



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201215619 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：100149356

(22)申請日：中華民國 89 (2000) 年 09 月 18 日

(51)Int. Cl. : C07K16/24 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

(30)優先權：1999/03/25 美國

60/126,603

(71)申請人：亞培公司 (德國) ABBOTT GMBH & CO. KG (DE)

德國

(72)發明人：沙菲德 喬成 SALFELD, JOCHEN (DE)；羅古斯卡 麥克 ROGUSKA, MICHAEL (US)；帕斯凱德 麥克 PASKIND, MICHAEL (US)；巴納吉 蘇哈希斯 BANERJEE, SUBHASHIS (IN)；崔西 丹尼爾 TRACEY, DANIEL (US)；懷特 麥克 WHITE, MICHAEL (US)；凱馬卡蘭 然拉 KAYMAKCALAN, ZEHRRA (US)；拉可夫斯基 包利斯 LABKOVSKY, BORIS (US)；沙可拉法斯 保羅 SAKORAFAS, PAUL (US)；弗利德利奇 史都華 FRIEDRICH, STUART (CA)；麥勒斯 安吉拉 MYLES, ANGELA (US)；菲德曼 吉特魯達 M VELDMAN, GEERTRUIDA M. (NL)；菲特利尼 艾美 VENTURINI, AMY (US)；沃恩 尼可拉斯 W WARNE, NICHOLAS W. (US)；威多 安吉拉 WIDOM, ANGELA (US)；艾菲 約翰 卡文 ELVIN, JOHN GAWAIN (GB)；杜肯 艾利克森德 羅伯特 DUNCAN, ALEXANDER ROBERT (GB)；德拜希爾 伊蓮 喬伊 DERBYSHIRE, ELAINE JOY (GB)；卡曼 莎拉 CARMEN, SARA (GB)；史密斯 史帝芬 SMITH, STEPHEN (GB)；哈特 索爾 拉斯 HOLTET, THOR LAS (DK)；杜 夫 莎拉 萊伊拉 DU FOU, SARAH LEILA (GB)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：147 項 圖式數：4 共 414 頁

(54)名稱

結合人類間白素-12 之人類抗體及其製法

HUMAN ANTIBODIES THAT BIND HUMAN IL-12 AND METHODS FOR PRODUCING

(57)摘要

本發明揭示可專一結合人類間白素-12(hIL-12)之人類抗體，較佳為重組人類抗體。較佳之抗體在試管內及活體內對 hIL-12 具有高親和性且中和 hIL-12 活性。本發明之抗體可為全長抗體或其抗原結合部分。本發明之抗體，或抗體部分，可用於偵測 hIL-12，並用於抑制 hIL-12 活性，如，在罹患其中 hIL-12 活性係有害之疾病之人類對象體內。本發明亦涵括用於表現本發明重組人類抗體之核酸、載體、及宿主細胞，以及合成該等重組人類抗體之方法。



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201215619 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：100149356

(22)申請日：中華民國 89 (2000) 年 09 月 18 日

(51)Int. Cl. : C07K16/24 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

(30)優先權：1999/03/25 美國

60/126,603

(71)申請人：亞培公司 (德國) ABBOTT GMBH & CO. KG (DE)

德國

(72)發明人：沙菲德 喬成 SALFELD, JOCHEN (DE)；羅古斯卡 麥克 ROGUSKA, MICHAEL (US)；帕斯凱德 麥克 PASKIND, MICHAEL (US)；巴納吉 蘇哈希斯 BANERJEE, SUBHASHIS (IN)；崔西 丹尼爾 TRACEY, DANIEL (US)；懷特 麥克 WHITE, MICHAEL (US)；凱馬卡蘭 然拉 KAYMAKCALAN, ZEHRRA (US)；拉可夫斯基 包利斯 LABKOVSKY, BORIS (US)；沙可拉法斯 保羅 SAKORAFAS, PAUL (US)；弗利德利奇 史都華 FRIEDRICH, STUART (CA)；麥勒斯 安吉拉 MYLES, ANGELA (US)；菲德曼 吉特魯達 M VELDMAN, GEERTRUIDA M. (NL)；菲特利尼 艾美 VENTURINI, AMY (US)；沃恩 尼可拉斯 W WARNE, NICHOLAS W. (US)；威多 安吉拉 WIDOM, ANGELA (US)；艾菲 約翰 卡文 ELVIN, JOHN GAWAIN (GB)；杜肯 艾利克森德 羅伯特 DUNCAN, ALEXANDER ROBERT (GB)；德拜希爾 伊蓮 喬伊 DERBYSHIRE, ELAINE JOY (GB)；卡曼 莎拉 CARMEN, SARA (GB)；史密斯 史帝芬 SMITH, STEPHEN (GB)；哈特 索爾 拉斯 HOLTET, THOR LAS (DK)；杜 夫 莎拉 萊伊拉 DU FOU, SARAH LEILA (GB)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：147 項 圖式數：4 共 414 頁

(54)名稱

結合人類間白素-12 之人類抗體及其製法

HUMAN ANTIBODIES THAT BIND HUMAN IL-12 AND METHODS FOR PRODUCING

(57)摘要

本發明揭示可專一結合人類間白素-12(hIL-12)之人類抗體，較佳為重組人類抗體。較佳之抗體在試管內及活體內對 hIL-12 具有高親和性且中和 hIL-12 活性。本發明之抗體可為全長抗體或其抗原結合部分。本發明之抗體，或抗體部分，可用於偵測 hIL-12，並用於抑制 hIL-12 活性，如，在罹患其中 hIL-12 活性係有害之疾病之人類對象體內。本發明亦涵括用於表現本發明重組人類抗體之核酸、載體、及宿主細胞，以及合成該等重組人類抗體之方法。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明提供可結合人類IL-12之人類抗體。本發明亦有關使用本發明之人類抗-IL-12抗體治療或預防其病理涉及IL-12之急性或慢性疾病或病況。

【先前技術】

人類間白素12(IL-12)近來經定性為一種細胞因子，具有獨特之結構及多效作用(Kobayashi, et al. (1989) J. Exp. Med. 170:827-845；Seder, et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. 90:10188-10192；Ling, et al. (1995) J. Exp. Med. 154:116-127；Podlaski, et al. (1992) Arch. Biochem. Biophys. 294:230-237)。在與諸多涉及免疫及發炎反應之疾病相關之病理中扮演重要角色。關於IL-12、其生物活性、及其在疾病中所扮演角色之評論報告可見於Gately et al. (1998) Ann. Rev. Immunol. 16:495-521。

就結構而言，IL-12係一種異源雙體蛋白，含有一35 kDa次單元(p35)及一40 kDa次單元(p40)，其兩者以一雙硫鍵連結(稱為「p70次單元」)。該異源雙體蛋白主要係由抗原呈遞細胞製造，如單核細胞、巨噬細胞、及樹狀細胞。相對於p70次單元，此等細胞類型亦分泌過量之p40次單元。p40及p35次單元在遺傳上並不相關，且兩者皆未報告具有生物活性，唯p40同源雙體可作為IL-12拮抗劑。

就功能而言，IL-12在調控抗原專一性T輔助性類型1(Th1)及類型2(Th2)淋巴細胞間之平衡上扮演重要角色。

Th1及Th2細胞可控制自體免疫疾病之起始及進展，而IL-12對於Th₁-淋巴細胞分化及成熟之調控而言相當重要。由Th1細胞釋放之細胞因子係炎性細胞因子，且包括干擾素 γ (IFN γ)、IL-2、及淋巴毒素(LT)。Th2細胞分泌IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、及IL-13以協助體液免疫、過敏反應、及免疫抑制。

根據自體免疫疾病中Th1反應之優勢及IFN γ 之促炎活性，IL-12可能在與許多自體免疫及炎性疾病相關之病理中扮演重要的角色，如風濕性關節炎(RA)、多重硬化症(MS)、及局部性迴腸炎。

患有MS之人類病患顯示具有較高之IL-12表現，其係由急性MS噬菌斑中之p40 mRNA含量證實(Windhagen et al., (1995) J. Exp. Med. 182:1985-1996)。此外，在活體外，以取自MS病患之CD40L-表現性T細胞刺激抗原呈遞細胞，可造成相對於控制組T細胞之較高IL-12生產量，符合CD40/CD40L之作用係IL-12強效誘發子之觀察結果。

已在病患之滑液中，偵測到相對於健康控制組之較高IL-12 p70含量(Morita et al. (1998) Arthritis and Rheumatism. 41:306-314)。RA滑液中之細胞因子信使核酸(mRNA)表現內容顯示主要為Th1細胞因子(Bucht et al., (1996) Clin. Exp. Immunol. 103:347-367)。IL-12似乎亦在與局部性迴腸炎(CD)相關之病理中扮演重要角色。在患有此種疾病病患之小腸黏膜中已觀察到較高之IFN γ 及IL-12表現(Fais et al. (1994) J. Interferon Res. 14:235-238; Parronchi et al.,

(1997) *Am. J. Path.* 150:823-832 ; Monteleone et al., (1997) *Gastroenterology*. 112:1169-1178 ; 及 Berrebi et al., (1998) *Am. J. Patj.* 152:667-672)。取自CD病患固有層T細胞之細胞因子分泌內容係以主要之Th1反應為特徵，包括大量提升之IFN γ 含量(Fuss, et al., (1996) *J. Immunol.* 157:1261-1270)。同時，取自CD病患之結腸組織切片顯示大量之IL-12表現性巨噬細胞及IFN γ 表現性T細胞(Parronchi et al., (1997) *Am. J. Path.* 150:823-832)。

由於人類IL-12在各種人類疾病中之角色，以設計出諸多醫療策略來抑制或中和IL-12活性。特定言之，以尋求可結合或中和IL-12之抗體，以作為抑制IL-12活性之工具。部分最早期之抗體為鼠單株抗體(mAbs)，由製備自經IL-12免疫小鼠淋巴細胞之雜交瘤分泌(參見，如，Strober et al.之世界專利申請公開案No. WO 97/15327；Neurath et al. (1995) *J. Exp. Med.* 182:1281-1290；Duchmann et al. (1996) *J. Immunol.* 26:934-938)。由於在人體內投藥小鼠抗體之相關問題，諸如，較短之血清半生期、無法啟動某些人類作用子之功能、以及在人體內引發對抗小鼠抗體之不欲免疫反應(「人類抗-小鼠抗體」(HAMA)反應)，此等鼠IL-12抗體在活體內之使用方面具有限制。

一般而言，各種為克服在人類體內使用完全鼠類抗體之相關問題之企圖皆涉及對該等抗體進行基因工程處理以使其更「似人類」。舉例而言，已製備出嵌合抗體，其中抗體鏈之可變區係衍生自小鼠，而抗體鏈之恆定區係衍生自

人類(Junghans, et al. (1990) Cancer Res. 50:1495-1502 ; Brown et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. 88:2663-2667 ; Kettleborough et al. (1991) Protein Engineering. 4:773-783)。然而，由於此等嵌合及人類化隻抗體仍存有部分鼠類序列，其仍可能引發不欲之免疫反應，人類抗-嵌合抗體(HACA)反應，特別是在投藥較長期間時。

相對於鼠類抗體或其衍生物(如，嵌合或人類化之抗體)之較佳IL-12抑制劑可能為完全之人類抗-IL-12抗體，因此種抑制劑應不會引發HAMA反應，甚至在使用較長期間時。然而，此等抗體尚未在技藝中獲得敘述，因此仍有其需求。

【發明內容】

在一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其可結合人類IL-12。

在一具體實例中，本發明提供一種選擇性經突變之人類IL-12抗體，其包含：

一種人類抗體，或其抗原結合部分，其在較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置，以活性促進性胺基酸殘基選擇性進行突變，以使其可結合人類IL-12。

在一較佳具體實例中，本發明提供一種選擇性經突變之人類IL-12抗體，其包含：

一種人類抗體，或其抗原結合部分，其在較佳之選擇性誘變位置，以活性促進性胺基酸殘基選擇性進行突變，以使其可結合人類IL-12。

在另一較佳具體實例中，該選擇性經突變之人類IL-12抗體，或其抗原結合部分，係在超過一個之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置，以活性促進性胺基酸殘基選擇性進行突變。在另一較佳具體實例中，該選擇性經突變之人類IL-12抗體，或其抗原結合部分，係在不超過三個較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置選擇性進行突變。在另一較佳具體實例中，該選擇性經突變之人類IL-12抗體，或其抗原結合部分，係在不超過兩個較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置選擇性進行突變。在又一較佳具體實例中，該選擇性經突變之人類IL-12抗體，或其抗原結合部分，係選擇性經突變以取得目標專一性親和水準，該目標水準係改良超越使用噬菌體展示技術選擇對抗相同抗原之抗體時可取得者。在另一較佳具體實例中，該選擇性經突變之人類IL-12抗體尚保留至少一種所欲之特性或特徵，如，保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性、保留抗原表位之辨識、製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 $1 \times 10^{-6}\text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖。更佳者，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，係以 $1 \times 10^{-2}\text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速

率常數與人類IL-12分離，或在試管中之PHA分析中以 1×10^{-7} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。更佳者，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，係以 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離，或在試管中之PHA分析中以 1×10^{-8} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。更佳者，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，係以 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離，或在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。更佳者，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，係以 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離，或在試管中之PHA分析中以 1×10^{-10} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。再更佳者，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，係以 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離，或在試管中之PHA分析中以 1×10^{-11} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

- a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-6} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；
- b) 具有含序列編號NO: 1胺基酸序列之重鏈CDR3；且
- c) 具有含序列編號NO: 2胺基酸序列之輕鏈CDR3。

在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結

合部分，具有含序列編號NO: 3胺基酸序列之重鏈CDR2；且具有含序列編號NO: 4胺基酸序列之輕鏈CDR2。在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 5胺基酸序列之重鏈CDR1；且具有含序列編號NO: 6胺基酸序列之輕鏈CDR1。在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 7胺基酸序列之重鏈可變區；且具有含序列編號NO: 8胺基酸序列之輕鏈可變區。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 具有含序列編號NO: 9胺基酸序列之重鏈CDR3；且

c) 具有含序列編號NO: 10胺基酸序列之輕鏈CDR3。

在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 11胺基酸序列之重鏈CDR2；且具有含序列編號NO: 12胺基酸序列之輕鏈CDR2。在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 13胺基酸序列之重鏈CDR1；且具有含序列編號NO: 14胺基酸序列之輕鏈CDR1。在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 15胺基酸序列之重鏈可變區；且具有含序列編號NO: 16胺基酸序列之輕鏈可變區。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M 或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 具有含序列編號NO: 17胺基酸序列之重鏈CDR3；且

c) 具有含序列編號NO: 18胺基酸序列之輕鏈CDR3。

在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 19胺基酸序列之重鏈CDR2；以及含序列編號NO: 20胺基酸序列之輕鏈CDR2。

在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 21胺基酸序列之重鏈CDR1；

以及含序列編號NO: 22胺基酸序列之輕鏈CDR1。在一較

佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，

具有含序列編號NO: 23胺基酸序列之重鏈可變區；以及含

序列編號NO: 24胺基酸序列之輕鏈可變區。在一較佳具體

實例中，該分離之人類抗體含有一重鏈恆定區，選自

IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、及IgE恆定區，或

其任何等位基因變體，如Kabat et al.所論(Kabat, E.A., et

al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest,

Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human

Services, NIH Publication No. 91-3242)，其於此併入本文

作為參考。在一更佳具體實例中，該抗體恆定區係IgG1。

在另一較佳具體實例中，該分離之人類抗體係一Fab片

段，或一F(ab')₂片段，或一單鏈Fv片段。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M 或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 具有含選自序列編號NO: 404 -序列編號NO: 469胺基酸序列之重鏈CDR3；且

c) 具有含選自序列編號NO: 534 -序列編號NO: 579胺基酸序列之輕鏈CDR3。

在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含選自序列編號NO: 335 -序列編號NO: 403胺基酸序列之重鏈CDR2；以及含選自序列編號NO: 506 -序列編號NO: 533胺基酸序列之輕鏈CDR2。在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含選自序列編號NO: 288 -序列編號NO: 334胺基酸序列之重鏈CDR1；以及含選自序列編號NO: 470 -序列編號NO: 505胺基酸序列之輕鏈CDR1。在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 23胺基酸序列之重鏈可變區；以及含序列編號NO: 24胺基酸序列之輕鏈可變區。在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體如上所述含有一重鏈恆定區，或一Fab片段，或一F(ab')₂片段，或一單鏈Fv片段。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M 或以下之 IC_{50} 值

抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 具有含序列編號NO: 25胺基酸序列之重鏈CDR3；且

c) 具有含序列編號NO: 26胺基酸序列之輕鏈CDR3。

在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 27胺基酸序列之重鏈CDR2；以及含序列編號NO: 28胺基酸序列之輕鏈CDR2。

在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 29胺基酸序列之重鏈CDR1；以及含序列編號NO: 30胺基酸序列之輕鏈CDR1。在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 31胺基酸序列之重鏈可變區；以及含序列編號NO: 32胺基酸序列之輕鏈可變區。在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體如上所述含有一重鏈恆定區，或一Fab片段，或一F(ab')₂片段，或一單鏈Fv片段。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-6} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 含有含序列編號NO: 1胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 3胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 5胺基酸序列之重鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 1胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 3胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號

NO: 5胺基酸序列之重鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率；且

c) 含有含序列編號NO: 2胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 4胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 6胺基酸序列之輕鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 2胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 4胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 6胺基酸序列之輕鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 含有含序列編號NO: 9胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 11胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 13胺基酸序列之重鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 9胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 11胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 13胺基酸序列之重鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率；且

c) 含有含序列編號NO: 10胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 12胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編

號NO: 14胺基酸序列之輕鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 10胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 12胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 14胺基酸序列之輕鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 含有含序列編號NO: 17胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 19胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 21胺基酸序列之重鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 17胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 19胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 21胺基酸序列之重鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率；且

c) 含有含序列編號NO: 18胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 20胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 22胺基酸序列之輕鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 18胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 20胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及

含序列編號NO: 22胺基酸序列之輕鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率。

本發明亦提供編碼本發明抗體，或其抗原結合部分之核酸分子。較佳之分離核酸編碼含序列編號NO: 17胺基酸序列之重鏈CDR3。該分離之核酸編碼一抗體重鏈可變區。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼抗體重鏈可變區之CDR2，其含序列編號NO: 19胺基酸序列。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼抗體重鏈可變區之CDR1，其含序列編號NO: 21胺基酸序列。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼含序列編號NO: 23胺基酸序列之抗體重鏈可變區。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼含序列編號NO: 18胺基酸序列之輕鏈CDR3。該分離之核酸編碼一抗體輕鏈可變區。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼抗體輕鏈可變區之CDR2，其含序列編號NO: 20胺基酸序列。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼抗體輕鏈可變區之CDR1，其含序列編號NO: 22胺基酸序列。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼含序列編號NO: 24胺基酸序列之抗體輕鏈可變區。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 含有含序列編號NO: 25胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 27胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編

號NO: 29胺基酸序列之重鏈CDR1，或其突變體，在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 25胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 27胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 29胺基酸序列之重鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率；且

c) 含有含序列編號NO: 26胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 28胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 30胺基酸序列之輕鏈CDR1，或其突變體，在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 26胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 28胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 30胺基酸序列之輕鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率。

較佳之分離核酸編碼含序列編號NO: 25胺基酸序列之重鏈CDR3。該分離之核酸編碼一抗體重鏈可變區。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼抗體重鏈可變區之CDR2，其含序列編號NO: 27胺基酸序列。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼抗體重鏈可變區之CDR1，其含序列編號NO: 29胺基酸序列。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼含序列編號NO: 31胺基酸序列之抗體重鏈可變區。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼含序列編號NO: 26胺基酸序列之輕鏈CDR3。該分離之核酸編碼一抗體輕鏈可變區。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼抗

體輕鏈可變區之CDR2，其含序列編號NO: 28胺基酸序列。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼抗體輕鏈可變區之CDR1，其含序列編號NO: 30胺基酸序列。在另一具體實例中，該分離之核酸編碼含序列編號NO: 32胺基酸序列之抗體輕鏈可變區。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 $1 \times 10^{-6}\text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖。

b) 具有一重鏈可變區，含選自 $V_{\text{H}}3$ 種系族群成員之胺基酸序列，其中該重鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

c) 具有一輕鏈可變區，含選自 $V_{\lambda}1$ 種系族群成員之胺基酸序列，其中該輕鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可

在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 1×10^{-6} M或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖。

b) 具有一重鏈可變區，含選自序列編號NOs: 595-667之胺基酸序列，其中該重鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

c) 具有一輕鏈可變區，含選自序列編號NOs: 669-675之胺基酸序列，其中該輕鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 1×10^{-6} M或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖。

b) 具有一重鏈可變區，含COS-3種系胺基酸序列，其中該重鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

c) 具有一輕鏈可變區，含DPL8種系胺基酸序列，其中該輕鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

在另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 $1 \times 10^{-6}\text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖。

b) 具有一重鏈可變區，含選自 $V_{\text{H}3}$ 種系族群成員之胺基酸序列，其中該重鏈可變區含有結構類似其他 $V_{\text{H}3}$ 種系族群成員CDR2s之CDR2，以及結構類似其他 $V_{\text{H}3}$ 種系族群成員CDR1s之CDR1，且其中該重鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

c) 具有一輕鏈可變區，含選自 $V_{\lambda 1}$ 種系族群成員之胺基酸序列，其中該輕鏈可變區含有結構類似其他 $V_{\lambda 1}$ 種系族群成員CDR2s之CDR2，以及結構類似其他 $V_{\lambda 1}$ 種系族群成員CDR1s之CDR1，且其中該輕鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，在重鏈CDR3中具有突變。在另一具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，在輕鏈CDR3中具有突變。在另一具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，在重鏈CDR2中具有突變。在另一具體實

例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，在輕鏈CDR2中具有突變。在另一具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，在重鏈CDR1中具有突變。在另一具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，在輕鏈CDR1中具有突變。

在另一方面，本發明提供帶有本發明編碼抗體之核酸之重組表現載體，且引入此載體之宿主細胞亦涵括於本發明之中，亦涵括藉由培養本發明細胞以製備本發明抗體之方法。

在另一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其可中和人類IL-12及至少一種其他靈長類動物IL-12（其選自狒狒IL-12、小猿IL-12、黑猩猩IL-12、獼猴IL-12、及恆河猴IL-12）之活性，但其不中和小鼠IL-12之活性。

在另一方面，本發明提供一種醫藥組合物，其含有本發明之抗體或其抗原結合部分，以及一種醫藥可接受之載體。

在另一方面，本發明提供一種組合物，其含有本發明之抗體或其抗原結合部分，以及一種額外之試劑，例如，療劑。

在另一方面，本發明提供一種抑制人類IL-12活性之方法，其包含使人類IL-12接觸本發明之抗體（如，J695），以抑制人類IL-12活性。

在另一方面，本發明提供一種在罹患其中IL-12活性係

有害之疾病之人類對象體內抑制人類IL-12活性之方法，其包含對該人類對象投藥本發明之抗體(如，J695)，以抑制該人類對象體內之人類IL-12活性。該疾病可為，例如，局部性迴腸炎、多重硬化症、或風濕性關節炎。

在另一方面，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性以取得預定目標活性之方法，其包含：

- a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；
- b) 選擇一較佳之選擇性誘變位置，其選自H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94；
- c) 將選擇之較佳選擇性誘變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出第一組突變抗體或其抗原結合部分；
- d) 評估第一組突變抗體或其抗原結合部分之活性，以測定單一選擇性誘變位置之突變是否產生具有預定目標活性或是部分目標活性之抗體或其抗原結合部分；
- e) 以逐步進行之方式，在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；
- f) 評估結合抗體或其抗原結合部分之活性，以測定該結合抗體或其抗原結合部分是否具有預定目標活性或是部分目標活性；
- g) 如步驟d)或f)並未產生具有預定目標活性之抗體或其抗原結合部分，或是產生僅具有部分活性之抗體，使選自

H35、H50、H53、H54、H95、H96、H97、H98、L30A、及L96之額外胺基酸殘基突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出第二組突變抗體或其抗原結合部分；

h) 評估第二組突變抗體或其抗原結合部分之活性，以測定選自H35、H50、H53、H54、H95、H96、H97、H98、L30A、及L96之單一胺基酸殘基突變是否產生具有預定目標活性或是部分目標活性之抗體或其抗原結合部分；

i) 以逐步進行之方式，在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之步驟g)個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；

j) 評估結合抗體或其抗原結合部分之活性，以測定該結合抗體或其抗原結合部分是否具有預定目標活性或是部分目標活性；

k) 如步驟h)或j)並未產生具有預定目標活性之抗體或其抗原結合部分，或是產生僅具有部分活性之抗體，使選自H33B、H52B、及L31A之額外胺基酸殘基突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出第三組突變抗體或其抗原結合部分；

l) 評估第三組突變抗體或其抗原結合部分之活性，以測定選自H33B、H52B、及L31A之單一胺基酸殘基突變是否產生具有預定目標活性或是部分目標活性之抗體或其抗原結合部分；

m) 以逐步進行之方式，在母抗體或其抗原結合部分

中，結合顯示具有改良活性之步驟k)個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；

n) 評估結合抗體或其抗原結合部分之活性，以測定該結合抗體或其抗原結合部分是否具有預定目標活性或是部分目標活性，因而產生具有預定目標活性之抗體或其抗原結合部分。

在另一方面，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性；

e) 對至少一個其他接觸或超變位置重複步驟b)至d)；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

在一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結

合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性並未在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性；

e) 對至少一個其他接觸或超變位置重複步驟b)至d)；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

在一較佳具體實例中，該接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96。在另一較佳具體實例中，該超變位置

係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及 L93。在一更佳具體實例中，該用以進行選擇性誘變之殘基係選自較佳選擇性誘變位置，其選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94。在一更佳具體實例中，該接觸位置係選自 L50 及 L94。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

- a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；
- b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置；
- c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在適當之表現系統中表現該組；
- d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；
- e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵，其中該特性或特徵係須要保留在該抗原中者；

直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合

部分。

在一較佳具體實例中，該接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96，且該其他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。在另一較佳具體實例中，該超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及 L93，且該其他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。在一更佳具體實例中，該用以進行選擇性誘變之殘基係選自較佳選擇性誘變位置，其選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94，且該其他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗

體。在一更佳具體實例中，該接觸位置係選自L50及L94，且該其他特徵係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵，其中該特性或特徵係須要保留在該抗原中者；直到取得相對於母

抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分；

f) 對至少一個其他較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置重複步驟a)至e)；

g) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

h) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

在一較佳具體實例中，該接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96，且該其他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。在另一較佳具體實例中，該超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及L93，且該其他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用

性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。在一更佳具體實例中，該用以進行選擇性誘變之殘基係選自較佳選擇性誘變位置，其選自H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94，且該其他特徵係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。在一更佳具體實例中，該接觸位置係選自L50及L94，且該其他特徵係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、

接觸或超變位置；

c) 將該選擇之接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵，其中該特性或特徵係須要保留在該抗原中者；

直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

在一較佳具體實例中，該接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96，且該其他特徵係選自 1) 保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2) 保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3) 製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。在另一較佳具體實例中，該超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及 L93，且該其

他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。在一更佳具體實例中，該用以進行選擇性誘變之殘基係選自較佳選擇性誘變位置，其選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94，且該其他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。在一更佳具體實例中，該接觸位置係選自 L50 及 L94，且該其他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區 (CDR) 中，選擇一較佳之選擇性誘變

位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵，其中該特性或特徵係須要保留在該抗原中者；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

f) 對至少一個其他較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置重複步驟a)至e)；

g)在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

h) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

在一較佳具體實例中，該接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96，且該其他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。在另一較佳具體實例中，該超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及 L93，且該其他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。在一更佳具體實例中，該用以進行選擇性誘變之殘基係選自較佳選擇性誘變位置，其選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94，且該其他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。在一更佳具體實例中，該接觸位置係選自 L50 及 L94，

且該其他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

- a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；
 - b) 在互補性決定區 (CDR) 中，選擇一除外 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96 之胺基酸殘基進行突變；
 - c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；
 - d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；
 - e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化；
- 直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

較佳者，該其他特徵或特性係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，

辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3) 製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；

b) 在互補性決定區 (CDR) 中，選擇一除外 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96 之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 對至少一個其他 CDR 位置重複步驟 b) 至 d)，該位置既非根據 b) 所選擇之位置，亦非位於 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96 之位置；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良活性之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合

抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之

抗體或其抗原結合部分。

較佳者，該其他特徵或特性係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 對CDR中至少一個其他位置重複步驟b)至d)，該位置既非根據b)所選擇之位置，亦非位於H30、H31、H31B、

H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94之位置；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良活性之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

較佳者，該其他特徵或特性係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化；

f) 對至少一個其他CDR位置重複步驟b)至e)，該位置既非根據b)所選擇之位置，亦非位於H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之位置。

g) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良之活性，且不影響至少一種其他特性或特徵之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

h) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性，以及至少一種其他特徵或特性之保留；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之親和性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、

L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化；

f) 對至少一個其他CDR位置重複步驟b)至e)，該位置既非根據b)所選擇之位置，亦非位於H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之位置。

g) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良之活性，且不影響至少一種其他特性或特徵之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成具有至少一種保留特性或特徵之結合抗體或其抗原結合部分；及

h) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性，以及至少一種其他特徵或特性之保留；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

較佳者，該其他特徵或特性係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性且不影響其他特徵之方法，其包含：

- a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；
- b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；
- c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；
- d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；
- e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，並保留其他特徵或特性之抗體或其抗原結合部分。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 對至少一個其他CDR位置重複步驟b)至d)，該位置既非根據b)所選擇之位置，亦非位於H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之位置；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良之活性，且不影響至少一種其他特性或特徵之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成具有至少一種保留特性或特徵之結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性，以及至少一種其他特徵或特性之保留；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

較佳者，該其他特徵或特性係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

為使本發明可更輕易明瞭，首先定義部分詞彙。

詞彙「活性促進性胺基酸殘基」包括一種可提升抗體活性之胺基酸殘基。咸應明瞭活性促進性胺基酸殘基可在接觸、超變、或較佳選擇性誘變位置取代胺基酸，同時，在一或多個CDR中可存在一個以上之活性促進性胺基酸殘基。活性促進性胺基酸殘基包括可改良抗體(例如，可結合人類IL-12之抗-人類IL-12抗體)結合專一性/親和性之胺基酸殘基。活性促進性胺基酸殘基亦包括可改良抗體(例如，可抑制人類IL-12之人類IL-12抗體)中和能力之胺基酸殘基。

詞彙「抗體」包括一種免疫球蛋白分子，其含有四條多肽鏈(兩條重(H)鏈及兩條輕(L)鏈)，以雙硫鍵互相連結。各條重鏈皆含有一重鏈可變區(於本文中以HCVR或VH縮寫)及一重鏈恆定區。重鏈恆定區含有三個蛋白域CH1、

CH2、及CH3。各條輕鏈皆含有一輕鏈可變區(於本文中以LCVR或VL縮寫)及一輕鏈恆定區。輕鏈恆定區含有一個蛋白域CL。VH及VL區可進一步次分為具高變性之區域(稱為互補性決定區(CDR))，與較為保守之區域(稱為構架區(FR))交互散布。各個VH及VL係由三個CDR及四個FR構成，以下列順序自胺端排列至羧端：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

抗體之「抗原結合部分」(或「抗體部分」)包括保留專一結合抗原(如，hIL-12)之能力之抗體片段。已經證實抗體之抗原結合功能可由全長抗體之片段表現。涵括於抗體之「抗原結合部分」一詞範圍下之結合片段實例包括(i)Fab片段，其為一種單價片段，由VL、VH、CL、及CH1域構成；(ii)F(ab')₂ 片段，其為一種二價片段，含有兩個Fab片段，由雙硫鍵在鉸鏈區域連結；(iii)Fd片段，由VH及CH1域構成；(iv)Fv片段，由抗體單臂之VL及VH域構成；(v)dAb片段(Ward et al., (1989) Nature 341:544-546)，其係由VH域構成；及(vi)分離之互補性決定區(CDR)。同時，儘管Fv片段之兩蛋白域(VL及VH)係由分離之基因編碼，其可使用重組法，以合成連接子相連，該連接子可使其以單一蛋白鏈之形式製備，在該鏈中，VL及VH區可配對形成單價分子(稱為單鏈Fv (scFv)；參見，如，Bird et al. (1988) Science 242:423-426；及Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883)。此等單鏈抗體亦涵括於抗體之「抗原結合部分」一詞範圍下。

其他單鏈抗體之形式，如雙抗體，亦涵括在內。雙抗體係二價、雙專一性之抗體，其中VL及VH區係以單一多肽鏈之形式表現，但其使用之連接子過短而無法使該二蛋白域在同一鏈上進行配對，因而迫使該等蛋白域與另一鏈上之互補域進行配對，產生兩個抗原結合位點(參見，如 Holliger, P., et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak, t.J., et al. (1994) *Structure* 2:1121-1123)。同時，抗體或其抗原結合部分可能為較大免疫吸附分子之部分，此等分子係由該抗體或其抗原結合部分與一或多種其他蛋白或多肽之共價或非共價連結而形成。此等免疫吸附分子之實例包括使用鏈黴親和素之核心區製備四聚體 scFv 分子(Kipriyanov, S.M., et al. (1995) *Human Antibodies and Hybridomas* 6:93-101)，以及使用一半胱氨酸殘基、一標記肽、及一C-端聚組氨酸標記製備二價及生物素醯化之 scFv 分子(Kipriyanov, S.M., et al. (1994) *Mol. Immunol.* 31:1047-1058)。可自完整抗體，使用共價技術，諸如完整抗體之木瓜蛋白酶或胃蛋白酶切割處理，分別置備抗體部分，諸如，Fab及F(ab')₂ 片段。同時，可使用標準重組DNA技術，如本文所數，取得抗體、抗體部分、及免疫吸附分子。較佳之抗原結合部分係完整蛋白域或完整蛋白域之配對。

詞彙「回復突變」係指一種方法，其中將人類抗體之體突變胺基酸以取自同源種系抗體序列之對應種系殘基取代。在VBASE資料庫中，分別將本發明人類抗體之重鏈及

輕鏈序列與種系序列進行排比。藉由突變編碼此等不同胺基酸之特定核苷酸位置，將本發明人類抗體之不同處回復成種系序列。應對如此獲得辨識以作為回復突變目標之各胺基酸角色進行探究，探討其在抗原結合中之直接或間接角色，而在突變後發現會影響人類抗體任何所欲特徵之任何胺基酸皆應包含於終人類抗體中；舉例而言，由選擇性誘變法辨識出之活性促進性胺基酸即不為進行回復突變之對象。為將回復突變之胺基酸對象數目減至最低，可保留經發現與最相近之種系序列不同，但與第二種系序列之對應胺基酸相同之胺基酸位置，條件為該第二種系序列與本發明人類抗體序列在該探討胺基酸之兩側各有至少10個，較佳為12個胺基酸為相同及共線性。回復突變可在抗體最適化處理之任何階段進行；較佳者，回復突變係在進行選擇性誘變之前或後即刻進行。更佳者，回復突變係在進行選擇性誘變之前即刻進行。

在本文中，詞彙「人類間白素12 (於本文中以hIL-12或IL-12縮寫)」包括一種人類細胞因子，其主要由巨噬細胞及樹狀細胞分泌。該詞彙包括一種異源雙體蛋白，含有一35 kDa次單元(p35)及一40 kDa次單元(p40)，其兩者以一雙硫鍵連結。該異源雙體蛋白被稱為「p70次單元」。人類IL-12之結構尚述於，舉例而言，Kobayashi, et al. (1989) J. Exp. Med. 170:827-845；Seder, et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. 90:10188-10192；Ling, et al. (1995) J. Exp. Med. 154:116-127；Podlaski, et al. (1992) Arch.

Biochem. Biophys. 294:230-237。人類IL-12一詞亦包括重組人類IL-12 (rh IL-12)，其可以標準重組表現法製備。

詞彙「Kabat編號」、「Kabat定義」、及「Kabat標記」在本文中互換使用。此等詞彙係為技藝所識，其係指一種編號胺基酸殘基之系統，該等胺基酸殘基較抗體或其抗原結合部分之重鏈或輕鏈可變區中之胺基酸殘基更為多變(即，超變)(Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)。就重鏈可變區而言，超變區域分布在胺基酸位置31至35 (CDR1)、胺基酸位置50至65 (CDR2)、以及胺基酸位置95至102 (CDR3)。就輕鏈可變區而言，超變區域分布在胺基酸位置24至34 (CDR1)、胺基酸位置50至56 (CDR2)、以及胺基酸位置89至97 (CDR3)。

在本文中，Kabat編號係用以指明在本發明抗體中進行胺基酸修飾之位置。舉例而言，抗-IL-21抗體Y61可在重鏈CDR1之位置31自絲胺酸突變為麩胺酸(H31S→E)，或者，可在輕鏈CDR3之位置94自甘胺酸突變為酪胺酸(L94G→Y)。

詞彙「人類抗體」包括具有對應人類種系免疫球蛋白序列之可變及恆定區之抗體，該等序列如Kabat et al.所述(參見，Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-

3242)。本發明之人類抗體可包括不為人類種系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(如，在試管中以隨機或定位誘變引入之突變，或是在活體中由體突變引入之突變)，舉例而言，在CDR中，特別是CDR3。該等突變較佳係使用本文所樹枝「選擇性誘變法」引入。該人類抗體可有至少一個位置由不為人類種系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(如，活性促進性胺基酸殘基)取代。該人類抗體可有最多二十個位置由不屬於人類種系免疫球蛋白序列之胺基酸殘基取代。在其他具體實例中，最多十個、最多五個、最多三個、或最多兩個位置係經取代。在一較佳具體實例中，此等取代係位於CDR區域中，其如下所詳述。然而，在本文中，詞彙「人類抗體」並不包括其中衍生自其他哺乳動物種之種系之CDR序列稼接至人類構架序列上者。

詞彙「重組人類抗體」包括以重組方法製備、表現、創造、或分離之人類抗體，諸如，使用轉染至宿主細胞中之重組表現載體表現之抗體(其於下進一步在單元II中敘述)、自重組之結合人類抗體庫中分離之抗體(其於下進一步在單元III中敘述)、自經人類免疫球蛋白基因轉基因之動物(如，小鼠)體內分離之抗體(參見，如，Taylor, L.D., et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295)、或由任何其他涉及將人類免疫球蛋白基因序列剪接成為其他DNA序列之方法製備、表現、創造、或分離之抗體。此等重組人類抗體具有衍生自人類種系免疫球蛋白序列(參見，Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological

Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)之可變及恆定區。然而，在部分具體實例中，此等重組人類抗體在試管中經誘變(或者，在使用經人類Ig序列轉基因之動物時，其在活體內經體誘變)，因此，重組抗體VH及VL區域之胺基酸序列儘管係衍生自且相關人類種系VH及VL序列之序列，但可能並非天然存在於人類抗體種系活體組成中者。然而，在部分具體實例中，此等重組抗體係選擇性誘變、或回復突變、或其兩者所造成之結果。

「分離抗體」包括一種抗體，其實質上不含其他具不同抗原專一性之抗體(如，專一結合hIL-12之分離抗體即實質上不含專一結合非hIL-12之抗原之抗體)。專一結合hIL-12之分離抗體可結合取自其他生物種之IL-12分子(其於下進一步詳述)。同時，分離抗體實質上不含其他細胞物質及/或化學物質。

「中和抗體」(或「可中和hIL-12活性之抗體」)包括一種抗體，其與hIL-12之結合造成hIL-12生物活性之抑制。此種hIL-12生物活性之抑制可藉測量一或多種hIL-12生物活性之指標而進行評估，諸如，在植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA)中對植物血球凝集素母細胞增殖之抑制，或是在人類IL-12受體結合分析中(參見實例3-干擾素 γ 誘發分析)對受體結合之抑制。可使用一或多種技藝中所知之諸多標準試管或活體分析，評估此等hIL-12生物活性之指標(參見實例3)。

詞彙「活性」包括諸如抗體對於抗原之結合專一性/親和性(例如, 可結合IL-12抗原之抗-人類hIL-12抗體)及/或抗體之中和能力(例如, 抗-人類hIL-12抗體, 其與hIL-12之結合可抑制hIL-12之生物活性, 如, 抑制PHA母細胞之增殖或在人類IL-12受體結合分析中(參見實例3)抑制受體之結合)之活性。

詞彙「表面細胞質基因組共振」包括一種光學現象, 其可藉由偵測生物感應器基質中蛋白質濃度之改變(例如, 使用BIAcore系統(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, NJ)), 進行實時生物專一性作用之分析。進一步之敘述可參見實例5及Jönsson, U., et al. (1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26; Jönsson, U., et al. (1991) Biotechniques 11:620-627; Johnsson, B., et al. (1995) J. Mol. Recognit. 8:125-131; 及Johnsson, B., et al. (1991) Anal. Biochem. 198:268-277。

在本文中, 詞彙「 k_{off} 」係指使抗體自抗體/抗原複合物分離之分離速率常數。

在本文中, 詞彙「 K_d 」係指特定抗體-抗原作用之分離常數。

詞彙「核酸分子」包括DNA分子及RNA分子。核酸分子可為單股或雙股, 但較佳係雙股DNA。

在本文中, 詞彙「分離之核酸分子」編碼可結合hIL-12之抗體或抗體部分(如, VH、VL、CDR3)(包括「分離抗體」)之核酸, 包括一種核酸分子, 其中編碼該抗體或抗體

部分之核苷酸序列不含編碼可結合非hIL-12抗原之抗體或抗體部分之其他核苷酸序列，該等其他序列天然可在人類基因組DNA中位於該核酸之側翼。因此，舉例而言，編碼抗-IL-12抗體VH區域之本發明分離核酸即不含編碼可結合非IL-12抗原之其他VH區域之其他序列。詞彙「分離之核酸分子」一包括編碼二價、雙專一性之抗體，諸如雙抗體，其中VH及VL區域不含非該雙抗體序列之其他序列。

詞彙「載體」一種核酸分子，其可運輸另一與其相連之核酸。其中一類之載體係「質體」，其係指一種環狀雙股環，其中可連接額外之DNA片段。另一類之載體係病毒載體，其中，額外之DNA片段可連接至病毒基因組中。部分之載體可在其所引入之宿主細胞中自行複製(如，具有細菌複製起點之細菌載體，以及游離型哺乳動物載體)。其他之載體(如，非游離型哺乳動物載體)則可在引入宿主細胞中時整合進入宿主細胞之基因組中，因而隨宿主細胞之基因組一同進行複製。同時，部分之載體可指引表現以可操作之形式與其連結之基因。此等載體於本文中稱為「重組表現載體」(或僅稱「表現載體」)。一般而言，可用於重組DNA技術中之表現載體通常係以質體之形式存在。在本說明書中，「質體」及「載體」可互換使用。因質體係最常使用之載體形式。然而，本發明亦包括可表現當量功能之其他形式表現載體，諸如，病毒載體(如，複製缺失性逆轉錄病毒、腺病毒、及腺病毒伴隨病毒)。

詞彙「重組宿主細胞」(或僅為「宿主細胞」)包括一種

細胞，其中已引入重組表現載體。咸應明瞭，此等詞彙不僅係指特定之目標細胞，亦係指此種細胞之子代。由於進行增殖之過程中可能會因突變或環境影響而產生部分之修飾，事實上，此等子代可能不與母細胞完全相同，但其仍包括於本文所用詞彙「宿主細胞」之範圍中。

在本文中，詞彙「修飾」係指於抗體或其抗原結合部分中改變一或多個胺基酸。該等改變可藉由一或多個位置之胺基酸添加、取代、或缺失而引入。該等可使用已知隻技術引入，諸如，PCR誘變。

詞彙「接觸位置」包括抗體重鏈可變區或輕鏈可變區之CDR1、CDR2、或CDR3中之胺基酸位置，其係由以26種已知抗體-抗原結構中之一種接觸抗原之胺基酸佔據。如果一CDR胺基酸以26種已知抗體-抗原複合物結構中之任何一種接觸抗原，該胺基酸即可視為佔據一接觸位置。相較於非接觸位置，接觸位置具有較高之可能性為接觸抗原之胺基酸佔據。較佳者，接觸位置係一CDR位置，其含有一胺基酸，以該26種結構中超過3種之方式(>11.5%)接觸抗原。最佳者，接觸位置係一CDR位置，其含有一胺基酸，以該26種結構中超過8種之方式(>32%)接觸抗原。

詞彙「超變位置」包括一胺基酸殘基，佔據抗體重鏈可變區或輕鏈可變區之CDR1、CDR2、或CDR3中之位置，其被視為在抗體之活體中親和力成熟過程中具有較高之頻率或可能性產生體超變者。「產生體超變之較高頻率或可能性」包括自5至約40%之頻率或可能性該殘基在抗體之

活體中親和力成熟過程中會產生體超變。咸應明瞭，在此指明範圍之內之所有範圍亦皆為本發明之一部分，如，5至約30%，如，5至約15%，如，15至約30%。

詞彙「較佳之選擇性誘變位置」包括一胺基酸殘基，佔據重鏈可變區或輕鏈可變區之CDR1、CDR2、或CDR3中之位置，其可同時視為接觸及超變位置兩者。

詞彙「選擇性誘變法」包括一種改良抗體活性之方法，藉由選擇並分別突變位於至少一個較佳之選擇性誘變位置、超變位置、及/或接觸位置之CDR胺基酸而進行。

「選擇性經突變」之人類抗體係一種抗體，其含有使用選擇性誘變法於選擇之位置上進行之突變。在另一具體實例中，該選擇性誘變法係提供一種方法，其選擇性突變位於抗體重鏈可變區CDR1、CDR2、或CDR3（於後文分別稱為H1、H2、及H3）或輕鏈可變區CDR1、CDR2、或CDR3（於後文分別稱為L1、L2、及L3）中之經選擇個別胺基酸殘基。該等胺基酸殘基可選自較佳之選擇性誘變位置、接觸位置、及/或超變位置。個別胺基酸係根據其於輕鏈或重鏈可變區域中之位置而選擇。咸應明瞭，一超變位置亦可為一接觸位置。在一具體實例中，該選擇性誘變法係「導向法」。詞彙「導向法」包括一種方法，其以導向之方式，選擇性突變位於抗體重鏈可變區CDR1、CDR2、或CDR3或輕鏈可變區CDR1、CDR2、或CDR3中之經選擇個別胺基酸殘基，如，「逐群導向法」或「逐-CDR導向法」。在「逐群導向法」中，其以特定族群中之個別胺基

酸殘基作為目標進行選擇性突變，包括族群I(包括L3及H3)、II (包括H2及L1)、及III (包括L2及H1)，此等族群以其作為目標之優先順序列出。在「逐-CDR導向法」中，其以特定CDR中之個別胺基酸殘基作為目標進行選擇性突變，其作為目標之優先順序如下：H3、L3、H2、L1、H1、及L2。將選擇之胺基酸殘基突變為，如，至少兩種其他胺基酸殘基，並測定該突變對於抗體活性之影響。以抗體結合專一性/親和性，及/或抗體中和能力之變化測量活性。咸應明瞭，選擇性誘變法可用以對衍生自任何來源(包括噬菌體展示、具人類IgG種系基因之轉基因動物、自人類B細胞分離之人類抗體)之任何抗體進行最適化。較佳者，該選擇性誘變法係用於無法使用噬菌體展示技術進行進一步最適化之抗體上。咸應明瞭，可在進行選擇性誘變之前或後，對取自任何來源(包括噬菌體展示、具人類IgG種系基因之轉基因動物、自人類B細胞分離之人類抗體)之抗體進行回復突變。

詞彙「活性促進性胺基酸殘基」可改良抗體活性之胺基酸殘基。咸應明瞭，活性促進性胺基酸殘基可在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置、或超變位置取代胺基酸殘基，同時，在一或多個CDR中可具有一個以上之活性促進性胺基酸殘基。活性促進性胺基酸殘基包括可改良抗體(例如，可結合人類IL-12之抗-人類IL-12抗體)結合專一性/親和性之胺基酸殘基。活性促進性胺基酸殘基亦包括可改良抗體(例如，可抑制人類IL-12之人類IL-12抗體)中和能力

之胺基酸殘基。

本發明之各種範疇在下面各節中進一步詳述。

I. 可結合人類IL-12之人類抗體

本發明提供可結合人類IL-12之抗體或其抗原結合部分。較佳者，本發明之人類抗體係重組、中和性之人類抗-hIL-12抗體。本發明可結合人類IL-12之抗體可藉，舉例而言，以hIL-12篩選一或多種人類V_L及V_H cDNA庫而選擇，諸如，藉由噬菌體展示技術，如實例1所述。人類V_L及V_H cDNA庫之篩選首先辨識出一系列之抗-IL-12抗體，其中選擇一抗體(其於本文中稱為「Joe 9」，或「Joe 9野生型」)進行進一步之發展。Joe 9係一種相對低親和性之人類IL-12抗體(如，具約0.1 sec⁻¹之k_{off})，然其可用於專一性結合並偵測hIL-12。藉由進行重鏈及輕鏈CDR之誘變，產生一組輕鏈及重鏈可變區，其經「混合及配對」並進行進一步之突變，產生許多具有較佳hIL-12親和性之額外抗-hIL-12抗體，以改良Joe 9抗體之親和性(參見實例1、表2(參見附件A)、及圖1A-D之序列排比)。

在此等抗體中，於本文中稱為Y61之人類抗-hIL-12抗體展現結合親和性之顯著進步(如，具約2 x 10⁻⁴ sec⁻¹之k_{off})。選擇Y61抗-hIL-12抗體，分別突變重鏈及輕鏈CDR中之特定胺基酸殘基，以進行進一步之親和力成熟。根據佔據較佳選擇性誘變位置、接觸位置、及/或超變位置之胺基酸殘基，選擇Y61之胺基酸殘基進行定位突變(選擇性誘變法)。在該重鏈及輕鏈CDR所選位置上之取代摘述示

於圖 2A-2H。一種較佳之本發明重組中和抗體(其於本文中稱為 J695)由 Y61 輕鏈 CDR2 位置 50 之 Gly 至 Tyr 取代，以及 Y61 輕鏈 CDR3 位置 94 之 Gly 至 Tyr 取代產生。

自 Joe 9 野生型至 J695 譜系之一組本發明抗-IL-12 抗體之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列排比示於圖 1A-1D。此等序列排比能夠在自 Joe 9 至 J695 之譜系中，辨識出本發明可結合 hIL-12 之抗體之較佳重鏈及輕鏈可變區共有序列，以及 CDR3、CDR2、及 CDR1 共有序列。同時，摘述示於圖 2A-2H 中之 Y61 誘變分析能夠在自 Y61 至 J695 之譜系中(其涵括具有自 Y61 進行之修飾，但仍保留良好 hIL-12 結合特性之序列)，辨識出可結合 hIL-12 之重鏈及輕鏈可變區共有序列，以及可結合 hIL-12 之 CDR3、CDR2、及 CDR1 共有序列。下面摘述較佳之本發明 CDR、VH、及 VL 序列(包括共有序列)(其如本文所附序列表中序列編號所辨識者)。

序列 編號 NO:	抗體鏈	區域	序列
1	Joe 9 至 J695 共有	CDR H3	(H/S)-G-S-(H/Y)-D-(N/T/Y)
2	Joe 9 至 J695 共有	CDR L3	Q-(S/T)-Y-(D/E)-(S/R/K)-(S/G/Y)- (L/F/T/S)-(R/S/T/W/H)-(G/P)- (S/T/A/L)-(R/S/M/T/L)-(V/I/T/M/L)
3	Joe 9 至 J695 共有	CDR H2	F-I-R-Y-D-G-S-N-K-Y-Y-A-D-S-V-K-G
4	Joe 9 至 J695 共有	CDR L2	(G/Y)-N-(D/S)-(Q/N)-R-P-S

5	Joe 9至J695 共有	CDR H1	F-T-F-S-(S/E)-Y-G-M-H
6	Joe 9至J695 共有	CDR L1	(S/T)-G-(G/S)-(R/S)-S-N-I-(G/V)- (S/A)eb)-(N/G/Y)-(T/D)-V-(K/H)
7	Joe 9至J695 共有	VH	(完整VH序列；參見序列表)
8	Joe 9至J695 共有	VL	(完整VL序列；參見序列表)
9	Y61至J695 共有	CDR H3	H-(G/V/C/H)-(S/T)-(H/T/V/R/I)- (D/S)-(N/K/A/T/S/F/W/H)
10	Y61至J695 共有	CDR L3	Q-S-Y-(D/S)-(Xaa)- (G/D/Q/L/F/R/H/N/Y)-T-H-P-A-L-L
11	Y61至J695 共有	CDR H2	(F/T/Y)-I-(R/A)-Y-(D/S/E/A)-(G/R)- S-(Xaa)-K-(Y/E)-Y-A-D-S-V-K-G
12	Y61至J695 共有	CDR L2	(G/Y/S/T/N/Q)-N-D-Q-R-P-S
13	Y61至J695 共有	CDR H1	F-T-F-(Xaa)-(Xaa)-(Y/H)- (G/M/A/N/S)-M-H
14	Y61至J695 共有	CDR L1	S-G-G-T-S-N-I-G-(S/C/R/N/D/T)- (N/M/I)-(T/Y/D/H/K/P)-V-K
15	Y61至J695 共有	VH	(完整VH序列；參見序列表)
16	Y61至J695 共有	VL	(完整VL序列；參見序列表)
17	Y61	CDR H3	H-G-S-H-D-N
18	Y61	CDR L3	Q-S-Y-D-R-G-T-H-P-A-L-L
19	Y61	CDR H2	F-I-R-Y-D-G-S-N-K-Y-Y-A-D-S-V-K-G
20	Y61	CDR L2	G-N-D-Q-R-P-S

21	Y61	CDR H1	F-T-F-S-S-Y-G-M-H
22	Y61	CDR L1	S-G-G-R-S-N-I-G-S-N-T-V-K
23	Y61	VH	(完整VH序列；參見序列表)
24	Y61	VL	(完整VL序列；參見序列表)
25	J695	CDR H3	H-G-S-H-D-N
26	J695	CDR L3	Q-S-Y-D-R-Y-T-H-P-A-L-L
27	J695	CDR H2	F-I-R-Y-D-G-S-N-K-Y-Y-A-D-S-V-K-G
28	J695	CDR L2	Y-N-D-Q-R-P-S
29	J695	CDR H1	F-T-F-S-S-Y-G-M-H
30	J695	CDR L1	S-G-S-R-S-N-I-G-S-N-T-V-K
31	J695	VH	(完整VH序列；參見序列表)
32	J695	VL	(完整VL序列；參見序列表)

以表面細胞質基因組共振測定 K_d 及 k_{off} 速率，對由Joe 9野生型之親和力成熟產生之抗體進行功能定性。產生一系列 k_{off} 速率介於約 0.1 s^{-1} 至約 $1 \times 10^{-5}\text{ s}^{-1}$ 之抗體，且較佳係 k_{off} 速率介於約 $1 \times 10^{-4}\text{ s}^{-1}$ 至約 $1 \times 10^{-5}\text{ s}^{-1}$ 或以下者。亦於試管內對抗體進行定性，測定其抑制植物血球凝集素(PHA)母細胞增殖之能力，如實例3所述。產生一系列 IC_{50} 值介於約 $1 \times 10^{-6}\text{ M}$ 至約 $1 \times 10^{-11}\text{ M}$ 之抗體，且較佳係約 $1 \times 10^{-10}\text{ M}$ 至約 $1 \times 10^{-11}\text{ M}$ 或以下者。

因此，在一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共

振測定)，或其可在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 1×10^{-6} M或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖。在較佳具體實例中，該分離之人類IL-12抗體，或其抗原結合部分，係以 $1 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離，或在試管中之PHA分析中以 1×10^{-7} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。在更佳具體實例中，該分離之人類IL-12抗體，或其抗原結合部分，係以 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離，或在試管中之PHA分析中以 1×10^{-8} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。在更佳具體實例中，該分離之人類IL-12抗體，或其抗原結合部分，係以 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離，或在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。在更佳具體實例中，該分離之人類IL-12抗體，或其抗原結合部分，係以 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離，或在試管中之PHA分析中以 1×10^{-10} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。在再更佳具體實例中，該分離之人類IL-12抗體，或其抗原結合部分，係以 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離，或在試管中之PHA分析中以 1×10^{-11} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。

IL-12抗體之分離速率常數(k_{off})可以表面細胞質基因組共振測定(參見實例5)。一般而言，表面細胞質基因組共振

分析係使用 BIAcore 系統 (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, NJ))，以表面細胞質基因組共振 (SPR)，測量配位體 (固定於生物感應器基質上之重組人類 IL-12) 及分析物 (溶液中之抗體) 間之實時生物結合作用。表面細胞質基因組分析亦可藉由固定分析物 (生物感應器基質上之抗體) 並提供配位體 (溶液中之重組 IL-12) 而進行。IL-12 抗體或其抗原結合部分之中和活性可使用一或多種諸多適當之試管分析進行評估 (參見實例 3)。

技藝中已知抗體之重鏈及輕鏈 CDR 在抗體對於抗原之結合專一性/親和性中扮演重要角色。因此，本發明涵括具有 Joe 9 之輕鏈及重鏈 CDR 之人類抗體，以及具有經修飾以改良抗體結合專一性/親和性之 CDR 之其他抗體。如實例 1 所示，對輕鏈及重鏈 CDR 所進行之一系列修飾可造成人類抗-hIL-12 抗體之親和力成熟。自 Joe 9 野生型至 J695 一系列可結合人類 IL-12 之人類抗體之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列排比示於圖 1A-1D。抗體 CDR 之之共有序列基序可自該序列排比中決定 (如上表所摘述)。舉例而言，自 Joe 9 野生型至 J695 譜系之 VH CDR3 共有基序含有胺基酸序列：(H/S)-G-S-(H/Y)-D-(N/T/Y) (序列編號 NO: 1)，其涵括序列編號 NO: 7 所示共有 HCVR 位置 95 至 102 之胺基酸。VL CDR3 共有基序含有胺基酸序列：Q-(S/T)-Y-(D/E)-(S/R/K)-(S/G/Y)-(L/F/T/S)-(R/S/T/W/H)-(G/P)-(S/T/A/L)-(R/S/M/T/L)-(V/I/T/M/L) (序列編號 NO: 2)，其涵括序列編號 NO: 8 所示共有 LCVR 位置 89 至 97 之胺基酸。

因此，在另一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

- a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-6} M 或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；
- b) 具有含序列編號NO: 1胺基酸序列之重鏈CDR3；且
- c) 具有含序列編號NO: 2胺基酸序列之輕鏈CDR3。

在一較佳具體實例中，該抗體尚含有一VH CDR2，其含胺基酸序列：F-I-R-Y-D-G-S-N-K-Y-Y-A-D-S-V-K-G（序列編號NO: 3）（其涵括含序列編號NO: 7胺基酸序列之共有HCVR位置50至65之胺基酸），且尚含有一VL CDR2，其含胺基酸序列：(G/Y)-N-(D/S)-(Q/N)-R-P-S（序列編號NO: 4）（其涵括含序列編號NO: 8胺基酸序列之共有LCVR位置50至56之胺基酸）。

在另一較佳具體實例中，該抗體尚含有一VH CDR1，其含胺基酸序列：F-T-F-S-(S/E)-Y-G-M-H（序列編號NO: 5）（其涵括含序列編號NO: 7胺基酸序列之共有HCVR位置27至35之胺基酸），且尚含有一VL CDR1，其含胺基酸序列：(S/T)-G-(G/S)-(R/S)-S-N-I-(G/V)-(S/A)-(N/G/Y)-(T/D)-V-(K/H)（序列編號NO: 6）（其涵括含序列編號NO: 8胺基酸序列之共有LCVR位置24至34之胺基酸）。

在又另一較佳具體實例中，本發明之抗體含有含序列編號NO: 7胺基酸序列之HCVR；以及含序列編號NO: 8胺基酸序列之LCVR。

可根據產生J695抗體之Y61突變分析（摘述於圖2A-2H），

決定額外之共有基序。如示於圖2A-2H之圖表所說明者，Y61重鏈及輕鏈CDR之部分殘基可順從取代而不會顯著降低抗體之hIL-12結合特性。舉例而言，在CDR H1之位置30以十二種不同之胺基酸殘基所進行之個別取代皆不會顯著降低抗體之 k_{off} 速率，其指出該位置可順從各種不同胺基酸殘基之取代。因此，根據該突變分析(即，Y61中可順從其他胺基酸殘基取代之位置)而決定共有基序。重鏈及輕鏈CDR3之共有基序分別示於序列編號NO: 9及10，重鏈及輕鏈CDR2之共有基序分別示於序列編號NO: 11及12，而重鏈及輕鏈CDR1之共有基序分別示於序列編號NO: 13及14。VH及VL區域之共有基序分別示於序列編號NO: 15及16。

因此，在一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

- a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；
- b) 具有含序列編號NO: 9胺基酸序列之重鏈CDR3；且
- c) 具有含序列編號NO: 10胺基酸序列之輕鏈CDR3。

在一較佳具體實例中，該抗體尚含有含序列編號NO: 11胺基酸序列之VH CDR2，且尚含有含序列編號NO: 12胺基酸序列之VL CDR2。

在另一較佳具體實例中，該抗體尚含有含序列編號NO: 13胺基酸序列之VH CDR1，且尚含有含序列編號NO: 14胺基酸序列之VL CDR1。

在又另一較佳具體實例中，本發明之抗體含有含序列編號NO: 15胺基酸序列之HCVR；以及含序列編號NO: 16胺基酸序列之LCVR。

本發明之較佳抗體，人類抗-hIL-12抗體Y61，係自Joe 9野生型之親和力成熟，藉由CDR3之PCR誘變產生(如實例1所述)。Y61具有改良之專一性/結合親和性，其係以表面細胞質基因組共振及試管中之中和分析測定。

Y61之重鏈及輕鏈CDR3分別示於序列編號NO: 17及18，Y61之重鏈及輕鏈CDR2分別示於序列編號NO: 19及20，而Y61之重鏈及輕鏈CDR1分別示於序列編號NO: 21及22。Y61之VH具有序列編號NO: 23之胺基酸序列，而Y61之VL具有序列編號NO: 24之胺基酸序列(此等序列亦示於圖1A-1D，與Joe 9共同排比)。

因此，在另一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 具有含序列編號NO: 17胺基酸序列之重鏈CDR3；且

c) 具有含序列編號NO: 18胺基酸序列之輕鏈CDR3。

在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 19胺基酸序列之重鏈CDR2；以及含序列編號NO: 20胺基酸序列之輕鏈CDR2。

在另一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 21胺基酸序列之重鏈

CDR1；以及含序列編號NO: 22胺基酸序列之輕鏈CDR1。

在又一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號NO: 23胺基酸序列之重鏈可變區；以及含序列編號NO: 24胺基酸序列之輕鏈可變區。

在部分具體實例中，該全長抗體含有一重鏈恆定區，諸如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、及IgE恆定區，及其任何同種異形變體，如Kabat所述(Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)。較佳者，該抗體重鏈恆定區係IgG1重鏈恆定區。或者，該抗體部分可為Fab片段、F(ab')₂片段、或單鏈Fv片段。

Y61個別之修飾產生圖2A-2H所示之一組抗體。以表面細胞質基因組共振及/或試管中之中和分析測定各抗體之專一性/結合親和性。

因此，在另一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 具有含選自序列編號NO: 404 -序列編號NO: 469胺基酸序列之重鏈CDR3；且

c) 具有含選自序列編號NO: 534 -序列編號NO: 579胺基酸序列之輕鏈CDR3。

在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結

合部分，具有含選自序列編號NO: 335 -序列編號NO: 403
胺基酸序列之重鏈CDR2；以及含選自序列編號NO: 506 -
序列編號NO: 533胺基酸序列之輕鏈CDR2。

在另一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原
結合部分，具有含選自序列編號NO: 288 -序列編號NO:
334胺基酸序列之重鏈CDR1；以及含選自序列編號NO:
470-序列編號NO: 505胺基酸序列之輕鏈CDR1。

在又一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原
結合部分，具有含序列編號NO: 23胺基酸序列之重鏈可變
區；以及含序列編號NO: 24胺基酸序列之輕鏈可變區。

在部分具體實例中，該全長抗體含有一重鏈恆定區，諸
如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、及IgE恆定
區，及其任何同種異形變體，如Kabat所述(Kabat, E.A., et
al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest,
Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human
Services, NIH Publication No. 91-3242)。較佳者，該抗體
重鏈恆定區係IgG1重鏈恆定區。或者，該抗體部分可為
Fab片段、F(ab')₂片段、或單鏈Fv片段。

本發明之一特別較佳重組中和抗體J695係由抗體Y61接
觸及超變胺基酸殘基之定位突變而產生(參見實例2及下文
單元III)。J695與Y61之不同在於輕鏈CDR2位置50之Gly至
Tyr取代，以及Y61輕鏈CDR3位置94之Gly至Tyr取代。
J695之重鏈及輕鏈CDR3分別示於序列編號NO: 25及26，
J695之重鏈及輕鏈CDR2分別示於序列編號NO: 27及28，

而 J695 之重鏈及輕鏈 CDR1 分別示於序列編號 NO: 29 及 30。J695 之 VH 具有序列編號 NO: 31 之胺基酸序列，而 J695 之 VL 具有序列編號 NO: 32 之胺基酸序列(此等序列亦示於圖 1A-1D，與 Joe 9 共同排比)。

因此，在另一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其

a) 在試管中之 PHA 分析中以 1×10^{-9} M 或以下之 IC₅₀ 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 具有含序列編號 NO: 25 胺基酸序列之重鏈 CDR3；且

c) 具有含序列編號 NO: 26 胺基酸序列之輕鏈 CDR3。

在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號 NO: 27 胺基酸序列之重鏈 CDR2；以及含序列編號 NO: 28 胺基酸序列之輕鏈 CDR2。

在另一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號 NO: 29 胺基酸序列之重鏈 CDR1；以及含序列編號 NO: 30 胺基酸序列之輕鏈 CDR1。

在又一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，具有含序列編號 NO: 31 胺基酸序列之重鏈可變區；以及含序列編號 NO: 32 胺基酸序列之輕鏈可變區。

在部分具體實例中，該全長抗體含有一重鏈恆定區，諸如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、及 IgE 恆定區，及其任何同種異形變體，如 Kabat 所述 (Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human

Services, NIH Publication No. 91-3242)。較佳者，該抗體重鏈恆定區係IgG1重鏈恆定區。或者，該抗體部分可為Fab片段、F(ab')₂片段、或單鏈Fv片段。

可對自Joe 9至J695譜系，或自Y61至J695譜系之抗體之較佳CDR3、CDR2、及CDR1共有序列進行其他突變，以提供其他本發明之抗-IL-12抗體。此等修飾方法可以使用標準分子生物學技術(諸如，PCR誘變)，以輕鏈及/或重鏈CDR中之個別接觸或超變胺基酸殘基作為目標進行，再如本文所述對經修飾之抗體進行動力學及功能分析(如，實例3所述之中和分析，以及如實例5所述進行BIAcore分析)。

因此，在另一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-6} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 含有含序列編號NO: 1胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 3胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 5胺基酸序列之重鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 1胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 3胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 5胺基酸序列之重鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之k_{off}速率；且

c) 含有含序列編號NO: 2胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序

列編號NO: 4胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 6胺基酸序列之輕鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 2胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 4胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 6胺基酸序列之輕鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率。

在另一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 含有含序列編號NO: 9胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 11胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 13胺基酸序列之重鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 9胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 11胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 13胺基酸序列之重鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率；且

c) 含有含序列編號NO: 10胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 12胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 14胺基酸序列之輕鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 10胺基酸序列之輕鏈

CDR3、含序列編號NO: 12胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 14胺基酸序列之輕鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率。

一般熟習技藝者亦可明瞭，可對本發明抗體之CDR區域進行其他突變(例如，在Y61或J695中)，以提供其他本發明之抗-IL-12抗體。如上所述，此等修飾方法可以使用標準分子生物學技術進行。對於經修飾抗體之動力學及功能分析則可分別如實例3及實例5所述進行。造成J695產生之Y61個別殘基修飾示於圖2A-2H並述於實例2中。

因此，在另一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 含有含序列編號NO: 17胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 19胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 21胺基酸序列之重鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 17胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 19胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 21胺基酸序列之重鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率；且

c) 含有含序列編號NO: 18胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 20胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 22胺基酸序列之輕鏈CDR1，或其突變體，在接觸

位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 18胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 20胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 22胺基酸序列之輕鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率。

在另一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 含有含序列編號NO: 25胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 27胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 29胺基酸序列之重鏈CDR1，或其突變體，在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 25胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 27胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 29胺基酸序列之重鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率；且

c) 含有含序列編號NO: 26胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 28胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 30胺基酸序列之輕鏈CDR1，或其突變體，在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 26胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 28胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 30胺基酸序列之輕鏈

CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率。

在又另一具體實例中，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其可中和人類IL-12及至少一種其他靈長類動物IL-12（其選自狒狒IL-12、小猿IL-12、黑猩猩IL-12、獼猴IL-12、及恆河猴IL-12）之活性，但其不中和小鼠IL-12之活性。

II 重組人類抗體之篩選

本發明之重組人類抗體可藉篩選重組結合抗體庫（較佳為scFv噬菌體展示庫）而進行，該重組結合抗體庫係使用人類VL及VH cDNA（其係由衍生自人類淋巴細胞衍生之mRNA製備）製備。製備及篩選此種抗體庫之方法係技藝中已知者。除用以製備噬菌體展示庫之市售套組外（如，Phar,acoa之重組噬菌體抗體系統（Recombinant Phage Antibody System），型錄編號no. 27-9400-01；及Stratagene之SurfZAP™噬菌體展示套組，型錄編號no. 240612），特別可用於製備及篩選抗體展示庫之方法及試劑之例可見於，例如，Kang et al. PCT專利公開案WO 92/18619；Winter et al. PCT專利公開案WO 92/20791；Breitling et al. PCT專利公開案WO 93/01288；McCafferty et al. PCT專利公開案WO 92/02047；Garrard et al. PCT專利公開案WO 92/09690；Fuchs et al. (1991) Bio/Technology 9:1370-1372；Hay et al. (1992) Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85；Huse et al. (1989) Science 246:1275-1281；McCafferty et al. (1990) Nature 348:552-554；Griffiths et al. (1993)

EMBO J. 12:725-734 ; Hawkins et al. (1992) J. Mol. Biol. 226:889-896 ; Clackson et al. (1991) Nature 352:624-628 ; Gram et al. (1992) PNAS 89:3576-3580 ; Farrad et al. (1991) Bio/Technology 9:1373-1377 ; Hoogenboom et al. (1991) Nuc. Acid Res. 19:4133-4137 ; 及 Barbas et al. (1991) PNAS 88:7978-7982 。

用於此種方法之抗體庫較佳係自人類VL及VH cDNA製備之scFv庫。scFv抗體庫之篩選較佳係使用重組人類IL-12作為抗原，選擇對IL-12具有結合活性之人類重鏈及輕鏈序列。位選擇對於IL-12之p35次單元或是p70異源雙體具有專一性之抗體，在過量自由p40次單元存在之情形下進行篩選分析。舉例而言，可藉由微-Friguet滴定，如實例1所述，測定次單元偏好。

一旦篩選出起始之人類VL及VH片段，即可進行「混合及配對」實驗(其中對不同配對之所選VL及VH片段進行hIL-12結合能力之篩選)，以選擇較佳之VL/VH配對組合(參見實例1)。同時，為進一步提升親和性及/或降低hIL-12結合之分離速率常數，可對較佳VL/VH配對之VL及VH片段進行隨機突變，較佳係在VL及/或VH之CDR3區域中，使用類似活體中體突變流程(其係在天然免疫反應中造成親和力成熟之流程)之方法。此種試管中之親和力成熟可藉VH及VL區域之擴增而完成，分別使用與VH CDR3及VL CDR3互補之引子，該等引子在特定位置「摻加」有四種核苷酸鹼基之隨機混合物，以使所得之PCR產物編碼

已將隨機突變引入VH及/或VL CDR3區域之VH及VL片段。此等經隨機突變之VH及VL片段可再經選擇，並再篩選對於hIL-12之結合，以選擇對IL-12之結合具有高親和性及低分離速率之序列。表2(參見附件A)顯示由試管中之親和力成熟作用而產生之具有經改變結合專一性/親和性之抗體。

在自重組免疫球蛋白展示庫中選擇、分離、及篩選本發明抗-hIL-12抗體後，可自噬菌體顆粒(如，自噬菌體基因組)回收編碼經選擇抗體之核酸，並以標準重組DNA技術次選殖進入其他表現載體中。如須要，該核酸可經進一步之操縱而創造其他本發明抗體形式(如，連結編碼其他免疫球蛋白域之核酸，諸如，其他恆定區)。為表現由篩選重組庫而分離之重組人類抗體，其將編碼該抗體之DNA選殖進入重組表現載體中，並引入哺乳動物宿主細胞，如下文實例1進一步詳述者。

以噬菌體展示技術選擇人類IL-12結合抗體之方法，以及以CDR區域之隨機或定位誘變進行之所選抗體親和力成熟皆於實例1進一步詳述。

如實例1所述，人類VL及VH cDNA庫之篩選辨識出一系列之抗-IL-12抗體，其中選擇Joe 9進行進一步之發展。將Joe 9之重鏈可變區與選自VBASE資料庫之重鏈種系序列進行比較後，顯示Joe 9與COS-3種系序列相似。COS-3屬於V_H3種系序列族群。

V_H3族群係人類VH種系組成中之一部分，該組成根據核

核苷酸序列之同源性而區分為七個族群V_H1-V_H7 (Tomlinson et al. (1992) J. Mol. Biol., 227, 776-798及Cook et al. (1995) Immunology Today, 16, 237-242)。V_H3族群含有多數之族群成員，且為該種系組成中最大之部分。就任何特定之人類V_H3-種系抗體序列而言，整體V_H3族群中之胺基酸序列相同性相當高(參見，如，Tomlinson et al. (1992) J. Mol. Biol., 227, 776-798及Cook et al. (1995) Immunology Today, 16, 237-242)。任何兩者V_H3族群種系VH序列間之胺基酸序列相同性範圍係大約100 VH殘基中之69-98殘基(即，任何兩者種系VH序列間有69-98%之胺基酸序列同源性)。對於大部分之種系序列對而言，其具有至少80或以上之相同胺基酸殘基(即，至少80%之胺基酸序列同源性)。V_H3族群成員間之高胺基酸序列同源性造成某些胺基酸殘基存在於VH鏈之CDR及構架區之重要位置。此等胺基酸殘基在CDR上造成其結構特徵。

抗體結構之研究已顯示，CDR之構形可根據佔據CDR及構架區部分位置之重要胺基酸殘基而歸類成規範CDR結構之族群。因此，在具有含相同重要胺基酸殘基之規範結構之不同抗體中，會有類似之局部CDR構形(Chothia et al. (1987) J. Mol. Biol., 196, 901-917及Chothia et al. (1989) Nature, 342, 877-883)。在V_H3族群中，CDR1及CDR2規範結構之重要位置有保守之胺基酸殘基相同性(Chothia et al. (1987) J. Mol. Biol., 227, 799-817)。

COS-3種系VH基因係V_H3族群之成員，且係3-30 (DP-

49)種系 VH等位基因之變體。COS-3和 Joe 9之 VH胺基酸序列僅有5個位置之不同。Joe 9 VH和 COS-3間，以及 Joe 9 VH和其他 V_H3族群成員間之高胺基酸序列同源性亦造成高 CDR結構同源性(Chothia et al. (1987) J. Mol. Biol., 227, 799-817; Chothia et al. (1987) J. Mol. Biol., 196, 901-917; 及 Chothia et al. (1989) Nature, 342, 877-883)。

熟習技藝者可明瞭，根據和 Joe 9之高胺基酸序列及規範結構相同性，亦可使用其他 V_H3族群成員來產生可結合人類 IL-12之抗體。此可藉由，舉例而言，以鏈改組技術選擇適當之 VL而進行(Winter et al. (1994) Annual Rev. Immunol., 12, 433-55)，或是，將取自嚙齒動物或其他人類抗體之 CDR，包括取自本發明抗體之 CDR，稼接至 V_H3族群之構架上而進行。

人類 V_λ種系組成根據核苷酸序列之同源性而歸類為10個族群(Williams et al. (1996) J. Mol. Biol., 264, 220-232)。

將 Joe 9之輕鏈可變區與選自 VBASE資料庫之輕鏈種系序列進行比較後，顯示 Joe 9與 DPL8_λ種系相似。Joe 9 VL與 DPL8序列僅有4個構架位置之差異，且其與其他 V_λ1族群成員之構架序列具有高度同源性。根據和 Joe 9之高胺基酸序列同源性及規範結構相同性，亦可使用其他 V_λ1族群成員來產生可結合人類 IL-12之抗體。此可藉由，舉例而言，以鏈改組技術選擇適當之 VH而進行(Winter et al.，上述文獻)，或是，將取自嚙齒動物或其他人類抗體之 CDR，包括取自本發明抗體之 CDR，稼接至 V_λ1族群之構

架上而進行。

本發明之方法包括可結合 hIL-12 之重組抗體，其包含衍生自種系序列 V_{H3} 族群成員之重鏈可變區，以及衍生自種系序列 $V_{\lambda 1}$ 族群成員之輕鏈可變區。同時，熟習技藝者可明瞭，任何 V_{H3} 族群重鏈序列皆可與任何 $V_{\lambda 1}$ 族群輕鏈序列結合。

熟習技藝者亦可明瞭，在一族群中(如，人類族群)可能存有 DNA 序列多態性，其造成種系胺基酸序列之變化。由於天然之等位基因變化，此種種系序列之基因多態性可能存在於族群內之個體中。此種天然之等位基因變化一般可在一基因之核苷酸序列中造成 1-5% 之變化。在種系序列中由天然之等位基因變化所造成之任何及所有之此等核苷酸變化，以及其所造成之胺基酸多態性，皆涵括於本發明之範圍內。

因此，在一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 可結合人類 IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類 IL-12 分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA 分析)中，以 $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖。

b) 具有一重鏈可變區，含選自 V_{H3} 種系族群成員之胺基酸序列，其中該重鏈可變區在接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

c) 具有一輕鏈可變區，含選自 $V_{\lambda}1$ 種系族群成員之胺基酸序列，其中該輕鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

在一較佳具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，在重鏈 CDR3 中具有突變。

在另一具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，在輕鏈 CDR3 中具有突變。

在另一具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，在重鏈 CDR2 中具有突變。

在另一具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，在輕鏈 CDR2 中具有突變。

在另一具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，在重鏈 CDR1 中具有突變。

在另一具體實例中，該分離之人類抗體，或其抗原結合部分，在輕鏈 CDR1 中具有突變。

一般熟習技藝者可明瞭，根據 V_H3 種系族群成員或輕鏈 $V_{\lambda}1$ 種系族群成員間之高胺基酸序列相似性，對於種系序列所進行之突變可提供能夠結合人類 IL-12 之其他抗體。表 1(參見附件 A)顯示 V_H3 族群成員之種系序列，並說明族群成員間之顯著序列同源性。表 1 亦顯示 $V_{\lambda}1$ 種系成員之種系序列。提供 Joe 9 之重鏈及輕鏈序列作為比較。可在，舉例而言，與本發明抗體中製造突變之相同胺基酸位置(如，Joe 9 中之突變)，對 V_H3 或 $V_{\lambda}1$ 族群成員之種系序列

進行突變。修飾可使用標準之分子生物學技術(諸如，PCR誘變)，以種系序列中之個別胺基酸殘基作為目標進行，再如本文所述對經修飾之抗體進行動力學及功能分析(如，實例3所述之中和分析，以及如實例5所述進行BIAcore分析)。

因此，在一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 具有一重鏈可變區，含選自序列編號NOs: 595-667之胺基酸序列，其中該重鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

b) 具有一輕鏈可變區，含選自序列編號NOs: 669-675之胺基酸序列，其中該輕鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

一般熟習技藝者可明瞭，根據Joe 9與COS-3重鏈種系序列間，以及Joe 9與DPL8 λ 種系序列間之高胺基酸序列相似性，對於此等種系序列CDR區域所進行之其他突變可提供能夠結合人類IL-12之其他抗體。如上所述，此等修飾方法可以使用標準分子生物學技術進行。

因此，在一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可

在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 1×10^{-6} M或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖。

b) 具有一重鏈可變區，含COS-3種系胺基酸序列，其中該重鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

c) 具有一輕鏈可變區，含DPL8種系胺基酸序列，其中該輕鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

由於在輕鏈及重鏈可變區中佔據CDR及構架區重要位置之部分胺基酸殘基，此等區域中產生了結構特徵。特定言之，對CDR2及CDR1區域進行規範結構分類。由於族群成員間具有高胺基酸序列同源性，此等規範特徵存在於族群成員間。熟習技藝者可明瞭，對於造成此等規範結構之胺基酸殘基所進行之修飾可產生能夠結合人類IL-12之其他抗體。如上所述，此等修飾可以使用標準分子生物學技術進行。

因此，在一方面，本發明提供一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 1×10^{-6} M或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖。

b) 具有一重鏈可變區，含選自 V_{H3} 種系族群成員之胺基酸序列，其中該重鏈可變區含有結構類似其他 V_{H3} 種系族群成員 CDR2s 之 CDR2，以及結構類似其他 V_{H3} 種系族群成員 CDR1s 之 CDR1，且其中該重鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

c) 具有一輕鏈可變區，含選自 $V_{\lambda 1}$ 種系族群成員之胺基酸序列，其中該輕鏈可變區含有結構類似其他 $V_{\lambda 1}$ 種系族群成員 CDR2s 之 CDR2，以及結構類似其他 $V_{\lambda 1}$ 種系族群成員 CDR1s 之 CDR1，且其中該輕鏈可變區在較佳之選擇性誘變位置、接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

本發明之重組人類抗體具有和選自 VBASE 資料庫之人類種系免疫球蛋白序列同源之可變及恆定區。對該等重組人類抗體所進行之突變(如，藉由隨機誘變或 PCR 誘變)造成不由人類種系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸。同時，衍生自人類提供者之重組抗體庫會因 B-細胞發育期間所發生之正常體突變過程，而含有不同於其對應種系序列之抗體序列。應注記者，如果由 PCR 擴增取得之「種系」序列編碼不同於真正種系組態之構架區胺基酸差異(即，擴增序列中相較於真正種系序列之差異)，可能需要將此等胺基酸之差異改變回復成真正之種系序列(即，將構架殘基「回復突變」為種系組態)。因此，本發明可選擇性包括一回復突變步驟。為進行之，首先比較由種系編碼之重鏈及輕

鏈胺基酸序列(如，VBASE資料庫中可見者)及突變之免疫球蛋白重鏈及輕鏈構架胺基酸序列，以辨識出突變免疫球蛋白構架序列中與最接近種系序列不同之胺基酸殘基。接著，使用遺傳密碼決定應進行之核苷酸變化，將突變免疫球蛋白序列之適當核苷酸突變回復成為對應種系序列者。對於突變免疫球蛋白構架序列所進行之突變係以標準方法進行，諸如，PCR-中介性誘變(其中係將經突變之核苷酸納入PCR引子中，以使PCR產物含有該等突變)或定位誘變。應對經辨識而作為回復突變目標之各胺基酸角色進行探究，探討其在抗原結合中之直接或間接角色，而在突變後發現會影響人類抗體任何所欲特徵之任何胺基酸皆應包含於終人類抗體中；舉例而言，由選擇性誘變法辨識出之活性促進性胺基酸即不為進行回復突變之對象。用以測定誘變產生抗體之特徵之分析可包括ELISA、競爭性ELISA、試管或活體中之中和分析、及/或(參見，如，實例3)以取自各種不同來源(包括，人類、靈長類動物、及/或其他生物種)之組織切片而進行之免疫組織化學分析。

為將回復突變之胺基酸對象數目減至最低，可保留經發現與最相近之種系序列不同，但與第二種系序列之對應胺基酸相同之胺基酸位置，條件為該第二種系序列與本發明人類抗體序列在該探討胺基酸之兩側各有至少10個，較佳為12個胺基酸為相同及共線性。此可確保在以本發明人類抗體治療之對象體內由專門之抗原呈遞細胞呈遞至免疫系統中之任何肽抗原表位不為外源而是與自體抗原相同，

即，由第二種系序列編碼之免疫球蛋白。回復突變可在抗體最適化處理之任何階段進行；較佳者，回復突變係在進行選擇性誘變之前或後即刻進行。更佳者，回復突變係在進行選擇性誘變之前即刻進行。

III. 較佳之選擇性誘變位置、接觸位置、及/或超變位置之修飾

一般而言，可使用噬菌體展示法，如上單元II所述，選擇具有較佳親和力之抗體。此可藉由隨機突變CDR殘基之組合，並產生含有不同序列抗體之大抗體庫而完成。然而，為使此等選擇方法有效，抗體-抗原反應必需趨向平衡，以在一段時間之後，允許具較高親和性之抗體對於抗原之優先結合。在使用噬菌體展示法改良經選擇抗-IL-12抗體之親和性，而到達某一程度之親和性時(即，抗體Y61之親和性程度)，即無法測定可允許建立平衡之選擇條件(假設因為抗原及噬菌體顆粒間之額外非專一性作用)。因此，無法以噬菌體展示法選擇具有更高親和性之抗體。因此，對於至少部分之抗體或抗原而言，噬菌體展示法在選擇具有高度經改良專一性/親和性之抗體之能力上為受限者。因此，建立出一種稱為選擇性誘變法之方法(其不須抗體之噬菌體展示親和力成熟)以克服此種限制，並由本發明提供。儘管此種選擇性誘變法係發展用以克服使用噬菌體展示系統之限制，應注記者，此種方法亦可與噬菌體展示系統一同使用。同時，可使用選擇性誘變法改良任何抗體之活性。

為改良抗體之活性(如，親和性或中和活性)，在理想上會將重鏈及輕鏈兩者上之每個CDR位置突變成每個可能之胺基酸殘基。然而，由於一抗體中有平均70個CDR位置，此種方法會相當耗時及耗力。因此，本發明之方法可藉僅突變重鏈及/或輕鏈CDR中某些經選擇之殘基而改良抗體活性。同時，本發明之方法可不影響該抗體之其他所欲活性而改良抗體之活性。

決定抗體可變區之何者胺基酸殘基接觸抗原是無法根據初級序列或其在可變區中之位置而準確預測者。然而，Kabat et al.對具不同專一性之抗體序列進行之排比已辨識出CDR係在該等抗體中具有顯著差異之可變區局部區域(Kabat et al. (1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-393, Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)。結構研究已顯示，抗原結合表現係由CDR中之胺基酸殘基形成。亦已知位於CDR外之其他胺基酸殘基具有結構上之角色，或是直接涉及抗原結合。因此，對每個抗原-抗體配對而言，位於CDR內或外之胺基酸殘基皆可為相當重要者。

由Tomlison et al.所進行之序列排比研究在重鏈及輕鏈CDR1及CDR2中，以及在 κ 鏈CDR3之一部分中，辨識出數個位置為體突變之經常位點(Tomlison et al. (1996) J. Mol. Biol. 256:813-817)。特定言之，位置H31、H31B、H33B、

H52B、H56、H58、L30、L31、L31A、L50、L53、L91、L92、L93、及L94經辨識為體突變之經常位點。然而，此一分析排除了重要之重鏈CDR3區域，以及已知位於抗體結合位點中心、並潛在可提供與抗原間之重要作用之輕鏈CDR3片段。同時，Tomlison et al.提出，體突變之多樣性單獨並不一定可預測特定胺基酸在抗原結合中的角色，其並建議接觸抗原之保守性胺基酸殘基，以及不接觸抗原之多樣胺基酸殘基。此種結論由有關體突變對於抗體親和性之角色之突變研究進一步支持(Sharon, (1990), PNAS, 87:4814-7)。其將一高親和性抗-對-偶氮苯基膦酸鹽(Ars)抗體中之十九個體突變同時以其對應之種系殘基取代，產生種系版本之抗-Ars抗體，其具有200倍之活性降低。抗-Ars抗體之完全親和性可藉僅回復十九個體突變中之三者而恢復，顯示諸多不影響抗原結合活性之體突變係可容許者。

此種結果可由抗體變異之天性本身而進行部分解釋。不成熟之B-細胞可產生最初具有低親和性之抗體，其可辨識諸多自體或非自體抗原。同時，在親和力成熟之過程中，抗體可能會產生可造成自體反應性之序列變異。此等低親和性抗體之超變可除去自體反應性(「負選擇」)，並增加對於外源抗原之親和性。因此，對於大量抗體之初級及結構資料所進行之分析無法提供一種方法以預測(1)體超變位點在親和力成熟之過程相對降低對於不欲抗原親和性之過程中之角色，或(2)特定胺基酸如何造成專一抗原-抗體配

對之特性。

其他欲說明特定胺基酸殘基在抗原辨識中之角色之企圖係藉分析諸多抗原-抗體複合物之晶體結構而進行(MacCallum et al. (1996) *J. Mol. Biol.* 262:732-745)。其指出位於CDR內及外之位置之潛力角色。在26個經分析結構中超過10者涉及抗原結合之CDR內位置包括重鏈中之H31、H33、H50、H52、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、及H100，以及輕鏈中之L30A、L32、L91、L92、L93、L94、L96。然而，作者注記，使用此等及其他結構資料所進行之抗原接觸預測可能會過度或過低預測接觸位置，造成推測須對不同抗原使用不同之策略。

Pini et al.描述在大噬菌體展示庫中，對抗體CDR序列之多重殘基進行隨機化，以快速增加抗體親和性(Pini et al. (1998) *J. Biol. Chem.* 273:21769-21776)。然而，Pini et al.所論之高親和性抗體具有總共八個位置之突變，而決定何者改變對於改良抗體親和性為絕對必要之縮減性分析則因須進行試驗以取得最少必需胺基酸數目之可能組合數目極大而成為不實際者。

同時，隨機化之多重殘基不一定可保留抗體之其他所欲特性。抗體之所欲特性或特徵係為技藝所辨知，且包括，舉例而言，保留非交叉反應性(如，和其他蛋白或人類組織之非交叉反應性)及保留與人類種系免疫球蛋白序列相近之抗體序列。其他所預知特性及特徵包括保留生物種交叉反應性之能力、保留抗原表位專一性之能力，以及保留

哺乳細胞內高蛋白表現量之能力。所欲之特性或特徵可使用技藝所辨知之技術觀察或測量，包括但不限於ELISA、競爭性ELISA、試管或活體中之中和分析(參見，如，實例3)、以取自各種不同來源(包括，人類、靈長類動物、或需求之其他生物種)之組織切片而進行之免疫組織化學分析、以及使用瞬時表現或穩定表現而在哺乳動物細胞中進行表現之研究。

此外，Pini et al.之方法可能會引入超過改良親和性實際所需最小數目之變化，且可能產生會在人類對象體內引發抗-人類-抗體(HAMA)形成之抗體。同時，如本文他處所論者，此處所例示之噬菌體展示法，或其他相關之方法，包括核糖體展示法，在到達某一程度之抗體-抗原親和性時即無法適當作用，而達成平衡所需之條件可能會因為額外之作用力(包括與其他噬菌體或核糖體組成份及抗原之作用)而無法在合理之時間內建立。

一般熟習技藝者可自上述參考文獻之教示中，搜集有關抗體變異性起源之有趣科學資料。然而，本發明提供一種增加專一抗原-抗體配對之抗體親和性，同時保留該抗體之其他相關特性或所欲特徵之方法。這在考慮欲對特定抗體授與多種不同特徵時(包括抗原結合)特別重要。

如起始抗體具有須予保留之所欲特性或特徵，選擇性誘變法可能會是最佳之策略，保留此等所欲特性，同時改良抗體活性。舉例而言，在Y61之誘變中其目的係在增加對於hIL-12之親和性，以及改良該抗體之中和能力，同時保

留所欲之特性。Y61之所欲特性包括(1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性，(2)保留優秀之抗原表位專一性，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 (p40/p35)異源雙體之內容中，因而預防自由之可溶性p40之結合干擾；及(3)產生一抗體，具有儘可能近似其分別種系免疫球蛋白序列之重鏈及輕鏈胺基酸序列。

在一具體實例中，本發明之方法提供一種選擇性誘變法，作為保留抗體所欲特性或特徵，同時改良親和性及/或中和能力之策略。「選擇性誘變法」一詞係如上所定義，且包括一種分別突變經選擇胺基酸殘基之方法。欲進行突變之胺基酸殘基可先自較佳之選擇性誘變位置選擇，再自接觸位置選擇，再自超變位置選擇。可將個別之所選位置突變為兩種其他胺基酸殘基，並測定該突變對於抗體之所欲活性，以及抗體活性之改良兩者之作用。

選擇性誘變法包括下列步驟：

以1)選擇性誘變位置；2)接觸位置；3)超變位置之順序選擇目標位置，並根據該位置在抗體重鏈及輕鏈可變區中之位置對該等位置進行排名(CDR3優於CDR2優於CDR1)；

以該排名之順序，分別將目標較佳選擇性誘變位置、超變位置、及/或接觸位置突變為所有可能之其他胺基酸殘基，並分析個別突變對於抗體活性之作用，以決定活性促進性胺基酸殘基；

如需要，逐步結合個別之活性促進性胺基酸殘基，並分析各種不同組合對於抗體活性之作用；選擇具有活性促進

性胺基酸殘基之突變抗體，並根據胺基酸取代之位置及性質，以其免疫原性潛力進行排名。排名最高之突變抗體係含有幾乎完全相同於一種系資料庫中所述可變區序列之胺基酸序列者，或具有相當其他人類抗體之胺基酸序列者。排名較低之突變抗體則為含有極少出現於種系序列或其他人類抗體序列中之胺基酸取代者。排名最低之突變抗體則為含有從未出現於種系序列或其他人類抗體序列中之胺基酸取代者。如上所述，含有至少一個活性促進性胺基酸殘基位於CDR3之突變抗體優於CDR2，其又優於CDR1。重鏈可變區之CDR優於輕鏈可變區中者。

亦可研究該等突變抗體之活性改良，如，在與其對應之母抗體比較時。突變抗體之活性改良可以，舉例而言，中和分析，或以表面細胞質基因組共振測定之結合專一性/親和性(參見實例3)進行測定。較佳者，該活性改良可為高於母抗體至少2-20倍。該活性改良可為高於母抗體至少「 x_1 」至「 x_2 」倍，其中「 x_1 」及「 x_2 」係介於且包括2至20之整數，包括所述範圍內之範圍，如，2-15，如，5-10。

亦可研究該等具活性促進性胺基酸殘基之突變抗體，以測定其至少一種其他所欲特性在突變之後是否獲得保留。舉例而言，對抗-hIL-12抗體試驗(1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性，(2)保留優秀之抗原表位專一性，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 (p40/p35)異源雙體之內容中，因而預防自由之可溶性p40之結合干擾；及(3)

產生一抗體，具有儘可能近似其分別種系免疫球蛋白序列之重鏈及輕鏈胺基酸序列，並根據其與種系序列間之差異數目決定何者最可能引發人類免疫反應。可對具有一個以上活性促進性胺基酸殘基(如，至少兩個或至少三個活性促進性胺基酸殘基)之抗體進行相同之觀察，以設定其是否保留所欲特性或特徵。

下述使用「選擇性誘變法」之實例之一，將其用於Y61之誘變中。個別突變H31S→E，L50→Y，或L94G→Y各改良該抗體之中和活性。然而，在試驗結合純系時，結合純系H31S→E + L50→Y + L94G→Y之活性並不優於L50→Y + L94G→Y (J695)。因此，在CDR1之位置31將種系胺基酸殘基Ser突變為Glu之改變對J695超越Y61之改良活性而言並不必要。選擇性誘變法因此辨識出導致終活性之最小改變數目，因而減少終抗體之免疫原潛力，並保留抗體之其他所欲特性。

可將編碼由選擇性誘變法產生之VH及VL之分離DNA轉化成為全長抗體鏈基因、成為Fab片段基因、或成為scFV基因，如單元IV所述。為表現由選擇性誘變法產生之VH及VL區域，可使編碼該重鏈及輕鏈之表現載體轉染進入各種不同之宿主細胞中，如單元IV所詳述。較佳之宿主細胞包括原核宿主細胞(例如，大腸桿菌)或真核宿主細胞(例如，酵母菌細胞，如，釀酒酵母)。最佳之真核宿主細胞係哺乳動物宿主細胞，其於單元IV中詳述。

選擇性誘變法提供一種方法，製備具有改良活性之抗

體，而不先以其他方法進行親和力成熟。選擇性誘變法提供一種方法，製備具有改良親和性之抗體，該抗體已經回復突變。選擇性誘變法亦提供一種方法，改良親和力成熟抗體之活性。

熟習技藝者可辨知，可將選擇性誘變法用於技藝中已知之標準抗體操縱技術中。其實例包括，但不限於，CDR稼接抗體、嵌合抗體、scFV片段、全長抗體之Fab片段、以及取自其他來源(如，轉基因小鼠)之人類抗體。

抗體之快速大規模突變分析包括使用核糖體展示技術之試管內轉錄及轉譯(參見，如，Hanes et al., (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94:4937-4942; Dall Acqua et al., (1998) *Curr. Opin. Struc. Biol.* 8:443-450; He et al., (1997) *Nucleic Acid Res.* 25:5132-5134; 以及頒與Kawasaki 之美國專利第5,643,768及5,658,754號。選擇性誘變法亦提供一種方法，產生具有改良活性之抗體，其可使用核糖體展示技術選擇。

在本發明之方法中，抗體或其抗原結合部分藉由改變HCVR及/或LCVR之CDR中之個別位置而進一步修飾。儘管此等修飾可在由噬菌體展示之抗體中進行，本發明方法之優勢係其可對在其他類型之宿主系統(諸如，細菌、酵母菌、或哺乳動物表現系統)中表現之抗體進行。選擇進行修飾之CDR中個別位置係根據該等位置為接觸及/或超變位置。

如本文所定義較佳接觸位置及超變位置示於表3(參見

附件A)，而其根據本發明方法所進行之修飾則詳述於實例2。較佳之接觸位置係選自H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96。較佳之超變位置係選自H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及L93。更佳之胺基酸殘基(其以「較佳之選擇性誘變位置」表示)同時為接觸及超變位置，且係選自H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94。特別較佳之接觸位置係選自L50及L94。較佳之活性促進性胺基酸殘基取代位於選自H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96位置之胺基酸殘基。更佳之活性促進性胺基酸殘基取代位於選自H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94位置之胺基酸殘基。特別較佳之活性促進性胺基酸殘基取代位於選自L50及L94位置之胺基酸殘基。

一般而言，本發明之方法涉及在目標母抗體或其抗原結合部分之重鏈或輕鏈CDR中，選擇一特別較佳之選擇性誘變位置、接觸位置、及/或超變位置；隨機突變個別位置(如，藉由基因法，使用誘變寡核苷酸，以產生經修飾抗

體之「迷你庫」)，或將某一位置突變成為特定之目標胺基酸，以辨識出活性促進性胺基酸殘基；表現及純化經修飾抗體(如，在非噬菌體展示宿主系統中)；測量經修飾抗體對於抗原之活性(如，以BIAcore分析測量 k_{off} 速率)；如需要，對其他CDR位置重複此等步驟；及結合顯示具有改良活性之個別突變，並試驗該等結合是否產生較母抗體或其抗原結合部分具有更高活性之抗體。

因此，在一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

- a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；
- b) 在互補性決定區(CDR)中，以1)較佳之選擇性誘變位置，2)接觸位置，或3)超變位置之順序選擇一位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置；
- c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；
- d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性；
- e) 選擇性對至少一個其他較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置重複步驟a)至d)；
- f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及
- g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估結合抗體或

其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。較佳者，所選之抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，且如上所述並無損失或保留母抗體之至少一種所欲特徵或特性。該所欲之特徵或特性可由一般熟習技藝者使用技藝所辨知之技術進行測量或觀察。

較佳之接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96。較佳之超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及 L93。更佳之較佳選擇性誘變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、及 L94。特別較佳之接觸位置係選自 L50 及 L94。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

- a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；
- b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇較佳之選擇性誘變位置，接觸或超變位置進行突變；
- c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；
- d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗

體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 選擇性對至少一個其他較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置重複步驟a)至d)；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合兩個顯示具有改良活性之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

較佳之接觸位置係選自H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96。較佳之超變位置係選自H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及L93。更佳之較佳選擇性誘變位置係選自H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、及L94。特別較佳之接觸位置係選自L50及L94。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇較佳之選擇性誘變位

置，接觸或超變位置進行突變；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 選擇性對至少一個其他較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置重複步驟a)至d)；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合三個顯示具有改良活性之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有三個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

較佳者，該活性促進性胺基酸殘基取代位於選自H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96位置之胺基酸殘基。

在對個別選擇位置進行誘變後，可對突變之純系進行定序，以辨識何種胺基酸殘基被引入各純系之選擇位置。可選擇少數之純系(如，約24個)進行定序，其在統計上應產

生10-15種獨特之抗體，並可對大量數目之純系(如，超過60個)進行定序，以確認辨識出在所選位置具有所有可能性取代之抗體。

在一具體實例中，首先選擇重鏈及/或輕鏈CDR3區域中之接觸及/或超變位置進行誘變。然而，對已經以噬菌體展示選擇，對CDR3區域進行隨機誘變，而在試管中進行親和力成熟之抗體而言，較佳應首先選擇重鏈及/或輕鏈CDR1或CDR2區域中之接觸及/或超變位置。

在一更佳具體實例中，首先選擇重鏈及/或輕鏈CDR3區域中之較佳選擇性誘變位置進行誘變。然而，對已經以噬菌體展示選擇，對CDR3區域進行隨機誘變，而在試管中進行親和力成熟之抗體而言，較佳應首先選擇重鏈及/或輕鏈CDR1或CDR2區域中之較佳選擇性誘變位置。

在另一較佳具體實例中，以選擇性誘變法對所選抗體進行之最適化係如下順序進行：首先將選自H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、及L94之較佳選擇性誘變位置各突變為至少兩種其他胺基酸(較佳為5-14種其他胺基酸)，並對所得之抗體進行較高親和性、中和能力之定性(且可能亦對至少一種其他保留之特徵或特性如本文他處所論進行定性)。如果單一較佳選擇性誘變位置之突變完全未增加親和性或中和能力或無法充分增加親和性或中和能力，或者，如果甚至是多個取代較佳選擇性誘變位置胺基酸之活性促進性胺基酸之組合仍未產生符合目標活性(包括親和

性及/或中和能力)之結合抗體，選擇選自 H35、H50、H53、H54、H95、H96、H97、H98、L30A、及 L96之額外胺基酸殘基進行選擇性誘變，將其各突變為至少兩種其他胺基酸殘基(較佳為 5-14種其他胺基酸)，並對所得之抗體進行較高親和性、中和能力之定性(且可能亦對至少一種其他保留之特徵或特性如本文他處所論進行定性)。

如果選自 H35、H50、H53、H54、H95、H96、H97、H98、L30A、及 L96之單一胺基酸殘基之突變完全未增加活性(包括親和性及/或中和能力)或無法充分增加活性，或者，如果甚至是多個取代此等位置胺基酸之活性促進性胺基酸之組合仍未產生符合目標活性(包括親和性及/或目標中和能力)之結合抗體，選擇選自 H33B、H52B、及 L31A之額外胺基酸殘基進行選擇性誘變，並將其各突變為至少兩種其他胺基酸殘基(較佳為 5-14種其他胺基酸)，並對所得之抗體進行較高親和性、中和能力之定性(且可能亦對至少一種其他保留之特徵或特性如本文他處所論進行定性)。

咸應明瞭，一旦辨識出具有目標活性(包括親和性及中和能力)之抗體，序列性之選擇性誘變法可在上述之任一步驟結束。如預選位置之誘變辨識出活性促進性胺基酸，但結合抗體仍不符合目標活性(包括親和性及中和能力)，及/或如所辨識之活性促進性胺基酸亦影響其他所欲特徵並因此而為不可接受者，可對其他之 CDR 殘基進行誘變(參見單元 IV)。

本發明之方法可用於改良抗體或其抗原結合部分之活性，以到達預定之目標活性(如，預定之親和性及/或中和能力，及/或所欲特性或特徵)。

因此，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性以取得預定目標活性之方法，其包含：

- a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；
- b) 選擇一較佳之選擇性誘變位置，其選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94；
- c) 將選擇之較佳選擇性誘變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出第一組突變抗體或其抗原結合部分；
- d) 評估第一組突變抗體或其抗原結合部分之活性，以測定單一選擇性誘變位置之突變是否產生具有預定目標活性或是部分目標活性之抗體或其抗原結合部分；
- e) 以逐步進行之方式，在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；
- f) 評估結合抗體或其抗原結合部分之活性，以測定該結合抗體或其抗原結合部分是否具有預定目標活性或是部分目標活性；
- g) 如步驟d)或f)並未產生具有預定目標活性之抗體或其抗原結合部分，或是產生僅具有部分活性之抗體，使選自 H35、H50、H53、H54、H95、H96、H97、H98、L30A、

及L96之額外胺基酸殘基突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出第二組突變抗體或其抗原結合部分；

h) 評估第二組突變抗體或其抗原結合部分之活性，以測定選自H35、H50、H53、H54、H95、H96、H97、H98、L30A、及L96之單一胺基酸殘基突變是否產生具有預定目標活性或是部分目標活性之抗體或其抗原結合部分；

i) 以逐步進行之方式，在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之步驟g)個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；

j) 評估結合抗體或其抗原結合部分之活性，以測定該結合抗體或其抗原結合部分是否具有預定目標活性或是部分目標活性；

k) 如步驟h)或j)並未產生具有預定目標活性之抗體或其抗原結合部分，或是產生僅具有部分活性之抗體，使選自H33B、H52B、及L31A之額外胺基酸殘基突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出第三組突變抗體或其抗原結合部分；

l) 評估第三組突變抗體或其抗原結合部分之活性，以測定選自H33B、H52B、及L31A之單一胺基酸殘基突變是否產生具有預定目標活性或是部分目標活性之抗體或其抗原結合部分；

m) 以逐步進行之方式，在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之步驟k)個別突變，以形成結

合抗體或其抗原結合部分；

n) 評估結合抗體或其抗原結合部分之活性，以測定該結合抗體或其抗原結合部分是否具有預定目標活性或是部分目標活性，因而產生具有預定目標活性之抗體或其抗原結合部分。

可使用多種誘變法，包括，PCR組合、Kunkel (dut-ung-)、及硫代磷酸(Amersham Sculptor套組)寡核苷酸定位誘變。

可使用多種不同之宿主表現系統表現突變抗體，包括，細菌、酵母菌、桿狀病毒、及哺乳動物表現系統(以及噬菌體展示表現系統)。適當細菌表現載體之實例之一係pUC119(Sfi)。其他抗體表現系統係為技藝所知及/或述於單元IV。

由本發明方法製備之經修飾抗體或其抗原結合部分可不依賴噬菌體展示法進行選擇而獲得辨識。因此，本發明之方法對於改良重組母抗體或其抗原結合部分之活性而言特別具有優勢，該重組母抗體或其抗原結合部分係由噬菌體展示系統之選擇取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良。

因此，在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變

位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性；

e) 選擇性對至少一個其他較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置重複步驟b)至d)；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

較佳之接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96。較佳之超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及 L93。更佳之較佳選擇性誘變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、及 L94。特別較佳之接觸位置係選自 L50及 L94。

以既有之方法，欲衍生具有較高之結合親和性及中和能力，同時保留抗體之其他特性或特徵，如上所述，其係不可能或極為耗力者。然而，本發明之方法可輕易辨識出此等抗體。接受本發明方法處理之抗體可取自任何來源。

因此，在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

- a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；
- b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置；
- c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在適當之表現系統中表現該組；
- d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；
- e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵，其中該特性或特徵係須要保留在該抗原中者；

直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

在一較佳具體實例中，該接觸位置係選自 H30、H31、

H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96，且該其他特徵係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一較佳具體實例中，該超變位置係選自H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及L93，且該其他特徵係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在一更佳具體實例中，該用以進行選擇性誘變之殘基係選自較佳選擇性誘變位置，其選自H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94，且該其他特徵係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在一更佳具體實例中，該接觸位置係選自L50及L94，且

該其他特徵係選自 1) 保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2) 保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3) 製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

因此，如對抗特定抗原之抗體之親和性需要改良，但噬菌體展示法(或相關之系統，包括核糖體展示系統)已不再可供使用，且必需保留其他所欲特性或特徵，即可使用本發明之方法。因此，在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體

或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵，其中該特性或特徵係須要保留在該抗原中者；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分；

f) 選擇性對至少一個其他較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置重複步驟a)至e)；

g) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

h) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

在一較佳具體實例中，該接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96，且該其他特徵係選自 1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一較佳具體實例中，該超變位置係選自 H30、

H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及L93，且該其他特徵係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在一更佳具體實例中，該用以進行選擇性誘變之殘基係選自較佳選擇性誘變位置，其選自H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94，且該其他特徵係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在一更佳具體實例中，該接觸位置係選自L50及L94，且該其他特徵係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系

統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵，其中該特性或特徵係須要保留在該抗原中者；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

在一較佳具體實例中，該接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96，且該其他特徵係選自 1) 保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2) 保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3) 製

備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一較佳具體實例中，該超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及 L93，且該其他特徵係選自 1) 保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2) 保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3) 製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在一更佳具體實例中，該用以進行選擇性誘變之殘基係選自較佳選擇性誘變位置，其選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94，且該其他特徵係選自 1) 保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2) 保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3) 製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在一更佳具體實例中，該接觸位置係選自 L50 及 L94，且該其他特徵係選自 1) 保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2) 保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3) 製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵，其中該特性或特徵係須要保留在該抗原中者；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

f) 選擇性對至少一個其他較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置重複步驟a)至e)；

g) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

h) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

在一較佳具體實例中，該接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96，且該其他特徵係選自 1) 保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2) 保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3) 製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在另一較佳具體實例中，該超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及 L93，且該其他特徵係選自 1) 保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2) 保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3) 製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在一更佳具體實例中，該用以進行選擇性誘變之殘基係選自較佳選擇性誘變位置，其選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94，且該其他特徵係選自 1) 保留與其他

蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

在一更佳具體實例中，該接觸位置係選自L50及L94，且該其他特徵係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

IV. 其他CDR殘基之修飾

最後，特定抗體-抗原配對中之所有CDR殘基皆可能由任何方式辨識為須作為活性促進性胺基酸殘基者，及/或為結合抗原直接或間接所需者，及/或為保留抗體其他所欲特性或特徵所需者。此等CDR殘基稱為「較佳之選擇性誘變位置」。應注記者，在特定狀況下，較佳之選擇性誘變位置亦可以其他方式進行辨識，包括，抗體及抗原之共結晶，以及分子模型。

如已經用盡上述針對較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置以辨識活性促進性胺基酸殘基之較佳企圖，或者，如尚須其他之改良，剩餘之CDR殘基可如下述進行修飾。咸應明瞭，抗體可已根據上述之具體實例在一或多個接觸或超變位置進行修飾，但仍須進一步之改良。因此，在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分

之活性之方法，其包含：

- a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；
- b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；
- c) 分別突變該選擇之位置，如，突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；
- d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；
- e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化，直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

較佳者，該其他特徵或特性係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

如單一殘基之誘變並不足夠，亦可包括其他殘基；因此，在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗

原結合部分之活性之方法，其包含：

- a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；
- b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；
- c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；
- d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；
- e) 對至少一個其他CDR位置重複步驟b)至d)，該位置既非根據b)所選擇之位置，亦非位於H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之位置；
- f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良活性之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及
- g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性，直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之

抗體或其抗原結合部分。

如已經用盡上述針對接觸或超變位置以辨識活性促進性胺基酸殘基之較佳企圖，或者，如尚須其他之改良，且對象抗體無法以誘變及噬菌體展示法(或相關之核糖體展示法)進行進一步之最適化，剩餘之CDR殘基可如下述進行修飾。咸應明瞭，抗體可已根據上述之具體實例在一或多個較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行修飾，但仍須進一步之改良。

因此，在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化，直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

較佳者，該其他特徵或特性係選自 1) 保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2) 保留抗原表位之辨識，即，辨識 p40 抗原表位，較佳係在 p70 p40/p35 異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性 p40 之結合干擾；及/或 3) 製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

如單一殘基之誘變並不足以增加抗體之親和性，亦可將其他殘基包括於誘變中。因此，在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區 (CDR) 中，選擇一除外 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96 之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 對至少一個其他位置重複步驟b)至d)，該位置既非根據b)所選擇之位置，亦非位於H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94之位置。

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良活性之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

較佳者，該其他特徵或特性係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

上述針對較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置以辨識活性促進性胺基酸殘基之較佳企圖可能會用盡，或者，可能尚須其他之改良，重要者在於保留該抗體之其他特性或特徵。

因此，在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性且不影響其他特徵之方法，其包含：

- a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；
- b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；
- c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；
- d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；
- e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，並保留其他特徵或特性之抗體或其抗原結合部分。

較佳者，該其他特徵或特性係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

如單一殘基之誘變並不足夠，亦可包括其他殘基；因

此，在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

- a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；
- b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；
- c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；
- d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；
- e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化；
- f) 對至少一個其他CDR位置重複步驟b)至e)，該位置既非根據b)所選擇之位置，亦非位於H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之位置。
- g) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良之活性，且不影響至少一種其他特性或特徵之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合

部分；及

h) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性，以及至少一種其他特徵或特性之保留；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置之誘變可能並未充分增加抗體之親和性，且誘變及噬菌體展示法(或相關之核糖體展示法)可能亦無法再予利用，而至少一種抗體之其他特徵或特性應予保留。

因此，在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體

或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化，直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

較佳者，該其他特徵或特性係選自1)保留與其他蛋白或人類組織之非交叉作用性；2)保留抗原表位之辨識，即，辨識p40抗原表位，較佳係在p70 p40/p35異源雙體之內容中，以預防自由之可溶性p40之結合干擾；及/或3)製備具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

如單一殘基之誘變並不足夠，亦可包括其他殘基；因此，在另一具體實例中，本發明提供一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非

噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 對至少一個其他CDR位置重複步驟b)至d)，該位置既非根據b)所選擇之位置，亦非位於H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之位置。

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良活性之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

V. 抗體之表現

本發明之抗體或抗體部分可藉免疫球蛋白輕鏈及重鏈基因在宿主細胞內之重組表現而製備。為重組表現抗體，以一或多種重組表現載體轉染宿主細胞，該等載體上帶有編碼抗體免疫球蛋白輕鏈及重鏈之DNA片段，以使該輕鏈及重鏈於宿主細胞內進行表現，且較佳分泌至培養宿主細胞

之培養基中，而可自該培養基回收抗體。使用標準之重組DNA方法以取得抗體重鏈及輕鏈基因、將此等基因納入重組表現載體、並將該等載體引入宿主細胞，如述於 Sambrookm Fritsch and Maniatis (eds), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989)、Aisibel, F.M. et al. (eds.) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates, (1989)、及 Boss et al.之美國專利第4,816,397號中者。

為取得編碼 Joe 9 wt或 Joe 9 wt-相關性抗體重鏈可變區之DNA片段，自人類抗體庫篩選對人類IL-12具有專一性之抗體並進行突變，如單元II所述。一旦取得編碼 Joe 9 wt或 Joe 9 wt-相關性 VH及 VL片段之DNA片段，即以標準方法進行此等序列之誘變，諸如，PCR定位誘變(PCR-中介性誘變，其中係將經突變之核苷酸納入PCR引子中，以使PCR產物含有該等突變)或其他定位誘變法。

以標準重組DNA技術，對具有所欲活性及結合專一性/親和性程度之人類IL-12抗體，例如，J695，進行進一步之操縱，例如，將可變區之基因轉化成為全長抗體鏈基因、成為Fab片段基因、或成為scFV基因。在此等操縱中，其將VL-或VH-編碼性DNA片段操作性連結編碼其他蛋白之其他DNA片段，諸如，抗體恆定區或柔性連接子。在本段說明中，詞彙「操作性連結」係指兩DNA片段連結之方式可使由該兩DNA片段編碼之胺基酸序列維持符合讀框之狀態。

編碼 VH 區域之分離 DNA 可藉由將該 VH-編碼性 DNA 操作性連結編碼重鏈恆定區 (CH1、CH2、及 CH3) 之另一 DNA 分子而轉化成為全長重鏈基因。人類重鏈恆定區基因之序列已為技藝所知 (參見，如，Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)，而涵括此等區域之 DNA 片段可以標準 PCR 擴增取得。重鏈恆定區可為 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM、及 IgD 恆定區，及其任何同種異形變體，如 Kabat 所述 (Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)，但最佳者係 IgG1 或 IgG4 恆定區。就 Fab 片段重鏈基因而言，可將該 VH-編碼性 DNA 操作性連結僅編碼重鏈 CH1 恆定區之另一 DNA 分子。

編碼 VL 區域之分離 DNA 可藉由將該 VL-編碼性 DNA 操作性連結編碼輕鏈恆定區 (CL) 之另一 DNA 分子而轉化成為全長重鏈基因 (以及 Fab 輕鏈基因)。人類輕鏈恆定區基因之序列已為技藝所知 (參見，如，Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)，而涵括此等區域之 DNA 片段可以標準 PCR 擴增取得。輕鏈恆定區可為 κ 或 λ 恆定區，但最佳者係 λ 恆定區。

為創造 scFV 基因，可將 VH-或 VL-編碼性 DNA 片段操作性連結編碼柔性連接子之其他片段，如，編碼胺基酸序列 (Gly₄-Ser)₃ 者，以使 VH 及 VL 序列可以毗連單鏈蛋白之形式表現，其中 VL 及 VH 區域以該柔性連接子連接(參見，如，Bird et al. (1988) Science 242:423-426；Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883；McCafferty et al. (1990) Nature 348:552-554)。。

為表現本發明之抗體或抗體部分，將編碼部分或全長輕鏈及重鏈之 DNA (其如上述取得)插入表現載體中，以使該等基因操作性連結轉錄及轉譯控制序列。在本段說明中，詞彙「操作性連結」係指抗體基因稼接進入載體中之方式可使該載體中之轉錄及轉譯控制序列展現其原本之作用，調控抗體基因之轉錄及轉譯。表現載體及表現控制序列係以可與所用表現宿主細胞相容者而選擇。可將抗體輕鏈基因及抗體重鏈基因分別插入不同之載體中，或者，更典型者，可將兩者基因皆插入相同之表現載體中。抗體基因係以標準方法插入表現載體中(如，連接位於抗體基因片段及載體上之互補限制位點，或者，在無限制位點時進行鈍端連接)。在插入 J695 或 J695-相關性輕鏈或重鏈序列之前，該表現載體可能已帶有抗體恆定區序列。舉例而言，其中一種將 J695 或 J695-相關性 VH 或 VL 序列轉化成全長抗體基因之方法係將其插入已分別編碼重鏈恆定區及輕鏈恆定區之表現載體中，以使該 VH 片段在該載體中操作性連結 CH 片段，且該 VL 片段在該載體中操作性連結 CL 片段。

此外/或者，該重組表現載體可編碼一種信號肽，其可協助抗體鏈自宿主細胞分泌。可將抗體鏈基因選殖進入窄體中，以使該信號肽以符合讀框之方式連結抗體鏈基因之胺端。該信號肽可為免疫球蛋白信號肽或異源信號肽(即，取自非免疫球蛋白之蛋白之信號肽)。

除抗體鏈基因外，本發明之重組表現在體可帶有調控序列，其在宿主細胞中控制抗體鏈基因之表現。詞彙「調控序列」係包括啟動子、增強子、及其他表現控制元件(如，聚腺苷酸化信號)，其控制抗體鏈基因之轉錄及轉譯。此等調控序列述於，舉例而言，Goeddel; Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990)。熟習技藝者可明瞭，表現載體之設計，包括調控序列之選擇，可能有賴諸等因子，如，欲轉形宿主細胞之選擇、所欲取得之蛋白表現量等。用於哺乳動物宿主細胞表現之較佳調控序列包括可在哺乳動物細胞中指引高量蛋白表現之病毒元件，諸如，衍生自巨細胞病毒(CMV)(如，CMV啟動子/增強子)、猴病毒40(SV40)(如，SV40啟動子/增強子)、腺病毒(如，腺病毒主要晚期啟動子(AdMLP))、及多瘤病毒之啟動子及/或增強子。對於病毒調控元件及期序列之進一步敘述，參見，如，Stinski之美國專利第5,168,062號，Bell et al.之美國專利第4,510,245號，Schaffner et al.之美國專利第4,968,615號，Bujard et al.之美國專利第5,464,758號，及Bujard et al.之美國專利第5,654,168號。

除抗體鏈基因及調控序列外，本發明之除總表現載體可帶有額外之序列，諸如調控載體在宿主細胞中複製之序列(如，複製起點)以及可選擇性標記基因。可選擇性標記基因可協助篩選已引入載體之宿主細胞(參見，如Axel et al.之美國專利第4,399,216、4,634,665、及5,179,07號)。舉例而言，典型之可選擇性標記基因可使已引入載體之宿主細胞產生對於藥物(諸如，G418、溼黴素、或胺甲蝶呤)之抗性。較佳之可選擇性標記基因包括二氫葉酸還原酶(DHFR)基因(用於dhfr⁻ 宿主細胞，以胺甲蝶呤選擇/擴增)及neo基因(用於G418選擇)。

為表現輕鏈及重鏈，以標準技術使編碼該重鏈及輕鏈之表現載體轉染進入宿主細胞中。詞彙「轉染」之各種形式涵括常用以將外源引入原核或真核宿主細胞中之各種不同技術，如，電穿孔、磷酸鈣沈澱、DEAE-葡聚糖轉染等。儘管就理論而言可在原核或真核宿主細胞中表現本發明之抗體，真核細胞(最佳為哺乳動物宿主細胞)中之抗體表現係最佳者，因此等真核細胞，特別是哺乳動物細胞，相較於原核細胞，較可能組合並分泌經適當摺疊且免疫活性之抗體。表現本發明重組細胞之較佳哺乳動物宿主細胞包括中國倉鼠卵巢細胞(CHO細胞)(包括dhfr⁻ CHO細胞，述於Urlaub and Chasin, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220，使用DHFR可選擇性標記，如，述於R. J. Kaufman and P.A. Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621)、NS0骨髓瘤細胞、COS細胞、及SP2細胞。在將編碼抗體基

因之重組表現載體引入哺乳動物宿主細胞中時，即可藉由培養宿主細胞一段足夠之時間，以使抗體在宿主細胞中進行表現，或者，更佳者，使抗體分泌至宿主細胞生長之培養基中，以製備抗體。可使用標準之蛋白純化技術自培養基中回收抗體。

可使用宿主細胞製備完整抗體之部分，諸如，Fab片段或scFV分子。咸可明瞭，上述流程之變化皆涵括於本發明之範疇內。舉例而言，可能欲以編碼本發明抗體之輕鏈或重鏈(但非兩者)之DNA轉染宿主細胞。亦可使用重組DNA技術除去部分或全部編碼對於結合hIL-12並不必要之輕鏈或重鏈或兩者之DNA。由此等截段DNA分子表現之分子亦涵括於本發明之抗體範圍中。此外，可以標準化學交聯技術，使本發明之抗體與第二抗體進行交聯，以製備雙功能抗體，其中一條重鏈及一條輕鏈係屬於本發明之抗體，而另一條重鏈及輕鏈則係對非hIL-12之抗原具有專一性者。在本發明抗體或其抗原結合部分之較佳重組表現系統中，其以磷酸鈣中介性轉染法，將編碼抗體重鏈及抗體輕鏈兩者之重組表現載體引入dhfr-CHO細胞中。在該重組表現載體中，抗體重鏈及輕鏈基因各操作性連結增強子/啟動子調控元件(如，衍生自SV40、CMV、腺病毒等者，諸如，CMV增強子/AdMLP啟動子調控元件，或SV40增強子/AdMLP啟動子調控元件)，以驅動高量之基因轉錄。該重組表現載體亦帶有DHFR基因，其允許使用胺甲蝶呤選擇/擴增篩選已經載體轉染之CHO細胞。培養經選擇之轉形宿

主細胞，以進行抗體重鏈及輕鏈之表現，並自培養基中回收完整抗體。使用標準之分子生物學技術以製備重組表現載體、轉染宿主細胞、選擇轉形株、培養宿主細胞、並自培養基中回收抗體。本發明之抗體或其抗原結合部分可在經人類免疫球蛋白基因轉基因之動物(如，小鼠)體內進行表現(參見，如，Taylor, L.D., et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295)。亦可修飾植物細胞以產生可表現本發明抗體或其抗原結合部分之轉基因植物。

根據前文所述，本發明之另一方面係關於可用於重組表現本發明抗體或其抗原結合部分之核酸、載體、及宿主細胞組合。較佳者，本發明提供分離之核酸，其編碼J695之CDR，或J695之完整重鏈及/或輕鏈可變區。因此，在一具體實例中，本發明提供一種編碼抗體重鏈可變區之分離核酸，其編碼含序列編號NO: 25胺基酸序列之J695重鏈CDR3。較佳者，該編碼抗體重鏈可變區之核酸尚編碼含序列編號NO: 27胺基酸序列之J695重鏈CDR2。更佳者，該編碼抗體重鏈可變區之核酸尚編碼含序列編號NO: 29胺基酸序列之J695重鏈CDR1。又更佳者，該分離之核酸編碼含序列編號NO: 31胺基酸序列之抗體重鏈可變區(J695之完整VH區域)。

在另一具體實例中，本發明提供一種編碼抗體輕鏈可變區之分離核酸，其編碼含序列編號NO: 26胺基酸序列之J695輕鏈CDR3。較佳者，該編碼抗體輕鏈可變區之核酸尚編碼含序列編號NO: 28胺基酸序列之J695輕鏈CDR2。

更佳者，該編碼抗體輕鏈可變區之核酸尚編碼含序列編號NO: 30胺基酸序列之J695輕鏈CDR1。又更佳者，該分離之核酸編碼含序列編號NO: 32胺基酸序列之抗體輕鏈可變區(J695之完整VL區域)。

本發明亦提供編碼抗體重鏈及抗體輕鏈兩者之重組表現載體。舉例而言，在一具體實例中，本發明提供一種重組表現載體，其編碼：

a) 一抗體重鏈，其具有含序列編號NO: 31胺基酸序列之可變區；及

b) 一抗體輕鏈，其具有含序列編號NO: 32胺基酸序列之可變區。

本發明亦提供其中已引入一或多種本發明重組表現載體之宿主細胞。較佳者，該宿主細胞係哺乳動物宿主細胞，更佳者，該宿主細胞係CHO細胞、NS0細胞、或COS細胞。本發明尚提供一種合成本發明重組人類抗體之方法，其係在適當之培養基中培養本發明之宿主細胞，直到合成本發明之重組人類抗體。該方法可進一步包含自培養基中分離該重組人類抗體。

VI. 醫藥組合物及醫藥投藥

本發明之抗體及抗體部分可納入適合對病患投藥之醫藥組合物中。一般而言，該醫藥組合物含有本發明之抗體及抗體部分及醫藥可接受之載體。在本文中，「醫藥可接受之載體」包括任何及所有生理相容性之溶劑、懸浮介質、塗層、抗細菌及抗真菌劑、等滲及吸收延緩劑等。醫藥可

接受載體之實例包括水、鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、葡萄糖、甘油、乙醇等之一或多種，及其組合。在許多情形中，較佳係在該組合物中包括等滲劑，例如，糖類、多元醇，諸如，甘露糖醇、山梨糖醇、及氯化鈉。醫藥可接受之載體可進一步包含微量之輔助物質，諸如，溼潤或乳化劑、防腐劑、緩衝溶液，其可增進該抗體或抗體部分之貨架壽命或功效。

本發明之抗體及抗體部分可納入適合進行腸外投藥之醫藥組合物中。較佳者，該抗體或抗體部分可以含有0.1-250毫克/毫升抗體之可注射溶液形式製備。該可注射溶液可由液體或凍乾之劑形構成，置於燧石或琥珀之小管、小瓶、或預裝填之針筒中。緩衝溶液可為L-組胺酸(1-50 mM)，最佳5-10 mM，pH 5.0至7.0 (最佳pH 6.0)。其他適當之緩衝溶液包括但不限於，琥珀酸鈉、檸檬酸鈉、磷酸鈉、或磷酸鉀。可以0-300 mM之濃度(就液體劑形而言最佳為150 mM)使用氯化鈉修飾溶液之毒性。凍乾劑形中可包括冷凍保護劑，原則上為0-10%之蔗糖(最佳為0.5-1.0%)。其他適當之冷凍保護劑包括海藻糖及乳糖。凍乾劑形中可包括填充劑，原則上為1-10%之甘露糖醇(最佳為2-4%)。可在液體及凍乾劑形兩者中使用安定劑，原則上為1-50 mM之L-甲硫胺酸(最佳為5-10 mM)。其他適當之填充劑，包括甘胺酸、精胺酸、可包括0-0.05%之多乙氧基醚-80 (最佳為0.005-0.01%)。其他之界面活性劑包括但不限於乙氧基醚20及BRIJ界面活性劑。

本發明之組合物可以各種不同之形式存在。此等形式包括，舉例而言，液體、半固體、及固體劑形，諸如，液體溶液(如，可注射性及可灌注性溶液)、分散液或懸浮液、錠劑、丸劑、粉末、脂質體、及栓劑。較佳之形式根據所欲之投藥方式及醫藥應用而定。典型之較佳組合物係以可注射性或可灌注性溶液之形式存在，諸如類似以其他抗體進行人類被動免疫接種所用之組合物。較佳之投藥方式係腸外投藥(如，靜脈內、皮下、腹膜內、肌內)。在一較佳具體實例中，抗體係以靜脈內之灌注或注射而投藥。在另一較佳具體實例中，抗體係以肌內或皮下注射投藥。

醫藥組合物一般必需為無菌，且在製造及貯存之條件下為穩定者。組合物可調配為溶液、微乳液、分散液、脂質體、或適合高藥物濃度之其他常態結構。可將活性化合物(即，抗體或抗體部分)以所需之量納入適當之溶劑中，如所需者加入上述組成分之一種或結合，再進行過濾滅菌，以製備無菌之可注射性溶液。一般而言，分散液係將活性化合物納入含有基本分散介質及所需上述其他成分之無菌載劑中而製備。就用於製備無菌可注射性溶液之無菌凍乾粉末而言，製備之較佳方法係真空乾燥及噴霧乾燥，其可產生來自其預經滅菌過濾溶液之活性成份加上任何其他所欲成分。溶液之適當流動性可藉，舉例而言，使用塗層(諸如，卵磷脂)、維持所需之顆粒大小(就分散液而言)、以及使用界面活性劑而獲得維持。可在組合物中包括能夠延遲吸收之試劑(例如，單硬脂酸鹽及明膠)，以造成可注

射性組合物之沿時吸收。

本發明之抗體及抗體部分可以技藝所知之各種不同方法進行投藥，儘管就諸多醫藥應用而言，較佳之投藥途徑/方式係皮下注射、靜脈注射或灌注。如熟習技藝者可明瞭，投藥之途徑及/或方式係根據所欲之結果而定。在部分具體實例中，活性化合物可與能夠保護該化合物對抗快速釋放之載體一同製備，諸如，控釋調配物，包括植入物、穿皮貼布、及微膠囊傳遞系統。可使用生物可降解性、生物可相容性之聚合物，諸如，乙烯乙酸乙烯酯、聚酐、聚乙醇酸、膠原、聚原酸酯、及聚乳酸。製備此等調配物之諸多方法已取得專利或為熟習技藝者廣泛所知。參見，如，Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978。

在部分具體實例中，本發明之抗體或抗體部分可以口服投藥，例如，結合鈍性稀釋劑或可同化之可食性載體。化合物(及其他成分，如需要)亦可包被於硬殼或軟殼之明膠膠囊中、壓製成錠劑、或直接納入投藥對象之飲食中。就口服醫藥投藥而言，化合物可與賦形劑一同納入，並以可消化性錠劑、口腔錠劑、片劑、膠囊、酏劑、懸浮液、糖漿、扁片等之形式使用。為以腸外投藥之外之方式投藥本發明化合物，可能必需以一種物質塗覆該化合物，或是以一種物質與該化合物共投藥，以預防其失活。

亦可將輔助性之活性化合物納入該等組合物中。在部分

具體實例中，本發明之抗體或抗體部分係與一或多種可用於治療其中IL-12活性係有害之疾病之其他療劑共調配及/或共投藥。舉例而言，本發明之抗-hIL-12抗體或抗體部分可與一或多種可結合其他目標之其他抗體(如，可結合其他細胞因子或可結合細胞表面分子之抗體)共調配及/或共投藥。同時，本發明之一或多種抗體可與二或多種前述之療劑結合使用。此等結合治療可優勢利用投藥療劑之較低劑量，因而避免可能之毒性或與各種單一治療相關之併發症。

間白素12 在與各種涉及免疫及炎性元件之疾病相關之病理中扮演重要角色。此等疾病包括，但不限於，風濕性關節炎、骨關節炎、幼年慢性關節炎、萊姆關節炎、牛皮癬性關節炎、反應性關節炎、椎關節病、系統紅斑性狼瘡、局部性迴腸炎、潰瘍性結腸炎、炎症性腸病、胰島素依賴性糖尿病、甲狀腺炎、氣喘、過敏疾病、牛皮癬、硬化性皮炎、移植物抗宿主疾病、器官移植排斥、與器官移植相關之急性或慢性免疫疾病、類肉瘤病、動脈硬化、散布性血管內凝血、Kawasaki氏症、凸眼性甲狀腺腫、腎變病症候群、慢性疲憊症候群、Wegener氏肉芽腫病、Henoch-Schoenlein氏紫癜病、腎臟之微脈管炎、慢性活動性肝炎、葡萄膜炎、敗血性休克、毒性休克症候群、敗血病症候群、惡病質、感染性疾病、寄生性疾病、後天免疫不全症候群、急性橫貫性脊髓炎、亨丁頓氏舞蹈症、帕金森氏症、阿茲海默症、中風、原發性膽汁性硬變、溶血性

貧血、惡性病、心臟衰竭、心肌梗塞、Addison氏症、散發性I型多腺不全症及II型多腺不全症、Schmidt氏症候群、成人(急性)呼吸困苦症候群、禿髮、簇狀禿髮、血清陰性關節病、關節病、Reiter氏症、牛皮癬性關節病、潰瘍性結腸炎性關節病、腸病性滑膜炎、衣形體(chlamydia)、耶耳森氏菌(yersinia)及沙門氏菌(salmonella)相關性關節病、椎關節病、粥瘤性疾病/動脈硬化、特應性過敏、自體免疫大疱疾病、尋常天疱瘡、葉狀天疱瘡、類天疱瘡、線狀IgA疾病、自體免疫溶血性貧血、Coombs陽性溶血性貧血、後天惡性貧血、幼年惡性貧血、肌痛性腦炎/Royal Free Disease、慢性黏膜及皮膚念珠菌病、巨細胞動脈炎、原發性硬化肝炎、隱發性自體免疫肝炎、後天免疫不全症候群、後天免疫不全症相關疾病、C型肝炎、常見之各種免疫不全症(常見之各種血 γ 型球蛋白過少症)、擴張性心肌症、女性不孕症、卵巢衰竭、成熟前卵巢衰竭、纖維變性肺病、隱發性纖維變性齒槽炎、發炎後間質性肺病、間質性肺炎、結締組織疾病相關性間質性肺病、混合性結締組織疾病相關性肺病、系統硬化相關性間質性肺病、風濕性關節炎相關性間質性肺病、系統紅斑性狼瘡相關性間質性肺病、皮膚炎/多肌炎相關性肺病、Sjögren氏症相關性肺病、關節黏連性脊椎炎相關性肺病、脈管炎擴散肺病、血鐵質沈著相關性肺病、藥物誘發性間質性肺病、放射纖維變性、阻塞性細支氣管炎、慢性嗜伊紅血球性肺炎、淋巴球浸潤性肺病、感染後間質性肺

病、痛風性關節炎、自體免疫性肝炎、1型自體免疫性肝炎(古典自體免疫性或類狼瘡肝炎)、2型自體免疫性肝炎(抗-LKM抗體肝炎)、自體免疫中介性低血糖症、黑色棘皮病之B型胰島素抗性、副甲狀腺機能不足、與器官移植相關之急性免疫疾病、與器官移植相關之慢性免疫疾病、骨關節病、原發性硬化膽管炎、1型牛皮癬、2型牛皮癬、自發性白血球減少症、自體免疫性嗜中性白血球減少症、NOS腎臟病、絲球體性腎炎、腎臟之微脈管炎、萊姆病、圓盤狀紅斑性狼瘡、自發性或NOS男性不孕症、精子自體免疫性、多重硬化症(所有次型)共感性眼炎、肺循環血壓過高、次級結締組織疾病、Goodpasture氏症候群、結節性多動脈炎之肺循環顯現、急性風濕病、風濕性脊椎炎、Still氏症、系統硬化、Sjögren氏症候群、Takayasu氏症/動脈炎、自體免疫性血小板減少症、自發性血小板減少症、自體免疫性甲狀腺疾病、甲狀腺機能亢進、甲狀腺腫性自體免疫性甲狀腺機能不足(Hashimoto氏症)、萎縮性自體免疫性甲狀腺機能不足、原發性黏液水腫、晶狀體發生性葡萄膜炎、原發性脈管炎、及白斑病。本發明之抗體或抗體部分可用於治療自體免疫疾病，特別是與發炎相關者，包括，風濕性脊椎炎、過敏、自體免疫性糖尿病、自體免疫性葡萄膜炎。

較佳者，本發明之抗體或其抗原結合部分係用於治療風濕性關節炎、局部性迴腸炎、多重硬化症、胰島素依賴性糖尿病、糖尿病、牛皮癬，如單元VII進一步詳述。

本發明之人類抗體或抗體部分可與一或多種可用於治療自體免疫或炎性疾病之其他療劑一同投藥。

本發明之抗體或其抗原結合部分可單獨或結合使用以治療此等疾病。咸應明瞭，本發明之抗體或其抗原結合部分可單獨使用或結合其他試劑(如，療劑)使用，該其他試劑係由熟習技藝者根據所欲目的選擇。舉例而言，該其他試劑可為一種療劑，其係技藝認知能夠用於治療由本發明抗體治療之疾病或病況者。該其他試劑亦可為能夠對該醫藥組合物提供益處之試劑，如，可造成組合物黏性之試劑。

尚應明瞭，包括於本發明範圍內之諸等結合係可用於其所欲目的之結合。下列之試劑係用以進行說明而非限制。屬於本發明一部分之結合可為本發明之抗體及至少一種選自下列之其他試劑。該結合亦可包括一種以上之其他試劑，如，二或三種其他試劑，如該組合係可使所形成之組合物展現其所欲功能者。

較佳之結合係非類固醇性抗炎藥物，其亦稱為NSAIDS，包括諸如之異丁苯丙酸(ibuprofen)藥物。其他較佳之結合係皮質類固醇，包括脫氫皮質類固醇。類固醇之著名副作用可在結合本發明抗-IL-12抗體治療病患時逐漸減少所需之類固醇劑量而減少甚至去除。本發明抗體或抗體部分可與其結合之風濕性關節炎療劑非限制性實例包括下列：細胞因子抑制性抗炎藥物(CSAID)；對抗其他人類細胞因子或生長因子(例如，TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-II、GM-

CSF、FGF、及PDGF)之抗體或拮抗劑。本發明之抗體或其抗原結合部分可結合對抗細胞表面分子(諸如，CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80(B7.1)、CD86(B7.2)、CD90)或其配位體(包括，CD154(gp39或CD40L)之抗體。

較佳之療劑結合可在不同之時間點上干預自體免疫及後續炎性級聯；較佳之實例包括TNF拮抗劑，諸如，嵌合之人類化或人類TNF抗體、D2E7(美國專利申請案系列編號08/599,226，1996年2月9日申請)、CA2(Remicade™)、CDP571、及可溶性之p55或p75 TNF受體、其衍生物p75TNFR1gG(Enbrel™)或p55TNFR1gG(Lenercept)、以及TNF α 轉化酶(TACE)抑制劑；類似之IL-1抑制劑(間白素-1轉化酶抑制劑，IL-1RA等)亦可因相同之理由而為有效者。其他較佳之結合包括間白素11。又另一較佳之結合係自體免疫反應之其他重要角色，其作用可平行、依賴、或協力IL-12之功能；特別較佳者係IL-18拮抗劑，包括IL-18抗體或可溶性IL-18受體，或IL-18結合蛋白。已經證明IL-12及IL-18具有重疊但獨特之功能，而兩者拮抗劑之結合可能係最為有效者。又另一較佳之結合係非耗竭性抗-CD4抑制劑。又其他之較佳結合包括CD80(B7.1)或CD86(B7.2)共激發性途徑之拮抗劑，包括抗體、可溶性受體、或拮抗性配位體。

本發明之抗體或其抗原結合部分亦可結合諸如胺甲蝶呤、6-MP、硫唑嘌呤(azathioprine)色法沙拉辛

(sulphasalazine)、胺水楊酸(mesalazine)、奧柳氮(olsalazine)氣奎寧/羥基氯喹、潘西胺(pencillamine)、aurothiomalate (肌內或口服)、cochicine、皮質類固醇(口服、吸入、及局部注射)、 β -2腎上腺素受體拮抗劑(舒喘寧(salbutamol)、特普他林(terbutaline)、salmeteral)、黃嘌呤(茶鹼、胺茶鹼)、色甘酸鹽(cromoglycate)、來多克羅米(nedocromil)、酮替芬(ketotifen)、異丙托品(ipratropium)及溴乙東鹼(oxitropium)、環孢菌素、FK506、納巴黴素(rapamycin)、黴酚酸莫非第(mycophenolate mofetil)、來氟洛米(leflunomide)、NSAID (例如, 異丁苯丙酸(ibuprofen))、皮質類固醇(諸如, 脫氫皮質類固醇)、磷酸二酯酶抑制劑、腺索辛(adenosine)拮抗劑、抗凝劑、補體抑制劑、腎上腺素能劑、藉由促炎細胞因子(諸如, TNF或IL-1)干擾信號之試劑(如, IRAK、NIK、IKK、p38、或MAP激酶抑制劑)、IL-1 β 轉化酶抑制劑、TNF α 轉化酶(TACE)抑制劑、T-細胞信號抑制劑(諸如, 激酶抑制劑)、金屬蛋白酶抑制劑、色法沙拉辛(sulfasalazine)、硫唑嘌呤(azathioprine)、6-巯基嘌呤、血管緊張肽轉化酶抑制劑、可溶性細胞因子受體及其衍生物(如, 可溶性之p55或p75 TNF受體以及衍生物p75TNFR1gG (Enbrel™)及p55TNFR1gG (Lenercept)、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R)、及抗炎性細胞因子(如, IL-4、IL-10、IL-11、IL-13、及TGF β)之試劑。較佳之結合包括胺甲蝶呤、來氟洛米(leflunomide)、以及環孢菌素(就輕度或重度之風濕性關節

炎而言)。

本發明抗體或抗體部分可與其結合之炎症性腸病療劑非限制性實例包括下列：布丹諾賽(budenoside)；表皮生長因子；皮質類固醇；環孢菌素；色法沙拉辛(sulfasalazine)；胺基水楊酸；6-巰基嘌呤；硫唑嘌呤(azathioprine)；甲硝達唑(metronidazole)；脂肪氧合酶抑制劑；胺水楊酸(mesalamine)；奧柳氮(olsalazine)；巴沙拉賽(balsalazide)；抗氧化劑、凝血噁烷抑制劑；IL-1受體拮抗劑；抗-IL-1 β 單株抗體；抗-IL-6單株抗體；生長因子；彈性蛋白酶抑制劑；吡啶基咪唑化合物；對抗其他人類細胞因子或生長因子(例如，TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-II、GM-CSF、FGF、及PDGF)之抗體或拮抗劑。本發明之抗體或其抗原結合部分可結合對抗細胞表面分子(諸如，CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD90)或其配位體之抗體。本發明之抗體或其抗原結合部分亦可結合諸如胺甲蝶呤、環孢菌素、FK506、納巴黴素(rapamycin)、黴酚酸莫非第(mycophenolate mofetil)、來氟洛米(leflunomide)、NSAID(例如，異丁苯丙酸(ibuprofen))、皮質類固醇(諸如，脫氫皮質類固醇)、磷酸二酯酶抑制劑、腺索辛(adenosine)拮抗劑、抗凝劑、補體抑制劑、腎上腺素能劑、藉由促炎細胞因子(諸如，TNF或IL-1)干擾信號之試劑(如，IRAK、NIK、IKK、p38、或MAP激酶抑制劑)、IL-1 β 轉化酶抑制劑、TNF α 轉化酶抑制

劑、T-細胞信號抑制劑(諸如，激酶抑制劑)、金屬蛋白酶抑制劑、色法沙拉辛(sulfasalazine)、硫唑嘌呤(azathioprine)、6-巯基嘌呤、血管緊張肽轉化酶抑制劑、可溶性細胞因子受體及其衍生物(如，可溶性之p55或p75 TNF受體、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R)、及抗炎性細胞因子(如，IL-4、IL-10、IL-11、IL-13、及TGF β)之試劑。

本發明抗體或抗體部分可與其結合之局部性迴腸炎療劑較佳實例包括下列：TNF拮抗劑(例如，抗-TNF抗體)、D2E7 (美國專利申請案系列編號08/599,226，1996年2月9日申請)、CA2 (Remicade™)、CDP571、及TNFR-Ig建構物(p75TNFR1gG (Enbrel™)及p55TNFR1gG (Lenercept))抑制劑、以及PDE4抑制劑。本發明之抗體或其抗原結合部分可結合皮質類固醇，例如，布丹諾賽(budenoside)及地塞米松(dexamethasone)。本發明之抗體或其抗原結合部分亦可結合諸如色法沙拉辛(sulfasalazine)、5-胺基水楊酸及奧柳氮(olsalazine)、以及干擾促炎細胞因子(諸如，IL-1)之合成或作用之試劑(例如，IL-1 β 轉化酶抑制劑及IL-1ra)。本發明之抗體或其抗原結合部分亦可與T-細胞信號抑制劑(例如，酪胺酸激酶抑制劑、6-巯基嘌呤)一同使用。本發明之抗體或其抗原結合部分可與IL-11結合。

本發明抗體或抗體部分可與其結合之多重硬化症療劑非限制性實例包括下列：皮質類固醇；脫氫皮質類固醇；甲基脫氫皮質類固醇；硫唑嘌呤(azathioprine)；環磷醯胺；環孢菌素；胺甲蝶呤；4-胺基吡啶；替扎尼定

(tizanidine)；干擾素- β 1a (Avonex; Biogen)；干擾素- β 1b (Betaseron; Chiron/Berlex)；共聚物1(Copolymer 1)(Cop-1; Copaxone; Teva Pharmaceutical Industries, Inc.)；高壓氧；靜脈內免疫球蛋白；克拉必並(clabribine)；對抗其他人類細胞因子或生長因子(例如，TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-II、GM-CSF、FGF、及PDGF)之抗體或拮抗劑。本發明之抗體或其抗原結合部分可結合對抗細胞表面分子(諸如，CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80、CD86、CD90)或其配位體之抗體。本發明之抗體或其抗原結合部分亦可結合諸如胺甲蝶呤、環孢菌素、FK506、納巴黴素(rapamycin)、黴酚酸莫非第(mycophenolate mofetil)、來氟洛米(leflunomide)、NSAID(例如，異丁苯丙酸(ibuprofen))、皮質類固醇(諸如，脫氫皮質類固醇)、磷酸二酯酶抑制劑、腺索辛(adensosine)拮抗劑、抗凝劑、補體抑制劑、腎上腺素能劑、藉由促炎細胞因子(諸如，TNF或IL-1)干擾信號之試劑(如，IRAK、NIK、IKK、p38、或MAP激酶抑制劑)、IL-1 β 轉化酶抑制劑、TACE抑制劑、T-細胞信號抑制劑(諸如，激酶抑制劑)、金屬蛋白酶抑制劑、色法沙拉辛(sulfasalazine)、硫唑嘌呤(azathioprine)、6-巰基嘌呤、血管緊張肽轉化酶抑制劑、可溶性細胞因子受體及其衍生物(如，可溶性之p55或p75 TNF受體、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R)、及抗炎性細胞因子(如，IL-4、IL-10、IL-11、IL-13、及TGF β)之試

劑。

本發明抗體或抗體部分可與其結合之多重硬化症療劑較佳實例包括干擾素- β (例如, $\text{INF}\beta 1a$ 及 $\text{INF}\beta 1b$)、copaxone、皮質類固醇、IL-1抑制劑、TNF抑制劑、以及對抗CD40配位體及CD80之抗體。

本發明之醫藥組合物可包括「治療有效量」或「預防有效量」之本發明抗體或抗體部分。「治療有效量」係指在必需之投劑數及時期下可有效達成所欲治療結果之量。抗體或抗原部分之治療有效量會根據各種因子而有不同, 諸如, 疾病狀態、年齡、性別、個體體重、以及抗體或抗原部分在個體體內激發所欲反應之能力。治療有效量亦為該抗體或抗原部分之任何毒性或有害作用低於其治療有益作用之量。「預防有效量」係指在必需之投劑數及時期下可有效達成所欲預防結果之量。一般而言, 由於預防劑量係在疾病發生之前或在疾病早期階段施用於對象, 預防有效量會低於治療有效量。

可調整投劑法以提供最佳之所欲反應(如, 治療或預防反應)。舉例而言, 可投藥單一丸劑、可在一段時間內投藥數個平分劑量、或者可隨治療情形之急迫性而比例減少或增加劑量。特別較佳者係將腸外組合物調配為劑量單元形式, 以取得投藥之便利性及劑量之一致性。在本文中, 劑量單元形式係指適合作為所欲治療哺乳動物對象單一劑量之物理分離單元; 各個單元含有經計算以產生所欲治療作用之預定量活性化合物, 以及所需之醫藥載體。本發明

劑量單元形式之詳細內容係由下列者決定且直接相關：(a) 活性化合物之獨特特徵及所欲達成之特定治療或預防功效，及(b)在合成治療個體敏感性活性化合物之技藝中固有之限制。

本發明抗體或抗體部分之例示性、非限制性治療或預防有效量範圍係0.1-20毫克/公斤，更佳係1-10毫克/公斤。須注記者，劑量值可根據欲減輕病況之類型及嚴重性而有不同。亦應明瞭，就任何特定對象而言，特定之投劑法應根據個體之需要以及執行該等化合物之投藥或指導投藥者之專業判斷而隨時調整，且本文所列之劑量範圍僅係用以例示而非限制所請組合物之範圍或使用。

VII. 本發明抗體之用途

由於其結合hIL-12之能力，本發明抗-hIL-12抗體或其部分可用於偵測hIL-12（如，在生物樣本中，諸如，血清或血漿），使用習知之免疫分析，諸如，酶連免疫吸附分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)、或組織免疫組織化學分析。本發明提供一種在生物樣本中偵測hIL-12之方法，其包含使生物樣本接觸本發明之抗體或抗體部分，並偵測連結hIL-12之抗體(或抗體部分)或未連結之抗體(或抗體部分)，以偵測該生物樣本中之hIL-12。抗體係直接或間接以可偵測之物質標記，以協助偵測連結或未連結之抗體。適當之可偵測物質包括各種酶、輔基、螢光物質、發光物質、及放射性物質。適當酶之實例包括辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、或乙醯膽鹼酯酶；適當輔基

複合物之實例包括鏈黴親和素/生物素及親和素/生物素；適當螢光物質之實例包括繖形酮、螢光素、異硫氰酸螢光素、羅丹明(rhodamine)、二氯三嗪胺螢光素、丹磺酰氯、或藻紅蛋白；適當發光物質之實例包括魯米諾(luminol)；而適當放射性物質之實例包括 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 、或 ^3H 。

除標記抗體外，或可藉由競爭免疫分析，使用經可偵測物質標記之rhIL-12標準物及未經標記之抗-hIL-12抗體，而在生物液體中分析hIL-12。在此種分析中，其結合生物樣本、經標記rhIL-12標準物及抗-hIL-12抗體，並測定結合未經標記抗體之經標記rhIL-12標準物量。生物樣本中之hIL-12含量與結合抗-hIL-12抗體之經標記rhIL-12標準物量成反比。

本發明之Y61及J695抗體亦可用於偵測取自非人類生物種之IL-12，特別是取自靈長類動物之IL-12。舉例而言，Y61可用於偵測獼猴及恆河猴體內之IL-12。Y695可用於偵測獼猴、恆河猴、及狒狒體內之IL-12。然而，任一抗體皆不會交叉反應小鼠或大鼠IL-12（參見實例3，次單元F）。

本發明之抗體或抗體部分可在試管中（參見實例3）及活體中（參見實例4）中和hIL-12活性。因此，本發明之抗體或抗體部分可用於抑制IL-12活性，如，在含有hIL-12之細胞培養物中、在人類對象體內、或在具有本發明抗體可交叉反應之IL-12之其他哺乳動物對象體內（如，靈長類動物，諸如，狒狒、獼猴、及恆河猴）。在一較佳具體實例中，

本發明提供一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其可中和人類IL-12及至少一種其他靈長類動物IL-12（其選自狒狒IL-12、小猿IL-12、黑猩猩IL-12、獼猴IL-12、及恆河猴IL-12）之活性，但其不中和小鼠IL-12之活性。較佳者，該IL-12係人類IL-12。舉例而言，在含有或懷疑含有hIL-12之細胞培養物中，可將本發明之抗體或抗體部分加入培養基中，以抑制培養物中之hIL-12活性。

在另一具體實例中，本發明提供一種在罹患其中IL-12活性係有害之疾病之對象體內抑制IL-12活性之方法。IL-12已經提出和多種不同疾病之病理生理有關(Windhagen et al., (1995) J. Exp. Med. 182:1985-1996; Morita et al. (1998) Arthritis and Rheumatism. 41:306-314; Bucht et al., (1996) Clin. Exp. Immunol. 103:347-367; Fais et al. (1994) J. Interferon Res. 14:235-238; Parronchi et al., (1997) Am. J. Path. 150:823-832; Monteleone et al., (1997) Gastroenterology. 112:1169-1178; 及 Berrebi et al., (1998) Am. J. Patj. 152:667-672)。本發明提供一種在罹患此種疾病之對象體內抑制IL-12活性之方法，該方法包含對該對象投藥本發明之抗體或抗體部分，以抑制該對象體內之IL-12活性。較佳者，該IL-12係人類IL-12，而該對象係人類對象。或者，該對象可為表現本發明抗體可交叉反應之IL-12之哺乳動物。該對象尚可為其中已引入hIL-12之哺乳動物(如，藉由投藥hIL-12或藉由表現hIL-12轉基因)。本發明之抗體可因治療目的而對人類對象投藥(於下進一步討論)。同時，本發明之抗體可因獸醫目的

或因作為人類疾病之動物模型而對表現本發明抗體可交叉反應之IL-12之非人類哺乳動物投藥。就後者而言，此等動物模型可用於評估本發明抗體之治療功效(如，試驗投藥之劑量及時間期)。

於本文中，詞彙「其中IL-12活性係有害之疾病」係包括諸等疾病及其他異常，其中罹患該疾病之對象體內之IL-12存在已經證實須為或可能須為該疾病之病理生理負責，或為造成該疾病惡化之因子。因此，其中IL-12活性係有害之疾病係一種疾病，其中對於IL-12活性之抑制可預期能夠減輕該疾病之症狀及/或發展。此等疾病可以，例如，罹患該疾病對象之生物液體中IL-12濃度之增加(如，該對象血清、血漿、滑液等中IL-12濃度之增加)而獲得證實，其可使用，例如，上述之抗-IL-12抗體而進行偵測。其中IL-12活性係有害之疾病有諸多實例。在一具體實例中，可將抗體或其抗原結合部分用於治療之中，以治療本文所述之疾病或異常。在另一具體實例中，可將抗體或其抗原結合部分用於製造治療本文所述之疾病或異常用之藥物。於下進一步討論本發明抗體及抗體部分用於治療數種非限制性特定疾病之用途：

A. 風濕性關節炎

間白素-12已經提出涉及炎性疾病，諸如風濕性關節炎。已在風濕性關節炎病患之滑液中偵測到可誘發性IL-12 p40信息，且已證實IL-12存在於風濕性關節炎病患之滑液中(參見，如，Morita et al., (1998) Arthritis and

Rheumatism 41:306-314)。已發現IL-12陽性細胞存在於風濕性關節炎滑膜之下層。本發明之人類抗體及抗體部分可用於治療，例如，風濕性關節炎、幼年風濕性關節炎、萊姆關節炎、風濕性脊椎炎、骨關節炎、及痛風性關節炎。一般而言，該抗體或抗體部分係由系統投藥，儘管就部分疾病而言，該抗體或抗體部分之局部投藥可為有益者。本發明之抗體或抗體部分亦可與一或多種可用於治療自體免疫疾病之其他療劑一同投藥。

在風濕性關節炎之膠原誘發性關節炎(CIA)小鼠模型中，在關節炎之前以抗-IL-12 mAb (大鼠抗-小鼠IL-12單株抗體，C17.15)對小鼠進行之治療完全抑制該疾病之起始，並減少該疾病之發生及嚴重性。在關節炎起始後之早期以抗-IL-12 mAb進行之治療可減輕嚴重性，但在疾病起始後之後期以抗-IL-12 mAb對小鼠進行之治療對疾病之嚴重性則僅有極小之影響。

B. 局部性迴腸炎

間白素-12亦涉及炎症性腸病局部性迴腸炎。局部性迴腸炎病患之小腸黏膜中有較高之 $\text{INF}\gamma$ 及IL-12表現(參見，如，Fais et al. (1994) J. Interferon Res. 14:235-238；Parronchi et al., (1997) Am. J. Path. 150:823-832；Monteleone et al., (1997) Gastroenterology. 112:1169-1178；Berrebi et al., (1998) Am. J. Patj. 152:667-672)。抗-IL-12抗體已證實可在結腸炎之小鼠模型中(如，TNBS誘發性結腸炎IL-2失效小鼠，以及近來之IL-10失效小鼠)抑制疾病。因此，本發明之抗體

及抗體部分可用於治療炎症性腸病。

C. 多重硬化症

間白素-12已經提出係多重硬化症之重要中介分子。可誘發性IL-12 p40信息或IL-12本身之表現可見於多重硬化症病患之病灶中(Windhagen et al., (1995) J. Exp. Med. 182:1985-1996, Drulovic et al., (1997) J. Neurol. Sci. 147:145-150)。多重硬化症之慢性進展性病患具有較高之循環IL-12含量。對於取自多重硬化症病患之T-細胞及抗原呈遞細胞(APC)所進行之研究顯示,一種自體永存性之免疫作用系列係造成Th1類型免疫反應之進展性多重硬化症之基礎。T細胞之較高INF- γ 分泌造成APC之較高IL-12生產,其使造成Th1類型免疫活化及疾病慢性狀態之循環永存化(Balashov et al., (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. 94:599-603)。IL-12在多重硬化症中之角色已使用多重硬化症之小鼠及大鼠實驗性過敏性腦脊髓炎(EAE)模型進行研究。在小鼠體內之多重硬化症復發-緩解EAE模型中,以抗-IL-12 mAb進行之預治療可延緩癱瘓並降低臨床評分。在癱瘓之尖峰期或在後續緩之解期中以抗-IL-12 mAb進行之治療可降低臨床評分。因此,本發明之抗體或其抗原結合部分可用於在人體內減輕與多重硬化症相關之症狀。

D. 胰島素依賴性糖尿病

間白素-12已經提出係胰島素依賴性糖尿病(IDDM)之重要中介分子。在NOD小鼠體內,藉投藥IL-12以誘發IDDM,抗-IL-12抗體在IDDM之過繼轉移模型中具有保護

性。早期起始之IDDM病患通常會經歷一段「蜜月期」，其中仍保有部分殘餘之胰島細胞功能。此等殘餘胰島細胞可產生胰島素，並可調控血糖含量，優於投藥之胰島素。以抗-IL-12抗體對此等早期起始病患進行之治療可預防胰島細胞之進一步破壞，因而保留胰島素之內源性來源。

E. 牛皮癬

間白素-12已經提出係牛皮癬之重要中介分子。牛皮癬涉及急性及慢性之皮膚病灶，其與Th1類型之細胞因子表現內容有關(Hamid et al. (1996) J. Allergy Clin. Immunol. 1:225-231; Turka et al. (1995) Mol. Med. 1:690-699)。在患病之人類皮膚樣本中偵測到IL-12 p35及p40 mRNA。引此，本發明之抗體或其抗原結合部分可用於減緩諸如牛皮癬之慢性皮膚疾病。

咸以下列實例進一步說明本發明，該等實例不應解釋為任何方式之限制。在本申請案之全文中所引述之所有引述參考資料之內容，包括文獻參考資料、授頒之專利、以及公開之專利申請案，皆於此併入本文作為參考。尚應明瞭，本文所附所有表格(參見附件A)之內容皆併入作為參考。

表 1 VH3 族群抗体系氨基酸序列
根据 Kabat 编号
(包含 Jc9 VH 以进行比较)

序列编号	抗体系	CDR H1	CDR H2
594	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	WVRAQAPGKGLVWG RTIRNKANSYTTTEAASVKG
595	dp-29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCAR
596	dp-30	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCAR
597	HC15-7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCAR
598	VH026	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCAR
599	DP-31	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCAR
600	DP-32	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCAR
601	DP-33	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCAR
602	DP-35	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCAR
603	VH3-8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCAR
604	Yac-9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCAR
605	dp-38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCAR
606	LSG2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
607	LSG3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
608	LSG4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
609	LSG6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
610	v3-15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
611	dp-39	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
612	dp-40	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
613	dp-59	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
614	v3-16p	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
615	v3-19p	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
616	v3-13	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
617	DP-42	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
618	dp-44	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
619	dp-45	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
620	f1m	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
621	p1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
622	v3-64	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
623	uh26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
624	B25	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
625	b32e	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
626	B37	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
627	B43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
628	B48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
629	B52	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
630	B54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
631	cos-8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
632	dp-46	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
633	F2H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
634	F3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
635	F7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
636	hv1005	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
637	P2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
638	dp-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT
639	dp-58	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	RTISRDSKNSLYLQMNLSKLTEDTAVYYCTT

- 153 -

*Williams, JMB, 1996, 264, 220-232

表 1 VH3 族 群 種 系 胺 基 酸 序 列
根 據 Kabat 編 號
(包 含 Joe9 VH 以 進 行 比 較)

序 列 編 號	種 系	CDR H1	CDR H2
NO:	VH		
640	B1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	WVROAPGKGLEWVA VI..SYDGSNKYYADSVKG
641	B13	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
642	B18	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
643	B26	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
644	B28E	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
645	B29E	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
646	B29M	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
647	B30	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
648	B32M	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
649	cos-3	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
650	dp-49	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	FI..RYDGSNKYYADSVKG
651	dp-50	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
652	P6	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
653	P9E	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..WYDGSNKYYADSVKG
654	v3-30	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
655	v3-33	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	VI..SYDGSNKYYADSVKG
656	dp-51	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	VI..WYDGSNKYYADSVKG
657	dp-77	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	VI..SSSSSYIYADSVKG
658	HMG4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	SI..SSSSSYIYADSVKG
659	v3-21	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	SI..SSSSSYIYADSVKG
660	v3-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	SI..SSSSSYIYADSVKG
661	DP-52	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	SI..SSSSSYIYADSVKG
662	cos-6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	SI..SSSSSYIYADSVKG
663	dp-53	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	SI..SSSSSYIYADSVKG
664	dp-54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	SI..SSSSSYIYADSVKG
665	dp-87	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	SI..SSSSSYIYADSVKG
666	VH3-11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	SI..SSSSSYIYADSVKG
667	JOE9 VH	QVQLVSGGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	FI..RYDGSNKYYADSVKG

表 2

純系	H3 序列 編號 NO.	H3	L3 序列 編號 NO.	L3	koff	RB 分析 IC50 (M)	PHA 分析 IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
Joe9 wt	77	SGSYD	110	QSYDSSLRGSRV	1.00E-01	1.50E-06	1.00E-06	
Joe9 wt IgG1	77	SGSYD	110	QSYDSSLRGSRV			5.00E-07	
70-1	78	HGSHDN	110	Joe9 wt	1.34 e-2		2.00E-07	
70-1 IgG1	78	HGSHDN	110	Joe9 wt			2.00E-07	
70-2	79	HGSHDN	110	Joe9 wt	3.30E-02		3-5.0E-7	
70-7	80	RRRSNY	110	Joe9 wt	1.29E-01		3-5.0E-7	
70-13	81	SGSIDY	110	Joe9 wt	7.20E-02		3-5.0E-7	
78-34	77	wt	111	QSYDRGFTGSRV	1.64 e-2	2.00E-07	6.00E-07	
78-25	77	wt	112	QSYDSSLRGSRV	5.00E-02			
78-28	77	wt	112	QSYDSSLRGSRV	4.66E-02			
78-35	77	wt	113	QSYDSSLTGSRV	4.99E-02	4.00E-07		
79-1	77	wt	114	QSYDSSLWGSRV		2.00E-07	6.00E-07	
101-14	79	70-2	111	78-34	7.52E-03			
101-9	79	70-2	113	78-35	8.54E-03			
101-19	81	70-13	111	78-34	4.56E-02			
101-8	81	70-13	111	78-34	1.01E-02			
101-4	81	70-13	113	78-35	9.76E-03			
101-5	81	70-13	113	78-35	4.45E-02			
101-11 (12)	78	70-1	111	78-34	4.5 e-3		3.00E-08	
101-11 IgG1	78	70-1	111	78-34		1.60E-09		
26-1 (2, 3)	78	70-1	114	79-1	7.4 e-3		6.00E-08	
136-9	82	HGSHDD	115	QTYDISESGSRV	3.20E-03			
136-10	82	HGSHDD	116	QSYDRGFTGSRV	1.40E-03	2.00E-09		
136-14	83	HGSHDN	117	QTYDRGFTGSRV	1.10E-03	3.00E-10	1.00E-07	
136-15	83	HGSHDN	118	QTYDKGFTGSSV	7.4 e-4	1.00E-10	2.00E-09	
136-15 複系	83	HGSHDN	118	QTYDKGFTGSSV	4.60E-04		6.00E-09	
136-16	83	HGSHDN	119	QSYDRRFTGSRV	6.10E-04	3.00E-10	5.00E-09	
136-17	83	HGSHDN	120	QSYDWNFTGSRV	2.90E-05	2.00E-09	7.00E-09	
136-18	83	HGSHDN	121	QSYDRGFTGSRV	1.10E-03	8.00E-10		
136-21	83	HGSHDN	122	QSYDNGFTGSRV	4.20E-04	2.00E-09		
136-24	83	HGSHDN	123	QSYDNAVTASKV	8.90E-04	1.00E-09		

表 2

純系	H3 序列 編號 NO:	H3	L3 序列 編號 NO:	L3	koff	RB 分析 IC50 (M)	PHA 分析 IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
101-11	84	TT HGSNDN HGQG	124	QSYDRGFTGSRV	4.5x10-3	2x10-9	2.00E-08	
136-15M1	85	AK	124	QSYDRGFTGSRV		4.00E-10		
149-4	86	S..	124		1.37x10-3	8x10-11	3.00E-09	
149-5	87	T	125	QSYDSSLWGTRV	1.02x10-3	1.2x10-10	3.00E-09	
149-6	84	S..	124		2.73x10-3	6x10-10	2.00E-09	
149-7	84	S..	126	D.....	1.13x10-3	9x10-10	3.00E-09	
149-8	88	K.			2.33x10-3	3x10-9		
149-9	89	K.H.	127	...E.....M.	3.54x10-3	1.8x10-10		
149-11	90	S..	128	N....A..	1.43x10-2	2x10-10	4.00E-09	
149-12	84	S..			3.73x10-3	中和		
149-13	84	S..			2.22x10-3	5x10-10		
149-14	91	.. .R..N.				1.5x10-10	6.00E-09	
156-1	92	TT HGSNDN	124	QSYDRGFTGSRV				
156-2	93	T	126	D.....	5.00E-03			
156-3	93	T	129	R.....				
156-4	93	T	128	N....A..	9.00E-03			
156-5	93	T	127	E.....SM.				
156-6	92	T	130	.T..K.....S.				
156-7	92	S..	126	D.....	3.00E-03			
156-8	92	S..	129	R.....				
156-9	92	S..	128	N....A..				
156-10	92	S..	127	E.....SM.				
156-11	94	S..	130	.T..K.....S.				
156-12	94	.K	126	D.....				
156-13	94	.K	129	R.....				
156-14	94	.K	128	N....A..				
156-15	94	.K	127	E.....SM.				
156-16	93	T	130	.T..K.....S.				
156-17	92	S..	124	E.....				
156-18	93	T	125	SSLW.T..	6.00E-03			
			125	SSLW.T..				

表 2

純系	H3 序列 編號 NO.	H3	L3 序列 編號 NO.	L3	koff	RB 分析 IC50 (M)	PHA 分析 IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
	92	TT HGSNDN	124	QSYDRGFTGSRV				
103-1	95	.. Q.R...	124		2.9x10-3			
103-2	96	K. R.R...	130	.T..K....S.	7.3x10-4	7.00E-11	1.00E-09	
103-3	97	K	124		2.5x10-3			
103-6			131	D...T..	4.5x10-4			
103-7	98	D	131	D...T..	3.7x10-4	1.40E-10	1.00E-09	
103-8	99	K.	130	.T..K....S.	3.3x10-4	6.00E-11	1.50E-09	
103-14 & 9	100	KT HGSNDN	132	QSYDRGFTGSMV	6.7 e-4	4.00E-11	1.20E-09	
103-8 & 2	100	KT HGSNDN	133	QTYDKGFTGSSV	5.3 e-4		1.50E-09	
103-4	101	TT HGSNDN	134	QSYDRGFTGARV	1.6 e-4	8.60E-11	9.00E-10	
103-152	101	TT HGSNDN	135	QSYERGFTGARV		8.60E-11		
	102	TT SGSYDY	136	QSYDRGFTGSRVF				
170-1	102		137	FK..	2.35E-03			
170-2	102		138	VSAY..	8.80E-04			
170-3	102		139	L.VTK..	1.11E-03			
170-4	102		140	Y.A....	8.11E-04			
170-7	102		141	K...	5.30E-04			
170-11	102		142	L..F...	4.40E-04			
170-13	102		143	YK...	1.59E-03			
170-15	102		144	L..Y.L.	4.43E-03			
170-19	103	.. H..H.N	145	DYK...	1.00E-03			
170-21	104	.. H..Q.N	146	P.L.	3.89E-03			
170-22	102		147	L.....	5.60E-04			
170-23	103	.. H..H.N	148	A..W	1.00E-03	2.00E-10		
170-24	104	.. H..Q.N	149	Y...	2.80E-04	5.00E-10		
170-35	105	A. H..Q.N	136		1.00E-05			
170-38			150	P...	2.10E-04			
170-39			151	M.S....	2.79E-03			
170-36	83	HGSNDN	152	QSYDRDSTGSRVF	4.00E-04	2.00E-10		
170-25	106	HGSQDT	153	QSYDSSLRGSRVF	5.00E-04	5.00E-11		

表 2

純系	H3 序列 編號 NO:	H3	L3 序列 編號 NO:	L3	koff	RB 分析 IC50 (M)	PHA 分析 IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
	106	SGSYDY	136	QSYDRGETGSRVE				
73-B1	107	SGSYDY	154	H...SD.....	3.25E-03	>1E-8		
73-B2	107	SGSYDY	155	H.SES.....	2.07E-03			
73-B6	107	SGSYDY	156	H...NR.....	2.51E-03	>1E-8		
73-C1	107	SGSYDY	157	H...SR.....	2.71E-03	>1E-8		
73-C2	107	SGSYDY	158	SE.....	3.79E-03			
73-C6	107	SGSYDY	159	T.....	3.96E-03			
73-D1	107	SGSYDY	160	H...S.....	3.99E-03			
73-D2	107	SGSYDY	161	T.....	3.56E-03			
73-D4	107	SGSYDY	162	H...TK.....	5.36E-03			
73-D5	107	SGSYDY	163	H.S.S.....	3.57E-03			
73-E3	107	SGSYDY	164	SD.....	4.98E-03			
73-E6	107	SGSYDY	165	H..ES.....	4.17E-03			
73-F3	107	SGSYDY	166	APWS.....	7.08E-03			
73-F5	107	SGSYDY	167	...DSD....K..	3.74E-03			
73-G2	107	SGSYDY	168	HTN.S.....	3.98E-03			
73-G3	107	SGSYDY	169	H...TR.....	3.50E-03			
73-G4	107	SGSYDY	170	MR.....	6.58E-03			
73-G5	107	SGSYDY	171	H.S.SDS.....	6.01E-03			
73-G6	107	SGSYDY	172	...NTD.....	6.30E-03			
73-H2	107	SGSYDY	173	S.....	5.93E-03			
73-F6	107	SGSYDY	174	H...M.....	5.87E-03			
73-H3	107	SGSYDY	175	H...N.....	6.85E-03			
73-C5	107	SGSYDY	176	H.H..D.....	4.84E-03			
73-B7	108	HGSQDN	177	QSYDSSLRGSRV	2.50E-03	7.00E-09		

表 2

純系	H13 序列 編號 NO:	H13	L3 序列 編號 NO:	L3	koff	RB 分析 IC50 (M)	PHA 分析 IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
M2 A2	83	HGSHDN	136	QSYDRGFTGSRVF				
M2 A4	83	HGSHDN	178	IH.....	4.00E-02			
M2 A5	83	HGSHDN	179	S...P.....	8.49E-03			
M2 B1	83	HGSHDN	180	I.S.....	4.01E-02			
M2 B3	83	HGSHDN	181	S.L.....	7.97E-03			
M2 B4	83	HGSHDN	182	I.M.....	4.60E-02			
M2 B5	83	HGSHDN	183	I.L.....	4.42E-02			
M2 B6	83	HGSHDN	184	S.V.....	8.38E-03			
M2 C2	83	HGSHDN	185	L.A.....	2.81E-02			
M2 C3	83	HGSHDN	181	S.L.....	4.85E-02			
M2 C4	83	HGSHDN	186	T.L.....	4.62E-02			
M2 C5	83	HGSHDN	181	S.L.....	8.16E-03			
M2 D1	83	HGSHDN	187	TAL.....	4.71E-02			
M2 D2	83	HGSHDN	188	IR.....	3.71E-02			
M2 D3	83	HGSHDN	189	IRS.....	3.85E-02			
M2 D4	83	HGSHDN	190	NRL.....	3.33E-02			
M2 D5	83	HGSHDN	191	...ETS.....	5.81E-02			
M2 D6	83	HGSHDN	192	SSS.....	5.18E-02			
M2 E1	83	HGSHDN	193	S...A....	5.01E-02			
M2 E2	83	HGSHDN	194	.T..K.....S..	5.32E-02			
M2 E6	83	HGSHDN	195	N.....	4.77E-02			
M2 F1	83	HGSHDN	196	T...K....	9.77E-03			
M2 H5	83	HGSHDN	197	SDV.....	6.16E-02			
			198	A.....	9.90E-03			

表 2

純系	H13 序列 編號 NO.	H13	L3 序列 編號 NO.	L3	koff	RB 分析 IC50 (M)	PHA 分析 IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
A5	83	HGSHDN	124	OSYDRGFTGSRV	1.12E-03			
A12	83	HGSHDN	199	THPSML	1.43E-03			
A4	83	HGSHDN	200	TTPRPM	1.47E-03			
A6	83	HGSHDN	201	RNPALT	1.87E-03			
A10	83	HGSHDN	202	THPWLH	1.87E-03			
A11	83	HGSHDN	203	NSPATV	2.07E-03			
C2	83	HGSHDN	204	TFPSPO	2.23E-03			
A8	83	HGSHDN	205	LNPSAT	2.37E-03			
B8	83	HGSHDN	206	KSNKML	2.40E-03			
C6	83	HGSHDN	207	HTAHLY	2.42E-03			
A3	83	HGSHDN	208	QTPSIT	2.51E-03			
B11	83	HGSHDN	209	YPRNIL	2.95E-03			
B5	83	HGSHDN	210	ITPGLA	3.04E-03			
C10	83	HGSHDN	211	QPHAVL	3.10E-03			
C4	83	HGSHDN	212	NSPIPT	3.23E-03			
C3	83	HGSHDN	213	TPNNSF	3.34E-03			
B2	83	HGSHDN	214	S.VDPGPY	3.61E-03			
A2	83	HGSHDN	215	RPRHAL	3.80E-03			
C5	83	HGSHDN	216	PYHPIR	3.91E-03			
A7	83	HGSHDN	217	PHTQPT	3.95E-03			
C9	83	HGSHDN	218	HNNFSP	3.97E-03			
B3	83	HGSHDN	219	PTHLPH	4.12E-03			
C8	83	HGSHDN	220	TPSYPT	5.36E-03			
B7	83	HGSHDN	221	S.TSNLLP	5.45E-03			
A1	83	HGSHDN	222	DSNHDL	5.66E-03			
C7	83	HGSHDN	223	LPRLTH	5.83E-03			
C12	83	HGSHDN	224	IPTSYL	5.85E-03			
B10	83	HGSHDN	225	LRVQAP	6.04E-03			
B6	83	HGSHDN	226	LSDSPL	7.58E-03			
A9	83	HGSHDN	227	S.SLRRIL	7.98E-03			
B9	83	HGSHDN	228	PARTSP	8.66E-03			
			229	RAHPQ				

表 2

纯系	H3 序列 编号 NO.	H3	L3 序列 编号 NO.	L3	koff	RB 分析 IC50 (M)	PHA 分析 IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
177-D7	83	HGSHDN	124	QSYDRGEGSRV				
177-G6	83	HGSHDN	230	TQPABI	4.07E-04			
177-D9	83	HGSHDN	231	THPTMI	5.50E-04			
177-C6	83	HGSHDN	232	RIPABT	6.32E-04			
177-H5	83	HGSHDN	233	THPVPA	7.94E-04			
177-H9	83	HGSHDN	234	SBPIPA	1.32E-03			
177-H10	83	HGSHDN	235	THPVPA	1.58E-03			
144-F1	83	HGSHDN	236	THPTMY	3.44E-03			
43-E3	83	HGSHDN	237	HHYTFE	5.80E-04			
43-E9	83	HGSHDN	238	SHPAAE	8.00E-04			
43-G2	83	HGSHDN	239	TIPSIE	8.00E-04			
43-G3	83	HGSHDN	240	SSPAIM	7.00E-04			
31-A6	83	HGSHDN	241	IWPNLN	9.00E-04			
31-B5	83	HGSHDN	242	THPNLN	5.00E-04			
			243	THPSIS	5.00E-04			
Y17	83	HGSHDN	124	QSYDRGEGSRV				
Y19	83	HGSHDN	244	QSYDRGSAPMIN	8.90E-05	4.50E-10	>1E-8	
Y38	83	HGSHDN	245	QSYDRGHIPAMS	2.26E-04	3.00E-11	>1E-8	
Y45	83	HGSHDN	246	THPSIT	5.08E-04	5.50E-11	2.60E-09	
Y61	83	HGSHDN	247	TDPAlV	6.17E-04	4.00E-11	4.30E-09	
Y61 IgG	83	HGSHDN	248	THPALL	2.75 e-4	4E-11	1.40E-10	
Y61 IgG 4E 系	83	HGSHDN	248	THPALL	1.50E-04	1.60E-11	1.30E-10	
Y139	83	HGSHDN	248	THPALL	1.50E-04	1.60E-11	1.30E-10	1.60E-10
Y139 IgG1	83	HGSHDN	249	SHIPALT	5.92E-04	3E-11	4.50E-10	
Y174	83	HGSHDN	249	SHIPALT			1.00E-09	
Y177	83	HGSHDN	250	TTPAPE	7.55E-04	6E-11	2.00E-09	
A5	83	HGSHDN	251	SHIPALI	6.61E-04	5E-11	1.00E-09	
A12	83	HGSHDN	252	THPSML	4.50E-04	6.60E-11		
D9	83	HGSHDN	253	TTPRPM	5.57E-04	2.50E-10		
G6	83	HGSHDN	254	RLPAQT	8.21E-04	3.5E-09	>>	
G6 IgG1	83	HGSHDN	255	THPLTI	5.08E-04	1E-10	1.00E-09	
C6	83	HGSHDN	255	THPLTI			1.00E-09	
Y55 ₁	83	HGSHDN	256	QSYDRGQTPSIT	1.07E-03	3.5E-10	1.00E-08	
			257	QSYDRGTHFQMY	1.06E-03	1.40E-10	>1E-8	

表 2

純系	H3 序列 編號 NO:	H3	L3 序列 編號 NO:	L3	koff	RB 分析 IC50 (M)	PHA 分析 IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
A4	83	HGSHDN	258	QSYDRGRNPALT	6.30E-04	2.50E-10		
AO3								
AO3 IgG1	83	HGSHDN	259	QSYDRGTHPLTM	3.04E-04	3.00E-11	4.00E-10	
AO3 IgG 糖系	83	HGSHDN	260	QSYDRGTHPLTM	3.04 e-4	2.90E-11	3.80E-10	
	83	HGSHDN	260	QSYDRGTHPLTM	2.50E-04	3.50E-11	1.75E-10	
99-B11	83	HGSHDN	261	QSYDSGYTGSRV	5.40E-03			
99-C11	83	HGSHDN	262	QSYDSGFTGSRV	5.70E-03			
99-H4	83	HGSHDN	263	QSYDSRFTGSRV	4.80E-03			
99-E9	83	HGSHDN	262	QSYDSGFTGSRV	5.40E-03			
99-H7	83	HGSHDN	264	QSYDPDGPASRV	3.30E-03			
99-H11	83	HGSHDN	265	QSYSTHMPISRV	4.90E-03			
99-F6	83	HGSHDN	266	QSYDSGFTGSRV	4.90E-03			
99-F7	83	HGSHDN	267	QSYPSNYPISRV	4.80E-03			
99-F8	83	HGSHDN	268	QSYTRAPQV	3.70E-03			
99-F11	83	HGSHDN	262	QSYDSGFTGSRV	5.40E-03			
99-G7	83	HGSHDN	269	QSYLKSRAPSRV	4.80E-03			
99-G11	83	HGSHDN	270	QSYDSRFTGSRV	4.30E-03			
L3.3R3M-B1	83	HGSHDN	124	QSYDRGFTGSRV				
L3.3R3M-B3	83	HGSHDN	271	FTGSMV	5.46E+00			
L3.3R3M-C6	83	HGSHDN	272	FTGSMV	5.51E+00			
L3.3R3M-F9	83	HGSHDN	273	FTGFDG	6.17E+00			
L3.3R3M-G8	83	HGSHDN	274	TAPALS	4.99E+00			
L3.3R3M-H6	83	HGSHDN	275	SYPALR	5.55E+00			
L3.3R3M-H10	83	HGSHDN	276	NWPNSN	5.69E+00			
L3.3R3M-A3	83	HGSHDN	277	TAPSLI	5.35E+00			
L3.3R3M-F8	83	HGSHDN	278	FTGSMV	5.37E+00			
L3.3R3M-G1	83	HGSHDN	279	TTPRIR	4.99E+00			
L3.3R3M-G7	83	HGSHDN	280	FTGSMV	4.21E+00			
L3.3R3M-H11	83	HGSHDN	281	FTGSMV	4.24E+00			
	83	HGSHDN	282	MIPALT	3.95E+00			

表 2

純系	H3 序列 編號 NO:	H3	L3 序列 編號 NO:	L3	koff	RB 分析 IC50 (M)	PHA 分析 IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
Y61-L94N	109	CKT HGSHDN	283	QSYDRNTHPALL			8.00E-11	
Y61-L94F	109	CKT HGSHDN	284	QSYDRFTHPALL			6.00E-11	
Y61-L94Y	109	CKT HGSHDN	285	QSYDRYTHPALL		2.00E-11	2.00E-11	
Y61-L94Y IgG	109	CKT HGSHDN	285	QSYDRYTHPALL	1.27E-04	6.00E-11	5.00E-11	4.00E-11
Y61-L50Y	109	CKT HGSHDN	286	QSYDRGTHPALL		2.00E-11		2.00E-11
Y61-L50Y* IgG	109	CKT HGSHDN	286	QSYDRGTHPALL	6.98E-05		2.00E-11	3.00E-11
Y61-L50Y-H31E** IgG	109	CKT HGSHDN	286	QSYDRGTHPALL	2.99E-05		6.00E-11	2.00E-11
Y61-L50Y-H31E- L94Y** IgG	109	CKT HGSHDN	287	QSYDRYTHPALL	4.64E-05		1.00E-11	1.00E-11
J695 (Y61-L94Y- L50Y IgG*)	109	CKT HGSHDN	287	QSYDRYTHPALL	5.14E-05*	5.00E-11	1.00E-11	5.00E-12

*CDR L2: L50G成為 Y
 **CDR L2: L50G成為 Y; CDR H1: H31S成為 E

表 3

表 3																																
Kabat 編號	CDR H1					CDR H2										CDR H3																
	27	28	29	30	31	32	33	34	35	50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	95	96	97	98	101	102
Y61 VH	F	T	F	S	S	Y	G	M	H	F	I	R	Y	D	G	S	N	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G	H	G	S	H	D	N
接觸位置				X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X									X	X	X	X	X	
超變位置				X	X	X				X							X	X														
Kabat 編號	CDR L1										CDR L2										CDR L3											
	24	25	26	27	27A	27B	28	29	30	31	32	33	34	50	51	52	53	54	55	56	89	90	91	92	93	94	95	95A	95B	95C	96	97
Y61 VL	S	G	G	R	S	N	I	G	S	N	T	V	K	G	N	D	Q	R	P	S	Q	S	Y	D	R	G	T	H	P	A	L	L
接觸位置									X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X	X	X	X					X	
超變位置									X	X	X						X								X							
x 接觸及／或超變位置 x 在 Y61 中突變之接觸及／或超變位置																																

表 4. 過量自由 IL-12 p40 存在下之中和活性

序列編號 NO:	純系	PHA 分析 IC50 (M) p70:p40 1:0	PHA 分析 IC50 (M) p70:p40 1:20	PHA 分析 IC50 (M) p70:p40 1:50
VH: 47	136-15	2.00E-09	5.00E-09	4.00E-09
VL: 48				
VH: 51	149-5	6.50E-09	7.00E-09	4.00E-09
VL: 52				
VH: 53	149-6	9.00E-10	1.00E-09	1.00E-09
VL: 54				
VH: 84	149-7	3.50E-09	2.50E-09	4.00E-09
VL: 126				
VH: 23	Y61 IgG	1.80E-10		1.80E-10
VL: 24				
VH: 65	AO3 IgG1	2.50E-10		2.20E-10
VL: 66				
VH: 31	J695	1.00E-11		3.50E-11
VL: 32				

【實施方式】**實例****實例 1：抗-IL-12抗體之分離****A. IL-12結合抗體之篩選**

對抗hIL-12之抗體係藉篩選三種不同之scFv噬菌體展示庫而分離，此等噬菌體展示庫係使用人類VL及VH cDNA製備，該等cDNA係來自由人類扁桃腺(該噬菌體展示庫稱為scFv1)、扁桃腺及外周血淋巴細胞(PBL)(該噬菌體展示庫稱為scFv2)、以及骨髓衍生性淋巴細胞(該噬菌體展示庫稱為BMDL)衍生之mRNA。噬菌體展示庫之建構及篩選之方法述於Vaughan et al. (1996) Nature Biotech. 14:309-314。

使用諸等抗原(人類IL-12 p70次單元、人類IL-12 p40次單元、嵌合IL-12 (小鼠p40/人類p35)、小鼠IL-12、生物素化人類IL-12、及生物素化嵌合IL-12)篩選該等噬菌體展示庫。使用標準流程(Marks et al. (1991) J. Mol. Biol. 222:581-597)，將抗原塗覆至免疫管上，以選擇IL-12專一性抗體。使用IL-12或生物素化-IL-12篩選scFv展示庫2，並產生顯著數量之IL-12專一性結合物。選擇5種不同之純系類型，以BstN1酶切割模式測定，並以DNA定序確認。主要之純系類型係、VHDP58/VLDPL11、VHDP77/VLDPK31、VHDP47/VL、及VHDP77/VLDPK31，其皆辨識IL-12之p40次單元。

以IL-12 p70對BMDL展示庫所進行之篩選產生3種不同

之純系類型其中之兩種發現為交叉反應純系。對主要純系進行定序，其係由 VHDP35/VLDP 構成。此種純系可辨識 IL-12 之 p40 次單元。使用 IL-12 p70 對 scFv 展示庫 1 所進行之篩選並未產生專一性 IL-12 抗體。

為辨識偏好結合 IL-12 p70 異源雙體或 p35 次單元，而非 p40 次單元之 IL-12 抗體，使用結合之 scFv1+2 展示庫及 BMDL 展示庫。為選擇可辨識 p70 異源雙體或 p35 次單元之 IL-12 抗體，預置噬菌體展示庫，並在自由 p40 之存在下進行選擇。對於分離純系所進行之定序顯示 9 種不同之抗體譜系。以「微-Friguet」滴定進一步分析次單元偏好。以含 scFv 之上清液對 ELISA 中經生物素捕捉之 IL-12 進行滴定，並測定 ED₅₀。將產生 50% ED 之 scFv 濃度與漸增濃度之自由 p70 或 p40 (抑制劑) 進行預置。測量經生物素-IL-12 塗覆之試驗盤上 ELISA 信號之減少，並相對自由 p70 或 p40 之濃度作圖。如此提供各純系對 p70 及 p40 之 IC₅₀。如兩種次單元之滴定結果重疊，則該 scFv 可同時結合 p40 及 p70 兩者。不同於此之任何變化即指出超越 p40 之 p70 偏好程度。

B. 對於 IL-12 具專一性之抗體譜系 (Joe 9) 之親和力成熟

在 IL-12 受體結合分析 (以 RBA 表示) 中試驗純系抑制 IL-12 結合其受體之能力，並試驗其抑制 PHA 激發性人類母細胞之 IL-12 誘發性增殖之能力 (PHA 分析)，如實例 3 所述。純系 Joe 9 在 RBA 及 PHA 分析兩者中具有最低之 IC₅₀ 值，在該兩分析中各具有 1×10^{-6} M 之 IC₅₀ 值。此外，在與最接近之種系序列 COS-3 (其係自 VBASE 資料庫辨識) 比較時，

Joe 9之重鏈可變區(VH)具有最少數目之變化。表1(參見附件A)顯示種系序列V_H3族群(其中COS-3係一成員)以及種系序列V_λ1族群。因此,選擇Joe 9進行親和力成熟。Joe 9野生型(Joe 9 wt)抗體之VH及VL胺基酸序列示於圖1A-1D。

為增加Joe 9之親合性,對重鏈及輕鏈兩者之互補性決定區3(CDR3)進行各種突變。以定位PCR誘變,使用對重鏈CDR3(以「H3」表示)或輕鏈CDR3(以「L3」表示)具有專一性之簡併性寡核苷酸,創造CDR3變體,其在各個CDR3中有平均3個鹼基之取代(稱為「摻加」)。重鏈CDR3之PCR誘變係使用含有全部四種核苷酸之隨機混合物5' TGTCCCTTGGCCCCA(G)(T)(A)(G)(T)(C)(A)(T)(A)(G)(C)(T)(C)(C)(C)(A)(C)(T)GGTCGTACAGTAATA 3' (序列編號NO: 580)之簡併性重鏈寡核苷酸,以及寡核苷酸pUC反向標記GAC ACC TCG ATC AGC GGA TAA CAA TTT CAC ACA GG (序列編號NO: 581)進行,以產生重鏈CDR3突變體之集合。使用Joe 9反向寡核苷酸(5' TGG GGC CAA GGG ACA 3' (序列編號NO: 582))及fdteteseq 24+21寡核苷酸(5'-ATT CGT CCT ATA CCG TTC TAC TTT GTC GTC TTT CCA GAC GTT AGT-3' (序列編號NO: 583))擴增母體輕鏈。

使用兩PCR產物間之互補性以驅動PCR組裝反應中兩PCR片段之黏連,並以pUC反向標記(序列編號NO: 581)及fdTag標記5'-ATT CGT CCT ATA CCG TTC-3' (序列編號NO:

584)擴增全長重組 scFv 庫。輕鏈之 PCR 誘變係使用含有全部四種核苷酸之隨機混合物 5'GGTCCCAGTTCCGAAGACCC TCGAACC (C)(C)(T)(C)(A)(G)(G)(C)(T)(G)(C)(T)(G)(T)(C) ATATGACTGGCAGTAATAGTCAGC 3' (序列編號 NO: 585) 之簡併性輕鏈寡核苷酸，以及 Joe 9 反向寡核苷酸 5' TGG GGC CAA GGG ACA 3' (序列編號 NO: 586) 進行，以產生輕鏈 CDR3 突變體之集合。使用 pUC 反向標記 (序列編號 NO: 581) 及 HuJH3FOR 寡核苷酸 5'TGAAGAGACGGTGACCATTGTCCC3' (序列編號 NO: 587)) 擴增母體輕鏈。使用兩 PCR 產物間之互補性以驅動 PCR 組裝反應中兩 PCR 片段之黏連，並以反向標記 GAC ACC TCG ATC AGC G (序列編號 NO: 588) 及 HuJλ 2-3 FOR NOT 寡核苷酸 5' GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC TAG GAC GGT CAG CTT GGT CCC 3' (序列編號 NO: 589) 擴增全長重組 scFv 庫。

使用 1nM 生物素化之 IL-12 選擇重鏈 CDR3 突變體，並在室溫下以含有自由 IL-12 或 p40 (濃度 7 nM) 之 PBS 清洗 1 小時。以噬菌體 ELISA 分析純系，並使用低密度 IL-12 片對結合 IL-12 者進行 BIAcore 動力結合分析試驗 (參見實例 5 之 BIAcore 分析流程)。一般而言，BIAcore 分析係使用 BIAcore 系統 (Pharmacia Biosensor, Piscataway, NJ))，以表面細胞質基因組共振 (SPR)，測量配位體 (固定於生物感應器基質上之重組人類 IL-12) 及分析物 (溶液中之抗體) 間之實時生物結合作用。該系統利用 SPR 之光學特性，偵測葡聚糖生物感應器基質中之蛋白質濃度變化。蛋白質係以已

知濃度共價連結葡聚糖基質。將抗體注射通過該葡聚糖基質，而注射抗體和固定配位體間之專一性結合即造成基質蛋白質濃度之增加及其所造成之SPR信號變化。此等SPR信號之變化會被記錄成共振單位(RU)，並沿著生物感應器作圖之y-軸相對時間顯示。為測定分離速率(k_{off})、結合速率(k_{on})、結合速率(K_a)、及分離速率(K_d)常數，使用BIAcore評估軟體(2.1版)。將顯示具有 k_{off} 速率改良之純系以中和分析進行分析，其包括抗體抑制IL-12對其受體之結合(RBA分析)、抑制PHA激發性人類母細胞之IL-12誘發性增殖之能力(PHA分析)、抑制人類母細胞之IL-12誘發性干擾素 γ 生產($INF\gamma$ 分析)。重鏈CDR3摻加純系70-1至70-13在中和分析中之分離速率及/或 IC_{50} 值示於表2(參見附件A)。純系70-1展現優於母體Joe 9純系之 k_{off} 速率，並具有最低之 IC_{50} 值 2.0×10^{-7} M。因此選擇純系70-1進行轉化成為完整之IgG1。

使用1nM生物素化之IL-12選擇輕鏈CDR3突變體，並以含有7 nM自由p40之PBS清洗。以噬菌體ELISA篩選純系，並使用低密度IL-12片對結合IL-12者進行BIAcore動力結合分析試驗。將展現優於母體Joe 9純系 k_{off} 速率之純系以中和分析進行分析，其測量IL-12受體結合之抑制或PHA母細胞增殖之抑制。輕鏈CDR3突變純系78-34至79-1在中和分析中之分離速率及/或 IC_{50} 值示於表2(參見附件A)。

根據 k_{off} 速率，純系78-34至78-35具有相對於母體純系Joe 9之改良 k_{off} 速率。選擇此兩者純系與重鏈突變體進行

結合分析。

C. 結合純系

使用具有最佳結合特徵之突變輕鏈及重鏈純系進行scFv之結合及組裝。如上所述，以突變VH及VL片段之PCR重疊延伸及修飾，結合具有改良強度特徵之突變純系。純系101-14至26-1，其示於表2(參見附件A)，係由重鏈突變體(70-2、70-13、及70-1)及輕鏈突變體(78-34、78-35、及79-1)之結合產生。此等純系在中和分析中之 k_{off} 速率及/或 IC_{50} 值示於表2。

BIAcore結合分析辨識出純系101-11(其係自重鏈CDR3突變純系70-1及輕鏈CDR3突變純系78-34之結合而產生)具有 0.0045 s^{-1} 之分離速率。此一 k_{off} 速率相對於重鏈CDR3突變純系70-1之 k_{off} 速率(0.0134 s^{-1})或輕鏈CDR3突變純系78-34之 k_{off} 速率(0.0164 s^{-1})而言皆具有顯著之進步。同時，純系101-11在中和分析中顯示顯著之改良。因此，選擇純系101-11如下所述進行親和力成熟。

D. 純系101-11之親和力成熟

純系101-11之進一步親和力成熟係由101-11重鏈及輕鏈CDR3兩者之PCR誘變重複循環構成，使用摻加寡核苷酸引子。以漸減濃度之生物素化IL-12(bio-IL-12)選擇純系。以BIAcore結合分析及RBA、PHA中和分析評估突變純系之結合特徵。純系136-9至170-25之 k_{off} 速率及/或 IC_{50} 值示於表2(參見附件A)。純系103-14在受體結合分析及PHA母細胞分析兩者中皆顯示改良之 IC_{50} 值。純系103-

14亦顯示低 k_{off} 速率，並因此選擇進行進一步之親和力成熟。

E. 純系 10.-14輕鏈 CDR3隨機庫之製備及選擇

使用下列3種不同之庫，將純系 103-14之輕鏈 CDR3 (QSYDRGFTGSMV (序列編號NO: 590))系統隨機化成為3部分，其中X係由序列之隨機化密碼子編碼，其中N係任何核苷酸，且S係去氧胞嘧啶或去氧腺。

L3.1=XXXXXXXXFTGSMV (序列編號NO: 591)

L3.2=QSYXXXXXXXXSMV (序列編號NO: 592)

L3.3=QSYDRGXXXXXXXX (序列編號NO: 593)

進行純系 103-14三種輕鏈 CDR之隨機化誘變(以 L3.1、L3.2、及 L3.3表示)。純系 103-14之重鏈 CDR3 (以 H3表示)並未進行突變。根據純系 103-14建構四種隨機庫(H3及 L3.1、L3.2、及 L3.3)，並將其置於多種不同之選擇條件下，其涉及使用有限之抗原濃度，以及有或無過量自由抗原(p40及p70)之存在。將選擇之結果(純系 73-B1至 99-G11)先以 BIAcore 進行篩選，在某些情形下再以 RBA 進行篩選，並示於表 2(參見附件 A)。

純系 103-14輕鏈 CDR之隨機化誘變產生純系 Y61，其具有相對於母純系 103-14之 IC_{50} 值顯著改良。選擇 Y61進行轉化成為完整之 IgG1。完整之 Y61-IgG1具有約 130 pM之 IC_{50} 值(由 PHA 分析測定)。該 IC_{50} 值不受 50 倍莫耳濃度過量之自由 p40 影響，其顯示自由 p40 不與 Y61 抗-IL-12 抗體交叉反應而降低該抗體對於該異源雙體之結合。Y61 重鏈

可變區及輕鏈可變區之全長序列示於下文。

Y61重鏈可變區肽序列

CDR H1

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASFTFS SYGMH WVRQAPGKGLEWVA

CDR H2

FIRYDGSNKYYADSVKG

RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCKT

CDR H3

HGSHDN WGQGTMTVTVSS (序列編號 NO: 23)

Y61輕鏈可變區肽序列

CDR L1

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISC SGGRSNIGSNTVK WYQQLPGTAPKLLIY

CDR L2

GNDQRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC

CDR L3

QSYDRGTHPALL FGTGTKVTVLG (序列編號 NO: 24)

CDR殘基係根據Kabat定義指定。

實例2：Y61超變及接觸位置之突變

一般而言，具有較佳親合性重組抗體之選擇可使用噬菌體展示法進行。此係由隨機突變CDR殘基之結合以產生含有不同序列單鏈抗體之大抗體庫而達成。一般而言，具有改良親合性之抗體系根據其在抗體-抗原反應中達成平衡之能力而選擇。然而，當Y61 scFv表現在噬菌體之表面且與IL-12共置時，即無法發現能夠允許系統達成正常抗體-

抗原平衡之選擇條件。scFv-噬菌體持續連結IL-12，推測係因為非專一性之作用，因為純化之Y61 scFv具有正常之分離動力。由於無法使用產生Y61之慣常噬菌體展示親和力成熟法(即，產生抗體庫並以多重CDR殘基之誘變選擇)，即發展出一種新的策略，其中突變單獨之CDR位置。

此種策略涉及選擇適當之CDR位置進行突變，且係根據辨識及選擇屬於較佳選擇性誘變位置、接觸位置、及/或超變位置之胺基酸。接觸位置係定義為在抗原與抗體作用時具有較高可能性接觸抗原之殘基，而超變位置則定義為在抗體之活體中親和力成熟過程中具有較高可能性產生體超變者。較佳之選擇性誘變位置係同時為接觸及超變位置兩者之CDR位置。Y61抗體已使用實例1所述之流程而在CDR3區域進行最適化，因此，使用噬菌體展示法進一步改良位於抗體結合位點中心之此區域係相當困難者。活性之進一步改良係藉由CDR3區域外潛在接觸位置之突變而取得，其除去有害之抗原-抗體接觸，或者工程處理產生新的接觸。

被視為抗原接觸位點之Y61胺基酸殘基，以及在活體內親和力成熟過程中體超變位點之CDR位置示於表3(參見附件A)。為進行Y61之親和力成熟，選擇15個位於CDR3外之殘基、3個位於L3環中之殘基、以及5個位於H3環中之殘基進行PCR誘變。

將Y61 scFv選殖進入pUC119(Sfi)質體載體進行誘變。設

計並合成具有隨機密碼子之寡核苷酸，以突變各個所選位置。在PCR誘變後，對少數之純系(~24)進行定序，並在宿主細胞(例如，細菌、真菌、或哺乳動物宿主細胞)中進行表現。純化經表現之抗體，並使用BIAcore系統測量 k_{off} 。以中和分析試驗具有相對於Y61之改良分離速率之純系。對其他CDR位置重複此流程。結合顯示具有改良中和活性之個別突變，以產生具有更高中和能力之抗體。

為改良中和能力而突變之Y61 CDR位置，以及各位置之對應胺基酸取代示於圖2A-2H。亦提供以BIAcore分析測定之分離速率。此等分離速率亦示於各表右側之長條圖中。

位置H30、H32、H33、H50、H53、H54、H58、H95、H97、H101、L50、L92、L93之取代結果顯示，所有經試驗之胺基酸取代皆產生具有較Y61差之分離速率之抗體。在位置H52、L32、及L50，僅發現一種胺基酸取代具有較Y61佳之分離速率，其他變化皆反向影響活性。就L50而言，單一之Gly → Tyr變化顯著(5-10倍)改良Y61之中和能力。此等結果顯示此等位置對於Y61活性之重要性，並建議，就大部分之情形而言，噬菌體展示即可選擇最適之殘基。然而，在位置H31、H56、L30、及L94，發現數種取代皆可改良Y61之分離速率，其建議，儘管噬菌體展示法並無法選擇出此等最適殘基，此等位置對於抗原結合亦為重要者。

Y61接觸及超變位置之選擇性突變辨識出輕鏈CDR2中之胺基酸殘基L50，以及輕鏈CDR3中之胺基酸殘基L94，其

可改良Y61之中和能力。此等突變之結合可造成一種加成效應，產生抗體J695，其具有中和能力之顯著增加。J695重鏈可變區及輕鏈可變區之全長序列示於下文。

J695重鏈可變區肽序列

CDR H1

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYGMH WVRQAPGKGLEWVA

CDR H2

FIRYDGSNKYYADSVKG

RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCKT

CDR H3

HGSHDN WGQGTMTVTVSS (序列編號 NO: 31)

J695輕鏈可變區肽序列

CDR L1

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISC SGSRSNIGSNTVK WYQQLPGTAPKLLIY

CDR L2

YNDQRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYC

CDR L3

QSYDRYTHPALL FGTGTKVTVLG (序列編號 NO: 32)

CDR殘基係根據Kabat定義指定。

顯示屬於Joe9至J695途徑之純系譜系發展之重鏈及輕鏈可變區序列排比摘述示於圖1A-1D。CDR及殘基編號係根據Kabat。

實例3：抗-hIL-12抗體之功能活性

為檢驗本發明人類抗-人類IL-12抗體之功能活性。將該

等抗體用於數種分析中，其測量抗體抑制IL-12活性之能力。

A. 人類PHA-活化淋巴母細胞之製備

由取自健康提供者之leukopac，以1500 rpm進行Ficoll-Hypaque梯度離心45分鐘（如Current Protocols in Immunology, Unit 7.1所述），以分離人類周血單核細胞(PBMC)。收集位於水性血溶液及淋巴細胞分離介質界面之PBMC，並在1500 rpm離心15分鐘以磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)清洗3次，以除去Ficoll-Paque顆粒。

再如Current Protocols in Immunology, Unit 6.16所述活化PBMC，以形成淋巴母細胞。經清洗過之PBMC以 $0.5-1 \times 10^6$ 細胞/毫升之濃度重新懸浮於添加0.2% (v/v) PHA-P (Difco, Detroit, MI)之RPMI完整培養基中(RPMI 1640培養基，10%胎牛血清(FBS)，100 U/毫升青黴素，100微克/毫升鏈黴素)，並在5% CO₂大氣中於37°C下培養4天。4天後，在添加0.2% (v/v) PHA-P及50 U/毫升重組人類IL-2之RPMI完整培養基中，將細胞培養物以1:1之體積比分割。重組人類IL-2係將帶有人類IL-2 cDNA之表現載體轉染進入COS細胞中而製備(參見，Kaufman et al. (1991) Nucleic Acids Res. 19, 4484-4490)，並如PCT/US96/01382所述進行純化。再將細胞培養物培養1至3天。收集PHA母細胞，以RPMI完整培養基清洗2次，並以 10×10^6 細胞/毫升之濃度冷凍於95% PBS、5% DMSO中。

欲用於IL-12受體結合分析(參見單元B)中之PHA母細胞

係在IL-2存在下培養1天後收集，而欲用於PHA母細胞增殖分析(參見單元C)及干擾素 γ 誘發分析(參見單元D)中之PHA母細胞則係在IL-2存在下培養3天後收集。

B. IL-12受體結合分析

如下分析抗-IL-12抗體抑制放射標記IL-12對於PHA母細胞上IL-12受體結合之能力。在37°C下，將各種不同濃度之抗-IL-12抗體與50-100 pM之 ^{125}I -hIL-12 (碘化之hIL-12係使用Bolton-Hunter標記法，自NEN-Dupont產生20-40 mCi/毫克之專一性活性而製備)，在結合緩衝溶液(RPMI 1640，5% FBS，25 mM Hepes pH 7.4)中進行預置1小時。將如上所述分離之PHA母細胞清洗一次，並以 2×10^7 細胞/毫升之細胞密度重新懸浮於結合緩衝溶液中。將PHA母細胞(1×10^6 細胞)加入抗體 ^{125}I -hIL-12混合物中，並置於室溫下2小時。在室溫下離心分析混合物30秒，蒸發液體，以0.1毫升結合緩衝溶液清洗一次，再在4°C下以 $10,000 \times g$ 離心4分鐘，以將細胞連結性放射活性與自由 ^{125}I -hIL-12分離。使用 γ 射線計數儀檢驗細胞沈澱物之細胞連結性放射活性。總結合係在無抗體之情形下測定，而非專一性結合則係在分析中包括25 nM未經標記IL-12之情形下測定。共置皆以二重試驗進行。

在使用Y61及J695人類抗-IL-12抗體之IL-12受體結合分析中，兩種抗體皆顯示相當之IL-12受體結合抑制能力。Y61以約 1.6×10^{-11} M之 IC_{50} 值抑制IL-12受體之結合，而J695則具有約 1.1×10^{-11} M之 IC_{50} 值。

C. 人類PHA母細胞增殖分析

評估抗-IL-12抗體抑制PHA母細胞增殖(該增殖係由IL-12激發)之能力。將抗-IL-12抗體之系列稀釋液與230皮克(pg)/毫升之hIL-12，在100毫升RPMI完整培養基中，於微底定盤內(U-底，96-孔，Costar, Cambridge, MA)，在37°C、5% CO₂下預置1小時。將如上所述分離之PHA母細胞清洗一次，並以3 x 10⁵細胞/毫升之細胞密度重新懸浮於RPMI完整培養基中。將PHA母細胞(100毫升，3 x 10⁴細胞)加入抗體/hIL-12混合物中，置於37°C、5% CO₂下3天，並以0.5 mCi/孔之(3H)-胸苷(Amersham, Arlington Height, IL)標記4-6小時。以細胞收集儀(Tomtec, Orange, CT)將培養物之內容收集至玻璃纖維濾器上，並以液體閃爍計數測量納入細胞DNA之(3H)-胸苷。所有之樣本皆以二重試驗進行分析。

在各種不同濃度p70:p40 (即，IL-12異源雙體對自由p40次單元之比例)存在下之中和結果示於表4(參見附件A)。

在PHA母細胞增殖分析中對Y61人類抗-IL-12抗體之分析顯示，在僅有IL-12 p70，無任何過量自由p40存在之情形下(p70:p40比例1:0)，該抗體可以約1.8 x 10⁻¹⁰ M之IC₅₀值抑制PHA母細胞增殖。在50倍過量自由p40存在之情形下(p70:p40比例1:50)，Y61抗體可以約1.8 x 10⁻¹⁰ M之IC₅₀值抑制PHA母細胞增殖。此種結果顯示，Y61抑制母細胞增殖之能力並不因過量自由p40之存在而受到損傷。

人類抗-IL-12抗體J695可在p70:p40比例1:0之存在下，以約 1.0×10^{-11} M之IC₅₀值抑制PHA母細胞增殖。在p70:p40比例1:50之存在下，此種抗體可以約 $5.8 \pm 2.8 \times 10^{-12}$ M (n=2)之IC₅₀值抑制PHA母細胞增殖，其顯示過量之p40對於該抗體僅有微量之抑制功效。整體之結果顯示J695因L50及L94之突變而產生相較於Y61之改良中和活性。

D. 干擾素 γ 誘發分析

如下分析抗-IL-12抗體抑制PHA母細胞之INF γ 生產(該生產係由IL-12激發)之能力。將不同濃度之抗-IL-12抗體與200-400皮克(pg)/毫升之hIL-12，在100毫升RPMI完整培養基中，於微底定盤內(U-底，96-孔，Costar)，在37°C、5% CO₂下預置1小時。將如上所述分離之PHA母細胞清洗一次，並以 1×10^7 細胞/毫升之細胞密度重新懸浮於RPMI完整培養基中。將PHA母細胞(100微升， 1×10^6 細胞)加入抗體/hIL-12混合物中，置於37°C及5% CO₂下18小時。在共置之後，自各孔中抽取150微升無細胞之上清液，並以ELISA (Endogen干擾素 γ ELISA, Endogen, Cambridge, MA)測定生產之人類INF γ 含量。各孔之上清液皆以二重試驗進行分析。

在此分析中，針對人類抗-hIL-12抗體Y61所進行之分析顯示，Y61可以約 1.6×10^{-10} M之IC₅₀值抑制人類INF γ 生產，而人類抗-IL-12抗體J695則可以約 $5.0 \pm 2.3 \times 10^{-12}$ M (n=3)之IC₅₀值抑制人類INF γ 生產。此種結果顯示J695因

L50及L94之修飾而產生之親和性顯著改良。

E. 自分離之PBMC誘發非人類IL-12

為檢驗人類抗-hIL-12抗體與其他生物種IL-12之交叉反應性，如下製備非人類IL-12。自新鮮之肝素化血液，如上所述進行密度梯度離心以分離PBMC，其就獼猴、狒狒、及狗之PBMC而言使用lymphoprep (Nycomed, Oslo, Norway)，就狗之PBMC而言使用Accu-paque (Accurate Chemical & Sci. Corp., Westbury, NY)，或者就大鼠之PBMC而言使用Lympholyte-rat (Accurate Chemical & Sci. Corp., Westbury, NY)。

再如文獻所述(D'Andrea et al., (1992) J. Exp. Med. 176, 1387-1398, Villinger et al., (1995) J. Immunol. 155, 3946-3954, Buettner et al., (1998) Cytokine 10, 241-248)誘發PBMC生產IL-12。將清洗過之PBMC以 1×10^6 細胞/毫升之密度重新懸浮於添加0.0075% (wt/vol) SAC (Pansorbin; Calbiochem-Behring Co., La Jolla, CA)，或是1-5毫克/毫升ConA (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)加0.0075% SAC之RPMI完整培養基中，並在5% CO₂大氣中置於37°C下18小時。離心收集無細胞且無SAC之培養基，並通過0.2 mm之濾器進行過濾。

恆河猴之IL-12係自Emory University School of Medicine, Atlanta, GA取得之重組恆河猴IL-12。

F. 小鼠2D6細胞增殖分析

小鼠T細胞純系2D6會反應IL-2、IL-4、IL-7、及IL-12而

增殖 (Maruo et al., (1997) J. Leukocyte Biol. 61, 346-352)。亦可偵測到反應含大鼠IL-12之大鼠PBMC上清液之顯著增殖。此等細胞並不反應狗、獼猴、狒狒、或人類IL-12。在添加50 mM β -巰基乙醇(β ME)及30納克(ng)/毫升小鼠IL-12之RPMI完整培養基中增殖小鼠2D6細胞。在分析前一天，洗出小鼠IL-12，並將細胞隔夜置於添加 β ME之RPMI完整培養基中。

將抗-IL-12抗體之系列稀釋液與40皮克(pg)/毫升之小鼠IL-12，在100毫升添加 β ME之RPMI完整培養基中，於微低定盤內(U-底，96-孔，Costar)，在37°C、5% CO₂下預置1小時。將2D6細胞清洗一次，並以 1×10^5 細胞/毫升之細胞密度重新懸浮於含 β ME之RPMI完整培養基中。將2D6細胞(100微升， 1×10^4 細胞)加入抗體/hIL-12混合物中，置於37°C、5% CO₂下3天，並以0.5 mCi/孔之(3H)-胸苷標記4-6小時。收集培養物之內容，並以液體閃爍計數進行計數。所有之樣本皆以二重試驗進行分析。

G. J695與非人類IL-12之生物種交叉反應性

使用分離自數種非人類生物種之PBMC，分析J695與非人類IL-12之生物種交叉反應性。使用上述之數種生物分析，諸如，小鼠2D6細胞增殖分析、人類PHA母細胞增殖分析、及干擾素 γ 誘發分析，藉以對抗小鼠及/或人類IL-12之兔及/或羊單株抗體阻斷非人類PBMC誘發之反應，以確認大鼠、狗、獼猴、及狒狒PBMC上清液中之非人類IL-12活性。再於相同之生物分析中，藉由測定可觀察到反應

50%抑制情形之J695抗體濃度，以評估人類抗-hIL-12抗體Y61及J695與PBMC上清液中之非人類IL-12，或是與純化之小鼠及恆河猴IL-12間之交叉反應性。此等生物種交叉反應性結果摘述於表5。此等結果顯示，Y61及J695各可辨識猴類之IL-12（如，Y61可辨識獼猴及恆河猴之IL-12，而J695可辨識獼猴、恆河猴、及狒狒之IL-12），且J695對於狗之IL-12具有約35倍較低之活性；而Y61或J695皆不與小鼠或大鼠IL-12交叉反應。

表 5 生物種交叉反應性數據

		IC ₅₀ (M)							
名稱	抗體 專一性	小鼠 1L-12		大鼠 1L-12		狗 1L-12		獼猴 1L-12	
		經純化		PBMC 上清液		PBMC 上清液		經純化	
C17.15	大鼠 -anti1L12	3.0 x 10 ⁻¹¹							
R03B03	兔 -anti1L12	1.5 x 10 ⁻¹⁰		6.0 x 10 ⁻¹⁰					
C8.6.2	小鼠 -anti1L12					1.2 x 10 ⁻¹⁰		1.0 x 10 ⁻¹⁰	2.0 x 10 ⁻¹⁰
Y61	人類 -anti1L12	非中和性				2.2 x 10 ⁻¹⁰		1.0 x 10 ⁻¹⁰	1.7 x 10 ⁻¹⁰
J695	人類 -anti1L12	非中和性		非中和性		3.5 x 10 ⁻¹⁰		1.0 x 10 ⁻¹¹	1.5 x 10 ⁻¹¹
									5.0 x 10 ⁻¹²

H. J695之人類細胞因子專一性

以競爭性ELISA試驗J695之專一性，其中試驗一組人類細胞因子干擾可溶性J695結合經固定人類IL-12之能力。該組人類細胞因子包括IL-1 α 及IL-1 β (Genzyme, Boston, MA)、IL-2 (Endogen)、IL-4、IL-10、IL-17、INF γ 、及TGF- β 1 (R&D, Minneapolis, MN)、IL-8 (Calbiochem)、PDGF、IGF-I及IGF-II (Boehringer Mannheim Corp., Indianapolis, IN)、TNF α 及淋巴毒素、IL-6、可溶性IL-6受體、IL-11、IL-12 p70、IL-12 p40、M-CSF、及LIF。以人類IgG-Fc嵌合體之形式(EBI-3/Fc)表現EBI-3 (一種IL-12 p40相關性蛋白，其係在B淋巴細胞中，藉由Epstein-Barr病毒之感染而誘發(Devergne et al., (1996) J. Virol. 70, 1143-1153))。亦試驗單股鮭魚精子DNA (Sigma)。

在4°C下，將平底ELISA免疫分析微滴定盤(96孔，高結合，Costar)以0.1毫升之人類IL-12 (2微克/毫升，於0.1 M碳酸鹽塗覆緩衝溶液中(4體積之0.1 M NaHCO₃加8.5體積之0.1 M NaHCO₃))隔夜進行塗覆。以含0.05% Tween 20之PBS (PBS-T)清洗該等試驗盤2次，在室溫下以200微升溶於PBS-T中之1毫克/毫升牛血清白蛋白(BSA, Sigma)進行阻斷1小時，再以PBS-T清洗2次。加入溶於含50微克/毫升BSA之PBS-T中(PBS-T/BSA)之含IL-12抗體J695 (100納克(ng)/毫升)樣本(100微升)及各種細胞因子(2 nM)，並置於室溫下2小時。清洗該等試驗盤4次，並在室溫下與100微升小鼠抗-人類 λ -HRP (1:500，於PBS-T/BSA中，Southern

Biotech. Ass. In., Birmingham, AL)共置1小時。清洗該等試驗盤4次，並在黑暗中與ABTS (Kirkegaard & Perry Lab., Gaithersburg, MD)顯影20-30分鐘。使用微試驗盤判讀儀 (Molecular Devices, Menlo Park, CA)判讀OD_{450 nm}。相對於在無任何可溶性細胞因子存在情形下J695對IL-12塗覆試驗盤之結合，測定結合百分比。

該等結果顯示，J695對經固定人類IL-12之結合僅受人類IL-12 p70阻斷，且以較小之程度為人類IL-12 p40阻斷，但不為任何其他試驗細胞因子阻斷。

實例4：抗-hIL-12抗體之活體內活性

IL-12抗體對於IL-12誘發性反應之活體內功效係在自Bree et al.用以研究人類IL-12對於獼猴體內外周血液學之作用之模型(Bree et al., (1994) Biochem. Biophys. Res. Comm. 204:1150-1157)修飾而來之模型中進行檢驗。在該等先前之研究中，以1微克/公斤/天之人類IL-12持續5天之投藥造成白血球計數(WBC)之減少，特別是24小時後之淋巴細胞及單核細胞次組。在72小時之時觀察到血小板計數之減少。血漿新蝶呤(反應INF- γ 之單核細胞活化之指標)之含量在24小時之時開始提升，並在72小時之時為最高。

在以人類抗-hIL-12抗體進行之第一項研究中，將15隻平均體重5公斤之獼猴施以鎮靜處理，並區分為5個族群(n=3)。族群1接受10毫克/公斤人類靜脈內免疫球蛋白(IVIG, Miles, Eckhart, IN, 使用蛋白A瓊脂糖凝膠純化)之靜脈內(IV)投藥。族群2接受1毫克/公斤C8.6.2 (中和性小

鼠抗-人類IL-12單株抗體)之靜脈內投藥。族群3接受10毫克/公斤C8.6.2之靜脈內投藥。族群4接受1毫克/公斤Y61(人類抗-人類IL-12抗體，自CHO細胞條件培養基純化)之靜脈內投藥。族群5接受10毫克/公斤Y61之靜脈內投藥。

在抗體投藥1小時後，所有之動物皆接受人類IL-12 (1微克/公斤)之皮下(SC)注射。在下列時間點取得血液樣本：基線、8、24、48、96、及216小時，並以微分及血清化學分析完整血液細胞計數。亦測量血清人類IL-12、C8.6.2抗體、Y61抗體、猴IFN- γ 、猴IL-10、猴IL-6、及血漿新蝶呤含量。

以IL-12及IVIG控制組抗體處理之動物(族群1)顯示諸多預期之血液學變化，包括WBC、血小板、淋巴細胞計數、及單核細胞計數之減少。此等減少之情形在經1或10毫克/公斤C8.6.2或Y61抗體處理之動物身上(族群2-5)並未出現或較不顯著。

以對猴IFN- γ 、猴IL-10 (Bioscience International, Camarillo, CA)、猴IL-6 (Endogen)、及血漿新蝶呤(ICN Pharmaceuticals, Orangeburg, NY)具有專一性之ELISA分析血清或血漿樣本。並未在任何經IL-12處理之動物體內偵測到IFN- γ 、IL-10、或IL-6，包括以IL-12及IVIG處理之控制組動物。這可能是因為對於IL-12之低量接觸(僅有1微克/公斤之1劑)。然而，血漿新蝶呤含量在經IL-12及IVIG處理之動物體內增加約3倍，但其在所有經C8.6.2或Y61處理之動物體內皆無變化，包括以較低劑量(1微克/公斤) Y61

處理之動物，其指出Y61可在活體內有效阻斷此種對於IL-12之敏感反應。

以人類抗-hIL-12抗體進行之第一項研究涉及24隻獼猴，其接受鎮靜處理並區分為8個族群(n=3)。族群1-4以靜脈內(IV)投藥接受抗體，而族群5-8則以皮下(SC)投藥接受抗體。族群1及4接受1毫克/公斤之人類IVIG。所有其他族群皆以0.05毫克/公斤(族群2及6)、0.2毫克/公斤(族群3及7)、或1毫克/公斤(族群4及8)之劑量接受J695 (人類抗-人類IL-12抗體，自CHO細胞條件培養基純化)。

在抗體投藥1小時後，所有之動物皆接受人類IL-12 (1微克/公斤)之皮下(SC)注射。在下列時間點取得血液樣本：基線、8、24、48、144、及504小時，並以微分、血清化學、J695抗體、及血漿新蝶呤分析完整血液細胞計數。血漿新蝶呤含量在經IL-12及IVIG處理之動物體內增加約4至6倍，但其在經J695處理之動物體內皆無顯著變化，在以最低劑量(0.05毫克/公斤)J695處理之動物體內僅造成2倍之增加。已證實J695之皮下投藥較IV投藥更能有效抑制新蝶呤反應。(參見圖3，左側顯示靜脈內投藥之結果，而右側顯示皮下投藥之結果。)綜言之，J695可在活體內非常有效地抑制由人類IL-12誘發之生物反應。表6摘述在獼猴體內進行之活體內研究結果，其顯示J695對於IL-12-誘發性新蝶呤釋出之抑制。

表 6：J695對於獼猴體內IL-12-誘發性新蝶呤釋出之抑制

投劑途徑IVIG 或J695及 Hu IL-12	J695劑量 (毫克/公斤)	IVIG劑量 (毫克/公斤)	根據AUC 之新蝶呤 反應抑制 (%IVIG 控制組)	144小時之時 之新蝶呤 含量(平均)
單一i.v.注射， 60分鐘後再以s.c. 給予1毫克/公斤 之人類IL-12劑量	-	1.0	-	17.7 ± 3.9
	0.05	-	55.3	11.3 ± 1.3
	0.2	-	68.8	9.9 ± 0.3
	1.0	-	71.9	5.0 ± 0.8
單一i.v.注射，60分 鐘後再以s.c.給予1 毫克/公斤之人類IL- 12劑量	-	1.0	-	22.3 ± 3.7
	0.05	-	53.1	7.0 ± 0.9
	0.2	-	54.7	6.5 ± 0.8
	1.0	-	74.6	6.6 ± 1.2

J695可在經嵌合IL-12 (一種結合小鼠p35次單元及人類IL-12 p40次單元之分子)處理之小鼠體內有效預防INF- γ 之生產。相對於在小鼠體內無生物活性之人類IL-12，此種嵌合IL-12在小鼠體內保有生物活性，包括對於INF- γ 之誘發。此外，其人類p40次單元使該分子可由J695連結並中和。將0.05毫克/公斤i.p.劑量之嵌合IL-12，以5劑之每日劑數，在第0、1、2、3、及4天，對雌性C3H/HeJ小鼠(10/實驗組)進行投藥。在第0、2、及4天，於IL-12注射前30分鐘，以0.05、0.01、0.002、0.0004、0.00008、及0.000016毫克/公斤之劑量給予J695。在第0、2、及4天，以0.05毫克/公斤之劑量由i.p.給予控制組huIgG1 γ 。在第5天對該等小鼠進行放血，並以ELISA測定血清INF- γ 含量。該等結果顯示，J695造成劑量依賴性之INF- γ 生產抑制，其ED₅₀約0.001毫克/公斤。綜言之，此等結果顯示在活體內，J695係IL-12活性之強效抑制劑。

實例 5：人類抗體對重組人類 IL-12 (rhIL-12) 結合之動力分析

捕捉配位體(人類抗-rhIL-12抗體 J695，捕捉於生物感應器基質上)及分析物(溶液中之 rhIL-12)間之實時結合作用係使用 BIAcore 系統 (Pharmacia Biosensor, Piscataway, NJ))，以表面細胞質基因組共振 (SPR) 測量。該系統利用 SPR 之光學特性，偵測葡聚糖生物感應器基質中之蛋白質濃度變化。蛋白質係以已知濃度共價連結葡聚糖基質。將抗體注射通過該葡聚糖基質，而注射抗體和固定配位體間之專一性結合即造成基質蛋白質濃度之增加及其所造成之 SPR 信號變化。此等 SPR 信號之變化會被記錄成共振單位 (RU)，並沿著生物感應器作圖之 y-軸相對時間顯示。

為協助羊抗-人類 IgG (Southern Biotechnology Associates, Cat. No. 2040-01, Birmingham, AL) 在生物感應器基質上之固定，羊抗-人類 IgG 係經由自由胺基共價連結葡聚糖基質，首先以 100 mM 之 N-羥基琥珀醯亞胺 (NHS) 及 400 mM 之 N-乙基-N'-(3-二甲胺基丙基)-碳二亞胺鹽酸化物 (EDC) 活化基質上之羧基。接著，將羊抗-人類 IgG 注射通過活化之基質。將 35 微升之羊抗-人類 IgG (25 微克/毫升)(以乙酸鈉稀釋，pH 4.5) 注射通過活化之生物感應器，而該蛋白上之自由胺基即直接連結活化之羧基。注射 1 M 之乙醇胺，以對未反應之基質 EDC-酯進行去活。標準之胺偶合套組可自市售購得 (Biacore AB, Cat. No. BR-1000-50, Uppsala, Sweden)。

以 HBS 驅動緩衝溶液 (Biacore AB, Cat. No. BR-1001-88, Uppsala, Sweden) 稀釋 J695，以使其經由羊抗-人類 IgG 而捕捉於基質上。為測定 rhIL12-專一性抗體結合經固定羊抗-人類 IgG 之能力，如下進行結合分析。以 5 微升/分鐘之流速，將小份之 J695 (25 微克/毫升；25 微升之小份) 注射通過偶合羊抗-人類 IgG 多株抗體之葡聚糖基質。在注射蛋白之前及注射完成後之即刻，僅有 HBS 緩衝溶液流過各流室。在基線及對應 J695 注射完成後約 30 秒之時間點間之信號淨差即視為代表連結 IgG1 J695 之量 (約 1200 RU's)。測量 rhIL12 專一性抗體對可溶性 rhIL12 之直接結合。以 HBS 驅動緩衝溶液稀釋細胞因子，並以 5 微升/分鐘之流速，將 50 微升之小份注射通過經固定蛋白基質。所用之 rhIL-12 濃度係 10、20、25、40、50、80、100、150、及 200 nM。在注射 rhIL-12 之前及注射完成後之即刻，僅有 HBS 緩衝溶液流過各流室。基線信號及完成注射細胞因子後之信號間之淨差即視為代表特定樣本之結合值。在注射下一份樣本之前，使用 100 mM 之 HCl 重製生物感應器基質。為測定分離常數 (分離速率)、結合常數 (結合速率)，使用使用 BIAcore 動力評估軟體 (2.1 版)。

CHO 衍生性 J695 對 rhIL-12 結合之代表性結果，相較於 COS 衍生性 J695，示於表 7。

表 7：CHO 或 COS 衍生性 J695 對 rhIL-12 之結合

來源	rhIL12, nM	rhIL12，連結，RU's	Ab連結 RU's	rhIL12/AB
CHO	200	1112	1613	1.48
CHO	150	1033	1525	1.45
CHO	100	994	1490	1.43
CHO	80	955	1457	1.40
CHO	50	912	1434	1.36
CHO	40	877	1413	1.33
CHO	25	818	1398	1.25
CHO	20	773	1382	1.20
CHO	10	627	1371	0.98
來源	rhIL12, nM	rhIL12，連結，RU's	Ab，連結，RU's	rhIL12/AB
COS	200	1172	1690	1.49
COS	150	1084	1586	1.46
COS	100	1024	1524	1.44
COS	80	985	1489	1.42
COS	50	932	1457	1.37
COS	40	894	1431	1.34
COS	25	833	1409	1.27
COS	20	783	1394	1.20
COS	10	642	1377	1.00

經捕捉 J695 及可溶性 rhIL-12 間之分子動力作用係使用 BIAcore 技術進行量性分析。進行數項獨立實驗，並以可得之 BIAcore 數學分析軟體分析該等結果，以衍生動力速率常數，如表 8 所示。

表 8：J695 對 rhIL-12 之表觀動力速率及親和常數

抗體	來源	結合速率(M-1 s-1)， 平均	分離速率(s-1)， 平均	Kd(M)， 平均
J695	CHO	3.52E+05	4.72E-05	1.34E-10
J695	COS	0.40E+05	2.61E-05	9.74E-11

在 CHO 衍生性 J695 ($K_d = 0.34 \times 10^{-10} \text{ M}^{-1}$) 及 COS 衍生性 J695 ($K_d = 9.47 \times 10^{-11} \text{ M}^{-1}$) 抗體作用之計算表觀常數 (K_d) 間有些微之差異。J695 及 rhIL-12 間之表觀分離常數 (K_d) 係自

觀察到之速率常數，以下列方程式進行估計： $K_d = \text{分離速率} / \text{結合速率}$ 。

為測定 J695 及 rhIL-12 間作用之表觀結合及分離速率常數，使用固定量之 J695 (2 微克/毫升) 及不同濃度之 rhIL-12 進行數項結合反應。經捕捉 J695 及可溶性 rhIL-12 間實時結合作用之生物感應器作圖顯示，兩種形式之抗體在結合及分離相兩方面皆非常相似。

為進一步評估經捕捉 IgG1 J695 結合可溶性重組細胞因子之能力，使用一種直接之 BIAcore 法。在此方法中，以 IgG1 J695 (2 微克/毫升) 塗覆偶合羊抗-人類 IgG (25 微克/毫升) 之羧甲基葡聚糖生物感應器表面，再加入重組細胞因子。在將可溶性 rhIL-12 注射通過已捕捉 CHO 或 COS 衍生性 IgG1 J695 之生物感應器表面時，信號量會隨溶液中細胞因子濃度之增加而增加。就直到 1000 nM 之任何試驗濃度而言，並未觀察到與 rmIL12 (R&D Systems, Cat. No. 419-ML, Minneapolis, MN) 或 rh IL12 之任何結合。此等結果支持 IgG1 J695 抗體係辨識 rhIL-12 上獨特決定區之結論。

表 13 顯示使用 BIAcore 之實驗結果，以顯示人類 IgG1 J695 僅結合可溶性 rhIL-12，而不結合任何其他重組細胞因子。

表 13：使用 BIAcore 技術之 J695 抗原表位作圖

	捕捉配位體 COS J695	捕捉配位體 CHO J695
可溶性分析物		
重組人類 IL12	陽性	陽性
重組小鼠 IL12	陰性	陰性

實例 6：J695 對 IL-12 親和性之進一步研究

使用BIAcore表面細胞質基因組共振技術，對J695抗體及人類IL-12間之分子動力作用進行量性分析，並衍生表觀動力速率常數。

使用BIAcore技術測量可溶性rhIL-12對經固相捕捉之J695之結合。將羊抗-人類IgG 抗體固定於生物感應器片上，再注射並固定量之J695並將其捕捉於表面上。加入各種不同濃度之rhIL-12，並以時間函數測量不同濃度IL-12對J695之結合。計算表觀分離及結合速率常數，假設為零級分離動力學及一級結合動力學，並假設J695及IL-12間係一對一之分子作用。進行3項獨立實驗，而所示之數值係該3項實驗之平均值。自此等實驗，衍生表觀分離(k_d)及結合(k_a)速率常數，並用以計算作用之 K_d 值(參見表10)。此等結果指出J695對於rhIL-12具有高親和性。

表10：J695及人類IL-12間作用之動力參數

動力參數	數值
k_d	$3.71 \pm 0.40 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$
k_a	$3.81 \pm 0.48 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
K_d	$9.74 \times 10^{-11} \text{ M}$ (14納克 / 毫升)

實例7：C17.15 (一種對抗小鼠間白素-12之大鼠單株抗體)之特徵及中和活性

為評估使用對小鼠IL-12具有專一性之單株抗體在發炎及自體免疫之小鼠模型中進行之IL-12治療研究與用於人類疾病中之相似方法間之關聯，檢驗C17.15(一種大鼠抗-小鼠IL-12單株抗體)與小鼠IL-12間之作用。評估C17.15在

PHA母細胞增殖分析內中和小鼠IL-12活性之能力，以及其阻斷小鼠IL-12結合細胞表面受體之能力，並評估C17.15 - 小鼠IL-12結合作用之動力學。

在人類PHA母細胞增殖分析中(參見實例3)，將C17.15或大鼠IgG2a (控制組抗體)之系列稀釋液與230皮克(pg)/毫升之小鼠IL-12在37°C下預置1小時。將PHA激發之母細胞加入抗體-IL-12混合物中，並置於37°C下3天。接著以1 μ Ci/孔之 $[^3\text{H}]$ -胸苷標記細胞6小時。收集培養物，並測量 $[^3\text{H}]$ -胸苷之納入量。在不添加小鼠IL-12之情形下測量背景非專一性增殖值。所有之樣本皆以二重試驗進行分析。在此分析中，發現C17.15對重組小鼠IL-12之IC₅₀值(M)係 1.4×10^{-11} ，相較於相同情形下J695對重組人類IL-12之IC₅₀值係 5.8×10^{-12} (參見表11)。

表11：抗人類IL-12單株抗體J695及大鼠抗-小鼠IL-12單株抗體C17.15之特性比較

抗體	抗原表位	生物分子作用分析			受體 結合 分析	PHA 母細胞 分析
		k _a ，結合速率 (M ⁻¹ s ⁻¹)	k _d ，分離速率 (s ⁻¹)	K _d (M)	IC ₅₀ (M)	IC ₅₀ (M)
J695	Hu p40	3.81×10^5	3.71×10^{-5}	9.74×10^{-11}	1.1×10^{-11}	5.8×10^{-12}
C17.15	Mu p40	3.80×10^5	1.84×10^{-4}	4.80×10^{-10}	1.5×10^{-10}	1.4×10^{-11}

亦測量C17.15抑制小鼠IL-12結合細胞受體之能力。將C17.15之系列稀釋液與100 pM之 $[^{125}\text{I}]$ -小鼠IL-12在結合緩衝溶液中於37°C下預置1小時。將2D6細胞(2×10^6)加入抗體/ $[^{125}\text{I}]$ -小鼠IL-12混合物中，並置於室溫下2小時。將

細胞連結性放射活性與自由 $[^{125}\text{I}]$ -IL-12分離，並測定殘餘之細胞連結性放射活性。經標記小鼠IL-12對2D6細胞上受體之總結合係在無抗體之情形下測定，而非專一性結合則係在分析中包括25 nM未經標記小鼠IL-12之情形下測定。以總結合減去非專一性結合而計算專一性結合。共置係以二重試驗進行。該等結果顯示，就抑制小鼠IL-12對細胞受體之結合而言，C17.15具有 1.5×10^{-10} 之 IC_{50} 值(M)。

以生物分子作用分析評估C17.15對重組小鼠IL-12之親和性。將羊抗-人類IgG 抗體固定於生物感應器片上，再注射固定量之C17.15抗體，造成C17.15捕捉於該片之表面。將不同濃度之重組小鼠IL-12加至該C17.15表面，並以時間函數測量小鼠IL-12對經固定C17.15之結合。計算表觀分離及結合速率常數，假設為零級分離動力學及一級結合動力學，並假設經固定C17.15及小鼠IL-12間係一對一之分子作用。自此等測量值計算表觀分離(k_d ，分離速率)及結合(k_a ，結合速率)速率常數。使用此等結果計算作用之 K_d 值。就該重組小鼠IL-12 -C17.15作用，觀察到 $3.8 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 之結合速率、 $1.84 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 之分離速率、以及 4.80×10^{-10} 之 K_d 。

C17.15在中和小鼠IL-12活性及結合細胞表面受體時所觀察到之活性，以及C17.15及小鼠IL-12間結合之動力學皆與J695-rhIL-12作用之類似測量值相關對應。此指出，根據結合速率、分離速率、 K_d 、 IC_{50} 、及PHA母細胞分

析，大鼠抗-小鼠IL-12單株抗體C17.15與抗-人類IL-12抗體J695之作用模式幾乎完全相同。因此，在發炎及自體免疫疾病之小鼠模型中，使用C17.15作為J695之同源抗體，以研究IL-12之阻斷對於此等模型動物體內疾病起始或發展之影響(參見實例8)。

實例8：以 α -小鼠IL-12抗體之投藥治療基於自體免疫或發炎之疾病

A. 在小鼠體內以 α -IL-12抗體C17.15抑制膠原誘發性關節炎

IL-12含量與風濕性關節炎間之相關性已經證實。舉例而言，已在RA病患之滑液中偵測到相較於健康控制組之較高IL-12 p70含量(Morita et al., (1998) Arthritis and Rheumatism 41:306-314)。因此評估C17.15 (一種大鼠抗-小鼠IL-12單株抗體)在小鼠體內抑制膠原誘發性關節炎之能力。

在第0天，以類型II膠原免疫雄性DBA/1小鼠(10/族群)，並自第-1天(膠原免疫前1天)至第12天，隔日經由腹膜內以10毫克/公斤之C17.15，或控制組大鼠IgG進行治療。臨床監測此等動物腳掌上之關節炎發展直到第90天。將關節炎評分為：0-正常；1-局部位於一個關節之關節炎；2-涉及一個以上之關節但並未涉及整隻腳掌；3-涉及整隻腳掌；4-腳掌變形；5-涉及之關節產生黏連。小鼠之關節炎評分係該小鼠各單獨腳掌關節炎評分之總合(最大值=20)。以各族群中之平均值 $\pm$ SEM表示結果。

如圖4所示，此等結果指出，在經C17.15治療之小鼠體

內，僅在治療後第50天後，關節炎評分始為可測量者，且所得之經C17.15治療小鼠尖峰平均關節炎評分至少較經IgG治療小鼠體內所測得者低5倍。此顯示大鼠抗-小鼠IL-12抗體C17.15可在小鼠體內預防膠原誘發性關節炎之發展。

B. 在小鼠體內以大鼠 α -小鼠IL-12抗體C17.15抑制結腸炎

IL-12已經證實涉及結腸炎之發展/病理。舉例而言，抗-IL-12抗體已證實可在結腸炎之小鼠模型中(如，TNBS誘發性結腸炎IL-2失效小鼠(Simpson et al. (1998) J. Exp. Med. 187(8):1225-34))抑制疾病。同時，抗-IL-2抗體已證實可在IL-10失效小鼠體內抑制結腸炎形成。在兩項研究中評估大鼠抗-小鼠IL-12抗體C17.15在小鼠體內抑制TNBS結腸炎之能力(Davidson et al. (1998) J. Immunol. 161(6):3143-9)。

在第一項研究中，藉投藥150微升含2.0毫克TNBS之50%乙醇溶液(經由小兒臍帶動脈導管傳遞至直腸)，以在無致病原之SJL小鼠體內誘發結腸炎。僅以150微升之50%乙醇溶液處理控制組動物。在第11天時，經由尾靜脈由靜脈內給予單一劑量之0.75、.05、0.25、或0.1毫克C17.15，或0.75毫克控制組大鼠IgG2a，並在第11及17天測量動物體重，且在第17天進行組織學評分，以評估該處理之治療功效。在抗體治療後48小時內，經C17.15治療小鼠之體重漸增，且在治療後第6天時正常化。C17.15治療之功效獲得組織學之確認。同時，亦以經治療小鼠胰臟及結腸之

CD4⁺ T-細胞評估INF- γ 分泌，並評估經治療小鼠胰臟或結腸衍生性巨噬細胞之IL-12含量(參見表12)。

在第二項研究中，對投劑進行最適化，並分別以0.1毫克或0.5毫克C17.15，或0.1毫克控制組IgG2a之總劑量平分於第12及14天處理小鼠。相對於未經處理之控制組，發現以0.1毫克/小鼠或0.25毫克/小鼠劑量之單劑進行之C17.15投藥僅造成TNBS誘發性結腸炎之部分改善，且不會造成試管內CD4⁺ T細胞INF- γ 生產之顯著減少，然其確實可造成IL-12分泌之顯著減少。在投藥0.5毫克/小鼠或以上之單劑時可觀察到反應。取用試驗之抗體最低劑量並將其以兩次平分之注射(於第12及14天)進行投藥可改良投劑法，此指出低量多劑可能較單一大丸劑量更為有效。所得之數據示於表12。

表12：抗-小鼠IL-12 mAb C17.15在小鼠體內抑制建立之結腸炎

疾病 誘發第0天	治療 第11天	體重 (克)		INF- γ 胰臟 CD4 ⁺ 細胞 (U/毫升)	IL-12胰臟 巨噬細胞 (皮克/毫升)
		第11天	第17天		
TNBS + 乙醇	控制組IgG2a 0.75毫克	16.0	15.26	3326	300
TNBS + 乙醇	C17.15 0.75毫克	16.0	20.21	1732	0
TNBS + 乙醇	C17.15 0.5毫克	16.36	19.94	1723	0
TNBS + 乙醇	C17.15 0.25毫克	16.28	17.7	3618	7
TNBS + 乙醇	C17.15 0.1毫克	16.2	17.98	1489	22
乙醇控制組	-	20.76	21.16	1135	0

將總合0.1毫克/小鼠或0.05毫克/小鼠之C17.15單株抗-IL-12抗體以相隔1天之兩平分劑量進行之投藥可造成結腸炎之完全恢復，其如排泄情形及直腸之巨觀外觀所評估。

此外，此種劑量時間表造成固有層T細胞INF- γ 生產及巨噬細胞IL-12生產之顯著負調節，以致於後者相當於無TNBS結腸炎之經控制組乙醇處理小鼠體內可見者。因此，對於TNBS結腸炎小鼠模型之C17.15投藥可以劑量依賴性之方式逆轉該疾病之進展。

C. 在小鼠體內以 α -IL-12抗體抑制實驗性自體免疫腦脊髓炎(EAE)

一般相信IL-12涉及多重硬化症(MS)之發病。可誘發性IL-12 p40信息已經證實表現於MS病患之急性噬菌斑中，但不表現於炎性大腦梗塞之病灶中(Windhagen et al., (1995) J. Exp. Med. 182:1985-1996)。取自MS病患之T細胞(但非控制組T細胞)可激發抗原呈遞性細胞經由未經調控之CD40L表現而生產IL-12 (Balashov et al., (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. 94:599-603)。MS病患具有較高之INF- γ 分泌量，其可以 α -IL-12抗體於試管中進行阻斷(Balashov et al., (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. 94:599-603)。在MS病患體內可偵測到較高含量之血清IL-12，但其並不見於其他神經疾病(Nicolette, F. et al. (1996) J. Neuroimmunol. 70:87-90)。已經證實較高之IL-12生產量與MS病患體內之疾病活性相關(Cormabella, M. et al. (1998) J. Clin. Invest. 102:671-678)。已對多重硬化症之小鼠模型，實驗性自體免疫腦脊髓炎(EAE)，就IL-12在多重硬化症發病過程中之角色進行研究(Leonard, J.P. et al (1995) J. Exp. Med. 181:281-386; Banerjee, S. et al. (1998) Arthritis Rheum.

41:S33；及 Segal, B.M. et al. (1998) J. Exp. Med. 187:537-546)。已知在此模型中之疾病係由 TH₁ 次組之 T 細胞誘發。因此，對 α -IL-12 抗體預防急性 EAE 起始之能力進行評估。

在經自體免疫原髓鞘鹼性蛋白 (Banerjee, S. et al. (1998) Arthritis Rheum. (1998) 41:S33) 免疫之小鼠體內，發現 α -IL-12 抗體可抑制急性 EAE 之起始、在起始之後抑制該疾病、並降低復發之嚴重性。 α -IL-12 抗體治療在小鼠體內之有益功效可在中止治療後維持 2 個月亦已經證實，抗-IL-12 抗體可在藉由過繼轉移接受致腦炎性 T 細胞之小鼠體內抑制該疾病 (Leonard, J.P. et al (1995) J. Exp. Med. 181:281-386)。

實例 9：J695 之臨床藥理

在一雙盲、交換之研究中，對 64 位健康之男性對象投藥漸增劑量之 J695 或安慰劑。在此臨床試驗之過程中，所有試驗劑量及途徑 (靜脈內 (IV) 及皮下 (SC)) 之 J695 耐受性皆非常良好。

在投劑之前或投劑 2.5 小時後對補體片段 C3a 之測量並未顯示補體系統之活化。CRP 及血纖維蛋白原之含量僅在其中可觀察到併發感染症狀之對象體內有增加之情形。

所有之對象皆存活，且 J695 之整體耐受性非常良好。並未產生任一因為有害事件 (AE) 而必需中止治療之情形。最常見之 AE 係頭痛及普通感冒/枝氣管炎，其皆未被歸類為嚴重者。

實例 10：由兩種 CHO 細胞系生產之 J695 之比較

用於生產J695之第一細胞系(ALP 903)產生較第二細胞系(APL 905)為低之抗體產率。已將批次ALP 903用於I期臨床試驗及獼猴體內之4週毒性研究。為確認由ALP 905生產之J695在功能上與自ALP 903生產者相同，評估兩批次抗體之IL-12親和性、阻斷IL-12結合細胞受體之能力、抑制IL-12 INF- γ 生產之能力、以及抑制IL-12-中介性PHA母細胞增殖之能力。

J695批次ALP 903及ALP 905對於IL-12之親和性係以表面細胞質基因組共振研究(BIAcore分析)，測量結合IL-12之動力速率常數而進行測定。以3項試驗(如實例3所述)測定抗體批次ALP 903及ALP 905結合rhIL-12之分離速率常數(k_d)及結合速率常數(k_a)。結合IL-12之親和性， K_d ，係以分離速率常數除以結合速率常數而計算。對各項實驗分別計算 K_d 再進行平均。該等結果顯示，測定所得J695批次ALP 903及ALP 905結合rhIL-12之動力參數及親和性非常類似；批次ALP 903計算之 K_d 係 $1.19 \pm 0.22 \times 10^{-10}$ M，而ALP 905計算之 K_d 係 $1.49 \pm 0.47 \times 10^{-10}$ M (參見表19)。

對衍生自ALP 903及ALP 905兩者之J695阻斷rhIL-12結合位於人類PHA活化T-淋巴母細胞上IL-12受體之能力進行評估(參見實例3)。以起始濃度 1×10^{-8} 之10倍系列稀釋試驗各J695樣本。將抗體與50 pM之 $[^{125}\text{I}]$ -人類IL-12在結合緩衝溶液中於37°C下預置1小時。將PHA母細胞加入抗體/ $[^{125}\text{I}]$ -人類IL-12混合物中，並置於室溫下2小時。以離心及清洗步驟，將細胞連結性放射活性與自由 $[^{125}\text{I}]$ -IL-12

分離，並計算抑制百分比。使用4-參數曲線適應，自抑制曲線測定J695之IC₅₀值，並以兩項獨立實驗確認。共置係以二重試驗進行。兩批次J695之結果非常類似(參見表19)。

對取自ALP 903及ALP 905細胞兩者之J695在試管內抑制人類PHA活化T-淋巴母細胞之rhIL-12-誘發性INF- γ 生產之能力進行評估。將J695之系列稀釋液與200皮克(pg)/毫升之rhIL-12在37°C下預置1小時。加入PHA淋巴母細胞，並置於37°C下18小時。在共置之後，抽取無細胞之上清液，並以ELISA測定人類INF- γ 之含量。使用4-參數曲線適應，將取自抑制曲線之IC₅₀值相對抗體濃度作圖。該等結果顯示，兩批次抑制INF- γ 生產之能力非常類似。

使用試管內PHA母細胞增殖分析，測量ALP 903及ALP 905 J695對於rhIL-12之中和能力。將各類型J695之系列稀釋液與230皮克(pg)/毫升之人類IL-12在37°C下預置1小時。再加入PHA母細胞，並置於37°C下3天。接著以1 γ Ci/孔之[³H]-胸苷標記細胞6小時。收集培養物，並測量[³H]-胸苷之納入量。在無rhIL-12之情形下測量非專一性增殖(背景值)。發現ALP 903及ALP 905 J695之IC₅₀值非常類似，其示於表19。

對於批次ALP 903及批次ALP 905而言，J695抗體中和rhIL-12活性、阻斷IL-12結合細胞表面受體、及結合rhIL-12之能力並無顯著差異，因此，自此兩種不同細胞類型生產之抗體係同等物。

表 19：J695 組 ALP 903 及 ALP 905 之特性比較

抗體	k_a , 結合速率 ($M^{-1} s^{-1}$)	k_d , 分離速率 (s^{-1})	K_d (M)	RB 分析 IC_{50} (M)	PHA 母細胞 分析 IC_{50} (M)	IFN- γ 分析 IC_{50} (M)
J695 ALP 903	3.75×10^5	4.46×10^{-5}	1.19×10^{-10}	3.4×10^{-11}	5.5×10^{-12}	5.8×10^{-12}
J695 ALP 905	3.91×10^5	5.59×10^{-5}	1.49×10^{-10}	3.0×10^{-11}	4.4×10^{-12}	4.3×10^{-12}

同等物

使用不超出慣常範圍之實驗，熟習技藝者可知，或可確認諸多本文所述特定本發明具體實例之同等物。此等同等物係為下列申請專利範圍涵括。

【圖式簡單說明】

圖 1A-1B 顯示一系列可結合人類 IL-12 之人類抗體與種系序列 Cos-3/JH3 及 Dpl18 Lv1042 比較之重鏈可變區胺基酸序列排比。使用 Kabat 編號辨識胺基酸位置。就 Joe 9 野生型而言，其顯示全長序列。就其他抗體而言，僅顯示與 Joe 9 野生型不同之胺基酸位置；

圖 1C-1D 顯示一系列可結合人類 IL-12 之人類抗體。之重鏈可變區胺基酸序列排比。使用 Kabat 編號辨識胺基酸位置。就 Joe 9 野生型而言，其顯示全長序列。就其他抗體而言，僅顯示與 Joe 9 野生型不同之胺基酸位置；

圖 2A-2E 顯示 Y61 抗體重鏈中之 CDR 位置，其在各位置經定位誘變突變，且分別進行胺基酸取代。圖右之圖表顯示經取代抗體(黑色長條)比較未經突變 Y61 (空心長條)之分離速率；

圖 2F-2H 顯示 Y61 抗體輕鏈中之 CDR 位置，其在各位置經定位誘變突變，且分別進行胺基酸取代。圖右之圖表顯示經取代抗體(黑色長條)比較未經突變 Y61 (空心長條)之分離速率；

圖 3 說明人類抗-IL-12 抗體 J695 在獼猴體內對血漿新蝶呤(neopterin)含量之活體功效；

圖 4 顯示平均關節評分對以膠原免疫小鼠後之天數所作之圖，說明之以 C17.15 進行之處理，相對於以大鼠 IgG 進行之處理，顯著減少和關節炎相關之徵狀；

圖 5 顯示在單一 1 毫克/公斤 IV 投劑後，J695 血清濃度之時間作圖，包括大鼠、獼猴、及狒狒數據。預期之人體內估計血清濃度曲線(根據數據之兩區隔適應)以實線顯示；

圖 6 顯示在 J695 之單一 2 毫克/公斤 IV 或 SC 投劑後，Sprague-Dawley 大鼠體內血清、主要器官及組織中 J695 之曲線下面積(AUC)長條圖；

圖 7 顯示在 J695 之單一 2 毫克/公斤 IV 或 SC 投劑後，Sprague-Dawley 大鼠體內血清、主要器官及組織中 J695 之最高濃度(C_{max})長條圖；

圖 8 顯示新蝶呤生產抑制之百分比和未經 J695 連結 IL-12 之百分比間之關係作圖，其指出未經連結 IL-12 含量之增加和新蝶呤生產抑制之降低相關；

圖 9 顯示相對於自由 J695 濃度之自由(未經 J695 連結)IL-12 百分比作圖；

圖 10 顯示在 0.1、0.3、1、或 5 毫克/公斤之 J695 單一 IV 投

劑後，人體內J695估計血清濃度之時間作圖。此圖進一步指明超過50%及90%效應濃度之時間；

圖 11顯示在0.1、0.3、1、或5毫克/公斤之J695單一SC投劑後，人體內J695估計血清濃度之時間作圖。此圖進一步指明超過50%及90%效應濃度之時間；

圖 12顯示在0.1、0.3、1、或5毫克/公斤之J695單一IV投劑後，人體內J695血清濃度之線性時間作圖；

圖 13顯示在0.1、0.3、1、或5毫克/公斤之J695單一SC投劑後，人體內J695血清濃度之線性時間作圖；

圖 14顯示在0.1、0.3、1、或5毫克/公斤之J695單一IV投劑後，人體內J695血清濃度之對數時間作圖；及

圖 15顯示顯示在0.1、0.3、1、或5毫克/公斤之J695單一SC投劑後，人體內J695血清濃度之對數時間作圖。

序列表

<110> Jochen, Salfeld 等人
 <120> 結合人類間白素-12 之人類抗體及其製法
 <130> BBI-093CPTW
 <140>
 <141>
 <160> 675
 <170> PatentIn Ver. 2.0
 <210> 1
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人類
 <220>
 <223> 位置 1 之 Xaa 可為 His 或 Ser
 <220>
 <223> 位置 4 之 Xaa 可為 Tyr 或 His
 <220>
 <223> 位置 6 之 Xaa 可為 Tyr、Asn、或 Thr
 <400> 1
 Xaa Gly Ser Xaa Asp Xaa Trp
 1 5
 <210> 2
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人類
 <220>
 <223> 位置 2 之 Xaa 可為 Ser 或 Thr
 <220>
 <223> 位置 4 之 Xaa 可為 Asp 或 Glu
 <220>
 <223> 位置 5 之 Xaa 可為 Ser、Arg、或 Lys
 <220>
 <223> 位置 6 之 Xaa 可為 Ser、Gly、或 Tyr
 <220>
 <223> 位置 7 之 Xaa 可為 Leu、Phe、Thr、或 Ser
 <220>
 <223> 位置 8 之 Xaa 可為 Arg、Ser、Thr、Trp、或 His
 <220>
 <223> 位置 9 之 Xaa 可為 Gly 或 Pro
 <220>
 <223> 位置 10 之 Xaa 可為 Ser、Thr、Ala、或 Leu

<220>

<223> 位置 12 之 Xaa 可為 Val、Ile、Thr、Met、或 Leu

<400> 2

Gln Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Gly
1 5 10

<210> 3

<211> 17

<212> PRT

<213> 人類

<400> 3

Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 4

<211> 7

<212> PRT

<213> 人類

<220>

<223> 位置 1 之 Xaa 可為 Gly 或 Tyr

<220>

<223> 位置 3 之 Xaa 可為 Asp 或 Ser

<220>

<223> 位置 4 之 Xaa 可為 Gln 或 Asn

<400> 4

Xaa Asn Xaa Xaa Arg Pro Ser
1 5

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> 人類

<220>

<223> Xaa 代表 Ser 或 Glu

<400> 5

Phe Thr Phe Ser Xaa Tyr Gly Met His
1 5

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<220>

<223> 位置 1 之 Xaa 可為 Ser 或 Thr

<220>

<223> 位置 4 之 Xaa 可為 Arg 或 Ser

<220>

<223> 位置 8 之 Xaa 可為 Gly 或 Val

<220>

<223> 位置 9 之 Xaa 可為 Ser 或 Ala

<220>

<223> 位置 10 之 Xaa 可為 Asn、Gly、或 Tyr

<220>

<223> 位置 11 之 Xaa 可為 Thr 或 Asp

<220>

<223> 位置 13 之 Xaa 可為 Lys 或 His

<400> 6

Xaa Gly Xaa Xaa Ser Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa
1 5 10

<210> 7

<211> 115

<212> PRT

<213> 人類

<220>

<223> 位置 6 之 Xaa 可為 Gln 或 Glu

<220>

<223> 位置 16 之 Xaa 可為 Arg 或 Gly

<220>

<223> 位置 31 之 Xaa 可為 Ser 或 Glu

<220>

<223> 位置 84 之 Xaa 可為 Lys 或 Asn

<220>

<223> 位置 97 之 Xaa 可為 Thr、Ala、或 Lys

<220>

<223> 位置 98 之 Xaa 可為 Thr 或 Lys

<220>

<223> 位置 99 之 Xaa 可為 Ser 或 His

<220>

<223> 位置 102 之 Xaa 可為 Tyr 或 His

<220>

<223> 位置 104 之 Xaa 可為 Tyr、Asn、或 His

<400> 7

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

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

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Asx
 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 Xaa Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Xaa Xaa Xaa Gly Ser Xaa Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 8

<211> 112

<212> PRT

<213> 人類

<220>

<223> 位置 1 之 Xaa 可為 Ser 或 Gln

<220>

<223> 位置 2 之 Xaa 可為 Tyr 或 Ser

<220>

<223> 位置 13 之 Xaa 可為 Thr 或 Ala

<220>

<223> 位置 23 及 91 之 Xaa 可為 Ser 或 Thr

<220>

<223> 位置 25 之 Xaa 可為 Gly 或 Ser

<220>

<223> 位置 26 之 Xaa 可為 Arg 或 Ser

<220>

<223> 位置 30 之 Xaa 可為 Gly 或 Val

<220>

<223> 位置 31 之 Xaa 可為 Ser 或 Ala

<220>

<223> 位置 35 之 Xaa 可為 Lys 或 His

<220>

<223> 位置 51 之 Xaa 可為 Gly 或 Lys

<220>

<223> 位置 54 之 Xaa 可為 Gln 或 Asn

<220>

<223> 位置 79 之 Xaa 可為 Val 或 Leu

<220>

<223> 位置 93 之 Xaa 可為 Asp 或 Glu

<220>

<223> 位置 94 之 Xaa 可為 Ser、Arg、或 Lys

<220>

<223> 位置 95 之 Xaa 可為 Ser、Gly、或 Tyr

<220>

<223> 位置 96 之 Xaa 可為 Leu、Phe、Thr、或 Ser

<220>

<223> 位置 97 之 Xaa 可為 Arg、Ser、Thr、Trp、或 His

<220>

<223> 位置 98 之 Xaa 可為 Gly 或 Pro

<220>

<223> 位置 99 之 Xaa 可為 Ser、Thr、Ala、或 Leu

<220>

<223> 位置 100 之 Xaa 可為 Arg、Ser、Met、Thr、或 Leu

<220>

<223> 位置 101 之 Xaa 可為 Val、Ile、Thr、Met、或 Leu

<220>

<223> 位置 32 之 Xaa 可為 Asn、Gly、或 Tyr

<220>

<223> 位置 33 之 Xaa 可為 Thr 或 Asp

<220>

<223> 位置 53 之 Xaa 可為 Asp 或 Ser

<400> 8

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

Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Xaa	Gly	Xaa	Xaa	Ser	Asn	Ile	Xaa	Xaa	Xaa
			20					25					30		

Xaa	Val	Xaa	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
		35					40					45			

Ile	Tyr	Xaa	Asn	Xaa	Xaa	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50					55					60				

Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Thr	Gly	Xaa	Gln
65					70					75					80

Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Xaa	Tyr	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
			85					90						95	

Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly
			100					105					110		

<210> 9

<211> 6

<212> PRT

<213> 人類

<220>

<223> 位置 2 之 Xaa 可為 Gly、Val、Cys、或 His

<220>

<223> 位置 6 之 Xaa 可為 Asn、Lys、Ala、Thr、Ser、Phe、Trp、或 His

<400> 9

His Xaa Ser His Asp Xaa
1 5

<210> 10

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<220>

<223> 位置 4 之 Xaa 可為 Asp 或 Ser

<220>

<223> 位置 5 之 Xaa 代表任何胺基酸

<220>

<223> 位置 6 之 Xaa 可為 Gly、Asp、Gln、Leu、Phe、Arg、His、Asn 或 Tyr

<400> 10

Gln Ser Tyr Xaa Xaa Xaa Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 11

<211> 17

<212> PRT

<213> 人類

<220>

<223> 位置 1 之 Xaa 可為 Phe、Thr、或 Tyr

<220>

<223> 位置 3 之 Xaa 可為 Arg 或 Ala

<220>

<223> 位置 5 之 Xaa 可為 Asp、Ser、Glu、或 Ala

<220>

<223> 位置 6 之 Xaa 可為 Gly 或 Arg

<220>

<223> 位置 8 之 Xaa 代表任何胺基酸

<220>

<223> 位置 10 之 Xaa 可為 Tyr 或 Glu

<400> 11

Xaa Ile Xaa Tyr Xaa Xaa Ser Xaa Lys Xaa Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 12
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人類

<220>

<223> 位置 1 之 Xaa 可為 Gly、Tyr、Ser、Thr、Asn、或 Gln

<400> 12
 Xaa Asn Asp Gln Arg Pro Ser
 1 5

<210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人類

<220>

<223> 位置 4 及 5 之 Xaa 代表任何胺基酸

<220>

<223> 位置 6 之 Xaa 可為 Tyr 或 His

<220>

<223> 位置 7 之 Xaa 可為 Gly、Met、Ala、Asn、或 Ser

<400> 13
 Phe Thr Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Met His
 1 5

<210> 14
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<220>

<223> 位置 9 之 Xaa 可為 Ser、Cys、Arg、Asn、Asp、或 Thr

<220>

<223> 位置 10 之 Xaa 可為 Asn、Met、或 Ile

<220>

<223> 位置 11 之 Xaa 可為 Thr、Tyr、Asp、His、Lys、或 Pro

<400> 14
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Xaa Xaa Xaa Val Lys
 1 5 10

<210> 15
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 人類

<220>

<223> 位置 30 之 Xaa 可為 Ser 或 Glu

<220>

<223> 位置 83 之 Xaa 可為 Lys 或 Asn

<220>

<223> 位置 5 之 Xaa 可為 Gln 或 Glu

<400> 15

Gln Val Gln Val Xaa Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser
 1 5 10 15

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

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

Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

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

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

Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val
 100 105 110

Ser Ser

<210> 16

<211> 112

<212> PRT

<213> 人類

<220>

<223> 位置 1 之 Xaa 可為 Ser 或 Gln

<220>

<223> 位置 2 之 Xaa 可為 Tyr 或 Ser

<220>

<223> 位置 13 之 Xaa 可為 Thr 或 Ala

<220>

<223> 位置 25 之 Xaa 可為 Gly 或 Ser

<220>

<223> 位置 51 及 95 之 Xaa 可為 Gly 或 Tyr

<220>

<223> 位置 79 之 Xaa 可為 Val 或 Leu

<400> 16

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Xaa Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Xaa Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Xaa Gln
 65 70 75 80

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

His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 17
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 17
 His Gly Ser His Asp Asn
 1 5

<210> 18
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 18
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 19
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 19
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 20
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 20
 Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser
 1 5

<210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 21
 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
 1 5

<210> 22
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 22
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 23
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 23
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 24
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 24
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Trp Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr
 85 90 95
 His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

100

105

110

<210> 25
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 25
 His Gly Ser His Asp Asn
 1 5

<210> 26
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 26
 Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 27
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 27
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 28
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 28
 Tyr Asn Asp Gln Arg Pro Ser
 1 5

<210> 29
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 29
 Phe Thr Phe Ser Tyr Gly Met His
 1 5

<210> 30
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 30
 Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Lys

1

5

10

<210> 31
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 31

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 32
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 32

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Tyr Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

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

His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 33

<211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 33

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 34
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 34

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

<210> 35
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 35

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val 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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

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

Val Ser Ser
 115

<210> 36

<211> 112

<212> PRT

<213> 人類

<220>

<223> Xaa at position 32 represents either Gly or Tyr

<400> 36

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Xaa
 20 25 30

Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
 85 90 95

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

<210> 37

<211> 115

<212> PRT

<213> 人類

<400> 37

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 38
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 38
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
 85 90 95
 Arg Gly Ser Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 39
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 39
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

<210>	40
<211>	112
<212>	PRT
<213>	人類

```

<400> 40
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
  1                               10                      15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
      20                      25                      30

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
      35                      40                      45

Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
      50                      55                      60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
      65                      70                      75                      80

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

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

```

<210>	41
<211>	115
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 41
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 42
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 42
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
 85 90 95
 Trp Gly Ser Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 43
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 43
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 44
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 44
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe
 85 90 95
 Thr Gly Ser Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 45
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 45
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 46
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 46
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
 85 90 95
 Trp Gly Ser Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 47
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 47
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 48
<211> 112
<212> PRT
<213> 人類

<400> 48

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

<210> 49
<211> 115
<212> PRT
<213> 人類

<400> 49

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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
Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 50
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 50

```

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
          20           25           30

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
          35           40           45

Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
          50           55           60

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

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

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

```

<210> 51
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 51

```

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85           90           95

Thr Thr His Gly Ser His Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
          100           105           110

Val Ser Ser
          115

```

<210> 52
 <211> 112
 <212> PRT

<213> 人類

<400> 52

```

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
          20              25              30

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
          35              40              45

Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
          50              55              60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
          65              70              75              80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
          85              90              95

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

```

<210> 53

<211> 115

<212> PRT

<213> 人類

<400> 53

```

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85              90              95

Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
          100              105              110

Val Ser Ser
          115

```

<210> 54

<211> 112

<212> PRT

<213> 人類

<400> 54

```

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

```

```

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

```

<210> 55
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 55
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
  1             5             10             15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
      20             25             30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35             40             45
Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85             90             95
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
      100            105            110
Val Ser Ser
      115

```

<210> 56
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 56
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
  1             5             10             15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Val Ser Asn
      20             25             30

```



```

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
    35              40              45

Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50              55              60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
    65              70              75              80

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

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

```

<210> 57
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 57
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
    1              5              10              15

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
    85              90              95

Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
    100              105              110

Val Ser Ser
    115

```

<210> 58
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 58
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
    1              5              10              15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
    20              25              30

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
    35              40              45

```

```

Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
  50                      55                      60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
  65                      70                      75                      80
Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Asp Lys Gly Phe
                      85                      90                      95
Thr Gly Ser Ser Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
  100                      105                      110

```

<210> 59
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 59
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
  1                      5                      10                      15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                      20                      25                      30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
                      35                      40                      45
Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                      85                      90                      95
Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
                      100                      105                      110
Val Ser Ser
                      115

```

<210> 60
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 60
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
  1                      5                      10                      15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
                      20                      25                      30
Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
                      35                      40                      45
Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
                      50                      55                      60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln

```

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

<210> 61
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 61
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 62
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 62
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr
 85 90 95

His Pro Leu Thr Ile Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 63
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 63
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 64
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 64
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser
 85 90 95
 His Pro Ala Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 65
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 65
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 66
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 66
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr
 85 90 95
 His Pro Leu Thr Met Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 67
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 67
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 68
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 68
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr
 85 90 95
 His Pro Leu Thr Met Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 69
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 69

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 70

<211> 112

<212> PRT

<213> 人類

<400> 70

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

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

His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 71

<211> 115

<212> PRT

<213> 人類

<400> 71

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Glu Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 72
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 72
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr
 85 90 95
 His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 73
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 73
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 74
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 74
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Tyr Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr
 85 90 95
 His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 75
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 75
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 76
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 76
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Thr
 85 90 95
 His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 77
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 77
 Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr
 1 5

<210> 78
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 78
 His Gly Ser His Asp Asn
 1 5

<210> 79
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 79
His Gly Ser Tyr Asp Tyr
1 5

<210> 80
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 80
Arg Arg Arg Ser Asn Tyr
1 5

<210> 81
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 81
Ser Gly Ser Ile Asp Tyr
1 5

<210> 82
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 82
His Gly Ser His Asp Asp
1 5

<210> 83
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 83
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 84
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 84
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly
1 5 10

<210> 85
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 85

Ala Lys His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly
 1 5 10

<210> 86
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 86
 Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Ser Gln Gly
 1 5 10

<210> 87
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 87
 Thr Thr His Gly Ser His Asp Thr Trp Gly Gln Gly
 1 5 10

<210> 88
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 88
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly
 1 5 10

<210> 89
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 89
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly His Gly
 1 5 10

<210> 90
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 90
 Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Ser Gln Gly
 1 5 10

<210> 91
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 91
 Thr Thr His Arg Ser His Asn Asn Trp Gly Gln Gly
 1 5 10

<210> 92
 <211> 3

<212> PRT
<213> 人類

<400> 92
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 93
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 93
Thr Thr His Gly Ser His Asp Thr
1 5

<210> 94
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 94
Thr Lys His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 95
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 95
Thr Thr Gln Gly Arg His Asp Asn
1 5

<210> 96
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 96
Lys Thr Arg Gly Arg His Asp Asn
1 5

<210> 97
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 97
Thr Thr His Gly Ser His Asp Lys
1 5

<210> 98
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 98
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asp

1

5

<210> 99
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 99
Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 100
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 100
Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 101
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 101
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 102
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 102
Thr Thr Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr
1 5

<210> 103
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 103
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 104
<211> 8
<212> PRT
<213> 人類

<400> 104
Thr Thr His Gly Ser Gln Asp Asn
1 5

<210> 105
<211> 8
<212> PRT

<213> 人類

<400> 105

Ala Thr His Gly Ser Gln Asp Asn
1 5

<210> 106

<211> 6

<212> PRT

<213> 人類

<400> 106

His Gly Ser Gln Asp Thr
1 5

<210> 107

<211> 6

<212> PRT

<213> 人類

<400> 107

Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr
1 5

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> 人類

<400> 108

His Gly Ser Gln Asp Asn
1 5

<210> 109

<211> 9

<212> PRT

<213> 人類

<400> 109

Cys Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 110

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 110

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Arg Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 111

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 111

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 112
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 112
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Arg Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 113
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 113
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 114
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 114
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Trp Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 115
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 115
Gln Thr Tyr Asp Ile Ser Glu Ser Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 116
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 116
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 117
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 117
Gln Thr Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 118
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 118
Gln Thr Tyr Asp Lys Gly Phe Thr Gly Ser Ser Val
1 5 10

<210>	119
<211>	12
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 119
Gln Ser Tyr Asp Arg Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210>	120
<211>	12
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 120
Gln Ser Tyr Asp Trp Asn Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210>	121
<211>	12
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 121
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210>	122
<211>	12
<212>	PRT
<213>	人類

```
<400> 122
Gln Ser Tyr Asp Asn Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
  1             5             10
```

<210>	123
<211>	12
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 123
Gln Ser Tyr Asp Asn Ala Val Thr Ala Ser Lys Val
1 5 10

<210>	124
<211>	12
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 124
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 125

<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 125
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Trp Gly Thr Arg Val
1 5 10

<210> 126
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 126
Gln Ser Tyr Asp Arg Asp Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 127
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 127
Gln Ser Tyr Glu Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
1 5 10

<210> 128
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 128
Gln Ser Tyr Asp Asn Gly Phe Thr Gly Ala Arg Val
1 5 10

<210> 129
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 129
Gln Ser Tyr Asp Arg Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 130
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 130
Gln Thr Tyr Asp Lys Gly Phe Thr Gly Ser Ser Val
1 5 10

<210> 131
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 131
 Gln Ser Tyr Asp Arg Asp Phe Thr Gly Thr Arg Val
 1 5 10

<210> 132
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 132
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Tyr Gly Ser Met Val
 1 5 10

<210> 133
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 133
 Gln Thr Tyr Asp Lys Gly Phe Thr Gly Ser Ser Val
 1 5 10

<210> 134
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 134
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ala Arg Val
 1 5 10

<210> 135
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 135
 Gln Ser Tyr Glu Arg Gly Phe Thr Gly Ala Arg Val
 1 5 10

<210> 136
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 136
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 137
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 137
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Phe Lys Val Phe
 1 5 10

<210> 138
 <211> 13
 <212> PRT

<213> 人類

<400> 138

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Val Ser Ala Tyr Val Phe
1 5 10

<210> 139

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<400> 139

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Thr Val Thr Lys Val Phe
1 5 10

<210> 140

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<400> 140

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Tyr Thr Ala Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 141

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<400> 141

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Lys Val Phe
1 5 10

<210> 142

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<400> 142

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Thr Gly Phe Arg Val Phe
1 5 10

<210> 143

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<400> 143

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Tyr Lys Val Phe
1 5 10

<210> 144

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<400> 144

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Thr Gly Tyr Arg Leu Phe
1 5 10

<210> 145
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 145
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Asp Tyr Lys Val Phe
1 5 10

<210> 146
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 146
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Pro Arg Leu Phe
1 5 10

<210> 147
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 147
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 148
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 148
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ala Arg Val Trp
1 5 10

<210> 149
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 149
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Tyr Arg Val Phe
1 5 10

<210> 150
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 150
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Pro Arg Val Phe
1 5 10

<210> 151
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

201215619

<400> 151
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Met Thr Ser Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210>	152
<211>	13
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 152
Gln Ser Tyr Asp Arg Asp Ser Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210>	153
<211>	13
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 153
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Arg Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210>	154
<211>	13
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 154
His Ser Tyr Asp Ser Asp Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210>	155
<211>	13
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 155
His Ser Ser Glu Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210>	156
<211>	13
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 156
His Ser Tyr Asp Asn Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210>	157
<211>	13
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 157
His Ser Tyr Asp Ser Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 158

<211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 158
 Gln Ser Tyr Asp Ser Glu Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 159
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 159
 Gln Ser Tyr Asp Thr Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 160
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 160
 His Ser Tyr Asp Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 161
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 161
 Gln Ser Tyr Asp Thr Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 162
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 162
 His Ser Tyr Asp Thr Lys Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 163
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 163
 His Ser Ser Asp Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 164
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 164
 Gln Ser Tyr Asp Ser Asp Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe

1

5

10

<210> 165
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 165
 His Ser Tyr Glu Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 166
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 166
 Gln Ser Tyr Asp Ala Pro Trp Ser Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 167
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 167
 Gln Ser Tyr Asp Ser Asp Phe Thr Gly Ser Lys Val Phe
 1 5 10

<210> 168
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 168
 His Thr Asn Asp Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 169
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 169
 His Ser Tyr Asp Thr Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 170
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 170
 Gln Ser Tyr Asp Met Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 171
 <211> 13
 <212> PRT

<213> 人類

<400> 171

His Ser Ser Asp Ser Asp Ser Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 172

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<400> 172

Gln Ser Tyr Asn Thr Asp Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 173

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<400> 173

Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 174

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<400> 174

His Ser Tyr Asp Met Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 175

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<400> 175

His Ser Tyr Asp Asn Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 176

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<400> 176

His Ser His Asp Arg Asp Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 177

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 177

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Arg Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 178
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 178
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ile His Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 179
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 179
Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Phe Pro Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 180
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 180
Gln Ser Tyr Asp Ile Gly Ser Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 181
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 181
Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Leu Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 182
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 182
Gln Ser Tyr Asp Ile Gly Met Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 183
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 183
Gln Ser Tyr Asp Ile Gly Leu Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 184
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 184
 Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Val Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 185
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 185
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Thr Ala Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 186
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 186
 Gln Ser Tyr Asp Thr Gly Leu Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 187
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 187
 Gln Ser Tyr Asp Thr Ala Leu Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 188
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 188
 Gln Ser Tyr Asp Ile Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 189
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 189
 Gln Ser Tyr Asp Ile Arg Ser Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 190
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 190
 Gln Ser Tyr Asp Asn Arg Leu Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 191

<211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 191
 Gln Ser Tyr Glu Thr Ser Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 192
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 192
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Ser Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 193
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 193
 Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Phe Thr Ala Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 194
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 194
 Gln Thr Tyr Asp Lys Gly Phe Thr Gly Ser Ser Val Phe
 1 5 10

<210> 195
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 195
 Gln Ser Tyr Asp Asn Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 196
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 196
 Gln Ser Tyr Asp Thr Gly Phe Thr Lys Ser Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 197
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 197
 Gln Ser Tyr Asp Arg Ser Asp Val Gly Ser Arg Val Phe

1

5

10

<210> 198

<211> 13

<212> PRT

<213> 人類

<400> 198

Gln Ser Tyr Asp Ala Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe

1

5

10

<210> 199

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 199

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ser Met Leu

1

5

10

<210> 200

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 200

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Thr Pro Arg Pro Met

1

5

10

<210> 201

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 201

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Arg Asn Pro Ala Leu Thr

1

5

10

<210> 202

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 202

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Trp Leu His

1

5

10

<210> 203

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 203

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Asn Ser Pro Ala Thr Val

1

5

10

<210> 204

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 204

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Phe Pro Ser Pro Gln
1 5 10

<210> 205

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 205

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Asn Pro Ser Ala Thr
1 5 10

<210> 206

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 206

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Lys Ser Asn Lys Met Leu
1 5 10

<210> 207

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 207

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly His Thr Ala His Leu Tyr
1 5 10

<210> 208

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 208

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Gln Thr Pro Ser Ile Thr
1 5 10

<210> 209

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 209

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Tyr Pro Arg Asn Ile Leu
1 5 10

<210> 210

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 210

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ile Thr Pro Gly Leu Ala
1 5 10

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

<400> 211
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Gln Pro His Ala Val Leu
 1 5 10

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

<400> 212
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Asn Ser Pro Ile Pro Thr
 1 5 10

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

<400> 213
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Pro Asn Asn Ser Phe
 1 5 10

<210> 214
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 214
 Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Val Asp Pro Gly Pro Tyr
 1 5 10

<210> 215
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 215
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Arg Pro Arg His Ala Leu
 1 5 10

<210> 216
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 216
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Pro Tyr His Pro Ile Arg
 1 5 10

<210> 217
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 217
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Pro His Thr Gln Pro Thr
 1 5 10

<210> 218
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 218
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly His Asn Asn Phe Ser Pro
 1 5 10

<210> 219
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 219
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Pro Thr His Leu Pro His
 1 5 10

<210> 220
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 220
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Pro Ser Tyr Pro Thr
 1 5 10

<210> 221
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 221
 Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Thr Ser Asn Leu Leu Pro
 1 5 10

<210> 222
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 222
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Asp Ser Asn His Asp Leu
 1 5 10

<210> 223
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 223
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Pro Arg Leu Thr His
 1 5 10

<210> 224

<211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 224
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ile Pro Thr Ser Tyr Leu
 1 5 10

<210> 225
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 225
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Arg Val Gln Ala Pro
 1 5 10

<210> 226
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 226
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Ser Asp Ser Pro Leu
 1 5 10

<210> 227
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 227
 Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Ser Leu Arg Arg Ile Leu
 1 5 10

<210> 228
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 228
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Pro Ala Arg Thr Ser Pro
 1 5 10

<210> 229
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 229
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Arg Ala Ala His Pro Gln
 1 5 10

<210> 230
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 230
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Gln Pro Ala Asx Ile

1

5

10

<210> 231

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 231

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Thr Met Ile
 1 5 10

<210> 232

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 232

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Arg Ile Pro Ala Asx Thr
 1 5 10

<210> 233

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 233

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Val Pro Ala
 1 5 10

<210> 234

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 234

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser Asx Pro Ile Pro Ala
 1 5 10

<210> 235

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 235

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Val Pro Ala
 1 5 10

<210> 236

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 236

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Thr Met Tyr
 1 5 10

<210> 237

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 237

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly His His Tyr Thr Thr Phe
1 5 10

<210> 238

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 238

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser His Pro Ala Ala Glu
1 5 10

<210> 239

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 239

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Ile Pro Ser Ile Glu
1 5 10

<210> 240

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 240

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser Ser Pro Ala Ile Met
1 5 10

<210> 241

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 241

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ile Trp Pro Asn Leu Asn
1 5 10

<210> 242

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 242

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Asn Leu Asn
1 5 10

<210> 243

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 243

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ser Ile Ser
1 5 10

<210> 244
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 244
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser Ala Pro Met Ile Asn
1 5 10

<210> 245
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 245
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly His His Pro Ala Met Ser
1 5 10

<210> 246
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 246
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ser Ile Thr
1 5 10

<210> 247
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 247
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Asp Pro Ala Ile Val
1 5 10

<210> 248
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 248
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 249
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 249
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser His Pro Ala Leu Thr
1 5 10

<210> 250
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

201215619

<400> 250
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Thr Pro Ala Pro Glu
1 5 10

<210>	251
<211>	12
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 251
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser His Pro Thr Leu Ile
1 5 10

<210>	252
<211>	12
<212>	2RT.
<213>	人類

<400> 252
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ser Met Leu
1 5 10

<210>	253
<211>	12
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 253
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Thr Pro Arg Pro Met
1 5 10

<210>	254
<211>	12
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 254
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Arg Leu Pro Ala Gln Thr
1 5 10

<210>	255
<211>	12
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 255
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Leu Thr Ile
1 5 10

<210>	256
<211>	12
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 256
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Gln Thr Pro Ser Ile Thr
1 5 10

<210> 257

<211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 257
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Phe Gln Met Tyr
 1 5 10

<210> 258
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 258
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Arg Asn Pro Ala Leu Thr
 1 5 10

<210> 259
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 259
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Leu Thr Met
 1 5 10

<210> 260
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 260
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Leu Thr Met
 1 5 10

<210> 261
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 261
 Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Tyr Thr Gly Ser Arg Val
 1 5 10

<210> 262
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 262
 Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
 1 5 10

<210> 263
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 263
 Gln Ser Tyr Asp Ser Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val

1	5	10
---	---	----

<210> 264
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 264
 Gln Ser Tyr Pro Asp Gly Thr Pro Ala Ser Arg Val
 1 5 10

<210> 265
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 265
 Gln Ser Tyr Ser Thr His Met Pro Ile Ser Arg Val
 1 5 10

<210> 266
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 266
 Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Ser Thr Gly Ser Arg Val
 1 5 10

<210> 267
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 267
 Gln Ser Tyr Pro Asn Ser Tyr Pro Ile Ser Arg Val
 1 5 10

<210> 268
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 268
 Gln Ser Tyr Ile Arg Ala Pro Gln Gln Val
 1 5 10

<210> 269
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 269
 Gln Ser Tyr Leu Lys Ser Arg Ala Phe Ser Arg Val
 1 5 10

<210> 270
 <211> 12
 <212> PRT

<213> 人類

<400> 270
Gln Ser Tyr Asp Ser Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 271
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 271
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
1 5 10

<210> 272
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 272
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
1 5 10

<210> 273
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 273
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Phe Asp Gly
1 5 10

<210> 274
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 274
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Ala Pro Ala Leu Ser
1 5 10

<210> 275
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 275
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser Tyr Pro Ala Leu Arg
1 5 10

<210> 276
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 276
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Asn Trp Pro Asn Ser Asn
1 5 10

<210> 277
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 277
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Ala Pro Ser Leu Leu
 1 5 10

<210> 278
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 278
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
 1 5 10

<210> 279
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 279
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Thr Pro Arg Ile Arg
 1 5 10

<210> 280
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 280
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
 1 5 10

<210> 281
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 281
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
 1 5 10

<210> 282
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 282
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Met Ile Pro Ala Leu Thr
 1 5 10

<210> 283
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 283
Gln Ser Tyr Asp Arg Asn Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 284
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 284
Gln Ser Tyr Asp Arg Phe Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 285
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 285
Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 286
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 286
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 287
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 287
Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 288
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 288
Phe Thr Phe Glu Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 289
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 289
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 290

<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 290
Phe Thr Phe Tyr Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 291
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 291
Phe Thr Phe His Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 292
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 292
Phe Thr Phe Lys Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 293
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 293
Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 294
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 294
Phe Thr Phe Asn Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 295
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 295
Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 296
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 296
Phe Thr Phe Gly Ser Tyr Gly Met His

1 5

<210> 297
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 297
Phe Thr Phe Val Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 298
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 298
Phe Thr Phe Ile Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 299
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 299
Phe Thr Phe Trp Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 300
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 300
Phe Thr Phe Ser Glu Tyr Gly Met His
1 5

<210> 301
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 301
Phe Thr Phe Ser Cys Tyr Gly Met His
1 5

<210> 302
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 302
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 303
<211> 9
<212> PRT

<213> 人類

<400> 303
Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr Gly Met His
1 5

<210> 304
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 304
Phe Thr Phe Ser His Tyr Gly Met His
1 5

<210> 305
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 305
Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly Met His
1 5

<210> 306
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 306
Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met His
1 5

<210> 307
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 307
Phe Thr Phe Ser Gln Tyr Gly Met His
1 5

<210> 308
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 308
Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met His
1 5

<210> 309
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 309
Phe Thr Phe Ser Ala Tyr Gly Met His
1 5

<210> 310
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 310
Phe Thr Phe Ser Ile Tyr Gly Met His
1 5

<210> 311
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 311
Phe Thr Phe Ser Ser Glu Gly Met His
1 5

<210> 312
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 312
Phe Thr Phe Ser Ser Cys Gly Met His
1 5

<210> 313
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 313
Phe Thr Phe Ser Ser Ser Gly Met His
1 5

<210> 314
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 314
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 315
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 315
Phe Thr Phe Ser Ser His Gly Met His
1 5

<210> 316
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 316
Phe Thr Phe Ser Ser Arg Gly Met His
1 5

<210> 317
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 317
Phe Thr Phe Ser Ser Asn Gly Met His
1 5

<210> 318
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 318
Phe Thr Phe Ser Ser Thr Gly Met His
1 5

<210> 319
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 319
Phe Thr Phe Ser Ser Ala Gly Met His
1 5

<210> 320
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 320
Phe Thr Phe Ser Ser Val Gly Met His
1 5

<210> 321
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 321
Phe Thr Phe Ser Ser Leu Gly Met His
1 5

<210> 322
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 322
Phe Thr Phe Ser Ser Ile Gly Met His
1 5

<210> 323

<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 323
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asp Met His
1 5

<210> 324
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 324
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Glu Met His
1 5

<210> 325
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 325
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Cys Met His
1 5

<210> 326
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 326
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met His
1 5

<210> 327
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 327
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 328
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 328
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met His
1 5

<210> 329
<211> 9
<212> PRT
<213> 人類

<400> 329
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His

1 5

<210> 330
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 330
 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met His
 1 5

<210> 331
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 331
 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Val Met His
 1 5

<210> 332
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 332
 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Met Met His
 1 5

<210> 333
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 333
 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ile Met His
 1 5

<210> 334
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 334
 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Pro Met His
 1 5

<210> 335
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 335
 Glu Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 336
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 336
 Cys Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 337
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 337
 Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 338
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 338
 His Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 339
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 339
 Lys Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 340
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 340
 Asn Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 341

<211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 341
 Gln Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 342
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 342
 Thr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 343
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 343
 Leu Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 344
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 344
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 345
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 345
 Phe Ile Glu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 346
 <211> 17

<212> PRT
<213> 人類

<400> 346
Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 347
<211> 17
<212> PRT
<213> 人類

<400> 347
Phe Ile Tyr Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 348
<211> 17
<212> PRT
<213> 人類

<400> 348
Phe Ile His Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 349
<211> 17
<212> PRT
<213> 人類

<400> 349
Phe Ile Lys Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 350
<211> 17
<212> PRT
<213> 人類

<400> 350
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 351
<211> 17
<212> PRT

<213> 人類

<400> 351

Phe Ile Gln Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 352

<211> 17

<212> PRT

<213> 人類

<400> 352

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

Gly

<210> 353

<211> 17

<212> PRT

<213> 人類

<400> 353

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

Gly

<210> 354

<211> 17

<212> PRT

<213> 人類

<400> 354

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

Gly

<210> 355

<211> 17

<212> PRT

<213> 人類

<400> 355

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

Gly

<210> 356

<211> 17

<212> PRT

<213> 人類

<400> 356
 Phe Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 357
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 357
 Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 358
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 358
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 359
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 359
 Phe Ile Arg Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 360
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 360
 Phe Ile Arg Tyr Ser Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 361
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 361
Phe Ile Arg Tyr Tyr Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 362
<211> 17
<212> PRT
<213> 人類

<400> 362
Phe Ile Arg Tyr Lys Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 363
<211> 17
<212> PRT
<213> 人類

<400> 363
Phe Ile Arg Tyr Arg Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 364
<211> 17
<212> PRT
<213> 人類

<400> 364
Phe Ile Arg Tyr Asn Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 365
<211> 17
<212> PRT
<213> 人類

<400> 365
Phe Ile Arg Tyr Gln Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 366
<211> 17
<212> PRT
<213> 人類

<400> 366

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

Gly

<210> 367
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 367
 Phe Ile Arg Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 368
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 368
 Phe Ile Arg Tyr Val Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 369
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 369
 Phe Ile Arg Tyr Leu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 370
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 370
 Phe Ile Arg Tyr Ile Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 371
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 371
 Phe Ile Arg Tyr Phe Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 372
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 372
 Phe Ile Arg Tyr Asp Asp Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 373
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 373
 Phe Ile Arg Tyr Asp Glu Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 374
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 374
 Phe Ile Arg Tyr Asp Ser Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 375
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 375
 Phe Ile Arg Tyr Asp Tyr Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 376
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 376
 Phe Ile Arg Tyr Asp Lys Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 377
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 377

Phe Ile Arg Tyr Asp Arg Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 378
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 378

Phe Ile Arg Tyr Asp Asn Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 379
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 379

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

Gly

<210> 380
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 380

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

Gly

<210> 381
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 381

Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 382
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 382
 Phe Ile Arg Tyr Asp Val Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 383
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 383
 Phe Ile Arg Tyr Asp Phe Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 384
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 384
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 385
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 385
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Tyr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 386
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 386
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser His Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 387
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 387
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 388
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 388
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 389
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 389
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Gly Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 390
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 390
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Met Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 391
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 391
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Leu Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 392
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 392
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Ile Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 393
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 393
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Pro Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 394
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 394
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Phe Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 395
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 395
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Glu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 396
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 396
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 397
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 397
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 398
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 398
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 399
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 399
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 400
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 400
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 401
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 401
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Ile Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 402
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 402
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Pro Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 403
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 403
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 404
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 404
 Glu Gly Ser His Asp Asn
 1 5

<210> 405
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 405
 Ser Gly Ser His Asp Asn
 1 5

<210> 406
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 406
 His Gly Ser His Asp Asn
 1 5

<210> 407
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 407
 Lys Gly Ser His Asp Asn
 1 5

<210> 408
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 408
Gln Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 409
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 409
Thr Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 410
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 410
Ala Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 411
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 411
Leu Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 412
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 412
Pro Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 413
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 413
Phe Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 414
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 414

His Asp Ser His Asp Asn
1 5

<210> 415
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 415
His Cys Ser His Asp Asn
1 5

<210> 416
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 416
His His Ser His Asp Asn
1 5

<210> 417
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 417
His Arg Ser His Asp Asn
1 5

<210> 418
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 418
His Thr Ser His Asp Asn
1 5

<210> 419
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 419
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 420
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 420
His Val Ser His Asp Asn
1 5

<210> 421
<211> 6

<212> PRT
<213> 人類

<400> 421
His Met Ser His Asp Asn
1 5

<210> 422
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 422
His Leu Ser His Asp Asn
1 5

<210> 423
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 423
His Ile Ser His Asp Asn
1 5

<210> 424
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 424
His Pro Ser His Asp Asn
1 5

<210> 425
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 425
His Trp Ser His Asp Asn
1 5

<210> 426
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 426
His Gly Asp His Asp Asn
1 5

<210> 427
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 427
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 428
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 429
His Gly Tyr His Asp Asn
1 5

<210> 429
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 429
His Gly His His Asp Asn
1 5

<210> 430
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 430
His Gly Arg His Asp Asn
1 5

<210> 431
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 431
His Gly Asn His Asp Asn
1 5

<210> 432
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 432
His Gly Thr His Asp Asn
1 5

<210> 433
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 433
His Gly Gly His Asp Asn
1 5

<210> 434
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 434
His Gly Ala His Asp Asn
1 5

<210> 435
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 435
His Gly Ile His Asp Asn
1 5

<210> 436
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 436
His Gly Pro His Asp Asn
1 5

<210> 437
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 437
His Gly Trp His Asp Asn
1 5

<210> 438
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 438
His Gly Phe His Asp Asn
1 5

<210> 439
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 439
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 440
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 440
His Gly Ser Arg Asp Asn
1 5

<210> 441
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 441
His Gly Ser Thr Asp Asn
1 5

<210> 442
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 442
His Gly Ser Ala Asp Asn
1 5

<210> 443
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 443
His Gly Ser Val Asp Asn
1 5

<210> 444
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 444
His Gly Ser Leu Asp Asn
1 5

<210> 445
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 445
His Gly Ser Ile Asp Asn
1 5

<210> 446
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 446
His Gly Ser Phe Asp Asn
1 5

<210> 447
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 447

His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 448
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 448
His Gly Ser His Ser Asn
1 5

<210> 449
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 449
His Gly Ser His Tyr Asn
1 5

<210> 450
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 450
His Gly Ser His His Asn
1 5

<210> 451
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 451
His Gly Ser His Arg Asn
1 5

<210> 452
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 452
His Gly Ser His Asn Asn
1 5

<210> 453
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 453
His Gly Ser His Gly Asn
1 5

<210> 454
<211> 6

<212> PRT
<213> 人類

<400> 454
His Gly Ser His Ala Asn
1 5

<210> 455
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 455
His Gly Ser His Val Asn
1 5

<210> 456
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 456
His Gly Ser His Ile Asn
1 5

<210> 457
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 457
His Gly Ser His Asp Ser
1 5

<210> 458
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 458
His Gly Ser His Asp His
1 5

<210> 459
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 459
His Gly Ser His Asp Lys
1 5

<210> 460
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 460
His Gly Ser His Asp Arg
1 5

<210> 461
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 461
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 462
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 462
His Gly Ser His Asp Thr
1 5

<210> 463
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 463
His Gly Ser His Asp Gly
1 5

<210> 464
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 464
His Gly Ser His Asp Ala
1 5

<210> 465
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 465
His Gly Ser His Asp Leu
1 5

<210> 466
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 466
His Gly Ser His Asp Ile
1 5

<210> 467
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 467
His Gly Ser His Asp Pro
1 5

<210> 468
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 468
His Gly Ser His Asp Trp
1 5

<210> 469
<211> 6
<212> PRT
<213> 人類

<400> 469
His Gly Ser His Asp Phe
1 5

<210> 470
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 470
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Asp Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 471
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 471
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Cys Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 472
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 472
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 473
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 473
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Tyr Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 474
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 474
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Lys Asn Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 475
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 475
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Arg Asn Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 476
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 476
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Asn Asn Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 477
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 477
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Thr Asn Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 478
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 478
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Pro Asn Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 479
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 479
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asp Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 480
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 480

Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Glu Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 481
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 481
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Ser Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 482
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 482
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Tyr Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 483
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 483
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser His Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 484
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 484
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Lys Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 485
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 485
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 486
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 486
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Gln Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 487
 <211> 13

<212> PRT
<213> 人類

<400> 487
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Thr Thr Val Lys
1 5 10

<210> 488
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 488
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Gly Thr Val Lys
1 5 10

<210> 489
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 489
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Met Thr Val Lys
1 5 10

<210> 490
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 490
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Ile Thr Val Lys
1 5 10

<210> 491
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 491
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Asp Val Lys
1 5 10

<210> 492
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 492
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Cys Val Lys
1 5 10

<210> 493
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 493
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ser Val Lys
1 5 10

<210> 494
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 494
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Lys
1 5 10

<210> 495
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 495
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn His Val Lys
1 5 10

<210> 496
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 496
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Lys Val Lys
1 5 10

<210> 497
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 497
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Arg Val Lys
1 5 10

<210> 498
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 498
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Asn Val Lys
1 5 10

<210> 499
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 499
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Gln Val Lys
1 5 10

<210> 500
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 500
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 501
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 501
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ala Val Lys
1 5 10

<210> 502
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 502
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Val Val Lys
1 5 10

<210> 503
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 503
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Leu Val Lys
1 5 10

<210> 504
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 504
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ile Val Lys
1 5 10

<210> 505
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類

<400> 505
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Pro Val Lys
1 5 10

<210> 506
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 506
Asp Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 507
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 507
Glu Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 508
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 508
Cys Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 509
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 509
Ser Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 510
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 510
Tyr Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 511
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 511
His Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 512
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 512
Lys Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 513
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 513

Arg Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 514
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 514
Asn Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 515
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 515
Gln Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 516
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 516
Thr Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 517
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 517
Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 518
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 518
Ala Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 519
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 519
Val Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 520
<211> 7

<212> PRT
<213> 人類

<400> 520
Met Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 521
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 521
Leu Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 522
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 522
Ile Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 523
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 523
Pro Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 524
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 524
Trp Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 525
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 525
Phe Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 526
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 526
Gly Asn Asp Ser Arg Pro Ser
1 5

<210> 527
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 527
Gly Asn Asp Tyr Arg Pro Ser
1 5

<210> 528
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 528
Gly Asn Asp Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 529
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 529
Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 530
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 530
Gly Asn Asp Thr Arg Pro Ser
1 5

<210> 531
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 531
Gly Asn Asp Ala Arg Pro Ser
1 5

<210> 532
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 532
Gly Asn Asp Ile Arg Pro Ser
1 5

<210> 533
<211> 7
<212> PRT
<213> 人類

<400> 533
 Gly Asn Asp Pro Arg Pro Ser
 1 5

<210> 534
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 534
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 535
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 535
 Gln Ser Tyr Cys Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 536
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 536
 Gln Ser Tyr Ser Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 537
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 537
 Gln Ser Tyr Tyr Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 538
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 538
 Gln Ser Tyr Asn Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 539
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 539
 Gln Ser Tyr Gln Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 540
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 540
Gln Ser Tyr Thr Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 541
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 541
Gln Ser Tyr Gly Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 542
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 542
Gln Ser Tyr Ala Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 543
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 543
Gln Ser Tyr Leu Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 544
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 544
Gln Ser Tyr Ile Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 545
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 545
Gln Ser Tyr Trp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 546
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 546

Gln Ser Tyr Phe Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 547
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 547
 Gln Ser Tyr Asp Asp Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 548
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 548
 Gln Ser Tyr Asp Cys Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 549
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 549
 Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 550
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 550
 Gln Ser Tyr Asp Tyr Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 551
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 551
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 552
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 552
 Gln Ser Tyr Asp Asn Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 553
 <211> 12

<212> PRT
<213> 人類

<400> 553
Gln Ser Tyr Asp Gln Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 554
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 554
Gln Ser Tyr Asp Thr Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 555
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 555
Gln Ser Tyr Asp Gly Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 556
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 556
Gln Ser Tyr Asp Ala Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 557
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 557
Gln Ser Tyr Asp Val Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 558
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 558
Gln Ser Tyr Asp Met Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 559
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 559
Gln Ser Tyr Asp Leu Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 560
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 560
 Gln Ser Tyr Asp Ile Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 561
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 561
 Gln Ser Tyr Asp Pro Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 562
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 562
 Gln Ser Tyr Asp Trp Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 563
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 563
 Gln Ser Tyr Asp Arg Asp Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 564
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 564
 Gln Ser Tyr Asp Arg Cys Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 565
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 565
 Gln Ser Tyr Asp Arg Ser Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 566
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 566

Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 567

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 567

Gln Ser Tyr Asp Arg His Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 568

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 568

Gln Ser Tyr Asp Arg Arg Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 569

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 569

Gln Ser Tyr Asp Arg Asn Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 570

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 570

Gln Ser Tyr Asp Arg Gln Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 571

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 571

Gln Ser Tyr Asp Arg Thr Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 572

<211> 12

<212> PRT

<213> 人類

<400> 572

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 573
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 573
Gln Ser Tyr Asp Arg Ala Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 574
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 574
Gln Ser Tyr Asp Arg Val Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 575
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 575
Gln Ser Tyr Asp Arg Leu Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 576
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 576
Gln Ser Tyr Asp Arg Ile Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 577
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 577
Gln Ser Tyr Asp Arg Pro Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 578
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 578
Gln Ser Tyr Asp Arg Trp Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 579
<211> 12
<212> PRT
<213> 人類

<400> 579

Gln Ser Tyr Asp Arg Phe Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 580

<211> 48

<212> DNA

<213> 合成建構物

<223>

位置 16 至 34 之核苷酸可為任何核苷酸取代，
 以使隨機化之核苷酸代表 12%之序列

<400> 580

tgtcccttgg cccagtagt catagctccc actggtcgta cagtaata

48

<210> 581

<211> 35

<212> DNA

<213> 合成建構物

<400> 581

gacacctcga tcagcggata acaatttcac acagg

35

<210> 582

<211> 15

<212> DNA

<213> 合成建構物

<400> 582

tggggccaag ggaca

15

<210> 583

<211> 45

<212> DNA

<213> 合成建構物

<400> 583

attcgcccta taccgttcta ctttgcgtc tttccagacg ttagt

45

<210> 584

<211> 18

<212> DNA

<213> 合成建構物

<400> 584

attcgcccta taccgttc

18

<210> 585

<211> 66

<212> DNA

<213> 合成建構物

<223>

位置 28 至 42 之核苷酸可為任何核苷酸取代，
 以使隨機化之核苷酸代表 12%之序列

<400> 585

ggccccagtt ccgaagaccc tcgaaccctt caggctgctg tcatatgact ggcagtaata
 gtcagc

60
 66

<210> 586

<211> 15

<212> DNA

<213> 合成建構物

<400> 586
 tggggccaag ggaca 15

 <210> 587
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 合成建構物

 <400> 587
 tgaagagacg gtgaccattg tccc 24

 <210> 588
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> 合成建構物

 <400> 588
 gacacctcga tcagcg 16

 <210> 589
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> 合成建構物

 <400> 589
 gagtcattct cgacttgccg ccgcacctag gacggtcagc ttggtccc 48

 <210> 590
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人類

 <400> 590
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Ser Met Val
 1 5 10

 <210> 591
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

 <220>
 <223> Xaa 係由隨機化密碼子序列 NNS 編碼，其中 N
 係任何核苷酸，且 S 係去氧胞嘧啶或去氧脲

 <400> 591
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Thr Gly Ser Met Val
 1 5 10

 <210> 592
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

 <220>
 <223> Xaa 係由隨機化密碼子序列 NNS 編碼，其中 N
 係任何核苷酸，且 S 係去氧胞嘧啶或去氧脲

 <400> 592
 Gln Ser Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Met Val
 1 5 10

<210> 593
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人類

<220>
 <223> Xaa 係由隨機化密碼子序列 NNS 編碼，其中 N
 係任何核苷酸，且 S 係去氧胞嘧啶或去氧脲

<400> 593
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 594
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 594
 Glu Val Gln Leu Val 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 Asp His
 20 25 30
 Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg
 100

<210> 595
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 595
 Glu Val Gln Leu Val 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 Asp His
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Gln Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val
 35 40 45
 Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Arg Glu Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Leu Ala Val Tyr

<210>	598
<211>	98
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 598
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys

<210> 599
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 599
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Asn Trp Asn Gly Gly Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr His Cys
 85 90 95
 Ala Arg

<210> 600
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 600
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Leu Ile Ser Trp Asp 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 Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys

<210> 601

<211> 98

<212> PRT

<213> 人類

<400> 601

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

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

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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

<210> 602

<211> 98

<212> PRT

<213> 人類

<400> 602

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

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

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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

<210> 603
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 603
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Arg
 100

<210> 604
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 604
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr
 100

<210> 605
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 605

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

<210> 606
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 606
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr
 100

<210> 607
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 607
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala

50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr
 100

<210> 608
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 608
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr
 100

<210> 609
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 609
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr
 100

<210> 610
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 610
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Pro Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn His
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Gly Asp Ser Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn Ser Pro Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Lys

<210> 611
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 611
 Glu Val Gln Leu Val 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 Asn His
 20 25 30
 Tyr Thr Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ser Ser Gly Asn Ser Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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
 Val Lys

<210> 612
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 612
 Glu Val Gln Leu Val 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 Asn Ser
      20                      25                      30
Asp Met Asn Trp Val His Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35                      40                      45
Ser Gly Val Ser Trp Asn Gly Ser Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
      50                      55                      60
Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Thr Leu Tyr
      65                      70                      75                      80
Leu Gln Thr Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85                      90                      95
Val Arg

```

<210> 613
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 613
Glu Val Gln Leu Val 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 Asn Ser
      20                      25                      30
Asp Met Asn Trp Ala Arg Lys Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35                      40                      45
Ser Gly Val Ser Trp Asn Gly Ser Arg Thr His Tyr Val Asp Ser Val
      50                      55                      60
Lys Arg Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Ser Leu Tyr
      65                      70                      75                      80
Leu Gln Lys Asn Arg Arg Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
      85                      90                      95
Val Arg

```

<210> 614
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 614
Thr Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Glu Pro Gly Gly
  1                      5                      10                      15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ser
      20                      25                      30
Asp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35                      40                      45
Ser Gly Val Ser Trp Asn Gly Ser Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
      50                      55                      60

```

Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Phe Leu Tyr
 65 70 75 80
 Gln Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Arg

<210> 615
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 615
 Glu Val His Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ala Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Asn Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg

<210> 616
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 616
 Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg

<210> 617
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 617
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Gly Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg

<210> 618
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 618
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Gly Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg

<210> 619
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 619
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys

<210> 620
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 620
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Ser Asn 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
 Val Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Lys

<210> 621
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 621
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Ser Asn 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

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

Val Lys

<210>	622
<211>	98
<212>	PRT
<213>	人類

<400> 622
Glu Val Gln Leu Val 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 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

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

Ala Arg

<210>	623
<211>	98
<212>	2RT
<213>	人類

<400> 623
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 Gly Asp Ser Val
50 35 60

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

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

Ala Lys

<210> 624
<211> 98

<212> PRT
<213> 人類

<400> 624
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
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 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
55 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg

<210> 625
<211> 98
<212> PRT
<213> 人類

<400> 625
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
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 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 626
<211> 98
<212> PRT
<213> 人類

<400> 626
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
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 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 627
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 627
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 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 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 628
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 628
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 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 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 629
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 629
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 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 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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
 55 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 630
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 630
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 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 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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
 55 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 631
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 631
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 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 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 632
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 632
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 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 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 633
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 633
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Ser Asn 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 90

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

Val Lys

<210> 634
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 634
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Ser Ser Asn 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

<210> 635
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 635
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 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 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg

<210> 636
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 636

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

<210> 637
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 637

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 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 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys

<210> 638
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 638

Glu Val Gln Leu Val 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
 Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg

<210> 639
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 639
 Glu Val Gln Leu Val 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
 Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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

<210> 640
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 640
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Leu Arg Ala Arg Leu Cys Ile Thr Val
85 90 95

Arg Glu

<210> 641
<211> 98
<212> PRT
<213> 人類

<400> 641
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 642
<211> 98
<212> PRT
<213> 人類

<400> 642
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 643
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 643
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 644
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 644
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 645
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 645
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Leu Tyr
 55 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

<210> 646
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 646
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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
 55 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

<210> 647
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 647
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 648
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 648
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Gly Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 649
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 649
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val 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
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys

<210> 650
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 650

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

Ala Lys

<210> 651
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 651

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
  1              5              10              15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
              20              25              30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
              35              40              45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 652
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 652

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
  1              5              10              15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
```

```

                20                25                30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35                        40                        45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
      50                        55                        60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
      65                        70                        75                        80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85                        90                        95
Ala Lys

```

<210> 653
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 653
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
  1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
      20                25                30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35                        40                        45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Arg Lys
      85                        90                        95

```

<210> 654
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 654
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
  1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
      20                25                30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35                        40                        45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 655
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 655
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Ala
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Thr Asn Thr Leu Phe
 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

<210> 656
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 656
 Glu Val Gln Leu Val 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
 Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 657
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 657

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys 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

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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

<210> 658

<211> 97

<212> PRT

<213> 人類

<400> 658

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys 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

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

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

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

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

Arg

<210> 659

<211> 98

<212> PRT

<213> 人類

<400> 659

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys 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

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

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
35 90 95

Ala Arg

<210> 660

<211> 98

<212> PRT

<213> 人類

<400> 660

Glu Val Gln Leu Val 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

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

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
35 90 95

Ala Arg

<210> 661

<211> 97

<212> PRT

<213> 人類

<400> 661

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

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

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

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

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

Gln Met Asn Ser Leu Ile Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
35 90 95

Arg

<210> 662
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 662
 Glu Val Gln Leu Val 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
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
 35 40 45
 Ser Arg Ile Asn Ser Asp Gly Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala 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

<210> 663
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 663
 Glu Val Gln Leu Val 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
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
 35 40 45
 Ser Arg Ile Asn Ser Asp Gly Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala 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

<210> 664
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 664
 Glu Val Gln Leu Val 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
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35             40             45
Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
      50             55             60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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

```

<210> 665
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 665
Glu Val Gln Leu Val 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
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
      35             40             45
Ser Arg Ile Asn Ser Asp Gly Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Met
      50             55             60
Lys Gly Gln Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
      65             70             75             80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
      85             90             95

Thr Arg

```

<210> 666
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 666
Glu Val Gln Leu Val 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
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35             40             45
Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
      50             55             60

```

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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

<210> 667

<211> 98

<212> PRT

<213> 人類

<400> 667

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Thr

<210> 668

<211> 98

<212> PRT

<213> 人類

<400> 668

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

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95

Ser Ala

<210> 669
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 669
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asp Met Gly Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Glu Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Trp
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Thr Ser Pro
 85 90 95
 Arg Ala

<210> 670
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 670
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95
 Asn Gly

<210> 671
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

<400> 671
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15

```

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
      20                      25                      30
Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
      35                      40                      45
Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
      50                      55                      60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
      65                      70                      75                      80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
      85                      90                      95
Ser Gly

```

<210> 672
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 672
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Glu Ala Pro Arg Gln
  1                      5                      10                      15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
      20                      25                      30
Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
      35                      40                      45
Ile Tyr Tyr Asp Asp Leu Leu Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser
      50                      55                      60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
      65                      70                      75                      80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
      85                      90                      95
Asn Gly

```

<210> 673
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> 人類

```

<400> 673
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
  1                      5                      10                      15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
      20                      25                      30
Tyr Val Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
      35                      40                      45
Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Gln Phe
      50                      55                      60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu

```

[illegible]

<210>	674
<211>	99
<212>	PRT
<213>	人類

```
<400> 674
Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
  1                               10                      15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
      20                        25          30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
      35                          40              45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
   50                55            60

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
      85                  90              95

Leu Ser Gly
```

<210>	675
<211>	98
<212>	PRT
<213>	人類

```

<400> 675
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
  1                               10                      15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
      20                        25                      30

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
      35                        40                      45

Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
      50                        55                      60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
      65                        70                      75                      80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
      85                        90                      95

Arg Gly

```

發明專利說明書



(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：100149356

※ 申請日期：89.9.18

※IPC 分類：

C07K 16/24

(2006.01)

原申請案號：099128334

A61K 39/395

(2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

結合人類間白素-12之人類抗體及其製法

HUMAN ANTIBODIES THAT BIND HUMAN IL-12 AND METHODS
FOR PRODUCING

二、中文發明摘要：

本發明揭示可專一結合人類間白素-12(hIL-12)之人類抗體，較佳為重組人類抗體。較佳之抗體在試管內及活體內對hIL-12具有高親和性且中和hIL-12活性。本發明之抗體可為全長抗體或其抗原結合部分。本發明之抗體，或抗體部分，可用於偵測hIL-12，並用於抑制hIL-12活性，如，在罹患其中hIL-12活性係有害之疾病之人類對象體內。本發明亦涵括用於表現本發明重組人類抗體之核酸、載體、及宿主細胞，以及合成該等重組人類抗體之方法。

三、英文發明摘要：

Human antibodies, preferably recombinant human antibodies, that specifically bind to human interleukin-12 (hIL-12) are disclosed. Preferred antibodies have high affinity for hIL-12 and neutralize hIL-12 activity *in vitro* and *in vivo*. An antibody of the invention can be a full-length antibody or an antigen-binding portion thereof. The antibodies, or antibody portions, of the invention are useful for detecting hIL-12 and for inhibiting hIL-12 activity, e.g., in a human subject suffering from a disorder in which hIL-12 activity is detrimental. Nucleic acids, vectors and host cells for expressing the recombinant human antibodies of the invention, and methods of synthesizing the recombinant human antibodies, are also encompassed by the invention.

七、申請專利範圍：

1. 一種可結合人類IL-12之人類抗體或其抗原結合部分，其中該人類抗體係中和抗體。
2. 一種選擇性經突變之人類IL-12抗體，其包含：
一種人類抗體，或其抗原結合部分，其在較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置，以活性促進性胺基酸殘基選擇性進行突變，以使其可結合人類IL-12。
3. 一種選擇性經突變之人類IL-12抗體，其包含：
一種人類抗體，或其抗原結合部分，其在較佳之選擇性誘變位置，以活性促進性胺基酸殘基選擇性進行突變，以使其可結合人類IL-12。
4. 根據申請專利範圍第2項之選擇性經突變之人類IL-12抗體，其中該人類抗體，或其抗原結合部分，係在超過一個之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置，以活性促進性胺基酸殘基選擇性進行突變。
5. 根據申請專利範圍第4項之選擇性經突變之人類IL-12抗體，其中該人類抗體，或其抗原結合部分，係在不超過三個較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置選擇性進行突變。
6. 根據申請專利範圍第4項之選擇性經突變之人類IL-12抗體，其中該人類抗體，或其抗原結合部分，係在不超過兩個較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置選擇性進行突變。
7. 根據申請專利範圍第2項之選擇性經突變之人類IL-12抗

體，其中該人類抗體，或其抗原結合部分，係選擇性經突變以取得目標專一性親和水準，該目標水準係改良超越使用噬菌體展示技術選擇對抗相同抗原之抗體時可取得者。

8. 根據申請專利範圍第7項之選擇性經突變之人類IL-12抗體，其中該選擇性經突變之人類抗體尚保留至少一種所欲之特性或特徵。
9. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖。
10. 根據申請專利範圍第9項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其係以 $1 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之PHA分析中以 $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。
11. 根據申請專利範圍第9項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其係以 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之PHA分析中以 $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。
12. 根據申請專利範圍第9項之分離之人類抗體或其抗原結

合部分，其係以 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類 IL-12 分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之 PHA 分析中以 $1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。

13. 根據申請專利範圍第 9 項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其係以 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類 IL-12 分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之 PHA 分析中以 $1 \times 10^{-10} \text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。

14. 根據申請專利範圍第 9 項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其係以 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 或以下之 k_{off} 速率常數與人類 IL-12 分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之 PHA 分析中以 $1 \times 10^{-11} \text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖。

15. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 在試管中之 PHA 分析中以 $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 具有含序列編號 NO: 1 胺基酸序列之重鏈 CDR3；且

c) 具有含序列編號 NO: 2 胺基酸序列之輕鏈 CDR3。

16. 根據申請專利範圍第 15 項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其尚具有含序列編號 NO: 3 胺基酸序列之重鏈 CDR2；且具有含序列編號 NO: 4 胺基酸序列之輕鏈 CDR2。

17. 根據申請專利範圍第15項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其尚具有含序列編號NO: 5胺基酸序列之重鏈CDR1；且具有含序列編號NO: 6胺基酸序列之輕鏈CDR1。
18. 根據申請專利範圍第16項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其具有含序列編號NO: 7胺基酸序列之重鏈可變區；且具有含序列編號NO: 8胺基酸序列之輕鏈可變區。
19. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其具有下列特徵：
 - a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；
 - b) 具有含序列編號NO: 9胺基酸序列之重鏈CDR3；且
 - c) 具有含序列編號NO: 10胺基酸序列之輕鏈CDR3。
20. 根據申請專利範圍第19項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其尚具有含序列編號NO: 11胺基酸序列之重鏈CDR2；且具有含序列編號NO: 12胺基酸序列之輕鏈CDR2。
21. 根據申請專利範圍第19項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其尚具有含序列編號NO: 13胺基酸序列之重鏈CDR1；且具有含序列編號NO: 14胺基酸序列之輕鏈CDR1。
22. 根據申請專利範圍第19項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其具有含序列編號NO: 15胺基酸序列之重鏈可

變區；且具有含序列編號NO: 16胺基酸序列之輕鏈可變區。

23. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 具有含序列編號NO: 17胺基酸序列之重鏈CDR3；且

c) 具有含序列編號NO: 18胺基酸序列之輕鏈CDR3。

24. 根據申請專利範圍第23項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其尚具有含序列編號NO: 19胺基酸序列之重鏈CDR2；以及含序列編號NO: 20胺基酸序列之輕鏈CDR2。

25. 根據申請專利範圍第23項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其尚具有含序列編號NO: 21胺基酸序列之重鏈CDR1；以及含序列編號NO: 22胺基酸序列之輕鏈CDR1。

26. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其具有含序列編號NO: 23胺基酸序列之重鏈可變區，以及含序列編號NO: 24胺基酸序列之輕鏈可變區。

27. 根據申請專利範圍第26項之分離之人類抗體，其含有一重鏈恆定區，選自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、及IgE恆定區。

28. 根據申請專利範圍第27項之分離之人類抗體，其中該抗體重鏈恆定區係IgG1。

29. 根據申請專利範圍第26項之分離之人類抗體，其係一

Fab片段。

30. 根據申請專利範圍第26項之分離之人類抗體，其係一F(ab')₂片段。

31. 根據申請專利範圍第26項之分離之人類抗體，其係一單鏈Fv片段。

32. 一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 具有含選自序列編號NO: 404 -序列編號NO: 469胺基酸序列之重鏈CDR3；且

c) 具有含選自序列編號NO: 534 -序列編號NO: 579胺基酸序列之輕鏈CDR3。

33. 根據申請專利範圍第32項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其尚具有含選自序列編號NO: 335 -序列編號NO: 403胺基酸序列之重鏈CDR2；或是含選自序列編號NO: 506 -序列編號NO: 533胺基酸序列之輕鏈CDR2。

34. 根據申請專利範圍第32項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其尚具有含選自序列編號NO: 288 -序列編號NO: 334胺基酸序列之重鏈CDR1；或是含選自序列編號NO: 470 -序列編號NO: 505胺基酸序列之輕鏈CDR1。

35. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其具有含序列編號NO: 23胺基酸序列之重鏈可變區；以及含序列編號NO: 24胺基酸序列之輕鏈可變區。

36. 根據申請專利範圍第35項之分離之人類抗體，其含有一

重鏈恆定區，選自 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、及 IgE 恆定區。

37. 根據申請專利範圍第36項之分離之人類抗體，其中該抗體重鏈恆定區係IgG1。
38. 根據申請專利範圍第35項之分離之人類抗體，其係一Fab片段。
39. 根據申請專利範圍第35項之分離之人類抗體，其係一F(ab')₂片段。
40. 根據申請專利範圍第35項之分離之人類抗體，其係一單鏈Fv片段。
41. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其：
 - a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M 或以下之IC₅₀ 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；
 - b) 具有含序列編號NO: 25胺基酸序列之重鏈CDR3；且
 - c) 具有含序列編號NO: 26胺基酸序列之輕鏈CDR3。
42. 根據申請專利範圍第41項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其尚具有含序列編號NO: 27胺基酸序列之重鏈CDR2；以及含序列編號NO: 28胺基酸序列之輕鏈CDR2。
43. 根據申請專利範圍第41項之分離之人類抗體或其抗原結合部分，其尚具有含序列編號NO: 29胺基酸序列之重鏈CDR1；以及含序列編號NO: 30胺基酸序列之輕鏈CDR1。
44. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其具有含序列

編號NO: 31胺基酸序列之重鏈可變區，以及含序列編號NO: 32胺基酸序列之輕鏈可變區。

45. 根據申請專利範圍第44項之分離之人類抗體，其含有一重鏈恆定區，選自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、及IgE恆定區。

46. 根據申請專利範圍第45項之分離之人類抗體，其中該抗體重鏈恆定區係IgG1。

47. 根據申請專利範圍第44項之分離之人類抗體，其係一Fab片段。

48. 根據申請專利範圍第44項之分離之人類抗體，其係一F(ab')₂片段。

49. 根據申請專利範圍第44項之分離之人類抗體，其係一單鏈Fv片段。

50. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-6} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 含有含序列編號NO: 1胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 3胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 5胺基酸序列之重鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 1胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 3胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 5胺基酸序列之重鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之k_{off}速率；且

c) 含有含序列編號NO: 2胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 4胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 6胺基酸序列之輕鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 2胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 4胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 6胺基酸序列之輕鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率。

51. 一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 含有含序列編號NO: 9胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 11胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 13胺基酸序列之重鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 9胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 11胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 13胺基酸序列之重鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率；且

c) 含有含序列編號NO: 10胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 12胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 14胺基酸序列之輕鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 10胺基酸序列之輕鏈

CDR3、含序列編號NO: 12胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 14胺基酸序列之輕鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率。

52. 一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其：

a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之 IC_{50} 值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；

b) 含有含序列編號NO: 17胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 19胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 21胺基酸序列之重鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 17胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 19胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 21胺基酸序列之重鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率；且

c) 含有含序列編號NO: 18胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 20胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 22胺基酸序列之輕鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 18胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 20胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 22胺基酸序列之輕鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率。

53. 一種分離之核酸，其編碼含序列編號NO: 17胺基酸序列之重鏈CDR3。

54. 根據申請專利範圍第53項之分離之核酸，其編碼一抗體重鏈可變區。
55. 根據申請專利範圍第54項之分離之核酸，其中該抗體重鏈可變區之CDR2含序列編號NO: 19胺基酸序列。
56. 根據申請專利範圍第54項之分離之核酸，其中該抗體重鏈可變區之CDR1含序列編號NO: 21胺基酸序列。
57. 根據申請專利範圍第56項之分離之核酸，其編碼含序列編號NO: 23胺基酸序列之抗體重鏈可變區。
58. 一種分離之核酸，其編碼含序列編號NO: 18胺基酸序列之輕鏈CDR3。
59. 根據申請專利範圍第58項之分離之核酸，其編碼一抗體輕鏈可變區。
60. 根據申請專利範圍第59項之分離之核酸，其中該抗體輕鏈可變區之CDR2含序列編號NO: 20胺基酸序列。
61. 根據申請專利範圍第59項之分離之核酸，其中該抗體輕鏈可變區之CDR1含序列編號NO: 22胺基酸序列。
62. 根據申請專利範圍第61項之分離之核酸，其編碼含序列編號NO: 24胺基酸序列之抗體輕鏈可變區。
63. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其：
- a) 在試管中之PHA分析中以 1×10^{-9} M或以下之IC₅₀值抑制植物血球凝集素母細胞增殖；
- b) 含有含序列編號NO: 25胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 27胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 29胺基酸序列之重鏈CDR1，或其突變體，在接

觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 25胺基酸序列之重鏈CDR3、含序列編號NO: 27胺基酸序列之重鏈CDR2、以及含序列編號NO: 29胺基酸序列之重鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率；且

c) 含有含序列編號NO: 26胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 28胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 30胺基酸序列之輕鏈CDR1，或其突變體，在接觸位置或超變位置具有一或多個胺基酸取代，其中該突變體相較於該含有含序列編號NO: 26胺基酸序列之輕鏈CDR3、含序列編號NO: 28胺基酸序列之輕鏈CDR2、以及含序列編號NO: 30胺基酸序列之輕鏈CDR1之抗體，具有不超過十倍較高之 k_{off} 速率。

64. 一種分離之核酸，其編碼含序列編號NO: 25胺基酸序列之重鏈CDR3。
65. 根據申請專利範圍第64項之分離之核酸，其編碼一抗體重鏈可變區。
66. 根據申請專利範圍第65項之分離之核酸，其中該抗體重鏈可變區之CDR2含序列編號NO: 27胺基酸序列。
67. 根據申請專利範圍第65項之分離之核酸，其中該抗體重鏈可變區之CDR1含序列編號NO: 29胺基酸序列。
68. 根據申請專利範圍第67項之分離之核酸，其編碼含序列編號NO: 31胺基酸序列之抗體重鏈可變區。
69. 一種分離之核酸，其編碼含序列編號NO: 26胺基酸序列

之輕鏈CDR3。

70. 根據申請專利範圍第69項之分離之核酸，其編碼一抗體輕鏈可變區。

71. 根據申請專利範圍第70項之分離之核酸，其中該抗體輕鏈可變區之CDR2含序列編號NO: 28胺基酸序列。

72. 根據申請專利範圍第70項之分離之核酸，其中該抗體輕鏈可變區之CDR1含序列編號NO: 30胺基酸序列。

73. 根據申請專利範圍第72項之分離之核酸，其編碼含序列編號NO: 32胺基酸序列之抗體重鏈可變區。

74. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖，

b) 具有一重鏈可變區，含選自VH3種系族群成員之胺基酸序列，其中該重鏈可變區在接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變，

c) 具有一輕鏈可變區，含選自V λ 1種系族群成員之胺基酸序列，其中該輕鏈可變區在接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

75. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 $1 \times 10^{-6}\text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖，

b) 具有一重鏈可變區，含選自序列編號NOs: 595-667之胺基酸序列，其中該重鏈可變區在接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變，

c) 具有一輕鏈可變區，含選自序列編號NOs: 669-675之胺基酸序列，其中該輕鏈可變區在接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

76. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 $1 \times 10^{-6}\text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖，

b) 具有一重鏈可變區，含COS-3種系胺基酸序列，其中該重鏈可變區在接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變，

c) 具有一輕鏈可變區，含DPL8種系胺基酸序列，其中該輕鏈可變區在接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

77. 一種分離之人類抗體，或其抗原結合部分，其具有下列特徵：

a) 可結合人類IL-12，且以 0.1 s^{-1} 或以下之 k_{off} 速率常數與人類IL-12分離(以表面細胞質基因組共振測定)，或其可在試管中之植物血球凝集素母細胞增殖分析(PHA分析)中，以 $1 \times 10^{-6}\text{ M}$ 或以下之 IC_{50} 值，抑制植物血球凝集素母細胞增殖，

b) 具有一重鏈可變區，含選自VH3種系族群成員之胺基酸序列，其中該重鏈可變區含有結構類似其他VH3種系族群成員CDR2s之CDR2，以及結構類似其他VH3種系族群成員CDR1s之CDR1，且其中該重鏈可變區在接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變，

c) 具有一輕鏈可變區，含選自V λ 1種系族群成員之胺基酸序列，其中該輕鏈可變區含有結構類似其他V λ 1種系族群成員CDR2s之CDR2，以及結構類似其他V λ 1種系族群成員CDR1s之CDR1，且其中該輕鏈可變區在接觸位置或超變位置，具有一活性促進性胺基酸殘基之突變。

78. 根據申請專利範圍第74、75、76、或77項之分離之人類抗體，其中該突變係位於重鏈CDR3中。

79. 根據申請專利範圍第74、75、76、或77項之分離之人類抗體，其中該突變係位於輕鏈CDR3中。

80. 根據申請專利範圍第74、75、76、或77項之分離之人類抗體，其中該突變係位於重鏈CDR2中。

81. 根據申請專利範圍第74、75、76、或77項之分離之人類

抗體，其中該突變係位於輕鏈CDR2中。

82. 根據申請專利範圍第74、75、76、或77項之分離之人類

抗體，其中該突變係位於重鏈CDR1中。

83. 根據申請專利範圍第74、75、76、或77項之分離之人類

抗體，其中該突變係位於輕鏈CDR1中。

84. 一種重組表現載體，其編碼：

a) 一抗體重鏈，其具有含序列編號NO: 31胺基酸序列之可變區；以及

b) 一抗體輕鏈，其具有含序列編號NO: 32胺基酸序列之可變區。

85. 一種宿主細胞，其中已引入根據申請專利範圍第84項之重組表現載體。

86. 一種合成可結合人類IL-12之人類抗體之方法，其包含在培養基中培養根據申請專利範圍第85項之宿主細胞，直到細胞合成可結合人類IL-12之人類抗體。

87. 一種分離之人類抗體或其抗原結合部分，其可中和人類IL-12及至少一種其他靈長類動物IL-12（其選自狒狒IL-12、小猿IL-12、黑猩猩IL-12、獼猴IL-12、及恆河猴IL-12）之活性，但其不中和小鼠IL-12之活性。

88. 一種醫藥組合物，其含有根據申請專利範圍第1-52、74-83、及87項中任一項之抗體或其抗原結合部分，以及一種醫藥可接受之載體。

89. 一種組合物，其含有根據申請專利範圍第1-52、74-83、及87項中任一項之抗體或其抗原結合部分，以及一種額

外之試劑。

90. 根據申請專利範圍第89項之組合物，其中該額外之試劑係療劑。

91. 根據申請專利範圍第89項之組合物，其中該療劑係選自布丹諾賽(budenoside)，表皮生長因子，皮質類固醇，環胞菌素，色法沙拉辛(sulfasalazine)，胺基水楊酸，6-巰基嘌呤，硫唑嘌呤(azathioprine)，甲硝達唑(metronidazole)，脂肪氧合酶抑制劑，胺水楊酸(mesalamine)，奧柳氮(olsalazine)，巴沙拉賽(balsalazide)，抗氧化劑，凝血噁烷抑制劑，IL-1受體拮抗劑，抗-IL-1 β 單株抗體，抗-IL-6單株抗體，生長因子，彈性蛋白酶抑制劑，吡啶基咪唑化合物，TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-II、GM-CSF、FGF、及PDGF之抗體或拮抗劑，CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD90或其配位體之抗體，胺甲蝶呤，環胞菌素，FK506，納巴黴素(rapamycin)，黴酚酸莫非第(mycophenolate mofetil)，來氟洛米(leflunomide)，NSAID，異丁苯丙酸(ibuprofen)，皮質類固醇，脫氫皮質類固醇，磷酸二酯酶抑制劑，腺索辛(adenosine)拮抗劑，抗凝劑，補體抑制劑，腎上腺素能劑，IRAK，NIK，IKK，p38，MAP激酶抑制劑，IL-1 β 轉化酶抑制劑，TNF α 轉化酶抑制劑，T-細胞信號抑制劑，金屬蛋白酶抑制劑，色法沙拉辛(sulfasalazine)，硫

唑嘌呤(azathioprine)，6-巯基嘌呤，血管緊張肽轉化酶抑制劑，可溶性細胞因子受體，可溶性p55受體，可溶性p75 TNF受體，sIL-1RI，sIL-1RII，sIL-6R，抗炎性細胞因子，IL-4，IL-10，IL-11，IL-13，及TGF β 。

92. 根據申請專利範圍第90項之醫療組合物，其中該療劑係選自抗-TNF抗體，TNFR-Ig建構物，TACE抑制劑，PDE4抑制劑，皮質類固醇，布丹諾賽(budenoside)，地塞米松(dexamethasone)，色法沙拉辛(sulfasalazine)，5-胺基水楊酸，奧柳氮(olsalazine)，IL-1 β 轉化酶抑制劑，IL-1ra，酪胺酸激酶抑制劑，6-巯基嘌呤，及IL-11。

93. 根據申請專利範圍第90項之醫療組合物，其中該療劑係選自皮質類固醇，脫氫皮質類固醇，甲基脫氫皮質類固醇，硫唑嘌呤(azathioprine)，環磷醯胺，環孢菌素，胺甲蝶呤，4-胺基吡啶，替扎尼定(tizanidine)，干擾素- β 1a，干擾素- β 1b，共聚合物1(Copolymer 1)，高壓氧，靜脈內免疫球蛋白，克拉必並(clabribine)，TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-II、GM-CSF、FGF、及PDGF之抗體或拮抗劑，CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD90或其配位體之抗體，胺甲蝶呤，環孢菌素，FK506，納巴黴素(rapamycin)，黴酚酸莫非第(mycophenolate mofetil)，來氟洛米(leflunomide)，NSAID，異丁苯丙酸(ibuprofen)，皮質類固醇，脫氫皮質類固醇，磷酸二酯酶抑制劑，腺索辛

(adenosine)拮抗劑，抗凝劑，補體抑制劑，腎上腺素能劑，IRAK，NIK，IKK，p38，或MAP激酶抑制劑，IL-1 β 轉化酶抑制劑，TEAC抑制劑，T-細胞信號抑制劑，激酶抑制劑，金屬蛋白酶抑制劑，色法沙拉辛(sulfasalazine)，硫唑嘌呤(azathioprine)，6-巰基嘌呤，血管緊張肽轉化酶抑制劑，可溶性細胞因子受體，可溶性p55受體，可溶性p75 TNF受體，sIL-1RI，sIL-1RII，sIL-6R，抗炎性細胞因子，IL-4，IL-10，IL-13，及TGF β 。

94. 一種抑制人類IL-12活性之方法，其包含使人類IL-12接觸根據申請專利範圍第44項之抗體，以抑制人類IL-12活性。
95. 一種在罹患其中IL-12活性係有害之疾病之人類對象體內抑制人類IL-12活性之方法，其包含對該人類對象投藥根據申請專利範圍第44項之抗體，以抑制該人類對象體內之人類IL-12活性。
96. 根據申請專利範圍第95項之方法，其中該疾病係選自風濕性關節炎、骨關節炎、幼年慢性關節炎、萊姆關節炎、牛皮癬性關節炎、反應性關節炎、椎關節病、系統紅斑性狼瘡、局部性迴腸炎、潰瘍性結腸炎、炎症性腸病、多重硬化症、胰島素依賴性糖尿病、甲狀腺炎、氣喘、過敏疾病、牛皮癬、硬化性皮炎、甲狀腺炎、移植物抗宿主疾病、器官移植排斥、與器官移植相關之急性或慢性免疫疾病、類肉瘤病、動脈硬化、散布性血管內

凝血、Kawasaki氏症、凸眼性甲狀腺腫、腎變病症候群、慢性疲憊症候群、結節性多動脈炎、Wegener氏肉芽腫病、Henoch-Schoenlein氏紫癍病、腎臟之微脈管炎、慢性活動性肝炎、葡萄膜炎、敗血症、敗血性休克、敗血病症候群、成人呼吸困難症候群、惡病質、感染性疾病、寄生性疾病、後天免疫不全症候群、急性橫貫性脊髓炎、亨丁頓氏舞蹈症、帕金森氏症、阿茲海默症、中風、原發性膽汁性硬變、纖維變性肺病、溶血性貧血、惡性病、心臟衰竭、及心肌梗塞。

97. 根據申請專利範圍第95項之方法，其中該疾病係局部性迴腸炎。

98. 根據申請專利範圍第95項之方法，其中該疾病係多重硬化症。

99. 根據申請專利範圍第95項之方法，其中該疾病係風濕性關節炎。

100. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性以取得預定目標活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；

b) 選擇一較佳之選擇性誘變位置，其選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94；

c) 將選擇之較佳選擇性誘變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出第一組突變抗體或其抗原結合部分；

d) 評估第一組突變抗體或其抗原結合部分之活性，以測定單一選擇性誘變位置之突變是否產生具有預定目標活性或是部分目標活性之抗體或其抗原結合部分；

e) 以逐步進行之方式，在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；

f) 評估結合抗體或其抗原結合部分之活性，以測定該結合抗體或其抗原結合部分是否具有預定目標活性或是部分目標活性；

g) 如步驟d)或f)並未產生具有預定目標活性之抗體或其抗原結合部分，或是產生僅具有部分活性之抗體，使選自H35、H50、H53、H54、H95、H96、H97、H98、L30A、及L96之額外胺基酸殘基突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出第二組突變抗體或其抗原結合部分；

h) 評估第二組突變抗體或其抗原結合部分之活性，以測定選自H35、H50、H53、H54、H95、H96、H97、H98、L30A、及L96之單一胺基酸殘基突變是否產生具有預定目標活性或是部分目標活性之抗體或其抗原結合部分；

i) 以逐步進行之方式，在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之步驟g)個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；

j) 評估結合抗體或其抗原結合部分之活性，以測定該

結合抗體或其抗原結合部分是否具有預定目標活性或是部分目標活性；

k) 如步驟h)或j)並未產生具有預定目標活性之抗體或其抗原結合部分，或是產生僅具有部分活性之抗體，使選自H33B、H52B、及L31A之額外胺基酸殘基突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出第三組突變抗體或其抗原結合部分；

l) 評估第三組突變抗體或其抗原結合部分之活性，以測定選自H33B、H52B、及L31A之單一胺基酸殘基突變是否產生具有預定目標活性或是部分目標活性之抗體或其抗原結合部分；

m) 以逐步進行之方式，在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之步驟k)個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；

n) 評估結合抗體或其抗原結合部分之活性，以測定該結合抗體或其抗原結合部分是否具有預定目標活性或是部分目標活性，因而產生具有預定目標活性之抗體或其抗原結合部分。

101. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性；

e) 對至少一個其他之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置重複步驟b)至d)；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

102. 根據申請專利範圍第101項之方法，其中該接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96。

103. 根據申請專利範圍第101項之方法，其中該超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及L93。

104. 根據申請專利範圍第101項之方法，其中該較佳選擇性誘變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、

L94。

105. 根據申請專利範圍第101項之方法，其中該接觸位置係選自L50及L94。

106. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性並未在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性；

e) 對至少一個其他接觸或超變位置重複步驟b)至d)；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合顯示具有改良活性之個別突變，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

107. 根據申請專利範圍第106項之方法，其中該接觸位置係

選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96。

108. 根據申請專利範圍第 106 項之方法，其中該超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及 L93。

109. 根據申請專利範圍第 106 項之方法，其中該較佳選擇性誘變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94。

110. 根據申請專利範圍第 106 項之方法，其中該接觸位置係選自 L50 及 L94。

111. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在適當之表現系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗

體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵，其中該特性或特徵係須要保留在該抗原中者；

直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

112. 根據申請專利範圍第111項之方法，其中該接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

113. 根據申請專利範圍第111項之方法，其中該超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及L93，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

114. 根據申請專利範圍第111項之方法，其中該較佳選擇性誘變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、

H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、及L94，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

115. 根據申請專利範圍第111項之方法，其中該接觸位置係選自L50及L94，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

116. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺

基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵，其中該特性或特徵係須要保留在該抗原中者；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分；

f) 對至少一個其他較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置重複步驟a)至e)；

g) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

h) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

117. 根據申請專利範圍第116項之方法，其中該接觸位置係選自H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

118. 根據申請專利範圍第116項之方法，其中該超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及L93，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。
119. 根據申請專利範圍第116項之方法，其中該較佳選擇性誘變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、及L94，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。
120. 根據申請專利範圍第116項之方法，其中該接觸位置係選自 L50及L94，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。
121. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：
- a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；
 - b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之接觸或超

變位置進行突變，因而辨識出選擇之接觸或超變位置；

c) 將該選擇之接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵，其中該特性或特徵係須要保留在該抗原中者；

直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

122. 根據申請專利範圍第121項之方法，其中該接觸位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

123. 根據申請專利範圍第121項之方法，其中該超變位置係選自 H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、及L93，且其中該其他特性或特徵係選

自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

124. 根據申請專利範圍第121項之方法，其中該接觸位置係選自L50及L94，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

125. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一較佳之選擇性誘變位置、接觸或超變位置進行突變，因而辨識出選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置；

c) 將該選擇之較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗

體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵，其中該特性或特徵係須要保留在該抗原中者；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

f) 對至少一個其他較佳選擇性誘變位置、接觸或超變位置重複步驟a)至e)；

g) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

h) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

126. 根據申請專利範圍第125項之方法，其中該接觸位置係選自H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

127. 根據申請專利範圍第125項之方法，其中該超變位置係選自H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、

L31、L32、L53、及L93，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

128. 根據申請專利範圍第125項之方法，其中該較佳選擇性誘變位置係選自H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、及L94，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

129. 根據申請專利範圍第125項之方法，其中該接觸位置係選自L50及L94，且其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

130. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化；

直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

131. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 對至少一個其他CDR位置重複步驟b)至d)，該位置

既非根據 b) 所選擇之位置，亦非位於 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96 之位置；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良活性之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

132. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一重組母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96 之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之接觸或超變位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合

部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

133. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 對CDR中至少一個其他位置重複步驟b)至d)，該位置既非根據b)所選擇之位置，亦非位於H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94之位置；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良活性之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

134. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性且不影響其他特性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗

體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化，其中該特性或特徵係需要保留者；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性及保留特徵或特性之抗體或其抗原結合部分。

135. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化；

f) 對至少一個其他CDR位置重複步驟b)至e)，該位置

既非根據 b) 所選擇之位置，亦非位於 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96 之位置。

g) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良之活性，且不影響至少一種其他特性或特徵之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成具有至少一種保留特性或特徵之結合抗體或其抗原結合部分；及

h) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性，以及至少一種其他特徵或特性之保留；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

136. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外 H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及 L96 之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗體或其抗原結合部分之至少一種其他特性或特徵之變化；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良活性之抗體或其抗原結合部分。

137. 一種改良抗體或其抗原結合部分之活性之方法，其包含：

a) 提供一母抗體或其抗原結合部分；其係在噬菌體展示系統中篩選而取得，但其活性無法在該噬菌體展示系統中以誘變法進一步改良；

b) 在互補性決定區(CDR)中，選擇一除外H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之胺基酸殘基進行突變；

c) 將該選擇之位置分別突變為至少兩種其他胺基酸殘基，因而創造出一組突變抗體或其抗原結合部分，並在非噬菌體展示系統中表現該組；

d) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估該組突變抗

體或其抗原結合部分之活性，因而辨識出活性促進性胺基酸殘基；

e) 對至少一個其他CDR位置重複步驟b)至d)，該位置既非根據b)所選擇之位置，亦非位於H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、及L96之位置；

f) 在母抗體或其抗原結合部分中，結合至少兩個顯示具有改良之活性，且不影響至少一種其他特性或特徵之個別活性促進性胺基酸殘基，以形成具有至少一種保留特性或特徵之結合抗體或其抗原結合部分；及

g) 相對於母抗體或其抗原結合部分，評估具有兩個活性促進性胺基酸殘基之結合抗體或其抗原結合部分之活性，以及至少一種其他特徵或特性之保留；直到取得相對於母抗體或其抗原結合部分具有改良之活性，以及至少一種保留之特性或特徵之抗體或其抗原結合部分。

138. 根據申請專利範圍第130、131、132、133、134、135、136、或137項之方法，其中該其他特性或特徵係選自保留與其他蛋白之非交叉作用性；保留與其他人類組織之非交叉作用性；保留抗原表位之辨識；及具有近似種系免疫球蛋白序列之抗體。

139. 一種偵測人類IL-12之方法，其包含使人類IL-12接觸根據申請專利範圍第1-52、74-83、及87項中任一項之抗體

或其抗原結合部分，以抑制人類IL-12活性。

140. 根據申請專利範圍第139項之方法，其中該人類IL-12係在試管內偵測。

141. 根據申請專利範圍第139項之方法，其中該人類IL-12係在生物樣本中為診斷目的而偵測。

142. 根據申請專利範圍第1-52、74-83、及87項中任一項之抗體或其抗原結合部分，其用於治療。

143. 根據申請專利範圍第1-52、74-83、及87項中任一項之抗體或其抗原結合部分，其用於製造治療其中IL-12活性係有害之疾病用之藥物。

144. 根據申請專利範圍第143項之抗體或其抗原結合部分，其中該疾病係選自風濕性關節炎、骨關節炎、幼年慢性關節炎、萊姆關節炎、牛皮癬性關節炎、反應性關節炎、椎關節病、系統紅斑性狼瘡、局部性迴腸炎、潰瘍性結腸炎、炎症性腸病、多重硬化症、胰島素依賴性糖尿病、甲狀腺炎、氣喘、過敏疾病、牛皮癬、硬化性皮炎、甲狀腺炎、移植物抗宿主疾病、器官移植排斥、與器官移植相關之急性或慢性免疫疾病、類肉瘤病、動脈硬化、散布性血管內凝血、Kawasaki氏症、凸眼性甲狀腺腫、腎變病症候群、慢性疲憊症候群、結節性多動脈炎、Wegener氏肉芽腫病、Henoch-Schoenlein氏紫癜病、腎臟之微脈管炎、慢性活動性肝炎、Sjögren氏症候群、葡萄膜炎、敗血症、敗血性休克、敗血病症候群、成人呼吸困難症候群、惡病質、感染性疾病、寄生性疾

病、後天免疫不全症候群、急性橫貫性脊髓炎、亨丁頓氏舞蹈症、帕金森氏症、阿茲海默症、中風、原發性膽汁性硬變、纖維變性肺病、溶血性貧血、惡性病、心臟衰竭、及心肌梗塞。

145. 根據申請專利範圍第143項之抗體或其抗原結合部分，其中該疾病係局部性迴腸炎。

146. 根據申請專利範圍第143項之抗體或其抗原結合部分，其中該疾病係多重硬化症。

147. 根據申請專利範圍第143項之抗體或其抗原結合部分，其中該疾病係風濕性關節炎。

八、圖式：

圖 1A. 重鏈可變區序列

[illegible]

- 2 -

序列編號 NO:	Kabat 編號	CDR H2										CDR H3																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
		50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																															
33	JOE9wt VH																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												

圖 1C. 輕鏈可變區序列

序列編號	Kabat 編號	CDR L1										CDR L2																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																							
		NO:	Joe9 VL wt	34	36	38	40	42	44	46	48	50	52	54	56																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
			Dp18 Lv1042/JA1																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																

圖 1D. 輕鏈可變區序列

序列編號	Kabat 編號	CDR L3
34	Joe9 VL wt	97
36	Dpl8 Lvl042/Jλ1	96
38	70-1 VL	95C
40	78-34 VL	95B
42	79-1 VL	95A
44	101-11 VL	95
46	26-1 VL	94
48	136-15 VL	93
50	136-15 VL 種系	92
52	149-5 VL	91
54	149-6 VL	90
56	103-4 VL	89
58	103-8 VL	88
60	103-14 VL	87
62	G6 VL	86
64	Y139 VL	85
66	A03 VL	84
68	A03 VL 種系	83
24	Y61 VL	82
70	Y61 VL 種系	81
72	Y61-H31E VL	80
74	Y61-L50Y VL	79
76	Y61-L94Y VL	78
32	J695 VL	77
		76
		75
		74
		73
		72
		71
		70
		69
		68
		67
		66
		65
		64
		63
		62
		61
		60
		59
		58
		57
		56
		55
		54
		53
		52
		51
		50
		49
		48
		47
		46
		45
		44
		43
		42
		41
		40
		39
		38
		37
		36
		35
		34
		33
		32
		31
		30
		29
		28
		27
		26
		25
		24
		23
		22
		21
		20
		19
		18
		17
		16
		15
		14
		13
		12
		11
		10
		9
		8
		7
		6
		5
		4
		3
		2
		1
		0
		107
		106A
		106
		105
		104
		103
		102
		101
		100
		99
		98
		97
		96
		95C
		95B
		95A
		95
		94
		93
		92
		91
		90
		89
		88
		87
		86
		85
		84
		83
		82
		81
		80
		79
		78
		77
		76
		75
		74
		73
		72
		71
		70
		69
		68
		67
		66
		65
		64
		63
		62
		61
		60
		59
		58
		57
		56
		55
		54
		53
		52
		51
		50
		49
		48
		47
		46
		45
		44
		43
		42
		41
		40
		39
		38
		37
		36
		35
		34
		33
		32
		31
		30
		29
		28
		27
		26
		25
		24
		23
		22
		21
		20
		19
		18
		17
		16
		15
		14
		13
		12
		11
		10
		9
		8
		7
		6
		5
		4
		3
		2
		1
		0
		107
		106A
		106
		105
		104
		103
		102
		101
		100
		99
		98
		97
		96
		95C
		95B
		95A
		95
		94
		93
		92
		91
		90
		89
		88
		87
		86
		85
		84
		83
		82
		81
		80
		79
		78
		77
		76
		75
		74
		73
		72
		71
		70
		69
		68
		67
		66
		65
		64
		63
		62
		61
		60
		59
		58
		57
		56
		55
		54
		53
		52
		51
		50
		49
		48
		47
		46
		45
		44
		43
		42
		41
		40
		39
		38
		37
		36
		35
		34
		33
		32
		31
		30
		29
		28
		27
		26
		25
		24
		23
		22
		21
		20
		19
		18
		17
		16
		15
		14
		13
		12
		11
		10
		9
		8
		7
		6
		5
		4
		3
		2
		1
		0
		107
		106A
		106
		105
		104
		103
		102
		101
		100
		99
		98
		97
		96
		95C
		95B
		95A
		95
		94
		93
		92
		91
		90
		89
		88
		87
		86
		85
		84
		83
		82
		81
		80
		79
		78
		77
		76
		75
		74
		73
		72
		71
		70
		69
		68
		67
		66
		65
		64
		63
		62
		61
		60
		59
		58
		57
		56
		55
		54
		53
		52
		51
		50
		49
		48
		47
		46
		45
		44
		43
		42
		41
		40
		39
		38
		37
		36
		35
		34
		33
		32
		31
		30
		29
		28
		27
		26
		25
		24
		23
		22
		21
		20
		19
		18
		17
		16
		15
		14
		13
		12
		11
		10
		9
		8
		7
		6
		5
		4
		3
		2
		1
		0
		107
		106A
		106
		105
		104
		103
		102
		101
		100
		99
		98
		97
		96
		95C
		95B
		95A
		95
		94
		93
		92
		91
		90
		89
		88
		87
		86
		85
		84
		83
		82
		81
		80
		79
		78
		77
		76
		75
		74
		73
		72
		71
		70
		69
		68
		67
		66
		65
		64
		63
		62
		61
		60
		59
		58
		57
		56
		55
		54
		53
		52
		51
		50
		49
		48
		47
		46
		45
		44
		43
		42
		41
		40
		39
		38
		37
		36
		35
		34
		33
		32
		31
		30
		29
		28
		27
		26
		25
		24
		23
		22
		21
		20
		19
		18
		17
		16
		15
		14
		13
		12
		11
		10
		9
		8
		7
		6
		5
		4
		3
		2
		1
		0
		107
		106A
		106
		105
		104
		103
		102
		101
		100
		99
		98
		97
		96
		95C
		95B
		95A
		95
		94
		93
		92
		91
		90

圖 2A. Y61 重鏈 CDR H1 誘變

序列編號 NO:		CDR H1										k_{off} ($\times 10^5$)
		27	28	29	30	31	32	33	34	35		
21	Y61	F	T	F	S	S	Y	G	M	H		
288		.	.	.	E	.	.	.	.	.	22.8	
289		.	.	.	S	.	.	.	.	.	16.8	
290		.	.	.	Y	.	.	.	.	.	31.9	
291		.	.	.	H	.	.	.	.	.	29.6	
292		.	.	.	K	.	.	.	.	.	22.5	
293		.	.	.	R	.	.	.	.	.	24.5	
294		.	.	.	N	.	.	.	.	.	30.1	
295		.	.	.	T	.	.	.	.	.	32.0	
296		.	.	.	G	.	.	.	.	.	23.3	
297		.	.	.	V	.	.	.	.	.	39.9	
298		.	.	.	I	.	.	.	.	.	20.7	
299		.	.	.	W	.	.	.	.	.	21.6	
300		.	.	.	.	E	.	.	.	.	21.9	
301		.	.	.	.	C	.	.	.	.	12.0	
302		.	.	.	.	S	.	.	.	.	24.9	
303		.	.	.	.	Y	.	.	.	.	39.8	
304		.	.	.	.	H	.	.	.	.	30.9	
305		.	.	.	.	R	.	.	.	.	66.4	
306		.	.	.	.	N	.	.	.	.	19.1	
307		.	.	.	.	Q	.	.	.	.	15.2	
308		.	.	.	.	T	.	.	.	.	71.6	
309		.	.	.	.	A	.	.	.	.	20.5	
310		.	.	.	.	I	.	.	.	.	33.4	
311		.	.	.	.	.	E	.	.	.	229.0	
312		.	.	.	.	.	C	.	.	.	383.0	
313		.	.	.	.	.	S	.	.	.	157.5	
314		.	.	.	.	.	Y	.	.	.	33.7	
315		.	.	.	.	.	H	.	.	.	46.1	
316		.	.	.	.	.	R	.	.	.	448.5	
317		.	.	.	.	.	N	.	.	.	297.0	
318		.	.	.	.	.	T	.	.	.	148.0	
319		.	.	.	.	.	A	.	.	.	165.5	
320		.	.	.	.	.	V	.	.	.	133.5	
321		.	.	.	.	.	L	.	.	.	226.0	
322		.	.	.	.	.	I	.	.	.	160.5	
323		.	.	.	.	.	.	D	.	.	152.0	
324		.	.	.	.	.	.	E	.	.	189.0	
325		.	.	.	.	.	.	C	.	.	286.5	
326		.	.	.	.	.	.	S	.	.	39.9	
327		.	.	.	.	.	.	Y	.	.	250.5	
328		.	.	.	.	.	.	N	.	.	30.8	
329		.	.	.	.	.	.	G	.	.	17.8	
330		.	.	.	.	.	.	A	.	.	27.3	
331		.	.	.	.	.	.	V	.	.	191.0	
332		.	.	.	.	.	.	M	.	.	21.5	
333		.	.	.	.	.	.	I	.	.	250.0	
334		.	.	.	.	.	.	P	.	.	159.5	

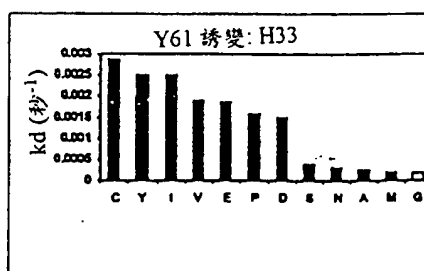
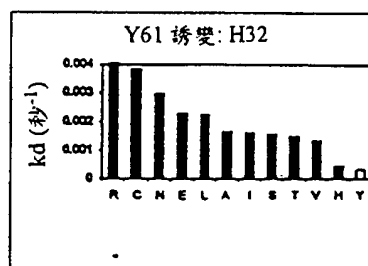
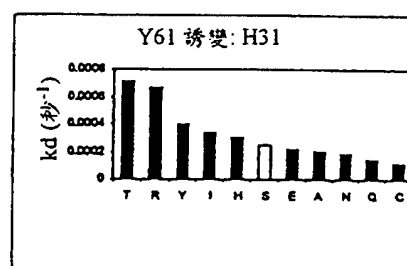
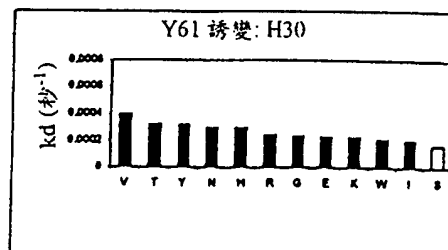


圖 2B. Y61 重鏈 CDR H2 誘變

序 列 編 號 NO:		CDR H2																k _{off} (x 10 ⁴)	
		50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64		65
19	Y61	F	I	R	Y	D	G	S	N	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G	34.7
335		E	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	28.5
336		C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	23.0
337		Y	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30.9
338		H	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	61.2
339		K	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	34.4
340		N	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	42.0
341		Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	20.5
342		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	44.0
343		L	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	20.4
344		F	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	31.8
345		.	E	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	29.2
346		.	S	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	29.8
347		.	Y	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	40.7
348		.	H	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	26.2
349		.	K	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	20.6
350		.	R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	28.5
351		.	Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	37.4
352		.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	32.1
353		.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	17.1
354		.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	31.7
355		.	V	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	34.7
356		.	L	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	35.1
357		.	W	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	15.1
358		.	.	D	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	39.9
359		.	.	E	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	36.8
360		.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	61.1
361		.	.	Y	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	158.0
362		.	.	K	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	166.5
363		.	.	R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	72.7
364		.	.	N	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	79.2
365		.	.	Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	50.0
366		.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	40.4
367		.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	44.0
368		.	.	V	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	109.5
369		.	.	L	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	94.4
370		.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	168.5
371		.	.	F	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	45.5
372		.	.	.	D	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	35.1
373		.	.	.	E	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	37.3
374		.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	64.6
375		.	.	.	Y	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	40.7
376		.	.	.	K	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2.5
377		.	.	.	R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	44.7
378		.	.	.	N	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	31.6
379		.	.	.	Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	64.4
380		.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	17.8
381		.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	43.5
382		.	.	.	V	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	

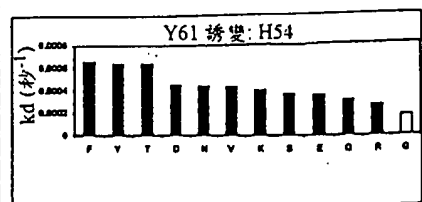
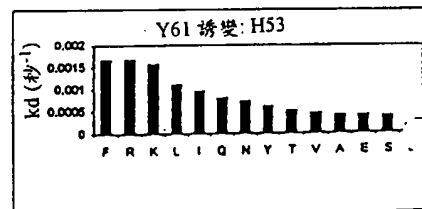
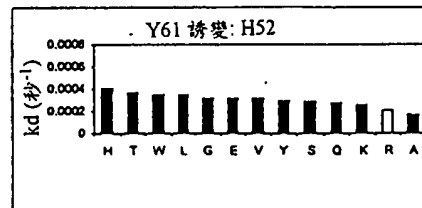
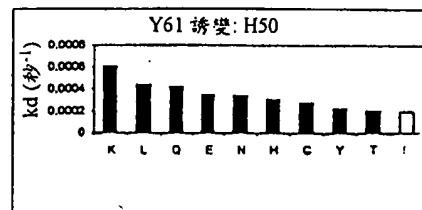


圖 2C. Y61 重鏈 CDR H2 誘變

		CDR H2																	
序列編號 NO:		50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	k_{off} ($\times 10^3$)
19	Y61	F	I	R	Y	D	G	S	N	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G	
383		.	.	.	.	.	F	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	66.3
384		.	.	.	.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	62.4
385		.	.	.	.	.	.	Y	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	39.0
386		.	.	.	.	.	.	H	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	42.0
387		.	.	.	.	.	.	N	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	38.5
388		.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	23.5
389		.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	27.2
390		.	.	.	.	.	.	M	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	38.3
391		.	.	.	.	.	.	L	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	26.4
392		.	.	.	.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	16.9
393		.	.	.	.	.	.	P	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	29.9
394		.	.	.	.	.	.	F	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	34.5
395		.	.	.	.	.	.	.	.	E	.	.	.	.	.	.	.	.	41.5
396		.	.	.	.	.	.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	.	94.1
397		.	.	.	.	.	.	.	.	Y	.	.	.	.	.	.	.	.	31.0
398		.	.	.	.	.	.	.	.	N	.	.	.	.	.	.	.	.	83.1
399		.	.	.	.	.	.	.	.	V	.	.	.	.	.	.	.	.	52.4
400		.	.	.	.	.	.	.	.	L	.	.	.	.	.	.	.	.	73.0
401		.	.	.	.	.	.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.	65.7
402		.	.	.	.	.	.	.	.	P	.	.	.	.	.	.	.	.	62.8
403		.	.	.	.	.	.	.	.	F	.	.	.	.	.	.	.	.	79.4

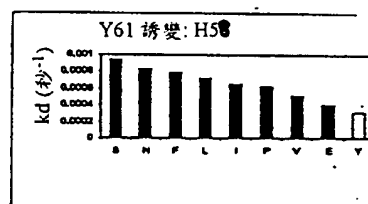
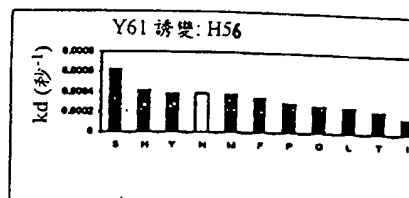


圖 2D. Y61 重鏈 CDR H3 誘變

序列編號 NO:	CDR H3						K_{off} ($\times 10^3$)
	Y61	95	96	97	98	101	102
17	Y61	H	G	S	H	D	N
404		E	.	.	.	.	.
405		S	.	.	.	.	.
406		H	.	.	.	.	.
407		K	.	.	.	.	.
408		Q	.	.	.	.	.
409		T	.	.	.	.	.
410		A	.	.	.	.	.
411		L	.	.	.	.	.
412		P	.	.	.	.	.
413		F	.	.	.	.	.
414		.	D	.	.	.	.
415		.	C	.	.	.	.
416		.	H	.	.	.	.
417		.	R	.	.	.	.
418		.	T	.	.	.	.
419		.	G	.	.	.	.
420		.	V	.	.	.	.
421		.	M	.	.	.	.
422		.	L	.	.	.	.
423		.	I	.	.	.	.
424		.	P	.	.	.	.
425		.	W	.	.	.	.
426		.	.	D	.	.	.
427		.	.	S	.	.	.
428		.	.	Y	.	.	.
429		.	.	H	.	.	.
430		.	.	R	.	.	.
431		.	.	N	.	.	.
432		.	.	T	.	.	.
433		.	.	G	.	.	.
434		.	.	A	.	.	.
435		.	.	I	.	.	.
436		.	.	P	.	.	.
437		.	.	W	.	.	.
438		.	.	F	.	.	.
439		.	.	.	H	.	.
440		.	.	.	R	.	.
441		.	.	.	T	.	.
442		.	.	.	A	.	.
443		.	.	.	V	.	.
444		.	.	.	L	.	.
445		.	.	.	I	.	.
446		.	.	.	F	.	.
447		.	.	.	D	.	.
448		.	.	.	S	.	.
449		.	.	.	Y	.	.
450		.	.	.	H	.	.
451		.	.	.	R	.	.

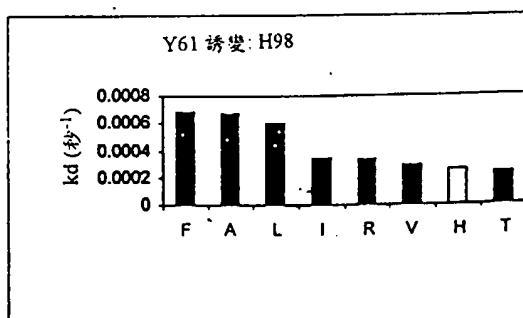
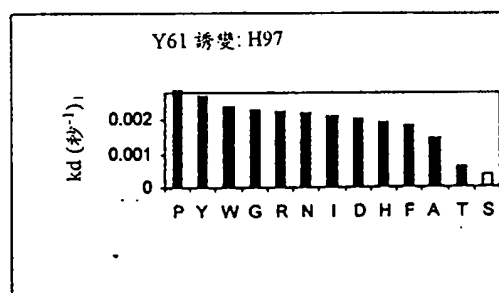
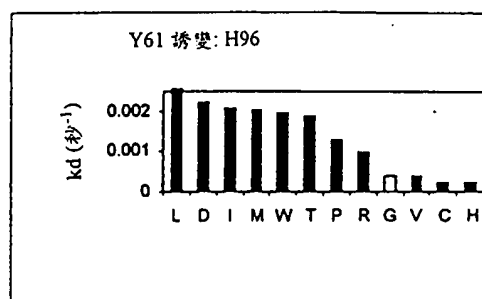
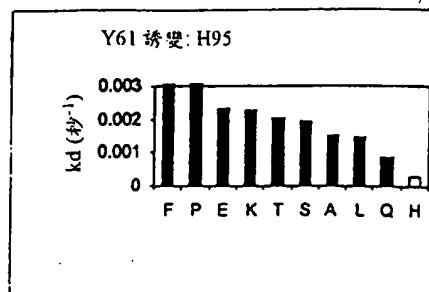


圖 2E. Y61 重鏈 CDR H3 誘變

序列編號 NO:		CDR H3						K_{off} ($\times 10^3$)
		95	96	97	98	101	102	
17	Y61	H	G	S	H	D	N	
452		.	.	.	.	N	.	223.0
453		.	.	.	.	G	.	375.0
454		.	.	.	.	A	.	106.5
455		.	.	.	.	V	.	163.0
456		.	.	.	.	I	.	162.5
457		.	.	.	.	.	S	32.5
458		.	.	.	.	.	H	18.0
459		.	.	.	.	.	K	40.5
460		.	.	.	.	.	R	57.5
461		.	.	.	.	.	N	40.3
462		.	.	.	.	.	T	33.3
463		.	.	.	.	.	G	69.2
464		.	.	.	.	.	A	38.2
465		.	.	.	.	.	L	95.6
466		.	.	.	.	.	I	99.6
467		.	.	.	.	.	P	181.5
468		.	.	.	.	.	W	23.5
469		.	.	.	.	.	F	31.8

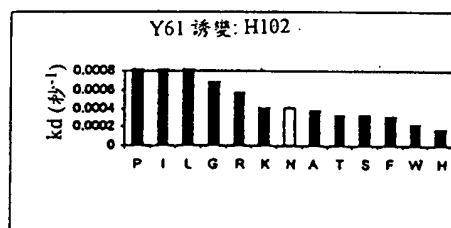
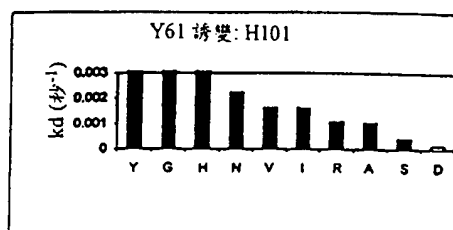


圖 2F. Y61 輕鏈 CDR L1 誘變

序列編號 NO:		CDR L1												k_{err} ($\times 10^3$)	
		24	25	26	27	27A	27B	28	29	30	31	32	33		34
22	Y61	S	G	G	R	S	N	I	G	S	N	T	V	K	
470		.	.	.	.	.	.	.	.	D	.	.	.	.	22.0
471		.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	18.6
472		.	.	.	.	.	.	.	.	S	.	.	.	.	21.1
473		.	.	.	.	.	.	.	.	Y	.	.	.	.	48.3
474		.	.	.	.	.	.	.	.	K	.	.	.	.	34.6
475		.	.	.	.	.	.	.	.	R	.	.	.	.	18.2
476		.	.	.	.	.	.	.	.	N	.	.	.	.	16.6
477		.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	22.6
478		.	.	.	.	.	.	.	.	P	.	.	.	.	25.0
479		.	.	.	.	.	.	.	.	D	.	.	.	.	58.0
480		.	.	.	.	.	.	.	.	E	.	.	.	.	38.4
481		.	.	.	.	.	.	.	.	S	.	.	.	.	39.2
482		.	.	.	.	.	.	.	.	Y	.	.	.	.	35.7
483		.	.	.	.	.	.	.	.	H	.	.	.	.	31.5
484		.	.	.	.	.	.	.	.	K	.	.	.	.	33.1
485		.	.	.	.	.	.	.	.	N	.	.	.	.	22.9
486		.	.	.	.	.	.	.	.	Q	.	.	.	.	29.2
487		.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	30.9
488		.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	36.6
489		.	.	.	.	.	.	.	.	M	.	.	.	.	17.4
490		.	.	.	.	.	.	.	.	I	.	.	.	.	9.7
491		.	.	.	.	.	.	.	.	D	.	.	.	.	25.2
492		.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	381.5
493		.	.	.	.	.	.	.	.	S	.	.	.	.	191.0
494		.	.	.	.	.	.	.	.	Y	.	.	.	.	21.3
495		.	.	.	.	.	.	.	.	H	.	.	.	.	26.0
496		.	.	.	.	.	.	.	.	K	.	.	.	.	31.8
497		.	.	.	.	.	.	.	.	R	.	.	.	.	690.0
498		.	.	.	.	.	.	.	.	N	.	.	.	.	196.5
499		.	.	.	.	.	.	.	.	Q	.	.	.	.	247.0
500		.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	24.1
501		.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	190.5
502		.	.	.	.	.	.	.	.	V	.	.	.	.	164.5
503		.	.	.	.	.	.	.	.	L	.	.	.	.	215.5
504		.	.	.	.	.	.	.	.	I	.	.	.	.	154.0
505		.	.	.	.	.	.	.	.	P	.	.	.	.	42.4

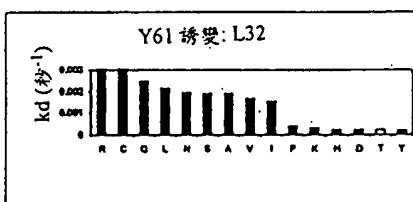
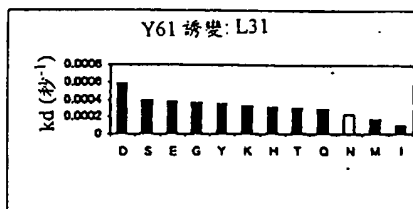
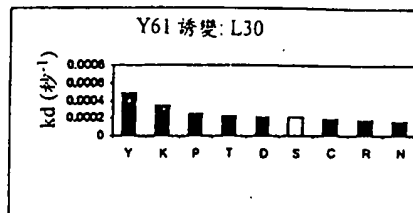


圖 2G. Y61 輕鏈 CDR L2 誘變

序列編號 NO:	CDR L2								K_{off} ($\times 10^3$)
	Y61	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6	
20	Y61	G	N	D	Q	R	P	S	
506		D	.	.	.	.	.	.	34.8
507		E	.	.	.	.	.	.	61.7
508		C	.	.	.	.	.	.	46.7
509		S	.	.	.	.	.	.	28.6
510		Y	.	.	.	.	.	.	17.4
511		H	.	.	.	.	.	.	76.1
512		K	.	.	.	.	.	.	242.5
513		R	.	.	.	.	.	.	44.4
514		N	.	.	.	.	.	.	30.5
515		Q	.	.	.	.	.	.	34.8
516		T	.	.	.	.	.	.	27.2
517		G	.	.	.	.	.	.	21.5
518		A	.	.	.	.	.	.	37.2
519		V	.	.	.	.	.	.	38.5
520		M	.	.	.	.	.	.	95.3
521		L	.	.	.	.	.	.	61.6
522		I	.	.	.	.	.	.	120.5
523		P	.	.	.	.	.	.	41.0
524		W	.	.	.	.	.	.	38.2
525		F	.	.	.	.	.	.	3,476.7
526		.	.	.	S	.	.	.	86.6
527		.	.	.	Y	.	.	.	73.3
528		.	.	.	R	.	.	.	61.4
529		.	.	.	Q	.	.	.	29.7
530		.	.	.	T	.	.	.	83.4
531		.	.	.	A	.	.	.	55.4
532		.	.	.	I	.	.	.	85.5
533		.	.	.	P	.	.	.	97.4

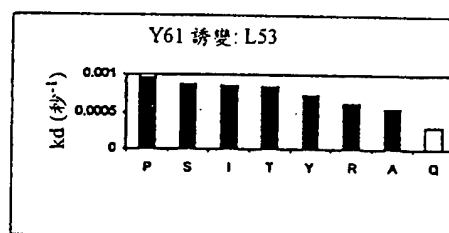
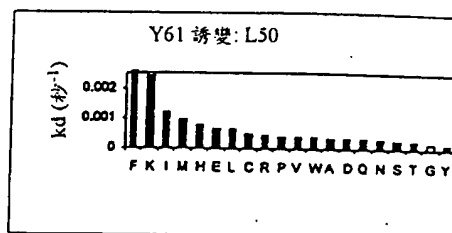


圖 2H. Y61 輕鏈 CDR L3 誘變

序列編號 NO:	CDR L3												k_{off} ($\times 10^3$)
	Y61	89	90	91	92	93	94	95	95A	95B	95C	96	97
18	Y61	Q	S	Y	D	R	G	T	H	P	A	L	L
534		.	.	.	D	.	.	.	.	.	.	.	25.9
535		.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	45.3
536		.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	30.7
537		.	.	.	Y	.	.	.	.	.	.	.	51.1
538		.	.	.	N	.	.	.	.	.	.	.	34.7
539		.	.	.	Q	.	.	.	.	.	.	.	42.7
540		.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	40.8
541		.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	34.9
542		.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	35.7
543		.	.	.	L	.	.	.	.	.	.	.	72.8
544		.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	61.8
545		.	.	.	W	.	.	.	.	.	.	.	72.0
546		.	.	.	F	.	.	.	.	.	.	.	44.9
547		.	.	.	D	.	.	.	.	.	.	.	34.3
548		.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	32.0
549		.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	34.1
550		.	.	.	Y	.	.	.	.	.	.	.	33.5
551		.	.	.	R	.	.	.	.	.	.	.	19.9
552		.	.	.	N	.	.	.	.	.	.	.	31.6
553		.	.	.	Q	.	.	.	.	.	.	.	30.0
554		.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	31.6
555		.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	39.2
556		.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	31.0
557		.	.	.	V	.	.	.	.	.	.	.	26.9
558		.	.	.	M	.	.	.	.	.	.	.	27.5
559		.	.	.	L	.	.	.	.	.	.	.	30.0
560		.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	29.5
561		.	.	.	P	.	.	.	.	.	.	.	34.9
562		.	.	.	W	.	.	.	.	.	.	.	34.9
563		.	.	.	D	.	.	.	.	.	.	.	25.3
564		.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	52.0
565		.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	28.7
566		.	.	.	Y	.	.	.	.	.	.	.	13.1
567		.	.	.	H	.	.	.	.	.	.	.	18.7
568		.	.	.	R	.	.	.	.	.	.	.	23.1
569		.	.	.	N	.	.	.	.	.	.	.	13.7
570		.	.	.	Q	.	.	.	.	.	.	.	25.0
571		.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	30.5
572		.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	25.6
573		.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	52.6
574		.	.	.	V	.	.	.	.	.	.	.	35.1
575		.	.	.	L	.	.	.	.	.	.	.	24.4
576		.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	27.6
577		.	.	.	P	.	.	.	.	.	.	.	33.2
578		.	.	.	W	.	.	.	.	.	.	.	29.3
579		.	.	.	F	.	.	.	.	.	.	.	23.6

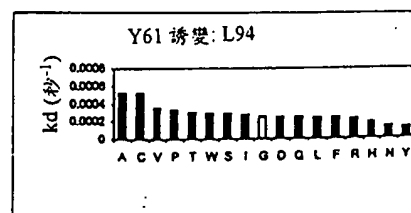
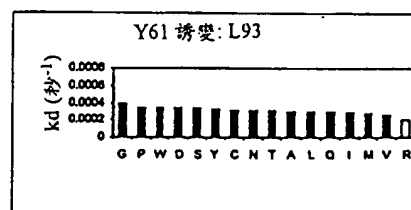
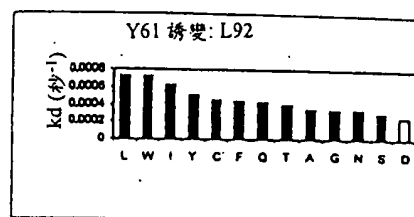
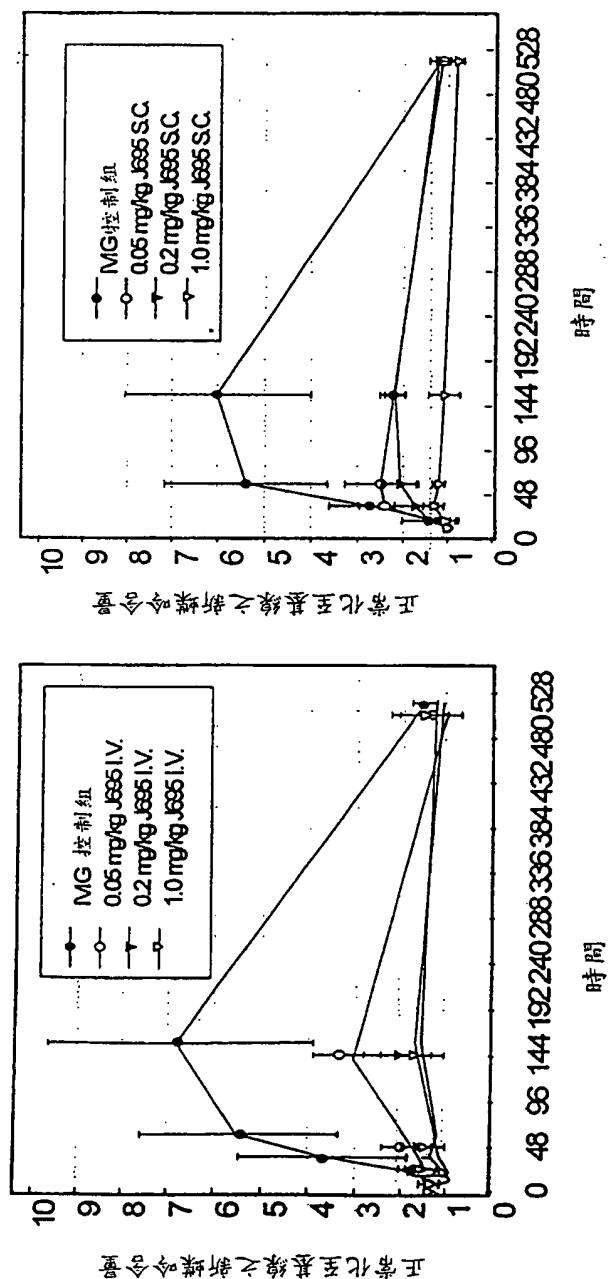


圖 3. 獼猴體內之 J695 活體內功效



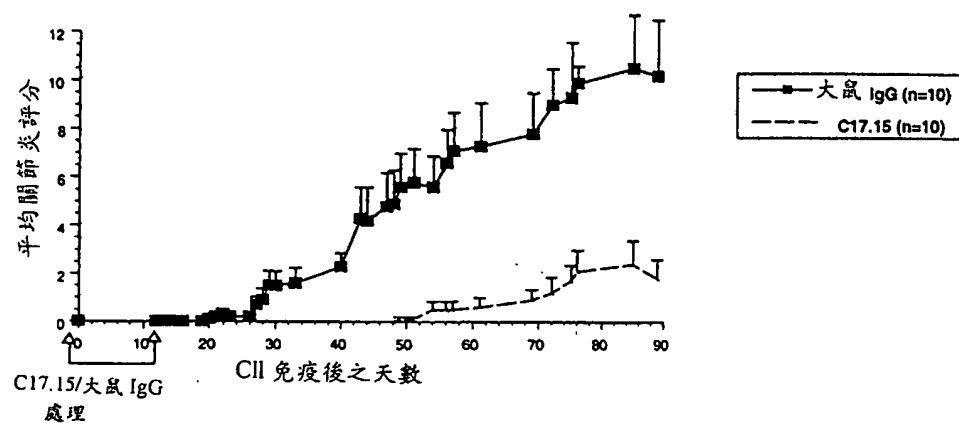


圖 4

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)