



(21)申請案號：108146977 (22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 12 月 20 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01) A61K39/395 (2006.01)
C12N15/13 (2006.01) C12N15/64 (2006.01)
A61P3/10 (2006.01)

(30)優先權：2018/12/21 中國大陸 201811573634.0
2018/12/27 中國大陸 201811606887.3

(71)申請人：大陸商江蘇恆瑞醫藥股份有限公司 (中國大陸) JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. (CN)
中國大陸
大陸商上海恆瑞醫藥有限公司 (中國大陸) SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD. (CN)
中國大陸

(72)發明人：曹卓曉 CAO, ZHUOXIAO (CN) ； 羅肖 LUO, XIAO (CN) ； 何寧 HE, NING (CN) ；
胡齊悅 HU, QIYUE (CN) ； 張連山 ZHANG, LIANSHAN (CN) ； 陶維康 TAO, WEIKANG (CN)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：34 項 圖式數：5 共 178 頁

(54)名稱

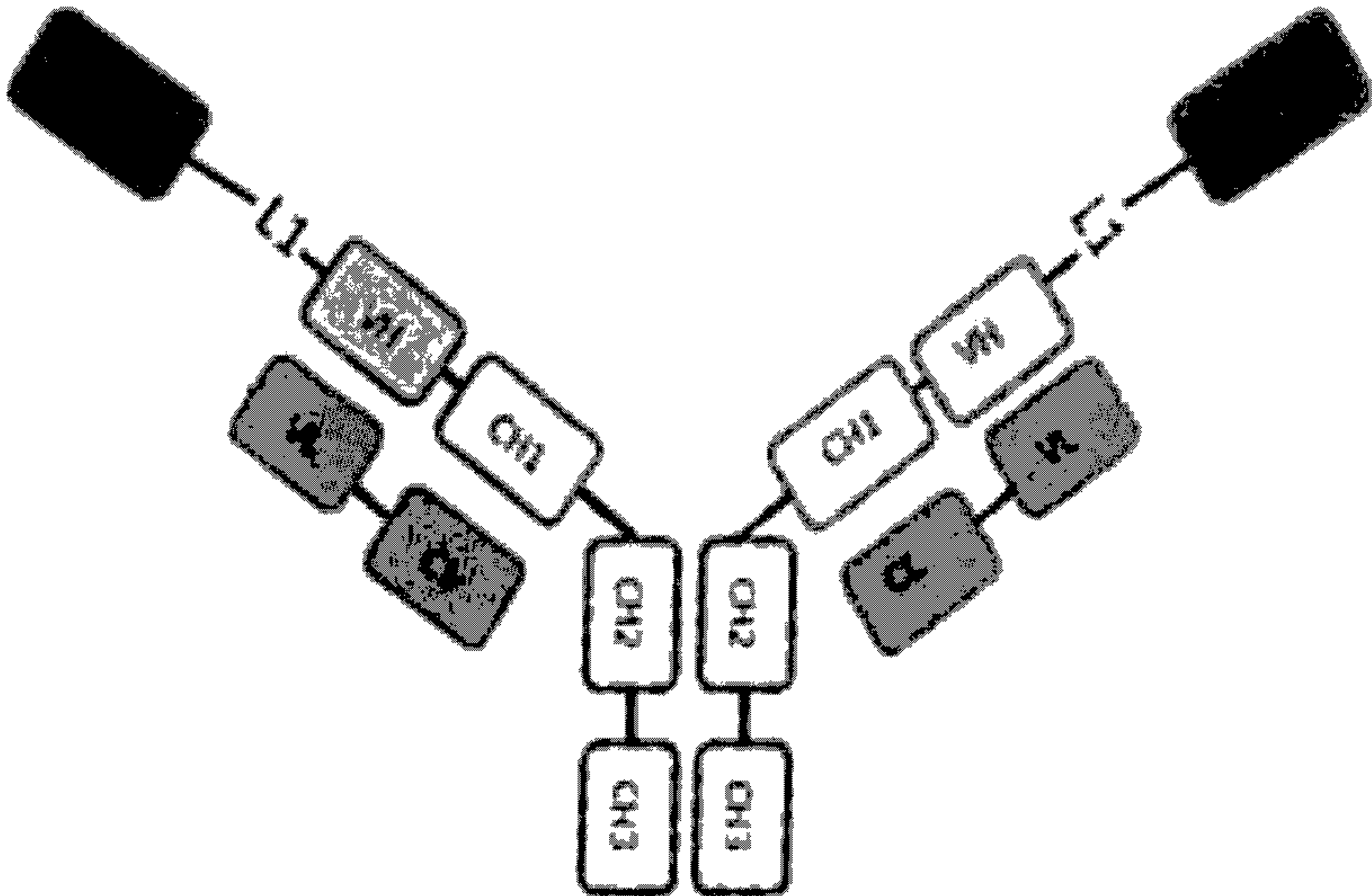
雙特異性蛋白

(57)摘要

本公開提供一種雙特異性蛋白。具體而言，本公開涉及人 GCGR 抗體、GLP-1 肽及其突變體，以及 GCGR 抗體與 GLP-1 肽融合形成的雙特異性蛋白及其製備方法和應用。其中，所述的人 GCGR 抗體、GLP-1 肽及 GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白可用於減肥、治療糖尿病等病症。

The present disclosure provides a bispecific protein. In particular, the present disclosure relates to an anti-human GCGR antibody, a GLP-1 peptide and the mutant thereof, as well as the bispecific protein formed by fusion of the anti-GCGR antibody with the GLP-1 peptide, and also provides the preparation method and the use thereof. The anti-human GCGR antibody, the GLP-1 peptide and the bispecific protein of GLP-1/GCGR antibody can be used for weight loss, treating diabetes etc.

指定代表圖：



【第1圖】

【發明摘要】

【中文發明名稱】 雙特異性蛋白

【英文發明名稱】 A BISPECIFIC PROTEIN

【中文】

本公開提供一種雙特異性蛋白。具體而言，本公開涉及人 GCGR 抗體、GLP-1 肽及其突變體，以及 GCGR 抗體與 GLP-1 肽融合形成的雙特異性蛋白及其製備方法和應用。其中，所述的人 GCGR 抗體、GLP-1 肽及 GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白可用於減肥、治療糖尿病等病症。

【英文】

The present disclosure provides a bispecific protein. In particular, the present disclosure relates to an anti-human GCGR antibody, a GLP-1 peptide and the mutant thereof, as well as the bispecific protein formed by fusion of the anti-GCGR antibody with the GLP-1 peptide, and also provides the preparation method and the use thereof. The anti-human GCGR antibody, the GLP-1 peptide and the bispecific protein of GLP-1/GCGR antibody can be used for weight loss, treating diabetes etc.

【指定代表圖】 第1圖

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 雙特異性蛋白

【英文發明名稱】 A BISPECIFIC PROTEIN

本申請要求 2018 年 12 月 21 日提交的專利申請 201811573634.0 和 2018 年 12 月 27 日提交的專利申請 201811606887.3 的優先權；兩者藉由引用併入本文。

【技術領域】

【0001】 本公開涉及人 GCGR 抗體、GLP-1 肽及其突變體，以及 GCGR 抗體與 GLP-1 肽融合形成的雙特異性蛋白及其製備方法和應用。

【先前技術】

【0002】 這裡的陳述僅提供與本公開有關的背景信息，而不必然地構成現有技術。

【0003】 糖尿病（diabetes mellitus，DM）是一種表現為胰島素分泌缺陷和/或胰島素作用障礙，以高血糖為特徵的代謝性疾病，其發病主要是胰島素與胰高血糖素共同作用的結果。

【0004】 GLP-1 是影響胰島素分泌最主要的激素之一，與胰高血糖素（Glucagon）一起均來源於前胰島素原。前胰島素原由約 158 個胺基酸組成，在不同的部位被切割成不同的肽鏈。人體內具有生物活性的 GLP-1 主要包括 GLP-1（7-36）醯胺和 GLP-1（7-37）兩種形式。GLP-1 藉由小腸 L 細胞分泌，主要以葡萄糖濃度依賴性方式促進胰島素分泌，保護胰島 β 細胞，抑制胰高血糖素分泌

來降低機體血糖水平。同時 GLP-1 還有抑制胃排空，降低食欲的作用。臨床可用於 II 型糖尿病和肥胖症的治療。機體內天然活性 GLP-1 的半衰期很短（不足 2 分鐘），很容易被機體內 DPPIV 酶降解，不具有臨床使用價值。

【0005】延長半衰期一直是 GLP-1 類藥物研發的主要方向，目前已有多款 GLP-1 激動劑上市，如度拉糖肽（Dulaglutide）和索馬魯肽（Semaglutide）等。雖然 GLP-1 在療效上已經獲得人們的充分肯定，但也存在諸多副作用，主要表現為胃腸道症狀，低血糖，胰腺炎及腎損傷等。

【0006】胰高血糖素與胰島素作用相反，主要起升高機體血糖的作用。胰高血糖素是由胰島 α 細胞分泌的具有 29 個胺基酸的肽，與肝細胞膜上受體 GCGR 結合後主要藉由激活下游 cAMP/PKA 途徑，加速糖原分解、脂肪分解和糖異生，使血糖升高。

【0007】研究發現，GCGR 基因剔除鼠呈現出 GLP-1 升高，肝糖輸出減少，脂代謝增加，食欲減退等一系列表型。GCGR 是糖尿病治療最熱門的靶點之一，但目前針對 GCGR 的拮抗類藥物研發進展緩慢。REMD Biotherapeutics 公司的 REMD-477，目前是最前沿的 GCGR 單株抗體藥物，處於臨床二期。

【0008】現有技術已在專利 CN101589062A、CN101983208A、CN102482350A、CN103314011A、CN105189560A、CN107614695A、US20180273629A1、WO2013059531A1 等專利中公開 GCGR 抗體，但仍有待於提供新的高效的 GCGR 抗體及糖尿病治療方法。

【發明內容】

【0009】 本公開提供一種抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段。該抗體或其抗原結合片段具有與人 GCGR（或其所包含的抗原表位）結合的能力。

【0010】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，包含選自如下 a) 或 b) 的重鏈可變區和輕鏈可變區的組合：

a) 該重鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：48、49 和 50 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：51、52 和 53 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；或

b) 該重鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：38、39 和 54 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：55、56 和 57 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區。

【0011】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，包含選自如下 i) 至 vi) 的重鏈可變區和輕鏈可變區的任一組合：

i) 該重鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：14、15 和 16 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：17、18 和 19 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

ii) 該重鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：20、21 和 22 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：23、24 和 25 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

iii) 該重鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：26、27 和 28 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：29、30 和 31 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

iv) 該重鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO: 32、33 和 34 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO: 35、36 和 37 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

v) 該重鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO: 38、39 和 40 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO: 41、42 和 43 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；或

vi) 該重鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO: 38、39 和 44 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO: 45、46 和 47 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區。

【0012】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段是鼠源抗體、嵌合抗體或人源化抗體或其抗原結合片段。

【0013】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，該人源化抗體包含源自人抗體的框架區或其框架區變體，該框架區變體為在人抗體的輕鏈框架區上具有至多 10 個回復突變，和/或，該框架區變體在人抗體的重鏈框架區基礎上具有至多 10 個、至多 9 個、至多 8 個、至多 7 個、至多 6 個、至多 5 個、至多 4 個、至多 3 個、至多 2 個、至多 1 個胺基酸的回復突變。

【0014】 在一些實施方式中，該框架區變體包含選自：

aa) 輕鏈可變區中包含 42G、44V、71Y 和 87F 中的一個或多個胺基酸回復突變，和/或重鏈可變區中包含 38K、48I、67A、69F、71A、73P、78A 和 93S 中的一個或多個胺基酸回復突變；或者

ab) 輕鏈可變區中包含 38L、44V、59S、70E 和 71Y 中的一個或多個胺基酸回復突變，和/或重鏈可變區中包含 38K、48I、66K、67A、69L、73R、78M 和

94S 中的一個或多個胺基酸回復突變。進一步地，該回復突變位點的位置依據 Kabat 編號規則確定。

【0015】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含序列如 SEQ ID NO:2、61、62、63 和 64 任一所示或與 SEQ ID NO：2、61、62、63 和 64 任一所示具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 序列同一性的重鏈可變區；和/或

序列如 SEQ ID NO：3、58、59 和 60 任一所示或與 SEQ ID NO：3、58、59 和 60 任一所示具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 序列同一性的輕鏈可變區。

【0016】 在一些實施方案中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含序列如 SEQ ID NO：63 該的重鏈可變區和序列如 SEQ ID NO：58 所示的輕鏈可變區。

【0017】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含序列為 SEQ ID NO:4 所示或與 SEQ ID NO：4 所示具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 序列同一性的重鏈可變區和/或序列為 SEQ ID NO：5 所示或與 SEQ ID NO：5 所示具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 序列同一性的輕鏈可變區。

【0018】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含序列為 SEQ ID NO:6 所示或與 SEQ ID NO：6 所示具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 序列同一性的重鏈可變區和/或序列為 SEQ ID NO：7 所示或與 SEQ ID NO：7 所示具有至少 90%、91%、

92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%序列同一性的輕鏈可變區。

【0019】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含序列為 SEQ ID NO:8、68、69、70 和 71 任一所示或與 SEQ ID NO：8、68、69、70 和 71 任一所示具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%序列同一性的重鏈可變區和/或序列為 SEQ ID NO：9、65、66 和 67 任一所示或與 SEQ ID NO：9、65、66 和 67 任一所示具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%序列同一性的輕鏈可變區。

【0020】 在一些實施方案中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含序列如 SEQ ID NO：71 該的重鏈可變區和序列如 SEQ ID NO：67 所示的輕鏈可變區。

【0021】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含序列為 SEQ ID NO:10 所示或與 SEQ ID NO：10 所示具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%序列同一性的重鏈可變區和/或序列為 SEQ ID NO：11 所示或與 SEQ ID NO：11 所示具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%序列同一性的輕鏈可變區。

【0022】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含序列為 SEQ ID NO:12 所示或與 SEQ ID NO：12 所示具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%序列同一性的重鏈可變區和/或序列為 SEQ ID NO：13 所示或與 SEQ ID NO：13 所示具有至少 90%、

91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 序列同一性的輕鏈可變區。

【0023】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體為全長抗體，進一步包括抗體恆定區，具體地，該抗體恆定區的重鏈恆定區選自人 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 恆定區及其常規變體，該抗體恆定區的輕鏈恆定區選自人抗體 κ 和 λ 鏈恆定區及其常規變體，更佳包含 SEQ ID NO:72 所示的人抗體重鏈恆定區和 SEQ ID NO:73 所示的人輕鏈恆定區。

【0024】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，包括重鏈和輕鏈，其中：

【0025】 該重鏈為 SEQ ID NO:74、76 或 78 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO:75 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性。

【0026】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，包括重鏈和輕鏈，其中：

該重鏈為 SEQ ID NO:74、76 或 78 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO:77 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性。

【0027】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，包括重鏈和輕鏈，其中：

該重鏈為 SEQ ID NO:74、76 或 78 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO: 79 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性。

【0028】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，包括重鏈和輕鏈，其中：

該重鏈為 SEQ ID NO:80 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO:81 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性。

【0029】 在一些實施方式中，該的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，包括重鏈和輕鏈，其中：

該重鏈為 SEQ ID NO:82 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO:83 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性。

【0030】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，包括重鏈和輕鏈，其中：

該重鏈為 SEQ ID NO:84 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO:85 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性。

【0031】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，包括重鏈和輕鏈，其中：

該重鏈為 SEQ ID NO:86 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO:87 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性。

【0032】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，包括重鏈和輕鏈，其中：

該重鏈為 SEQ ID NO:88 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO:89 所示或與其具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的序列同一性。

【0033】 在一些實施方案中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含如序列如 SEQ ID NO：78 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO：79 所示的輕鏈。

【0034】 在一些實施方案中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含如序列如 SEQ ID NO：84 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO：85 所示的輕鏈。

【0035】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，包含選自如下 ac) 至 ah) 的重鏈可變區和輕鏈可變區的任一組合：

ac) 該重鏈可變區包含與 SEQ ID NO：2 所示重鏈可變區具有相同序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO：3 所示輕鏈可變區具有相同序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

ad) 該重鏈可變區包含與 SEQ ID NO：4 所示重鏈可變區具有相同序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO：5 所示輕鏈可變區具有相同序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

ae) 該重鏈可變區包含與 SEQ ID NO：6 所示重鏈可變區具有相同序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO：7 所示輕鏈可變區具有相同序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

af) 該重鏈可變區包含與 SEQ ID NO：8 所示重鏈可變區具有相同序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO：9 所示輕鏈可變區具有相同序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

ag) 該重鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 10 所示重鏈可變區具有相同序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 11 所示輕鏈可變區具有相同序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；或

ah) 該重鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 12 所示重鏈可變區具有相同序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和該輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 13 所示輕鏈可變區具有相同序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區。

【0036】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗原結合片段是選自 Fab、Fab'、F(ab')₂、單鏈抗體、二聚化的 V 區（雙抗體）和二硫鍵穩定化的 V 區（dsFv）。

【0037】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其特徵在於與如前所述的單株抗體或其抗原結合片段競爭結合人 GCGR（或其表位）。

【0038】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，具有以下特徵中的至少一種：

- i. 以小於 500nM、小於 450nM、小於 400nM、小於 350nM 或小於 300nM（較佳小於 300nM）IC₅₀ 值的水平阻斷人 GCGR 與人胰高血糖素結合的拮抗活性；
- ii. 阻斷食蟹猴或恆河猴 GCGR 與食蟹猴或恆河猴胰高血糖素結合的拮抗活性；
- iii. 抑制人血糖濃度的升高；
- iv. 阻斷小鼠 GCGR 與小鼠胰高血糖素結合的拮抗活性。

【0039】 在一些實施方式中，該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其中該單株抗體或其抗原結合片段與如前所述的單株抗體或其抗原結合片段結合相同的抗原表位。

【0040】 另一方面，本公開提供一種雙特異性蛋白。在一些實施方式中，所提供的一種雙特異性蛋白，該雙特異性蛋白包含 GLP-1 肽和 GCGR 抗體，該 GLP-1 肽與該 GCGR 抗體的多肽鏈之間由肽鍵或接頭共價連接。

【0041】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，其中該 GLP-1 肽的羧基端與 GCGR 抗體的重鏈可變區的胺基端由肽鍵或接頭連接，或者該 GLP-1 肽的羧基端與 GCGR 抗體的輕鏈可變區的胺基端由肽鍵或接頭連接。

【0042】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，其中該 GLP-1 肽的羧基端與 GCGR 抗體的重鏈可變區的胺基端由肽鍵或接頭連接。

【0043】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，其中該 GLP-1 肽的羧基端與 GCGR 抗體的輕鏈可變區的胺基端由肽鍵或接頭連接。

【0044】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，其中該 GLP-1 肽的羧基端與 GCGR 全長抗體的重鏈胺基端由肽鍵或接頭連接。

【0045】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，其中該 GLP-1 肽的羧基端與全長 GCGR 抗體的輕鏈胺基端由肽鍵或接頭連接。

【0046】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，該 GCGR 抗體選自如前所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段。

【0047】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，該 GLP-1 肽是如 SEQ ID NO：91 所示的 GLP-1A，或該 GLP-1 肽在 GLP-1A 基礎上具有 Q17E、I23V、K28R 和 G30R 中一個或多個胺基酸替代的 GLP-1A 肽變體。

【0048】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，該 GLP-1 肽是如 SEQ ID NO：91 所示的 GLP-1A，或該 GLP-1 肽在 GLP-1A 基礎上具有 Q17E 的 GLP-1A 肽變體。

【0049】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，該 GLP-1 肽是如 SEQ ID NO：91 所示的 GLP-1A，或該 GLP-1 肽在 GLP-1A 基礎上具有 Q17E 替代，且同時還具有 I23V、K28R 和 G30R 中一個或多個胺基酸替代 GLP-1A 肽變體。

【0050】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，該 GLP-1 肽是如 SEQ ID NO：91 所示的 GLP-1A，或該 GLP-1 肽在 GLP-1A 基礎上具有 Q17E 或具有 Q17E 和 I23V 的 GLP-1A 肽變體。

【0051】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，該 GLP-1A 肽變體包含如 SEQ ID NO：92、93、94、95、96、97、98 或 99 所示的序列或由其組成。

【0052】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，該 GCGR 抗體是選自如前任一項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段和如前任一項所述的 GLP-1A 肽或 GLP-1A 肽變體。

【0053】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，該雙特異性蛋白具有包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中：該第一多肽鏈選自如 SEQ ID NO：100、101、102、103、104、105、106、107 和 108 任一所示的多肽，和該第二多肽鏈選自如 SEQ ID NO：79 所示的多肽。

【0054】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，該雙特異性蛋白具有包含 GCGR 抗體重鏈的第一多肽鏈和包含 GCGR 抗體輕鏈的第二多肽鏈，其中：該第一多肽鏈選自如 SEQ ID NO：109 所示的多肽，和該第二多肽鏈選自如 SEQ ID NO：81 所示的多肽；

【0055】 在一些實施方式中，該特異性蛋白，該雙特異性蛋白具有包含 GCGR 抗體重鏈的第一多肽鏈和包含 GCGR 抗體輕鏈的第二多肽鏈，其中：該第一多肽鏈選自如 SEQ ID NO：110 所示的多肽，和該第二多肽鏈選自如 SEQ ID NO：83 所示的多肽；

【0056】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，該雙特異性蛋白具有包含 GCGR 抗體重鏈的第一多肽鏈和包含 GCGR 抗體輕鏈的第二多肽鏈，其中：該第一多肽鏈選自如 SEQ ID NO：111 所示的多肽，和該第二多肽鏈選自如 SEQ ID NO：85 所示的多肽；

【0057】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，該雙特異性蛋白具有包含 GCGR 抗體重鏈的第一多肽鏈和包含 GCGR 抗體輕鏈的第二多肽鏈，其中：該第一多肽鏈選自如 SEQ ID NO：112 所示的多肽，和該第二多肽鏈選自如 SEQ ID NO：87 所示的多肽；或者

【0058】 在一些實施方式中，該雙特異性蛋白，該雙特異性蛋白具有包含 GCGR 抗體重鏈的第一多肽鏈和包含 GCGR 抗體輕鏈的第二多肽鏈，其中：該第一多肽鏈選自如 SEQ ID NO：113 所示的多肽，和該第二多肽鏈選自如 SEQ ID NO：89 所示的多肽。

【0059】 另一方面，本公開還提供一種 GLP-1 肽變體。在一些實施方式中，該 GLP-1 肽變體，其是在 SEQ ID NO：91 所示的 GLP-1A 基礎上具有 Q17E、I23V、K28R 和 G30R 中一個或多個胺基酸突變的突變體。

【0060】 在一些實施方式中，該 GLP-1 肽是如 SEQ ID NO：91 所示的 GLP-1A，或該 GLP-1 肽在 GLP-1A 基礎上具有 Q17E 或具有 Q17E 和 I23V 的 GLP-1A 肽變體。

【0061】 在一些實施方式中，該 GLP-1 肽變體，其中具有如 SEQ ID NO：92、93、94、95、96、97、98 或 99 所示的序列。

【0062】 本公開還提供一種醫藥組成物，其含有治療有效量的如前所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或如前所述的雙特異性蛋白，或如前所述的 GLP-1 肽變體，以及一種或多種藥學上可接受的載體、稀釋劑、緩衝劑或賦形劑。

【0063】 本公開還提供一種分離的核酸分子，其編碼如前所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或如前所述的雙特異性蛋白，或如前所述的 GLP-1 肽變體。

【0064】 本公開提供一種重組載體，其包含如前所述的分離的核酸分子。

【0065】 本公開提供一種用如前所述的重組載體轉化的宿主細胞，該宿主細胞選自原核細胞和真核細胞，較佳為真核細胞，更佳哺乳動物細胞或昆蟲細胞。

【0066】 本公開提供用於生產如前所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或如前所述的雙特異性蛋白，或根據如前所述的 GLP-1 肽變體的方法，該方法包括將如前所述宿主細胞在培養基中進行培養以形成並積累如前所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或如前該的雙特異性蛋白，或如前所述的 GLP-1 肽變體，以及從培養物回收該單株抗體或其抗原結合片段或雙特異性蛋白或 GLP-1 肽變體。

【0067】 本公開提供用於體外檢測或測定人 GCGR 的方法，該方法包括使用如前所述的單株抗體或其抗原結合片段。

【0068】 一種檢測人 GCGR 的試劑盒，其包含如前該的單株抗體或其抗原結合片段。

【0069】 根據一些實施方式，還提供了前述抗 GCGR 單株抗體或其抗原結合片段在製備醫療器械（例如試劑盒、陣列、試紙、多孔板、磁珠、包被微粒）中的用途，該醫療器械包含前所述的單株抗體或其抗原結合片段。作為一個示例，試劑盒中包含包被有前述抗 GCGR 單株抗體或其抗原結合片段的多孔板。

【0070】 本公開提供如前所述的單株抗體或其抗原結合片段在製備用於檢測或測定人 GCGR 的試劑中的用途。

【0071】 本公開提供一種降低受試者血糖濃度的方法，該方法包括向受試者施用治療有效量的如前所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或如前述的雙特異性蛋白，或如前所述的 GLP-1 肽變體，或如前所述的醫藥組成物。

【0072】 較佳地，該治療有效量為單位劑量的組合物中含有 0.1-3000mg 的如前所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或如前所述的雙特異性蛋白，或根據如前所述的 GLP-1 肽變體。

【0073】 本公開提供一種治療代謝障礙的方法，該方法包括向受試者施用如前所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或如前所述的雙特異性蛋白，或如前所述的 GLP-1 肽變體，或如前所述的醫藥組成物；較佳地，該代謝障礙為代謝綜合症、肥胖症、葡萄糖耐量受損、糖尿病、糖尿病酮症酸中毒、高血糖症、高血糖高滲綜合症、圍術期高血糖症、高胰島素血症、胰島素抵抗綜合症、空腹血糖受損、血脂異常、動脈粥樣硬化或糖尿病前期狀態。

【0074】 本公開還提供根據如前所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或如前所述的雙特異性蛋白，或如前所述的 GLP-1 肽變體，或如前所述的醫藥組成物在製備治療代謝障礙或降低受試者血糖濃度的藥物中的用途；

【0075】 較佳地，該代謝障礙為代謝綜合症、肥胖症、葡萄糖耐量受損、糖尿病、糖尿病酮症酸中毒、高血糖症、高血糖高滲綜合症、圍術期高血糖症、高胰島素血症、胰島素抵抗綜合症、空腹血糖受損、血脂異常、動脈粥樣硬化或糖尿病前期狀態。

【0076】 本公開還提供用如前所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或如前所述的雙特異性蛋白，或如前所述的 GLP-1 肽變體，或如前所述的醫藥組成物用作藥物，較佳的用作治療代謝障礙或降低受試者血糖濃度的藥物。

【0077】 更佳地，該代謝障礙為代謝綜合症、肥胖症、葡萄糖耐量受損、糖尿病、糖尿病酮症酸中毒、高血糖症、高血糖高滲綜合症、圍術期高血糖症、高胰島素血症、胰島素抵抗綜合症、空腹血糖受損、血脂異常、動脈粥樣硬化或糖尿病前期狀態。

【圖式簡單說明】

【0078】

第 1 圖為本公開的雙特異性蛋白（GLP-1/GCGR 抗）結構示意圖。

第 2 圖為雙特異性蛋白及 GCGR 抗體對 GCGR 的拮抗活性。

第 3 圖為雙特異性蛋白及度拉糖肽對 GLP-1R 的激活活性。

第 4 圖為長期用藥對 ob/ob 小鼠隨機血糖的影響，Vehicle（空載體）為注射磷酸鹽緩衝液（PBS）的模型對照組，hu1803-9D-3mpk 與 hu1803-9-2.84mpk 和度拉糖肽- 1.16mpk 是相同物質的量濃度。

第 5 圖為長期用藥對 ob/ob 小鼠饑餓血糖的影響。所有實驗組均能顯著降低小鼠空腹血糖濃度，其中 hu1803-9D-3mpk 與 hu1803-9-2.84mpk 的降血糖濃度能力最強，且 hu1803-9D-3mpk 的降血糖活性優於 hu1803-9-2.84mpk。

【實施方式】

【0079】 術語

本公開所用胺基酸三字母代碼和單字母代碼如 J.biol.chem,243,p3558 (1968) 中所述。

【0080】 術語“雙特異性蛋白”指能夠與兩個目標蛋白或目標抗原結合的蛋白分子。在本公開雙特異性蛋白特指能夠結合 GCGR 和 GLP-1R (GLP-1 受體)，由 GLP-1 肽和 GCGR 抗體（或其抗原結合片段）的多肽鏈融合後形成的蛋白。

【0081】 “GLP-1 肽”指能結合並激活 GLP-1 受體的肽。現有技術的肽描述於專利申請 WO2008/071972、WO2008/101017、WO2009/155258、WO2010/096052、WO2010/096142、WO2011/075393、WO2008/152403、WO2010/070251、WO2010/070252、WO2010/070253、WO2010/070255、WO2011/160630、WO2011/006497、WO2011/117415、WO2011/117416、WO2006/134340、WO1997046584、WO2007124461、WO2017100107、WO2007039140、CN1935261A、CN1935846A、WO2006036834、WO2005058958、WO2002046227、WO1999043705、WO1999043708、WO1999043341、CN102949730、CN104293834、CN104327187、

WO2015067716、WO2015049651、WO2014096145、WO2014096148、WO2014096150、WO2014096149 中，其內容藉由引用併入本文。包括 GLP-1、GLP-1 類似物和 GLP-1 受體肽激動劑，部分具體的 GLP-1 肽例如：利西拉來（Lixisenatide）/AVE0010/ZP10/Lyxumia、艾塞那肽（Exenatide）/毒蜥外泌肽-4/Byetta/Bydureon/ITCA 650/ AC-2993、利拉魯肽/Victoza、索馬魯肽（Semaglutide）、他司魯肽（Taspoglutide）、Syncria/阿必魯肽（Albiglutide）、度拉糖肽（Dulaglutide）、rExendin-4、CJC-1134-PC、PB-1023、TTP-054、Langlenatide/HM-11260C、CM-3、GLP-1 Eligen、ORMD-0901、NN-9924、NN-9926、NN-9927、Nodexen、Viador-GLP-1、CVX-096、ZYOG-1、ZYG-1、GSK-2374697、DA-3091、MAR-701、MAR709、ZP-2929、ZP-3022、TT-401、BHM-034、MOD-6030、CAM-2036、DA-15864、ARI-2651、ARI-2255、艾塞那肽-XTEN 和胰高血糖素-Xten，除上述 GLP-1 肽外，還包括本公開基於 SEQ ID NO：91 所示 GLP-1A 及其突變體（如 SEQ ID NO：92-99 所示）。

【0082】 GPCR（G Protein-Coupled Receptor），即G蛋白偶聯受體，是表達在細胞質膜上的一類跨膜蛋白。GPCR由超過800個成員組成，是目前已知的哺乳動物基因組中最大的膜蛋白家族。在人體內，GPCR蛋白廣泛分佈於中樞神經系統、免疫系統、心血管、視網膜等器官和組織，參與機體的發育和正常的功能行使。

【0083】 GPCR 蛋白主體由 7 段跨細胞質膜的 α 螺旋結構構成。N 端和三個環位於胞外，參與蛋白與其受體的相互作用；C 端和 3 個環位於胞內，其中 C 端和第 3 個環在 GPCR 蛋白與下游 G 蛋白的相互作用從而介導胞內的信號傳導過程中發揮重要的作用。

【0084】“GCGR”是胰高血糖素（Glucagon）受體，是 GPCR 家族的成員之一，胰高血糖素與 GCGR 結合後主要藉由激活下游途徑，加速糖原分解、脂肪分解和/或糖異生，使血糖升高。

【0085】術語“抗體（antibody，Ab）”包含至少一個與具體抗原（或其表位）（例如 GCGR）特異性結合或相互作用（例如識別和/或結合）的互補決定區的抗原結合分子（或分子複合物）。

【0086】術語“抗體”包含：包括藉由雙硫鍵相互連接的四條多肽鏈，兩條重（H）鏈和二條輕（L）鏈的免疫球蛋白分子以及其多聚體（例如 IgM）。各重鏈包含重鏈可變區（文中縮寫為 HCVR 或 VH）和重鏈恆定區（CH）。這一重鏈恆定區包含三個區（結構域），CH1、CH2 和 CH3。各輕鏈包含輕鏈可變區（文中縮寫為 LCVR 或 VL）和輕鏈恆定區（CL）。VH 和 VL 區可進一步細分為高變區，稱為互補決定區（CDR），其間散佈著較保守性區域，稱為框架區（framework region, FR，也稱骨架區、構架區）。各 VH 和 VL 是由三個 CDR 和四個 FR 所組成，以下列順序由胺基端排列到羧基端：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

【0087】在本公開的不同實施例中，抗 GCGR 抗體（或其抗原結合片段）的 FR 可與人種系序列相同，或可經自然或人工修飾。抗體可以是不同亞類（subclass）的抗體，例如，IgG（例如，IgG1、IgG2、IgG3、或 IgG4 亞類）、IgA1、IgA2、IgD、IgE 或 IgM 抗體。

【0088】術語“抗體”還包含完全抗體分子的抗原結合片段。

【0089】術語抗體的“抗原結合部分”、“抗原結合結構域”、“抗原結合片段”等，如文中所用，包含任何與抗原特異性結合形成複合物的天然生成、酶制得、

合成或基因工程改造的多肽或糖蛋白。抗體的抗原結合片段可使用任何適合的標準技術，例如蛋白質水解消化作用或涉及編碼抗體可變區和（視需要）恆定區的 DNA 操作和表達的重組基因工程技術，來源於例如全抗體分子。這一 DNA 是已知的和/或可容易地從例如市售來源、DNA 資料庫（包含，例如噬菌體-抗體資料庫）取得或可經合成。這一 DNA 可用化學或藉由使用分子生物技術來定序和操作，例如將一個或多個可變和/或恆定區排列成適合的配置，或導入密碼子，產生半胱胺酸殘基、修飾、增添或刪除胺基酸等。

【0090】 抗原結合片段的非限定示例包含：（i）Fab 片段；（ii）F（ab'）₂ 片段；（iii）Fd 片段；（iv）Fv 片段；（v）單鏈 Fv（scFv）分子；（vi）dAb 片段。其它工程改造分子，例如區域特異性抗體、單域抗體、區域刪除抗體、嵌合抗體、雙抗體、三抗體、四抗體、微抗體、奈米抗體（例如單價奈米抗體、雙價奈米抗體等）、小模塊免疫醫藥（SMIP）和鯊可變 IgNAR 區，也涵蓋在文中所用的“抗原結合片段”的詞語內。

【0091】 抗原結合片段典型地將包含至少一個可變區。可變區可以是任何大小或胺基酸組成的區域且一般將包含與一個或多個框架序列相鄰或在其框架內的 CDR。

【0092】 在某些實施例中，抗體的抗原結合片段在任何可變區和恆定區的配置中，可變區和恆定區可直接彼此相連接或可藉由完整或部分的絞鏈或連接子區相連接。絞鏈區可由至少 2 個（例如 5、10、15、20、40、60 或更多個）胺基酸所組成，使得在單一多肽分子中在相鄰的可變和/或恆定區之間產生柔性和半柔性連結。

【0093】“鼠源抗體”在本公開中為根據本領域知識和技能製備的來源於小鼠或大鼠的單株抗體。製備時用抗原注射試驗對象，然後分離表達具有所需序列或功能特性的抗體的融合瘤，當所注射的試驗對象為小鼠時，所產生的抗體為小鼠來源抗體，當所注射的試驗對象為大鼠時，所產生的抗體為大鼠來源抗體。

【0094】“嵌合抗體（chimeric antibody）”，是將第一物種（如鼠）抗體的可變區與第二物種（如人）抗體的恆定區融合而成的抗體。建立嵌合抗體，要先建立分泌第一物種（如鼠）單抗的融合瘤，然後從融合瘤細胞中選殖可變區基因，再根據需要選殖第二物種（如人）抗體的恆定區基因，將第一物種可變區基因與第二物種恆定區基因連接成嵌合基因後插入表達載體中，最後在真核系統或原核系統中表達嵌合抗體分子。

【0095】在本公開一個較佳的實施方案中，該嵌合抗體的抗體輕鏈進一步包含人源 κ 、 λ 鏈或其變體的輕鏈恆定區。該嵌合抗體的抗體重鏈進一步包含人源 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 或其變體的重鏈恆定區，較佳包含人源 IgG1、IgG2 或 IgG4 重鏈恆定區，或者使用胺基酸突變（如 YTE 突變或回復突變，L234A 和/或 L235A 突變，或 S228P 突變）的 IgG1、IgG2 或 IgG4 重鏈恆定區變體。

【0096】術語“人源化抗體（humanized antibody）”，包括 CDR 移植抗體（CDR-grafted antibody），是指將動物來源抗體，例如鼠源抗體的 CDR 序列移植到人的抗體可變區框架區（或構架區，framework region）中產生的抗體。人源化抗體可以克服嵌合抗體由於攜帶大量異源蛋白成分，從而誘導的異源性反應。此類框架區的序列可以從包括種系抗體基因序列的公共 DNA 數據庫或公開的參考文獻獲得。如人重鏈和輕鏈可變區基因的種系 DNA 序列可以在“VBase”人種

系序列數據庫（在因特網 <http://www.vbase2.org/>獲得），以及在 Kabat, E.A.等人，1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 5 版中找到。

【0097】 為避免免疫原性下降引起的活性下降，可對該人抗體可變區框架序列進行最少的反向突變或回復突變，以保持活性。本公開的人源化抗體也包括進一步由噬菌體展示對 CDR 進行親和力成熟後的人源化抗體。

【0098】 由於抗原的接觸殘基，CDR 的移植可由於與抗原接觸的構架殘基而導致產生的抗體或其抗原結合片段對抗原的親和力減弱。此類相互作用可能是體細胞高度突變的結果。因此，可能仍然需要將此類供體構架胺基酸移植至人源化抗體的構架。來自非人抗體或其抗原結合片段的參與抗原結合的胺基酸殘基可藉由檢查動物單株抗體可變區序列和結構來鑒定。CDR 供體構架中與種系不同的各殘基可被認為是相關的。如果不能確定最接近的種系，那麼可將序列與亞類共有序列或具有高相似性百分數的動物抗體序列的共有序列相比較。稀有構架殘基被認為可能是體細胞高度突變的結果，從而在結合中起著重要作用。

【0099】 在本公開一個的實施方案中，該抗體或其抗原結合片段，可進一步包含人源或鼠源 κ 、 λ 鏈或其變體的輕鏈恆定區，或進一步包含人源或鼠源 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 或其變體的重鏈恆定區。

【0100】 人抗體重鏈恆定區和人抗體輕鏈恆定區的“常規變體”是指現有技術已公開的來源於人的不改變抗體可變區結構和功能的重鏈恆定區或輕鏈恆定區的變體，示例性變體包括對重鏈恆定區進行定點改造和胺基酸替換的 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 重鏈恆定區變體，具體替換如現有技術已知的 YTE 突變，L234A 和/或 L235A 突變，或 S228P 突變，或獲得 knob-into-hole 結構的突變（使

得抗體重鏈具有 knob-Fc 和 hole-Fc 組合），這些突變已被證實使得抗體具有新的性能，但不改變抗體可變區的功能。

【0101】“人抗體”與“人源抗體”可以互換使用，可以是源於人的抗體或者是從一種轉基因生物體中獲得的抗體，該轉基因生物體經“改造”以響應於抗原刺激而產生特異性人抗體並且可以藉由本領域已知的任何方法產生。在某些技術中，將人重鏈和輕鏈基因座的元件引入到源於胚胎幹細胞系的生物體的細胞株中，這些細胞株中的內源性重鏈和輕鏈基因座被靶向破壞。轉基因生物可以合成對人抗原特異的人抗體，並且該生物可以用於產生人抗體-分泌融合瘤。人抗體還可以是一種抗體，其中重鏈和輕鏈是由源於一個或多個人 DNA 來源的核苷酸序列編碼的。完全人抗體還可以藉由基因或染色體轉染方法以及噬菌體展示技術來構建，或者由體外活化的 B 細胞構建，所有的這些都是本領域已知的。

【0102】“單株抗體”是指從基本上均質抗體的群體獲得的抗體，即除可能的變體抗體（例如含有天然存在的突變或在製造單株抗體製劑的期間產生的突變，這些變體通常以少量存在）之外，構成該群體的個別抗體識別相同和/或結合相同表位。與通常包含針對不同決定簇（表位）的不同抗體的多株抗體製備物不同，單株抗體製備物（製劑）的每個單株抗體是針對抗原上的單一決定簇的。因此，修飾語“單株”指示如從基本上均質抗體群體獲得的抗體的特性，且不應解釋為需要藉由任何特定方法來製造抗體。例如，根據本公開使用的單株抗體可藉由各種技術製備，該技術包括但不限於融合瘤方法、重組 DNA 方法、噬菌體展示方法以及利用含有全部或部分人免疫球蛋白基因座的轉基因動物的方法，此類方法以及用於製備單株抗體的其他示例性方法在本文中進行描述。術語“單株抗體或其抗原結合片段”中單株抗體指全長抗體。

【0103】術語“全長抗體”、“完整抗體”、“完全抗體”和“全抗體”在本文中可互換使用，指基本上完整形式的抗體，與下文定義的抗原結合片段相區分。該術語特別指重鏈由胺基端至羧基端依次包含 VH 區、CH1 區、鉸鏈區和 Fc 區，輕鏈由胺基端至羧基端依次包含 VL 區和 CL 區的抗體。

【0104】此外，雖然 Fv 片段的兩個結構域 VL 和 VH 由分開的基因編碼，但可使用重組方法，藉由合成的接頭連接它們，從而使得其能夠產生為其中 VL 和 VH 區配對形成單價分子的單個蛋白質鏈（稱為單鏈 Fv（scFv）；參見，例如，Bird 等人(1988)Science242: 423-426；和 Huston 等人(1988)Proc.Natl.Acad.Sci USA85:5879-5883）。此類單鏈抗體也意欲包括在術語抗體的“抗原結合片段”中。使用本領域技術人員已知的常規技術獲得此類抗體片段，並且以與對於完整抗體的方式相同的方式就功用性篩選的片段。可藉由重組 DNA 技術或藉由酶促或化學斷裂完整免疫球蛋白來產生抗原結合部分。

【0105】抗原結合片段還可併入至包含一對串聯 Fv 片段（VH-CH1-VH-CH1）的單鏈分子中，該對串聯 Fv 片段連同互補輕鏈多肽一起形成一對抗原結合區（Zapata 等人,1995 Protein Eng.8(10):1057-1062；及美國專利 US5641870）。

【0106】Fab 是藉由用木瓜蛋白酶（切割 H 鏈的 224 位的胺基酸殘基）處理 IgG 抗體分子所獲得的具有約 50,000Da 分子量的抗體片段，其具有抗原結合活性，其中 H 鏈 N 端側的約一半和整個 L 鏈藉由二硫鍵結合在一起。

【0107】F（ab'）₂是藉由用胃蛋白酶消化IgG鉸鏈區中兩個二硫鍵的下方部分而獲得的分子量為約100,000Da的抗體片段，並具有抗原結合活性並包含在鉸鏈位置相連的兩個Fab區。

【0108】 Fab'是藉由切割上述F (ab')₂的鉸鏈區的二硫鍵而獲得的分子量為約50,000Da並具有抗原結合活性的抗體片段。Fab'可以藉由用還原劑例如二硫蘇糖醇處理特異性識別並結合抗原的F (ab')₂來生產。

【0109】 此外，可以藉由將編碼抗體的 Fab'片段的 DNA 插入到原核生物表達載體或真核生物表達載體中並將載體導入到原核生物或真核生物中以表達 Fab'來生產該 Fab'。

【0110】 術語“單鏈抗體”、“單鏈 Fv”或“scFv”意指包含藉由接頭連接的抗體重鏈可變結構域（或區域；VH）和抗體輕鏈可變結構域（或區域；VL）的分子。此類 scFv 分子可具有一般結構：NH₂-VL-接頭-VH-COOH 或 NH₂-VH-接頭-VL-COOH。合適的現有技術接頭由重複的 GGGGS 胺基酸序列或其變體組成，例如使用 1-4 個（包括 1 個、2 個、3 個或 4 個）重複的變體（Holliger 等人（1993），Proc Natl Acad Sci USA. 90: 6444-6448）。可用於本公開的其他接頭由 Alfthan 等人（1995），Protein Eng. 8:725-731，Choi 等人（2001），Eur J Immuno.31:94-106，Hu 等人（1996），Cancer Res.56:3055-3061，Kipriyanov 等人（1999），J Mol Biol. 293:41-56 和 Roovers 等人（2001），Cancer Immunol Immunother. 50:51-59 描述。

【0111】 “Linker”或“接頭”或“連接子”指用於連接蛋白質結構域的连接性多肽序列，通常具有一定的柔性，接頭的使用不會使蛋白質結構域原有的功能喪失。

【0112】 雙抗體（diabody）是指scFv被二聚體化的抗體片段，是具有二價抗原結合活性的抗體片段。在二價抗原結合活性中，兩個抗原可以是相同或不同的。

【0113】 dsFv是藉由將其中每個VH和VL中的一個胺基酸殘基被半胱胺酸殘基取代的多肽經由半胱胺酸殘基之間的二硫鍵相連而獲得的。可以按照已知方法（Protein Engineering.7:697（1994））基於抗體的三維結構預測來選擇被半胱胺酸殘基取代的胺基酸殘基。

【0114】 本公開一些實施例中抗原結合片段可以藉由以下步驟來生產：獲得本公開的特異性識別並結合抗原的單株抗體的 VH 和/或 VL 及所需的其他結構域的編碼 cDNA，構建編碼抗原結合片段的 DNA，將該 DNA 插入到原核生物表達載體或真核生物表達載體中，然後將該表達載體導入到原核生物或真核生物中以表達抗原結合片段。

【0115】 "Fc 區"可以是天然序列 Fc 區或變體 Fc 區。雖然免疫球蛋白重鏈的 Fc 區的邊界可能變化，但人 IgG 重鏈 Fc 區通常被定義成從位置 Cys226 上的胺基酸殘基或從 Pro230 延伸至其羧基端。Fc 區中的殘基的編號為如 Kabat 中的 EU 索引的編號。Kabat 等，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 5 版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.,1991。免疫球蛋白的 Fc 區通常具有兩個恆定區結構域 CH2 和 CH3。

【0116】 “knob-Fc”指在抗體 Fc 區包含 T366W 的點突變，以形成類似 knob 的空間結構。相對應地，“hole-Fc”指在抗體 Fc 區包含 T366S，L368A，Y407V 的點突變，以形成類似 hole 的空間結構。Knob-Fc 和 hole-Fc 由於空間位阻的原因，更易形成異二聚體。為進一步地促進異二聚體的形成，還可在 knob-Fc 和 hole-Fc 分別引入 S354C 和 Y349C 的點突變，藉由二硫鍵進一步促進異二聚體的形成。同時，為消除或減弱抗體 Fc 引起的 ADCC 效應，還可向 Fc 引入的 234A 和 235A 的取代突變。在雙特異性抗體中，knob-Fc 或 hole-Fc 既可以作為第一多肽

鏈的 Fc 區域，也可以作為第二多肽鏈的 Fc 區域，在同一雙特異性抗體中，第一多肽鏈和第二多肽鏈的 Fc 區不同時為 knob-Fc 或 hole-Fc。

【0117】術語“胺基酸差異”或“胺基酸突變”是指相較於原蛋白質或多肽，變體蛋白質或多肽存在胺基酸的改變或突變，包括在原蛋白質或多肽的基礎上發生 1 個或數個胺基酸的插入、缺失或替換。

【0118】抗體的“可變區”是指單獨的或組合的抗體輕鏈的可變區（VL）或抗體重鏈的可變區（VH）。如在本領域中已知的，重鏈和輕鏈的可變區各自由藉由 3 個互補決定區（CDR）（也稱為高變區）連接的 4 個框架區（FR）組成。每一條鏈中的 CDR 藉由 FR 緊密地保持在一起並且與來自另一條鏈的 CDR 一起促成抗體的抗原結合部位的形成。存在至少 2 個用於確定 CDR 的技術：（1）基於跨種序列變異性的方法（即，Kabat 等 Sequences of Proteins of Immunological Interest,（第 5 版，1991, National Institutes of Health, Bethesda MD））；和（2）基於抗原-抗體複合物的晶體學研究的方法（Al-Lazikani 等，J. Molec. Biol. 273:927-948（1997））。如本文中所用，CDR 可指由任一方法或由兩種方法的組合確定的 CDR。

【0119】術語“抗體框架”或“FR 區”，是指可變結構域 VL 或 VH 的一部分，其用作該可變結構域的抗原結合環（CDR）的支架。從本質上講，其是不具有 CDR 的可變結構域。

【0120】術語“互補決定區”和“CDR”是指抗體的可變結構域內主要促成抗原結合的 6 個高變區之一。通常，每個重鏈可變區中存在三個 CDR（HCDR1、HCDR2、HCDR3）和每個輕鏈可變區中存在三個 CDR（LCDR1、LCDR2、LCDR3）。可以使用各種公知方案中的任何一種來確定 CDR 的胺基酸序列邊界，

包括“Kabat”編號規則（參見 Kabat 等（1991），“Sequences of Proteins of Immunological Interest”，第 5 版，Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda，MD）、“Chothia”編號規則（Al-Lazikani 等人，（1997）JMB 273：927-948）和 ImMunoGenTics（IMGT）編號規則（Lefranc M.P.，Immunologist, 7,132-136（1999）；Lefranc, M.P.等，Dev. Comp. Immunol., 27,55-77（2003））等。例如，對於經典格式，遵循 Kabat 規則，該重鏈可變域（VH）中的 CDR 胺基酸殘基編號為 31-35（HCDR1）、50-65（HCDR2）和 95-102（HCDR3）；輕鏈可變域（VL）中的 CDR 胺基酸殘基編號為 24-34（LCDR1）、50-56（LCDR2）和 89-97（LCDR3）。遵循 Chothia 規則，VH 中的 CDR 胺基酸編號為 26-32（HCDR1）、52-56（HCDR2）和 95-102（HCDR3）；並且 VL 中的胺基酸殘基編號為 26-32（LCDR1）、50-52（LCDR2）和 91-96（LCDR3）。藉由組合 Kabat 和 Chothia 兩者的 CDR 定義，CDR 由人 VH 中的胺基酸殘基 26-35（HCDR1）、50-65（HCDR2）和 95-102（HCDR3）和人 VL 中的胺基酸殘基 24-34（LCDR1）、50-56（LCDR2）和 89-97（LCDR3）構成。遵循 IMGT 規則，VH 中的 CDR 胺基酸殘基編號大致為 26-35（CDR1）、51-57（CDR2）和 93-102（CDR3），VL 中的 CDR 胺基酸殘基編號大致為 27-32（CDR1）、50-52（CDR2）和 89-97（CDR3）。遵循 IMGT 規則，抗體的 CDR 區可以使用程序 IMGT/DomainGap Align 確定。

【0121】 “HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區或其任意 CDR 變體”中的“其任意 CDR 變體”是指對 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區中任意一個、或兩個、或三個 HCDR 進行胺基酸突變獲得的變體。

【0122】 “抗體恆定區結構域”指來源於抗體的輕鏈和重鏈的恆定區的結構域，包括 CL 和來源於不同類抗體的 CH1、CH2、CH3 和 CH4 結構域。

【0123】 “表位”或“抗原決定簇”是指抗原上免疫球蛋白或抗體特異性結合的部位。表位通常以獨特的空間構象包括至少 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 或 15 個連續或非連續的胺基酸。參見，例如，Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology，第 66 卷，G.E.Morris，Ed.（1996）。

【0124】 術語“特異性結合”、“選擇性結合”、“選擇性地結合”和“特異性地結合”是指抗體對預先確定的抗原上的表位的結合。通常，抗體以大約小於 10^{-8}M ，例如大約小於 10^{-9}M 、 10^{-10}M 、 10^{-11}M 或更小的親和力（KD）結合。

【0125】 當術語“競爭”用於競爭相同表位的抗原結合蛋白（例如中和抗原結合蛋白或中和抗體）的情況中時，意指在抗原結合蛋白之間競爭，其藉由以下測定法來測定：在該測定法中，待檢測的抗原結合蛋白（例如抗體或其抗原結合片段）防止或抑制（例如降低）參考抗原結合蛋白（例如配體或參考抗體）與共同抗原的特異性結合。眾多類型的競爭性結合測定可用於確定一種抗原結合蛋白是否與另一種競爭，這些測定例如：固相直接或間接放射免疫測定（RIA）、固相直接或間接酶免疫測定（EIA）、夾心競爭測定（參見例如 Stahli 等，1983，Methods in Enzymology 9：242-253）；固相直接生物素-親和素 EIA（參見例如 Kirkland 等，1986，J.Immunol.137：3614-3619）、固相直接標記測定、固相直接標記夾心測定（參見例如 Harlow 和 Lane，1988，Antibodies，A Laboratory Manual（抗體，實驗室手冊），Cold Spring Harbor Press）；用 I-125 標記物的固相直接標記 RIA（參見例如 Morel 等，1988，Molec.Immunol.25：7-15）；固相直接生物素-親和素 EIA（參見例如 Cheung，等，1990，Virology 176：546-552）；和直接標記的 RIA（Moldenhauer 等，1990，Scand.J.Immunol.32：77-82）。通常該測定法涉及使用能與帶有未標記的檢測抗原結合蛋白及標記的參考抗原結合蛋白

結合的純化抗原(該抗原在固態表面或細胞表面)。在待測抗原結合蛋白存在下，測量結合於固態表面或細胞的標記的量，來測量競爭性抑制。通常，待測抗原結合蛋白是過量存在的。由競爭性測定(競爭抗原結合蛋白)鑒定的抗原結合蛋白包括：結合與參考抗原結合蛋白同一表位的抗原結合蛋白；和結合充分接近參考抗原結合蛋白的結合表位的鄰近表位的抗原結合蛋白，該兩個表位在空間上互相妨礙發生結合。在本公開實施例中提供關於用於測定競爭性結合的方法的其它詳細資料。通常當競爭的抗原結合蛋白過量存在時，其將抑制(例如降低)至少 40-45%、45-50%、50-55%、55-60%、60-65%、65-70%、70-75%或 75%或更多參考抗原結合蛋白與共同抗原的特異性結合。在某些情況下，結合被抑制至少 80-85%、85-90%、90-95%、95-97%或 97%或更多。

【0126】術語“親和力”是指在單一表位處，抗體與抗原之間相互作用的強度。在各抗原位點內，抗體“臂”的可變區藉由弱非共價力與抗原在多個胺基酸位點處相互作用；相互作用愈大，親和力愈強。如本文所用，抗體或其抗原結合片段(例如 Fab 片段)的術語“高親和力”通常是指具有 $1\text{E}^{-9}\text{M}$ 或更小的 K_D (例如 $1\text{E}^{-10}\text{M}$ 或更小的 K_D 、 $1\text{E}^{-11}\text{M}$ 或更小的 K_D 、 $1\text{E}^{-12}\text{M}$ 或更小的 K_D 、 $1\text{E}^{-13}\text{M}$ 或更小的 K_D 、 $1\text{E}^{-14}\text{M}$ 或更小的 K_D 等)的抗體或抗原結合片段。

【0127】術語“KD”或“ K_D ”是指特定抗體-抗原相互作用的解離平衡常數。通常，抗體以小於大約 $1\text{E}^{-8}\text{M}$ ，例如小於大約 $1\text{E}^{-9}\text{M}$ 、 $1\text{E}^{-10}\text{M}$ 或 $1\text{E}^{-11}\text{M}$ 或更小的解離平衡常數(KD)結合抗原，例如，如使用表面等離子體共振 (SPR) 技術在 BIACORE 儀中測定的。KD 值越小，親和力越大。

【0128】術語“核酸分子”是指 DNA 分子和 RNA 分子。核酸分子可以是單鏈或雙鏈的，但較佳是雙鏈 DNA。當將核酸與另一個核酸序列置於功能關係中

時，核酸是“有效連接的”。例如，如果啟動子或增強子影響編碼序列的轉錄，那麼啟動子或增強子有效地連接至該編碼序列。

【0129】術語“載體”意指能夠遞送一個或多個目標基因或序列並且較佳地在宿主細胞中表達其的構建體。載體的示例包括，但不限於，病毒載體、裸露 DNA 或 RNA 表達載體、質粒、黏粒或噬菌體載體、與陽離子凝聚劑締合的 DNA 或 RNA 表達載體、包封在脂質體中的 DNA 或 RNA 表達載體和某些真核生物細胞諸如生產細胞。

【0130】現有技術中熟知生產和純化抗體和抗原結合片段的方法，如冷泉港的抗體實驗技術指南，5-8 章和 15 章。例如，鼠可以用抗原或其片段免疫，所得到的抗體能被覆性、純化，並且可以用常規的方法進行胺基酸測序。抗原結合片段同樣可以用常規方法製備。本公開所述的抗體或抗原結合片段用基因工程方法在非人源的 CDR 區加上一個或多個人源 FR 區。人 FR 種系序列可以藉由比對 IMGT 人類抗體可變區種系基因數據庫和 MOE 軟體，從網站 <http://www.imgt.org/> 得到，或者從免疫球蛋白雜誌，2001 ISBN 012441351 上獲得。

【0131】術語“宿主細胞”是指已向其中引入了表達載體的細胞。宿主細胞可包括細菌、微生物、植物或動物細胞。易於轉化的細菌包括腸桿菌科 (enterobacteriaceae) 的成員，例如大腸桿菌 (*Escherichia coli*) 或沙門氏菌 (*Salmonella*) 的菌株；芽孢桿菌科 (Bacillaceae) 例如枯草芽孢桿菌 (*Bacillus subtilis*)；肺炎球菌 (*Pneumococcus*)；鏈球菌 (*Streptococcus*) 和流感嗜血菌 (*Haemophilus influenzae*)。適當的微生物包括釀酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 和畢赤酵母 (*Pichia pastoris*)。適當的動物宿主細胞系包括 CHO (中

國倉鼠卵巢細胞系)、HEK293 細胞(非限制性實施例如 HEK293E 細胞)和 NS0 細胞。

【0132】工程化的抗體或抗原結合片段可用常規方法製備和純化。比如，編碼重鏈和輕鏈的 cDNA 序列，可以選殖並重組至 GS 表達載體。重組的免疫球蛋白表達載體可以穩定地轉染 CHO 細胞。作為一種可選的現有技術，哺乳動物類表達系統會導致抗體的糖基化，特別是在 Fc 區的高度保守 N 端位點。藉由表達與抗原特異性結合的抗體得到穩定的純株。陽性的純株在生物反應器的無血清培養基中擴大培養以生產抗體。分泌了抗體的培養液可以用常規技術純化。比如，用含調整過的緩衝液的蛋白 A 或蛋白 G Sepharose FF 管柱進行純化。洗去非特異性結合的組分。再用 pH 梯度法沖提結合的抗體，用 SDS-PAGE 檢測抗體片段，收集。抗體可用常規方法進行過濾濃縮。可溶的混合物和多聚體，也可以用常規方法去除，比如分子篩、離子交換。得到的產物需立即冷凍，如-70℃，或者凍乾。

【0133】“施用”、“給藥”、“給予”、“處理”，當應用於動物、人、實驗受試者、細胞、組織、器官或生物流體時，是指將外源性藥物、治療劑、診斷劑、組成物或者人為操作（比如實施例中的“安樂死”）提供給與動物、人、受試者、細胞、組織、器官或生物流體。“給予”和“處理”可以指例如治療、藥物代謝動力學、診斷、研究和實驗方法。細胞的處理包括試劑與細胞的接觸，以及試劑與流體的接觸，其中該流體與細胞接觸。“給予”和“處理”還意指藉由試劑、診斷、結合組合物或藉由另一種細胞體外和離體處理例如細胞。“處理”當應用於人、獸醫學或研究受試者時，是指治療處理、預防或預防性措施，研究和診斷應用。

【0134】“治療”意指給予受試者內用或外用治療劑，例如包含本公開實施例的任一種化合物的組合物，該受試者具（或疑似患有、或易感於）有一種或多種疾病症狀，而己知該治療劑對這些症狀具有治療作用。通常，在受治療受試者或群體中以有效緩解一種或多種疾病症狀的量給予治療劑，以誘導這類症狀退化或抑制這類症狀發展到任何臨床有測量的程度。有效緩解任何具體疾病症狀的治療劑的量（也稱作“治療有效量”）可根據多種因素變化，例如受試者的疾病狀態、年齡和體重，以及藥物在受試者產生需要療效的能力。藉由醫生或其它專業衛生保健人士通常用於評價該症狀的嚴重性或進展狀況的任何臨床檢測方法，可評價疾病症狀是否已被減輕。儘管本公開的實施方案（例如治療方法或製品）可能無法在緩解每個目標疾病症狀方面都有效，但是根據本領域已知的任何統計學檢驗方法如 Student t 檢驗、卡方檢驗、依據 Mann 和 Whitney 的 U 檢驗、Kruskal-Wallis 檢驗（H 檢驗）、Jonckheere-Terpstra 檢驗和 Wilcoxon 檢驗確定，其在統計學顯著數目的受試者中應當減輕目標疾病症狀。

【0135】“胺基酸保守修飾”或“胺基酸保守取代”指蛋白質或多肽中的胺基酸被具有相似特徵（例如電荷、側鏈大小、疏水性/親水性、主鏈構象和剛性等）的其他胺基酸取代，從而使得在不改變蛋白質或多肽的生物活性或其他所需特性（例如抗原親和力和/或特異性）的情況下，可以經常進行改變。本領域技術人員認識到，通常，多肽的非必需區域中的單個胺基酸取代基本上不改變生物活性（參見，例如，Watson 等人，（1987）Molecular Biology of the Gene, The Benjamin/Cummings Pub. Co., 第 224 頁（第 4 版））。此外，結構上或功能上相似的胺基酸的取代不太可能破壞生物活性。示例性胺基酸保守取代如下：

原始殘基	保守取代
98742	第 34 頁，共 88 頁(發明說明書)

Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His; Asp
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala; Val
Gln (Q)	Asn; Glu
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; His
Met (M)	Leu; Ile; Tyr
Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	Ile; Leu 。

【0136】 “有效量”、“有效劑量”是指獲得任一種或多種有益的或所需的治療結果所必需的藥物、化合物或醫藥組成物的量。對於預防用途，有益的或所需的結果包括消除或降低風險、減輕嚴重性或延遲病症的發作，包括病症、其併發

症和在病症的發展過程中呈現的中間病理表型的生物化學、組織學和/或行為症狀。對於治療應用，有益的或所需的結果包括臨床結果，如減少各種本公開靶抗原相關病症的發病率或改善該病症的一個或多個症狀，減少治療病症所需的其它藥劑的劑量，增強另一種藥劑的療效，和/或延緩受試者的本公開靶抗原相關病症的進展。

【0137】“外源性”指根據情況在生物、細胞或人體外產生的物質。

【0138】“內源性”指根據情況在細胞、生物或人體內產生的物質。

【0139】“同源性”、“同一性”在本文中可以互換，是指兩個多核苷酸序列之間或兩個多肽之間的序列相似性。當兩個比較序列中的位置均被相同域基或胺基酸單體亞基佔據時，例如如果兩個 DNA 分子的每一個位置都被腺嘌呤佔據時，那麼該分子在該位置是同源的。兩個序列之間的同源性百分率是兩個序列共有的匹配或同源位置數除以比較的位置數 $\times 100$ 的函數。例如，在序列最佳比對時，如果兩個序列中的 10 個位置有 6 個匹配或同源，那麼兩個序列為 60%同源；如果兩個序列中的 100 個位置有 95 個匹配或同源，那麼兩個序列為 95%同源。通常，當比對兩個序列時進行比較以給出最大百分比同源性。例如，可以藉由 BLAST 算法執行比較，其中選擇算法的參數以在各個參考序列的整個長度上給出各個序列之間的最大匹配。

【0140】 以下參考文獻涉及經常用於序列分析的 BLAST 算法：BLAST 算法（BLAST ALGORITHMS）：Altschul, S.F.等人，（1990） J. Mol. Biol. 215:403-410；Gish, W.等人，（1993） Nature Genet. 3:266-272；Madden, T.L.等人，（1996） Meth. Enzymol. 266:131-141；Altschul, S.F.等人，（1997） Nucleic Acids Res.

25:3389-3402; Zhang, J.等人, (1997) Genome Res. 7:649-656。其他如 NCBI BLAST 提供的常規 BLAST 算法也為本領域技術人員所熟知。

【0141】“分離的”指加以改為“脫離其原始存在環境狀態”，並且在這種情況下意味著，指定的分子基本上不含其他非目標生物分子。通常，術語“分離的”並不意圖指完全不存在這些材料或不存在水、緩衝液或鹽，除非它們以顯著干擾如本文所述的化合物的實驗或治療用途的量存在。

【0142】“視需要”或“視需要地”意味著隨後所描述地事件或環境可以但不必發生，該說明包括該事件或環境發生或不發生的場合。

【0143】“醫藥組成物”表示含有一種或多種本公開所述化合物或其生理學上/可藥用的鹽或前體藥物與其他化學組分的混合物，該其他組分例如生理學/可藥用的載體和賦形劑。醫藥組成物的目的是促進對生物體的給藥，利於活性成分的吸收進而發揮生物活性。

【0144】術語“藥學上可接受的載體”指適合用於製劑中用於遞送抗體或抗原結合片段的任何無活性物質。載體可以是抗黏附劑、黏合劑、包衣、崩解劑、充填劑或稀釋劑、防腐劑（如抗氧化劑、抗菌劑或抗真菌劑）、增甜劑、吸收延遲劑、潤濕劑、乳化劑、緩衝劑等。合適的藥學上可接受的載體的示例包括水、乙醇、多元醇（例如甘油、丙二醇、聚乙二醇等）右旋糖、植物油（例如橄欖油）、鹽水、緩衝液、緩衝的鹽水和等滲劑例如糖、多元醇、山梨糖醇和氯化鈉。

【0145】術語“代謝障礙”的具體示例為代謝綜合症、肥胖症、葡萄糖耐量受損、糖尿病、糖尿病酮症酸中毒、高血糖症、高血糖高滲綜合症、圍術期高血糖症、高胰島素血症、胰島素抵抗綜合症、空腹血糖受損、血脂異常、動脈粥樣硬化或糖尿病前期狀態。

【0146】此外，本公開另一方面涉及用於免疫檢測或測定目標抗原的方法、用於免疫檢測或測定目標抗原的試劑、用於免疫檢測或測定表達目標抗原的細胞的方法和用於診斷與目標抗原陽性細胞相關的疾病的診斷劑，其包含本公開的特異性識別並結合目標抗原的單株抗體或抗體片段作為活性成分。

【0147】在本公開中，用於檢測或測定目標抗原的量的方法可以是任何已知方法。例如，它包括免疫檢測或測定方法。

【0148】免疫檢測或測定方法是使用標記的抗原或抗體檢測或測定抗體量或抗原量的方法。免疫檢測或測定方法的示例包括放射性物質標記的免疫抗體方法（RIA）、酶免疫測定法（EIA 或 ELISA）、螢光免疫測定法（FIA）、發光免疫測定法、蛋白質免疫印跡法、物理化學方法等。

【0149】上述與目標抗原陽性細胞相關的疾病可以藉由用本公開的單株抗體或抗體片段檢測或測定表達目標抗原的細胞來診斷。

【0150】為了檢測表達多肽的細胞，可以使用已知的免疫檢測方法，並較佳使用免疫沉澱法、螢光細胞染色法、免疫組織染色法等。此外，可以使用利用 FMA8100HTS 系統（Applied Biosystem）的螢光抗體染色法等。

【0151】在本公開中，對用於檢測或測定目標抗原的活體樣本沒有特別限制，只要它具有包含表達目標抗原的細胞的可能性即可，例如組織細胞、血液、血漿、血清、胰液、尿液、糞便、組織液或培養液。

【0152】根據所需的診斷方法，含有本公開的單株抗體或其抗體片段的診斷劑還可以含有用於執行抗原-抗體反應的試劑或用於檢測反應的試劑。用於執行抗原-抗體反應的試劑包括緩衝劑、鹽等。用於檢測的試劑包括通常用於免疫

檢測或測定方法的試劑，例如識別該單株抗體、其抗體片段或其結合物的標記的第二抗體和與該標記對應的受質等。

【0153】 在以上說明書中提出了本發明一種或多種實施方式的細節。雖然可使用與本文所述類似或相同的任何方法和材料來實施或測試本發明，但是以下描述較佳的方法和材料。藉由說明書和申請專利範圍第書，本發明的其他特點、目的和優點將是顯而易見的。在說明書和申請專利範圍中，除非上下文中有清楚的另外指明，單數形式包括複數指代物的情況。除非另有定義，本文使用的所有技術和科學術語都具有本發明所屬領域普通技術人員所理解的一般含義。說明書中引用的所有專利和出版物都藉由引用納入本文。提出以下實施例是為了更全面地說明本發明的較佳實施方式。這些實施例不應以任何方式理解為限制本發明的範圍，本發明的範圍由申請專利範圍限定。

[實施例]

【0154】 實施例 1：GCGR 抗原抗體的製備

1.1 抗原構建和篩選

將編碼全長 477 個胺基酸的胰高血糖素受體的人類 GCGR cDNA 亞選殖到表達載體（如 pcDNA3.1）中，並轉染 CHO-K1 細胞。在篩選和單細胞株後，選擇單株用於抗原的表達、及基於受體的細胞表面表達的特性研究。以下 GCGR 抗原未特殊說明的均指人 GCGR。

【0155】 全長GCGR：用於構建GCGR過表達細胞株，或用於免疫用抗原及後續檢測：

MPPCQPQRPLLLLLLLLLLACQPQVPSAQVMDFLFEKWKLYGDQCHHNLSLLPP
PTELVCNRTFDKYSCWPDTPANTTANISCPWYLPWHHKVQHRFVFKRCGPDG

QWVRGPRGQPWRDASQCQMDGEEIEVQKEVAKMYSSFQVMYTVGYSLSLG
 ALLLALAILGGLSKLHCTRNAIHANLFASFVLKASSVLVIDGLLRTRYSQLIGD
 DLSVSTWLSDGAVAGCRVA AVFMQYGIVANYCWLLVEGLYLHNLLGLATLPE
 RSFFSLYLGIGWGAPMLFVVPWAVVKCLFENVQCWTSNDNMGFWWILRFPV
 FLAILINFFIFVRIVQLLVAKLRARQMHHTDYKFRLAKSTLTLLPLLGVEVVF
 AFVTDEHAQGTLRSAKLFFDLFLSSFQGLLVAVLYCFLNKEVQSELRRRWHR
 WRLGKVLWEERNTSNHRASSSPGHGPPSKELQFGRGGGSQDSSAETPLAGGL
 PRLAESPF (SEQ ID NO : 1)

【0156】 1.2 GCGR融合瘤、重組抗體的純化

(1) 融合瘤上清分離純化/ProteinG 親和層析：

對於小鼠融合瘤上清純化首選 ProteinG 進行親和層析，將培養所得融合瘤離心取上清，根據上清體積加入 10-15%體積的 1M Tris-HCl (pH8.0-8.5) 調節上清 pH。ProteinG 管柱利用 6M 鹽酸胍洗 3-5 倍管柱體積，然後利用純水清洗 3-5 倍管柱體積；利用如 1×PBS (pH7.4) 緩衝體系作為平衡緩衝液對層析管柱平衡 3-5 倍管柱體積；細胞上清利用低流速上樣結合，控制流速使保留時間約 1min 或更長時間；利用 1×PBS (pH7.4) 洗滌層析管柱 3-5 倍管柱體積至紫外吸收回落至基線；利用 0.1M 醋酸/醋酸鈉 (pH3.0) 緩衝液進行樣本沖提，根據紫外檢測收集沖提峰，沖提產物利用 1M Tris-HCl (pH8.0) 快速調節 pH 至 5-6 暫存。對於沖提產物可以利用本領域技術人員熟知的方法進行溶液置換，如利用超濾管進行超濾濃縮及溶液置換至所需的緩衝體系，或者利用分子排阻如 G-25 脫鹽替換成所需的緩衝體系，或者利用如 Superdex 200 等高分辨率分子排阻管柱去除沖提產物中的聚體成分以提高樣本純度。

【0157】 (2)Protein A 親和層析提取帶 Fc 標籤的雙特異性蛋白或者抗體：

首先將表達 Fc 雙特異性蛋白或者抗體的細胞培養上清進行高速離心收取上清。ProteinA 親和管柱利用 6M 鹽酸胍洗 3-5 倍管柱體積，然後利用純水清洗 3-5 倍管柱體積。利用如 1×PBS (pH7.4) 緩衝體系作為平衡緩衝液對層析管柱平衡 3-5 倍管柱體積。細胞上清利用低流速上樣結合，控制流速使保留時間約 1min 或更長時間，結合完畢後利用 1×PBS (pH7.4) 洗滌層析管柱 3-5 倍管柱體積至紫外吸收回落至基線。利用 0.1M 醋酸/醋酸鈉 (pH3.0-3.5) 緩衝液進行樣本沖提，根據紫外檢測收集沖提峰，沖提產物利用 1M Tris-HCl (pH8.0) 快速調節 pH 至 5-6 暫存。對於沖提產物可以利用本領域技術人員熟知的方法進行溶液置換，如利用超濾管進行超濾濃縮及溶液置換至所需的緩衝體系，或者利用分子排阻如 G-25 脫鹽替換成所需的緩衝體系，或者利用如 Superdex 200 等高分辨率分子排阻管柱去除沖提產物中的聚體成分以提高樣本純度。

【0158】 實施例 2：抗人 GCGR 單株抗體的製備**2.1 免疫**

(1) 小鼠免疫：抗人 GCGR 單株抗體藉由免疫小鼠產生。實驗用 SJL 白小鼠，雌性，6-8 週齡（北京維通利華實驗動物技術有限公司，動物生產許可證號：SCXK（京）2012-0001）。飼養環境：SPF 級。小鼠購進後，實驗室環境飼養 1 週，12/12 小時光/暗週期調節，溫度 20-25℃；濕度 40-60%。將已適應環境的小鼠按以下方案免疫。免疫抗原為 GCGR CHO-K1 穩轉細胞。

【0159】 免疫方案：用佐劑 TiterMax® Gold Adjuvant (Sigma Cat No. T2684) 預先免疫小鼠，腹膜內 (IP) 注射 0.1ml/隻 (首次免疫)。15min 後，腹膜內 (IP) 注射 GCGR CHO-K1 穩轉細胞，1E7 細胞/隻。接種時間為第 0、14、28、42、

56、70、84、98、112 天。於第 35，63，91 天取血，用 ELISA 方法確定小鼠血清中的抗體滴度。在第 6-9 次免疫以後，選擇血清中抗體滴度高並且滴度趨於平臺的小鼠進行脾細胞融合。在進行脾細胞融合前 3 天加強免疫，腹膜內（IP）注射 1 E7 細胞/隻的 GCGR CHO-K1 穩轉細胞。

【0160】（2）大鼠免疫：使用 DNA（編碼全長 hGCGR，編碼序列參見 Genbank 登錄號：NM_000160）免疫 6-8 週齡 SD 大鼠，用 FACS 方法確定大鼠血清中的抗體滴度。在第 3-4 次免疫以後，選擇血清中抗體滴度高並且滴度趨於平臺的大鼠進行脾細胞融合。在進行脾細胞融合前 3 天加強免疫。

【0161】 2.2 脾細胞融合

採用優化的 PEG 介導的融合步驟將脾淋巴細胞與骨髓瘤細胞 Sp2/0 細胞（ATCC® CRL-8287™）進行融合得到融合瘤細胞。融合的融合瘤細胞以 0.5-1E6/ml 的密度用完全培養基（含 20% FBS、1×HAT、1×OPI 的 IMEM 培養基）重懸，100μl/孔種於 96 孔板中，37℃，5%CO₂ 孵育 3-4 天後，補充 HAT 完全培養基 100μl/孔，繼續培養 3-4 天至形成純株。去除上清，加入 200μl/孔的 HT 完全培養基（含 20%FBS、1×HT 和 1×OPI 的 IMDM 培養基），37℃，5%CO₂ 培養 3 天後進行 ELISA 檢測。

【0162】 2.3 融合瘤細胞篩選

根據融合瘤細胞生長密度，用細胞結合 ELISA 方法進行融合瘤培養上清檢測。將測試呈為陽性的孔細胞及時進行擴增、凍存、和二到三次亞選殖直至獲得單細胞株。

【0163】 每次亞選殖細胞也均需進行 GCGR 細胞結合 ELISA 實驗檢測。藉由實驗篩選得到融合瘤純株，用無血清細胞培養法進一步製備抗體，按純化實例純化抗體，供在測試例中使用。

【0164】 2.4 融合瘤陽性純株序列測定

從陽性融合瘤中選植序列過程如下。收集對數生長期融合瘤細胞，用 Trizol (Invitrogen, Cat No.15596-018) 按照試劑盒說明書步驟提取 RNA，用 PrimeScript™ Reverse Transcriptase 試劑盒反轉錄 (Takara, Cat No. 2680A)。將反轉錄得到的 cDNA 採用小鼠 Ig-Primer Set (Novagen, TB326 Rev.B 0503) 進行 PCR 擴增後測序。

【0165】 從得到的 DNA 序列獲得所篩選到的陽性純株，用無血清細胞培養法製備抗體，按純化實例純化抗體，在測試例中使用基於細胞的 GCGR 結合阻斷實驗經過多輪篩選，得到來源於小鼠的融合瘤純株 1803, 1805, 1808 和 1810, 來源於大鼠的融合瘤純株 1817 和 1822。

表 1. GCGR 抗體輕鏈可變區和重鏈可變區序列

抗體名稱	重鏈可變區 (SEQ ID NO)	輕鏈可變區 (SEQ ID NO)
m1803	QFQLHQSGAELVKPGASVKLSCK ATGYTFTDYWIEWVKQRPGHGL EWIGEILPGSTYTNYNEKFKGRA TFTAEPSSSSAYMQLSGLTTEDSA IYYCSRGLSTLMAVDYFDYWGQ GTTLTVSS (SEQ ID NO : 2)	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTINCR ASQDISNYLNWYQQKPDGTVKL LIYYSSTLHSGVPSRFSGSGSGTD YSLTISHLEQEDIATYFCQQTNIFP WTFGGGGTKLEI (SEQ ID NO : 3)
m1805	EVQLQQSGPELVKPGASVKIPCK TSGYTFTDYNMDWVKQSHGRSL EWIGSIDPDNGGTIYNQKFKGKA TLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTA VYYCTRDYYGSSSWFAYWGQGT LTVSA (SEQ ID NO : 4)	DVVMTQSPATLSVTPGDRVSLSC RASQSIDYLNHWYQQKSHESPRL LIKYASQSIGIPSRFSGSGSGSDF TLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSF PYTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO : 5)
m1808	QVQLQQSGAELARPGASVKLSC KASGDTFTTNGISWVKQRIGQGL EWIGEIYPRSGNTYYNENFKGKA TLTADKSSTTAYMELRRLTSEDSA VYFCARSITSVIGADYFDYWGG TTLTVSS (SEQ ID NO : 6)	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCR ASQDISNYLNWYQKKPDGTVKL LIYYSSTLHSGVPSRFSGSGSGTD YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTF PWTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO : 7)
m1810	QVQLQQSGTELARPGTSVTLSCK ASGYTFTNYAISWVKQRTGQGLE WIGEIYPTSGNTYYNEKFKGKAT LTADRSSKTMYMELRSLTSVDSA	DIQMTQIPSSLSVSLGDRVTISCR ASLDISNYLNWYQLKPDGTVKL LIYYTSTLHSGVSSRFSGSGSGTE

	VYFCASGVITTVVSTDYFDYWG QGSPLTVSS (SEQ ID NO : 8)	YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNM VPYTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO : 9)
rat1817	EVQLVESGGDLVQPGRSMKLSC AASGFTFSNYMAWVRQAPTKG LEWVASISTGGVNTYYRDSVKG RFTISRDNAKNNLYLQMDSLRSE ETATYYCARHTTADYFYGIYFAL DAWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO : 10)	QFTLTQPKSVSGSLRSTITIPCERS SGDIGDSYVNWYQQHLGRPPLN VIYADVQRPSEVSDRFSGSIDSSS NSASLTITNLQMDDEADYFCQSY DTNIDIIFGGGGTKLTVL (SEQ ID NO : 11)
rat1822	EVRLVESGGDFVQPGRSVKLSCA ASGFTFSNYMAWVRQAPTKGL EWVGSISTGGVNTYYRDSVKGR FTISRDNAESTLYLQMDSLRSEET ATYYCARHTTPDYHYGIYFAMD AWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO : 12)	QVTLTQPKSVSGSLRSTITIPCERS SGDIGESYVNWYQQHLGRPPINV IYADDQRPSEVSDRFSGSIDSSSN SASLTITNLQVDDEADYFCQSYD SSIDIFFGGGGTKLTVL (SEQ ID NO : 13)

表 2. Kabat 編號的 CDR 區序列

抗體 名稱	重鏈CDR		輕鏈CDR	
m1803	HCDR1	<u>DYWIE</u> (SEQ ID NO : 14)	LCDR1	<u>RASQDISNYLN</u> (SEQ ID NO : 17)
	HCDR2	<u>EILPGSTYTNYNEKFKG</u> (SEQ ID NO : 15)	LCDR2	<u>YSSTLHS</u> (SEQ ID NO : 18)
	HCDR3	<u>GLSTLMAVDYFDY</u> (SEQ ID NO : 16)	LCDR3	<u>QQTNI FPWT</u> (SEQ ID NO : 19)
m1805	HCDR1	<u>DYNMD</u> (SEQ ID NO : 20)	LCDR1	<u>RASQSISDYLH</u> (SEQ ID NO : 23)
	HCDR2	<u>SIDPDNGGTIYNQKFKG</u> (SEQ ID NO : 21)	LCDR2	<u>YASQSIS</u> (SEQ ID NO : 24)
	HCDR3	<u>DYYGSSSWFAY</u> (SEQ ID NO : 22)	LCDR3	<u>QNGHSFPYT</u> (SEQ ID NO : 25)
m1808	HCDR1	<u>TNGIS</u> (SEQ ID NO : 26)	LCDR1	<u>RASQDISNYLN</u> (SEQ ID NO : 29)
	HCDR2	<u>EIYPRSGNTYYNENFKG</u> (SEQ ID NO : 27)	LCDR2	<u>YSSTLHS</u> (SEQ ID NO : 30)
	HCDR3	<u>SITSVIGADYFDY</u> (SEQ ID NO : 28)	LCDR3	<u>QQGNTFPWT</u> (SEQ ID NO : 31)
m1810	HCDR1	<u>NYAIS</u> (SEQ ID NO : 32)	LCDR1	<u>RASLDISNYLN</u> (SEQ ID NO : 35)
	HCDR2	<u>EIYPTSGNTYYNEKFKG</u> (SEQ ID NO : 33)	LCDR2	<u>YTSTLHS</u> (SEQ ID NO : 36)
	HCDR3	<u>GVITTVVSTDYFDY</u>	LCDR3	<u>QQGNMVPYT</u>

		(SEQ ID NO : 34)		(SEQ ID NO : 37)
rat1817	HCDR1	<u>NYYPMA</u> (SEQ ID NO : 38)	LCDR1	<u>ERSSGDIGDSYVN</u> (SEQ ID NO : 41)
	HCDR2	<u>SISTGGVNTYYRDSVKG</u> (SEQ ID NO : 39)	LCDR2	<u>ADVQRPS</u> (SEQ ID NO : 42)
	HCDR3	<u>HTTADYFYGIYFALDA</u> (SEQ ID NO : 40)	LCDR3	<u>QSYDTNIDII</u> (SEQ ID NO : 43)
rat1822	HCDR1	<u>NYYPMA</u> (SEQ ID NO : 38)	LCDR1	<u>ERSSGDIGESYVN</u> (SEQ ID NO : 45)
	HCDR2	<u>SISTGGVNTYYRDSVKG</u> (SEQ ID NO : 39)	LCDR2	<u>ADDQRPS</u> (SEQ ID NO : 46)
	HCDR3	<u>HTTPDYHYGIYFAMDA</u> (SEQ ID NO : 44)	LCDR3	<u>QSYDSSIDIF</u> (SEQ ID NO : 47)

【0166】經序列比對及計算機模擬發現，上述小鼠來源抗體m1803、m1805、m1808和m1810的輕重鏈CDR序列具有較高的同源性，大鼠來源抗體rat1817和rat1822的輕重鏈CDR序列具有較高的同源性，其共有序列如下表所示：

表 3. 重鏈及輕鏈 CDR 區序列的共有序列

名稱	重鏈CDR		輕鏈CDR	
小鼠來源抗體	HCDR1	X ₁ X ₂ X ₃ IX ₄ ，其中 X ₁ X ₂ X ₃ 選自 DYW、TNG 或 NYA，X ₄ 選自 E/S (SEQ ID NO：48)	LCDR1	RASX ₁₇ DISNYLN，其中 X ₁₇ 選自 L/Q，(SEQ ID NO：51)
	HCDR2	EIX ₅ PX ₆ SX ₇ X ₈ TX ₉ YNEX ₃₁ FKG，其中 X ₅ 選自 L/Y，X ₆ 選自 G/R/T，X ₇ 選自 T/G，X ₈ 選自 N/Y，X ₉ 選自 N/Y，X ₃₁ 選自 K 或 N (SEQ ID NO：49)	LCDR2	YX ₁₈ STLHS，其中 X ₁₈ 選自 S/T (SEQ ID NO：52)
	HCDR3	X ₃₁ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ X ₁₅ X ₁₆ DYFDY，其中 X ₁₀ 選自 I/L/VI，X ₁₁ 選自 S/T，X ₁₂ 選自 S/T，X ₁₃ 選自 L/V，X ₁₄ 選自 M/V/I，X ₁₅ 選自 S/G/A，X ₁₆ 選自 T/A/V，X ₃₁ 選自 G 或 S。(SEQ ID NO：50)	LCDR3	QQX ₁₉ NX ₂₀ X ₂₁ PX ₂₂ T，其中 X ₁₉ 選自 T/G，X ₂₀ 選自 M/T/I，X ₂₁ 選自 F/V，X ₂₂ 選自 W/Y (SEQ ID NO：53)
大鼠來源抗體	HCDR1	NY YMA (SEQ ID NO：38)	LCDR1	ERSSGDIGX ₂₆ SYVN，其中 X ₂₆ 選自 E/D (SEQ ID NO：55)
	HCDR2	SISTGGVNTYYRDSVKG (SEQ ID NO：39)	LCDR2	ADX ₂₇ QRPS，其中 X ₂₇ 選自 D/V (SEQ ID NO：56)
	HCDR3	HTTX ₂₃ DYX ₂₄ YGIYFAX ₂₅ DA，其中 X ₂₃ 選自 P/A，X ₂₄ 選自 F/H，X ₂₅ 選自 L/M (SEQ ID NO：54)	LCDR3	QSYDX ₂₈ X ₂₉ IDIX ₃₀ ，其中 X ₂₈ 選自 S/T，X ₂₉ 選自 S/N，X ₃₀ 選自 F/I (SEQ ID NO：57)

【0167】 實施例 3：鼠源抗人 GCGR 抗體的人源化

使用 MOE 軟件，比對 IMGT 人類抗體重輕鏈可變區種系基因數據庫，分別挑選與鼠源抗體同源性高的重鏈和輕鏈可變區種系基因作為模板。將鼠源抗體的 CDR 分別移植到相應的人源模板中，形成次序為 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 的可變區序列。根據需要，將骨架序列中部分胺基酸回復突變為鼠源抗體對應的胺基酸，即得到人源化抗 GCGR 單株抗體。其中 CDR 區胺基酸殘基的確定由 Kabat 編號系統確定並注釋。

【0168】 上述鼠源抗體的輕重鏈可變區與人源抗體的輕重鏈恆定區連接後形成嵌合抗體，1803 號純株對應的嵌合抗體命名為 ch1803，其他抗體類推。

【0169】 3.1 融合瘤純株 1803 的人源化

(1) 融合瘤純株 1803 人源化構架選擇：

鼠源抗體 m1803 的人源化輕鏈模板為 IGKV1-39*01 和 hjk4.1，人源化重鏈模板為 IGHV1-3*01 和 hjh6.1，人源化可變區序列如下：

hu1803VH-CDR 嫁接：（SEQ ID NO：61）

*EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEWMGEILPG
STYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMEISSLRSED~~TA~~VYYCARGLSTLMAVDYF
DYWGQGTTVTVSS；*

【0170】 hu1803VL-CDR 嫁接：（SEQ ID NO：58）

*DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYSTLHS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQTNIFPWTFGGGTKVEIK*；

註：順序為 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4，序列中斜體為 FR 序列，下劃線為 CDR 序列。

【0171】（2）融合瘤純株 1803 號的人源化模板選擇和回復突變設計如下表：

表 4. 模板選擇和回復突變

hu1803_VL		hu1803_VH	
hu1803_VL.1	嫁接	hu1803_VH.1	嫁接
hu1803_VL.1A	K42G、P44V、 F71Y、Y87F	hu1803_VH.1A	M69F、R71A、V78A
hu1803_VL.1B	P44V、F71Y	hu1803_VH.1B	M48I、V67A、M69F、R71A、V78A、 A93S
		hu1803_VH.1C	R38K、M48I、V67A、M69F、R71A、 T73P、V78A、A93S

註：如 P44V 表示依照 Kabat 編號系統，將 Kabat 編號的第 44 位 P 突變回 V。嫁接代表鼠抗體 CDR 直接植入人種系 FR 區序列。

【0172】（3）融合瘤純株 1803 的人源化具體序列如下：

> hu1803_VL.1（同 Hu1803VL-CDR 嫁接）：（SEQ ID NO：58）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYSSLHS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTNIFPWTFGGGTKVEIK

> hu1803_VL.1A：（SEQ ID NO：59）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGGAVKLLIYYSSLHS
GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQTNIFPWTFGGGTKVEIK

> hu1803_VL.1B：（SEQ ID NO：60）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYSSLHS
GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQTNIFPWTFGGGTKVEIK

> hu1803_VH.1 (同 Hu1803VH-CDR 嫁接) : (SEQ ID NO : 61)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEWMGEILPG
STYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLSTLMAVDYF
DYWGQGTTVTVSS

> hu1803_VH.1A : (SEQ ID NO : 62)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEWMGEILPG
STYTNYNEKFKGRVTFTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLSTLMAVDYF
DYWGQGTTVTVSS

> hu1803_VH.1B : (SEQ ID NO : 63)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEWIGEILPGS
TYTNYNEKFKGRATFTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCSRGLSTLMAVDYFD
YWGQGTTVTVSS

> hu1803_VH.1C : (SEQ ID NO : 64)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYWIEWVKQAPGQGLEWIGEILPG
STYTNYNEKFKGRATFTADPSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCSRGLSTLMAVDYF
DYWGQGTTVTVSS。

【0173】 (4) 融合瘤純株 1803 來源抗體的人源化抗體輕鏈可變區和重鏈可變區序列組合如下：

表 5. 不同人源化抗體輕重鏈可變區組合

	hu1803_VL.1	hu1803_VL.1A	hu1803_VL.1B
hu1803_VH.1	hu1803-1	hu1803-5	hu1803-9
hu1803_VH.1A	hu1803-2	hu1803-6	hu1803-10
hu1803_VH.1B	hu1803-3	hu1803-7	hu1803-11
hu1803_VH.1C	hu1803-4	hu1803-8	hu1803-12

【0174】 上表中抗體名稱所指代的抗體輕重鏈可變區可以分別與抗體輕重鏈恆定區連接形成全長抗體。在本公開中如無明確說明時，形成全長抗體時輕鏈可變區與 SEQ ID NO：73 所示的 Kappa 鏈恆定區連接形成抗體輕鏈，重鏈可變區與 SEQ ID NO：72 所示的 IgG4-AA 連接形成抗體重鏈。

【0175】 3.2 融合瘤純株 1810 的人源化

(1) 融合瘤純株 1810 人源化構架選擇：

鼠源抗體 m1810 的人源化輕鏈模板為 IGKV1-39*01 和 hJK4.1，人源化重鏈模板為 IGHV1-69*02 和 hJH4.1，人源化可變區序列如下：

【0176】 Hu1810VH-CDR 嫁接：（SEQ ID NO：68）

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGEIYPT
*SGNTYYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED**TAVYYCARGVITTVVSTDYF*
DYWGQGTLVTVSS

【0177】 Hu1810VL-CDR 嫁接：（SEQ ID NO：65）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASLDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSTLHS
*GVPSRFSGSGSGTDFTLTIS**SLQPEDFATYYCQQGNMVPYTFGGGTKVEIK*

註：順序為 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4，序列中斜體為 FR 序列，下劃線為 CDR 序列。

【0178】（2）融合瘤純株 1810 號的人源化模板選擇和回復突變設計如下表：

表 6. 模板選擇和回復突變

hu1810_VL		hu1810_VH	
hu1810_VL.1	嫁接	hu1810_VH.1	嫁接
hu1810_VL.1A	P44V, P59S, F71Y	hu1810_VH.1A	K73R, A78M, R94S
hu1810_VL.1B	Q38L, P44V, P59S, D70E, F71Y	hu1810_VH.1B	M48I, V67A,I69L, K73R, A78M, R94S
		hu1810_VH.1C	R38K, M48I, R66K, V67A,I69L, K73R, A78M, R94S

註：如 P44V 表示依照 Kabat 編號系統，將 Kabat 編號的第 44 位 P 突變回 V。嫁接代表鼠抗體 CDR 直接植入人種系 FR 區序列。

【0179】（3）融合瘤純株 1810 的人源化具體序列如下：

【0180】>hu1810_VL.1（同 Hu1810VL-CDR 嫁接）：（SEQ ID NO：65）
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASLDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSTLHS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGNMVPYTFGGGTKVEIK

【0181】>hu1810_VL.1A：（SEQ ID NO：66）
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASLDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSTLHS
GVSSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNMVPYTFGGGTKVEIK

【0182】>hu1810_VL.1B：（SEQ ID NO：67）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASLDISNYLNWYQLKPGKAVKLLIYYTSTLHS
GVSSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNMVPYTFGGGTKVEIK

【0183】 >hu1810_VH.1 (同 Hu1810VH-CDR 嫁接) : (SEQ ID NO : 68)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGEIYPT
SGNTYYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGVITTVVSTDYF
DYWGQGTLVTVSS

【0184】 > hu1810_VH.1A : (SEQ ID NO : 69)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGEIYPT
SGNTYYNEKFKGRVTITADRSTSTMELSSLRSEDTAVYYCASGVITTVVSTDYF
DYWGQGTLVTVSS

【0185】 > hu1810_VH.1B : (SEQ ID NO : 70)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWIGEYPTS
GNTYYNEKFKGRATLTADRSTSTMELSSLRSEDTAVYYCASGVITTVVSTDYF
DYWGQGTLVTVSS

【0186】 > hu1810_VH.1C : (SEQ ID NO : 71)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYAISWVKQAPGQGLEWIGEYPTS
GNTYYNEKFKGKATLTADRSTSTMELSSLRSEDTAVYYCASGVITTVVSTDYF
DYWGQGTLVTVSS。

【0187】 (4)融合瘤純株 1810 的人源化抗體輕重鏈可變區序列組合如下：

表 7. 不同人源化抗體輕重鏈可變區的組合

	hu1810_VL.1	hu1810_VL.1A	hu1810_VL.1B
hu1810_VH.1	hu1810-1	hu1810-5	hu1810-9
hu1810_VH.1A	hu1810-2	hu1810-6	hu1810-10
hu1810_VH.1B	hu1810-3	hu1810-7	hu1810-11
hu1810_VH.1C	hu1810-4	hu1810-8	hu1810-12

【0188】 上表中抗體名稱所指代的抗體輕重鏈可變區可以分別與抗體輕重鏈恆定區連接形成全長抗體，在本公開中如無明確說明時，形成全長抗體時輕鏈可變區與 SEQ ID NO：73 所示的 Kappa 鏈恆定區連接形成抗體輕鏈，重鏈可變區與 SEQ ID NO：72 所示的 IgG4-AA 連接形成抗體重鏈。

【0189】 實施例 4：構建和表達 GCGR 嵌合體/人源化抗體的 IgG4-AA 形式

設計引物，PCR 搭建各嵌合體/人源化抗體 VH/VK 基因片段，再與表達載體 pHr（帶信號肽及恆定區基因（CH1-FC/CL）片段）進行同源重組，構建抗體全長表達載體 VH-CH1-FC-pHr/VK-CL-pHr。IgG4-AA 抗體形式可以藉由 IgG4 抗體形式簡單點突變獲得，IgG4-AA 代表 F234A、L235A 和 S228P 突變。F234A 和 L235A 的突變可降低 IgG4-Fc 與 FcγR 的結合能力，進一步降低 ADCC/CDC，S228P 代表野生型 IgG4 鉸鏈區第 228 位的胺基酸 S 突變成 P，該位點突變能夠避免天然 IgG4 抗體在體內發生 Fab-交換（exchange）導致的錯配。

【0190】 ch1803、ch1805、ch1808、ch1810、ch1817 和 ch1822 為

【0191】 表 1 所示動物來源的輕重鏈可變區分別與人抗體 kappa 鏈和人抗體 IgG4-AA 重鏈恆定區連接後形成的嵌合抗體。

【0192】 IgG4-AA 的重鏈恆定區序列如下：（SEQ ID NO：72）

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS
SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSLGK；

【0193】 抗體的輕鏈（Kappa 鏈）恆定區序列如下：（SEQ ID NO：73）

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC；

【0194】 構建後的抗體序列示例性列舉如下：

ch1803：抗體形式 IgG4AA

ch1803 重鏈序列：（SEQ ID NO：74）

QFQLHQSGAELVKPGASVKLSCKATGYTFTDYWIEWVKQRPGHGLEWIGEIL
PGSTYTNYNEKFKGRATFTAEPSSSSAYMQLSGLTTEDSAIYYCSRGLSTLMA
VDYFDYWGQGTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKP
SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD

WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW
QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK ;

【0195】 ch1803 輕鏈序列：（SEQ ID NO：75）

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTINCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYSSST
LHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISHLEQEDIATYFCQQTNIFPWTFGGGGTKLEIRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
;

【0196】 hu1803-1：抗體形式 IgG4AA

【0197】 hu1803-1 重鏈序列：：（SEQ ID NO：76）

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDYYWIEWVRQAPGQGLEWMGE
ILPGSTYTNVNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMEISSLRSEDYAVYYCARGLSTL
MAVDYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
CVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS
RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK ;

【0198】 hu1803-1 輕鏈序列：（SEQ ID NO：77）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYSSST
LHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQTNIFPWTFGGGGTKVEIK

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC ;

【0199】 hu1803-9 重鍵序列：（SEQ ID NO：78）

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEWMGE
ILPGSTYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGLSTL
MAVDYFDYWGGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS
RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK ;

【0200】 hu1803-9 輕鍵序列：（SEQ ID NO：79）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYST
LHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQTNIFPWTFGGGTKVEIK
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC ;

【0201】 ch1805 重鍵序列：（SEQ ID NO：80）

EVQLQQSGPELVKPGASVKIPCKTSGYTFTDYNMDWVKQSHGRSLEWIGSID
PDNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCTRDYYGSSS
WFAYWGQGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT

VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV~~DH~~KPSN
 TKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
 DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
 NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL
 VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG
 NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK ;

【0202】 ch1805 輕鏈序列：（SEQ ID NO：81）

DVVMQTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISDYLHWYQQKSHESPRLLIKYASQ
SISGIPSRFSGSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPYTFGGGTKLEIKR
 TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
 ESVTEQDSKIDSTYSLSSITLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
 C ;

【0203】 ch1808 重鏈序列：（SEQ ID NO：82）

QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGDTFTTNGISWVKQRIGQGLEWIGEIY
PRSGNTYYNENFKGKATLTADKSSTTAYMELRRLTSEDSAVYFCARSITSVIGA
DYFDYWGQGTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV~~DH~~KPS
 NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
 VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW
 LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL
 VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG
 GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK ;

【0204】 ch1808 輕鏈序列：（SEQ ID NO：83）

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQKKPDGTVKLLIYYSSST
LHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTFPWTFGGGTKLEIK
 RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
 EC ;

【0205】 hu1810-12 重鏈序列： (SEQ ID NO : 84)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYAISWVKQAPGQGLEWIGEIIYPTS
GNTYYNEKFKGKATLTADRSTSTMMELSSLRSEDTAVYYCASGVITTVVSTDYF
DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK
 VDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
 SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV
 KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN
 VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK ;

【0206】 hu1810-12 輕鏈序列： (SEQ ID NO : 85)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASLDISNYLNWYQLKPGKAVKLLIYYTSTLHS
GVSSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNMVPYTFGGGTKVEIKRTVAA
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
 EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC ;

【0207】 ch1817 重鏈序列： (SEQ ID NO : 86)

EVQLVESGGDLVQPGRSMKLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPTKGLEWVASI
STGGVNTYYRDSVKGRFTISRDNAKNNLYLQMDSLRSSEETATYYCARHTTAD

YFYGIYFALDAWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD
 YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCN
 VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP
 EVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV
 LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD
 KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK ;

【0208】 ch1817 輕鏈序列：(SEQ ID NO : 87)

QFTLTQPKSVSGSLRSTITIPCERSSGDIGDSYVNWYQQHLGRPPLNVIYADVQ
RPSEVSDRFSGSIDSSSNSASLTITNLQMDDEADYFCQSYDTNIDIIFGGGKLT
 VLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
 NSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
 RGEC ;

【0209】 ch1822 重鏈序列：(SEQ ID NO : 88)

EVRLVESGGDFVQPGRSVKLSCAASGFTFSNYMAWVRQAPTKGLEWVGSI
STGGVNTYYRDSVKGRFTISRDNAESTLYLQMDSLRSEETATYYCARHTTPD
YHYGIYFAMDAWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK
 DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTC
 NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
 PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT
 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV
 DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK ;

【0210】 ch1822 輕鏈序列：（SEQ ID NO：89）

QVTLTQPKSVSGSLRSTITIPCERSSGDIGESYVNWYQQHLGRPPINVIYADDQ
RPSEVSDRFSGSIDSSSNSASLTITNLQVDDEADYFCQSYDSSIDIFFGGGTKLT
VLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC；

【0211】 陽性對照：度拉糖肽，是雙鏈形式，單鏈為 GLP-1/hIgG4 Fc（SEQ ID NO：90）

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFLAWLVKGGGGGGGGSGGGGSGGGGSAESKY
GPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLGLG。

【0212】 實施例 5：抗體雙特異性蛋白的選殖和表達

採用人 GLP-1 肽作為雙特異性蛋白中 GLP-1 受體激動劑部分，將 GCGR 抗體作為雙特異性蛋白的 GCGR 拮抗部分，形成 GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白。

【0213】 研究發現，GLP-1 特定位點胺基酸突變（如 Q17E、I23V、K28R 或 G30R）後，形成的新 GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白，其體外穩定性更高，其中將 GLP-1A 第 17 位的 Q 突變為 E 和第 23 位的 I 突變為 V 形式（GLP-1C），穩定性最高。本公開 GLP-1 及其突變形式的非限制性實施例序列如下：

表 8. GLP-1A 多肽及其變體序列

GLP-1 肽名稱（相對於 GLP-1A 的突變點）	序列	SEQ ID NO
GLP-1A	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGG	91
GLP-1B （Q17E）	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFIAWLVKGGG	92
GLP-1C （Q17E G30R）	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFIAWLVKGRG	93
GLP-1D （Q17E I23V）	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLVKGGG	94
GLP-1E （Q17E I23V G30R）	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLVKGRG	95
GLP-1F （Q17E K28R）	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFIAWLVRGGG	96
GLP-1G （Q17E I23V K28R）	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLVRGGG	97
GLP-1H （Q17E K28R G30R）	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFIAWLVRGRG	98
GLP-1J （Q17E I23V K28R G30R）	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLVRGRG	99

【0214】 利用同源重組技術，將本公開 GLP-1 肽的 C 末端胺基酸藉由肽鍵或接頭（linker）連接 GCGR 抗體重鏈 N 末端胺基酸。藉由 293 表達系統進行常規表達，得到如表 9 所示的雙特異性蛋白的模式結構：

表 9. GLP-1/GCGR 雙特異性蛋白的結構模式

雙特異性蛋白結構模式名稱	結構模式 GLP-1-接頭-Ab*
雙特異性蛋白 1	GLP-1A -接頭-Ab
雙特異性蛋白 2	GLP-1B -接頭-Ab

雙特異性蛋白 3	GLP-1C -接頭-Ab
雙特異性蛋白 4	GLP-1D -接頭-Ab
雙特異性蛋白 5	GLP-1E -接頭-Ab
雙特異性蛋白 6	GLP-1F -接頭-Ab
雙特異性蛋白 7	GLP-1G -接頭-Ab
雙特異性蛋白 8	GLP-1H -接頭-Ab
雙特異性蛋白 9	GLP-1-I -接頭-Ab

【0215】 *注：Ab 為本公開該 GCGR 抗體。GLP-1 肽可以連接至 GCGR 抗體重鏈可變區的胺基端或連接至 GCGR 抗體輕鏈可變區的胺基端。經試驗驗證，GLP-1 肽連接至 GCGR 抗體中重鏈可變區的胺基端的雙特異性蛋白較連接至 GCGR 抗體輕鏈可變區的胺基端穩定性更佳。本公開 GLP-1 肽連接至 GCGR 全長抗體重鏈可變區的部分實施方式中雙特異性蛋白結構示意如第 1 圖所示。

【0216】 將不同 GLP-1 肽與不同抗體的重鏈胺基酸用接頭(例如(GGGGS))
3) 相連接，形成以下蛋白：

表 10. 雙特異性蛋白序列

雙特異性 蛋白名稱	第一條鏈（含重鏈部分（SEQ ID NO））： GLP-1 肽-接頭-抗體重鏈（從 N 至 C）	第二條鏈(輕鏈部分)
hu1803-9A	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFLAWLVKGGGG GGGSGGGGSGGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEW MGEILPGSTYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDТАVYYCARGLSTLMAVDYFDY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLK（SEQ ID NO：100）	DIQMTQSPSSLSAS VGDRVITTCRASQ DISNYLNWYQQKP GKAVKLLIYYSSL HSGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDF ATYYCQQTNIFPW TFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESV TEQDSKDYSLSS TLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC （SEQ ID NO：79）
hu1803-9B	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFLAWLVKGGGG GGGSGGGGSGGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEW MGEILPGSTYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDТАVYYCARGLSTLMAVDYFDY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP	

	AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO : 101)	
hu1803-9C	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFIAWLVKGRGG GGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEW MGEILPGSTYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSED TAVYYCARGLSTLMAVDYFDY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO : 102)	

hu1803-9D	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLVKGGGG GGGSGGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEW MGEILPGSTYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSED TAVYYCARGLSTLMAVDYFDY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO : 103)	
hu1803-9E	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLVKGRGG GGGSGGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEW MGEILPGSTYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSED TAVYYCARGLSTLMAVDYFDY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV	

	QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO : 104)	
hu1803-9F	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFLAWLVRGGGG GGGSGGGGSGGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEW MGEILPGSTYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDVAVYYCARGLSTLMAVDYFDY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO : 105)	
hu1803-9G	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLVRGGGG GGGSGGGGSGGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEW MGEILPGSTYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTV	

	YMELSSLRSED TAVYYCARGLSTLMAVDYFDY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO : 106)	
hu1803-9H	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFLAWLVRGRGG GGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEW MGEILPGSTYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSED TAVYYCARGLSTLMAVDYFDY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS	

	DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO : 107)	
hu1803-9J	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLVRGRGG GGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGYTFTDYWIEWVRQAPGQGLEW MGEILPGSTYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSED ~~TAVYYCARGLSTLMAVDYFDY~~ WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO : 108)	
ch1805-D	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLKGGGG GGGSGGGGSGGGGSEVQLQQSGPELVKPGAS VKIPCKTSGYTFTDYNMDWVKQSHGRSLEWI GSIDPDNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYM ELRSLTSED ~~TAVYYCTR~~ <u>DYYGSSSWFAY</u> WGQG TLVTVSAASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT	ch1805 輕鏈序列： (SEQ ID NO : 81)

	KVDKRVESKYGPPC<u>PP</u>CPAPE<u>A</u>AGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK (SEQ ID NO : 109)	
ch1808-D	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLVKGGGG GGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELARPGAS VKLSCKASGDTFT<u>TNGIS</u>WVKQRIGQGLEWIG <u>EIYPRSGNTYYNENFKG</u>KATLTADKSSTTAYME LRRLTSEDSAVYFCARS<u>ITSVIGADYFDY</u>WGQG TTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK VDKRVESKYGPPC<u>PP</u>CPAPE<u>A</u>AGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGK (SEQ ID NO : 110)	ch1808 輕鏈序列： (SEQ ID NO : 83)

hu1810-12D	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLVKGGGG GGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGSSV KVSCKASGGTFSNYAISWVKQAPGQGLEWIGEIIY PTSGNTYYNEKFKGKATLTADRSTSTMELSSL RSEDVAVYYCASGVITTVVSTDYFDYWGQGTLV VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGK (SEQ ID NO : 111)	hu1810-12 輕鍵序 列： (SEQ ID NO : 85)
ch1817-D	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLVKGGGG GGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGDLVQPGRS MKLSCAASGFTFSNYMAWVRQAPTKGLEW VASISTGGVNTYYRDSVKGRFTISRDNANKNNL YLQMDSLRSEETATYYCARHTTADYFYGIYFA LDAWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED	ch1817 輕鍵序列： (SEQ ID NO : 87)

	PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO : 112)	
ch1822-D	HGEGTFTSDVSSYLEEEAAKEFVAWLVKGGGG GGGSGGGGSGGGGGSEVRLVESGGDFVQPGRS VKLSCAASGFTFSNYMAWVRQAPTKGLEWV GSISTGGVNTYYRDSVKGRFTISRDNAESTLYL QMDSLRSEETATYYCARHTTPDYHYGIYFAMD AWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEAAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO : 113)	ch1822 輕鏈序列： (SEQ ID NO : 89)

【0217】 此處雙特異性蛋白中接頭接頭可選用 (GGGGS)₃，在其他實施方式中也可以是肽鍵或其他常規用於多肽連接的接頭，(GGGGS)₃的使用並不是對本公開雙特異性蛋白接頭的限制。編碼 GLP-1 的核苷酸序列、編碼 GCGR 抗體的核苷酸序列、接頭蛋白片段 ((GGGGS)₃) 的核苷酸序列藉由所屬領域

常規技術手段獲得。利用同源重組技術將 GLP-1 的 C 末端核苷酸藉由接頭蛋白連接 GCGR 抗體的 N 末端核苷酸，選殖到 Phr-BsmBI 載體上。重組的 GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白在 293 細胞表達，藉由實施例 6 的方法進行純化。純化的蛋白可用於下述各實施例實驗中。

【0218】 實施例 6：抗體雙特異性蛋白的純化

細胞培養液高速離心後收集上清，利用親合層析進行第一步純化。層析介質為與 Fc 相互作用的 Protein A 或者衍生填料，如 GE 的 Mabselect。平衡緩衝液為 1×PBS(137mmol/L NaCl, 2.7mmol/L KCl, 10mmol/L Na₂HPO₄, 2mmol/L KH₂PO₄, pH7.4)，平衡 5 倍管柱體積後，將細胞上清上樣結合，流速控制為樣本在管柱上保留時間≥1min。上樣結束後，用 1×PBS (pH7.4) 沖洗管柱，直至 A280 紫外吸收降至基線。然後用 0.1M 甘氨酸 (pH3.0) 的沖提緩衝液沖洗層析管柱，根據 A280 紫外吸收峰收集沖提峰，收集的沖提樣本用 1M Tris (pH8.5) 中和。

【0219】 將上述中和後的沖提樣本超濾濃縮後進行體積排阻層析，緩衝液為 1×PBS，層析管柱為 XK26/60 Superdex200 (GE)，流速控制在 4ml/min，上樣體積小於 5ml，根據 A280 紫外吸收合併目的蛋白峰。收集的蛋白經 SEC-HPLC 鑒定純度大於 95%，經 LC-MS 鑒定為正確後分裝備用。得到 GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白。

[測試例]

【0220】 測試例 1：GCGR 嵌合抗體結合人、小鼠和食蟹猴 GCGR 的 ELISA 實驗

抗 GCGR 抗體的結合力藉由抗體與過表達 GCGR 的 CHO 細胞的結合實驗來檢測。藉由轉染的方法分別將人、小鼠和食蟹猴 GCGR 全長質粒轉進 CHO 細

胞中加壓篩選兩週後，檢測 GCGR 的表達量。將過表達細胞固定於 96 孔板底後，抗體加入後信號的強弱被用於判斷抗體和 GCGR 過表達 CHO 細胞的結合活性，三種種屬 GCGR 抗體結合實驗方法相同，以檢測 GCGR 抗體結合人 GCGR 方法為例，具體實驗方法如下：

【0221】將細胞以 $0.9-1.0 \times 10^6/\text{ml}$ 密度， $100\mu\text{l}/\text{孔}$ 接種於 96 孔板中過夜培養。棄上清，用 PBS 洗三遍後，加入 $100\mu\text{l}/\text{孔}$ 的細胞免疫固定液（Beyotime，Cat Wo. P0098）室溫固定 1 小時，PBS 洗四遍。棄去液體後，加入用 PBS 稀釋的 5% 脫脂牛奶（BD skim milk, Cat Wo.232100）封閉液 $200\mu\text{l}/\text{孔}$ ， 37°C 孵育箱孵育 3 小時進行封閉。封閉結束後，棄去封閉液，並用 PBST 緩衝液（pH7.4 PBS 含 0.05% tweeeW-20）洗板 3 次後，加入 $50\mu\text{l}/\text{孔}$ 用樣本稀釋液稀釋的不同濃度待測抗體（融合瘤純化抗體、嵌合抗體或人源化抗體），放於 37°C 孵育箱孵育 2 小時。孵育結束後用 PBST 洗板 3 次，加入 $50\mu\text{l}/\text{孔}$ 用樣本稀釋液稀釋的 HRP 標記的羊抗鼠二抗（JacksoW ImmuWo Research，Cat Wo. 115-035-003）或羊抗人二抗（JacksoW ImmuWo Research，Cat Wo. 109-035-003）， 37°C 孵育 1 小時。用 PBST 洗板 3 次後，加入 $50\mu\text{l}/\text{孔}$ TMB 顯色受質（KPL，Cat Wo. 52-00-03），於室溫孵育 10 min，加入 $50\mu\text{l}/\text{孔}$ 1M H_2SO_4 終止反應，用酶標儀（Thermo scientific Multiskan MK3）在波長 450nm 處讀取吸收值，用 GraphPad Prism 5 分析數據，計算 GCGR 嵌合抗體對 GCGR 過表達 CHO 細胞的結合 EC_{50} 值，結果見下表。

表 11. 嵌合抗體結合活性

抗體 EC50 (nM)	ch1803	ch1805	ch1808	ch1810	ch1817	ch1822
人 GCGR	0.1167	0.2969	0.6769	0.1168	0.1926	0.3834
小鼠 GCGR	0.7183	0.3428	1.019	0.4415	0.1638	0.5681
食蟹猴 GCGR	0.2128	0.3585	0.5356	0.2480	0.2968	0.4280

【0222】 結果顯示各嵌合抗體 ch1803、ch1805、ch1808、ch1810、ch1817 和 ch1822 均與人 GCGR 具有良好的細胞表面結合活性，並且與小鼠 GCGR 和食蟹猴 GCGR 也有較好的交叉親和活性。

【0223】 測試例 2：GCGR 嵌合抗體阻斷 GCGR 配體與 GCGR 結合試驗

1、測試目的：

藉由 GCGR 嵌合抗體阻斷 GCGR 配體胰高血糖素與 GCGR 結合試驗來評估 GCGR 嵌合抗體的拮抗活性。

【0224】 2、測試原理：

cAMP 與 CRE 結合可啟動 CRE 下游螢光素酶基因（luciferase）的表達，螢光素酶與其受質結合後發出螢光，藉由螢光信號變化反映抑制效率。將 CRE 選殖至螢光素酶基因的上游，藉由與含 GCGR 基因的質粒共轉染 CHO-K1 細胞，挑選出同時高表達 CRE 及 GCGR 的單株細胞。GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白和胰高血糖素可競爭性的與 GCGR 結合，阻斷 GCGR 的下游信號傳遞，影響下游 cAMP 的表達，藉由測定螢光信號變化可評估 GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白對 GCGR 的拮抗活性。

【0225】 3、測試樣本：

嵌合抗體 ch1803，ch1805，ch1808，ch1810，ch1817，ch1822。

【0226】 4、實驗步驟：

- a. 用新鮮細胞培養基製取細胞懸液，以 20000 個細胞/孔加入 80μl 培養體系的 96 孔細胞培養板中，5%二氧化碳，37℃ 培養 16 小時。
- b. 每孔分別加入 10μl 配製好的待測蛋白，再加入 10μl 配好的胰高血糖素，5%二氧化碳，37℃培養 5 小時。
- c. 每孔加入加 100μl 檢測液 ONE Glo（Promega），室溫避光放置 7 分鐘。
- d. 酶標儀 Victor3 上檢測螢光，計算 GCGR 嵌合抗體融合對人、小鼠和食蟹猴 GCGR 配體胰高血糖素的結合阻斷的 IC50 值及阻斷效率 Imax。

表 12. 嵌合抗體拮抗活性

抗體	人 GCGR		小鼠 GCGR	
	IC50（nM）	Imax	IC50（nM）	Imax（%）
ch1803	79.3	100%	24.7	93%
ch1805	95.03	91%	18	100%
ch1808	105.2	98%	26.6	100%
ch1810	72.46	100%	未檢測	未檢測
ch1817	59.8	83%	12.8	96%
ch1822	62.48	59%	15.96	87%

【0227】 測試例 3：GCGR 人源化抗體對 GCGR 配體與 GCGR 結合的阻斷試驗

藉由抗 GCGR 抗體阻斷 GCGR 配體胰高血糖素與 GCGR 的結合試驗來評估 GCGR 抗體的拮抗活性。實驗原理和步驟同測試例 2，結果見下表：

表 13. 人源化抗體拮抗的抗活性

抗體	人 GCGR		抗體	人 GCGR	
	IC50 (nM)	Imax		IC50 (nM)	Imax
hu1803-1	191.1	91.8%	hu1810-1	189.1	83.2%
hu1803-2	137.12	98.5%	hu1810-2	105.9	100%
hu1803-3	109.55	96.7%	hu1810-3	192.2	95.42%
hu1803-4	139.75	100%	hu1810-4	137.5	99.1%
hu1803-5	79.03	100%	hu1810-5	216.4	86.39%
hu1803-6	77.48	100%	hu1810-6	156.8	100%
hu1803-7	73.04	100%	hu1810-7	119.3	100%
hu1803-8	85.92	100%	hu1810-8	132.9	100%
hu1803-9	78.39	100%	hu1810-9	124.7	90.4%
hu1803-10	76.67	100%	hu1810-10	95.56	97.42%
hu1803-11	88.72	100%	hu1810-11	91.32	99.61%
hu1803-12	86.92	100%	hu1810-12	75.91	99.65%

【0228】 體外活性生物學評價

測試例4：GLP-1/GCGR抗體雙特異性蛋白在PBS中的穩定性

取200μg待測抗體雙特異性蛋白溶於1ml 1×PBS (pH7.4) 中，37℃恆溫箱存放；分別於0和14天取樣，Agilent 6530 Q-TOF進行LC-MS檢測完整重鏈保留情況，結果如下表14所示。含各突變改造的GLP-1肽的雙特異性蛋白均較含GLP-1A (SEQ ID NO：91) 的雙特異性蛋白穩定性大大提高，並且hu1803-9B、hu1803-9D 和hu1803-9G顯示出更良好的穩定性。

表 14. GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白的穩定性檢測

蛋白	第 14 天
hu1803-9A	70.12%
hu1803-9B	≥97%
hu1803-9C	93.98%
hu1803-9D	≥97%
hu1803-9E	94.15%
hu1803-9F	94.65%
hu1803-9G	≥97%

【0229】 測試例5：基於細胞的GCGR結合阻斷實驗

實驗原理和步驟同測試例 2。

測試樣本：

- ① GCGR 抗體（hu1803-9，hu1810-12）
- ② 雙特異性蛋白 hu1803-9B，hu1803-9D。

表 15. 雙特異性蛋白對 GCGR 的拮抗活性

蛋白	對人GCGR的拮抗活性	
	IC50（nM）	Imax（%）
hu1803-9	54	100
hu1803-9B	67	100
hu1803-9D	79	100

表 16. 人源化抗體對小鼠和食蟹猴 GCGR 的拮抗活性

抗體	小鼠 GCGR		食蟹猴 GCGR	
	IC 50 (nM)	Imax (%)	IC 50 (nM)	Imax (%)
hu1803-9	11.22	100%	220	100%
hu1810-12	17.54	97%	886	99%

【0230】 第 2 圖和表 15 顯示 hu1803-9B 和 hu1803-9D 均能完全抑制 GCGR 的拮抗活性，且與 GCGR 單抗具有相當的功效和 IC50（抑制最大活性的 50%所需的濃度），表明 hu1803-9B 和 hu1803-9D 均保留了 GCGR 抗體部分完全的生物活性。除驗證 hu1803-9 及含有 hu1803-9 的雙特異性蛋白具有抑制人 GCGR 的拮抗活性外，進一步地還證明（見表 16）hu1803-9 和 hu1810-12 具有抑制小鼠 GCGR 和食蟹猴 GCGR 的拮抗活性。

【0231】 測試例6：基於細胞的GLP-1R結合激活實驗

1、測試目的：

評估 GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白的 GLP-1 部分對 GLP-1R 的激活活性。

【0232】 2、測試原理：

cAMP 與 CRE 結合可啟動 CRE 下游螢光素酶基因的表達，螢光素酶與其受質結合後發出螢光，藉由螢光信號變化反映抑制效率。將 CRE 選殖至螢光素酶基因的上游，藉由與含 GLP-1R 基因的質粒共轉染 CHO-K1 細胞，挑選出同時高表達 CRE 及 GLP-1R 的單株細胞。GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白和陽性對照度拉糖肽可與 GLP-1R 結合，激活 GLP-1R 的下游信號傳遞，刺激下游 cAMP 的

表達，藉由測定螢光信號變化可評估 GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白對 GLP-1R 的激活活性。

【0233】 3、測試樣本：

- ① 陽性對照：度拉糖肽
- ② hu1803-9B，hu1803-9D。

【0234】 4、實驗步驟：

- a. 用新鮮細胞培養基制取細胞懸液，以25000個細胞/孔加入90μl培養體系的96孔細胞培養板中，5%二氧化碳，37℃ 培養16小時。
- b. 每孔分別加入10μl 配製好的待測蛋白，5%二氧化碳，37℃培養5小時。
- c. 每孔加入加100μl檢測液ONE Glo（Promega），室溫避光放置7分鐘。
- d. 酶標儀Victor3上檢測螢光，計算GLP-1/GCGR抗體雙特異性蛋白對GLP-1R的結合激活的EC50值。

表 17. 雙特異性蛋白對 GLP-1R 的激活活性

蛋白	EC50（nM）	E _{max} （%）
度拉糖肽	0.21	100
hu1803-9B	0.22	100
hu1803-9D	0.32	100

【0235】 第 3 圖和表 17 顯示 hu1803-9B 和 hu1803-9D 均能完全激活 GLP-1R，且與陽性對照度拉糖肽具有相當的能效和 EC50（激活最大活性的 50%所需的濃度），表明 hu1803-9B 和 hu1803-9D 均保留了 GLP-1 部分完全的生物活性。

表 18. 雙特異性蛋白對人 GLP-1R 的激活活性

樣本	EC50 (nM)	Emax%
ch1805-D	0.11	108
ch1808-D	0.14	107
ch1817-D	0.30	106

【0236】 表 18 顯示 ch1805-D、ch1808-D、ch1817-D 嵌合抗體與 GLP1 肽連接均能完全激活 GLP-1R，且與陽性對照度拉糖肽具有相當的功效和 EC50（激活最大活性的 50%所需的濃度），表明不同 GCGR 抗體與 GLP1 肽以本公開的方式連接所形成的雙特異性蛋白不影響 GLP1 肽的生物活性。

【0237】 藥物代謝動力學評價

測試例 7：C57 小鼠體內藥物代謝動力學檢測

實驗用 C57 小鼠 4 隻，雌性，12/12 小時光/暗調節，溫度 24±3℃ 恆溫，濕度 50-60%，自由進食飲水。購自傑思捷實驗動物有限公司。實驗當天對 C57 小鼠分別尾靜脈注射等莫耳 hu1803-9D 和陽性對照藥物度拉糖肽，給藥劑量分別為 6 mg/kg 和 2.35mg/kg，注射體積為 10 ml/kg。

【0238】 因本公開的 GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白和陽性對照度拉糖肽均與小鼠有交叉活性，因此在小鼠體內藥物代謝時間較短，選擇的取血時間點為：第 1 天給藥後 0h、1h、24h（第 2 天），第 3 天，於小鼠眼底靜脈取血，每次 150 μl（採血前，提前向採血管中加入 1.5μl 的 DPP-4 抑制劑）；收集的血樣在 4℃ 下置放半小時至凝集，然後 4℃ 下 14000× g 離心 5 分鐘。收集上清（約 80μl），立即放置-80℃ 貯存。

【0239】 檢測流程描述如下：

- a. 1μg/mL 抗-GLP1（Novus, NBP1-05180）抗體鋪板，4℃過夜。
- b. 250 μl 1×PBST 洗滌 4 次，加入 200 μl 含 5% 脫脂牛奶的 PBS, 37℃封閉 3 小時。
- c. 250 μl 1×PBST 洗滌 4 次，加入 100 μl 小鼠空白血清梯度稀釋的待測藥物，37℃孵育 2 小時。
- d. 250 μl 1×PBST 洗滌 3 次。
- e. 每孔加入 100 μl 辣根過氧化物酶標記的二抗抗人 IgG Fc，37℃孵育 1 小時。
- f. 250 μl 1×PBST 洗滌 3 次。
- g. 每孔加入 100 μl TMB，室溫孵育 10 分鐘後加入 100 μl 1M H₂SO₄ 終止反應。
- h. 酶標儀上檢測 450nm 測吸收值，Graphpad Prism5 分析數據。

表 19. 雙特異性蛋白在小鼠中的 T1/2

受試藥物	給藥方式	T1/2（h）
hu1803-9D	IV（6 mg/kg）	23.4
度拉糖肽	IV（2.35 mg/kg）	10

【0240】 PK 分析結果表明，本公開雙特異性蛋白分子 hu1803-9D 在小鼠體內的半衰期約為 23.4 h，為陽性對照藥物半衰期的 2 倍。

【0241】 體內活性生物學評價

測試例8：ob/ob小鼠體內藥效實驗

1、本實驗應用的小鼠品系為糖尿病 ob/ob 小鼠和同齡野生型小鼠（南京大學南京模式動物研究所），目的為觀察 GLP-1/GCGR 抗體雙特異性蛋白連續多次給藥後對 ob/ob 小鼠血糖、糖化血紅蛋白、體重、攝食量等糖尿病相關指標的治療作用。

【0242】 實驗進行前對模型組動物按照實驗當天的隨機和空腹體重、隨機和空腹血糖將其分成 6 組，分別為：

模型對照組、2.84mg/kg、1.42mg/kg GCGR 單抗組（hu1803-9）、1.16mg/kg 陽性對照組（度拉糖肽）和 3mg/kg、1.5mg/kg hu1803-9D，模型對照組小鼠皮下注射（S.C.）給予磷酸鹽緩衝液，各組小鼠每週 1 次皮下注射（9:00 AM），一共 4 次（表 20）。

表 20. 試驗分組及給藥情況

組別	處理	劑量	給藥頻率	給藥方式
1	ob/ob 小鼠模型對照組	PBS	每週一次 x 4 周	S.C.
2	GCGR 單抗低劑量組	1.42mpk	每週一次 x 4 周	S.C.
3	GCGR 單抗高劑量組	2.84mpk	每週一次 x 4 周	S.C.
4	陽性對照高劑量組	1.16mpk	每週一次 x 4 周	S.C.
4	hu1803-9D 低劑量組	1.5mpk	每週一次 x 4 周	S.C.
5	hu1803-9D 高劑量組	3mpk	每週一次 x 4 周	S.C.

【0243】 2、實驗步驟：

- a. 每週測定一次空腹和隨機體重，每天測定一次攝食量和飲水量。

- b. 首次給藥前及給藥後第1、2、3、7天測隨機血糖，後每週測一次隨機血糖。
首次給藥前及給藥後第3、7天測6 h空腹血糖，後每週測一次空腹血糖。
- c. 給藥第26天，動物禁食6h（8:00-14:00）後，單次腹腔給予葡萄糖水溶液2g/kg，並將給糖時間記為0點，在給糖前0 min，給糖後15、30、60、90、120 min分別對動物進行血糖檢測，根據時間對血糖數據繪製糖耐量曲線，計算曲線下面積（AUC）。
- d. 實驗結束後，小鼠禁食6小時（8:00-14:00）後給予安樂死，心臟取血後全血分為兩部分，一部分約30 μ l注入已加好抗凝劑離心管並存放於濕冰中用於糖化血紅蛋白測定，另一部分靜置後離心取血清用於TG、FFA、CHOL、HDL、LDL水平測定。
- e. 數據採用graphpad Prism 6 軟體分析，採用Student-t test對數據進行統計學分析。

【0244】 3、實驗結果：

1) 長期用藥對ob/ob小鼠隨機血糖的影響：

如第4圖所示，整個試驗期間，模型對照組ob/ob小鼠隨機血糖維持在較高的水平，一週一次皮下注射不同劑量各組藥物後，各組小鼠的隨機血糖均有不同程度的下降，呈現良好的劑量效應且顯著低於模型對照組。2.84mg/kg的hu1803-9給藥和3mg/kg hu1803-9D給藥的降糖效果顯著優於其他各試驗組，而3mg/kg hu1803-9D給藥第3、6、14和30天的隨機血糖效果更佳。

【0245】 2) 長期用藥對ob/ob小鼠饑餓血糖的影響: 如第5圖所示，整個試驗期間，模型對照組ob/ob小鼠隨機血糖維持在較高的水平，一週一次皮下注射不同劑量各組藥物後，各組小鼠的饑餓血糖均有不同程度的下降，呈現良好的劑

量效應且顯著低於模型對照組。與隨機血糖濃度試驗相似，2.84mg/kg的hu1803-9給藥和3mg/kg hu1803-9D給藥的降糖效果顯著優於其他各試驗組，而3mg/kg hu1803-9D給藥第3、6、13和30天的饑餓血糖效果更佳。

【0246】 3）長期用藥對ob/ob小鼠糖化血紅蛋白（HbA1c）的影響：

結果如表21所示，ob/ob小鼠一週一次皮下注射不同劑量各組藥物30天後，糖化血紅蛋白水平均有不同程度的下降，且顯著低於模型對照組（P<0.05），3mg/kg和1.5 mg/kg的hu1803-9D組糖化血紅蛋白水平分別為5.5±0.2%和4.7±0.1%，呈明顯的劑量效應關係；其中3mg/kg的hu1803-9D組低於等莫耳的1.16 mg/kg陽性對照度拉糖肽及2.84mg/kg 的GCGR單抗hu1803-9（P<0.05）。

表 21. 長期用藥對 ob/ob 小鼠 HbA1c%的影響

組別	HbA1c（%）	下降百分比
ob/ob 模型對照組	6.3±0.3	-
hu1803-9-1.42mpk	5.2±0.1	17.46%
hu1803-9-2.84mpk	5.2±0.1	17.46%
度拉糖肽-1.16mpk	5.6±0.1	11.1%
hu1803-9D-1.5mpk	5.5±0.2	12.7%
hu1803-9D-3mpk	4.7±0.1	25.4%

【0247】 測試例 9：GCGR 抗體的競爭性 ELISA 實驗

藉由生物素標記的抗體與不同濃度的標準抗體競爭結合過表達 GCGR 的 CHO 細胞的 ELISA 實驗來檢測，對 GCGR 抗體與 GCGR 結合的表位分類。細胞板準備方法與測試例 1 相同，後續具體實驗方法如下：

按生物素標記試劑盒說明書標記抗體（Dojindo Molecular Technologies, Inc. LK03）。在 96 孔細胞板中，按 50μl/孔用樣本稀釋液稀釋的不同濃度未生物素標記待測抗體，放於 37℃ 孵育 2 小時。孵育結束後用 PBST 洗板 3 次，加入 50μl/孔用樣本稀釋液稀釋至 0.1μg/ml 的生物素標記抗體，37℃ 孵育 2 小時後用 PBST 洗板 3 次，加入 HRP 標記的羊抗人二抗（JacksoW ImmuWo Research，Cat Wo. 109-035-003），37℃ 孵育 1 小時。用 PBST 洗板 3 次後，加入 50μl/孔 TMB 顯色受質（KPL，Cat Wo. 52-00-03），於室溫孵育 10 min，加入 50μl/孔 1MH₂SO₄ 終止反應，用酶標儀（Thermo scientific Multiskan MK3）在波長 450nm 處讀取吸收值，用 GraphPad Prism 5 分析數據。

【0248】 當生物素標記抗體競爭結合至細胞板上的濃度越低時，OD 值越低，反之信號越高。按公式 $IC\% = \frac{(\text{待測抗體最高 } OD_{450nm} - \text{待測抗體最低 } OD_{450nm})}{(\text{待測最高 } OD_{450nm} - \text{標記抗體最低 } OD_{450nm})}$ 計算競爭效率，結果見下表 22。

表 22. 各抗體間競爭結合關係

	競爭抗體				
抗體	ch1808	hu1803-9	hu1810-12	ch1817	ch1822
ch1805	100%	100%	100%	-	-
ch1808	100%	46.60%	54.30%	-	-
hu1803-9	100%	100%	100%	-	-
hu1810-12	100%	100%	100%	-	-
ch1817	-	-	-	100%	100%
ch1822	-	-	-	75.40%	100%

【0249】結果顯示，ch1817 與 ch1822 具有非常相近的表位，ch1808、hu1803-9 和 hu1810-12 具有非常相近的表位；而 ch1808、hu1803-9 和 hu1810-12 的表位推測在 ch1805 的表位範圍內。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 江蘇恆瑞醫藥股份有限公司
上海恆瑞醫藥有限公司

<120> 雙特異性蛋白

<160> 113

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 477

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<220>

<221> 肽

<223> 全長 GCGR

<400> 1

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

225					230					235					240
Trp	Leu	Leu	Val	Glu	Gly	Leu	Tyr	Leu	His	Asn	Leu	Leu	Gly	Leu	Ala
				245					250					255	
Thr	Leu	Pro	Glu	Arg	Ser	Phe	Phe	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gly	Ile	Gly	Trp
			260					265					270		
Gly	Ala	Pro	Met	Leu	Phe	Val	Val	Pro	Trp	Ala	Val	Val	Lys	Cys	Leu
		275					280					285			
Phe	Glu	Asn	Val	Gln	Cys	Trp	Thr	Ser	Asn	Asp	Asn	Met	Gly	Phe	Trp
	290					295				300					
Trp	Ile	Leu	Arg	Phe	Pro	Val	Phe	Leu	Ala	Ile	Leu	Ile	Asn	Phe	Phe
305					310					315					320
Ile	Phe	Val	Arg	Ile	Val	Gln	Leu	Leu	Val	Ala	Lys	Leu	Arg	Ala	Arg
				325					330					335	
Gln	Met	His	His	Thr	Asp	Tyr	Lys	Phe	Arg	Leu	Ala	Lys	Ser	Thr	Leu
			340					345					350		
Thr	Leu	Ile	Pro	Leu	Leu	Gly	Val	His	Glu	Val	Val	Phe	Ala	Phe	Val
		355					360					365			
Thr	Asp	Glu	His	Ala	Gln	Gly	Thr	Leu	Arg	Ser	Ala	Lys	Leu	Phe	Phe
	370					375					380				
Asp	Leu	Phe	Leu	Ser	Ser	Phe	Gln	Gly	Leu	Leu	Val	Ala	Val	Leu	Tyr
385					390					395					400
Cys	Phe	Leu	Asn	Lys	Glu	Val	Gln	Ser	Glu	Leu	Arg	Arg	Arg	Trp	His
			405						410					415	
Arg	Trp	Arg	Leu	Gly	Lys	Val	Leu	Trp	Glu	Glu	Arg	Asn	Thr	Ser	Asn
			420					425					430		
His	Arg	Ala	Ser	Ser	Ser	Pro	Gly	His	Gly	Pro	Pro	Ser	Lys	Glu	Leu
		435					440					445			
Gln	Phe	Gly	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Asp	Ser	Ser	Ala	Glu	Thr	Pro
	450					455					460				
Leu	Ala	Gly	Gly	Leu	Pro	Arg	Leu	Ala	Glu	Ser	Pro	Phe			
465					470					475					

<210> 2
<211> 122
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 結構域
<223> m1803 重鏈可變區

<400> 2
Gln Phe Gln Leu His Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Phe Thr Ala Glu Pro Ser Ser Ser Ser Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Gly Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ser Arg Gly Leu Ser Thr Leu Met Ala Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 3
<211> 106
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 結構域
<223> m1803 輕鏈可變區

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

<210> 4
<211> 120
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 結構域
<223> m1805 重鏈可變區

<400> 4
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Pro Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Arg Ser Leu Glu Trp Ile

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

<210> 5
<211> 107
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 結構域
<223> m1805 輕鏈可變區

<400> 5

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

<210> 6
<211> 122
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 結構域
<223> m1808 重鏈可變區

<400> 6

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

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

<210> 7
<211> 107
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 結構域
<223> m1808 輕鏈可變區

<400> 7
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ser Ser Thr Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Phe Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 8
<211> 123
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 結構域
<223> m1810 重鏈可變區

<400> 8
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Glu Leu Ala Arg Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Tyr Pro Thr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Arg Ser Ser Lys Thr Met Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Val Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Ser Gly Val Ile Thr Thr Val Val Ser Thr Asp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Ser Pro Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 9
<211> 107
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 結構域
<223> m1810 輕鏈可變區

<400> 9
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ile Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Leu Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Leu Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Thr Leu His Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Met Val Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 10
<211> 125
<212> PRT
<213> 大鼠(Rattus norvegicus)

<220>
<221> 結構域

<223> rat1817 重鏈可變區

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

<210> 11
<211> 111
<212> PRT
<213> 大鼠(Rattus norvegicus)

<220>
<221> 結構域
<223> rat1817 輕鏈可變區

<400> 11
Gln Phe Thr Leu Thr Gln Pro Lys Ser Val Ser Gly Ser Leu Arg Ser
1 5 10 15
Thr Ile Thr Ile Pro Cys Glu Arg Ser Ser Gly Asp Ile Gly Asp Ser
20 25 30
Tyr Val Asn Trp Tyr Gln Gln His Leu Gly Arg Pro Pro Leu Asn Val
35 40 45
Ile Tyr Ala Asp Val Gln Arg Pro Ser Glu Val Ser Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Asn
65 70 75 80
Leu Gln Met Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Ser Tyr Asp Thr
85 90 95
Asn Ile Asp Ile Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 12
<211> 125
<212> PRT
<213> 大鼠(Rattus norvegicus)

<220>
<221> 結構域
<223> rat1822 重鏈可變區

<400> 12
Glu Val Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Phe Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Ser Ile Ser Thr Gly Gly Val Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Ser Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Glu Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Thr Thr Pro Asp Tyr His Tyr Gly Ile Tyr Phe Ala Met
100 105 110
Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 13
<211> 111
<212> PRT
<213> 大鼠(Rattus norvegicus)

<220>
<221> 結構域
<223> rat1822 輕鏈可變區

<400> 13
Gln Val Thr Leu Thr Gln Pro Lys Ser Val Ser Gly Ser Leu Arg Ser
1 5 10 15
Thr Ile Thr Ile Pro Cys Glu Arg Ser Ser Gly Asp Ile Gly Glu Ser
20 25 30
Tyr Val Asn Trp Tyr Gln Gln His Leu Gly Arg Pro Pro Ile Asn Val
35 40 45
Ile Tyr Ala Asp Asp Gln Arg Pro Ser Glu Val Ser Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Asn
65 70 75 80
Leu Gln Val Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Ser Tyr Asp Ser
85 90 95
Ser Ile Asp Ile Phe Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 14

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1803 HCDR1

<400> 14
Asp Tyr Trp Ile Glu
1 5

<210> 15
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1803 HCDR2

<400> 15
Glu Ile Leu Pro Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 16
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1803 HCDR3

<400> 16
Gly Leu Ser Thr Leu Met Ala Val Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 17
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1803 LCDR1

<400> 17
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1803 LCDR2

<400> 18
Tyr Ser Ser Thr Leu His Ser
1 5

<210> 19
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1803 LCDR3

<400> 19
Gln Gln Thr Asn Ile Phe Pro Trp Thr
1 5

<210> 20
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1805 HCDR1

<400> 20
Asp Tyr Asn Met Asp
1 5

<210> 21
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 結構域

<223> m1805 HCDR2

<400> 21

Ser Ile Asp Pro Asp Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 結構域

<223> m1805 HCDR3

<400> 22

Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 結構域

<223> m1805 LCDR1

<400> 23

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr Leu His
1 5 10

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 結構域

<223> m1805 LCDR2

<400> 24
Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser
1 5

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1805 LCDR3

<400> 25
Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 26
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1808 HCDR1

<400> 26
Thr Asn Gly Ile Ser
1 5

<210> 27
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1808 HCDR2

<400> 27
Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Asn Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 28
<211> 13
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 結構域

<223> m1808 HCDR3

<400> 28

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

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 結構域

<223> m1808 LCDR1

<400> 29

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 結構域

<223> m1808 LCDR2

<400> 30

Tyr Ser Ser Thr Leu His Ser
1 5

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 結構域

<223> m1808 LCDR3

<400> 31

Gln Gln Gly Asn Thr Phe Pro Trp Thr
98742

1

5

<210> 32

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 結構域

<223> m1810 HCDR1

<400> 32

Asn Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 33

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 結構域

<223> m1810 HCDR2

<400> 33

Glu Ile Tyr Pro Thr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 34

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 結構域

<223> m1810 HCDR3

<400> 34

Gly Val Ile Thr Thr Val Val Ser Thr Asp Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1810 LCDR1

<400> 35
Arg Ala Ser Leu Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1810 LCDR2

<400> 36
Tyr Thr Ser Thr Leu His Ser
1 5

<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> m1810 LCDR3

<400> 37
Gln Gln Gly Asn Met Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 38
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> rat1817 HCDR1

<400> 38
Asn Tyr Tyr Met Ala
1 5

<210> 39
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> rat1817 HCDR2

<400> 39
Ser Ile Ser Thr Gly Gly Val Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 40
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> rat1817 HCDR3

<400> 40
His Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Tyr Gly Ile Tyr Phe Ala Leu Asp Ala
1 5 10 15

<210> 41
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> rat1817 LCDR1

<400> 41
Glu Arg Ser Ser Gly Asp Ile Gly Asp Ser Tyr Val Asn
1 5 10

<210> 42
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域

<223> rat1817 LCDR2

<400> 42
Ala Asp Val Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 43
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> rat1817 LCDR3

<400> 43
Gln Ser Tyr Asp Thr Asn Ile Asp Ile Ile
1 5 10

<210> 44
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> rat1822 HCDR3

<400> 44
His Thr Thr Pro Asp Tyr His Tyr Gly Ile Tyr Phe Ala Met Asp Ala
1 5 10 15

<210> 45
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> rat1822 LCDR1

<400> 45
Glu Arg Ser Ser Gly Asp Ile Gly Glu Ser Tyr Val Asn
1 5 10

<210> 46
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> rat1822 LCDR2

<400> 46
Ala Asp Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 47
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> rat1822 LCDR3

<400> 47
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Ile Asp Ile Phe
1 5 10

<210> 48
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> 小鼠抗體 HCDR1 通式

<220>
<221> 結構域
<222> (1).. (3)
<223> Xaa-Xaa-Xaa 選自 Asp-Tyr-Trp、Thr-Asn-Gly 或 Asn-Tyr-Ala.

<220>
<221> 結構域
<222> (5).. (5)
<223> Xaa 選自 Glu 或 Ser.

<400> 48
Xaa Xaa Xaa Ile Xaa
1 5

<210> 49
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> 小鼠抗體 HCDR2 通式

<220>
<221> 結構域
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 選自 Leu 或 Tyr.

<220>
<221> 結構域
<222> (5)..(5)
<223> Xaa 選自 Gly、Arg 或 Thr.

<220>
<221> 結構域
<222> (7)..(7)
<223> Xaa 選自 Gly 或 Thr.

<220>
<221> 結構域
<222> (8)..(8)
<223> Xaa 選自 Tyr 或 Asn.

<220>
<221> 結構域
<222> (10)..(10)
<223> Xaa 選自 Asn 或 Tyr.

<400> 49
Glu Ile Xaa Pro Xaa Ser Xaa Xaa Thr Xaa Tyr Asn Glu Xaa Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 50
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> 小鼠抗體 HCDR3 通式

<220>
<221> 結構域
<222> (1).. (1)
<223> Xaa 選自 Gly 或 Ser.

<220>
<221> 結構域
<222> (2).. (2)
<223> Xaa 選自 Ile、Leu 或 Val-Ile.

<220>
<221> 結構域
<222> (3).. (3)
<223> Xaa 選自 Ser 或 Thr

<220>
<221> 結構域
<222> (4).. (4)
<223> Xaa 選自 Ser 或 Thr

<220>
<221> 結構域
<222> (5).. (5)
<223> Xaa 選自 Leu 或 Val.

<220>
<221> 結構域
<222> (6).. (6)
<223> Xaa 選自 Met、Val 或 Ile.

<220>
<221> 結構域
<222> (7).. (7)
<223> Xaa 選自 Ser、Gly 或 Ala.

<220>
<221> 結構域
<222> (8).. (8)
<223> Xaa 選自 Thr、Ala 或 Val.

<400> 50
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 51
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> 小鼠抗體 LCDR1 通式

<220>
<221> 結構域
<222> (4).. (4)
<223> Xaa 選自 Leu 或 Gln.

<400> 51
Arg Ala Ser Xaa Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> 小鼠抗體 LCDR2 通式

<220>
<221> 結構域
<222> (2).. (2)
<223> Xaa 選自 Ser 或 Thr.

<400> 52
Tyr Xaa Ser Thr Leu His Ser
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域

<223> 小鼠抗體 LCDR3 通式

<220>
<221> 結構域
<222> (3).. (3)
<223> Xaa 選自 Thr 或 Gly.

<220>
<221> 結構域
<222> (5).. (5)
<223> Xaa 選自 Met、Thr 或 Ile.

<220>
<221> 結構域
<222> (6).. (6)
<223> Xaa 選自 Phe 或 Val.

<220>
<221> 結構域
<222> (8).. (8)
<223> Xaa 選自 Trp 或 Tyr.

<400> 53
Gln Gln Xaa Asn Xaa Xaa Pro Xaa Thr
1 5

<210> 54
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> 大鼠抗體 HCDR3 通式

<220>
<221> 結構域
<222> (4).. (4)
<223> Xaa 選自 Pro 或 Ala.

<220>
<221> 結構域
<222> (7).. (7)
<223> Xaa 選自 Phe 或 His.

<220>
<221> 結構域
<222> (14)..(14)
<223> Xaa 選自 Leu 或 Met.

<400> 54
His Thr Thr Xaa Asp Tyr Xaa Tyr Gly Ile Tyr Phe Ala Xaa Asp Ala
1 5 10 15

<210> 55
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> 大鼠抗體 LCDR1 通式

<220>
<221> 結構域
<222> (9)..(9)
<223> Xaa 選自 Glu 或 Asp.

<400> 55
Glu Arg Ser Ser Gly Asp Ile Gly Xaa Ser Tyr Val Asn
1 5 10

<210> 56
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> 大鼠抗體 LCDR2 通式

<220>
<221> 結構域
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 選自 Asp 或 Val.

<400> 56
Ala Asp Xaa Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> 大鼠抗體 LCDR3 通式

<220>
<221> 結構域
<222> (5)..(5)
<223> Xaa 選自 Ser 或 Thr.

<220>
<221> 結構域
<222> (6)..(6)
<223> Xaa 選自 Ser 或 Asn.

<220>
<221> 結構域
<222> (10)..(10)
<223> Xaa 選自 Phe 或 Ile.

<400> 57
Gln Ser Tyr Asp Xaa Xaa Ile Asp Ile Xaa
1 5 10

<210> 58
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> hu1803_VL. 1

<400> 58
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 Asp Ile Ser Asn Tyr

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

<210> 59
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> hu1803_VL. 1A

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

<210> 60
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> hu1803_VL. 1B

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

<210> 61
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> hu1803_VH. 1

<400> 61
Glu 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 Asp Tyr
20 25 30
Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Leu Ser Thr Leu Met Ala Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 62
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> hu1803_VH. 1A

<400> 62
Glu 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 Asp Tyr
20 25 30
Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Leu Ser Thr Leu Met Ala Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 63
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> hu1803_VH. 1B

<400> 63
Glu 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 Asp Tyr
20 25 30
Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr 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
Ser Arg Gly Leu Ser Thr Leu Met Ala Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 64
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> hu1803_VH. 1C

<400> 64
Glu 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 Asp Tyr
20 25 30
Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Phe Thr Ala Asp Pro 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
Ser Arg Gly Leu Ser Thr Leu Met Ala Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 65
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> Hu1810_VL. 1

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

<210> 66
<211> 107

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> Hu1810_VL. 1A

<400> 66
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 Leu Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Thr Leu His Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Met Val Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 67
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> Hu1810_VL. 1B

<400> 67
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 Leu Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Leu Lys Pro Gly Lys Ala Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Thr Leu His Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Met Val Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 68

<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> Hu1810_VH. 1

<400> 68
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 Asn Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Glu Ile Tyr Pro Thr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Val Ile Thr Thr Val Val Ser Thr Asp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 69
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> Hu1810_VH. 1A

<400> 69
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 Asn Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Glu Ile Tyr Pro Thr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Met 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 Ser Gly Val Ile Thr Thr Val Val Ser Thr Asp Tyr Phe Asp Tyr

100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 70
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> Hu1810_VH. 1B

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

<210> 71
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> Hu1810_VH. 1C

<400> 71
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 Asn Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Tyr Pro Thr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Met 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 Ser Gly Val Ile Thr Thr Val Val Ser Thr Asp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 72
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> IgG4-AA 的重鏈恆定區

<400> 72
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

				245					250					255		
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	
			260					265					270			
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	
			275					280					285			
Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	
	290					295					300					
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	
305					310				315						320	
Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys										
				325												

<210> 73
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> 抗體的輕鏈 (Kappa 鏈) 恆定區

<400> 73
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 74
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1803 重鏈

<400> 74
Gln Phe Gln Leu His Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445
Lys

<210> 75
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1803 輕鏈

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

<210> 76
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> Hu1803-1 重鏈

<400> 76
Glu 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 Asp Tyr
20 25 30
Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Leu Ser Thr Leu Met Ala Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355

360

365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370375380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385390395400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys

405410415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420425430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

435440445

Lys

<210> 77

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 鏈

<223> Hu1803-1 輕鏈

<400> 77

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

151015

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

202530

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

354045

Tyr Tyr Ser Ser Thr Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65707580

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Ile Phe Pro Trp

859095

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

100105110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115120125

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

130135140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145150155160

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

165170175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180185190

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

195200205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 78
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu1803-9 重鏈

<400> 78
Glu 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 Asp Tyr
20 25 30
Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Leu Ser Thr Leu Met Ala Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445
Lys

- <210> 79
- <211> 214
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- <220>
- <221> 鏈
- <223> hu1803-9 輕鏈

<400> 79
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 Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ser Ser Thr Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Ile Phe Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
145	150	155
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		
	165	170
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr		
	180	185
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser		
	195	200
Phe Asn Arg Gly Glu Cys		205
210		

<210> 80
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1805 重鏈

<400> 80

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala	
1	5
Ser Val Lys Ile Pro Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr	
	20
Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Arg Ser Leu Glu Trp Ile	
	35
Gly Ser Ile Asp Pro Asp Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe	
	50
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr	
65	70
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85
Thr Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln	
	100
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val	
	115
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala	
	130
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser	
145	150
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val	
	165
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro	
	180
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys	
	195
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro	
210	215

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 81
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1805 輕鏈

<400> 81
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr
20 25 30
Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Tyr

				85					90					95			
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala		
			100					105					110				
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly		
		115					120					125					
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala		
	130					135					140						
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln		
145					150					155					160		
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser		
				165					170					175			
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr		
			180					185					190				
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser		
	195						200					205					
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys												
	210																

<210> 82
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1808 重鏈

<400> 82
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Thr Thr Asn
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg Ile Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Ile Thr Ser Val Ile Gly Ala Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

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

Lys

- <210> 83
- <211> 214
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

- <220>
- <221> 鏈
- <223> ch1808 輕鏈

- <400> 83
- Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

			20					25				30					
Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Lys	Lys	Pro	Asp	Gly	Thr	Val	Lys	Leu	Leu	Ile		
		35					40					45					
Tyr	Tyr	Ser	Ser	Thr	Leu	His	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly		
	50					55					60						
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Leu	Glu	Gln		
65					70					75					80		
Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Gly	Asn	Thr	Phe	Pro	Trp		
				85					90					95			
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala		
			100					105					110				
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly		
		115					120					125					
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala		
	130					135					140						
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln		
145					150					155					160		
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser		
				165					170					175			
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr		
			180					185					190				
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser		
		195					200					205					
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys												
	210																

<210> 84
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu1810-12 重鏈

<400> 84
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Tyr Pro Thr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Met 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 Ser Gly Val Ile Thr Thr Val Val Ser Thr Asp Tyr Phe Asp Tyr

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

- <210> 85
- <211> 214
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu1810-12 輕鏈

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

<210> 86
<211> 452
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1817 重鏈

<400> 86
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

Ser Leu Gly Lys
450

- <210> 87
- <211> 218
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

- <220>
- <221> 鏈
- <223> ch1817 輕鏈

<400> 87
Gln Phe Thr Leu Thr Gln Pro Lys Ser Val Ser Gly Ser Leu Arg Ser
1 5 10 15
Thr Ile Thr Ile Pro Cys Glu Arg Ser Ser Gly Asp Ile Gly Asp Ser
20 25 30
Tyr Val Asn Trp Tyr Gln Gln His Leu Gly Arg Pro Pro Leu Asn Val
35 40 45
Ile Tyr Ala Asp Val Gln Arg Pro Ser Glu Val Ser Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Asn
65 70 75 80
Leu Gln Met Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Ser Tyr Asp Thr
85 90 95
Asn Ile Asp Ile Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

- <210> 88
- <211> 452
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

- <220>
- <221> 鏈
- <223> ch1822 重鏈

<400> 88																
Glu	Val	Arg	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Asp	Phe	Val	Gln	Pro	Gly	Arg	
1				5					10					15		
Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr	
			20					25					30			
Tyr	Met	Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Thr	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
		35					40					45				
Gly	Ser	Ile	Ser	Thr	Gly	Gly	Val	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Asp	Ser	Val	
	50					55					60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Glu	Ser	Thr	Leu	Tyr	
65					70					75					80	
Leu	Gln	Met	Asp	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Glu	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	
			85					90						95		
Ala	Arg	His	Thr	Thr	Pro	Asp	Tyr	His	Tyr	Gly	Ile	Tyr	Phe	Ala	Met	
			100					105					110			
Asp	Ala	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	
		115					120					125				
Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	
	130					135					140					
Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	
145					150					155					160	
Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	
				165					170					175		
Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	
			180					185					190			
Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	
		195					200					205				
Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	
	210					215					220					
Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	
225					230					235					240	
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	
			245						250					255		
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	
			260					265					270			
Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	
		275					280					285				
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	
	290					295					300					
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	
305					310					315					320	
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	
			325						330				335			
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	
			340					345					350			
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	
		355					360					365				
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	
	370					375					380					

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Gly Lys
450

<210> 89
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1822 輕鏈

<400> 89
Gln Val Thr Leu Thr Gln Pro Lys Ser Val Ser Gly Ser Leu Arg Ser
1 5 10 15
Thr Ile Thr Ile Pro Cys Glu Arg Ser Ser Gly Asp Ile Gly Glu Ser
20 25 30
Tyr Val Asn Trp Tyr Gln Gln His Leu Gly Arg Pro Pro Ile Asn Val
35 40 45
Ile Tyr Ala Asp Asp Gln Arg Pro Ser Glu Val Ser Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Asn
65 70 75 80
Leu Gln Val Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Ser Tyr Asp Ser
85 90 95
Ser Ile Asp Ile Phe Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 90
<211> 275
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 肽
<223> 度拉糖肽(Dulaglutide)

<400> 90
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Glu
35 40 45
Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
50 55 60
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
65 70 75 80
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
85 90 95
Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
100 105 110
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
115 120 125
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
130 135 140
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
145 150 155 160
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
165 170 175
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
180 185 190
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
195 200 205
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
210 215 220
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
225 230 235 240
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
245 250 255
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
260 265 270
Ser Leu Gly
275

<210> 91
<211> 31
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 肽

<223> GLP-1A

<400> 91

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Val	Ser	Ser	Tyr	Leu	Glu	Glu
1				5					10					15	
Gln	Ala	Ala	Lys	Glu	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Val	Lys	Gly	Gly	Gly	
			20					25					30		

<210> 92

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 肽

<223> GLP-1B

<400> 92

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Val	Ser	Ser	Tyr	Leu	Glu	Glu
1				5					10					15	
Glu	Ala	Ala	Lys	Glu	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Val	Lys	Gly	Gly	Gly	
			20					25					30		

<210> 93

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 肽

<223> GLP-1C

<400> 93

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Val	Ser	Ser	Tyr	Leu	Glu	Glu
1				5					10					15	
Glu	Ala	Ala	Lys	Glu	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Val	Lys	Gly	Arg	Gly	
			20					25					30		

<210> 94

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 肽
<223> GLP-1D

<400> 94
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Val Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly
20 25 30

<210> 95
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 肽
<223> GLP-1E

<400> 95
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Val Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly
20 25 30

<210> 96
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 肽
<223> GLP-1F

<400> 96
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Gly Gly
20 25 30

<210> 97
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 肽
<223> GLP-1G

<400> 97
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Val Ala Trp Leu Val Arg Gly Gly Gly
20 25 30

<210> 98
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 肽
<223> GLP-1H

<400> 98
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly
20 25 30

<210> 99
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 肽
<223> GLP-1J

<400> 99
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Val Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly
20 25 30

<210> 100
<211> 495
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu1803-9A 含重鏈部分

<400> 100
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu

1				5					10					15			
Gln	Ala	Ala	Lys	Glu	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Val	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly		
			20					25						30			
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val		
		35					40					45					
Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val		
	50					55					60						
Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr	Trp	Ile		
65					70					75					80		
Glu	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Glu		
				85				90						95			
Ile	Leu	Pro	Gly	Ser	Thr	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys	Gly		
			100					105					110				
Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	Met	Glu		
		115					120					125					
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg		
	130					135					140						
Gly	Leu	Ser	Thr	Leu	Met	Ala	Val	Asp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln		
145					150					155					160		
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val		
				165				170					175				
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala		
			180					185					190				
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser		
	195					200					205						
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val		
	210					215					220						
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro		
225					230					235					240		
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys		
				245				250					255				
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro		
			260					265					270				
Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val		
		275					280					285					
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr		
	290					295					300						
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu		
305					310					315					320		
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys		
				325				330						335			
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser		
			340					345					350				
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys		
		355					360					365					
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile		
	370					375					380						
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro		
385					390					395					400		
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu		
				405					410					415			

Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
			420					425					430		
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
		435					440					445			
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
	450					455					460				
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
465					470					475					480
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	
			485					490						495	

<210> 101
<211> 495
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu1803-9B 含重鏈部分

<400> 101

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

225					230					235					240
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys
				245					250					255	
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro
			260					265					270		
Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
			275				280					285			
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
	290					295					300				
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu
305					310					315					320
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
			325					330						335	
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
			340					345					350		
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
		355					360					365			
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
	370					375					380				
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
385					390					395					400
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
			405						410					415	
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
			420					425					430		
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
		435					440					445			
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
	450					455					460				
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
465					470					475					480
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	
			485					490						495	

<210> 102
<211> 496
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu1803-9C 含重鏈部分

<400> 102
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
35 40 45

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

450	455	460
Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
465	470	475
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		480
	485	490
		495

<210> 103
<211> 495
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu1803-9D 含重鏈部分

<400> 103

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu		
1	5	10
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Val Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly		15
	20	25
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val		30
	35	40
Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val		45
	50	55
Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Trp Ile		60
65	70	75
Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Glu		80
	85	90
Ile Leu Pro Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly		95
	100	105
Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu		110
	115	120
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg		125
	130	135
Gly Leu Ser Thr Leu Met Ala Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln		140
145	150	155
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val		160
	165	170
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala		175
	180	185
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser		190
	195	200
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val		205
	210	215
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		220
225	230	235
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys		240
	245	250
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro		255
	260	265
		270

Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
		275					280					285			
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
	290					295					300				
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu
305					310					315					320
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
			325					330						335	
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
			340					345					350		
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
	355						360				365				
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
	370					375					380				
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
385					390					395					400
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
			405						410					415	
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
			420					425					430		
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
		435					440					445			
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
	450					455					460				
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
465					470					475					480
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	
			485					490						495	

<210> 104
<211> 496
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu1803-9E 含重鏈部分

<400> 104
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Val Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
35 40 45
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
50 55 60
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Trp
65 70 75 80
Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

				85					90					95					
Glu	Ile	Leu	Pro	Gly	Ser	Thr	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys				
				100					105					110					
Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	Met				
				115					120					125					
Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala				
				130					135					140					
Arg	Gly	Leu	Ser	Thr	Leu	Met	Ala	Val	Asp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly				
145					150					155					160				
Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser				
				165					170					175					
Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala				
				180					185					190					
Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val				
				195					200					205					
Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala				
210					215					220					225				
Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val				
225					230					235					240				
Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His				
				245					250					255					
Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly				
				260					265					270					
Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser				
				275					280					285					
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg				
				290					295					300					
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro				
305					310					315					320				
Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala				
				325					330					335					
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val				
				340					345					350					
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr				
				355					360					365					
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr				
				370					375					380					
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu				
385					390					395					400				
Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys				
				405					410					415					
Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser				
				420					425					430					
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp				
				435					440					445					
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser				
				450					455					460					
Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala				
465					470					475					480				
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys				
				485					490					495					

<210> 105
<211> 495
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu1803-9F 含重鏈部分

<400> 105
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Gly Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
35 40 45
Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val
50 55 60
Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Trp Ile
65 70 75 80
Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Glu
85 90 95
Ile Leu Pro Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly
100 105 110
Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu
115 120 125
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
130 135 140
Gly Leu Ser Thr Leu Met Ala Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
145 150 155 160
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
165 170 175
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
180 185 190
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
195 200 205
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
210 215 220
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
225 230 235 240
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
245 250 255
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
260 265 270
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
275 280 285
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
290 295 300
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

305					310					315					320
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
				325						330				335	
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
			340					345					350		
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
		355					360					365			
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
	370					375					380				
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
385					390					395					400
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
				405					410					415	
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
			420					425					430		
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
		435					440					445			
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
	450					455					460				
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
465					470					475					480
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	
				485					490					495	

- <210> 106
- <211> 495
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

- <220>
- <221> 鏈
- <223> hu1803-9G 含重鏈部分

<400>	106														
His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Val	Ser	Ser	Tyr	Leu	Glu	Glu
1				5					10					15	
Glu	Ala	Ala	Lys	Glu	Phe	Val	Ala	Trp	Leu	Val	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly
			20					25					30		
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val
		35					40					45			
Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr	Trp	Ile
65					70					75					80
Glu	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Glu
			85						90					95	
Ile	Leu	Pro	Gly	Ser	Thr	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys	Gly
			100					105					110		
Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	Met	Glu
		115						120				125			

Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
130						135					140				
Gly	Leu	Ser	Thr	Leu	Met	Ala	Val	Asp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
145					150					155					160
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
				165					170					175	
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala
			180					185					190		
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
		195					200					205			
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
210						215					220				
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
225					230					235					240
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys
				245					250				255		
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro
			260					265					270		
Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
		275					280					285			
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
290						295					300				
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu
305					310					315					320
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
				325					330					335	
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
			340					345					350		
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
		355					360					365			
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
370						375					380				
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
385					390					395					400
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
				405					410					415	
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
			420					425					430		
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
		435					440					445			
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
450						455					460				
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
465					470					475					480
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	
				485					490					495	

- <210> 107
- <211> 495
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu1803-9H 含重鏈部分

<400> 107
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
35 40 45
Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val
50 55 60
Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Trp Ile
65 70 75 80
Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Glu
85 90 95
Ile Leu Pro Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly
100 105 110
Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu
115 120 125
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
130 135 140
Gly Leu Ser Thr Leu Met Ala Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
145 150 155 160
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
165 170 175
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
180 185 190
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
195 200 205
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
210 215 220
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
225 230 235 240
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
245 250 255
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
260 265 270
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
275 280 285
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
290 295 300
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
305 310 315 320
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
325 330 335
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
340 345 350

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
355 360 365
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
370 375 380
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
385 390 395 400
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
405 410 415
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
420 425 430
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
435 440 445
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
450 455 460
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
465 470 475 480
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
485 490 495

<210> 108
<211> 495
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu1803-9J 含重鏈部分

<400> 108
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Val Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
35 40 45
Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val
50 55 60
Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Trp Ile
65 70 75 80
Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Glu
85 90 95
Ile Leu Pro Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly
100 105 110
Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu
115 120 125
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
130 135 140
Gly Leu Ser Thr Leu Met Ala Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
145 150 155 160
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

				165					170					175		
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	
			180					185					190			
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	
		195					200					205				
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	
	210					215					220					
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	
225					230					235					240	
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	
				245					250					255		
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	
			260					265						270		
Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	
		275					280					285				
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	
	290					295					300					
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	
305					310					315					320	
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
				325					330					335		
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	
			340					345						350		
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
		355					360					365				
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	
	370					375					380					
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	
385					390					395					400	
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	
				405					410					415		
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
			420					425					430			
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
		435					440					445				
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
	450					455					460					
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
465					470					475					480	
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys		
				485					490					495		

<210> 109
<211> 493
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1805-D 含重鏈部分

<400> 109
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Ala Lys Glu Phe Val Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val
35 40 45
Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val
50 55 60
Lys Ile Pro Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Met
65 70 75 80
Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Arg Ser Leu Glu Trp Ile Gly Ser
85 90 95
Ile Asp Pro Asp Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly
100 105 110
Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Glu
115 120 125
Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg
130 135 140
Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
145 150 155 160
Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
165 170 175
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
180 185 190
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
195 200 205
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
210 215 220
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
225 230 235 240
Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
245 250 255
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
260 265 270
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
305 310 315 320
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
325 330 335
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
370 375 380
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

385					390					395					400
Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
				405					410					415	
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
			420					425					430		
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
		435					440					445			
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
	450					455				460					
Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
465					470					475					480
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys			
			485					490							

<210> 110
<211> 495
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1808-D 含重鏈部分

<400> 110

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

Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
210						215				220					
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
225					230					235					240
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys
				245					250					255	
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro
			260					265					270		
Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
		275					280					285			
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
290						295					300				
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu
305					310					315					320
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
				325					330					335	
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
			340					345					350		
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
		355					360					365			
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
370						375					380				
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
385					390					395					400
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
				405					410					415	
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
			420					425					430		
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
		435					440					445			
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
450						455					460				
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
465					470					475					480
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	
				485					490					495	

- <210> 111
- <211> 496
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

- <220>
- <221> 鏈
- <223> hu1810-12D 含重鏈部分

- <400> 111
- His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
- 1 5 10 15
- Glu Ala Ala Lys Glu Phe Val Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly

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

Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
	435						440					445			
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
	450					455					460				
Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala
465					470					475					480
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys
				485					490					495	

<210> 112
<211> 498
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1817-D 含重鏈部分

<400> 112

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Val	Ser	Ser	Tyr	Leu	Glu	Glu
1				5					10					15	
Glu	Ala	Ala	Lys	Glu	Phe	Val	Ala	Trp	Leu	Val	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly
			20					25					30		
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val
			35				40					45			
Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Asp	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg	Ser	Met
	50					55					60				
Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr	Tyr	Met
65					70					75					80
Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Thr	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Ser
			85						90					95	
Ile	Ser	Thr	Gly	Gly	Val	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Asp	Ser	Val	Lys	Gly
			100					105					110		
Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Asn	Leu	Tyr	Leu	Gln
		115				120						125			
Met	Asp	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Glu	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
	130					135					140				
His	Thr	Thr	Ala	Asp	Tyr	Phe	Tyr	Gly	Ile	Tyr	Phe	Ala	Leu	Asp	Ala
145					150					155					160
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
				165					170					175	
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser
			180					185					190		
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
		195					200					205			
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
	210					215					220				
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
225					230					235					240
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val

245250255

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys

260265270

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly

275280285

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

290295300

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu

305310315320

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

325330335

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg

340345350

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

355360365

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu

370375380

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

385390395400

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

405410415

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

420425430

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

435440445

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp

450455460

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

465470475480

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu

485490495

Gly Lys

<210> 113
<211> 498
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1822-D 含重鏈部分

<400> 113

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu

151015

Glu Ala Ala Lys Glu Phe Val Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly

202530

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val

354045

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

	450						455						460						
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His				
465						470						475						480	
Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu				
				485						490						495			
Gly	Lys																		

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含選自如下所示的重鏈可變區和輕鏈可變區的組合：

a) 重鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：48、49 和 50 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：51、52 和 53 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；或

b) 重鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：38、39 和 54 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：55、56 和 57 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區。

【第2項】如申請專利範圍第 1 項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含選自如下所示的重鏈可變區和輕鏈可變區的組合：

i) 重鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：14、15 和 16 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：17、18 和 19 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

ii) 重鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：20、21 和 22 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：23、24 和 25 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

iii) 重鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：26、27 和 28 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：29、30 和 31 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

iv) 重鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：32、33 和 34 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：35、36 和 37 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

v) 重鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：38、39 和 40 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：41、42 和 43 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；和

vi) 重鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：38、39 和 44 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含分別如 SEQ ID NO：45、46 和 47 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區。

【第3項】如申請專利範圍第 1 或 2 項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其是鼠源抗體或其抗原結合片段、嵌合抗體或其抗原結合片段、或人源化抗體或其抗原結合片段。

【第4項】如申請專利範圍第 3 項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，該人源化抗體包含源自人抗體的框架區或其框架區變體，其中：

該框架區變體在人抗體的輕鏈框架區和/或重鏈框架區上分別具有至多 10 個胺基酸的回復突變。

【第5項】 如申請專利範圍第 4 項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其中，該胺基酸回復突變選自：

aa) 輕鏈可變區中包含 42G、44V、71Y 和 87F 中的一個或更多個回復突變，
和/或

重鏈可變區中包含 38K、48I、67A、69F、71A、73P、78A 和 93S 中的一個或更多個回復突變；或者

ab) 輕鏈可變區中包含 38L、44V、59S、70E 和 71Y 中的一個或更多個回復突變，和/或

重鏈可變區中包含 38K、48I、66K、67A、69L、73R、78M 和 94S 中的一個或更多個回復突變。

【第6項】 如申請專利範圍第 3 或 4 項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其包含選自如下所示的輕鏈可變區和重鏈可變區組合：

c) 重鏈可變區，其序列如 SEQ ID NO：2、61、62、63 和 64 任一所示或與 SEQ ID NO：2、61、62、63 和 64 任一所示具有至少 90% 序列同一性；和

輕鏈可變區，其序列如 SEQ ID NO：3、58、59 和 60 任一所示或與 SEQ ID NO：3、58、59 和 60 任一所示具有至少 90% 序列同一性；

d) 重鏈可變區，其序列如 SEQ ID NO:4 所示或與 SEQ ID NO：4 所示具有至少 90% 序列同一性；和

輕鏈可變區，其序列如 SEQ ID NO：5 所示或與 SEQ ID NO：5 所示具有至少 90% 序列同一性；

e) 重鏈可變區，其序列如 SEQ ID NO：6 所示或與 SEQ ID NO：6 所示具有至少 90% 序列同一性；和

輕鏈可變區，其序列如 SEQ ID NO：7 所示或與 SEQ ID NO：7 所示具有至少 90% 序列同一性；

f) 重鏈可變區，其序列如 SEQ ID NO：8、68、69、70 和 71 任一所示或與 SEQ ID NO：8、68、69、70 和 71 任一所示具有至少 90% 序列同一性；和

輕鏈可變區，其序列如 SEQ ID NO：9、65、66 和 67 任一所示或與 SEQ ID NO：9、65、66 和 67 任一所示具有至少 90% 序列同一性；

g) 重鏈可變區，其序列如 SEQ ID NO:10 所示或與 SEQ ID NO：10 所示具有至少 90% 序列同一性；和

輕鏈可變區，其序列如 SEQ ID NO：11 所示或與 SEQ ID NO：11 所示具有至少 90% 序列同一性；和

h) 重鏈可變區，其序列如 SEQ ID NO:12 所示或與 SEQ ID NO：12 所示具有至少 90% 序列同一性；和

輕鏈可變區，其序列如 SEQ ID NO：13 所示或與 SEQ ID NO：13 所示具有至少 90% 序列同一性。

【第7項】如申請專利範圍第 1 至 6 項中任一項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其中，該抗體為全長抗體，進一步包括抗體恆定區。

【第8項】如申請專利範圍第 7 項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其中，該重鏈恆定區選自人 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 恆定區及其常規變體，該輕鏈恆定區選自人抗體 κ 和 λ 鏈恆定區及其常規變體。

【第9項】 如申請專利範圍第 7 項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其中，包含 SEQ ID NO：72 所示的人抗體重鏈恆定區和 SEQ ID NO：73 所示的人抗體輕鏈恆定區。

【第10項】 如申請專利範圍第 7 至 9 項中任一項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，包括選自如下任一項所示的重鏈和輕鏈的組合：

j) 該重鏈為 SEQ ID NO：74、76 或 78 所示或與其具有至少 85%序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO：75、77 或 79 所示或與其具有至少 85%序列同一性；

k) 該重鏈為 SEQ ID NO：80 所示或與其具有至少 85%序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO：81 所示或與其具有至少 85%序列同一性；

l) 該重鏈為 SEQ ID NO：82 所示或與其具有至少 85%序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO：83 所示或與其具有至少 85%序列同一性；

m) 該重鏈為 SEQ ID NO：84 所示或與其具有至少 85%序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO：85 所示或與其具有至少 85%序列同一性；

n) 該重鏈為 SEQ ID NO：86 所示或與其具有至少 85%序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO：87 所示或與其具有至少 85%序列同一性；和

o) 該重鏈為 SEQ ID NO：88 所示或與其具有至少 85%序列同一性，且該輕鏈為 SEQ ID NO：89 所示或與其具有至少 85%序列同一性。

【第11項】 一種抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其中包含選自如下所示的重鏈可變區和輕鏈可變區組合：

ac) 重鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO：2 所示重鏈可變區具有相同序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO：3 所示輕鏈可變區具有相同序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

ad) 重鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO：4 所示重鏈可變區具有相同序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO：5 所示輕鏈可變區具有相同序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

ae) 重鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO：6 所示重鏈可變區具有相同序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO：7 所示輕鏈可變區具有相同序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

af) 重鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO：8 所示重鏈可變區具有相同序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO：9 所示輕鏈可變區具有相同序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；

ag) 重鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO：10 所示重鏈可變區具有相同序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO：11 所示輕鏈可變區具有相同序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區；和

ah) 重鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO：12 所示重鏈可變區具有相同序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區，和

輕鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO：13 所示輕鏈可變區具有相同序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 區。

【第12項】 如申請專利範圍第 1 至 11 項中任一項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，其中，該抗原結合片段選自 Fab、Fab'、F(ab')₂、單鏈抗體、二聚化的 V 區（雙抗體）和二硫鍵穩定化的 V 區（dsFv）。

【第13項】 一種雙特異性蛋白，其包含 GLP-1 肽和抗 GCGR 抗體或其抗原結合片段，該 GLP-1 肽藉由肽鍵或接頭共價連接至該抗 GCGR 抗體或其抗原結合片段。

【第14項】 如申請專利範圍第 13 項所述的雙特異性蛋白，其中：

該 GLP-1 肽的羧基端藉由肽鍵或接頭連接至該抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段的重鏈可變區的胺基端；或者

該 GLP-1 肽的羧基端藉由肽鍵或接頭連接至該抗 GCGR 抗體或其抗原結合片段的輕鏈可變區的胺基端。

【第15項】 如申請專利範圍第 14 項所述的雙特異性蛋白，其中，該抗 GCGR 抗體或其抗原結合片段是申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段。

【第16項】 如申請專利範圍第 13 至 15 項中任一項所述的雙特異性蛋白，其中：

該 GLP-1 肽是 SEQ ID NO：91 所示的 GLP-1 肽或其變體，

該 GLP-1 肽變體為 SEQ ID NO：91 所示 GLP-1 肽中包含 Q17E、I23V、K28R 和 G30R 中一個或更多個胺基酸突變。

【第17項】 如申請專利範圍第 16 項所述的雙特異性蛋白，其中，該 GLP-1 肽變體包含 Q17E 突變、或包含 Q17E 和 I23V 突變。

【第18項】如申請專利範圍第 16 或 17 項所述的雙特異性蛋白，其中，該 GLP-1 肽變體的序列如 SEQ ID NO：92、93、94、95、96、97、98 或 99 所示。

【第19項】如申請專利範圍第 18 項所述的雙特異性蛋白，其中，該雙特異性蛋白包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，該第一多肽鏈包含申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項所述抗 GCGR 的單抗體的重鏈；該第二多肽鏈包含申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項所述抗 GCGR 的單株抗體的輕鏈；其中：

(ai) 該第一多肽鏈包含：選自 SEQ ID NO：100、101、102、103、104、105、106、107 和 108 任一所示的多肽，和

該第二多肽鏈包含 SEQ ID NO：79 所示的多肽；

(aj) 該第一多肽鏈包含 SEQ ID NO：109 所示的多肽，和
該第二多肽鏈包含 SEQ ID NO：81 所示的多肽；

(ak) 該第一多肽鏈包含 SEQ ID NO：110 所示的多肽，和該第二多肽鏈包含 SEQ ID NO：83 所示的多肽；

(al) 該第一多肽鏈包含 SEQ ID NO：111 所示的多肽，和該第二多肽鏈包含 SEQ ID NO：85 所示的多肽；

(am) 該第一多肽鏈包含 SEQ ID NO：112 所示的多肽，和該第二多肽鏈包含 SEQ ID NO：87 所示的多肽；或者

(an) 該第一多肽鏈包含 SEQ ID NO：113 所示的多肽，和該第二多肽鏈包含 SEQ ID NO：89 所示的多肽。

【第20項】一種 GLP-1 肽變體，該 GLP-1 肽變體是在 SEQ ID NO：91 所示的 GLP-1 肽基礎上包含 Q17E、I23V、K28R 和 G30R 中一個或更多個胺基酸突變。

【第21項】 如申請專利範圍第 20 項所述的 GLP-1 肽變體，其中，該 GLP-1 肽變體包含 Q17E 突變、或包含 Q17E 和 I23V 突變。

【第22項】 如申請專利範圍第 20 或 21 項所述的 GLP-1 肽變體，其中，該 GLP-1 肽變體的序列如 SEQ ID NO：92、93、94、95、96、97、98 或 99 所示。

【第23項】 一種醫藥組成物，其含有：

治療有效量的如申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項所述抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或如申請專利範圍第 13 至 19 項中任一項所述的雙特異性蛋白，或如申請專利範圍第 20 至 22 項中任一項所述的 GLP-1 肽變體，以及一種或多種藥學上可接受的載體、稀釋劑、緩衝劑或賦形劑。

【第24項】 一種分離的核酸分子，其編碼申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或如申請專利範圍第 13 至 19 項中任一項所述的雙特異性蛋白，或如申請專利範圍第 20 至 22 項中任一項所述的 GLP-1 肽變體。

【第25項】 一種重組載體，其包含申請專利範圍第 24 項所述的分離的核酸分子。

【第26項】 一種宿主細胞，其轉化有申請專利範圍第 25 項所述的重組載體，該宿主細胞選自原核細胞和真核細胞。

【第27項】 如申請專利範圍第 26 項所述的宿主細胞，其中，該宿主細胞為真核細胞。

【第28項】 如申請專利範圍第 27 項所述的宿主細胞，其中，該宿主細胞為哺乳動物細胞或昆蟲細胞。

【第29項】 一種製備申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或申請專利範圍第 13 至 19 項中任一項所述的雙特異性蛋白，或申請專利範圍第 20 至 22 項中任一項所述的 GLP-1 肽變體的方法，該方法包括：

培養申請專利範圍第 26 至 28 項中任一項所述的宿主細胞形成申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或申請專利範圍第 13 至 19 項中任一項所述的雙特異性蛋白，或申請專利範圍第 20 至 22 項中任一項所述的 GLP-1 肽變體，以及

從培養物回收該單株抗體或其抗原結合片段、或雙特異性蛋白、或 GLP-1 肽變體。

【第30項】 一種檢測樣本中人 GCGR 的試劑，其包含申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段。

【第31項】 一種降低受試者血糖濃度的方法，該方法包括：

向受試者施用治療有效量的申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或申請專利範圍第 13 至 19 項中任一項所述的雙特異性蛋白，或申請專利範圍第 20 至 22 項中任一項所述的 GLP-1 肽變體，或申請專利範圍第 23 項所述的醫藥組成物。

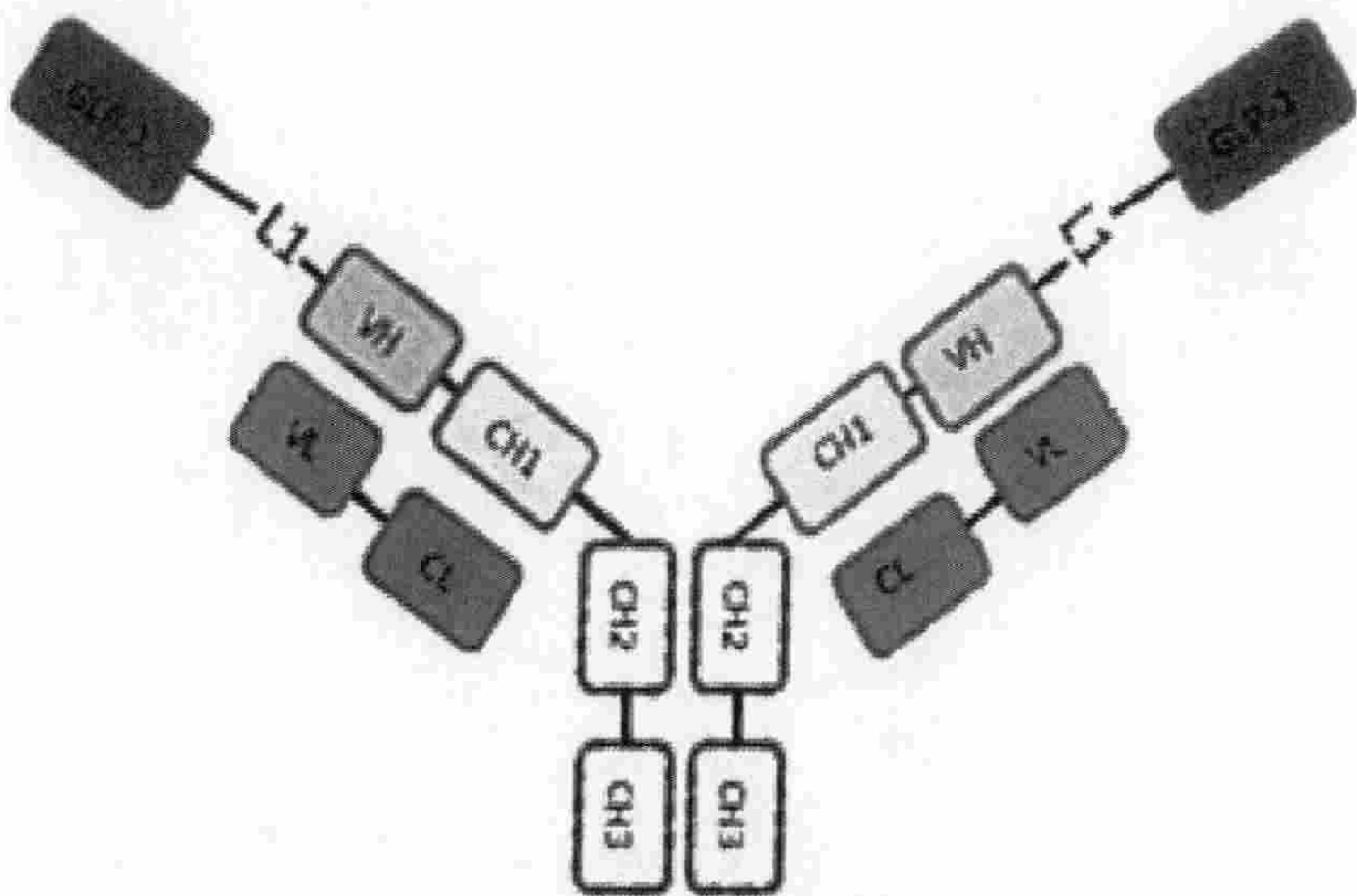
【第32項】 如申請專利範圍第 31 項所述的方法，其中，該治療有效量為單位劑量中含有 0.1 至 3000mg 的申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或申請專利範圍第 13 至 19 項中任一項所述的雙特異性蛋白，或申請專利範圍第 20 至 22 項中任一項所述的 GLP-1 肽變體。

【第33項】 一種治療代謝障礙的方法，該方法包括：

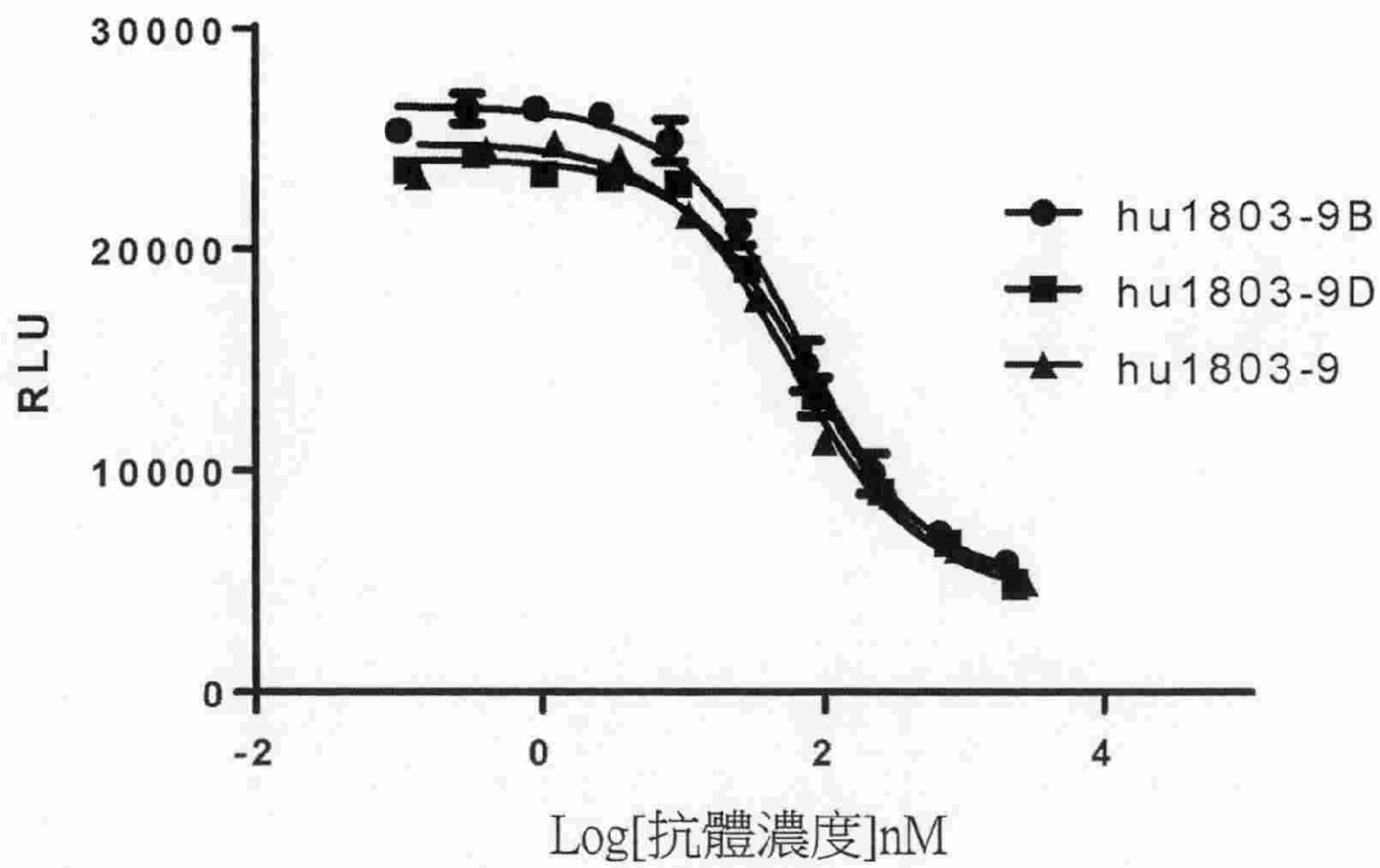
向受試者施用治療有效量的申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項所述的抗 GCGR 的單株抗體或其抗原結合片段，或申請專利範圍第 13 至 19 項中任一項所述的雙特異性蛋白，或申請專利範圍第 20 至 22 項中任一項所述的 GLP-1 肽變體，或申請專利範圍第 23 項所述的醫藥組成物。

【第34項】 如申請專利範圍第 33 項所述的方法，其中，該代謝障礙選自：代謝綜合症、肥胖症、葡萄糖耐量受損、糖尿病、糖尿病酮症酸中毒、高血糖症、高血糖高滲綜合症、圍術期高血糖症、高胰島素血症、胰島素抵抗綜合症、空腹血糖受損、血脂異常、動脈粥樣硬化和糖尿病前期狀態。

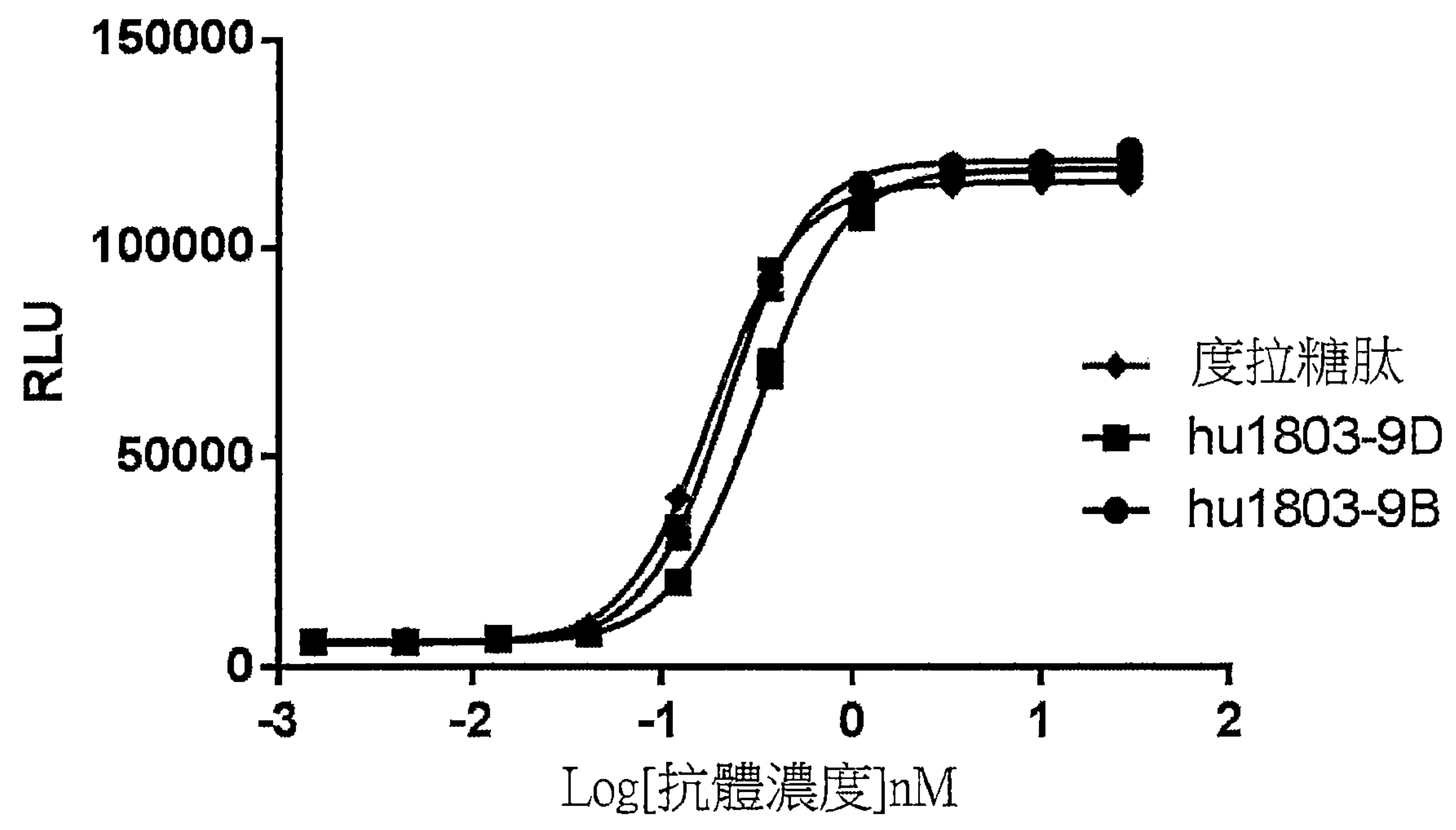
【發明圖式】



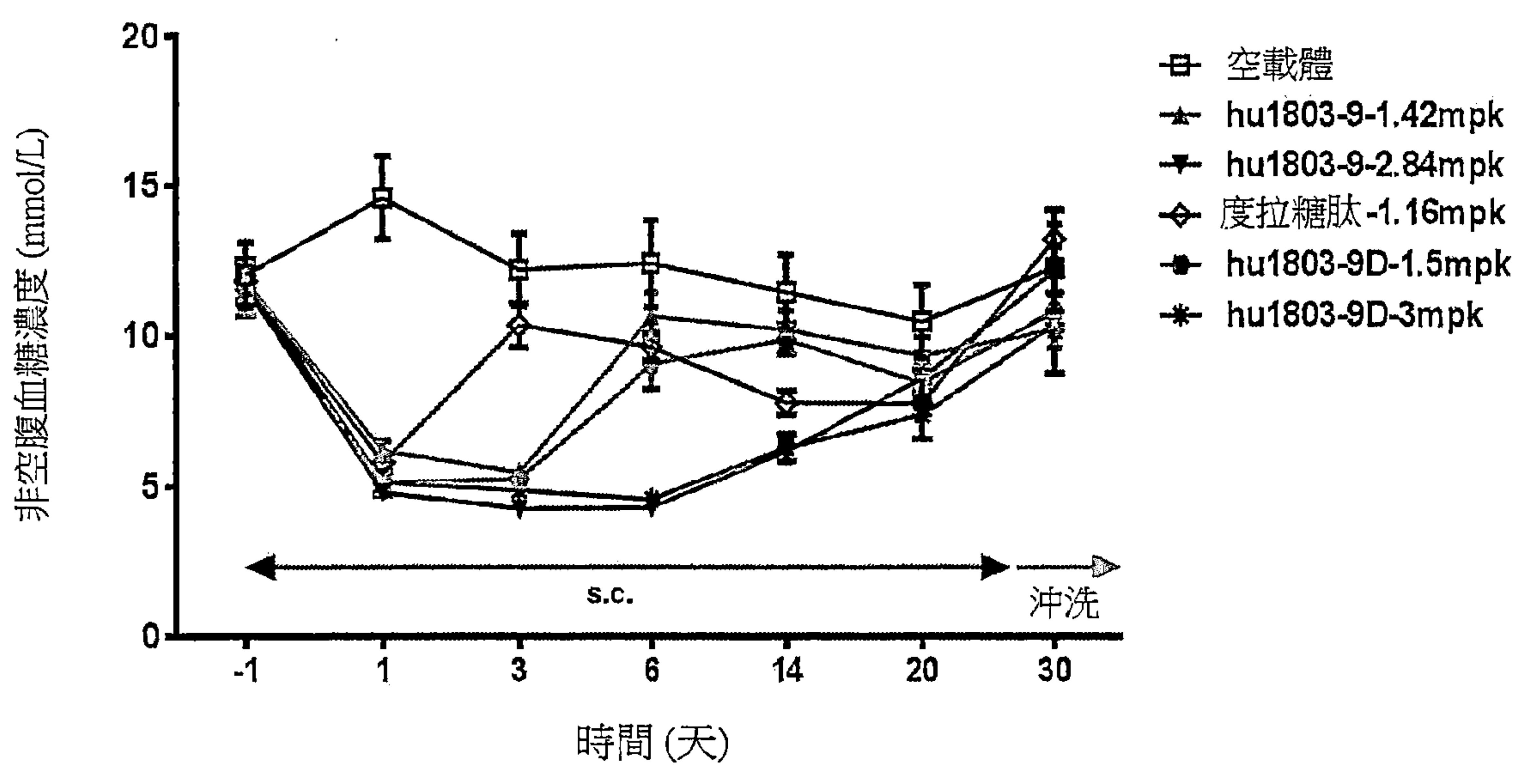
【第1圖】



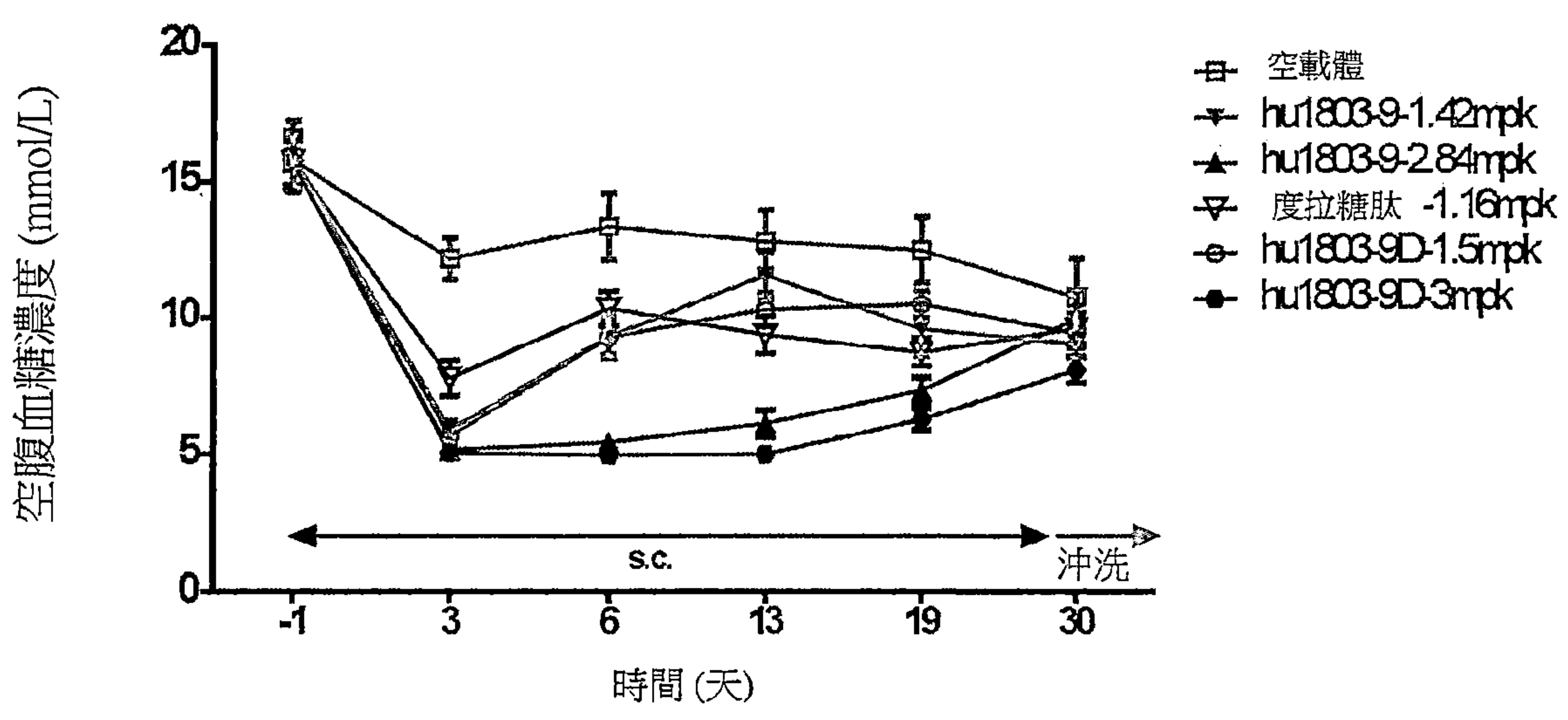
【第2圖】



【第3圖】



【第4圖】



【第5圖】