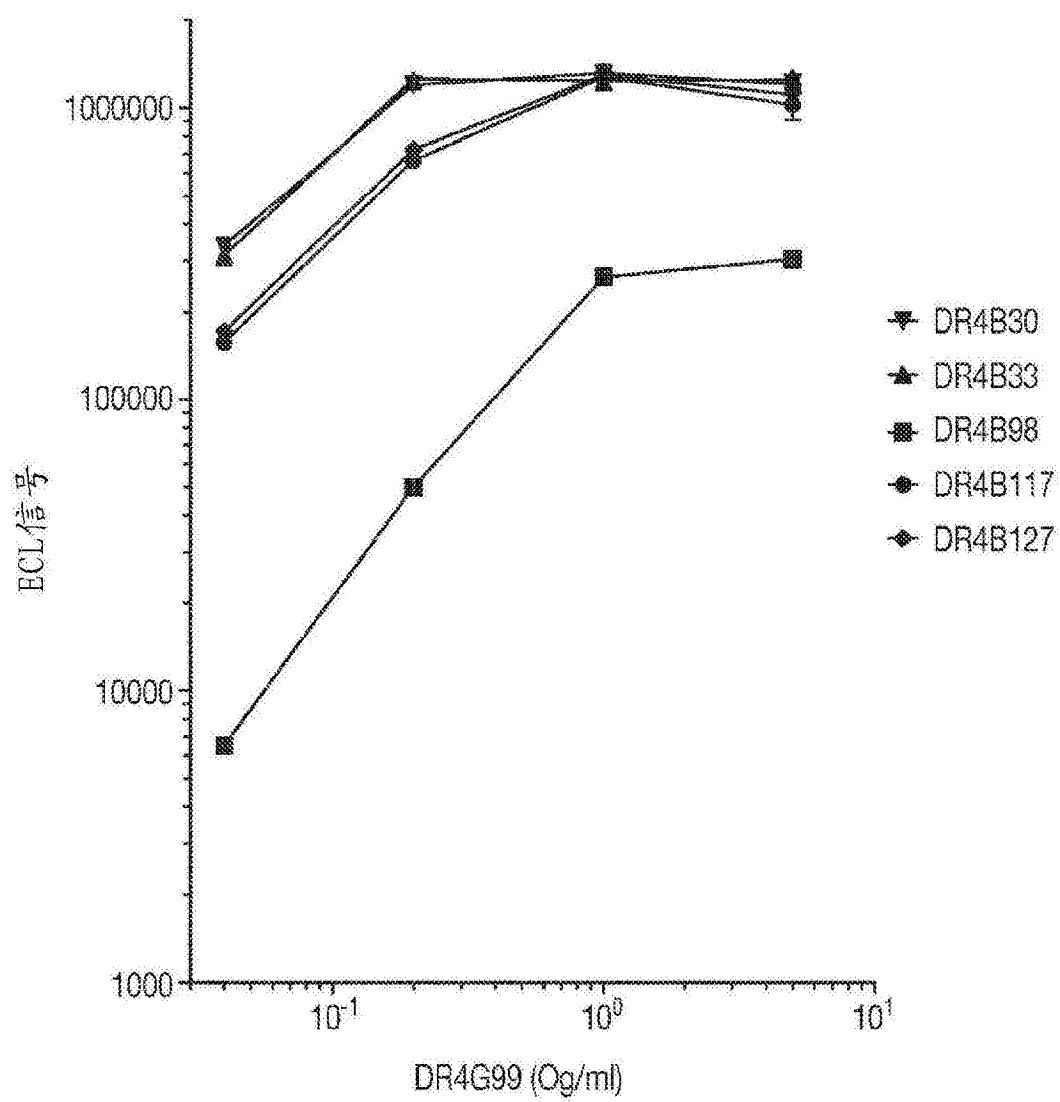


图12

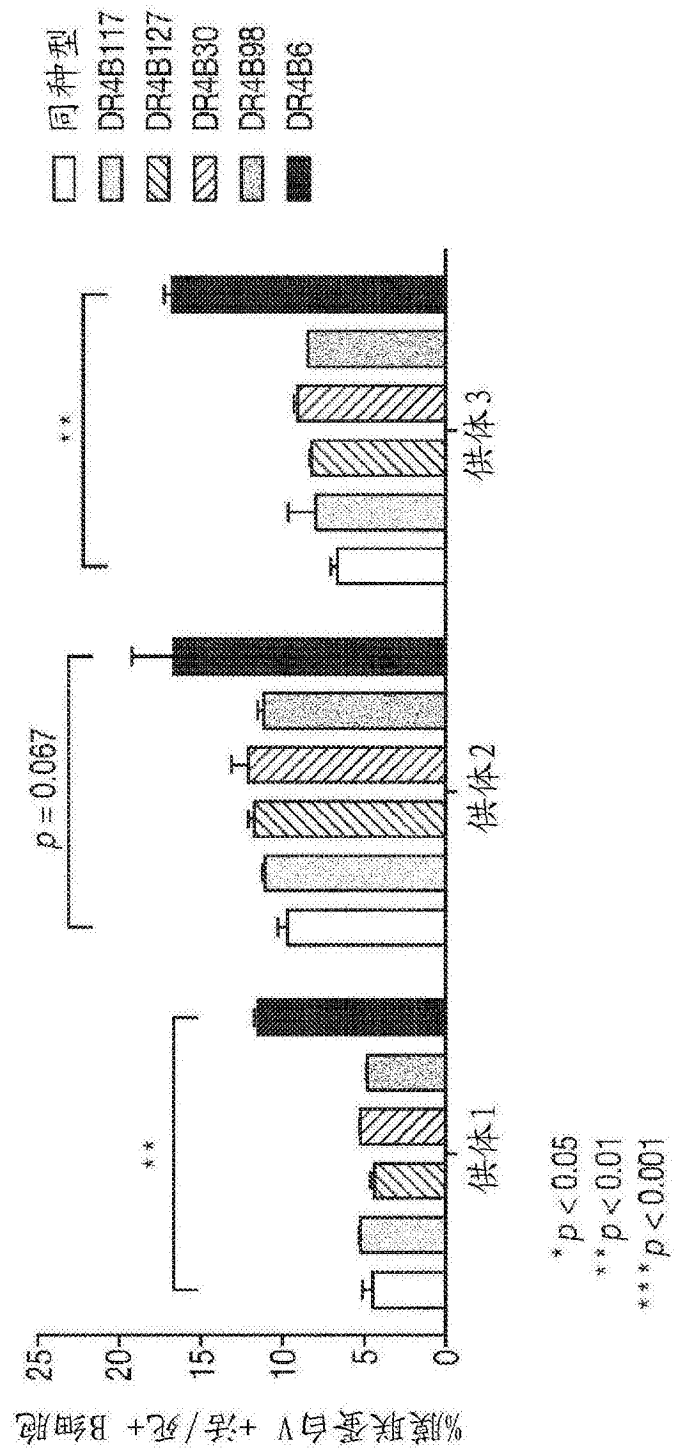


图13

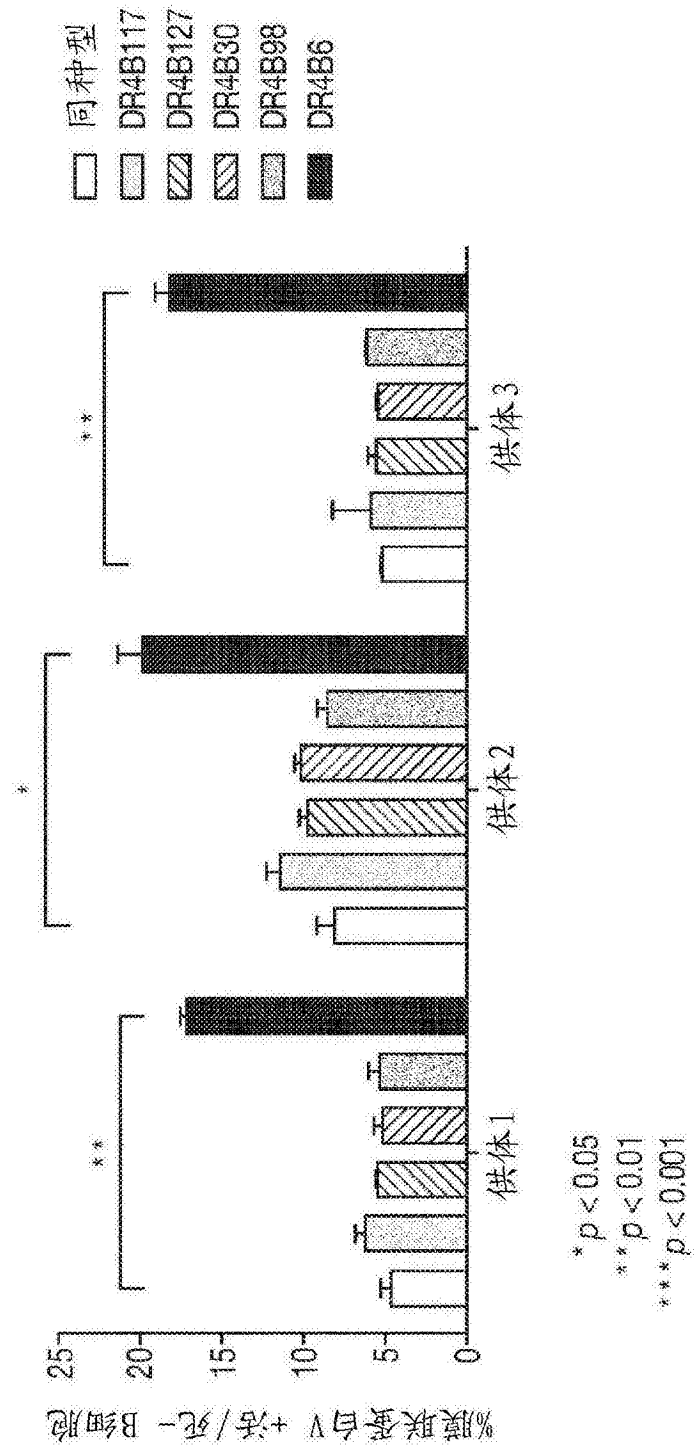


图14

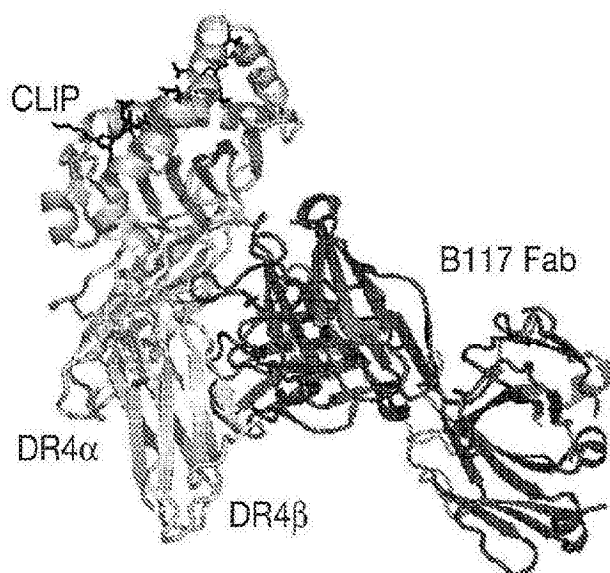


图15A

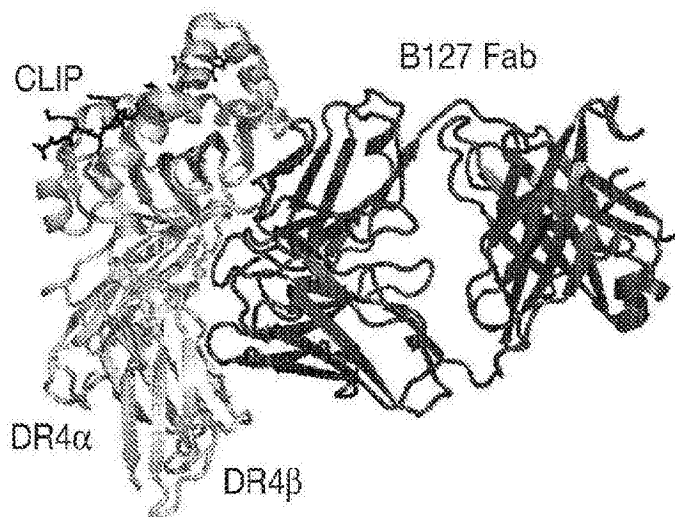


图15B

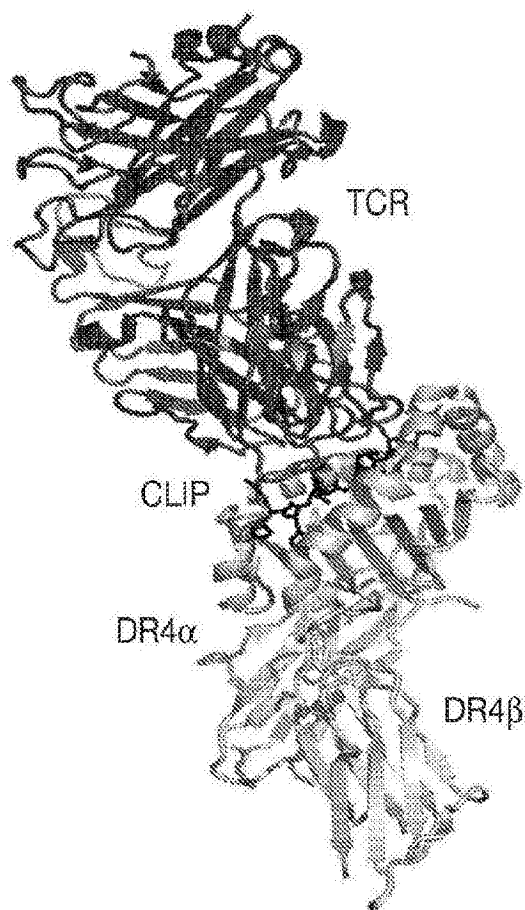


图15C

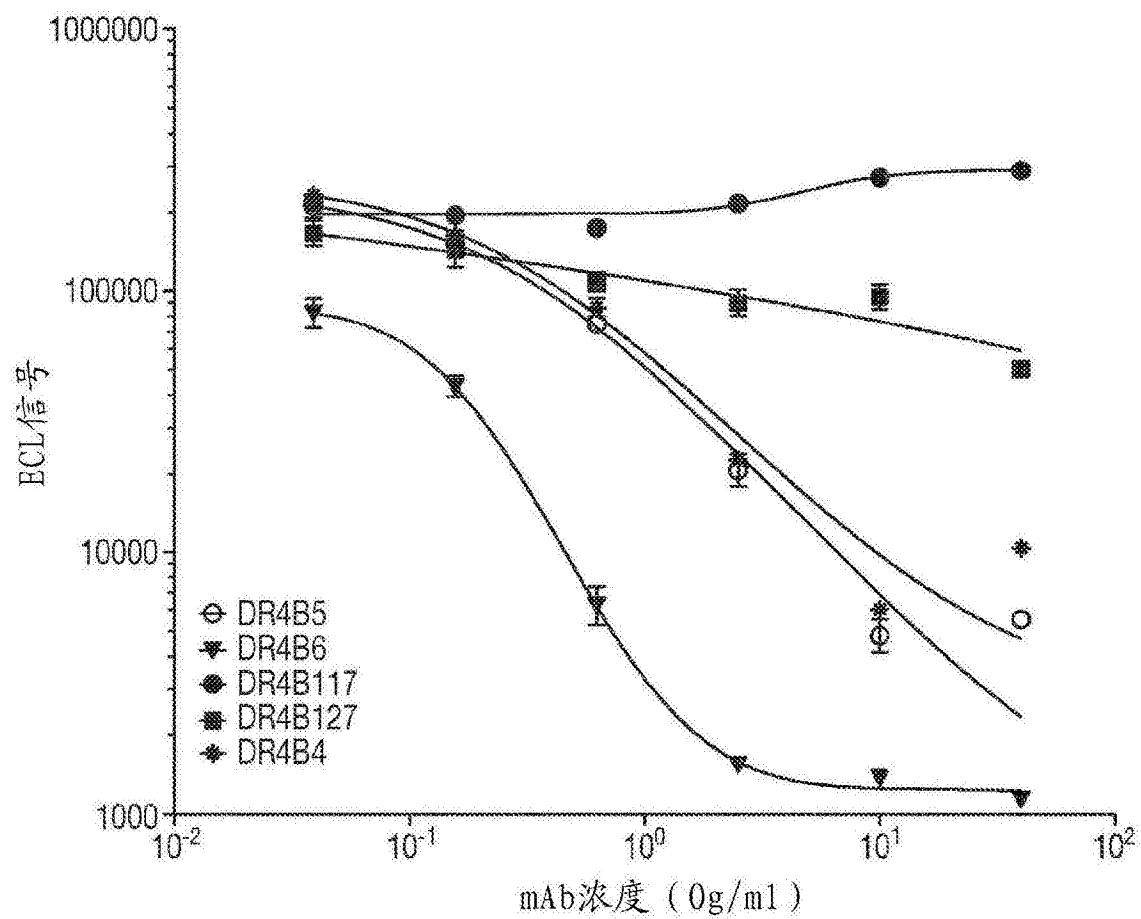


图16A

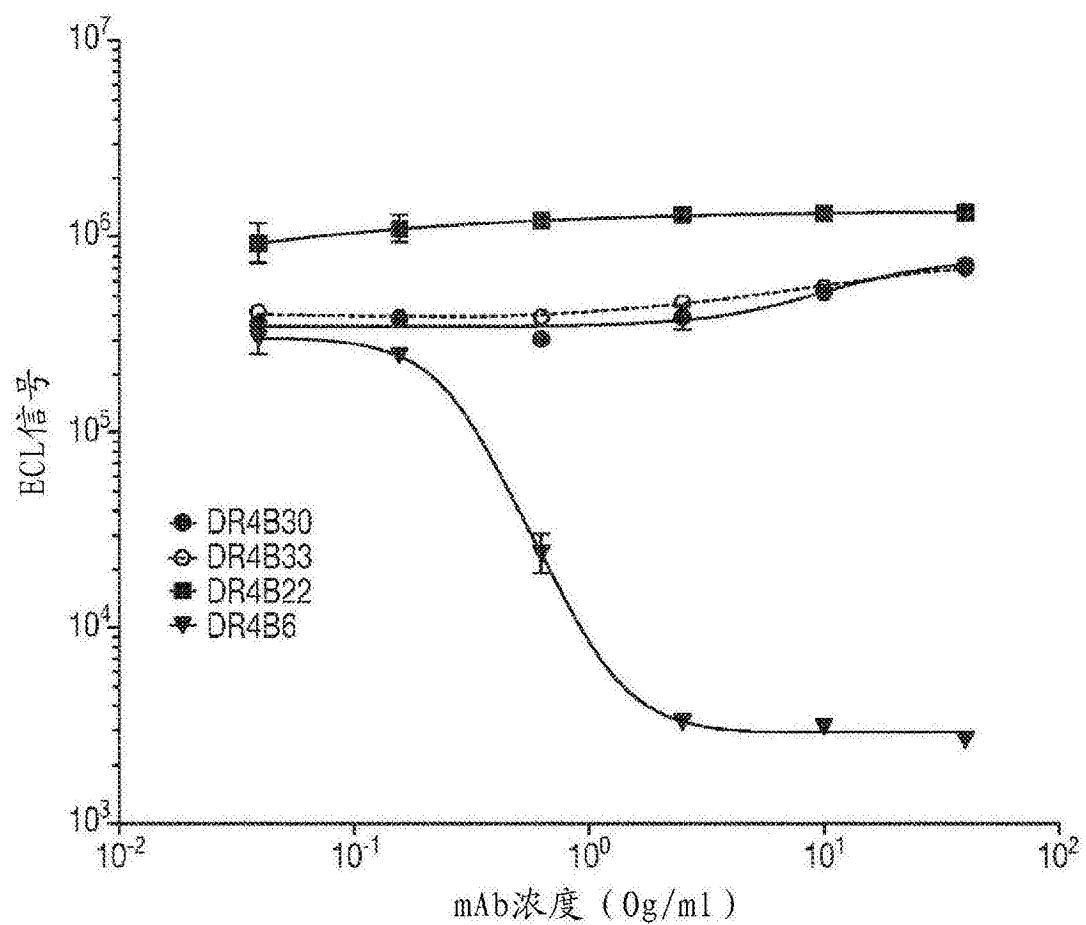


图16B