



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101781368 B

(45) 授权公告日 2014.09.10

- (21) 申请号 200910261575.8 *C12N 1/15*(2006.01)
- (22) 申请日 2003.02.20 *C12N 1/19*(2006.01)
- (30) 优先权数据 *C12N 1/21*(2006.01)  
02003844.4 2002.02.20 EP *A61K 39/395*(2006.01)  
*A61K 31/7088*(2006.01)
- (62) 分案原申请数据 *A61K 48/00*(2006.01)  
03804033.6 2003.02.20 *A61P 25/00*(2006.01)
- (73) 专利权人 豪夫迈·罗氏有限公司 *A61P 25/16*(2006.01)  
地址 瑞士巴塞尔 *A61P 25/28*(2006.01)  
专利权人 莫弗西斯股份公司 *G01N 33/53*(2006.01)  
*C40B 20/00*(2006.01)
- (72) 发明人 M·巴德罗夫 B·宝曼  
M·布洛克豪斯 W·休伯  
T·克莱茨克马 C·劳宁  
H·洛茨西尔 C·诺德斯泰特  
C·罗斯
- (56) 对比文件  
WO 0139796 A, 2001.06.07, 全文。  
WO 0210354 A, 2002.02.07, 全文。  
EP 0683234 A1, 1995.11.22, 全文。
- (74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公  
司 31100  
代理人 陶家蓉
- (51) Int. Cl.  
*C07K 16/18*(2006.01)  
*C12N 15/13*(2006.01)  
*C12N 15/63*(2006.01)  
*C12N 5/10*(2006.01)

审查员 曹丙洲

权利要求书2页 说明书204页 附图41页

(54) 发明名称

抗 A $\beta$  抗体及其用途

(57) 摘要

本发明涉及能特异识别  $\beta$ -A4 肽的 2 个区域的抗体分子,其中第一个区域包括 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列 AEFRHDSGY 或其片断且第二个区域包括 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列 VHHQKLVFFAEDVG 或其片断。此外,揭示了编码发明抗体分子的核酸分子和载体及含所述核酸分子的宿主。另外,本发明提供组合物,优选药物或诊断组合物,包括发明化合物以及发明抗体分子、核酸分子、载体或宿主的特定用途。

1. 一种能特异识别  $\beta$ -A4 肽 / A $\beta$  4 的 2 个区域的抗体分子, 其特征在于, 第一个区域包括 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列 AEFRHDSGY 或其片断且第二个区域包括 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列 VHHQKLVFFAEDVG 或其片断,

其中所述抗体分子包含:

(a) 包含互补决定区 L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3 的可变 VL- 区域, 其中:

(1) L-CDR1 是 SEQ ID NO:143;

(2) L-CDR2 是 SEQ ID NO:144; 和

(3) L-CDR3 是 SEQ ID NO:95; 且

(b) 包含互补决定区 H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3 的可变 VH- 区域, 其中:

(1) H-CDR1 是 SEQ ID NO:146;

(2) H-CDR2 是 SEQ ID NO:192; 和

(3) H-CDR3 是 SEQ ID NO:93。

2. 如权利要求 1 所述的抗体分子, 其特征在于, 所述抗体分子识别  $\beta$ -A4 的 2 个区域内至少 2 个连续氨基酸。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的抗体分子, 其特征在于, 所述抗体分子识别第一个区域和第二个区域中的氨基酸序列, 第一个区域中的氨基酸序列包括: AEFRHD、EF、EFR、FR、EFRHDSG、EFRHD 或 HDSG 且第二个区域中的氨基酸序列包括: HHQKL、LV、LVFFAE、VFFAED、VFFA 或 FFAEDV。

4. 如权利要求 1 所述的抗体分子, 其特征在于, 所述抗体分子是完整抗体、F(ab)-片断、F(ab)<sub>2</sub>-片段、单链抗体、嵌合抗体、CDR-移植抗体、二价抗体-构建物、合成抗体或交叉克隆抗体, 所述完整抗体是免疫球蛋白。

5. 如权利要求 1 所述的抗体分子, 其特征在于, 所述  $\beta$ -A4 的至少 2 个区域来自构象表位或不连续表位。

6. 一种核酸分子, 其特征在于, 所述核酸分子编码权利要求 1 所述的抗体分子。

7. 一种载体, 其特征在于, 所述载体包括权利要求 6 所述的核酸分子。

8. 一种宿主细胞, 其特征在于, 所述细胞包括权利要求 7 所述的载体。

9. 一种制备权利要求 1 所述抗体分子的方法, 其特征在于, 所述方法包括在能合成所述抗体分子和从所述培养物中回收所述抗体分子, 的条件下, 培养权利要求 8 所述的宿主细胞。

10. 一种组合物, 其特征在于, 所述组合物包括权利要求 1 所述抗体分子或由权利要求 9 所述方法产生的抗体分子。

11. 如权利要求 10 所述的组合物, 其特征在于, 所述组合物是药物或诊断组合物。

12. 权利要求 1 所述的抗体分子或由权利要求 9 所述方法产生的抗体分子、权利要求 6 所述的核酸分子、权利要求 7 所述的载体或权利要求 8 所述的宿主的用途, 其特征在于, 用于制备预防和 / 或治疗与淀粉样生成和 / 或淀粉样斑形成相关的疾病的药物组合物。

13. 权利要求 1 所述的抗体分子或由权利要求 9 所述方法产生的抗体分子的用途, 其特征在于, 用于制备检测与淀粉样生成和 / 或淀粉样斑形成相关的疾病的诊断组合物。

14. 权利要求 1 所述的抗体分子或由权利要求 9 所述方法产生的抗体分子的用途, 其特征在于, 用于制备分解  $\beta$ -淀粉样斑的药物组合物。

15. 权利要求 1 所述的抗体分子或由权利要求 9 所述方法产生的抗体分子的用途, 其特征在于, 用于制备被动免疫抗  $\beta$ -淀粉样斑形成的药物组合物。

16. 如权利要求 12 或 15 所述的用途, 其特征在于, 所述疾病是痴呆、运动神经病、唐氏综合症、克-雅氏病、淀粉样变病荷兰型的遗传性脑出血、帕金森氏病、ALS 或与衰老相关的神经元疾病。

17. 如权利要求 16 所述的用途, 其特征在于, 所述疾病是阿尔茨海默氏病。

18. 如权利要求 16 所述的用途, 其特征在于, 所述疾病是 HIV 相关痴呆。

19. 一种试剂盒, 其特征在于, 所述试剂盒包括权利要求 1 所述的抗体分子、权利要求 6 所述的核酸分子、权利要求 7 所述的载体或权利要求 8 所述的宿主细胞。

## 抗 A $\beta$ 抗体及其用途

[0001] 本案是申请号为 03804033.6, 名为抗 A $\beta$  抗体及其用途的分案申请。

[0002] 本发明涉及能特异识别  $\beta$ -A4 肽的 2 个区域的抗体分子, 其中第一个区域包括 SEQ ID NO :1 所示的氨基酸序列 AEFRHDSGY 或其片断且第二个区域包括 SEQ ID NO :2 所示的氨基酸序列 VHHQKLVFFAEDVG 或其片断。此外, 揭示了编码发明抗体分子的核酸分子和载体及含所述核酸分子的宿主。另外, 本发明提供组合物, 优选药物或诊断组合物, 包括发明化合物以及发明抗体分子、核酸分子、载体或宿主的特定用途。

[0003] 本说明书正文引用了一些文献。本文所引用的各文献(包括任何厂商说明书、规程等)纳入本文供参考。

[0004] 约 70% 的所有痴呆病例是由于阿尔茨海默氏病, 此病与对识别关键的大脑区域的选择性操作和神经回路相关。阿尔茨海默氏病的特征是神经纤维缠结, 特别是海马的锥形神经元和多种淀粉样斑, 主要含淀粉样沉积物的致密核和缓和晕。

[0005] 胞外神经炎性斑含有大量占优势的纤维肽, 名为“淀粉样  $\beta$ ”、“A- $\beta$ ”、“A $\beta$  4”、“ $\beta$ -A4”或“A $\beta$ ”; 参见 Selkoe(1994), *Ann. Rev. Cell Biol.* 10, 373-403, Koo(1999), *PNAS* 第 96 卷, 9989-9990 页, US 4, 666, 829 或 Glenner(1984), *BBRC* 12, 1131。此淀粉样  $\beta$  衍生自“阿尔茨海默氏前体蛋白/ $\beta$ -淀粉样前体蛋白”(APP)。APPs 是整合膜糖蛋白(参见 Sisodia(1992), *PNAS* 第 89 卷, 6075 页)且是通过血浆膜蛋白酶  $\alpha$ -分泌酶在 A $\beta$  序列中内切蛋白酶解切割的(参见 Sisodia(1992), 在上述引文中)。此外, 进一步的分泌酶活性, 尤其是  $\beta$ -分泌酶和  $\gamma$ -分泌酶活性导致胞外释放淀粉样  $\beta$  (A $\beta$ ), A $\beta$  包括 39 个氨基酸 (A $\beta$  39)、40 个氨基酸 (A $\beta$  40)、42 个氨基酸 (A $\beta$  42) 或 43 个氨基酸 (A $\beta$  43); 参见 Sinha(1999), *PNAS* 96, 11094-1053; Price(1998), *Science* 282, 1078 到 1083; WO 00/72880 或 Hardy(1997), *TINS* 20, 154。

[0006] 注意到 A $\beta$  有一些天然产生的形式, 其中人类形式指上述 A $\beta$  39、A $\beta$  40、A $\beta$  41、A $\beta$  42 和 A $\beta$  43。最主要形式 A $\beta$  42 具有氨基酸序列(从 N-末端开始): DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA (SEQ ID NO :27)。在 A $\beta$  41、A $\beta$  40、A $\beta$  39 中, 分别缺失 C-末端氨基酸 A、IA 和 VIA。在 A $\beta$  43-形式中, 另外的苏氨酸残基包括在上述序列的 C-末端 (SEQ ID NO :27)。

[0007] 成核 A $\beta$  40 纤维所需的时间显著长于成核 A $\beta$  42 纤维; 参见 Koo, 在上述引文中和 Harper(1997), *Ann. Rev. Biochem.* 66, 385-407。综述于 Wagner(1999), *J. Clin. Invest.* 104, 1239-1332。A $\beta$  42 更常发现与神经炎必斑相关并认为在体外原纤维形成更多。也提示 A $\beta$  42 作为有序非晶体 A $\beta$  肽的成核依赖性聚合中的“晶种”; Jarrett(1993), *Cell* 93, 1055-1058。

[0008] 要强调的是修饰 APP 加工和/或产生含蛋白质沉积的胞外斑不仅从阿尔茨海默氏的病理学中知道, 也从患其它神经和/或神经变性疾病的患者中知道。这些疾病包括唐氏综合症、淀粉样变荷兰型的遗传性脑出血、帕金森氏病、ALS(肌萎缩侧索硬化)、克-雅氏病、HIV-相关痴呆和运动神经病。

[0009] 为防止、治疗和/或改善与淀粉样斑病理沉积相关的紊乱和/或疾病, 必须开发方

式和方法干扰  $\beta$ -淀粉样斑形成,能防止 A $\beta$  聚集和 / 或用于解聚已形成的淀粉样沉积物或淀粉样 - $\beta$  聚集体。

[0010] 因此,考虑到修饰和 / 或病理淀粉样生物学的严重缺陷,高度需要治疗淀粉样相关疾病的方式和方法。尤其需要有效药物干扰病理淀粉样聚集或能解聚聚集的 A $\beta$ 。此外,需要诊断方法检测淀粉样斑。

[0011] 因而,本发明的技术问题是满足本文上述需要的。

[0012] 因此,本发明涉及能特异识别  $\beta$ -A4/A $\beta$  4 肽的 2 个区域的抗体分子,其中第一个区域包括氨基酸序列 AEFRHDSGY (SEQ ID NO :1) 或其片断且第二个区域包括氨基酸序列 VHHQKLVFFAEDVG (SEQ ID NO :2) 或其片断。

[0013] 在本发明中,术语“抗体分子”涉及完整免疫球蛋白分子,优选 IgMs、IgDs、IgEs、IgAs 或 IgGs,更优选 IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3 或 IgG4 以及部分这种免疫球蛋白分子,像 Fab- 片段或  $V_L$ -、 $V_H$ - 或 CDR- 区。此外,术语涉及修饰和 / 或改变的抗体分子,像嵌合和来源化抗体。术语也涉及修饰和 / 或改变的单克隆或多克隆抗体以及重组或合成产生 / 合成的抗体。术语也涉及完整抗体以及抗体片段 / 其部分,像分离的轻和重链 Fab、Fab/c、Fv、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>。术语“抗体分子”也包括抗体衍生物、生物功能抗体和抗体构建物,像单链 Fvs(scFv) 或抗体-融合蛋白。本文下面提供关于本发明术语“抗体分子”的更多细节。

[0014] 根据本发明的术语“特异识别”指抗体分子能与本文所定义  $\beta$ -A4 的 2 个区域的至少 2 个氨基酸特异相互作用和 / 或结合。所述术语涉及抗体分子的特异性,即它分辨本文所定义  $\beta$ -A4 肽的特定区域的能力,不是  $\beta$ -A4 肽的相关区,不是 APP- 相关蛋白 / 肽 / (不相关) 测试肽。因此,特异性可通过本领域已知方法和本文所示和所述方法来实验确定。这些方法包括但不限于蛋白质印迹、ELISA-、RIA-、ECL-、IRMA- 测试和肽扫描。这些方法也包括确定  $K_D$ - 值,如所附例子所示。肽扫描(肽点)测定)常规用于绘制多肽抗原中的线性表位图谱。多肽的一级序列在肽相互重叠的活化纤维素上连续合成。通过抗体测试识别某些肽,测试其检测或识别特定抗原 / 表位的能力,通过常规显色(具辣根过氧化物酶的二抗和 4- 氯奈酚和过氧化氢)、化学发光反应或本领域已知类似方法评估。在化学发光反应的情况下,可定量反应。如果抗体与一组重叠肽反应,能推出反应所需氨基酸的最小序列;参见说明性的实施例 6 和附加表 2。

[0015] 相同测定可揭示反应肽的 2 个远缘簇,指示识别抗原多肽中的不连续即构象表位 (Geysen (1986), *Mol. Immunol.* 23, 709-715)。

[0016] 除了肽点测定,可完成标准 ELISA 测定。如附加例子所证明,小六肽可偶联蛋白质并包被免疫板且与待测试抗体反应。评分可通过标准显色(如有辣根过氧化物酶的二抗和有过氧化氢的四甲基联苯胺)完成。一些孔中的反应通过光密度评分,例如在 450nm。典型背景(=阴性反应)可以是 0.10D,典型阳性反应可以是 10D。这意味着阳性 / 阴性差异(比例)能超过 10 倍。更多细节在附加例子中给出。另外,下文给出定量方法确定特异性和“特异识别”本文所定义  $\beta$ -A4 肽的 2 个区域的能力。

[0017] 术语“ $\beta$ -A4 肽的 2 个区域”涉及的 2 个区域由 SEQ ID NOs :1 和 2 中所示氨基酸序列定义,涉及  $\beta$ -A4 肽的 N- 末端氨基酸 2 到 10 和 12 到 25。本发明中的术语“ $\beta$ -A4 肽”涉及本文上述的 A $\beta$  39、A $\beta$  41、A $\beta$  43,优选 A $\beta$  40 和 A $\beta$  42。A $\beta$  42 也描述于附加 SEQ ID NO : 27。注意到术语“ $\beta$ -A4 肽的 2 个区域”也涉及“表位”和 / 或“抗原决定簇”,包括本文定义

的  $\beta$ -A4 肽的 2 个区域或其部分。根据本发明,所述  $\beta$ -A4 肽的 2 个区域在  $\beta$ -A4 肽的一级结构中被至少 1 个氨基酸分开(在氨基酸序列水平上),优选至少 2 个氨基酸,更优选至少 3 个氨基酸,更优选至少 4 个氨基酸,更优选至少 5 个氨基酸,更优选至少 6 个氨基酸,更优选至少 9 个氨基酸且最优选至少 12 个氨基酸。如本文所示和附加例子所证明,发明抗体/抗体分子检测/相互作用和/或结合本文定义的  $\beta$ -A4 肽的 2 个区域,其中所述 2 个区域被至少 1 个氨基酸分开(在氨基酸序列一级结构水平上)且其中分开所述 2 个区域/“表位”的序列可包括超过 10 个氨基酸,优选 14 个氨基酸,更优选 15 个氨基酸或 16 个氨基酸。例如,MSR-3Fab(作为发明的抗体分子)识别检测/相互作用  $\beta$ -A4 肽上的 2 个区域,其中所述第一个区域包括氨基酸 3 和 4(EF)且所述第二个区域包括氨基酸 18 到 23(VFFAED)。因此,待检测/识别区域/表位间的分开序列在一级氨基酸序列结构上长度为 13 个氨基酸。类似地,MSR#3.4H7 IgG1 是获得自 MSR-3 的最佳和成熟抗体且包括于 IgG1- 构架中,检测/相互作用/结合  $\beta$ -A4 的 2 个表位/区域,包括本文所定义  $\beta$ -A4 的第一个区域位置 1 到 4(DAEF)和第二个区域位置 19 到 24(FFAEDV)。因此,MSR#3.4H7IgG1 识别/检测/相互作用/结合 2 个表位/区域,它们在一级氨基酸序列水平上被 14 个氨基酸分开。如附加例子中所详述,亲和力成熟与单价发明的 Fab 片段转变成全长 IgG1 抗体可导致肽点、ELISA 测定等中检测到的表位/区域的一些扩大。因而,发明的抗体分子能同时和单独识别  $\beta$ -A4 肽/ $A\beta$  4 的 2 个区域,其中所述区域包括 SEQ ID NO:1 中所示的氨基酸序列(或其部分)和 SEQ IDNO:2 中所示的氨基酸序列(或其部分)。然而,由于如本文所详述的可能扩大表位,也检测/识别序列 SEQ ID NO:1 和 2 邻近的氨基酸,即另外的氨基酸是待检测/识别的 2 个区域部分。因此,也认为例如本文所定义  $A\beta$  (1-42) 的第一个氨基酸即 D(天冬氨酸)是待检测/识别的 1 个表位部分或者检测/识别位于 SEQ ID NO:2 中所定义区域  $A\beta$  (1-42) 后的氨基酸。所述另外氨基酸可以是例如在 SEQ ID NO:27( $\beta$ A4/ $A\beta$  (1-42))26 位上的氨基酸,即 S(丝氨酸)。

[0018] 术语也涉及构象表位或不连续表位,由所述 2 个区域或其部分组成;也参见 Geysen(1986),在上述引文中。在本发明中,构象表位由 2 个或多个一级序列中分开的不连续氨基酸序列定义,当多肽折叠成天然蛋白时,这些氨基酸序列在表面集合(Sela, (1969) Science 166,1365 和 Laver, (1990) Cell 61,553-6)。认为本发明的抗体分子特异结合构象/结构表位/与之相互作用,表位由本文所述  $\beta$ -A4 的 2 个区域或其部分组成和/或包括它们,如本文下面所示。认为本发明“抗体分子”包括对氨基酸延伸同时且独立的双重特异性,氨基酸延伸包含 (a)  $\beta$ -A4 的氨基酸 2 到 10(或其部分)和 (b) 氨基酸延伸包含氨基酸 12 到 25(或其部分)(SEQ ID NO:27)。这些延伸的片段或部分包括至少 2 个氨基酸,更优选至少 3 个。优选片段或部分在 SEQ ID NO:27 的第一个区域/延伸即氨基酸序列 AEFRHD、EF、EFR、FR、EFRHDSG、EFRHD 或 HDSG 和 SEQ ID NO:27 的第二个区域/延伸即氨基酸序列 HHQKL、LV、LVFFAE、VFFAED VFFA 或 FFAEDV 中。如上所述,所述片段也可包括另外的氨基酸或可以是本文所定义片段部分。特定例子是 DAE、DAEF、FRH 或 RHDSG。

[0019] 本领域描述了一些特异识别  $A\beta$  肽的抗体。获得这些抗体主要通过用  $A\beta$  1-40 或  $A\beta$  1-42 或其片段免疫动物,使用标准技术。根据发表的数据,用完整  $A\beta$  肽 (1-40 或 1-42) 免疫产生的单克隆抗体专一识别  $A\beta$  的 N-末端附近的表位。此外,例子是抗体 BAP-1 和 BAP-2(Brockhaus, 未发表),它们通过用  $A\beta$  1-40 免疫小鼠产生并识别较大  $A\beta$  肽中

的氨基酸 4-6 ;参见附加实施例 7、表 2 和实施例 12、表 7。识别 A $\beta$  中部的抗体通过用较小肽免疫获得。例如,抗体 4G8 通过用 A $\beta$  肽 1-24 免疫产生且专一识别序列 17-24(Kim, (1988)Neuroscience Research Communications 2,121-130)。许多其它单克隆抗体通过用 A $\beta$  衍生的片段免疫小鼠产生,识别 A $\beta$  1-40 和 A $\beta$  1-42 的 C 末端的抗体广泛用于通过 ELISA、蛋白质印迹和免疫组化分析区别和定量生物液体和组织中的相应 A $\beta$  肽 (Ida 等, (1996)J. Biol. Chem. 271,22908-22914 ;Johnson-Wood 等., (1997), Proc. Natl. Acad. Sci. USA(1994),1550-1555 ;Suzuki 等., (1994), Science 264,1336-1340 ;Brockhaus(1998), Neuro Rep. 9,1481-1486)。BAP-17 是小鼠单克隆抗体,通过用 A $\beta$  片段 35-40 免疫小鼠产生。它特异识别 A $\beta$  1-40 的 C- 末端 (Brockhaus(1998)Neuroreport 9,1481-1486)。

[0020] 据信用 T- 细胞依赖抗原 (通常是弱免疫原) 免疫需要在抗原呈递细胞的体内中蛋白酶剪切抗原。免疫后体内选择高亲和性抗体通过辅助 T 细胞接触抗原呈递细胞来驱动。抗原呈递细胞仅呈递短肽而不是尺寸大的多肽。因此,这些细胞有复杂 (但熟知) 机制以内吞抗原、在体内中降解抗原、用合适的 MHCII 型分子结合选择肽并将肽-MHC 复合体输出到细胞表面。在那里发生抗原被 T 细胞特异识别,目标是辅助成熟 B 细胞。接受大部分 T 细胞帮助的 B 细胞有最佳机会发展成抗体分泌细胞并增殖。这显示通过蛋白水解来加工抗原是体内产生高亲和性抗体反应的一个重要步骤且可解释 N- 末端 A $\beta$  表位在现有单克隆和多克隆抗体现有技术中的优势,这些抗体由免疫获得。

[0021] 相反,选择本发明抗体 / 抗体分子通过 Fab 表达噬菌体物理粘附抗原来驱动。参与此体外选择过程的抗原没有降解。选择并增殖的噬菌体表达对抗原有最高亲和性的 Fab。附加例子中使用的合成文库用于选择根据本发明的特定抗体分子,特别适合避免对单个、连续表位的任何偏性,它们通常发现于获得自免疫 B 细胞的文库。

[0022] 注意到现有技术没有描述识别 A $\beta$  4 的 2 个单独区域的抗体分子,特异识别不连续 / 构象表位和 / 或能同时且独立识别 A $\beta$  4 的 2 个区域 / 表位。

[0023] 当治疗开始于年轻动物即神经病理开始前,用 A $\beta$  1-42 接种过度表达突变人 APP<sub>V717F</sub> (PDAPP 小鼠) 的转基因小鼠几乎完全防止脑中淀粉样沉积,而在年长动物中观察到已形成斑减少,提示斑的抗体-介导的清除 (Schenk 等., (1999), Nature 400,173-177)。通过此免疫过程产生的抗体抗 A $\beta$  4 的 N- 末端反应, A $\beta$  4 的 N- 末端涵盖氨基酸 3-7 周围的表位 (Schenk 等., (1999),在上述引文中 ;WO 00/72880)。用 A $\beta$  1-42 主动免疫在不同的阿尔茨海默氏病转基因模型中也减少行为损伤和记忆丧失 (Janus 等., (2000)Nature 408,979-982 ;Morgan 等., (2000)Nature 408,982-985)。随后用外周施用抗体即被动免疫的研究证实抗体在 APP 转基因小鼠 (PDAPP 小鼠) 中能进入中枢神经系统、修饰斑和诱导清除先前存在的淀粉样斑 (Bard 等., (2000)Nat. Med. 6,916-919 ;WO 00/72880)。在这些研究中,在体内和活体外有最有效的单克隆抗体 (触发外源小胶质细胞中的吞噬作用) 识别 A $\beta$  4N- 末端表位 1-5 (mab 3D6, IgG2b) 或 3-6 (mab 10D5, IgG1)。同样,用 A $\beta$  1-42 免疫后分离自小鼠、兔或猴子的多克隆抗体表现出类似的 N- 末端表位特异性且也有效触发吞噬作用和体内斑清除。相反,高亲和性结合 A $\beta$  1-40 或 A $\beta$  1-42 的 C- 末端特异抗体不在活体外测定中诱导吞噬作用且在体内不有效 (WO 00/72880)。单克隆抗体 m266 (WO 00/72880) 抗 A $\beta$  13-28 (A $\beta$  的中央结构域) 且表位图谱确定抗体特异性涵盖 A $\beta$  序列中的氨基酸 16-24。此抗体不很好地结合聚集的 A $\beta$  和淀粉样沉积物并仅与可溶性 (单体) A $\beta$  反应,

即性质类似于另一种识别相同表位的熟知且可商业购买的单克隆抗体 (4G8 ;Kim, (1988) Neuroscience Research Communications 2, 121-130 ; 商业购买自 Signet Laboratories Inc. Dedham, MA USA)。

[0024] 在体内, 近来发现 m266 抗体在外周施用后显著降低 PDAPP 小鼠中的 A $\beta$  沉积 (DeMattos, (2001) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98, 8850-8855)。然而, 与 N- 末端特异抗体相反, m266 在体内不修饰淀粉样斑, 因此假设减少脑 A $\beta$  负担是通过抗体 - 诱导 CNS 和血浆 A $\beta$  间平衡的转移, 导致外周中获得自脑的 A $\beta$  的积聚, 稳固地络合 m266 (DeMattos, (2001) 在上述引文中)。

[0025] 本发明抗体 / 抗体分子同时 (例如本文所述由  $\beta$  A4 的 N- 末端和中央区域形成的结构 / 构象表位) 且单独结合 N- 末端和中央表位, 将 N- 末端特异抗体和中央表位 - 特异抗体的性质与 (例如在附加实验部分中确证的肽点测定) 单个分子中的中央表位特异性抗体结合。本发明所述具有双重表位特异性的抗体被认为在体内更有效, 尤其在医学和诊断情况中, 例如减少淀粉样斑负担或淀粉样发生或淀粉样沉积物和斑的检测。熟知在 A $\beta$  4 聚集和淀粉样沉积构象变化发生过程中尽管中央表位在可溶性 A $\beta$  4 中易接近, 它似乎隐藏于聚集或纤维性 A $\beta$  4 中并反应性较小。中央 / 中间表位 - 特异性抗体 m266 在体内有效的事实说明中和可溶性 A $\beta$  4 也能是关键参数。由于双重表位特异性, 本发明抗体 / 抗体分子能以类似效率结合纤维性和可溶性 A $\beta$  4, 从而可与淀粉样斑相互作用以及中和可溶性 A $\beta$  4。本文在发明抗体分子中使用的术语“同时且单独结合 A $\beta$  4 的 N- 末端和中央 / 中间表位”涉及本文所述抗体 / 抗体分子可检测和 / 或同时结合 2 种表位, 即同时 (例如如本文所述, 由  $\beta$  A4 的 N- 末端表位 (或 (a) 其部分) 和中央表位 (或 (a) 其部分) 形成的构型 / 结构表位) 和相同抗体分子, 然而它们也能以单独方式检测 / 结合各定义的表位, 如例子中所示肽点分析证明。

[0026] 直接应用抗体到脑后体内清除 PDAPP 小鼠中的淀粉样斑不取决于 IgG 亚型且可包括非 Fc- 介导的机制, 即斑清除中没有活性的小胶质参与 (Bacsikai, (2001), 《第 31 届神经科学学会年会摘要》 (Abstract Society for Neuroscience 31st Annual Meeting), 2001 年 11 月 10-15 日, 圣迭戈)。此观察与 Bard (2000), 在上述引文中较早研究中假定的相反。

[0027] 在另一个研究中, 发现抗 A $\beta$  1-28 和 A $\beta$  1-16 肽的抗体在体外有效解集 A $\beta$  纤维, 而对 A $\beta$  13-28 特异的抗体在此测定中活性小得多 (Solomon, (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 4109-4112)。还报导了通过抗 A $\beta$  1-28 抗体 (AMY-33) 防止 A $\beta$  聚集 (Solomon, (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 452-455)。在相同研究中, 抗 A $\beta$  片段 8-17 的抗体 6F/3d 稍干扰 Zn<sup>2+</sup>- 诱导的 A $\beta$  聚集, 但对由其它聚集诱导剂诱导的自身积聚没有效果。

[0028] 这些体外测定中多种抗体的功效与它们表位在 A $\beta$  聚集中的易接近性相关。N- 末端被暴露且 N- 末端特异抗体明显诱导解聚, 而中央区域和 C- 末端被隐藏且不易接近, 因此抗这些表位的抗体的有效性小得多。

[0029] 关于表位对抗体易接近性的研究显示在聚集的 A $\beta$  中 N- 末端表位被暴露并与 BAP-1 抗体反应, 而中间和中央表位确实保持隐性, 即没有观察到 4G8 抗体的结合。然而在单体 A $\beta$  中, 2 种表位明显且被 2 种现有技术的抗体同等识别。

[0030] 相反, 在本发明中, 惊讶地发现本文所述抗体分子识别 2 种不连续氨基酸序列, 例如 A $\beta$  肽上的构象表位。根据本发明的 2 种“不连续氨基酸序列”指分别形成 N- 末端和中

央 / 中间表位的所述 2 种氨基酸序列在  $\beta$ -A4 一级结构上被至少 2 个氨基酸分开, 这些氨基酸不是任一表位的部分。

[0031] 抗体 Fab (= 抗原互补位) 的结合区域占据约  $30 \times 30 \text{ \AA}$  大小的分子表面 (Laver, Cell 161 (1990), 553-556)。这足以接触 15 到 22 个氨基酸残基, 残基可存在于一些表面环上。由发明抗体分子识别的不连续表位类似一种构象, 其中 N- 末端 (残基 2 到 10 或其部分) 和中间 A $\beta$  肽序列 (残基 12 到 25 或其部分) 邻近。仅在此构象内获得最大数量的抗原 - 抗体接触和最低自由能状态。

[0032] 在能量计算基础上提示不以线性序列排列而在表位表面上分散的 5-6 个残基的较小亚群促使大部分结合能量而周围残基仅构成互补阵列 (Laver (1990) 在上述引文中)。

[0033] 发明抗体 / 抗体分子能结合聚集的 A $\beta$  并与 AD 病人脑中的淀粉样斑强烈反应 (如附加例子中所证明)。此外, 它们能解聚 / 分解淀粉样积聚。

[0034] 未被理论约束, 认为构象 / 结构表位 (包括本文所述 A $\beta$  4 的 2 个区域或其部分) 在聚集的 A $\beta$  中部分暴露。然而, 已知中间 / 第二个表位 / 区域的主要部分单独在这些 A $\beta$  聚集中不能自由接近 (在中间表位 - 特异抗体 4G8 和 m266 反应性差的基础上)。另一方面, 鉴于上述考虑, 可能中间区域的一个或几个残基是构象表位的组成并结合来自 N- 末端区域的残基, 易为本发明抗体接近, 从而显著地促使抗体 - A $\beta$  4 相互作用的结合能量。因此, 有聚集 A $\beta$  中构象表位的发明抗体分子的反应性独特并与现有技术中所述  $\alpha$ -A $\beta$  4 抗体明显不同。而如本文上面所指出, 发明抗体 / 抗体分子的进一步独特特征是它们同时和独立结合 / 识别  $\beta$ -A4 上 2 个分离表位的能力, 如本文和附加例子中所定义。

[0035] 在发明的一个较佳实施方案中, 发明的抗体分子中由所述抗体特异识别的  $\beta$ -A4 的至少 2 个区域形成构象 / 结构表位或不连续表位; 参见 Geysen (1986), 在上述引文中; Ghoshal (2001), J. Neurochem. 77, 1372-1385; Hochleitner (2000), J. Imm. 164, 4156-4161; Laver (1990), 在上述引文中。术语“不连续表位”指发明中非线性表位, 从来自多肽链远距离部分的残基中集合。当多肽链折叠成 3 维结构以形成构象 / 结构表位时, 这些残基集合于表面。本发明提供  $\beta$ -A4 内优选、未预期的表位, 使发明产生能与这些表位特异相互作用的特异抗体分子。这些发明抗体 / 抗体分子提供基础用于提高功效、减少副作用的可能性。然而如上所指出, 发明的抗体也能单独与各定义的  $\beta$ -A4 的 2 个区域 / 表位反应, 例如在附加例子中记载的肽点测定中。

[0036] 因此, 本发明提供独特工具, 可用于体内和体外解聚集的 A $\beta$  纤维和 / 或能稳定和 / 或中和单体 A $\beta$  的构象表位并从而能防止病理 A $\beta$  聚集。

[0037] 此外, 认为发明的抗体在阿尔茨海默氏的脑中淀粉样斑边缘结合 A $\beta$  沉积物并有效溶解病理初原纤维和纤维。

[0038] 在一个较佳实施方案中, 发明的抗体分子识别本文所定义 A $\beta$  4 的 2 个区域内至少 2 个连续氨基酸, 更优选所述抗体分子识别第一个区域和第二个区域中的氨基酸序列, 第一个区域中的氨基酸序列包括氨基酸: AEFRH D、EF、EFR、FR、EFRHDSG、EFRH D 或 HDSG 且第二个区域中的氨基酸序列包括氨基酸: HHQKL、LV、LVFFAE、VFFAED、VFFA 或 FFAEDV。更多片段或扩大部分包括: DAE、DAEF、FRH 或 RHDSG。

[0039] 特别优选的是本发明抗体分子包括由 SEQ ID NO: 3、5 或 7 所示核酸分子编码的可变  $V_H$ - 区或 SEQ ID NOs: 4、6 或 8 所示氨基酸序列显示的可变  $V_H$ - 区。

[0040] SEQ ID NOs :3 和 4 所示序列分别描述发明  $V_H$ -区、亲代抗体 MSR-3 的编码区和氨基酸序列, SEQ ID NOs :5 和 6 的序列分别描述发明  $V_H$ -区、亲代抗体 MSR-7 的编码区和氨基酸序列, SEQ ID NOs :7 和 8 分别描述发明  $V_H$ -区、亲代抗体 MSR-8 的编码区和氨基酸序列。因此,发明也提供抗体分子,包括由 SEQ ID NO 所示核酸分子编码的  $V_L$ -区, SEQ ID NO 选自 SEQ ID NO :9、11 或 13,或包括 SEQ ID NOs :10、12 或 14 所示氨基酸序列显示的可变  $V_L$ -区。SEQ ID NOs :9 和 10 对应于 MSR-3 的  $V_L$ -区, SEQ ID NOs :11 和 12 对应于 MSR-7 的  $V_L$ -区, SEQ ID NOs :13 和 14 对应于 MSR-8 的  $V_L$ -区。

[0041] 如附加例子所示,亲代抗体 MSR-3、-7 和 -8 用于进一步产生最佳化抗体分子,分子具有甚至更好的性质和 / 或结合亲和性。说明了一些对应和可能的策略度示于附加例子中。

[0042] 如附加例子所示的最优化策略产生了多种发明的最佳抗体。这些最佳化抗体与它们的亲代抗体共享  $V_H$ -区的 CDR-3 结构域。而原始构架区(如附图 1 所示)保持相同,在成熟 / 最佳化抗体分子中, CDR1、CDR2 和 / 或  $V_L$ CDR3-区改变。最佳化抗体分子的说明性、修饰序列目的示于附表 1。因此,最佳化抗体分子在本发明范围中,它们获得自本文所示 MSR-3、-7 和 -8 且能与本文所定义  $\beta$ -A4 肽的 2 个区域特异反应 / 特异识别。CDR-区可用于产生更多的发明抗体 / 抗体分子,优选 CDR1s,更优选 CDR1s 和 CDR2s,最优选 CDR1s、CDR2s 和 CDR3s,通过本领域已知的 CDR-移植方法;参见 Jones (1986), Nature 321, 522-515 或 Riechmann (1988), Nature 332, 323-327。最优选发明抗体 / 抗体分子以及抗体片段或衍生物获得自本文所示亲代抗体并如上所述与至少 1 个所述亲代抗体共享  $V_H$ -区的 CDR-3 结构域。如下所示,也认为产生的交叉-克隆抗体是本发明最佳 / 成熟的抗体 / 抗体分子。因此,优选抗体分子也包括或也可获得自抗体 / 抗体分子,特征 is 任何 SEQ ID NOs :32 到 45 中所示  $V_H$ -区或可包括任何 SEQ ID NOs :60 到 87 所定义 CDR3-区。在一个特定实施方案中,本发明最佳化抗体分子分别包括 SEQ ID NOs :88/89 和 90/91 所示  $V_H$ -区和  $V_L$ -区或其部分。其部分可以是 CDR-区,优选 CDR3-区。最佳类型的特别优选抗体包括特征示于 SEQ ID NOs :92 或 93 的 H-CDR3 和 / 或特征示于 SEQ ID NOs :94 或 95 的 L-CDR3。

[0043] 优选发明抗体 / 抗体分子的特征是它们与  $\beta$ -A4 和 / 或来自所述  $\beta$ -A4 的肽特异反应。例如,ELISA 测试中的光密度,如附加例子所示可被确定且光密度比例能用于确定亲代或最佳化抗体的特异反应性。因此,发明的优选抗体在 ELISA 测试中与  $\beta$ -A4 反应以达到光密度,在 450nm 测量时比没有  $\beta$ -A4 所测光密度高 10 倍,即 10 倍高于背景。光密度测量优选在显色反应开始后几分钟(如 1、2、3、4、5、6 或 7 分钟)进行以最优化信号与背景比例。

[0044] 在一个特定较佳实施方案中,发明的抗体分子包括至少 1 个由 SEQ ID NOs :15、17 或 19 所示核酸分子编码的  $V_H$ -区的 CDR3 或至少 1 个由 SEQ ID NOs :16、18 或 20 所示  $V_L$ -区的 CDR3 氨基酸序列和 / 或所述抗体分子包括至少 1 个由 SEQ ID NOs :21、23 或 25 所示核酸分子编码的  $V_H$ -区的 CDR3 或至少 1 个由 SEQ ID NOs :22、24 或 26 所示  $V_H$ -区的 CDR3 氨基酸序列。最优选抗体包括至少 1 个本文所定义  $V_H$ -区的 CDR3。上文所述 CDR3 结构域涉及发明的例证性亲代抗体分子 MSR-3、-7 或 -8。然而,如附表 1、8 或 10 所示,通过附加例子所示方法可获得的成熟和 / 或最佳化抗体分子能包括修饰的  $V_H$ -、 $V_L$ -、CDR1、CDR2 和 CDR3 区。因此,发明的抗体分子优选选自 MSR-3、-7 和 -8 或者 MSR-3、-7 或 -8 的亲和力-成熟形式。

MSR-3、-7 和 -8 的亲合力 - 成熟形式以及交叉 - 克隆形式包括抗体分子, 抗体分子包含表 1 或 8 所示 CDR1、CDR2 和 / 或 CDR3 区或者特征示于任何 SEQ ID NOs :15 到 20、21 到 26、60 到 74、75 到 87、92 和 93 或 94 和 95。发明的抗体最优选包括至少 1 个 CDR, 优选 CDR1, 更优选 CDR2, 最优选 CDR3, 如附表 1、8 所示或如附表 10 所证明。

[0045] 注意到亲合力 - 成熟技术在本领域已知, 描述于附加例子和 Knappik(2000), J. Mol. Biol. 296, 55 ;Krebs(2000), J. Imm. Meth. 254, 67-84 ;WO 01/87337 ;WO01/87338 ;US 6, 300, 064 ;EP 96 92 92 78. 8 和下文所引用的更多参考文献。

[0046] 在发明的一个更佳实施方案中, 抗体分子是完整抗体 (免疫球蛋白, 像 IgG1、IgG2、IgG2b、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgD 或 IgE)、F(ab)-、Fabc-、Fv-、Fab'-、F(ab')<sub>2</sub>- 片段、单链抗体、嵌合抗体、CDR- 移植抗体、二价抗体 - 构建物、抗体 - 融合蛋白、交叉克隆抗体或合成抗体。

[0047] 也认识到免疫球蛋白基因的遗传变体。遗传变体如免疫球蛋白重 G 链亚类 1(IgG1) 可包括 CH1 结构域中的 G1m(17) 或 G1m(3) 同种异型标记或者 CH3 结构域中的 G1m(1) 或 G1m(非-1) 同种异型标记。发明的抗体分子也包括修饰或突变抗体, 像突变 IgG, 具有提高或减弱的 Fc- 受体结合或补体活化。还设想用常规方法产生发明的抗体, 例如用肽免疫哺乳动物 (优选小鼠) 产生特异性抗体, 肽包含如本文定义的  $\beta$  A4 的 2 个区域, 例如 N- 末端和中央区 / 表位包含 (a)  $\beta$  A4 的氨基酸 2 到 10 (或 (a) 其部分) 和 (b) 氨基酸延伸包含  $\beta$  -A4(SEQ ID No. 27) 的氨基酸 12 到 25 (或 (a) 其部分)。因此, 本领域技术人员可产生抗这一种肽的单克隆抗体, 且可筛选得到具有同时和单独结合 / 与 N- 末端和中央区 / 表位反应能力的抗体。在附加例子中提示了相应的筛选方法。

[0048] 如附加例子所示, 发明抗体 / 抗体分子能容易地和优先地重组构建和表达。发明的抗体分子包括至少 1 个本文所定义 MSR-3、MSR-7 或 MSR-8 亲代抗体或来自所述亲代抗体的亲合力 - 成熟 / 最佳化抗体的 CDRs, 更优选至少 2 个, 优选至少 3 个, 更优选至少 4 个, 更加优选至少 5 个且最优选至少 6 个。注意到在发明的重组产生的抗体中也包括 6 个以上 CDRs。本领域技术人员可容易地使用附加例子中给出的信息以推出亲代以及亲合力最佳化抗体的相应 CDRs。通过亲代抗体的成熟 / 最优化获得的最佳化抗体例子示于附表 1。发明的成熟 / 最佳化抗体分子是例如 MSR 7. 9H7, 其特征也由本文所附序列确定, 序列包括 SEQ ID NOs :88 到 95 且描述 MSR 7. 9H7 的 V<sub>H</sub>- 区 (SEQ ID NOs :88 和 89)、MSR 7. 9H7 的 V<sub>L</sub>- 区 (SEQ ID NOs :90 和 91)、MSR 7. 9H7 的 H-CDR3 (SEQ ID NOs :92 和 93) 以及 MSR 7. 9H7 的 L-CDR3 (SEQ ID NOs :94 和 95)。例证性抗体分子 7. 9H7 获得自亲代抗体 MSR7 且是本发明最佳 / 成熟抗体分子的特别优选发明例子。此抗体分子可根据本发明进一步修饰, 例如以交叉克隆形式, 参见下文和附加例子。

[0049] 如附加例子所证明, 发明的抗体也包括交叉克隆抗体, 即抗体包括来自一个或多个本文所述亲代或亲合力 - 最佳化抗体的不同抗体区 (如 CDR 区)。这些交叉克隆抗体可以是一些不同构架中的抗体, 其中最优选构架是 IgG- 构架, 甚至更优选在 IgG1-、IgG2a 或 IgG2b- 构架中。特别优选所述抗体构架是哺乳动物, 最优选人构架。轻和重链上的结构域有相同的一般结构且各结构域包括 4 个构架区, 其序列相对保守, 由称为互补决定区 (CDR1-3) 的 3 个超变结构域连接。

[0050] 如本文所用, “人构架区” 涉及的构架区与天然产生的人免疫球蛋白的构架区大体

相同(约85%或更高,通常90-95%或更高)。抗体的构架区即组成轻和重链的组合构架区用于安置和排列CDRs。CDRs主要用于结合抗原的表位。注意到本文所述的交叉克隆抗体不但存在于优选的(1)抗体构架,而且在免疫球蛋白构架中可引入抗体分子包括来自本文所述的亲代抗体MSR-3、-7或-8或衍生自所述亲代抗体的成熟抗体。优选的构架是IgG1、IgG2a和IgG2b。最优选是人构架和人IgG1构架。

[0051] 如附加例子所示,能通过本领域已知遗传工程将完整轻链从最佳供体克隆转移到最佳受体克隆。最佳供体克隆的例子是例如L-CDR1(L1)且最佳受体克隆的例子是H-CDR2(H2)。表位特异性可通过结合克隆而保守,克隆具有相同的H-CDR-3区。更多细节在说明性实施例13中给出。

[0052] 发明的优选交叉克隆抗体分子选自MS-R 3. 3H1×3. 4L9、MS-R#3. 4H1×3. 4L9、MS-R#3. 4H3×3. 4L7、MS-R#3. 4H3×3. 4L9、MS-R#3. 4H7×3. 4L9、MS-R#3. 4H7×3. 4L7、MS-R#3. 6H5×3. 6L1、MS-R#3. 6H5×3. 6L2、MS-R#3. 6. H8×3. 6. L2、MS-R#7. 2H2×7. 2L1、MS-R#7. 4H2×7. 2L1、MS-R#7. 4H2×7. 12L2、MS-R#7. 9H2×7. 2L1(L1)、MS-R#7. 9H2×7. 12L1、MS-R 7. 9H2×7. 12L2、MS-R#7. 9H2×7. 12L2(L1+2)、MS-R#7. 9H4×7. 11. L2、MS-R#7. 11H1×7. 2L1、MS-R#7. 11H1×7. 11L1、MS-R#7. 11H2×7. 2L1(L1)、MS-R#7. 11H2×7. 9L1(L1)、MS-R#7. 11H2×7. 12L1或MS-R#8. 1H1×8. 2L1。

[0053] 交叉克隆抗体的产生也描述于附加例子中。上述优选交叉克隆抗体/抗体分子是获得自本文所示亲代抗体的最佳/成熟抗体分子,尤其来自MSR-3和MSR-7,另外,交叉克隆抗体分子/抗体的更多特征性CDR-序列和V-区在所附SEQ ID Nos:32、33、46和47(MSR 3. 6H5x3. 6. L2;V<sub>H</sub><sup>-</sup>,V<sub>L</sub><sup>-</sup>区);34、35、48和49(MSR 3. 6H8x3. 6. L2;V<sub>H</sub><sup>-</sup>,V<sub>L</sub><sup>-</sup>区);36、37、50和51(MSR 7. 4H2x7. 2. L1;V<sub>H</sub><sup>-</sup>,V<sub>L</sub><sup>-</sup>区);38、39、52和53(MSR7. 9H2x7. 12. L2;V<sub>H</sub><sup>-</sup>,V<sub>L</sub><sup>-</sup>区);40、41、54和55(MSR#7. 9H4x7. 12. L2;V<sub>H</sub><sup>-</sup>,V<sub>L</sub><sup>-</sup>区);42、43、56和57(MSR#7. 11H1x7. 11. L1;V<sub>H</sub><sup>-</sup>,V<sub>L</sub><sup>-</sup>区);以及44、45、58和59(MSR#7. 11H1x7. 2. L1;V<sub>H</sub><sup>-</sup>,V<sub>L</sub><sup>-</sup>区)中给出。这些特别优选的交叉克隆抗体分子的对应CDR3区描述于SEQ ID Nos:60到87。对于更多MSR抗体分子,V<sub>H</sub><sup>-</sup>、V<sub>L</sub><sup>-</sup>、CDR区可从附表8或10和所附序列列表中推出,尤其是SEQ ID Nos:32到95用于MS-R抗体/抗体分子#3. 6H5×3. 6L2、#3. 6H8×3. 6L2、#7. 4H2×7. 2L1、#7. 9H2×7. 12L2、#7. 9H4×7. 12L2、#7. 11H1×7. 11L1、#7. 11H1×7. 2L1和#7. 9H7或SEQ ID NOS:294到413用于MSR-R抗体/抗体分子#3. 3H1×3. 4L9、#3. 4H1×3. 4L9、#3. 4H3×3. 4L7、#3. 4H3×3. 4L9、#3. 4H7×3. 4L9、#3. 4H7×3. 4L7、#3. 6H5×3. 6L1、#7. 2H2×7. 2L1、#7. 4H2×7. 12L2、#7. 9H2×7. 2L1、#7. 9H2×7. 12L1、#7. 11H2×7. 2L1、#7. 11H2×7. 9L1、#7. 11H2×7. 12L1或#8. 1H1×8. 2L1。

[0054] 因此,除了以上定义的V<sub>H</sub><sup>-</sup>区,发明的优选抗体分子可包括如SEQ ID Nos:294到323中任一定义的V<sub>H</sub><sup>-</sup>区。类似地,除了以上定义的V<sub>H</sub><sup>-</sup>区,SEQ ID Nos:324到353描述优选的V<sub>L</sub><sup>-</sup>区可包括在发明的抗体分子中。相应的CDR-3区是以上定义的,以及附加的序列示于SEQ ID Nos:354到413。

[0055] 发明的抗体分子可通过本领域已知重组方法容易地产量生产,参见例如Bentley, Hybridoma 17(1998),559-567;Racher, Appl. Microbiol. Biotechnol. 40(1994),851-856; Samuelsson, Eur. J. Immunol. 26(1996),3029-3034。

[0056] 在理论上,在可溶性  $\beta$ -A4(单体/寡聚)中,N-末端和中间表位对于抗体相互作用易接近且本发明抗体分子能单独结合N-末端或中间表位,但在这些情况下不获得最大亲和力。然而,更可能通过同时结合2种表位获得与抗体互补位的最佳接触,即类似于和聚集的 $\beta$ -A4相互作用。因此,本发明抗体是独特的抗A $\beta$ 抗体,因为它们结合聚集的 $\beta$ -A4(通过与N-末端和中间表位相互作用)且同时能稳定和中和可溶性 $\beta$ -A4中的构象表位。这些抗体与现有技术的抗体不同。

[0057] 最优选本发明抗体分子与A $\beta$ 或其定义片段有亲和力, $K_D$ 值低于2000nM,优选低于100nM,更优选低于10nM,最优选低于1nM。测量这种亲和力可通过例子所述和本领域已知方法完成。这些方法包括但不限于BIACORE™-测定([www.biacore.com](http://www.biacore.com); Malmquist(1999),*Biochem. Soc. Trans* 27,335-340)和用标记抗体或标记A $\beta$ 的固相测定。

[0058] 发明的抗体分子优选能修饰/与体外(死后)脑切片中的淀粉样斑反应/结合切片来自患淀粉样-相关疾病的患者,像阿尔茨海默氏病。发明抗体/抗体分子优选防止体内以及体外测定中的A $\beta$ 聚集,如附加例子所述。类似地,本发明的抗体分子优选在例子所示体内和/或体外测定中解聚A $\beta$ 聚集。发明抗体/抗体分子的能力用于医学情况,尤其用于本文以下所述药物组合物。

[0059] 发明也提供编码本文所定义发明抗体分子的核酸分子。

[0060] 所述核酸分子可以是天然核酸分子以及重组核酸分子。因此,发明的核酸分子可以是天然来源、合成或半合成。它可包括DNA、RNA以及PNA且它可以是它们的杂合体。

[0061] 对于本领域技术人员显然的是调节序列能加入发明的核酸分子。例如,可使用启动子、转录增强子和/或能诱导表达发明多核苷酸的序列。合适的诱导系统是例如四环素-调节的基因表达,如Gossen和Bujard(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89(1992),5547-5551)和Gossen等.(*Trends Biotech.* 12(1994),58-62)所述,或是地塞米松-诱导型基因表达系统,如Crook(1989)*EMBO J.* 8,513-519所述。

[0062] 此外,进一步目的是核酸分子可包含例如硫酯键和/或核苷酸类似物。所述修饰可用于稳定核酸分子抗细胞中的内和/或外切核酸酶。所述核酸分子能由适当载体转录,载体所含嵌合基因能在细胞中转录所述核酸分子。在此方面,也要理解的是发明的多核苷酸可用于“基因寻靶”或“基因治疗”方法。在另一个实施方案中,标记所述核酸分子。检测核酸分子的方法在本领域熟知,如DNA和RNA印迹、PCR或引物延伸。此实施例可用于基因治疗期间确定成功引入发明的核酸分子的筛选方法。

[0063] 发明的核酸分子可以是重组产生的嵌合核酸分子,包括单独或组合的任何上述核酸分子。发明的核酸分子优选是载体的一部分。

[0064] 因此本发明也涉及包含本发明核酸分子的载体。

[0065] 本发明的载体可以是例如质粒、粘粒、病毒、噬菌体或另外使用的载体如常规用于遗传工程的,且可包括更多基因如标记基因,能在合适的宿主细胞和合适的条件下选择所述载体。

[0066] 另外,除了发明的核酸序列,本发明的载体可包括表达控制元件,能在合适的宿主中适当表达编码区。这种控制元件对技术人员已知并可包括启动子、剪接盒、翻译起始密码子、翻译和插入位点用于将插入引入载体。

[0067] 发明的核酸分子优选可操作连接于所述表达控制序列,能在真核或原核细胞中表

达。

[0068] 确保在真核和原核细胞中表达的控制元件对本领域技术人员熟知。如上文所述，它们通常包括确保转录起始的调节序列和确保转录终止及稳定转录物的任选多腺苷酸信号。其它调节元件可包括转录以及翻译增强子和 / 或天然相联或异源启动子区域。允许在例如哺乳动物宿主细胞中表达的可能调节元件包括 CMV-HSV 胸苷激酶启动子、SV40、RSV- 启动子 ( 劳氏肉瘤病毒 )、人延伸因子 1 $\alpha$ - 启动子、糖皮质激素 - 诱导型 MMTV- 启动子 ( 莫洛尼小鼠肿瘤病毒 )、金属硫蛋白 - 或四环素诱导型启动子、或增强子，像 CMV 增强子或 SV40- 增强子。对于在神经细胞中表达，可使用神经丝 -、PGDF-、NSE-、PrP- 或 thy-1- 启动子。所述启动子在本领域已知，描述于 Charron (1995), J. Biol. Chem. 270, 25739-25745。对于在原核细胞中表达，描述了多种启动子，包括例如 tac-lac- 启动子或 trp 启动子。除了用于转录起始的元件，这些调节元件也可包括多核苷酸下游的转录终止信号，如 SV40-poly-A 位点或 tk-poly-A 位点。在此方面，合适的表达载体在本领域已知，如 Okayama-Berg cDNA 表达载体 pcDV1 (Pharmacia)、pRc/CMV、pcDNA1、pcDNA3 (In-vitro gene)、pSPORT1 (GIBCO BRL)、pX (Pagano (1992) Science 255, 1144-1147)、酵母双杂交载体如 pEG202 和 dpJG4-5 (Gyuris (1995) Cell 1175, 791-803)，或原核表达载体如 lambda gt11 或 pGEX (Amersham-Pharmacia)。除了本发明的核酸分子，载体可进一步包括编码分泌信号的核酸序列。这些序列对于本领域技术人员熟知。此外，取决于所用表达系统，能指导发明肽到细胞区室的前导序列可加入发明核酸分子的编码序列并在本领域熟知。前导序列在翻译、起始和终止序列的适当阶段集合，优选前导序列能指导翻译蛋白或其蛋白质分泌到周质空间或胞外基质。任选地，异源序列可编码融合蛋白，包括赋予所需特征的 C- 或 N- 末端鉴定肽，如稳定或简化表达重组产物的纯化。一旦载体掺入到适当宿主中，宿主维持于适合高水平表达核酸序列的条件下维持，任意地，接着能收集和纯化发明的抗体分子或其片断。因此发明也涉及宿主 / 宿主细胞，它们包括本文定义的载体。这种宿主可用于加工以获得发明的抗体 / 抗体分子以及用于医学 / 药物配置。所述宿主细胞也可包括转导或转染的神经元细胞，像神经元干细胞，优选成体神经元干细胞。这种宿主细胞能用于移植治疗。

[0069] 另外，本发明载体也可以是表达、基因转移或基因靶向载体。基因治疗是在通过活体外或体内技术将治疗基因导入细胞的基础上，它是基因转移最重要应用之一。用“神经抗体”技术产生了表达抗神经生长因子的中和抗体的转基因小鼠；Capsoni, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97 (2000), 6826-6831 和 Biocca, Embo J. 9 (1990), 101-108。用于体外或体内基因治疗的合适载体、方法或基因传递系统描述于文献且对本领域技术人员已知；参见例如 Giordano, Nature Medicine 2 (1996), 534-539；Schaper, Circ. Res. 79 (1996), 911-919；Anderson, Science 256 (1992), 808-813, Isner, Lancet 348 (1996), 370-374；Muhlhauser, Circ. Res. 77 (1995), 1077-1086；Onodua, Blood 91 (1998), 30-36；Verzeletti, Hum. Gene Ther. 9 (1998), 2243-2251；Verma, Nature 389 (1997), 239-242；Anderson, Nature 392 (Supp. 1998), 25-30；Wang, Gene Therapy 4 (1997), 393-400；Wang, Nature Medicine 2 (1996), 714-716；WO 94/29469；WO 97/00957；US 5, 580, 859；US 5, 589, 466；US 4, 394, 448 或 Schaper,《生物技术的当前观点 7》(Current Opinion in Biotechnology 7) (1996), 635-640 和本文所引用参考文献。所述载体和 / 或基因传递系统也描述于神经组织 /

细胞（参见 Blömer, J. Virology 71(1997)6641-6649）或下丘脑（参见 Geddes, Front Neuroendocrinol. 20(1999), 296-316 或 Geddes, Nat. Med. 3(1997), 1402-1404）中的基因治疗方法。用于神经细胞 / 组织的更多合适基因治疗构建物在本领域已知, 例如 Meier(1999), J. Neuropathol. Exp. Neurol. 58, 1099-1110。发明的核酸分子和载体可设计用于指导引入或经脂质体、病毒载体（如腺病毒、逆转录病毒）、电穿孔、弹导（如基因枪）或其它传递系统导入细胞。另外, 杆状病毒系统能用作发明核酸分子的真核表达系统。导入和基因治疗方法应优选表达发明的功能性抗体分子, 因而所述表达抗体分子特别用于治疗、改善和 / 或防止神经疾病, 疾病与异常淀粉样合成、集合和 / 或聚集相关, 像阿尔茨海默氏病等。

[0070] 因此, 本发明的核酸分子和 / 或上述本发明载体 / 宿主可特别用作药物组合物。所述药物组合物能用于基因治疗方法。在此方面, 本发明的核酸分子和 / 或载体可用于调节、改变和 / 或修饰（细胞）表达和 / 或浓缩本发明抗体分子或其片段。

[0071] 对于基因治疗应用, 编码本发明肽或其片段的核酸可克隆到基因传递系统如病毒, 病毒用于感染或在感染细胞或生物体中改善疾病或赋予治疗效果。

[0072] 本发明也涉及用发明载体转染或转化的宿主细胞或携带发明载体的非人宿主, 即宿主细胞或宿主用根据发明的核酸分子或含这种核酸分子的载体遗传修饰。术语“遗传修饰”指除了其天然基因组, 宿主细胞或宿主包括根据发明的核酸分子或载体, 它被导入细胞或宿主或者导入其先驱物 / 亲代之一。核酸分子或载体可存在于遗传修饰的宿主细胞或宿主, 作为基因组外的单独分子且优选作为能复制的分子或者可稳定整合到宿主细胞或宿主的基因组中。

[0073] 本发明的宿主细胞可以是任何原核或真核细胞。合适的原核细胞一般用于克隆像大肠杆菌或枯草芽孢杆菌。此外, 真核细胞包括例如真菌或动物细胞。合适的真菌细胞的例子是酵母细胞, 优选酵母属且最优选酿酒酵母种。合适的动物细胞是例如昆虫细胞、脊椎动物细胞, 优选哺乳动物细胞如 HEK293、NS0、CHO、MDCK、U2-OSHe1a、NIH3T3、MOLT-4、Jurkat、PC-12、PC-3、IMR、NT2N、Sk-n-sh、CaSki、C33A。这些宿主细胞如 CHO- 细胞可提供翻译后修饰给发明的抗体分子, 包括去除前导肽、折叠和集合 H(重) 和 L(轻) 链、以正确侧向糖基化分子和分泌功能分子。本领域已知的更多合适细胞系获得自细胞系存放处, 像美国模式培养物保藏所 (ATCC)。根据本发明, 更认为原代细胞 / 细胞培养物可作为宿主细胞发挥功能。所述细胞特定获得自昆虫（像果蝇或蠅属种的昆虫）或哺乳动物（像人、猪、小鼠或大鼠）。所述宿主细胞也可包括来自和 / 或获得自细胞系如成神经细胞瘤细胞系的细胞。上述原代细胞在本领域熟知并包括原代星形胶质细胞、（混合的）脊髓培养物或海马培养物。

[0074] 在一个更佳实施方案中, 用本发明载体转化的宿主细胞是神经元细胞、神经元干细胞（如成体神经元干细胞）、脑细胞或从其中衍生的细胞（系）。然而, 含本发明核酸分子的 CHO- 细胞可特别用作宿主。这种细胞能在表达分子即本发明的抗体分子上提供正确的二级修饰。这些修饰包括糖基化和磷酸化。

[0075] 宿主可以是非人的哺乳动物, 最优选小鼠、大鼠、绵羊、小牛、狗、猴子或猿。所述哺乳动物对于发展治疗也许是不可缺少的, 优选治疗上述神经性和 / 或神经变性疾病。此外, 本发明的宿主可特别用于产生发明的抗体分子（或其片段）。认为所述抗体分子（或其片段）分离自所述宿主。认为本文所述核酸分子和 / 或载体掺入序列中用于转基因表达。将

发明的核酸分子作为转基因导入非人宿主且它们随后的表达可用于产生发明的抗体。例如,在转基因动物的牛奶中表达这种转基因提供了获得定量的发明抗体分子的方法;参见 US 5, 741, 957、US 5, 304, 489 或 US 5, 849, 992。此方面有用的转基因包括发明的核酸分子,例如本文所述抗体分子轻和重链的编码序列,可操作连接于乳腺特异基因的启动子和 / 或增强子结构,像酪蛋白或  $\beta$ -乳球蛋白。

[0076] 发明也提供方法用于制备发明的抗体分子,包括在能合成所述抗体分子的条件培养本文所述宿主细胞并从所述培养物中回收所述抗体分子。

[0077] 发明也涉及的组合物包括发明抗体分子或由上文所述方法产生的、编码发明抗体分子的核酸分子,载体包括所述核酸分子或上文定义的宿主细胞以及任选的更多单独或组合分子,如能干扰淀粉样斑形成或能解聚已形成淀粉样斑的分子。如本文所用,术语“组合物”包括至少 1 个发明的化合物。这种组合物优选是药物或诊断组合物。

[0078] 组合物可以是固体或液体形式,可以是粉末、片剂、溶液或气雾剂形式。所述组合物可包括一个或多个发明的抗体 / 抗体分子或发明的核酸分子、载体或宿主。也认为所述组合物包括至少 2 个发明的抗体分子或编码所述抗体分子的核酸分子,优选 3 个,更优选 4 个,最优选 5 个。所述组合物也可包括最佳的发明抗体 / 抗体分子,它们通过下文和附加例子所述方法获得。

[0079] 优选所述药物组合物任选包括药学上可接受载体和 / 或稀释剂。本文所述药物组合物可特别用于治疗神经性和 / 或神经变性疾病。所述疾病包括但不限于阿尔茨海默氏病、肌萎缩侧索硬化 (ALS)、淀粉样变荷兰型的遗传性脑出血、唐氏综合症、HIV- 相关痴呆、帕金森氏病和与衰老相关的神经元疾病。认为发明的药物组合物是淀粉样斑形成的有效抑制剂或解聚淀粉样斑的有效刺激剂。因此,本发明提供含发明化合物的药物组合物用于治疗与病理 APP 蛋白酶解和 / 或淀粉样斑形成相关的疾病 / 紊乱。

[0080] 合适的药物载体、赋形剂和 / 或稀释剂的例子在本领域熟知并包括磷酸缓冲盐水溶液、水、乳剂如油 / 水乳剂、多种类型的润湿剂、无菌溶液等。包括这种载体的组合物可通过熟知的常规方法制成。这些药物组合物能以合适的剂量施用给受试者。施用合适的组合物可通过不同方式实现,如静脉内、腹膜内、皮下、肌肉内、局部、皮内、鼻内或支气管内施用。所述施用特别优选通过注射和 / 或传递到脑动脉中的位点或直接到脑组织中完成。发明组合物也可直接施用到靶位点,如通过弹导传递到外部或内部靶位点,像脑。剂量方案由参与的医师和临床因素确定。如医学领域熟知的,任何病人的剂量取决于许多因素,包括病人体型、体表面积、年龄、待施用的特定化合物、性别、施用时间和途径、总体健康和其它同时施用的药物。蛋白质药物活性物质的存在量可在 1ng 和 10mg/kg 体重每剂量间;然而考虑低于或高于此示范范围的剂量,尤其考虑上述因素。如果方案是连续输注,范围也应在 1  $\mu$ g 到 10mg 单位每千克体重每分钟。

[0081] 进展能通过定期评估监控。发明组合物可局部或全身施用。注意到外周施用的抗体能进入中枢神经系统,参见 Bard (2000), Nature Med. 6, 916-919。肠胃外施用制品包括无菌水或非水溶液、悬浮液和乳剂。非水溶剂的例子是丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油、可注射有机酯如油酸乙酯。含水载体包括水、醇 / 水溶液、乳剂或悬浮液,包括盐水和缓冲基质。肠胃外载体包括氯化钠溶液、林格右旋糖、右旋糖和氯化钠、乳酸盐林格溶液或不挥发性油。静脉内载体包括流体和营养补充物、电解液补充物 (如以林格右旋糖为基础) 等。

防腐剂和其它添加剂也可存在,例如抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂和惰性气体等。此外,发明的药物组合物可包括更多试剂,取决于药物组合物的预期用途。所述试剂可以是作用于中枢神经系统的药物,像神经保护因子、胆碱脂酶抑制剂、M1 毒蝇碱受体的拮抗剂、激素、抗氧化剂、炎症抑制剂等。所述药物组合物特别优选包括更多试剂,如神经递质和 / 或神经递质的取代分子、维生素 E 或  $\alpha$ -硫辛酸。

[0082] 药物组合物以及本发明方法或所述发明的用途能用于治疗所有类型的疾病,这些疾病迄今未知或涉及或取决于病理 APP 聚集或病理 APP 加工。它们可特别用于治疗阿尔茨海默氏病和其它疾病,其中淀粉样  $\beta$  的胞外沉积物似乎发挥作用。它们需要用于人,尽管动物治疗也包括在本文所述方法、用途和组合物中。

[0083] 在发明的一个较佳实施方案中,上文所述本发明组合物是诊断组合物,进一步包括任选的合适检测方法。诊断组合物包括至少 1 个上述发明化合物。

[0084] 所述诊断组合物可包括发明的化合物,特别且优选本发明以可溶形式 / 液相的抗体分子,但也认为所述化合物结合 / 附着和 / 或连接固体支持物。

[0085] 固体支持物能用于结合本文定义的诊断组合物使用或本发明化合物可直接结合所述固体支持物。这些支持物在本领域熟知并包括商业购买的柱材料、聚苯乙烯珠、胶乳珠、磁性珠、胶态金属颗粒、玻璃和 / 或硅片和表面、硝化纤维条、膜、薄片、duracytes、孔和反应槽壁、塑料管等。发明化合物,特别是本发明抗体可结合许多不同载体。熟知载体的例子包括玻璃、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚丙烯、聚乙烯、聚碳酸酯、葡聚糖、尼龙、直链淀粉、天然和修饰的纤维素、聚丙烯酰胺、琼脂糖和磁铁矿。为了发明目的,载体性质可以是可溶或不溶。上面鉴定了适当标记和标记方法且进一步在下文描述。固定 / 固相化所述发明化合物的合适方法熟知,包括但不限于离子、疏水、共价相互作用等。

[0086] 发明的诊断组合物特别优选用于检测和 / 或定量 APP 和 / 或 APP- 加工产物 (像淀粉样  $\beta$ ), 或用于检测和 / 或定量病理和 / 或 (遗传) 修饰的 APP- 切割面。

[0087] 如附加例子所示,本发明化合物特别是发明的抗体分子,特别用作诊断试剂通过间接免疫荧光检测阿尔茨海默氏病患者脑切片中的真人淀粉样斑。

[0088] 用于诊断组合物的所述本发明化合物优选可检测标记。多种技术可用于标记生物分子,对本领域技术人员熟知并认为在本发明范围内。这种技术例如描述于 Tijssen,《酶免疫测定的实践和理论》(Practice and theory of enzyme immuno assays), Burden, RH 和 von Knippenburg (主编), 15 卷 (1985),《分子生物学的基本方法》(Basic methods in molecular biology); Davis LG, Dibner MD; Battey Elsevier (1990), Mayer 等., (主编)《细胞和分子生物学的免疫化学方法》(Immunochemical methods in cell and molecular biology) Academic Press, London (1987), 或丛书《酶学方法》(Methods in Enzymology), Academic Press, Inc.。

[0089] 有许多不同标记和标记方法对本领域普通技术人员已知。能用于本发明的标记类型的例子包括酶、放射性同位素、胶态金属、荧光化合物、化学发光化合物和生物发光化合物。

[0090] 常用标记包括荧光染料 (像荧光素、若丹明、德克萨斯红等)、酶 (像辣根过氧化物酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶、碱性磷酸酶)、放射性同位素 (像  $^{32}\text{P}$  或  $^{125}\text{I}$ )、生物素、洋地黄毒苷、胶态金属、化学-或生物发光化合物 (像二氧杂环丁烷、荧光醇或吖啶)。标记过程在本领域

熟知,像酶或生物素酰基的共价偶联、碘化、磷酸化、生物素酰化等。

[0091] 检测方法包括但不限于放射自显影、荧光显微镜、直接和间接酶反应等。常用检测测定包括放射性同位素或非放射性同位素方法。这些包括蛋白质印迹、重叠测定、RIA(放射免疫测定)和 IRMA(免疫放射测定)、EIA(酶免疫测定)、ELISA(酶联免疫吸附测定)、FIA(荧光免疫测定)和 CLIA(化学发光免疫测定)。

[0092] 此外,本发明提供发明的抗体分子的用途或由本发明方法产生的抗体分子,使用发明的核酸分子、载体或宿主以制备药物或诊断组合物用于预防、治疗和/或诊断与淀粉样生成和/或淀粉样斑形成相关的疾病。另外优选的是,本文所述化合物(尤其是发明的抗体分子)用于预防和/或治疗与改良成异常 App-或淀粉样生成相关的神经病状。抗体分子如以(基因工程的)免疫球蛋白形式,像 IgG 构架尤其是 IgG1 构架中的抗体,或以嵌合抗体、双特异性抗体、单链 Fvs(ScFvs)或双特异性 scFvs 等的形式用于制备药物组合物。如附加例子中所证明,抗体分子也用于诊断情况,由于发明的抗体分子/检测 A $\beta$ 4 和/或淀粉样沉积物/斑特异地相互作用。

[0093] 因此,本发明化合物的用途是使用药物组合物制品用于神经性疾病,这需要改善例如分解  $\beta$ -淀粉样斑淀粉样(斑)清除或抗  $\beta$ -淀粉样斑形成的被动免疫。如附加例子所示,发明的抗体分子特别用于防止 A $\beta$  聚集和解聚已形成的淀粉样集合。因此,发明的抗体用于减少病理性淀粉样沉积物/斑,用于清除淀粉性斑/斑前体,以及用于神经元保护。尤其认为发明的抗体分子用于体内预防淀粉样斑,以及体内清除先存在的淀粉样斑/沉积物。此外,发明的抗体分子可用于抗 A $\beta$ 4 的被动免疫方法。通过包含 Fc 部分的本发明医用抗体可获得 A $\beta$ 4/A $\beta$ 4 沉积物的清除。所述抗体的 Fc 部分特别用于 Fc-受体介导的免疫应答,例如吸引巨噬细胞(吞噬细胞和/或小胶质细胞)和/或辅助细胞。对于 Fc 部分相关的免疫应答的介导,发明的抗体分子优选在(人)IgG1-构架中。如本文所讨论,用发明的抗体分子、编码相同或其部分的核酸分子、发明的载体或本发明的宿主细胞治疗的优选受试者是人。也设想其它构架像抗体分子的用于发明的 IgG2a-或 IgG2b-构架。

[0094] 特别设想了在小鼠配置中以 IgG2a 和 IgG2b 形式的免疫球蛋白构架,例如科学使用发明的抗体分子,如对表达(人)野生型或突变的 App、App-片段和/或 A $\beta$ 4 的转基因小鼠的测试。

[0095] 上述与淀粉样生成和/或淀粉样斑形成相关的疾病包括但不限于痴呆、阿尔茨海默氏病、运动神经病、帕金森氏病、ALS(肌萎缩侧索硬化)、痒病、HIV-相关痴呆以及克-雅氏病、淀粉样变病荷兰型的遗传性脑出血或唐氏综合症和与衰老相关的神经元疾病。发明的抗体分子和本文提供的组合物也用于。改善和/或预防与淀粉样生成和/或淀粉样斑形成有关的炎性过程。

[0096] 因此,本发明也提供方法治疗、防止和/或延迟神经性和/或神经变性疾病,包括施用有效量的发明抗体分子、发明核酸分子和/或上文定义组合物给受试者的步骤,受试者患所述神经性和/或神经变性疾病和/或受试者易患所述神经性和/或神经变性疾病。

[0097] 而在另一个实施方案中,本发明提供的试剂盒包括至少 1 个抗体分子、至少 1 个核酸分子、至少 1 个载体或至少 1 个发明的宿主。有利的是,本发明试剂盒进一步包括任选缓冲液、贮存溶液和/或剩余试剂或进行医学、科学或诊断测定和目标所需材料。此外,部分

发明试剂盒能单独包装于小瓶或瓶或组合容器或多容器单位。

[0098] 本发明试剂盒可有利地用于完成发明方法并能作为研究工具或医学工具用于本文所指多种应用,如诊断试剂盒。另外,发明的试剂盒可包含适一科学、医学和 / 或诊断目的的检测方法。制造试剂盒优选遵循本领域技术人员已知的标准过程。

[0099] 发明也提供方法用于最优化本工文定义的抗体分子,包括步骤:

[0100] (a) 构建多种获得自抗体的 Fab 抗体片段的文库,包含至少 1 个由 SEQ ID NOs :21、23 或 25 所示核酸分子编码的  $V_H$ - 区的 CDR3 或至少 1 个由 SEQ ID NOs :22、24 或 26 所示  $V_H$ - 区的 CDR3 氨基酸序列。

[0101] (b) 通过抗 A $\beta$  / A $\beta$  4 淘洗测试所得 Fab 最优化文库;

[0102] (c) 鉴定最佳克隆;

[0103] (d) 表达选择的最佳克隆。

[0104] 最优化发明的抗体 / 抗体分子也在附加例子中证明并可包括选择对本文所定义  $\beta$ -A4 的一个或两个区域 / 表位的亲和性较高或选择表达改进等。在一个实施方案中,对  $\beta$ -A4 的一个或两个区域 / 表位的所述选择包括选择对 (a) 含  $\beta$ -A4 的氨基酸 2 到 10 (或 (a) 其部分) 的氨基酸延伸和 / 或 (b) 含  $\beta$ -A4 的氨基酸 12 到 25 (或 (a) 其部分) (SEQ ID No. 27) 的氨基酸延伸的高亲和力。

[0105] 本领域技术人员能容易地用本发明讲授完成发明方法。抗体的最优化方案在本领域已知。这些最优化方案包括本文所示和所述的 CDR 步行诱变并描述于 Yang (1995), J. Mol. Biol. 25, 392-403 ; Schier (1996), J. Mol. Biol. 263, 551-567 ; Barbas (1996), Trends. Biotech 14, 230-34 或 Wu (1998), PNAS 95, 6037-6042 ; Schier (1996), Human Antibodies Hybridomas 7, 97 ; Moore (1997), J. Mol. Biol. 272, 336。

[0106] “淘洗”- 技术也在本领域已知,参见例如 Kay (1993), Gene 128, 59-65。此外,出版物像 Borrebaeck (1995), 《抗体工程》“Antibody Engineering”, Oxford University, 229-266 ; McCafferty (1996), 《抗体工程》, Oxford University Press ; Kay (1996), 《实验室手册》(A Laboratory Manual), Academic Press 提供最优化方案,可根据本发明修改。

[0107] 最优化方法可进一步包括步骤,其中最佳克隆进一步通过盒诱变来最优化,如附加例子所示。

[0108] 最优化本文所述抗体分子的方法进一步示于附加例子,亲代抗体 / 抗体分子的亲和力成熟能特异识别  $\beta$ -A4 肽 / A $\beta$  4 / A $\beta$  4 / A $\beta$  4 的 2 个区域。

[0109] 上文所述方法步骤 (b) 中的所述 A $\beta$  / A $\beta$  4 优选是聚集的 A $\beta$  / A $\beta$  4。可完成所述淘洗 (如附加例子所述) 而增加结合的严紧性。增加严紧性可通过减少 A $\beta$  / A $\beta$  4 浓度或提高 (测定) 温度。通过淘洗测试最佳文库对技术人员已知且描述于 Kay (1993), 在上述引文中。步骤 (c) 中的鉴定根据最低  $K_D$ - 值排列来完成。

[0110] 所述步骤 (c) 中的鉴定最优选通过 Koff- 排列完成。Koff- 排列对技术人员已知且描述于 Schier (1996), 在上述引文中 ; Schier (1996), J. Mol. Biol. 255, 28-43 或 Duenas (1996), Mol. Immunol. 33, 279-286。此外, Koff- 排列描述于附加例子。可如附加例子所述测定非标准条件的常数。

[0111] 如上文所述,可表达鉴定的克隆以进一步评估。表达能用附加例子所示的已知方法完成。表达可产生表达的 Fab- 片段、scFvs, 双特异性免疫球蛋白、双特异性抗体分子、

Fab- 和 / 或 Fv 融合蛋白或完整抗体像 IgGs, 特别是 IgG1。

[0112] 最佳化抗体特别是最佳化 Fabs 或最佳化 IgGs, 优选 IgG1s, 可通过附加例子所示方法测试。这种方法包括但不限于测试结合亲和力、确定  $K_D$ - 值、肽点分析、ELISA- 测定、RIA 测定、CLIA- 测定、(免疫) 组织学研究 (例如染色淀粉样斑)、解聚测定或抗体 - 依赖的  $\beta$ -A4 吞噬。

[0113] 在本发明又一个实施方案中, 提供一种方法其中通过交叉克隆产生最佳化抗体。此方法也描述于附加例子并包括单独结合最佳化 CDR- 区的步骤, 例如通过单独结合来自成熟克隆的最佳化 H-CDR2 和 L-CDR2, 克隆有 H-CDR3, 优选相同的 H-CDR3。

[0114] 在一个较佳实施方案中, 发明涉及方法用于制备药物组合物, 包括步骤:

[0115] (a) 根据本文所述和附加例子所示方法最优化抗体;

[0116] (b) 用生理上可接受载体制成最佳化抗体 / 抗体分子, 如上文所述。

[0117] 因此, 发明也提供由本文所述方法制备的药物组合物并包括更多最佳化抗体分子, 抗体分子能特异识别  $\beta$ -A4 肽 / A $\beta$  4/A $\beta$  4/A $\beta$  4 的 2 个区域, 如上文所述。

[0118] 本文引用的示范序列:

[0119] SEQ ID NO :1

[0120] AEFRHDSGY

[0121]  $\beta$ -A4 肽的第一个区域, “N- 末端区域 / 表位”

[0122] SEQ ID NO :2

[0123] VHHQKLVFFAEDVG

[0124]  $\beta$ -A4 肽的第二个区域, “中央 / 蹭区域 / 表位”

[0125] SEQ ID NO :3

[0126] MS-Roche#3 的 VH- 区 (核酸序列)

[0127] CAGGTGCAATTGGTGAAAGCGGCGGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGCGC  
GGCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTG  
AGCGCGATTAGCGGTAGCGGCGGCAGCACCTATTATGCGGATAGCGTGAAAGGCCGTTTTACCATTTACGTGATAA  
TTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCTCTTA  
CTCATTATGCTCGTTATTATCGTTATTTTGATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGC (SEQ ID  
NO :3)

[0128] SEQ ID NO :4

[0129] MS-Roche#3 的 VH- 区 (氨基酸序列)

[0130] QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFT  
ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLTHYARYRYFDVWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO :4)

[0131] SEQ ID NO :5

[0132] MS-Roche#7 的 VH- 区 (核酸序列)

[0133] CAGGTGCAATTGGTGAAAGCGGCGGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGCGC  
GCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAG  
CGCGATTAGCGGTAGCGGCGGCAGCACCTATTATGCGGATAGCGTGAAAGGCCGTTTTACCATTTACGTGATAATTC  
GAAAAACACCCTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCTGGTAAGG  
GTAATACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA

GC(SEQ ID NO :5)

[0134] SEQ ID NO :6

[0135] MS-Roche#7 的 VH- 区 (氨基酸序列)

[0136] QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGVVRYFDVWGQGLTLTVSS (SEQ ID NO :6)

[0137] SEQ ID NO :7

[0138] MS-Roche#8 的 VH- 区 (核酸序列)

[0139] CAGGTGCAATTGGTGGAAAAGCGGCGGCGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCGATTAGCGGTAGCGGCGGCAGCACCTATTATGCGGATAGCGTGAAAGGCCGTTTTACCATTTACGTGATAATCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTCTTCTTTCTCGTGGTTATAATGGTTATTATCATAAGTTTGTATGTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGC (SEQ ID NO :7)

[0140] SEQ ID NO :8

[0141] MS-Roche#8 的 VH- 区 (氨基酸序列)

[0142] QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLLSRGYNGYYHKFDVWGQGLTLTVSS (SEQ ID NO :8)

[0143] SEQ ID NO :9

[0144] MS-Roche#3 的 VL- 区 (核酸序列)

[0145] GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAACGTGCGACCCTGAGCTGCAGAGCGAGCCAGAGCGTGAGCAGCAGCTATCTGGCGTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAATTTATGGCGCGAGCAGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGGATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGCCAGCAGGTTTATAATCCTCCTGTTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAATTAACGTACG (SEQ ID NO :9)

[0146] SEQ ID NO :10

[0147] MS-Roche#3 的 VL- 区 (氨基酸序列)

[0148] DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSDTFTLTISSLEPEDFAVYYCQQVYNPPVTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO :10)

[0149] SEQ ID NO :11

[0150] MS-Roche#7 的 VL- 区 (核酸序列)

[0151] GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAACGTGCGACCCTGAGCTGCAGAGCGAGCCAGAGCGTGAGCAGCAGCTATCTGGCGTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAATTTATGGCGCGAGCAGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGGATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGACTTATTATTGCTTTCAGCTTTATTCTGATCCTTTTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAATTAACGTACG (SEQ ID NO. 11)

[0152] SEQ ID NO :12

[0153] MS-Roche#7 的 VL- 区 (氨基酸序列)

[0154] DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSDTFTLTISSLEPEDFATYYCFQLYSDPFTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO :12)

- [0155] SEQ ID NO :13
- [0156] MS-Roche#8 的 VL- 区 (核酸序列)
- [0157] GATATCGTGCTGACCCAGAGCCC GGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAACGTGCGACCCTGAGCTGC  
AGAGCGAGCCAGAGCGTGAGCAGCAGCTATCTGGCGTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAAT  
TTATGGCGCGAGCAGCCGTGCAACTGGGGTCCC GGCGCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGGATTTTACCCTGA  
CCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGACTTATTATTGCCAGCAGCTTTCTTCTTTTCTCCTACCTTTGGC  
CAGGGTACGAAAGTTGAAATTAACGTACG (SEQ ID NO :13)
- [0158] SEQ ID NO :14
- [0159] MS-Roche#8 的 VL- 区 (氨基酸序列)
- [0160] DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSG  
TDFTLTISSLEPEDFATYYCQQLSFPPTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO :14)
- [0161] SEQ ID NO :15
- [0162] MSR-3V<sub>L</sub>- 区的 CDR3 (核酸序列)
- [0163] CAG CAG GTT TAT AAT CCT CCT GTT
- [0164] (SEQ ID NO :15)
- [0165] SEQ ID NO :16
- [0166] MSR-3V<sub>L</sub>- 区的 CDR3 (氨基酸序列)
- [0167] QQVYNPPV (SEQ ID NO :16)
- [0168] SEQ ID NO :17
- [0169] MSR-7V<sub>L</sub>- 区的 CDR3 (核酸序列)
- [0170] |TTT CAG CTT TAT TCT GAT CCT TTT|
- [0171] (SEQ ID NO :17)
- [0172] SEQ ID NO :18
- [0173] MSR-7V<sub>L</sub>- 区的 CDR3 (氨基酸序列)
- [0174] FQLYSDPF (SEQ ID NO. 18)
- [0175] SEQ ID NO :19
- [0176] MSR-8V<sub>L</sub>- 区的 CDR3 (核酸序列)
- [0177] CAG CAG CTT TCT TCT TTT CCT CCT
- [0178] (SEQ ID NO. 19)
- [0179] SEQ ID NO :20
- [0180] MSR-8V<sub>L</sub>- 区的 CDR3 (氨基酸序列)
- [0181] QQLSSFPP (SEQ ID NO :20)
- [0182] SEQ ID NO :21
- [0183] MSR-3V<sub>H</sub>- 区的 CDR (核酸序列)
- [0184] CTT ACT CAT TAT GCT CGT TAT TAT CGT TAT TTT GAT GTT
- [0185] (SEQ ID NO :21)
- [0186] SEQ ID NO :22
- [0187] MSR-3V<sub>H</sub>- 区的 CDR (氨基酸序列)
- [0188] LTHYARYRYFDV (SEQ ID NO :22)

- [0189] SEQ ID NO :23
- [0190] MSR-7V<sub>H</sub>- 区的 CDR( 核酸序列)
- [0191] GGT AAG GGT AAT ACT CAT AAG CCT TAT GGT TAT GTT
- [0192] CGT TAT TTT
- [0193] (SEQ ID NO :23)
- [0194] SEQ ID NO :24
- [0195] MSR-7V<sub>H</sub>- 区的 CDR( 氨基酸序列)
- [0196] GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO :24)
- [0197] SEQ ID NO :25
- [0198] MSR-8V<sub>H</sub>- 区的 CDR( 核酸序列)
- [0199] CTT CTT TCT CGT GGT TAT AAT GGT TAT TAT CAT AAG
- [0200] TTT GAT GTT
- [0201] (SEQ ID NO. 25)
- [0202] SEQ ID NO :26
- [0203] MSR-8V<sub>H</sub>- 区的 CDR( 氨基酸序列)
- [0204] LLSRGYNGYYHKFDV (SEQ ID NO :26)
- [0205] SEQ ID NO :27 A β 4( 氨基酸 1 到 42)
- [0206] DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI IGLMVGGVVIA (SEQ ID NO :27)
- [0207] SEQ ID NO :28 引物
- [0208] 5' -GTGGTGGTCCGATATC-3' (SEQ ID NO :28)
- [0209] SEQ ID NO :29 引物
- [0210] 5' -AGCGTCACACTCGGTGCGGCTTTCGGCTGGCCAAGAACGGTTA-3' (SEQ ID NO :29)
- [0211] SEQ ID NO :30 引物
- [0212] 5' -CAGGAAACAGCTATGAC-3' (SEQ ID NO :30)
- [0213] SEQ ID NO :31 引物
- [0214] 5' -TACCGTTGCTCTTCACCCC-3' (SEQ ID NO :31)
- [0215] SEQ ID NO :32MS-Roche#3. 6H5×3. 6L2 的 VH ;DNA ;人工序列
- [0216] CAATTGGTGGAAAGCGGCGGCGCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTCC  
GGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCTAT  
TTCTGAGTCTGGTAAGACTAAGTATTATGCTGATTCTGTAAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGATAATTCGAAAA  
ACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTCTTACTCATTAT  
GCTCGTTATTATCGTTATTTTGTATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA (SEQ ID NO :32)
- [0217] SEQ ID NO. 33 ;MS-Roche#3. 6H5×3. 6L2 的 prot VH 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0218] QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISESGTKYKYADSVKGRFTIS  
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLTHYARYRYFDVWGQGLVTVSS (SEQ ID NO :33)
- [0219] SEQ ID NO :34MS-Roche#3. 6H8×3. 6L2 的 VH 区 ;DNA ;人工序列
- [0220] CAATTGGTGGAAAGCGGCGGCGCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTCC  
GGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCTAT  
TTCTGAGTATTCTAAGTTTAAAGTATTATGCTGATTCTGTAAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGATAATTCGAAAA

ACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTCTTACTCATTAT  
GCTCGTTATTATCGTTATTTTGTATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA (SEQ ID NO :34)

[0221] SEQ ID NO :35MS-Roche#3. 6H8×3. 6L2 的 prot VH 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0222] QLVESSGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISEYSKFKYYADSVKGRFTIS  
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLTHYARYRYFDVWGQGLTLTVSS (SEQ ID NO :35)

[0223] SEQ ID NO :36MS-Roche#7. 4H2×7. 2L1 的 VH 区 ;DNA ;人工序列

[0224] CAATTGGTGAAAGCGGCGGCGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCCTCC  
GGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCTAT  
TAATTATAATGGTGCTCGTATTTATTATGCTGATTCTGTAAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGATAATTCGAAAA  
ACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTGGTAAGGGTAAT  
ACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGTATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA (SEQ  
ID NO :36)

[0225] SEQ ID NO :37MS-Roche#7. 4H2×7. 2L1 的 prot VH 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0226] QLVESSGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINYNGARIYYADSVKGRFTIS  
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGYVRYFDVWGQGLTLTVSS (SEQ ID NO :37)

[0227] SEQ ID NO :38MS-Roche#7. 9H2×7. 12L2 的 VH 区 ;DNA ;人工序列

[0228] CAATTGGTGAAAGCGGCGGCGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCCTCC  
GGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCTAT  
TAATGCTGATGGTAATCGTAAGTATTATGCTGATTCTGTAAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGATAATTCGAAAA  
ACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTGGTAAGGGTAAT  
ACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGTATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA (SEQ  
ID NO :38)

[0229] SEQ ID NO :39MS-Roche#7. 9H2×7. 12L2 的 prot VH 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0230] QLVESSGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINADGNRKYADSVKGRFTIS  
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGYVRYFDVWGQGLTLTVSS (SEQ ID NO :39)

[0231] SEQ ID NO :40MS-Roche#7. 9H4×7. 12L2 的 VH 区 ;DNA ;人工序列

[0232] CAATTGGTGAAAGCGGCGGCGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCCTCC  
GGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCTAT  
TAATGCTGTTGGTATGAAGAAGTTTTATGCTGATTCTGTAAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGATAATTCGAAAA  
ACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTGGTAAGGGTAAT  
ACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGTATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA (SEQ  
ID NO :40)

[0233] SEQ ID NO :41MS-Roche#7. 9H4×7. 12L2 的 prot VH 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0234] QLVESSGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINAVGMKKFYADSVKGRFTIS  
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGYVRYFDVWGQGLTLTVSS (SEQ ID NO :41)

[0235] SEQ ID NO :42MS-Roche#7. 11H1×7. 11L1 的 VH 区 ;DNA ;人工序列

[0236] CAATTGGTGAAAGCGGCGGCGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCCTCC  
GGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGGTAT  
TAATGCTGCTGGTTTTTCGTTACTTATTATGCTGATTCTGTAAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGATAATTCGAAAA

ACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTAAGGGTAAT  
ACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA (SEQ  
ID NO :42)

[0237] SEQ ID NO. 43MS-Roche#7. 11H1×7. 11L1 的 prot VH 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0238] QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGINAAGFRYYADSVKGRFTIS  
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGYVRYFDVWGQGLVTVSS (SEQ ID NO :43)

[0239] SEQ ID NO :44MS-Roche#7. 11H1×7. 2L1 的 VH 区 ;DNA ;人工序列

[0240] CAATTGGTGAAAGCGGCGGCGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTCC  
GGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGGTAT  
TAATGCTGCTGGTTTTCTACTTATTATGCTGATTCTGTTAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGATAATTCGAAAA  
ACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTAAGGGTAAT  
ACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA (SEQ  
ID NO :44)

[0241] SEQ ID NO :45MS-Roche#7. 11H1×7. 2L1 的 prot VH 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0242] QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGINAAGFRYYADSVKGRFTIS  
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGYVRYFDVWGQGLVTVSS (SEQ ID NO :45)

[0243] SEQ ID NO :46MS-Roche#3. 6H5×3. 6L2 的 VL 区 ;DNA ;人工序列

[0244] GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCAGCGACCCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAACGTGCGACCCTGAGCTGC  
AGAGCGAGCCAGTTTCTTTCTCGTTATTATCTGGCGTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCAGCGTCTATTAAT  
TTATGGCGGAGCAGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGGATTTTACCCTGA  
CCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGCCAGCAGACTTATAATTATCCTCCTACCTTTGGC  
CAGGGTACGAAAGTTGAAATTAACGTACG (SEQ ID NO :46)

[0245] SEQ ID NO :47MS-Roche#3. 6H5×3. 6L2 的 prot VL 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0246] DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQFLSRYYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSG  
TDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQTYNYPPTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO :47)

[0247] SEQ ID NO :48MS-Roche#3. 6H8×3. 6L2 的 VL 区 ;DNA ;人工序列

[0248] GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCAGCGACCCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAACGTGCGACCCTGAGCTGC  
AGAGCGAGCCAGTTTCTTTCTCGTTATTATCTGGCGTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCAGCGTCTATTAAT  
TTATGGCGGAGCAGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGGATTTTACCCTGA  
CCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGCCAGCAGACTTATAATTATCCTCCTACCTTTGGC  
CAGGGTACGAAAGTTGAAATTAACGTACG (SEQ ID NO :48)

[0249] SEQ ID NO :49MS-Roche#3. 6H8×3. 6L2 的 prot VL 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0250] DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQFLSRYYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSG  
TDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQTYNYPPTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO :49)

[0251] SEQ ID NO :50MS-Roche#7. 4H2×7. 2L1 的 VL 区 ;DNA ;人工序列

[0252] GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCAGCGACCCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAACGTGCGACCCTGAGCTGC  
AGAGCGAGCCAGTATGTTGATCGTACTTATCTGGCGTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCAGCGTCTATTAAT  
TTATGGCGGAGCAGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGGATTTTACCCTGA  
CCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGACTTATTATTGCCAGCAGATTTATTCTTTTCTCATACTTTGGC

CAGGGTACGAAAGTTGAAATTAACGTACG (SEQ ID NO :50)

[0253] SEQ ID NO :51MS-Roche#7. 4H2×7. 2L1 的 prot VL 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0254] DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQYVDRTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGS  
TDFTLTISSLEPEDFATYYCQQIYSPHFTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO :51)

[0255] SEQ ID NO :52MS-Roche#7. 9H2×7. 12L2 的 VL 区 ;DNA ;人工序列

[0256] GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAACGTGCGACCCTGAGCTGC  
AGAGCGAGCCAGCGTTTTTTTTATAAGTATCTGGCGTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACC CGCTCTATTAAT  
TTCTGGTTCTTCTAACCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGGATTTTACCCTGA  
CCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGCCTTCAGCTTTATAATATTCCTAATACCTTTGGC  
CAGGGTACGAAAGTTGAAATTAACGTACG (SEQ ID NO :52)

[0257] SEQ ID NO :53MS-Roche#7. 9H2×7. 12L2 的 prot VL 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0258] DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQRFFYKYLAWYQQKPGQAPRLLISGSSNRATGVPARFSGSGS  
TDFTLTISSLEPEDFAVYYCLQLYNIPNTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO :53)

[0259] SEQ ID NO :54MS-Roche#7. 9H4×7. 12L2 的 VL 区 ;DNA ;人工序列

[0260] GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAACGTGCGACCCTGAGCTGC  
AGAGCGAGCCAGCGTTTTTTTTATAAGTATCTGGCGTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACC CGCTCTATTAAT  
TTCTGGTTCTTCTAACCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGGATTTTACCCTGA  
CCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGCCTTCAGCTTTATAATATTCCTAATACCTTTGGC  
CAGGGTACGAAAGTTGAAATTAACGTACG (SEQ ID NO :54)

[0261] SEQ ID NO :55MS-Roche#7. 9H4×7. 12L2 的 prot VL 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0262] DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQRFFYKYLAWYQQKPGQAPRLLISGSSNRATGVPARFSGSGS  
TDFTLTISSLEPEDFAVYYCLQLYNIPNTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO :55)

[0263] SEQ ID NO :56MS-Roche#7. 11H1×7. 11L1 的 VL 区 ;DNA ;人工序列

[0264] GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAACGTGCGACCCTGAGCTGC  
AGAGCGAGCCAGCGTATTCTTCGTATTTATCTGGCGTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACC CGCTCTATTAAT  
TTATGGCGGAGCAGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGGATTTTACCCTGA  
CCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGACTTATTATTGCCAGCAGGTTTATTCTCCTCCTACACCTTTGGC  
CAGGGTACGAAAGTTGAAATTAACGTACG (SEQ ID NO :56)

[0265] SEQ ID NO :57MS-Roche#7. 11H1×7. 11L1 的 prot VL 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0266] DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQRILRIYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGS  
TDFTLTISSLEPEDFATYYCQQVYSPHFTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO :57)

[0267] SEQ ID NO :58MS-Roche#7. 11H1×7. 2L1 的 VL 区 ;DNA ;人工序列

[0268] GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAACGTGCGACCCTGAGCTGC  
AGAGCGAGCCAGTATGTTGATCGTACTTATCTGGCGTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACC CGCTCTATTAAT  
TTATGGCGGAGCAGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGGATTTTACCCTGA  
CCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGACTTATTATTGCCAGCAGATTTATTCTTTTCCTCATACTTTGGC  
CAGGGTACGAAAGTTGAAATTAACGTACG (SEQ ID NO :58)

[0269] SEQ ID NO :59MS-Roche#7. 11H1×7. 2L1 的 prot VL 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列

[0270] DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQYVDRTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGS

- TDFTLTISSLEPEDFATYYCQQIYSFPHTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO :59)
- [0271] SEQ ID NO :60MS-Roche#3. 6H5×3. 6L2 的 HCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0272] CTTACTCATTATGCTCGTTATTATCGTTATTTTGATGTT (SEQ ID NO :60)
- [0273] SEQ ID NO :61MS-Roche#3. 6H5×3. 6L2 的 prot HCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0274] LTHYARYRYFDV (SEQ ID NO :61)
- [0275] SEQ ID NO :62MS-Roche#3. 6H8×3. 6L2 的 HCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0276] CTTACTCATTATGCTCGTTATTATCGTTATTTTGATGTT (SEQ ID NO :62)
- [0277] SEQ ID NO :63MS-Roche#3. 6H8×3. 6L2 的 prot HCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0278] LTHYARYRYFDV (SEQ ID NO :63)
- [0279] SEQ ID NO :64MS-Roche#7. 4H2×7. 2L1 的 HCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0280] GGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTT (SEQ ID NO :64)
- [0281] SEQ ID NO :65MS-Roche#7. 4H2×7. 2L1 的 prot HCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0282] GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO :65)
- [0283] SEQ ID NO :66MS-Roche#7. 9H2×7. 12L2 的 HCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0284] GGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTT (SEQ ID NO :66)
- [0285] SEQ ID NO :67#MS-Roche 7. 9H2×7. 12L2 的 prot HCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0286] GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO :67)
- [0287] SEQ ID NO :68MS-Roche#7. 9H4×7. 12L2 的 HCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0288] GGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTT (SEQ ID NO :68)
- [0289] SEQ ID NO :69MS-Roche#7. 9H4×7. 12L2 的 prot HCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0290] GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO :69)
- [0291] SEQ ID NO :70MS-Roche#7. 11H1×7. 11L1 的 HCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0292] GGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTT (SEQ ID NO :70)
- [0293] SEQ ID NO :71MS-Roche#7. 11H1×7. 11L1 的 prot HCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0294] GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO :71)
- [0295] SEQ ID NO :72MS-Roche#7. 11H1×7. 2L1 的 HCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0296] GGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTT (SEQ ID NO :72)
- [0297] SEQ ID NO :73MS-Roche#7. 11H1×7. 2L1 的 prot HCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0298] GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO :73)
- [0299] SEQ ID NO :74MS-Roche#3. 6H5×3. 6L2 的 LCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0300] CAGCAGACTTATAATTATCCTCCT (SEQ ID NO :74)
- [0301] SEQ ID NO :75MS-Roche#3. 6H5×3. 6L2 的 prot LCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0302] QQTYNYPP (SEQ ID NO :75)
- [0303] SEQ ID NO :76MS-Roche#3. 6H8×3. 6L2 的 LCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0304] CAGCAGACTTATAATTATCCTCCT (SEQ ID NO :76)
- [0305] SEQ ID NO :77MS-Roche#3. 6H8×3. 6L2 的 prot LCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0306] QQTYNYPP (SEQ ID NO :77)
- [0307] SEQ ID NO :78MS-Roche#7. 4H2×7. 2L1 的 LCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0308] CAGCAGATTTATTCTTTTCCTCAT (SEQ ID NO :78)

- [0309] SEQ ID NO :79MS-Roche#7. 4H2×7. 2L1 的 prot LCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0310] QQIYSFPH(SEQ ID NO :79)
- [0311] SEQ ID NO :80MS-Roche#7. 9H2×7. 12L2 的 LCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0312] CTTTCAGCTTTATAATATTCCTAAT (SEQ ID NO :80)
- [0313] SEQ ID NO :81MS-Roche#7. 9H2×7. 12L2 的 prot LCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0314] LQLYNIPN (SEQ ID NO :81)
- [0315] SEQ ID NO :82MS-Roche#7. 9H4×7. 12L2 的 LCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0316] CTTTCAGCTTTATAATATTCCTAAT (SEQ ID NO :82)
- [0317] SEQ ID NO :83MS-Roche#7. 9H4×7. 12L2 的 prot LCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0318] LQLYNIPN (SEQ ID NO :83)
- [0319] SEQ ID NO :84MS-Roche#7. 11H1×7. 11L1 的 LCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0320] CAGCAGGTTTATTCTCCTCCTCAT (SEQ ID NO :84)
- [0321] SEQ ID NO :85MS-Roche#7. 11H1×7. 11L1 的 prot LCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0322] QQVYSPPH (SEQ ID NO :85)
- [0323] SEQ ID NO :86MS-Roche#7. 11H1×7. 2L1 的 LCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0324] CAGCAGATTTATTCTTTTCCTCAT (SEQ ID NO :86)
- [0325] SEQ ID NO :87MS-Roche#7. 11H1×7. 2L1 的 prot LCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0326] QQIYSFPH (SEQ ID NO :87)
- [0327] SEQ ID NO :88MS-Roche#7. 9H7 的 VH 区 ;DNA ;人工序列
- [0328] Caggtgcaattgggtggaaagcggcgccgctggtgcaaccggcgccagcctgcgtctgagctgcgcg  
gcctccggatttaccttttagcagctatgcatgagctgggtgcgccaagcccctgggaagggtctcgagtgggtgag  
cgctattaatgcttctggtactcgctacttattatgctgattctgttaagggtcgttttaccatttcacgtgataatt  
cgaaaaacacctgtatctgcaaatgaacagcctgcgtgcggaagatacggccgtgtattattgcgcgcgtggtaag  
ggtaataactcataagccttatggttatggttcgttattttgatgtttggggccaaggcaccctggtgacggttagctc  
a (SEQ ID NO :88)
- [0329] SEQ ID NO :89MS-Roche#7. 9H7 的 prot VH 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0330] QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSQAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINASGTRTYADSVKGRFT  
ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGVVRYFDVWGQGLVTVSS (SEQ ID NO :89)
- [0331] SEQ ID NO :90MS-Roche#7. 9H7 的 VL 区 ;DNA ;人工序列
- [0332] Gatatcgtgctgaccagagcccggcgaccctgagcctgtctccggcgcaacgtgcgaccctgagctgc  
agagcgagccagagcgtgagcagcagctatctggcgtggtaccagcagaaaccaggtcaagcaccgcgtctattaat  
ttatggcgcgagcagcctgcaactgggggtcccggcgcttttagcggtcttgatccggcagcggattttacctga  
ccattagcagcctggaacctgaagactttgcgacttattattgcttcagatttataatagcctattacctttggc  
cagggtacgaaagttgaaattaaacgtacg (SEQ ID NO :90)
- [0333] SEQ ID NO :91MS-Roche#7. 9H7 的 prot VL 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0334] DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSG  
TDFLTLSISLEPEDFATYYCLQIYNMPITFGQGKVEIKRT (SEQ ID NO :91)
- [0335] SEQ ID NO :92MS-Roche#7. 9H7 的 HCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0336] Ggtaagggttaataactcataagccttatggttatggttcgttattttgatggt (SEQ ID NO :92)

- [0337] SEQ ID NO :93MS-Roche#7. 9H7 的 prot HCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0338] GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO :93)
- [0339] SEQ ID NO :94MS-Roche#7. 9H7 的 LCDR3 区 ;DNA ;人工序列
- [0340] Cttcagattttataatatgcctatt (SEQ ID NO :94)
- [0341] SEQ ID NO :95MS-Roche#7. 9H7 的 prot LCDR3 区 ;蛋白质 /1 ;人工序列
- [0342] LQIYNMPI (SEQ ID NO :95)
- [0343] 更多说明性序列描述于所附序列列表且也示于附表,特别是表 1、8 和 10。
- [0344] 图显示 :
- [0345] 图 1 HuCAL<sup>®</sup>-Fab1文库的序列概括
- [0346] 编号方式是根据 VBASE,除了 VL $\lambda$  位置 9 中的间距。在 VBASE 中,间距设于位置 10(Chothia 等.,1992)。在序列概括中,指示所有保持不变的 CDR3 残基。用于 HuCAL-Fab1 文库的对应序列可发现于附加的序列列表。
- [0347] A :氨基酸序列
- [0348] B :DNA 序列
- [0349] 图 2Fab 展示载体pMORPH<sup>®</sup>18\_Fab
- [0350] 载体图谱和 DNA 序列,包括限制性酶切位点
- [0351] 图 3Fab 表达载体pMORPH<sup>®</sup>x9\_Fab
- [0352] 载体图谱和 DNA 序列,包括限制性酶切位点
- [0353] 图 4 亲代 Fab 片段 MS-Roche-3、MS-Roche-7 和 MS-Roche 8 的序列
- [0354] A :氨基酸序列
- [0355] B :DNA 序列
- [0356] 图 5 :来自人颞皮层的恒冷切片的淀粉样斑的间接免疫荧光。斑用 MS-R#3. 2Fab(上侧组)和 MS-R#7. 4Fab(下侧组)标记,在严格封闭条件下以 20  $\mu$ g/ml(左侧组)和 5  $\mu$ g/ml(右侧组)。结合的 MS-R Fab 通过山羊抗-人-Cy3 来显示。
- [0357] 图 6 :来自人颞皮层的恒冷切片的淀粉样斑的间接免疫荧光。斑用 MS-R#3. 3IgG1(上侧组)和 MS-R#7. 12IgG1(下侧组)标记,在严格封闭条件下以 0.05  $\mu$ g/ml(左侧组)和 0.01  $\mu$ g/ml(右侧组)。结合的 MS-R IgG1 抗体通过山羊抗-人(H+L)-Cy3 来显示。
- [0358] 图 7 :来自人颞皮层的恒冷切片的淀粉样斑的间接免疫荧光,最终亲和力成熟后使用抗体。斑用 MS-R#7. 9. H7IgG1(MAB 31,顶部组)、MS-R#7. 11. H1x7. 2. L1IgG1(MAB 11,中间组)和 MS-R#3. 4. H7,底部组)标记。抗体在严格封闭条件下以 0.05  $\mu$ g/ml(左侧组)和 0.01  $\mu$ g/ml(右侧组)使用。结合的 MS-R IgG1 抗体通过山羊抗-人(H+L)-Cy3 来显示。
- [0359] 标度 :8,5mm = 150  $\mu$ m.
- [0360] 图 8 :聚合测定。抗 A $\beta$  抗体防止生物素酰化的 A $\beta$  掺入预形式的 A $\beta$  聚集物。
- [0361] 图 9 :解聚测定。抗 A $\beta$  抗体诱导生物素酰化的 A $\beta$  从聚集 A $\beta$  中释放。
- [0362] 图 10 :静脉内注射 1mg MS-Roche IgG#7. 9. H2 $\times$ 7. 12. L2 后,在 APP/PS2 双重转基因小鼠中的淀粉样斑的体内修饰。小鼠用磷酸缓冲盐水灌注,3 天后杀死。存在结合淀粉样斑的人 IgG 通过共焦显微镜在标记后显示,用山羊抗-人 IgG-Cy3 缀合物(b 组)标记来自前皮层的恒冷切片。相同切片用抗-A $\beta$  小鼠单克隆抗体(BAP-2-Alexa488 缀合物,a 组)

复染以呈现淀粉样斑的位置。显示单独的红 (B 组) 和绿 (A 组) 通道、合并图像 (D 组) 共定位的 (C 组) 信号。

[0363] 标度 :1cm = 50  $\mu$  m

[0364] 图 11 :静脉内注射 1mg MS-Roche IgG#7. 9. H4 $\times$ 7. 12. L2 后在 APP/PS2 双重转基因小鼠中的淀粉样斑体内修饰。实验条件和染色过程与图 10 所述相同。

[0365] 标度 :1. 6cm = 50  $\mu$  m

[0366] 图 12 :静脉内注射 1mg MS-Roche IgG#7. 11. H1 $\times$ 7. 2. L1 (MAB 11) 后, 在 APP/PS2 双重转基因小鼠中的淀粉样斑的体内修饰。实验条件和染色过程与图 10 所述相同。

[0367] 标度 :1, 4cm = 70  $\mu$  m

[0368] 图 13 :第 0、3 和 6 天静脉内注射 2mg MS-Roche IgG#7. 9. H7 (MAB 31) 后在 APP/PS2 双重转基因小鼠中的淀粉样斑的体内修饰。小鼠用磷酸缓冲盐水灌注, 9 天后杀死。存在结合淀粉样斑的人 IgG 通过共焦显微镜在标记后显示, 用山羊抗 - 人 IgG-Cy3 缀合物 (B 组) 标记来自前皮层的恒冷切片。相同切片用抗 -A $\beta$  小鼠单克隆抗体 (BAP-2-Alexa488 缀合物, a 组) 复染以呈现淀粉样斑的位置。显示单独的红 (B 组) 和 (A 组) 绿通道、合并图像 (d 组) 和共定位的 (C 组) 信号。

[0369] 标度 :1. 6cm = 80  $\mu$  m (A、B、C 组)

[0370] 1. 0cm = 50  $\mu$  m

[0371] 图 14 :第 0、3 和 6 天静脉内注射 2mg MS-Roche IgG#7. 11. H1 $\times$ 7. 2. L1 (MAB 11) 后, 在 APP/PS2 双重转基因小鼠中的淀粉样斑的体内修饰。实验条件和染色过程与图 13 所述相同。

[0372] 比例 :1, 6cm = 80  $\mu$  m

[0373] 图 15 :抗 A $\beta$  抗体与细胞表面 APP 的结合分析。通过流式细胞仪分析结合人 APP- 转染的 HEK293 细胞和非转染对照细胞的抗体。

[0374] 实施例阐述发明。

[0375] 实施例 1 :构建和筛选人组合抗体文库(HuCAL<sup>®</sup>-Fab 1)

[0376] 克隆 HuCAL<sup>®</sup>-Fab 1

[0377] HuCAL<sup>®</sup>-Fab 1 是以 Fab 抗体片段形式的充分合成、模式人抗体文库。HuCAL<sup>®</sup>-Fab 1 以单链形式从抗体文库开始集合 (HuCAL<sup>®</sup>-scFv; Knappik, (2000), J. Mol. Biol. 296, 57-86)。

[0378] VL 位置 1 和 2. 原始 HuCAL<sup>®</sup> 主基因用它们的真实 N- 末端构建 :VL $\lambda$  1 : QS(CAGAGC), VL $\lambda$  2 :QS(CAGAGC), 和 VL $\lambda$  3 :SY(AGCTAT)。含这些氨基酸的序列示于 W0 97/08320。在 HuCAL<sup>®</sup> 文库构建中, 头 2 个氨基酸变成 DI 以促进文库克隆 (EcoRI 位点)。所有 HuCAL<sup>®</sup> 文库包含 5' - 末端有 EcoRV 位点 GATATC(DI) 的 VL $\lambda$  基因。所有 HuCAL<sup>®</sup>  $\kappa$  基因 (主基因和文库中所有基因) 在 5' - 末端包含 DI (图 1A 和 B)。

[0379] VH 位置 1. 原始 HuCAL<sup>®</sup> 主基因用它们的真实 N- 末端构建 :VH1A、VH1B、VH2、VH4 和有 Q (= CAG) 作为第一个氨基酸的 VH6、VH3 和有 E (= GAA) 作为第一个氨基酸的 VH5。含这些氨基酸的序列示于 W0 97/08320。在构建 HuCAL<sup>®</sup>-Fab1 文库中, 所有 VH 基因中 VH 的 1 位上的氨基酸变成 Q(CAG) (图 1A 和 B)。

[0380] 设计 CDR 文库

[0381] V<sub>K</sub>1/V<sub>K</sub>3 位置 85. 由于盒诱变过程用于导入 CDR3 文库 (Knappik, (2000), 在上述引文中), V<sub>K</sub>1 和 V<sub>K</sub>3 的 85 位可以是 T 或 V. 因此, 在 HuCAL<sup>®</sup>-scFv1 文库构建中, V<sub>K</sub>1 和 V<sub>K</sub>3 的 85 位变化如下: 原始 V<sub>K</sub>1, 85T (密码子 ACC); V<sub>K</sub>1 文库 85T 或 85V (TRIM 密码子 ACT 或 GTT); 原始 V<sub>K</sub>3, 85v (密码子 GTG); V<sub>K</sub>3 文库, 85T 或 85V (TRIM 密码子 ACT 或 GTT); 同样应用于 HuCAL<sup>®</sup>-Fab1.

[0382] CDR3 设计. 所有保持不变的 CDR3 残基示于图 1A 和 B.

[0383] CDR3 长度. 设计的 CDR3 长度分布如下. 变化的残基在图 1 中以括号 (x) 显示. V<sub>K</sub> CDR3 有 8 个氨基酸残基 (位置 89 到 96) (偶尔 7-10 个残基), Q89、S90 和 D92 固定; VH CDR3 有 5 到 28 个氨基酸残基 (位置 95 到 102) (偶尔 4-28 个残基), D101 固定.

[0384] HuCAL<sup>®</sup>-Fab1 克隆到噬菌粒表达载体 pMORPH<sup>®</sup>18\_Fab1 (图 2). 此载体包括 Fd 片段, 其 phoA 信号序列在 C-末端融合丝状噬菌体的截短基因 III 蛋白, 进一步包括有 ompA 信号序列的轻链 VL-CL. 两个链都在 lac 操纵子控制下. 恒定结构域 C<sub>L</sub>C<sub>K</sub> 和 CH1 是合成基因, 与 HuCAL<sup>®</sup> 的模块系统完全相容 (Knappik, (2000), 在上述引文中).

[0385] 完整 VH-链 (MunI/StyI-片段) 被含 β-内酰胺酶转录单位 (bla) 的 1205bp 模拟物片段取代, 从而促进制备载体片段和选择完全去除 VH 的随后步骤.

[0386] VH-取代后, VL<sub>λ</sub> 通过 EcoRI/DraIII 去除且 VL<sub>K</sub> 通过 EcoRI/BsiWI 去除并用细菌碱性磷酸酶 (bap) 基因片段 (1420bp) 取代.

[0387] 由于轻链的可变性低于重链, 克隆开始于轻链文库. VL<sub>λ</sub> 和 VL<sub>K</sub> 轻链文库在 L-CDR3 中多样化, 产生的轻链文库用于 HuCAL<sup>®</sup>-scFv 文库 (Knappik, (2000), 在上述引文中), 它们也用于克隆 HuCAL<sup>®</sup>-Fab1. 在 λ they 的情况下, λ they 由 λ 1-、λ 2- 和 λ 3-HuCAL<sup>®</sup>-构架组成且总可变性为  $5.7 \times 10^6$ . VL<sub>λ</sub> 片段用引物 5' -GTGGTGGTTCCGAT ATC-3' (SEQ ID NO:28) 和 5' -AGCGTCACACTCGGTGCGGCTTTCGGCTGGCCAAG AACGGTTA-3' (SEQ ID NO:29) 通过 15 个 PCR 循环 (Pwo-聚合酶) 扩增. PCR 产物用 EcoRV/DraIII 消化并凝胶纯化. 在 VL<sub>λ</sub>-文库的情况下, bap-模拟物用 EcoRV/DraIII 从文库载体中去除. 2 μg 凝胶纯化的载体用 3 倍摩尔过量 VL<sub>λ</sub>-链在 16°C 连接 16 小时, 连接混合物在 800 μl 大肠杆菌 TOP10F 细胞 (Invitrogen) 中电穿孔, 产生总共  $4.1 \times 10^8$  个单独菌落. 转化子在 2×YT/1% 葡萄糖/34 μg/ml 氯霉素/100 μg/ml 氨苄青霉素中扩增约 2000 倍, 收集并在 -80°C 贮存于 20% (w/v) 甘油中.

[0388] K 文库包括 K 1-、K 2-、K 3- 和 K 4-HuCAL<sup>®</sup> 主基因, 总可变性为  $5.7 \times 10^6$ . 获得 VL<sub>K</sub>-链是通过 EcoRV/BsiWI 限制性消化并凝胶纯化. 在 VL<sub>K</sub>-文库的情况下, bap-模拟物用 EcoRV/BsiWI 从文库载体中去除. 2 μg 凝胶纯化的载体混合 5 倍摩尔过量的 VL<sub>K</sub>-链. 连接和转化入大肠杆菌 TOP10F 细胞 (Invitrogen) 如 VL<sub>λ</sub>-链所述进行, 产生总共  $1.6 \times 10^8$  个单独菌落.

[0389] 制备 2 个轻链文库的 DNA 且 bla-模拟物用 MunI/StyI 去除, 从而产生 2 个载体用于插入 VH 亚文库. HuCAL<sup>®</sup>-scFv 的 VH 文库用于产生 HuCAL<sup>®</sup>-Fab1. HuCAL<sup>®</sup>-scFv 的 VH 文库由主基因 VH1A/B-6 组成, 2 个 VH-CDR3 三核苷酸文库盒的区别在于单独的 CDR3 长度, 各 VH-文库结合 VL<sub>K</sub>-和 VL<sub>λ</sub>-1 文库. 为产生 HuCAL<sup>®</sup>-Fab1, 制备来自这些 VH-文库的 DNA 且保持原始可变性. DNA 用 MunI/StyI 消化并凝胶纯化. 5 倍摩尔过量的 VH-链用 3 μg

VL<sub>λ</sub>-文库载体和 3 μ gVL<sub>κ</sub>-文库载体在 22°C 连接 4 小时。连接混合物在 1200 μ l 大肠杆菌 TOP10F 细胞 (Invitrogen) 中电穿孔用于各载体,产生总共  $2.1 \times 10^{10}$  个单独菌落。转化子在 2×YT/1%葡萄糖/34 μ g/ml 氯霉素/10 μ g/ml 四环素中扩增约 4000 倍,收集并在 -80°C 贮存于 20% (w/v) 甘油中。

[0390] 作为质量控制,单个克隆的轻和重链分别用 5' -CAGGAAACAGCTATGAC-3' (SEQ ID NO :30) 和 5' -TACCGTTGCTCTTCACCCC-3' (SEQ ID NO :31) 测序。

[0391] 噬菌粒拯救、噬菌体扩增和纯化

[0392] HuCAL<sup>®</sup>-Fab 1 在 2×TY 培养茎中扩增,培养茎含 34 μ g/ml 氯霉素、10 μ g/ml 四环素和 1% 葡萄糖 (2×TY-CG)。在 37°C 以约 0.5 的 OD<sub>600</sub> 辅助噬菌体感染 (VCSM13) 后,离心和重悬浮于 2×TY/34 μ g/ml 氯霉素/50 μ g/ml 卡那霉素,细胞在 30°C 过夜生长。噬菌体从上清中 PEG- 沉淀 (Ausubel, (1998),《精编分子生物学实验手册》(Current protocols in molecular biology). John Wiley & Sons, Inc., New York, USA), 重悬浮于 PBS/20% 甘油并贮存于 -80°C。2 轮淘洗间的噬菌体扩增如下进行:对数中期 TG1- 细胞用洗脱的噬菌体感染并平板培养于 LB- 琼脂上, LB- 琼脂补充 1% 葡萄糖和 34 μ g/ml 氯霉素。30°C 过夜生长后,刮下菌落,调节至 OD<sub>600</sub> 为 0.5 并如上所述加入辅助噬菌体。

[0393] 实施例 2 :固相淘洗

[0394] MaxiSorp<sup>™</sup> 微量滴定板 F96 (Nunc) 的孔涂布 100 μ l 2.5 μ M 人 Aβ (1-40) 肽 (Bachem), 肽溶解于含 NaN<sub>3</sub> (0.05% v/v) 的 TBS, 密封平板在 37°C 培养 3 天, 其中肽易在平板上聚集。用 TBS 中的 5% 无脂干燥乳封闭后, 如上纯化的  $1-5 \times 10^{12}$  个 HuCAL<sup>®</sup>-Fab 噬菌体在 20°C 加入 1 小时。一些洗涤步骤之后, 通过用 500mM NaCl、100mM 甘氨酸 (pH 2.2) 的 pH- 洗脱来洗脱结合的噬菌体, 随后用 1M TRIS-Cl (pH 7) 中和。进行 3 轮淘洗, 如上所述各轮间进行噬菌体扩增, 洗涤严格性逐轮增加。

[0395] 实施例 3 :亚克隆选择的 Fab 片段用于表达

[0396] 选择的 HuCAL<sup>®</sup>-Fab 片段的 Fab- 编码插入物亚克隆到表达载体 pMORPH<sup>®</sup>x7\_FS 以促进迅速表达可溶性 Fab。选择的 HuCAL<sup>®</sup>-Fab 克隆的 DNA 制备物用 XbaI/EcoRI 消化, 因此切掉编码 Fab 的插入 (ompA-VL 和 phoA-Fd)。将纯化的插入物亚克隆到 XbaI/EcoRI 切割的载体 pMORPH<sup>®</sup>x7, 此载体先前携带 scFv 插入, 产生名为 pMORPH<sup>®</sup>x9\_Fab1 的 Fab 表达载体 (图 3)。此载体中表达的 Fab 携带 2 个 C- 末端标记 (FLAG 和 Strep) 用于检测和纯化。

[0397] 实施例 4 :通过 ELISA 鉴定 Aβ - 结合 Fab 片段

[0398] MaxiSorp<sup>™</sup> 微量滴定板 F384 (Nunc) 的孔涂布 20 μ l 2.5 μ M 人 Aβ (1-40) 肽 (Bachem), 肽溶解于含 NaN<sub>3</sub> (0.05% v/v) 的 TBS, 密封平板在 37°C 培养 3 天, 其中肽倾易于在平板上聚集。单独 Fab 的表达用 1mM IPTG 在 22°C 诱导 16 小时。可溶性 Fab 通过 BEL 裂解 (硼酸、NaCl、EDTA 和含缓冲液 pH 8 的溶菌酶) 提取并用于 ELISA。Fab 片段用碱性磷酸酶-缀合的山羊抗 Fab 抗体 (Dianova/Jackson Immuno Research) 检测。在 340nm 激发后, 加入 AttoPhos 荧光底物 (Roche Diagnostics) 后, 读出在 535nm 的发射。

[0399] 实施例 5 :抗体片段的最优化

[0400] 为最优化选择的 Aβ 结合抗体片段的结合亲和力, 一些 Fab 片段 MS-Roche-3 (MSR-3)、MS-Roche-7 (MSR-7) 和 MS-Roche-8 (MSR-8) (图 4) 用于构建 Fab 抗体片段文库, 通过来自 HuCAL<sup>®</sup> 文库的所有 CDR3 不同的 κ 链 κ 1-3 的库取代亲代 VL κ 3 链

(Knappik et al., 2000)。

[0401] Fab 片段 MS-Roche-3、7 和 8 经 XbaI/EcoRI 从 pMORPH<sup>®</sup>x9 \_FS 克隆到 pMORPH<sup>®</sup>18 以产生 pMORPH<sup>®</sup>18\_Fab1 (图 2), pMORPH<sup>®</sup>18 是以噬菌粒为基础的载体, 用于噬菌体展示 Fab 片段。κ 链库通过 XbaI/SphI 限制性酶切位点克隆到 pMORPH<sup>®</sup>18\_Fab1。

[0402] 所得 Fab 最优化文库通过淘洗筛选, 淘洗抗实施例 2 所述包被固体支持物的聚集的人 Aβ (1-40) 肽。

[0403] 最佳克隆在 Biacore 测定中通过 koff- 排列鉴定, 如实施例 8 所述。进一步确定最佳克隆 MS-Roche-3. 2、3. 3、3. 4、3. 6、7. 2、7. 3、7. 4、7. 9、7. 11、7. 12、8. 1、8. 2 的特征且与起始片段 MS-Roche-3、MS-Roche-7 和 MS-Roche-8 相比, 显示改进的亲性和生物活性 (图 4)。所列 CDRs 指 HuCAL<sup>®</sup>以共有区为基础的抗体基因 VH3kappa3。Fab 片段 MS-Roche-7. 12 通过克隆亲代克隆 MS-R 7 的 HCDR3 到 HuCAL<sup>®</sup>-Fab 文库来获得, 文库在所有 6 个 CDR 区有多多样性, 使用的设计过程与 Knappik 等., 2000 所述用于 CDR3 盒的相同。设计的文库盒强烈偏向于已知氨基酸的自然分布并遵循由 Allazikani 确立的规范 CDR 构象概念 (Allazikani 等., 1997)。然而与 HuCAL<sup>®</sup>主基因相反, 克隆 MS-Roche 7. 12 在 VL 链的 49 位包含氨基酸 S (参见附表 1)。

[0404] 第一轮亲和力成熟后, 最佳 Fabs 显示改进的特征超过起始 MS-Roche-3、MS-Roche-7 和 MS-Roche-8 克隆 (图 4)。成熟 Fabs 与 Aβ 1-40 和 Aβ 1-42 的结合亲和力显著增加, 产生的 K<sub>D</sub> 值范围在 22-240nM, 与亲代克隆的 850-1714nM 相比 (表 3)。免疫组化分析人 AD 脑切片中的淀粉样斑也显示成熟克隆的染色分布显著增加, 即获得更好的信号与背景比例且阳性斑染色以相对低浓度的成熟 Fabs 检测 (图 5)。

[0405] 为进一步最优化, 获得自 L-CDR3 最佳 MS-Roche-3、-7 和 -8 (表 1; 图 4) 的一组抗体片段的 VH CDR2 区和 VL CDR1 区通过盒诱变用三核苷酸 - 定向诱变 (Virnekäs 等., 1994) 来最优化。因此, 构建以三核苷酸为基础的 HCDR2 盒和以三核苷酸为基础的 LCDR1 盒, 所用设计过程与 Knappik 等., 2000 所述用于 CDR3 盒的相同。设计文库盒强烈偏向于已知氨基酸的自然分布并遵循由 Allazikani 确立的规范 CDR 构象概念 (Allazikani 等., 1997)。用于最优化初始选择抗体片段的方案通过自然免疫反应中观察到的体细胞高变来模拟亲和力成熟的过程。

[0406] 如上所述单独筛选所得文库, 产生 H-CDR2 或 L-CDR1 区中的最佳克隆。所有克隆如上鉴定, 通过在 Biacore 中 koff- 排列后对 Aβ 1-40- 纤维的 koff 改进且与对应亲代克隆相比, 对 Aβ 1-40 或 Aβ -42 或 2 者的亲和力提高 (表 3)。表 1 包含亲代的序列特征以及最佳克隆的序列。所列 CDRs 指 HuCAL<sup>®</sup>以共有区为基础的抗体基因 VH3kappa3。

[0407] 例如, L-CDR3 最优化后 (MS-Roche-7. 9), MS-Roche-7 亲代 Fab 对 Ab1-40 的亲和力增加 35 倍, 从 1100nM 到 31nM, 且 H-CDR2 最优化后 (MS-Roche-7. 9H2) 进一步提高到 5nM, 如表 3 所示。

[0408] H-CDR2 和 L-CDR1 最优化过程不仅增加亲和力, 而且使一些克隆在 AD 脑切片中的淀粉样斑染色有显著改进, 特别如用 MS-Roche 7. 9H2 和 7. 9H3 所见。

[0409]

表 1

结合物名称	L-CDR1	位置 49	L-CDR2	位置 85	L-CDR3	H-CDR1	位置 47	H-CDR2	H-CDR3
MS-Roche #3	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQVYNPPV	GFTFSSYAMS	W	AISGSGGTTYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.1	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGGTTYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYSYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGGTTYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.3	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQMSYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGGTTYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGGTTYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.5	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGGTTYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGGTTYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.2.H1	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYSYPP	GFTFSSYAMS	W	AISEHGLNIYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.2.H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYSYPP	GFTFSSYAMS	W	AISQRQGTTYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.3.H1	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQMSYPP	GFTFSSYAMS	W	WISEKSRFIYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.3.H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQMSYPP	GFTFSSYAMS	W	VISQESQKYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.3.H3	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQMSYPP	GFTFSSYAMS	W	AISQNGFHIYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H1	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISETSIRKYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GFTFSSYAMS	W	VIDMVGHITYADSVKG	LTHYARYRYFDV

[0410]

表 1 (续)

MS-Roche #3.4.H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	VISQTRKIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISETGMHIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	VISQVGAHIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H6	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISESGWSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	VISETGKNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISEHGREKYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H9	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISESSKNYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H10	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISESGRKYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H11	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISEFGKNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H12	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	VISQITGQNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H13	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISEQGRNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H14	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISESQYKYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H16	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISESGVNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H17	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISEFGQFIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.H18	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISQQSNFIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.L7	RASQRLGRLYLA	Y	GASSRAT	T	QQTIDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGGSGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV

[0411]

表 1 (续)

MS-Roche #3.4.L8	RASQWITKSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.L9	RASRRIHVYYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4.L11	RASQLVGRAYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GFTFSSYAMS	W	VISEGGQYKYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GFTFSSYAMS	W	VISERGINYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6.H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GFTFSSYAMS	W	VISETGKFIYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6.H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GFTFSSYAMS	W	AISERGRHIYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6.H5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GFTFSSYAMS	W	AISESGTKYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6.H6	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GFTFSSYAMS	W	AISEHGTNIYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6.H8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GFTFSSYAMS	W	AISEYSKFKYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6.L1	RASQFIQRFYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6.L2	RASQFLSRYYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	FQLYSDPF	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQLYSSPY	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQVYSHPF	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYNFPH	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV

[0412]

表 1 (续)

MS-Roche #7.5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	HQVYSPF	GTFSSYAMS	W	AISGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.6	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQLYSPY	GTFSSYAMS	W	AISGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	HQVYSAPF	GTFSSYAMS	W	AISGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQVYSRPI	GTFSSYAMS	W	AISGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AISGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.10	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYNPPH	GTFSSYAMS	W	AISGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.11	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AISGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12	RASQVYSSPYLA	S	GSSNRAT	V	LQIYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.13	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQVYSPF	GTFSSYAMS	W	AISGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINANGLKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINGTGMKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2.H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2.H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINSKGSRYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2.H5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINATGRSKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2.H6	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINARGNRTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2.H7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINSRGSDTHYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2.H8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINASGHKTYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV

[0413]

表 1 (续)

MS-Roche #7.2.L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSEPH	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2.L2	RASQYISFRYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSEPH	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2.L4	RASQFIRRSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSEPH	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.3.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQVYSHPF	GFTFSSYAMS	W	AISAINKTYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.3.L1	RASQYLHYGYLA	Y	GASSRAT	V	HQVYSHPF	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.4.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYNFPH	GFTFSSYAMS	W	AINATGYRTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.4.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYNFPH	GFTFSSYAMS	W	AIN'YNGARIYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSSYAMS	W	AINANGQRKFYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9.H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSSYAMS	W	AINYQGNRKYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9.H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSSYAMS	W	AINAVGMKKFYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9.H5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSSYAMS	W	AINHAGNKYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9.L1	RASQRLSPRYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9.L2	RASQYLHKRYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9.H6	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSEPH	GFTFSSYAMS	W	AINARGNRTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9.H7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSSYAMS	W	AINASCTRYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9.H8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSSYAMS	W	AINASGSKIYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV

[0414]

表 1 (续)

MS-Roche #7.9.H9	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQYNMPI	GFTFSSYAMS	W	AINCHKNKYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.11.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	GINAAGFRYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.11.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.11.H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	GINANGNRYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.11.H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	AINANGVKTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.11.H5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	AINAHGQRTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche # 7.11.L1	RASQRLRIYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12.H1	RASQVYFRRYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NINGNGNRKYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12.L1	RASQVYFRRYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12.L2	RASQRFYKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12.L3	RASQFVRRGFLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12.L4	RASQRLKRSYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12.L5	RASQRLKRSYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12.L6	RASQYLWRYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12.L7	RASQWIRKTYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSSPPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	LLSRGYNGYHHKFDV
MS-Roche #8.1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSNYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	LLSRGYNGYHHKFDV

[0415]

表 1 (续)

MS-Roche #8.2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSSYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	LLSRGYNGYYHKFDV
MS-Roche #8.1.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSNYPP	GFTFSSYAMS	W	AISRSGSNIIYADSVKVG	LLSRGYNGYYHKFDV
MS-Roche #8.2.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSSYPP	GFTFSSYAMS	W	AISITGRRKYADSVKVG	LLSRGYNGYYHKFDV
MS-Roche #8.2.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSSYPP	GFTFSSYAMS	W	AISRTGSKTYADSVKVG	LLSRGYNGYYHKFDV
MS-Roche #8.2.H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSSYPP	GFTFSSYAMS	W	ATSVKKGKTYADSVKVG	LLSRGYNGYYHKFDV
MS-Roche #8.2.L1	RASQRVSGRYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSSYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKVG	LLSRGYNGYYHKFDV

序列属于 V<sub>H</sub>3 和 V<sub>L</sub>3 HuCA 共有序列, 参见图 1A。

[0416] 实施例 6

[0417] **HuCAL**<sup>®</sup> 免疫球蛋白表达载体的构建

[0418] 重链克隆.pcdNA3.1+(invitrogen) 的多克隆位点被去除 (NheI/ApaI), 与用于 **HuCAL**<sup>®</sup> 设计的限制性位点相容的填充片段被插入用于连接前导序列 (NheI/EcoRI)、VH- 结构域 (MunI/) 和免疫球蛋白恒定区 (B1pI/ApaI)。前导序列 (EMBL 83133) 装有 Kozak

序列 (Kozak, 1987)。人 IgG (PIR A02146)、IgG4 (EMBL K01316) 和血清 IgA1 (EMBL J00220) 的恒定区切成长度约 70 个碱基的重叠寡核苷酸。引入沉默突变以去除与 HuCAL<sup>®</sup> 设计不相容的限制性位点。寡核苷酸通过重叠延伸-PCR 来剪接。

[0419] 在从 Fab 亚克隆到 IgG 中, Fab 的 VH DNA 序列通过 Mfe I/Blp I 切掉并连接入 IgG 载体, 载体经 EcoR I/Blp I 打开。EcoR I (g/aattc) 和 Mfe I (c/aattg) 共享相容粘性末端 (aatt), 连接入 IgG 表达载体后, Fab 中原始 Mfe I 位点的 DNA 序列从 c/aattg 变为 g/aattg, 从而破坏 Mfe I 和 EcoR I 位点, 因此也导致从 Q (密码子 :caa) 变为 E (密码子 :gaa)。

[0420] 轻链克隆 . pcDNA3.1/Zeo+(Invitrogen) 的多克隆位点被 2 个不同填充片段取代。κ-填充片段提供限制性位点用于插入 κ-前导区 (NheI/EcoRV)、HuCAL<sup>®</sup>-scFv Vκ-结构域 (EcoRV/BsiWI) 和 κ-链恒定区 (BsiWI/ApaI)。λ-填充片段中的对应限制性位点是 NheI/EcoRV (λ-前导区)、EcoRV/HpaI (Vλ-结构域) 和 HpaI/ApaI (λ-链恒定区) κ-前导区 (EMBL Z00022) 以及 λ-前导区 (EMBL J00241) 都装有 Kozak 序列。人 κ-(EMBL L00241) 和 λ-链 (EMBL M18645) 的恒定区通过上述重叠延伸-PCR 装配。

[0421] 产生表达 IgG 的 CHO- 细胞。CHO-K1 细胞用 IgG 重和轻链表达载体的等摩尔混合物共转染。双重抗性转染子用 600 μg/ml G418 和 300 μg/ml 零霉素 (Invitrogen) 选择, 接着有限稀释。通过捕获-ELISA 评估单克隆上清的 IgG 表达。阳性克隆在 RPMI-1640 培养基中扩增, 培养基补充 10% 超低 IgG-FCS (Life Technologies)。上清 pH 调至 8.0 并无菌过滤后, 溶液进行标准蛋白 A 柱层析 (Poros 20A, PEBiosystems)。

[0422] 实施例 7 : 用十肽的肽点分析

[0423] 下列涵盖 Aβ (1-42) 的氨基酸序列分成 43 个重叠十肽, 十肽有 1 个氨基酸的移码。

[0424] ISEVKM<sup>1</sup>DAEF RHDSGYEVHH QKLVFFAEDV GSNKGAIIGL MVGGVVI<sup>42</sup>ATV IV (SEQ ID NO : 414)。因此, 所包括的 DAEF RHDSGYEVHH QKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVGGVVIA (SEQ ID NO : 27) 代表 Aβ 4/β-A4 肽的氨基酸 1 到 42。

[0425] 43 个十肽由商业供应商 (Jerini BioTools, Berlin) 合成, N- 末端乙酰化且 C- 末端共价附着纤维素薄片 (“肽点”)。纤维素薄片在摇台上用封闭缓冲液 (50mM TrisHCl、140mM NaCl、5mM NaEDTA、0.05% NP40 (Fluka)、0.25% 明胶 (Sigma)、1% 牛血清白蛋白部分 V (Sigma), pH 7.4) 中的单克隆抗体 (2 μg/ml) 孵育 2 小时。薄片在摇台上用 TBS (10mM Tris.HCl、150mM NaCl, pH 7.5) 洗 3 次 3 分钟。然后用阴极缓冲液 (25mM Tris 碱、40mM 6-氨基己酸、0.01% SDS、20% 甲醇) 弄湿并转至半干印迹堆, 肽侧面向等大小的 PVDF 膜 (Biorad)。

[0426] 半干印迹堆由新弄湿的滤纸 (Whatman No. 3) 组成, 比肽薄片稍大。

[0427] 3 张纸用阴极缓冲液弄湿

[0428] 肽薄片

[0429] 用甲醇弄湿的 PVDF 膜薄片

[0430] 3 张纸用阳极缓冲液 1 (30mM Tris 碱、20% 甲醇) 弄湿

[0431] 3 张纸用阳极缓冲液 2 (0.3mM Tris 碱、20% 甲醇) 弄湿

[0432] 转移以阴极和阳极间 0.8mA/cm<sup>2</sup> 的电流密度进行 40 分钟, 足以从纤维素薄片洗脱大部分抗体并使其沉积在 PVDF 膜上。然后 PVDF 膜换成第 2 张 PVDF 膜且再转移 40 分钟

以确保从纤维素薄片完全洗脱。

[0433] PVDF 膜在封闭缓冲液中浸 10 分钟。然后 HRP- 标记的抗人 Ig H+L(Pierce) 以 1 : 1000 稀释加入,膜在摇台上孵育 1 小时。它用 TBST(有 0.005%吐温 20 的 TBS) 洗 3x10 分钟。将膜浸入溶液来显色,溶液由溶于 9ml 甲醇的 3mg 4- 氯萘酚和 41mlPBS(20mM 磷酸钠、150mM NaCl, pH 7.2)、10  $\mu$  l 30%过氧化氢 (Merck) 组成。显出蓝黑斑点后,膜用水充分洗涤并干燥。

[0434] 抗体 - 反应性肽点排布通过视觉检查透明点基质来产生。所讨论抗体的表位定义为反应性肽中的最小氨基酸序列。为比较起见,小鼠单克隆抗体 (BAP-2、BAP-1、BAP-17、BAP-21、BAP-24 和 4G8) 以同样方式分析,除了使用 HRP- 标记的抗小鼠 Ig 代替抗人 Ig。

[0435] 注意到单价 Fab 片段的亲和力成熟和转变成全长 IgG1 抗体通常导致表位识别序列有些扩大,如肽点和 ELISA 分析所示。这可能涉及在抗体 - 抗原相互作用区域中补充更多接触点作为亲和力成熟的结果,或涉及较强结合最小表位从而也能检测与邻近氨基酸的弱相互作用。当衍生自 A $\beta$  的肽用全长 IgG 抗体探测时,也许是后一种情况。如用于肽点分析的表 2 所示,当比较亲代 Fabs 和相应充分成熟的 IgG 抗体时,N- 末端和中间表位的识别序列延伸至 3 个氨基酸。然而,要牢记修饰十肽以在 C- 末端氨基酸上共价附着,且由于位阻因而此氨基酸可能不易接边全长抗体。如果是这种情况,最后的 C- 末端氨基酸对表位识别序列没有明显影响,在本发明所用肽点分析中需要考虑通过 C- 末端上的 1 个氨基酸减少最小识别序列的可能性。

[0436]

抗体	位置	位置
MSR-3Fab	3-4	18-23
MSR-7Fab	3-5	19-24
MSR-8Fab	4-5	18-21
MSR-9Fab	(1)3-9	18-24
MSR-10Fab	(4-10)	19-20
MSR-11Fab	3-7	(18-20)
MSR-26Fab	3-5	(16)-19-23
MSR-27Fab	(3)6-9	13-18(20)
MSR-29Fab		14-16(20)
MSR-37Fab	(4-6)	(19-24)
MSR-41Fab	3-7	(17-21)

MSR-42Fab	(4-9)	(18-24)
MSR 3. 4. H7IgG1	1-3	19-26
MSR 7. 9. H2IgG1	1-4	19-24
MSR 7. 9. H7IgG1	4-6	19-26
MSR 7. 2. H2x7. 2. L1IgG1	(1-4)5-9	18-26
MSR 7. 11. H1x7. 2. L1IgG1	4-6	19-26
BAP-2	4-6	
4G8		19-20(23)
BAP-21		32-34
BAP-24		38-40
BAP-1	4-6	
BAP-17		38-40

[0437] 表 2:肽点分析纤维素薄片上 Fabs 和全长 IgG 抗体与十肽的结合。数字指来自 A $\beta$  1-40 序列的必需氨基酸,它们必须存在于十肽以最佳结合抗体。弱肽反应性且因此对表位有弱的影响由括号表示。

[0438] 实施例 8:通过表面胞质基因组共振 (SPR) 确定 MS-R Fab 和 MS-R IgG1 抗体体外结合 A $\beta$  1-40 和 A $\beta$  1-42 纤维的  $K_D$  值

[0439] 抗 A $\beta$  抗体 (Fabs 和 IgG1) 结合纤维状 A $\beta$  通过表面胞质基因组共振 (SPR) 在线测量,确定分子相互作用的亲和力如 Johnson, Anal. Biochem. 1991, 198, 268-277 和 Richalet-Sécorde!, Anal. Biochem. 1997, 249, 165-173 所述。Biacore2000 和 Biacore3000 仪器用于这些测量。体外产生 A $\beta$  1-40 和 A $\beta$  1-42 纤维通过合成肽以 200  $\mu$ g/ml 浓度在 10mM 乙酸钠缓冲液 (pH 4.0) 中 37 $^{\circ}$ C 孵育 3 天。电镜分析确定 2 种肽的纤维结构, A $\beta$  1-40 显示主要较短 (< 1 微米) 纤维且 A $\beta$  1-42 显示主要较长 (> 1 微米) 纤维。假定这些纤维代表人 AD 脑中聚集的 A $\beta$  肽,比无定形集合与无结构沉淀的不定混合物更紧密。纤维以 1 : 10 稀释并直接偶联“先锋传感芯片 F1”,如厂商说明手册 (BIAapplication 手册, AB 版, Biacore AB, Uppsala, 1998) 所述。在开始的实验中发现选择的 MS-Roche Fabs 的反应动力学显著不同,因此须相应选择数据分析模式。对于动力学慢的结合物,  $K_D$  值通过曲线拟合时间依赖性传感器反应来计算,即来自  $k_{关}/k_{开}$  比例。动力学快的结合物通过拟合平衡时浓度依赖性传感器反应 (吸收 - 等温线) 来分析。  $K_D$  值从 Biacore 传感图计算,用蛋白质测定法确定的总 Fab 浓度为基础。对于获得自第 1 和第 2 个亲和力成熟循环的克隆,各制品中活性 Fab 含量在 Biacore 中确定,根据 Christensen《分析生物化学》(Analytical Biochemistry)

(1997) 249, 153-164 所述方法。简要地, 在分析物溶液的不同流速的质量限制条件下测量联合阶段中蛋白质与 A $\beta$  1-40 纤维的时间依赖性结合, 纤维固定于 Biacore 芯片。认识质量限制的条件通过在测量通道的芯片表面上固定大量 A $\beta$  纤维 (2300 个反应单位) 和以相对低的分析物浓度工作, 即 160nM (以总 Fab 蛋白浓度为基础)。

[0440] 初步筛选 HuCAL 文库中鉴定的选择 MS-Roche 克隆的  $K_D$  值的总结和第 1 和第 2 个亲和力成熟循环后它们对应的成熟衍生物示于表 3。在第 1 个亲和力成熟循环中重链 CDR3 (VH-CDR3) 保持不变且最优化集中于轻链 CDR3 (VL-CDR3) 的多样性。在第 2 个亲和力成熟循环中, 进行了 VL-CDR1 和 VH-CDR2 的多样化。一些来自第 1 个成熟循环的结合物转变成全长人 IgG1 抗体, 根据实施例 6 所述 MorphoSys 开发的技术和上述 Biacore 中确定的  $K_D$  值。全长 IgG1 结合 A $\beta$  1-40 和 A $\beta$  1-42 的  $K_D$  值示于表 4。

[0441] 鉴定第 2 个成熟循环后来自 L-CDR1 以及 H-CDR2 文库的成熟衍生物并可组合轻和重链。交叉克隆策略描述于实施例 13。交换完整轻链 LCDR1 或 L-CDR1+2。所选交叉克隆 Fabs 的  $K_D$  值示于表 8。

[0442] 一些来自第 1 和第 2 个成熟循环及来自交叉克隆结合物的 Fabs 根据实施例 6 所述 MorphoSys 开发的技术转变成全长人 IgG1 抗体。IgG 结合 A $\beta$  1-40 和 A $\beta$  1-42 纤维的  $K_D$  值在 Biacore 中确定。简要地, 使用逐步形成二价复合体的动力学模型,  $K_D$  值通过斯卡查德类型分析平衡结合来计算。由于联合过程在低抗体浓度很低 (到达平衡几小时), 平衡结合数据通过外推联合曲线到长时间间隔来获得。

[0443] 形成单价和二价复合体的开和关速度经曲线拟合过程确定并用于外推。在这些  $R_{eq}$  值基础上, 进行斯卡查德分析且确定形成单价和二价复合体的  $K_D$  值。数据总结于表 5。从曲线斯卡查德图获得较高 (二价) 和较低 (单价) 亲和相互作用用于 MS-R IgGs, MS-R IgGs 获得自第 2 个亲和力成熟循环和交叉克隆。这 2 种亲和力代表表 5 所示范围的较低和较高  $K_D$  值。

[0444] 表 3

[0445]

克隆选自	MS-R #	$K_D$ A $\beta$ <sub>1-40</sub> nM	$K_D$ A $\beta$ <sub>1-42</sub> nM	MS-R #	$K_D$ A $\beta$ <sub>1-40</sub> nM	$K_D$ A $\beta$ <sub>1-42</sub> nM	MS-R #	$K_D$ A $\beta$ <sub>1-40</sub> nM	$K_D$ A $\beta$ <sub>1-42</sub> nM
初步筛选	3	930	1300	7	1100	1714	8	850	1000
第1次亲和力成熟	3.2	52	240	7.2	22	58	8.1	24	42
	3.3	38	104	7.3	23	88	8.2	24	64
	3.4	32	103	7.4	28	103			
	3.6	40	68	7.9	31	93			
				7.11	22	74			
			7.12	28	60				
第2次亲和力成熟	3.2H1	4.4	3.3	7.2H1	9.3	10.2	8.1H1	13.6	9.2
	3.2H2	5.2	1.1	7.2H2	8.2	8.2	8.2H1	1.6 <sup>a</sup>	2.1 <sup>a</sup>
	3.3H1	17.1	19.4	7.2H3	45.4	5.3	8.2H3	n.d.	3.1
	3.3H2	10.6	22.8	7.2H4	5.9	5.0	8.2H4	12.1	11.9
	3.3H3	1.4	3.3	7.2H5	8.0	10.1	8.2L1	4.8	3.7
	3.4H1	13.5	14.0	7.2H6	1.0	n.d.			
	3.4H3	6.7	8.4	7.2H7	15.5	8.1			
	3.4H4	33.0	43.0	7.2H8	1.5	2.1			
	3.4H5	26.5	36.0	7.2L1	13.3	12.7			
	3.4H6	49.0	60.0	7.2L2	5.6	4.0			
	3.4H7	19.2	31.7	7.2L4	1.1	1.1			
	3.4H8	10.7	26.5	7.3H1	8.0	11.2			
	3.4H9	21.7	18.6	7.3L1	4.5	6.0			
	3.4H10	8.1	10.1	7.4H1	8.0	6.6			
	3.4H11	19.5	8.3	7.4H2	9.9	6.2			
	3.4H12	25.5	27.0	7.9H1	4.9	5.4			
	3.4H13	32.3	18.8	7.9H2	5.0	5.7			
	3.4H14	13.3	16.8	7.9H3	4.2	2.8			
	3.4H16	25.5	15.6	7.9H4	4.8	4.2			
	3.4H17	2.0	4.3	7.9H5	1.7	1.8			
	3.4H18	17.1	10.0	7.9H6	1.2	1.2			
	3.4L7	9.3	9.3	7.9H7	1.0	0.9			
	3.4L8	6.2	13.0	7.9H8	0.8	0.7			
	3.4L9	16.3	9.1	7.9H9	0.9	0.9			
	3.4L11	5.3	2.6	7.9L1	1.0	1.1			
	3.6H1	18.9	23.1	7.9L2	1.0	0.6			
	3.6H2	19.8	54.0	7.11H1	12.7	6.7			
	3.6H3	5.4	7.5	7.11H2	0.3	0.3			
	3.6H4	13.0	7.8	7.11H3	6.6	4.4			
	3.6H5	8.2	6.0	7.11H4	1.0	1.7			
	3.6H6	36.0	11.8	7.11H5	3.4	1.7			
	3.6H8	2.5	2.5	7.11L1	1.1	1.2			
	3.6L1	15.6	11.1	7.12H1	0.6	0.8			
3.6L2	13.7	13.1	7.12L1	n.d.	3.8				
			7.12L2	4.0	5.4				
			7.12L3	0.8	0.9				
			7.12L4	2.0	0.6				
			7.12L5	0.8	0.6				
			7.12L6	n.d.	n.d.				
			7.12L7	n.d.	n.d.				

[0446] 表3: Biacore中确定的MS-R Fab结合A $\beta$  1-40和A $\beta$  1-42纤维的 $K_D$ 值。对于获得自第1和第2个亲和力成熟循环的克隆,校正值用于本文所述各样品中活性Fab的存在量。<sup>a</sup>,从平衡时浓度依赖性传感器反应计算的值;n.d.,未确定。

[0447] 表4:

MS-R #	$K_D$ A $\beta$ <sub>1-40</sub> nM	$K_D$ A $\beta$ <sub>1-42</sub> nM
3.3 IgG1	3.7	6.6
7.11 IgG1	2.3	5.7
7.12 IgG1	3.1	13.7
8.1 IgG1	6.6	12.3

[0448]

[0449] 表 4 :Biacore 中确定的 MS-R IgG1 结合 A $\beta$  1-40 和 A $\beta$  1-42 纤维的  $K_D$  值。第 1 个亲和力成熟循环后从所选 MS-R Fabs 中获得 IgGs。校正值用于本文所述各样品中活性 MS-R IgGs 的存在量。

克隆选自	MS-R IgG1	$K_D$ A $\beta$ <sub>1-40</sub> nM	$K_D$ A $\beta$ <sub>1-42</sub> nM
第 1 个亲和力成熟	3.3	3.7	6.6
	7.11	2.3	5.7
	7.12	3.1	13.7
	8.1	6.6	12.3
第 2 个亲和力成熟	3.4.H7	0.10-0.30	0.10-0.30
	7.2.H4	0.09-0.30	0.10-0.66
	7.9.H2	0.12-0.42	0.11-0.38
	7.9.H3	0.10-0.50	0.10-0.40
	7.9.H7	0.25-0.69	0.24-0.70
	7.12.L1	1.20-3.50	0.74-2.90
	8.2.H2	0.16-1.00	0.12-0.92
交叉克隆的 Fabs	3.6.H5x3.6.L2	0.20-1.03	0.20-0.95
	3.6.H8x3.6.L2	0.22-0.95	0.22-0.82
	7.4.H2x7.2.L1	0.12-0.63	0.12-0.56
	7.11.H1x7.2.L1	0.14-0.66	0.15-0.67
	7.11.H1x7.11.L1	0.11-0.70	0.13-0.70

[0451] 表 5 :Biacore 中确定的 MS-R IgG1 结合 A $\beta$  1-40 和 A $\beta$  1-42 纤维的  $K_D$  值。IgGs 获得自第 1 和第 2 个亲和力成熟循环后所选的 MS-R Fabs 和交叉克隆的 Fabs。校正值用于本文所述各样品中活性 MS-R IgGs 的存在量。2 个赋予 MS-R IgGs 的  $K_D$  值获得自第 2 个亲和力成熟步骤且交叉克隆的结合物代表较高和较低亲和相互作用,如曲线斯卡查德图所计算。有了一些另外的 MS-R IgGs (例如 MS-R IgG7.9.H2x7.12.L2 和 MS-R IgG 7.9.H4x7.12.L2), 获得复曲线斯卡查德图,因此不能确定  $K_D$  值。

[0452] 实施例 9 :通过间接免疫荧光染色阿尔茨海默氏病患者脑切片中真人淀粉样斑

[0453] 通过免疫组化分析测试所选 MS-Roche Fabs 和全长 IgG1 对  $\beta$ -淀粉样斑的结合。来自人颞皮层 (从诊断为阿尔茨海默氏病阳性患者死后获得) 未固定组织的恒冷切片通过间接免疫荧光标记,使用不同浓度的 MS-Roche Fabs 或全长人 IgG1 抗体。Fabs 和 IgG1 抗体分别用缀合 Cy3 的山羊抗人亲和纯化的 F(ab')<sub>2</sub> 片段和缀合 Cy3 的山羊抗人 (H+L) 显示。二级试剂都获得自 Jackson Immuno Research。对照包括不相关 Fab 和单独二抗,它们都给出阴性结果。用所选 MS-Roche Fabs 和 MS-Roche IgG1 抗体染色斑的典型例子示于图 5 到 7。

[0454] 实施例 10 :聚合测定 :防止 A $\beta$  聚集

[0455] 当在含水缓冲液中孵育几天时,合成的 A $\beta$  自发聚集和形成纤维状结构,与阿尔茨海默氏病患者脑中的淀粉样沉积物类似。我们开发了体外测定用于测量生物素酰化的 A $\beta$  掺入预形成的 A $\beta$  聚集体以分析抗 A $\beta$  抗体和其它 A $\beta$ -结合蛋白如清蛋白的 A $\beta$ -中和潜能 (Bohrmann 等., 1999, J. Biol. Chem. 274, 15990-15995)。小分子对 A $\beta$  聚集的效果也可在此测定中分析。

[0456] 实验过程 :

[0457] NUNC Maxisorb 微量滴定板 (MTP) 用 A $\beta$  1-40 和 A $\beta$  1-42 的 1 : 1 混合物 (各 2  $\mu$  M, 100  $\mu$  l 每孔) 37 $^{\circ}$ C 涂布 3 天。在这些条件下, 高度聚集、纤维状 A $\beta$  被吸收和固定于孔的表面。然后取出涂布溶液且平板在室温干燥 2-4 小时。(干燥板可贮存于 -20 $^{\circ}$ C)。剩余结合部位通过加入 300  $\mu$  l/ 孔磷酸缓冲盐水封闭, 盐水含 0.05% 吐温 20 (T-PBS) 和 1% 牛血清白蛋白 (BSA)。室温孵育 1-2 小时后, 平板用 1 $\times$ 300  $\mu$  l T-PBS 洗。加入 20mM Tris-HCl 中的 20nM 生物素酰化的 A $\beta$  1-40 溶液、含 0.05% NaN<sub>3</sub> 的 150mM NaCl pH 7.2 (TBS) 和连续稀释的抗体 (100  $\mu$  l/ 孔), 平板在 37 $^{\circ}$ C 孵育过夜。用 3 $\times$ 300  $\mu$  l T-PBS 洗后, 链霉抗生物素蛋白-POD 缀合物 (Roche Molecular Biochemicals) 在含 1% BSA 的 T-PBS 中 1 : 1000 稀释, 加入 (100  $\mu$  l/ 孔) 并在室温孵育 2 小时。孔用 3 $\times$ 300  $\mu$  l T-PBS 洗并加入 100  $\mu$  l/ 孔的新制备四甲基联苯胺 (TMB) 溶液。[制备 TMB 溶液: 10ml 30mM 柠檬酸 pH 4.1 (用 KOH 调节) + 0.5ml TMB (1ml 丙酮中的 12mg TMB + 9ml 甲醇) + 0.01ml 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]。通过加入 100  $\mu$  l/ 孔 1NH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 终止反应且吸光度在微量滴定板读数器中 450nm 读。

[0458] 结果:

[0459] 图 8 显示 MS-Roche IgG1 抗体防止生物素酰化的 A $\beta$  1-40 掺入预形成的 A $\beta$  1-40/ A $\beta$  1-42 聚集体中。当用实施例 7 所述肽点技术分析时, 这些全长人 IgGs 的 A $\beta$  - 中和能力类似于小鼠单克隆抗体 BAP-1, BAP-1 通过标准免疫过程产生并特异识别 A $\beta$  肽的氨基酸残基 4-6。小鼠单克隆抗体 BAP-2 也专一地与氨基酸 4-6 反应 (Brockhaus, 未发表), 它在此测定中活性显著小。用 A $\beta$  1-40C- 末端特异抗体 BAP-17 甚至发现更低活性 (Brockhaus, Neuroreport 9 (1998), 1481-1486) 且单克隆抗体 4G8 识别 A $\beta$  序列中 17 位和 24 位间的表位 (Kim, 1988, Neuroscience Research Communication, 第 2 卷, 121-130)。浓度达 10  $\mu$  g/ml 的 BSA 不影响生物素酰化的 A $\beta$  的掺入并作为负对照。然而, 在较高浓度即 > 100  $\mu$  g/ml, 已报导 BSA 抑制生物素酰化的 A $\beta$  掺入预形成的 A $\beta$  纤维中 (Bohrmann, (1999) J Biol Chem 274 (23), 15990-5), 表明 BSA 与 A $\beta$  的相互作用没有高亲和性。

[0460] 实施例 11 : 解聚测定 : 从聚集的 A $\beta$  中释放生物素酰化的 A $\beta$

[0461] 在类似实验方案中, 我们测试了 MS-Roche IgG 抗体诱导聚集的 A $\beta$  解聚的潜力。生物素酰化的 A $\beta$  1-40 首先掺入预形成的 A $\beta$  1-40/A $\beta$  1-42 纤维中, 然后用多种抗 A $\beta$  抗体处理。生物素酰化的 A $\beta$  的释放用聚合测定中所述相同测定法测量。

[0462] 实验过程:

[0463] NUNC Maxisorb 微量滴定板 (MTP) 用聚合测定中所述 A $\beta$  1-40 和 A $\beta$  1-42 的 1 : 1 混合物涂布。为掺入生物素酰化的 A $\beta$ , 涂布的平板用 TBS 中 200  $\mu$  l/ 孔 20nM 生物素酰化的 A $\beta$  1-40 在 37 $^{\circ}$ C 过夜孵育, TBS 含 0.05% NaN<sub>3</sub>。平板用 3 $\times$ 300  $\mu$  l/ 孔 T-PBS 洗, 抗体在含 0.05% NaN<sub>3</sub> 的 TBS 中连续稀释, 加入并于 37 $^{\circ}$ C 孵育 3 小时。洗平板并如上所述分析生物素酰化的 A $\beta$  1-40 的存在。

[0464] 结果:

[0465] 图 9A 到 D 显示发明的抗体诱导聚集的 A $\beta$  的解聚, 通过释放掺入的生物素酰化的 A $\beta$  1-40 来测量。MS-R 抗体和小鼠单克隆抗体 BAP-1 活性类似, 而 BAP-2、BAP-17 和 4G8 抗体从大量固定的 A $\beta$  聚集体中释放生物素酰化的 A $\beta$  的效率明显较小。BAP-1 明显不同于 MS-R 抗体, 差异在于其与细胞表面全长 APP 的反应性 (见图 15), 有这种性质的抗体像 BAP-1 不用于治疗应用, 因为可能诱导潜在的自身免疫反应。有趣的是注意到尽管 BAP-2 对

聚集的 A $\beta$  中暴露的氨基酸残基 4-6 有特异性,它在此测定中活性明显较低,表明不是所有 N- 末端特异抗体事先在从预形成的聚集体中释放 A $\beta$  上同样有效。MS-Roche IgGs 在解聚活性方面明显优于 BAP-2。此测定中 BAP-17(C- 末端特异)和 4G8(氨基酸残基 16-24- 特异)的相对低效率是由于这 2 种表位在聚集的 A $\beta$  中的隐蔽性质。在聚合测定中已指出这里所用浓度 BSA 对聚集的 A $\beta$  没有效果。

[0466] MS-R 抗体获得自第 2 个亲和力成熟循环和交叉克隆的结合物,抗体在解聚测定中一般显示较高效率(图 9A 与图 9B 和 C 比较),这与这些抗体的结合亲和力增加一致(见表 3-5)。已报导单克隆抗体 AMY-33 和 6F/3D 在一些实验条件下体外防止 A $\beta$  聚集(Solomon, (1996)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 452-455 ;AMY-33 和 6F/3D 抗体分别获得自 Zymed Laboratories Inc., San Francisco(定货号 13-0100)和 Dako Diagnostics AG, Zug, Switzerland(定货号 M08721))。如图 9D 所证明,这些抗体在解聚测定中都完全失活。

[0467] 实施例 12 :通过 ELISA 对肽缀合物进行表位分析

[0468] 下列七肽(单字母编码)通过固相合成获得并通过液相层析用本领域已知技术纯化。

[0469] AEFRHDC

[0470] EFRHDSC

[0471] FRHDSGC

[0472] RHDSGYC

[0473] HDSGYEC

[0474] DSGYEV

[0475] SGYEVHC

[0476] YEVHHQC

[0477] EVHHQKC

[0478] VHHQKLC

[0479] HHQKLVC

[0480] HQKLVFC

[0481] QKLVFFC

[0482] KLVFFAC

[0483] LVFFAEC

[0484] VFFAEDC

[0485] FFAEDVC

[0486] FAEDVGC

[0487] AEDVGSC

[0488] EDVGSNC

[0489] DVGSNKC

[0490] VGSNKG

[0491] GSNKGAC

[0492] CSNKGAI

[0493] CNKGAI

[0494] CKGAIIG

[0495] CGLMVG

[0496] CMVGGVV

[0497] CGGVVIA

[0498] 肽溶解于 DMSO 以达到 10mM 浓度。

[0499] 牛清蛋白（无 BSA 的必需脂肪酸，Sigma 批号 112F-9390）溶解于 0.1M 碳酸氢钠至 10mg/ml，通过每 ml 加入 50  $\mu$ l 26mg/ml 溶液来活化，溶液是 DMSO 中的 N-琥珀酰亚胺基-马来酰亚胺丙酸值（NSMP，Pierce）。室温反应 15 分钟后，活化的 BSA 通过在 PBS 中凝胶过滤（NAP-10，Pharmacia）来纯化，0.1%叠氮化钠作为溶剂。50  $\mu$ l NSMP 活化的 BSA（6.7mg/ml）用 50  $\mu$ l PBS、0.1%叠氮化钠稀释且加入 10  $\mu$ l 肽溶液（DMSO 中 1mM）。作为负对照，模拟处理活化的 BSA 而不加肽。室温 4 小时后，通过加入 10  $\mu$ l 10mM 半胱氨酸来终止反应。缀合反应混合物的等分样品用 0.1M 碳酸氢钠缓冲液 1 : 100 稀释并立即注满 ELISA 平板（Nunc 免疫平板）的孔（100  $\mu$ l）。4°C 放置 16 小时后，100  $\mu$ l 封闭缓冲液（如上）加入各孔并再孵育 30 分钟。平板用 2x300  $\mu$ l/孔 TBST（如上）洗且用 100  $\mu$ l 抗体充满，抗体以 10  $\mu$ g/ml 或 2  $\mu$ g/ml 在封闭缓冲液中。平板在 4°C 放置 16 小时并用 2x300  $\mu$ l TBST 洗。加入 100  $\mu$ l/孔 HRP-缀合的抗人 Ig H+L（Pierce，用封闭缓冲液 1 : 1000 稀释）并在环境温度孵育 1 小时。平板用 3x300  $\mu$ l/孔 TBST 洗。通过加入 100  $\mu$ l 四甲基联苯胺 / 过氧化氢试剂开始显色。加入 100  $\mu$ l/孔 1M 硫酸 5 分钟后终止反应且通过光读数器（微量滴定板读数器 3550BioRad）在 450nm 测量光密度。为比较起见，小鼠单克隆抗体以同样方式分析，除了使用 HRP-标记的抗小鼠 Ig 作为显色剂而不是抗人 Ig。

[0500] 使用上述获得自 A $\beta$  的特定七肽，完成上文所述特定 ELISA-测试。发明的抗体优选包括抗体，当它们与 A- $\beta$  衍生物肽（AEFRHD；A- $\beta$  的氨基酸 2 到 7）的反应性与非相关蛋白质 / 肽（像 BSA）相比时，光密度测量显示信号与背景比高于“10”。最优选对应反应的光密度比例高于“5”，有至少 1 个下列 3 种 A $\beta$  衍生的肽：（VFFAED；A $\beta$  的氨基酸 18 到 23）或（FFAEDV；A $\beta$  的氨基酸 19 到 24）或（LVFFAE；A $\beta$  的氨基酸 17 到 22）。

[0501] 发明的亲代和 / 或成熟抗体的相应结果示于下列 2 个表：

[0502]

MS-R #	肽 2-7 2-7/BSA	肽 17-22 17-22/BSA	肽 18-23 18-23/BSA	肽 19-24 19-24/BSA	肽-比例 17-22/2-7	肽-比例 18-23/2-7	肽-比例 19-24/2-7
7	24	4	7	4	0.17	0.29	0.17
8	28	10	29	25	0.36	1.04	0.89
7.2	34	12	16	9	0.35	0.47	0.26
7.3	34	11	15	9	0.32	0.44	0.26
7.4	36	10	13	6	0.28	0.36	0.17
7.9	28	9	13	8	0.32	0.46	0.29
7.11	37	11	15	9	0.30	0.41	0.24
7.12	38	6	8	7	0.16	0.21	0.18
8.1	30	1	11	8	0.03	0.37	0.27
8.2	32	4	28	23	0.13	0.88	0.72

[0503]

3.2H2	26	12	23	20	0.46	0.88	0.77
3.3H1	23	4	12	8	0.17	0.52	0.35
3.3H3	31	2	5	2	0.06	0.16	0.06
3.4H1	27	2	8	2	0.07	0.30	0.07
3.4H2	16	11	1	1	0.69	0.06	0.06
3.4H3	22	9	17	11	0.41	0.77	0.50
3.4H5	28	5	13	4	0.18	0.46	0.14
3.4H7	24	2	6	5	0.08	0.25	0.21
3.4H17	28	5	12	11	0.18	0.43	0.39
3.4L11	31	6	20	5	0.19	0.65	0.16
3.6H6	25	1	4	7	0.04	0.16	0.28
3.6H1	23	3	13	5	0.13	0.57	0.22
3.6H2	19	2	8	3	0.11	0.42	0.16

[0504]

7.2H1	38	8	11	9	0.21	0.29	0.24
7.2H2	16	10	10	10	0.63	0.63	0.63
7.2H3	33	17	20	18	0.52	0.61	0.55
7.2H4	23	12	13	12	0.52	0.57	0.52
7.2H5	30	13	18	15	0.43	0.60	0.50
7.2L1	24	14	16	11	0.57	0.68	0.45
7.4H1	31	16	20	16	0.52	0.65	0.51
7.4H2	36	17	20	16	0.47	0.56	0.46
7.9H1	32	7	12	6	0.23	0.36	0.19
7.9H2	35	3	6	8	0.08	0.16	0.23
7.9H3	35	11	20	9	0.31	0.57	0.27
7.9H4	30	10	15	7	0.32	0.49	0.22
7.11H1	31	8	9	8	0.25	0.29	0.25
7.11H2	34	10	12	14	0.29	0.36	0.41
7.12L1	16	10	12	10	0.60	0.70	0.59
8.1H1	29	22	25	25	0.77	0.88	0.86
8.2H1	22	7	23	20	0.34	1.05	0.94
8.2L1	26	15	32	31	0.60	1.26	1.22

[0505] 表 6:MS-R Fabs 与 BSA- 缀合的 A $\beta$  七肽 2-7(AEFRHD)、17-22(LVFFAE)、18-23(VFFAED) 和 19-24(FFAEDV) 的反应性。给出 ELISA 读出的比例 (光密度), 用肽-缀合和非-缀合的 BSA 获得。也指明用 17-22、18-23、19-24 肽所得相对于 2-7 肽的信号强度。

[0506]

MS-R IgG	AEFRHD	LVFFAE	VFFAED	FFAEDV	肽-比例	肽-比例	肽-比例
#	2-7/BSA	17-22/BSA	18-23/BSA	19-24/BSA	17-22/2-7	18-23/2-7	19-24/2-7
3.3	17	11	16	11	0.65	0.94	0.65
7.12	19	11	13	11	0.58	0.68	0.58
8.1	16	7	16	14	0.44	1.00	0.88
3.4H7	22	3	16	15	0.14	0.73	0.68
7.9H2	13	5	8	6	0.38	0.62	0.46
7.9H3	13	6	8	6	0.46	0.62	0.46
7.9.H7	30	5	16	10	0.17	0.53	0.33
7.11H2	10	6	7	6	0.60	0.70	0.60
8.2.H2	18	10	15	14	0.56	0.83	0.78
3.6.H5x3.6.L2	11	7	9	8	0.64	0.82	0.73
7.11.H2x7.9.L1 (L1)	14	8	10	9	0.57	0.71	0.64
8.2.H2x8.2.L1	13	20	25	25	1.54	1.92	1.92
<i>小鼠单抗</i>							
BAP-1	21	1	1	1	0.05	0.05	0.05
BAP-2	21	1	1	1	0.05	0.05	0.05
4G8	1	23	20	1	23	20	1
6E10	18	1	1	1	0.06	0.06	0.06
6F/3D*	1	1	1	1	1	1	1
Amy 33	16	2	1	3	0.13	0.06	0.19

[0507] 表 7:MS-R IgGs 和小鼠单克隆抗体 BAP-1、BAP-2、4G8、6E10Amy-33 和 6F/3D 与 BSA-缀合的 A $\beta$  七肽 2-7 (AEFRHD)、17-22 (LVFFAE)、18-23 (VFFAED) 和 19-24 (FFAEDV) 的反应性。给出 ELISA 读出的比例 (光密度),用肽-缀合和非-缀合的 BSA 获得。也指明用 17-22、18-23、19-24 肽所得相对于 2-7 肽的信号强度。\* 此抗体对序列 8-17 特异且不识别 N-末端或中间表位序列。

[0508] 实施例 13:通过交叉克隆组合最佳化的 H-CDR2 和 L-CDR1

[0509] HuCAL 文库的模块设计可在一个简单克隆步骤中交换 2 个不同 Fab 编码基因的互补决定区 (CDRs)。为进一步改进亲和性,来自成熟克隆有相同 H-CDR3 的单独最佳化的 H-CDR2 和 L-CDR1 被组合,因为很可能此组合会进一步获得亲和力 (Yang 等., 1995, J. Mol.

Biol. 254, 392-403 ; Schier 等 . , 1996b, J. Mol. Biol. 263, 551-567 ; Chen 等 . , 1999, J. Mol. Biol. 293, 865-881)。完整轻链或其片段从 L-CDR1 最佳化供体克隆转至 H-CDR2 最佳化受体克隆。如果供体和受体克隆都携带相同 H-CDR3 序列, 仅组合它们。所有供体和受体克隆携带 VH3-V $\kappa$  3 构架。

[0510] 这通过将完整轻链从 L-CDR1- 最佳化供体克隆转至 H-CDR2- 最佳化受体克隆来完成。仅通过组合有相同 H-CDR3 的克隆保存表位特异性。如果交换发生在有相同 L-CDR3 的克隆间, H-CDR2- 最佳化克隆通过轻链交换仅获得最佳化 L-CDR1。如果待组合的克隆的 L-CDR3 不同, 除了最佳化 L-CDR1, H-CDR2- 最佳化克隆获得另一种 L-CDR3 (L-CDR2 保持 HuCAL 共有序列 (Knappik 等 . , 2000)), 当 MS-Roche#7. 12 的衍生物用作轻链供体时, L-CDR1, 2 和 3 在 H-CDR2- 最佳化受体克隆中交换。使用 3 种不同的克隆策略:

[0511] 1) 完整抗体轻链片段用限制性内切酶 XbaI 和 SphI 从质粒 1 (如 pMx9\_Fab\_MS-Roche#7. 11. H1\_FS) 中切去, 由此所得载体主链然后连接质粒 2 (如 pMx9\_Fab\_MS-Roche#7. 2. L1\_FS) 的轻链片段, 此片段通过 XbaI 和 SphI 消化产生。由此产生一个新的质粒 (命名 : pMx9\_Fab\_MS-Roche#7. 11. H1x7. 2. L1\_FS), 编码亲代克隆 #7. 2. L1 的 L-CDR1、2、3 和亲代克隆 #7. 11. H1 的 H-CDR1、2、3。

[0512] 2) L-CDR1 编码片段用限制性内切酶 XbaI 和 Acc65I 从质粒 1 (如 pMx9\_Fab\_MS-Roche#7. 11. H2\_FS) 中切去, 由此所得载体主链然后连接质粒 2 (如 pMx9\_Fab\_MS-Roche#7. 12. L1\_FS) 的 L-CDR1 片段, 此片段通过 XbaI 和 Acc65I 消化产生。由因此产生一个新的质粒 (命名 : pMx9\_Fab\_MS-Roche#7. 11. H2x7. 12. L1 (L-CDR1)\_FS), 编码亲代克隆 #7. 12. L1 的 L-CDR1, 而 L-CDR2、3 和 H-CDR1、2、3 获得自亲代克隆 #7. 11. H2。

[0513] 3) L-CDR1 和 L-CDR2 编码片段用限制性内切酶 XbaI 和 BamHI 从质粒 1 (如 pMx9\_Fab\_MS-Roche#7. 11. H2\_FS) 中切去, 由此所得载体主链然后连接质粒 2 (如 pMx9\_Fab\_MS-Roche#7. 12. L1\_FS) 的 L-CDR1 和 L-CDR2 片段, 此片段通过 XbaI 和 BamHI 消化产生。由此产生一个新的质粒 (命名 : pMx9\_Fab\_MS-Roche#7. 11. H2x7. 12. L1 (L-CDR1+2)\_FS), 编码亲代克隆 #7. 12. L1 的 L-CDR1 和 L-CDR2, 而 L-CDR3 和 H-CDR1、2、3 获得自亲代克隆 #7. 11. H2。不同克隆策略以及序列供体和受体克隆的说明性例子在表 8 中给出。

[0514] 大规模表达和纯化后, 它们的亲和性在 A $\beta$  (1-40) 纤维上确定。此外, 所选交叉克隆的 MS-R Fab/ 抗体的 K<sub>D</sub> 值在附表 9 中给出。

[0515]

结合物名称	L-CDR1	位置 49	L-CDR2	位置 85	L-CDR3	H-CDR1	位置 47	H-CDR2	H-CDR3
-------	--------	----------	--------	----------	--------	--------	----------	--------	--------



克隆策略1)

MS-Roche #7.11.H1	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	GINAAGFRITYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2.L1	RASQVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	AISGGSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
<b>MS-Roche #7.11.H1x7.2.L1</b>	RASQVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	GINAAGFRITYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV



克隆策略2)

MS-Roche #7.11.H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12.L1	RASQVFRRYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NISGGSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
<b>MS-Roche #7.11.H2x7.12.L1(LCDR1)</b>	RASQVFRRYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV

[0516]

克隆策略 3)



MS-Roche #7.11.H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKRYADSVKG	GKGNTHKPYGYRYFDV
MS-Roche #7.12.L1	RASQVFRRYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYRYFDV
<b>MS-Roche #7.11.H2x7.12.L1(LCDR1+2)</b>	RASQVFRRYLA	S	GSSNRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKRYADSVKG	GKGNTHKPYGYRYFDV

结合物名称	L-CDR1	位置 49	L-CDR2	位置 85	L-CDR3	H-CDR1	位置 47	H-CDR2	H-CDR3
-------	--------	----------	--------	----------	--------	--------	----------	--------	--------

MS-Roche #3.6H5	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISESGTKYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6L2	RASQFLSRYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
<b>MS-Roche #3.6H5x3.6L2</b>	RASQFLSRYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISESGTKYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6H8	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISEYSKFKYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6L2	RASQFLSRYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
<b>MS-Roche #3.6H8x3.6L2</b>	RASQFLSRYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISEYSKFKYYADSVKG	LTHYARYRYFDV

[0517]

MS-Roche #7.4.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYNFPH	GFTFSSYAMS	W	AINYNGARIYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2.L1	RASQYVDRITYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
<b>MS-Roche #7.4.H2x7.2.L1</b>	RASQYVDRITYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GFTFSSYAMS	W	AINYNGARIYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12L2	RASQRFFKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NISGSGSTYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
<b>MS-Roche #7.9H2x7.12L2</b>	RASQRFFKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSSYAMS	W	AINAVGMKIFYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12.L2	RASQRFFKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NISGSGSTYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
<b>MS-Roche #7.9H4x7.12L2</b>	RASQRFFKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYAMS	W	AINAVGMKIFYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.11H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	GINAAGERTYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.11L1	RASQRILRIYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSSYAMS	W	AISGSGSTYADSVKVG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
结合物名称	L-CDR1	位置 49	L-CDR2	位置 85	L-CDR3	H-CDR1	位置 47	H-CDR2	H-CDR3

[0518]

<b>MS-Roche #7.11H1x7.11L1</b>	RASQRILRYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	GINAAGFRYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV
MS-Roche #7.11H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	GINAAGFRYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV
MS-Roche #7.2L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV
<b>MS-Roche #7.11H1x7.2L1</b>	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	GINAAGFRYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV
MS-Roche #3.3H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQMSSYPP	GTFSSYAMS	W	VISEKSRFIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4L9	RASRRIHVYYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
<b>MS-Roche #3.3H1x3.4L9</b>	RASRRIHVYYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISEKSRFIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISETSIRKIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4L9	RASRRIHVYYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
<b>MS-Roche #3.4H1x3.4L9</b>	RASRRIHVYYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISETSIRKIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISQIGRKYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4L7	RASQRLGRLYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
<b>MS-Roche #3.4H3x3.4L7</b>	RASQRLGRLYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISQIGRKYADSVKG	LTHYARYRYFDV

[0519]

MS-Roche #3.4H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISQTRKNIYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4L9	RASRRIHVYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
<b>MS-Roche #3.4H3x3.4L9</b>	RASRRIHVYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISQTRKNIYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4H7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISETGKNIYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4L9	RASRRIHVYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
<b>MS-Roche #3.4H7x3.4L9</b>	RASRRIHVYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISETGKNIYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4H7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISETGKNIYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.4L7	RASQRLGRILYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
结合物名称	L-CDR1	位置 49	L-CDR2	pos. 85	L-CDR3	H-CDR1	位置 47	H-CDR2	H-CDR3
<b>MS-Roche #3.4H7x3.4L7</b>	RASQRLGRILYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISETGKNIYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6H5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISESGTKIYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche #3.6L1	RASQFIQRFYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
<b>MS-Roche #3.6H5x3.6L1</b>	RASQFIQRFYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISESGTKIYADSVKGG	LTHYARYRYFDV

[0520]

MS-Roche #7.2H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINGTGMKKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2L1	RASQVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
<b>MS-Roche #7.2H2x7.2L1</b>	RASQVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINGTGMKKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.4H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYNFPH	GTFSSYAMS	W	AINYNGARIYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.12L2	RASQRFFKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
<b>MS-Roche #7.4H2x7.12L2</b>	RASQRFFKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYAMS	W	AINYNGARIYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.9H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2L1	RASQVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
<b>MS-Roche #7.9H2x7.2L1</b>	RASQVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.11H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSPPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche #7.2L1	RASQVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
<b>MS-Roche #7.11H2x7.2L1</b>	RASQVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV

[0521]

MS-Roche #7.9H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKVG	GKGNTHKPYGVRYFDV
MS-Roche #7.12L1	RASQYVFRYYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NIISGGSSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGVRYFDV
<b>MS-Roche #7.9H2x7.12L1</b>	RASQYVFRYYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKVG	GKGNTHKPYGVRYFDV
结合物名称	<b>L-CDR1</b>	位置 49	<b>L-CDR2</b>	位置 85	<b>L-CDR3</b>	<b>H-CDR1</b>	位置 47	<b>H-CDR2</b>	<b>H-CDR3</b>
MS-Roche #7.11H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKVG	GKGNTHKPYGVRYFDV
MS-Roche #7.9L1	RASQRLSPRYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGVRYFDV
<b>MS-Roche #7.11H2x7.9L1</b>	RASQRLSPRYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKVG	GKGNTHKPYGVRYFDV
MS-Roche #8.1H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSNYP	GTFSSYAMS	W	AISRSGSNIYYADSVKVG	LLSRGYNNGYHKKFDV
MS-Roche #8.2L1	RASQRVSGRYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	LLSRGYNNGYHKKFDV
<b>MS-Roche #8.1H1x8.2L1</b>	RASQRVSGRYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSYPP	GTFSSYAMS	W	AISRSGSNIYYADSVKVG	LLSRGYNNGYHKKFDV
MS-Roche #7.11H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKVG	GKGNTHKPYGVRYFDV
MS-Roche #7.12L1	RASQYVFRYYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NIISGGSSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGVRYFDV
<b>MS-Roche #7.11H2x7.12L1</b>	RASQYVFRYYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKVG	GKGNTHKPYGVRYFDV

表 8 箭头表示用于消化相应质粒的限制性酶切位点的位置

[0522]

MS-R #	$K_D$ A $\beta$ <sub>1-40</sub> nM	$K_D$ A $\beta$ <sub>1-42</sub> nM
3.3H1x3.4L9	2.16	2.97
3.4H1x3.4L9	0.25	0.5
3.4H3x3.4L7	0.92	0.92
3.4H3x3.4L9	1.05	0.93
3.4H7x3.4L9	2.66	3.51
3.4H7x3.4L7	1.19	1.23
3.6H5x3.6L1	1.25	1.04
3.6H5x3.6L2	1.26	0.84
7.2H2x7.2L1	1.29	1.43
7.4H2x7.2L1	1.4	1.4
7.4H2x7.12L2	1.4	1.8
7.9H2x7.2L1(L1)	1.4	1.4
7.9H2x7.12L1	1.2	1.1
7.9H2x7.12L2(L1+2)	0.4	0.4
7.11H1x7.2L1	1.75	1.39
7.11H1x7.11L1	0.41	0.47
7.11H2x7.2L1(L1)	1	0.6
7.11H2x7.9L1 (L1)	0.1	1
8.1H1x8.2L1	1.3	1.6

[0523] 表 9 :Biacore 中确定的交叉克隆 MS-R Fab 结合 A $\beta$  1-40 和 A $\beta$  1-42 纤维的  $K_D$  值。交叉克隆 Fabs 的制备描述于实施例 13。  $K_D$  值通过动力学曲线拟合确定并校正用于本文所述各样品中活性 Fab 的存在量。一些 Fabs 另外通过大小排阻层析纯化或准备超离心以去除聚集的物质。H-CDR2- 成熟受体克隆 (L1) 仅从 L-CDR1 改进供体克隆中接受 L-CDR1 ; H-CDR2- 成熟受体克隆 (L1+2) 从 L-CDR1 改进供体克隆中接受 L-CDR1+2。

[0524] 实施例 14 :通过共焦激光扫描显微镜和共定位分析揭示阿尔茨海默氏病的小鼠模型中的体内淀粉样斑修饰

[0525] 选择的 MS-R IgG1 抗体在 APP/PS2 双重转基因小鼠 (参考文献 :Richards 等., Soc. Neurosci. Abstr., 27 卷, 程序号 5467, 2001) 中测试体内淀粉样斑修饰。抗体 (1mg/ 小鼠) i. V. 施用, 3 天后脑用盐水灌注并准备用于冷冻切片。在另一个研究中, 小鼠接受较高浓度的抗体, 即在第 0、3 和 6 天 i. v. 注射 2mg 且在第 9 天杀死。通过双标记间接免疫荧光在未固定冷冻切片上评估抗体结合淀粉样斑的存在, 使用缀合任一 Cy3 的山羊抗人 IgG (H+L) (#109-165-003, Jackson Immuno Research), 接着用 BAP-2-Alexa488 免疫缀合物。通过共焦激光显微镜完成成像且通过 IMARIS 和 COLOCALIZATION 软件 (Bitplane, Switzerland) 处理图像以定量检测共定位。典型例子示于图 10-14。发现所有测试的 MS-R 抗体在体内淀粉样斑的免疫修饰中阳性, 尽管注意到一些可变性。

[0526] 实施例 15 :研究 HEK293 细胞表面上不同单克隆抗体与淀粉样前体蛋白 (APP) 的

结合：

[0527] APP 在中枢神经系统中广泛表达。抗体结合细胞表面 APP 可导致补体活化和健康脑区域中的细胞破坏。因此，治疗的 A- $\beta$  抗体必须对 APP 没有反应性。抗 A- $\beta$  的 N- 末端结构域的高亲和性抗体（如 BAP-1、BAP-2）识别也在 APP 构架中的各表位。相反，抗中间表位的抗体（如 4G8）和发明的抗体令人惊讶地不能识别细胞表面 APP。因此，体内修饰 A- $\beta$  但不是 APP 的发明抗体优于非选择性抗体。

[0528] 流式细胞仪的方法在本领域熟知。流式细胞仪测量荧光的相对单位 (FL1-H) 表明各抗体的细胞表面结合。与未转染的 HEK293 细胞相比，转染 APP 的 HEK293 上的荧光转移表明与细胞表面 APP 的不需要反应。例如，与未转染 HEK293 细胞（虚线）相比，抗 N- 末端结构域的抗体 BAP-1 和 BAP-2 显示在 HEK293/APP（粗线）中的 FL-1 信号显著转移。4G8 抗体（对中间 A- $\beta$  表位特异）和所有发明的抗体（对 N- 末端和中间 A- $\beta$  表位特异）没有显示明显的荧光转移。HE293/APP 和 HEK293 细胞间的本底荧光差异是由于不同的细胞大小。FACScan 仪器与 CellquestPro 软件包（都是 Becton Dickinson）联合使用。

[0529] 实施例 16：涉及发明抗体分子的鉴定 SEQ ID NOs 的列表

[0530] 附表 10 涉及本文所定义序列，用于一些特定的发明抗体分子。

[0531]

表 10: 鉴定亲代抗体以及最佳、成熟和/或交叉克隆抗体分子的 SEQ ID NOs

分子#	VH prot	VL prot	VH DNA	VL DNA	HCDR3 prot	HCDR3 DNA	LCDR3 prot	LCDR3 DNA
3	4	10	3	9	22	21	16	15
7	6	12	5	11	24	23	18	17
8	8	14	7	13	26	25	20	19
3.6H5x3.6L2	33	47	32	46	61	60	75	74
3.6H8x3.6L2	35	49	34	48	63	62	77	76
7.4H2x7.2L1	37	51	36	50	65	64	79	78
7.9H2x7.12L2	39	53	38	52	67	66	81	80
7.9H4x7.12L2	41	55	40	54	69	68	83	82
7.11H1x7.11L1	43	57	42	56	71	70	85	84
7.11H1x7.2L1	45	59	44	58	73	72	87	86
7.9H7	89	91	88	90	93	92	95	94
3.3H1x3.4L9	295	325	294	324	355	354	385	384
3.4H1x3.4L9	297	327	296	326	357	356	387	386
3.4H3x3.4L7	299	329	298	328	359	358	389	388
3.4H3x3.4L9	301	331	300	330	361	360	391	390
3.4H7x3.4L9	303	333	302	332	363	362	393	392
3.4H7x3.4L7	305	335	304	334	365	364	395	394
3.6H5x3.6L1	307	337	306	336	367	366	397	396
7.2H2x7.2L1	309	339	308	338	369	368	399	398
7.4H2x7.12L2	311	341	310	340	371	370	401	400
7.9H2x7.2L1	313	343	312	342	373	372	403	402
7.9H2x7.12L1	315	345	314	344	375	374	405	404
7.11H2x7.2L1	317	347	316	346	377	376	407	406
7.11H2x7.9L1	319	349	318	348	379	378	409	408
7.11H2x7.12L1	321	351	320	350	381	380	411	410
8.1H1x8.2L1	323	353	322	352	383	382	413	412

[0532]

## 序列表

- <110> 豪夫迈·罗氏有限公司(F.Hoffmann-La Roche AG)  
莫弗西斯股份公司(MorphoSys AG)
- <120> 抗A $\beta$ 抗体及其用途
- <130> 045158F1 1PWCN
- <150> EP 02003844.4  
<151> 2002-02-20
- <160> 414
- <170> PatentIn version 3.1
- <210> 1  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物;  $\beta$ -A4肽的第一区域
- <400> 1  
Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr  
1 5
- <210> 2  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物;  $\beta$ -A4肽的第二区域
- <400> 2  
Val His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly  
1 5 10
- <210> 3  
<211> 368  
<212> DNA  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3的VH区
- <400> 3

[0533]

caggtgcaat tgggtgaaag cggcggcggc ctggtgcaac cgggcggcag cctgcgtctg 60  
 agctgcgcgg cctccggatt tacctttagc agctatgcga tgagctgggt gcgccaagcc 120  
 cctgggaagg gtctcgagtg ggtgagcgcg attagcggta gcggcggcag cacctattat 180  
 gcggatagcg tgaaggccg tttaccatt tcacgtgata attcgaaaaa cacctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgcg tgcggaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtcttact 300  
 cattatgctc gttattatcg ttattttgat gtttggggcc aaggcaccct ggtgacggtt 360  
 agctcagc 368

- <210> 4
- <211> 122
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3的VH区

<400> 4  
 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 Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

- <210> 5
- <211> 379
- <212> DNA
- <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7的VH区

<400> 5  
 caggtgcaat tgggtgaaag cggcggcggc ctggtgcaac cgggcggcag cctgcgtctg 60  
 agctgcgcgg cctccggatt tacctttagc agctatgcga tgagctgggt gcgccaagcc 120  
 cctgggaagg gtctcgagtg ggtgagcgcg attagcggta gcggcggcag cacctattat 180  
 gcggatagcg tgaaggccg tttaccattt cacgtgataa ttcgaaaaac accctgtatc 240  
 tgcaaatgaa cagcctgcgt gcggaagata cggccgtgta ttattgcgcg cgtggtaagg 300  
 gtaatactca taagccttat ggttatgttc gttattttga tgtttggggc caaggcacc 360  
 tggtagcggg tagctcagc 379

[0534]

<210> 6  
 <211> 126  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7的VH区

<400> 6  
 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 Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
                   20                   25                   30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                   40                   45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
                   50                   55                   60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65                   70                   75                   80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                   90                   95  
 Ala Arg Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr  
                   100                   105                   110  
 Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                   115                   120                   125

<210> 7  
 <211> 374  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8的VH区

<400> 7  
 caggtgcaat tgggtgaaag cggcggcggc ctggtgcaac cggcggcag cctgcgtctg 60  
 agctgcgagg cctccgatt tacctttagc agctatgca tgagctgggt gcgccaagcc 120  
 cctgggaagg gtctcgagt ggtgagcgc attagcggta gcggcggcag cacctattat 180  
 gcggatagcg tgaaggccg ttttaccatt tcacgtgata attcgaaaa caccctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgcg tgcggaagat acggcctgt attattgcgc gcgtcttctt 300  
 tctcgtggtt ataatggta ttatcataag tttgatgttt ggggccaagg caccctgggt 360  
 acggttagct cagc 374

<210> 8  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8的VH区

[0535]

<400> 8  
 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 Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Leu Leu Ser Arg Gly Tyr Asn Gly Tyr Tyr His Lys Phe Asp  
 100 105 110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 9  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3的VL区

<400> 9  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gagcgtgagc agcagctatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtcaag caccgcgtct attaatttat ggcgagca gccgtgcaac tggggtcccg 180  
 gcgcgtttta gcggctctgg atccggcagc gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcggttta ttattgccag caggtttata atcctcctgt tacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 10  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3的VL区

<400> 10  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser

[0536]

50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Tyr Asn Pro Pro  
 85 90 95  
 Val Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

- <210> 11
- <211> 330
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物; MS-Roche#7的VL区

<400> 11  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gacgctgagc agcagctatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtcaag caccgcgtct attaatat ggcgagca gccgtgcaac tggggtcccg 180  
 ggcggtttta gcggctctgg atccggcacg gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcgactta ttattgcttt cagctttatt ctgaccttt tacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

- <210> 12
- <211> 110
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物; MS-Roche#7的VL区

<400> 12  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Leu Tyr Ser Asp Pro  
 85 90 95  
 Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

- <210> 13
- <211> 330
- <212> DNA

[0537]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#8的VL区

<400> 13

```

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgcgacc      60
ctgagctgca gagcgagcca gagcgtgagc agcagctatc tggcgtggta ccagcagaaa      120
ccaggtcaag caccgctctt attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tggggtcccg      180
gcgcgtttta gcggtcttgg atccggcagc gatattacc tgaccattag cagcctggaa      240
cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagctttctt cttttcctcc tacctttggc      300
caggttacga aagttgaaat taaacgtacg                                     330

```

<210> 14

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#8的VL区

<400> 14

```

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

```

<210> 15

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3的VL区的CDR3

<400> 15

```
cagcaggttt ataacctcc tgtt
```

24

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

[0538]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3的VL区的CDR3

<400> 16

Gln Gln Val Tyr Asn Pro Pro Val

1 5

<210> 17

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7的VL区的CDR3

<400> 17

tttcagcttt attctgatcc tttt

24

<210> 18

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7的VL区的CDR3

<400> 18

Phe Gln Leu Tyr Ser Asp Pro Phe

1 5

<210> 19

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#8的VL区的CDR3

<400> 19

cagcagcttt cttcttttcc tcct

24

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#8的VL区的CDR3

[0539]

<400> 20

Gln Gln Leu Ser Ser Phe Pro Pro

1 5

<210> 21

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3的VH区的CDR3

<400> 21

cttactcatt atgctcgta ttatcgttat tttgatgtt

39

<210> 22

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3的VH区的CDR3

<400> 22

Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 23

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7的VH区的CDR3

<400> 23

ggtaagggtataactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t

51

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7的VH区的CDR3

<400> 24

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp

1 5 10 15

Val

[0540]

<210> 25

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#8的VH区的CDR3

<400> 25

cttcctttctc gtggtataa tggttattat cataagtttg atggt

45

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#8的VH区的CDR3

<400> 26

Leu Leu Ser Arg Gly Tyr Asn Gly Tyr Tyr His Lys Phe Asp Val  
1                   5                   10                   15

<210> 27

<211> 42

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物;  $\beta$ -A4肽

<400> 27

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys  
1                   5                   10                   15  
Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile  
                  20                   25                   30  
Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala  
                  35                   40

<210> 28

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; VL-正向引物

<400> 28

gtggtggttc cgatac

17

[0541]

<210>	29	
<211>	43	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成构建物; VL-反向引物	
<400>	29	
	agcgtcacac tccgtgcggc tttcggctgg ccaagaacgg tta	43
<210>	30	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成构建物; 控制正向引物	
<400>	30	
	caggaaacag ctatgac	17
<210>	31	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成构建物; 控制反向引物	
<400>	31	
	taccgttgct cttcacccc	19
<210>	32	
<211>	360	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成构建物; VH MS-Roche#3.6H5 x 3.6L2	
<400>	32	
	caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc	60
	gcggcctccg gattacctt tagcagctat gcgatgagct gggcgcgcca agcccctggg	120
	aagggtctcg agtgggtgag cgctatttct gagtctggta agactaagta ttatgctgat	180
	tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacacct gtatctgcaa	240
	atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggc gtgtattatt gcgcgcgtct tactcattat	300
	gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca ccctggtgac ggtagctca	360
<210>	33	
<211>	120	

[0542]

<212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VH MS-Roche#3.6H5 x 3.6L2

<400> 33  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 35 40 45  
 Ile Ser Glu Ser Gly Lys Thr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 85 90 95  
 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 34  
 <211> 360  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VH MS-Roche#3.6H8 x 3.6L2

<400> 34  
 caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtgcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgctatttct gagtattcta agttaaagta ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct tactcattat 300  
 gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca ccctggtgac ggtagctca 360

<210> 35  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VH MS-Roche#3.6H8 x 3.6L2

<400> 35  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15

[0543]

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 35 40 45  
 Ile Ser Glu Tyr Ser Lys Phe Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 85 90 95  
 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 36  
 <211> 372  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VH MS-Roche#7. 4H2 x 7. 2L1

<400> 36  
 caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggcgcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat tataatggtg ctcgtattta ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgctgg taagggtaat 300  
 actcataagc cttatgggta tgttcggtat ttgatgttt gggccaagg caccctggtg 360  
 acggttagct ca 372

<210> 37  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VH MS-Roche#7. 4H2 x 7. 2L1

<400> 37  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 35 40 45  
 Ile Asn Tyr Asn Gly Ala Arg Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80

[0544]



<211> 372  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VH MS-Roche#7.9H4 x 7.12L2

<400> 40  
 caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggggtgcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat gctgttggtg tgaagaagt ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgctgg taagggtaat 300  
 actcataagc cttatggtta tgttcgttat tttgatgttt ggggccaagg caccctggtg 360  
 acggttagct ca 372

<210> 41  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VH MS-Roche#7.9H4 x 7.12L2

<400> 41  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 35 40 45  
 Ile Asn Ala Val Gly Met Lys Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 85 90 95  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
 100 105 110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 42  
 <211> 372  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VH MS-Roche#7.11H1 x 7.11L1

<400> 42

[0546]

```

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60
gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggggtgcgcca agcccctggg 120
aagggtctcg agtgggtgag cggtattaat gctgctggtt ttcgtactta ttatgctgat 180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgctgg taagggtaat 300
actcataagc cttatggta tgttcgttat tttgatgttt ggggccaagg caccctggtg 360
acggttagct ca 372

```

<210> 43  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VH MS-Roche#7.11H1 x 7.11L1

<400> 43  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Gly  
 35 40 45  
 Ile Asn Ala Ala Gly Phe Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 85 90 95  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
 100 105 110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 44  
 <211> 372  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VH MS-Roche#7.11H1 x 7.2L1

<400> 44  
 caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggggtgcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cggtattaat gctgctggtt ttcgtactta ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgctgg taagggtaat 300  
 actcataagc cttatggta tgttcgttat tttgatgttt ggggccaagg caccctggtg 360  
 acggttagct ca 372

[0547]

<210> 45  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VH MS-Roche#7.11H1 x 7.2L1

<400> 45  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1                   5                   10                   15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
                  20                   25                   30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Gly  
                  35                   40                   45  
 Ile Asn Ala Ala Gly Phe Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
                  50                   55                   60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65                   70                   75                   80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
                  85                   90                   95  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
                  100                   105                   110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                  115                   120

<210> 46  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#3.6H5 x 3.6L2

<400> 46  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gaggagcca gtttcttct cgttattatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtcaag caccgcgtct attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tgggggtcccg 180  
 gcgctgttta gcgctctgg atccggcag gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcggttta ttattgccag cagacttata attatcctcc tacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 47  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#3.6H5 x 3.6L2

<400> 47

[0548]

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

- <210> 48
- <211> 330
- <212> DNA
- <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#3.6H8 x 3.6L2

<400> 48  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gtttctttct cgttattatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtaag caccgctct attaatattat ggcgagca gccgtgcaac tggggtcccg 180  
 ggcggttta gggctctgg atccggcag gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcgttta ttattgccag cagacttata attatcctcc tacctttggc 300  
 cagggtacga aagtgaat taaacgtacg 330

- <210> 49
- <211> 110
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#3.6H8 x 3.6L2

<400> 49  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Leu Ser Arg Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Asn Tyr Pro

[0549]

	85	90	95
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr			
	100	105	110

<210> 50  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#7.4H2 x 7.2L1

<400> 50  
 gataatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgagacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gtaigtgat cgacttatac tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtcaag caccgctctc attaatattat ggcgcgagca gccgtgcaac tggggctccc 180  
 gcgctgttta gcggctctgg atccggcacg gattttaccg tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagatttatt cttttcctca taccttggc 300  
 caggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 51  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#7.4H2 x 7.2L1

<400> 51  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Asp Arg Thr  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro  
 85 90 95  
 His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

<210> 52  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#7.9H2 x 7.12L2

[0550]

<400> 52  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggga acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gcgtttttt tataagtatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtcaag caccgctctt attaatttct ggttcttcta accgtgcaac tgggggtccc 180  
 gcgctttta gcgctctgg atccggcacg gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcggttta ttattgcctt cagctttata atattcctaa tacctttggc 300  
 caggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 53  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#7.9H2 x 7.12L2

<400> 53  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Phe Phe Tyr Lys  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Ser Gly Ser Ser Asn Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro  
 85 90 95  
 Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

<210> 54  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#7.9H4 x 7.12L2

<400> 54  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggga acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gcgtttttt tataagtatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtcaag caccgctctt attaatttct ggttcttcta accgtgcaac tgggggtccc 180  
 gcgctttta gcgctctgg atccggcacg gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcggttta ttattgcctt cagctttata atattcctaa tacctttggc 300  
 caggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 55  
 <211> 110

[0551]

<212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#7.9H4 x 7.12L2

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

<210> 56  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#7.11H1 x 7.11L1

<400> 56  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gcgtattcct cgtatttacc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtaag caccgcgtct attaatattat ggcgagca gccgtgcaac tgggggtccc 180  
 gcgctttta gcggctctgg atccggcacc gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcgactta ttattgccag caggtttatt ctctcctca tacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 57  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#7.11H1 x 7.11L1

<400> 57  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Ile Leu Arg Ile  
 20 25 30

[0552]

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Tyr Ser Pro Pro  
 85 90 95  
 His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

<210> 58  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#7.11H1 x 7.2L1

<400> 58  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgagacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gtatgttgat cgtacttacc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtaag caccgctct attaatat ggcgcgagca gccgtgcaac tgggggtccc 180  
 gcgcgtttta gcggctctgg atccggcacg gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagatttatt cttttcctca tacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 59  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#7.11H1 x 7.2L1

<400> 59  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Asp Arg Thr  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro  
 85 90 95  
 His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

[0553]

<210> 60  
 <211> 39  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> HCDR3 MS-Roche#3.6H5 x 3.6L2  
  
 <400> 60  
 cttactcatt atgctcgta ttatcggtat tttgatgtt 39  
  
 <210> 61  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> HCDR3 MS-Roche#3.6H5 x 3.6L2  
  
 <400> 61  
 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val  
 1 5 10  
  
 <210> 62  
 <211> 39  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> HCDR3 MS-Roche#3.6H8 x 3.6L2  
  
 <400> 62  
 cttactcatt atgctcgta ttatcggtat tttgatgtt 39  
  
 <210> 63  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> HCDR3 MS-Roche#3.6H8 x 3.6L2  
  
 <400> 63  
 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val  
 1 5 10  
  
 <210> 64  
 <211> 51  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

[0554]

<220>  
 <223> HCDR3 MS-Roche#7.4H2x7.2L1  
  
 <400> 64  
 ggtaagggtataactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51  
  
 <210> 65  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> HCDR3 MS-Roche#7.4H2x7.2L1  
  
 <400> 65  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
 1 5 10 15  
 Val  
  
 <210> 66  
 <211> 51  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> HCDR3 MS-Roche#7.9H2x7.12L2  
  
 <400> 66  
 ggtaagggtataactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51  
  
 <210> 67  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> HCDR3 MS-Roche#7.9H2x7.12L2  
  
 <400> 67  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
 1 5 10 15  
 Val  
  
 <210> 68  
 <211> 51  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列  
  
 <220>

[0555]



<400> 72  
 ggtaagggtataactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51

<210> 73  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> HCDR3 MS-Roche#7.11H1x7.2L1

<400> 73  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
 1                   5                   10                   15  
 Val

<210> 74  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> LCDR3 MS-Roche#3.6H5 x 3.6L2

<400> 74  
 cagcagactt ataattatcc tcct 24

<210> 75  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> LCDR3 MS-Roche#3.6H5 x 3.6L2

<400> 75  
 Gln Gln Thr Tyr Asn Tyr Pro Pro  
 1                   5

<210> 76  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> LCDR3 MS-Roche#3.6H8 x 3.6L2

<400> 76  
 cagcagactt ataattatcc tcct 24

[0557]

<210> 77  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> LCDR3 MS-Roche#3.6H8 x 3.6L2

<400> 77  
 Gln Gln Thr Tyr Asn Tyr Pro Pro  
 1 5

<210> 78  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> LCDR3 MS-Roche#7.4H2x7.2L1

<400> 78  
 cagcagattt attcttttcc tcat 24

<210> 79  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> LCDR3 MS-Roche#7.4H2x7.2L1

<400> 79  
 Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro His  
 1 5

<210> 80  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> LCDR3 MS-Roche#7.9H2x7.12L2

<400> 80  
 cttcagcttt ataatattcc taat 24

<210> 81  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0558]

<220>  
<223> LCDR3 MS-Roche#7.9H2x7.12L2

<400> 81  
Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn  
1 5

<210> 82  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> LCDR3 MS-Roche#7.9H4x7.12L2

<400> 82  
cttcagcttt ataatatcc taat 24

<210> 83  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> LCDR3 MS-Roche#7.9H4x7.12L2

<400> 83  
Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn  
1 5

<210> 84  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> LCDR3 MS-Roche#7.11H1x7.11L1

<400> 84  
cagcaggttt attctcctcc tcat 24

<210> 85  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> LCDR3 MS-Roche#7.11H1x7.11L1

<400> 85

[0559]

Gln Gln Val Tyr Ser Pro Pro His

1 5

<210> 86

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> LCDR3 MS-Roche#7.11H1x7.2L1

<400> 86

cagcagattt attcttttcc tcat

24

<210> 87

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LCDR3 MS-Roche#7.11H1x7.2L1

<400> 87

Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro His

1 5

<210> 88

<211> 378

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; VH MS-Roche#7.9H7

<400> 88

caggtgcaat tgggtgaaag cggcggcggc ctggtgcaac cggcggcag cctgcgtctg 60  
 agctgcgcgg cctccggatt tacctttagc agctatgcga tgagctgggt gcgccaagcc 120  
 cctgggaagg gtctcgagtg ggtgagcgt attaatgctt ctggtactcg tacttattat 180  
 gctgattctg ttaagggtcg ttttaccatt tcacgtgata attcgaaaaa caccctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgcg tgcggaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtaag 300  
 ggtaatactc ataagcctta tggttatggt cgttattttg atgtttgggg ccaaggcacc 360  
 ctggtgacgg ttagctca 378

<210> 89

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; VH MS-Roche#7.9H7

[0560]

<400> 89  
 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 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 Asn Ala Ser Gly Thr Arg 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 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr  
 100 105 110  
 Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 90  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#7. 9H7

<400> 90  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gagcgtgagc agcagctatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtaag caccgctctc attaatattat ggcgcgagca gccgtgcaac tggggctcccg 180  
 gcgcgtttta gcggtctctgg atccggcagc gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcgactta ttattgcctt cagatttata atatgcctat tacctttggc 300  
 caggttacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 91  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL MS-Roche#7. 9H7

<400> 91  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60

[0561]

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

- <210> 92
- <211> 51
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物; HCDR3 MS-Roche#7. 9H7

<400> 92  
 ggtaagggtataactcataa gccttatggt tatgttcggt attttgatgt t 51

- <210> 93
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物; HCDR3 MS-Roche#7. 9H7

<400> 93  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
 1                                    5                                    10                                    15  
 Val

- <210> 94
- <211> 24
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物; LCDR3 MS-Roche#7. 9H7

<400> 94  
 cttcagattt ataatatgcc tatt 24

- <210> 95
- <211> 8
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物; LCDR3 MS-Roche#7. 9H7

[0562]

<400> 95  
Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro Ile  
1 5

<210> 96  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3的LCDR1

<400> 96  
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala  
1 5 10

<210> 97  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3的LCDR2

<400> 97  
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr  
1 5

<210> 98  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3的LCDR3

<400> 98  
Gln Gln Val Tyr Asn Pro Pro Val  
1 5

<210> 99  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3的HCDR1

<400> 99  
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser  
1 5 10

[0563]

<210> 100  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3的HCDR2

<400> 100  
 Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1                   5                   10                   15

Gly

<210> 101  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3的HCDR3

<400> 101  
 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val  
 1                   5                   10

<210> 102  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3.1的LCDR3

<400> 102  
 Gln Gln Val Tyr Ser Val Pro Pro  
 1                   5

<210> 103  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3.2的LCDR3

<400> 103  
 Gln Gln Ile Tyr Ser Tyr Pro Pro  
 1                   5

[0564]

<210> 104  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3.3的LCDR3

<400> 104  
His Gln Met Ser Ser Tyr Pro Pro  
1 5

<210> 105  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3.4的LCDR3

<400> 105  
Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro Pro  
1 5

<210> 106  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3.5的LCDR3

<400> 106  
Gln Gln Ile Tyr Asp Tyr Pro Pro  
1 5

<210> 107  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3.6的LCDR3

<400> 107  
Gln Gln Thr Tyr Asn Tyr Pro Pro  
1 5

<210> 108  
<211> 17

[0565]

<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3. 2H1的HCDR2

<400> 108  
Ala Ile Ser Glu His Gly Leu Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1                   5                   10                   15  
Gly

<210> 109  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3. 2H2的HCDR2

<400> 109  
Ala Ile Ser Gln Arg Gly Gln Phe Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1                   5                   10                   15  
Gly

<210> 110  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3. 3H1的HCDR2

<400> 110  
Val Ile Ser Glu Lys Ser Arg Phe Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1                   5                   10                   15  
Gly

<210> 111  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#3. 3H2的HLCDR2

<400> 111  
Val Ile Ser Gln Glu Ser Gln Tyr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

[0566]



<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4H3的HCDR2

<400> 115

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

Gly

<210> 116

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4H4的HCDR2

<400> 116

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

Gly

<210> 117

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4H5的HCDR2

<400> 117

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

Gly

<210> 118

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4H6的HCDR2

<400> 118

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

[0568]

Gly

<210> 119  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4H7的HCDR2

<400> 119  
 Val Ile Ser Glu Thr Gly Lys Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15

Gly

<210> 120  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4H8的HCDR2

<400> 120  
 Ala Ile Ser Glu His Gly Arg Phe Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15

Gly

<210> 121  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4H9的HCDR2

<400> 121  
 Ala Ile Ser Glu Ser Ser Lys Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15

Gly

<210> 122  
 <211> 17  
 <212> PRT

[0569]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4H10的HCDR2

<400> 122

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

Gly

<210> 123

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4H11的HCDR2

<400> 123

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

Gly

<210> 124

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4H12的HCDR2

<400> 124

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

Gly

<210> 125

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4H13的HCDR2

<400> 125

[0570]



- <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4H18的HCDR2  
  
 <400> 129  
 Ala Ile Ser Gln Gln Ser Asn Phe Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1                   5                   10                   15  
 Gly
- <210> 130  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4L7的LCDR1  
  
 <400> 130  
 Arg Ala Ser Gln Arg Leu Gly Arg Leu Tyr Leu Ala  
 1                   5                   10
- <210> 131  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4L8的LCDR1  
  
 <400> 131  
 Arg Ala Ser Gln Trp Ile Thr Lys Ser Tyr Leu Ala  
 1                   5                   10
- <210> 132  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3. 4L9的LCDR1  
  
 <400> 132  
 Arg Ala Ser Arg Arg Ile His Val Tyr Tyr Leu Ala  
 1                   5                   10
- <210> 133  
 <211> 12  
 <212> PRT

[0572]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3.4L11的LCDR1

<400> 133

Arg Ala Ser Gln Leu Val Gly Arg Ala Tyr Leu Ala  
1                   5                   10

<210> 134

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3.6H1的HCDR2

<400> 134

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

<210> 135

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3.6H2的HCDR2

<400> 135

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

<210> 136

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#3.6H3的HCDR2

<400> 136

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

[0573]

<210> 137  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3. 6H4的HCDR2

<400> 137  
 Ala Ile Ser Glu Arg Gly Arg His Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1                   5                   10                   15  
 Gly

<210> 138  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3. 6H5的HCDR2

<400> 138  
 Ala Ile Ser Glu Ser Gly Lys Thr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1                   5                   10                   15  
 Gly

<210> 139  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3. 6H6的HCDR2

<400> 139  
 Ala Ile Ser Glu His Gly Thr Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1                   5                   10                   15  
 Gly

<210> 140  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#3. 6H8的HCDR2

<400> 140

[0574]



1 5

<210> 145  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7的LCDR3

<400> 145  
 Phe Gln Leu Tyr Ser Asp Pro Phe  
 1 5

<210> 146  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7的HCDR1

<400> 146  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser  
 1 5 10

<210> 147  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7的HCDR2

<400> 147  
 Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15  
 Gly

<210> 148  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7的HCDR3

<400> 148  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
 1 5 10 15

[0576]

Val

<210> 149  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.1的LCDR3

<400> 149  
His Gln Leu Tyr Ser Ser Pro Tyr  
1 5

<210> 150  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.2的LCDR3

<400> 150  
Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro His  
1 5

<210> 151  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.3的LCDR3

<400> 151  
His Gln Val Tyr Ser His Pro Phe  
1 5

<210> 152  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.4的LCDR3

<400> 152  
Gln Gln Ile Tyr Asn Phe Pro His  
1 5

[0577]

<210> 153  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.5的LCDR3

<400> 153  
His Gln Val Tyr Ser Ser Pro Phe  
1 5

<210> 154  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.6的LCDR3

<400> 154  
His Gln Leu Tyr Ser Pro Pro Tyr  
1 5

<210> 155  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.7的LCDR3

<400> 155  
His Gln Val Tyr Ser Ala Pro Phe  
1 5

<210> 156  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.8的LCDR3

<400> 156  
His Gln Val Tyr Ser Phe Pro Ile  
1 5

<210> 157  
<211> 8  
<212> PRT

[0578]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7.9的LCDR3

<400> 157

Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro Ile  
1 5

<210> 158

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7.10的LCDR3

<400> 158

Gln Gln Val Tyr Asn Pro Pro His  
1 5

<210> 159

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7.11的LCDR3

<400> 159

Gln Gln Val Tyr Ser Pro Pro His  
1 5

<210> 160

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7.12的LCDR1

<400> 160

Arg Ala Ser Gln Tyr Val Ser Ser Pro Tyr Leu Ala  
1 5 10

<210> 161

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0579]

<223> 合成构建物; MS-Roche#7.12的LCDR2

<400> 161

Gly Ser Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 162

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7.12的LCDR3

<400> 162

Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn

1 5

<210> 163

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7.12的HCDR1

<400> 163

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Ser

1 5 10

<210> 164

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7.12的HCDR2

<400> 164

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

1 5 10 15

Gly

<210> 165

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7.12的HCDR3

[0580]

<400> 165  
Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
1 5 10 15  
Val

<210> 166  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.13的LCDR3

<400> 166  
His Gln Val Tyr Ser Pro Pro Phe  
1 5

<210> 167  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.2H1的HCDR2

<400> 167  
Ala Ile Asn Ala Asn Gly Leu Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15  
Gly

<210> 168  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.2H2的HCDR2

<400> 168  
Ala Ile Asn Gly Thr Gly Met Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15  
Gly

<210> 169  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0581]



<210> 173  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7. 2H7的HCDR2

<400> 173  
 Ala Ile Asn Ser Arg Gly Ser Asp Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1                   5                   10                   15  
 Gly

<210> 174  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7. 2H8的HCDR2

<400> 174  
 Ala Ile Asn Ala Ser Gly His Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1                   5                   10                   15  
 Gly

<210> 175  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7. 2L1的LCDR1

<400> 175  
 Arg Ala Ser Gln Tyr Val Asp Arg Thr Tyr Leu Ala  
 1                   5                   10

<210> 176  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7. 2L2的LCDR1

<400> 176  
 Arg Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Phe Arg Tyr Leu Ala

[0583]

1	5	10
---	---	----

<210> 177  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7.2L4的LCDR1

<400> 177  
 Arg Ala Ser Gln Phe Ile Arg Arg Ser Tyr Leu Ala  
 1                    5                    10

<210> 178  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7.3H1的LCDR3

<400> 178  
 His Gln Val Tyr Ser His Pro Phe  
 1                    5

<210> 179  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7.3H1的HCDR2

<400> 179  
 Ala Ile Ser Ala Ile Ser Asn Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1                    5                    10                    15  
 Gly

<210> 180  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#7.3L1的LCDR1

<400> 180  
 Arg Ala Ser Gln Tyr Leu His Tyr Gly Tyr Leu Ala  
 1                    5                    10

[0584]

<210> 181  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.4H1的HCDR2

<400> 181  
Ala Ile Asn Ala Thr Gly Tyr Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1                   5                   10                   15  
Gly

<210> 182  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.4H2的HCDR2

<400> 182  
Ala Ile Asn Tyr Asn Gly Ala Arg Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1                   5                   10                   15  
Gly

<210> 183  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.9H1的LCDR3

<400> 183  
Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro Ile  
1                   5

<210> 184  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.9H1的HCDR2

<400> 184  
Ala Ile Asn Ala Asn Gly Gln Arg Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys

[0585]

1 5 10 15  
Gly

<210> 185  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7. 9H2的HCDR2

<400> 185  
Ala Ile Asn Ala Asp Gly Asn Arg Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15  
Gly

<210> 186  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7. 9H3的HCDR2

<400> 186  
Ala Ile Asn Tyr Gln Gly Asn Arg Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15  
Gly

<210> 187  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7. 9H4的HCDR2

<400> 187  
Ala Ile Asn Ala Val Gly Met Lys Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15  
Gly

<210> 188  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0586]





<210> 196  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.11H2的HCDR2

<400> 196  
Ala Ile Asn Ala Asn Gly Tyr Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1                   5                   10                   15  
Gly

<210> 197  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.11H3的HCDR2

<400> 197  
Gly Ile Asn Ala Asn Gly Asn Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1                   5                   10                   15  
Gly

<210> 198  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.11H4的HCDR2

<400> 198  
Ala Ile Asn Ala Asn Gly Tyr Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1                   5                   10                   15  
Gly

<210> 199  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.11H5的HCDR2

[0589]

<400> 199  
Ala Ile Asn Ala His Gly Gln Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1                   5                   10                   15  
Gly

<210> 200  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.11L1的LCDR1

<400> 200  
Arg Ala Ser Gln Arg Ile Leu Arg Ile Tyr Leu Ala  
1                   5                   10

<210> 201  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.12H1的LCDR1

<400> 201  
Arg Ala Ser Gln Tyr Val Phe Arg Arg Tyr Leu Ala  
1                   5                   10

<210> 202  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.12H1的LCDR3

<400> 202  
Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn  
1                   5

<210> 203  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.12H1的HCDR1

<400> 203

[0590]

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

<210> 204

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7. 12H1的HCDR2

<400> 204

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

Gly

<210> 205

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7. 12L1的HCDR2

<400> 205

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

Gly

<210> 206

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7. 12L2的LCDR1

<400> 206

Arg Ala Ser Gln Arg Phe Phe Tyr Lys Tyr Leu Ala  
1 5 10

<210> 207

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; MS-Roche#7. 12L3的LCDR1

[0591]

<400> 207  
Arg Ala Ser Gln Phe Val Arg Arg Gly Phe Leu Ala  
1 5 10

<210> 208  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.12L4的LCDR1

<400> 208  
Arg Ala Ser Gln Arg Leu Lys Arg Ser Tyr Leu Ala  
1 5 10

<210> 209  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.12L6的LCDR1

<400> 209  
Arg Ala Ser Gln Tyr Leu Trp Tyr Arg Tyr Leu Ala  
1 5 10

<210> 210  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#7.12L7的LCDR1

<400> 210  
Arg Ala Ser Gln Trp Ile Arg Lys Thr Tyr Leu Ala  
1 5 10

<210> 211  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物; MS-Roche#8的LCDR1

<400> 211  
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala  
1 5 10

[0592]

<210> 212  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8的LCDR2

<400> 212  
 Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr  
 1 5

<210> 213  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8的LCDR3

<400> 213  
 Gln Gln Leu Ser Ser Phe Pro Pro  
 1 5

<210> 214  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8的HCDR1

<400> 214  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser  
 1 5 10

<210> 215  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8的HCDR2

<400> 215  
 Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15  
 Gly

[0593]

<210> 216  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8的HCDR3

<400> 216  
 Leu Leu Ser Arg Gly Tyr Asn Gly Tyr Tyr His Lys Phe Asp Val  
 1                   5                   10                   15

<210> 217  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8.1的LCDR3

<400> 217  
 Gln Gln Leu Ser Asn Tyr Pro Pro  
 1                   5

<210> 218  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8.2的LCDR3

<400> 218  
 Gln Gln Leu Ser Ser Tyr Pro Pro  
 1                   5

<210> 219  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8.1H1的HCDR2

<400> 219  
 Ala Ile Ser Arg Ser Gly Ser Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1                   5                   10                   15  
 Gly

<210> 220

[0594]

<211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8. 2H1的LCDR3  
  
 <400> 220  
 Gln Gln Leu Ser Ser Tyr Pro Pro  
 1 5  
  
 <210> 221  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8. 2H1的HCDR2  
  
 <400> 221  
 Ala Ile Ser Ile Thr Gly Arg Arg Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15  
 Gly  
  
 <210> 222  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8. 2H2的HCDR2  
  
 <400> 222  
 Ala Ile Ser Arg Thr Gly Ser Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15  
 Gly  
  
 <210> 223  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物; MS-Roche#8. 2H4的HCDR2  
  
 <400> 223  
 Ala Thr Ser Val Lys Gly Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

[0595]

- <210> 224  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物; 的LCDR1MS-Roche#8. 2L1
- <400> 224  
 Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Gly Arg Tyr Leu Ala  
 1                    5                    10
- <210> 225  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物; VL κ1
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (96).. (96)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro,  
           Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp或Tyr混合物中的任何氨基酸
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (93).. (93)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Gly, His, Leu, Asn或Ser混合物中的任何氨基酸
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (92).. (92)  
 <223> Xaa = Asp, Gly, Asn, Ser或Tyr混合物中的任何氨基酸
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (91).. (91)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met,  
           Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp或Tyr混合物中的任何氨基酸
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (89).. (89)  
 <223> Xaa = Phe, His, Ile, Leu, Met或Gln混合物中的任何氨基酸
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (85).. (85)  
 <223> Xaa = 可以是Thr或Val

[0596]

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (94).. (94)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro,  
 Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp或Tyr混合物中的任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (95).. (95)  
 <223> Xaa = Leu, Pro或Ser混合物中的任何氨基酸

<400> 225  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Tyr Cys Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105

<210> 226  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL κ2

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (101).. (101)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn,  
 Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp或Tyr混合物中的任何氨基酸

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (94).. (94)  
 <223> Xaa = Phe, His, Ile, Leu, Met或Gln混合物中的任何氨基酸

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (96).. (96)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn,  
 Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp或Tyr混合物中的任何氨基酸

[0597]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (97)..(97)  
 <223> Xaa = Asp, Gly, Asn, Ser或Tyr混合物中的任何氨基酸  
  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (98)..(98)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Gly, His, Leu, Asn或Ser混合物中的任何氨基酸  
  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (99)..(99)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn,  
           Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp或Tyr混合物中的任何氨基酸  
  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (100)..(100)  
 <223> Xaa = Leu, Pro或Ser混合物中的任何氨基酸

<400> 226  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1                  5                  10                  15  
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
                   20                  25                  30  
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
                   35                  40                  45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
                   50                  55                  60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65                  70                  75                  80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Xaa Gln Xaa  
                   85                  90                  95  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
                   100                  105                  110  
 Arg Thr

<210> 227  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL κ3  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (97)..(97)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro,

[0598]

Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp或Tyr混合物中的任何氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (90)..(90)

<223> Xaa = Phe, His, Ile, Leu, Met或Gln混合物中的任何氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (86)..(86)

<223> Xaa = Thr或Val

<220>

<221> misc\_feature

<222> (92)..(92)

<223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn,  
Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp或Tyr混合物中的任何氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (93)..(93)

<223> Xaa = Asp, Gly, Asn, Ser或Tyr混合物中的任何氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (94)..(94)

<223> Xaa = Ala, Asp, Gly, His, Leu, Asn或Ser混合物中的任何氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (95)..(95)

<223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln,  
Arg, Ser, Thr, Val, Trp或Tyr混合物中的任何氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (96)..(96)

<223> Xaa = Leu, Pro或Ser混合物中的任何氨基酸

<400> 227

Asp	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Ser
			20					25					30		
Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu
		35					40						45		
Ile	Tyr	Gly	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser
		50				55					60				
Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu
65					70						75			80	
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Xaa	Tyr	Tyr	Cys	Xaa	Gln	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa

[0599]

	85	90	95
Xaa Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr			
	100	105	110

<210> 228  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL κ4

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (102)..(102)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp或Tyr混合物中的任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (95)..(95)  
 <223> Xaa = Phe, His, Ile, Leu, Met或Gln混合物中的任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (97)..(97)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp或Tyr混合物中的任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (98)..(98)  
 <223> Xaa = Asp, Gly, Asn, Ser或Tyr混合物中的任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (99)..(99)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Gly, His, Leu, Asn或Ser混合物中的任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (100)..(100)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp或Tyr混合物中的任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (101)..(101)  
 <223> Xaa = Leu, Pro或Ser混合物中的任何氨基酸

<400> 228

[0600]

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1           5           10           15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
           20           25           30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
           35           40           45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
           50           55           60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65           70           75           80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Xaa Gln
           85           90           95
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
           100           105           110
Lys Arg Thr
           115

```

<210> 229

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; VL λ1

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (99)..(99)

<223> Xaa = 任何氨基酸

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (97)..(98)

<223> Xaa = 除Cys的任何氨基酸或缺失

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (94)..(96)

<223> Xaa = 除Cys的任何氨基酸

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (92)..(92)

<223> Xaa = Cys, Phe, His, Arg, Trp或Tyr中任何氨基酸

<400> 229

```

Asp Ile 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 Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
           20           25           30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

```

[0601]

```

          35          40          45
Ile Tyr Asp 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 Thr Gly Leu Gln
65          70          75          80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Xaa Asp Xaa Xaa Xaa
          85          90          95
Xaa Xaa Xaa Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
          100          105          110
    
```

<210> 230  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL λ2

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (100)..(100)  
 <223> Xaa = 任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (93)..(93)  
 <223> Xaa = Cys, Phe, His, Arg, Trp或Tyr中任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (95)..(97)  
 <223> Xaa = 除Cys的任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (98)..(99)  
 <223> Xaa = 除Cys的任何氨基酸或缺失

```

<400> 230
Asp Ile Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1          5          10          15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
          20          25          30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
          35          40          45
Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
          50          55          60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65          70          75          80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Xaa Asp Xaa Xaa
          85          90          95
    
```

[0602]

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

<210> 231  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL λ3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (97)..(97)  
 <223> Xaa = 任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (90)..(90)  
 <223> Xaa = Cys, Phe, His, Arg, Trp或Tyr中任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (92)..(94)  
 <223> Xaa = 除Cys的任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (95)..(96)  
 <223> Xaa = 除Cys的任何氨基酸或缺失

<400> 231  
 Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Ala Leu Gly Asp Lys Tyr Ala  
 20 25 30  
 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr  
 35 40 45  
 Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 85 90 95  
 Xaa Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105

<210> 232  
 <211> 127  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0603]

- <220>  
 <223> 合成构建物; VH1A
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (99)..(112)  
 <223> Xaa = 任何氨基酸或缺失
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (116)..(116)  
 <223> Xaa = Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Val, Trp或Tyr混合物外点任何氨基酸
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (114)..(114)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Leu, Met, Pro, Gln, Ser, Thr, Val或Tyr混合物外的任何氨基酸
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (113)..(113)  
 <223> Xaa = 任何氨基酸
- <400> 232  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 100 105 110  
 Xaa Xaa Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125
- <210> 233  
 <211> 127  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物; VH1B

[0604]

- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (99)..(112)  
 <223> Xaa = 任何氨基酸或缺失
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (113)..(113)  
 <223> Xaa = 任何氨基酸
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (114)..(114)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Leu, Met, Pro,  
 Gln, Ser, Thr, Val或Tyr混合物外的任何氨基酸
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (116)..(116)  
 <223> Xaa = Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Val, Trp或Tyr混合物外的任何氨基酸
- <400> 233  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1                   5                   10                   15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
           20                   25                   30  
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
           35                   40                   45  
 Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
           50                   55                   60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
 65                   70                   75                   80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
           85                   90                   95  
 Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
           100                   105                   110  
 Xaa Xaa Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
           115                   120                   125
- <210> 234  
 <211> 128  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物; VH2
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (100)..(113)  
 <223> Xaa = 任何氨基酸或缺失

[0605]

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (114)..(114)

<223> Xaa = 任何氨基酸

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (117)..(117)

<223> Xaa = Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Val, Trp或Tyr混合物外的任何氨基酸

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (115)..(115)

<223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Leu, Met, Pro, Gln,  
Ser, Thr, Val或Tyr混合物外的任何氨基酸

<400> 234

```
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1          5          10          15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
          20          25          30
Gly Val Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
          35          40          45
Trp Leu Ala Leu Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser
          50          55          60
Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65          70          75          80
Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
          85          90          95
Cys Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
100          105          110
Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120          125
```

<210> 235

<211> 127

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; VH3

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (99)..(112)

<223> Xaa = 任何氨基酸或缺失

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (113)..(113)

[0606]

<223> Xaa = 任何氨基酸

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (116)..(116)

<223> Xaa = Phe, His, Ile, Leu, Asn,Pro, Ser, Val, Trp或Tyr混合物外的任何氨基酸

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (114)..(114)

<223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly,Ile, Leu, Met, Pro,  
Gln, Ser, Thr, Val或Tyr混合物外的任何氨基酸

<400> 235

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	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
		20					25						30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35				40						45			
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
		50				55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65				70					75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90					95	
Ala	Arg	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
		100						105						110	
Xaa	Xaa	Asp	Xaa	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	
		115					120							125	

<210> 236

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; VH4

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (98)..(111)

<223> Xaa = 任何氨基酸或缺失

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = 任何氨基酸

<220>

<221> MISC\_FEATURE

[0607]

- <222> (113)..(113)  
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Leu, Met, Pro, Gln, Ser, Thr, Val或Tyr混合物外的任何氨基酸
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (115)..(115)  
 <223> Xaa = Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Val, Trp或Tyr混合物外的任何氨基酸
- <400> 236  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60  
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
 Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 100 105 110  
 Xaa Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125
- <210> 237  
 <211> 127  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物; VH5
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (99)..(112)  
 <223> Xaa = 任何氨基酸或缺失
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (113)..(113)  
 <223> Xaa = 任何氨基酸
- <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (116)..(116)  
 <223> Xaa = Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Val, Trp或Tyr混合物外的任何氨基酸
- <220>

[0608]



<400> 238  
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn  
 20 25 30  
 Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Arg Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala  
 50 55 60  
 Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn  
 65 70 75 80  
 Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val  
 85 90 95  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 100 105 110  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val  
 115 120 125  
 Ser Ser  
 130

<210> 239

<211> 327

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; VL κ1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (286)..(288)

<223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT,  
 CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (271)..(273)

<223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CAG,  
 CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (265)..(267)

<223> nnn = TTT, CAT, CTT, ATG或CAG

<220>

<221> misc\_feature

<222> (253)..(256)

<223> nnn = 可以是ACT或GTT

[0610]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (283)..(285)  
 <223> nnn = CTT, CCT或TCT

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (280)..(282)  
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (277)..(279)  
 <223> nnn = GCT, GAT, GGT, CAT, CTT, AAT或TCT

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (274)..(276)  
 <223> nnn = GAT, GGT, AAT, TCT或TAT

<400> 239  
 gatattccaga tgaccagag cccgtctagc ctgagcgcga gcgtgggtga tcgtgtgacc 60  
 attacctgca gagcgagcca gggcattagc agctatctgg cgtggtacca gcagaaacca 120  
 ggtaaagcac cgaactatt aatttatgca gccagcagct tgcaaagcgg ggtcccgctc 180  
 cgttttagcg gctctggatc cggaactgat ttaccctga ccattagcag cctgcaacct 240  
 gaagactttg cgnntatta ttgnnncag nnnnnnnnnn nnnnnnnnac ctttgccag 300  
 ggtacgaaag ttgaaattaa acgtacg 327

<210> 240  
 <211> 328  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; VL κ2

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (289)..(289)  
 <223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (280)..(280)  
 <223> n = TTT, CAT, CTT, ATG或CAG

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (284)..(284)

[0611]

<223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CAG, C  
GT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (285)..(285)

<223> n = GAT, GGT, AAT, TCT或TAT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (286)..(289)

<223> n = GCT, GAT, GGT, CAT, CTT, AAT或TCT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (287)..(287)

<223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, C  
AG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (288)..(288)

<223> n = CTT, CCT或TCT

<400> 240

gatatcgtga tgaccagag cccactgagc ctgccagtga ctccgggcca gcctgcgagc	60
attagctgca gaagcagcca aagcctgctg catagcaacg gctataacta tctggattgg	120
tacctcaaaa aaccaggcca aagcccgcag ctattaattt atctgggcag caaccgtgcc	180
agtgggggcc cggatcgitt tagcggctct ggatccggca cggattttac cctgaaaatt	240
agccgtgtgg aagctgaaga cgtgggcgtg tattattgcn cagnnnnna cctttggcca	300
gggtacgaaa gttgaaatta aacgtacg	328

<210> 241

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; VL κ3

<220>

<221> misc\_feature

<222> (289)..(291)

<223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT,  
CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (256)..(258)

<223> nnn = 可以是ACT或GTT

[0612]

- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (265)..(276)  
 <223> nnn = TTT, CAT, CTT, ATG或CAG
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (274)..(276)  
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (277)..(279)  
 <223> nnn = GAT, GGT, AAT, TCT或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (280)..(282)  
 <223> nnn = GCT, GAT, GGT, CAT, CTT, AAT或TCT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (283)..(285)  
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (286)..(288)  
 <223> nnn = CTT, CCT或TCT
- <400> 241  
 gatatcgtgc tgacccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gagcgtgagc agcagctatc tggcgtgta ccagcagaaa 120  
 ccaggtcaag caccgcgtct attaatattat ggcgcgagca gccgtgcaac tggggtcccg 180  
 gcgcgtttta gcggctctgg atccggcacg gattttaccg tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcgnnta ttattgcnnn cagnnnnnnn nnnnnnnnnn nacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330
- <210> 242  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物; VL κ4
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (304)..(306)

[0613]

<223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (283)..(285)

<223> nnn = TTT, CAT, CTT, ATG或CAG

<220>

<221> misc\_feature

<222> (289)..(291)

<223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (292)..(294)

<223> nnn = GAT, GGT, AAT, TCT或TAT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (295)..(297)

<223> nnn = GCT, GAT, GGT, CAT, CTT, AAT或TCT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (298)..(300)

<223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (301)..(303)

<223> nnn = CTT, CCT或TCT

<400> 242

gatatcgtga tgaccagag cccggatagc ctggcggtga gcctgggcca acgtgcgacc	60
attaactgca gaagcagcca gagcgtgctg tatagcagca acaacaaaa ctatctggcg	120
tggtaccagc agaaaccagg tcagccgccg aaactattaa ttattgggc atccaccgt	180
gaaagcgggg tcccgatcg ttttagcggc tctggatccg gcaactgatt tacctgacc	240
atcttgcctc tgcaagctga agacgtggcg gtgtattatt gcnnncagnn nnnnnnnnn	300
nnnnnacct ttggccaggg tacgaaagtt gaaattaaac gtacg	345

<210> 243

<211> 322

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; VL λ1

[0614]

- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (274)..(274)  
 <223> n = TGT, TTT, CAT, CGT, TGG或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (278)..(280)  
 <223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (281)..(282)  
 <223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT或缺失
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (283)..(283)  
 <223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT
- <400> 243  
 gatatcgtgc tgaccagcc gccttcagtg agtggcgcac caggtcagcg tgtgaccatc 60  
 tcgtgtagcg gcagcagcag caacattggc agcaactatg tgagctggta ccagcagttg 120  
 cccgggacgg cgccgaaact gctgatttat gataacaacc agcgtccctc aggcgtgccg 180  
 gatcgtttta gcgatccaa aagcggcacc agcgcgagcc ttgcgattac gggcctgcaa 240  
 agcgaagacg aagcggatta ttattgccag tctngatnnn nnngtgtttg gcggcggcac 300  
 gaagttaacc gttcttgccc ag 322
- <210> 244  
 <211> 336  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物; VL λ2
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (274)..(276)  
 <223> nnn = TGT, TTT, CAT, CGT, TGG或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (290)..(295)  
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT或缺失
- <220>

[0615]

<221> misc\_feature  
 <222> (296)..(298)  
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT,  
 CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature  
 <222> (280)..(289)  
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT,  
 CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<400> 244

```

gatatcgcac tgaccagcc agcttcagt agcggctcac caggtcagag cattaccatc      60
tcgtgtacgg gtactagcag cgatgtgggc ggctataact atgtgagctg gtaccagcag      120
catcccggga aggcgccgaa actgatgatt tatgatgtga gcaaccgtcc ctccaggcgtg      180
agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgcca gcctgacat tagcggcctg      240
caagcgggaag acgaagcggga ttattattgc cagnnngatn nnnnnnnnnn nnnnnnngtg      300
tttggcggcg gcacgaagtt aaccgttctt ggccag                                336

```

<210> 245

<211> 327

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; VL λ3

<220>

<221> misc\_feature  
 <222> (265)..(267)  
 <223> nnn = TGT, TTT, CAT, CGT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature  
 <222> (286)..(288)  
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT,  
 CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature  
 <222> (280)..(285)  
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT,  
 CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT或缺失

<220>

<221> misc\_feature  
 <222> (271)..(279)  
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT,  
 CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<400> 245

[0616]

```

gatatcgaac tgaccagacc gccttcagtg agcgttgcaac caggtcagac cgcgcgtatc      60
tcgtgtagcg gcgatgcgct gggcgataaa tacgagagct ggtaccagca gaaacccggg      120
caggcgccag ttctggtgat ttatgatgat tctgaccgtc cctcaggcat cccggaacgc      180
tttagcggat ccaacagcgg caacaccgcg accctgacca ttagcggcac tcaggcggaa      240
gacgaagcgg attattattg ccagnnngat nnnnnnnnnn nnnnnnnngt gtttgcgggc      300
ggcacgaagt taaccgttct tggccag                                           327

```

- <210> 246
- <211> 382
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物; VH1A

- <220>
- <221> misc\_feature
- <222> (345)..(347)
- <223> nnn = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG或TAT

- <220>
- <221> misc\_feature
- <222> (339)..(341)
- <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, GTT或TAT

- <220>
- <221> misc\_feature
- <222> (336)..(338)
- <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

- <220>
- <221> misc\_feature
- <222> (295)..(335)
- <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT或缺失

```

<400> 246
cagggtcaat tggttcagtc tggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg      60
agctgcaaag cctccggagg cacttttagc agctatgcga ttagctgggt gcgccaagcc      120
cctgggcagg gtctcgagtg gatggcgggc attattccga tttttggcac ggcgaaactac      180
gcgcagaagt ttcagggccg ggtgaccatt accgcggatg aaagcaccag caccgcgtat      240
atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtnnnnnn      300
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ngatnnntgg ggccaaggca      360
ccctggtgac ggtagctca gc                                                  382

```

- <210> 247
- <211> 383
- <212> DNA
- <213> 人工序列

[0617]

- <220>  
 <223> 合成构建物; VH1B
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (346)..(348)  
 <223> nnn = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (295)..(336)  
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT或缺失
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (337)..(339)  
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (340)..(342)  
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, GTT或TAT
- <400> 247  
 cagggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cggcgcgag cgtgaaagtg 60  
 agctgcaaag cctccggata tacctttacc agctattata tgactgggt ccgccaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagt gatggctgg attaaccga atagcggcg cacgaactac 180  
 gcgcagaagt ttcagggccg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgctat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggcctgt attattgcgc gcgtnnnnnn 300  
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngatnntg gggccaaggc 360  
 accctggtga cggttagctc agc 383
- <210> 248  
 <211> 386  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物; VH2
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (349)..(351)  
 <223> nnn = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature

[0618]

- <222> (298).. (339)  
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT或缺失
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (340).. (342)  
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (343).. (345)  
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, GTT或TAT
- <400> 248  
 caggtgcaat tgaagaaaag cggccccggcc ctggtgaaac cgacccaaac cctgaccctg 60  
 acctgtacct tttccggatt tagcctgtcc acgtctggcg ttggcgtggg ctggattcgc 120  
 cagccgcctg ggaaagccct cgagtggctg gctctgattg attgggatga tgataagtat 180  
 tatagacca gcctgaaaac gcgtctgacc attagcaaag atacttcgaa aaatcagggtg 240  
 gtgctgacta tgaccaacat ggacccgggtg gatacggcca cctattatg cgcgcgtnnn 300  
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnngatnn ntggggccaa 360  
 ggcaccctgg tgacggtag ctcagc 386
- <210> 249  
 <211> 349  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物; VH3
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (314).. (314)  
 <223> n = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (295).. (308)  
 <223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, C CT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT或缺失
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (309).. (309)  
 <223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, C CT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT
- <220>

[0619]

<221> misc\_feature  
 <222> (310)..(310)  
 <223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, G  
 TT或TAT

<400> 249  
 caggtgcaat tgggtgaaag cggcgggcggc ctggtgcaac cggcgggcag cctgcgtctg 60  
 agctgcggcg cctccggatt taccttttagc agctatgcca tgagctgggt gcgccaagcc 120  
 cctgggaagg gtctcgagtg ggtgagcgcg attagcggta gcggcgggcag cacctattat 180  
 gcggatagcg tgaaggccg tttaccatt tcacgtgata attcgaaaaa caccctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgcg tgcggaagat acggcctgtg attattgcgc gcgtnnnnnn 300  
 nnnnnnnnnn gatntggggc caaggcacc tggtgacggt tagctcagc 349

<210> 250

<211> 346

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物; VH4

<220>

<221> misc\_feature

<222> (311)..(311)

<223> n = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (292)..(305)

<223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, C  
 CT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT或缺失

<220>

<221> misc\_feature

<222> (306)..(306)

<223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, C  
 CT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>

<221> misc\_feature

<222> (307)..(307)

<223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, G  
 TT或TAT

<400> 250

caggtgcaat tgcaagaaag tggctcgggc ctggtgaaac cgagcgaac cctgagcctg 60  
 acctgcaccg ttccggagg cagcattagc agctattatt ggagctggat tcgccagccg 120  
 cctgggaagg gtctcgagtg gattggctat atttattata gcggcagcac caactataat 180  
 ccgagcctga aaagccgggt gaccattagc gttgatactt cgaaaaacca gtttagcctg 240  
 aaactgagca gcgtgacggc ggcggatagc gccgtgtatt attgcgcgcg tnnnnnnnnn 300  
 nnnnnnnngat ntggggccaa ggcaccctgg tgacgggttag ctcagc 346

[0620]

- <210> 251  
 <211> 349  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物; VH5
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (314)..(314)  
 <223> n = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (295)..(304)  
 <223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, C  
 CT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT或缺失
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (305)..(307)  
 <223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, C  
 CT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (308)..(310)  
 <223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, G  
 TT或TAT
- <400> 251  
 cagggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt 60  
 agctgcaaag gtccggata ttcctttacg agctattgga ttggctgggt gcgccagatg 120  
 cctgggaagg gtctcgagt gatggcatt atttatcgg gcgatagcga taccggtat 180  
 tctccgagct ttcaggcca ggtgaccatt agcgcggata aaagcattag caccgcgtat 240  
 cttcaatgga gcagcctgaa agcgagcgat acggccatgt attattgcgc gcgtnnnnnn 300  
 nnnnnnnnn gatntggggc caaggcacc tggtgacggt tagctcagc 349
- <210> 252  
 <211> 392  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物; VH6
- <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (355)..(357)  
 <223> nnn = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG或TAT

[0621]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (304)..(345)  
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT,  
 CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT或缺失

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (346)..(348)  
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT,  
 CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG或TAT

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (349)..(351)  
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT,  
 GTT或TAT

<400> 252  
 caggtgcaat tgcaacagtc tggctcgggc ctggtgaaac cgagccaaac cctgagcctg 60  
 acctgtgcga tttccggaga tagcgtgagc agcaacagcg cggcgtggaa ctggattcgc 120  
 cagtctcctg ggcgtggcct cgagtggctg ggccgtacct attatcgtag caaatggtat 180  
 aacgattatg cggtagcgt gaaaagccgg attaccatca acccgatac ttcgaaaaac 240  
 cagtttagcc tgcaactgaa cagcgtgacc ccggaagata cggccgtgta ttattgcgcg 300  
 cgtnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ngatnnttg 360  
 ggccaaggca ccctggtgac ggtagctca gc 392

<210> 253  
 <211> 4151  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; pMORPH 18 Fab\_5'

<400> 253  
 tctagataac gagggcaaaa aatgaaaaag acagctatcg cgattgcagt ggcactggct 60  
 ggtttcgcta ccgtagcgca ggccgatata gtgctgacct agagcccggc gaccctgagc 120  
 ctgtctccgg gcaacgtgc gaccctgagc tgcagagcga gccagagcgt gagcagcagc 180  
 tatctggcgt ggtaccagca gaaaccaggt caagcaccgc gtctattaat ttatggcgcg 240  
 agcagccgtg caactggggt cccggcgcgt tttagcggct ctggatccgg cacggathtt 300  
 accctgacca ttagcagcct ggaacctgaa gactttgcgg tgtattattg ccagcagcat 360  
 tataccacc cgcgcacctt tggccagggt acgaaagtig aaattaaacg tacggtggct 420  
 gctccgagcg tgtttatitt tccgccgagc gatgaacaac tgaaaagcgg cacggcgagc 480  
 gtggtgtgcc tgctgaacaa cttttatccg cgtgaagcga aagttcagtg gaaagtagac 540  
 aacgcgctgc aaagcggcaa cagccaggaa agcgtgaccg aacaggatag caaagatagc 600  
 acctattctc tgagcagcac cctgaccctg agcaaaagcgg attatgaaaa acataaagtg 660  
 tatgctgctg aagtgacca tcaaggctctg agcagcccgg tgactaaatc ttttaactcg 720  
 ggcgaggcct gataagcatg cgtaggagaa aataaaatga aacaagcac tattgactg 780  
 gcactcttac cgttctctt caccctgtt accaaagcgg aagtgaatt ggtggaagc 840

[0622]

ggcgcgcc tgggtcaacc gggcggcagc ctgcgtctga gctgcgcggc ctccggattt 900  
 accttttagca gctatgcat gagctgggtg cgccaagccc ctgggaaggg tctcagtggt 960  
 gtgagcgca ttagcggttag cggcggcagc acctattatg cggatagcgt gaaaggccgt 1020  
 ttaccattt cacgtgataa ttcgaaaaac accctgtatc tgcaaatgaa cagcctgcgt 1080  
 gcggaagata cggccgtgta ttattgcgcg cgttggggcg gcgatggctt ttatgcatg 1140  
 gattattggg gccaaaggcag cctgggtgacg gtttagctcag cgtcgaccaa aggtccaagc 1200  
 gtgtttccgc tggctccgag cagcaaaaagc accagcggcg gcacggctgc cctgggctgc 1260  
 ctggttaaag attatttccc ggaaccagtc accgtgagct ggaacagcgg ggcgctgacc 1320  
 agcggcgtgc ataccttccc ggcggtgctg caaagcagcg gcctgtatag cctgagcagc 1380  
 gttgtgaccg tgccgagcag cagccttaggc actcagacct atatttgcaa cgtgaacat 1440  
 aaaccgagca acaccaaggt ggataaaaa gtggaaccga aaagcgaatt cgggggaggg 1500  
 agcgggagcg gtgattttga ttatgaaaag atggcaaacg ctaataaggg ggctatgacc 1560  
 gaaaatgccg atgaaaacgc gctacagtct gacgctaaag gcaaaactga ttctgtcgt 1620  
 actgattacg gtgctgctat cgatggtttc attggtgacg tttccggcct tgctaattgt 1680  
 aatggtgcta ctggtgattt tgcctgctc aattcccaa tggctcaagt cggtgacggt 1740  
 gataattcac ctttaatgaa taatttccgt caatatttac ctccctccc tcaatcggtt 1800  
 gaatgtccc cttttgtctt tggcgtggt aaaccatag aattttctat tgattgtgac 1860  
 aaaataaact tattccgtgg tgcctttgcg tttcttttat atgttgccac cttatgtat 1920  
 gtattttcta cgtttgctaa catactgcgt aataaggagt ctigataagc ttgacctgtg 1980  
 aagtgaaaaa tggcgcatg tgtgcgacat ttttttgtc tgccgttaa tgaattgta 2040  
 aacgttaata tttgttaaa atcgcgtta aattttgtt aatcagctc attttttaac 2100  
 caataggccg aatcggcaa aatcccttat aatcaaaaag aatagaccga gatagggtt 2160  
 agtgtgttc cagtttgaa caagagtcca ctattaaaga acgtggactc caacgtcaaa 2220  
 gggcgaaaaa cgtctatca ggcgatggc cactacgag aacctacc ctaatcaagt 2280  
 ttttggggt cgaggtgccg taaagcacta aatcggaacc ctaaaggag ccccgattt 2340  
 agagctgac ggggaaagcc ggcgaacgtg gcgagaaagg aagggaagaa agcgaagga 2400  
 gcggcgcta gggcgctggc aagtgtagc gtcacgctgc gcgtaaccac cacaccgcc 2460  
 gcgcttaatg cgcgctaca ggcgcgtgc tagccatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg 2520  
 ccaggaaccg taaaaaggcc gcgtgtctg cgttttcca taggctccgc cccctgacg 2580  
 agcatcaca aatcgacgc tcaagtcaga ggtggcga cccgacagga ctataaagat 2640  
 accagcggt tccccctgga agctccctc tgcgctctc tgttccgacc ctgccctta 2700  
 ccgatacct gtccgcctt ctccctcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgt 2760  
 gtaggtatct cagttcgtg taggtcgttc gctccaagc gggctgtgtg cacgaaccc 2820  
 ccgttcagtc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatc tcttgagtcc aaccggtaa 2880  
 gacacgact atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg 2940  
 taggcggtg tacagagttc ttgaagtgt ggcctaacta cggctacact agaagaacag 3000  
 tatttggtat ctgcctctg ctgtagccag ttacctcgg aaaaagagtt ggtagctctt 3060  
 gatccggcaa acaaacacc gctggtagc gtggttttt tgtttgcaag cagcagatta 3120  
 cgcgcaaaa aaaaggatc caagaagatc ctttgatct ttctacggg tctgacgctc 3180  
 agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggtcagatc tagcaccag cgtttaaggg 3240  
 caccaataac tgccttaaaa aaattacgc ccgcctgcc actcatgca gtactgtgt 3300  
 aattcattaa gcattctgcc gacatggaag ccatcaciaa cggcatgatg aacctgaatc 3360  
 gccagcgca tcagcacctt gtcgccttg gtataatatt tgccatagt gaaaacgggg 3420  
 gcgaagaagt tgtccatatt ggctacgtt aaatcaaac tggtgaaact caccagggg 3480  
 ttggctgaga cgaaaaacat attctcaata aacccttag gaaataggc caggtttca 3540  
 ccgtaacacg ccacatctg cgaatatatg ttagaaaact gccggaaatc gtcgtggtat 3600  
 tcaactcaga gcgatgaaaa cgtttcagtt gtctatgga aaacggtgta acaaggtgta 3660  
 aactatccc atatcaccag ctcaccgtc ttattgcca tacggaactc cgggtgagca 3720  
 tcatcagcg gggcaagaat gtgaataaag gccgataaa acttgtgctt atttttctt 3780  
 acggtcttta aaaaggcgt aatatccagc tgaacggtc ggttataggt acattgagca 3840  
 actgactgaa atgcctcaaa atgttctta cgatgccatt gggatatatc aacggtgta 3900

[0623]

```

tatccagtga ttttttctc cattttagct tccttagctc ctgaaaatct cgataactca 3960
aaaaatacgc cggtagtga tcttatttca ttatggtgaa agttggaacc tcacccgacg 4020
tctaattgtga gttagctcac tcattaggca ccccaggctt tacactttat gcttcggct 4080
cgtatgttgt gtggaattgt gagcggataa caatttcaca caggaaacag ctatgaccat 4140
gattacgaat t 4151

```

<210> 254  
 <211> 638  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物; pMORPH18\_Fab protein

<400> 254  
 Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala  
 1 5 10 15  
 Thr Val Ala Gln Ala Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu  
 20 25 30  
 Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln  
 35 40 45  
 Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
 50 55 60  
 Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val  
 65 70 75 80  
 Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 85 90 95  
 Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 100 105 110  
 His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
 115 120 125  
 Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp  
 130 135 140  
 Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn  
 145 150 155 160  
 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu  
 165 170 175  
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp  
 180 185 190  
 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr  
 195 200 205  
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser  
 210 215 220  
 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Ala Met Lys Gln Ser  
 225 230 235 240  
 Thr Ile Ala Leu Ala Leu Leu Pro Leu Leu Phe Thr Pro Val Thr Lys  
 245 250 255  
 Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly  
 260 265 270  
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser  
 275 280 285

[0624]

Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp  
 290 295 300  
 Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser  
 305 310 315 320  
 Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu  
 325 330 335  
 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 340 345 350  
 Cys Ala Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 355 360 365  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 370 375 380  
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 385 390 395 400  
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 405 410 415  
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 420 425 430  
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 435 440 445  
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 450 455 460  
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Glu  
 465 470 475 480  
 Phe Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala  
 485 490 495  
 Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu  
 500 505 510  
 Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly  
 515 520 525  
 Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly  
 530 535 540  
 Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln  
 545 550 555 560  
 Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr  
 565 570 575  
 Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Gly  
 580 585 590  
 Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu  
 595 600 605  
 Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr  
 610 615 620  
 Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser  
 625 630 635

<210> 255  
 <211> 5020  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>

[0625]

<223> 合成构建物; pMORPH x9

<400> 255

```

atcgtgctga cccagccgcc ttcagtgagt ggcgcaccag gtcagcgtgt gaccatctcg      60
tgtagcggca gcagcagcaa cattggcagc aactatgtga gctggtacca gcagttgccc      120
gggacggcgc cgaacctgct gatttatgat aacaaccagc gtccctcagg cgtgccggat      180
cgttttagcg gatccaaaag cggcaccagc gcgagccttg cgattacggg cctgcaaagc      240
gaagacgaag cggattatta ttgccagagc tatgacatgc ctcaggctgt gtttggcggc      300
ggcacgaagt ttaaccgttc ttggccagcc gaaagccgca cagagtgtga cgctgtttcc      360
gccgagcagc gaagaatgc aggcgaacaa agcagccctg gtgtgcctga ttagcgactt      420
ttatccggga gccgtgacag tggcctggaa ggcagatagc agccccgtca aggcgggagt      480
ggagaccacc acacctcca aacaaagcaa caacaagtac gcggccagca gctatctgag      540
cctgacgcct gagcagtgga agtcccacag aagctacagc tgccaggta cgcagtaggg      600
gagcaccgtg gaaaaaaccc ttgcgcccac tgaggcctga taagcatgcg taggagaaaa      660
taaaatgaaa caaagcacta ttgcaactgc actcttaccg ttgctcttca ccctgtttac      720
caaagcccag gtgcaatga aagaaagcgg cccggccctg gtgaaaccga cccaaaccct      780
gaccctgacc tgtacctttt cgggatttag cctgtccacg tctggcgttg gcgtgggctg      840
gattcgccag ccgcctggga aagccctcga gtggctggct ctgattgatt gggatgatga      900
taagtattat agcaccagcc tgaaaacgcg tctgaccatt agcaaagata cttcgaaaaa      960
tcagggtgtg ctgactatga ccaacatgga cccggtggat acggccacct attattgcgc      1020
gcgttctcct cgttatcgtg gtgcttttga ttattggggc caaggcacc cgtgtgacggt      1080
tagctcagcg tcgaccaaaag gtccaagcgt gtttccgctg gctccgagca gcaaaagcac      1140
cagcggcggc acggctgccc tgggctgcct ggttaaagat tatttcccgg aaccagtcac      1200
cgtgagctgg aacagcgggg cgctgaccag cggcgtgcat accttccgg cggtgctgca      1260
aagcagcggc ctgtatagcc tgagcagcgt tgtgaccgtg ccgagcagca gcttaggcac      1320
tcagacctat atttgcaacg tgaaccataa accgagcaac accaaagtgg ataaaaaagt      1380
ggaaccgaaa agcgaattcg actataaaga tgacgatgac aaaggcgcgc cgtggagcca      1440
cccgcagttt gaaaaatgat aagcttgacc tgtgaagtga aaaatggcgc agattgtgcg      1500
acatttttt tgtctgccgt ttaattaaag gggggggggg gccggcctgg gggggggtgt      1560
acatgaaatt gtaaactgta atatttgtt aaaattcgcg ttaaattttt gttaaatcag      1620
ctcattttt aaccaatagg ccgaaatcgg caaaatccct tataaatcaa aagaatagac      1680
cgagataggg ttgagtgttg ttccagtttg gaacaagagt ccactattaa agaactgga      1740
ctccaacgtc aaagggcgaa aaaccgtcta tcagggcgat ggcccactac gagaaccatc      1800
accctaataca agttttttgg ggtcgagggt ccgtaaagca ctaaactgga accctaaagg      1860
gagccccga tttagagctt gacgggaaa gccggcgaac gtggcgagaa aggaagggaa      1920
gaaagcgaaa ggagcggcgc ctagggcgtt ggcaagtgtg gcggtcacgc tgcgcgtaac      1980
caccacacc gccgcgctta atgcgcgct acagggcgcg tgctagacta gtgtttaaac      2040
cggaccgggg gggggcttaa gtgggctgca aaacaaaacg gcctcctgtc aggaagccgc      2100
ttttatcggg tagcctcact gcccgcttc cagtcgggaa acctgtcgtg ccagctgcat      2160
cagtgaatcg gccaacgcgc ggggagaggc gttttgcgta ttgggagcca ggggtgtttt      2220
tcttttcacc agtgagacgg gcaacagctg attgcccttc accgcctggc cctgagagag      2280
ttgcagcaag cgggtccacgc tggttgccc cagcaggcga aaatcctgtt tgatggtggt      2340
cagcggcggg atataacatg agctgtcctc ggtatcgtcg tatcccacta ccgagatgct      2400
cgcaccaacg cgcagcccgg actcggtaat ggcacgcatt gcgccagcg ccacttgatc      2460
gttggcaacc agcatcgagc tgggaacgat gccctcattc agcatttgca tggtttggtg      2520
aaaaccggac atggcactcc agtcgccttc ccgttccgct atcggctgaa tttgattgcg      2580
agtgagatat ttatgccagc cagccagacg cagacgcgcc gagacagaac ttaatgggcc      2640
agctaacagc gcgatttgct ggtggcccaa tgcgaccaga tgctccacgc ccagtcgctg      2700
accgtcctca tgggagaaaa taatactgtt gatgggtgtc tggtcagaga catcaagaaa      2760
taacgccgga acattagtgc aggcagcttc cacagcaata gcatcctggt catccagcgg      2820
atagttaata atcagcccac tgacacgttg cgcgagaaga ttgtgcacc cgcctttaca      2880

```

[0626]

```

ggcttcgacg ccgcttcggt ctaccatcga cagcaccacg ctggcaccca gttgatcggc 2940
gcgagattta atcgccgcga caatttgcga cggcgcgtgc agggccagac tggaggtggc 3000
aacgccaatc agcaacgact gtttgcccgc cagttgttgt gccacgcggt taggaatgta 3060
attcagctcc gccatcgccg cttccacttt ttcccgcggt ttcgcagaaa cgtggctggc 3120
ctggttcacc acgcgggaaa cggctcgata agagacaccg gcatactctg cgacatcgta 3180
taacgttact ggtttcacat tcaccaccct gaattgactc tcttccgggc gctatcatgc 3240
cataccgcga aaggttttgc gccattcgat gctagccatg tgagcaaaag gccagcaaaa 3300
ggccaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgtttttc cataggctcc gccccctga 3360
cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca gagtgggcga aaccgcagag gactataaag 3420
ataccaggcg tttcccctg gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga ccctgccgct 3480
taccggatac ctgtccgcct ttctcccttc gggaagcgtg gcgctttctc atagctcacg 3540
ctgtaggtat ctcagttcgg ttaggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc 3600
ccccgttcag cccgaccgct gcgccttacc cggtaactat cgtcttgagt ccaaccggt 3660
aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcgaggta 3720
tgtaggcggg gctacagagt tctgaagtg gtggcctaac tacggctaca ctagaagaac 3780
agtatttggg atctgcgctc tgctgtagcc agttaccttc ggaaaaagag ttgtagctc 3840
ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cggtggtttt ttgtttgca agcagcagat 3900
tacgcgcaga aaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc 3960
tcagtggaac gaaaactcac gttaagggat ttgggtcaga tctagacca ggcgtttaag 4020
ggcaccaata actgccttaa aaaaattacc ccccgcctg ccactcatcg cagtactgtt 4080
gtaattcatt aagcattctg ccgacatgga agccatcaca aacggcatga tgaacctgaa 4140
tcgccagcgg catcagcacc ttgtcgcctt gcgtataata ttgcccata gtgaaaacgg 4200
ggcggaagaa gtgtccata ttggctacgt taaatcaaa actggtgaaa ctcaccagg 4260
gattggctga gacgaaaaac atattctcaa taaacccttt agggaaatag gccaggtttt 4320
caccgtaaca cgccacatct tgcaatata tegttagaaa ctgccgaaa tcgtcgtggt 4380
attcactcca gagcgtgaa aacgtttcag ttgtctcatg gaaaacggtg taacaagggt 4440
gaacactatc ccatatcacc agtcaccgt ctttcattgc catacggaac tccgggtgag 4500
cattcatcag gcgggcaaga atgtgaataa aggccggata aaacttgtgc ttatttttct 4560
ttacggtctt taaaaggcc gtaatatcca gctgaacggt ctggttatag gtacattgag 4620
caactgactg aaatgcctca aaatgttctt tacgatgcca ttgggatata tcaacggtgg 4680
tatatccagt gatttttttc tccattttag cttccttagc tcctgaaaat ctcgataact 4740
caaaaaatac gcccggtagt gatcttatt cattatggtg aaagtggaa cctcaccgga 4800
cgtctaattg gagtttagct actcattagg caccccaggc ttacacttt atgcttccgg 4860
ctcgtatggt gtgtggaatt gtgagcggat aacaatttca cacaggaaac agctatgacc 4920
atgattacga atttctagat aacgagggca aaaaatgaaa aagacagcta tcgcgattgc 4980
agtggcactg gctggtttcg ctaccgtagc gcaggccgat 5020

```

- <210> 256
- <211> 7
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物

<400> 256  
Ala Glu Phe Arg His Asp Cys  
1 5

- <210> 257
- <211> 7

[0627]

<212> PRT  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成构建物  
  
<400> 257  
Glu Phe Arg His Asp Ser Cys  
1 5

<210> 258  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 258  
Phe Arg His Asp Ser Gly Cys  
1 5

<210> 259  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 259  
Arg His Asp Ser Gly Tyr Cys  
1 5

<210> 260  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 260  
His Asp Ser Gly Tyr Glu Cys  
1 5

<210> 261  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0628]

<220>

<223> 合成构建物

<400> 261

Asp Ser Gly Tyr Glu Val Cys

1 5

<210> 262

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 262

Ser Gly Tyr Glu Val His Cys

1 5

<210> 263

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 263

Tyr Glu Val His His Gln Cys

1 5

<210> 264

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 264

Glu Val His His Gln Lys Cys

1 5

<210> 265

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

[0629]

<400> 265  
Val His His Gln Lys Leu Cys  
1 5

<210> 266  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 266  
His His Gln Lys Leu Val Cys  
1 5

<210> 267  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 267  
His Gln Lys Leu Val Phe Cys  
1 5

<210> 268  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 268  
Gln Lys Leu Val Phe Phe Cys  
1 5

<210> 269  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 269  
Lys Leu Val Phe Phe Ala Cys  
1 5

[0630]

- <210> 270  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物
- <400> 270  
Leu Val Phe Phe Ala Glu Cys  
1 5
- <210> 271  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物
- <400> 271  
Val Phe Phe Ala Glu Asp Cys  
1 5
- <210> 272  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物
- <400> 272  
Phe Phe Ala Glu Asp Val Cys  
1 5
- <210> 273  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物
- <400> 273  
Phe Ala Glu Asp Val Gly Cys  
1 5
- <210> 274  
<211> 7

[0631]

- <212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物
- <400> 274  
Ala Glu Asp Val Gly Ser Cys  
1 5
- <210> 275  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物
- <400> 275  
Glu Asp Val Gly Ser Asn Cys  
1 5
- <210> 276  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物
- <400> 276  
Asp Val Gly Ser Asn Lys Cys  
1 5
- <210> 277  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物
- <400> 277  
Val Gly Ser Asn Lys Gly Cys  
1 5
- <210> 278  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0632]

<220>

<223> 合成构建物

<400> 278

Gly Ser Asn Lys Gly Ala Cys  
1 5

<210> 279

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 279

Cys Ser Asn Lys Gly Ala Ile  
1 5

<210> 280

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 280

Cys Asn Lys Gly Ala Ile Ile  
1 5

<210> 281

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 281

Cys Lys Gly Ala Ile Ile Gly  
1 5

<210> 282

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

[0633]

<400> 282  
Cys Gly Leu Met Val Gly Gly  
1 5

<210> 283  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 283  
Cys Met Val Gly Gly Val Val  
1 5

<210> 284  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 284  
Cys Gly Gly Val Val Ile Ala  
1 5

<210> 285  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物;肽1 A  $\beta$

<400> 285  
Ala Glu Phe Arg His Asp  
1 5

<210> 286  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物;肽2 A  $\beta$

<400> 286  
Glu Phe Arg His Asp Ser Gly  
1 5

[0634]

- <210> 287  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物;肽3 A β
- <400> 287  
Glu Phe Arg His Asp  
1 5
- <210> 288  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物;肽4 A β
- <400> 288  
His Asp Ser Gly  
1
- <210> 289  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物;肽5 A β
- <400> 289  
His His Gln Lys Leu  
1 5
- <210> 290  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成构建物;肽6 A β
- <400> 290  
Leu Val Phe Phe Ala Glu  
1 5
- <210> 291  
<211> 6

[0635]

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物;肽7 A β

<400> 291

Val Phe Phe Ala Glu Asp

1 5

<210> 292

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物;肽8 A β

<400> 292

Val Phe Phe Ala

1

<210> 293

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物;肽9 A β

<400> 293

Phe Phe Ala Glu Asp Val

1 5

<210> 294

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 294

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc	60
gcggcctcgg gatttacctt tagcagctat gcatgagct gggcgcgcca agcccctggg	120
aagggtctcg agtgggtgag cgttatttct gagaagtctc gttttattta ttatgctgat	180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa	240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgctct tactcattat	300
gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca ccctggtgac ggtagctca	360

<210> 295

[0636]

<211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 295  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Val  
 35 40 45  
 Ile Ser Glu Lys Ser Arg Phe Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 85 90 95  
 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 296  
 <211> 360  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 296  
 caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gcggcctcgg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtagcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgctatttct gagacttcta ttcgtaagta ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct tactcattat 300  
 gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca ccctggtgac ggtagctca 360

<210> 297  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 297  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu

[0637]

1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 35 40 45  
 Ile Ser Glu Thr Ser Ile Arg Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 85 90 95  
 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

- <210> 298
- <211> 360
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物

<400> 298  
 caattgggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccggggc gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggggtgcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgttatttct cagactggtc gtaagattta ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct tactcattat 300  
 gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca ccctggtgac ggtagctca 360

- <210> 299
- <211> 120
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物

<400> 299  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Val  
 35 40 45  
 Ile Ser Gln Thr Gly Arg Lys Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80

[0638]

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
                                   85                                  90                                  95  
 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln  
                                   100                                  105                                  110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                                   115                                  120

- <210> 300
- <211> 360
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物

<400> 300  
 caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggggtgcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgttatttct cagactggtc gtaagattta ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct tactcattat 300  
 gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca ccctggtgac ggtagctca 360

- <210> 301
- <211> 120
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物

<400> 301  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1                                  5                                  10                                  15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
                                   20                                  25                                  30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Val  
                                   35                                  40                                  45  
 Ile Ser Gln Thr Gly Arg Lys Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
                                   50                                  55                                  60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65                                  70                                  75                                  80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
                                   85                                  90                                  95  
 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln  
                                   100                                  105                                  110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                                   115                                  120

- <210> 302
- <211> 360

[0639]

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 302

```

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60
gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggggtgcgcca agcccctggg      120
aagggtctcg agtgggtgag cgttatttct gagactggta agaatattta ttatgctgat      180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct tactcattat      300
gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca ccctggtgac ggttagctca      360

```

<210> 303

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 303

```

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
1           5           10           15
Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
20          25          30
Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Val
35          40          45
Ile Ser Glu Thr Gly Lys Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
50          55          60
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
65          70          75          80
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
85          90          95
Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100         105         110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115         120

```

<210> 304

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 304

```

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60
gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggggtgcgcca agcccctggg      120

```

[0640]

```

aagggtctcg agtgggtgag cggtatttct gagactggta agaatattta ttatgctgat 180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgctct tactcattat 300
gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca ccctggtgac ggtagctca 360

```

<210> 305  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 305  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1                   5                   10                   15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
                  20                   25                   30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Val  
           35                   40                   45  
 Ile Ser Glu Thr Gly Lys Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
           50                   55                   60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
           65                   70                   75                   80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
                   85                   90                   95  
 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln  
                  100                   105                   110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
           115                   120

<210> 306  
 <211> 360  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 306  
 caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggtgctgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgctatttct gactctggta agactaagta ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgctct tactcattat 300  
 gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca ccctggtgac ggtagctca 360

<210> 307  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0641]

<220>

<223> 合成构建物

<400> 307

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 35 40 45  
 Ile Ser Glu Ser Gly Lys Thr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 85 90 95  
 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 308

<211> 372

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 308

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtgcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat ggtactggta tgaagaagta ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgctgg taagggtaat 300  
 actcataagc cttatgggta tgttcgttat ttgatgttt ggggccaagg caccctggtg 360  
 acggttagct ca 372

<210> 309

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 309

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met

[0642]

20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 35 40 45  
 Ile Asn Gly Thr Gly Met Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 85 90 95  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
 100 105 110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 310  
 <211> 372  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 310  
 caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggcgcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgtattaat tataatggtg ctctgattta ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat 300  
 actcataagc cttatgggta tgttcggtat ttgatgttt gggccaagg caccctggtg 360  
 acggttagct ca 372

<210> 311  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 311  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 35 40 45  
 Ile Asn Tyr Asn Gly Ala Arg Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

[0643]

85 90 95  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
 100 105 110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

- <210> 312
- <211> 372
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物

<400> 312  
 caattggtgg aaagcggcgg cggcctgggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggatgcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat gctgatggta atcgtaagta ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacacctt gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat 300  
 actcataagc cttatggtta tgttcgttat ttgatgttt ggggccaagg caccctgggtg 360  
 acggttagct ca 372

- <210> 313
- <211> 124
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物

<400> 313  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 35 40 45  
 Ile Asn Ala Asp Gly Asn Arg Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 85 90 95  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
 100 105 110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

- <210> 314
- <211> 372
- [0644]

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 314

```

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60
gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggggtgcgcca agcccctggg      120
aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat gctgatggta atcgtaagta ttatgctgat      180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat      300
actcataagc cttatggtta tgttcgttat tttgatgttt ggggcccaagg caccctggtg      360
acggtagct ca                                                                372

```

<210> 315

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 315

```

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
1           5           10           15
Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
          20           25           30
Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
          35           40           45
Ile Asn Ala Asp Gly Asn Arg Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
          50           55           60
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
65           70           75           80
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
          85           90           95
Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
          100          105          110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120

```

<210> 316

<211> 372

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 316

```

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60

```

[0645]

gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggggcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat gctaattggtt ataagaagta ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat 300  
 actcataagc cttatgggta tgttcgttat tttgatgttt ggggccaagg caccctgggtg 360  
 acggttagct ca 372

<210> 317  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 317  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 35 40 45  
 Ile Asn Ala Asn Gly Tyr Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 85 90 95  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
 100 105 110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 318  
 <211> 372  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 318  
 caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggggcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat gctaattggtt ataagaagta ttatgctgat 180  
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat 300  
 actcataagc cttatgggta tgttcgttat tttgatgttt ggggccaagg caccctgggtg 360  
 acggttagct ca 372

<210> 319

[0646]

<211> 124  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 319  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1                   5                   10                   15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
                  20                   25                   30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
                  35                   40                   45  
 Ile Asn Ala Asn Gly Tyr Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
                  50                   55                   60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65                   70                   75                   80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
                  85                   90                   95  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
                  100                   105                   110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                  115                   120

<210> 320  
 <211> 372  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 320  
 caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60  
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggggtgcgcca agcccctggg 120  
 aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat gctaattggtt ataagaagta ttatgctgat 180  
 tctgittaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacacct gtatctgcaa 240  
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat 300  
 actcataagc cttatgggta tgttcggtat tttgatgttt ggggccaagg caccctggtg 360  
 acggtagct ca 372

<210> 321  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 321

[0647]

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 35 40 45  
 Ile Asn Ala Asn Gly Tyr Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 85 90 95  
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
 100 105 110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 322

<211> 366

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 322

```
caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccggcgg gcagcctgcg tctgagctgc 60
gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcatgagct ggtgcgcca agcccctggg 120
aagggtctcg agtgggtgag cgctatttct cgttctggtt ctaatattta ttatgctgat 180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct tctttctcgt 300
ggttataatg gttattatca taagtttgat gtttggggcc aaggcaccct ggtgacggtt 360
agctca 366
```

<210> 323

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 323

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met  
 20 25 30  
 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 35 40 45  
 Ile Ser Arg Ser Gly Ser Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 50 55 60

[0648]

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 85 90 95  
 Leu Leu Ser Arg Gly Tyr Asn Gly Tyr Tyr His Lys Phe Asp Val Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

- <210> 324
- <211> 330
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物

<400> 324  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagccg gctattcat gtttattatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtaag caccgcgtct attaatat ggcgcgagca gccgtgcaac tggggctccc 180  
 gcgcgtttta gggctctgg atccggcagc gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcgacta ttattgccag cagacttatg attatcctcc taccttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

- <210> 325
- <211> 110
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成构建物

<400> 325  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Arg Ile His Val Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro  
 85 90 95  
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

- <210> 326
- <211> 330

[0649]

<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 326  
gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgcgacc 60  
ctgagctgca gagcgagccg gcgtattcat gtttattatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
ccaggtcaag caccgcgtct attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tgggggtcccg 180  
gcgcgtttta gcggctctgg atccggcacg gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240  
cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagacttatg attatcctcc tacctttggc 300  
caggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 327  
<211> 110  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 327  
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15  
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Arg Ile His Val Tyr  
20 25 30  
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
35 40 45  
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
50 55 60  
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
65 70 75 80  
Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro  
85 90 95  
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105 110

<210> 328  
<211> 330  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 328  
gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgcgacc 60  
ctgagctgca gagcgagcca gcgtcttggc cgtctttatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
ccaggtcaag caccgcgtct attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tgggggtcccg 180  
gcgcgtttta gcggctctgg atccggcacg gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240

[0650]

cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagacttatg attatcctcc tacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 329  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 329  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Leu Gly Arg Leu  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro  
 85 90 95  
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

<210> 330  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 330  
 gatatcgtgc tgacccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagccg gcgtattcat gtttattatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtcaag caccgcgtct attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tggggteccg 180  
 gcgcgtttta gcggctctgg atccggcacg gattttaccg tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagacttatg attatcctcc tacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 331  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

[0651]

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

<210> 332  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 332  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgagacc 60  
 ctgagctgca gagcgagccg gcgtattcat gtttattatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtaaac caccgcgtct attaatttat ggcgagagca gccgtgcaac tgggggtcccg 180  
 ggcggtttta ggcgctctgg atccggcacc gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcactta ttattgccag cagacttatg attatcctcc tacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 333  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 333  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Arg Ile His Val Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80

[0652]

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro  
                           85                          90                          95  
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
                           100                          105                          110

<210> 334  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 334  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gcgtcttggc cgtctttatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtaag caccgcgtct attaatattat ggcgcgagca gccgtgcaac tggggtcccg 180  
 gcgcgtttta gcggtcttgg atccggcacg gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagacttatg attatcctcc tacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 335  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 335  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1                          5                          10                          15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Leu Gly Arg Leu  
                           20                          25                          30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
                           35                          40                          45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
                           50                          55                          60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65                          70                          75                          80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro  
                           85                          90                          95  
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
                           100                          105                          110

<210> 336  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>

[0653]

<223> 合成构建物

<400> 336

```

gatatacgtgc tgaccacagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgagacc      60
ctgagctgca gagcgagcca gtttattcag cgtttttatc tggcgtggta ccagcagaaa      120
ccaggtcaag caccgcgtct attaatattat ggcgcgagca gccgtgcaac tgggggcccg      180
gcgcgtttta gcggctctgg atccggcacg gattttaccg tgaccattag cagcctggaa      240
cctgaagact ttgcgcttta ttattgccag cagacttata attatcctcc tacctttggc      300
caggttacga aagttgaaat taaacgtacg                                     330

```

<210> 337

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 337

```

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

```

<210> 338

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 338

```

gatatacgtgc tgaccacagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgagacc      60
ctgagctgca gagcgagcca gtatgttgat cgtacttate tggcgtggta ccagcagaaa      120
ccaggtcaag caccgcgtct attaatattat ggcgcgagca gccgtgcaac tgggggcccg      180
gcgcgtttta gcggctctgg atccggcacg gattttaccg tgaccattag cagcctggaa      240
cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagatttatt cttttcctca tacctttggc      300
caggttacga aagttgaaat taaacgtacg                                     330

```

<210> 339

[0654]

<211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 339  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1                                   5                                   10                                   15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Asp Arg Thr  
                                   20                                   25                                   30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
                                   35                                   40                                   45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
                                   50                                   55                                   60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65                                   70                                   75                                   80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro  
                                   85                                   90                                   95  
 His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
                                   100                                   105                                   110

<210> 340  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 340  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgcgacc       60  
 ctgagctgca gacgagcca gcgtttttt tataagtatc tggcgtggta ccagcagaaa       120  
 ccaggtcaag caccgctctc attaatttct ggttcttcta accgtgcaac tgggggtcccg       180  
 ggcggtttta gcggtctctg atccggcacg gattttacc tgaccattag cagcctggaa       240  
 cctgaagact ttgcggttta ttattgcctt cagctttata atattcctaa tacctttggc       300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg   330

<210> 341  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 341  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1                                   5                                   10                                   15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Phe Phe Tyr Lys

[0655]

20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Ser Gly Ser Ser Asn Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro  
 85 90 95  
 Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

<210> 342  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 342  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gtatgtgat cgtacttacc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtaaac caccgctctc attaatattt ggcgcgagca gccgtgcaac tgggggtccc 180  
 gcgcgtttta gcggctctgg atccggcacc gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagatttatt cttttcctca tacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacc 330

<210> 343  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 343  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Asp Arg Thr  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro  
 85 90 95  
 His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

[0656]

<210> 344  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 344  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgagacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gtatgtttt cgtcgttatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtcaag caccgctctc attaatttct ggtcttctc accgtgcaac tggggtcccg 180  
 ggcggtttta gcggtctgg atccggcag gatattacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcggttta ttattgcctt cagctttata atattcctaa tacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 345  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 345  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Phe Arg Arg  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Ser Gly Ser Ser Asn Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro  
 85 90 95  
 Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

<210> 346  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 346  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgagacc 60

[0657]

```

ctgagctgca gagcgagcca gtatgtgat cgtacttate tggcgtggta ccagcagaaa 120
ccaggtaag caccgcgtct attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tgggtcccg 180
gcgcgtttta gcggtcttgg atccggcacg gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240
cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagatttatt cttttctca tacctttggc 300
caggttacga aagttgaaat taaacgtacg 330

```

<210> 347  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 347  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Asp Arg Thr  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro  
 85 90 95  
 His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

<210> 348  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 348  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggoga acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gogtctttct cctcgttate tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtaag caccgcgtct attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tgggtcccg 180  
 gcgcgtttta gcggtcttgg atccggcacg gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcgactta ttattgcctt cagatttata atatgcctat tacctttggc 300  
 caggttacga aagttgaaat taaacgtacg 330

<210> 349  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0658]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建物

&lt;400&gt; 349

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

&lt;210&gt; 350

&lt;211&gt; 330

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建物

&lt;400&gt; 350

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgagacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gtagtgtttt cgtcgttatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtcaag caccgcgtct ataatttct ggttcttcta accgtgcaac tggggtcccc 180  
 gcgcgtttta gggctctgg atccggcacg gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcggitta ttattgcctt cagctttata atattcctaa tacctttggc 300  
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

&lt;210&gt; 351

&lt;211&gt; 110

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建物

&lt;400&gt; 351

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Phe Arg Arg  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Ser Gly Ser Ser Asn Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser

[0659]

50		55		60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu				
65		70		80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro				
	85		90	95
Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr				
	100		105	110

<210> 352  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 352  
 gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgcgacc 60  
 ctgagctgca gagcgagcca gcgtgtttct ggtcgttatc tggcgtggta ccagcagaaa 120  
 ccaggtaag caccgcgtct attaatttat ggcgagca gccgtgcaac tggggtcccg 180  
 gcgctttta gggctctgg atccggcacg gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240  
 cctgaagact ttgcactta ttattgccag cagctttctt cttatcctcc tacctttggc 300  
 cagggtacga aagtgaaat taaacgtacg 330

<210> 353  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 353  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Gly Arg  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Ser Ser Tyr Pro  
 85 90 95  
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105 110

<210> 354  
 <211> 39  
 <212> DNA

[0660]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 354

cttactcatt atgctcgta ttatcgttat tttgatgtt

39

<210> 355

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 355

Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val

1                    5                    10

<210> 356

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 356

cttactcatt atgctcgta ttatcgttat tttgatgtt

39

<210> 357

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 357

Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val

1                    5                    10

<210> 358

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

[0661]

<400> 358  
cttactcatt atgctcgta ttatcgttat tttgatgtt 39

<210> 359  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 359  
Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val  
1 5 10

<210> 360  
<211> 39  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 360  
cttactcatt atgctcgta ttatcgttat tttgatgtt 39

<210> 361  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 361  
Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val  
1 5 10

<210> 362  
<211> 39  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 362  
cttactcatt atgctcgta ttatcgttat tttgatgtt 39

<210> 363  
<211> 13

[0662]

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 363

Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val  
1                   5                   10

<210> 364

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 364

cttactcatt atgctcgta ttatcgttat tttgatggt

39

<210> 365

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 365

Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val  
1                   5                   10

<210> 366

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 366

cttactcatt atgctcgta ttatcgttat tttgatggt

39

<210> 367

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

[0663]



Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
1 5 10 15  
Val

<210> 372  
<211> 51  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 372  
ggtaagggtataactcataa gccttatggt tatgttcggt attttgatgt t 51

<210> 373  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 373  
Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
1 5 10 15  
Val

<210> 374  
<211> 51  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 374  
ggtaagggtataactcataa gccttatggt tatgttcggt attttgatgt t 51

<210> 375  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 375  
Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp

[0665]

1	5	10	15	
Val				
<210>	376			
<211>	51			
<212>	DNA			
<213>	人工序列			
<220>				
<223>	合成构建物			
<400>	376			
	ggtaagggtatactcataa	gccttatggt	tatgttcggt	atdddgatgt t
				51
<210>	377			
<211>	17			
<212>	PRT			
<213>	人工序列			
<220>				
<223>	合成构建物			
<400>	377			
	Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp			
	1	5	10	15
	Val			
<210>	378			
<211>	51			
<212>	DNA			
<213>	人工序列			
<220>				
<223>	合成构建物			
<400>	378			
	ggtaagggtatactcataa	gccttatggt	tatgttcggt	atdddgatgt t
				51
<210>	379			
<211>	17			
<212>	PRT			
<213>	人工序列			
<220>				
<223>	合成构建物			
<400>	379			
	Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp			
	1	5	10	15

[0666]

Val

&lt;210&gt; 380

&lt;211&gt; 51

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建物

&lt;400&gt; 380

ggtaagggta atactcataa gccttatggt tatgttcggt attttgatg t

51

&lt;210&gt; 381

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建物

&lt;400&gt; 381

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp  
1                    5                    10                    15

Val

&lt;210&gt; 382

&lt;211&gt; 45

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建物

&lt;400&gt; 382

cttctttctc gtggttataa tggttattat cataagtttg atggt

45

&lt;210&gt; 383

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建物

&lt;400&gt; 383

Leu Leu Ser Arg Gly Tyr Asn Gly Tyr Tyr His Lys Phe Asp Val  
1                    5                    10                    15

[0667]

- <210> 384  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物
- <400> 384  
 cagcagactt atgattatcc tcct 24
- <210> 385  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物
- <400> 385  
 Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro Pro  
 1 5
- <210> 386  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物
- <400> 386  
 cagcagactt atgattatcc tcct 24
- <210> 387  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成构建物
- <400> 387  
 Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro Pro  
 1 5
- <210> 388  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

[0668]

<220>

<223> 合成构建物

<400> 388

cagcagactt atgattatcc tcct

24

<210> 389

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 389

Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro Pro

1 5

<210> 390

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 390

cagcagactt atgattatcc tcct

24

<210> 391

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 391

Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro Pro

1 5

<210> 392

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 392

cagcagactt atgattatcc tcct

24

[0669]

<210> 393  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物  
  
 <400> 393  
 Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro Pro  
 1                   5

<210> 394  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 394  
 cagcagactt atgattatcc tcct

24

<210> 395  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 395  
 Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro Pro  
 1                   5

<210> 396  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成构建物

<400> 396  
 cagcagactt ataattatcc tcct

24

<210> 397  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0670]

<220>

<223> 合成构建物

<400> 397

Gln Gln Thr Tyr Asn Tyr Pro Pro  
1 5

<210> 398

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 398

cagcagattt attcttttcc tcat

24

<210> 399

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 399

Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro His  
1 5

<210> 400

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 400

cttcagcttt ataatttcc taat

24

<210> 401

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 401

[0671]

Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn  
1 5

<210> 402

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 402

cagcagattt attcttttcc tcat

24

<210> 403

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 403

Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro His

1 5

<210> 404

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 404

cttcagcttt ataatatcc taat

24

<210> 405

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 405

Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn

1 5

<210> 406

<211> 24

[0672]

<212> DNA  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物  
  
 <400> 406  
 cagcagattt attcttttcc tcat 24  
  
 <210> 407  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物  
  
 <400> 407  
 Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro His  
 1 5  
  
 <210> 408  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物  
  
 <400> 408  
 cagcagattt attcttttcc tcat 24  
  
 <210> 409  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物  
  
 <400> 409  
 Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro Ile  
 1 5  
  
 <210> 410  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成构建物

[0673]

<400> 410  
cttcagcttt ataatatcc taat 24

<210> 411  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 411  
Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn  
1 5

<210> 412  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 412  
cagcagcttt cttcttatcc tctt 24

<210> 413  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 413  
Gln Gln Leu Ser Ser Tyr Pro Pro  
1 5

<210> 414  
<211> 52  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成构建物

<400> 414  
Ile Ser Glu Val Lys Met Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr  
1 5 10 15  
Glu Val His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser

[0674]

---

                  20  25  30  
Asn Lys Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala  
                  35  40  45  
Thr Val Ile Val  
                  50

HuCAL-Fab1文库的序列概要

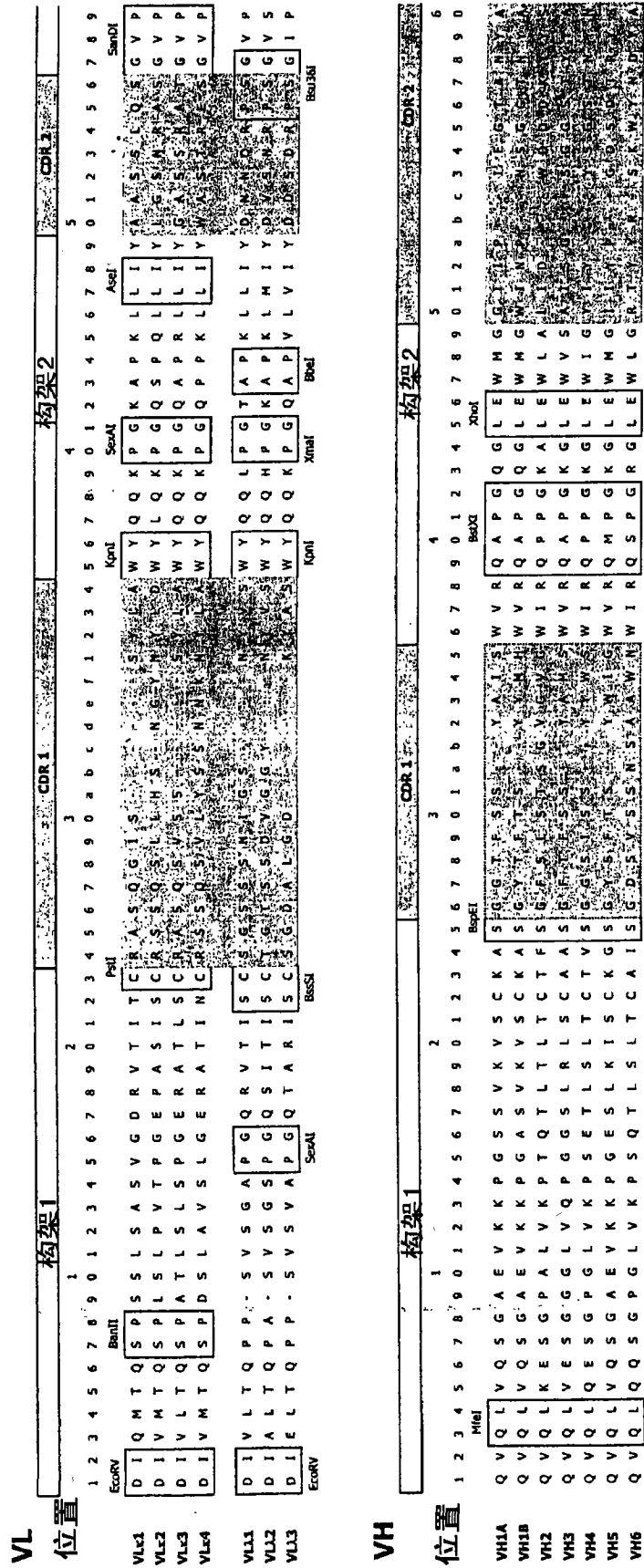


图 1a

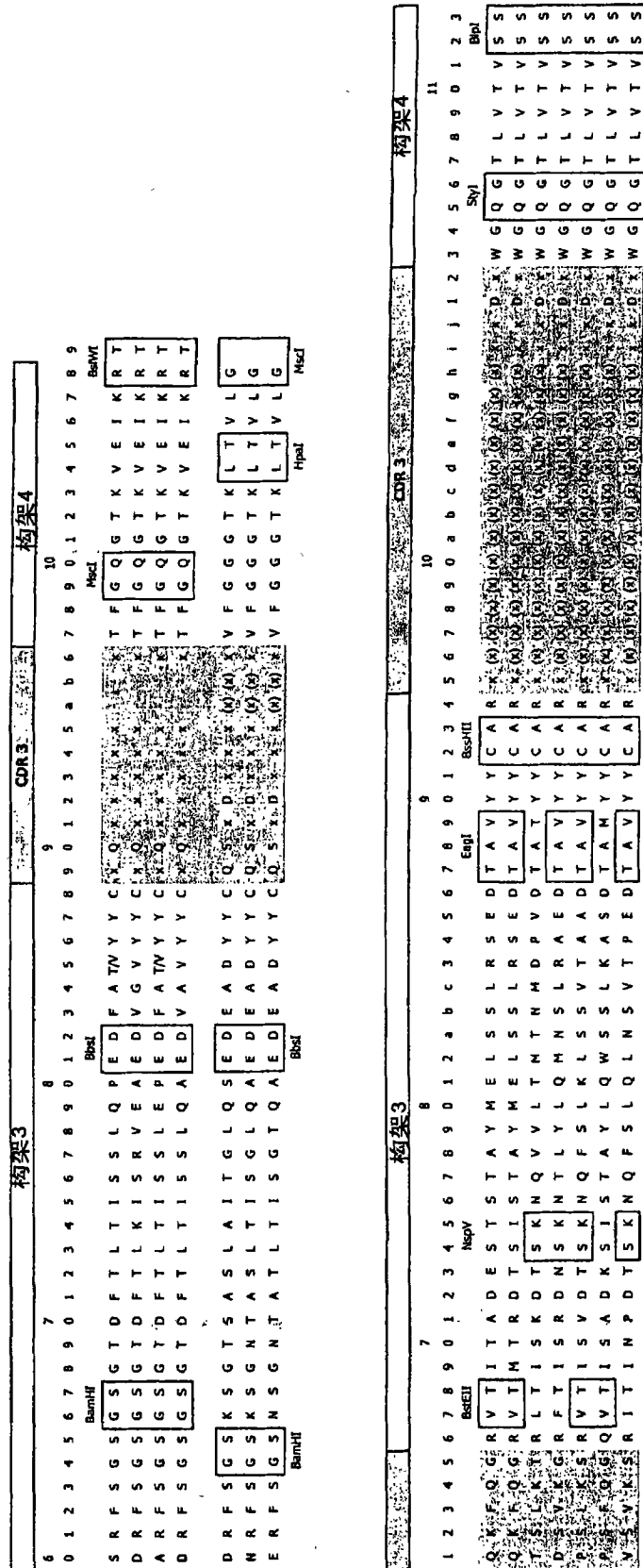


图 1a 续



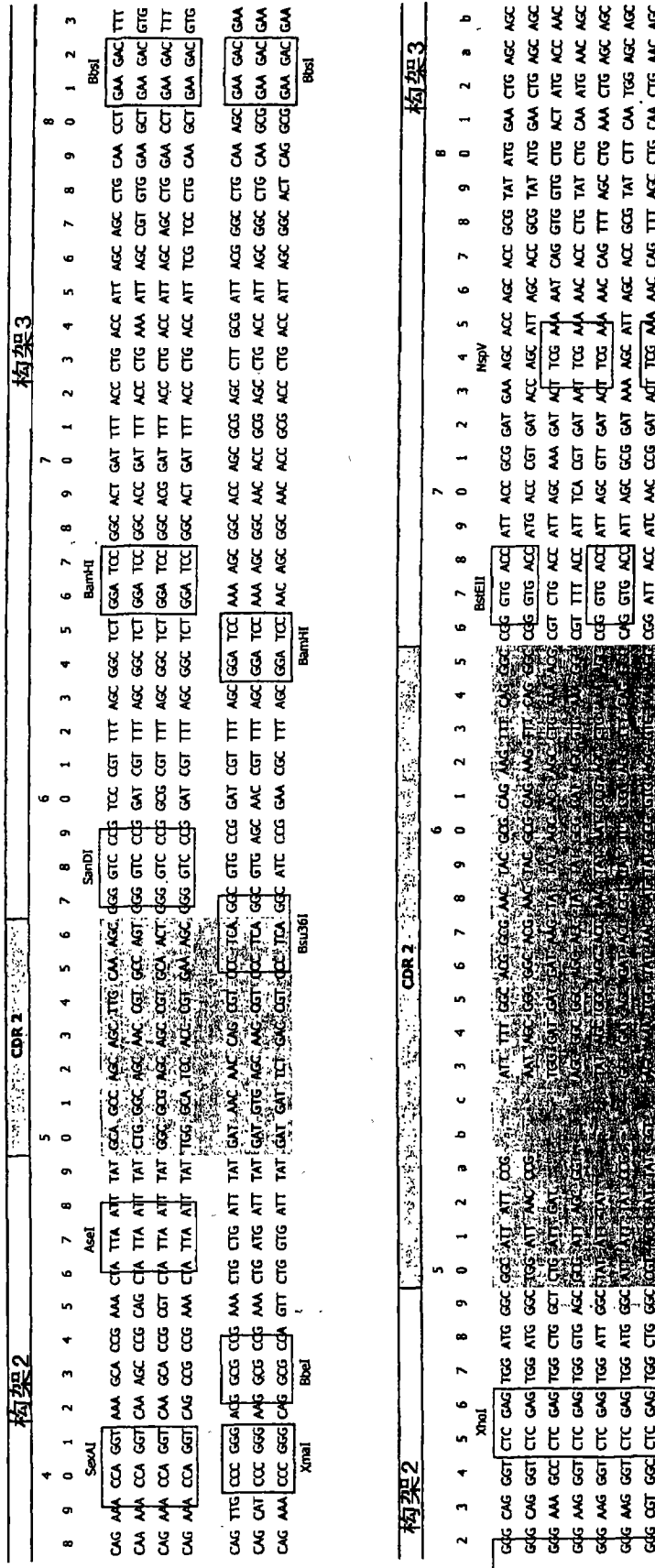


图 1b 续

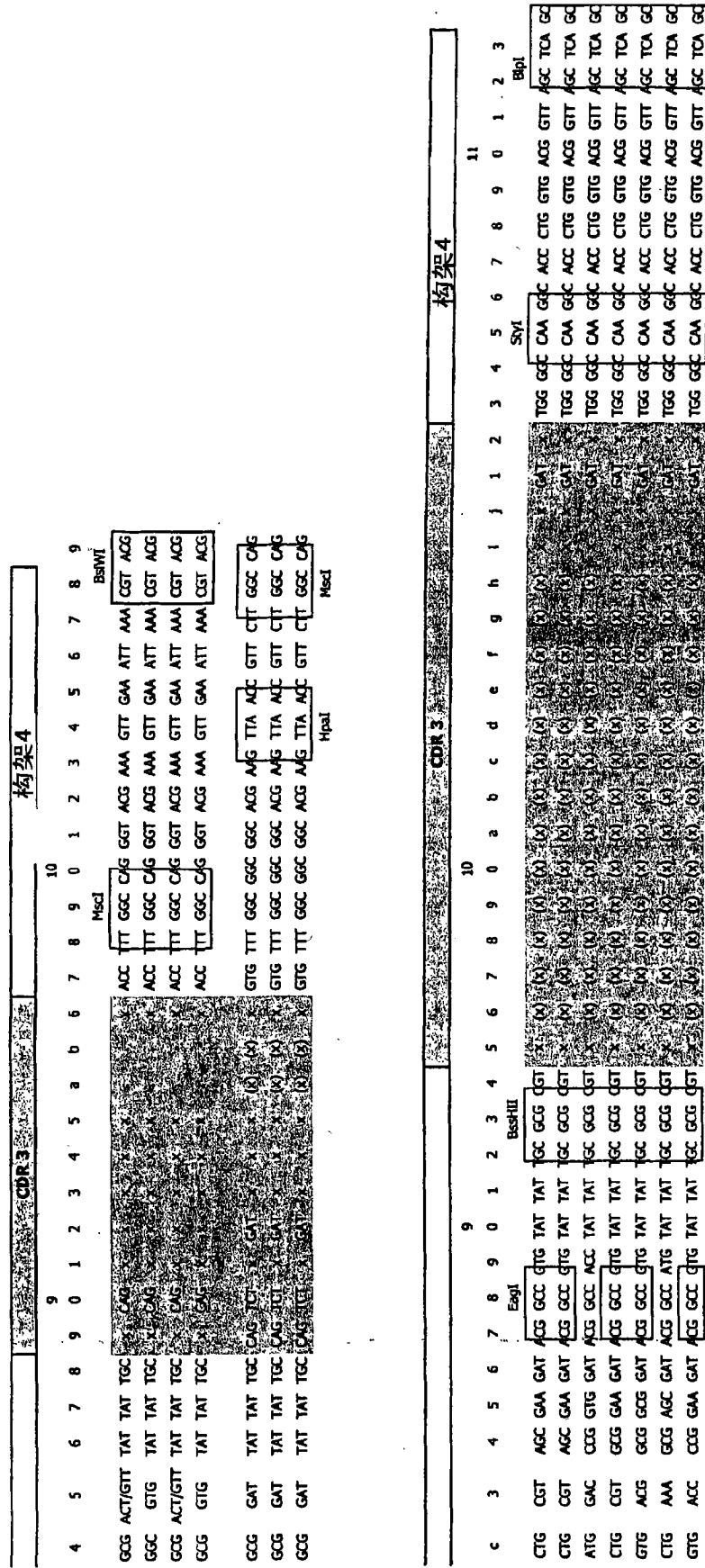
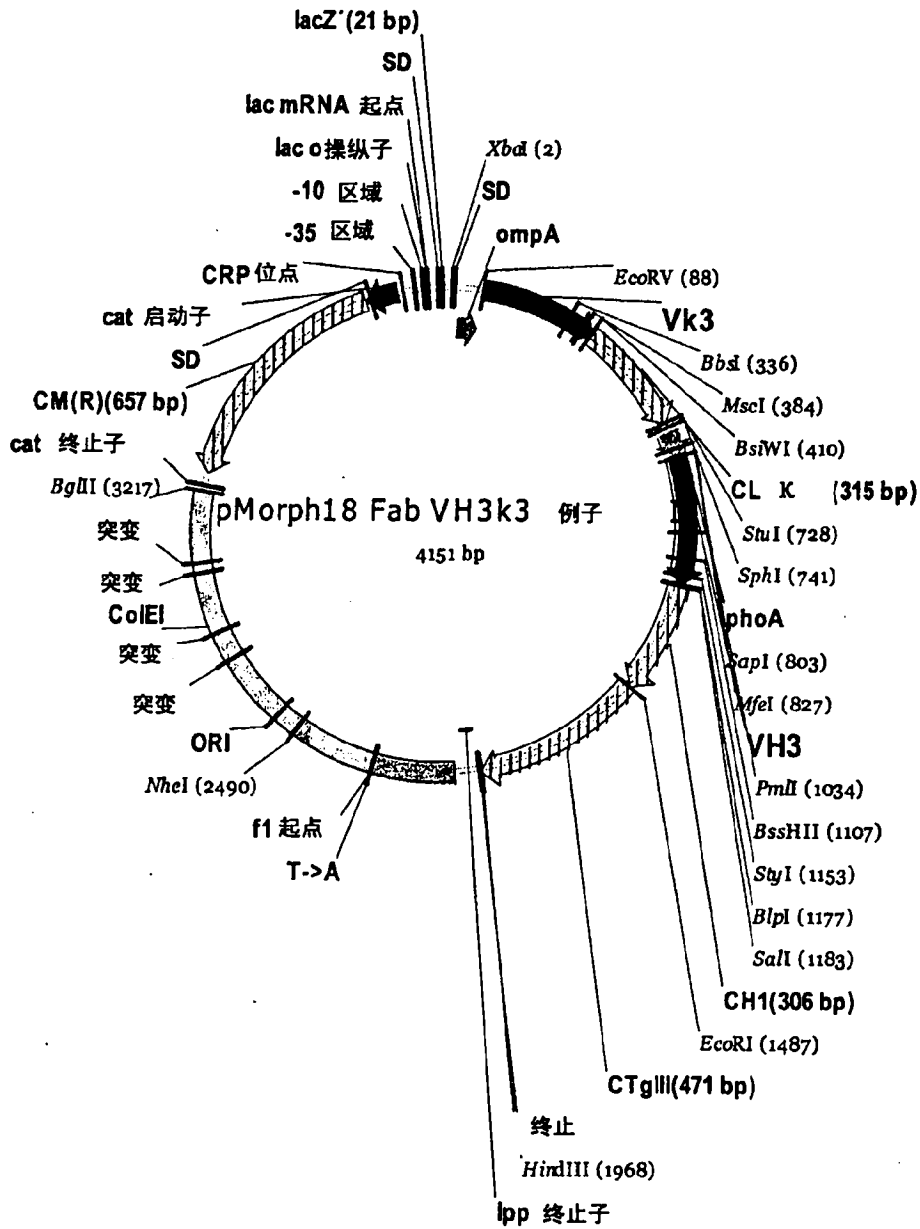


图 1b 续



lacZ' SD ompA

-----

XbaI

-----

M K K T A I A I A V ·

1 TCTAGATAAC GAGGGCAAAA AATGAAAAAG ACAGCTATCG CGATTGCAGT

AGATCTATTG CTCCCGTTTT TTACTTTTTT TGTCGATAGC GCTAACGTCA

Vk3

-----

ompA

-----

EcoRV

-----

· A L A G F A T V A Q A D I V L T Q ·

51 GGCACTGGCT GGTTCGCTA CCGTAGCGCA GGCCGATATC GTGCTGACCC

图 2

CCGTGACCGA CCAAAGCGAT GGCATCGCGT CCGGCTATAG CACGACTGGG  
 Vk3

-----

101 · S P A T L S L S P G E R A T L S  
 AGAGCCC GGC GACCCTGAGC CTGTCTCCGG GCGAACGTGC GACCCTGAGC  
 TCTCGGGCCG CTGGGACTCG GACAGAGGCC CGCTTGCACG CTGGGACTCG  
 Vk3

-----

151 C R A S Q S V S S S Y L A W Y Q Q  
 TGCAGAGCGA GCCAGAGCGT GAGCAGCAGC TATCTGGCGT GGTACCAGCA  
 ACGTCTCGCT CGGTCTCGCA CTCGTCTCG ATAGACCGCA CCATGGTCTG  
 Vk3

-----

201 · K P G Q A P R L L I Y G A S S R A  
 GAAACCAGGT CAAGCACCGC GTCTATTAAT TTATGGCGCG AGCAGCCGTG  
 CTTTGGTCCA GTTCGTGGCG CAGATAATTA AATACCGCGC TCGTCGGCAC  
 Vk3

-----

251 · T G V P A R F S G S G S G T D F  
 CAACTGGGGT CCCGGCGCGT TTTAGCGGCT CTGGATCCGG CACGGATTTT  
 GTTGACCCCA GGGCCGCGCA AAATCGCCGA GACCTAGGCC GTGCCTAAAA  
 Vk3

-----

BbsI

-----

301 T L T I S S L E P E D F A V Y Y C  
 ACCCTGACCA TTAGCAGCCT GGAACCTGAA GACTTTGCGG TGTATTATTG  
 TGGGACTGGT AATCGTCCGA CCTTGGACTT CTGAAACGCC ACATAATAAC  
 Vk3

-----

MscI

-----

351 · Q Q H Y T T P P T F G Q G T K V E  
 CCAGCAGCAT TATACCACCC CGCCGACCTT TGGCCAGGGT ACGAAAGTTG  
 GGTCTCGTA ATATGGTGGG GCGGCTGGAA ACCGGTCCCA TGCTTTCAAC  
 CL K

-----

Vk3

-----

BsiWI

-----

401 · I K R T V A A P S V F I F P P S  
 AAATTAACG TACGGTGGCT GCTCCGAGCG TGTTTATTTT TCCGCCGAGC  
 TTTAATTTGC ATGCCACCGA CGAGGCTCGC ACAAATAAAA AGGCGGCTCG  
 CL K

-----

451 D E Q L K S G T A S V V C L L N N  
 GATGAACAAC TGAAAAGCGG CACGGCGAGC GTGGTGTGCC TGCTGAACAA  
 CTACTTGTG ACTTTTCGCC GTGCCGCTCG CACCACACGG ACGACTTGT  
 CL K

-----

501 · F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q  
 CTTTTATCCG CGTGAAGCGA AAGTTCAGTG GAAAGTAGAC AACCGGCTGC  
 GAAAATAGGC GCACTTCGCT TTCAAGTCAC CTTTCATCTG TTGCGCGACG  
 CL K

-----

551 · S G N S Q E S V T E Q D S K D S  
 AAAGCGGCAA CAGCCAGGAA AGCGTGACCG AACAGGATAG CAAAGATAGC  
 TTTCCCGTT GTCGGTCCTT TCGCACTGGC TTGTCTATC GTTTCATCG  
 CL K

-----

图 2 续

```

        T Y S L S S T L T L S K A D Y E K
601 ACCTATTCTC TGAGCAGCAC CCTGACCCTG AGCAAAGCGG ATTATGAAAA
    TGGATAAGAG ACTCGTCGTG GGACTGGGAC TCGTTTCGCC TAATACTTTT
        CL K
-----
        H K V Y A C E V T H Q G L S S P V
651 ACATAAAGTG TATGCGTGGC AAGTGACCCA TCAAGGTCTG AGCAGCCCGG
    TGTATTTTAC ATACGCACGC TTCACTGGGT AGTTCAGAC TCGTCGGGCC
        CL k
-----
                                StuI      SphI
                                -----
        T K S F N R G E A
701 TGACTAAATC TTTAATCGT GGCAGGCCT GATAAGCATG CGTAGGAGAA
    ACTGATTTAG AAAATTAGCA CCGCTCCGGA CTATTCTGAC GCATCCTCTT
        phoA
-----
                                SspI
                                -----
        M K Q S T I A L A L L P L L F
751 AATAAAATGA AACAAAGCAC TATTGCACTG GCACTCTTAC CGTTGCTCTT
    TTATTTTACT TTGTTTCGTG ATAACGTGAC CGTGAGAATG GCAACCAGAA
        VH3
-----
        phoA
-----
SapI                                MfeI
-----
        T P V T K A Q V Q L V E S G G G L
801 CACCCCTGTT ACCAAAGCCG AAGTGCAATT GGTGAAAGC GCGCGCGGCC
    GTGGGGACAA TGGTTTCGGC TTCACGTTAA CCACCTTTCG CCGCCGCGG
        VH3
-----
        V Q P G G S L R L S C A A S G F
851 TGGTGCAACC GGGCGGCAGC CTGCGTCTGA GCTGCGCGGC CTCCGATTT
    ACCACGTTGG CCCGCCGTCG GACGCAGACT CGACGCGCCG GAGGCCTAAA
        VH3
-----
        T F S S Y A M S W V R Q A P G K G
901 ACCTTTAGCA GCTATGCGAT GAGCTGGGTG CGCCAAGCCC CTGGGAAGGG
    TGGAAATCGT CGATACGCTA CTCGACCCAC GCGGTTCGGG GACCCTTCCC
        VH3
-----
        L E W V S A I S G S G G S T Y Y A
951 TCTCGAGTGG GTGAGCGCGA TTAGCGGTAG CCGCGGCAGC ACCTATTATG
    AGAGCTCACC CACTCGCGCT AATCGCCATC GCCGCCGTCG TGGATAATAC
        VH3
-----
                                PmlI
                                -----
        D S V K G R F T I S R D N S K N
1001 CGGATAGCGT GAAAGCCGT TTTACCATTT CACGTGATAA TTCGAAAAAC
    GCCTATCGCA CTTTCCGGCA AAATGGTAAA GTGCACTATT AAGCTTTTTG
        VH3
-----
        T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y
1051 ACCCTGTATC TGCAAATGAA CAGCCTGCGT GCGGAAGATA CGGCCGTGTA
    TGGGACATAG ACGTTTACTT GTCGGACGCA CGCCTTCTAT GCCGGCACAT
        VH3
-----
        BssHII

```

图 2 续

```

-----
· Y C A R W G G D G F Y A M D Y W G ·
1101 TTATTGCGCG CGTTGGGGCG GCGATGGCTT TTATGCGATG GATTATTGGG
AATAACGCGC GCAACCCCGC CGCTACCGAA AATACGCTAC CTAATAACCC
CH1
-----
VH3
-----
SalI
-----
StyI BlnI
-----
· Q G T L V T V S S A S T K G P S
1151 GCCAAGGCAC CCTGGTGACG GTTAGCTCAG CGTCGACCAA AGGTCCAAGC
CGGTTCCGTG GGACCACTGC CAATCGAGTC GCAGCTGGTT TCCAGGTTCC
CH1
-----
V F P L A P S S K S T S G G T A A
1201 GTGTTTCCGC TGGCTCCGAG CAGCAAAAGC ACCAGCGGCG GCACGGCTGC
CACAAAGGCG ACCGAGGCTC GTCGTTTTTC TGGTCGCCCG CGTGCCGACG
CH1
-----
· L G C L V K D Y F P E P V T V S W ·
1251 CCTGGGCTGC CTGGTTAAAG ATTATTTCCC GGAACCAGTC ACCGTGAGCT
GGACCCGACG GACCAATTC TAATAAAGGG CCTTGGTCAG TGGCACTCGA
CH1
-----
· N S G A L T S G V H T F P A V L
1301 GGAACAGCGG GGCGCTGACC AGCGGCGTGC ATACCTTTCC GGCGGTGCTG
CCTTGTCGCC CCGCGACTGG TCGCCGCACG TATGGAAAGG CCGCCACGAC
CH1
-----
Q S S G L Y S L S S V V T V P S S ·
1351 CAAAGCAGCG GCCTGTATAG CCTGAGCAGC GTTGTGACCG TGCCGAGCAG
GTTTCGTGCG CGGACATATC GGACTCGTCG CAACACTGGC ACGGCTCGTC
CH1
-----
· S L G T Q T Y I C N V N H K P S N ·
1401 CAGCTTAGGC ACTCAGACCT ATATTTGCAA CGTGAACCAT AAACCGAGCA
GTCGAATCCG TGAGTCTGGA TATAACGTT GCACTTGGTA TTTGGCTCGT
CH1 CTgIII
-----
EcoRI
-----
· T K V D K K V E P K S E F G G G
1451 ACACCAAAGT GGATAAAAAA GTGGAACCGA AAAGCGAATT CGGGGGAGGG
TGTGGTTTCA CCTATTTTTT CACCTTGGCT TTTCGCTTAA GCCCCTCCC
CTgIII
-----
S G S G D F D Y E K M A N A N K G ·
1501 AGCGGGAGCG GTGATTTTGA TTATGAAAAG ATGGCAAACG CTAATAAGGG
TCGCCCTCGC CACTAAAAC AATACTTTTC TACCGTTTGC GATTATCCC
CTgIII
-----
· A M T E N A D E N A L Q S D A K G ·
1551 GGCTATGACC GAAAATGCCG ATGAAAACGC GCTACAGTCT GACGCTAAAG
CCGATACTGG CTTTTACGGC TACTTTTGGC CGATGTCAGA CTGCGATTTC
CTgIII
-----
· K L D S V A T D Y G A A I D G F
1601 GCAAACCTGA TTCTGTCGCT ACTGATTACG GTGCTGCTAT CGATGGTTTC

```

图 2 续

```

CGTTTGA ACT AAGACAGCGA TGACTAATGC CACGACGATA GCTACCAAAG
CTgIII
-----
I G D V S G L A N G N G A T G D F
1651 ATTGGTGACG TTTCCGGCCT TGCTAATGGT AATGGTGCTA CTGGTGATTT
TAACCACTGC AAAGGCCGGA ACGATTACCA TTACCACGAT GACCACTAAA
CTgIII
-----
A G S N S Q M A Q V G D G D N S P
1701 TGCTGGCTCT AATTCCTCAA TGGCTCAAGT CGGTGACGGT GATAATTCAC
ACGACCGAGA TTAAGGGTTT ACCGAGTTCA GCCACTGCCA CTATTAAGTG
CTgIII
-----
L M N N F R Q Y L P S L P Q S V
1751 CTTTAATGAA TAATTTCCGT CAATATTTAC CTTCCCTCCC TCAATCGGTT
GAAATTACTT ATTAAGGCA GTTATAAATG GAAGGGAGGG AGTTAGCCAA
CTgIII
-----
E C R P F V F G A G K P Y E F S I
1801 GAATGTGCGC CTTTTGTCTT TGGCGCTGGT AAACCATATG AATTTTCTAT
CTTACAGCGG GAAAACAGAA ACCGCGACCA TTTGGTATAC TTAAAAGATA
CTgIII
-----
D C D K I N L F R G V F A F L L Y
1851 TGATTGTGAC AAAATAA ACT TATTCCGTGG TGCTTTGCG TTTCTTTTAT
ACTAACACTG TTTTATTTGA ATAAGGCACC ACAGAAACGC AAAGAAAATA
CTgIII
-----
V A T F M Y V F S T F A N I L R
1901 ATGTTGCCAC CTTTATGTAT GTATTTTCTA CGTTTGCTAA CATACTGCGT
TACAACGGTG GAAATACATA CATAAAAGAT GCAAACGATT GTATGACGCA
CTgIII
-----
                终点                lpp 终止子
                -----
                HindIII
                -----
N K E S
1951 AATAAGGAGT CTTGATAAGC TTGACCTGTG AAGTGAAAAA TGGCGCAGAT
TTATTCTCTCA GAACTATTCTG AACTGGACAC TTCACTTTTT ACCGCGTCTA
lpp terminator
-----
2001 TGTGCGACAT TTTTTTTGTC TGCCGTTTAA TGAAATTGTA AACGTTAATA
ACACGCTGTA AAAAAACAG ACGGCAAATT ACTTAAACAT TTGCAATTAT
-----
                f1 起点
2051 TTTTGTAA AATCGCGTTA AATTTTTGTT AAATCAGCTC ATTTTTTAATC
AAAACAATTT TAAGCGCAAT TTAAAAACAA TTAGTCGAG TAAAAAATTG
-----
                f1 起点
2101 CAATAGGCCG AATCGGCAA AATCCCTTAT AAATCAAAAG AATAGACCGA
GTTATCCGGC TTAGCCGTT TTAGGAATA TTAGTTTTTCT TTATCTGGCT
-----
                f1 起点
2151 GATAGGGTTG AGTGTGTTTC CAGTTTGGAA CAAGAGTCCA CTATTAAGA
CTATCCCAAC TCACAACAAG GTCAAACCTT GTTCTCAGGT GATAATTTCT
-----
                f1 起点
2201 ACGTGGACTC CAACGTCAA GGGCGAAAAA CCGTCTATCA GGGCGATGGC
TGCACCTGAG GTTGCAAGTT CCCGCTTTTT GGCAGATAGT CCCGCTACCG
-----

```

图 2 续

f1 起点

T->A

2251 CCACTACGAG AACCATCACC CTAATCAAGT TTTTGGGGT CGAGGTGCCG  
GGTGATGCTC TTGGTAGTGG GATTAGTTCA AAAAACCCCA GCTCCACGGC  
-----  
f1 起点

2301 TAAAGCACTA AATCGGAACC CTAAAGGGAG CCCCCGATTT AGAGCTTGAC  
ATTCGTGAT TTAGCCTTGG GATTTCCCTC GGGGGCTAAA TCTCGAACTG  
-----  
f1 起点

2351 GGGGAAAGCC GCGAACGTCG GCGAGAAAGG AAGGGAAGAA AGCGAAAGGA  
CCCCTTTCGG CCGCTTGACAC CGCTCTTCC TTCCCTTCTT TCGCTTTCCT  
-----  
f1 起点

2401 GCGGGCGCTA GGGCGCTGGC AAGTGTAGCG GTCACGCTGC GCGTAACCAC  
CGCCCGCAT CCCGCGACCG TTCACATCGC CAGTGCAGC CGCATTTGGT  
-----  
f1 起点

NheI

2451 CACACCCGCC GCGCTTAATG CGCCGCTACA GGGCGCGTGC TAGCCATGTG  
GTGTGGGCGG CGCGAATTAC GCGGCGATGT CCCGCGCAGC ATCGGTACAC  
-----  
f1 起点

ColEI

2501 AGCAAAAGGC CAGCAAAAGG CCAGGAACCG TAAAAGGCC GCGTTGCTGG  
TCGTTTTCCG GTCGTTTTCC GGTCTTGGC ATTTTTCCGG CGCAACGACC  
-----  
ColEI

ORI

2551 CGTTTTTCCA TAGGCTCCGC CCCCTGACG AGCATCACA AAATCGACGC  
GCAAAAAGGT ATCCGAGGCG GGGGACTGC TCGTAGTGT TTAGCTGCG  
-----  
ColEI

2601 TCAAGTCAGA GGTGGCGAAA CCCGACAGGA CTATAAAGAT ACCAGGCGTT  
AGTTCAGTCT CCACCGCTTT GGGCTGTCTT GATATTTCTA TGGTCCGCAA  
-----  
ColEI

2651 TCCCCCTGGA AGCTCCCTCG TCGCTCTCC TGTTCCGACC CTGCCGCTTA  
AGGGGACCT TCGAGGGAGC ACGGAGAGG ACAAGGCTGG GACGGCGAAT  
-----  
ColEI

突变

2701 CCGGATACCT GTCCGCCTTT CTCCTTCGG GAAGCGTGGC GCTTCTCAT  
GGCCTATGGA CAGGCGGAAA GAGGGAAGCC CTTCGCACCG CGAAAGAGTA  
-----  
ColEI

突变

2751 AGCTCACGCT GTAGGTATCT CAGTTCGGTG TAGGTCGTTT GCTCCAAGCT  
TCGAGTGCGA CATCCATAGA GTCAAGCCAC ATCCAGCAAG CGAGGTTCTGA  
-----  
ColEI

突变

2801 GGGCTGTGTG CACGAACCCC CCGTTCAGTC CGACCGCTGC GCCTTATCCG  
CCCACACAC GTGCTTGGGG GGCAAGTCAG GCTGGCGACG CGGAATAGGC  
-----  
ColEI

图 2 续

```

2851  GTAAC TATCG TCTTGAGTCC AACCCGGTAA GACACGACTT ATCGCCACTG
      CATTGATAGC AGAACTCAGG TTGGGCCATT CTGTGCTGAA TAGCGGTGAC
      -----
                        ColeI
2901  GCAGCAGCCA CTGGTAACAG GATTAGCAGA GCGAGGTATG TAGGCGGTGC
      CGTCGTCGGT GACCATTGTC CTAATCGTCT CGCTCCATAC ATCCGCCACG
      -----
                        ColeI
                        突变
2951  TACAGAGTTC TTGAAGTGGT GGCCTAACTA CGGCTACACT AGAAGAACAG
      ATGTCTCAAG AACTTCACCA CCGGATTGAT GCCGATGTGA TCTTCTTGTC
      -----
                        ColeI
                        突变
3001  TATTTGGTAT CTGCGCTCTG CTGTAGCCAG TTACCTTCGG AAAAAGAGTT
      ATAAACCATA GACGCGAGAC GACATCGGTC AATGGAAGCC TTTTCTCAA
      -----
                        ColeI
3051  GGTAGCTCTT GATCCGGCAA ACAAACCACC GCTGGTAGCG GTGGTTTTTT
      CCATCGAGAA CTAGGCCGTT TGTTTGGTGG CGACCATCGC CACCAAAAAA
      -----
                        ColeI
3101  TGTTGCAAG CAGCAGATTA CGCGCAGAAA AAAAGGATCT CAAGAAGATC
      ACAAACGTTG GTCGTCTAAT GCGCGTCTTT TTTTCTAGA GTTCTTCTAG
      -----
                        ColeI
3151  CTTTGATCTT TTCTACGGGG TCTGACGCTC AGTGGAACGA AAATCACCCT
      GAAACTAGAA AAGATGCCCC AGACTGCGAG TCACCTTGCT TTTGAGTGCA
      -----
                        ColeI
                        cat 终止子
                        -----
                        BglII
                        -----
3201  TAAGGGATTT TGGTCAGATC TAGCACCAGG CGTTTAAGGG CACCAATAAC
      ATTCCCTAAA ACCAGTCTAG ATCGTGGTCC GCAAATTCCC GTGGTTATTG
      -----
                        ColeI
                        cat 终止子
                        -----
3251  TGCCTTAAAA AAATTAGGCC CCGCCCTGCC ACTCATCGCA GTACTGTTGT
      ACGGAATTTT TTTAATGCGG GCGCGGACGG TGAGTAGCGT CATGACAACA
      -----
                        CM(R)
3301  AATTCATTAA GCATTCTGCC GACATGGAAG CCATCACAAA CGGCATGATG
      TTAAGTAATT CGTAAGACGG CTGTACCTTC GGTAGTGTTT GCCGTACTAC
      -----
                        CM(R)
3351  AACCTGAATC GCCAGCGGCA TCAGCACCTT GTCGCCTTGC GTATAATATT
      TTGGACTTAG CGGTCGCCGT AGTCGTGGAA CAGCGGAACG CATATTATAA
      -----
                        CM(R)
3401  TGCCCATAGT GAAAACGGGG GCGAAGAAGT TGTCCATATT GGCTACGTTT
      ACGGGTATCA CTTTTGCCCC CGCTTCTTCA ACAGGTATAA CCGATGCAAA
      -----
                        CM(R)
3451  AAATCAAAAC TGGTGAAACT CACCCAGGGA TTGGCTGAGA CGAAAAACAT
      TTTAGTTTGT ACCACTTTGA GTGGGTCCCT AACCGACTCT GCTTTTGTGA
      -----
    
```

图 2 续

```

                                CM (R)
3501  ATTCTCAATA AACCCTTTAG GGAAATAGGC CAGGTTTTC A CCGTAACACG
      TAAGAGTTAT TTGGGAAATC CCTTTATCCG GTCCAAAAGT GGCATTGTGC
      -----
                                CM (R)
3551  CCACATCTTG CGAATATATG TGTAGAAACT GCCGGAAATC GTCGTGGTAT
      GGTGTAGAAC GCTTATATAC ACATCTTTGA CGGCCTTTAG CAGCACCATA
      -----
                                CM (R)
3601  TCACTCCAGA GCGATGAAAA CGTTTCAGTT TGCTCATGGA AAACGGTGTA
      AGTGAGGTCT CGCTACTTTT GCAAAGTCAA ACGAGTACCT TTTGCCACAT
      -----
                                CM (R)
3651  ACAAGGGTGA ACACTATCCC ATATCACCAG CTCACCGTCT TTCATTGCCA
      TGTTCCCACT TGTGATAGGG TATAGTGGTC GAGTGGCAGA AAGTAACGGT
      -----
                                CM (R)
3701  TACGGAACTC CGGGTGAGCA TTCATCAGGC GGGCAAGAAT GTGAATAAAG
      ATGCCTTGAG GCCCACTCGT AAGTAGTCCG CCCGTTCTTA CACTTATTTT
      -----
                                CM (R)
3751  GCCGGATAAA ACTTGTGCTT ATTTTCTTT ACGGTCTTTA AAAAGGCCGT
      CGGCCTATTT TGAACACGAA TAAAAAGAAA TGCCAGAAAT TTTTCCGGCA
      -----
                                CM (R)
3801  AATATCCAGC TGAACGGTCT GGTATAGGT ACATTGAGCA ACTGACTGAA
      TTATAGGTCG ACTTGCCAGA CCAATATCCA TGTAACCTCGT TGACTGACTT
      -----
                                CM (R)
3851  ATGCCTCAA ATGTTCTTTA CGATGCCATT GGGATATATC AACGGTGGTA
      TACGGAGTTT TACAAGAAAT GCTACGGTAA CCCTATATAG TTGCCACCAT
      -----
                                CM (R)
3901  TATCCAGTGA TTTTTTCTC CATTTTAGCT TCCTTAGCTC CTGAAAATCT
      ATAGGTCACT AAAAAAGAG GTAAAATCGA AGGAATCGAG GACTTTTAGA
      -----
                                CM (R)                                SD
                                -----
                                cat 启动子
3951  CGATAACTCA AAAAATACGC CCGGTAGTGA TCTTATTTCA TTATGGTGAA
      GCTATTGAGT TTTTATGCG GGCCATCACT AGAATAAAGT AATACCACTT
      -----
                                cat 启动子                                CRP 位点
                                -----
4001  AGTTGGAACC TCACCCGACG TCTAATGTGA GTTAGCTCAC TCATTAGGCA
      TCAACCTTGG AGTGGGCTGC AGATTACACT CAATCGAGTG AGTAATCCGT
      -----
cat 启动子                                lac mRNA
开始
                                lac 操纵子
                                -----
                                -35 区域                                -10 区域
                                -----
4051  CCCCAGGCTT TACACTTTAT GCTTCCGGCT CGTATGTTGT GTGGAATTGT
      GGGGTCCGAA ATGTGAAATA CGAAGGCCGA GCATACAACA CACCTTAACA
      lac 操纵子                                SD                                lacZ'
      -----
4101  GAGCGGATAA CAATTCACA CAGGAAACAG CTATGACCAT GATTACGAAT
  
```

图 2 续

```
CTCGCCTATT GTTAAAGTGT GTCCTTTGTC GATACTGGTA CTAATGCTTA  
lacZ'  
~  
4151 T  
A
```

图 2 续

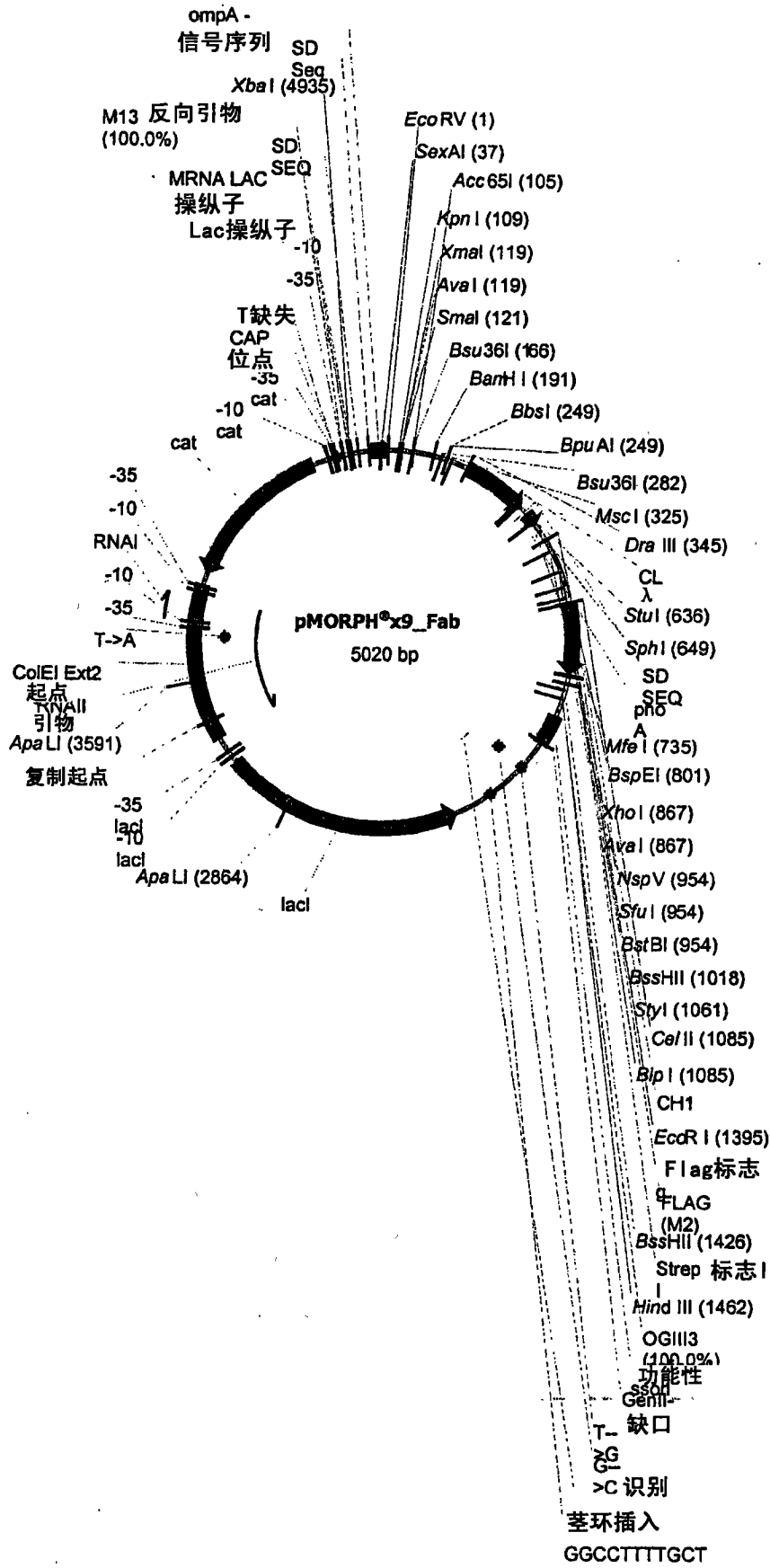


图 3

```

EcoRV                               SexAI
---                               ~~~~~
1  ATCGTGCTGA CCCAGCCGCC TTCAGTGAGT GCGCACCAG GTCAGCGTGT
   TAGCACGACT GGGTCGGCGG AAGTCACTCA CCGCGTGGTC CAGTCGCACA

51  GACCATCTCG TGTAGCGGCA GCAGCAGCAA CATTGGCAGC AACTATGTGA
   CTGGTAGAGC ACATCGCCGT CGTCGTCGTT GTAACCGTCG TTGATACTACT

                               XmaI
                               ~~~~~
                               SmaI
                               ~~~~~
KpnI                               AvaI
-----
Acc65I                             ~~~~~
-----

101 GCTGGTACCA GCAGTTGCCC GGGACGGCGC CGAAACTGCT GATTTATGAT
    CGACCATGGT CGTCAACGGG CCCTGCCGCG GCTTTGACGA CTAATACTA

                               Bsu36I
                               ~~~~~
                               BamHI
                               ~~~~~
151 AACACCAGC GTCCCTCAGG CGTGCCGGAT CGTTTTAGCG GATCCAAAAG
    TTGTTGGTCG CAGGGAGTCC GCACGGCCTA GCAAATCGC CTAGGTTTTC

                               BpuAI
                               ~~~~~
                               BbsI
                               ~~~~~
201 CGGCACCAGC GCGAGCCTTG CGATTACGGG CCTGCAAAGC GAAGACGAAG
    GCCGTGGTCG CGCTCGGAAC GCTAATGCCG GGACGTTTTC CTTCTGCTTC

                               Bsu36I
                               ~~~~~
251 CGGATTATTA TTGCCAGAGC TATGACATGC CTCAGGCTGT GTTTGGCGGC
    GCCTAATAAT AACGGTCTCG ATACTGTACG GAGTCCGACA CAAACCGCCG

                               MscI
                               ~~~~~
                               DraIII
                               ~~~~~
301 GGCACGAAGT TTAACCGTTC TTGGCCAGCC GAAAGCCGCA CCGAGTGTGA
    CCGTGCTTCA AATTGGCAAG AACCGGTCGG CTTTCGGCGT GGCTCACACT

351 CGCTGTTTCC GCCGAGCAGC GAAGAATTGC AGGCGAACAA AGCGACCCTG
    GCGACAAAGG CGGCTCGTCC CTTCTTAACG TCCGCTTGTT TCGCTGGGAC

401 GTGTGCCTGA TTAGCGACTT TTATCCGGGA GCCGTGACAG TGGCCTGGAA
    CACACGGACT AATCGCTGAA AATAGGCCCT CGGCACTGTC ACCGGACCTT

451 GGCAGATAGC AGCCCCGTCA AGGCGGGAGT GGAGACCACC ACACCCTCCA
    CCGTCTATCG TCGGGCAGT TCCGCCCTCA CCTCTGGTGG TGTGGGAGGT

501 AACAAAGCAA CAACAAGTAC GCGGCCAGCA GCTATCTGAG CCTGACGCCT
    TTGTTTCGTT GTTGTTTCATG CGCCGTCGTC CGATAGACTC GGACTGCGGA

551 GAGCAGTGGA AGTCCCACAG AAGCTACAGC TGCCAGGTCA CGCATGAGGG
    CTCGTCACCT TCAGGGTGTC TTCGATGTGC ACGGTCCAGT GCGTACTCCC

```

图 3 续

				StuI -----	SphI -----
601	GAGCACCGTG	GAAAAACCG	TTGCGCCGAC	TGAGGCCTGA	TAAGCATGCG
	CTCGTGCCAC	CTTTTTTGGC	AACGCGGCTG	ACTCCGGACT	ATTCGTACGC
651	TAGGAGAAAA	TAAAATGAAA	CAAAGCACTA	TTGCACTGGC	ACTCTTACCG
	ATCCTCTTTT	ATTTTACTTT	GTTTCGTGAT	AACGTGACCG	TGAGAATGGC
				MfeI -----	
701	TTGCTCTTCA	CCCCTGTTAC	CAAAGCCCAG	GTGCAATTGA	AAGAAAGCGG
	AACGAGAAGT	GGGGACAATG	GTTTCGGGTC	CACGTAACT	TTCTTTCGCC
					BspEI -----
751	CCCGGCCCTG	GTGAAACCGA	CCCAAACCCT	GACCCTGACC	TGTACCTTTT
	GGGCCGGGAC	CACTTTGGCT	GGGTTTGGGA	CTGGGACTGG	ACATGGAAAA
					BspEI -----
801	CCGATTTAG	CCTGTCCACG	TCTGGCGTTG	GCGTGGGCTG	GATTCGCCAG
	GGCCTAAATC	GGACAGGTGC	AGACCGCAAC	CGCACCCGAC	CTAAGCGGTC
				XhoI -----	
				AvaI -----	
851	CCGCCTGGGA	AAGCCCTCGA	GTGGCTGGCT	CTGATTGATT	GGGATGATGA
	GGCGGACCCT	TTCGGGAGCT	CACCGACCGA	GACTAACTAA	CCCTACTACT
901	TAAGTATTAT	AGCACCAGCC	TGAAAACGCG	TCTGACCATT	AGCAAAGATA
	ATTCATAATA	TCGTGGTCGG	ACTTTTGCGC	AGACTGGTAA	TCGTTTCTAT
				BstBI -----	
				SfuI -----	
				NspV -----	
951	CTTCGAAAAA	TCAGGTGGTG	CTGACTATGA	CCAACATGGA	CCCGGTGGAT
	GAAGCTTTTT	AGTCCACCAC	GACTGATACT	GGTTGTACCT	GGGCCACCTA
				BssHII -----	
1001	ACGGCCACCT	ATTATTGCGC	GCGTTCTCCT	CGTTATCGTG	GTGCTTTTGA
	TGCCGGTGGA	TAATAACGCG	CGCAAGAGGA	GCAATAGCAC	CACGAAAACT
				BlpI -----	
				CelII -----	
				StyI -----	
1051	TTATTGGGGC	CAAGGCACCC	TGGTGACGGT	TAGCTCAGCG	TCGACCAAAG
	AATAACCCCG	GTTCCGTGGG	ACCACTGCCA	ATCGAGTCGC	AGCTGGTTTC

图3续

```

1101 GTCCAAGCGT GTTTCCGCTG GCTCCGAGCA GCAAAAGCAC CAGCGGCGGC
      CAGGTTTCGCA CAAAGGCGAC CGAGGCTCGT CGTTTTTCGTG GTCGCCGCCG

1151 ACGGCTGCCC TGGGCTGCCT GGTTAAAGAT TATTTCCCGG AACCAGTCAC
      TGCCGACGGG ACCCGACGGA CCAATTTCTA ATAAAGGGCC TTGGTCAGTG

1201 CGTGAGCTGG AACAGCGGGG CGCTGACCAG CGGCGTG CAT ACCTTTCCGG
      GCACTCGACC TTGTCGCCCC GCGACTGGTC GCCGCACGTA TGGAAAGGCC

1251 CGGTGCTGCA AAGCAGCGGC CTGTATAGCC TGAGCAGCGT TGTGACCGTG
      GCCACGACGT TTCGTCGCCG GACATATCGG ACTCGTCGCA AACTGGCAC

1301 CCGAGCAGCA GCTTAGGCAC TCAGACCTAT ATTTGCAACG TGAACCATAA
      GGCTCGTCGT CGAATCCGTG AGTCTGGATA TAAACGTTGC ACTTGGTATT

                                          EcoRI
                                          ~~~~~~
1351 ACCGAGCAAC ACCAAAGTGG ATAAAAAAGT GGAACCGAAA AGCGAATTCG
      TGGCTCGTTG TGGTTTCACC TATTTTTTCA CCTTGGCTTT TCGCTTAAGC

                                          BssHII
                                          ~~~~~~
1401 ACTATAAAGA TGACGATGAC AAAGGCGCGC CGTGGAGCCA CCCGCAGTTT
      TGATATTTCT ACTGCTACTG TTTCCGCGCG GCACCTCGGT GGGCGTCAAA

HindIII
~~~~~
1451 GAAAAATGAT AAGCTTGACC TGTGAAGTGA AAAATGGCGC AGATTGTGCG
      CTTTTTACTA TTCGAACTGG ACACTTCACT TTTTACCGCG TCTAACACGC
      OGIII3 100.0%
      =====

1501 ACATTTTTTTT TGTCTGCCGT TTAATTAAAG GGGGGGGGGG GCCGGCCTGG
      TGTAACAAAA ACAGACGGCA AATTAATTTT CCCCCCCCCC CGGCCGGACC

1551 GGGGGGGTGT ACATGAAATT GTAAACGTTA ATATTTTGTG AAAATTGCGC
      CCCCCCACCA TGTACTTTAA CATTGCAAT TATAAACAA TTTAAGCGC

1601 TTAAATTTTTT GTTAAATCAG CTCATTTTTT AACCAATAGG CCGAAATCGG
      AATTTAAAAA CAATTTAGTC GAGTAAAAA TTGGTTATCC GGCTTTAGCC

1651 CAAAATCCCT TATAAATCAA AAGAATAGAC CGAGATAGGG TTGAGTGTG
      GTTTTAGGGA ATATTTAGTT TTCTTATCTG GCTCTATCCC AACTCACAAC

1701 TTCCAGTTTG GAACAAGAGT CCACTATTAA AGAACGTGGA CTCCAACGTC
      AAGGTCAAAC CTTGTTCTCA GGTGATAATT TCTTGCACCT GAGGTTGCAG

1751 AAAGGGCGAA AAACCGTCTA TCAGGGCGAT GGCCCACTAC GAGAACCATC
      TTTCCCGCTT TTTGGCAGAT AGTCCCCTA CCGGGTGATG CTCTTGGTAG

1801 ACCCTAATCA AGTTTTTTGG GGTGAGGTG CCGTAAAGCA CTAATCGGA
      TGGGATTAGT TCAAAAAACC CCAGCTCCAC GGCATTTTCGT GATTTAGCCT

```

图 3 续

1851	ACCCCTAAAGG TGGGATTTC	GAGCCCCCGA CTCGGGGGCT	TTTAGAGCTT AAATCTCGAA	GACGGGGAAA CTGCCCTTT	GCCGGCGAAC CGGCCGCTTG
1901	GTGGCGAGAA CACCGCTCTT	AGGAAGGGAA TCCTTCCCTT	GAAAGCGAAA CTTTCGCTTT	GGAGCGGGCG CCTCGCCCGC	CTAGGGCGCT GATCCCGCGA
1951	GGCAAGTGTA CCGTTACAT	GCGGTCACGC CGCCAGTGCG	TGCGCGTAAC ACGCGCATTG	CACCACACCC GTGGTGTGGG	GCCGCGCTTA CGGCGCGAAT
2001	ATGCGCCGCT TACGCGGCGA	ACAGGGCGCG TGTCCCAGCG	TGCTAGACTA ACGATCTGAT	GTGTTTAAAC CACAAATTTG	CGGACCGGGG GCCTGGCCCC
2051	GGGGGCTTAA CCCCCGAATT	GTGGGCTGCA CACCCGACGT	AAACAAAACG TTTGTTTTGC	GCCTCCTGTC CGGAGGACAG	AGGAAGCCGC TCCTTCGGCG
2101	TTTTATCGGG AAAATAGCCC	TAGCCTCACT ATCGGAGTGA	GCCCGCTTTC CGGGCGAAAAG	CAGTCGGGAA GTCAGCCCTT	ACCTGTCGTG TGGACAGCAC
2151	CCAGCTGCAT GGTCGACGTA	CAGTGAATCG GTCACTTAGC	GCCAACGCGC CGGTTGCGCG	GGGGAGAGGC CCCCCTCTCCG	GGTTTGC GTA CCAAACGCAT
2201	TTGGGAGCCA AACCTCGGT	GGGTGGTTTT CCCACCAAAA	TCTTTTCACC AGAAAAGTGG	AGTGAGACGG TCACTCTGCC	GCAACAGCTG CGTTGTCGAC
2251	ATTGCCCTTC TAACGGGAAG	ACCGCCTGGC TGGCGGACCG	CCTGAGAGAG GGACTCTCTC	TTGCAGCAAG AACGTCTTC	CGGTCCACGC GCCAGGTGCG
2301	TGGTTTGCCC ACCAAACGGG	CAGCAGGCGA GTCGTCCGCT	AAATCCTGTT TTTAGGACAA	TGATGGTGGT ACTACCACCA	CAGCGGCGGG GTCGCCGCC
2351	ATATAACATG TATATTGTAC	AGCTGTCCTC TCGACAGGAG	GGTATCGTCG CCATAGCAGC	TATCCCATA ATAGGGTGAT	CCGAGATGTC GGCTCTACAG
2401	CGCACCAACG GCGTGGTTGC	CGCAGCCCGG GCGTCGGGCC	ACTCGGTAAT TGAGCCATTA	GGCACGCATT CCGTGCGTAA	GCGCCCAGCG CGCGGGTCGC
2451	CCATCTGATC GGTAGACTAG	GTTGGCAACC CAACCGTTGG	AGCATCGCAG TCGTAGCGTC	TGGGAACGAT ACCCTTGCTA	GCCCTCATT CGGGAGTAAG
2501	AGCATTGCA TCGTAAACGT	TGGTTTGTG ACCAAACAAC	AAAACCGGAC TTTGGCCTG	ATGGCACTCC TACCGTGAGG	AGTCGCCTTC TCAGCGGAAG
2551	CCGTTCCGCT GGCAAGGCGA	ATCGGCTGAA TAGCCGACTT	TTTGATTGCG AAACTAACGC	AGTGAGATAT TCACTCTATA	TTATGCCAGC AATACGGTCG
2601	CAGCCAGACG GTCGGTCTGC	CAGACGCGCC GTCTGCGCGG	GAGACAGAAC CTCTGTCTTG	TTAATGGGCC AATTACCCGG	AGCTAACAGC TCGATTGTG
2651	GCGATTTGCT CGCTAAACGA	GGTGGCCCAA CCACCGGGTT	TGCGACCAGA ACGCTGGTCT	TGCTCCACGC ACGAGGTGCG	CCAGTCGCGT GGTCAGCGCA
2701	ACCGTCCTCA TGGCAGGAGT	TGGGAGAAAA ACCCTCTTTT	TAATACTGTT ATTATGACAA	GATGGGTGTC CTACCCACAG	TGGTCAGAGA ACCAGTCTCT

图 3 续

2751	CATCAAGAAA	TAACGCCGGA	ACATTAGTGC	AGGCAGCTTC	CACAGCAATA
	GTAGTCTTTT	ATTGCGGCCT	TGTAATCACG	TCCGTCGAAG	GTGTCGTTAT
2801	GCATCCTGGT	CATCCAGCGG	ATAGTTAATA	ATCAGCCCAC	TGACACGTTG
	CGTAGGACCA	GTAGGTGCGC	TATCAATTAT	TAGTCGGGTG	ACTGTGCAAC
		ApaLI			
		~~~~~			
2851	CGCGAGAAGA	TTGTGCACCG	CCGCTTTACA	GGCTTCGACG	CCGCTTCGTT
	GCGCTCTTCT	AACACGTGGC	GGCGAAATGT	CCGAAGCTGC	GGCGAAGCAA
2901	CTACCATCGA	CACGACCACG	CTGGCACCCA	GTTGATCGGC	GCGAGATTTA
	GATGGTAGCT	GTGCTGGTGC	GACCGTGGGT	CAACTAGCCG	CGCTCTAAAT
2951	ATCGCCGCGA	CAATTTGCGA	CGGCGCGTGC	AGGGCCAGAC	TGGAGGTGGC
	TAGCGGCCT	GTTAAACGCT	GCCGCGCAGC	TCCCAGTCTG	ACCTCCACCG
3001	AACGCCAATC	AGCAACGACT	GTTTGCCCGC	CAGTTGTTGT	GCCACGCGGT
	TTGCGGTTAG	TCGTTGCTGA	CAAACGGGCG	GTCAACAACA	CGGTGCGCCA
3051	TAGGAATGTA	ATTCAGCTCC	GCCATCGCCG	CTTCCACTTT	TTCCCGCGTT
	ATCCTTACAT	TAAGTCGAGG	CGGTAGCGGC	GAAGGTGAAA	AAGGGCGCAA
3101	TTCGCAGAAA	CGTGGCTGGC	CTGGTTCACC	ACGCGGGAAA	CGGTCTGATA
	AAGCGTCTTT	GCACCGACCG	GACCAAGTGG	TGCGCCCTTT	GCCAGACTAT
3151	AGAGACACCG	GCATACTCTG	CGACATCGTA	TAACGTTACT	GGTTTCACAT
	TCTCTGTGGC	CGTATGAGAC	GCTGTAGCAT	ATTGCAATGA	CCAAAGTGTA
3201	TCACCACCTT	GAATTGACTC	TCTTCCGGGC	GCTATCATGC	CATACCGCGA
	AGTGGTGGGA	CTTAACTGAG	AGAAGGCCCG	CGATAGTACG	GTATGGCGCT
3251	AAGGTTTTGC	GCCATTGAT	GCTAGCCATG	TGAGCAAAAG	GCCAGCAAAA
	TTCCAAAACG	CGGTAAGCTA	CGATCGGTAC	ACTCGTTTTT	CGGTCGTTTT
3301	GGCCAGGAAC	CGTAAAAGG	CCGCGTTGCT	GGCGTTTTTC	CATAGGCTCC
	CCGGTCTTTG	GCATTTTTTC	GGCGCAACGA	CCGCAAAAAG	GTATCCGAGG
3351	GCCCCCTGA	CGAGCATCAC	AAAAATCGAC	GCTCAAGTCA	GAGGTGGCGA
	CGGGGGGACT	GCTCGTAGTG	TTTTTAGCTG	CGAGTTCAGT	CTCCACCGCT
3401	AACCCGACAG	GACTATAAAG	ATACCAGGCG	TTTCCCCCTG	GAAGCTCCCT
	TTGGGCTGTC	CTGATATTTT	TATGGTCCGC	AAAGGGGGAC	CTTCGAGGGA
3451	CGTGCGCTCT	CCTGTTCCGA	CCCTGCCGCT	TACCGGATAC	CTGTCCGCCT
	GCACGCGAGA	GGACAAGGCT	GGGACGGCGA	ATGGCCTATG	GACAGGCGGA
3501	TTCTCCCTTC	GGGAAGCGTG	GCGCTTCTC	ATAGCTCACG	CTGTAGGTAT
	AAGAGGGAAG	CCCTTCGCAC	CGCGAAAGAG	TATCGAGTGC	GACATCCATA
				ApaLI	
				~~~~~	
3551	CTCAGTTCGG	TGTAGGTCGT	TCGCTCCAAG	CTGGGCTGTG	TGCACGAACC
	GAGTCAAGCC	ACATCCAGCA	AGCGAGGTTT	GACCCGACAC	ACGTGCTTGG

图 3 续

3601 CCCCCTTCAG CCCGACCGCT GCGCCTTATC CGGTAACATAT CGTCTTGAGT  
 GGGGCAAGTC GGGCTGGCGA CGCGGAATAG GCCATTGATA GCAGAACTCA  
 3651 CCAACCCCGGT AAGACACGAC TTATCGCCAC TGGCAGCAGC CACTGGTAAC  
 GGTGTTGGGCCA TTCTGTGCTG AATAGCGGTG ACCGTCGTCTG GTGACCATTG  
 3701 AGGATTAGCA GAGCGAGGTA TGTAGGCGGT GCTACAGAGT TCTTGAAGTG  
 TCCTAATCGT CTCGCTCCAT ACATCCGCCA CGATGTCTCA AGAACTTCAC  
 3751 GTGGCCTAAC TACGGCTACA CTAGAAGAAC AGTATTTGGT ATCTGCGCTC  
 CACCGGATG ATGCCGATGT GATCTTCTTG TCATAAACCA TAGACGCGAG  
 3801 TGCTGTAGCC AGTTACCTTC GGAAAAAGAG TTGGTAGCTC TTGATCCGGC  
 ACGACATCGG TCAATGGAAG CCTTTTTCTC AACCATCGAG AACTAGGCCG  
 3851 AAACAAACCA CCGCTGGTAG CGGTGGTTTT TTTGTTTGCA AGCAGCAGAT  
 TTTGTTTGGT GCGGACCATC GCCACCAAAA AAACAAACGT TCGTCGTCTA  
 3901 TACGCGCAGA AAAAAAGGAT CTCAGAAGA TCCTTTGATC TTTTCTACGG  
 ATGCGCGTCT TTTTTTCTA GAGTTCTTCT AGGAAACTAG AAAAGATGCC  
 3951 GGTCTGACGC TCAGTGGAAC GAAACTCAC GTTAAGGGAT TTTGGTCAGA  
 CCAGACTGCG AGTCACCTTG CTTTTGAGTG CAATTCCCTA AAACCAGTCT  
 4001 TCTAGCACCA GCGTTTTAAG GGCACCAATA ACTGCCTTAA AAAAATTACG  
 AGATCGTGGT CCGCAAATTC CCGTGGTTAT TGACGGAATT TTTTAAATGC  
 4051 CCCC GCCCTG CCACTCATCG CAGTACTGTT GTAATTCATT AAGCATTCTG  
 GGGCGGGAC GGTGAGTAGC GTCATGACAA CATTAAAGTAA TTCGTAAGAC  
 4101 CCGACATGGA AGCCATCACA AACGGCATGA TGAACCTGAA TCGCCAGCGG  
 GGCTGTACCT TCGGTAGTGT TTGCCGTACT ACTTGGACTT AGCGGTCTGCC  
 4151 CATCAGCACC TTGTCGCCTT GCGTATAATA TTTGCCATA GTGAAAACGG  
 GTAGTCGTGG AACAGCGGAA CGCATATTAT AAACGGGTAT CACTTTTGCC  
 4201 GGGCGAAGAA GTTGTCCATA TTGGCTACGT TTAAATCAA ACTGGTGAAA  
 CCCGCTTCTT CAACAGGTAT AACCGATGCA AATTTAGTTT TGACCACTTT  
 4251 CTCACCCAGG GATTGGCTGA GACGAAAAAC ATATTCTCAA TAAACCCTTT  
 GAGTGGGTCC CTAACCGACT CTGCTTTTTG TATAAGAGTT ATTTGGGAAA  
 4301 AGGGAAATAG GCCAGGTTTT CACCGTAACA CGCCACATCT TGCGAATATA  
 TCCCTTTATC CGGTCCAAA GTGGCATTGT GCGGTGTAGA ACGCTTATAT  
 4351 TGTGTAGAAA CTGCCGAAA TCGTCGTGGT ATTCACTCCA GAGCGATGAA  
 ACACATCTTT GACGGCCTTT AGCAGCACCA TAAGTGAGGT CTCGCTACTT  
 4401 AACGTTTCAG TTTGCTCATG GAAAACGGTG TAACAAGGGT GAACACTATC  
 TTGCAAAGTC AAACGAGTAC CTTTTGCCAC ATTGTTCCCA CTTGTGATAG  
 4451 CCATATCACC AGCTCACCGT CTTTCATTGC CATACGGAAC TCCGGGTGAG  
 GGTATAGTGG TCGAGTGGCA GAAAGTAACG GTATGCCTTG AGGCCACTC

图 3 续

```

4501  CATTTCATCAG GCGGGCAAGA ATGTGAATAA AGGCCGGATA AACTTGTGTC
      GTAAGTAGTC CGCCCGTTCT TACTACTTATT TCCGGCCTAT TTTGAACACG

4551  TTATTTTTTCT TTACGGTCTT TAAAAAGGCC GTAATATCCA GCTGAACGGT
      AATAAAAAGA AATGCCAGAA ATTTTTCCGG CATTATAGGT CGACTTGCCA

4601  CTGGTTATAG GTACATTGAG CAACTGACTG AAATGCCTCA AAATGTTCTT
      GACCAATATC CATGTAATC GTTGACTGAC TTTACGGAGT TTTACAAGAA

4651  TACGATGCCA TTGGGATATA TCAACGGTGG TATATCCAGT GATTTTTTTC
      ATGCTACGGT AACCCATATAT AGTTGCCACC ATATAGGTCA CTAAAAAAG

4701  TCCATTTTAG CTTCTTAGC TCCTGAAAAT CTCGATAACT CAAAAAATAC
      AGGTAAAATC GAAGGAATCG AGGACTTTTA GAGCTATTGA GTTTTTTATG

4751  GCCCGGTAGT GATCTTATTT CATTATGGTG AAAGTTGGAA CCTCACCCGA
      CGGGCCATCA CTAGAATAAA GTAATACCAC TTTCAACCTT GGAGTGGGCT

4801  CGTCTAATGT GAGTTAGCTC ACTCATTAGG CACCCCAGGC TTTACTTTT
      GCAGATTACA CTCAATCGAG TGAGTAATCC GTGGGGTCCG AAATGTGAAA

4851  ATGCTTCCGG CTCGTATGTT GTGTGGAATT GTGAGCGGAT AACAAATTTCA
      TACGAAGGCC GAGCATACAA CACACCTTAA CACTCGCCTA TTGTAAAGT

      M13 反向引物          100.0%          XbaI
      =====
4901  CACAGGAAAC AGCTATGACC ATGATTACGA ATTTCTAGAT AACGAGGGCA
      GTGTCCTTTG TCGATACTGG TACTAATGCT TAAAGATCTA TTGCTCCCGT

4951  AAAAATGAAA AAGACAGCTA TCGCGATTGC AGTGGCACTG GCTGGTTTCG
      TTTTTACTTT TTCTGTCGAT AGCGCTAACG TCACCGTGAC CGACCAAAGC

      EcoRV
      ~~~
5001  CTACCGTAGC GCAGGCCGAT
      GATGGCATCG CGTCCGGCTA

```

图 3 续



MS-Roche#3、#7和#8的序列

VL

VL										CDR1																				
位置										位置																				
EcoRV										KpnI																				
BamHI										PstI																				
MS-Roche #3	GAT	ATC	GTG	CTG	ACC	CAG	AGC	CTG	GGG	ACC	CTG	AGC	CTG	TCT	CCG	GGC	GAA	CGT	GGC	ACC	CTG	AGC	GGT	ACC	AGC	ATC	ATG	GCG	GGT	TAC
MS-Roche #7	GAT	ATC	GTG	CTG	ACC	CAG	AGC	CTG	GGG	ACC	CTG	AGC	CTG	TCT	CCG	GGC	GAA	CGT	GGC	ACC	CTG	AGC	GGT	ACC	AGC	ATC	ATG	GCG	GGT	TAC
MS-Roche #8	GAT	ATC	GTG	CTG	ACC	CAG	AGC	CTG	GGG	ACC	CTG	AGC	CTG	TCT	CCG	GGC	GAA	CGT	GGC	ACC	CTG	AGC	GGT	ACC	AGC	ATC	ATG	GCG	GGT	TAC

VH

VH										CDR1																				
位置										位置																				
MseI										BspEI																				
BspEI										BspEI																				
MS-Roche #3	CAG	GTG	CAA	TTG	GTG	GAA	AGC	GGC	GGC	GGC	CTG	GTG	CAA	CCG	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC
MS-Roche #7	CAG	GTG	CAA	TTG	GTG	GAA	AGC	GGC	GGC	GGC	CTG	GTG	CAA	CCG	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC
MS-Roche #8	CAG	GTG	CAA	TTG	GTG	GAA	AGC	GGC	GGC	GGC	CTG	GTG	CAA	CCG	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC

图 4b

CDR2										CDR3										CDR4										
位置										位置										位置										
SmaI										BamHI										NspI										
AseI										BamHI										NspI										
MS-Roche #3	CAG	CAG	AAA	CCA	GGT	CAA	GGG	CTG	ATA	TAT	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC
MS-Roche #7	CAG	CAG	AAA	CCA	GGT	CAA	GGG	CTG	ATA	TAT	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC
MS-Roche #8	CAG	CAG	AAA	CCA	GGT	CAA	GGG	CTG	ATA	TAT	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC	GGC

图 4b 续



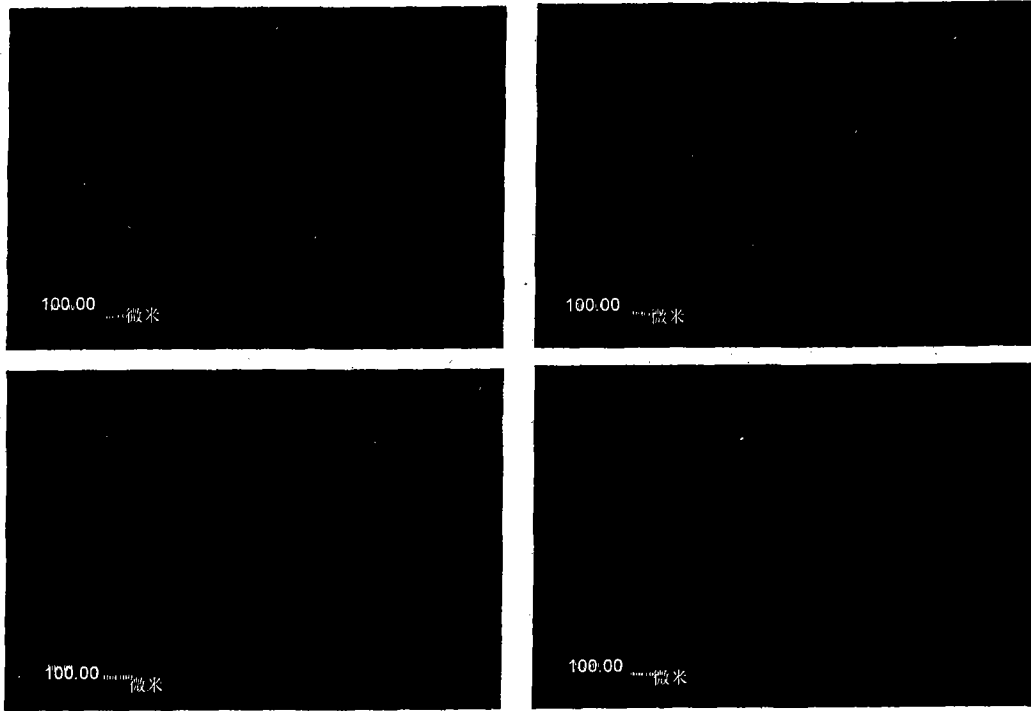


图 5

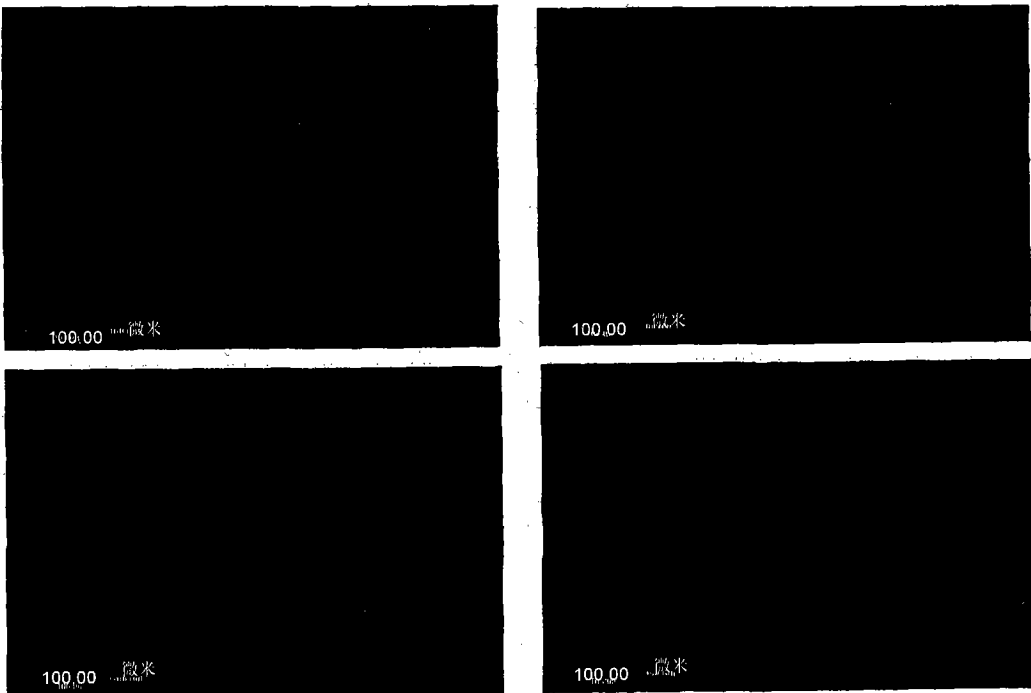


图 6

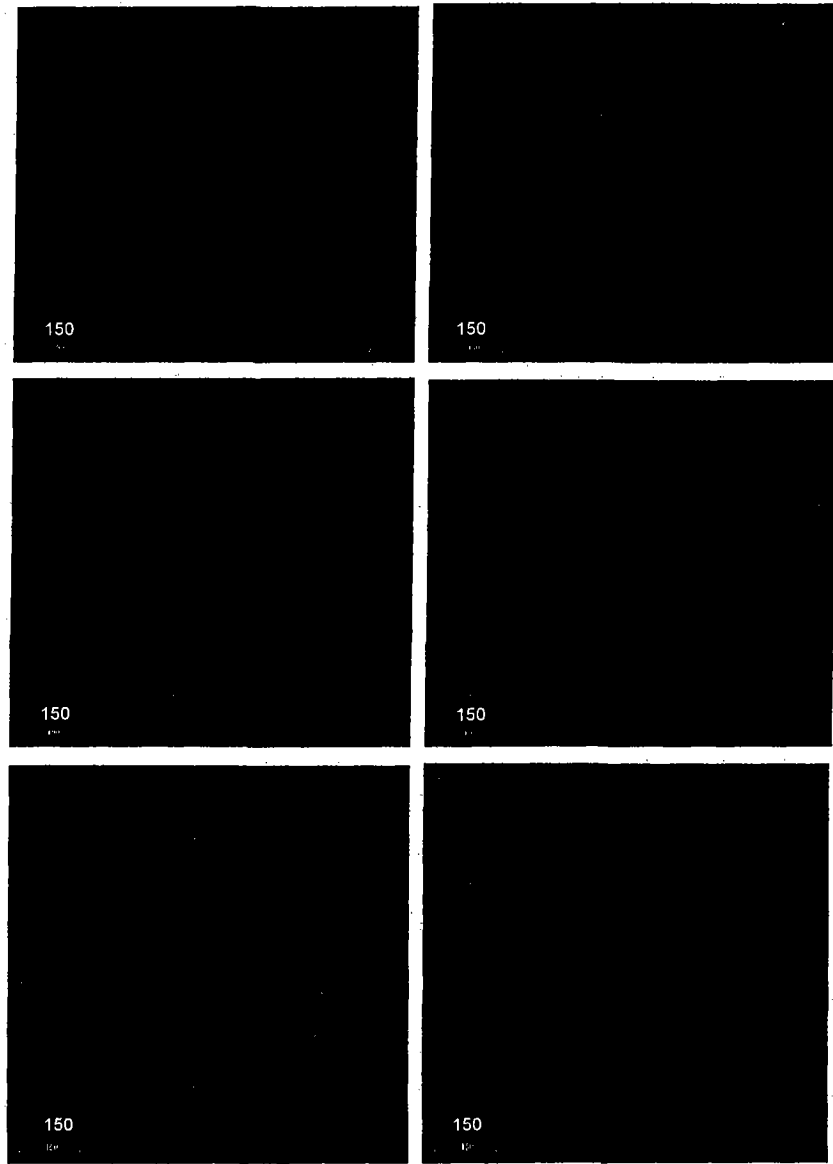


图 7

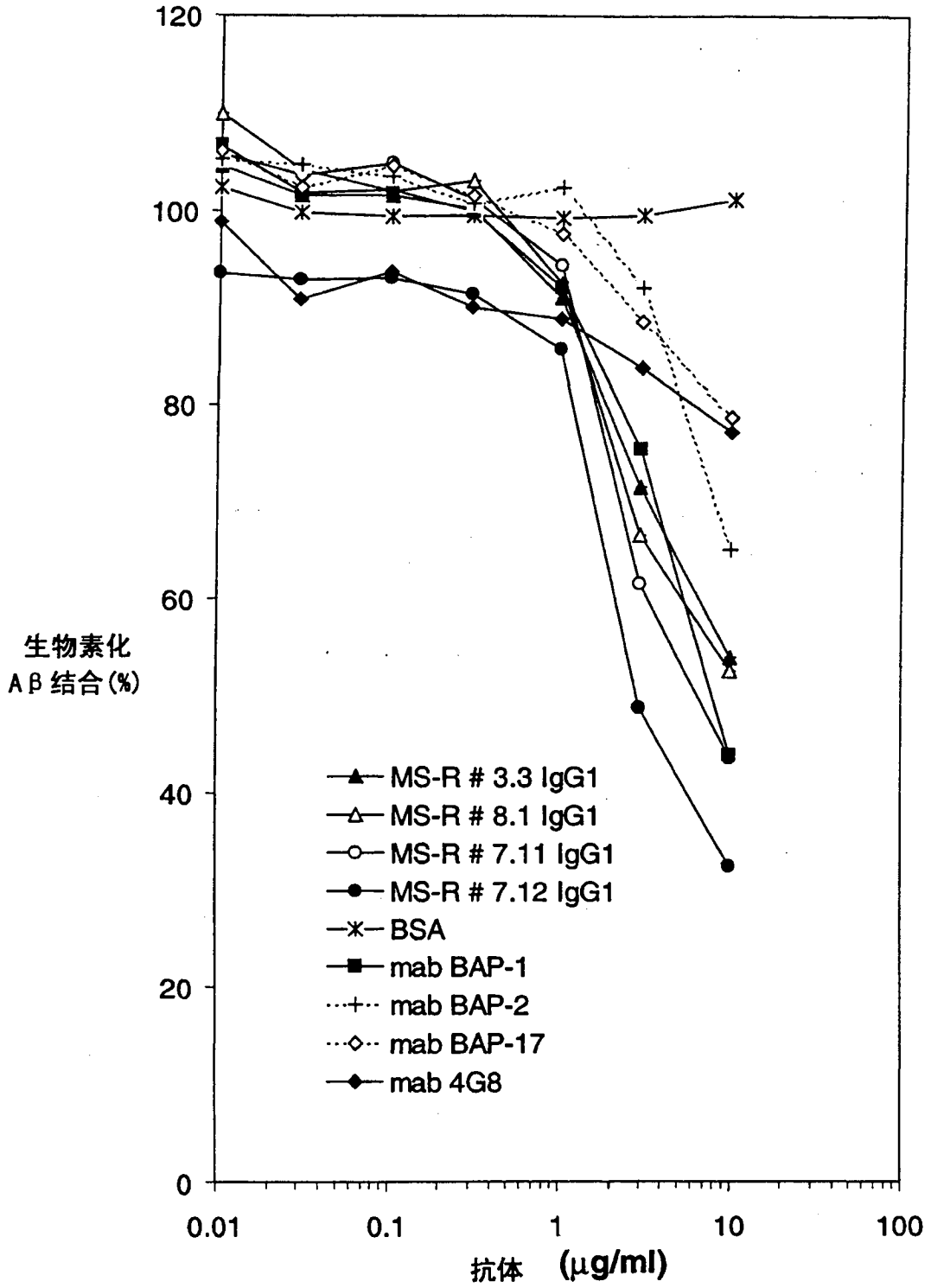


图 8

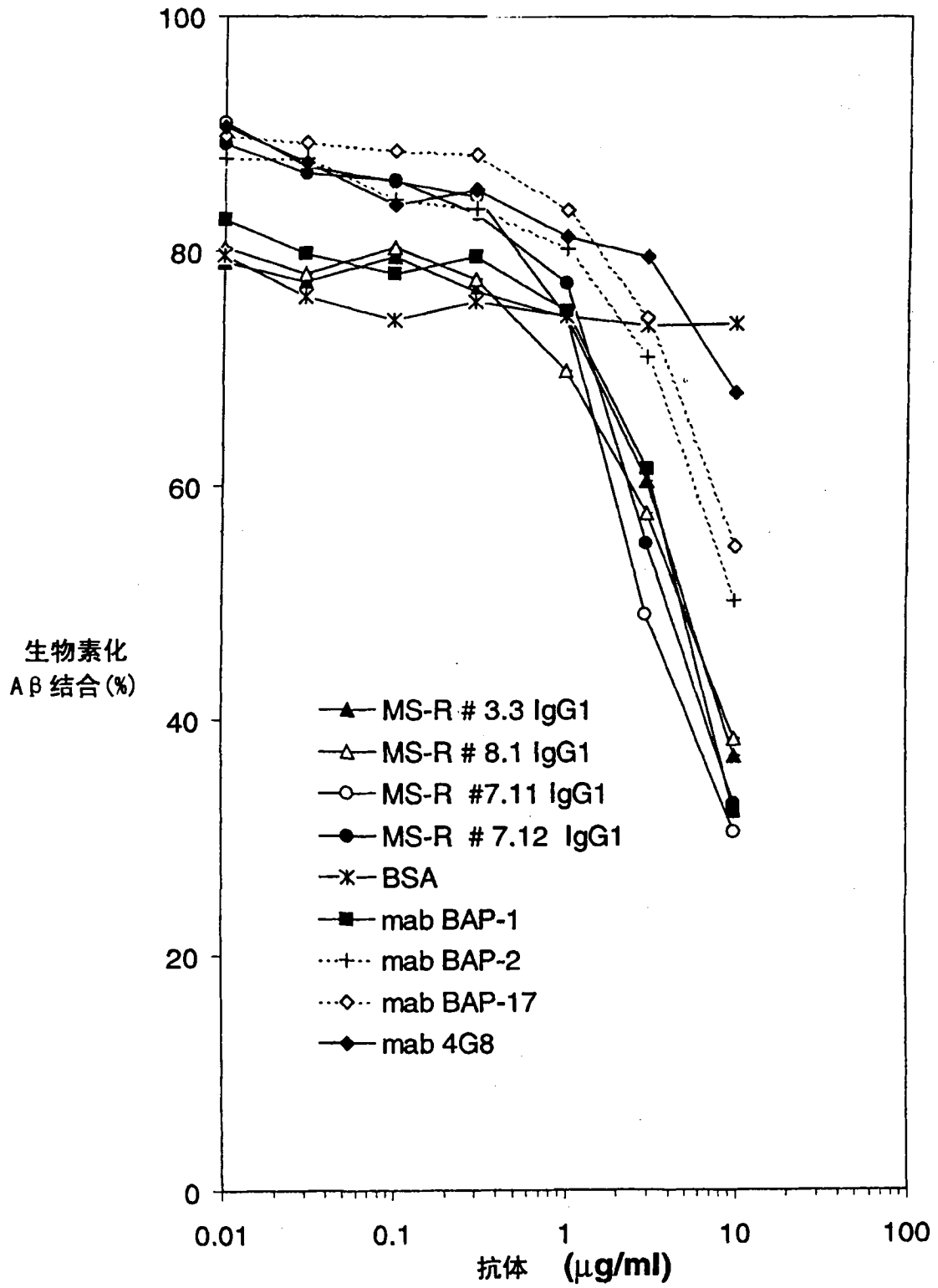


图 9A

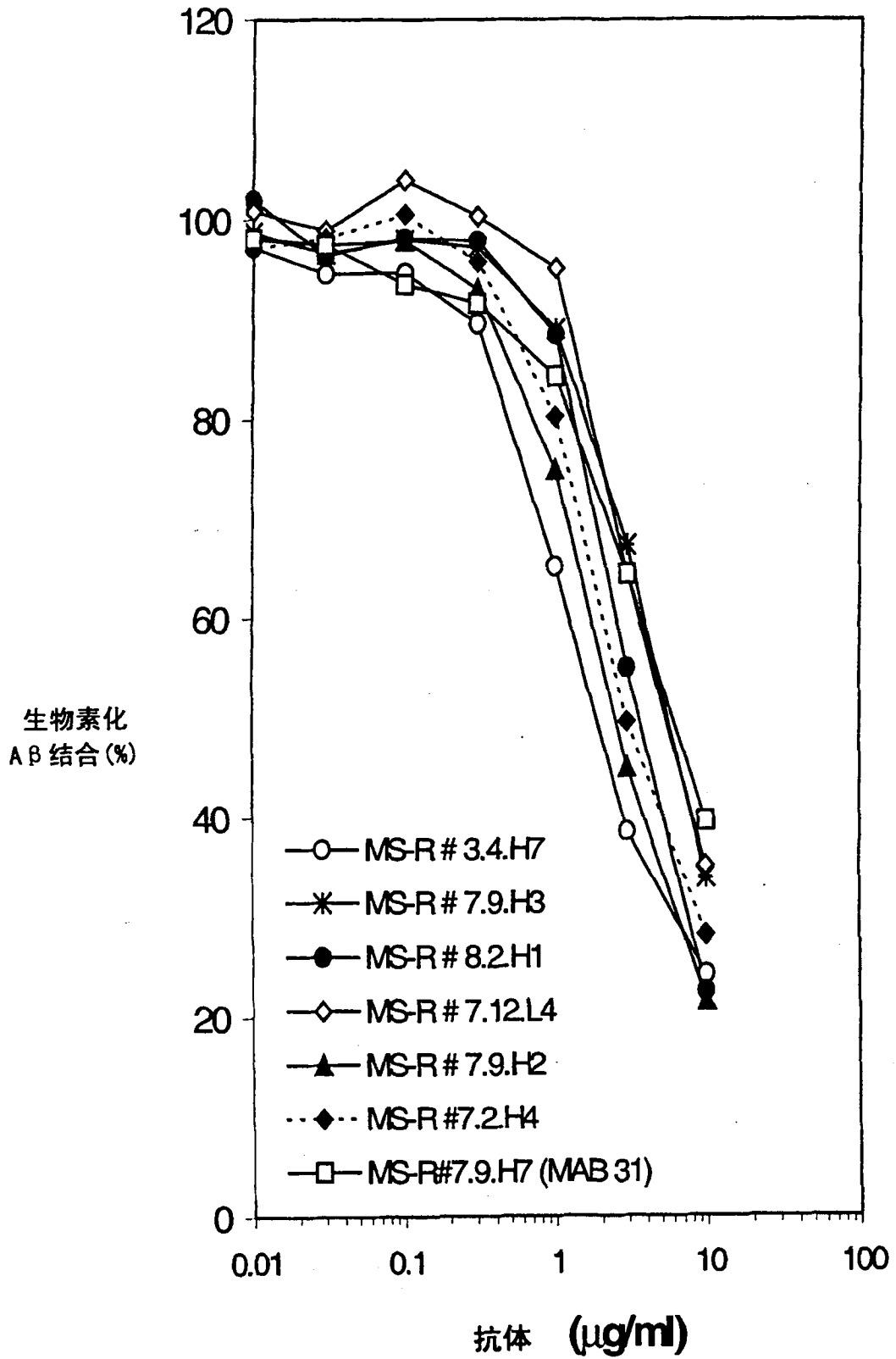


图 9B

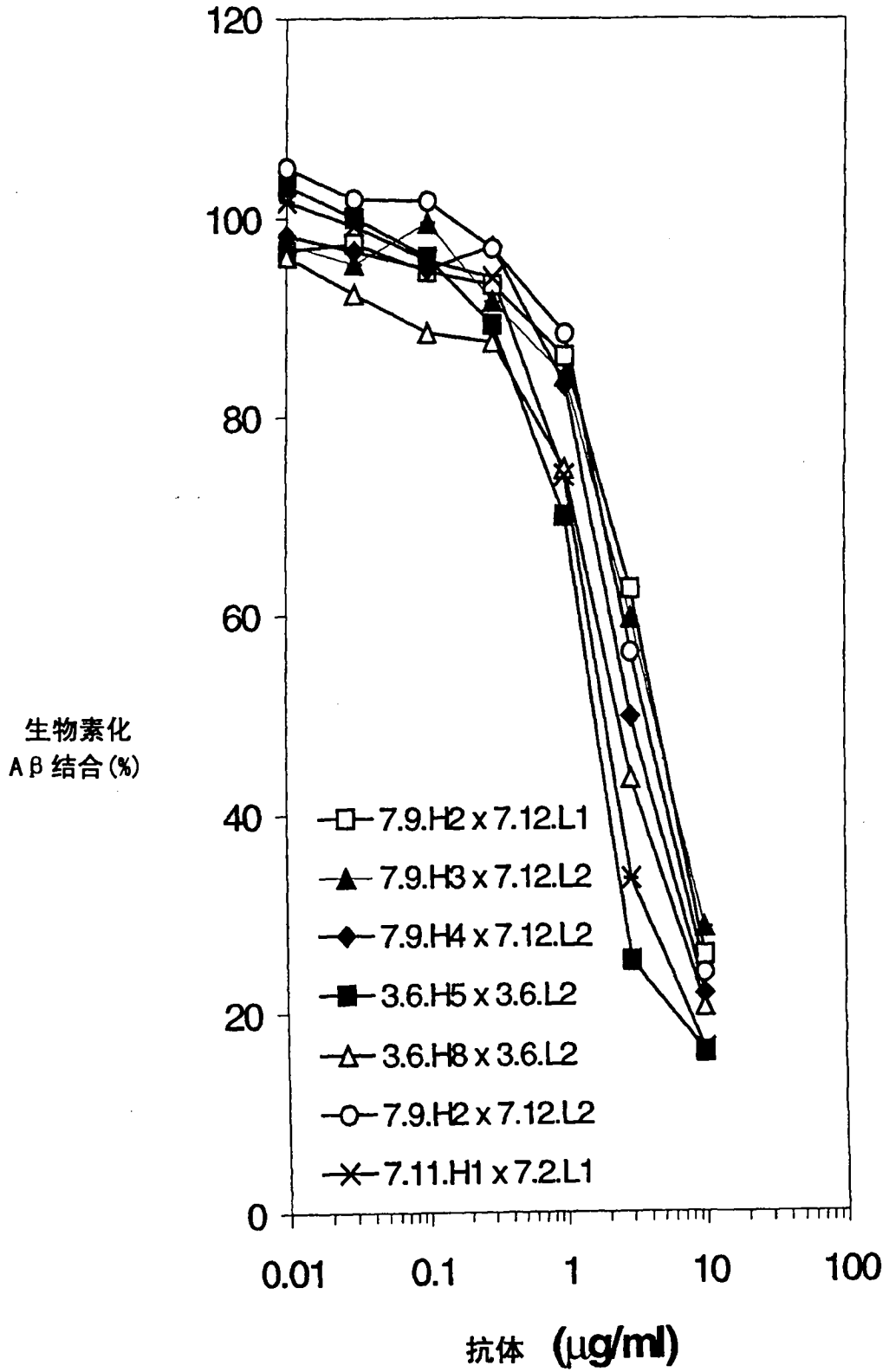


图 9C

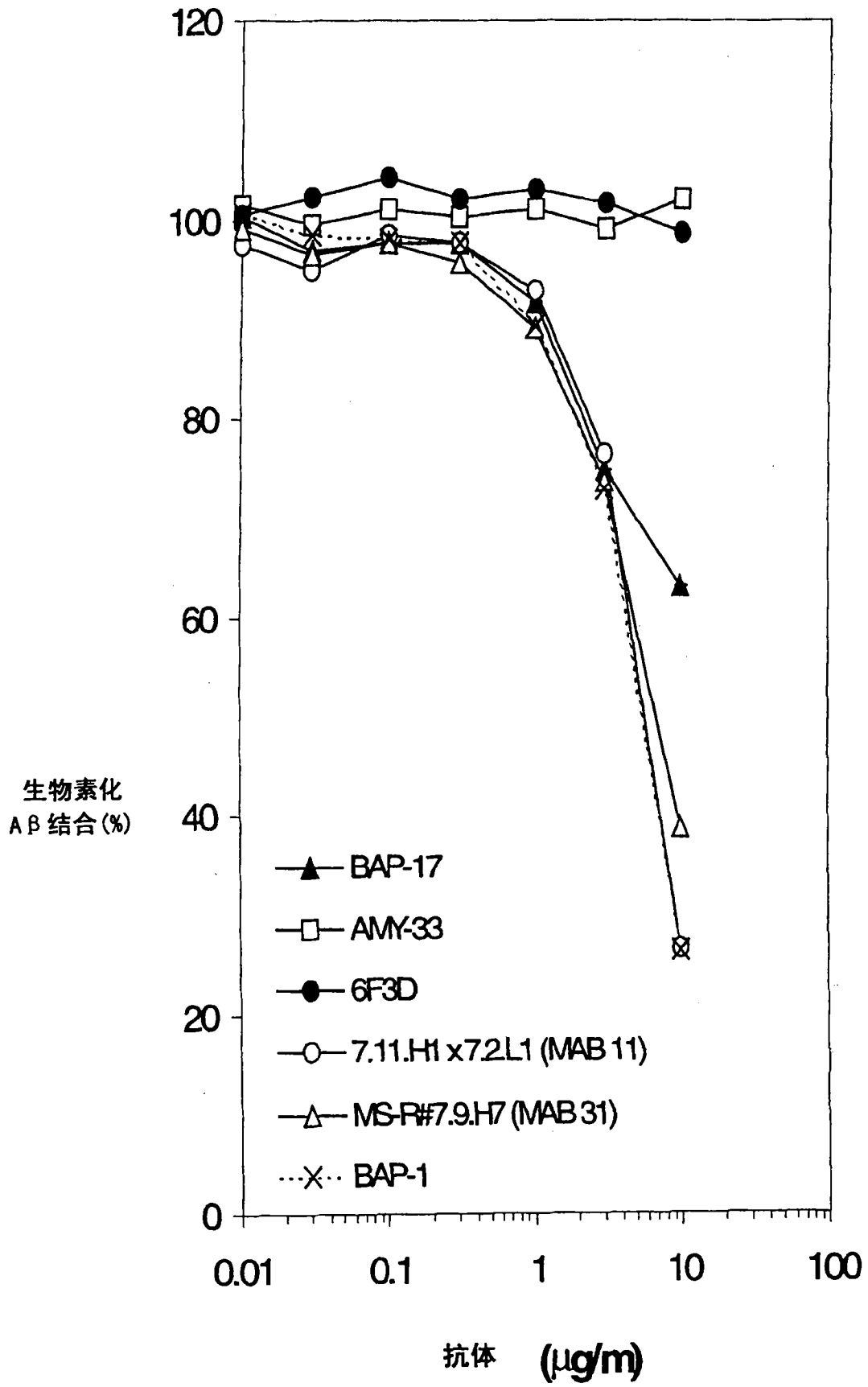


图 9D

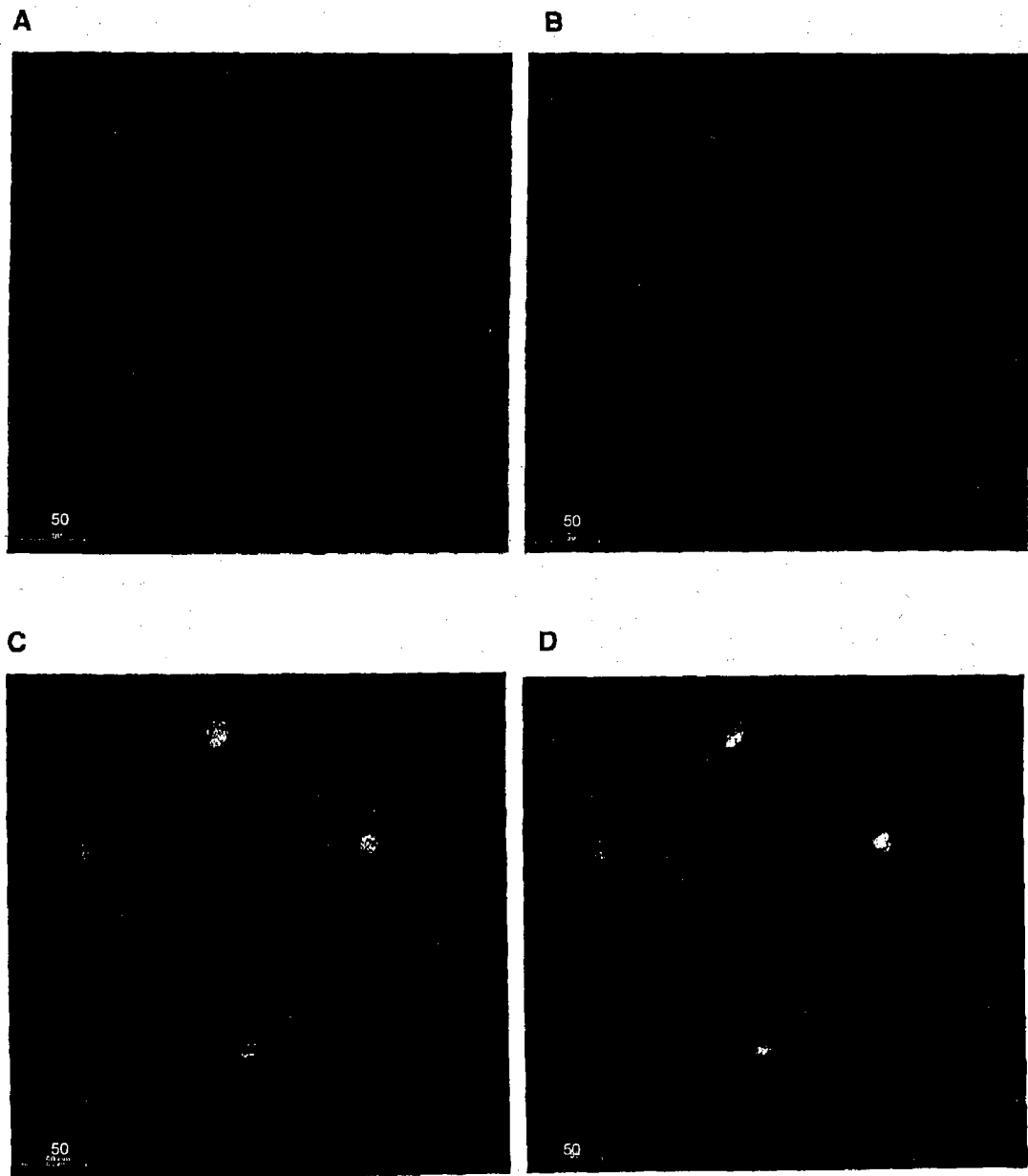


图 10

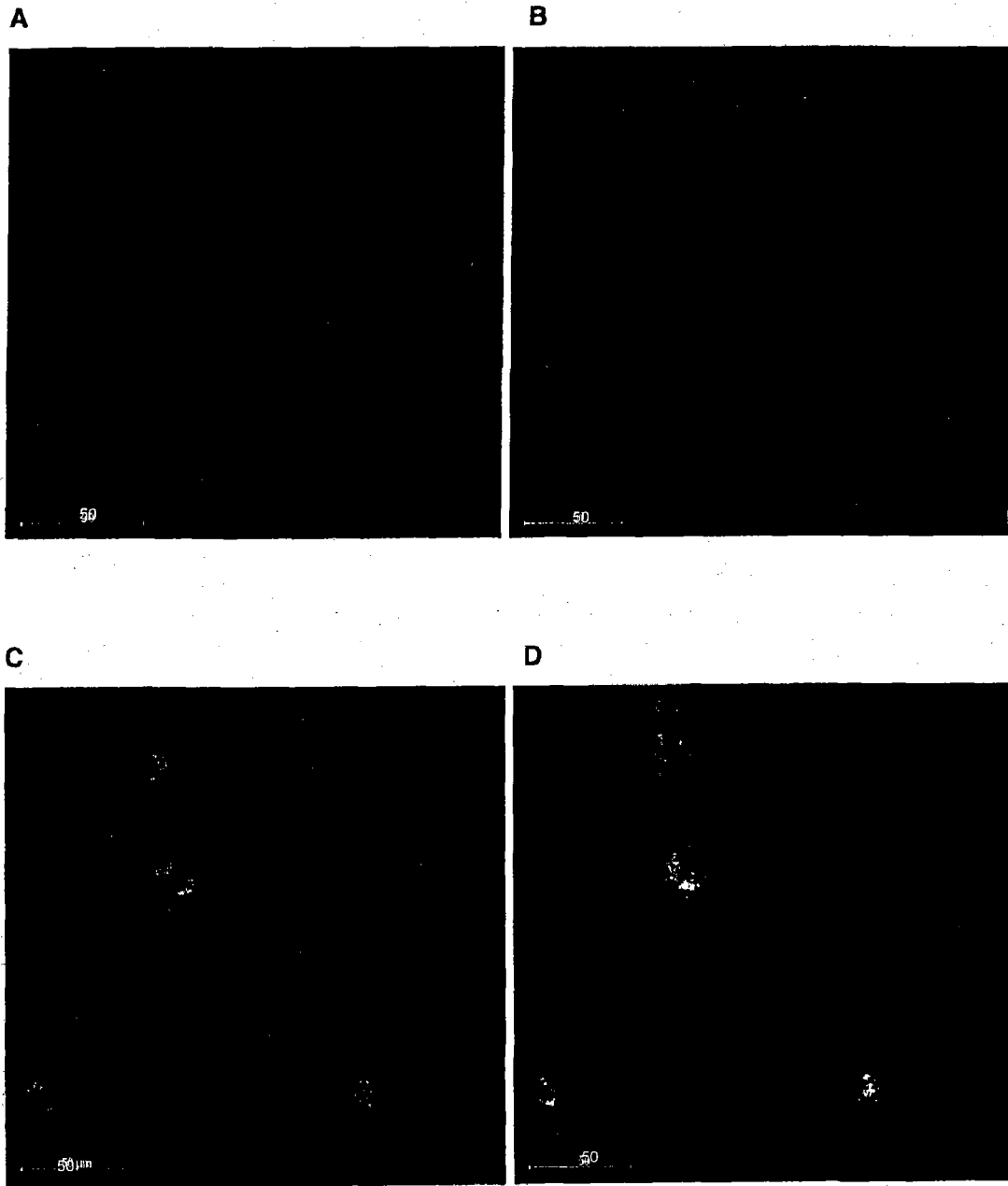


图 11

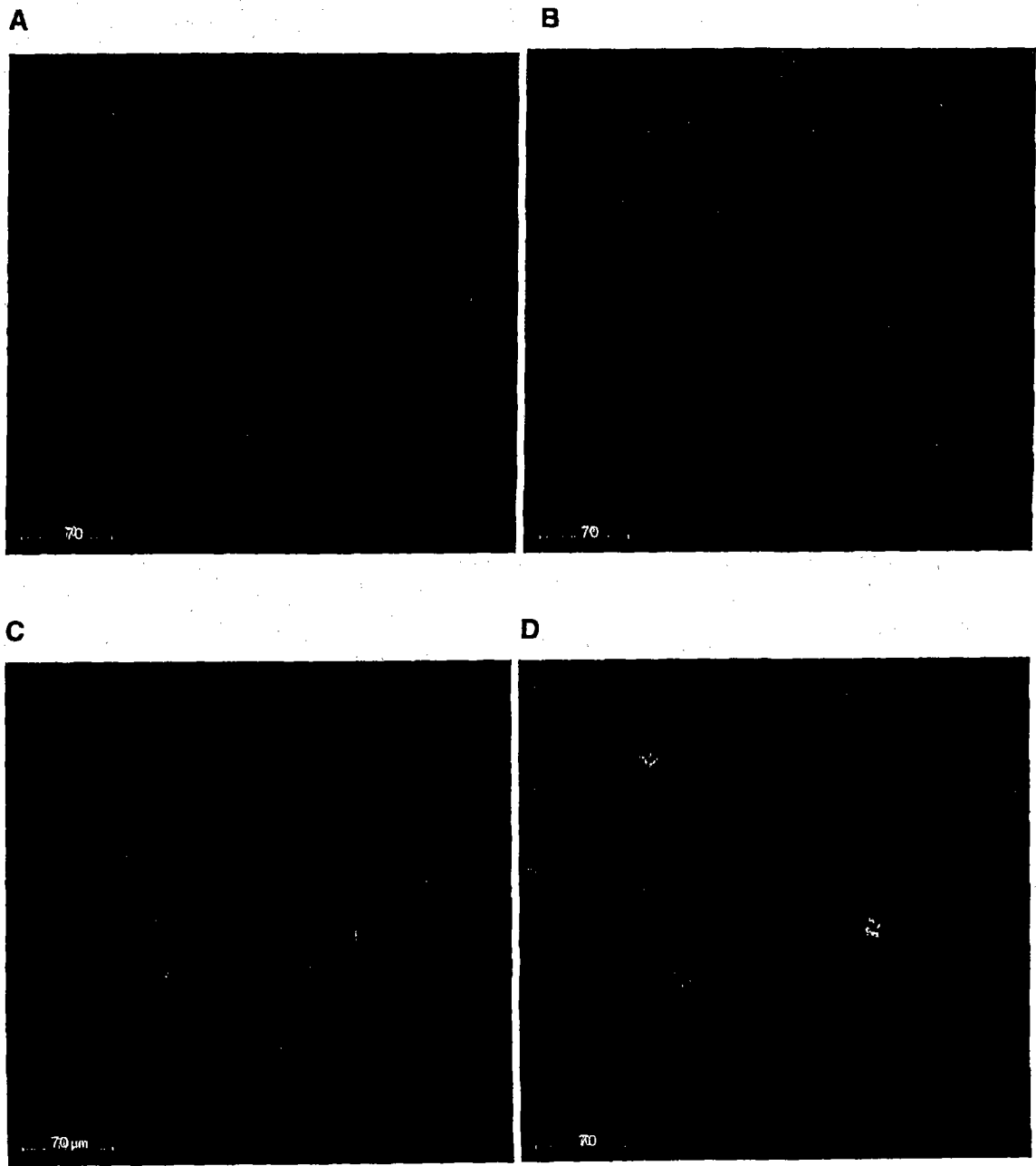


图 12

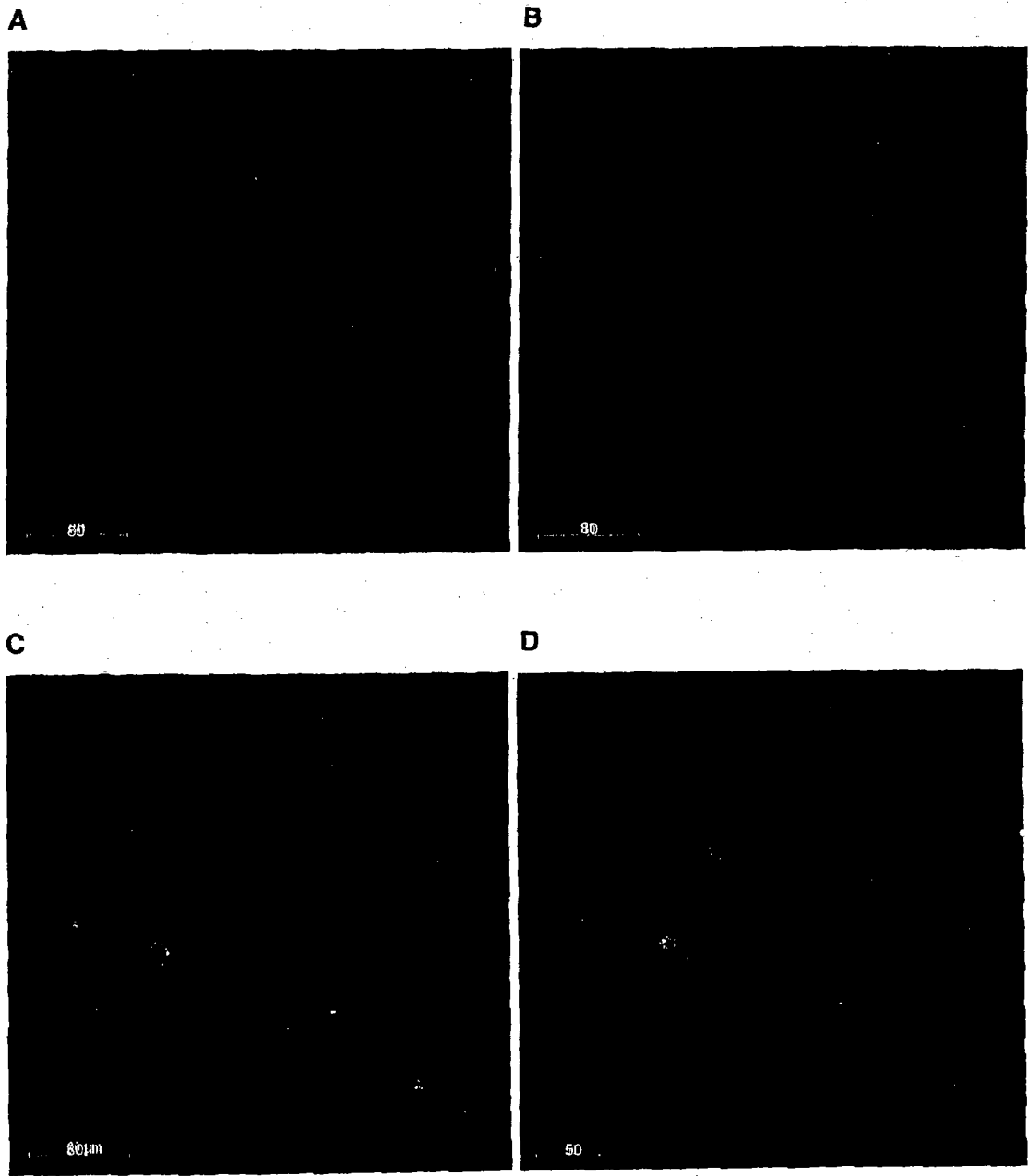


图 13

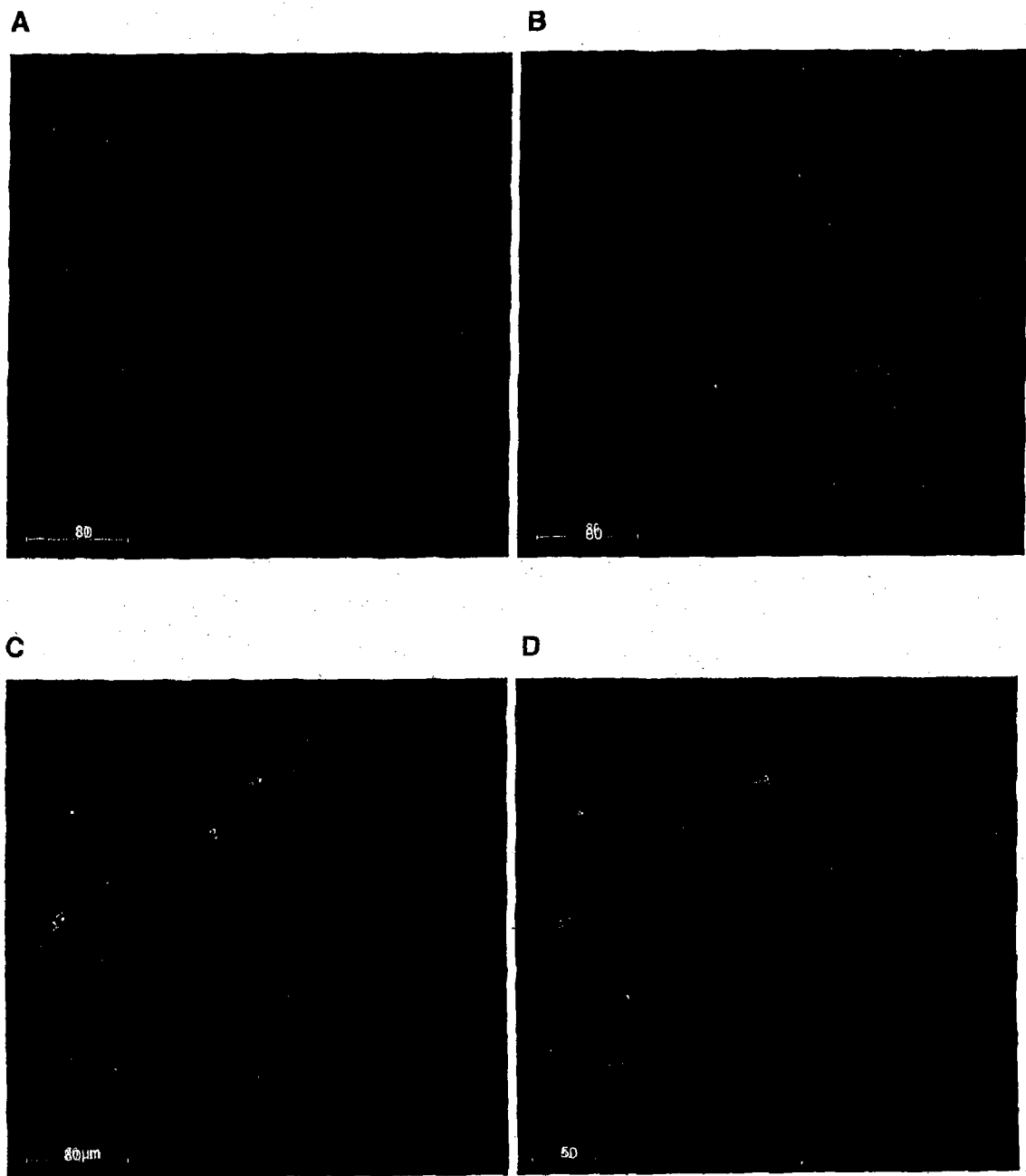


图 14

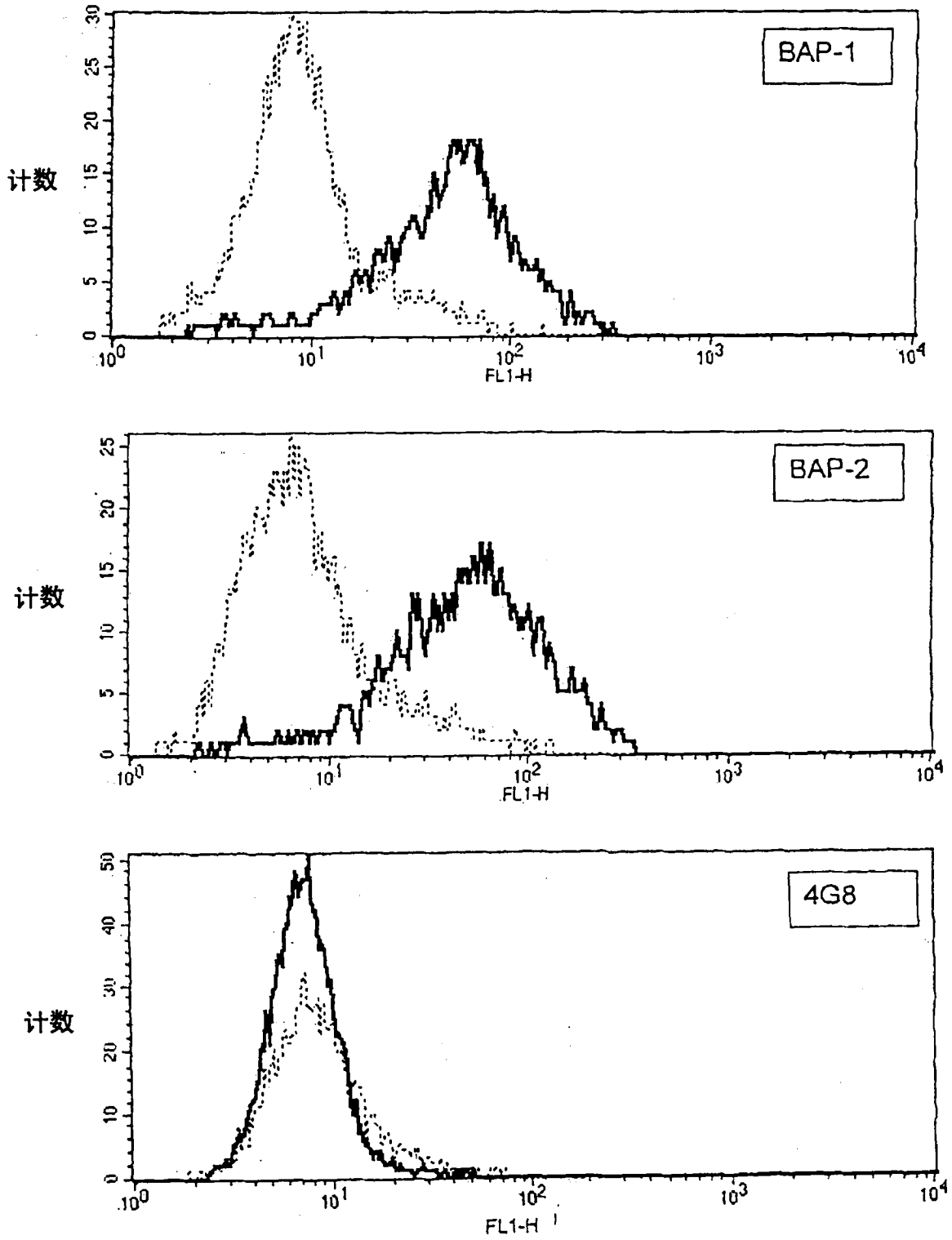


图 15-1

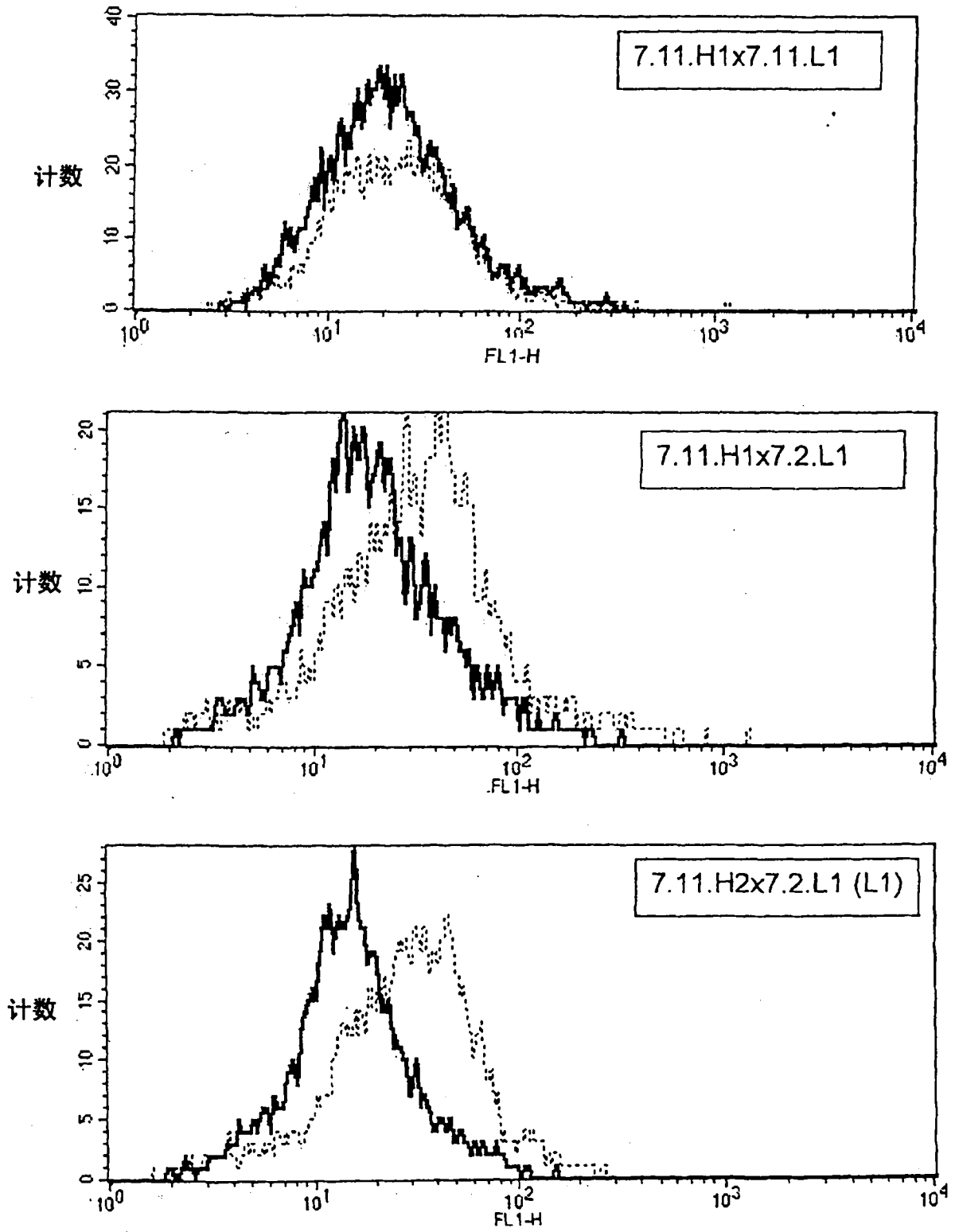


图 15-2

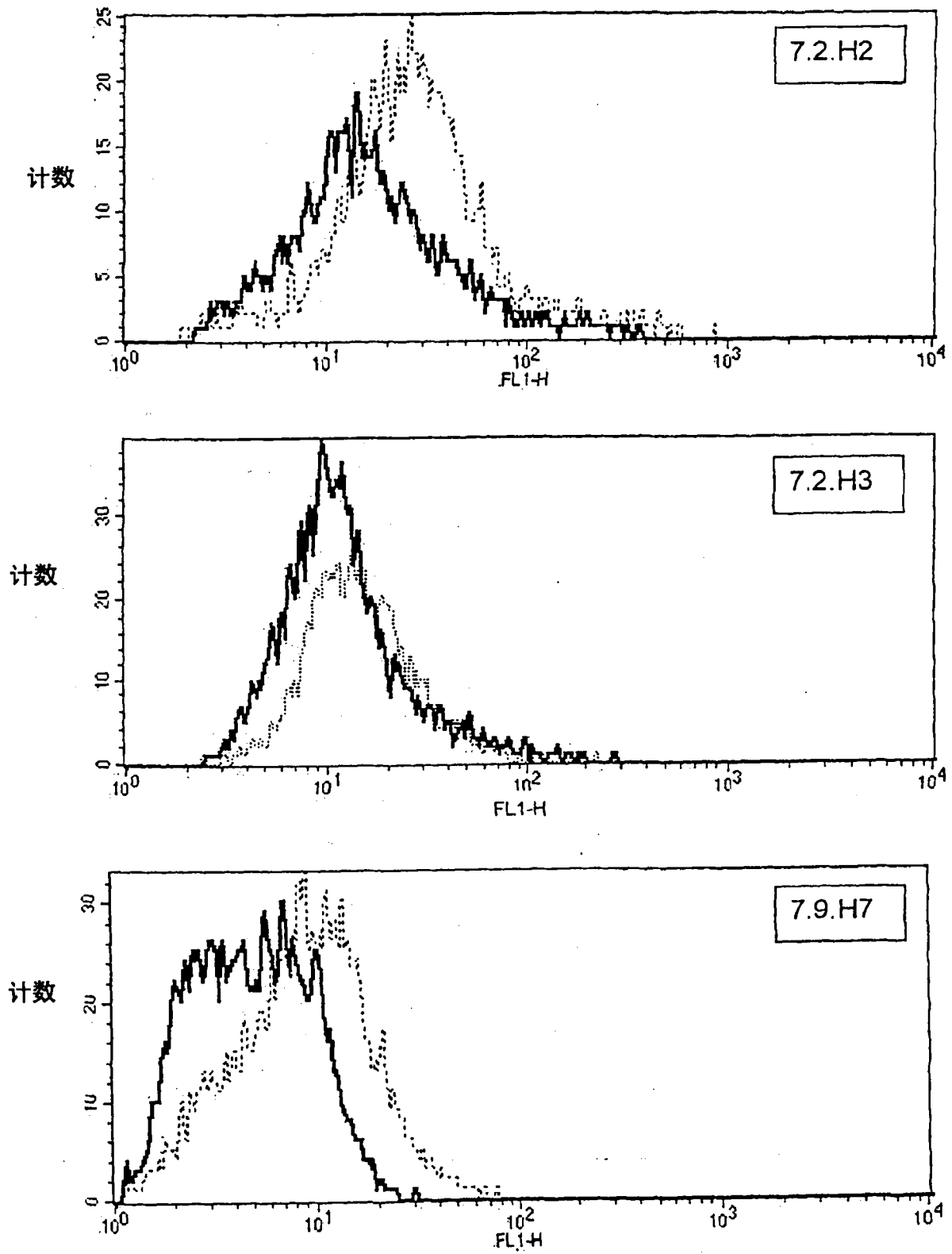


图 15-3

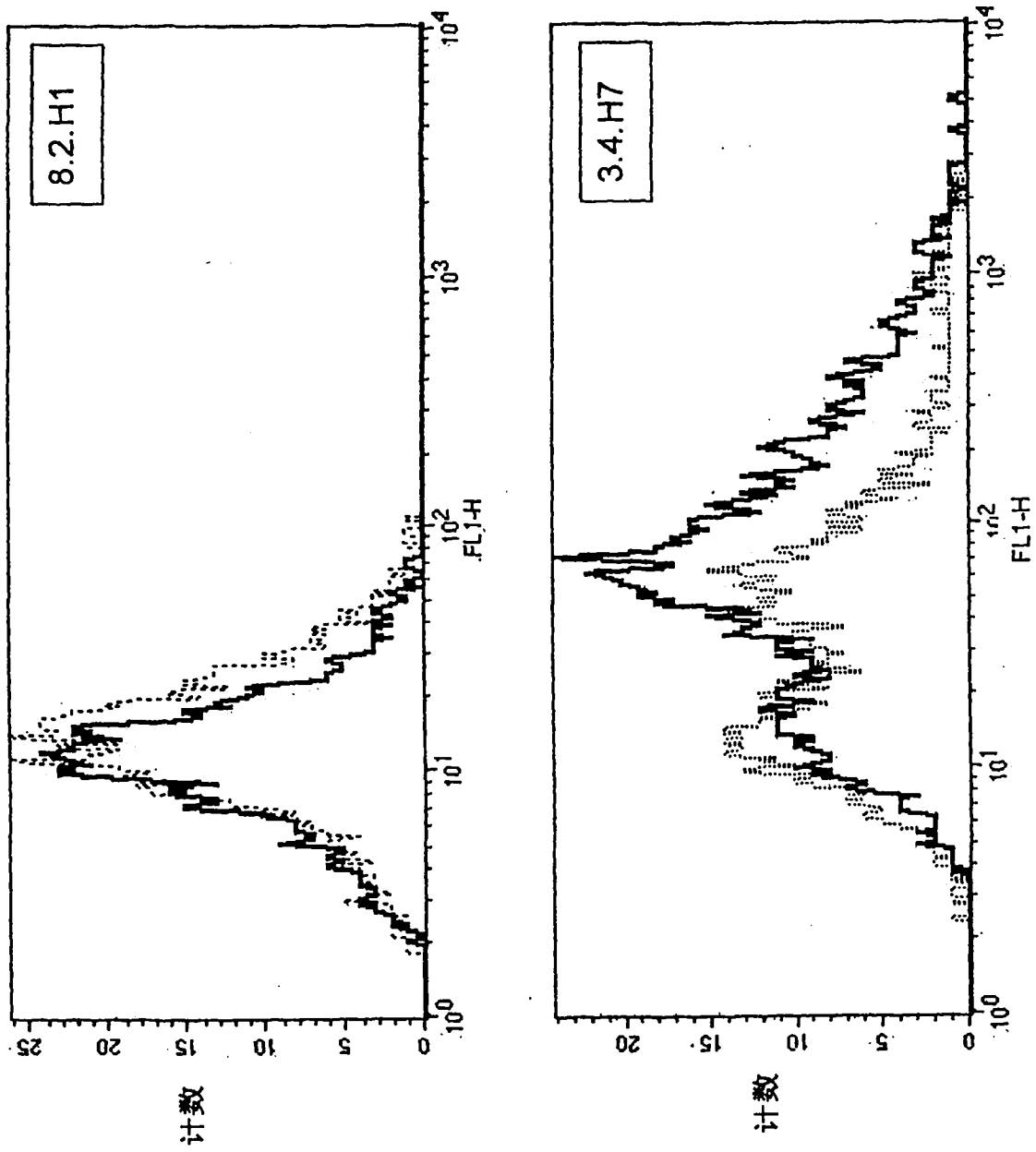


图 15-4