



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104530238 B

(45)授权公告日 2019.11.26

(21)申请号 201410816632.5

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2011.08.26

C07K 16/40(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104530238 A

(56)对比文件

US 2007172482 A1, 2007.07.26,

(43)申请公布日 2015.04.22

US 2009208510 A1, 2009.08.20,

(30)优先权数据

US 2009311245 A1, 2009.12.17,

61/377,886 2010.08.27 US

Erik Martens et al. A monoclonal antibody inhibits gelatinase B\_MMP-9 by selective binding to part of the

(62)分案原申请数据

catalytic domain and not to the fibronectin or zinc binding domains.

201180041422.8 2011.08.26

《Biochimica et Biophysica Acta》.2006, 第 1770 卷(第2期), 178-186.

(73)专利权人 吉利德生物制剂公司

审查员 王溯铭

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 斯科特·艾伦·麦考利

权利要求书2页 说明书19页  
序列表19页 附图3页

玛利亚·沃伊斯贝戈

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

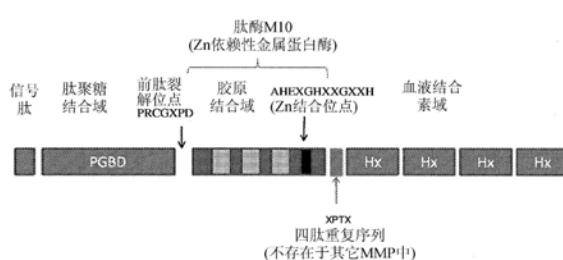
代理人 邹宗亮

(54)发明名称

基质金属蛋白酶9的抗体

(57)摘要

本发明提供涉及结合到基质金属蛋白酶-9MMP9蛋白质(MMP9也称为明胶酶-B)上的结合蛋白(例如抗体和其抗原结合片段)的组合物和使用方法,其中所述结合蛋白包含免疫球蛋白Ig重链(或其功能片段)和Ig轻链(或其功能片段)。



1. 一种经分离的MMP9结合蛋白,其包含:  
免疫球蛋白重链多肽或其功能片段,和  
免疫球蛋白轻链多肽或其功能片段,  
其中所述MMP9结合蛋白特异性结合人MMP9,  
其中经分离的MMP9结合蛋白对MMP9的所述结合非竞争性地抑制MMP9的酶促活性,  
其中所述经分离的MMP9结合蛋白结合人类MMP9的抗原决定基,所述抗原决定基包含氨基酸残基R162、E111、D113和I198,  
其中重链多肽或其功能片段包含选自由SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:5到SEQ ID NO:8组成的群组的氨基酸序列,以及轻链多肽或其功能片段包含选自由SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:9到SEQ ID NO:12组成的群组的氨基酸序列,以及  
其中所述重链多肽是IgG。
2. 一种经分离的MMP9结合蛋白,其包含:  
免疫球蛋白重链多肽或其功能片段,和  
免疫球蛋白轻链多肽或其功能片段,  
其中所述MMP9结合蛋白特异性结合人MMP9,  
其中经分离的MMP9结合蛋白对MMP9的所述结合非竞争性地抑制MMP9的酶促活性,  
其中所述经分离的MMP9结合蛋白结合人类MMP9的抗原决定基,所述抗原决定基包含氨基酸残基R162、E111、D113和I198,以及  
其中重链多肽或其功能片段包含选自由SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:5到SEQ ID NO:8组成的群组的氨基酸序列,以及轻链多肽或其功能片段包含选自由SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:9到SEQ ID NO:12组成的群组的氨基酸序列,以及  
其中所述结合蛋白是人类化或嵌合抗体。
3. 根据权利要求1或2所述的MMP9结合蛋白,其中所述免疫球蛋白重链多肽或其功能片段包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,以及所述免疫球蛋白轻链多肽或其功能片段包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列。
4. 根据权利要求1或2所述的MMP9结合蛋白,其中所述免疫球蛋白重链多肽或其功能片段由包含选自由SEQ ID NO:19到SEQ ID NO:22组成的群组的核苷酸序列的聚核苷酸编码,且所述免疫球蛋白轻链多肽或其功能片段由包含选自由SEQ ID NO:23到SEQ ID NO:26组成的群组的核苷酸序列的聚核苷酸编码。
5. 一种经分离的核酸,其包含编码根据权利要求1或2所述的经分离的MMP9结合蛋白的核苷酸序列。
6. 根据权利要求5所述的经分离的核酸,其中所述重链多肽由SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列组成。
7. 根据权利要求5所述的经分离的核酸,其中所述轻链多肽由SEQ ID NO:2中所示的氨基酸序列组成。
8. 根据权利要求5所述的经分离的核酸,其包含选自由SEQ ID NO:19到SEQ ID NO:26组成的群组的序列。
9. 一种载体,其包含根据权利要求5所述的经分离的核酸。
10. 一种细胞,其包含根据权利要求9所述的载体。

11. 一种医药组合物,其包含根据权利要求1-4中任一项所述的MMP9结合蛋白。
12. 一种医药组合物,其包含根据权利要求9所述的载体。
13. 一种医药组合物,其包含根据权利要求10所述的细胞。
14. 一种如权利要求11所述的医药组合物在制备药物中的用途,所述药物用于抑制带有具有MMP9活性的肿瘤或肿瘤相关组织的个体中的MMP9活性,其中所述医药组合物的量为有效抑制MMP9活性的量。
15. 一种如权利要求1-4中任一项所述的MMP9结合蛋白在制备药物中的用途,所述药物用于检测MMP9在病人的组织中的表达,其中检测MMP9在所述组织的样品中存在或不存在,以及在所述组织样品中存在MMP9指示MMP9在组织中的表达。

## 基质金属蛋白酶9的抗体

[0001] 本申请是申请日为2011年8月26日、申请号为201180041422.8、发明名称为“基质金属蛋白酶9的抗体”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请案的交叉参考

[0003] 本申请案主张2010年8月27日申请的美国临时申请案第61/377,886号的优先权，所述申请案以全文引用的方式并入本文中。

### 技术领域

[0004] 本发明是在细胞外酶、细胞外基质酶、蛋白酶和免疫学的领域内。

### 背景技术

[0005] 基质金属蛋白酶(MMP)是参与形成和重塑细胞外基质的细胞外酶家族。这些酶含有保守催化域，在所述保守催化域中，锌原子由三个组氨酸残基配位。当前，已知这一家族的超过20名成员，所述成员被组织成包括胶原酶、明胶酶、溶基质素(stromelysin)、基质溶素(matrilysin)、釉质溶素(enamelysin)和膜MMP在内的若干群组。

[0006] MMP2和MMP9属于基质金属蛋白酶的明胶酶群组。除了含有大多数MMP所共有的信号肽、前肽、催化、锌结合和血液结合素样域以外，明胶酶还含有多个纤维结合蛋白样域和0-糖基化域。

[0007] 异常活性的某些MMP已显示在肿瘤生长、癌转移、发炎和血管疾病中起作用。参见，例如胡(Hu)等人(2007)自然评论:药物发现(Nature Reviews:Drug Discovery)6:480-498。因此，在特定治疗环境中会需要抑制一种或一种以上MMP的活性。然而，某些其它MMP的活性常为正常功能所必需。由于大多数MMP抑制剂靶向保守催化域，且因此抑制许多不同的MMP，故其治疗性使用已引起因为必需的非致病相关MMP受到抑制而导致的副作用。

[0008] 纵使有这一问题，已证明还是难以开发对特定MMP具有特异性的抑制剂，因为酶促活性的抑制通常需要抑制剂靶向催化域。因此，基质金属蛋白酶酶促活性的大多数抑制剂很可能与一种以上MMP反应，归因于所述一种以上MMP的催化域中的同源性。因而，仍然存在对特异性抑制单个MMP的催化活性且不与其它MMP反应的治疗试剂的需求。

### 发明内容

[0009] 本发明提供了涉及结合到基质金属蛋白酶-9(MMP9)蛋白质(MMP9也称为明胶酶-B)上的结合蛋白(例如抗体和其抗原结合片段)的组合物和使用方法，其中所述结合蛋白包含免疫球蛋白(Ig)重链(或其功能片段)和Ig轻链(或其功能片段)。本发明另外提供特异性结合到MMP9上且不结合到其它相关基质金属蛋白酶上的MMP9结合蛋白。所述MMP9结合蛋白应用于有必要或需要获得MMP9的特异性调节(例如抑制)(例如不直接影响其它基质金属蛋白酶的活性)的应用中。因此，在本发明的某些实施例中，抗MMP9抗体是MMP9的活性的特异性抑制剂。具体地说，本文所公开的MMP9结合蛋白将适用于抑制MMP9，同时允许其它相关基质金属蛋白酶的正常功能。

[0010] 因此,本发明尤其提供:

[0011] 1. 一种MMP9结合蛋白,其包含免疫球蛋白重链或其功能片段和免疫球蛋白轻链或其功能片段,其中所述蛋白不结合到除MMP9以外的基质金属蛋白酶上。

[0012] 2. 根据实施例1所述的蛋白质,其中所述重链包含选自SEQ ID NO:13到SEQ ID NO:15中的一者或一者以上的互补决定区(CDR),且所述轻链包含选自SEQ ID NO:16到SEQ ID NO:18中的一者或一者以上的CDR。

[0013] 3. 根据实施例2所述的蛋白质,其中所述重链包含选自由SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:5到SEQ ID NO:8组成的群组的可变区,且所述轻链包含选自由SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:9到SEQ ID NO:12组成的群组的可变区。

[0014] 4. 根据实施例1所述的蛋白质,其中所述重链是IgG。

[0015] 5. 根据实施例1所述的蛋白质,其中所述轻链是κ链。

[0016] 6. 根据实施例1所述的蛋白质,其中所述蛋白质对MMP9的结合抑制了MMP9的酶促活性。

[0017] 7. 根据实施例6所述的蛋白质,其中所述抑制是非竞争性的。

[0018] 8. 根据实施例1所述的蛋白质,其中所述重链由具有选自由SEQ ID NO:19到SEQ ID NO:22组成的群组的核苷酸序列的聚核苷酸编码,且所述轻链由具有选自由SEQ ID NO:23到SEQ ID NO:26组成的群组的核苷酸序列的聚核苷酸编码。

[0019] 9. 一种载体,其包含一种或一种以上聚核苷酸,所述聚核苷酸具有选自由SEQ ID NO:19到SEQ ID NO:26组成的群组的核苷酸序列。

[0020] 10. 一种细胞,其包含根据实施例9所述的载体。

[0021] 11. 一种医药组合物,其包含根据实施例1所述的蛋白质。

[0022] 12. 一种医药组合物,其包含根据实施例9所述的载体。

[0023] 13. 一种医药组合物,其包含根据实施例10所述的细胞。

## 附图说明

[0024] 图1展示小鼠单克隆抗MMP9抗体(AB0041)的重链可变区的氨基酸序列,以及重链的人类化变异数的氨基酸序列(VH1-VH4),所述氨基酸序列经比对以展示由人类化得到的构架氨基酸序列中的差异。CDR以斜体形式展示,且人类化变异数中与亲本小鼠单克隆相比不同的氨基酸加下划线。

[0025] 图2展示小鼠单克隆抗MMP9抗体(AB0041)的轻链可变区的氨基酸序列,以及这一轻链的人类化变异数的氨基酸序列(VL1-VL4),所述氨基酸序列经比对以展示由人类化得到的构架氨基酸序列中的差异。CDR以斜体形式展示,且人类化变异数中与亲本小鼠单克隆相比不同的氨基酸加下划线。

[0026] 图3展示MMP9蛋白质的示意图。

## 具体实施方式

[0027] 除非另外指明,否则本发明的实践采用细胞生物学、毒理学、分子生物学、生物化学、细胞培养、免疫学、肿瘤学、重组DNA和相关领域中的标准方法和常规技术,这是处于此项技术的技能范围内的。所述技术描述于文献中,且从而可供所属领域的技术人员使用。参

见,例如阿尔贝茨B. (Alberts, B.) 等人,“细胞分子生物学 (Molecular Biology of the Cell)”,第5版,加兰科学出版公司 (Garland Science),纽约州纽约 (New York, NY), 2008; 富特D. (Voet, D.) 等人“基础生物化学: 分子水平下的生命 (Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level)”,第3版,约翰威立父子出版公司 (John Wiley&Sons),新泽西州霍伯肯 (Hoboken, NJ), 2008; 萨姆布鲁克J. (Sambrook, J.) 等人,“分子克隆: 实验室手册 (Molecular Cloning: A Laboratory Manual)”,第3版,冷泉港实验室出版社 (Cold Spring Harbor Laboratory Press), 2001; 奥苏贝尔F. (Ausubel, F.) 等人,“分子生物学实验指南 (Current Protocols in Molecular Biology)”,约翰威立父子出版公司,纽约,1987和定期更新; 弗莱士尼R.I. (Freshney, R.I.),“动物细胞培养: 基础技术手册 (Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique)”,第4版,约翰威立父子出版公司,新泽西州萨默塞特 (Somerset, NJ), 2000; 和“酶学方法 (Methods in Enzymology)”丛书,学术出版社 (Academic Press), 加利福尼亚州圣地亚哥 (San Diego, CA)。

[0028] 此外,参见例如“免疫学实验指南 (Current Protocols in Immunology)”,(R科伊科 (R. Coico) 丛书编辑),威立出版公司 (Wiley), 2010年8月最新更新。

[0029] MMP9结合蛋白

[0030] 本发明提供结合到基质金属蛋白酶-9 (MMP9) 蛋白质 (MMP9也称为明胶酶-B) 上的结合蛋白 (例如抗体和其抗原结合片段)。本发明的结合蛋白通常包含免疫球蛋白 (Ig) 重链 (或其功能片段) 和 Ig轻链 (或其功能片段)。

[0031] 本发明另外提供特异性结合到MMP9上且不结合到其它基质金属蛋白酶 (例如 MMP1、MMP2、MMP3、MMP7、MMP9、MMP10、MMP12、MMP13) 上的MMP9结合蛋白。因此,所述特异性 MMP9结合蛋白一般不明显或可检测地与非MMP9基质金属蛋白酶交叉反应。特异性结合MMP9的 MMP9结合蛋白应用于有必要或需要获得MMP9的特异性调节 (例如抑制) (例如不直接影响其它基质金属蛋白酶的活性) 的应用中。

[0032] 在本发明的某些实施例中,抗MMP9抗体是MMP9活性的抑制剂,且可以是MMP9的特异性抑制剂。具体地说,本文所公开的MMP9结合蛋白将适用于抑制MMP9,同时允许其它相关基质金属蛋白酶的正常功能。“MMP的抑制剂”或“MMP9活性的抑制剂”可以是抗体或其抗原结合片段,其直接或间接抑制MMP9活性,包括(但不限于)酶促加工、抑制MMP9对其底物的作用(例如通过抑制底物结合、底物裂解等)等。

[0033] 本发明还提供特异性结合到非小鼠MMP9 (例如人类MMP9、猕猴MMP9和大鼠MMP9) 的MMP9结合蛋白上。

[0034] 本发明还提供充当非竞争性抑制剂的MMP9结合蛋白 (例如抗MMP9抗体和其功能片段)。“非竞争性抑制剂”是指抑制剂在远离酶的底物结合位点的位点处结合,且由此可结合酶并实现抑制活性,无论酶是否结合到其底物上。所述非竞争性抑制剂可例如提供可实质上不依赖于底物浓度的抑制水平。

[0035] 本发明的MMP9结合蛋白 (例如抗体和其功能片段) 包括结合MMP9 (尤其人类MMP9) 的MMP结合蛋白,且其具有与本文所公开的重链多肽具有至少约80%、85%、90%、95%或95%以上氨基酸序列一致性的重链多肽 (或其功能片段)。

[0036] 本发明的MMP9结合蛋白 (例如抗体和其功能片段) 包括结合MMP9 (尤其人类MMP9) 的MMP结合蛋白,且其具有与本文所公开的轻链多肽具有至少约80%、85%、90%、95%或

95%以上氨基酸序列一致性的轻链多肽(或其功能片段)。

[0037] 本发明的MMP9结合蛋白(例如抗体和其功能片段)包括结合MMP9(尤其人类MMP9)且具有重链多肽(或其功能片段)和轻链多肽(或其功能片段)的MMP结合蛋白,所述重链多肽(或其功能片段)具有如本文所公开的重链多肽的互补决定区(“CDR”)和所述轻链多肽(或其功能片段)具有如本文所公开的轻链多肽的CDR。

[0038] 如本文中所用,在核酸和多肽的情形下,“同源性”或“一致性”或“相似性”是指分别基于氨基酸序列或核酸序列的比对的两个多肽或两个核酸分子之间的关系。同源性和一致性可各自通过比较每一个序列中的位置来测定,所述序列可出于比较的目的进行比对。当经比较的序列中的等效位置被相同碱基或氨基酸占据时,那么分子在所述位置处是一致的;当等效位点被相同或相似氨基酸残基(例如空间和/或电子性质上相似)占据时,那么分子可被称为在所述位置处同源(相似)。作为同源性/相似性或一致性的百分比的表达是指在经比较的序列所共有的位置处一致或相似的氨基酸的数目的函数。在比较两个序列时,不存在残基(氨基酸或核酸)或存在额外残基也降低一致性和同源性/相似性。

[0039] 如本文所用,“一致性”意指当序列经比对以使序列匹配最大化(即,考虑间隙和插入)时,在两个或两个以上序列的相应位置处一致的核苷酸或氨基酸残基的百分比。序列通常经比对以达成在指定区内的最大对应性,所述指定区例如是长度为至少约20、25、30、35、40、45、50、55、60、65个或65个以上氨基酸或核苷酸、且可最大达到参考氨基酸或核苷酸的全长的区。对于序列比较,通常一个序列充当参考序列,将测试序列与其比较。当使用序列比较算法时,将测试序列和参考序列输入计算机程序,必要时,指定子序列坐标,且指定序列算法程序参数。然后,序列比较算法基于指定的程序参数来计算测试序列相对于参考序列的序列一致性百分比。

[0040] 适于测定序列一致性百分比的算法的实例是BLAST和BLAST 2.0算法,所述算法分别描述于阿特休尔(Altschul)等人(1990)分子生物学杂志(J. Mol. Biol.)215:403-410和阿特休尔等人(1977)核酸研究(Nucleic Acids Res.)25:3389-3402中。执行BLAST分析的软件可公开通过国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov))获得。其它示例性算法包括ClustalW(希金斯D. (Higgins D.)等人(1994)核酸研究22:4673-4680),其可在[www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw/index.html](http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw/index.html)获得。

[0041] 不一致的残基位置可因保守氨基酸取代而不同。保守氨基酸取代是指具有相似侧链的残基的可交换性。举例来说,具有脂肪族侧链的氨基酸群组是甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;具有脂肪族-羟基侧链的氨基酸群组是丝氨酸和苏氨酸;具有含酰胺侧链的氨基酸群组是天冬酰胺和谷氨酰胺;具有芳香族侧链的氨基酸群组是苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;具有碱性侧链的氨基酸群组是赖氨酸、精氨酸和组氨酸;且具有含硫侧链的氨基酸群组是半胱氨酸和蛋氨酸。

[0042] 两个核酸之间的序列一致性还可从两个分子在严格条件下彼此杂交方面描述。杂交条件可根据此项技术中的标准方法(参见,例如萨姆布鲁克等人,分子克隆:实验室手册,第2版,(1989)冷泉港出版公司(Cold Spring Harbor),纽约)进行选择。严格杂交条件的一个实例是在50°C或50°C以上和0.1×SSC(15mM氯化钠/1.5mM柠檬酸钠)下杂交。严格杂交条件的另一实例是在42°C下在以下溶液中孵育过夜:50%甲酰胺、5×SSC(150mM NaCl、15mM

柠檬酸三钠)、50mM磷酸钠(pH 7.6)、5×登哈特氏溶液(Denhardt's solution)、10%硫酸葡聚糖和20mg/ml变性的经剪切的鲑精DNA;随后在约65℃下在0.1×SSC中洗涤过滤器。严格杂交条件是至少如上述代表性条件般严格的杂交条件,其中如果条件如上述特定严格条件至少约80%般严格、通常至少90%般严格,那么所述条件被视为至少如上述特定严格条件般严格。

[0043] 因此,本发明提供例如抗体或其抗原结合片段,其包含:重链可变区多肽,其与本文所述的重链可变区的氨基酸序列(例如SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5到SEQ ID NO:8)具有至少80%、85%、90%、95%或95%以上的氨基酸序列一致性;和可变轻链多肽,其与本文所述的轻链多肽的氨基酸序列(例如SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:9到SEQ ID NO:12)具有至少80%、85%、90%、95%或95%以上的氨基酸序列一致性。

[0044] 以下更详细地描述本发明的抗MMP9抗体的实例。

#### [0045] 抗体

[0046] MMP9结合蛋白包括抗体和其功能片段。如本文所用的术语“抗体”意指经分离的或重组多肽结合剂,其包含特异性结合抗原的抗原决定基的肽序列(例如可变区序列)。所述术语以其最广泛的意义使用且特定涵盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体、人类抗体、人类化抗体、嵌合抗体、纳米抗体、双功能抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)以及包括(但不限于)Fv、scFv、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>和Fab<sub>2</sub>的抗体片段,只要其展示所需生物学活性即可。术语“人类抗体”是指除可能的非人类CDR区以外含有人类来源序列的抗体,且不暗示存在免疫球蛋白分子的完整结构,仅暗示抗体在人类中具有最低免疫原性作用(即,不诱导对其自身产生抗体)。

[0047] “抗体片段”包含全长抗体的一部分,例如全长抗体的抗原结合区或可变区。所述抗体片段在本文中也可称为“功能片段”或“抗原结合片段”。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>和Fv片段;双功能抗体;线性抗体(萨帕塔(Zapata)等人(1995)蛋白质工程(Protein Eng.)8(10):1057-1062);单链抗体分子;和由抗体片段形成的多特异性抗体。木瓜蛋白酶消化抗体产生:两个一致的抗原结合片段,称为“Fab”片段,所述片段各具有单个抗原结合位点;和剩余的“Fc”片段(一种反映容易结晶的能力的名称)。胃蛋白酶处理产生F(ab')<sub>2</sub>片段,其具有两个抗原组合位点且仍然能够使抗原交联。

[0048] “Fv”是含有完整抗原识别和抗原结合位点的最小抗体片段。这一区由呈紧密、非共价缔合形式的一个重链可变域和一个轻链可变域的二聚物组成。在这一构型中,每一个可变域的三个互补决定区(CDR)相互作用以界定V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub>二聚物表面上的抗原结合位点。六个CDR共同赋予抗体以抗原结合特异性。然而,即使是单个可变域(或仅包含对抗原具有特异性的六个CDR中的三者的经分离的V<sub>H</sub>或V<sub>L</sub>区)也具有识别和结合抗原的能力,不过亲和力通常比完整Fv片段低。

[0049] 除重链和轻链可变区以外,“Fab”片段还含有轻链的恒定域和重链的第一恒定域(CH<sub>1</sub>)。Fab片段起初在木瓜蛋白酶消化抗体后观察到。Fab'片段与Fab片段的不同之处在于F(ab')片段在重链CH<sub>1</sub>域的羧基端含有若干其它残基,所述残基包括来自抗体铰链区的一个或一个以上半胱氨酸。F(ab')<sub>2</sub>片段含有两个Fab片段,所述Fab片段接近铰链区由二硫键连接,且起初在胃蛋白酶消化抗体之后观察到。Fab'-SH在本文中是恒定域的半胱氨酸残基携有游离硫醇基的Fab'片段的名称。抗体片段的其它化学偶合也是已知的。

[0050] 来自任何脊椎动物物种的抗体(免疫球蛋白)的“轻链”可基于其恒定域的氨基酸序列而被指定为两个明确不同类型(称为 $\kappa$ 和 $\lambda$ )中的一者。视其重链恒定域的氨基酸序列而定,免疫球蛋白可被指定成5个主要种类:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,且数个这些种类可进一步分为子类(同型),例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。

[0051] “单链Fv”或“sFv”或“scFv”抗体片段包含抗体的 $V_H$ 和 $V_L$ 域,其中这些域以单个多肽链的形式存在。在一些实施例中,Fv多肽另外包含在 $V_H$ 和 $V_L$ 域之间的多肽连接子,所述多肽连接子使sFv能够形成用于抗原结合的所需结构。对于sFv的综述,参见普吕克通(Pluckthun),单克隆抗体的药理学(The Pharmacology of Monoclonal Antibodies),第113卷(罗森堡(Rosenburg)和穆尔(Moore)编)施普林格出版公司(Springer-Verlag),纽约,第269页到第315页(1994)。

[0052] 术语“双功能抗体”是指具有两个抗原结合位点的小抗体片段,所述片段包含与相同多肽链( $V_H$ - $V_L$ )中的轻链可变域( $V_L$ )连接的重链可变域( $V_H$ )。通过使用过短而不允许在同一链上的两个域之间配对的连接子,所述域被迫与另一链的互补域配对,从而产生两个抗原结合位点。双功能抗体另外描述于例如EP 404,097、WO 93/11161和霍林格(Hollinger)等人(1993)美国科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.)美国90:6444-6448中。

[0053] “经分离的”抗体是已鉴别且自其天然环境的组分中分离和/或回收的抗体。其天然环境的组分可包括酶、激素和其它蛋白性或非蛋白性溶质。在一些实施例中,经分离的抗体经纯化(1)达到如由洛利法(Lowry method)测定大于抗体的95重量%,例如大于99重量%;(2)达到例如通过使用旋杯测序仪足以获得N端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度;或(3)达到通过凝胶电泳(例如SDS-PAGE)在还原或非还原性条件下且利用考马斯蓝(Coomassie blue)或银染色检测均质。由于抗体天然环境中的至少一种组分将不存在,故术语“经分离的抗体”包括在重组细胞内的原位抗体。在某些实施例中,经分离的抗体通过至少一个纯化步骤制备。

[0054] 如本文所用,“免疫反应性”是指抗体或其片段对氨基酸残基序列(“结合位点”或“抗原决定基”)具有特异性,然而如果与其它肽/蛋白质交叉反应,那么在其被调配以供人类使用的投与的水平下无毒性。“抗原决定基”是指能够与抗体或其抗原结合片段形成结合相互作用的抗原部分。抗原决定基可以是线性肽序列(即,“连续的”)或可由非相连氨基酸序列组成(即,“构象的”或“不连续的”)。术语“优选结合”意指结合剂以与其结合无关氨基酸序列相比较大的亲和力结合到结合位点上。

[0055] 抗MMP9抗体可从重链和轻链的CDR方面描述。如本文所用的术语“CDR”或“互补决定区”打算意指在重链和轻链多肽两者的可变区内发现的非相连抗原组合位点。这些特定区已由以下描述:卡巴特(Kabat)等人,生物化学杂志(J.Biol.Chem.)252:6609-6616(1977);卡巴特等人,美国卫生和公共服务部(U.S.Dept.of Health and Human Services),“免疫学相关蛋白质的序列(Sequences of proteins of immunological interest)”(1991);乔塔(Chothia)等人,分子生物学杂志196:901-917(1987);和麦卡勒姆(MacCallum)等人,分子生物学杂志262:732-745(1996),其中定义包括当针对彼此比较时氨基酸残基的重叠或子集。尽管如此,涉及抗体的CDR或接枝的抗体或其变异体的任一定义的应用打算处于如本文中定义和使用的术语的范围内。涵盖如由以上引用的参考文献中的每一者定义的CDR的氨基酸残基作为比较阐述于以下表1中。

[0056] 表1:CDR定义

	卡巴特 <sup>1</sup>	乔塔 <sup>2</sup>	麦卡勒姆 <sup>3</sup>
[0057]	V <sub>H</sub> CDR1	31-35	26-32
	V <sub>H</sub> CDR2	50-65	53-55
	V <sub>H</sub> CDR3	95-102	96-101
	V <sub>L</sub> CDR1	24-34	26-32
	V <sub>L</sub> CDR2	50-56	50-52
	V <sub>L</sub> CDR3	89-97	91-96

[0058] <sup>1</sup>残基编号遵循卡巴特等人,上文的命名法

[0059] <sup>2</sup>残基编号遵循乔塔等人,上文的命名法

[0060] <sup>3</sup>残基编号遵循麦卡勒姆等人,上文的命名法

[0061] 当用于提及抗体可变区时,如本文所用的术语“构架”打算意指抗体的可变区内的CDR区之外的所有氨基酸残基。可变区构架通常是长度在约100到120个氨基酸之间的不连续氨基酸序列,但打算仅涉及在CDR以外的那些氨基酸。如本文所用的术语“构架区”打算意指被CDR分离的构架的每一个域。

[0062] 在一些实施例中,抗体是人类化抗体或人类抗体。人类化抗体包括人类免疫球蛋白(接受者抗体),其中来自接受者的互补决定区(CDR)的残基经具有所需特异性、亲和力和能力的来自非人类物种(供体抗体;例如小鼠、大鼠或兔)的CDR的残基置换。因此,非人类(例如鼠类)抗体的人类化形式是含有来源于非人类免疫球蛋白的最小序列的嵌合免疫球蛋白。非人类序列主要位于可变区中,尤其位于互补决定区(CDR)中。在一些实施例中,人免疫球蛋白的Fv构架残基经相应非人类残基置换。人类化抗体还可包含既非见于接受者抗体中又非见于引入的CDR或构架序列中的残基。在某些实施例中,人类化抗体包含实质上所有的(至少一个、且通常两个)可变域,其中所有或实质上所有的CDR对应于非人类免疫球蛋白的CDR,且所有或实质上所有的构架区是人免疫球蛋白共同序列的构架区。出于本发明的目的,人类化抗体还可包括免疫球蛋白片段,例如抗体的Fv、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>或其它抗原结合子序列。

[0063] 人类化抗体还可包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常人免疫球蛋白恒定区的至少一部分。参见,例如,琼斯(Jones)等人(1986)自然(Nature)321:522-525;里希曼(Riechmann)等人(1988)自然332:323-329;和普雷斯塔(Presta)(1992)结构生物学新见(Curr.Op.Struct.Biol.)2:593-596。

[0064] 此项技术中已知用于人类化非人类抗体的方法。人类化抗体通常具有从非人类来源引入其中的一个或一个以上氨基酸残基。这些非人类氨基酸残基通常称为“引入”或“供体”残基,其通常从“引入”或“供体”可变域获得。举例来说,可基本上根据温特(Winter)和同事的方法,通过用啮齿动物CDR或CDR序列取代人类抗体的相应序列来进行人类化。参见,例如琼斯等人,上文;里希曼等人,上文和费尔海恩(Verhoeyen)等人(1988)科学(Science)239:1534-1536。因此,所述“人类化”抗体包括嵌合抗体(美国专利第4,816,567号),其中实质上少于完整人类可变域的可变域已经来自非人类物种的相应序列取代。在某些实施例中,人类化抗体是人类抗体,其中一些CDR残基和任选一些构架区残基经来自啮齿动物抗体(例如鼠类单克隆抗体)中的相似位点的残基取代。

[0065] 人类抗体还可例如通过使用噬菌体展示文库来产生。胡根波姆(Hoogenboom)等人

(1991) 分子生物学杂志, 227:381; 马克斯 (Marks) 等人 (1991) 分子生物学杂志 222:581。用于制备人类单克隆抗体的其它方法由以下描述: 科尔 (Cole) 等人 (1985) “单克隆抗体和癌症疗法 (Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy)” 阿兰 R. 利兹 (Alan R. Liss), 第 77 页和博尔纳 (Boerner) 等人 (1991) 免疫学杂志 (J. Immunol.) 147:86-95。

[0066] 人类抗体可通过将人免疫球蛋白基因座引入转基因动物 (例如小鼠) 中来制得, 所述转基因动物中内源性免疫球蛋白基因已部分或完全失活。免疫激发后, 观察到人类抗体产生, 所述抗体在各方面 (包括基因重排、装配和抗体谱) 都密切类似于在人类中所见的抗体。这一方法描述于例如美国专利第 5,545,807 号、第 5,545,806 号、第 5,569,825 号、第 5,625,126 号、第 5,633,425 号、第 5,661,016 号和以下科学出版物中: 马克斯等人 (1992) 生物技术 (Bio/Technology) 10:779-783 (1992); 伦贝格 (Lonberg) 等人 (1994) 自然 368:856-859; 莫里森 (Morrison) (1994) 自然 368:812-813; 费士沃尔德 (Fishwald) 等人 (1996) 自然生物技术 (Nature Biotechnology) 14:845-851; 纽伯格 (Neuberger) (1996) 自然生物技术 14:826; 和伦贝格等人 (1995) 国际免疫学评论 (Intern. Rev. Immunol.) 13:65-93。

[0067] 可使用如上所述的已知选择和/或诱发突变方法使抗体亲和力成熟。在一些实施例中, 亲和力成熟的抗体的亲和力是制备成熟抗体的起始抗体 (通常是鼠类、兔、鸡、人类化或人类抗体) 的亲和力的 5 倍或 5 倍以上、10 倍或 10 倍以上、20 倍或 20 倍以上或 30 倍或 30 倍以上。

[0068] 抗体还可以是双特异性抗体。双特异性抗体是单克隆的, 且可为对至少两种不同抗原具有结合特异性的人类或人类化抗体。在本发明情况下, 两种不同结合特异性可以是针对两种不同 MMP 或单一 MMP (例如 MMP9) 上的两个不同抗原决定基。

[0069] 如本文所公开的抗体还可以是免疫结合物。所述免疫结合物包含结合到第二分子 (例如报导体) 上的抗体 (例如 MMP9 的抗体)。免疫结合物还可包含结合到细胞毒性剂上的抗体, 所述细胞毒性剂例如是化学治疗剂、毒素 (例如细菌、真菌、植物或动物来源的酶促活性毒素或其片段) 或放射性同位素 (即, 放射性结合物)。

[0070] “特异性结合到”特定多肽或特定多肽上的抗原决定基上或“对”特定多肽或特定多肽上的抗原决定基“具有特异性”的抗体是结合到特定多肽或抗原决定基上而不实质上结合到任何其它多肽或多肽抗原决定基上的抗体。在一些实施例中, 本发明的抗体以下列解离常数 ( $K_d$ ) 特异性结合到人类 MMP9 上: 等于或低于 100 nM、任选低于 10 nM、任选低于 1 nM、任选低于 0.5 nM、任选低于 0.1 nM、任选低于 0.01 nM 或任选低于 0.005 nM; 呈以下形式: 单克隆抗体、scFv、Fab 或在约 4°C、25°C、37°C 或 42°C 的温度下测量的其它抗体形式。

[0071] 在某些实施例中, 本发明的抗体结合到 MMP9 中的一个或一个以上加工位点 (例如蛋白水解分裂位点) 上, 从而有效阻断原酶或前原酶对催化活性酶的加工, 且由此降低 MMP9 的蛋白水解活性。

[0072] 在某些实施例中, 根据本发明的抗体以与其对另一 MMP 的结合亲和力相比至少 2 倍、至少 5 倍、至少 10 倍、至少 25 倍、至少 50 倍、至少 100 倍、至少 500 倍或至少 1000 倍大的亲和力结合到 MMP9 上。结合亲和力可通过任何此项技术中已知的方法测量, 且可表示为例如结合速率 (on-rate)、解离速率 (off-rate)、解离常数 ( $K_d$ )、平衡常数 ( $K_{eq}$ ) 或此项技术中的任何术语。

[0073] 在某些实施例中, 根据本发明的抗体是 MMP9 催化活性的非竞争性抑制剂。在某些

实施例中,根据本发明的抗体结合于MMP9的催化域内。在其它实施例中,根据本发明的抗体结合在MMP9的催化域之外。

[0074] 本发明还涵盖抗体或其抗原结合片段,其与本文所述的抗MMP9抗体或其抗原结合片段竞争结合到MMP9上。因此,本发明涵盖抗MMP9抗体和其功能片段,其与例如具有以下的抗体竞争结合:SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5到SEQ ID NO:8中的任一者的重链多肽、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:9到SEQ ID NO:12的轻链多肽或其组合。在一个实施例中,抗MMP9抗体或其功能片段与本文中作为AB0041描述的抗体竞争结合到人类MMP9上。

[0075] MMP9序列

[0076] 人类MMP9蛋白质的氨基酸序列如下:

MSLWQPLVLLV	LLVLGCCFAA	PRQRQSTLVL	FPGDLRTNLT	DRQLAEEYLY	50
RYGYTRVAEM	RGESKSLGPA	LLLLQKQLSL	PETGEELDSAT	LKAMRTPRCG	100
VPDLGRFQTF	EGDLKWHHHN	ITYWIQNYSE	DLPRAVIDDA	FARAFALWSA	150
VTPLTFTRVY	SRDADIVIQF	GVAEHGDGYP	FDGKDGLLAH	AFPPCPGIQG	200
DAHFDDDELW	SLGKGVVVPT	RFGNADGAAC	HFFPFIGEGRS	YSACTTDGRS	250
DGLPNCSTTA	NYDTDDRFGE	CPSERLYTRD	GNADGKPCQF	PFIFQGQSYS	300
ACTTDGRSDG	YRWCATTANY	DRDKLFGFCP	TRADSTVMGG	NSAGELCVFP	350
[0077] FTFLGKEYST	CTSEGRGDGR	LWCATTSNFD	SDKKWGFCPD	QGYSLFLVAA	400
HEFGHALGLD	HSSVPEALMY	PMYRFTEGPP	LHKDDVNGIR	HLYGPRPEPE	450
PRPPTTTTPQ	PTAAPPVCPT	GPPTVHPSER	PTAGPTGPPS	AGPTGPPTAG	500
PSTATTVPLS	PVDDACNVNI	FDAIAEIGNQ	LYLFKDGKYW	RFSEGRGSRP	550
QGPFLIADKW	PALPRKLDGV	FEEPLSKKLF	FFSGRQVWVY	TGASVILGPRR	600
LDKLGLGADV	AQVTGALRSG	RGKMLLFSGR	RLWRFDVKAQ	MVDPRSASEV	650
DRMFPGVPLD	THDVFQYREK	AYFCQDRFYW	RVSSRSELNQ	VDQVGYVTYD	700
ILQCPED	(SEQ ID NO:27)				

[0078] 蛋白质域示意地展示于图3中且指示如下:

[0079] 氨基酸编号      特征

1-19	信号肽
38-98	肽聚糖结合域
R98/C99	前肽裂解位点(视裂解酶而定)
112-445	Zn 依赖性金属蛋白酶域
223-271	纤维结合蛋白 II 型域(明胶结合域)
281-329	纤维结合蛋白 II 型域(明胶结合域)
[0080] 340-388	纤维结合蛋白 II 型域(明胶结合域)
400-411	Zn 结合区
521-565	血液结合素样域
567-608	血液结合素样域
613-659	血液结合素样域
661-704	血液结合素样域

[0081] 成熟全长人类MMP9的氨基酸序列(其是不具有信号肽的SEQ ID NO:27的前多肽的氨基酸序列)是:

FRQRQSTLVL FPGDLRTNLT DRQLAEELY RGYTRVAEM RGESKSLGPA  
 LLLLQKQLSL PETGEELDSAT LKAMRTPRCG VPDLGRFQTF EGDLKWHHHN  
 ITYWIQNYSE DLPRAVIDDA FARAFALWSA VTPLTFTRVY SRDADIVIQF  
 GVAEHGDGYP FDGKDGLAH AFPPGPGIQG DAHFDDDELW SLGKGVVVPT  
 RFGNADGAAC HFFFIFEGRS YSACTTDGRS DGLPWCSTTA NYDTDDRFGF  
 CPSERLYTRD GNADGKPCQF PFIFQGQSYS ACTTDGRSDG YRWCATTANY  
 [0082] DRDKLFGFCP TRADSTVMGG NSAGELCVFP FTFLGKEYST CTSEGRGDGR  
 LWCATTSNFD SDKKWGFCPD QGYSLFLVAA HEFGHALGLD HSSVPEALMY  
 PMYRFTEGPP LHKDDVNGIR HLYGPRPEPE PRPPTTTTPQ PTAPPTVCPT  
 GPPTVHPSER PTAGPTGPPS AGPTGPPTAG PSTATTVPLS PVDDACNVNI  
 FDAIAEIGNQ LYLFKDGKYW RFSECRGSRP QGPFLIADKW PALPRKLDSV  
 FEEPLSKKLF FFSGRQVWVY TGASVLGPRR LDKLGLGADV AQVTGALRSG  
 RGKMLLFSGR RLWRFDVKAQ MVDPRSASEV DRMFPGVPLD THDVFQYREK  
 AYFCQDRFYW RVSSRSELMQ VDQVGYVTYD ILQCPED (SEQ ID NO:28)

[0083] 其中信号肽的氨基酸序列是MSLWQPLVLV LLVLGCCFAA (SEQ ID NO:29)。

[0084] 本发明涵盖结合MMP9 (例如人类MMP9) 的任何部分的MMP9结合蛋白以及相对于其它尤其相关的MMP优选结合MMP9的MMP9结合蛋白。

[0085] 抗MMP9抗体和其功能片段可根据此项技术中熟知的方法产生。以下提供抗MMP9抗体的实例。

[0086] 小鼠单克隆抗MMP9

[0087] 如实例1中所述获得人类MMP9的小鼠单克隆抗体。这一抗体含有小鼠 IgG2b重链和小鼠κ轻链,且表示为AB0041。

[0088] AB0041重链的氨基酸序列如下:

[0089] MAVLVLFLCLVAFPSCVLSQVQLKESGPGLVAPSQSLSTTCTVSGFSLLSYGVHWVRQPPGKGLEWLGI  
 VIWTGGTTNYNSALMSRLSISKDDSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCARYYYGMDYWGQGTSVTVSS  
AKTTPPSVYVPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPESVTV  
TWNNSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTPSSTWPSQTVTCSVAHPASSITVDKKLEPSGPIS  
TINPCPPCKECHKCPAPNLEGGPSVIFPPNIKDVLMISLTPKVTCVVVDVSEDDPDVRISWF  
VNNVEVHTAQQTQTHREDYNSTIRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKIKG  
LVRAPQVYILPPPAEQLSRKDVSLLTCLVVGFNPGDISVEWTSNGHTEENYKDTAPVLDSDGSY  
FIYSKLDIKTSKWEKTDSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPGK (SEQ ID NO:1)

[0090] 信号序列加下划线,且IgG2b恒定区的序列以斜体形式呈现。

[0091] AB0041轻链的氨基酸序列如下:

[0092] MESQIQVVFVFLWLSGVGDIVMTQSHKFMSTSGDRVSTTCKASQDVRNTVAWYQQKTGQSPKLLI  
 YSSSYRNTGVPDFRTGSGSGTDFTFTISSLVQAEDELAVYFCQQHYITPYTFGGGTKLEIK  
RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKIDGSERQN  
GVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID NO:2)

[0093] 信号序列加下划线,且κ恒定区的序列以斜体形式呈现。

[0094] 以下氨基酸序列包含AB0041的IgG2b重链的可变区的构架区和互补决定区 (CDR) (其中CDR加下划线):

[0095] QVQLKESGPGLVAPSQSLSICTVSGFSLLSYGVHWVRQPPGKGLEWLGIWTGGTTNYNSALMSRLS

ISKDDSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKYYGMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:3)

[0096] 以下氨基酸序列包含AB0041的 $\kappa$ 轻链的可变区的构架区和互补决定区(CDR)(其中CDR加下划线)：

[0097] DIVMTQSHKFMSTVGDRVSITCKASQDVRNTVAWYQQKTGQSPKLLIYSSSYRNTGVPDRFTGSGSGTDFTFTISSLQAEDVAVYFCQQHYITPYTFGGGTKEIK (SEQ ID NO:4)

[0098] 重链变异数

[0099] AB0041重链和轻链的可变区的氨基酸序列通过改变重链和轻链可变区中的构架区序列而经分别修饰。实现这些序列变化以耗乏人类T细胞抗原决定基的抗体,从而减少或消除其在人类中的免疫原性(英国巴伯拉罕的安替透普公司(Antitope,Babraham,UK))。

[0100] 在人类IgG4重链背景中,构筑四个重链变异数,其含有使铰链域稳定的S241P氨基酸变化(安盖尔(Angal)等人(1993)分子免疫学(Molec.Immunol.)30:105-108),且表示为VH1、VH2、VH3和VH4。其构架区和CDR的氨基酸序列如下:

[0101] VH1

[0102] QVQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGFSLSYGVHWRQPPGKGLEWLGVWTGGTTNYNSALMSRLTISKDDSKSTVYLKMNSLKTEDTAIYYCARYYYGMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:5)

[0103] VH2

[0104] QVQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGFSLSYGVHWRQPPGKGLEWLGVWTGGTTNYNSALMSRLTISKDDSKNTVYLKMNSLKTEDTAIYYCARYYYGMDYWGQGTLTVSS (SEQ ID NO:6)

[0105] VH3

[0106] QVQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGFSLSYGVHWRQPPGKGLEWLGVWTGGTTNYNSALEMSRFTTSKDDSKNTVYLKMNSLKTEDTAIYYCARYYYGMDYWGQGTLTVSS (SEQ ID NO:7)

[0107] VH4

[0108] QVQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGFSLSYGVHWRQPPGKGLEWLGVWTGGTTNYNSALMSRFTISKDDSKNTLYLKMNSLKTEDTAIYYCARYYYGMDYWGQGTLTVSS (SEQ ID NO:8)

[0109] 图1展示人类化重链的可变区的氨基酸序列的比对,且指示在四个变异数中构架区中的氨基酸序列中的差异。

[0110] 轻链变异数

[0111] 在人类 $\kappa$ 链背景中,构筑四个轻链变异数,且表示为V $\kappa$ 1、V $\kappa$ 2、V $\kappa$ 3和V $\kappa$ 4。其构架区和CDR的氨基酸序列如下:

[0112] V $\kappa$ 1

[0113] DIVMTQSPSFLSASVGDRVTTCKASQDVRNTVAWYQQKTGKAPKLLIYSSSYRNTGVPDRFTGSGSGTDFTLTSSLQAEDVAVYFCQQHYITPYTFGGGTKEIK (SEQ ID NO:9)

[0114] V $\kappa$ 2

[0115] DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVRNTVVWYQQKPGKAPKLLIYSSSYRNTGVPDRFTGSGSGTDFTLTSSLQAEDVAVYFCQQHYITPYTFGGGTKEIK (SEQ ID NO:10)

[0116] V $\kappa$ 3

[0117] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTCKASQDVRNTVAWYQQKPGKAPKLLIYSSSYRNTGVPDRFSGSGSGTDFTLTSSLQAEDVAVYFCQQHYITPYTFGGGTKEIK (SEQ ID NO:11)

[0118] V $\kappa$ 4

[0119] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTCKASQDVRNTVAWYQQKPGKAPKLLIYSSSYRNTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHYTPYTFGGTKVEIK (SEQ ID NO:12)

[0120] 图2展示人类化轻链的可变区的氨基酸序列的比对,且指示在四个变异体中构架区中的氨基酸序列中的差异。

[0121] 人类化重链和轻链以所有可能的成对组合形式组合,产生许多功能性人类化抗MMP9抗体。

[0122] 还提供其它重链可变区氨基酸序列,其与本文所公开的重链可变区序列具有75%或75%以上、80%或80%以上、90%或90%以上、95%或95%以上或99%或99%以上同源性。此外,还提供其它轻链可变区氨基酸序列,其与本文所公开的轻链可变区序列具有75%或75%以上、80%或80%以上、90%或90%以上、95%或95%以上或99%或99%以上同源性。

[0123] 还提供其它重链可变区氨基酸序列,其与本文所公开的重链可变区序列具有75%或75%以上、80%或80%以上、90%或90%以上、95%或95%以上或99%或99%以上序列一致性。此外,还提供其它轻链可变区氨基酸序列,其与本文所公开的轻链可变区序列具有75%或75%以上、80%或80%以上、90%或90%以上、95%或95%以上或99%或99%以上序列一致性。

[0124] 互补决定区 (CDR)

[0125] 如本文所公开的抗MMP9抗体的重链的CDR具有以下氨基酸序列:

[0126] CDR1:GPSLLSYGVH (SEQ ID NO:13)

[0127] CDR2:VTWTGGTTNYNSALMS (SEQ ID NO:14)

[0128] CDR3:YYYGMDY (SEQ ID NO:15)

[0129] 如本文所公开的抗MMP9抗体的轻链的CDR具有以下氨基酸序列:

[0130] CDR1:KASQDVRNTVA (SEQ ID NO:16)

[0131] CDR2:SSSYRNT (SEQ ID NO:17)

[0132] CDR3:QQHYITPYT (SEQ ID NO:18)

[0133] 编码抗MMP9抗体的核酸

[0134] 本发明提供编码抗MMP9抗体和其功能片段的核酸。因此,本发明提供编码如本文所述的抗体或抗原结合片段的经分离的聚核苷酸(核酸)、含有所述聚核苷酸的载体以及用于将所述聚核苷酸转录和转译成多肽的宿主细胞和表达系统。

[0135] 本发明还涵盖呈包含至少一种如上聚核苷酸的质粒、载体、转录或表达盒形式的构筑体。

[0136] 本发明还提供重组宿主细胞,其包含一种或一种以上如上构筑体;以及制造本文所述的抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包含在重组宿主细胞中表达编码重链多肽和轻链多肽的核酸(在相同或不同宿主细胞中,和来自相同或不同构筑体)。表达可通过在适当条件下培养含有所述核酸的重组宿主细胞来实现。在通过表达制造之后,抗体或抗原结合片段可使用任何适合的技术分离和/或纯化,然后视情况使用。

[0137] 用于在多种不同宿主细胞中克隆和表达多肽的系统已众所周知。适合的宿主细胞包括细菌、哺乳动物细胞、酵母和杆状病毒系统。用于表达异源多肽的在此项技术中可利用的哺乳动物细胞株包括中国仓鼠卵巢细胞、海拉细胞(HeLa cell)、幼仓鼠肾细胞、NS0小鼠

黑色素瘤细胞和许多其它细胞。常见细菌宿主是大肠杆菌 (E.coli)。

[0138] 可选择或构筑含有适当调节序列的适合的载体,所述调节序列包括可操作地连接的启动子序列、终止子序列、聚腺苷酸化序列、增强子序列、标记基因和/或视情况的其它序列。载体视情况可以是质粒、病毒,例如噬菌体或噬菌粒。对于更多细节,参见例如分子克隆:实验室手册:第2版,萨姆布鲁克等人,1989,冷泉港实验室出版社。用于操作核酸(例如制备核酸构筑体、诱发突变、测序、将DNA引入细胞中和基因表达和分析蛋白质)的许多已知技术和方案详细地描述于分子生物学的简短方案 (Short Protocols in Molecular Biology),第2版,奥苏贝尔等人编,约翰威立父子出版公司,1992中。萨姆布鲁克等人和奥苏贝尔等人的公开内容以全文引用的方式并入本文中。

[0139] 编码相关多肽的核酸整合于宿主细胞的基因组中或可以稳定或短暂游离型元件的形式维持。

[0140] 多种表达控制序列(控制可操作地与其连接的DNA序列的表达的序列)中的任一者可用于这些载体中以表达DNA序列。举例来说,编码相关多肽的核酸可以可操作地连接于启动子,且提供于表达构筑体中以用于制造重组MMP9蛋白质或其部分的方法中。

[0141] 所属领域的技术人员意识到编码本文所公开的抗体链的核酸可使用分子生物学中的标准知识和程序合成。

[0142] 编码本文所公开的重链和轻链氨基酸序列的核苷酸序列的实例如下:

**VH1:** CAGGTGCAGC TGCAGGAATC CGGCCCTGGC CTGGTCAAGC CCTCCGAGAC  
 ACTGTCCCTG ACCTGCACCG TGTCCGGCTT CTCCCTGCTG TCCTACGGCG  
 TGCACGGGT CCGACAGCCT CCAGGGAAAGG GCCTGGAATG GCTGGGCGTG  
 ATCTGGACCG GCGGCACCAC CAACTACAAC TCCGCCCTGA TGTCGGGCT  
 GACCATCTCC AAGGACGACT CCAAGTCCAC CGTGTACCTG AAGATGAACT  
 CCCTGAAAAC CGAGGACACC GCCATCTACT ACTGCGCCCG GTACTACTAC  
 GGCATGGACT ACTGGGGCCA GGGCACCTCC GTGACCGTGT CCTCA (SEQ ID NO:19)

**VH2:** CAGGTGCAGC TGCAGGAATC CGGCCCTGGC CTGGTCAAGC CCTCCGAGAC  
 ACTGTCCCTG ACCTGCACCG TGTCCGGCTT CTCCCTGCTG TCCTACGGCG  
 TGCACGGGT CCGACAGCCT CCAGGCAAAG GCCTGGAATG GCTGGGCGTG  
 ATCTGGACCG GCGGCACCAC CAACTACAAC TCCGCCCTGA TGTCGGGCT  
 GACCATCTCC AAGGACGACT CCAAGAACAC CGTGTACCTG AAGATGAACT  
 CCCTGAAAAC CGAGGACACC GCCATCTACT ACTGCGCCCG GTACTACTAC  
 GGCATGGACT ACTGGGGCCA GGGCACCTG GTCACCGTGT CCTCA (SEQ ID NO:20)

[0143]

**VH3:** CAGGTGCAGC TGCAGGAATC CGGCCCTGGC CTGGTCAAGC CCTCCGAGAC  
 ACTGTCCCTG ACCTGCACCG TGTCCGGCTT CTCCCTGCTG TCCTACGGCG  
 TGCACGGGT CCGACAGCCT CCAGGCAAAG GCCTGGAATG GCTGGGCGTG  
 ATCTGGACCG GCGGCACCAC CAACTACAAC TCCGCCCTGA TGTCGGGCT  
 CACCATCTCC AAGGACGACT CCAAGAACAC CGTGTACCTG AAGATGAACT  
 CCCTGAAAAC CGAGGACACC GCCATCTACT ACTGCGCCCG GTACTACTAC  
 GGCATGGACT ACTGGGGCCA GGGCACCTG GTCACCGTGT CCTCA (SEQ ID NO:21)

**VH4:** CAGGTGCAGC TGCAGGAATC CGGCCCTGGC CTGGTCAAGC  
 CCTCCGAGAC ACTGTCCCTG ACCTGCACCG TGTCCGGCTT CTCCCTGCTG  
 TCCTACGGCG TGCACGGGT CCGACAGCCT CCAGGCAAAG GCCTGGAATG  
 GCTGGGCGTG ATCTGGACCG GCGGCACCAC CAACTACAAC TCCGCCCTGA  
 TGTCGGGCTT CACCATCTCC AAGGACGACT CCAAGAACAC CCTGTACCTG  
 AAGATGAACT CCCTGAAAAC CGAGGACACC GCCATCTACT ACTGCGCCCG  
 GTACTACTAC GGCATGGACT ACTGGGGCCA GGGCACCTG GTCACCGTGT CCTCA (SEQ  
 ID NO:22)

**Vkl:** GACATCGTGA TGACCCAGTC CCCCCAGCTTC CTGTCCGCCT  
 CCGTGGCGA CAGAGTGACC ATCACATGCA AGGCCTCTCA GGACGTGCGG  
 AACACCGTGG CCTGGTATCA GCAGAAAACC GGCAAGGCC CCAAGCTGCT  
 GATCTACTCC TCCTCCTACC GGAACACCGG CGTGCCTGAC CGGTTTACCG  
 GCTCTGGCTC CGGCACCGAC TTTACCTGA CCATCAGCTC CCTGCAGGCC  
 GAGGACGTGG CCGTGTACTT CTGCCAGCAG CACTACATCA CCCCCCTACAC  
 CTTCGGCGGA GGCACCAAGG TGGAAATAAA A (SEQ ID NO:23)

**Vk2:** GACATCGTGA TGACCCAGTC CCCCTCCAGC CTGTCCGCCT CTGTGGCGA  
 CAGAGTGACC ATCACATGCA AGGCCTCTCA GGACGTGCGG AACACCGTGG  
 CCTGGTATCA GCAGAAGCCC GGCAAGGCC CCAAGCTGCT GATCTACTCC  
 TCCTCCTACC GGAACACCGG CGTGCCCGAC CGGTTTACCG GCTCTGGCTC  
 CGGCACCGAC TTTACCCCTGA CCATCAGCTC CCTGCAGGCC GAGGACGTGG  
 CCGTGTACTT CTGCCAGCAG CACTACATCA CCCCTACAC CTTCGGCGGA  
 GGCACCAAGG TGGAAATAAA A (SEQ ID NO:24)

**Vk3:** GACATCCAGA TGACCCAGTC CCCCTCCAGC CTGTCCGCCT CTGTGGCGA  
 CAGAGTGACC ATCACATGCA AGGCCTCCCA GGACGTGCGG AACACCGTGG  
 CCTGGTATCA GCAGAAGCCC GGCAAGGCC CCAAGCTGCT GATCTACTCC  
 [0144] TCCTCCTACC GGAACACCGG CGTGCCCGAC CGGTTCTCTG GCTCTGGAAG  
 CGGCACCGAC TTTACCCCTGA CCATCAGCTC CCTGCAGGCC GAGGACGTGG  
 CCGTGTACTT CTGCCAGCAG CACTACATCA CCCCTACAC CTTCGGCGGA  
 GGCACCAAGG TGGAAATAAA A (SEQ ID NO:25)

**Vk4:** GACATCCAGA TGACCCAGTC CCCCTCCAGC CTGTCCGCCT CTGTGGCGA  
 CAGAGTGACC ATCACATGCA AGGCCTCTCA GGACGTGCGG AACACCGTGG  
 CCTGGTATCA GCAGAAGCCC GGCAAGGCC CCAAGCTGCT GATCTACTCC  
 TCCTCCTACC GGAACACCGG CGTGCCCGAC CGGTTCTCTG GCTCTGGAAG  
 CGGCACCGAC TTTACCCCTGA CCATCAGCTC CCTGCAGGCC GAGGACGTGG  
 CCGTGTACTA CTGCCAGCAG CACTACATCA CCCCTACAC CTTCGGCGGA  
 GGCACCAAGG TGGAAATAAA A (SEQ ID NO:26)

[0145] 由于抗体的结构(包括可变区中CDR和构架区的并置)、构架区的结构以及重链和轻链恒定区的结构为此项技术中所熟知;故其充分处于获得编码抗MMP-9抗体的有关核酸的技术的技能范围内。因此,还提供聚核苷酸,其包含与本文所公开的核苷酸序列中的任一者具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%和至少99%同源性的核酸序列。因此,还提供聚核苷酸,其包含与本文所公开的核苷酸序列中的任一者具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%和至少99%一致性的核酸序列。

**[0146] 医药组合物**

[0147] MMP9结合蛋白以及编码MMP9结合蛋白的核酸(例如DNA或RNA)可作为医药组合物(例如与医药学上可接受的载剂或赋形剂组合)提供。所述医药组合物适用于例如活体内或离体投与个体,且适用于用MMP9结合蛋白诊断和/或治疗个体。

[0148] 医药学上可接受的载剂是所投与的患者生理学上可接受的,且保留与其一起投与的抗体或肽的治疗性质。医药学上可接受的载剂和其调配物通常描述于例如雷明顿药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences) (第18版,A.热纳罗(A.Gennaro)编,麦克出版公司(Mack Publishing Co.),宾夕法尼亚州伊斯顿(Easton,PA),1990)中。一种示例性药物载剂是生理盐水。在与调配物的其它成分相容且对患者实质上无害的意义上,各载剂是“医药学上可接受的”。

[0149] 医药组合物可经调配以与特定投药途径(全身或局部)相容。因此,医药组合物包

括适于通过各种途径投与的载剂、稀释剂或赋形剂。

[0150] 医药组合物可包括医药学上可接受的添加剂。添加剂的实例包括(但不限于)糖,例如甘露糖醇、山梨糖醇、葡萄糖、木糖醇、海藻糖、山梨糖、蔗糖、半乳糖、葡聚糖、右旋糖、果糖、乳糖和其混合物。医药学上可接受的添加剂可与医药学上可接受的载剂和/或赋形剂(例如右旋糖)组合。添加剂还包括表面活性剂,例如聚山梨醇酯20或聚山梨醇酯80。

[0151] 调配和传递方法通常将根据待治疗的部位和疾病调适。示例性调配物包括(但不限于)适于胃肠外投与(例如静脉内、动脉内或皮下投与)的调配物。

[0152] 用于胃肠外传递的医药组合物包括例如水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、汉克氏溶液(Hank's solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)、右旋糖/盐水和葡萄糖溶液。调配物可含有助剂物质以接近生理条件,所述助剂物质例如为缓冲剂、张力调节剂、湿润剂、清洁剂等。添加剂还可包括其它活性成分,例如杀细菌剂或稳定剂。举例来说,溶液可含有醋酸钠、乳酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、脱水山梨糖醇单月桂酸酯或油酸三乙醇胺。其它胃肠外调配物和方法描述于以下中:白(Bai) (1997) 神经免疫学杂志(J.Neuroimmunol.) 80: 6575;沃伦(Warren) (1997) 神经科学杂志(J.Neurol.Sci.) 152:3138;和舍川(Tonegawa) (1997) 实验医学杂志(J.Exp.Med.) 186:507515。胃肠外制剂可封入由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[0153] 用于皮内或皮下投与的医药组合物可包括:无菌稀释液,例如水、盐水溶液、不挥发性油类、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂;抗细菌剂,例如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,例如抗坏血酸、谷胱甘肽或亚硫酸氢钠;螯合剂,例如乙二胺四乙酸;缓冲剂,例如醋酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐;和用于调节张力的试剂,例如氯化钠或右旋糖。

[0154] 用于注射的医药组合物包括水溶液(其中水溶性)或分散液和用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。对于静脉内投与,适合的载剂包括生理盐水、抑菌水、Cremophor ELTM(新泽西州帕西帕尼的巴斯夫公司(BASF, Parsippany, NJ))或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。载剂可以是溶剂或分散介质,其含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)和其适合混合物。可例如通过使用例如卵磷脂的涂层、通过在分散液情况下维持所需粒径以及通过使用表面活性剂来维持流动性。抗细菌剂和抗真菌剂包括例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸和硫柳汞(thimerosal)。组合物中可包括等渗剂,例如糖、多元醇(例如甘露糖醇、山梨糖醇)和氯化钠。所得溶液可经包装以按现状使用或经冻干;冻干制剂可稍后在投与之前与无菌溶液合并。

[0155] 医药学上可接受的载剂可含有稳定、增加或延迟吸收或清除的化合物。所述化合物包括例如碳水化合物,例如葡萄糖、蔗糖或葡聚糖;低分子量蛋白质;减少肽的清除或水解的组合物;或赋形剂或其它稳定剂和/或缓冲剂。延迟吸收的试剂包括例如单硬脂酸铝和明胶。清洁剂也可用于使医药组合物(包括脂质体载剂)的吸收稳定或增大或减少。为了防止消化,化合物可与组合物复合以使得其耐酸和耐酶促水解,或化合物可复合于适当耐受性载剂(例如脂质体)中。此项技术中已知保护化合物免于消化的方式(参见,例如费克斯(Fix) (1996) 药学研究(Pharm Res.) 13:17601764;萨马宁(Samanen) (1996) 药学和药理学杂志(J.Pharm.Pharmacol.) 48:119135;和美国专利第5,391,377号,描述用于经口传递治疗剂的脂质组合物)。

[0156] 本发明的组合物可与如本文中所提供的其它治疗部分或成像/诊断部分组合。治

疗部分和/或成像部分可作为独立组合物或作为存在于MMP9结合蛋白上的结合部分提供。

[0157] 活体内投与的调配物通常是无菌的。在一个实施例中,医药组合物经调配以不含热原,使得其对于投与人类患者而言是可接受的。

[0158] 所属领域的技术人员根据本发明将获知各种其它医药组合物以及其制备和使用的技术。对于适合的药理学组合物和相关投药技术的详情清单,可参考本文中的详细教示,所述教示可由以下教科书进一步补充:例如雷明顿:药学的科学和实践(Remington: The Science and Practice of Pharmacy)第20版(利平科特(Lippincott),威廉和威尔金斯出版公司(Williams&Wilkins)2003)。

[0159] 医药组合物可基于需要治疗的患者/个体的身体特征、投药途径等调配。所述医药组合物可包装于具有适当标记的适合药物包装中以用于向医院和诊所分配,其中所述标记是用于治疗个体的如本文所述的病症的适应症。药物可以单个或多个单元形式包装。本发明的医药组合物的剂量和投与的说明书可与如下所述的药物包装和试剂盒一起包括在内。

[0160] 使用方法

[0161] 本发明的MMP9结合蛋白可用于例如检测样本中MMP9的方法、治疗方法(例如抑制血管生成的方法)和诊断方法。使用方法的实例描述如下。

[0162] 治疗方法

[0163] 本文中所提供的治疗与MMP9活性相关的疾病和病症的方法。疾病和病症包括(但不限于)表达MMP9的肿瘤(例如原发性或转移性的)或安置在表达MMP9的组织中的肿瘤。

[0164] 如本文所用,“治疗(treat或treatment)”意指停滞或延缓与本文所述的疾病或病症相关的症状的发展。所述术语另外包括改善现有不受控制的或不当的症状、预防其它症状以及改善或预防症状的潜在代谢病因。因此,所述术语表示有益结果已赋予哺乳动物个体,所述哺乳动物个体患有疾病或症状、或具有发展所述疾病或症状的可能性。当患者经历疾病的体征或症状部分或完全减轻或减少,且具体地说包括(但不限于)存活延长时,达成回应。预期的无进展存活时间可在数月到数年中测量,取决于预后因素,所述预后因素包括复发次数、疾病阶段和其它因素。

[0165] 本发明涵盖用于与所述方法结合的医药组合物。组合物可适于通过任何适合途径来局部或全身投与。

[0166] 通常,MMP9结合蛋白以治疗有效量、例如以实现抑制个体的肿瘤生长和/或抑制癌转移的量投与。

[0167] 如本文所用,术语“治疗有效量”或“有效量”是指治疗剂的量,其在单独或与另一治疗剂组合投与个体时有效预防或改善疾病病况或疾病进展。治疗有效剂量另外是指化合物的量,所述量足以引起症状改善,例如相关医学病况的治疗、治愈、预防或改善,或所述病况的治疗、治愈、预防或改善的速率增加。当应用于单独投与的个别活性成分时,治疗有效剂量是指单独的所述成分。当应用于组合时,治疗有效剂量是指无论组合、连续或同时投与,产生治疗作用的活性成分的组合量。举例来说,当采用活体内投与抗MMP9抗体时,正常剂量可在以下范围内:每天约10纳克/千克哺乳动物体重到最多100毫克/千克哺乳动物体重、优选约1微克/千克/天到50毫克/千克/天、任选约100微克/千克/天到20毫克/千克/天、500微克/千克/天到10毫克/千克/天或1毫克/千克/天到10毫克/千克/天,视投药途径而定。

[0168] 所选给药方案将视多种因素而定,所述因素包括MMP9结合蛋白的活性;投药途径;投药时间;排泄所用特定化合物的速率;治疗的持续时间;与所用特定组合物组合使用的其它药物、化合物和/或物质;所治疗患者的年龄、性别、体重、病况、一般健康状态和先前病史;和医学技术中熟知的类似因素。

[0169] 具有一般技术的临床医师可容易地确定和指定所需医药组合物的有效量(ED50)。举例来说,医师或兽医可使医药组合物中所用的本发明化合物的剂量以低于达成所需治疗作用所需的水平起始,且逐渐增大剂量直到达成所需作用为止。

[0170] 如本文所用,术语“个体”意指哺乳动物个体。示例性个体包括(但不限于)人类、猴、犬、猫、小鼠、大鼠、牛、马、山羊和绵羊。在一些实施例中,个体患有癌症且可用如下文所述的本发明的药剂治疗。

[0171] 对于癌症治疗,必要时,方法可另外包括手术移除癌和/或投与除MMP9结合蛋白以外的抗癌剂或治疗。所述抗癌剂或治疗的投与可与本文所公开的组合物的投与同时发生。

[0172] 检测MMP9的方法

[0173] 本发明还涵盖检测个体中的MMP9的方法,例如检测表达MMP9的肿瘤或肿瘤相关组织。因此,提供对具有MMP9活性的肿瘤进行诊断、监测、分期或检测的方法。

[0174] 来自怀疑具有与MMP9表达相关的肿瘤的个体的样本可经收集,并通过检测存在或不存在MMP9结合蛋白的结合来分析。这一分析可在使用如本文所述的MMP9结合蛋白的治疗开始之前进行,或可作为监测癌症治疗进展的一部分进行。所述诊断分析可使用任何样本进行,所述样本包括(但不限于)组织、从所述组织分离的细胞等。组织样本包括例如经福尔马林(formalin)固定的组织切片或冷冻组织切片。

[0175] 采用检测和分析MMP9的任何适合的方法。在此项技术中已知的各种诊断检测技术可适合于所述目的,所述检测技术例如为竞争性结合检测、直接或间接夹心检测(sandwich assay)和在非均质或均质相中进行的免疫沉淀检测。

[0176] 用于检测方法的MMP9结合蛋白可用可检测部分标记。可检测部分直接或间接产生可检测信号。举例来说,可检测部分可以是本文所述的可检测部分中的任一者,例如放射性同位素,例如<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S或<sup>125</sup>I;荧光或化学发光化合物,例如异硫氰酸荧光素(FITC)、德克萨斯红(Texas red)、花青素(cyanin)、相片靛蓝(photocyan)、罗丹明(rhodamine)或荧光素;或酶,例如碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶或辣根过氧化物酶。

[0177] 检测可通过以下方式实现:在适于MMP9结合蛋白结合到MMP9上的条件下接触样本,并评估存在(例如水平)或不存在MMP9结合蛋白-MMP9复合体。样本中MMP9的水平与参考样本的水平相比可指示具有MMP9活性的肿瘤或肿瘤相关组织的存在。参考样本可以是在较早时间点下从个体获取的样本或来自另一个体的样本。

[0178] 实例

[0179] 实例1:人类MMP-9的抗体的制备。

[0180] 使用不具有信号肽的全长人类MMP9蛋白质(其是SEQ ID NO.28)免疫接种小鼠。将来自经免疫接种的小鼠的脾细胞与骨髓瘤细胞融合,产生杂交瘤文库。制备并筛选单克隆培养物以鉴别表达抗MMP9单克隆抗体的培养物。

[0181] 从培养物中的一者中纯化抗体(AB0041)并表征。抗体含有IgG2b重链和κ轻链。表征包括测试AB0041对其它人类MMP和对来自其它物种(包括猕猴、大鼠和小鼠)的MMP9蛋白

质的结合。已发现AB0041抗体强烈结合到人类和猕猴MMP9上,其较不强烈地结合到大鼠MMP9上,且其不结合到鼠类MMP9或许多人类非MMP基质金属蛋白酶上。

[0182] 表2.AB0041和AB0045的交叉反应。

[0183]

所测试的 MMP	解离常数(Kd)	
	AB0045	AB0041
人类 MMP1	>100 nM	>100 nM
人类 MMP2	>100 nM	>100 nM
小鼠 MMP2	>100 nM	>100 nM
人类 MMP3	>100 nM	>100 nM
人类 MMP7	>100 nM	>100 nM
人类 MMP8	>100 nM	>100 nM
人类 MMP9	0.168 ± 0.117 nM	0.133 ± 0.030 nM
猕猴 MMP9	0.082 ± 0.022 nM	0.145 ± 0.16 nM
小鼠 MMP9	>100 nM	>100 nM
大鼠 MMP9	0.311 ± 0.017 nM	0.332 ± 0.022 nM
人类 MMP10	>100 nM	>100 nM
人类 MMP12	>100 nM	>100 nM
人类 MMP13	>100 nM	>100 nM

[0184] 其它表征包括检测抗体对小鼠MMP9的结合,所述小鼠MMP9中的某些氨基酸经改变以更密切地对应于人类MMP9序列。另外,诱变处理人类MMP9蛋白质,且测试各种突变体被抗体结合的能力,以确定对抗体结合重要的氨基酸,且从而界定治疗性抗原决定基。这一分析将MMP9氨基酸序列的位置162处的精氨酸残基(R162)鉴定为对于抗体结合重要。对于AB0041抗体的结合重要的MMP9中的其它氨基酸残基包括E111、D113和I198。新近的MMP9晶体结构展示E111、D113、R162和I198围绕MMP9的Ca<sup>2+</sup>离子结合袋聚集在彼此附近。在不受任何特定科学理论束缚的情况下,AB0041可结合到这些残基定位的MMP9上的区上。或者,这些MMP9残基可与AB0041直接接触。

[0185] 在MMP9的酶促检测中,发现AB0041抗体充当非竞争性抑制剂。

[0186] 实例2:人类MMP9的抗体的人类化

[0187] 小鼠AB0041抗体的重链和轻链的氨基酸序列在其可变区的构架(即非CDR)部分中的某些位置处改变,产生在人类中免疫原性较低的蛋白质。这些氨基酸序列变化展示于图1和图2中。人类化抗体(称为AB0045)的交叉反应性展示于以上表2中。

## 序列表

<110> 吉联亚生物科技有限公司

<120> 基质金属蛋白酶9的抗体

<130> 246102008040

<140> PCT/US2011/049448

<141> 2011-08-26

<150> US 61/377, 886

<151> 2010-08-27

<160> 29

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 470

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> CHAIN

<222> (1)... (470)

[0001] <223> AB0041重链

<220>

<221> PEPTIDE

<222> (1)... (19)

<223> 信号肽

<220>

<221> misc\_feature

<222> (135)... (470)

<223> IgG2b恒定区

<400> 1

Met Ala Val Leu Val Leu Phe Leu Cys Leu Val Ala Phe Pro Ser Cys

1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala

20 25 30

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu

35 40 45

Leu Ser Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Ser

65 70 75 80

Ala Leu Met Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asp Ser Lys Ser Gln

85 90 95

Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr

100 105 110

Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

	115	120	125
Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro			
130	135	140	
Leu Ala Pro Gly Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly			
145	150	155	160
Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Ser Val Thr Val Thr Trp Asn			
165	170	175	
Ser Gly Ser Leu Ser Ser Ser Val His Thr Phe Pro Ala Leu Leu Gln			
180	185	190	
Ser Gly Leu Tyr Thr Met Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr			
195	200	205	
Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Ser Val Ala His Pro Ala Ser Ser			
210	215	220	
Thr Thr Val Asp Lys Lys Leu Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile			
225	230	235	240
Asn Pro Cys Pro Pro Cys Lys Glu Cys His Lys Cys Pro Ala Pro Asn			
245	250	255	
Leu Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asn Ile Lys Asp			
260	265	270	
Val Leu Met Ile Ser Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp			
275	280	285	
Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Arg Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn			
290	295	300	
Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn			
305	310	315	320
Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp			
325	330	335	
Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro			
340	345	350	
Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ile Lys Gly Leu Val Arg Ala			
355	360	365	
Pro Gln Val Tyr Ile Leu Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys			
370	375	380	
Asp Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile			
385	390	395	400
Ser Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp			
405	410	415	
Thr Ala Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys			
420	425	430	
Leu Asp Ile Lys Thr Ser Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys			
435	440	445	
Asn Val Arg His Glu Gly Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr Ile			
450	455	460	
Ser Arg Ser Pro Gly Lys			
465	470		

<210> 2  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> 小家鼠

<220>  
 <221> CHAIN  
 <222> (1)... (234)  
 <223> AB0041轻链

<220>  
 <221> PEPTIDE  
 <222> (1)... (20)  
 <223> 信号肽

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (128)... (234)  
 <223> κ 恒定区

<400> 2  
 Met Glu Ser Gln Ile Gln Val Phe Val Phe Val Phe Leu Trp Leu Ser  
 1 5 10 15  
 Gly Val Asp Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser  
 20 25 30  
 Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp  
 35 40 45  
 Val Arg Asn Thr Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ser Pro  
 50 55 60  
 Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ser Tyr Arg Asn Thr Gly Val Pro Asp  
 65 70 75 80  
 Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser  
 85 90 95  
 Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln His Tyr  
 100 105 110  
 Ile Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125  
 [0003] Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln  
 130 135 140  
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160  
 Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln  
 165 170 175  
 Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190  
 Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg  
 195 200 205  
 His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro  
 210 215 220  
 Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys  
 225 230

<210> 3  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> 小家鼠

<220>  
 <221> CHAIN  
 <222> (1)... (115)  
 <223> AB0041的IgG2b重链的可变区

<220>  
 <221> misc\_feature

<222> (26)...(35)  
 <223> 互补决定区(CDR)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (50)...(65)  
 <223> 互补决定区(CDR)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (98)...(104)  
 <223> 互补决定区(CDR)

<400> 3  
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Leu Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
 35 40 45  
 Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met  
 50 55 60  
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asp Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
 Arg Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr  
 100 105 110  
 [0004] Val Ser Ser  
 115

<210> 4  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 小家鼠

<220>  
 <221> CHAIN  
 <222> (1)...(107)  
 <223> AB0041的κ轻链的可变区

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)...(34)  
 <223> 互补决定区(CDR)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (50)...(56)  
 <223> 互补决定区(CDR)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (89)...(97)  
 <223> 互补决定区(CDR)

<400> 4  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Thr  
 20 25 30  
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ser Ser Ser Tyr Arg Asn Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln His Tyr Ile Thr Pro Tyr  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 5  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <223> 合成构筑体

[0005] <220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (1)...(115)  
 <223> VH1重链变异体

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

<210> 6  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(115)

<223> VH2重链变异体

<400> 6

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

<210> 7

[0006]

<211> 115

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(115)

<223> VH3重链变异体

<400> 7

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

<210> 8  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <223> 合成构筑体

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (1)...(115)  
 <223> VH4重链变异体

<400> 8  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Leu Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
 35 40 45  
 Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met  
 50 55 60  
 Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
 Arg Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110  
 Val Ser Ser  
 115

<210> 9  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <223> 合成构筑体

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (1)...(107)  
 <223> Vk1轻链变异体

<400> 9  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Thr  
 20 25 30  
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ser Ser Ser Tyr Arg Asn Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
 50 55 60

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

<210> 10  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <223> 合成构筑体

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (1)...(107)  
 <223> Vk2轻链变异体

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

[0008]

<210> 11  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <223> 合成构筑体

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (1)...(107)  
 <223> Vk3轻链变异体

<400> 11  
 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 Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Thr  
 20 25 30

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

<210> 12  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <223> 合成构筑体

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (1)...(107)  
 <223> Vk4轻链变异体

<400> 12  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 [0009] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Thr  
 20 25 30  
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ser Ser Ser Tyr Arg Asn Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ile Thr Pro Tyr  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 13  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <223> 合成构筑体

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)...(10)  
 <223> 抗MMP9抗体的重链的互补决定区(CDR1)

<400> 13

Gly Phe Ser Leu Leu Ser Tyr Gly Val His  
 1 5 10

<210> 14  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <223> 合成构筑体

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)...(16)  
 <223> 抗MMP9抗体的重链的互补决定区(CDR2)

<400> 14  
 Val Ile Trp Thr Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met Ser  
 1 5 10 15

<210> 15  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

[0010] <220>  
 <223> 合成构筑体

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)...(7)  
 <223> 抗MMP9抗体的重链的互补决定区(CDR3)

<400> 15  
 Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Tyr  
 1 5

<210> 16  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <223> 合成构筑体

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)...(11)  
 <223> 抗MMP9抗体的轻链的互补决定区(CDR1)

<400> 16  
 Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Thr Val Ala  
 1 5 10

[0011]

<210> 17  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <223> 合成构筑体

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)...(7)  
 <223> 抗MMP9抗体的轻链的互补决定区(CDR2)

<400> 17  
 Ser Ser Ser Tyr Arg Asn Thr  
 1 5

<210> 18  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <223> 合成构筑体

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)...(9)  
 <223> 抗MMP9抗体的轻链的互补决定区(CDR3)

<400> 18  
 Gln Gln His Tyr Ile Thr Pro Tyr Thr  
 1 5

<210> 19  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人造序列

<220>  
 <223> 合成构筑体

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)...(345)  
 <223> 编码VH1重链氨基酸序列的核苷酸序列

<400> 19  
 caggtgcagc tgcaggaatc cggccctggc ctggtaagc cctccgagac actgtccctg 60  
 acctgcaccc tgccggctt ctccctgctg tcctacggcg tgcactgggt ccgacagcct 120  
 ccagggaaagg gcctgaaatg gctggcggt atctggaccg gcggcacac caactacaac 180  
 tccgcctga tgtccggct gaccatctcc aaggacgact ccaagtcac cgtgtacctg 240

aagatgaact ccctgaaaac cgaggacacc gccatctact actgcgcccg gtactactac	300
ggcatggact actggggcca gggcacctcc gtgaccgtgt cctca	345
<210> 20	
<211> 345	
<212> DNA	
<213> 人造序列	
<220>	
<223> 合成构筑体	
<220>	
<221> misc_feature	
<222> (1)... (345)	
<223> 编码VH2重链氨基酸序列的核苷酸序列	
<400> 20	
caggtgcagc tgcaggaatc cggccctggc ctggtaagc cctccgagac actgtccctg	60
acctgcaccc tgcggctt ctccctgctg tcctacggcg tgcactgggt ccgcacgcct	120
ccaggcaaaag gcctgaaatg gctggcggt atctggaccg gcgccaccac caactacaac	180
tccgcctga tgcggctt gaccatctcc aaggacgact ccaagaacac cgtgtacctg	240
aagatgaact ccctgaaaac cgaggacacc gccatctact actgcgcccg gtactactac	300
ggcatggact actggggcca gggcacctcc gtcaccgtgt cctca	345
<210> 21	
<211> 345	
<212> DNA	
<213> 人造序列	
[0012]	
<220>	
<223> 合成构筑体	
<220>	
<221> misc_feature	
<222> (1)... (345)	
<223> 编码VH3重链氨基酸序列的核苷酸序列	
<400> 21	
caggtgcagc tgcaggaatc cggccctggc ctggtaagc cctccgagac actgtccctg	60
acctgcaccc tgcggctt ctccctgctg tcctacggcg tgcactgggt ccgcacgcct	120
ccaggcaaaag gcctgaaatg gctggcggt atctggaccg gcgccaccac caactacaac	180
tccgcctga tgcggctt gaccatctcc aaggacgact ccaagaacac cgtgtacctg	240
aagatgaact ccctgaaaac cgaggacacc gccatctact actgcgcccg gtactactac	300
ggcatggact actggggcca gggcacctcc gtcaccgtgt cctca	345
<210> 22	
<211> 345	
<212> DNA	
<213> 人造序列	
<220>	
<223> 合成构筑体	
<220>	
<221> misc_feature	
<222> (1)... (345)	

〈223〉 编码VH4重链氨基酸序列的核苷酸序列

〈400〉 22

caggtgcage tgcaggaatc cggccctggc ctggtaagc cctccgagac actgtccctg 60  
 acctgcaccc tgccggctt ctccctgctg tcctacggcg tgcactgggt ccgcacgcct 120  
 ccaggcaaaag gcctggaatg gctggcggt atctggaccg gcggcaccac caactacaac 180  
 tccgcctga tgcctgggtt caccatctcc aaggacgact ccaagaacac cctgtacctg 240  
 aagatgaact ccctgaaaac cgaggacacc gccatctact actgcgcgg gtactactac 300  
 ggcatggact actggggcca gggcaccctg gtcaccgtgt cctca 345

〈210〉 23

〈211〉 321

〈212〉 DNA

〈213〉 人造序列

〈220〉

〈223〉 合成构筑体

〈220〉

〈221〉 misc\_feature

〈222〉 (1)...(321)

〈223〉 编码V<sub>k</sub>1轻链氨基酸序列的核苷酸序列

〈400〉 23

gacatcgta tgaccaggc cccagcttc ctgtccgcct ccgtggcgaa cagagtgacc 60  
 atcacatgca aggcctctca ggacgtgcgg aacaccgtgg cctggtatca gcagaaaaacc 120  
 ggcaaggccc ccaagctgct gatctactcc tcctcctacc ggaacaccgg cgtccccgac 180  
 cggttaccg gctctggctc cggcaccgac tttaccctga ccatcagctc cctgcaggcc 240  
 gaggacgtgg ccgtgtactt ctgccagcag cactacatca cccctacac cttcgccgga 300  
 ggcaccaagg tggaaataaa a 321

〈210〉 24

〈211〉 321

〈212〉 DNA

〈213〉 人造序列

〈220〉

〈223〉 合成构筑体

〈220〉

〈221〉 misc\_feature

〈222〉 (1)...(321)

〈223〉 编码V<sub>k</sub>2轻链氨基酸序列的核苷酸序列

〈400〉 24

gacatcgta tgaccaggc cccctccagg ctgtccgcct ctgtggcgaa cagagtgacc 60  
 atcacatgca aggcctctca ggacgtgcgg aacaccgtgg cctggtatca gcagaaggccc 120  
 ggcaaggccc ccaagctgct gatctactcc tcctcctacc ggaacaccgg cgtccccgac 180  
 cggttaccg gctctggctc cggcaccgac tttaccctga ccatcagctc cctgcaggcc 240  
 gaggacgtgg ccgtgtactt ctgccagcag cactacatca cccctacac cttcgccgga 300  
 ggcaccaagg tggaaataaa a 321

〈210〉 25

〈211〉 321

〈212〉 DNA

〈213〉 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (1)...(321)

<223> 编码V<sub>k</sub>3轻链氨基酸序列的核苷酸序列

&lt;400&gt; 25

```

gacatccaga tgaccaggc cccctccagc ctgtccgcct ctgtggcgaa cagagtgacc 60
atcacatgca aggccctccca ggacgtgcgg aacaccgtgg cctggtatca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctactcc tcctcctacc ggaacacccgg cgtgcccggac 180
cggttctctg gctctggaaag cggcaccggac tttaccctga ccatcagctc cctgcaggcc 240
gaggacgtgg ccgtgtactt ctgccagcag cactacatca ccccctacac cttcggcgga 300
ggcaccaagg tggaaataaaa a

```

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 321

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (1)...(321)

[0014] <223> 编码V<sub>k</sub>4轻链氨基酸序列的核苷酸序列

&lt;400&gt; 26

```

gacatccaga tgaccaggc cccctccagc ctgtccgcct ctgtggcgaa cagagtgacc 60
atcacatgca aggccctctca ggacgtgcgg aacaccgtgg cctggtatca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctactcc tcctcctacc ggaacacccgg cgtgcccggac 180
cggttctctg gctctggaaag cggcaccggac tttaccctga ccatcagctc cctgcaggcc 240
gaggacgtgg ccgtgtactt ctgccagcag cactacatca ccccctacac cttcggcgga 300
ggcaccaagg tggaaataaaa a

```

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 707

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (1)...(707)

&lt;223&gt; 基质金属蛋白酶9 (MMP9)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; PEPTIDE

&lt;222&gt; (1)...(19)

&lt;223&gt; 信号肽

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; DOMAIN

&lt;222&gt; (38)...(98)

<223> 肽聚糖结合域

<220>

<221> SITE

<222> (98)...(99)

<223> 前肽裂解位点

<220>

<221> DOMAIN

<222> (112)...(445)

<223> Zn依赖性金属蛋白酶域

<220>

<221> DOMAIN

<222> (223)...(271)

<223> 纤维结合蛋白II型域(明胶结合域)

<220>

<221> DOMAIN

<222> (281)...(329)

<223> 纤维结合蛋白II型域(明胶结合域)

<220>

<221> DOMAIN

<222> (340)...(388)

<223> 纤维结合蛋白II型域(明胶结合域)

[0015]

<220>

<221> misc\_feature

<222> (400)...(411)

<223> Zn结合区

<220>

<221> DOMAIN

<222> (521)...(565)

<223> 血液结合素样域

<220>

<221> DOMAIN

<222> (567)...(608)

<223> 血液结合素样域

<220>

<221> DOMAIN

<222> (613)...(659)

<223> 血液结合素样域

<220>

<221> DOMAIN

<222> (661)...(704)

<223> 血液结合素样域

<400> 27

Met	Ser	Leu	Trp	Gln	Pro	Leu	Val	Leu	Val	Leu	Leu	Val	Leu	Gly	Cys
1					5				10					15	

Cys Phe Ala Ala Pro Arg Gln Arg Gln Ser Thr Leu Val Leu Phe Pro  
 20 25 30  
 Gly Asp Leu Arg Thr Asn Leu Thr Asp Arg Gln Leu Ala Glu Glu Tyr  
 35 40 45  
 Leu Tyr Arg Tyr Gly Tyr Thr Arg Val Ala Glu Met Arg Gly Glu Ser  
 50 55 60  
 Lys Ser Leu Gly Pro Ala Leu Leu Leu Gln Lys Gln Leu Ser Leu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Thr Gly Glu Leu Asp Ser Ala Thr Leu Lys Ala Met Arg Thr  
 85 90 95  
 Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Leu Gly Arg Phe Gln Thr Phe Glu Gly  
 100 105 110  
 Asp Leu Lys Trp His His Asn Ile Thr Tyr Trp Ile Gln Asn Tyr  
 115 120 125  
 Ser Glu Asp Leu Pro Arg Ala Val Ile Asp Asp Ala Phe Ala Arg Ala  
 130 135 140  
 Phe Ala Leu Trp Ser Ala Val Thr Pro Leu Thr Phe Thr Arg Val Tyr  
 145 150 155 160  
 Ser Arg Asp Ala Asp Ile Val Ile Gln Phe Gly Val Ala Glu His Gly  
 165 170 175  
 Asp Gly Tyr Pro Phe Asp Gly Lys Asp Gly Leu Leu Ala His Ala Phe  
 180 185 190  
 Pro Pro Gly Pro Gly Ile Gln Gly Asp Ala His Phe Asp Asp Asp Glu  
 195 200 205  
 Leu Trp Ser Leu Gly Lys Gly Val Val Val Pro Thr Arg Phe Gly Asn  
 210 215 220  
 Ala Asp Gly Ala Ala Cys His Phe Pro Phe Ile Phe Glu Gly Arg Ser  
 225 230 235 240  
 [0016] Tyr Ser Ala Cys Thr Thr Asp Gly Arg Ser Asp Gly Leu Pro Trp Cys  
 245 250 255  
 Ser Thr Thr Ala Asn Tyr Asp Thr Asp Asp Arg Phe Gly Phe Cys Pro  
 260 265 270  
 Ser Glu Arg Leu Tyr Thr Arg Asp Gly Asn Ala Asp Gly Lys Pro Cys  
 275 280 285  
 Gln Phe Pro Phe Ile Phe Gln Gly Gln Ser Tyr Ser Ala Cys Thr Thr  
 290 295 300  
 Asp Gly Arg Ser Asp Gly Tyr Arg Trp Cys Ala Thr Thr Ala Asn Tyr  
 305 310 315 320  
 Asp Arg Asp Lys Leu Phe Gly Phe Cys Pro Thr Arg Ala Asp Ser Thr  
 325 330 335  
 Val Met Gly Gly Asn Ser Ala Gly Glu Leu Cys Val Phe Pro Phe Thr  
 340 345 350  
 Phe Leu Gly Lys Glu Tyr Ser Thr Cys Thr Ser Glu Gly Arg Gly Asp  
 355 360 365  
 Gly Arg Leu Trp Cys Ala Thr Thr Ser Asn Phe Asp Ser Asp Lys Lys  
 370 375 380  
 Trp Gly Phe Cys Pro Asp Gln Gly Tyr Ser Leu Phe Leu Val Ala Ala  
 385 390 395 400  
 His Glu Phe Gly His Ala Leu Gly Leu Asp His Ser Ser Val Pro Glu  
 405 410 415  
 Ala Leu Met Tyr Pro Met Tyr Arg Phe Thr Glu Gly Pro Pro Leu His  
 420 425 430  
 Lys Asp Asp Val Asn Gly Ile Arg His Leu Tyr Gly Pro Arg Pro Glu  
 435 440 445  
 Pro Glu Pro Arg Pro Pro Thr Thr Thr Pro Gln Pro Thr Ala Pro  
 450 455 460

Pro Thr Val Cys Pro Thr Gly Pro Pro Thr Val His Pro Ser Glu Arg  
 465 470 475 480  
 Pro Thr Ala Gly Pro Thr Gly Pro Pro Ser Ala Gly Pro Thr Gly Pro  
 485 490 495  
 Pro Thr Ala Gly Pro Ser Thr Ala Thr Thr Val Pro Leu Ser Pro Val  
 500 505 510  
 Asp Asp Ala Cys Asn Val Asn Ile Phe Asp Ala Ile Ala Glu Ile Gly  
 515 520 525  
 Asn Gln Leu Tyr Leu Phe Lys Asp Gly Lys Tyr Trp Arg Phe Ser Glu  
 530 535 540  
 Gly Arg Gly Ser Arg Pro Gln Gly Pro Phe Leu Ile Ala Asp Lys Trp  
 545 550 555 560  
 Pro Ala Leu Pro Arg Lys Leu Asp Ser Val Phe Glu Glu Pro Leu Ser  
 565 570 575  
 Lys Lys Leu Phe Phe Ser Gly Arg Gln Val Trp Val Tyr Thr Gly  
 580 585 590  
 Ala Ser Val Leu Gly Pro Arg Arg Leu Asp Lys Leu Gly Leu Gly Ala  
 595 600 605  
 Asp Val Ala Gln Val Thr Gly Ala Leu Arg Ser Gly Arg Gly Lys Met  
 610 615 620  
 Leu Leu Phe Ser Gly Arg Arg Leu Trp Arg Phe Asp Val Lys Ala Gln  
 625 630 635 640  
 Met Val Asp Pro Arg Ser Ala Ser Glu Val Asp Arg Met Phe Pro Gly  
 645 650 655  
 Val Pro Leu Asp Thr His Asp Val Phe Gln Tyr Arg Glu Lys Ala Tyr  
 660 665 670  
 Phe Cys Gln Asp Arg Phe Tyr Trp Arg Val Ser Ser Arg Ser Glu Leu  
 675 680 685  
 [0017] Asn Gln Val Asp Gln Val Gly Tyr Val Thr Tyr Asp Ile Leu Gln Cys  
 690 695 700  
 Pro Glu Asp  
 705

<210> 28

<211> 687

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)...(687)

<223> 成熟全长基质金属蛋白酶9 (MMP9)

<400> 28

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

	85	90	95
	His His His Asn Ile Thr Tyr Trp Ile Gln Asn Tyr Ser Glu Asp Leu		
	100	105	110
	Pro Arg Ala Val Ile Asp Asp Ala Phe Ala Arg Ala Phe Ala Leu Trp		
	115	120	125
	Ser Ala Val Thr Pro Leu Thr Phe Thr Arg Val Tyr Ser Arg Asp Ala		
	130	135	140
	Asp Ile Val Ile Gln Phe Gly Val Ala Glu His Gly Asp Gly Tyr Pro		
	145	150	155
	Phe Asp Gly Lys Asp Gly Leu Leu Ala His Ala Phe Pro Pro Gly Pro		
	165	170	175
	Gly Ile Gln Gly Asp Ala His Phe Asp Asp Glu Leu Trp Ser Leu		
	180	185	190
	Gly Lys Gly Val Val Val Pro Thr Arg Phe Gly Asn Ala Asp Gly Ala		
	195	200	205
	Ala Cys His Phe Pro Phe Ile Phe Glu Gly Arg Ser Tyr Ser Ala Cys		
	210	215	220
	Thr Thr Asp Gly Arg Ser Asp Gly Leu Pro Trp Cys Ser Thr Thr Ala		
	225	230	235
	Asn Tyr Asp Thr Asp Asp Arg Phe Gly Phe Cys Pro Ser Glu Arg Leu		
	245	250	255
	Tyr Thr Arg Asp Gly Asn Ala Asp Gly Lys Pro Cys Gln Phe Pro Phe		
	260	265	270
	Ile Phe Gln Gly Gln Ser Tyr Ser Ala Cys Thr Thr Asp Gly Arg Ser		
	275	280	285
	Asp Gly Tyr Arg Trp Cys Ala Thr Thr Ala Asn Tyr Asp Arg Asp Lys		
	290	295	300
[0018]	Leu Phe Gly Phe Cys Pro Thr Arg Ala Asp Ser Thr Val Met Gly Gly		
	305	310	315
	Asn Ser Ala Gly Glu Leu Cys Val Phe Pro Phe Thr Phe Leu Gly Lys		
	325	330	335
	Glu Tyr Ser Thr Cys Thr Ser Glu Gly Arg Gly Asp Gly Arg Leu Trp		
	340	345	350
	Cys Ala Thr Thr Ser Asn Phe Asp Ser Asp Lys Lys Trp Gly Phe Cys		
	355	360	365
	Pro Asp Gln Gly Tyr Ser Leu Phe Leu Val Ala Ala His Glu Phe Gly		
	370	375	380
	His Ala Leu Gly Leu Asp His Ser Ser Val Pro Glu Ala Leu Met Tyr		
	385	390	395
	Pro Met Tyr Arg Phe Thr Glu Gly Pro Pro Leu His Lys Asp Asp Val		
	405	410	415
	Asn Gly Ile Arg His Leu Tyr Gly Pro Arg Pro Glu Pro Glu Pro Arg		
	420	425	430
	Pro Pro Thr Thr Thr Pro Gln Pro Thr Ala Pro Pro Thr Val Cys		
	435	440	445
	Pro Thr Gly Pro Pro Thr Val His Pro Ser Glu Arg Pro Thr Ala Gly		
	450	455	460
	Pro Thr Gly Pro Pro Ser Ala Gly Pro Thr Gly Pro Pro Thr Ala Gly		
	465	470	475
	Pro Ser Thr Ala Thr Thr Val Pro Leu Ser Pro Val Asp Asp Ala Cys		
	485	490	495
	Asn Val Asn Ile Phe Asp Ala Ile Ala Glu Ile Gly Asn Gln Leu Tyr		
	500	505	510
	Leu Phe Lys Asp Gly Lys Tyr Trp Arg Phe Ser Glu Gly Arg Gly Ser		
	515	520	525
	Arg Pro Gln Gly Pro Phe Leu Ile Ala Asp Lys Trp Pro Ala Leu Pro		

530 Arg Lys Leu Asp Ser Val Phe Glu Glu Pro Leu Ser Lys Lys Leu Phe 545 Phe Phe Ser Gly Arg Gln Val Trp Val Tyr Thr Gly Ala Ser Val Leu 565 Gly Pro Arg Arg Leu Asp Lys Leu Gly Leu Gly Ala Asp Val Ala Gln 580 Val Thr Gly Ala Leu Arg Ser Gly Arg Gly Lys Met Leu Leu Phe Ser 595 Gly Arg Arg Leu Trp Arg Phe Asp Val Lys Ala Gln Met Val Asp Pro 610	535 550 565 570 585 590 600 605 615 620 630 635 645 650 655 660 665 670 680 685	540 555 560 575 590 605 610 615 620 630 640 645 650 655 660 665 670 680 685
---	--	---

[0019] Gln Val Gly Tyr Val Thr Tyr Asp Ile Leu Gln Cys Pro Glu Asp

<210> 29

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> PEPTIDE

<222> (1)...(20)

<223> 基质金属蛋白酶9 (MMP9) 信号肽

<400> 29

Met Ser Leu Trp Gln Pro Leu Val Leu Val Leu Val Leu Gly Cys 1 Cys Phe Ala Ala 20	5 5 10 15
---	--------------------

## 抗MMP9人类化重链

AB0041	QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSLI SYGVHWRQF PGKGLEWLGV
VH1	QVQLQE <sup>Q</sup> SGPG LV <sup>Q</sup> KPSET <sup>Q</sup> LSL TCTVSGFSLI SYGVHWRQF PGKGLEWLGV
VH2	QVQLQE <sup>Q</sup> SGPG LV <sup>Q</sup> KPSET <sup>Q</sup> LSL TCTVSGFSLI SYGVHWRQF PGKGLEWLGV
VH3	QVQLQE <sup>Q</sup> SGPG LV <sup>Q</sup> KPSET <sup>Q</sup> LSL TCTVSGFSLI SYGVHWRQF PGKGLEWLGV
VH4	QVQLQE <sup>Q</sup> SGPG LV <sup>Q</sup> KPSET <sup>Q</sup> LSL TCTVSGFSLI SYGVHWRQF PGKGLEWLGV
AB0041	<i>IWTGGTTNYN SALMSRLSIS KDDSKSQVFL KMNSLQTDDT AIYYCARYYY</i>
VH1	<i>IWTGGTTNYN SALMSRLTIS KDDSKST<sup>Q</sup>VYL KMNSLKT<sup>Q</sup>EDT AIYYCARYYY</i>
VH2	<i>IWTGGTTNYN SALMSRLTIS KDDSKNT<sup>Q</sup>VYL KMNSLKT<sup>Q</sup>EDT AIYYCARYYY</i>
VH3	<i>IWTGGTTNYN SALMSRF<sup>Q</sup>TIS KDDSKNT<sup>Q</sup>VYL KMNSLKT<sup>Q</sup>EDT AIYYCARYYY</i>
VH4	<i>IWTGGTTNYN SALMSRF<sup>Q</sup>TIS KDDSKNT<sup>Q</sup>VYL KMNSLKT<sup>Q</sup>EDT AIYYCARYYY</i>
AB0041	GMDYWGQGTS VTVSS (SEQ ID NO:3)
VH1	GMDYWGQGTS VTVSS (SEQ ID NO:5)
VH2	GMDYWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO:6)
VH3	GMDYWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO:7)
VH4	GMDYWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO:8)

图1

抗MMP9人类化轻链

AB0041	DIVMTQSHKF	MSTSVGDRVS	ITCKASQDVR	NTVAWYQQKT	GQSPKLLIYS
Vk <sub>1</sub>	DIVMTQSP <u>SF</u>	<u>LSA</u> SVGDRVT <u>U</u>	ITCKASQDVR	NTVAWYQQKT	<u>GKA</u> PKLLIYS
Vk <sub>2</sub>	DIVMTQSP <u>SS</u>	<u>LSA</u> SVGDRVT <u>U</u>	ITCKASQDVR	NTVAWYQQKP	<u>GKA</u> PKLLIYS
Vk <sub>3</sub>	DI <u>Q</u> MTQSP <u>SS</u>	<u>LSA</u> SVGDRVT <u>U</u>	ITCKASQDVR	NTVAWYQQKP	<u>GKA</u> PKLLIYS
Vk <sub>4</sub>	DI <u>Q</u> MTQSP <u>SS</u>	<u>LSA</u> SVGDRVT <u>U</u>	ITCKASQDVR	NTVAWYQQKP	<u>GKA</u> PKLLIYS
AB0041	SSYRNTGVPD	RFTGSGSGTD	FTFTISSVQA	EDLAVYFCQQ	HYITPYTFGG
Vk <sub>1</sub>	SSYRNTGVPD	RFTGSGSGTD	<u>FT</u> LT <u>TI</u> SS <u>L</u> QA	EDVAVYFCQQ	HYITPYTFGG
Vk <sub>2</sub>	SSYRNTGVPD	RFTGSGSGTD	<u>FT</u> LT <u>TI</u> SS <u>L</u> QA	EDVAVYFCQQ	HYITPYTFGG
Vk <sub>3</sub>	SSYRNTGVPD	RF <u>S</u> SGSGSGTD	<u>FT</u> LT <u>TI</u> SS <u>L</u> QA	EDVAVYFCQQ	HYITPYTFGG
Vk <sub>4</sub>	SSYRNTGVPD	RF <u>S</u> SGSGSGTD	<u>FT</u> LT <u>TI</u> SS <u>L</u> QA	EDVAVYFCQQ	HYITPYTFGG
AB0041	GT <u>K</u> LEIK	(SEQ ID NO: 4)			
Vk <sub>1</sub>	GT <u>K</u> VEIK	(SEQ ID NO: 9)			
Vk <sub>2</sub>	GT <u>K</u> VEIK	(SEQ ID NO: 10)			
Vk <sub>3</sub>	GT <u>K</u> VEIK	(SEQ ID NO: 11)			
Vk <sub>4</sub>	GT <u>K</u> VEIK	(SEQ ID NO: 12)			

图2

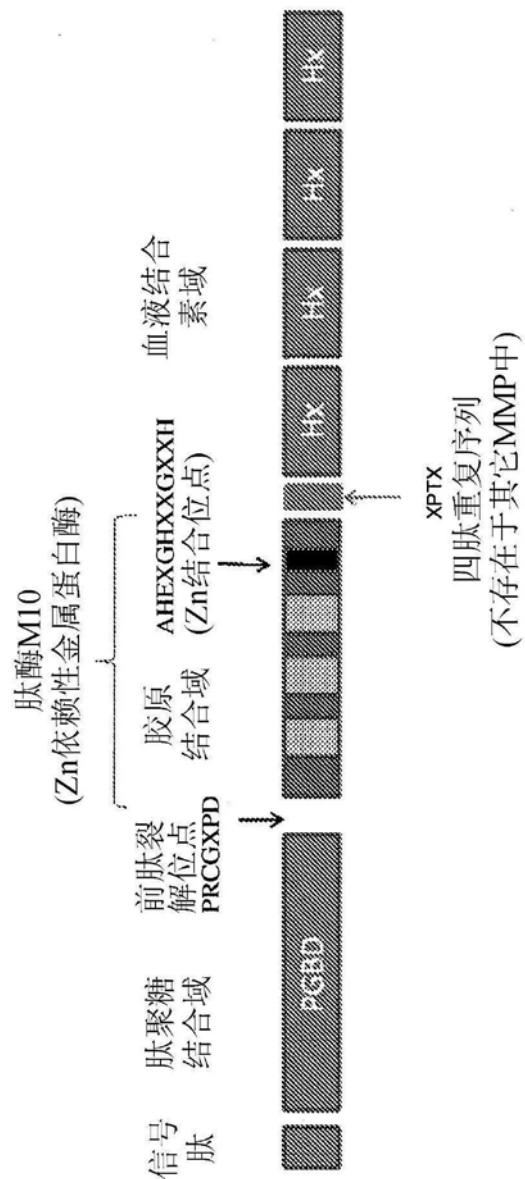


图3