

19年11月27日修正本
(註)

公告本

發明專利說明書

中文說明書替換本(101年11月)

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：095147221

※ 申請日期：95.12.15

A61K 39/395 (2006.01)
※IPC 分類：C07K 16/00 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)
G01N 33/566 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

靶向聚泛素之方法及組合物

METHODS AND COMPOSITIONS FOR TARGETING
POLYUBIQUITIN

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美商建南德克公司

GENENTECH, INC.

代表人：(中文/英文)

提摩西 R 史瓦茲

SCHWARTZ, TIMOTHY R.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國加州舊金山市DNA路1號

1 DNA WAY, SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080-4990, U.S.A.

國籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

三、發明人：(共 4 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 那沙尼爾 C 高登
GORDON, NATHANIEL C.
2. 羅伯特 F 凱力
KELLEY, ROBERT F.
3. 安 法姆
PHAM, ANH
4. 莎拉 西莫懷茲
HYMOWITZ, SARAH

國 籍：(中文/英文)

1. 美國 U.S.A.
2. 美國 U.S.A.
3. 美國 U.S.A.
4. 美國 U.S.A.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2005年12月15日；60/751,081

2. 美國；2006年04月21日；60/793,980

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☒ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☒ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於抗聚泛素抗體領域，且更特定言之係關於不與單泛素特異性結合且可區分具有不同異肽鍵之聚泛素的抗聚泛素抗體。

【先前技術】

泛素係一種在各種細胞路徑中起重要調節作用的小蛋白。該等調節作用中最著名者為泛素用於蛋白降解之作用，其中泛素與靶向蛋白之共價連接使得靶向蛋白能夠為26S蛋白酶體所識別及破壞(參看Wilkinson, Semin. Cell Devel. Biol. 11(3): 141-148 (2000))。蛋白激酶對於各種信號傳輸路徑之調節亦已與泛素化關聯(參看Sun及Chen, Curr. Opin. Cell Biol. 16: 119-126 (2004))。舉例而言，I κ B激酶對於I κ B之磷酸化使I κ B泛素化且隨後經26S蛋白酶體降解；因為I κ B為NF κ B之抑制劑，所以I κ B之降解會活化NF κ B(Ghosh及Karin, Cell 109(增補版): S81-S96 (2002); Palombella等人, Cell 78: 773-785 (1994))。泛素化亦介導DNA之修復(參看Sun及Chen, Curr. Opin. Cell Biol. 16:119-126 (2004))。DNA受損後，增殖細胞核抗原(PCNA)之單泛素化將會活化能夠在無視任何DNA損傷之情形下合成DNA之損害耐受性聚合酶(damage-tolerant polymerase)(Stelter及Ulrich, Nature 425: 188-191 (2003))。已知涉及泛素化之其他生理學過程包括細胞分裂、細胞生長、細胞運動及細胞凋亡/細胞死亡(Johnson, Nat. Cell

Biol. 4: E295-E298 (2002); Pickart, Mol. Cell. 8: 499-504 (2001))。

泛素(一種76個胺基酸之蛋白)與靶向蛋白之共價連接為三個步驟之酶促過程(Pickart, Annu. Rev. Biochem. 70: 503-533 (2001))。第一，泛素活化酶E1在依賴ATP之反應中形成泛素-E1硫酯。在第二個步驟中，將泛素由泛素-E1硫酯轉移至泛素結合酶(E2)家族之成員。第三個步驟中，在泛素-蛋白連接酶(E3)之協助下，泛素的羧基端與靶向蛋白上之離胺酸殘基的 ϵ -胺基之間形成異肽鍵。稱為去泛素化酶之酶將泛素部分自靶向蛋白移除(Guterman及Glickman, Curr. Prot. Pep. Sci. 5: 201-210 (2004))。人類基因組含有許多涉及泛素化或去泛素化之不同蛋白，突出泛素作為重要調節分子之作用：迄今，已識別出至少40種不同E2、500種不同E3及80種不同之去泛素化酶(Wong等人，Drug. Discov. Today 8: 746-754 (2003))。

泛素含有七個離胺酸殘基(Lys6、Lys22、Lys27、Lys33、Lys29、Lys48及Lys63)且因此泛素自身可充當泛素化之靶向蛋白(Peng等人，Nat. Biotechnol. 21: 921-926 (2003); Pickart及Fushman, Curr. Opin. Chem. Biol. 8:610-616 (2004))。泛素蛋白泛素化時所產生之分子被稱為聚泛素分子，且可包含兩個或兩個以上泛素部分。理論上，泛素之泛素化可於七個離胺酸殘基之任一者上出現(Peng等人，Nat. Biotechnol. 21: 921-926 (2003))，因此，存在具有與泛素內的不同離胺酸殘基形成之異肽鍵之不同種類的

聚泛素。具有兩個以上泛素部分之單一聚泛素分子可能具有一種以上類型之離胺酸鍵聯。研究表明，E2酶影響一個泛素分子與另一分子之間產生之離胺酸鍵聯的類型(Tenno等人，*Genes to Cells* 9: 865-875 (2004)；Deng等人，(2000)及(2001))。聚泛素及泛素均以游離分子存在且與靶向蛋白共價連接。

與泛素類似，已發現聚泛素涉及多種細胞過程，包括細胞內輸送(*intracellular trafficking*)、內飲作用、基因表現/靜止、蛋白水解、激酶活化、轉譯及DNA修復(Hoege等人，*Nature* 419:135-141 (2002)；Spence等人，*Mol. Cell. Biol.* 15:1265-1273 (1995)；Hofmann及Pickart, *Cell* 96: 645-653 (1999))。然而，聚泛素及聚泛素化可具有與相同路徑中之單泛素及單泛素化顯著不同之生理學作用。舉例而言，DNA損害後，PCNA之單泛素化導致易誤(*error-prone*)DNA聚合酶之活化，而PCNA在觀察到單泛素化之同一殘基處聚泛素化則會引起無誤DNA修復之活化(Stelter及Ulrich, *Nature* 425: 188-191 (2003)；Hoege等人，*Nature* 419:135-141 (2002)；Spence等人，*Mol. Cell. Biol.* 15:1265-1273 (1995)；及Hofmann及Pickart, *Cell* 96: 645-653 (1999))。

甚至具有不同離胺酸鍵聯之聚泛素亦可能引起不同生理學作用。兩種已深入研究的聚泛素為經Lys48鍵聯之聚泛素及經Lys63鍵聯之聚泛素，且對於兩者結構之研究表明經不同離胺酸鍵聯之聚泛素明顯呈不同構形，因此允許與

所選擇之結合搭配物具有不同相互作用 (Tenno 等人, *Genes to Cells* 9: 865-875 (2004))。由經 Lys48 鍵聯之聚泛素進行的共價修飾通常標記用於蛋白水解降解之靶向蛋白, 但一些證據顯示連接 Lys48 之聚泛素亦可藉由非蛋白水解方式調節某些蛋白 (Chau 等人, *Science* 243: 1576-1583 (1989); Finley 等人, *Mol. Cell. Biol.* 14: 5501-5509 (1994); Flick 等人, *Nat. Cell. Biol.* 6:634-641 (2004))。相比而言, 經 Lys63 鍵聯之聚泛素與多種非蛋白水解路徑相關, 包括 DNA 修復 (表現 K63R 泛素之酵母細胞缺乏 DNA 修復)、激酶活化、細胞內輸送及轉譯 (Pickart 及 Fushman, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 8: 610-616 (2004); Hicke 及 Dunn, *Annu Rev. Cell Dev. Biol.* 19: 141-172 (2003); Spece 等人, *Mol. Cell Biol.* 15: 1265-1273 (1995); Ulrich, *Eukaryot. Cell* 1: 1-10 (2002); Spence 等人, *Cell* 102: 67-76 (2000); Seibenhener 等人, *Mol. Cell. Biol.* 24(18): 8055-8068 (2004))。在一特定實例中, 通常使用經 K63 鍵聯之聚泛素藉由 parkin 以一種不依賴蛋白酶體的方式將 synphilin-1 泛素化, 但亦可使用經 K48 鍵聯之聚泛素靶向 synphilin-1 而將其泛素化並予以破壞 (Lim 等人, *J. Neurosci.* 25(8): 2002-9 (2005))。對於罹患帕金森氏病 (Parkinson's disease) 之受檢者的分析表明 synphilin-1 之 K63 聚泛素化可涉及與該疾病有關之路易體 (Lewy body) 包涵體的形成 (Lim 等人, *J. Neurosci.* 25(8): 2002-9 (2005))。

在很大程度上, 由於難以區分經其他離胺酸鍵聯之聚泛

素，故尚未對該等聚泛素進行詳盡研究。迄今，研究尚取決於已移除一或多個離胺酸之細胞表現突變之泛素、經酶合成之具有特定鍵的聚泛素或諸如質譜之用於區分一類聚泛素與另一類聚泛素的技術。該等方法之每一者對於分析經特定離胺酸鍵聯之聚泛素的正常生理學行為均不適用或較為繁瑣。儘管存在相對於單泛素而言對聚泛素具有特異性之抗體(Fujimoro等人，FEBS Lett. 349: 173-180 (1994))，但目前仍不存在可區分具有不同離胺酸鍵聯之聚泛素的抗體。

如吾人所預期，給定泛素及聚泛素於各種細胞過程中之重要作用，其亦已與許多疾病相關聯，參看(Argiles, Ubiquitin and Disease, R. G. Landes (1998))。亦於肌肉萎縮(muscle wasting)中觀察到泛素調節異常(Mitch及Goldberg, New Engl. J. Med. 335: 1897-905 (1996)；Bodine等人，Science 294: 1704-1708 (2001))。若干種遺傳疾病已與異常泛素活性相關，包括囊腫纖維化(Ward等人，Cell 83: 121-127 (1995))、天使症候群(Angelman's syndrome)(Kishino等人，Nature Genet. 15: 70-73 (1997))及李德氏症候群(Liddle syndrome)(Staub等人，EMBO J 16: 6325-6336 (1997))。泛素亦在免疫及發炎反應中起作用；例如，已發現細胞外泛素充當一種細胞因子，抑制末梢血液單核細胞中TNF α 對內毒素之反應且調節內毒素低反應性(Majetschak等人，Blood 101: 1882-1890 (2003)；Ciechanover, EMBO J 17: 7151-7160 (1998))。又，已發現

在人類血清中泛素與聚泛素具有比於患有寄生性疾病及過敏性疾病的患者之血清中所觀察到的兩種分子之含量高的含量(Takada等人, *Clinical Chem.* 43: 1188-1195 (1997))。

癌症中亦涉及若干個泛素介導路徑之調節異常(Spataro等人, *Br. J. Cancer* 77: 448-55 (1998); Beckmann等人, *Hum. Mutat.* 25: 507-12 (2005))。舉例而言, 雜二聚體泛素連接酶BRCA1-BARD1之突變與乳癌相關(Hashizume等人, *J. Biol. Chem.* 276: 14537-40 (2001)), 破壞藉由泛素路徑降解Myc之能力的突變將激活c-Myc之致癌潛能(Salghetti等人, *EMBO J.* 18: 717-726 (1999)), 且經轉型之v-Jun無法經泛素化並降解為其非致癌相關體c-Jun, 並引起不受控制之生長(Ciechanover, *EMBO J.* 17: 7151-7160 (1998); Trier等人, *Cell* 78: 787-798 (1994))。

已特別於神經疾病之情形中研究泛素及聚泛素(Chung等人, *TINS* 24(11增補版)S7-S14 (2001))。亨廷頓氏病(Huntington's disease)、脊髓小腦共濟失調(Spinocerebellar ataxia)、朊病毒腦病(prion encephalopathies)、畢克氏病(Pick's disease)、路易體病(Lewy body disease)、帕金森氏病(Parkinson's disease)及阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)中所累積之包涵體、機體及神經原纖維纏結使單泛素及/或聚泛素免疫陽性染色(Alves-Rodrigues等人, *Trends Neurosci.* 21: 516-520 (1998); Cammarata等人, *Neurosci Lett.* 156: 96-98 (1993); Kalchman等人, *J. Biol. Chem.* 271: 19385-94 (1996); Holmberg等人, *Human Mol.*

Genet. 7: 913-918 (1998) ; Yedidia 等人 , EMBO J. 20: 5383-91 (2001) ; Mori 等人 , Science 235: 1641-44 (1987) ; Leigh 等人 , Acta Neuropathol. (Berl.) 79: 61-72 (1989) ; 及 Kuzuhara 等人 , Acta Neuropathologica 75: 345-353 (1988))。若干種形式之帕金森氏病已與泛素羧基端水解酶 L1(UCH-L1) 基因 (一種去泛素化酶) 之突變相聯繫 (Leroy 等人 , Nature 395: 451-452 (1998)) , 而其他形式之帕金森氏病已與 Parkin (一種已知與泛素結合酶 UbcH7 相互作用且泛素化 synphilin-1 的 E2 依賴型泛素蛋白連接酶) 之失活突變相關 (Shimura 等人 , Nature Genet. 25: 302-305 (2000), Zhang 等人 , Proc. Natl. Acad. Sci. 97: 13354-13359 (2000) ; Lim 等人 , J. Neurosci. 25(8): 2002-9 (2005))。兩種類型之突變均引起異常蛋白水解加工及蛋白之不當凝集 (參看 McNaught 等人 , Nature Rev. Neurosci. 2: 589-594 (2001))。亦已發現 UCH-L1 突變不會引起亨廷頓氏病 (Naze 等人 , Neurosci. Lett. 328: 1: 1-4 (2002))。已於阿茲海默氏病患者之腦中識別出泛素之突變體形式 , 該突變體形式極其有效地併入聚泛素鏈中 , 但在形成後難以去泛素化 , 潛在導致正常細胞蛋白水解加工系統之顯性抑制 (Lam 等人 , Proc. Natl. Acad. Sci. 97: 9902-9906 (2000))。

顯然 , 其不僅將有益於得到可區分別具有不同離胺酸鍵聯之聚泛素之組合物及方法 , 且亦將有益於得到有效靶向且調節泛素及聚泛素介導的路徑之組合物及方法。本文所提供之本發明係關於此等組合物及方法。

本文所引用之所有參考文獻(包括專利申請案及公開案)均以全文引用之方式併入本文。

【發明內容】

本發明提供能夠與聚泛素結合及/或調節與聚泛素相關之生物學活性的新穎抗體。

在一實施例中，提供一種與聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合。在一實施例中，提供一種與包含第一離胺酸鍵聯(lysine linkage)之第一聚泛素特異性結合的經分離抗體，其中該抗體並不與包含第二離胺酸鍵聯之第二聚泛素特異性結合，且其中該第一離胺酸鍵聯與該第二離胺酸鍵聯不同。在一態樣中，抗體進一步與經離胺酸6鍵聯之聚泛素、經離胺酸11鍵聯之聚泛素、經離胺酸27鍵聯之聚泛素、經離胺酸29鍵聯之聚泛素、經離胺酸33鍵聯之聚泛素、經離胺酸48鍵聯之聚泛素或經離胺酸63鍵聯之聚泛素特異性結合。

在一實施例中，提供一種與第一經K48鍵聯之聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與包含經不同離胺酸鍵聯之聚泛素的第二聚泛素(亦即，非經K48鍵聯之聚泛素)特異性結合。在一實施例中，第二聚泛素為經K63鍵聯之聚泛素。

在一實施例中，提供一種與第一經K63鍵聯之聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與包含經不同離胺酸鍵聯之聚泛素的第二聚泛素(亦即，非經K63鍵聯之聚泛素)特異性結合。在一實施例中，第二聚泛素為經K48鍵

聯之聚泛素。

在一實施例中，提供一種與包含第一離胺酸鍵聯之第一聚泛素及包含第二離胺酸鍵聯之第二聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該第一離胺酸鍵聯與該第二離胺酸鍵聯不同，其中該抗體並不與單泛素特異性結合，且其中該抗體以與該抗體對第一聚泛素之結合親和力相比大體上降低之結合親和力與第二聚泛素結合。

在一實施例中，提供一種與經離胺酸48鍵聯之聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合。在一實施例中，該抗體另外包含選自分別具有以下SEQ ID NO中之任一者之HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3及HVR-L3的至少一高變(HVR)序列：SEQ ID NO: 1-25、151-175、265-279、392-459及695-704；SEQ ID NO: 27-51、177-201、281-295、461-528及706-715；SEQ ID NO: 53-77、203-227、297-311、530-597及717-726；及SEQ ID NO: 313-327及728-737。在一實施例中，抗體進一步包含選自HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3之至少一序列，其中HVR-H1包含胺基酸序列a b c d e f g h i j (SEQ ID NO: 825)，其中胺基酸a為甘胺酸；胺基酸b為苯丙胺酸；胺基酸c為天冬醯胺酸；胺基酸d係選自纈胺酸、苯丙胺酸、白胺酸及異白胺酸；胺基酸e係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸f為酪胺酸；胺基酸g係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸h係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸i係選自異白胺酸及甲硫胺酸；且胺基酸j為組胺酸；其中HVR-H2包含胺基酸序列

k l m n o p q r s t u v w x y z a'(SEQ ID NO: 826), 其中胺基酸k為絲胺酸；胺基酸l為異白胺酸；胺基酸m係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸n係選自脯胺酸及絲胺酸；胺基酸o為酪胺酸；胺基酸p為酪胺酸；胺基酸q係選自絲胺酸及甘胺酸；胺基酸r係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸s為蘇胺酸；胺基酸t係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸u為酪胺酸；胺基酸v為丙胺酸；胺基酸w為天冬胺酸；胺基酸x為絲胺酸；胺基酸y為纈胺酸；胺基酸z為離胺酸；且胺基酸a'為甘胺酸；且其中HVR-H3包含胺基酸序列b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' l', 其中胺基酸b'係選自麩胺酸、絲胺酸、甘胺酸及酪胺酸；胺基酸c'係選自甘胺酸、酪胺酸、絲胺酸及天冬醯胺酸；胺基酸d'係選自酪胺酸、絲胺酸、離胺酸、苯丙胺酸及麩胺酸；胺基酸e'係選自絲胺酸、酪胺酸、甘胺酸及色胺酸；胺基酸f'係選自麩醯胺酸、酪胺酸、絲胺酸及甘胺酸；胺基酸g'係選自甘胺酸、絲胺酸、酪胺酸、甲硫胺酸及丙胺酸；胺基酸h'係選自甘胺酸、丙胺酸、脯胺酸及異白胺酸；胺基酸i'係選自苯丙胺酸、異白胺酸、甲硫胺酸、丙胺酸及白胺酸或不存在；胺基酸j'為苯丙胺酸或不存在；胺基酸k'為天冬胺酸；且胺基酸l'為酪胺酸。在一實施例中，抗體另外包含與表5A及表5B中關於純系apu01、apu02、apu03、apu04、apu05、apu06、apu07、apu08、apu09、apu10、apu11、apu12、apu13、apu14或apu15所述之彼等序列相對應的HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列。

在一實施例中，抗體包含選自 HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3 之至少一序列，其中 HVR-H1 包含胺基酸序列 a b c d e f g h i j (SEQ ID NO: 827)，其中胺基酸 a 為甘胺酸；胺基酸 b 為苯丙胺酸；胺基酸 c 為天冬醯胺酸；胺基酸 d 為異白胺酸；胺基酸 e 係選自絲胺酸及苯丙胺酸；胺基酸 f 為酪胺酸；胺基酸 g 係選自絲胺酸及甘胺酸；胺基酸 h 係選自絲胺酸及甘胺酸；胺基酸 i 係選自異白胺酸及甲硫胺酸；且胺基酸 j 為組胺酸；其中 HVR-H2 包含胺基酸序列 k l m n o p q r s t u v w x y z a' (SEQ ID NO: 828)，其中胺基酸 k 為絲胺酸；胺基酸 l 為異白胺酸；胺基酸 m 為酪胺酸；胺基酸 n 為絲胺酸；胺基酸 o 為酪胺酸；胺基酸 p 為酪胺酸；胺基酸 q 為絲胺酸；胺基酸 r 為酪胺酸；胺基酸 s 為蘇胺酸；胺基酸 t 為絲胺酸；胺基酸 u 為酪胺酸；胺基酸 v 為丙胺酸；胺基酸 w 為天冬胺酸；胺基酸 x 為絲胺酸；胺基酸 y 為纈胺酸；胺基酸 z' 為離胺酸；且胺基酸 a' 為甘胺酸；且其中 HVR-H3 包含胺基酸序列 b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' (SEQ ID NO: 829)，其中胺基酸 b' 係選自絲胺酸及甘胺酸；胺基酸 c' 為酪胺酸；胺基酸 d' 為絲胺酸；胺基酸 e' 係選自酪胺酸及色胺酸；胺基酸 f' 係選自絲胺酸、酪胺酸、精胺酸、苯丙胺酸及組胺酸；胺基酸 g' 係選自麩胺酸、絲胺酸、白胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、天冬醯胺酸及纈胺酸；胺基酸 h' 係選自丙胺酸及甘胺酸；胺基酸 i' 係選自白胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸及異白胺酸；胺基酸 j' 為天冬胺酸；且胺基酸 k' 為酪胺酸。在一實施例中，抗體另外包含與表 9A 中

關於純系 apu2.01 、 apu2.02 、 apu2.03 、 apu2.04 、 apu2.05 、 apu2.06 、 apu2.07 、 apu2.08 、 apu2.09 或 apu2.10 所述之序列相對應的 HVR-H1 、 HVR-H2 及 HVR-H3 序列。

在一實施例中，抗體另外包含 HVR-L3 序列，該序列包含胺基酸序列 m' n' o' p' q' r' s' t' u' v' w' (SEQ ID NO: 830)，其中胺基酸 m' 為麩醯胺酸；胺基酸 n' 為麩醯胺酸；胺基酸 o' 係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 p' 係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 q' 係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 r' 係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 s' 係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 t' 係選自白胺酸、絲胺酸、脯胺酸及酪胺酸；胺基酸 u' 為脯胺酸或不存在；胺基酸 v' 係選自苯丙胺酸、異白胺酸、纈胺酸及白胺酸；且胺基酸 w' 為蘇胺酸。在一實施例中，抗體另外包含 SEQ ID NO: 79 之 HVR-L1 序列、SEQ ID NO: 80 之 HVR-L2 序列及與表 5C 中關於純系 apu01 、 apu02 、 apu03 、 apu04 、 apu05 、 apu06 、 apu07 、 apu08 、 apu09 、 apu10 、 apu11 、 apu12 、 apu13 、 apu14 或 apu15 所述之 HVR-L3 序列相對應的 HVR-L3 序列。在一實施例中，抗體另外包含 HVR-L3 序列，該序列包含胺基酸序列 Q-Q-S-S-Y-S-S-L-I-T (SEQ ID NO: 728)。在一實施例中，抗體另外包含 SEQ ID NO: 79 之 HVR-L1 序列、SEQ ID NO: 80 之 HVR-L2 序列及與表 9B 中關於純系 apu2.01 、 apu2.02 、 apu2.03 、 apu2.04 、 apu2.05 、 apu2.06 、 apu2.07 、 apu2.08 、 apu2.09 或 apu2.10 所述之 HVR-L3 序列相對應的 HVR-L3 序列。

在一實施例中，提供一種與經離胺酸48鍵聯之聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合，且其中該抗體包含SEQ ID NO: 269之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 285之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 301之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 317之HVR-L3序列。

在一實施例中，提供一種與經離胺酸48鍵聯之聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合，且其中該抗體包含SEQ ID NO: 701之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 712之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 723之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 734之HVR-L3序列。在一實施例中，提供一種與經離胺酸48鍵聯之聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合，且其中該抗體包含SEQ ID NO: 701之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 712之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 723之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列及SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 734之HVR-L3序列。

在一實施例中，提供一種與經離胺酸63鍵聯之聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合。在一實施例中，抗體另外包含選自分別具有以下SEQ ID NO中之任一者之HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3及HVR-L3的至少一高變(HVR)序列：SEQ ID NO: 81-89、229-239、329-336、599-629及739-748；SEQ ID NO: 91-

99、241-251； 338-345、631-661及750-759；SEQ ID NO: 101-109、253-263、347-354、663-693及761-770；及SEQ ID NO: 356-363及772-781。在一實施例中，抗體包含選自HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3之至少一序列，其中HVR-H1包含胺基酸序列a b c d e f g h i j (SEQ ID NO: 831)，其中胺基酸a為甘胺酸；胺基酸b為苯丙胺酸；胺基酸c為天冬醯胺酸；胺基酸d係選自纈胺酸、異白胺酸及苯丙胺酸；胺基酸e係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸f係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸g係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸h係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸i係選自異白胺酸及甲硫胺酸；且胺基酸j為組胺酸；其中HVR-H2包含胺基酸序列k l m n o p q r s t u v w x y z a' (SEQ ID NO: 832)，其中胺基酸k係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸l為異白胺酸；胺基酸m係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸n係選自脯胺酸及絲胺酸；胺基酸o係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸p係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸q係選自絲胺酸及甘胺酸；胺基酸r係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸s為蘇胺酸；胺基酸t係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸u為酪胺酸；胺基酸v為丙胺酸；胺基酸w為天冬胺酸；胺基酸x為絲胺酸；胺基酸y為纈胺酸；胺基酸z為離胺酸；且胺基酸a'為甘胺酸；且其中HVR-H3包含胺基酸序列b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' l' m' n' o' p' q' r' s' t' u' v'，其中胺基酸b'係選自絲胺酸、麩胺酸、甘胺酸及色胺酸；胺基酸c'係選自甘胺酸、酪胺酸、異白胺酸、麩醯胺酸及絲胺酸；胺基酸d'係選自酪胺酸、甲硫胺酸、甘胺

酸及異白胺酸；胺基酸e'係選自酪胺酸、精胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、丙胺酸及脯胺酸；胺基酸f'係選自酪胺酸、絲胺酸及甘胺酸；胺基酸g'係選自麩醯胺酸、酪胺酸、絲胺酸、苯丙胺酸及纈胺酸；胺基酸h'係選自甘胺酸、蘇胺酸、色胺酸、離胺酸及脯胺酸；胺基酸i'係選自酪胺酸、丙胺酸、色胺酸、麩胺酸、脯胺酸及絲胺酸；胺基酸j'係選自色胺酸、異白胺酸、酪胺酸及丙胺酸；胺基酸k'係選自色胺酸、酪胺酸、甘胺酸及天冬胺酸，或不存在；胺基酸l'係選自酪胺酸、絲胺酸、苯丙胺酸及色胺酸，或不存在；胺基酸m'係選自酪胺酸、天冬胺酸及絲胺酸，或不存在；胺基酸n'係選自酪胺酸及丙胺酸，或不存在；胺基酸o'係選自蘇胺酸、絲胺酸、纈胺酸、甘胺酸及酪胺酸，或不存在；胺基酸p'係選自甘胺酸、天冬胺酸、絲胺酸、甲硫胺酸及酪胺酸，或不存在；胺基酸q'係選自酪胺酸、丙胺酸及甘胺酸，或不存在；胺基酸r'係選自酪胺酸、白胺酸及甘胺酸，或不存在；胺基酸s'為甘胺酸或不存在；胺基酸t'係選自甲硫胺酸及白胺酸，或不存在；胺基酸u'為天冬胺酸；且胺基酸v'為酪胺酸。在一實施例中，抗體另外包含與表6A及11B中關於純系apu17、apu18、apu19、apu20、apu21、apu22、apu23及apu24所述之彼等序列相對應的HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列。

在一實施例中，抗體包含選自HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3之至少一序列，其中HVR-H1包含胺基酸序列a b c d e f g h i j (SEQ ID NO: 833)，其中胺基酸a為甘胺酸；胺

基 酸 b 為 苯 丙 胺 酸 ； 胺 基 酸 c 為 天 冬 醯 胺 酸 ； 胺 基 酸 d 係 選
 自 異 白 胺 酸 、 纈 胺 酸 及 白 胺 酸 ； 胺 基 酸 e 係 選 自 絲 胺 酸 、
 離 胺 酸 及 纈 胺 酸 ； 胺 基 酸 f 係 選 自 絲 胺 酸 、 色 胺 酸 、 甘 胺
 酸 及 蘇 胺 酸 ； 胺 基 酸 g 係 選 自 絲 胺 酸 、 天 冬 醯 胺 酸 及 甘 胺
 酸 ； 胺 基 酸 h 係 選 自 酪 胺 酸 、 異 白 胺 酸 、 白 胺 酸 及 苯 丙 胺
 酸 ； 胺 基 酸 i 係 選 自 異 白 胺 酸 及 甲 硫 胺 酸 ； 且 胺 基 酸 j 為 組
 胺 酸 ； 其 中 HVR-H2 包 含 胺 基 酸 序 列 k l m n o p q r s t u v
 w x y z a' (SEQ ID NO: 834) ， 其 中 胺 基 酸 k 係 選 自 酪 胺 酸 、
 苯 丙 胺 酸 、 天 冬 胺 酸 、 組 胺 酸 及 丙 胺 酸 ； 胺 基 酸 l 為 異 白
 胺 酸 ； 胺 基 酸 m 係 選 自 絲 胺 酸 、 丙 胺 酸 及 麩 醯 胺 酸 ； 胺 基
 酸 n 為 脯 胺 酸 ； 胺 基 酸 o 為 酪 胺 酸 ； 胺 基 酸 p 係 選 自 白 胺
 酸 、 酪 胺 酸 及 苯 丙 胺 酸 ； 胺 基 酸 q 係 選 自 絲 胺 酸 及 甘 胺
 酸 ； 胺 基 酸 r 係 選 自 絲 胺 酸 、 蘇 胺 酸 及 色 胺 酸 ； 胺 基 酸 s 為
 蘇 胺 酸 ； 胺 基 酸 t 係 選 自 絲 胺 酸 、 天 冬 醯 胺 酸 、 離 胺 酸 及
 異 白 胺 酸 ； 胺 基 酸 u 為 酪 胺 酸 ； 胺 基 酸 v 為 丙 胺 酸 ； 胺 基 酸
 w 為 天 冬 胺 酸 ； 胺 基 酸 x 為 絲 胺 酸 ； 胺 基 酸 y 為 纈 胺 酸 ； 胺
 基 酸 z 為 離 胺 酸 ； 且 胺 基 酸 a' 為 甘 胺 酸 ； 且 其 中 HVR-H3 包
 含 胺 基 酸 序 列 b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' l' (SEQ ID NO: 908) ，
 其 中 胺 基 酸 b' 為 麩 胺 酸 ； 胺 基 酸 c' 為 酪 胺 酸 ； 胺 基 酸 d' 為 酪
 胺 酸 ； 胺 基 酸 e' 為 精 胺 酸 ； 胺 基 酸 f' 為 色 胺 酸 ； 胺 基 酸 g' 為
 酪 胺 酸 ； 胺 基 酸 h' 為 蘇 胺 酸 ； 胺 基 酸 i' 為 丙 胺 酸 ； 胺 基 酸 j'
 為 異 白 胺 酸 ； 胺 基 酸 k' 為 天 冬 胺 酸 ； 且 胺 基 酸 l' 為 酪 胺
 酸 。 在 一 實 施 例 中 ， 抗 體 包 含 與 表 10A 中 關 於 純 系
 apu2.11 、 apu2.12 、 apu2.13 、 apu2.14 、 apu2.15 、

apu2.16、apu2.17、apu2.18、apu2.19及apu2.20所述之彼等序列相對應的HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列。

在一實施例中，抗體包含選自HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3之至少一序列，其中HVR-H1包含胺基酸序列a b c d e f g h i j (SEQ ID NO: 835)，其中胺基酸a為甘胺酸；胺基酸b為苯丙胺酸；胺基酸c為天冬醯胺酸；胺基酸d係選自異白胺酸、纈胺酸及白胺酸；胺基酸e係選自離胺酸及甲硫胺酸；胺基酸f係選自蘇胺酸、甲硫胺酸、天冬醯胺酸、精胺酸及異白胺酸；胺基酸g係選自甘胺酸、纈胺酸及苯丙胺酸；胺基酸h係選自酪胺酸、異白胺酸、白胺酸及苯丙胺酸；胺基酸i係選自異白胺酸及甲硫胺酸；且胺基酸j為組胺酸；其中HVR-H2包含胺基酸序列k l m n o p q r s t u v w x y z a' b' (SEQ ID NO: 836)，其中胺基酸k為丙胺酸；胺基酸l為酪胺酸；胺基酸m為異白胺酸；胺基酸n係選自絲胺酸、異白胺酸及蘇胺酸；胺基酸o為脯胺酸；胺基酸p為酪胺酸；胺基酸q係選自白胺酸、酪胺酸、天冬胺酸、絲胺酸及色胺酸；胺基酸r為甘胺酸；胺基酸s係選自色胺酸、纈胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、精胺酸及酪胺酸；胺基酸t為蘇胺酸；胺基酸u係選自精胺酸、天冬醯胺酸、纈胺酸、蘇胺酸、絲胺酸及離胺酸；胺基酸v為酪胺酸；胺基酸w為丙胺酸；胺基酸x為天冬胺酸；胺基酸y為絲胺酸；胺基酸z為纈胺酸；胺基酸a'為離胺酸；且胺基酸b'為甘胺酸；且其中HVR-H3包含胺基酸序列c' d' e' f' g' h' i' j' k' l' m' n' o' (SEQ ID NO: 837)，其中胺基酸c'為絲胺

酸；胺基酸 d' 為精胺酸；胺基酸 e' 為麩胺酸；胺基酸 f' 為酪胺酸；胺基酸 g' 為酪胺酸；胺基酸 h' 為精胺酸；胺基酸 i' 為色胺酸；胺基酸 j' 為酪胺酸；胺基酸 k' 為蘇胺酸；胺基酸 l' 為丙胺酸；胺基酸 m' 為異白胺酸；胺基酸 n' 為天冬胺酸；且胺基酸 o' 為酪胺酸。在一實施例中，抗體包含與表 11A 及 23B 中關於純系 apu3.01、apu3.02、apu3.03、apu3.04、apu3.05、apu3.06、apu3.07、apu3.08、apu3.09、apu3.10 及 3.11 所述之彼等序列相對應的 HVR-H1、HVR-H2 及 HVR-H3 序列。

在一實施例中，抗體包含 HVR-L3 序列，該 HVR-L3 序列包含胺基酸序列 w' x' y' z' A B C D E F G，其中胺基酸 w' 為麩醯胺酸；胺基酸 x' 為麩醯胺酸；胺基酸 y' 係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 z' 係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 A 係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 B 係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 C 係選自脯胺酸、絲胺酸及白胺酸；胺基酸 D 係選自絲胺酸、脯胺酸及酪胺酸，或不存在；胺基酸 E 係選自白胺酸及苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 F 係選自苯丙胺酸、纈胺酸、蘇胺酸及異白胺酸；且胺基酸 G 係選自精胺酸、蘇胺酸及苯丙胺酸。在一實施例中，抗體包含 SEQ ID NO: 79 之 HVR-L1 序列、SEQ ID NO: 80 之 HVR-L2 序列及與表 6C 中關於純系 apu17、apu18、apu19、apu20、apu21、apu22、apu23 及 apu24 所述之 HVR-L3 序列相對應的 HVR-L3 序列。在一實施例中，抗體包含 HVR-L3 序列，該序列包含胺基酸序列 Q-Q-Y-S-S-Y-S-S-L-F-T (SEQ ID

NO: 772)。在一實施例中，抗體包含SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及與表10B中關於純系apu2.11、apu2.12、apu2.13、apu2.14、apu2.15、apu2.16、apu2.17、apu2.18、apu2.19及apu2.20所述之HVR-L3序列相對應的HVR-L3序列。在一實施例中，抗體包含SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及與SEQ ID NO: 777之HVR-L3序列相對應的HVR-L3序列。

在一實施例中，提供一種與經離胺酸63鍵聯之聚泛素特異性結合的經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合，且其中該抗體包含SEQ ID NO: 330之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 339之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 348之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 357之HVR-L3序列。

在一實施例中，提供一種與經離胺酸63鍵聯之聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合，且其中該抗體包含SEQ ID NO: 739之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 750之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 761之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 772之HVR-L3序列。在一實施例中，提供一種與經離胺酸63鍵聯之聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合，且其中該抗體包含SEQ ID NO: 740之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 751之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 762之HVR-H3序

列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 773之HVR-L3序列。在一實施例中，提供一種與經離胺酸63鍵聯之聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合，且其中該抗體包含SEQ ID NO: 744之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 755之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 766之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 777之HVR-L3序列。在一實施例中，提供一種與經離胺酸63鍵聯之聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合，且其中該抗體包含SEQ ID NO: 795之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 807之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 819之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 777之HVR-L3序列。

在一態樣中，提供一種經分離抗體，其結合至聚泛素上之抗原決定子，該抗原決定子與任何上述抗體所結合之抗原決定子相同，其中該抗體並不與單泛素特異性結合。在一態樣中，提供一種經分離抗體，其與任何上述抗體競爭與聚泛素之結合，其中該抗體並不與單泛素特異性結合。

在一態樣中，任何上述抗體均與聚泛素化蛋白特異性結合。在一態樣中，抗體進一步抑制聚泛素化蛋白之降解。在一態樣中，抗體進一步調節至少一種聚泛素介導之信號傳輸路徑。在一態樣中，抗體進一步抑制至少一種聚泛素介導之信號傳輸路徑。在一態樣中，抗體進一步刺激至少

一種聚泛素介導之信號傳輸路徑。

在一態樣中，提供一種編碼本發明抗體之核酸分子。在一態樣中，提供一種包含該核酸之載體。在一態樣中，提供一種包含該載體之宿主細胞。在一態樣中，提供一種能夠產生本發明抗體之細胞株。在一態樣中，提供一種產生本發明抗體之方法，其包含在產生該抗體之條件下培養包含編碼該抗體之核酸分子之宿主細胞。在一態樣中，提供一種包含有效量之本發明抗體及醫藥學上可接受之載劑之組合物。

在一態樣中，提供一種識別樣本中聚泛素或聚泛素化蛋白之存在的方法，其包含使該樣本與至少一種本發明抗體接觸。在一態樣中，提供一種用於治療患者與聚泛素調節異常相關之疾病或病況的方法，該方法包含向該患者投與有效量之至少一種本發明抗體。在一態樣中，患者為哺乳動物患者。在一態樣中，患者為人類。在一態樣中，該疾病係選自癌症、肌肉病症、與泛素路徑相關之遺傳病症、免疫/發炎病症及神經病症。在一態樣中，該疾病係選自癌、淋巴瘤、胚細胞瘤、肉瘤、白血病、肌肉萎縮症、多發性硬化、肌肉萎縮性側索硬化、囊腫性纖維化、天使症候群、李德氏症候群、阿茲海默氏病、帕金森氏病、畢克氏病及柏哲氏病(Paget's disease)。

在一態樣中，提供一種確定懷疑含有聚泛素或聚泛素化蛋白之樣本中聚泛素或聚泛素化蛋白之存在的方法，其包含將該樣本暴露至至少一種本發明抗體，及確定該樣本中

該至少一種抗體與聚泛素或聚泛素化蛋白之結合。

在一態樣中，提供一種使樣本中之聚泛素化蛋白與非聚泛素化蛋白分離之方法，其包含使該樣本與至少一種本發明抗體接觸。

在一態樣中，提供一種確定細胞中聚泛素之功能及/或活性之方法，其包含使該細胞與至少一種本發明抗體接觸，及評定該接觸步驟對該細胞之影響。

在一態樣中，提供一種確定樣本中聚泛素之功能及/或活性之方法，其包含使該細胞與至少一種本發明抗體接觸，及評定該接觸步驟對該樣本之影響。

在另一實施例中，提供一種與經離胺酸63鍵聯之聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體與經離胺酸63鍵聯之聚泛素中的抗原決定基結合。在一態樣中，該抗原決定基包括經離胺酸63鍵聯之聚泛素之第一泛素次單元與第二泛素次單元中的殘基。在另一此類態樣中，該抗原決定基包括選自 Glu-18、Pro-19、Ser-20、Asp-21、Thr-55、Leu-56、Ser-57、Asp-58、Asn-60、Ile-61及Gln-62之第一泛素次單元中之至少一個殘基。在另一此類態樣中，該抗原決定基包括選自 Leu-8、Thr-9、Glu-34、Gly-35、Ile-36、Pro-37、Asp-39、Gln-40、Leu-71、Arg-72、Leu-73、Arg-74及Gly-75之第二泛素次單元中之至少一個殘基。在另一此類態樣中，該抗原決定基包括選自 Glu-18、Pro-19、Ser-20、Asp-21、Thr-55、Leu-56、Ser-57、Asp-58、Asn-60、Ile-61及Gln-62之第一泛素次單元中的至少一個殘

基，及選自 Leu-8、Thr-9、Glu-34、Gly-35、Ile-36、Pro-37、Asp-39、Gln-40、Leu-71、Arg-72、Leu-73、Arg-74 及 Gly-75 之第二泛素次單元中的至少一個殘基。

在一實施例中，提供一種與第一聚泛素特異性結合之經分離抗體，該第一聚泛素包含與泛素分子之第一胺基酸位置處的第一離胺酸殘基鍵結的至少一異肽鍵，其中該抗體並不與第二聚泛素特異性結合，該第二聚泛素包含與泛素分子之第二胺基酸位置處的第二離胺酸殘基鍵結的至少一異肽鍵，且其中該第一胺基酸位置與該第二胺基酸位置不同。本發明抗體可為任何數目之形式。舉例而言，本發明抗體可為嵌合抗體、人化抗體或人類抗體。在一實施例中，本發明抗體並非人類抗體，例如，其並非轉基因小鼠 (xenomouse)(例如，如 WO 96/33735 中所述)所產生之抗體。本發明抗體可為全長或其片段(例如，包含抗原結合組件之片段)。在另一實施例中，本發明提供任何上述抗體之抗原結合片段。

【實施方式】

通用技術

除非另作指示，否則本發明之實施將使用分子生物學(包括重組技術)、微生物學、細胞生物學、生物化學及免疫學之習知技術，該等技術在此項技術之技術範疇內。該等技術已於文獻中清楚解釋，該等文獻諸如 "Molecular Cloning: A Laboratory Manual"，第三版(Sambrook 等人，

2001)；"Oligonucleotide Synthesis" (M. J. Gait 編輯，1984)；"Animal Cell Culture" (R. I. Freshney 編輯，1987)；"Methods in Enzymology" (Academic Press, Inc.)；"Current Protocols in Molecular Biology"(F. M. Ausubel 等人編輯，1987，且定期更新)；"PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis 等人編輯，1994)；PCR 2: A Practical Approach (M. J. MacPherson, B. D. Hames 及 G.R. Taylor 編輯(1995))；Harlow 及 Lane 編輯(1988) Antibodies, A Laboratory Manual；"A Practical Guide to Molecular Cloning" (Perbal Bernard V., 1988)；及"Phage Display: A Laboratory Manual" (Barbas 等人，2001)。

定義

如本文所用之術語"泛素"及"單泛素"可交替使用，且定義為與在胺基酸6、胺基酸22、胺基酸27、胺基酸29、胺基酸33、胺基酸48及/或胺基酸63處具有至少一個離胺酸殘基之76個胺基酸蛋白大體上類似的所有種類之天然人類泛素及合成泛素。

如本文所用之術語"聚泛素"係定義為所有種類之天然人類及合成泛素聚合鏈，其屬於具有泛素之不同聚合鏈聯之人類及合成系列，包括(但不限於)經離胺酸6鍵聯之聚泛素、經離胺酸11鍵聯之聚泛素、經離胺酸27鍵聯之聚泛素、經離胺酸29鍵聯之聚泛素、經離胺酸33鍵聯之聚泛素、經離胺酸48鍵聯之聚泛素或經離胺酸63鍵聯之聚泛素。聚泛素可為任何長度且包括至少兩個泛素部分。聚泛

素與泛素的串聯重複物(tandem repeats)不同，後者通常以單一蛋白表現。

如本文所用之術語"經K^{*}鍵聯之聚泛素"及"經Lys^{*}鍵聯之聚泛素"可交替使用，且其係指在一泛素部分的C末端與另一泛素部分之位置^{*}處之離胺酸之間包含至少一異肽鍵的聚泛素分子。舉例而言，"經K63鍵聯之聚泛素"與"經Lys63鍵聯之聚泛素"可交替使用，且兩個術語皆係指在分子之一泛素部分之C末端與該分子中另一泛素部分的63位之離胺酸之間包含異肽鍵的聚泛素分子。

如本文所用之關於第一離胺酸鍵聯"不同於"第二離胺酸鍵聯之陳述表示一泛素部分與另一泛素部分之間的第一離胺酸鍵聯涉及不同於一泛素部分與另一泛素部分之間的第二離胺酸鍵聯之離胺酸殘基(例如，K6、K22、K27、K29、K33、K48及/或K63)。

如本文所用之術語"泛素路徑"係指細胞中的生物化學路徑或體外重建之生物化學路徑，其包括泛素及/或聚泛素。

"經分離"抗體為已經識別且與天然環境之組份分離及/或自天然環境之組份中回收的抗體。其天然環境之污染組份為將會干擾關於該抗體之研究、診斷或治療用途的物質，且可包括酶、激素及其他蛋白或非蛋白溶質。在一實施例中，以抗體之重量計，抗體將(1)如藉由(例如)勞立法(Lowry method)所測定，經純化至大於95%且在某些實施例中大於99重量%；(2)藉由使用(例如)旋轉杯式序列分析

儀(spinning cup sequenator)已知，經純化至足以獲得N末端或內部胺基酸序列之至少15個殘基的程度；或(3)藉由在還原或非還原條件下使用(例如)考馬斯藍(Coomassie blue)或銀染色由SDS-PAGE已知，經純化至均質。由於抗體天然環境之至少一種組份將不存在，故經分離之抗體包括在重組細胞內之原位抗體。然而，經分離抗體通常將藉由至少一個純化步驟製備。

如本文所用之術語"抗泛素抗體"及"抗單泛素抗體"可交替使用，且其係指能夠與泛素分子特異性結合之抗體。

如本文所用之術語"抗聚泛素抗體"係指能夠與聚泛素分子特異性結合之抗體。

如本文所用之術語"抗經K48鍵聯之聚泛素之抗體"係指能夠與經K48鍵聯的聚泛素特異性結合之抗體。

如本文所用之術語"抗經K63鍵聯之聚泛素之抗體"係指能夠與經K63鍵聯的聚泛素結合之抗體。

如本文所用之短語"大體上類似"、"大體上相同"、"等效"或"大體上等效"表示兩個數值(例如，一數值與一分子相關且另一數值與參考分子/比較分子相關)之間具有足夠高的相似度，從而使熟習此項技術者認為在藉由該等值量測之生物學特徵內容(例如，Kd值、抗病毒作用等)內該等兩個值之間具有極小差異或不具有生物學及/或統計學顯著性差異。隨參考分子/比較分子之值而變化的該等兩個值之間的差異(例如)小於約50%、小於約40%、小於約30%、小於約20%及/或小於約10%。

如本文所用之短語"大體上降低"或"大體上不同"表示兩個數值(通常一數值與一分子相關且另一數值與參考/比較分子相關)之間具有足夠高之差異度，從而使熟習此項技術者認為在藉由該等值量測之生物學特徵內容(例如，Kd值)內該等兩個值具有統計學顯著性之差異。隨參考分子/比較分子之值而變化的該等兩個值之間的差異(例如)大於約10%、大於約20%、大於約30%、大於約40%及/或大於約50%。

"結合親和力"通常係指分子(例如抗體)之單一結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間之非共價相互作用的總強度。除非另作指示，否則如本文所用之"結合親和力"係指反映結合對(例如，抗體及抗原)之成員之間的1:1相互作用之內在結合親和力。分子X與其搭配物Y之親和力通常可由解離常數(Kd)表示。親和力可藉由此項技術中已知之常用方法(包括本文所述之彼等方法)量測。低親和力抗體通常與抗原緩慢結合且傾向於快速解離，而高親和力抗體通常與抗原結合較快且傾向於保持長期結合。此項技術中已知量測結合親和力之各種方法，該等方法中之任一者均可用於達成本發明之目的。下文描述特定說明性實施例。

在一實施例中，如藉由以下檢定所述，藉由用所需抗體及其抗原之Fab型式進行之經放射標記的抗原結合檢定(RIA)量測本發明之"Kd"或"Kd值"。在未經標記抗原之連續滴定存在下，使Fab與最小濃度的經(^{125}I)標記之抗原平衡，隨後俘獲與經抗Fab抗體塗覆的培養盤結合之抗原，

藉此來量測 Fab 對抗原之溶液結合親和力 (Chen 等人, (1999) *J. Mol Biol* 293:865-881)。為確立檢定之條件, 用 50 mM 碳酸鈉 (pH 9.6) 中之 5 $\mu\text{g/ml}$ 俘獲抗 Fab 抗體 (Cappel Labs) 塗覆微量滴定盤 (Dynex) 隔夜, 且隨後在室溫 (大約 23°C) 下用 PBS 中之 2% (w/v) 牛血清白蛋白阻斷二至五小時。在無吸附劑之滴定盤 (Nunc #269620) 中, 使 100 pM 或 26 pM [^{125}I] 抗原與連續稀釋之所需 Fab 混合 (例如, 與抗 VEGF 抗體 Fab-12 之評定相符, Presta 等人, (1997) *Cancer Res.* 57:4593-4599)。隨後, 培育所需 Fab 歷經隔夜; 然而, 培育可持續一段較長之時間 (例如 65 小時) 以確保達到平衡。此後, 在室溫下將混合物轉移至俘獲培養盤 (capture plate) 以用於培育 (例如, 歷經 1 小時)。隨後, 移除溶液且用 PBS 中之 0.1% 吐溫 20 (Tween-20) 洗滌該培養盤 8 次。當該等培養盤已經乾燥時, 每孔添加 150 μl 閃爍體 (MicroScint-20; Packard), 且於 Topcount γ 計數器 (Packard) 上對該等培養盤計數 10 分鐘。選擇提供小於或等於 20% 最大結合之濃度的各 Fab 以用於競爭性結合檢定。根據另一實施例, 藉由在 25°C 下使用 BIAcore™-2000 或 BIAcore™-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) 且使用表面電漿共振檢定 (surface plasmon resonance assays) 用約 10 個反應單元 (RU) 之固定抗原 CM5 晶片量測 K_d 或 K_d 值。簡言之, 根據供應商之說明書用 *N*-乙基-*N'*-(3-二甲基胺基丙基)-碳化二醯亞胺鹽酸鹽 (EDC) 及 *N*-羥基琥珀醯亞胺 (NHS) 活化羧甲基化葡聚糖生物感應器晶片 (CM5, BIAcore Inc.)。用 10

mM 乙酸钠 (pH 4.8) 將抗原稀釋至 5 $\mu\text{g/ml}$ (約 0.2 μM)，接著以 5 $\mu\text{l/分鐘}$ 之流動速率進行注射以達成大約 10 個反應單元 (RU) 之偶聯蛋白。在注射抗原後，注射 1 M 乙醇胺以阻斷未經反應之基團。對於動力學量測而言，在 25°C 下以大約 25 $\mu\text{l/min}$ 之流動速率注射在具有 0.05% 吐溫 20 之 PBS (PBST) 中兩倍連續稀釋之 Fab (0.78 nM 至 500 nM)。使用簡易的一對一 Langmuir 結合模型 (BIAcore Evaluation Software, 3.2 版)，藉由同時擬合締合及解離感應譜來計算締合速率 (k_{on}) 及解離速率 (k_{off})。將平衡解離常數 (K_d) 計算為 $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ 之比率。參看例如 Chen, Y. 等人，(1999) *J. Mol Biol* 293:865-881。若藉由上述表面電漿共振檢定獲得之締合速率大於 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ，則可在如光譜儀 (諸如裝備有間歇流體之分光光度計 (Aviv Instruments) 或具有經攪拌比色管之 8000 系列 SLM-Aminco 光譜光度計 (ThermoSpectronic)) 所量測具有增加之濃度的抗原存在下，藉由使用量測螢光放射強度之增加或降低的螢光淬滅技術 (fluorescent quenching technique) (激發 = 295 nm；放射 = 340 nm，16 nm 帶通) 於 25°C 下測定 PBS 中之 20 nM 抗抗原抗體 (Fab 形式) (pH 7.2) 的締合速率。

亦可在 25°C 下使用 BIAcore™-2000 或 BIAcore™-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) 以與上述檢定相同之表面電漿共振檢定用約 10 個反應單元 (RU) 之固定抗原 CM5 晶片測定 "締合速率" 或 " k_{on} "。簡言之，根據供應商之說明書用 *N*-乙基-*N'*-(3-二甲基胺基丙基)-碳化二醯亞胺鹽酸鹽

(EDC)及 *N*-羥基琥珀醯亞胺(NHS)活化羧甲基化葡聚糖生物感應器晶片(CM5, BIAcore Inc.)。用 10 mM 乙酸鈉(pH 4.8)將抗原稀釋至 5 $\mu\text{g/ml}$ (約 0.2 μM)，接著以 5 $\mu\text{l/分鐘}$ 之流動速率進行注射以達成大約 10 個反應單元(RU)之偶聯蛋白。在注射抗原後，注射 1 M 乙醇胺以阻斷未經反應之基團。對於動力學量測而言，25°C 下以大約 25 $\mu\text{l/min}$ 之流動速率注射在具有 0.05% 吐溫 20 之 PBS(PBST)中兩倍連續稀釋之 Fab(0.78 nM 至 500 nM)。使用簡易的一對一 Langmuir 結合模型(BIAcore Evaluation Software 3.2 版)，藉由同時擬合締合及解離感應譜來計算締合速率(k_{on})及解離速率(k_{off})。將平衡解離常數(K_d)計算為 $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ 之比率。參看例如 Chen, Y. 等人，(1999) *J. Mol Biol* 293:865-881。然而，若藉由上述表面電漿共振檢定獲得之締合速率大於 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ，則可在如光譜儀(諸如裝備有間歇流體之分光光度計(Aviv Instruments)或具有經攪拌比色管之 8000 系列 SLM-Aminco 光譜光度計(ThermoSpectronic))所量測具有增加之濃度的抗原存在下，藉由使用量測螢光放射強度之增加或降低的螢光淬滅技術(激發=295 nm；放射=340 nm，16 nm 帶通)於 25°C 下測定 PBS 中之 20 nM 抗抗原抗體(Fab 形式)(pH 7.2)的締合速率。

如本文所用之術語"載體"意欲指能夠轉運所鍵聯之另一核酸分子之核酸分子。一類載體為"質體"，其係指可連結額外 DNA 區段之環形雙鏈 DNA 環。另一類載體為噬菌體載體。另一類載體為病毒載體，其中額外 DNA 區段可連結至

病毒基因組中。某些載體能夠在引入該等載體之宿主細胞中自主複製(例如，具有細菌複製起點之細菌載體及游離型哺乳動物載體)。其他載體(例如非游離型哺乳動物載體)可在引入宿主細胞中之後整合至該宿主細胞之基因組中，且由此隨宿主基因組一起複製。此外，某些載體能夠引導其可操作地鍵聯之基因之表現。此等載體在本文中稱為"重組表現載體"(或簡言之"重組載體")。一般而言，用於重組DNA技術中之表現載體通常為質體之形式。在本說明書中，"質體"及"載體"可交替使用，因為質體為最常用形式之載體。

如本文可交替使用之"聚核苷酸"或"核酸"係指任何長度之核苷酸之聚合物，且包括DNA及RNA。該等核苷酸可為脫氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、經修飾核苷酸或鹼基及/或其類似物，或可藉由DNA或RNA聚合酶或藉由合成反應併入聚合物中之任何基質。聚核苷酸可包含經修飾之核苷酸，諸如甲基化核苷酸及其類似物。若存在對於核苷酸結構之修飾，則可在組裝聚合物之前或之後進行修飾。核苷酸序列可由非核苷酸組份插入。聚核苷酸可於合成後(諸如)藉由與標記結合而經進一步經修飾。其他類型之修飾包括(例如)"帽子"；一或多個天然存在之核苷酸經類似物取代；核苷酸間修飾，諸如具有不帶電荷之鍵者(例如，膦酸甲酯、磷酸三酯、磷醯胺酸、胺基甲酸酯等)及具有帶電荷之鍵者(例如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等)、含有附屬部分者(諸如蛋白(例如，核酸酶、毒素、抗體、信號

肽、ply-L-離胺酸等))、具有插入劑者(例如吡啶、補骨脂素等)、含有螯合劑者(例如金屬、放射性金屬、硼、氧化性金屬等)、含有烷化劑者、具有經修飾之鍵者(例如 α 變旋異構核酸等);以及聚核苷酸之未經修飾形式。此外,通常存在於糖中之任何羥基均可經(例如)磷酸酯基、磷酸酯基置換、經標準保護基團保護或經活化以製備與額外核苷酸連接之額外鍵,或可與固體或半固體支撐物結合。5'及3'端OH可經磷酸化或經胺或具有1至20個碳原子之有機封端基團部分取代。其他羥基亦可衍生成標準保護基團。聚核苷酸亦可含有此項技術中通常已知之類似形式之核糖或脫氧核糖,包括(例如)2'-O-甲基-、2'-O-烯丙基-、2'-氟-或2'-疊氮基-核糖、碳環糖類似物、 α -變旋異構糖、差向異構糖(諸如阿拉伯糖、木糖或來蘇糖(lyxose))、呋喃糖、呋喃糖、七碳糖、非環類似物及基礎核苷類似物(諸如甲基核糖苷)。一或多種磷酸二酯鍵聯可經另外的連接子置換。該等另外的連接子包括(但不限於)磷酸酯經P(O)S("硫代酯")、P(S)S("二硫代酯")、(O)NR₂("鹽胺化物")、P(O)R、P(O)OR'、CO或CH₂("甲縮醛")置換之例子,其中R或R'各獨立地為H或視情形含有醚(-O-)鍵之經取代或未經取代烷基(1-20個C)、芳基、烯基、環烷基、環烯基或芳烷基(aralkyl)。聚核苷酸中之所有鍵聯無需相同。上文之描述適用於本文所提及之所有聚核苷酸,包括RNA及DNA。

如本文所用之"寡核苷酸"通常係指長度通常(但非必需)

小於約200個核苷酸之短的、通常為單鏈、通常為合成之聚核苷酸。術語"寡核苷酸"及"聚核苷酸"並不相互排除。上文關於聚核苷酸之描述同樣且完全適用於寡核苷酸。

"抗體"(Ab)及"免疫球蛋白"(Ig)為具有相同結構特徵之糖蛋白。儘管抗體展現出與特定抗原之結合特異性，但免疫球蛋白包括通常缺乏抗原特異性之抗體與其他類似抗體之分子。後一種多肽(例如)係由淋巴系統以低含量產生且由骨髓瘤以增加之含量產生。

術語"抗體"及"免疫球蛋白"就最廣泛之含義而言可交替使用，且包括單株抗體(例如，全長或完整單株抗體)、多株抗體、單價、多價抗體、多特異性抗體(multispecific antibody)(例如雙特異性抗體，只要其展現出所需生物學活性即可)，且亦可包括某些抗體片段(如本文更詳細地描述)。抗體可為嵌合抗體、人類抗體、人化抗體及/或親和力成熟抗體。

抗體之"可變區"或"可變域"係指該抗體之重鏈或輕鏈之胺基末端域。該等域通常為抗體之最可變部分，且含有抗原結合位點。

術語"可變"係指抗體間可變域之某些部分的序列普遍不同且該等部分用於各特定抗體對其特定抗原之結合及特異性。然而，變異性並非均勻分佈於抗體之整個可變域中。其集中於輕鏈與重鏈可變域中稱為互補判定區(complementarity-determining region)(CDR)或高變區之三個區段中。可變域中較高度保守之部分稱為框架(FR)。天

然重鏈及輕鏈之可變域各包含在很大程度上採用 β 折疊組態的由三個CDR連接之四個FR區，其形成環連接，且某些情形下形成部分 β 折疊結構。各鏈中之CDR係由FR區以緊密接近之方式固持在一起，且來自其他鏈之CDR有助於形成抗體之抗原結合位點(參看 Kabat 等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第五版，National Institute of Health, Bethesda, MD (1991))。恆定域不直接涉及抗體與抗原之結合，但展現出各種效應功能，諸如抗體參與抗體依賴性細胞毒性。

由木瓜酵素消化抗體會產生各具有單一抗原結合位點之兩個相同的抗原結合片段，稱為"Fab"片段；及殘餘"Fc"片段，其名稱反映其易於結晶之能力。胃蛋白酶處理會產生具有兩個抗原組合位點且仍能夠交聯抗原之 $F(ab')_2$ 片段。

"Fv"為含有完整抗原辨識位點及抗原結合位點之最小抗體片段。在兩鏈Fv種類中，此區係由緊密、非共價締合之一重鏈可變域及一輕鏈可變域之二聚體組成。在單鏈Fv種類中，一重鏈可變域與一輕鏈可變域可藉由彈性肽連接子共價鍵聯，從而使輕鏈與重鏈可以與兩鏈Fv種類中的結構類似之"二聚"結構締合。各可變域之三個CDR在此組態中相互作用以界定VH-VL二聚體表面上之抗原結合位點。總之，六個CDR賦予抗體以抗原結合特異性。然而，甚至單一可變域(或半數僅包含三個抗原特異性CDR的Fv)亦具有辨識且結合抗原之能力，儘管其與抗原之結合親和力比整個結合位點之親和力低。

Fab 片段亦含有輕鏈之恆定域及重鏈之第一恆定域(CH1)。Fab'片段因在包括來自抗體鉸鏈區之一或多個半胱氨酸之重鏈CH1域的羧基末端添加有數個殘基而不同於Fab片段。Fab'-SH為Fab'在本文中之命名，其中恆定域之半胱氨酸殘基含有游離硫醇基。F(ab')₂抗體片段最初作為其間具有鉸鏈半胱氨酸之Fab'片段對產生。亦已知抗體片段之其他化學偶聯。

可基於恆定域之胺基酸序列將來自任何脊椎動物物種之抗體(免疫球蛋白)的"輕鏈"指定為兩種完全截然不同類型(稱為 κ 及 λ)種之一者。

視重鏈恆定域之胺基酸序列而言，可將抗體(免疫球蛋白)指定為不同種類。存在五個主要種類之免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且該等種類中之若干者可進一步再分為亞類(同型)，例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及IgA₂。與不同種類之免疫球蛋白相對應的重鏈恆定域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。不同種類免疫球蛋白之次單元結構及三維組態已為吾人熟知，且通常描述於(例如)Abbas等人，Cellular and Mol. Immunology，第4版(2000)中。抗體可為藉由抗體與一或多個其他蛋白或肽共價或非共價締合所形成之較大融合分子之部分。

術語"全長抗體"、"完整抗體"及"整個抗體"在本文中可交替使用，其係指大體上完整形式之抗體，而非如下文所定義之抗體片段。該等術語尤其係指具有含有Fc區之重鏈的抗體。

"抗體片段"僅包含完整抗體的一部分，其中該部分保留當存在於完整抗體中時通常與該部分相關的至少一種且多達大部分或所有功能。在一實施例中，抗體片段包含完整抗體之抗原結合位點且因此保留結合抗原之能力。在另一實施例中，抗體片段(例如包含Fc區者)保留當存在於完整抗體中時通常與Fc區相關之至少一種生物學功能，諸如FcRn結合、抗體半衰期調節、ADCC功能及補體結合。在一實施例中，抗體片段為具有大體上與完整抗體類似之體內半衰期的單價抗體。舉例而言，此類抗體片段可包含鍵聯至Fc序列的能夠賦予該片段以體內穩定性之抗原結合臂。

如本文所用之術語"單株抗體"係指由大體上均勻之抗體群體獲得的抗體，亦即，除可以極少量存在之可能天然出現的突變外，包含該群體之個別抗體相同。因此，修飾語"單株"指示並非離散抗體之混合物之抗體的特性。此單株抗體通常包括包含結合標靶之多肽序列的抗體，其中該靶向結合多肽序列係藉由包括由複數個多肽序列中選擇單一靶向結合多肽序列的方法獲得。舉例而言，選擇過程可為由複數個純系中選擇唯一純系，諸如一池融合瘤純系、噬菌體純系或重組DNA純系。應瞭解，可進一步改變所選擇之靶向結合序列以(例如)改良對標靶之親和力，人化該靶向結合序列，改良其在細胞培養中之產量，降低其在體內之免疫原性，產生多特異性抗體等，且包含已改變之靶向結合序列的抗體亦為本發明之單株抗體。與通常包括針對

不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製劑相比，單株抗體製劑之各單株抗體係針對抗原之單一決定子。除特異性外，單株抗體製劑之優勢亦在於其通常未受其他免疫球蛋白污染。修飾語"單株"指示由大體上均勻之抗體群體獲得之抗體的特徵，且不應將其解釋為需要藉由任何特殊方法產生之抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由多種技術製得，包括(例如)融合瘤法(例如 Kohler 等人，Nature, 256:495 (1975)；Harlow 等人，Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press，第2版1988)；Hammerling 等人，in: Monoclonal Antibodies and T-Cell hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981))；重組DNA法(參看例如，美國專利第4,816,567號)；噬菌體呈現技術(參看例如，Clackson 等人，Nature, 352: 624-628 (1991)；Marks 等人，J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992)；Sidhu 等人，J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004)；Lee 等人，J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004)；Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004)；及 Lee 等人，J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004))；及用於在具有部分或所有人類免疫球蛋白基因座或編碼人類免疫球蛋白序列之基因的動物體內製得人類或類人抗體的技術(參看例如，WO 98/24893；WO 96/34096；WO 96/33735；WO 91/10741；Jakobovits 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 2551 (1993)；Jakobovits 等人，Nature 362: 255-258 (1993)；

Bruggemann等人，*Year in Immunol.* 7:33 (1993)；美國專利第 5,545,807 號；第 5,545,806 號；第 5,569,825 號；第 5,625,126 號；第 5,633,425 號；第 5,661,016 號；Marks 等人，*Bio. Technology* 10: 779-783 (1992)；Lonberg 等人，*Nature* 368: 856-859 (1994)；Morrison, *Nature* 368: 812-813 (1994)；Fishwild 等人，*Nature Biotechnol.* 14: 845-851 (1996)；Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14: 826 (1996)；及 Lonberg 及 Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93 (1995))。

本文之單株抗體特定包括"嵌合"抗體，其中一部分重鏈及/或輕鏈與得自特定物種或屬於特定抗體種類或亞類之抗體中的相應序列相同或同源，而該(該等)鏈之其餘部分與得自另一物種或屬於另一抗體種類或亞類之抗體中的相應序列相同或同源；以及該等抗體之片段，只要其展現出所需生物學活性即可(美國專利第 4,816,567 號；及 Morrison 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855 (1984))。

"人化"形式之非人類(例如鼠類)抗體為含有得自非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合抗體。在一實施例中，人化抗體為人類免疫球蛋白(受體抗體)，其中來自受體高變區之殘基經來自具有所需特異性、親和力及/或能力之非人類物種(供體抗體)高變區之殘基置換，該等非人類物種諸如小鼠、大鼠、兔或非人類靈長類動物。在某些情形下，人類免疫球蛋白之框架區(FR)殘基係經相應非人類殘基置換。此外，人化抗體可包含未見於受體抗體或供體抗體中

之殘基。進行該等修飾以進一步改進抗體效能。一般地，人化抗體將包含至少一個且通常兩個可變域之大體上所有序列，其中所有或大體上所有高變環與非人類免疫球蛋白之彼等序列相對應，且所有或大體上所有FR為人類免疫球蛋白序列之彼等序列。人化抗體亦將視情形包含至少一部分免疫球蛋白恆定區(Fc)，通常為人類免疫球蛋白之恆定區。更詳細之內容，參看Jones等人，*Nature* 321:522-525 (1986)；Riechmann等人，*Nature* 332:323-329 (1988)；及Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992)。亦參看下述文章綜述及其中所引用之參考文獻：Vaswani及Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998)；Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995)；Hurle及Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433 (1994)。

術語"高變區"、"HVR"或"HV"在本文中使用時係指序列高變且/或形成結構上界定之環的抗體可變域之區域。通常，抗體包含六個高變區；三個在VH(H1、H2、H3)中，且三個在VL(L1、L2、L3)中。本文中使用且涵蓋許多有關高變區之描繪。Kabat互補判定區(CDR)係基於序列變異性且最常使用(Kabat等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991))。而Chothia指出結構環之位置(Chothia及Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))。AbM高變區表示Kabat CDR與Chothia結構環之間的折衷，且用於Oxford Molecular的

AbM抗體模型化軟體中。"接觸"高變區係基於對可用複合結晶結構之分析。來自該等高變區中之每一者之殘基如下所示。

Kabat	環	AbM	Chothia	接觸
----	-----	---	-----	-----
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B
(Kabat編號)				
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35
(Chothia編號)				
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

高變區可包含如下所示之"延長高變區"：VL中之24-36或24-34 (L1)、46-56或50-56 (L2)及89-97或89-96 (L3)；及VH中之26-35 (H1)、50-65或49-65 (H2)及93-102、94-102或95-102 (H3)。可變域殘基係根據Kabat等人(同上文)關於該等定義中之每一者所述編號。

"框架"或"FR"殘基為除如本文所定義之高變區殘基外之彼等可變域殘基。

術語"如Kabat中之可變域殘基編號"或"如Kabat中之胺基酸位置編號"及其變化形式係指Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版 Public Health

Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991) 中關於編譯抗體之重鏈可變域或輕鏈可變域所使用的編號系統。使用此編號系統，實際線性胺基酸序列可含有與可變域之FR或HVR的縮短或插入其中相對應之較少或額外胺基酸。舉例而言，重鏈可變域可包括插入H2殘基52後之單一胺基酸(根據Kabat之殘基52a)及插入重鏈FR殘基82後之殘基(例如，根據Kabat之殘基82a、82b及82c等)。可藉由使抗體序列之同源區與"標準"Kabat編號序列對準來確定指定抗體的殘基之Kabat編號。

"單鏈Fv"或"scFv"抗體片段包含抗體之VH及VL域，其中該等域係存在於單一多肽鏈中。通常，scFv多肽進一步包含介於VH與VL域之間的多肽連接子，其使得scFv能夠形成抗原結合所需之結構。關於scFv之綜述，參看Pluckthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*，第113卷，Rosenburg及Moore編輯，Springer-Verlag, New York，第269-315頁(1994)中。

術語"雙功能抗體"係指具有兩個抗原結合位點之小抗體片段，該等片段包含至同一多肽鏈(VH-VL)內之輕鏈可變域(VL)的重鏈可變域(VH)。藉由使用過短而使得同一鏈上之兩個域無法配對的連接子，迫使該等域與另一鏈之互補域配對且產生兩個抗原結合位點。雙功能抗體更完整地描述於(例如)EP 404,097；WO 93/1161；及Hollinger等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993)中。

"人類抗體"係具有與人類產生之抗體之胺基酸序列相應

的胺基酸序列且/或已使用如本文所揭示之用於製造人類抗體之任何技術製得的抗體。此關於人類抗體之定義特別排除包含非人類抗原結合殘基之人化抗體。

"親和力成熟"之抗體係在一或多個HVR中具有一或多種變化之抗體，與不具有該等變化之親本抗體相比，該等變化使得抗體對於抗原之親和力得以改良。在一實施例中，親和力成熟抗體對於靶向抗原具有數奈莫耳(nanomolar)或甚至皮莫耳(picomolar)之親和力。親和力成熟抗體係藉此項技術中已知之程序產生。Marks等人，*Bio/Technology* 10:779-783 (1992)描述由VH及VL域改組引起之親和力成熟。CDR及/或框架殘基之隨機突變誘發描述於下列文獻中：Barbas等人，*Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813 (1994)；Schier等人，*Gene* 169:147-155 (1995)；Yelton等人，*J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995)；Jackson等人，*J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995)；及Hawkins等人，*J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992)。

"阻斷"抗體或"拮抗劑"抗體為抑制或降低所結合之抗原之生物學活性的抗體。某些阻斷抗體或拮抗劑抗體大體上或完全抑制抗原之生物學活性。

如本文所用之"促效劑"抗體為模擬所關注多肽之至少一種功能活性的抗體。

"病症"為將由經本發明抗體進行之治療獲益的任何病況。其包括慢性及急性病症或疾病，包括使哺乳動物具有罹患所論及之病症之傾向的彼等病理病況。本文中待治療

之病症之非限制性實例包括癌症、肌肉病症、與泛素路徑相關之遺傳病症、免疫/發炎病症、神經病症及其他與泛素路徑相關之病症。

術語"細胞增殖性病症"及"增生性病症"係指與某種程度之異常細胞增殖相關之病症。在一實施例中，細胞增殖性病症為癌症。

如本文所用之"腫瘤"係指所有贅生性細胞生長及增殖(無論惡性或良性)及所有癌前及癌細胞及組織。如本文所提及之術語"癌症"、"癌的"、"細胞增殖性病症"、"增生性病症"及"腫瘤"並不相互排除。

術語"癌症"及"癌的"係指或描述哺乳動物體內的生理學病況，其特徵通常在於不受調節之細胞生長/增殖特性化。癌症之實例包括(但不限於)癌、淋巴瘤(例如霍奇金氏淋巴瘤及非霍奇金氏淋巴瘤)、胚細胞瘤、肉瘤及白血病。該等癌症之更特定實例包括鱗狀細胞癌(squamous cell cancer)、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺鱗狀癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃腸道癌、胰腺癌、神經膠母細胞瘤、宮頸癌、卵巢癌、肝癌(liver cancer)、膀胱癌、肝癌(hepatoma)、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜或子宮癌、涎腺癌、腎癌、肝癌(liver cancer)、前列腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、肝癌(hepatic carcinoma)、白血病及其他淋巴增生性病症，及各種類型之頭及頸癌。

術語"肌肉病症"係指或描述含有肌肉之動物體內的生理學病況，其特徵通常在於骨骼肌及/或平滑肌退化或減

弱，從而使正常肌肉功能顯著降低。肌肉病症之實例包括(但不限於)肌肉萎縮症、多發性硬化、肌肉萎縮性側索硬化、艾薩克氏症候群(Isaac's syndrome)、僵人症候群(stiff-person syndrome、家族週期性麻痺、肌病、肌強直、橫紋肌溶解症、肌肉萎縮及各種類型之肌肉軟弱及肌肉僵硬。

術語"與泛素路徑相關之遺傳病症"係指或描述一種遺傳性病症，其特徵通常在於泛素路徑之異常作用，或泛素路徑之異常作用有助於其產生。與泛素路徑相關之遺傳病症的實例包括(但不限於)囊腫性纖維化、天使症候群及李德氏症候群。

術語"神經病症"或"神經疾病"係指或描述哺乳動物之中樞及/或周圍神經系統疾病或病症，其特徵通常在於神經組織退化或神經組織中細胞間通訊之退化。神經病症之實例包括(但不限於)神經退化性疾病(包括(但不限於)路易體病、脊髓灰質炎後症候群(postpoliomyelitis syndrome)、Shy-Draeger症候群、橄欖橋腦小腦萎縮(olivopontocerebellar atrophy)、帕金森氏病、多系統萎縮、紋狀體黑質變性(striatonigral degeneration)、Tau蛋白病(tauopathies)(包括(但不限於)阿茲海默氏病及核上麻痺))、朊病毒病(包括(但不限於)牛海綿樣腦病(bovine spongiform encephalopathy)、綿羊癢病(scrapie)、克羅伊茨費爾特-雅各布症候群(Creutzfeldt-Jakob syndrome)、克魯病(kuru)、蓋-施氏病(Gerstmann-Straussler-Scheinker disease)、慢性消耗性疾

病及致死性家族性失眠症)、延髓性麻痺、運動神經元疾病及神經系統不均勻退化性病徵(nervous system heterodegenerative disorders)(包括(但不限於)嘉拿芬氏病(Canavan disease)、亨廷頓氏病(Huntington's disease)、神經元蠟樣質脂褐素沈積病(neuronal ceroid-lipofuscinosis)、亞歷山大病(Alexander's disease)、妥瑞氏症候群(Tourette's syndrome)、緬克斯氏捲髮症候群(Menkes kinky hair syndrome)、柯凱因氏症候群(Cockayne syndrome)、Halervorden-Spatz症候群、拉福拉病(lafora disease)、雷特症候群(Rett syndrome)、肝豆狀核變性(hepatolenticular degeneration)、萊希-尼亨症候群(Lesch-Nyhan syndrome)及Unverricht-Lundborg症候群)、癡呆(包括(但不限於)畢克氏病及脊髓小腦性共濟失調)。

術語"發炎性病徵"及"免疫病徵"係指或描述由異常免疫機制及/或異常細胞因子信號傳輸所引起之病徵。發炎性病徵及免疫病徵之實例包括(但不限於)自體免疫疾病、免疫缺陷症候群及過敏。本文中之"自體免疫疾病"係由個體自身之組織產生且針對個體自身之組織的非惡性疾病或病徵。本文中之自體免疫疾病特別排除惡性或癌性疾病或病況，尤其排除B細胞淋巴瘤、急性淋巴母細胞白血病(ALL)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、毛細胞白血病及慢性骨髓母細胞白血病。自體免疫疾病或病徵之實例包括(但不限於)發炎反應，諸如發炎性皮膚病，包括牛皮癬及皮炎(例如，異位性皮炎)；全身性硬皮病及硬化；與發炎性

腸病相關之反應(諸如克羅恩氏病(Crohn's disease)及潰瘍性結腸炎)；呼吸窘迫症候群(包括成人呼吸窘迫症候群(ARDS))；皮炎；腦膜炎；腦炎；葡萄膜炎；結腸炎；絲球體腎炎；過敏性病況，諸如濕疹及哮喘及其他涉及T細胞浸潤及慢性發炎性反應之病況；動脈粥樣硬化；白細胞黏附缺陷病；類風濕性關節炎；全身性紅斑狼瘡(SLE)(包括(但不限於)狼瘡性腎炎、皮膚狼瘡)；糖尿病(例如，I型糖尿病或胰島素依賴型糖尿病)；多發性硬化；雷納氏症候群(Reynaud's syndrome)；自體免疫性甲狀腺炎；橋本甲狀腺炎(Hashimoto's thyroiditis)；過敏性腦脊髓炎；乾燥症候群(Sjogren's syndrome)；青少年糖尿病(juvenile onset diabetes)；及與由細胞因子及T淋巴細胞介導之急性及延遲性過敏相關的通常見於肺結核、肉狀瘤病、多發性肌炎、肉芽腫及脈管炎中的免疫反應；惡性貧血(阿狄森氏病(Addison's disease))；涉及白血球滲出之疾病；中樞神經系統(CNS)發炎性病症；多器官損傷症候群；溶血性貧血(包括(但不限於)冷球蛋白血症(cryoglobulinemia)或庫姆斯氏陽性貧血症(Coombs positive anemia))；重症肌無力；抗原抗體複合物介導之疾病；抗腎小球基膜病(anti-glomerular basement membrane disease)；抗磷脂症候群；過敏性神經炎；葛瑞夫茲氏病(Graves' disease)；Lambert-Eaton肌無力症候群；大皰性類天疱瘡(pemphigoid bullous)；天疱瘡；自體免疫性多內分泌腺病變；萊特爾氏病(Reiter's disease)；僵人症候群；白塞氏病(Behcet

disease)；巨細胞動脈炎；免疫綜合性腎炎；IgA腎病；IgM多發性神經病；免疫性血小板缺乏紫斑症(ITP)或自體免疫性血小板減少症等。

免疫缺陷症候群之實例包括(但不限於)共濟失調毛細管擴張症(ataxia telangiectasia)、淋巴細胞黏附缺陷症候群、淋巴球減少症、異常 γ 球蛋白血症(dysgammaglobulinemia)、HIV或反轉錄病毒感染、常見變異性免疫不全(common variable immunodeficiency)、嚴重複合免疫不全(severe combined immunodeficiency)、噬菌細胞殺菌功能障礙、無 γ 球蛋白血症(agammaglobulinemia)、迪喬治症候群(DiGeorge syndrome)及Wiskott-Aldrich症候群。過敏之實例包括(但不限於)過敏症、哮喘、皮炎、蕁麻疹、重度過敏、Wissler症候群及血小板減少性紫癜。

如本文所用之"治療"係指嘗試改變所治療之個體或細胞之自然過程的臨床干預，且可於預防或臨床病理學過程中進行。所需治療作用包括預防疾病出現或復發，緩解症狀，縮小疾病之任何直接或間接病理學結果，預防或減小發炎及/或組織/器官損害，降低疾病進程速率，改善或減輕疾病狀態，及減輕或改良預後。在某些實施例中，本發明抗體係用於延遲疾病或病症之發展。

"個體"為脊椎動物。在某些實施例中，脊椎動物為哺乳動物。哺乳動物包括(但不限於)家畜(諸如奶牛)、競技類動物(sport animal)、寵物(諸如貓、狗及馬)、靈長類動物、小鼠及大鼠。在某些實施例中，脊椎動物為人類。

出於治療之目的，"哺乳動物"係指歸類為哺乳動物之任何動物，包括人類、家畜(domestic and farm animals)及動物園動物、競技類動物或寵物，諸如狗、馬、貓、奶牛等。在某些實施例中，哺乳動物為人類。

"有效量"係指有效達成所需治療或預防結果所必需之劑量及時間之量。

本發明之物質/分子之"治療有效量"可根據諸如疾病狀態、個體年齡、性別及體重及物質/分子引起個體所需反應之能力的因素而變化。治療有效量亦為治療有益之作用在重量上超過物質/分子之任何有毒或有害作用的量。"預防有效量"係指有效達成所需預防結果所必需之劑量及時間之量。由於預防劑量係在疾病之前或疾病早期用於受檢者，故預防有效量通常(但非必需)將小於治療有效量。

如本文所用之術語"細胞毒性劑"係指抑制或阻礙細胞功能及/或引起細胞破壞之物質。該術語意欲包括放射性同位素(例如， At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 及Lu之放射性同位素)、化學治療劑(例如，甲胺喋呤(methotrexate)、阿黴素(adriamycin)、長春鹼(vinca alkaloids)(長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、依託泊苷(etoposide))、多柔比星(doxorubicin)、美法侖(melphalan)、絲裂黴素C(mitomycin C)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、柔紅黴素(daunorubicin))或其他插入劑、酶及其片段(諸如核分解酶)、抗生素及毒素(諸如小分子毒素或細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素，包

括其片段及/或變異體)及下文所揭示之各種抗腫瘤或抗癌劑。其他細胞毒性劑描述於下文中。殺腫瘤劑引起腫瘤細胞之破壞。

"化學治療劑"係可用於治療癌症之化合物。化學治療劑之實例包括烷基化劑，諸如噻替哌(thiotepa)及CYTOXAN®環磷醯胺(cyclophosphamide)；磺酸烷酯，諸如硫酸布他卡因(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶，諸如苯并多巴(benzodopa)、卡巴醌(carboquone)、麥曲多巴(meturedopa)及尤利多巴(uredopa)；伸乙基亞胺及methylamelamine，包括六甲蜜胺(altretamine)、三亞乙基密胺(triethylenemelamine)、三亞乙基磷醯胺(triethylenephosphoramidate)、三乙烯硫代磷醯胺(triethylenethiophosphoramidate)及三羥甲基三聚氰胺(trimethylolomelamine)；乙醯生(acetogenin)(尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))； δ -9-四氫大麻酚(曲大麻酚(dronabinol)，MARINOL®)； β -拉帕酮(beta-lapachone)；拉帕醇(lapachol)；秋水仙鹼(colchicine)；樺木酸(betulinic acid)；喜樹鹼(camptothecin)(包括合成類似物拓撲替康(synthetic analogue topotecan)(HYCAMTIN®)、CPT-11(伊立替康(irinotecan)，CAMPTOSAR®)、乙醯喜樹鹼、斯可波萊辛(scopolectin)及9-胺基喜樹鹼)；苔蘚抑素(bryostatin)；克利他汀(callystatin)；CC-1065(包括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新合成類似物(bizelesin synthetic analogue))；鬼臼毒素(podophyllotoxin)；

足葉草酸(podophyllinic acid)；替尼泊甙(teniposide)；念珠藻環肽(cryptophycin)(念珠藻環肽1及念珠藻環肽8)；海兔毒素(dolastatin)；多卡黴素(duocarmycin)(包括合成類似物，KW-2189及CB1-TM1)；艾榴素(eleutherobin)；潘卡替他汀(pancratistatin)；沙科地辛(sarcodictyin)；斯潘他汀(spongistatin)；氮芥子氣(nitrogen mustard)，諸如苯丁酸氮芥(chlorambucil)、萘氮芥(chlornaphazine)、鉻磷醯胺(cholophosphamide)、雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺(ifosfamide)、氮芥(mechlorethamine)、氧化氮芥鹽酸鹽(mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法侖(melphalan)、新恩比興(novembichin)、苯芥膽甾醇(phenesterine)、潑尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶芥子氣(uracil mustard)；硝基脲類(nitrosurea)，諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲黴素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)及雷莫司汀(ranimustine)；抗生素類，諸如烯二炔類抗生素(enediyne antibiotic)(例如，刺孢黴素(calicheamicin)，尤其刺孢黴素 γ 11及刺孢黴素 Ω 11)(參看例如，Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994))；地尼黴素(dynemicin)，包括地尼黴素A(dynemicin A)；伊斯帕黴素(esperamicin)；以及新製癌菌素發色團(neocarzinostatin chromophore)及相關色蛋白烯二確類抗生素發色團)，阿克萊諾黴素(aclacinomycin)、放線菌素(actinomycin)、奧瑟黴素(authramycin)、偶氮絲胺酸(azaserine)、博萊黴素

(bleomycin)、放線菌素 C(cactinomycin)、卡洛比星(carabycin)、洋紅黴素(carminomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色黴素(chromomycinis)、放線菌素 D(dactinomycin)、道諾黴素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮基-5-側氧基-L-甘白胺酸、ADRIAMYCIN®多柔比星(doxorubicin)(包括嗎啉基-多柔比星、氰基嗎啉基-多柔比星、2-吡咯啉基-多柔比星及脫氧多柔比星(deoxydoxorubicin))、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、伊達比星(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(mitomycin)(諸如絲裂黴素 C)、黴酚酸(mycophenolic acid)、諾拉黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycin)、培洛黴素(peplomycin)、博替羅黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎拉黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑黴素(streptonigrin)、鏈佐星(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、左柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤(methotrexate)及5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤(methotrexate)、蝶羅呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉賓(fludarabine)、6-巯嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤(thioguanine)；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿紫胞苷(azacitidine)、6-硫唑嘧啶、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、雙脫氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧

氟尿苷 (doxifluridine)、依諾他濱 (enocitabine)、氮尿苷 (floxuridine)；雄激素，諸如卡普甾酮 (calusterone)、丙酸屈他雄酮 (dromostanolone propionate)、環硫雄醇 (epitiostanol)、美雄烷 (mepitiostane)、甾內酪 (testolactone)；抗腎上腺素，諸如胺魯米特 (aminogluthimide)、米托坦 (mitotane)、曲洛司坦 (trilostane)；葉酸補充劑 (folic acid replenisher)，諸如 (frolinic acid)；醋葡醛內酯 (aceglatone)；醛磷醯胺糖苷 (aldophosphamide glycoside)；胺基乙醯丙酸 (aminolevulinic acid)；5-乙炔尿嘧啶 (eniluracil)；安吖啶 (amsacrine)；貝曲布辛 (bestrabucil)；比生群 (bisantrene)；伊達曲仙 (edatraxate)；德弗法明 (defofamine)；秋水仙胺 (demecolcine)；地吖醯 (diaziquone)；伊弗尼辛 (elfornithine)；依利醋銨 (elliptinium acetate)；艾普塞隆 (epothilone)；依託格魯 (etoglucid)；硝酸鎳 (gallium nitrate)；羥基尿素 (hydroxyurea)；香菇多糖 (lentinan)；洛尼達寧 (lonidainine)；美登素類 (maytansinoids)，諸如美登素 (maytansine) 及安絲菌素 (ansamitocin)；米托胍脲 (mitoguazone)；米托蒽醯 (mitoxantrone)；莫吡丹莫 (mopidanmol)；尼曲伊寧 ((nitraerine)；噴司他丁 (pentostatin)；蛋胺氮芥 (phenamet)；比柔比星 (pirarubicin)；洛索蒽醯 (losoxantrone)；2-乙基醯肼；丙卡巴肼 (procarbazine)；PSK®多醣複合物 (JHS Natural Products, Eugene, OR)；雷佐生 (razoxane)；根瘤菌素 (rhizoxin)；西佐喃 (sizofiran)；鍺螺胺 (spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸 (tenuazonic

acid)；三亞胺醌(triaziquone)；2,2',2''-三氯三乙胺；單端孢徽烯族毒素(trichothecene)(尤其 T-2 毒素、(verracurin A)、漆斑菌素 A(roridin A)及(anguidine))；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine)(ELDISINE®、FILDESIN®)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露莫司汀(mannomustine)；二溴甘露糖醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；瓜西托辛(gacytosine)；阿糖苷(arabinoside)("Ara-C")；噻替派(thiotepa)；紫杉醇類(taxoids)，例如 TAXOL®紫杉醇(paclitaxel)(Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、ABRAXANETM Cremophor-free、紫杉醇之白蛋白工程設計奈米顆粒調配物(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois)及 TAXOTERE®多西他賽(doxetaxel)(Rhône-Poulenc Rorer, Antony, France)；氯萊布辛(chloranbucil)；吉西他賓(gemcitabine)(GEMZAR®)；6-硫鳥嘌呤；巯基嘌呤；甲胺喋呤；鉑類似物，諸如順鉑(cisplatin)及卡鉑(carboplatin)；長春鹼(vinorelbine)(NAVELBINE®)；鉑；依託泊苷(etoposide)(VP-16)；異環磷醯胺(ifosfamide)；米托蒽醌(mitoxantrone)；長春新鹼(vincristine)(ONCOVIN®)；奧賽力鉑(oxaliplatin)；洛克沃新(leucovorin)；長春瑞賓(vinorelbine)(NAVELBINE®)；諾凡特龍(novantrone)；依達曲沙(edatrexate)；道諾黴素(daunomycin)；(aminopterin)；伊班膦酸鹽(ibandronate)；拓撲異構酶抑制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(difluoromethylornithine(DMFO))；類視色素

(retinoid)，諸如視黃酸；卡西他賓(capecitabine)(XELODA®)；上述任何物質的醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；以及兩種或兩種以上上述物質之組合，諸如CHOP(亦即環磷醯胺、羥道諾紅黴素、長春新鹼及潑尼龍(prednisolone)之組合療法的縮寫)及FOLFOX(亦即具有奧賽力鉑(ELOXATINTM)與5-FU及洛克沃新組合之治療方案的縮寫)。

此定義亦包括抗激素劑，其用於調節、降低、阻斷或抑制可促進癌症生長之激素的作用且其通常為全身性或整個身體治療之形式。其可為激素本身。實例包括抗雌激素及選擇性雌激素受體調節劑(SERM)，包括(例如)他莫昔芬(tamoxifen)(包括NOLVADEX®他莫昔芬)、EVISTA®雷諾昔芬(raloxifene)、屈洛昔芬(droloxifene)、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、克沃昔芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)及FARESTON®托瑞米芬(toremifene)；抗孕酮；雌激素受體下調劑(ERD)；用於抑制或阻止卵巢之藥劑，例如，黃體生成激素釋放激素(LHRH)促效劑，諸如LUPRON®及ELIGARD®乙酸亮丙瑞林(leuprolide acetate)、乙酸戈舍瑞林(goserelin acetate)、乙酸布舍瑞林(buserelin acetate)及(tripterelin)；其他抗雄激素劑，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯胺(nilutamide)及比卡魯胺(bicalutamide)；及抑制調節腎上腺中雌激素之產量之芳香酶的芳香酶抑制劑，諸如4(5)-咪唑、胺魯米特(aminogluthimide)、MEGASE®乙酸甲地孕酮(megestrol

acetate)、AROMASIN®依西美坦(exemestane)、(formestanie)、法屈唑(fadrozole)、RIVISOR®伏羅唑(vorozole)、FEMARA®來曲唑(letrozole)及ARIMIDEX®安美達錠(anastrozole)。此外，此化學治療劑定義包括雙膦酸鹽，諸如氯屈膦酸鹽(clodronate)(例如，BONEFOS®或OSTAC®)、DIDROCAL®依替膦酸鹽(etidronate)、NE-58095、ZOMETA®唑來膦酸/唑來膦酸鹽(zoledronic acid/zoledronate)、FOSAMAX®阿倫膦酸鹽(alendronate)、AREDIA®帕米膦酸鹽(pamidronate)、SKELID®替魯膦酸鹽(tiludronate)或ACTONEL®利塞膦酸鹽(risedronate)；以及曲沙他濱(troxacitabine)(1,3-二氧戊環胞嘧啶核苷類似物)；反義寡核苷酸，尤其抑制與異常細胞增殖關聯之信號傳輸路徑中之基因表現者，諸如PKC- α 、Raf、H-Ras及表皮生長因子受體(EGF-R)；疫苗，諸如THERATOPE®疫苗及基因療法疫苗(例如ALLOVECTIN®疫苗、LEUVECTIN®疫苗及VAXID®疫苗；LURTOTECAN®拓撲異構酶1抑制劑；ABARELIX® rmRH；拉帕替尼二甲苯磺酸鹽(lapatinib ditosylate)(一種ErbB-2及EGFR雙重酪胺酸激酶小分子抑制劑，亦稱為GW572016)；及上述物質中之任一者的醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物。

組合物及其製造方法

本發明提供與聚泛素特異性結合但不與單泛素特異性結合之抗體。更特定言之，提供能夠與包含第一離胺酸鍵聯之聚泛素特異性結合而不與包含不同的第二離胺酸鍵聯之

聚泛素特異性結合的抗體。

在一態樣中，本發明提供一種包含HVR-H1區之抗體，該HVR-H1區包含SEQ ID NO: 1-25、81-89、151-175、229-239、265-279、329-336、392-459、599-629、695-704、739-748及789-799中之至少一者的序列。在一態樣中，本發明提供一種包含選自SEQ ID NO: 26、90、176、240、280、337、460、630、705、749及800之HVR-H1區一致序列的抗體。在一態樣中，本發明提供一種包含HVR-H2區之抗體，該HVR-H2區包含SEQ ID NO: 27-51、91-99、177-201、241-251、281-295、338-345、461-528、631-661、706-715、750-759及801-811中之至少一者的序列。在一態樣中，本發明提供一種包含選自SEQ ID NO: 52、100、202、252、296、346、529、662、716、760及812之HVR-H2區一致序列的抗體。在一態樣中，本發明提供一種包含HVR-H3區之抗體，該HVR-H3區包含SEQ ID NO: 53-77、101-109、203-227、253-263、297-311、347-354、530-597、663-693、717-726、761-770及813-823中之至少一者的序列。在一態樣中，本發明提供一種包含選自SEQ ID NO: 78、110、228、264、312、355、598、694、727、771及824之HVR-H3區一致序列的抗體。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，該抗體包含：HVR-H1區，其包含SEQ ID NO: 1-26、81-90、151-176、229-240、265-280、329-337、392-460、599-630、695-705、739-749及789-800中之至少一者的序列；及HVR-H2

區，其包含SEQ ID NO：27-52、91-100、177-202、241-252、281-296、338-346、461-529、631-662、706-716、750-760及801-812中之至少一者的序列。在一態樣中，本發明提供一種抗體，該抗體包含：HVR-H1區，其包含SEQ ID NO：1-26、81-90、151-176、229-240、265-280、329-337、392-460、599-630、695-705、739-749及789-800中之至少一者的序列；及HVR-H3區，其包含SEQ ID NO：53-78、101-110、203-228、253-264、297-312、347-355、530-598、663-694、717-727、761-771及813-824中之至少一者的序列。在一態樣中，本發明提供一種抗體，該抗體包含：HVR-H2區，其包含SEQ ID NO：27-52、91-100、177-202、241-252、281-296、338-346、461-529、631-662、706-716、750-760及801-812中之至少一者的序列；及HVR-H3區，其包含SEQ ID NO：53-78、101-110、203-228、253-264、297-312、347-355、530-598、663-694、717-727、761-771及813-824中之至少一者的序列。

在一態樣中，本發明提供一種包含HVR-L3區之抗體，該HVR-L3區包含SEQ ID NO：313-327、356-363、728-737及772-781中之至少一者的序列。在一態樣中，本發明提供一種包含選自SEQ ID NO：328、364、738及782之HVR-L3區一致序列的抗體。在一實施例中，本發明提供一種包含HVR-L3區之抗體，該HVR-L3區包含SEQ ID NO：313-328、356-364、728-738及772-782中之至少一者的序列，且該抗體另外包含分別選自SEQ ID NO：1-26、81-90、

151-176、229-240、265-280、329-337、392-460、599-630、695-705、739-749及789-800、SEQ ID NO: 27-52、91-100、177-202、241-252、281-296、338-346、461-529、631-662、706-716、750-760及801-812及SEQ ID NO: 53-78、101-110、203-228、253-264、297-312、347-355、530-598、663-694、717-727、761-771及813-824之至少一HVR-H1、HVR-H2或HVR-H3序列。

在一態樣中，本發明提供一種包含下述序列中之至少一個、至少兩個、至少三個或所有四個序列之抗體：

(i) HVR-H1序列，其包含SEQ ID NO: 1-26、81-90、151-176、229-240、265-280、329-337、392-460、599-630、695-705、739-749及789-800中之至少一序列；

(ii) HVR-H2序列，其包含SEQ ID NO: 27-52、91-100、177-202、241-252、281-296、338-346、461-529、631-662、706-716、750-760及801-812中之至少一序列；

(iii) HVR-H3序列，其包含SEQ ID NO: 53-78、101-110、203-228、253-264、297-312、347-355、530-598、663-694、717-727、761-771及813-824中之至少一序列；

(iv) HVR-L3序列，其包含SEQ ID NO: 313-328、356-364、728-738及772-782中之至少一序列。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其以高親和力與經

K48鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K63鍵聯之聚泛素結合，該抗體包含下述序列中之至少一個、至少兩個、至少三個或所有四個序列：

- (i) HVR-H1序列，其包含SEQ ID NO: 1-26、151-176、265-280、392-460及695-705中之至少一序列；
- (ii) HVR-H2序列，其包含SEQ ID NO: 27-52、177-202、281-296、461-529及706-716中之至少一序列；
- (iii) HVR-H3序列，其包含SEQ ID NO: 53-78、203-228、297-312、530-598及717-727中之至少一序列；及
- (iv) HVR-L3序列，其包含SEQ ID NO: 313-328及728-738中之至少一序列。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其以高親和力與經K63鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K48鍵聯之聚泛素結合，該抗體包含下述序列中之至少一個、至少兩個、至少三個或所有四個序列：

- (i) HVR-H1序列，其包含SEQ ID NO: 81-90、229-240、329-337、599-630、739-749及789-800中之至少一序列；
- (ii) HVR-H2序列，其包含SEQ ID NO: 91-100、241-252、338-346、631-662、750-760及801-812中之至少一序列；
- (iii) HVR-H3序列，其包含SEQ ID NO: 101-110、253-

264、347-355、663-694、761-771及813-824中之至少一序列；

(iv) HVR-L3序列，其包含SEQ ID NO: 356-364及772-782中之至少一序列。

如表1、2、3、4、5、6、7、8、9、10及圖12所示之SEQ ID NO: 1-78、81-106-149、151-364、392-782及789-824之胺基酸序列係關於個別HVR(亦即H1、H2、H3、L3)編號，該編號與如下所述之Kabat編號系統相符。在一實施例中，本發明抗體包含上述(i)-(iv)之HVR序列中之一者、兩者、三者或所有該等序列，且HVR-L1及/或HVR-L2包含Kabat一致序列(例如SEQ ID NO: 79(HVR-L1)及80(HVR-L2))。

在一態樣中，本發明提供包含如表1、2、3、4、5、6、7、8、9、10及圖12所述之重鏈HVR序列的抗體。在一實施例中，抗體另外包含如表5、11、16及17所述之輕鏈HVR序列。

本發明抗體之某些實施例包含人化4D5抗體(huMAb4D5-8)(HERCEPTIN®, Genentech, Inc., South San Francisco, CA, USA)(亦於美國專利第6,407,213號及Lee等人，J. Mol. Biol. (2004), 340(5):1073-93中提及)之輕鏈可變域，如下述SEQ ID NO: 783中所述。

1 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
Tyr Ser Ala Ser **Phe** Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg
Phe Ser Gly Ser **Arg** Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
Tyr Cys Gln Gln **His** Tyr Thr Thr Pro Pro Thr Phe
Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys 107 (SEQ ID
NO: 783) (HVR殘基以下劃線標出) RASQSVSSAVA
(SEQ ID NO: 79)

在一實施例中，huMAb4D5-8輕鏈可變域序列在位置
28、30、31、53、66及91(如上文以粗體/斜體字所示，分
別為Asp、Asn、Thr、Phe、Arg及His)中之一或多個位置
處經修飾。在一實施例中，經修飾之huMAb4D5-8序列包
含位置28之Ser、位置30之Ser、位置31之Ser、位置53之
Ser、位置66之Gly及/或位置91之Ser。因此，在一實施例
中，本發明抗體包含輕鏈可變域，該輕鏈可變域包含下述
SEQ ID NO: 784中所述之序列：

1 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
Ser Gln **Ser** Val **Ser Ser** Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln
Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala
Ser **Ser** Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
Ser **Gly** Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
Gln **Ser** Tyr Thr Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly

Thr Lys Val Glu Ile Lys 107 (SEQ ID NO: 784)
(HVR殘基以下劃線標出)

上文關於huMAb4D5-8之經取代殘基係以粗體字/斜體字所示。

本發明抗體可包含任何適當之框架可變域序列，其限制條件為大體上保持與包括特定離胺酸鍵聯之聚泛素的結合活性。舉例而言，在某些實施例中，本發明抗體包含人類亞群III重鏈框架一致序列。在該等抗體之一實施例中，框架一致序列包含在位置71、73及/或78處之取代。在該等抗體之某些實施例中，位置71為A、位置73為T且/或位置78為A。在一實施例中，該等抗體包含huMAb4D5-8之重鏈可變域框架序列(HERCEPTIN[®], Genentech, Inc., South San Francisco, CA, USA)(亦於美國專利第6,407,213號及第5,821,337號及Lee等人，J. Mol. Biol. (2004), 340(5):1073-93中提及)。在一實施例中，該等抗體另外包含人類κI輕鏈框架一致序列。在一實施例中，該等抗體包含SEQ ID NO: 79、80、313-328、356-364、728-738及772-78之輕鏈HVR序列之至少一者、兩者或所有該等序列。在一實施例中，該等抗體包含huMAb4D5-8之輕鏈HVR序列(如美國專利第6,407,213號及第5,821,337號所述)。在一實施例中，該等抗體包含huMAb4D5-8之輕鏈可變域序列(SEQ ID NO: 783及784)(HERCEPTIN[®], Genentech, Inc., South San Francisco, CA, USA)(亦於美國專利第6,407,213號及第5,821,337號及Lee等人，J. Mol. Biol. (2004), 340(5):1073-93中提及)。

在一實施例中，本發明抗體包含重鏈可變域，其中框架序列包含SEQ ID NO: 111-129、839-895、138-141及146-149中之至少一者的序列，且HVR H1、H2及H3序列分別係選自下列序列中之至少一者：SEQ ID NO: 1-26、81-90、151-176、229-240、265-280、329-337、392-460、599-630、695-705、739-749及789-800；27-52、91-100、177-202、241-252、281-296、338-346、461-529、631-662、706-716、750-760及801-812；及53-78、101-110、203-228、253-264、297-312、347-355、530-598、663-694、717-727、761-771及813-824。在一實施例中，本發明抗體包含輕鏈可變域，其中框架序列包含SEQ ID NO: 130-133、896-907、134-137及142-145中之至少一者的序列，HVR-L1序列為SEQ ID NO: 79，HVR-L2序列為SEQ ID NO: 80，且HVR-L3序列係選自SEQ ID NO: 313-328、356-364、728-738及772-782中之至少一者。

在一實施例中，本發明抗體包含重鏈可變域，其中框架序列包含SEQ ID NO: 111-129及839-895中之至少一序列，且HVR H1、H2及H3序列分別為SEQ ID NO: 1、27及53(純系48-1)。類似地，在其他實施例中，純系48-2至48-118、純系63-1至63-51、Fab apu01至apu24、Fab apu2.01至2.20及純系apu3.01至3.11之每一者的抗體均包含重鏈可變域，其中框架序列包含SEQ ID NO: 111-129及839-895中之至少一序列，且HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列為表1、2、3-6、7-10及圖12中關於各純系或Fab所特別列舉之彼等序

列。在一實施例中，本發明抗體包含輕鏈可變域，其中框架序列包含SEQ ID NO: 130-133及896-907中之至少一序列，且HVR L1、L2及L3序列分別為SEQ ID NO: 79、80及313(Fab apu01)。類似地，在其他實施例中，Fab apu01-apu24及Fab apu2.01-apu2.20之每一者的抗體均包含輕鏈可變域，其中框架序列包含SEQ ID NO: 130-133及896-907中之至少一序列，且HVR-L1為SEQ ID NO: 79，HVR-L2為SEQ ID NO: 80，且HVR-L3序列為表5、6C、9B及10B中關於各Fab所特別列舉之彼等序列。

在一實施例中，本發明抗體包含重鏈可變域，其中框架序列包含SEQ ID NO: 138-141中之至少一序列，且HVR H1、H2及H3序列分別為SEQ ID NO: 1、27及53(純系48-1)。類似地，在其他實施例中，純系48-2至48-118、純系63-1至63-51、Fab apu01至apu24、Fab apu2.01至apu2.20及純系apu3.01至3.11之每一者的抗體均包含重鏈可變域，其中框架序列包含SEQ ID NO: 138-141中之至少一序列，且HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列為表1、2、3-6、7-10及圖12中關於各純系或Fab所特別列舉之彼等序列。在一實施例中，本發明抗體包含輕鏈可變域，其中框架序列包含SEQ ID NO: 134-137中之至少一序列，且HVR L1、L2及L3序列分別為SEQ ID NO: 79、80及313(Fab apu01)。類似地，在其他實施例中，Fab apu01至apu24及Fab apu2.01至apu2.20之每一者的抗體均包含輕鏈可變域，其中框架序列包含SEQ ID NO: 134-137中之至少一序列，且HVR-L1為

SEQ ID NO: 79, HVR-L2為SEQ ID NO: 80, 且HVR-L3序列為表5、6C、8B及10B中關於各Fab所特別列舉之彼等序列。

在一實施例中, 本發明抗體包含重鏈可變域, 其中框架序列包含 SEQ ID NO: 146-149中之至少一序列, 且HVR H1、H2及H3序列分別為SEQ ID NO: 1、27及53(純系48-1)。類似地, 在其他實施例中, 純系48-2至48-118、純系63-1至63-51、Fab apu01至apu24、Fab apu2.01至2.20及純系apu3.01至3.11之每一者的抗體均包含重鏈可變域, 其中框架序列包含SEQ ID NO: 146-149中之至少一序列, 且HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列為表1、2、3-6、7-10及圖12中關於各純系或Fab所特別列舉之彼等序列。在一實施例中, 本發明抗體包含輕鏈可變域, 其中框架序列包含SEQ ID NO: 142-145中之至少一序列, 且HVR L1、L2及L3序列分別為SEQ ID NO: 79、80及313(Fab apu01)。類似地, 在其他實施例中, Fab apu01至apu24及Fab apu2.01至apu2.20之每一者的抗體均包含輕鏈可變域, 其中框架序列包含SEQ ID NO: 142-145中之至少一序列, 且HVR-L1為SEQ ID NO: 79, HVR-L2為SEQ ID NO: 80, 且HVR-L3序列為表5、6C、9B及10B中關於各Fab所特別列舉之彼等序列。

在一實施例中, 本發明抗體已親和力成熟以獲得所需之靶向結合親和力。在一實例中, 本發明之親和力成熟抗體包含在HVR-H1胺基酸位置29、30、33及34處之取代, 該

抗體以高親和力與經K48鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K63鍵聯之聚泛素結合。在另一實例中，本發明之親和力成熟抗體包含在HVR-H2胺基酸位置52及52a處之取代，該抗體以高親和力與經K48鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K63鍵聯之聚泛素結合。在另一實例中，本發明之親和力成熟抗體包含在HVR-H3胺基酸位置99、100、100a及100b處之取代，該抗體以高親和力與經K48鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K63鍵聯之聚泛素結合。在另一實例中，本發明之親和力成熟抗體包含在HVR-H3胺基酸位置95-100、100、100a及100b處之取代，該抗體以高親和力與經K48鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K63鍵聯之聚泛素結合。在另一實例中，本發明之親和力成熟抗體包含在HVR-L3胺基酸位置91及96處之取代，該抗體以高親和力與經K48鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K63鍵聯之聚泛素結合。在另一實例中，本發明之親和力成熟抗體包含在HVR-H1胺基酸位置29-34處之取代，該抗體以高親和力與經K63鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K48鍵聯之聚泛素結合。在另一實例中，本發明之親和力成熟抗體包含在HVR-H2胺基酸位置50、52、52a、53-56及58處之取代，該抗體以高親和力與經K63鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K48鍵聯之聚泛素結合。在另一實例中，本發明之

親和力成熟抗體包含在HVR-H3胺基酸位置95-100、100a、100b及100c處之取代，該抗體以高親和力與經K63鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K48鍵聯之聚泛素結合。在另一實例中，本發明之親和力成熟抗體包含在HVR-L3胺基酸位置91-95、95a及95b處之取代，該抗體以高親和力與經K63鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K48鍵聯之聚泛素結合。

在另一實例中，本發明之親和力成熟抗體包含在HVR-H1胺基酸位置29-34處之取代，該抗體以高親和力與經K63鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K48鍵聯之聚泛素結合。在另一實例中，本發明之親和力成熟抗體包含在HVR-H2胺基酸位置50、52、54、56及58處之取代，該親和力成熟抗體以高親和力與經K63鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K48鍵聯之聚泛素結合。在另一實例中，本發明之親和力成熟抗體包含在HVR-H3胺基酸位置95-100、100a、100b及100c處之取代，該抗體以高親和力與經K63鍵聯之聚泛素特異性結合，而以大體上降低的親和力與經K48鍵聯之聚泛素結合。

在一實施例中，本發明抗體包含重鏈可變域，該重鏈可變域包含SEQ ID NO: 265、281及297之序列。在一實施例中，本發明抗體包含輕鏈可變域，該輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 79、80及313之序列。在一實施例中，本發明抗體

包含重鏈可變域，該重鏈可變域包含SEQ ID NO: 265、281及297之序列，且該抗體亦包含輕鏈可變域，該輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 79、80及313之序列。在其他實施例中，與特定純系編號相對應的本發明抗體包含重鏈可變域，該重鏈可變域包含如表1、2、3、4、5、6、7-10及圖12中關於該純系編號所述之HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列。在其他實施例中，與特定純系編號相對應的本發明抗體包含輕鏈可變域，該輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及如表5、6、9及10中關於該純系編號所述之HVR-L3序列。在其他實施例中，與特定純系編號相對應的本發明抗體包含重鏈可變域，該重鏈可變域包含如表1、2、3、4、5、6、7-10及圖12中關於該純系編號所述之HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列，且亦包含輕鏈可變域，該輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及如表5、6、9及10中關於該純系編號所述之HVR-L3序列。

在一態樣中，本發明提供一種與任何上文所提及之抗體競爭與聚泛素之結合的抗體。在一態樣中，本發明提供一種結合至聚泛素上與任何上文所提及之抗體相同之抗原決定子的抗體。

如本文所示，本發明抗體與具有特定離胺酸鍵聯之經分離聚泛素特異性結合。如本文所示，當具有特定離胺酸鍵聯之聚泛素連接至異源蛋白時，本發明抗體亦與其特異性

結合(參看例如實例3及4)。

提供包含至少一種抗聚泛素抗體或至少一種包含編碼抗聚泛素抗體之序列之聚核苷酸的組合物。在某些實施例中，組合物可為醫藥組合物。如本文所用，組合物包含一或多種抗體，該或該等抗體與一或多種聚泛素結合，及/或與包含編碼與一或多種聚泛素結合之一或多種抗體之序列的一或多種聚核苷酸結合。該等組合物可另外包含此項技術中熟知之適當載劑，諸如醫藥學上可接受之賦形劑，包括緩衝劑。

亦提供經分離之抗體及聚核苷酸。在某些實施例中，經分離之抗體及聚核苷酸為大體上純的。

在一實施例中，抗聚泛素抗體為單株抗體。在另一實施例中，提供抗聚泛素抗體之片段(例如，Fab、Fab'-SH及F(ab')₂片段)。該等抗體片段可由傳統方式(諸如酶消化)產生，或可藉由重組技術產生。此等抗體片段可為嵌合抗體、人化抗體或人類抗體。該等片段可用於下文所述之診斷及治療目的。

使用噬菌體呈現庫產生抗聚泛素抗體

此項技術中已知多種用於產生可獲得所關注抗體之噬菌體呈現庫的方法。一種產生所關注抗體之方法係如Lee等人，J. Mol. Biol. (2004), 340(5):1073-93中所述經由使用噬菌體抗體庫而實現。

本發明之抗聚泛素抗體可藉由使用組合庫篩檢具有所需活性之合成抗體純系得到。原則上，藉由篩檢呈現融合至

噬菌體鞘蛋白中之抗體可變區之各種片段(Fv)的含有噬菌體之噬菌體庫來選擇合成抗體純系。此等噬菌體庫係藉由對所需抗原進行親和層析而篩選得到。表現能夠與所需抗原結合之Fv片段的純系係經抗原吸附，且因此與庫中之非結合性純系分離。隨後，由抗原溶離結合純系，且可藉由額外之抗原吸附/溶離循環進一步富集該等結合純系。設計適當之抗原篩檢程序來選擇所關注之噬菌體純系，隨後使用來自所關注噬菌體純系之Fv序列及Kabat等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第五版，NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991)，第1-3卷中所述之適當恆定區(Fc)序列來建構全長抗聚泛素抗體純系，藉此可獲得本發明之任何抗聚泛素抗體。

抗體之抗原結合域係由約110個胺基酸之兩個可變(V)區形成，該兩個可變區各來自輕鏈(VL)及重鏈(VH)，二者皆呈現三個高變環或互補判定區(CDR)。可變域可於噬菌體上功能性地呈現為其中VH及VL經由短、彎曲肽共價連接之單鏈Fv(ScFv)片段，或呈現為各自融合於恆定域且非共價相互作用之Fab片段，如Winter等人，*Ann. Rev. Immunol.*, 12:433-455 (1994)中所述。如本文所用，編碼噬菌體純系之ScFv及編碼噬菌體純系之Fab統稱為"Fv噬菌體純系"或"Fv純系"。

可藉由聚合酶鏈反應(PCR)單獨地選殖VH及VL基因譜系且將其隨機重組於噬菌體庫中，隨後可如Winter等人，*Ann. Rev. Immunol.*, 12:433-455 (1994)中所述尋求該等噬

菌體庫之抗原結合純系。來自己免疫之來源之庫無需建構融合瘤即提供與免疫原具高親和力之抗體。另外，可選殖天然譜系以在無任何免疫作用之情形下提供對抗各種非自體抗原亦及自體抗原之人類抗體的單一來源，如Griffiths等人，*EMBO J*, 12:725-734 (1993)中所述。最終，亦可藉由自幹細胞選殖未經重排之V基因片段且使用含有隨機序列之PCR引子來編碼高度可變之CDR3區且實現體外重排而合成性製得天然庫，如Hoogenboom及Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381-388 (1992)中所述。

使用絲狀噬菌體以藉由融合至微量鞘蛋白pIII來呈現抗體片段。抗體片段可呈現為單鏈Fv片段，其中VH及VL域係藉由彎曲多肽間隔物連接於同一多肽鏈上，例如，如Marks等人，*J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991)所述；或呈現為Fab片段，其中一條鏈係融合於pIII中且另一條鏈係分泌於細菌宿主細胞間質中，在該細胞間質中組裝藉由移位某些野生型鞘蛋白而呈現於噬菌體表面的Fab鞘蛋白結構，例如，如Hoogenboom等人，*Nucl. Acids Res.*, 19:4133-4137 (1991)中所述。

一般而言，編碼抗體基因片段之核酸係由自人類或動物收集之免疫細胞獲得。若需要偏向於富含抗聚泛素純系之庫，則以聚泛素使受檢者免疫以產生抗體反應，且回收脾細胞及/或循環B細胞或其他末梢血液淋巴細胞(PBL)以用於庫之建構。在一實施例中，於載運功能性人類免疫球蛋白基因陣列(且缺乏功能性內源性抗體產生系統)之轉殖基

因小鼠體內產生抗人類聚泛素抗體反應，從而使聚泛素免疫作用引起B細胞產生抗聚泛素之人類抗體，藉此獲得偏向於富含抗人類聚泛素純系的人類抗體基因片段庫。產生人類抗體之轉殖基因小鼠的產生描述於下文(III)部分(b)中。

可藉由使用適當篩檢程序(例如藉由用聚泛素親和層析分離細胞，或使細胞吸附經螢光染料標記之聚泛素，隨後進行流式活化細胞分選(FACS))分離表現聚泛素特異性膜結合抗體之B細胞而獲得對於抗聚泛素反應性細胞群體的額外富集。

另外，使用來自未經免疫供體之脾細胞及/或B細胞或其他PBL以使可能之抗體譜系得以更好呈現，且亦允許使用其中聚泛素不具抗原性之任何動物(人類或非人類)物種來建構抗體庫。對於併入體外抗體基因建構中之庫而言，收集來自受檢者之幹細胞以提供編碼未經重排之抗體基因區段的核酸。所關注免疫細胞可自多種動物物種獲得，諸如人類、小鼠、大鼠、兔類、狼(lupine)、犬科、貓科、豬、牛、馬及鳥類物種等。

自所關注細胞中回收編碼抗體可變基因區段(包括VH及VL區段)的核酸並使其擴增。在經重排之VH及VL基因庫的情形下，可自淋巴細胞中分離染色體組DNA或mRNA，隨後以與經重排VH及VL基因之5'及3'端匹配之引子進行聚合酶鏈反應(PCR)(如 Orlandi 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 86:3833-3837 (1989)中所述)，藉此製得用於表現之

不同V基因譜系，從而獲得所需DNA。V基因可由cDNA及染色體組DNA擴增，其中後向引子在編碼成熟V域之外顯子的5'端，且前向引子在J區段內，如Orlandi等人，(1989)及Ward等人，*Nature*, **341**:544-546 (1989)中所述。然而，對於自cDNA擴增而言，後向引子亦可在前導序列之外顯子中，如Jones *et al.*, *Biotechnol.*, **9**:88-89 (1991)中所述；且前向引子在恆定區內，如Sastry等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, **86**: 5728-5732 (1989)中所述。為使互補最大化，可如Orlandi等人(1989)或Sastry等人(1989)所述將簡併性併入引子中。在某些實施例中，藉由使用靶向各V基因家族之PCR引子而使庫多樣性最大化，以致擴增存在於免疫細胞核酸樣本中之所有可用VH及VL排列，例如，如Marks等人，*J. Mol. Biol.*, **222**:581-597 (1991)之方法中所述或如Orum等人，*Nucleic Acids Res.*, **21**: 4491-4498 (1993)之方法中所述。為將經擴增之DNA選殖至表現載體中，可在PCR引子內引入稀有限制性位點作為一端之標記(如Orlandi等人，(1989)所述)，或藉由另外用經標記引子進行PCR擴增而將其作為一端之標記引入(如Clackson等人，*Nature*, **352**:624-628 (1991)中所述)。

合成性重排之V基因譜系可於體外得自V基因區段。大部分人類VH基因區段已經選殖及定序(報導於Tomlinson等人，*J. Mol. Biol.*, **227**:776-798 (1992)中)，且經繪製(報導於Matsuda等人，*Nature Genet.*, **3**: 88-94 (1993)中)；可使用該等經選殖之區段(包括H1及H2環中之所有主要構形)，

從而以編碼不同序列及長度之H3環的PCR引子產生不同VH基因譜系，如Hoogenboom及Winter, *J. Mol. Biol.*, **227**:381-388 (1992)中所述。亦可製得所有序列多樣性集中於具有單一長度之長H3環的VH譜系，如Barbas等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**:4457-4461 (1992)中所述。人類V κ 及V λ 區段已經選殖及定序(報導於Williams及Winter, *Eur. J. Immunol.*, **23**: 1456-1461 (1993)中)且可用於製得合成輕鏈譜系。基於VH及VL折疊倍數及L3與H3長度的合成V基因譜系將編碼具有可觀結構多樣性之抗體。在擴增編碼V基因之DNA後，可根據Hoogenboom及Winter, *J. Mol. Biol.*, **227**:381-388 (1992)之方法於體外重排生殖系V基因區段。

可藉由以多種方式將VH及VL基因譜系組合在一起而建構抗體片段之譜系。每一譜系可以不同載體建立，且該等載體藉由組合感染而於體外(例如，如Hogrefe等人，*Gene*, **128**:119-126 (1993)中所述)或體內(例如，Waterhouse等人，*Nucl. Acids Res.*, **21**: 2265-2266 (1993)中所述之loxP系統)重組。體內重組方法利用Fab片段之兩鏈性質來克服有關由*E. coli*轉化效率強加之庫大小的侷限。天然VH及VL譜系係經單獨選殖，一者選殖至噬菌粒(phagemid)中且另一者選殖至噬菌體載體中。隨後，藉由噬菌體感染含有噬菌粒之細菌而使兩種庫組合，從而使每一細胞含有不同組合且使庫大小僅受所存在之細胞數目(約 10^{12} 個純系)限制。兩種載體皆含有體內重組信號，從而使VH及VL基因

重組於單一複製子上且共同包裝於噬菌體病毒粒子中。該等巨型庫提供大量具有良好親和力(K_d^{-1} 為約 10^{-8} M)之不同抗體。

另外，可將該等譜系依次選殖至同一載體中，例如，如 Barbas 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**:7978-7982 (1991)所述；或藉由PCR將其組裝在一起且隨後進行選殖，例如，如 Clackson 等人，*Nature*, **352**: 624-628 (1991)中所述。亦可使用PCR組裝來使VH及VL DNA與編碼彎曲肽間隔物之DNA連接在一起以形成單鏈Fv(scFv)譜系。在另一技術中，使用"細胞內PCR組裝"以藉由PCR使VH及VL基因組合於淋巴細胞內且隨後選殖連接子因之譜系，如 Embleton 等人，*Nucl. Acids Res.*, **20**:3831-3837 (1992)中所述。

對於庫之篩檢可藉由任何技術中已知之技術實現。舉例而言，可使用聚泛素來塗覆吸附盤之孔，表現於固定於吸附盤上之宿主細胞上或用於細胞分選，或與生物素結合以經抗生蛋白鏈菌素塗覆之微珠俘獲，或用於任何其他用於篩選噬菌體呈現庫的技術中已知之方法中。

在適於使至少一部分噬菌體顆粒與吸附劑結合之條件下，使噬菌體庫樣本與經固定之聚泛素接觸。通常，選擇條件(包括pH值、離子強度、溫度及其類似條件)以模擬生理條件。洗滌結合至固相之噬菌體，且隨後藉由酸進行溶離(例如，如 Barbas 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**:7978-7982 (1991)中所述)，或藉由鹼進行溶離(例如，

如 Marks 等人，*J. Mol. Biol.*, 222: 581-597 (1991) 中所述)，或藉由聚泛素抗原競爭進行溶離(例如，與 Clackson 等人，*Nature*, 352: 624-628 (1991)之抗原競爭方法類似的程序)。可於單輪選擇中富集20-1,000倍之噬菌體。此外，所富集之噬菌體可於細菌培養物中生長且經受其他輪選擇。

選擇效率視多種因素而定，包括洗滌期間之解離動力學及單一噬菌體上之多個抗體片段是否能同時與抗原接合。可藉由使用短時間洗滌、多價噬菌體呈現及抗原於固相中之高塗覆密度而保留具有快速解離動力學(及弱結合親和力)之抗體。高密度不僅經由多價相互作用穩定噬菌體，且亦易使已解離之噬菌體再結合。可藉由使用長時間洗滌及單價噬菌體呈現(如 Bass 等人，*Proteins*, 8: 309-314 (1990)及 WO 92/09690 中所述)及低抗原塗覆密度(如 Marks 等人，*Biotechnol.*, 10: 779-783 (1992)所述)來促進對具有緩慢解離動力學之抗體的選擇。

有可能在對聚泛素具有不同親和力、甚至具有略微不同之親和力的噬菌體抗體之間進行選擇。然而，所選抗體之隨機突變(例如，如於上文所述之某些親和力成熟技術中進行的突變)可能產生多種突變體，其中大部分與抗原結合，其中少數具有較高親和力。使用有限的聚泛素可以競爭方式挑選出極少之高親和力噬菌體。為保留所有具有較高親和力之突變體，噬菌體可用過量經生物素結合之聚泛素培養，但經生物素結合之聚泛素之莫耳濃度比聚泛素

之靶向莫耳親和常數低。隨後，可藉由經抗生蛋白鏈菌素塗覆之順磁微珠俘獲具有高親和性結合之噬菌體。此"平衡俘獲"使得能夠根據抗體之結合親和力選擇抗體，該選擇之靈敏度允許使具有僅兩倍高的親和力之突變體純系與具有較低親和力之大量過量噬菌體分離。亦可操控用於洗滌與固相結合之噬菌體的條件以基於解離動力性質區分。

抗聚泛素純系可根據活性加以選擇。在一實施例中，本發明提供阻斷聚泛素配位基與聚泛素之間之結合但不阻斷聚泛素配位基與第二蛋白之間之結合的抗聚泛素抗體。與此等抗聚泛素抗體相對應的Fv純系可藉由以下步驟選擇：

- (1)如上述B部分(I)(2)中所述，使抗聚泛素純系與噬菌體庫分離，且視情形藉由在適當細菌宿主中使噬菌體數目增長而擴增經分離之噬菌體純系群體；
- (2)選擇對於聚泛素及第二蛋白分別呈現阻斷及非阻斷活性者；
- (3)將抗聚泛素噬菌體純系吸附至固定聚泛素；
- (4)使用過量第二蛋白以溶離任何不期望之純系，該等不期望之純系可辨識與該第二蛋白的結合決定子重疊或共有之聚泛素結合決定子；及
- (5)溶離在第(4)步驟後仍保持吸附之純系。視情形，可藉由重複本文所述之選擇程序一或多次而進一步富集具有所需阻斷/非阻斷特性之純系。

編碼本發明Fv純系之DNA易於分離，且易於使用習知程序(例如，藉由使用經設計以由融合瘤或噬菌體DNA模板特異性擴增所關注重鏈及輕鏈編碼區之寡核苷酸引子)進行定序。分離後可將DNA置於表現載體內，隨後將該等表

現載體轉染至不會另外產生免疫球蛋白之宿主細胞(諸如大腸桿菌(*E. coli*)細胞、猴COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或骨髓瘤細胞)中，以於重組宿主細胞中獲得所需單株抗體之合成。有關於編碼抗體之細菌DNA中重組表現之文獻綜述包括 Skerra 等人，*Curr. Opinion in Immunol.*, 5:256 (1993)及 Pluckthun, *Immunol. Revs.*, 130: 151 (1992)。

編碼本發明Fv純系之DNA可與已知編碼重鏈及/或輕鏈恆定區之DNA序列(例如，適當之DNA序列可由Kabat等人(同上文)獲得)組合以形成編碼全長或部分長度之重鏈及/或輕鏈的純系。應瞭解，為達成此目的可使用任何同型之恆定區，包括IgG、IgM、IgA、IgD及IgE恆定區，且此等恆定區可由任何人類或動物物種獲得。如本文所用之定義"嵌合"抗體及"雜交"抗體中包括得自一種動物(諸如人類)物種之可變域DNA且隨後融合至另一動物物種之恆定區DNA中以形成"雜交"編碼序列(全長重鏈及/或輕鏈)的Fv純系。在一實施例中，得自人類可變DNA之Fv純系係融合於人類恆定區DNA中以形成全人類編碼序列，即全長或部分長度之重鏈及/或輕鏈。

由天然庫產生之抗體(天然或合成)可具有適度親和力(K_d^{-1} 為約 10^6 至 10^7 M^{-1})，但亦可藉由建構次級庫且從中進行再選擇而於體外模擬親和力成熟，如 Winter 等人(1994)(同上文)所述。舉例而言，可藉由使用易誤聚合酶(報導於 Leung 等人，*Technique*, 1:11-15 (1989)中)以 Hawkins 等人，*J. Mol. Biol.*, 226: 889-896 (1992)之方法或

以 Gram 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci USA*, **89**: 3576-3580 (1992)之方法於體外隨機引入突變。此外，亦可(例如)用載運跨越所關注 CDR之隨機序列的引子使用 PCR來隨機突變所選個別 Fv純系中之一或多個 CDR且篩檢具有較高親和力之純系，藉此進行親和力成熟。WO 9607754(於1996年3月14日公開)描述一種用於誘導免疫球蛋白輕鏈之互補判定區突變誘發以建立輕鏈基因庫的方法。另一有效方法係使藉由噬菌體呈現而選擇之 VH或 VL域與自未經免疫之供體獲得的天然存在之 V域變異體的譜系重組，且於若干輪的鏈改組中篩檢具有較高親和力者，如 Marks 等人，*Biotechnol.*, **10**:779-783 (1992)所述。此技術允許產生親和力在 10^{-9} M之範圍內的抗體及抗體片段。

產生抗聚泛素抗體之其他方法

其他產生抗體且評定抗體親和力之方法已為此項技術中所熟知，且描述於下列文獻中：例如，Kohler 等人，*Nature* 256:495 (1975)；美國專利第4,816,567號；Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*，第59-103頁 (Academic Press, 1986；Kozbor, *J. Immunol.*, **133**:3001 (1984)；Brodeur 等人，*Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*，第51-63頁 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987；Munson 等人，*Anal. Biochem.*, **107**:220 (1980)；Engels 等人，*Agnew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **28**: 716-734 (1989)；Abrahmsen 等人，*EMBO J.*, **4**: 3901 (1985)；*Methods in Enzymology*，第44卷(1976)；Morrison

等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**: 6851-6855 (1984)。

通用方法

大體而言，本發明提供一種抗聚泛素抗體，其可用於治療其中需要部分或完全阻斷一或多種聚泛素活性之聚泛素介導的病症。在一實施例中，本發明之抗聚泛素抗體用於治療癌症。在另一實施例中，本文所提供之抗聚泛素抗體用於治療肌肉病症，諸如上文所述之彼等病症。在另一實施例中，本文所提供之抗聚泛素抗體用於治療神經病症，諸如上文所述之彼等病症。在另一實施例中，本文所提供之抗聚泛素抗體用於治療遺傳疾病。在另一實施例中，本文所提供之抗聚泛素抗體用於治療免疫/發炎病症。

本發明之抗聚泛素抗體之獨特特性使其特別適用於區分細胞系統中連接不同離胺酸形式之聚泛素，而無需採取繁瑣且昂貴之遺傳操作或生物物理方法(諸如質譜)。本發明之抗聚泛素抗體可用於在體外與體內特性化連接特定離胺酸之聚泛素的功能及活性。亦可使用本發明之抗聚泛素抗體來確定經特定離胺酸鍵聯之聚泛素在疾病發展及發病機理中的作用。在不干擾對抗聚泛素抗體不具特異性之聚泛素的正常活性之情形下，可進一步使用本發明之抗聚泛素抗體來治療一或多種經特定離胺酸鍵聯之聚泛素經異常調節或異常所引起的疾病。

在另一態樣中，本發明之抗聚泛素抗體可作為用於偵測及分離具有特定離胺酸鍵聯之聚泛素的試劑起效，諸如偵測各種細胞類型及組織中之聚泛素，包括測定聚泛素密度

及其在細胞群體及指定細胞中之分佈，且基於聚泛素之存在或聚泛素之量進行細胞分選。

在又一態樣中，本發明之抗聚泛素抗體可用於研發聚泛素拮抗劑，其具有與本發明抗體的阻斷活性模式相似之阻斷活性模式。舉例而言，本發明之抗經K48鍵聯之聚泛素的抗體可用於確定及識別具有相同的結合經K48鍵聯之聚泛素的特性及/或阻斷經K48鍵聯之聚泛素介導路徑之能力的其他抗體。類似地，本發明之抗經K63鍵聯之聚泛素的抗體可用於確定及識別具有相同的結合經K63鍵聯之聚泛素的特性及/或阻斷經K63鍵聯之聚泛素介導路徑之能力的其他抗體。

舉例而言，本發明之抗聚泛素抗體可用於識別其他會結合與本文所例示說明之抗體大體上相同的聚泛素抗原決定子(包括線性及構形抗原決定基)之抗聚泛素抗體。

本發明之抗聚泛素抗體可用於基於生理學路徑之檢定中，其中聚泛素涉及篩檢具有一或多個特定離胺酸鍵聯之聚泛素的小分子拮抗劑，其將展現與具有彼等一或多個離胺酸鍵聯之聚泛素類似的阻斷一或多個結合搭配物的結合之藥理學作用。舉例而言，已知某些蛋白之靶向蛋白酶體降解中涉及經K48鍵聯之聚泛素(參看例如，Chau等人，*Science* 243:1576-1583 (1989)；Finley等人，*Mol. Cell. Biol.* 14: 5501-5509 (1994)；Flick等人，*Nat. Cell. Biol.* 6:634-641 (2004))；因此，抗經K48鍵聯之聚泛素的抗體可用於篩檢中，以藉由將經K48鍵聯之聚泛素介導的靶向蛋

白酶體降解路徑中一或多個潛在小分子拮抗劑之活性與抗經K48鍵聯之聚泛素的抗體之活性相比較而識別該靶向蛋白酶體降解中之小分子拮抗劑。類似地，在另一實例中，已知DNA修復中涉及經K63鍵聯之聚泛素(參看例如，Pickart及Fushman, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 8:610-616 (2004))；且因此，可將抗經K63鍵聯之聚泛素的抗體拮抗DNA修復路徑之活性與該相同DNA修復路徑中經K63鍵聯之聚泛素的一或多個潛在小分子拮抗劑之活性相比較。類似地，在另一實例中，已知帕金森氏病中路易體之形成涉及經K63鍵聯之聚泛素(參看例如，Lim等人，*J. Neurosci.* 25(8):2002-9 (2005))，且因此，可將抗經K63鍵聯之聚泛素的抗體拮抗路易體形成之活性與經K63鍵聯之聚泛素的一或多個潛在小分子拮抗劑拮抗路易體形成之活性相比較。

可使用此項技術中之慣用技術(包括本文所述之彼等技術，諸如融合瘤技術及篩檢黏合劑分子的噬菌體呈現庫)來達成候選抗體之產生。該等方法已於此項技術中良好確立。

簡言之，本發明之抗聚泛素抗體可藉由使用組合庫篩檢具有所需活性之合成抗體純系得到。原則上，藉由篩檢呈現融合至噬菌體鞘蛋白中之抗體可變區之各種片段(Fv)的含有噬菌體之噬菌體庫來選擇合成抗體純系。此等噬菌體庫係藉由對所需抗原進行親和層析而篩選得到。表現能夠與所需抗原結合之Fv片段的純系係經抗原吸附，且因此與

庫中之非結合性純系分離。隨後，由抗原溶離結合純系，且可藉由額外之抗原吸附/溶離循環進一步富集該等結合純系。設計適當之抗原篩檢程序來選擇所關注之噬菌體純系，隨後使用來自所關注噬菌體純系之Fv序列及Kabat等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第五版，NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991)，第1-3卷中所述之適當恆定區(Fc)序列來建構全長抗聚泛素抗體純系，藉此可獲得本發明之任何抗聚泛素抗體。亦參看PCT公開案WO 03/102157及本文所引用之參考文獻。

在一實施例中，本發明之抗聚泛素抗體為單株抗體。本發明之範疇內亦涵蓋本文所提供之抗聚泛素抗體之抗體片段，諸如Fab、Fab'、Fab'-SH及F(ab')₂片段及其變化形式。該等抗體片段可由傳統方式(諸如酶消化)產生，或可藉由重組技術產生。此等抗體片段可為嵌合抗體、人化抗體或人類抗體。該等片段可用於本文所述之實驗、診斷及治療目的。

單株抗體可由大體上同質之抗體的群體獲得，亦即，構成該群體之個別抗體除可以少量存在之可能天然存在突變外均相同。因此，修飾語"單株"指示並非離散抗體之混合物之抗體的特性。

本發明之抗聚泛素單株抗體可使用此項技術中已知之多種方法(包括首先由Kohler等人，*Nature*, 256:495 (1975)描述之融合瘤方法)製得，或另外其可藉由重組DNA方法(例如美國專利第4,816,567號)製得。

載體、宿主細胞及重組方法

為重組產生本發明抗體，分離編碼該抗體之核酸且將其插入可複製之載體中以用於進一步選殖(DNA之擴增)或表現。編碼該抗體之DNA易於分離，且易於使用習知程序(例如，藉由使用能夠與編碼該抗體之重鏈及輕鏈之基因特異性結合的寡核苷酸探針)進行定序。多種載體均可用。載體之選擇部分地視所使用之宿主細胞而定。宿主細胞包括(但不限於)原核或真核(通常為哺乳動物)來源之細胞。應瞭解，為達成此目的可使用任何同型之恆定區，包括IgG、IgM、IgA、IgD及IgE恆定區，且此等恆定區可由任何人類或動物物種獲得。

使用原核宿主細胞產生抗體

載體建構

可使用標準重組技術獲得編碼本發明抗體之多肽組份的聚核苷酸序列。可自產生抗體之細胞(諸如融合瘤細胞)中分離所需聚核苷酸序列並進行定序。或者，可使用核苷酸合成器或PCR技術合成聚核苷酸。在獲得編碼多肽之序列後，將其插入能夠在原核宿主中複製並表現異源聚核苷酸之重組載體中。可出於本發明之目的使用可用且為此項技術中所知之多種載體。對於適當載體之選擇將主要視插入載體中之核酸分子地大小及經載體轉型之特定宿主細胞而定。各載體視其功能(異源聚核苷酸之擴增或表現，或二者)及其與其所滯留之特定宿主細胞的可相容性而含有多種組份。載體組份通常包括(但不限於)：複製起點、選擇

標記基因、啟動子、核糖體結合位點(RBS)、信號序列、異源核酸插入物及轉錄終止序列。

一般而言，使用與該等宿主有關之含有複製子及得自可與宿主細胞相容的物種之控制序列的質體載體。載體一般具有複製位點，以及能夠於經轉型細胞中提供表型選擇之標記序列。舉例而言，通常使用pBR322(一種得自大腸桿菌物種之質體)使大腸桿菌轉型。pBR322含有編碼安比西林(ampicillin)(Amp)及四環素(tetracycline)(Tet)抗性之基因，且因此提供一種簡便的識別經轉型細胞之方式。pBR322、其衍生物或其他微生物質體或噬菌體亦可含有或經修飾而含有可由微生物有機體用於表現內源蛋白之啟動子。用於表現特定抗體之pBR322衍生物之實例詳細描述於Carter等人之美國專利第5,648,237號中。

此外，與該等宿主有關之含有複製子及可與宿主微生物相容之控制序列的噬菌體載體亦可用作轉型載體。舉例而言，諸如 λ GEM.TM.-11之噬菌體可用於製造可用於轉型易感宿主細胞(諸如大腸桿菌LE392)之重組載體。

本發明之表現載體可包含兩種或兩種以上編碼每一多肽組份之啟動子-順反子對。啟動子為一種位於調節其表現之順反子上游(5')之未經轉譯調節序列。原核啟動子通常分為兩類，亦即誘導型及組成型。誘導型啟動子係對培養條件之改變(例如養分之存在與否或溫度之改變)起反應而在其控制下初始順反子以增加之水準轉錄的啟動子。

大量由多種潛在宿主細胞所辨識之啟動子已為吾人所熟

知。藉由經由限制酶消化將所選擇之啟動子自源DNA移除且將所分離之啟動子序列插入本發明之載體中可使該啟動子操作地連接至編碼輕鏈或重鏈之順反子DNA。天然啟動子序列與多種異源啟動子可用於引導靶向基因之擴增及/或表現。在某些實施例中，因與天然靶向多肽啟動子相比，異源啟動子通常允許所表現之靶向基因較快地轉錄且具有較高之產量而得以利用。

適於與原核宿主一起使用之啟動子包括PhoA啟動子、 β -半乳糖苷酶及乳糖啟動子系統、色胺酸(trp)啟動子系統及雜合啟動子(諸如*tac*或*trc*啟動子)。然而，在細菌中起作用之其他啟動子(諸如其他已知之細菌或噬菌體啟動子)亦適用。其核苷酸序列已經公佈，由此使得熟習此項技術者能夠使用連接子或轉接子可操作地使其與編碼靶向輕鏈及重鏈之順反子(Siebenlist等人，(1980) Cell 20:269)接合以供應任何所需之限制位點。

在本發明之一態樣中，重組載體內之每一順反子均包含引導所表現之多肽跨膜轉位之分泌型信號序列組件。一般而言，信號序列可為載體之組件，或其可為插入載體中之部分靶向多肽DNA。出於本發明之目的選擇之信號序列應為經宿主細胞辨識及加工(亦即，由信號肽酶裂解)者。對於不辨識及加工異源多肽之天然信號序列的原核宿主細胞而言，信號序列係經(例如)自以下物質組成之群選擇之原核信號序列取代：鹼性磷酸酶、青黴素酶(penicillinase)、Ipp或熱穩定性腸毒素II(STII)前導序列、LamB、PhoE、

PelB、OmpA及MBP。在本發明之一實施例中，用於表現系統之兩種順反子中之信號序列為STII信號序列或其變異體。

在另一態樣中，根據本發明之免疫球蛋白的產生可出現於宿主細胞之細胞質中，且因此無需每一順反子內均存在分泌型信號序列。就此點而言，免疫球蛋白之輕鏈及重鏈皆係在細胞質內表現、折疊並組裝以形成功能性免疫球蛋白。某些宿主菌株(例如，大腸桿菌 *trxB*⁻ 菌株)提供易於形成雙硫鍵之細胞質條件，藉此允許適當折疊及組裝所表現之蛋白次單元。Proba及Pluckthun, *Gene*, 159:203 (1995)。

亦可藉由使用可調節所表現之多肽組份之數目比率的表現系統來產生本發明抗體，以致使所分泌及經適當組裝之本發明抗體的產量最大化。此調節至少部分係藉由同時調節多肽組份之轉譯強度來實現。

一種用於調節轉譯強度之技術揭示於Simmons等人之美國專利第5,840,523號中。其利用順反子內之轉譯初始區(TIR)之變異體。對於給定TIR而言，可以多種轉譯強度產生一系列胺基酸或核酸序列變異體，藉此提供一種用於關於特定鏈之所需表現水準來調節此因素之便利方式。TIR變異體可藉由將會引起可改變胺基酸序列之密碼子改變的習知突變誘發技術產生。在某些實施例中，並無核苷酸序列之改變。TIR之變化可包括(例如)Shine-Dalgarno序列之數目或間隔之變化，以及信號序列之變化。一種用於產生突變體信號序列之方法係在編碼序列之開始處產生"密碼

子庫(codon bank)"，而不改變信號序列之胺基酸序列(亦即，並無改變)。此可藉由改變每一密碼子之第三個核苷酸位置來實現；此外，某些胺基酸(諸如白胺酸、絲胺酸及精胺酸)具有多個第一及第二位置，此可增加用於製造該庫之複雜性。此突變誘發方法詳細描述於Yansura等人，(1992) *METHODS: A Companion to Methods in Enzymol.* 4:151-158中。

在一實施例中，以每一順反子中之多種TIR強度產生一組載體。此有限組提供對於在各種TIR強度組合下每一鏈之表現水準以及所需抗體產物之產量的比較。TIR強度可藉由量化報導體基因之表現水準來確定，如Simmons等人之美國專利第5,840,523號中詳細描述。基於轉譯強度之比較，選擇所需之個別TIR以將其組合於本發明之表現載體構築體中。

適於表現本發明抗體之原核宿主細胞包括原始細菌(Archaeobacteria)及真細菌(Eubacteria)，諸如革蘭氏陰性(Gram-negative)或革蘭氏陽性有機體。有用細菌之實例包括埃希氏菌(*Escherichia*)(例如，大腸桿菌)、桿菌(*Bacilli*)(諸如枯草桿菌(*B. subtilis*))、腸內菌(*Enterobacteria*)、假單胞菌屬(*Pseudomonas species*)(例如綠膿桿菌(*P. aeruginosa*))、鼠傷寒沙門桿菌(*Salmonella typhimurium*)、黏質沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)、克雷伯氏菌(*Klebsiella*)、變形桿菌屬(*Proteus*)、志賀桿菌屬(*Shigella*)、根瘤菌(*Rhizobia*)、透明顫菌(*Vitreoscilla*)或副球菌(*Paracoccus*)。

在一實施例中，使用革蘭氏陰性細胞。在一實施例中，將大腸桿菌細胞用作本發明之宿主。大腸桿菌菌株之實例包括 W3110 菌株 (Bachmann, **Cellular and Molecular Biology**, 第 2 卷 (Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1987), 第 1190-1219 頁; ATCC 寄存號 27,325) 及其衍生物，包括具有基因型 W3110 $\Delta fhuA$ ($\Delta tonA$) *ptr3* *lac* *Iq* *lacL8* $\Delta ompT \Delta (nmpc-fepE)$ *degP41* *kan^R* 之 33D3 菌株 (美國專利第 5,639,635 號)。其他菌株及其衍生物 (諸如大腸桿菌 294 (ATCC 31,446)、大腸桿菌 B、大腸桿菌 λ 1776 (ATCC 31,537) 及大腸桿菌 RV308 (ATCC 31,608)) 亦適用。該等實例係出於說明而非限制之目的。用於建構任何上文所提及的具有已定義之基因型之細菌的衍生物的方法已為此項技術中已知，且描述於 (例如) Bass 等人, **Proteins**, 8:309-314 (1990) 中。通常需要考慮複製子在細菌細胞中之可複製性來選擇適當之細菌。舉例而言，當使用熟知之質體 (諸如 pBR322、pBR325、pACYC177 或 pKN410) 來供應複製子時，大腸桿菌、紅色桿菌屬 (*Serratia*) 或沙門氏菌屬 (*Salmonella*) 可適於用作宿主。通常，宿主細胞應分泌極少量蛋白水解酶，且可需要將額外之蛋白酶抑制劑併入細胞培養物中。

抗體產生

用上述表現載體使宿主細胞轉型，並將其培養於經適當修飾之習知營養培養基中以用於誘導啟動子、選擇轉型物或擴增編碼所需序列之基因。

轉型意謂將DNA引入原核宿主中，從而使DNA可作為染色體外元件或由染色體要素複製。視所使用之宿主細胞而定，使用適於此等細胞之標準技術進行轉型。使用氯化鈣進行之鈣處理通常用於含有基本細胞壁障壁之細菌細胞。另一轉型方法採用聚乙二醇/DMSO。所使用之又一技術為電穿孔。

用於產生本發明多肽之原核細胞係生長於此項技術中已知且適於培養所選擇之宿主細胞的培養基中。適當培養基之實例包括加有必需養分補充物之luria肉湯(LB)。在某些實施例中，培養基亦含有基於表現載體之建構而選擇之選擇劑，用以選擇性地允許含有表現載體之原核細胞生長。舉例而言，將安比西林添加至培養基中以用於表現安比西林抗性基因之細胞的生長。

亦可包括單獨或作為與其他補充物或基質(諸如複合氮源)之混合物以適當濃度引入的除碳、氮及無機磷酸鹽來源外之任何必需補充物。視情形，培養基可含有一或多種選自由以下物質組成之群的還原劑：麩胱甘肽、半胱氨酸、胱胺、硫乙醇酸酯、二硫赤藻糖醇及二硫蘇糖醇。

原核宿主細胞係在適當溫度下培養。對於大腸桿菌之生長而言，例如，在包括(但不限於)約20°C至約39°C、約25°C至約37°C之溫度範圍內及約30°C下出現生長。培養基之pH值可主要視宿主有機體而為在約5至約9之範圍內的任何pH值。對於大腸桿菌而言，pH值可為約6.8至約7.4，或為約7.0。

若將誘導型啟動子用於本發明之表現載體，則在適於活化啟動子之條件下誘導蛋白表現。在本發明之一態樣中，使用PhoA啟動子來控制多肽之轉錄。因此，將經轉型之宿主細胞培養於磷酸鹽限制性培養基中以用於誘導。在一實施例中，磷酸鹽限制性培養基為C.R.A.P培養基(參看例如，Simmons等人，*J. Immunol. Methods* (2002), 263:133-147)。如此項技術中已知，可根據所使用之載體構築體使用多種其他誘導子。

在一實施例中，將本發明之經表現多肽分泌至宿主細胞間質中且由該宿主細胞間質加以回收。蛋白回收通常涉及通常藉由諸如滲壓猝震(osmotic shock)、超音波處理或溶解之方式分裂微生物。分裂細胞後，可藉由離心或過濾來移除細胞碎片或整個細胞。可進一步(例如)藉由親和樹脂層析純化蛋白。或者，可將蛋白轉運至培養基中並於其中進行分離。可將細胞自培養物中移出，並過濾培養物上清液且濃縮以進一步純化所產生之蛋白。可進一步分離所表現之多肽且使用諸如聚丙烯醯胺凝膠電泳(PAGE)及西方墨點檢定之通常已知的方法加以識別。

在本發明之一態樣中，藉由醱酵方法來進行大量抗體產生。多種大規模饋料分批醱酵程序可用於產生重組蛋白。大規模醱酵具有至少1000公升之容量，例如約1,000至100,000公升之容量。該等醱酵罐使用葉輪式攪拌器來分配氧氣及養分，尤其葡萄糖(常用碳/能量源)。小規模醱酵通常係指在僅有約100公升之體積容量且可在約1公升至約

100公升範圍內的醱酵罐中醱酵。

在醱酵過程中，通常在細胞已於適當條件下生長至所需密度(例如，OD₅₅₀為約180至220)後初始對於蛋白表現之誘導，在此階段內細胞處於穩定期早期。如此項技術中已知且如上文所述，可根據所使用之載體構築體使用多種誘導子。可於誘導前使細胞生長一段較短之時間。儘管可使用較長或較短之誘導時間，但通常誘導細胞歷經約12至50小時。

為改良本發明多肽之產量及品質，可改變多種醱酵條件。舉例而言，為改良對於所分泌之抗體多肽之適當組裝及折疊，可使用過度表現伴隨蛋白之額外載體以與宿主原核細胞共轉型，該等伴隨蛋白諸如Dsb蛋白(DsbA、DsbB、DsbC、DsbD及/或DsbG)或FkpA(具有伴隨活性之肽基脯胺醯順反異構酶)。已證實伴隨蛋白會促進細菌宿主細胞中所產生之異源蛋白之適當折疊及溶解性。Chen等人，(1999) *J Bio Chem* 274:19601-19605；Georgiou等人，美國專利第6,083,715號；Georgiou等人，美國專利第6,027,888號；Bothmann及Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275:17100-17105；Ramm及Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275:17106-17113；Arie等人，(2001) *Mol. Microbiol.* 39:199-210。

為使所表現之異源蛋白(尤其對於蛋白水解敏感者)之蛋白水解減至最少，可將缺失蛋白水解酶之某些宿主菌株用於本發明中。舉例而言，可修飾宿主細胞菌株以實現編碼

已知細菌蛋白酶(諸如蛋白酶III、OmpT、DegP、Tsp、蛋白酶I、蛋白酶Mi、蛋白酶V、蛋白酶VI及其組合)之基因的基因突變。某些大腸桿菌蛋白酶缺失菌株可用且描述於(例如)Joly等人,(1998), 同上文; Georgiou等人, 美國專利第5,264,365號; Georgiou等人, 美國專利第5,508,192號; Hara等人, *Microbial Drug Resistance*, 2:63-72 (1996) 中。

在一實施例中, 將缺失蛋白水解酶且經過度表現一或多種伴隨蛋白之質體轉型的大腸桿菌菌株用作本發明之表現系統中的宿主細胞。

抗體純化

在一實施例中, 進一步純化本文所產生之抗體蛋白以獲得大體上均質用於其他檢定及用途的製劑。可使用此項方法中已知之標準蛋白純化方法。下述程序為適當之例示性純化程序: 免疫親和管柱或離子交換管柱上之分級、乙醇沉澱、逆相HPLC、於矽石或陽離子交換樹脂(諸如DEAE)上進行之層析、色層聚焦(chromatofocusing)、SDS-PAGE、硫酸銨沉澱及使用(例如)Sephadex G-75進行之凝膠過濾。

在一態樣中, 將固定於固相上之蛋白A用於本發明抗體產物的免疫親和純化。蛋白A為來自金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureas*)之41 kD細胞壁蛋白, 其以高親和力與抗體之Fc區結合。Lindmark等人, (1983) *J. Immunol. Meth.* 62:1-13。固定蛋白A之固相可為包含玻璃或矽石表

面之管柱，或為受控微孔玻璃管柱或矽酸管柱。在某些應用中，管柱經諸如甘油之試劑塗覆以有可能防止污染物之非特異性附著。

作為純化之第一步驟，可將如上文所述得自細胞培養物之製劑塗覆於固定蛋白A之固相上以使所關注抗體與蛋白A特異性結合。隨後，將洗滌固相以移除與固相非特異性結合之污染物。最後，藉由溶離自固相回收所關注的抗體。

使用真核宿主細胞產生抗體

載體組件通常包括(但不限於)一或多個下述組件：信號序列、複製起點、一或多個標記基因、增強子元件、啟動子及轉錄終止序列。

(i) 信號序列組件

用於真核宿主細胞中之載體亦可含有在所關注成熟蛋白或多肽之N末端具有特定裂解位點的信號序列或其他多肽。所選擇之異源信號序列通常係由宿主細胞辨識及加工(亦即，經信號肽酶裂解)者。在哺乳動物細胞表現中，可用哺乳動物信號序列以及病毒分泌前導序列，例如單純疱疹gD信號。

此前驅體區之DNA係在閱讀框中與編碼抗體之DNA接合。

(ii) 複製起點

通常，哺乳動物表現載體中無需複製起點組件。舉例而言，由於SV40起點含有早期啟動子，故通常可僅使用該起

點。

(iii) 選擇基因組件

表現及選殖載體可含有選擇基因，亦稱為可選標記。典型之選擇基因編碼下列蛋白，其(a)賦予對於抗生素或其他毒素(例如，安比西林、新黴素、甲胺喋呤或四環素)之抗性；(b)補充營養缺陷(若相關)；或(c)供應自複合培養基不可得之關鍵養分。

選擇流程之一實例利用藥物來停滯宿主細胞之生長。經異源基因成功轉型之該等細胞產生將賦予藥物抗性之蛋白且因此在選擇方案中存活。此等顯性選擇之實例使用藥物新黴素、黴酚酸及濕黴素(hygromycin)。

用於哺乳動物細胞之適當可選標記的另一實例為能夠識別能夠吸收抗體核酸之細胞者，諸如DHFR、胸苷激酶、金屬硫蛋白-I及II(例如，靈長類動物金屬硫蛋白基因)、腺苷脫胺酶、鳥胺酸脫羧酶等。

舉例而言，首先可藉由在含有甲胺喋呤(Mtx)(DHFR之競爭性拮抗劑)之培養基中培養所有轉型物來識別經DHFR選擇基因轉型的細胞。當使用野生型DHFR時，適當之宿主細胞包括(例如)缺失DHFR活性之中國倉鼠卵巢(CHO)細胞株(例如，ATCC CRL-9096)。

或者，可藉由在含有用於可選標記(諸如胺基糖苷抗生素，例如康黴素(kanamycin)、新黴素或G418)之選擇劑的培養基中進行細胞生長來選擇經編碼抗體(野生型DHFR蛋白)之DNA序列及另一可選標記(諸如胺基糖苷3'-磷酸轉移

酶 (APH)) 轉型或與其共轉型之宿主細胞 (尤其含有內源 DHFR 之野生型宿主)。參看美國專利第 4,965,199 號。

(iv) 啟動子組件

表現及選殖載體通常含有由宿主有機體辨識且可操作地連接至編碼所關注多肽 (例如, 抗體) 之核酸的啟動子。已知真核生物之啟動子序列。事實上, 所有真核基因均具有位於轉錄初始位點上游大約 25 至 30 個鹼基處之富 AT 區。另一見於多種基因之轉錄初始點上游 70 至 80 個鹼基處之序列為 CNCAAT 區, 其中 N 可為任何核苷酸。在大多數真核基因之 3' 端為 AATAAA 序列, 其可為將聚 A 尾添加至編碼序列之 3' 端的信號。所有該等序列均適於插入至真核表現載體中。

可 (例如) 藉由自病毒基因組 (諸如多瘤性病毒 (polyoma virus)、禽痘病毒 (fowlpox virus)、腺病毒 (諸如腺病毒 2)、牛乳頭瘤病毒 (bovine papilloma virus)、肉瘤病病毒 (avian sarcoma virus)、巨細胞病毒 (cytomegalovirus)、反轉錄病毒、B 型肝炎病毒及猴病毒 40 (Simian Virus 40) (SV40))、自異源哺乳動物啟動子 (例如, 肌動蛋白啟動子或免疫球蛋白啟動子) 或自熱休克啟動子獲得的啟動子來控制自哺乳動物細胞中之載體進行之抗體多肽轉錄, 其限制條件為該等啟動子可與宿主細胞系統相容。

便利地獲得 SV40 病毒之早期及晚期啟動子, 其為亦含有 SV40 病毒複製起點之 SV40 限制片段。便利地獲得人巨細胞病毒之即刻早期啟動子, 其為 HindIII E 限制片段。使用

牛乳頭瘤病毒作為載體於哺乳動物宿主中表現DNA的系統係揭示於美國專利第4,419,446號中。對於此系統之修飾描述於美國專利第4,601,978號中。亦參看 Reyes 等人，*Nature* 297:598-601 (1982)，其關於在來自單純疱疹病毒之胸苷激酶啟動子的控制下於小鼠細胞中表現人 β -干擾素cDNA。另外，可將勞斯肉瘤病毒(Rous Sarcoma Virus)之長末端重複用作啟動子。

(v) 增強子元件組件

由較高級真核生物來轉錄編碼本發明抗體多肽之DNA通常可藉由將增強子序列插入載體中而得以增加。現已知來自哺乳動物基因(血球蛋白、彈性蛋白、白蛋白、 α -胎蛋白及胰島素)之多種增強子序列。然而，吾人通常將使用來自真核細胞病毒之增強子。實例包括複製起點(100-270個bp)後側之SV40增強子、巨細胞病毒早期啟動子增強子、複製起點後側之多瘤性增強子及腺病毒增強子。亦參看 Yaniv, *Nature* 297:17-18 (1982)，其關於用於活化真核啟動子之增強元件。可將增強子剪接至載體中編碼抗體多肽之序列的5'至3'位置處，但其通常位於啟動子之5'位置處。

(vi) 轉錄終止組件

用於真核宿主細胞中之表現載體通常亦含有終止轉錄且穩定mRNA必需之序列。此等序列通常可獲自真核或病毒DNA或cDNA之未經轉譯區的5'且有時為3'。該等區含有轉錄為編碼抗體之mRNA的未經轉譯部分之多聚腺嘌呤化片段的核苷酸區段。一種有用之轉錄終止組件為牛生長激素

多聚腺嘌呤化區。參看 WO 94/11026 及其中所揭示之表現載體。

(vii) 宿主細胞之選擇及轉型

用於在本文之載體中選殖或表現 DNA 之適當宿主細胞包括本文所述之較高級真核生物細胞，包括脊椎動物宿主細胞。使脊椎動物細胞在培養(組織培養)中增殖已成為一種常規程序。有用的哺乳動物宿主細胞株之實例為經 SV40(COS-7, ATCC CRL 1651)轉型之猴腎 CV1 株；人胚腎株(293 或為在懸浮培養物中生長而經次選殖之 293 細胞，Graham 等人，*J. Gen Virol.* 36:59 (1977))；幼倉鼠腎細胞(BHK, ATCC CCL 10)；中國倉鼠卵巢細胞/-DHFR(CHO，Urlaub 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 4216 (1980))；小鼠塞利特氏細胞(mouse sertoli cell)(TM4, Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980))；猴腎細胞(CV1 ATCC CCL 70)；非洲綠猴腎細胞(African green monkey kidney cell)(VERO-76, ATCC CRL-1587)；人宮頸癌細胞(HELA, ATCC CCL 2)；犬腎細胞(MDCK, ATCC CCL 34)；布法羅大鼠肝細胞(buffalo rat liver cell)(BRL 3A, ATCC CRL 1442)；人肺細胞(W138, ATCC CCL 75)；人肝細胞(Hep G2, HB 8065)；小鼠乳腺腫瘤(MMT 060562, ATCC CCL51)；TRI 細胞(Mather 等人，*Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982))；MRC 5 細胞；FS4 細胞；及人肝癌株(Hep G2)。

用上述用於產生抗體之表現或選殖載體使宿主細胞轉

型，並將其培養於經適當修飾之習知營養培養基中以用於誘導啟動子、選擇轉型物或擴增編碼所需序列之基因。

(viii) 培養宿主細胞

可將用於產生本發明抗體之宿主細胞培養於多種培養基中。諸如 Ham's F10(Sigma)、最小必需培養基(Minimal Essential Medium(MEM))(Sigma)、RPMI-1640(Sigma)及杜貝卡氏經修飾伊格氏培養基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM), Sigma)之常用培養基均適於培養宿主細胞。此外，可將下列文獻中所述之任何培養基用作宿主細胞之培養基：Ham等人，*Meth. Enz.* 58:44 (1979)；Barnes等人，*Anal. Biochem.* 102:255 (1980)；美國專利第4,767,704號、第4,657,866號、第4,927,762號、第4,560,655號或第5,122,469號；WO 90/03430；WO 87/00195；或美國專利綜述30,985。任何該等培養基均可視需要補充激素及/或其他生長因子(諸如胰島素、運鐵蛋白或表皮生長因子)、鹽(諸如氯化鈉、鈣、鎂及磷酸鹽)、緩衝液(諸如HEPES)、核苷酸(諸如腺苷及胸苷)、抗生素(諸如GENTAMYCIN™藥物)、示蹤元素(定義為無機化合物，通常以在微莫耳範圍內之最終濃度存在)及葡萄糖或等效能源。亦可包括將為熟習此項技術者所知之適當濃度的任何其他必需補充物。培養條件(諸如溫度、pH值及其類似條件)為選擇用於表現之宿主細胞先前所使用者，且對於一般技術者為顯而易見的。

(ix) 抗體純化

當使用重組技術時，可於細胞內產生抗體或直接將其分泌於培養基中。若以於細胞內產生抗體作為第一步驟，則通常(例如)藉由離心或超濾來移除宿主細胞或已溶解片段之微粒碎片。在將抗體分泌至培養基中之情形下，通常首先使用市售蛋白濃縮過濾器(例如 Amicon 或 Millipore Pellicon超濾裝置)來濃縮來自該等表現系統之上清液。任何前述步驟中均可包括蛋白酶抑制劑(諸如 PMSF)以抑制蛋白水解，且可包括抗生素以阻止外來污染物生長。

可使用(例如)羧磷灰石層析、凝膠電泳、透析及親和層析來純化由細胞製備之抗體組合物，其中親和層析為通常可接受之純化技術。親和試劑(諸如蛋白 A)作為親和配位基之適用性視物種及存在於抗體中之任何免疫球蛋白 Fc 域的同型而定。蛋白 A 可用於純化基於人類 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 或 $\gamma 4$ 重鏈之抗體(Lindmark 等人, *J. Immunol. Meth.* 62:1-13 (1983))。蛋白 G 係推薦用於所有小鼠同型及人類 $\gamma 3$ (Guss 等人, *EMBO J.* 5:1567-1575 (1986))。親和配位基所附著之基質最常見為瓊脂糖，但亦可用其他基質。諸如受控微孔玻璃或聚(苯乙烯二乙烯基)苯之機械穩定性基質允許比瓊脂糖可達成更快的流動速率及更短的加工時間。當抗體包含 C_H3 域時，Bakerbond ABX™ 樹脂(J. T. Baker, Phillipsburg, NJ)可用於純化。視待回收之抗體而定，亦可使用其它用於蛋白純化的技術，諸如離子交換管柱分級分離、乙醇沉澱、逆相 HPLC、矽石層析、陰離子或陽離子交換樹脂(諸如聚天冬氨酸管柱)上進行之肝素 SEPHAROSE™ 層析、色層聚

集、SDS-PAGE及硫酸銨沉澱。

在任何初級純化步驟後，均可使包含所關注抗體及污染物之混合物經受進一步之純化步驟(有需要時)，例如藉由使用pH值在約2.5-4.5之間的溶離緩衝液通常在低鹽濃度(例如，約0-0.25 M鹽)下進行的低pH值疏水相互作用層析進行純化。

應注意，一般而言，此項技術中已良好確立與上述及/或熟習此項技術者認為適於所關注的特定抗體一致用於製備用於研究、測試及臨床用途之抗體的技術及方法。

活性檢定

可藉由此項技術中已知之各種檢定來特性化本發明抗體的物理/化學特性及生物學功能。

經純化抗體可進一步藉由一系列檢定特性化，該等檢定包括(但不限於)N-末端定序、胺基酸分析、不變性尺寸排除高壓液相層析(non-denaturing size exclusion high pressure liquid chromatography)(HPLC)、質譜、離子交換層析及木瓜酵素消化。

有需要時，分析抗體之生物活性。在某些實施例中，測試本發明抗體之抗原結合活性。此項技術中已知且可用於本文中之抗原結合檢定包括(但不限於)使用諸如西方墨點法之技術進行的任何直接或競爭性結合檢定、放射免疫檢定、ELISA(酶聯結免疫吸附劑檢定)、“夾心”免疫檢定、免疫沉澱檢定、螢光免疫檢定及蛋白A免疫檢定。

在一實施例中，本發明涵蓋一種已變化之抗體，其具有

某些但並非所有效應功能，此使其成為其中抗體在體內之半衰期極其重要而某些效應功能(諸如補體及ADCC)卻並非必需或有害之多種應用中合乎需要之候選抗體。在某些實施例中，對抗體之Fc活性加以量測以確保僅所需特性得以保持。可進行體外及/或體內細胞毒性檢定以確定CDC及/或ADCC活性之降低/耗盡。舉例而言，可進行Fc受體(FcR)結合檢定以確保抗體缺乏Fc γ R結合(由此可能缺乏ADCC活性)但仍保持FcRn結合活性。介導ADCC之原生細胞(NK細胞)僅表現Fc γ RIII，而單核細胞表現Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII。造血細胞中之FcR表現概述於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991)第464頁表3中。評定所關注分子之ADCC活性之體外檢定的實例描述於美國專利第5,500,362號或第5,821,337號中。用於此等檢定之有用效應細胞包括末梢血液單核細胞(PBMC)及自然殺死(NK)細胞。另外或其他，可(例如)在動物模型中(諸如Clynes等人，*PNAS (USA)* 95:652-656 (1998)中所揭示者)於體內評定所關注分子之ADCC活性。亦可進行C1q結合檢定以確定抗體無法與C1q結合且因此缺乏CDC活性。為評定補體活化，可進行CDC檢定，例如，如Gazzano-Santoro等人，*J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)中所述。亦可使用此項技術中已知之方法進行FcRn結合及體內清除/半衰期測定。

抗體片段

本發明涵蓋抗體片段。在某些情形下，使用抗體片段而

非使用整個抗體具有優勢。較小尺寸之片段允許迅速清除且可導致對於實體腫瘤接取之改良。

已研發出製造抗體片段之多種技術。傳統上，經由蛋白水解消化完整抗體得到該等片段(參看例如，Morimoto等人，Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1992)；及Brennan等人，Science, 229:81 (1985))。然而，現可藉由重組宿主細胞直接產生該等片段。Fab、Fv及ScFv抗體片段均可表現於大腸桿菌中且由大腸桿菌分泌，由此易於產生大量該等片段。可由上文所討論之抗體噬菌體庫中分離抗體片段。或者，可直接自大腸桿菌回收Fab'-SH片段且使其化學偶聯以形成F(ab')₂片段(Carter等人，Bio/Technology 10:163-167 (1992))。根據另一方法，可直接由重組宿主細胞培養物中分離F(ab')₂片段。具有增加之體內半衰期的包含補救受體結合抗原決定基殘基之Fab及F(ab')₂片段係描述於美國專利第5,869,046號中。其他用於產生抗體片段之技術對於熟習此項技術者而言應為顯而易見的。在其他實施例中，所選擇之抗體為單鏈Fv片段(scFv)。參看WO 93/16185、美國專利第5,571,894號及第5,587,458號。Fv及sFv為唯一缺少恆定區但具有完整組合位點之種類；因此，其適於在體內使用期間具有降低之非特異性結合。sFv融合蛋白可經建構以在sFv的胺基或羧基末端產生效應蛋白之融合。參看Antibody Engineering編，輯Borrebaeck,同上文。抗體片段亦可為"線性抗體"，例如，如美國專利第5,641,870號中所

述。此等線性抗體片段可為單特異性或雙特異性。

人化抗體

本發明涵蓋人化抗體。多種用於人化非人類抗體之方法已為此項技術中所知。舉例而言，人化抗體可具有一或多個由非人類來源引入其中之胺基酸殘基。該等非人類胺基酸殘基通常被稱為"輸入"殘基，其通常自"輸入"可變域取得。可基本上根據 Winter 及其同事 (Jones 等人，(1986) *Nature* 321:522-525；Riechmann 等人，(1988) *Nature* 332:323-327；Verhoeyen 等人，(1988) *Science* 239:1534-1536) 之方法藉由以高變區序列取代人類抗體之相應序列進行人化。因此，該等"人化"抗體為嵌合抗體(美國專利第 4,816,567 號)，其中大體上小於完整人類可變域之序列已經來自非人類物種之相應序列取代。實際上，人化抗體通常為其中某些高變區殘基及可能某些 FR 殘基經來自齧齒動物抗體之類似位點之殘基取代的人類抗體。

對用於製造人化抗體之人類可變域(輕鏈與重鏈)的選擇對於降低抗原性而言可為極為重要的。根據所謂之"最佳擬合(best-fit)"方法，對已知之人類可變域序列篩檢齧齒動物抗體之可變域序列。隨後，將與齧齒動物序列最接近之人類序列接受為人化抗體之人類框架(Sims 等人，(1993) *J. Immunol.* 151:2296；Chothia 等人，(1987) *J. Mol. Biol.* 196:901)。另一方法使用得自具有特定輕鏈或重鏈亞群之所有人類抗體之一致序列的特定框架。相同框架可用於若干種不同之人化抗體(Carter 等人，(1992) *Proc. Natl. Acad.*

Sci. USA, 89:4285 ; Presta 等人 , (1993) *J. Immunol.*, 151:2623)。

另外，通常需要經人化而保持對抗原之高親和力及其他有利生物學特性的抗體。為達成此目標，根據一種方法，藉由使用親本序列及人化序列之三維模型來分析親本序列及各種概念上之人化產物的方法製備人化抗體。三維免疫球蛋白模型通常可用且為熟習此項技術者所熟知。可用描述且呈現所選擇之候選免疫球蛋白序列之大致三維構形結構的電腦程式。該等呈現之檢驗允許分析殘基對候選免疫球蛋白序列之功能可能起到的作用，亦即，分析會影響候選免疫球蛋白與其抗原結合之能力的殘基。以此方式，可自受體及輸入序列選擇FR殘基並使其組合，從而使所需抗體特性(諸如對靶向抗原增加之親和力)得以達成。一般而言，對於抗原結合之影響直接且大體上完全涉及高變區殘基。

人類抗體

本發明之人類抗聚泛素抗體可藉由將選自人類來源之噬菌體呈現庫的Fv純系可變域序列與如上所述之已知人類恆定域序列組合來建構。或者，可藉由融合瘤方法製得本發明之人類單株抗聚泛素抗體。用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類雜交骨髓瘤細胞株已由下列文獻加以描述：例如，Kozbor *J. Immunol.*, 133:3001 (1984)；Brodeur 等人，*Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*，第 51-63 頁 (Marcel Dekker, Inc., New

York, 1987) ; 及 Boerner 等人 , *J. Immunol.*, **147**: 86 (1991)。

現可能產生免疫後能夠在不產生內源免疫球蛋白之情形下產生全人類抗體譜系的轉殖基因動物(例如小鼠)。舉例而言，已描述嵌合及生殖系突變體小鼠中抗體重鏈連接區(JH)基因的純合子缺失導致對於內源抗體產生之完全抑制。將人類生殖系免疫球蛋白基因陣列轉移至此等生殖系突變體小鼠中將會於激發抗原後引起人類抗體之產生。參看例如，Jakobovits 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci USA*, **90**:2551 (1993)；Jakobovits 等人，*Nature*, **362**: 255 (1993)；Bruggermann 等人，*Year in Immunol.*, **7**: 33 (1993)。

亦可使用基因改組以自非人類(例如齧齒動物)抗體得到人類抗體，其中人類抗體具有與初始非人類抗體相似之親和力及特異性。根據此方法(亦稱為"抗原決定基印記(epitope imprinting)"), 以人類V域基因譜系置換藉由如上文所述之噬菌體呈現技術獲得的非人類抗體片段之重鏈或輕鏈可變區，從而產生非人類鏈/人類鏈scFv或Fab嵌合體群體。以抗原進行選擇會導致非人類鏈/人類鏈嵌合scFv或Fab之分離，其中人類鏈會恢復移除原代噬菌體呈現純系中之相應非人類鏈時損壞的抗原結合位點，亦即抗原決定基決定(印記)對於人類鏈搭配物之選擇。當重複該過程以置換剩餘非人類鏈時，獲得人類抗體(參看1993年4月1日公開之PCT WO 93/06213)。與傳統藉由CDR移植來人化非人類抗體不同，此技術提供不具有非人類來源之FR或CDR

殘基的完整人類抗體。

雙特異性抗體

雙特異性抗體為對至少兩種不同抗原具有結合特異性之單株抗體。在某些實施例中，雙特異性抗體為人類或人化抗體。在某些實施例中，結合特異性中之一者係對於包括特定離胺酸鍵聯之聚泛素而言且另一者係對於任何其他抗原而言。在某些實施例中，雙特異性抗體可與具有兩種不同離胺酸鍵聯之兩種不同聚泛素結合。可製備作為全長抗體或抗體片段之雙特異性抗體(例如， $F(ab')_2$ 雙特異性抗體)。

用於製造雙特異性抗體之方法已為此項技術中所知。傳統上，重組產生雙特異性抗體係基於兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對之共同表現，其中該兩個重鏈具有不同特異性(Milstein及 Cuello, *Nature*, **305**:537 (1983))。由於免疫球蛋白重鏈及輕鏈之隨機分組，該等融合瘤(雜交瘤)產生10種不同抗體分子之潛在混合物，其中僅一種具有恰當之雙特異性結構。通常藉由親和層析步驟進行之恰當分子的純化相當繁瑣，且產物產率低。類似程序揭示於1993年5月13日公開之WO 93/08829及Traunecker等人，*EMBO J.*, **10**:3655 (1991)中。

根據不同實施例，將具有所需結合特異性(抗體抗原組合位點)之抗體可變域與免疫球蛋白恆定域序列融合。融合(例如)係與包含鉸鏈區、CH2及CH3區之至少部分之免疫球蛋白重鏈恆定域一起進行的。在某些實施例中，含有

輕鏈結合所必需之位點之第一重鏈恆定區(CH1)係存在於至少一種融合體中。將編碼免疫球蛋白重鏈融合體及(若須要)免疫球蛋白輕鏈之DNA插入獨立表現載體中，且使其共轉染至適當之宿主有機體中。在建構時使用不等比率之三個多肽鏈來提供最佳產率之實施例中，此使對於三個多肽片段的相互比例之調節具有極大靈活性。然而，當至少兩個多肽鏈以相等比率表現會產生高產率或當該等比率並非特別重要時，有可能將兩個或所有三個多肽鏈之編碼序列插入一種表現載體中。

在此方法之一實施例中，雙特異性抗體係由一臂中具有第一結合特異性之雜交免疫球蛋白重鏈及另一臂中之雜交免疫球蛋白重鏈-輕鏈對(提供第二結合特異性)構成。已發現，由於免疫球蛋白輕鏈僅存在於一半雙特異性分子中會提供一種簡便之分離方式，故此不對稱結構會促進所需雙功能性化合物與非吾人想要之免疫球蛋白組合分離。此方法揭示於WO 94/04690中。有關產生雙特異性抗體之其他細節，參看(例如)Suresh等人，*Methods in Enzymology*, 121:210 (1986)。

根據另一方法，可工程設計一對抗體分子之間之界面以使由重組細胞培養物回收的雜二聚體之百分比最大化。該界面包含抗體恆定域之至少一部分C_H3域。以此方法，使來自第一抗體分子界面之一或多個小胺基酸側鏈經較大側鏈(例如，酪胺酸或色胺酸)置換。藉由用小胺基酸側鏈(例如，丙胺酸或蘇胺酸)置換大胺基酸側鏈而於第二抗體分

子之界面上產生具有與大側鏈相同或類似的尺寸之補償性"空穴"。此提供一種使雜二聚體之產量增加超過其他非吾人想要之終產物(諸如均二聚體)的機制。

雙特異性抗體包括交聯或"雜結合"抗體。舉例而言，雜結合物中之一抗體可與抗生蛋白偶聯，其他抗體與生物素偶聯。例如，已建議該等抗體靶向針對非吾人想要之細胞之免疫系統細胞(美國專利第4,676,980號)，且用於治療HIV感染(WO 91/00360、WO 92/00373及EP 03089)。可使用任何便利之交聯方法製造雜結合抗體。適當之交聯劑已為此項技術中所熟知，且揭示於美國專利第4,676,980號以及大量交聯技術中。

自抗體片段產生雙特異性抗體的技術已描述於文獻中。舉例而言，可使用化學鍵製備雙特異性抗體。Brennan等人，*Science*, 229: 81 (1985)中描述其中蛋白水解裂解完整抗體以產生F(ab')₂片段之程序。在二硫醇錯合劑亞砷酸鈉存在下還原該等片段以穩定鄰近二硫醇且防止分子間二硫化物形成。隨後，將所產生之Fab'片段轉化為硫代硝基苯甲酸鹽(TNB)衍生物。隨後，藉由用巰基乙胺還原將一種Fab'-TNB衍生物再轉化為Fab'-硫醇，且使其與等莫耳量之另一種Fab'-TNB衍生物混合以形成雙特異性抗體。所產生之雙特異性抗體可用作用於選擇固定酶之試劑。

近期之發展已促進自大腸桿菌直接回收Fab'-SH片段，該等片段可化學偶聯以形成雙特異性抗體。Shalaby等人，*J. Exp. Med.*, 175: 217-225 (1992)描述完全人化雙特

異性抗體 $F(ab')_2$ 分子之產生。由大腸桿菌單獨地分泌各 Fab' 片段且使其經受體外定向化學偶聯以形成雙特異性抗體。因此所形成之雙特異性抗體能夠與過度表現 HER2 受體之細胞及正常人 T 細胞結合，且亦觸發人類細胞毒素淋巴瘤細胞對人類乳腺腫瘤標靶之溶解活性。

亦已描述直接由重組細胞培養物製造並分離雙特異性抗體之多種技術。舉例而言，已使用白胺酸拉鏈 (leucine zipper) 產生雙特異性抗體。Kostelny 等人，*J. Immunol.*, **148**(5):1547-1553 (1992)。藉由基因融合將來自 Fos 及 Jun 蛋白之白胺酸拉鏈肽與兩種不同抗體之 Fab' 部分連接。還原鉸鏈區之抗體均二聚體以形成單體，且隨後使其再氧化以形成抗體雜二聚體。此方法亦可用於產生抗體均二聚體。Hollinger 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**:6444-6448 (1993) 所述之 "雙功能抗體" 技術已提供一種用於製造雙特異性抗體片段之替代機制。該等片段包含藉由連接子連接至輕鏈可變域 (VL) 之重鏈可變域 (VH)，該連接子因過短而使得同一鏈上之兩個域無法配對。因此，迫使一個片段之 VH 及 VL 域與另一片段之互補 VL 及 VH 域配對，藉此形成兩個抗原結合位點。亦已報導另一種藉由使用單鏈 Fv (sFv) 二聚體來製造雙特異性抗體片段之戰略。參看 Gruber 等人，*J. Immunol.*, **152**:5368 (1994)。

涵蓋大於二價之抗體。舉例而言，可製備三特異性抗體。Tutt 等人，*J. Immunol.* **147**: 60 (1991)。

多價抗體

可藉由表現與抗體結合的抗原之細胞比二價抗體快地內化(及/或異化)多價抗體。本發明抗體可為具有三個或三個以上抗原結合位點之多價抗體(其與IgM種類之抗體不同)(例如四價抗體)，該等多價抗體可易於藉由重組表現編碼抗體多肽鏈之核酸來製造。多價抗體可包含二聚化域及三個或三個以上抗原結合位點。二聚化域包含(例如)Fc區或鉸鏈區(或由其組成)。在此情形下，抗體將包含Fc區及三個或三個以上在Fc區胺基末端之抗原結合位點。在一實施例中，多價抗體包含(例如)三至約八個或四個抗原結合位點(或由其組成)。多價抗體包含至少一個多肽鏈(例如，兩個多肽鏈)，其中多肽鏈包含兩個或兩個以上可變域。舉例而言，多肽鏈可包含VD1-(X1)_n-VD2-(X2)_n-Fc，其中VD1為第一可變域，VD2為第二可變域，Fc為Fc區之一個多肽鏈，X1及X2表示胺基酸或多肽，且n為0或1。舉例而言，多肽鏈可包含：VH-CH1-彎曲連接子-VH-CH1-Fc區鏈或VH-CH1-VH-CH1-Fc區鏈。本文之多價抗體可另外包含至少兩個(例如，四個)輕鏈可變域多肽。本文之多價抗體可(例如)包含約兩個至約八個輕鏈可變域多肽。本文所涵蓋之輕鏈可變域多肽包含輕鏈可變域且視情形另外包含CL域。

抗體變異體

在某些實施例中，涵蓋本文所述之抗體的胺基酸序列修飾。舉例而言，可需要改良抗體之結合親和力及/或其他生物學特性。抗體之胺基酸序列變異體係藉由將適當之核

苷酸改變引入抗體核酸中或藉由肽合成而製備。此等修飾包括(例如)抗體胺基酸序列內殘基之缺失及/或插入及/或取代。可進行缺失、插入及取代之任何組合達成最終構築體，只要最終構築體具有所需特性即可。可在製造序列時將胺基酸變化引入標的抗體胺基酸序列中。

用於識別抗體之某些殘基或區域(其為較佳突變誘發位置)的有用方法被稱為"丙胺酸掃描突變(alanine scanning mutagenesis)"，如 Cunningham 及 Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085所述。由此，靶向殘基之殘基或基團得以識別(例如帶電殘基，諸如 arg、asp、his、lys 及 glu)且經帶中性電或負電胺基酸(例如丙胺酸或聚丙胺酸)置換以影響胺基酸與抗原之間的相互作用。隨後，藉由在取代位點處引入另外或其他變異體或引入另外或其他變異體作為取代位點來改進彼等證實對取代功能性敏感之胺基酸位置。因此，儘管已預定引入胺基酸序列變化之位點，但突變本身之性質無需預定。舉例而言，為分析指定位點處突變之效能，在靶向密碼子或區域處進行 ala 掃描或隨機突變誘發，並關於所需活性篩檢所表現之免疫球蛋白。

胺基酸序列插入包括長度在一個殘基至含有數百個或更多殘基之多肽之範圍內的胺基末端及/或羧基末端融合，以及單一或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有 N-末端甲硫胺醯基殘基之抗體或融合至細胞毒素多肽中之抗體。抗體分子之其他插入變異體包括抗體之 N 末端或 C 末端與酶(例如，用於 ADEPT)之融合，或增加抗

體的血清半衰期之多肽。

另一類變異體為胺基酸取代變異體。該等變異體在抗體分子中具有至少一個經不同殘基置換之胺基酸殘基。最關注之取代突變誘發位點包括高變區，但亦涵蓋FR變化。表A中標題"較佳取代"下展示保守型取代。若此等取代導致生物活性之改變，則可引入表A中稱為"例示性取代"或如下文參考胺基酸種類進一步描述之更實質性改變且篩檢產物。

表 A

原始殘基	例示性取代	較佳取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 甘白胺酸	Leu
Leu (L)	甘白胺酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 甘白胺酸	Leu

對抗體生物學特性之實質修飾係藉由選擇取代來實現，該等取代顯著不同之處在於其對於維持下列各物之影響：

(a)取代區域中多肽骨架之結構，例如，如薄片或螺旋構形；(b)分子靶向位點處之電荷或疏水性；或(c)側鏈整體。可根據側鏈特性之相似性對胺基酸分組(A.L. Lehninger, 在 Biochemistry, 第2版, 第73-75頁, Worth Publishers, New York (1975)中)：

- (1) 非極性：Ala (A)、Val (V)、Leu (L)、Ile (I)、Pro (P)、Phe (F)、Trp (W)、Met (M)；
- (2) 不帶電極性：Gly (G)、Ser (S)、Thr (T)、Cys (C)、Tyr (Y)、Asn (N)、Gln (Q)；
- (3) 酸性：Asp (D)、Glu (E)；
- (4) 鹼性：Lys (K)、Arg (R)、His(H)。

或者，可基於共同側鏈特性對天然存在之殘基分組：

- (1) 疏水性：甘白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2) 中性疏水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 鹼性：His、Lys、Arg；
- (5) 影響鏈定向之殘基：Gly、Pro；
- (6) 芳族：Trp、Tyr、Phe。

非保守型取代將需要該等種類中之一者之成員與另一種類交換。亦可將此等經取代殘基引入保守型取代位點或保留(非保守型)位點中。

一類取代變異體涉及取代親本抗體(例如，人化抗體或人類抗體)之一或多個高變區殘基。一般而言，選擇用於進一步研發之所得變異體應已相對於產生其之親本抗體改

變(例如，改良)生物學特性。一種用於產生此等取代變異體之便利方式涉及使用噬菌體呈現進行之親和力成熟。簡言之，使若干高變區位點(例如，6-7個位點)突變以於各位點處產生所有可能之胺基酸取代。當融合至包裝於各絲狀噬菌體顆粒內之至少部分噬菌體鞘蛋白(例如，M13之基因III產物)時，呈現因此由該等顆粒產生之抗體。隨後，關於如本文所揭示之抗體之生物學活性(例如，結合親和力)篩檢噬菌體呈現變異體。為識別用於修飾之候選高變區位點，可進行掃描突變誘發(丙胺酸掃描)以識別顯著有助於抗原結合之高變區殘基。另外或其他，其可有益於分析抗原-抗體複合物之結晶結構以識別抗體與抗原之間的接觸點。此等接觸殘基及相鄰殘基為根據此項技術中已知之技術(包括本文詳細描述者)進行取代之候選物。在產生此等變異體後，使用此項技術中已知之技術(包括本文所述者)使變異體群體經受篩檢，且可在一或多個相關檢定中選擇具有優良特性之抗體以用於進一步發展。

編碼抗體胺基酸序列變異體之核酸分子係藉由多種此項技術中已知之方法製備。該等方法包括(但不限於)自天然來源分離(在天然存在之胺基酸序列變異體情形下)或藉由先前製備之抗體變異體或非變異體型式的寡核苷酸介導(或定點)突變誘發、PCR突變誘發及盒式突變誘發(cassette mutagenesis)製備。

可需要將一或多個胺基酸修飾引入本發明抗體之Fc區中，藉此產生Fc區變異體。Fc區變異體可包含在一或多個

胺基酸位置處(包括鉸鏈半胱胺酸之位置)包含胺基酸修飾(例如，取代)之人類Fc區序列(例如，人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc區)。

根據此描述及此項技術之教示，預期在某些實施例中與野生型對應物抗體相比，本發明抗體可包含一或多種變化，例如在Fc區中。然而，該等抗體將保持與其野生型對應物相比大體上相同之治療效用所需的特性。舉例而言，認為可於Fc區中進行將引起C1q結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)變化(亦即，改良或減小)之某些變化，例如，如WO 99/51642中所述。亦參看有關Fc區變異體之其他實例之Duncan & Winter *Nature* 322:738-40 (1988)；美國專利第5,648,260號；美國專利第5,624,821號；及WO 94/29351。

在一態樣中，本發明提供在Fc多肽之界面(包含Fc區)中包含修飾之抗體，其中該等修飾會推動及/或促進雜二聚化。該等修飾包含將隆凸引入第一Fc多肽中及將空穴引入第二Fc多肽中，其中該隆凸可定位於該空穴中，從而促進第一與第二多肽之複合。用於產生具有該等修飾之抗體的方法已為此項技術中所知，例如，如美國專利第5,731,168號中所述。

免疫結合物

在另一態樣中，本發明提供免疫結合物或抗體-藥物結合物(ADC)，其包含與細胞毒性劑(諸如化學治療劑)、藥物、生長抑制劑、毒素(例如，細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素，或其片段)或放射性同位素(亦即，放

射結合物)結合之抗體。

抗體藥物結合物用於局部傳遞細胞毒性劑或細胞生長抑制劑(亦即，在治療癌症時用於殺死或抑制腫瘤細胞的藥物(Syrigos及Epenetos (1999) *Anticancer Research* 19:605-614；Niculescu-Duvaz及Springer (1997) *Adv. Drg Del. Rev.* 26:151-172；美國專利第4,975,278號))之用途允許將藥物部分靶向傳遞至腫瘤且於其中進行細胞內積累，其中該等非結合藥劑之全身投藥可於正常細胞以及意欲消除之腫瘤細胞中引起不可接受之毒性含量(Baldwin等人，(1986) *Lancet*，第(1986年3月15日):603-05頁；Thorpe，(1985) "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy:A Review," in *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, A. Pinchera等人(編輯)，第475-506頁)。因此，尋求最大效用及最小毒性。已報導將多株抗體與單株抗體用於該等戰略中(Rowland等人，(1986) *Cancer Immunol. Immunother.*, 21:183-87)。該等方法中所使用之藥物包括道諾黴素、多柔比星、甲胺喋呤及長春地辛(Rowland等人，(1986)，同上文)。抗體-毒素結合物中所使用之毒素包括細菌毒素，諸如白喉毒素(diphtheria toxin)；植物毒素，諸如蓖麻毒素(ricin)；小分子毒素，諸如苯醌安莎黴素(geldanamycin)(Mandler等人，(2000) *Jour. of the Nat. Cancer Inst.* 92(19):1573-1581；Mandler等人，(2000) *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 10:1025-1028；Mandler等人，(2002) *Bioconjugate Chem.*

13:786-791)；美登素類(maytansinoid)(EP 1391213；Liu等人，(1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623)及刺胞黴素(calicheamicin)(Lode等人，(1998) Cancer Res. 58:2928；Hinman等人，(1993) Cancer Res. 53:3336-3342)。該等毒素可藉由包括微管結合(tubulin binding)、DNA結合或拓撲異構酶抑制之機制來影響其細胞毒性及細胞生長抑制作用。某些細胞毒性藥物當與大抗體或蛋白受體配位基結合時傾向於不具活性或具有較低活性。

ZEVALIN®(替伊莫單抗(ibrutinomab tiuxetan)，Biogen/Idec)為一種抗體-放射性同位素結合物，其係由針對見於正常及惡性B淋巴細胞表面上之CD20抗原的鼠IgG1 κ 單株抗體及由硫脲連接子-螯合劑結合之¹¹¹In或⁹⁰Y放射性同位素構成(Wiseman等人，(2000) Eur. Jour. Nucl. Med. 27(7):766-77；Wiseman等人，(2002) Blood 99(12):4336-42；Witzig等人，(2002) J. Clin. Oncol. 20(10):2453-63；Witzig等人，(2002) J. Clin. Oncol. 20(15):3262-69)。儘管ZEVALIN具有對抗B細胞非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)之活性，但投藥在大多數患者體內引起嚴重且長期之血球減少。MYLOTARG™(吉妥單抗(gemtuzumab ozogamicin)，Wyeth Pharmaceuticals)(一種由連接至刺胞黴素之hu CD33抗體構成的抗體藥物結合物)已於2000年批准用於注射治療急性骨髓白血病(Drugs of the Future (2000) 25(7):686；美國專利第4970198號、第5079233號、第5585089號、第5606040號、第5693762號、第5739116號、第5767285

號、第 5773001 號)。Cantuzumab mertansine(Immunogen, Inc.)(一種由經由二硫化物連接子 SPP 連接至美登素類藥物部分 DM1 之 huC242 抗體構成的抗體藥物結合物)已測試用於治療表現 CanAg 之癌症，諸如結腸癌、胰腺癌、胃癌及其他癌症。MLN-2704(Millennium Pharm., BZL Biologics, Immunogen Inc.)(一種由連接至美登素類藥物部分 DM1 之抗前列腺特異性膜抗原(PSMA)單株抗體構成之抗體藥物結合物)已測試用於潛在治療前列腺腫瘤。將奧瑞他汀肽(auristatin peptide)(奧瑞他汀 E(AE))及單甲基奧瑞他汀(MMAE)(海兔毒肽(dolastatin)之合成類似物)與嵌合單株抗體 cBR96(對癌之路易 Y 具特異性)及 cAC10(對血液科惡性疾病之 CD30 具特異性)(Doronina 等人，(2003) Nature Biotechnology 21(7):778-784)結合且用於治療發展。

可用於產生免疫結合物之化學治療劑已於本文(上文)中得以描述。可使用之酶活性毒素及其片段包括白喉 A 鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素 A 鏈(來自綠膿桿菌)、蓖麻毒素 A 鏈、相思子毒素 A 鏈、葫蘆根毒蛋白(modeccin)A 鏈、帚麴菌素(α -sarcin)、桐油樹蛋白(Aleurites fordii protein)、康乃馨蛋白(dianthin protein)、垂商陸蛋白(Phytolacca americana protein)(PAPI、PAPII 及 PAP-S)、苦瓜(momordica charantia)抑制劑、麻楓樹蛋白(curcin)、巴豆素(crocin)、sapaonaria officinalis 抑制劑、天堂果蛋白(gelonin)、有絲分裂素(mitogellin)、侷限麴菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、伊諾黴素(enomycin)及黴菌毒素

(tricothecene)。參看例如於1993年10月28日公開之WO 93/21232。多種放射核種可用於產生放射結合之抗體。實例包括 ^{212}Bi 、 ^{131}I 、 ^{131}In 、 ^{90}Y 及 ^{186}Re 。抗體與細胞毒性劑之結合物係使用多種雙功能蛋白偶聯劑製得，該等蛋白偶聯劑諸如N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫醇)丙酸酯(SPDP)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、醯亞胺酯(諸如己二亞胺酸二甲酯鹽酸鹽)之雙功能衍生物、活性酯(諸如辛二酸二琥珀醯亞胺酯)、醛類(諸如戊二醛)、雙-疊氮基化合物(諸如雙-(對疊氮基苯甲醯基)己二胺)、雙-重氮鹽衍生物(諸如雙-(對重氮鹽苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。舉例而言，蓖麻毒素免疫毒素可如Vitetta等人，Science, 238:1098 (1987)中所述來製備。碳14標記之1-異硫代氰基苄基-3-甲基二伸乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)為一種用於使放射性核苷酸與抗體結合之例示性螯合劑。參看WO 94/11026。

本文亦涵蓋抗體與一或多種小分子毒素(諸如刺胞黴素、美登素類、海兔毒肽、奧瑞他汀、單端孢黴烯族毒素及CC1065)之結合物，以及具有毒素活性的該等毒素之衍生物。

美登素及美登素類物

在某些實施例中，免疫結合物包含與一或多個美登素類分子結合之本發明抗體。

美登素類物為藉由抑制微管蛋白聚合而起效之有絲分裂

抑制劑。美登素首先係自東非灌木齒葉美登木 (east African shrub *Maytenus serrata*) 分離 (美國專利第 3,896,111 號)。隨後，發現某些微生物類亦產生美登素類物，諸如美登醇及 C-3 美登醇酯 (美國專利第 4,151,042 號)。合成美登醇及其衍生物及類似物揭示於 (例如) 美國專利第 4,137,2304 號、第 248,870 號、第 4,256,746 號、第 4,260,608 號、第 4,265,814 號、第 4,294,757 號、第 4,307,016 號、第 4,308,268 號、第 4,308,269 號、第 4,309,428 號、第 4,313,946 號、第 4,315,929 號、第 4,317,821 號、第 4,322,348 號、第 4,331,598 號、第 4,361,650 號、第 4,364,866 號、第 4,424,219 號、第 4,450,254 號、第 4,362,663 號及第 4,371,533 號中。

美登素類藥物部分為抗體藥物結合物中最引人關注之藥物部分，此係因為其：(i) 相對易於藉由醱酵或化學改質、醱酵產物之衍生作用製備得到；(ii) 經受由適於經由非二硫化物連接子與抗體結合之官能基進行的衍生作用；(iii) 在血漿中穩定；及 (iv) 有效對抗多種腫瘤細胞株。

美登素類藥物部分之例示性實施例包括：DM1、DM3 及 DM4。含有美登素類物之免疫結合物、其製造方法及其治療用途係揭示於 (例如) 美國專利第 5,208,020 號、第 5,416,064 號及歐洲專利 EP 0 425 235 B1 中，該等專利之揭示內容以引用的方式明確地併入本文中。Liu 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623 (1996) 描述包含連接至針對人類結腸直腸癌之單株抗體 C242 之美登素類物 (稱為 DM1) 的免疫結合物。已發現結合物對於所培養之結腸癌

細胞具有高細胞毒性，且其在體內腫瘤生長檢定中展示抗腫瘤活性。Chari等人，Cancer Research 52:127-131 (1992) 描述免疫結合物，其中美登素類物係經由二硫化物連接子與結合至人類結腸癌細胞株的抗原之鼠抗體A7結合，或與結合HER-2/neu致癌基因之另一鼠單株抗體TA.1結合。在體外，於每個細胞表現 3×10^5 個HER-2表面抗原之人類乳癌細胞株SK-BR-3中測試TA.1-美登素類物結合物的細胞毒性。藥物結合物達成與游離美登素類藥物類似之細胞毒性程度，該細胞毒性程度可藉由增加每個抗體分子美登素類物分子之數目而增加。A7-美登素類物結合物在小鼠中展示低全身性細胞毒性。

可藉由將抗體與美登素類物分子化學連接來製備抗體-美登素類物結合物，而不會顯著減小抗體或美登素類物分子之生物學活性。參看例如，美國專利第5,208,020號(該專利之揭示內容係以引用的方式明確地併入本文中)。平均每個抗體分子結合3-4個美登素類物分子已展示出增強靶向細胞的細胞毒性之效用，而對抗體功能或溶解性並無不利影響，儘管預期甚至1分子毒素/抗體即可增強細胞毒性(優於使用純抗體)。美登素類物已為此項技術中所熟知，且可藉由已知技術或自天然來源分離而合成。適當之美登素類物揭示於(例如)美國專利第5,208,020號及上文提及之其他專利及非專利公開案中。美登素類物包括(但不限於)美登醇及在芳環中或美登素醇分子之其他位置處經修飾之美登醇類似物(諸如各種美登醇酯)。

此項技術中已知多種用於製造抗體-美登素類物結合物之連接基，包括下列文獻中所揭示者：例如，美國專利第5,208,020號；或EP專利0 425 235 B1；Chari等人，Cancer Research 52:127-131 (1992)；及2005年8月4日公開之美國專利申請公開案第US20050169933號，該等專利之揭示內容係以引用的方式明確地併入本文中。可如2005年8月4日公開之美國專利申請公開案第US20050169933號中所揭示來製備包含連接子組份SMCC之抗體-美登素類物結合物。連接基包括二硫化物基團、硫酯基團、酸不穩定基團、光不穩定基團、肽酶不穩定基團或酯酶不穩定基團，如上文所識別之專利中所揭示。額外連接基已於本文中得以描述及例示說明。

抗體與美登素類物之結合物可使用多種雙功能蛋白偶聯劑製得，該等蛋白偶聯劑諸如N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、琥珀醯亞胺基-4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(SMCC)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、醯亞胺酯(諸如己二亞胺酸二甲酯鹽酸鹽)之雙功能衍生物、活性酯(諸如辛二酸二琥珀醯亞胺酯)、醛類(諸如戊二醛)、雙-疊氮基化合物(諸如雙-(對疊氮基苯甲醯基)己二胺)、雙-重氮鹽衍生物(諸如雙-(對重氮鹽苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。偶聯劑包括(但不限於)用於提供雙硫鍵之N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)(Carlsson等人，Biochem. J. 173:723-737

(1978))及4-(2-吡啶基硫基)戊酸N-琥珀醯亞胺酯(SPP)。

可視連接類型而將連接子附著於美登素類物分子之各種位置處。舉例而言，可使用習知之偶聯技術藉由與羥基反應形成酯鍵。反應可發生於具有羥基之C-3位置、經羥甲基改質之C-14位置、經羥基改質之C-15位置及具有羥基之C-20位置。在一實施例中，鍵結係形成於美登醇或美登醇類似物之C-3位置處。

奧瑞他汀及海兔毒肽

在某些實施例中，免疫結合物包含與海兔毒肽或海兔毒肽之肽類似物及衍生物奧瑞他汀結合之本發明抗體(美國專利第5635483號、第5780588號)。海兔毒肽及奧瑞他汀已展示出會干擾微管動力學、GTP水解及核及細胞分裂(Woyke等人，(2001) *Antimicrob. Agents and Chemother.* 45(12):3580-3584)且具有抗癌(U.S. 5663149)及抗真菌活性(Pettit等人，(1998) *Antimicrob. Agents Chemother.* 42:2961-2965)。可經由肽藥物部分之N(胺基)末端或C(羧基)末端使海兔毒肽或奧瑞他汀藥物部分附著於抗體(WO 02/088172)。

例示性奧瑞他汀實施例包括連接N末端之單甲基奧瑞他汀藥物部分DE及DF，其揭示於"Monomethylvaline Compounds Capable of Conjugation to Ligands"，2005年10月27日公開之美國專利公開案第US20050238649號，其揭示內容係以全文引用的方式明確地併入本文中。

例示性奧瑞他汀實施例包括MMAE及MMAF。包含MMAE或MMAF及各種連接子組份(本文進一步描述)之其

他例示性實施例包括 Ab-MC-vc-PAB-MMAF、Ab-MC-vc-PAB-MMAE、Ab-MC-MMAE及Ab-MC-MMAF。

通常，基於肽之藥物部分可藉由在兩個或兩個以上胺基酸及/或肽片段之間形成肽鍵而製備。此等肽鍵可(例如)根據肽化學領域中熟知之液相合成方法(參看E. Schröder及K. Lübke, "The Peptides", 第1卷, 第76-136頁, 1965, Academic Press)製備。奧瑞他汀/海兔毒肽藥物部分可根據以下文獻之方法製備: U.S. 5,635,483; U.S. 5,780,588; Pettit等人, (1989) J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465; Pettit等人, (1998) Anti-Cancer Drug Design 13:243-277; Pettit, G.R.等人, Synthesis, 1996, 719-725; 及Pettit等人, (1996) J. Chem. Soc. Perkin Trans. 15:859-863。亦參看 Doronina (2003) Nat Biotechnol 21(7):778-784; "Monomethylvaline Compounds Capable of Conjugation to Ligands", 2004年11月5日公開, 美國序列號第10/983,340號, 該文獻係以全文引用的方式併入本文(揭示(例如)連接子及製備與連接子結合的諸如MMAE及MMAF之單甲基纈胺酸化合物的方法)。

刺胞黴素

在其他實施例中, 免疫結合物包含與一或多個刺胞黴素分子結合之本發明抗體。抗生素之刺胞黴素家族能夠產生亞皮莫耳(sub-picomolar)濃度之雙鏈DNA斷裂。有關刺胞黴素家族結合物之製備, 參看美國專利第5,712,374號、第5,714,586號、第5,739,116號、第5,767,285號、第5,770,701

號、第 5,770,710 號、第 5,773,001 號及第 5,877,296 號(均讓渡於 American Cyanamid Company)。可使用之刺胞黴素之結構類似物包括(但不限於) γ_1^I 、 α_2^I 、 α_3^I 、N-乙醯基- γ_1^I 、PSAG 及 θ_1^I (Hinman 等人, Cancer Research 53:3336-3342 (1993); Lode 等人, Cancer Research 58:2925-2928 (1998); 及上文所提及之讓渡於 American Cyanamid 的美國專利)。可與抗體結合之另一抗腫瘤藥物為 QFA, 其為抗葉酸物。刺胞黴素與 QFA 皆具有細胞內作用位點且不易於跨過質膜。因此, 細胞經由抗體介導之內化作用攝取該等藥劑會顯著增強其細胞毒素作用。

其他細胞毒性劑

可與本發明抗體結合之其他抗腫瘤劑包括 BCNU、鏈脲佐菌素(streptozotycin)、長春新鹼及 5-氟尿嘧啶(美國專利第 5,053,394 號、第 5,770,710 號中所述之共同稱為 LL-E33288 複合物的藥劑家族), 以及埃斯波黴素(esperamicin)(美國專利 5,877,296)。

可使用之酶活性毒素及其片段包括白喉 A 鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素 A 鏈(來自綠膿桿菌)、蓖麻毒素 A 鏈、相思子毒素 A 鏈、蒴蓮根毒蛋白(modeccin)A 鏈、帚麴菌素(α -sarcin)、桐油樹蛋白(Aleurites fordii protein)、康乃馨蛋白(dianthin protein)、垂商陸蛋白(Phytolacca americana protein)(PAPI、PAPII 及 PAP-S)、苦瓜(momordica charantia)抑制劑、麻楓樹蛋白(curcin)、巴豆素(crotonin)、葡萄鱗草(sapaonaria officinalis)抑制劑、天堂果蛋白

(gelonin)、有絲分裂素(mitogellin)、侷限麴菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、伊諾黴素(enomycin)及黴菌毒素(tricothecene)。參看例如1993年10月28日公開之WO 93/21232。

本發明另外涵蓋抗體與具有核分解活性之化合物(例如，核糖核酸酶或DNA內切酶，諸如脫氧核糖核酸酶；DNA酶)之間所形成的免疫結合物。

為選擇性破壞腫瘤，抗體可包含高度放射性原子。多種放射性同位素可用於產生放射結合之抗體。實例包括At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹²及Lu之放射性同位素。當使用結合物進行偵測時，其可包含：用於閃爍攝影研究(scintigraphic study)之放射性原子，例如Tc^{99m}或I¹²³；或用於核磁共振(NMR)成像(亦稱為磁共振成像，MRI)之自旋標記，諸如碘-123及碘-131、銦-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、釷、錳或鐵。

可以已知方式將放射性標記或其他標記併入結合物中。舉例而言，可生物合成肽，或可藉由使用適當胺基酸前驅物進行化學胺基酸合成(例如，涉及以氟-19胺基酸替代氫)來合成肽。可經由半胱胺酸殘基將諸如Tc^{99m}或I¹²³、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸及In¹¹¹之標記附著於肽中。可經由離胺酸殘基附著釷-90。IODOGEN方法(Fraker等人，(1978) Biochem. Biophys. Res. Commun. 80: 49-57)可用於併入碘-123。"Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy"(Chatal, CRC Press 1989)詳細描述其他方法。

抗體與細胞毒性劑之結合物可使用多種雙功能蛋白偶聯劑製得，該等蛋白偶聯劑諸如N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、琥珀醯亞胺基-4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(SMCC)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、醯亞胺酯(諸如己二亞胺酸二甲酯鹽酸鹽)之雙功能衍生物、活性酯(諸如辛二酸二琥珀醯亞胺酯)、醛類(諸如戊二醛)、雙-疊氮基化合物(諸如雙-(對疊氮基苯甲醯基)-乙二胺)、雙-重氮鹽衍生物(諸如雙-(對重氮鹽苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。舉例而言，蓖麻毒素免疫毒素可如 Vitetta 等人，Science, 238:1098 (1987)所述來製備。碳14標記之1-異硫代氰基苄基-3-甲基二仲乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)為一種用於使放射性核苷酸與抗體結合之例示性螯合劑。參看 WO 94/11026。連接子可為促進細胞中之細胞毒性藥物釋放的"可裂解連接子"。舉例而言，可使用酸不穩定連接子、肽酶敏感性連接子、光不穩定連接子、二甲基連接子或含二硫化物之連接子(Chari 等人，Cancer Research 52:127-131 (1992)；美國專利第5,208,020號)。

本發明之化合物特別涵蓋(但不限於)用如下交聯劑試劑製備之ADC：BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺酸基-EMCS、磺酸基-GMBS、磺酸基-KMUS、磺酸基-MBS、磺酸基-SIAB、磺酸基-SMCC及磺

酸基-SMPB及SVSB(琥珀醯亞胺基-(4-乙烯基碇)苯甲酸酯)，該等交聯劑試劑為市售的(例如，購自Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A)。參看2003-2004 Applications Handbook and Catalog，第467-498頁。

抗體藥物結合物之製備

在本發明之抗體藥物結合物(ADC)中，抗體(Ab)係經由連接子(L)與一或多種藥物部分(D)結合，例如每個抗體約1至約20種藥物部分。使用熟習此項技術者已知之化學反應、條件及試劑，可藉由若干途徑來製備式I之ADC，該等途徑包括：(1)使抗體之親核基團與二價連接子試劑反應以經由共價鍵形成Ab-L，隨後與藥物部分D反應；及(2)使藥物部分之親核基團與二價連接子試劑反應以經由共價鍵形成D-L，隨後與抗體之親核基團反應。用於製備ADC之額外方法已描述於本文中。

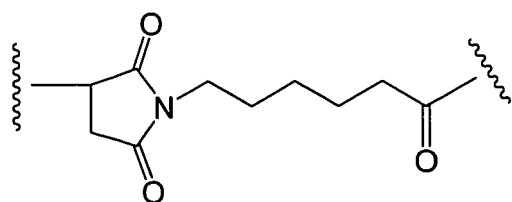


連接子可由一或多種連接子組份構成。例示性連接子組份包括6-馬來醯亞胺基己醯基("MC")、馬來醯亞胺基丙醯基("MP")、纈胺酸-瓜胺酸("val-cit")、丙胺酸-苯丙胺酸("ala-phe")、對胺基苯甲氧基羰基("PAB")、4-(2-吡啶基硫基)戊酸N-琥珀醯亞胺酯("SPP")、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1羧酸N-琥珀醯亞胺酯("SMCC")及(4-碘-乙醯基)胺基苯甲酸N-琥珀醯亞胺酯("SIAB")。額外之連接子組份已為此項技術所知且某些已於本文中描述。亦參看"Monomethylvaline Compounds Capable of Conjugation to

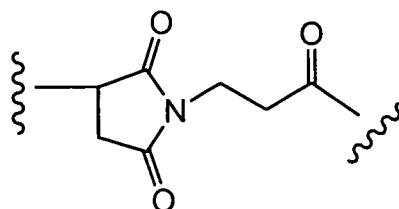
Ligands"，2004年11月5日公開，美國序列號第10/983,340號，其內容係以全文引用的方式併入本文中。

在某些實施例中，連接子可包含胺基酸殘基。例示性胺基酸連接子組份包括二肽、三肽、四肽或五肽。例示性三肽包括：纈胺酸-瓜胺酸(vc或val-cit)、丙胺酸-苯丙胺酸(af或ala-phe)。例示性三肽包括：甘胺酸-纈胺酸-瓜胺酸(gly-val-cit)及甘胺酸-甘胺酸-甘胺酸(gly-gly-gly)。包含胺基酸連接子組份之胺基酸殘基包括彼等天然存在者，以及少數胺基酸及非天然存在之胺基酸類似物，諸如瓜胺酸。可設計胺基酸連接子組份且優化其對由特定酶(例如，腫瘤相關蛋白酶、組織蛋白酶B、C及D或纖溶蛋白酶)進行的酶裂解之選擇性。

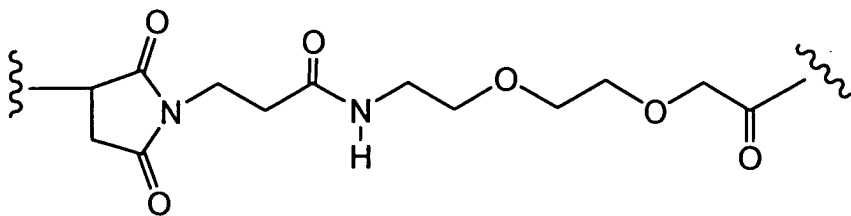
例示性連接子組份之結構展示於下文中(其中波浪線表示與ADC之其他組份共價連接之位點)：



MC

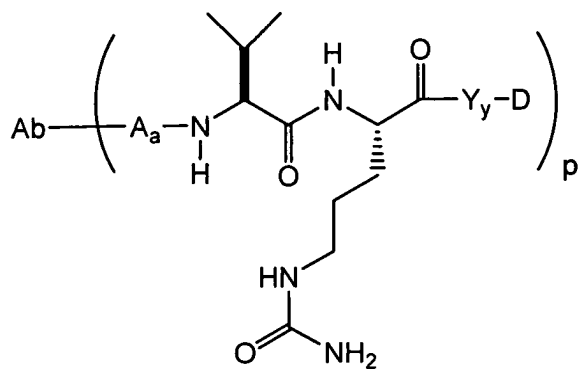


MP

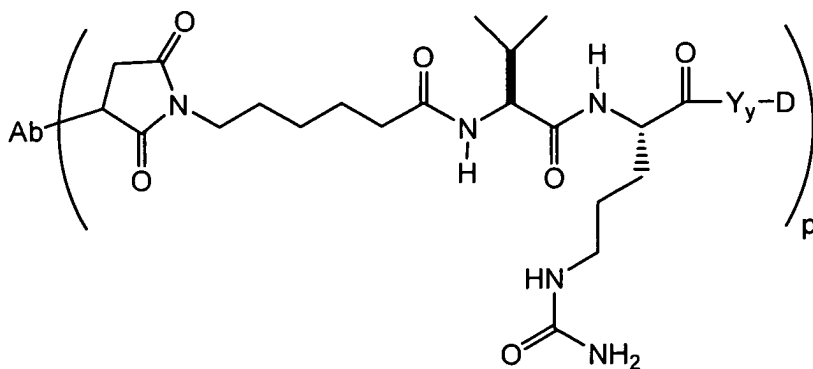


MPEG

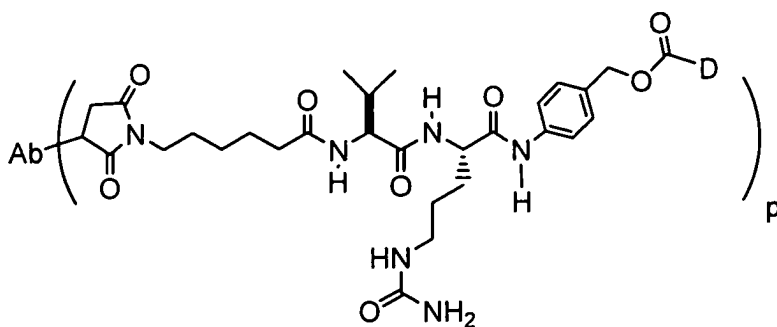
額外之例示性連接子組份及縮寫包括(其中描述抗體(Ab)及連接子，且p為1至約8)：



Val-cit



MC-val-cit



MC-val-cit-PAB

抗體上之親核基團包括(但不限於)：(i)N-末端胺基；(ii)側鏈胺基，例如離胺酸；(iii)側鏈硫醇基，例如半胱胺

酸；及(iv)糖羥基或胺基，其中抗體經糖基化。胺基、硫醇基及羥基為親核基團且能夠反應以與連接子部分及連接子試劑之親電子基團形成共價鍵，該等親電子試劑包括：

(i)活性酯，諸如NHS酯、HOBt酯、鹵基甲酸酯及酸鹵化物；(ii)烷基及苄基鹵化物，諸如鹵基乙醯胺；(iii)醛、酮、羧基及馬來醯亞胺基。某些抗體具有可還原之鏈內二硫化物，亦即半胱胺酸橋。可藉由用諸如DTT(二硫蘇糖醇)之還原劑進行處理而使抗體具有與連接子試劑結合之反應性。由此，理論上每一半胱胺酸橋將形成兩個反應性硫醇親核試劑。可經由離胺酸與2-亞胺基硫雜環戊烷(Traut氏試劑)之反應將額外親核基團引入抗體中，從而使胺轉化為硫醇。可藉由引入一個、兩個、三個、四個或四個以上半胱胺酸殘基(例如，製備包含一或多個非天然半胱胺酸胺基酸殘基之突變體抗體)將反應性硫醇基團引入抗體(或其片段)中。

本發明之抗體藥物結合物亦可藉由修飾抗體以引入可與連接子試劑或藥物的親核取代基反應之親電子部分而產生。糖基化抗體之糖可經(例如)過碘酸鹽氧化試劑氧化以形成可與連接子試劑或藥物部分之胺基反應的醛或酮基。所得亞胺希夫鹼(Schiff base)基團可形成穩定鍵，或可經(例如)硼氫化物試劑還原以形成穩定胺鍵。在一實施例中，糖基化抗體之碳水化合物部分與半乳糖氧化酶或偏高碘酸鈉的反應可於蛋白中得到可與藥物之適當基團反應的羰基(醛及酮)(Hermanson, Bioconjugate Techniques)。在另

一實施例中，含有N-末端絲胺酸或蘇胺酸殘基之蛋白可與偏高碘酸鈉反應，導致產生替代第一胺基酸之醛 (Geoghegan 及 Stroh, (1992) Bioconjugate Chem. 3:138-146; U.S. 5362852)。此醛可與藥物部分或連接子親核試劑反應。

同樣，藥物部分之親核基團包括(但不限於)：胺、硫醇、羥基、醯肼、肟、肼、硫半卡腓(thiosemicarbazone)、羧酸肼及芳基醯肼基團，其能夠反應以與連接子部分及連接子試劑之親電子基團形成共價鍵，該等親電子試劑包括：(i)活性酯，諸如 NHS 酯、HOBt 酯、鹵基甲酸酯及酸鹵化物；(ii)烷基及苄基鹵化物，諸如鹵基乙醯胺；(iii)醛、酮、羧基及馬來醯亞胺基。

或者，包含抗體及細胞毒性劑之融合蛋白可(例如)藉由重組技術或肽合成製得。DNA之長度可包含編碼結合物之兩個部分的個別區域，該結合物之兩個部分彼此相鄰或由不損害結合物的所需特性之編碼連接子肽之區域分離。

在又一實施例中，抗體可與"受體"(諸如抗生蛋白鏈菌素)結合以用於預靶向腫瘤，其中將抗體-受體結合物投與患者，隨後使用清除劑自循環中移除未結合之結合物，且接著投用與細胞毒性劑(例如，放射性核苷酸)結合之"配位基"(例如，抗生物素蛋白)。

可藉由使本文所提供之任何抗體與如下所述之 MC-MMAE 結合來製備抗體(Ab)-MC-MMAE。用過量 100 mM 二硫蘇糖醇(DTT)處理在 pH 8.0 下溶解於 500 mM 硼酸鈉及 500

mM氯化鈉中之抗體。在37°C下培養約30分鐘後，藉由經Sephadex G25樹脂來溶離交換緩衝液，並用具有1 mM DTPA之PBS溶離。根據280 nm下溶液之吸光度來確定經還原抗體之濃度且藉由使硫醇與DTNB(Aldrich, Milwaukee, WI)反應並確定412 nm下之吸光度來確定硫醇濃度，藉此來檢核硫醇/Ab值。於冰上冷卻溶解於PBS中之經還原抗體。於已知濃度之乙腈及水中稀釋藥物連接子試劑馬來醯亞胺基-單甲基奧瑞他汀E(MMAE)(亦即MC-MMAE)，並將其添加至經冷卻之PBS中的經還原抗體2H9中。約1小時後，添加過量馬來醯亞胺以終止反應，並封端任何未反應之抗體硫醇基團。藉由離心超濾來濃縮反應混合物，且藉由經G25樹脂在PBS中溶離來純化2H9-MC-MMAE並使其脫鹽，於無菌條件下使其經0.2 μ m過濾器過濾且冷凍儲存。

抗體-MC-MMAF可根據關於製備Ab-MC-MMAE所提供之方案藉由使本文所提供之任何抗體與MC-MMAF結合而製備。

抗體-MC-val-cit-PAB-MMAE係根據關於製備Ab-MC-MMAE所提供之方案藉由使本文所提供之任何抗體與MC-val-cit-PAB-MMAE結合而製備。

抗體-MC-val-cit-PAB-MMAF係根據關於製備Ab-MC-MMAE所提供之方案藉由使本文所提供之任何抗體與MC-val-cit-PAB-MMAF結合而製備。

如下所述，藉由使本文所提供之任何抗體與SMCC-DM1結合來製備抗體-SMCC-DM1。用4-(N-馬來醯亞胺基甲基)

環己烷-1-羧酸琥珀醯亞胺酯(SMCC, Pierce Biotechnology, Inc)衍生經純化抗體以引入SMCC連接子。具體言之，用7.5莫耳當量SMCC(20 mM於DMSO中，6.7 mg/mL)處理50 mM磷酸鉀/50 mM氯化鈉/2 mM EDTA(pH 6.5)中之20 mg/mL抗體。在環境溫度下，於氫氣下攪拌2小時後，經由用50 mM磷酸鉀/50 mM氯化鈉/2 mM EDTA(pH 6.5)平衡之Sephadex G25管柱過濾反應混合物。彙集含有抗體之溶離份並進行檢定。

用50 mM磷酸鉀/50 mM氯化鈉/2 mM EDTA(pH 6.5)將由此製備之抗體-SMCC稀釋至約10 mg/mL之最終濃度，並使其與DM1於二甲基乙醯胺中之10 mM溶液反應。在環境溫度下，於氫氣下攪拌反應歷經16.5小時。經由Sephadex G25凝膠過濾管柱(1.5×4.9 cm)及1 x PBS(pH 6.5)過濾結合反應混合物。如藉由252 nm及280 nm下之吸光度所量測，DM1藥物與抗體之比率(p)可為約2至5。

如下所述，藉由使本文所提供之任何抗體與SPP-DM1結合來製備Ab-SPP-DM1。用4-(2-吡啶基硫基)戊酸N-琥珀醯亞胺酯衍生經純化抗體以引入二硫基吡啶基。用SPP(5.3莫耳當量於2.3 mL乙醇中)處理44.7 mL含有NaCl(50 mM)及EDTA(1 mM)之50 mM磷酸鉀緩衝液(pH 6.5)中之抗體(376.0 mg, 8 mg/mL)。在環境溫度下，於氫氣下培養90分鐘後，使反應混合物經由用35 mM檸檬酸鈉、154 mM NaCl、2 mM EDTA緩衝液平衡之Sephadex G25管柱進行凝膠過濾。彙集含有抗體之溶離份並進行檢定。如上文所述

確定抗體修飾之程度。

用上述 35 mM 檸檬酸鈉緩衝液 (pH 6.5) 將抗體-SPP-Py (約 10 微莫耳可釋放之 2-硫基吡啶基) 稀釋至約 2.5 mg/mL 之最終濃度。隨後，將 3.0 mM 二甲基乙醯胺 (DMA，於最終反應混合物中為 3% v/v) 中之 DM1 (1.7 當量，17 微莫耳) 添加至抗體溶液中。在環境溫度下，於氫氣下使反應進行約 20 小時。將反應裝載於用 35 mM 檸檬酸鈉、154 mM NaCl (pH 6.5) 平衡之 Sephacryl S300 凝膠過濾管柱 (5.0 cm × 90.0 cm, 1.77 L) 上。流動速率可為約 5.0 mL/min 並收集 65 份溶離份 (各 20.0 mL)。藉由量測 252 nm 及 280 nm 下之吸光度來確定每個抗體分子所鍵聯之 DM1 藥物分子的數目 (p')，每個 2H9 抗體可具有約 2 至 4 個 DM1 藥物部分。

如下所述，藉由使本文所提供之任何抗體與 BMPEO-DM1 結合來製備抗體-BMPEO-DM1。藉由雙-馬來醯亞胺基試劑 BM(PEO)₄ (Pierce Chemical) 來修飾抗體，於抗體表面存留未反應之馬來醯亞胺基。此舉可藉由以下步驟實現：將 BM(PEO)₄ 溶解於 50% 乙醇/水混合物中直至 10 mM 之濃度，且以 10 倍莫耳過量將其添加至濃度為約 1.6 mg/ml 的含有經磷酸鹽緩衝之食鹽水中的抗體之溶液 (10 微莫耳濃度) 中，且使其反應 1 小時以形成抗體-連接子中間物 2H9-BMPEO。藉由於具有 150 mM NaCl 之 30 mM 檸檬酸鹽緩衝液 (pH 6) 中進行凝膠過濾 (HiTrap 管柱, Pharmacia) 來移除過量 BM(PEO)₄。將約 10 倍莫耳過量之 DM1 溶解於二甲基乙醯胺 (DMA) 中並將其添加至 2H9-BMPEO 中間物中。亦

可使用二甲基甲醯胺(DMF)來溶解藥物部分試劑。使反應混合物反應隔夜，此後進行凝膠過濾或透析至PBS中以移除未反應DM1。使用在PBS中經S200管柱進行之凝膠過濾來移除高分子量凝集物並供給經純化之2H9-BMPEO-DM1。

抗體衍生物

可進一步修飾本發明抗體以使其含有此項技術中已知且可易於獲得之額外非蛋白部分。在一實施例中，適於衍生抗體之部分為水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啶酮、聚-1,3-二氧戊環、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或無規共聚物)及葡聚糖或聚(n-乙烯吡咯啶酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚乙氧基化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛可因其於水中之穩定性而於製造時具有優勢。聚合物可具有任何分子量，且可具支鏈或不具支鏈。附著於抗體之聚合物的數目可變化，且若附著一種以上聚合物，則該等聚合物可為相同或不同分子。一般而言，用於衍生作用之聚合物之數目及/或類型可基於包括(但不限於)待改良抗體之特殊特性或功能、抗體衍生物是否將用於指定條件下之療法等考慮而確定。

在另一實施例中，提供可藉由曝露至輻射而選擇性加熱之抗體及非蛋白部分之結合物。在一實施例中，非蛋白部

分為碳奈米管(Kam等人, Proc. Natl. Acad. Sci. 102:11600-11605 (2005))。輻射可具有任何波長, 且包括(但不限於)對一般細胞無害但將非蛋白部分加熱至殺死臨近抗體-非蛋白部分的細胞之溫度的波長。

醫藥調配物

藉由將具有所需純度之抗體與生理學上可接受之可選載劑、賦形劑或穩定劑混合(*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 第16版, Osol, A.編輯(1980))來製備呈水溶液、凍乾或其他乾燥調配物形式之包含本發明抗體的治療調配物以供儲存。在所使用之劑量及濃度下, 可接受之載劑、賦形劑或穩定劑對受體無毒, 且包括緩衝液, 諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽、組胺酸及其他有機酸; 抗氧化劑, 包括抗壞血酸及甲硫胺酸; 防腐劑(諸如十八基二甲基苄基氯化銨; 氯化六羥季銨; 氯化苯甲煙銨; 苄索氯銨; 酚、丁基醇或苄基醇; 對羥基苯甲酸烷基酯, 諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯; 兒茶酚; 間苯二酚; 環己醇; 3-戊醇及間甲酚); 低分子量(小於約10個殘基)多肽; 蛋白, 諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白; 親水性聚合物, 諸如聚乙烯吡咯啉酮; 胺基酸, 諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、組胺酸、精胺酸或離胺酸; 單糖、雙糖及其他碳水化合物, 包括葡萄糖、甘露糖或糊精; 螯合劑, 諸如EDTA; 糖, 諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇; 成鹽反離子, 諸如鈉; 金屬錯合物(例如Zn-蛋白錯合物); 及/或非離子界面活性劑, 諸如TWEEN™、PLURONICS™

或聚乙二醇(PEG)。

本文之調配物亦可視需要含有一種以上活性化合物以用於所治療之特定適應症，包括(但不限於)具有彼此無不利影響之互補活性者。此等分子適於以有效用於預定目的之量存在於組合中。

亦可將活性成份截留於膠狀藥物傳遞系統(例如，脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)或巨乳液中(例如)藉由凝聚技術或界面聚合而製備之微膠囊(例如，分別為羥甲基纖維素或明膠-微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊)中。此等技術揭示於 *Remington's Pharmaceutical Sciences*，第16版，Osol, A.編輯(1980)中。

待用於體內投藥之調配物必須無菌。此易於藉由經由無菌濾膜進行過濾來實現。

可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之適當實例包括含有本發明免疫球蛋白之固體疏水性聚合物的半滲透基質，該等基質為成形物品之形式，例如薄膜或微膠囊。持續釋放基質之實例包括聚酯、水凝膠(例如，聚(2-羥基乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚乳酸交酯(美國專利第3,773,919號)、L-麩胺酸及 γ 乙基-L-麩胺酸酯之共聚物、不可降解乙烯-乙酸乙烯酯、可降解乳酸-乙醇酸共聚物(諸如LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物及乙酸亮丙瑞林構成的可注射微球體))及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。儘管諸如乙烯-乙酸乙烯酯及乳酸-乙醇酸之聚合物使得分子能夠釋放超過100天，但某些水凝膠卻於較短時間內釋放蛋白。

當經封裝免疫球蛋白在體內保持一段長時間時，其可因在37℃下暴露至濕氣而變性或凝集，導致生物學活性之喪失及免疫原性之可能改變。可視所涉及之機制而關於穩定性來設計合理戰略舉例而言，若發現凝集機制為經由硫基-二硫化物互換形成分子間S-S鍵，則可藉由修飾氫硫基殘基、由酸性溶液凍乾、控制濕氣含量、使用適當添加劑且產生特定聚合物基質組合物來達成穩定性。

用途

本發明抗體可用於(例如)體外、離體及體內治療方法中。本發明抗體可用作拮抗劑以部分或完全阻斷特定抗原之體外、離體及/或體內活性。此外，至少某些本發明抗體可中和來自其他物種之抗原的活性。因此，本發明抗體可用於抑制(例如)含有抗原之細胞培養物中、人類受檢者體內或具有與本發明抗體交叉反應的抗原之其他哺乳動物受檢者(猩猩、狒狒、狨猴、獼猴及恆河猴、豬或小鼠)體內的特定抗原。在一實施例中，可藉由使本發明抗體與抗原接觸從而抑制抗原活性而將該抗體用於抑制抗原活性。在一實施例中，抗原為人類蛋白分子。

在一實施例中，本發明抗體可用於抑制罹患抗原活性有害之病症的受檢者體內之抗原的方法中，該方法包含向受檢者投與本發明抗體，從而使得受檢者體內之抗原活性受到抑制。在一實施例中，抗原為人類蛋白分子且受檢者為人類受檢者。或者，受檢者可為表現與本發明抗體結合之抗原的哺乳動物。又，受檢者可為已引入(例如藉由投與

抗原或藉由表現抗原轉殖基因)抗原之哺乳動物。可出於治療目的而將本發明抗體投與至人類受檢者。此外，可出於獸醫目的而將本發明抗體投與至表現與抗體交叉反應之抗原的非人類哺乳動物(例如，靈長類動物、豬或小鼠)或將其作為人類疾病之動物模型。就作為人類疾病之動物模型而言，此等動物模型可用於評估本發明抗體之治療效用(例如，測試投藥劑量及時程)。本發明抗體可用於治療、抑制、延緩與聚泛素及聚泛素化蛋白之異常表現及/或活性相關的疾病、病症或病況之進程、防止/延緩其復發、改善或預防該等疾病、病症或病況，該等疾病、病症或病況包括(但不限於)癌症、肌肉病症、與泛素路徑相關之遺傳病症、免疫/發炎病症、神經病症及其他與泛素路徑相關之病症。

在一態樣中，本發明之阻斷抗體對具有特定離胺酸鍵聯之聚泛素具特異性，且藉由阻斷或干擾具有特定離胺酸鍵聯之聚泛素及與該聚泛素相互作用之蛋白之間的相互作用而抑制正常聚泛素活性，藉此抑制相對應的信號路徑及其他相關分子或細胞事件。

在某些實施例中，將包含與細胞毒性劑結合之抗體之免疫結合物投與至患者。在某些實施例中，免疫結合物及/或與其結合之抗原經細胞內化，引起免疫結合物殺死其所結合之靶向細胞之治療效用增加。在一實施例中，細胞毒性劑靶向或干擾靶向細胞中之核酸。此等細胞毒性劑之實例包括本文所示之任何化學治療劑(諸如美登素類物或刺

胞黴素)、放射性同位素或核糖核酸酶或DNA核酸內切酶。

本發明抗體可單獨或與其他組合物組合用於療法中。舉例而言，本發明抗體可與另一抗體及/或佐劑/治療劑(例如，類固醇)共投與。舉例而言，本發明抗體可與消炎劑及/或防腐劑組合於治療流程中，例如用於治療本文所述之任何疾病，包括癌症、肌肉病症、與泛素路徑相關之遺傳病症、免疫/發炎病症、神經病症及其他與泛素路徑相關之病症。上文所述之此等組合療法包括組合投藥(其中相同或單獨調配物中包括兩種或兩種以上藥劑)及單獨投藥，在單獨投藥之情形下，投與本發明抗體可在投與佐劑療法之前及/或之後發生。

本發明抗體(及治療佐劑)可藉由任何適當之方式投與，包括非經腸、皮下、腹膜內、肺內及鼻內，且若有必要用於局部治療，則可於病灶內投藥。非經腸輸注包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投藥。此外，抗體亦適於藉由脈動輸注(pulse infusion)而投與，尤其以遞減劑量投與抗體。部分地視投藥之短期或長期性而定，可藉由任何適當途徑(例如，藉由注射，諸如靜脈內或皮下注射)給藥。

可在製備及投與本發明抗體時考慮本發明抗體之結合標靶位置。當結合標靶為細胞內分子時，本發明之實施例提供待引入至結合標靶所定位之細胞中的抗體或其抗原結合片段。在一實施例中，本發明抗體可於細胞內表現為胞內

抗體。如本文所用之術語"胞內抗體"係指於細胞內表現且能夠與靶向分子選擇性結合之抗體或其抗原結合部分，如 Marasco, Gene Therapy 4:11-15 (1997)；Kontermann, Methods 34: 163-170 (2004)；美國專利第6,004,940號及第6,329,173號；美國專利申請公開案第2003/0104402號及PCT公開案第WO 2003/077945號中所述。胞內抗體之細胞內表現係藉由將編碼所需抗體或其抗原結合部分(缺乏野生型前導序列及通常與編碼該抗體或抗原結合片段之基因相關的分泌信號)引入至靶向細胞中而實現。將核酸引入細胞中之任何標準方法均可使用，該等方法包括(但不限於)微注射、快速注射(ballistic injection)、電穿孔、磷酸鈣沉澱、脂質體及以載運所關注核酸之反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒及牛痘載體轉染。可將編碼所有或部分本發明之抗聚泛素抗體之一或多種核酸傳遞至靶向細胞中，從而使一或多種能夠於細胞內與聚泛素結合且調節一或多種聚泛素介導之細胞路徑的胞內抗體得以表現。

在另一實施例中，提供內化抗體。抗體可具有增強抗體至細胞中的傳遞之某些特性，或可修飾抗體以使其具有該等特性。用於達成此目的之技術已為此項技術中所知。舉例而言，已知抗體之陽離子化會促進其在細胞內之攝取(參看例如，美國專利第6,703,019號)。脂轉染(lipofection)或脂質體亦可用於將抗體傳遞至細胞中。在使用抗體片段之情形下，與靶向蛋白之結合域特異性結合之最小抑制片段通常有益。舉例而言，基於抗體之可變區序列，可設計

肽分子以使其保持與靶向蛋白序列結合之能力。此等肽可經化學合成及/或藉由重組DNA技術而產生。參看例如，Marasco等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993)。

可藉由此項技術中已知之方法使調節劑多肽進入靶向細胞得以增強。舉例而言，某些序列(諸如得自HIV Tat或觸角足同源域蛋白(Antennapedia homeodomain protein)者)能夠導向跨細胞膜有效攝取異源蛋白。參看例如，Chen等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1999), 96:4325-4329。

當結合標靶位於腦中時，本發明之某些實施例提供橫過血腦屏障之抗體或其抗原結合片段。某些神經退化性疾病係與血腦屏障之滲透性增加有關，因此可易於將抗體或抗原結合片段引至腦中。當血腦屏障仍完整時，存在若干種此項技術中已知用於跨血腦屏障轉運分子之方法，包括(但不限於)物理方法、基於脂質之方法及基於受體及通道之方法。

用於跨血腦屏障轉運抗體或抗原結合片段之物理方法包括(但不限於)完全規避血腦屏障，或藉由在血腦屏障中產生開口。規避方法包括(但不限於)直接注射於腦中(參看例如，Papanastassiou等人，Gene Therapy 9: 398-406 (2002))、間質輸注/增強對流傳遞(參看例如，Bobo等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 2076-2080 (1994))及將傳遞裝置植入腦中(參看例如，Gill等人，Nature Med. 9: 589-595 (2003)；及Gliadel Wafers™, Guildford Pharmaceutical)。在障壁中

產生開口之方法包括(但不限於)超音法(參看例如美國專利公開案第2002/0038086號)、滲透壓法(例如,藉由投與高滲壓甘露糖醇(Neuwelt, E. A., Implication of the Blood-Brain Barrier and its Manipulation, 第1卷及第2卷, Plenum Press, N.Y. (1989)))、藉由(例如)緩激肽或滲透劑A-7進行滲透(參看例如,美國專利第5,112,596號、第5,268,164號、第5,506,206號及第5,686,416號)及以含有編碼抗體或抗原結合片段之基因的載體轉染跨血腦屏障之神經元(參看例如,美國專利公開案第2003/0083299號)。

基於脂質跨血腦屏障轉運抗體或抗原結合片段之方法包括(但不限於)將抗體或抗原結合片段封裝於與抗體結合片段偶聯之脂質體中,該等抗體結合片段係與血腦屏障的血管內皮上之受體結合(參看例如,美國專利申請公開案第20020025313號);及將抗體或抗原結合片段包覆於低密度脂蛋白顆粒(參看例如,美國專利申請公開案第20040204354號)或脂蛋白元E(參看例如,美國專利申請公開案第20040131692號)中。

基於受體及通道跨血腦屏障轉運抗體或抗原結合片段之方法包括(但不限於)使用糖皮質激素阻斷劑來增加血腦屏障之滲透性(參看例如,美國專利申請公開案第2002/0065259號、第2003/0162695號及第2005/0124533號);活化鉀通道(參看例如,美國專利申請公開案第2005/0089473號);抑制ABC藥物轉運體(參看例如,美國專利申請公開案第2003/0073713號);以運鐵蛋白包覆抗體

並調節一或多個運鐵蛋白受體之活性(參看例如，美國專利申請公開案第2003/0129186號)；及使抗體陽離子化(參看例如，美國專利第5,004,697號)。

本發明之抗體組合物應以與良好醫藥規範相符之方式經調配、給藥及投藥。在此情形下需考慮之因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床病況、病症之病因、藥劑之傳遞位點、投藥方法、投藥時程及醫藥從業者已知之其他因素。抗體並非必需但視情形與一或多種當前用於預防或治療所論及之病症之藥劑一起調配。此等其他藥劑之有效量視存在於調配物中之本發明抗體的量、病症或治療之類型及上文所討論之其他因素而定。該等藥劑通常係以與本文所述相同之劑量及投藥途徑使用，或為本文所述劑量之約1至99%，或以經驗/臨床上所確定之任何適當劑量及任何適當途徑使用。

為預防或治療疾病，本發明抗體之適當劑量(當單獨使用或與諸如化學治療劑之其他藥劑組合使用時)將視待治療之疾病類型、抗體類型、疾病之嚴重程度及病程、是否出於預防或治療目的而投與抗體、先前療法、患者臨床病史及對抗體之反應以及主治醫師之判斷而定。抗體適於一次性或經一系列治療投與至患者。視疾病類型及嚴重程度而定，約1 $\mu\text{g/kg}$ 至15 mg/kg (例如，0.1 mg/kg -10 mg/kg)之抗體可為(例如)藉由一或多次單獨投藥或藉由連續輸注而投與至患者之初始候選劑量。一種典型之每日劑量可在約1 $\mu\text{g/kg}$ 至100 mg/kg 或更高劑量之範圍內，此視上文所提

及之因素而定。對於經若干天或更長時間重複投藥而言，視病況而定，通常將持續治療直至出現所需對於疾病症狀之抑制。抗體之一例示性劑量將在約 0.05 mg/kg 至約 10 mg/kg 之範圍內。因此，可以約 0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg 或 10 mg/kg (或其任何組合) 之一或多個劑量向患者投藥。此等劑量可間歇投與，例如每週或每三週 (例如，從而使患者接收約兩個劑量至約二十個劑量或 (例如) 約六個劑量之抗體)。可以較高之初始負載劑量 (loading dose)，隨後以一或多種較低劑量投藥。例示性給藥方案包含投與約 4 mg/kg 之初始負載劑量之抗體，隨後投與約 2 mg/kg 之每週維持劑量的抗體。然而，其他劑量方案亦可用。此療法之進步之處在於易於藉由習知技術及檢定進行監測。

製造物品

在本發明之另一態樣中，提供一種含有可用於治療、預防及/或診斷上文所述病症之材料的製造物品。該製造物品包含容器及容器上或與容器相聯之標籤或包裝插頁。適當之容器包括 (例如) 瓶子、小瓶、注射器等。該等容器可由多種材料 (諸如玻璃或塑料) 形成。容器容納單獨或與有效治療、預防及/或診斷病況之另一組合物組合之組合物，且可具有無菌接取口 (例如，容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針刺穿的塞子之小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為本發明抗體。標籤或包裝插頁指示組合物係用於治療所選擇之病況。此外，製造物品可包含：(a) 其中含有組合物之第一容器，其中該組合物包含本發明抗

體；及(b)其中含有組合物之第二容器，其中該組合物包含另一細胞毒性劑或其他治療劑。在本發明之此實施例中，製造物品可另外包含應指示組合物可用於治療特定病況之包裝插頁。另外或其他，製造物品可另外包含第二(或第三)容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝液，諸如注射用抑菌水(BWFI)、經磷酸鹽緩衝之生理食鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)及右旋糖溶液。其可另外包括就商業及使用者之立場而言合乎需要之其他材料，包括其他緩衝液、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

以下為本發明之方法及組合物之實例。應瞭解，可基於上文所提供之基本描述來實施各種其他實施例。

實例

實例1：第一代抗聚泛素抗體之分離及特性化

A) 庫分選

使來自天然抗體庫之噬菌體經受對包括模擬經K48鍵聯之聚泛素或經K63鍵聯之聚泛素之異肽鍵的固定合成肽之結合選擇。六輪選擇後未觀察到富集。延長合成肽且再次對天然抗體庫進行篩檢。六輪結合選擇後仍未觀察到富集。

使來自天然YS-B抗體庫之噬菌體經受四輪對具有不同的已知泛素異肽鍵之聚泛素鏈的結合選擇。YS-B抗體庫之所有三個重鏈CDR及輕鏈CDR中含有隨機化胺基酸(參看美國公開專利申請案第2005-0106667號)，且該庫係基於人化抗體4D5。

將3至7個單位長度的經酶合成之經K48鍵聯或經K63鍵聯之全長聚泛素鏈(Boston Biochem)固定於96孔Maxisorp immunoplate(NUNC)上。用50 mM碳酸鹽緩衝液(pH 9.6)中之5 $\mu\text{g/ml}$ 經K48或K63鍵聯之聚泛素塗覆該等培養盤隔夜。用經磷酸鹽緩衝之生理食鹽水(PBS)洗滌經塗覆培養盤，並用PBS中的濃度為0.2%之牛血清白蛋白(BSA)或酪蛋白阻斷。隨後，在25°C下用含有0.05%吐溫20之PBS(PBST)洗滌該等培養盤。在室溫下，用100 μl 的每毫升分選緩衝液(BSA或酪蛋白，0.2%於PBST中)中 10^{12} 個噬菌體培養各孔，歷經2小時。於PBST中洗滌各孔八次以移除未結合之噬菌體。藉由用0.1 M HCl培養10分鐘來溶離已結合之噬菌體，且用2 M Tris鹼中和溶離液。於大腸桿菌(*Escherichia coli*)XL1-blue(Stratagene)中且在添加M13-KO7輔助噬菌體(New England Biolabs)之情形下使經溶離之噬菌體增殖。

將所擴增之噬菌體用於對與前一輪中所使用者相同的標靶進行之額外數輪選擇。對於二至四輪選擇而言，分選緩衝液中包括10 $\mu\text{g/ml}$ 泛素作為反選擇。亦在存在與不存在下述額外反選擇之情形下分選三及四輪：在選擇經K48鍵聯之聚泛素時，10 $\mu\text{g/ml}$ 經K63鍵聯之聚泛素；或在選擇經K63鍵聯之聚泛素時，10 $\mu\text{g/ml}$ 經K48鍵聯之聚泛素。

對於二至四輪選擇缺乏聚泛素反選擇之彼等純系而言，使個別純系以96孔格式生長於補充有卡本西林(carbenicillin)及M13-KO7之400 μl 2YT肉湯中。將來自該

等培養物之上清液用於高產量噬菌體ELISA中以篩檢結合至經K48鍵聯之聚泛素、經K63鍵聯之聚泛素、泛素及BSA的純系。使所有純系經受DNA序列分析。定序包括HVR之一部分重鏈，使重鏈高變區得以分析。表1A-C中展示辨識經K48鍵聯之聚泛素或經K48鍵聯與經K63鍵聯之聚泛素之純系的重鏈高變區。表2A及2B中展示辨識經K63鍵聯之聚泛素或經K48鍵聯與經K63鍵聯之聚泛素之純系的重鏈高變區。各純系之輕鏈HVR均未定序，但基於YS-B庫之性質，預期HVR-L1及HVR-L2之序列不變，而預期HVR-L3之序列具純系特異性。根據庫設計，HVR-L1序列為RASQSVSSAVA(SEQ ID NO:79)且HVR-L2序列為SASSLYS(SEQ ID NO: 80)。所有純系具有相同之重鏈及輕鏈框架序列(參看圖4)。

在二至四輪選擇中，一組不同純系包括具有10 µg/ml具不同離胺酸鍵聯之聚泛素(經K48鍵聯之聚泛素或經K63鍵聯之聚泛素)的反選擇。使用10 µl由第四輪選擇溶離之噬菌體以感染正在生長之大腸桿菌CJ236歷經20分鐘，隨後使大腸桿菌CJ236在含有卡本西林之固體瓊脂上生長隔夜。將15毫升補充有卡本西林及氯黴素(chloramphenicol)之2YT肉湯添加至培養盤中以再懸浮含有噬菌粒之CJ236細胞。添加M13-KO7輔助噬菌體。在37°C下偕同攪拌培養1小時後，將2.5 ml懸浮液添加至250 ml補充有卡本西林及康黴素之2YT肉湯中。使懸浮液生長隔夜。

藉由聚乙二醇沉澱收集噬菌體，且使用M13旋轉套組

(Qiagen)分離Kunkel DNA。將1微克Kunkel模板及寡核苷酸F1560-2(TCTTGTGACAAAACCTCACCATCACCATCACCATCACTAGGGCGGTGGCTCTGGTTCCGGTGATTTT)(SEQ ID NO:150)用於Kunkel突變誘發(參看Kunkel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:488 (1985))。以突變誘發反應在大腸桿菌XL1-blue中轉型並在含有卡本西林之固體瓊脂上生長隔夜。隨後，採集個別純系並使其如上文所述生長，且如上文所述以噬菌體ELISA來篩檢對抗經K48鍵聯及經K63鍵聯之聚泛素、單泛素、BSA及抗五組胺酸抗體(Qiagen)之純系。使經識別對抗經K48鍵聯之聚泛素或對抗經K63鍵聯之聚泛素具有特異性的純系經受DNA序列分析。高變區HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3之胺基酸序列展示於表3A-C(對抗經K48鍵聯之聚泛素具特異性)及9A與9B(對抗經K63鍵聯之聚泛素具特異性)中。各純系之輕鏈HVR均未定序，但基於YS-B庫之性質，預期HVR-L1及HVR-L2之序列不變，而預期HVR-L3之序列具純系特異性。根據庫設計，HVR-L1序列為RASQSVSSAVA(SEQ ID NO: 79)且HVR-L2序列為SASSLYS(SEQ ID NO: 80)。所有純系具有相同之重鏈及輕鏈框架序列(參看圖4)。

(B) 產生Fab

為產生Fab，使用來自對抗五組胺酸標記呈陽性之獨特純系的噬菌體上清液來感染大腸桿菌FF34B8(一種藉由與XL1交配並於選擇性固體培養基中培養而將F'離合染色小體(F' episome)添加至34B8菌株中的細胞株)。使經感染細

胞於含有卡本西林之固體瓊脂上劃線並使其生長隔夜。自該等培養盤採集含有噬菌粒之單一FF34B8純系，並使其在37°C下於含有卡本西林之LB中生長隔夜。隨後，使用該等培養物來接種含有卡本西林之500 ml完全CRAP培養基(3.57 g (NH₄)₂SO₄、0.71 g檸檬酸鈉•2H₂O、1.07 g KCl、5.36 g酵母提取物(經證明)、5.36 g Hycase SF(Sheffield))，藉由添加KOH將pH值調節至7.3且以超純水將體積調節至872 mL，高壓滅菌，冷卻至55°C，向其中添加(每L)110 mL 1 M MOPS(pH 7.3)、11 mL 50%葡萄糖及7 mL 1 M MgSO₄，且使其在30°C下於攪拌下生長24小時。藉由離心收集細胞並將細胞小球儲存於-20°C下。藉由將各細胞小球再懸浮於含有0.2 mg/ml溶菌酶及0.3 U/mL Dnase I之35 mL冷洗滌緩衝液(PBS + 150 mM NaCl)中來純化Fab。將再懸浮之細胞小球轉移至50 ml離心管中並於25°C下快速渦旋45分鐘。離心該等小球，並在4°C下將溶菌液裝載於經洗滌緩衝液預平衡之1 ml蛋白G-瓊脂糖管柱上。用50 ml冷洗滌緩衝液洗滌管柱，用3 ml 0.1 M乙酸溶離且用150 µl 2 M Tris鹼中和。將經溶離之Fab以緩衝液交換至PBS中且使用Centriprep 10離心過濾器(Millipore)濃縮。以分光光度計測定所得Fab濃度(1 OD_{280 nm} = 1.55 mg/mL)。將經濃縮之Fab儲存於4°C下。

如上文所述，在ELISA蛋白檢定中包括各Fab以確定其對於經K48鍵聯及經K63鍵聯之聚泛素的相對親和力，且證實Fab對單泛素或BSA不具反應性。Fab apu01-15對經

K48鍵聯之聚泛素的特異性比對經K63鍵聯之聚泛素之特異性高。在ELISA中，Fab apu17-apu24證實對經K63鍵聯之聚泛素的特異性比對經K48鍵聯之聚泛素之特異性高。並未產生作為Fab之apu16。

使所有Fab經受DNA序列分析。表5A-C中展示與經K48鍵聯之聚泛素特異性結合的各Fab之高變區HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3及HVR-L3的胺基酸序列。表6A-C中展示與經K63鍵聯之聚泛素特異性結合的各Fab之高變區HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3及HVR-L3的胺基酸序列。各Fab之重鏈及輕鏈框架序列呈現於圖4中。根據庫設計，對於各純系而言，前兩個輕鏈高變區HVR-L1及HVR-L2相同(參看上述SEQ ID NO: 79及80)。

(C) 經分離Fab之親和力分析

使用BIACORE[®] 3000系統(Biacore)，藉由表面電漿共振來確定所選Fab(參看上文(B)部分)關於泛素及其連接離胺酸之形式之親和力。使用製造商供應之胺基偶聯方案，將大約100個泛素、經K48鍵聯或經K63鍵聯之二泛素或經K48鍵聯或經K63鍵聯之聚泛素(鏈長為3至7)共振單元固定於CM5晶片之不同流槽上。在各實驗中，活化流槽1且在不固定蛋白之情形下將經阻斷乙醇胺用於參考值相減。將apu01至apu24之每一者之連續稀釋的Fab蛋白(1.6-100 M)注入(25微升/分鐘之流動速率，總計50 µl)各流槽內。記錄各流槽之信號且減去參考信號。解離期(5分鐘)後，以13 µl 20 mM HCl使晶片表面再生。Fab apu09及apu18之例示

性結合曲線展示於圖6及7中。如圖6所示，Apu09與經K48鍵聯之聚泛素結合，但不與經K63鍵聯之聚泛素結合。圖7A展示apu18與經K48鍵聯之聚泛素之結合曲線。儘管觀察到一定結合，但其大體上小於所觀察到的與經K63鍵聯之聚泛素之結合(圖7B)。對各Fab進行類似分析。

使用由製造商所提供之軟體，藉由非線性回歸分析同時計算動力學常數及結合常數，且將其展示於表B中。表B中之代碼"NB"表示未偵測有關所指示之相互作用的結合。表B中之代碼"nd"表示未量測有關所指示之相互作用的資料。結果展示與二泛素結合之特定Fab的動力學常數與結合聚泛素之動力學常數極其類似。因此，Fab可能辨識兩個泛素部分之間之特定異肽鍵。

表B：如藉由BIAcore[®]分析所量測之抗聚泛素Fab的動力學常數

Fab	經K48鍵聯之聚泛素				經K63鍵聯之聚泛素				經K48鍵聯之二泛素				經K63鍵聯之二泛素			
	k _{on} (1/M·s)	k _{off} (1/s)	K _d (nM)		k _{on} (1/M·s)	k _{off} (1/s)	K _d (nM)		k _{on} (1/M·s)	k _{off} (1/s)	K _d (nM)		k _{on} (1/M·s)	k _{off} (1/s)	K _d (nM)	
Apu01	1.92×10 ⁶	3.49×10 ⁻³	1.82				NB		3.28×10 ⁶	1.38×10 ⁻²	4.20				NB	
Apu02	nd	nd	nd		nd	nd	nd		5.46×10 ⁵	6.96×10 ⁻³	12.70				NB	
Apu03	nd	nd	nd		nd	nd	nd		4.79×10 ⁵	5.33×10 ⁻³	11.10		8.27×10 ⁴	0.0112	135.00	
Apu04	nd	nd	nd		nd	nd	nd		5.38×10 ⁵	5.89×10 ⁻³	10.90		3.70×10 ⁵	0.0232	62.70	
Apu05	1.69×10 ⁶	4.16×10 ⁻³	2.46				NB		3.70×10 ⁶	1.46×10 ⁻²	3.94				NB	
Apu06	1.04×10 ⁶	6.58×10 ⁻³	6.31				NB		2.60×10 ⁶	2.20×10 ⁻²	8.5				NB	
Apu07	nd	nd	nd		nd	nd	nd		1.05×10 ⁶	9.93×10 ⁻³	9.49				NB	
Apu08	9.04×10 ⁵	8.71×10 ⁻³	9.64				NB		1.12×10 ⁶	0.0127	11.30				NB	
Apu09	1.05×10 ⁶	9.79×10 ⁻³	9.36				NB		1.81×10 ⁶	0.0169	9.32				NB	
Apu10	8.45×10 ⁵	5.62×10 ⁻³	6.65				NB		1.12×10 ⁶	0.016	14				NB	
Apu11	nd	nd	nd		nd	nd	nd		9.04×10 ⁵	0.0177	19.60				NB	
Apu12	5.73×10 ⁵	7.07×10 ⁻³	12.30				NB		3.13×10 ⁵	0.0108	34.50				NB	
Apu13	nd	nd	nd		nd	nd	nd		1.15×10 ⁵	0.016	139.00				NB	
Apu14	1.58×10 ⁶	1.08×10 ⁻²	6.85				NB		3.18×10 ⁶	2.66×10 ⁻²	8.35				NB	
Apu15	nd	nd	nd		nd	nd	nd		6.91×10 ⁵	7.31×10 ⁻³	10.60	1.28	0.0212	1650.00		
Apu16	nd	nd	nd		nd	nd	nd		nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Apu17	nd	nd	nd		nd	nd	nd				NB				NB	
Apu18	2.32×10 ⁵	0.0169	72.80		1.09×10 ⁶	8.17×10 ⁻³	7.53		1.73×10 ⁶	1.95×10 ⁻²	11.30	1.69×10 ⁶	1.75×10 ⁻²	10.40		
ApA18*									3.16×10 ⁵	1.48×10 ⁻²	46.90	1.01×10 ⁶	1.54×10 ⁻²	15.30		
Apu19			NB				NB				NB				NB	
Apu20	nd	nd	nd		nd	nd	nd				NB				NB	
Apu21	nd	nd	nd		nd	nd	nd				NB				NB	
Apu22	nd	nd	nd		1.53×10 ⁵	0.0191	125.00		6.19×10 ⁵	1.28×10 ⁻²	20.70	nd	nd	nd	nd	
Apu23	nd	nd	nd		nd	nd	nd				NB				NB	
Apu24	nd	nd	nd		nd	nd	nd				NB				NB	

*Apu18之第二Biacore分析證實先前獲得的經K63鍵聯之二泛素相互作用之動力學常數。

(D) 西方墨點法

於聚丙烯醯胺凝膠中分離四泛素(適當時經K48鍵聯或經K63鍵聯)及二泛素(經K48鍵聯或經K63鍵聯)(Boston Biochem)並藉由電漬將其轉移至硝基纖維素膜中。藉由在4℃下於0.5% Qiagen阻斷試劑(Qiagen)中培養該等膜隔夜來阻斷膜上的非特異性結合位點。將經阻斷之膜置於小轉漬槽設備中。將Fab純系(1 µg/ml)塗覆於0.5% Qiagen阻斷試劑(Qiagen)中之膜的連續部分上。1小時培養期後，洗滌該等膜。根據製造商之說明，使用與HRP結合之抗五組胺酸抗體(Qiagen)來揭示與膜結合之抗泛素抗體。

使由純系apu01至apu15產生之經K48鍵聯的聚泛素特異性Fab與固定於硝基纖維素的經K48鍵聯之四泛素特異性結合(參看圖9B)。觀察到由純系apu17至apu24產生的經K63鍵聯之聚泛素特異性Fab不與固定於硝基纖維素膜上之經K63鍵聯的聚泛素結合(參看圖9A)。

實例2：第二代抗聚泛素抗體之分離及特性化

由編碼先前識別之純系apu05(對經K48鍵聯之聚泛素具選擇性)及apu18(經K63鍵聯之聚泛素選擇性)之噬菌粒建構用於Fab呈現之第二代庫(參看表5及6)。使用來自彼等純系之噬菌體來感染CJ236細胞以製備Kunkel DNA模板。隨後使彼等模板經突變誘發處理以插入終止密碼子，且將含有終止密碼子之模板用於如下所述之庫建構中。

根據兩種不同流程使Fab apu05經突變誘發處理以建立得自兩種不同apu05之庫。在第一庫中，僅HVR-H3經突變

誘發處理。首先修飾HVR-H3以使Kunkel模板中包括終止密碼子，隨後利用四個突變寡核苷酸進行突變誘發。在所有情形下，編碼終止密碼子之寡核苷酸均為CGTCTATTATTGTGCTCGCTAATAAGACTACTGGGGTCAAGG (SEQ ID NO: 365)。前三個突變寡核苷酸為同一所需序列之三種排列，其中一個酪胺酸殘基不變且使用NNS混合密碼子組(其中N對應於G、C、A或T且S對應於G或C)隨機化各剩餘酪胺酸殘基；100b位置之胺基酸係選自苯丙胺酸、甲硫胺酸、白胺酸及異白胺酸；100a位置之胺基酸係選自甘胺酸及丙胺酸；且軟隨機化剩餘胺基酸。本文中之軟隨機化(Soft randomization)指示某些核苷酸位置有70%之時間由所指示之鹼基佔用且10%之時間由其他三個鹼基中之一者佔用。對於隨後之彼等寡核苷酸而言，在特定鹼基處包括此軟隨機化之情形下，軟隨機化之存在係由該鹼基位置處存在之數字指示。數字"5"指示鹼基腺嘌呤在該位置處存在70%之時間，而鹼基鳥嘌呤、胞嘧啶及胸腺嘧啶各存在10%之時間。類似地，數字"6"係指鳥嘌呤，"7"係指胞嘧啶，且"8"係指胸腺嘧啶，其中在各情形下，其他三個鹼基各存在僅10%之時間。前三個突變寡核苷酸序列為：CGTCTATTATTGTGCTCGC567TAC567NNSNNS567GSTWTSGACTACTGGGGTCAAGG (SEQ ID NO: 367)，CGTCTATTATTGTGCTCGC567NNS567TACNNS567GSTWTSGACTACTGGGGTCAAGG (SEQ ID NO: 368)及CGTCTATTATTGTGCTCGC567NNS567NNSTAC567GSTWTSGACTACTGGGGTCAAGG (SEQ ID NO: 369)。第四個突

變寡核苷酸包括使用NNS混合密碼子組隨機化位置96、98及99處之酪胺酸；自苯丙胺酸、甲硫胺酸、白胺酸及異白胺酸選擇位置100b處之胺基酸；自甘胺酸及丙胺酸選擇位置100a處之胺基酸；及每隔一個位置進行軟隨機化，此與上述軟隨機化命名法一致。第四個寡核苷酸序列為CGTCTATTATTGTGCTCGC567NNS567NNSNNS567GSTWTSGACTACTGGGGTCAAGG(SEQ ID NO: 370)。

在第二apu05庫中，使HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3及HVR-L3經突變誘發處理。修飾HVR-H1，從而使用NNS混合密碼子組(其中N對應於G、C、A或T且S對應於G或C)隨機化位置30及33處之絲胺酸；位置29處之胺基酸係選自胺基酸苯丙胺酸、白胺酸、異白胺酸及纈胺酸；且位置34處之胺基酸係選自異白胺酸及甲硫胺酸。用於突變誘發處理apu05 HVR-H1之寡核苷酸為GCAGCTTCTGGCTTCAAC TAATAACACTGGGTGCGTCAGG(SEQ ID NO:371)及GCAGCTTCTGGCTTCAACNTCNNSTACTCTNNSATSCACTGGGTGCGTCAGG(SEQ ID NO: 372)。修飾HVR-H2，從而使用NNS混合密碼子組隨機化位置52處之酪胺酸且位置52a處之胺基酸係選自脯胺酸及絲胺酸。用於突變誘發處理HVR-H2之寡核苷酸為GGCCTGGAATGGGTTGCATAATAATATGCCGATAGCGTCAAGG(SEQ ID NO: 373)及GGCCTGGAATGGGTTGCATCTATCNSYCTTACTACTCTTACACCTCTTATGCCGATAGCGTCAAGG(SEQ ID NO: 374)。修飾HVR-H3，從而使用NNS混合密碼子組隨機化

位置99處之酪胺酸及位置100處之絲胺酸；位置100a處之胺基酸係選自甘胺酸及丙胺酸；且位置100b處之胺基酸係選自苯丙胺酸、甲硫胺酸、白胺酸及異白胺酸。用於突變誘發處理HVR-H3之寡核苷酸為CGTCTATTATTGTGCTCGCTAATAAGACTACTGGGGTCAAGG(SEQ ID NO: 365)及CGTCTATTATTGTGCTCGCTCTTACTCTTACNNSNNSGSTWTSGACTACTGGGGTCAAGG(SEQ ID NO: 375)。修飾HVR-L3，從而根據NNS混合密碼子組隨機化位置S91且位置196係選自苯丙胺酸、異白胺酸及纈胺酸。用於突變誘發處理HVR-L3之寡核苷酸為CGCAACTTATTACTGTCAGCAATAATAAACGTTTCGGACAGGGTACC(SEQ ID NO: 376)及CGCAACTTATTACTGTCAGCAANNSTCTTACTCTTCTCTGDTTACGTTTCGGACAGGGTACC(SEQ ID NO: 378)。

藉由apu18之六種不同突變誘發流程來製得得自六種不同apu18之庫。在第一庫中，僅HVR-H3經突變誘發處理。首先修飾HVR-H3以使Kunkel模板中包括終止密碼子，隨後利用七個突變寡核苷酸進行突變誘發方法。在所有情形下，編碼終止密碼子之寡核苷酸均為CGTCTATTATTGTGCTCGCTAATAAGACTACTGGGGTCAAGG(SEQ ID NO: 366)。前六個突變寡核苷酸為同一所需序列之六種排列，其中兩個酪胺酸或色胺酸殘基不變，且使用NNS混合密碼子組(其中N對應於G、C、A或T且S對應於G或C)隨機化各剩餘酪胺酸及色胺酸殘基；位置100c處之胺基酸係選自苯丙胺酸、甲硫胺酸、白胺酸及異白胺酸；位置100b處之胺

基酸係選自甘胺酸及丙胺酸；且與上述軟隨機化命名法一致，軟隨機化剩餘胺基酸。前六個突變寡核苷酸序列為：

CGTCTATTATTGTGCTCGC655TACTAC565NNSNNS577GSTWTSGACTACTGGGGTCAAGG (SEQ ID NO: 379)；

CGTCTATTATTGTGCTCGC655NNSNNS565TGGTAC577GSTWTSGACTACTGGGGTCAAGG (SEQ ID NO: 380)；

CGTCTATTATTGTGCTCGC655TACBBS565NNSTAC577GSTWTSGACTACTGGGGTCAAGG (SEQ ID NO: 381)；

CGTCTATTATTGTGCTCGC655NNSTAC565TGGNNS577GSTWTSGACTACTGGGGTCAAGG (SEQ ID NO: 382)；

CGTCTATTATTGTGCTCGC655TACNNS565TGGNNS577GSTWTSGACTACTGGGGTCAAGG(SEQ ID NO: 383)；及

CGTCTATTATTGTGCTCGC655NNSTAC565NNSTAC577GSTWTSGACTACTGGGGTCAAGG(SEQ ID NO: 384)。第七個突變寡核苷酸包括使用NNS混合密碼子組隨機化位置96、97及100處之酪胺酸及位置99處之色胺酸；自苯丙胺酸、甲硫胺酸、白胺酸及異白胺酸選擇位置100b處之胺基酸；自苯丙胺酸、甲硫胺酸、白胺酸及異白胺酸選擇位置100c處之胺基酸；自甘胺酸及丙胺酸選擇位置100b處之胺基酸；及每隔一個位置進行軟隨機化，其與上述軟隨機化命名法一致。第七個寡核苷酸序列為：CGTCTATTATTGTGCTCGC655NNSNNS565NNSNNS577GSTWTSGACTACTGGGGTCAAGG(SEQ ID NO: 385)。

在第二apu18庫中，僅HVR-H2經突變誘發處理。首先修

飾 HVR-H2 以使 Kunkel 模板中包括終止密碼子，隨後利用四個突變寡核苷酸進行突變誘發方法。在所有情形下，編碼終止密碼子之寡核苷酸均為 GGCCTGGAATGGGTTGCATAATAATATGCCGATAGCGTCAAGG (SEQ ID NO: 373)。

前三個突變寡核苷酸為同一所需序列之三種排列，其中一個酪胺酸殘基不變且使用 NNS 混合密碼子組 (其中 N 對應於 G、C、A 或 T 且 S 對應於 G 或 C) 隨機化位置 52 處之各剩餘酪胺酸及絲胺酸；位置 52a 處之胺基酸係選自脯胺酸及絲胺酸；位置 55 處之胺基酸係選自甘胺酸及絲胺酸；位置 51 處之異白胺酸及位置 57 處之蘇胺酸不變；且與上述軟隨機化命名法一致，軟隨機化剩餘胺基酸。前三個突變寡核苷酸序列為：GGCCTGGAATGGGTTGCATACATCNNSYCTNNSNNSRGC567ACC567TATGCCGATAGCGTCAAGG (SEQ ID NO: 386)；GGCCTGGAATGGGTTGCANNSATCNNSYCTTACNNSRGC567ACC567TATGCCGATAGCGTCAAGG (SEQ ID NO: 387)；及 GGCCTGGAATGGGTTGCANNSATCNNSYCTNNSTACRGC567ACC567TATGCCGATAGCGTCAAGG (SEQ ID NO: 388)。

第四個突變寡核苷酸包括使用 NNS 混合密碼子組隨機化位置 50、53 及 54 處之酪胺酸；自苯丙胺酸及絲胺酸選擇位置 52a 處之胺基酸；自甘胺酸及絲胺酸選擇位置 55 處之胺基酸；分別使位置 51 及 57 處之異白胺酸及蘇胺酸殘基不變；及每隔一個位置進行軟隨機化，此與上述軟隨機化命名法一致。第四個寡核苷酸序列為：GGCCTGGAATGGGTTGCANNSATCNNSYCTN

NSNNSRGC567ACC567TATGCCGATAGCGTCAAGG(SEQID NO: 389)。

在第三apu18庫中，HVR-H2及HVR-H3經突變誘發處理。使用相同之四個突變寡核苷酸，以與第二apu18庫中對HVR-H2進行之修飾相同之方式修飾HVR-H2。使用相同之前六個突變寡核苷酸，以與第一apu18庫中對HVR-H3進行之修飾相同之方式修飾HVR-H3。

在第四apu18庫中，HVR-H3及HVR-L3經突變誘發處理。使用相同之前六個突變寡核苷酸，以與第一apu18庫中對HVR-H3進行之修飾相同之方式修飾HVR-H3。首先修飾HVR-L3以使Kunkel模板中包括終止密碼子，隨後使用突變寡核苷酸進行突變誘發。在HVR-L3內，使用NNS混合密碼子組隨機化位置91及94處之酪胺酸及位置95a處之絲胺酸；位置95b處的白胺酸係選自苯丙胺酸、異白胺酸及纈胺酸；且與上述軟隨機化命名法一致，軟隨機化位置92、93及95處之絲胺酸。用於突變誘發HVR-L3之寡核苷酸為CGCAACTTATTACTGTCAGCAATAATAACGTTTCGGACAGGGTACC(SEQ ID NO: 376)及CGCAACTTATTACTGTCAGCAANNNS567567NNS567NNSCTGDTTACGTTTCGGACAGGGTACC(SEQ ID NO: 390)。

在第五apu18庫中，HVR-H1及HVR-H2經突變誘發處理。使用相同之四個突變寡核苷酸，以與第二apu18庫中對HVR-H2進行之修飾相同之方式修飾HVR-H2。修飾HVR-H1以包括終止密碼子；使用NNS混合密碼子組隨機

化位置30處之絲胺酸及位置33處之酪胺酸；位置29處的胺基酸係選自苯丙胺酸、白胺酸、異白胺酸及纈胺酸；位置34處之胺基酸係選自異白胺酸及甲硫胺酸；且與上述軟隨機化命名法一致，軟隨機化位置31及32處之胺基酸。用於突變誘發HVR-H1之寡核苷酸為：GCAGCTTCTGGCTTC AACTAATAACACTGGGTGCGTCAGG(SEQ ID NO: 371)及GCAGCTTCTGGCTTCAACNTCNNS567567NNSATSCACTGGGTGCGTCAGG(SEQ ID NO: 391)。

在第六apu18庫中，HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3經突變誘發處理。使用相同之突變寡核苷酸，以與第五apu18庫中對HVR-H1進行之修飾相同之方式修飾HVR-H1。使用相同之四個突變寡核苷酸，以與第二apu18庫中對HVR-H2進行之修飾相同之方式修飾HVR-H2。使用相同之突變寡核苷酸，以與第四apu18庫中對HVR-H3進行之修飾相同之方式修飾HVR-H3。

藉由電穿孔將兩個得自apu15之庫中之每一者及六個得自apu18之庫中之每一者的突變誘發反應轉型至感受態大腸桿菌XL-1(electrocompetent *E. coli* XL-1)中。在37°C下，於攪拌下自SOC培養基中回收細胞歷經30分鐘。保留20微升含有細胞之SOC培養基以確定轉型物之數目，且隨後將剩餘部分轉移至500 ml含有卡本西林及每毫升 10^{10} 個M13K07輔助噬菌體之2YT中。在37°C下攪拌45分鐘後，將康徵素補充至肉湯中且在37°C下於攪拌下生長隔夜。各庫中轉型物之數目均大於 10^9 個。收集噬菌體，且藉由離心及PEG沉澱自肉湯濃縮，且隨後將其用於多輪選擇中。

如上文實例 1(A)中所述，將經 K48 鍵聯之聚泛素及經 K63 鍵聯之聚泛素固定於不同 Maxisorp 培養盤(NUNC)上。在添加分選緩衝液中之 3 μ M 單泛素的一輪分選中，各庫均針對其各別標靶(對於兩個得自 apu05 之庫而言為經 K48 鍵聯之聚泛素，對於六個得自 apu18 之庫而言為經 K63 鍵聯之聚泛素)單獨進行分選。擴增經溶離之噬菌體並加以彙集(兩個池，各為連接離胺酸之聚泛素標靶)以用於其他輪分選。

後續數輪選擇為溶液相分選。在室溫下，於溶液分選緩衝液(具有 0.5% Superblock(Pierce)之 PBST)中用經結合生物素(磺酸基-NHS-生物素，Pierce)之聚泛素鏈培養噬菌體池歷經 1 至 2 小時。於溶液分選緩衝液中將混合物稀釋五至十倍且將其添加至塗覆有中性鏈抗生物素(neutravidin)之孔中以短時間(5 分鐘)俘獲經結合生物素之聚泛素。含有未結合生物素之聚泛素鏈之反應充當對照以監測背景噬菌體結合。用 PBST 洗滌該等培養盤且用 0.1 M HCl 溶離 10 分鐘。

以三種方式調節嚴謹性：藉由濃縮經結合生物素之聚泛素；藉由在俘獲於塗覆有中性鏈抗生物素之孔上之前添加過量未結合生物素之聚泛素以競爭結合；及藉由持續競爭。對於各輪分選而言，在第一培養步驟中，將 30 μ g/ml 濃度的具有另一鍵之單泛素及聚泛素添加至分選緩衝液中。第一輪溶液分選使用在室溫下與噬菌體一起培養 1 小時之 20 nM 經結合生物素之聚泛素。隨後，在分選溶液緩衝液中稀釋混合物 10 倍，且使用塗覆有中性鏈抗生物素之孔俘獲 5 分鐘。對於以 20 nM 經結合生物素之聚泛素平衡第二輪噬菌體而言，與第

一輪相同，但於含有 30 $\mu\text{g/ml}$ 未結合生物素之聚泛素(經 K48 鍵聯者用於 K48 選擇，經 K63 鍵聯者用於 K63 選擇)的溶液分選緩衝液中稀釋十倍以用於 15 分鐘之解離速率選擇，隨後將其俘獲於塗覆有中性鏈抗生素之孔上。關於第二輪描述第三輪之溶液分選，但另外包括 5 nM 經結合生物素之聚泛素及 30 分鐘之解離速率選擇。在一輪培養盤分選及三輪溶液分選後，如所述使選自第二代之個別純系以 96 孔格式生長。藉由噬菌體 ELISA 篩檢個別純系並進行定序。

在第一輪溶液分選後，觀察到基於 apu05 之庫高達 40 倍富集，且基於 apu18 之庫高達 7 倍富集(參看表 C)。在第二次選擇(關於低解離速率之溶液分選)後，K48 特異性純系獲得額外 11 倍富集且 K63 特異性純系獲得額外 3 倍富集(參看表 C)。第三次選擇(親和力分選與解離速率分選)引起 K48 特異性純系之 18 倍富集及 K63 特異性純系之 4 倍富集(參看表 C)。

表 C：第二代抗聚泛素抗體庫溶液分選之結果

第一次選擇(關於親和力之溶液分選)						
	5 nM		10 nM		20 nM	
	大小	富集	大小	富集	大小	富集
基於 apu05	2.00×10^4	20.00	3.00×10^4	30.00	4.00×10^4	40
基於 apu18	2.20×10^3	1.83	2.00×10^3	1.67	8.40×10^3	7
第二次選擇(關於低解離速率之溶液分選)						
	5 min		10 min		15 min	
	大小	富集	大小	富集	大小	富集
基於 apu05	4.00×10^4	17.78	4.00×10^4	17.78	2.50×10^4	11.11
基於 apu18	5.50×10^3	4.07	7.00×10^3	5.19	4.50×10^3	3.33
第三次選擇(關於親和力與低解離速率之溶液分選)						
	5 nM 及 30 min					
	大小	富集				
基於 apu05	4.70×10^3	18.60				
基於 apu18	1.00×10^2	4.25				

識別與經K48鍵聯之聚泛素特異性結合之68個獨特純系；使彼等純系經受DNA序列分析。彼等純系之HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列展示於表7A-F中。識別與經K63鍵聯之聚泛素特異性結合之31個獨特純系；使彼等純系經受序列分析。彼等純系之HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列展示於表8A-C中。各經K48鍵聯之聚泛素及經K63鍵聯之聚泛素之特異性純系的輕鏈HVR並未定序，但就apu05及apu18而言，預期HVR-L1及HVR-L2之序列並無變化，而預期HVR-L3序列具純系特異性。根據庫設計，HVR-L1序列為RASQSVSSAVA(SEQ ID NO: 79)且HVR-L2序列為SASSLYS(SEQ ID NO: 80)。所有純系具有相同之重鏈及輕鏈框架序列(參看圖4)。

如實例1所述，將具有最高觀察結合性之二十個純系(十個為經K48鍵聯之聚泛素特異性純系且十個為經K63鍵聯之聚泛素特異性純系)製為Fab。使Fab apu2.01至apu2.20經受DNA序列分析。彼等純系之HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3及HVR-L3序列展示於表9A及B(K48特異性Fab)及17A及B(K63特異性Fab)中。

ELISA蛋白檢定中應包括Fab apu2.01至apu2.20以確定其對經K48鍵聯及經K63鍵聯之聚泛素的相對親和力，且證實Fab對單泛素或BSA不具反應性(參看圖8)。在該檢定中，apu純系2.11及2.12各證實對於經K63鍵聯之聚泛素的親和力比對經K48鍵聯之聚泛素的親和力高約300倍。apu2.20及2.16對於經K63鍵聯之聚泛素的親和力與其對於

經K48鍵聯之聚泛素的親和力之間具有較低但仍顯著之差異(分別高約30倍及高約10倍)。未偵測到純系apu2.01-apu2.10與經K63鍵聯之聚泛素或二泛素之結合。

亦如先前實例1(C)中所述藉由BIAcore來分析各Fab。所獲得的動力學常數及結合常數展示於表D中。表D中之代號"NB"表示對於所指示之相互作用未偵測到結合。

表D：如藉由BIAcore分析所量測之抗聚泛素Fab的動力學常數

	經K63鍵聯之聚泛素			經K48鍵聯之二泛素			經K63鍵聯之二泛素		
	k_{on} (1/M·s)	k_{off} (1/s)	K_d (nM)	k_{on} (1/M·s)	k_{off} (1/s)	K_d (nM)	k_{on} (1/M·s)	k_{off} (1/s)	K_d (nM)
Apu2.01			NB	6.33×10^5	1.49×10^{-2}	23.5			NB
Apu2.02			NB	1.11×10^6	1.01×10^{-2}	9.16			NB
Apu2.03			NB	8.67×10^5	2.66×10^{-3}	3.07			NB
Apu2.04			NB	6.22×10^5	9.39×10^{-3}	15.10			NB
Apu2.05			NB	1.20×10^6	6.09×10^{-3}	5.06			NB
Apu2.06			NB	1.28×10^6	2.40×10^{-3}	1.87			NB
Apu2.07			NB	2.70×10^6	3.18×10^{-3}	1.18			NB
Apu2.08			NB	1.25×10^6	7.21×10^{-3}	5.76			NB
Apu2.09			NB	7.15×10^5	4.78×10^{-3}	6.69			NB
Apu2.10			NB	3.28×10^6	3.99×10^{-3}	1.21			NB
Apu05			NB	2.44×10^6	1.07×10^{-2}	4.37			NB
Apu2.11	2.49×10^5	7.11×10^{-3}	28.6	1.68×10^4	1.24×10^{-2}	738	3.12×10^5	1.02×10^{-2}	32.7
Apu2.12	4.76×10^5	9.68×10^{-3}	20.3	5.66×10^3	7.88×10^{-3}	1390	5.49×10^5	1.51×10^{-2}	27.5
Apu2.13	4.89×10^5	2.41×10^{-3}	4.93	2.08×10^5	2.15×10^{-2}	103	5.83×10^5	4.11×10^{-3}	7.05
Apu2.14	2.09×10^5	7.08×10^{-3}	34.0	4.97×10^3	1.15×10^{-2}	2310	2.14×10^5	1.06×10^{-2}	49.6
Apu2.15	9.07×10^5	9.98×10^{-3}	11.0	1.43×10^4	1.23×10^{-2}	856	1.10×10^6	1.55×10^{-2}	14.0
Apu2.16	1.68×10^5	1.80×10^{-2}	107	4.11×10^1	1.73×10^{-3}	42000	1.38×10^5	1.27×10^{-2}	92.1
Apu2.17	1.19×10^6	1.35×10^{-2}	11.3	6.90×10^3	2.73×10^{-3}	396	1.13×10^6	2.89×10^{-2}	25.6
Apu2.18	1.48×10^5	1.89×10^{-2}	128	4.98×10^3	5.36×10^{-3}	1080	2.66×10^5	2.53×10^{-2}	95.0
Apu2.19	8.97×10^5	8.47×10^{-3}	9.44	2.54×10^5	1.24×10^{-2}	48.9	8.76×10^5	1.41×10^{-2}	16.1
Apu2.20	2.93×10^5	1.77×10^{-2}	60.7	4.02×10^3	3.77×10^{-3}	939	4.19×10^5	2.50×10^{-2}	59.7
Apu18	1.09×10^6	8.17×10^{-3}	7.53	3.16×10^5	1.48×10^{-2}	46.9	1.01×10^6	1.54×10^{-2}	15.3

就經K48鍵聯之二泛素而言，基於apu05之若干Fab具有比與apu05相對應之Fab低的 K_d ，表示與聚泛素更緊密結合。各apu2.11至2.20 Fab不僅與經K63鍵聯之聚泛素結合，且亦在較低程度上與經K63鍵聯之二泛素結合。儘管僅apu2.13具有比apu18低之 K_d ，但其對於經K48鍵聯之二泛素的 K_d 比apu18之 K_d 大。各apu2.11、2.12、2.16及2.20

均具有優於apu18的經K63鍵聯之聚泛素的Kd與經K48鍵聯之二泛素的Kd之比率。所觀察的基於apu18之Fab與經K63鍵聯之聚泛素結合的動力學常數與所觀察的與經K63鍵聯之二泛素結合的動力學常數類似。

亦如先前實例1(D)所述藉由西方墨點法來評定各Fab與固定於硝基纖維素膜上之聚泛素特異性結合的能力。將含有K48鍵聯或K63鍵聯之四泛素、含有與四泛素所含者相對之離胺酸鍵聯的二泛素(例如，當使用經K48鍵聯之四泛素時為經K63鍵聯之二泛素，或當使用經K63鍵聯之四泛素時為經K48鍵聯之二泛素)及單泛素固定於硝基纖維素膜上，且評定Fab apu2.01-2.20辨識所有三個固定分子之能力(圖10A及10B)。並無Fab特異性辨識單泛素。Apu2.01-apu2.10各自特異性辨識經固定之經K48鍵聯之四泛素，但並不辨識經固定之經K63鍵聯之二泛素(參看圖10A)。在經K48鍵聯之四泛素的製備中，墨點上呈現之若干其他譜帶表示污染物三泛素、五泛素及八泛素物質。Apu2.11-apu2.20特異性辨識經固定之經K63鍵聯之四泛素，但並不辨識經固定之經K48鍵聯之二泛素(參看圖10B)。

實例3：抗聚泛素抗體與內源性聚泛素化蛋白之結合

先前實驗已證實受體相互作用蛋白(RIP)(一種最接近TNF受體1(TNFR1)信號傳輸複合物之140 kD基礎介體)係藉由聚泛素化作用來調節(Wertz等人，Nature 430:694-699 (2004))。當以經K63鍵聯之聚泛素鏈聚泛素化RIP時，促進經由TNFR1傳輸信號。藉由使A20之N末端去泛素化而

自 RIP 移除經 K63 鍵聯之聚泛素鏈及藉由 A20 C 末端之泛素連接酶功能來置換經 K48 鍵聯之聚泛素鏈會使 RIP 失活，且使其靶向蛋白酶體降解。已使用表現僅能夠形成經 K48 鍵聯或經 K63 鍵聯之聚泛素之突變體泛素的細胞株闡明該機制。

在 TNF 處理後，評定本發明之兩種抗經 K48 鍵聯及抗經 K63 鍵聯之聚泛素結合蛋白特異性辨識在不同時間點存在於 HeLa S3 細胞中的不同聚泛素化形式之 RIP 的能力。用 21 μ M MG-132 處理四公升 HeLa S3 細胞，每毫升約 1.5×10^6 個細胞。在處理後，隨機將 1 公升細胞自主要培養物中移除，藉由離心收集，用 200 mL PBS 洗滌並再離心。將此樣本用作時間零時間點。用 100 ng/mL TNF 處理剩餘三公升細胞培養物。用 TNF 處理後，移除一公升細胞，收集，用 200 mL PBS 洗滌且各再離心 5、15 及 25 分鐘。將來自各時間點之細胞溶解於 30 mL IP 溶解緩衝液 (LB) (20 mM Tris (pH 7.5)、150 mM NaCl、1% Triton x-100、1 mM EDTA、25 μ M MG-132、10 mM NEM、磷酸酶抑制劑混合液 1 及 2 (Sigma) 及 1 完全蛋白酶抑制劑錠劑 (Roche) 各 30 μ L)，並在 4°C 下旋轉培養 20-60 分鐘。將各溶菌液轉移至 50 mL 離心管中，並以 10,000 x g 造粒兩次歷經 5 分鐘。評估各時間點之溶菌液的蛋白濃度。在 4°C 下，以 1 mL 未經阻斷之蛋白 A/G 珠粒培養各溶菌液 (各時間點均為 30 mL，且具有標準化蛋白濃度) 歷經 1.25-1.5 小時。藉由以 2000 rpm 離心 5 分鐘使珠粒及碎片與溶菌液分離。自各溶菌液取得樣本以用

於直接西方墨點法分析，且將剩餘體積冷凍於-80℃下。

自各溶菌液取得四份16 mL之樣本。向各樣本中添加25 mM MG-132及20 μ L NEM。使兩份樣本各與2.4 μ g/mL抗TNFR1抗體組合。使兩份其他樣本各與2.4 μ g/mL對照抗體(抗myc)組合。在4℃下旋轉培養所有樣本歷經2小時，隨後添加150 μ L未經阻斷之蛋白A珠粒的50%漿液。在4℃下，另外旋轉培養樣本歷經5小時。藉由離心使樣本粒化，且用15 mL LB洗滌該等珠粒一次，用含有1 M NaCl之10 mL LB洗滌兩次且用10 mL LB洗滌兩次。使經洗滌之珠粒再懸浮於1.25 mL LB中並將其轉移至微量離心管中。吸入各樣本，從而使管中含有950 μ L之總體積，且將360 mg固體尿素添加至各樣本中以使各樣本在尿素中具有6 M之最終濃度。在室溫下，於溫和攪拌下培養該等樣本歷經15分鐘。藉由離心來粒化各樣本中之珠粒。保留各上清液之一部分以用於西方墨點法分析，且以解離稀釋緩衝液(1% Triton-X100、0.5%脫氧膽酸鹽、120 mM NaCl、50 mM HEPES pH 7.2及複合蛋白酶抑制劑混合液(Roche))將來自各樣本之剩餘上清液(每個樣本約1 mL)稀釋至10 mL。

將各樣本分成兩份5 mL之部分。一部分經2.5 μ g已由fab形式重組成IgG形式之apu2.16處理，且另一部分經2.5 μ g已由fab形式重組成IgG形式之apu2.07處理。向兩份樣本中添加50 μ L蛋白A珠粒，且在4℃下培養樣本歷經5小時。使蛋白A珠粒粒化，且在已於洗滌過程中轉移至微量離心管中之TNFR1 LB中洗滌三次。將樣本緩衝液添加至所有樣

本中，且還原各樣本(包括先前保留用於西方墨點法分析之樣本)且於10% tris/gly 1.5 mm 10孔Novex®凝膠(Invitrogen)上執行。在執行後，根據製造商之說明將凝膠中之蛋白轉移至Invitrolon™ PVDF膜(Invitrogen)中。用5% PBS-T阻斷該等膜且於室溫下用抗RIP單株抗體(Becton Dickinson)探測隔夜。隨後洗滌墨點，用HRP結合之山羊抗小鼠次級抗體(Cappel)進行探測，洗滌，使其暴露至試劑以活化化學發光性，且隨後使其暴露至薄膜。結果展示於圖11A及11B中。圖11A描述含有首先與TNFR1或抗myc一起免疫沉澱且隨後與apu2.16 IgG(對經K63鍵聯之聚泛素具選擇性)一起免疫沉澱之樣本的墨點。如圖11A所示，在抗myc對照樣本或在零時樣本中RIP皆不可見。RIP譜帶在5分鐘樣本中最強，且隨後在15及25分鐘樣本中顯著降低。圖11B描述含有首先與TNFR1或抗myc一起免疫沉澱且隨後與apu2.07 IgG(對經K48鍵聯之聚泛素具選擇性)一起免疫沉澱之樣本的墨點。如圖11B所示，於抗myc對照泳道(lane)中並未觀察到RIP。此墨點中之RIP含量隨時間增加，且在25分鐘時間點樣本中最強。此資料與先前之發現相符，亦即在經由TNFR1傳輸信號時，RIP首先經K63-鍵聯型聚泛素化，隨後去泛素化，且藉由A20而經K48-鍵聯型聚泛素化。因此，已於細胞中經聚泛素化的本發明抗體能夠與經K63-鍵聯型聚泛素化之多肽及經K48-鍵聯型聚泛素化之多肽特異性結合並使其相互區分。

實例4：第三代抗聚泛素抗體之分離及特性化

由編碼先前經識別之純系 apu2.16(對於經K63鍵聯之聚泛素具選擇性)之噬菌粒建構用於Fab呈現之第三代庫(參看實例2及表10A及表10B)。使用來自該純系之噬菌體來感染CJ236細胞以製備Kunkel DNA模板。隨後使該模板經突變誘發處理以插入終止密碼子，且將含有終止密碼子之模板用於如下所述之庫建構中。

根據三種不同流程使Fab apu2.16經突變誘發處理以建立三種得自apu2.16之不同庫。在第一庫中，HVR-H1及HVR-H2經突變誘發處理。突變誘發處理HVR-H1以使Kunkel模板中包括終止密碼子，隨後利用一個突變寡核苷酸進行突變誘發方法。編碼終止密碼子之寡核苷酸為：GCAGCTTCTGGCTTCAACTAATAACACTGGGTGCGTCAGG(SEQ ID NO: 371)。突變寡核苷酸允許使用NNS混合密碼子組(其中N對應於G、C、A或T且S對應於G或C)使位置29處之異白胺酸選自苯丙胺酸、白胺酸、異白胺酸及纈胺酸，使位置34處之異白胺酸選自甲硫胺酸及異白胺酸者；及軟隨機化胺基酸K30、T31、G32及L33。本文中之軟隨機化指示某些核苷酸位置有70%之時間由所指示之鹼基佔用且10%之時間由其他三個鹼基中之一者佔用。對於隨後之彼等寡核苷酸而言，在特定鹼基處包括此軟隨機化之情形下，軟隨機化之存在係由該鹼基位置處存在之數字指示。數字"5"指示鹼基腺嘌呤在該位置處存在70%之時間，而鹼基鳥嘌呤、胞嘧啶及胸腺嘧啶各存在10%之時間。類

似地，數字"6"係指鳥嘌呤、"7"係指胞嘧啶，且"8"係指胸腺嘧啶，其中在各情形下，其他三個鹼基各存在僅10%之時間。用於突變誘發處理apu3.16 HVR-H1之寡核苷酸序列為GCAGCTTCTGGCTTCAACNTC556577668788ATSCACTGGGTGCGTCAGG(SEQ ID NO: 785)。

首先修飾HVR-H2以使Kunkel模板中包括終止密碼子，隨後利用三個突變寡核苷酸進行突變誘發。在所有情形下，編碼終止密碼子之寡核苷酸均為GGCCTGGAATGGGTTGCATAATAATATGCCGATAGCGTCAAGG(SEQ ID NO: 373)。三個突變寡核苷酸為第一所需序列及一第二所需序列之兩種排列。第一所需序列包括：一不變殘基及一使用NNS混合密碼子組(如上所述)在位置50及54中之任一者處隨機化之酪胺酸殘基；位置51(異白胺酸)、52a(脯胺酸)、53(酪胺酸)、55(甘胺酸)及57(蘇胺酸)之不變殘基；及位置S52、S56及S58處之軟隨機化(根據上文所述之軟隨機化流程)。第二所需序列包括：位置51(異白胺酸)、52a(脯胺酸)、53(酪胺酸)、55(甘胺酸)及57(蘇胺酸)處之不變殘基；使用NNS混合密碼子組(如上文所述)於位置50及54處進行之硬隨機化；及位置S52、S56及S58處之軟隨機化(根據上文所述之軟隨機化流程)。用於突變誘發處理apu2.16 HVR-H2之寡核苷酸為GGCCTGGAATGGGTTGCANNSATC567CCGTACTACGGT567ACC567TATGCCGATAGCGTCAAGG(SEQ ID NO: 786)、GGCCTGGAATGGGTTGCATACATC567CCGTACNNSGGT567ACC567TATGCCGATAGCGTC

AAGG(SEQ ID NO: 787)及GGCCTGGAATGGGTTGCANNS
ATC567CCGTACNNSSGGT567ACC567TATGCCGATAGCGTC
AAGG(SEQ ID NO: 788)。

在第二apu2.16庫中，HVR-H2及HVR-H3經突變誘發處理。使用相同之含有終止密碼子之寡核苷酸及相同之三個突變寡核苷酸，以與對第一apu2.16庫中HVR-H2進行修飾之方式相同的方式突變誘發處理HVR-H2。使用相同之含有終止密碼子之寡核苷酸及相同之六個突變寡核苷酸，以與對第一apu18庫(如實例2所述)中HVR-H3進行修飾之方式相同的方式突變誘發處理HVR-H3。

在第三apu2.16庫中，HVR-H1及HVR-H3經突變誘發處理。使用相同之含有終止密碼子之寡核苷酸及突變寡核苷酸，以與對第一apu2.16庫中HVR-H1進行修飾之方式相同的方式突變誘發處理HVR-H1。使用相同之含有終止密碼子之寡核苷酸及相同之六個突變寡核苷酸，以與對第一apu18庫(如實例2所述)中HVR-H3進行修飾之方式相同的方式突變誘發處理HVR-H3。

藉由電穿孔將三種得自apu2.16之庫中之每一者的突變誘發反應轉型至感受態大腸桿菌XL-1中。在37°C下，於攪拌下自SOC培養基中回收細胞歷經30分鐘。保留20微升含有細胞之SOC培養基以確定轉型物之數目，且隨後將剩餘部分轉移至500 ml含有卡本西林及每毫升 10^{10} 個M13K07輔助噬菌體之2YT中。在37°C下培養45分鐘後，將康黴素補充至肉湯中且在37°C下於攪拌下生長隔夜。各庫中轉型物

之數目均大於 10^9 個。收集噬菌體，且藉由離心及PEG沉澱自肉湯濃縮，且將其用於後續多輪選擇中。

針對如上文實例1(A)所述固定於Maxisorp培養盤(NUNC)上之經K63鍵聯之聚泛素，單獨分選三個第三代庫中之每一者。以三種方式調節嚴謹性：藉由濃縮經結合生物素之聚泛素；藉由在俘獲於塗覆有中性鏈抗生物素之孔上之前添加過量未結合生物素之聚泛素以競爭結合；及藉由持續競爭。在培養步驟中，各輪溶液分選包括分選緩衝液中之 $3\text{ }\mu\text{M}$ 單泛素及 $30\text{ }\mu\text{g/mL}$ 經K48鍵聯之聚泛素擴增經溶離之噬菌體且將其彙集用於其他輪分選。後續數輪選擇為溶液相分選。第一輪溶液分選包括在室溫下與噬菌體池一起培養1小時之 100 nM 經結合生物素(磺酸基-NHS-生物素，Pierce)之聚泛素。隨後，在溶液分選緩衝液(具有0.5% Superblock(Pierce)之PBST)中稀釋混合物10倍，且使用塗覆有中性鏈抗生物素之孔俘獲5分鐘。含有未結合生物素之聚泛素鏈之反應充當對照以監測背景噬菌體結合。用PBST洗滌該等培養盤且用 0.1 M HCl 溶離10分鐘。對於第二輪溶液分選而言，以 30 nM 經結合生物素之聚泛素平衡噬菌體，與第一輪相同，但於含有 $30\text{ }\mu\text{g/mL}$ 未結合生物素之聚泛素(經K63鍵聯者)的溶液分選緩衝液中稀釋十倍以用於5分鐘解離速率選擇，隨後將其俘獲於塗覆有中性鏈抗生物素之孔上。

在第一輪溶液分選後，觀察到基於apu2.16之組合庫富集6.5倍(參看表E)。在第二輪溶液分選後，關於低解離速率獲得額外之10倍富集(參看表E)。

表E：第三代抗聚泛素抗體庫溶液分選之結果

培養盤分選			溶液分選			
第1輪			第2輪(100 nM)		第3輪(30 nM)	
庫	庫大小	富集	庫大小	富集	庫大小	富集
16-1	1.06e+06	ND	1.04e+05	6.5	1.00e+05	10
16-2	5.98e+05	ND				
16-3	1.76e+05	ND				

在一輪培養盤分選及兩輪溶液分選後，如上文實例2所述，使選自第三代之個別純系以96孔格式生長且藉由噬菌體ELISA進行篩檢。藉由定序來識別72個獨特純系。在彼等純系中，噬菌體ELISA檢定證實12個純系對於經K63鍵聯之聚泛素具有最高程度之特異性(圖12)。彼等12個純系稱為apu3.01-3.12，且其HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列呈現於表11A及11B中。各經K63鍵聯之聚泛素特異性純系之輕鏈HVR均未進行定序，但預期HVR-L1及HVR-L2之序列不變，而預期HVR-L3之序列與apu2.16的序列相同。根據庫設計，HVR-L1序列為RASQSVSSAVA(SEQ ID NO: 79)且HVR-L2序列為SASSLYS(SEQ ID NO: 80)。所有純系具有相同之重鏈及輕鏈框架序列(參看圖4)。

在作為人類IgG之CHO或293細胞中表現apu2.07(參看實例2及表9A及9B)及apu3.07(參看上文及表11A及11B)。藉由編碼人類IgG重鏈及輕鏈之適當pRK哺乳動物表現載體的Kunkel突變製得表現構築體(Gorman等人，DNA Prot. Eng. Tech. 2:3-10(1990))。使用標準方法藉由親和層析來純化IgG。

藉由西方墨點法評定各IgG與固定於硝基纖維素膜的具

有適當鍵之聚泛素特異性結合的能力。於4-20% Tris-甘胺酸聚丙稀醯胺凝膠(Invitrogen)上執行經K48鍵聯或經K63鍵聯之聚泛素及單泛素(Boston Biochem)。藉由電轉漬將凝膠內容物轉移至硝基纖維素中。在溶解於含有0.1%吐溫-20之經Tris緩衝生理食鹽水(TBST)中的5%非脂肪脫脂奶粉中阻斷硝基纖維素膜上之非特異性結合位點，歷經1小時。隨後，將2 $\mu\text{g/mL}$ (apu 2.07 IgG)或1 $\mu\text{g/mL}$ (apu3.07 IgG)濃度之K48特異性或K63特異性抗體添加至墨點中，且培養1小時以使其出現結合。以免抗泛素抗體(Sigma)培養一墨點以作為陽性對照。於TBST中洗滌墨點，且藉由於含有5%非脂肪奶粉之TBST中以1:10,000稀釋的過氧化酶結合之山羊抗人類Ig Fc(ICN)或過氧化酶結合之抗兔Ig(Amersham)來偵測已結合之抗體。1小時後，於TBST中洗滌墨點，且使用Super Signal West Dura試劑(Pierce)顯影以顯現過氧化酶活性。結果展示於圖13A-13D中。

如所預期，apu2.07 IgG特異性辨識經固定之經K48鍵聯之四泛素及經K48鍵聯之三泛素至七泛素(圖13A)，但不與任何經固定之經K63鍵聯之聚泛素樣本結合。類似地，apu3.07 IgG特異性辨識經固定之經K63鍵聯之四泛素及經K63鍵聯之三泛素至七泛素(圖13B)，但不與任何經固定之經K48鍵聯之聚泛素樣本結合。任一IgG均不與經固定之單泛素結合。為評估各IgG之敏感性，以變化濃度的經固定之經K48鍵聯及經K63鍵聯之四泛素(每泳道25-1000 ng)進行額外西方墨點法分析(圖13C及圖13D)。Apu2.07 IgG偵測低至50 ng之經

固定的經K48鍵聯之四泛素，且亦不與經固定之經K63鍵聯之四泛素特異性結合(圖13C)。Apu3.07 IgG偵測低至50 ng之經固定的經K63鍵聯之四泛素，且亦不與經固定之經K48鍵聯之四泛素特異性結合(圖13D)。在兩種情形下，經固定四泛素之量增加會導致所觀測之結合亦增加。

為確定IgG是否能夠偵測內在聚泛素化之蛋白，由經或不經20 μ M 蛋白酶體抑制劑 Velcade®(硼替佐米(bortezomib))處理4小時之人類胚腎細胞株293T製備蛋白溶菌液。藉由於4-20% Tris-甘胺酸聚丙烯醯胺凝膠(Invitrogen)中進行SDS-PAGE來離析溶菌液，且如上所述進行西方墨點法。結果展示於圖14中。以多株抗泛素抗體(Sigma)偵測在Velcade®處理存在與不存在下之大量高分子量蛋白(最左邊之泳道)。Apu2.07 IgG與大量具有變化分子量之蛋白結合(最右邊之泳道)，且觀察到與經固定的velcade處理之溶菌液的結合比與經固定的未經處理之溶菌液的結合強。以預期與K63聚泛素化之蛋白結合之apu3.07 IgG(中間泳道)觀察到所有結合顯著較低，且經velcade處理之泳道與未經處理之泳道之間的結合不存在明顯差異。已知經K48鍵聯之聚泛素化靶向細胞內蛋白之蛋白水解降解(Chau等人，*Science* 243:1576-1583 (1989)；Finley等人，*Mol. Cell. Biol.* 14: 5501-5509 (1994)；Flick等人，*Nat. Cell. Biol.* 6:634-641 (2004))。因此，一種對於apu2.07 IgG結果之解釋在於，當阻止蛋白水解過程時，增加量之K48聚泛素化蛋白保留於溶菌液中，引起apu2.07

IgG與未經處理之樣本的結合增加。但尚未得知經K63鍵聯之聚泛素化是否靶向蛋白之降解(Pickart及Fushman, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 8: 610-616 (2004); Hicke及Dunn, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 19: 141-172 (2003); Spece等人, *Mol. Cell Biol.* 15: 1265-1273 (1995); Ulrich, *Eukaryot. Cell* 1: 1-10 (2002); Spence等人, *Cell* 102: 67-76 (2000); Seibenhener等人, *Mol. Cell. Biol.* 24(18): 8055-8068 (2004))。因此，一種對於apu3.07 IgG結果之解釋在於，蛋白酶體之抑制作用並不會引起K63聚泛素化蛋白之積累。

實例5：與抗經K63鍵聯之聚泛素結合之Fab的結構分析

為更好地理解抗經K63鍵聯之聚泛素fab與聚泛素之相互作用，使抗經K63鍵聯之聚泛素fab apu2.16與經K63鍵聯之二泛素共結晶。使用1 μ L apu2.16溶液(15 mg/mL於10 mM Tris中，75 mM NaCl (pH 8.0))及1 μ L孔溶液(0.1 M LiCl、0.1 M Tris pH 8.2、1 M檸檬酸鹽)，使晶體在懸滴中生長。向各小滴中添加0.5 μ L 0.1 M氯化銅且劃線接種各小滴。使晶體叢集生長若干天之時間且可對其加以操控以獲得單一、繞射晶體。藉由分子置換確定結構。收集100 K下之天然資料，且以HKL2000進行處理。晶體屬於不對稱單元中具有兩種複合物之C2空間群，晶格尺寸 $a = 177.7 \text{ \AA}$ ， $b = 94.9 \text{ \AA}$ ， $c = 97.9 \text{ \AA}$ 且 $\beta = 107^\circ$ 。使用程式Phaer及人化4d5 fab片段(4d5之PDB：PDB碼1FVE)之變異體的座標，藉由分子置換來解析結構。以程式Coot進行模型構建且以Refmac5細化結構。結構之解析度為 $3.1 \text{ \AA}$ 。複合物已細化至24.5%之

R及30.4%之 R_{free} 。

Apu2.16與經K63鍵聯之二泛素之間的相互作用展示於圖15A-15C中。結構抗原決定基為結合fab後包埋至少25%溶劑可接取表面積且/或在4.5 Å之fab重鏈或輕鏈內具有一個以上原子之殘基的組合。表示K63之泛素鏈為鏈A，且表示C末端之泛素鏈為鏈B。Fab輕鏈殘基屬於鏈L，且fab重鏈殘基屬於鏈H。在下表中，鏈號在殘基號之前，且fab殘基係依序編號。

表F：位於apu2.16-經K63鍵聯之二泛素結合界面中之殘基

泛素殘基	Fab殘基
A 18 Glu	
A 19 Pro	L 31 Ser
A 20 Ser	L 49 Tyr
A 21 Asp	L 50 Ser
A 55 Thr	L 51 Ala
A 56 Leu	L 52 Ser
A 57 Ser	L 53 Ser
A 58 Asp	L 66 Arg
A 60 Asn	L 98 Phe
A 61 Ile	
A 62 Gln	H 30 Lys
	H 31 Thr
B 8 Leu	H 32 Gly
B 9 Thr	H 33 Leu
B 34 Glu	H 50 Tyr
B 35 Gly	H 52 Ser
B 36 Ile	H 54 Tyr
B 37 Pro	H 55 Tyr
B 39 Asp	H 99 Glu
B 40 Gln	H 100 Tyr
B 71 Leu	H 101 Tyr
B 72 Arg	H 102 Arg
B 73 Leu	H 104 Tyr
B 74 Arg	H 105 Thr
B 75 Gly	

如表 F 所示且如圖 15B 中以深灰色所示，當結合至 apu2.16 時，K63 二泛素 A 鏈中存在十一個殘基且 K63 二泛素 B 鏈中存在十三個殘基，其均位於 4.5 Å 之 apu2.16 內。如表 F 所示且如圖 15C 中以深灰色所示，當結合至經 K63 鍵聯之二泛素時，apu2.16 輕鏈中存在八個殘基且 apu2.16 重鏈中存在十四個殘基，其均位於 3.5 Å 之該分子內。基於此資料，可能介導經 K63 鍵聯之二泛素上兩鏈之相互作用的殘基包括 A 鏈中之 Glu-18、Ser-20、Leu-57 及 Asp-58 及 B 鏈中之 Pro-37、Arg-74 及 Gly-75。有趣的是，抗體並不與 K63-Gly 76 鍵密切地相互作用，而是經由臨近該鍵之二泛素表面之相互作用衍生特異性。

【圖式簡單說明】

圖 1 展示泛素之基本結構及某些聚泛素異肽鍵之示意圖。圖 1a 展示人類泛素之胺基酸序列 (SEQ ID NO: 377)，其中離胺酸殘基以粗體、下劃線文字指示。圖 1b 展示第一泛素分子之離胺酸 48 或離胺酸 63 與第二泛素分子之 C 末端甘胺酸殘基之間所形成之鍵的示意圖。

圖 2A 與 4B 及圖 3 描述用於實踐本發明之例示性受體人類一致框架序列，且序列識別符如下：

可變重鏈 (VH) 一致框架 (圖 2A 及 2B)

人類 VH 子群 I 一致框架減去 Kabat CDR (SEQ ID NO: 111、839、858 及 877)

人類 VH 子群 I 一致框架減去延長高變區 (SEQ ID NO: 112-114、840-842、859-861 及 878-880)

人類 VH 子群 II 一致框架減去 Kabat CDR(SEQ ID NO: 115、843、862及881)

人類 VH 子群 II 一致框架減去延長高變區(SEQ ID NO: 116-118、844-846、863-865及882-884)

人類 VH 子群 III 一致框架減去 Kabat CDR(SEQ ID NO: 119、847、866及885)

人類 VH 子群 III 一致框架減去延長高變區(SEQ ID NO: 120-122、848-850、867-869及886-888)

人類 VH 受體框架減去 Kabat CDR(SEQ ID NO: 123、851、870及889)

人類 VH 受體框架減去延長高變區(SEQ ID NO: 124-125、852-853、871-872及890-891)

人類 VH 受體 2 框架減去 Kabat CDR(SEQ ID NO: 126、854、873及892)

人類 VH 受體 2 框架減去延長高變區(SEQ ID NO: 127-129、855-857、874-876及893-895)

可變輕鏈(VL)一致框架(圖 3)

人類 VL κ 子群 I 一致框架(SEQ ID NO: 130、896、900及904)

人類 VL κ 子群 II 一致框架(SEQ ID NO: 131、897、901及905)

人類 VL κ 子群 III 一致框架(SEQ ID NO: 132、898、902及906)

人類 VL κ 子群 IV 一致框架(SEQ ID NO: 133、899、903

及 907)

圖 4 描述 huMAb4D5-8 輕鏈及重鏈之框架區序列。以上標/粗體字表示之數字指示根據 Kabat 之胺基酸位置。

圖 5 描述 huMAb4D5-8 輕鏈及重鏈之經修飾/變異框架區序列。以上標/粗體字表示之數字指示根據 Kabat 之胺基酸位置。

圖 6 描述如實例 1(C)所述使用 BIACORE[®] 分析所觀察的各種濃度之抗聚泛素 Fab apu09 與經 K48 鍵聯之聚泛素或經 K63 鍵聯之聚泛素之間的結合相互作用。

圖 7 描述如實例 1(C)所述使用 BIACORE[®] 分析所觀察的各種濃度之抗聚泛素 Fab apu18 與經 K48 鍵聯之聚泛素或經 K63 鍵聯之聚泛素之間的結合相互作用。

圖 8 描述實例 2 所述之噬菌體 ELISA 分析之結果，其中已評定第二代 Fab apu2.01-2.20 中的每一者與經 K48 鍵聯之聚泛素、經 K63 鍵聯之聚泛素、單泛素及牛血清白蛋白之結合。

圖 9A 及 9B 描述實例 1 所述之西方墨點法實驗(western blotting experiment)之結果。圖 9A 展示由純系 apu01 至 apu15 所產生之 Fab 與被固定之經 K48 鍵聯之四泛素之結合。圖 9B 展示由純系 apu18 至 apu24 產生之 Fab 與被固定之經 K63 鍵聯之聚泛素不存在結合。

圖 10A 及 10B 描述實例 2 所述之西方墨點法實驗之結果。圖 10A 展示 apu2.01-apu2.10 與被固定之經 K48 鍵聯之四泛素之結合及其與被固定之經 K63 鍵聯之二泛素不存在結合。

圖 10B 展示 apu2.11-apu2.20 與被固定之經 K63 鍵聯之四泛素之結合及其與被固定之經 K48 鍵聯之二泛素不存在結合。

圖 11A 及 11B 展示如實例 3 所述用以偵測 RIP 之泛素化狀態的來自免疫沉澱實驗之西方墨點。圖 11A 中之墨點包括與 apu2.16 IgG 免疫沉澱以俘獲經 K63 鍵聯之聚泛素化蛋白的樣本。圖 11B 中之墨點包括與 apu2.07 IgG 免疫沉澱以俘獲經 K48 鍵聯之聚泛素化蛋白的樣本。兩種墨點皆經抗 RIP 抗體染色。

圖 12 描述實例 4 所述之噬菌體 ELISA 分析之結果，其中已評定第三代純系 apu3.01-3.12 中的每一者與經 K48 鍵聯之聚泛素、經 K63 鍵聯之聚泛素、單泛素及牛血清白蛋白之結合。

圖 13A-13D 描述實例 4 所述之西方墨點法實驗之結果。圖 13A 展示 apu2.07 IgG 與經 K48 鍵聯之固定三泛素至七泛素的結合及其與經 K63 鍵聯之固定三泛素至七泛素或單泛素不存在結合。圖 13B 展示 apu3.07 IgG 與經 K63 鍵聯之固定三泛素至七泛素的結合及其與經 K48 鍵聯之固定三泛素至七泛素或單泛素不存在結合。圖 13C 展示 apu2.07 IgG 與經 K48 鍵聯之固定四泛素的濃度依賴性結合，及其與經 K63 鍵聯之四泛素不存在結合。圖 13D 展示 apu3.07 IgG 與經 K63 鍵聯之固定四泛素的濃度依賴性結合，及其與經 K48 鍵聯之固定四泛素不存在結合。

圖 14 描述實例 4 所述之西方墨點法實驗之結果。該等圖式展示抗泛素多株抗體、apu2.07 IgG 及 apu3.07 IgG 與來自

經 Velcade®處理(+)或未經 Velcade®處理(-)之 293T 細胞的固定溶解產物之結合。

圖 15A-15C 展示如藉由結晶分析所確定的本發明之經 K63 鍵聯之聚泛素特異性 fab 與經 K63 鍵聯之聚泛素之間的相互作用。圖 15A 描述形成於經 K63 鍵聯之聚泛素特異性 fab apu2.16 與經 K63 鍵聯之二泛素之間的複合物。Apu2.16 係以帶狀圖展示於圖式之底部，而經 K63 鍵聯之二泛素係以球形展示於圖式之頂部。圖 15B 描述經 K63 鍵聯之二泛素的表面，其中該等殘基係在 4.5 Å 之深灰色 fab 及經標記之所關注殘基內。圖 15C 描述 apu2.16 之表面，其中該等殘基係在 4.5 Å 之深灰色經 K63 鍵聯之泛素二聚體內。CDR 經標記。

[表格說明]表 1A-1C 展示如實例 1(A)所述特異性辨識經 K48 鍵聯之聚泛素之抗聚泛素抗體分子的重鏈 HVR 環序列。符號 "48" 指示抗體分子特異性辨識經 K48 鍵聯之聚泛素。符號 "二者" 指示抗體分子辨識經 K48 鍵聯之聚泛素與經 K63 鍵聯之聚泛素。符號 "所有" 指示抗體分子辨識經 K48 鍵聯之聚泛素與經 K63 鍵聯之聚泛素，以及單泛素。符號 "n.p." 指示某些純系在所指示之位置處不具有胺基酸。該等圖式展示重鏈 HVR 序列 H1、H2 及 H3。胺基酸位置係根據如下文所述之 Kabat 編號系統編號。

表 2A-2B 展示如實例 1(A)所述特異性辨識經 K63 鍵聯之聚泛素之抗聚泛素抗體分子的重鏈 HVR 環序列。符號 "63" 指示抗體分子特異性辨識經 K63 鍵聯之聚泛素。符號 "二者"

指示抗體分子辨識經K63鍵聯之聚泛素與經K48鍵聯之聚泛素。符號"所有"指示抗體分子辨識經K63鍵聯之聚泛素與經K48鍵聯之聚泛素，以及單泛素。符號"n.p."指示某些純系在所指示之位置處不具有胺基酸。該等圖式展示重鏈HVR序列H1、H2及H3。胺基酸位置係根據如下文所述之Kabat編號系統編號。

表3A-3C展示如實例1A所述特異性辨識經K48鍵聯之聚泛素之抗聚泛素抗體分子的重鏈HVR環序列。該等圖式展示重鏈HVR序列H1、H2及H3。符號"n.p."指示某些純系在所指示之位置處不具有胺基酸。胺基酸位置係根據如下文所述之Kabat編號系統編號。

表4A-4B展示如實例1A所述特異性辨識經K63鍵聯之聚泛素之抗聚泛素抗體分子的重鏈HVR環序列。該等圖式展示重鏈HVR序列H1、H2及H3。符號"n.p."指示某些純系在所指示之位置處不具有胺基酸。胺基酸位置係根據如下文所述之Kabat編號系統編號。

表5A-5C展示如實例1(B)所述特異性辨識經K48鍵聯之聚泛素且經對五組胺酸(pentahistidine)特異之抗體辨識之抗聚泛素抗體分子apu01-apu15的重鏈及輕鏈HVR環序列。該等圖式展示重鏈HVR序列H1、H2及H3，及輕鏈HVR序列L3。符號"n.p."指示某些純系在所指示之位置處不具有胺基酸。胺基酸位置係根據如下文所述之Kabat編號系統編號。

表6A-6C展示如實例1(B)所述特異性辨識經K63鍵聯之聚

泛素且經對五組胺酸特異之抗體辨識之抗聚泛素抗體分子 apu17-apu24 的重鏈及輕鏈 HVR 環序列。該等圖式展示重鏈 HVR 序列 H1、H2 及 H3，及輕鏈 HVR 序列 L3。符號 "n.p." 指示某些純系在所指示之位置處不具有胺基酸。胺基酸位置係根據如下文所述之 Kabat 編號系統編號。

表 7A-7F 展示基於 Fab apu05 序列之第二代抗聚泛素抗體分子之重鏈 HVR 環序列，如實例 2 所述，其特異性辨識經 K48 鍵聯之聚泛素。該等圖式展示重鏈 HVR 序列 H1、H2 及 H3。符號 "n.p." 指示某些純系在所指示之位置處不具有胺基酸。胺基酸位置係根據如下文所述之 Kabat 編號系統編號。陰影文字指示該序列與 Fab apu05 中之相應 HVR 序列的胺基酸序列相同。粗體文字指示在實例 2 所述之噬菌體 ELISA 檢定中抗體展示強結合。

表 8A-8C 展示基於 Fab apu18 序列之第二代抗聚泛素抗體分子之重鏈 HVR 環序列，如實例 2 所述，其特異性辨識經 K63 鍵聯之聚泛素。該等圖式展示重鏈 HVR 序列 H1、H2 及 H3。符號 "n.p." 指示某些純系在所指示之位置處不具有胺基酸。胺基酸位置係根據如下文所述之 Kabat 編號系統編號。陰影文字指示該序列與 Fab apu18 中之相應 HVR 序列的胺基酸序列相同。粗體文字指示在實例 2 所述之噬菌體 ELISA 檢定中抗體展示強結合。

表 9A-9B 展示得自突變 apu05 之 Fab 分子之重鏈高變區的胺基酸序列，如實例 2 所述，該等 Fab 分子特異性辨識經 K48 鍵聯之聚泛素 (apu2.01-apu2.10) 且經對五組胺酸特異

之抗體辨識。該等圖式展示重鏈HVR序列H1、H2及H3，及輕鏈HVR序列L3。符號"n.p."指示某些純系在所指示之位置處不具有胺基酸。胺基酸位置係根據如下文所述之Kabat編號系統編號。陰影文字指示該序列與Fab apu05中之相應HVR序列的胺基酸序列相同。

表10A-10B展示得自突變apu18之Fab分子之重鏈高變區的胺基酸序列，如實例2所述，該Fab分子特異性辨識經K63鍵聯之聚泛素(apu2.11-apu2.20)且經對五組胺酸特異之抗體辨識。該等圖式展示重鏈HVR序列H1、H2及H3，及輕鏈HVR序列L3。符號"n.p."指示某些純系在所指示之位置處不具有胺基酸。胺基酸位置係根據如下文所述之Kabat編號系統編號。陰影文字指示該序列與Fab apu18中之相應HVR序列的胺基酸序列相同。

表11A-11B展示得自突變apu2.16之純系之重鏈高變區的胺基酸序列，如實例4所述，該等純系特異性辨識經K63鍵聯之聚泛素(apu3.01-apu3.12)。該等圖式展示重鏈HVR序列H1、H2及H3。符號"ND."指示序列未經確定。胺基酸位置係根據如下文所述之Kabat編號系統編號。陰影文字指示該序列與apu2.16中之相應HVR序列的胺基酸序列相同。

表 1A

HVR-H1

純系編號	SEQ ID NO:											結合至
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
48-1	1	G	F	N	L	S	Y	S	S	M	H	48
48-2	2	G	F	N	V	S	Y	S	S	I	H	48
48-3	3	G	F	N	I	Y	Y	S	S	I	H	48
48-4	4	G	F	N	I	S	Y	Y	Y	I	H	48
48-5	5	G	F	N	V	S	Y	Y	Y	M	H	48
48-6	6	G	F	N	F	Y	S	S	Y	M	H	48
48-7	7	G	F	N	L	Y	Y	S	Y	M	H	48
48-8	8	G	F	N	V	Y	Y	S	S	I	H	48
48-9	9	G	F	N	I	S	Y	S	Y	M	H	48
48-10	10	G	F	N	V	Y	Y	S	S	I	H	48
48-11	11	G	F	N	V	S	Y	S	Y	M	H	48
48-12	12	G	F	N	L	Y	Y	S	Y	M	H	48
48-13	13	G	F	N	V	Y	Y	S	S	I	H	48
48-14	14	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H	48
48-15	15	G	F	N	V	S	Y	S	S	I	H	48/ 二者
48-16	16	G	F	N	F	Y	Y	Y	Y	I	H	48/ 二者
48-17	17	G	F	N	V	S	S	Y	S	I	H	48
48-18	18	G	F	N	V	S	S	Y	S	M	H	48/ 二者
48-19	19	G	F	N	L	S	Y	Y	S	I	H	48/ 二者
48-20	20	G	F	N	L	S	Y	Y	S	I	H	全部
48-21	21	G	F	N	V	S	Y	S	Y	M	H	二者
48-22	22	G	F	N	V	S	Y	Y	S	I	H	二者
48-23	23	G	F	N	L	S	Y	S	S	I	H	二者
48-24	24	G	F	N	V	S	Y	S	S	I	H	二者
48-25	25	G	F	N	L	S	Y	S	S	M	H	無 / 二者
一致	26	G	F	N	L/V/ I/F	S/Y	Y/S	S/Y	S/Y	M/I	H	

表 1B

HVR-H2

純系編號	SEQ ID NO:	50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	結合至
48-1	27	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-2	28	S	I	S	P	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-3	29	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-4	30	S	I	S	S	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-5	31	S	I	S	S	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-6	32	S	I	S	P	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-7	33	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-8	34	S	I	Y	P	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-9	35	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-10	36	S	I	S	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-11	37	S	I	S	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-12	38	S	I	S	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-13	39	S	I	S	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-14	40	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-15	41	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48/二者
48-16	42	S	I	S	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48/二者
48-17	43	S	I	S	S	S	Y	S	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48
48-18	44	S	I	Y	S	S	S	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	48/二者
48-19	45	S	I	Y	S	S	Y	S	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G	48/二者
48-20	46	S	I	Y	P	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	全部
48-21	47	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	二者
48-22	48	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	二者
48-23	49	S	I	Y	P	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	二者
48-24	50	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	二者
48-25	51	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	無 / 二者
一致	52	S	I	Y/S	P/S	Y/S	Y/S	S/G	Y/S	T	S/N	Y	A	D	S	V	K	G	G

表 1C
HVR-H3

純系編號	SEQ ID NO:	95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	100d	100e	100f	100g	100h	100i	100j	100k	100l	100m		結合至
48-1	53	G	Y	E	G	G	M	A	M											D	Y 48	
48-2	54	D	G	Y	A	M	D	A	L											D	Y 48	
48-3	55	L	Y	H	N	T	L	G	M											D	Y 48	
48-4	56	P	Y	S	Y	S	E	A	M											D	Y 48	
48-5	57	E	Y	Y	M	Y	D	A	L											D	Y 48	
48-6	58	D	Y	Y	Y	I	S	A	I											D	Y 48	
48-7	59	S	Y	S	Y	S	S	A	L											D	Y 48	
48-8	60	G	Y	K	Y	W	S	A	F											D	Y 48	
48-9	61	S	Y	S	S	Y	S	A	I											D	Y 48	
48-10	62	E	G	Y	S	Q	G	G	F											D	Y 48	
48-11	63	S	Y	G	Y	Y	V	A	F											D	Y 48	
48-12	64	D	Y	K	F	G	Y	A	I											D	Y 48	
48-13	65	E	G	Y	S	Q	G	G	F											D	Y 48	
48-14	66	S	Y	S	Y	Y	S	A	M											D	Y 48	
48-15	67	G	Y	M	W	Y	G	G	I											D	Y 48/二者	
48-16	68	E	Y	Y	S	Y	L	G	A	I										D	Y 48/二者	
48-17	69	H	T	K	Y	V	Y	L	Y	T	Y	W	E	D	S	M	D	Y	G	L	Y 48	
48-18	70	S	S	I	S	E	W	Y	G	S	W	Y	Y	F	W	E	S	S	G	I	Y 48/二者	
48-19	71	E	S	Y	W	S	Y	A	M											D	Y 48/二者	
48-20	72	S	Y	S	Y	S	Y	G	I											D	Y 全部	
48-21	73	S	Y	S	Y	Y	S	A	I											D	Y 二者	
48-22	74	S	Y	S	Y	S	Y	G	L											D	Y 二者	
48-23	75	G	Y	I	H	W	E	A	L											D	Y 二者	
48-24	76	S	Y	S	Y	S	S	G	L											D	Y 二者	
48-25	77	S	Y	S	Y	S	Y	G	M											D	Y 無/二者	
一致	78	G/D/ L/P/ E/S/ H	Y/ G/ T/S	E/Y/ H/S/ K/G/ M/I	G/A/N/ Y/M/ S/F/ W/H	G/M/T/ S/N/Y/ W/Q/ V/E	M/D/L/ E/S/G/ V/YW	A/G/ L/Y	M/L/ I/F/ A/Y/ G	I/T/ S/ n.p.	Y/ W/ n.p.	W/ Y/ n.p.	E/ Y/ n.p.	D/ F/ n.p.	S/ W/ n.p.	M/ E/ n.p.	D/ S/ n.p.	Y/ S/ n.p.	G/ n.p.	L/ n.p.	D	Y

表 2A

HVR-H1

[illegible]

HVR-H2

[illegible]

表 2B

HVR-H3

純系 編號	SEQ ID NO:	95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	100d	100e	100f	100g	100h	100i	100j	100k	100l	100m		結合至
		95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	100d	100e	100f	100g	100h	100i	100j	100k	100l	100m		
63-1	101	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I											D	Y
63-2	102	E	K	M	Y	Y	S	Y	G	F											D	Y
63-3	103	E	S	Y	S	I	H	F	G	F											D	Y
63-4	104	M	Y	Y	S	Y	Y	W	R	P	Y	G	N	A	I						D	Y
63-5	105	G	S	I	P	S	Y	W	S	A	D	W	Y	Y	Y	Y	G	L			D	Y
63-6	106	Y	K	Y	N	Y	Y	Y	F	E	S	G	M								D	Y
63-7	107	E	Y	Y	W	W	Y	K	E	A	W	Y	S	A	G	M					D	Y
63-8	108	G	I	M	F	S	S	W	W	W	Y	Y	D	Y	S	D	A	L			D	Y
63-9	109	S	G	Y	Y	Y	Q	G	Y	W	W	Y	Y	Y	T	G	Y	Y	G	M	D	Y
一致	110	EM/	Y/K/	Y/M/	R/Y/S/	W/Y/	Y/S/	TY/	A/G/	I/F	Y/D	GW/	N/Y/	AY/	I/Y/	Y/M/	G/A/	LY/	G/	M/	D	Y
		GY/	S/I/	I	P/N/	I/S	H/Q	FW/	R/S/	P/A/	SW/	Y/	M/S/	n.p.	GIS/	D/G/	Y/	n.p.	n.p.	n.p.		
		S	G		W/F			K/G	F/E/	EW	n.p.	n.p.	D/		T/	n.p.	n.p.	n.p.				

表 3A

HVR-H1

純系編號	SEQ ID NO:										
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
48-26	151	G	F	N	V	Y	Y	S	S	I	H
48-27	152	G	F	N	V	S	Y	S	Y	M	H
48-28	153	G	F	N	F	S	Y	Y	S	M	H
48-29	154	G	F	N	L	S	Y	Y	S	I	H
48-30	155	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-31	156	G	F	N	V	Y	Y	S	S	I	H
48-32	157	G	F	N	L	S	Y	S	Y	I	H
48-33	158	G	F	N	F	Y	Y	Y	Y	I	H
48-34	159	G	F	N	L	S	Y	S	S	I	H
48-35	160	G	F	N	V	S	Y	S	S	I	H
48-36	161	G	F	N	V	S	Y	S	S	I	H
48-37	162	G	F	N	V	Y	Y	S	S	I	H
48-38	163	G	F	N	V	S	Y	Y	Y	I	H
48-39	164	G	F	N	L	S	Y	S	S	I	H
48-40	165	G	F	N	I	S	Y	S	Y	M	H
48-41	166	G	F	N	L	Y	Y	S	Y	M	H
48-42	167	G	F	N	V	S	Y	Y	Y	M	H
48-43	168	G	F	N	I	S	Y	S	Y	M	H
48-44	169	G	F	N	I	S	Y	S	S	I	H
48-45	170	G	F	N	V	S	Y	S	S	M	H
48-46	171	G	F	N	L	S	Y	Y	S	I	H
48-47	172	G	F	N	V	S	Y	Y	S	I	H
48-48	173	G	F	N	I	S	Y	S	S	I	H
48-49	174	G	F	N	F	S	Y	Y	S	I	H
48-50	175	G	F	N	L	S	Y	S	S	M	H
一致	176	G	F	N	V/F/ L/I	Y/S	Y	S/Y	S/Y	I/M	H

表 3B

HVR-H2

純系編號	SEQ ID NO:																	
		50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
48-26	177	S	I	S	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-27	178	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-28	179	S	I	Y	P	Y	Y	G	Y	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
48-29	180	S	I	Y	P	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-30	181	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-31	182	S	I	Y	P	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-32	183	S	I	S	S	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-33	184	S	I	S	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-34	185	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-35	186	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-36	187	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-37	188	S	I	Y	P	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-38	189	S	I	S	S	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-39	190	S	I	Y	S	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-40	191	S	I	S	P	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-41	192	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-42	193	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-43	194	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-44	195	S	I	S	S	S	Y	S	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
48-45	196	S	I	S	P	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-46	197	S	I	Y	S	S	Y	S	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
48-47	198	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-48	199	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-49	200	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
48-50	201	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
一致	202	S	I	S/Y	P/S	Y/S	Y	S/G	Y/S	T	S/Y	Y	A	D	S	V	K	G

表 3C

HVR-H3

純系 編號	SEQ ID NO:											
		95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	101	102
48-26	203	E	G	Y	S	Q	G	G	F		D	Y
48-27	204	S	Y	S	Y	Y	S	A	I		D	Y
48-28	205	S	Y	S	Y	S	Y	G	M		D	Y
48-29	206	S	Y	S	Y	S	Y	G	I		D	Y
48-30	207	S	Y	S	Y	Y	S	A	M		D	Y
48-31	208	G	Y	K	Y	W	S	A	F		D	Y
48-32	209	E	S	F	Y	Y	S	P	A	F	D	Y
48-33	210	E	Y	Y	S	Y	L	G	A	I	D	Y
48-34	211	G	Y	E	G	G	M	A	M		D	Y
48-35	212	S	Y	S	Y	S	S	G	L		D	Y
48-36	213	G	Y	M	W	Y	G	G	I		D	Y
48-37	214	D	C	Y	Y	x	A	A	F		D	Y
48-38	215	E	N	Y	W	W	A	I			D	Y
48-39	216	S	Y	S	Y	Y	S	A	F		D	Y
48-40	217	D	Y	Y	F	F	S	A	I		D	Y
48-41	218	S	Y	S	Y	S	S	A	L		D	Y
48-42	219	E	G	Y	I	S	G	D	A	I	D	Y
48-43	220	S	Y	S	S	Y	S	A	I		D	Y
48-44	221	G	Y	F	E	G	W	Y	G	L	D	Y
48-45	222	E	Y	S	Y	Y	G	G	F		D	Y
48-46	223	E	S	Y	W	S	Y	A	M		D	Y
48-47	224	S	Y	S	Y	S	Y	G	L		D	Y
48-48	225	Y	Y	S	Y	S	S	G	L		D	Y
48-49	226	S	Y	S	Y	S	Y	G	L		D	Y
48-50	227	S	Y	S	Y	S	Y	G	M		D	Y
一致	228	E/S/ G/D/ Y	G/Y/ S/C/ N	Y/S/ K/F/ E/M	S/Y/ G/W/ F/I/E	Q/Y/ S/W/ G/X/ F	G/S/ Y/L/ M/G/ A/W	G/A P/I/ D/Y	F/I/ M/A/ L/G/ n.p.	F/I/ L/ n.p.	D	Y

表 4A

HVR-H1

[illegible]

HVR-H2

純系編號	SEQ ID NO:																	
		50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
63-10	241	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-11	242	S	I	Y	P	S	S	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
63-12	243	S	I	Y	S	S	Y	S	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-13	244	S	I	S	S	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-14	245	S	I	Y	S	S	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-15	246	S	I	S	P	S	Y	G	Y	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
63-16	247	Y	I	S	P	S	Y	S	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
63-17	248	S	I	S	S	S	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-18	249	S	I	Y	S	S	Y	S	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-19	250	Y	I	S	S	Y	S	G	Y	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
63-20	251	S	I	Y	P	S	S	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
一致	252	Y/S	I	SN	P/S	Y/S	Y/S	G/S	S/N	T	SN	Y	A	D	S	V	K	G

表 4B

HVR-H3

純系 編號	SEQ ID NO:	95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	100d	100e	100f	100g	100h	100i	100j	100k	100l	100m		
63-10	253	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I											101	102
63-11	254	S	G	Y	Y	Y	Q	G	Y	W	W	Y	Y	Y	T	G	Y	Y	G	M	D	Y
63-12	255	G	I	M	F	S	S	W	W	W	Y	Y	D	Y	S	D	A	L			D	Y
63-13	256	G	S	I	P	S	Y	W	S	A	D	W	Y	Y	Y	Y	G	L			D	Y
63-14	257	E	Y	Y	W	W	Y	K	E	A	W	Y	S	A	G	M					D	Y
63-15	258	W	Q	G	Y	G	F	K	Y	Y	W	S	Y	Y	V	S	Y	G	L		D	Y
63-16	259	S	Y	S	Y	Y	Y	Y	S	S	Y	G	F								D	Y
63-17	260	E	S	Y	A	G	V	P	P	Y	G	F									D	Y
63-18	261	G	I	M	F	S	S	W	W	W	Y	Y	D	Y	S	D	A	L			D	Y
63-19	262	G	I	M	F	S	S	W	W	W	Y	Y	D	Y	S	D	A	L			D	Y
63-20	263	E	Y	Y	W	W	Y	K	E	A	W	Y	S	A	G	M					D	Y
一致	264	E/S/ GW	Y/ G/I/ S/G	Y/M/ I/Y/ G/S	R/Y/ F/P/W	W/Y/ S/G	Y/Q/ S/F/N	T/G/ W/K/ Y/P	A/Y/ W/S/ E/P	I/W/ A/Y/ S	W/Y/ D/G	Y/W/ S/G F	Y/D/ S/F/ n.p.	Y/A/ n.p.	T/S/ Y/G/ V/ n.p.	G/D/ Y/M/ S/ n.p.	Y/A/ G/ n.p.	Y/L/ G/ n.p.	G/ n.p.	M/L/ n.p.	D	Y

表 5A

HVR-H1

純系編號	SEQ ID NO:										
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
apu01	265	G	F	N	V	Y	Y	S	S	I	H
apu02	266	G	F	N	V	S	Y	S	Y	M	H
apu03	267	G	F	N	F	S	Y	Y	S	M	H
apu04	268	G	F	N	L	S	Y	Y	S	I	H
apu05	269	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
apu06	270	G	F	N	V	Y	Y	S	S	I	H
apu07	271	G	F	N	L	S	Y	S	Y	I	H
apu08	272	G	F	N	L	S	Y	S	S	M	H
apu09	273	G	F	N	V	S	Y	S	S	I	H
apu10	274	G	F	N	V	S	Y	S	S	I	H
apu11	275	G	F	N	V	S	Y	Y	Y	I	H
apu12	276	G	F	N	L	Y	Y	S	Y	M	H
apu13	277	G	F	N	V	S	Y	Y	S	I	H
apu14	278	G	F	N	I	S	Y	S	S	I	H
apu15	279	G	F	N	F	S	Y	Y	S	I	H
一致	280	G	F	N	V/F/L/I	Y/S	Y	S/Y	S/Y	I/M	H

HVR-H2

純系編號	SEQ ID NO:																	
		50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
apu01	281	S	I	S	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu02	282	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu03	283	S	I	Y	P	Y	Y	G	Y	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
apu04	284	S	I	Y	P	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu05	285	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu06	286	S	I	Y	P	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu07	287	S	I	S	S	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu08	288	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu09	289	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu10	290	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu11	291	S	I	S	S	Y	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu12	292	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu13	293	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu14	294	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu15	295	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
一致	296	S	I	S/Y	P/S	Y	Y	S/G	Y/S	T	S/Y	Y	A	D	S	V	K	G

表 5B

HVR-H3

純系 編號	SEQ ID NO:											
		95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	101	102
apu01	297	E	G	Y	S	Q	G	G	F		D	Y
apu02	298	S	Y	S	Y	Y	S	A	I		D	Y
apu03	299	S	Y	S	Y	S	Y	G	M		D	Y
apu04	300	S	Y	S	Y	S	Y	G	I		D	Y
apu05	301	S	Y	S	Y	Y	S	A	M		D	Y
apu06	302	G	Y	K	Y	W	S	A	F		D	Y
apu07	303	E	S	F	Y	Y	S	P	A	F	D	Y
apu08	304	G	Y	E	G	G	M	A	M		D	Y
apu09	305	S	Y	S	Y	S	S	G	L		D	Y
apu10	306	G	Y	M	W	Y	G	G	I		D	Y
apu11	307	E	N	Y	W	W	A	I			D	Y
apu12	308	S	Y	S	Y	S	S	A	L		D	Y
apu13	309	S	Y	S	Y	S	Y	G	L		D	Y
apu14	310	Y	Y	S	Y	S	S	G	L		D	Y
apu15	311	S	Y	S	Y	S	Y	G	L		D	Y
一致	312	E/S/ G/Y	G/Y/ S/N	Y/S/ K/F/E	S/Y/ G/W	Q/Y/ S/G	G/S/ Y/M/ A	G/A/ P/I	F/I/ M/A/ L/n.p.	F/ n.p.	D	Y

表 5C

HVR-L3

純系 編號	SEQ ID NO:											
		89	90	91	92	93	94	95	95a	95b	96	97
apu01	313	Q	Q	S	S	Y	S	S	L		F	T
apu02	314	Q	Q	S	S	Y	S	S	L		F	T
apu03	315	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	P	I	T
apu04	316	Q	Q	Y	S	S	Y	Y	S	P	V	T
apu05	317	Q	Q	S	S	Y	S	S	L		I	T
apu06	318	Q	Q	S	S	Y	S	S	L		V	T
apu07	319	Q	Q	S	Y	Y	Y	S	L		F	T
apu08	320	Q	Q	S	S	Y	S	S	L		V	T
apu09	321	Q	Q	S	S	Y	S	S	L		F	T
apu10	322	Q	Q	Y	S	Y	S	S	L		F	T
apu11	323	Q	Q	S	Y	Y	Y	Y	P		I	T
apu12	324	Q	Q	S	S	Y	S	S	L		V	T
apu13	325	Q	Q	Y	S	S	S	Y	Y	P	F	T
apu14	326	Q	Q	S	S	Y	S	S	L		L	T
apu15	327	Q	Q	Y	Y	Y	Y	Y	Y	P	I	T
一致	328	Q	Q	S/Y	S/Y	Y/S	S/Y	S/Y	L/S/ P/Y	P/ n.p.	F/I/ V/L	T

HVR-H1

純系編號	SEQ ID NO:	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
apu17	329	G	F	N	V	S	S	Y	S	I	H
apu18	330	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
apu19	331	G	F	N	F	S	Y	S	S	I	H
apu20	332	G	F	N	V	Y	Y	S	S	I	H
apu21	333	G	F	N	F	Y	Y	S	S	I	H
apu22	334	G	F	N	V	S	S	S	Y	I	H
apu23	335	G	F	N	F	Y	S	S	Y	M	H
apu24	336	G	F	N	F	Y	S	S	S	I	H
一致	337	G	F	N	V/I/F	S/Y	S/Y	Y/S	S/Y	I/M	H

HVR-H2

純系編號	SEQ ID NO:																			
		50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64			
apu17	338	S	I	Y	P	S	S	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G		
apu18	339	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G		
apu19	340	S	I	Y	S	S	Y	S	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G		
apu20	341	S	I	S	P	S	Y	G	Y	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G		
apu21	342	S	I	Y	S	S	Y	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G		
apu22	343	S	I	S	S	S	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G		
apu23	344	Y	I	S	S	Y	S	G	Y	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G		
apu24	345	S	I	S	S	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G		
一致	346	S/Y	I	Y/S	P/S	S/N	S/N	G/S	S/N	T	Y/S	Y	A	D	S	V	K	G		

表 6B

HVR-H3

純系 編號	SEQ ID NO:	95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	100d	100e	100f	100g	100h	100i	100j	100k	100l	100m		
apu17	347	S	G	Y	Y	Y	Q	G	Y	W	W	Y	Y	Y	T	G	Y	Y	G	M	101	102
apu18	348	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I											D	Y
apu19	349	G	I	M	F	S	S	W	W	W	Y	Y	D	Y	S	D	A	L			D	Y
apu20	350	W	Q	G	Y	G	F	K	Y	Y	W	S	Y	Y	V	S	Y	G	L		D	Y
apu21	351	E	Y	Y	W	W	Y	K	E	A	W	Y	S	A	G	M					D	Y
apu22	352	E	S	Y	A	G	V	P	P	Y	G	F									D	Y
apu23	353	G	I	M	F	S	S	W	W	W	Y	Y	D	Y	S	D	A	L			D	Y
apu24	354	G	S	I	P	S	Y	W	S	A	D	W	Y	Y	Y	Y	G	L			D	Y
一致	355	S/E/ GW	G/ Y/I/ Q/S	Y/M/ G/I	Y/R/ F/W/ A/P	Y/W/ S/G	Q/Y/ S/FN	G/T/ W/K/ P	Y/A/ W/E/ P/S	W/I/ Y/A	W/N/ G/D/ n.p.	Y/S/ F/W/ n.p.	Y/D/ S/ n.p.	Y/A/ n.p.	T/S/ V/G/ Y/ n.p.	G/D/ S/M/ Y/ n.p.	Y/A/ G/ n.p.	Y/I/ G/ n.p.	G/ n.p.	M/L/ n.p.	D	Y

表 6C

HVR-L3

純系 編號	SEQ ID NO:	89	90	91	92	93	94	95	95a	95b	96	97
apu17	356	Q	Q	Y	S	Y	Y	P			F	R
apu18	357	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	L	F	T
apu19	358	Q	Q	Y	S	S	S	L			V	T
apu20	359	Q	Q	Y	S	S	S	S	P	F	T	F
apu21	360	Q	Q	S	S	Y	S	P			I	T
apu22	361	Q	Q	Y	S	Y	S	S	Y	L	I	T
apu23	362	Q	Q	S	Y	Y	S	P			F	T
apu24	363	Q	Q	Y	Y	Y	S	L			V	T
一致	364	Q	Q	Y/S	SN	Y/S	Y/S	P/S/ L	S/P/ Y/n.p.	L/F n.p.	FN/ T/I	RT/ F

表 7A

HVR-H1

純系編號	SEQ ID NO:										
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
48-51	392	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-52	393	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-53	394	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-54	395	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-55	396	G	F	N	I	G	Y	S	F	M	H
48-56	397	G	F	N	V	D	Y	S	Y	M	H
48-57	398	G	F	N	V	D	Y	S	Y	M	H
48-58	399	G	F	N	F	S	Y	S	F	M	H
48-59	400	G	F	N	I	V	Y	S	F	M	H
48-60	401	G	F	N	I	I	Y	S	F	M	H
48-61	402	G	F	N	I	V	Y	S	F	I	H
48-62	403	G	F	N	L	S	Y	S	F	M	H
48-63	404	G	F	N	V	D	Y	S	F	M	H
48-64	405	G	F	N	V	I	Y	S	F	M	H
48-65	406	G	F	N	V	A	Y	S	L	M	H
48-66	407	G	F	N	I	S	Y	S	W	M	H
48-67	408	G	F	N	L	D	Y	S	F	M	H
48-68	409	G	F	N	F	L	Y	S	G	I	H
48-69	410	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-70	411	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-71	412	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-72	413	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-73	414	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-74	415	G	F	N	I	L	Y	S	G	I	H
48-75	416	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-76	417	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-77	418	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-78	419	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-79	420	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-80	421	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-81	422	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-82	423	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-83	424	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-84	425	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-85	426	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-86	427	G	F	N	I	F	Y	S	G	I	H
48-87	428	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-88	429	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-89	430	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-90	431	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-91	432	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-92	433	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-93	434	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-94	435	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-95	436	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-96	437	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H

表 7B

HVR-H1 (Con't.)

純系編號	SEQ ID NO:										
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
48-97	438	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-98	439	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-99	440	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-100	441	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-101	442	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-102	443	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-103	444	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-104	445	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-105	446	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-106	447	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-107	448	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-108	449	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-109	450	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-110	451	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-111	452	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H
48-112	453	G	F	N	L	S	Y	S	G	M	H
48-113	454	G	F	N	L	L	Y	S	G	M	H
48-114	455	G	F	N	V	A	Y	S	G	I	H
48-115	456	G	F	N	V	D	Y	S	G	M	H
48-116	457	G	F	N	V	D	Y	S	G	M	H
48-117	458	G	F	N	V	S	Y	S	S	I	H
48-118	459	G	F	N	V	V	Y	S	G	I	H
一致	460	G	F	N	I/V/ F/L	S/G/ D/V/ I/L/ F/A	Y	S	S/F/ Y/L/ W/G	M/I	H

表 7C

HVR-H2

純系 編號	SEQ ID NO:																	
		50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
48-51	461	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-52	462	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-53	463	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-54	464	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-55	465	S	I	A	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-56	466	S	I	A	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-57	467	S	I	A	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-58	468	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-59	469	S	I	S	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-60	470	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-61	471	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-62	472	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-63	473	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-64	474	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-65	475	S	I	S	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-66	476	S	I	T	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-67	477	S	I	T	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-68	478	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-69	479	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-70	480	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-71	481	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-72	482	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-73	483	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-74	484	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-75	485	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-76	486	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-77	487	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-78	488	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-79	489	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-80	490	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-81	491	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-82	492	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-83	493	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-84	494	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-85	495	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-86	496	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-87	497	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-88	498	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-89	499	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-90	500	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-91	501	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-92	502	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-93	503	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G

表 7D

純系 編號	SEQ ID NO:																	
		50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
48-94	504	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-95	505	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-96	506	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-97	507	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-98	508	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-99	509	S	I	Y	P	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-100	510	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-101	511	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-102	512	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-103	513	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-104	514	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-105	515	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-106	516	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-107	517	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-108	518	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-109	519	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-110	520	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-111	521	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-112	522	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-113	523	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-114	524	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-115	525	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-116	526	S	I	Y	S	Y	Y	T	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-117	527	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
48-118	528	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
一致	529	S	I	Y/A/ S/T	S/P	Y	Y	S/T	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G

表 7E

HVR-H3

純系編號	SEQ ID NO:										
		95	96	97	98	99	100	100a	100b	101	102
48-51	530	S	Y	N	N	T	T	S	I	D	Y
48-52	531	G	Y	S	W	Y	N	A	M	D	Y
48-53	532	G	Y	S	W	F	N	A	I	D	Y
48-54	533	G	Y	Y	W	F	D	A	M	D	Y
48-55	534	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-56	535	S	Y	S	Y	R	E	T	M	D	Y
48-57	536	S	Y	S	Y	R	E	T	M	D	Y
48-58	537	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-59	538	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-60	539	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-61	540	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-62	541	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-63	542	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-64	543	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-65	544	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-66	545	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-67	546	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-68	547	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-69	548	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-70	549	S	Y	S	Y	S	F	G	M	D	Y
48-71	550	S	Y	S	Y	F	M	G	M	D	Y
48-72	551	S	Y	S	Y	H	V	A	F	D	Y
48-73	552	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-74	553	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-75	554	S	Y	S	Y	H	L	A	F	D	Y
48-76	555	S	Y	S	Y	S	L	A	F	D	Y
48-77	556	S	Y	S	Y	Y	I	A	M	D	Y
48-78	557	S	Y	S	Y	Y	M	G	M	D	Y
48-79	558	S	Y	S	Y	S	M	G	M	D	Y
48-80	559	S	Y	S	Y	H	V	A	M	D	Y
48-81	560	S	Y	S	Y	H	M	G	M	D	Y
48-82	561	S	Y	S	Y	H	L	G	M	D	Y
48-83	562	S	Y	S	Y	Y	Q	G	F	D	Y
48-84	563	S	Y	S	Y	S	M	G	M	D	Y
48-85	564	S	Y	S	Y	F	L	A	M	D	Y
48-86	565	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-87	566	S	Y	S	Y	S	E	A	L	D	Y
48-88	567	S	Y	S	Y	S	L	G	M	D	Y
48-89	568	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-90	569	S	Y	S	Y	F	M	G	M	D	Y
48-91	570	S	Y	S	Y	F	L	A	M	D	Y
48-92	571	S	Y	S	Y	F	L	A	M	D	Y
48-93	572	S	Y	S	Y	Y	L	A	M	D	Y
48-94	573	S	Y	S	Y	F	I	G	M	D	Y
48-95	574	S	Y	S	Y	H	L	G	M	D	Y

表 7F

純系編號	SEQ ID NO:										
		95	96	97	98	99	100	100a	100b	101	102
48-96	575	S	Y	S	Y	T	E	A	F	D	Y
48-97	576	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-98	577	S	Y	S	Y	T	Y	G	L	D	Y
48-99	578	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-100	579	S	Y	S	Y	S	L	G	M	D	Y
48-101	580	S	Y	S	Y	W	V	G	M	D	Y
48-102	581	S	Y	S	Y	T	L	A	M	D	Y
48-103	582	S	Y	S	Y	T	M	G	L	D	Y
48-104	583	S	Y	S	Y	F	L	G	M	D	Y
48-105	584	S	Y	S	Y	H	M	G	F	D	Y
48-106	585	S	Y	S	Y	S	L	G	M	D	Y
48-107	586	S	Y	S	Y	Y	E	A	F	D	Y
48-108	587	S	Y	S	Y	R	M	A	F	D	Y
48-109	588	S	Y	S	Y	H	I	A	F	D	Y
48-110	589	S	Y	S	Y	S	V	G	M	D	Y
48-111	590	S	Y	S	Y	T	L	G	M	D	Y
48-112	591	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-113	592	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-114	593	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-115	594	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-116	595	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-117	596	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
48-118	597	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y
一致	598	S/G	Y	S/N/Y	Y/N/ W	T/Y/ F/R/ S/H/ W	T/N/ D/S/ E/F/ M/Y/ L/I/Y	S/A/ T/G	I/M/ F/L	D	Y

表 8A

HVR-H1

純系編號	SEQ ID NO:										
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
63-21	599	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-22	600	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-23	601	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-24	602	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-25	603	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-26	604	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-27	605	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-28	606	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-29	607	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-30	608	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-31	609	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-32	610	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-33	611	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-34	612	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-35	613	G	F	N	F	S	S	S	Y	I	H
63-36	614	G	F	N	I	K	G	S	L	I	H
63-37	615	G	F	N	I	K	G	S	I	M	H
63-38	616	G	F	N	I	K	S	S	I	M	H
63-39	617	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-40	618	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-41	619	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-42	620	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-43	621	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-44	622	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-45	623	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-46	624	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
63-47	625	G	F	N	L	A	S	S	F	M	H
63-48	626	G	F	N	L	V	S	S	L	M	H
63-49	627	G	F	N	V	K	T	G	L	I	H
63-50	628	G	F	N	V	K	W	N	Y	I	H
63-51	629	G	F	N	V	V	S	S	F	I	H
一致	630	G	F	N	I/F/ L/V	S/K/ A/V	S/G/ T/W	S/G/N	Y/L/ I/F	I/M	H

表 8B

HVR-H2

純系 編號	SEQ ID NO:																	
		50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
63-21	631	A	I	A	P	Y	L	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-22	632	A	I	P	P	F	Y	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-23	633	A	I	Q	P	Y	F	G	W	T	I	Y	A	D	S	V	K	G
63-24	634	A	I	S	P	Y	L	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-25	635	D	I	A	P	Y	L	G	T	T	K	Y	A	D	S	V	K	G
63-26	636	D	I	S	P	W	Y	G	G	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-27	637	D	I	S	S	Y	T	G	S	T	D	Y	A	D	S	V	K	G
63-28	638	F	I	Q	P	Y	Y	G	S	T	I	Y	A	D	S	V	K	G
63-29	639	F	I	S	P	Y	L	G	S	T	N	Y	A	D	S	V	K	G
63-30	640	G	I	T	P	Y	L	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-31	641	H	I	S	P	Y	L	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-32	642	I	I	S	P	Y	L	G	S	T	G	Y	A	D	S	V	K	G
63-33	643	S	I	T	P	Y	Y	G	W	T	R	Y	A	D	S	V	K	G
63-34	644	W	I	S	P	Y	L	G	R	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-35	645	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-36	646	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-37	647	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-38	648	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-39	649	Y	I	G	P	F	T	G	S	T	N	Y	A	D	S	V	K	G
63-40	650	Y	I	S	P	F	L	S	T	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-41	651	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-42	652	Y	I	S	P	Y	S	G	S	T	K	Y	A	D	S	V	K	G
63-43	653	Y	I	S	P	Y	Y	S	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-44	654	Y	I	S	P	Y	L	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-45	655	Y	I	S	P	Y	L	S	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-46	656	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-47	657	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-48	658	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-49	659	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-50	660	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
63-51	661	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
一致	662	A/D/ F/G/ H/I/ S/W/ Y	I	A/P/ Q/S/ T/G	P/S	Y/F	L/Y/ F/T	G/S	S/ W/T/ G/R	T	S/I/ K/D/ N/G/ R	Y	A	D	S	V	K	G

表 8C

HVR-H3

純系編號	SEQ ID NO:											
		95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	101	102
63-21	663	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-22	664	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-23	665	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-24	666	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-25	667	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-26	668	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-27	669	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-28	670	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-29	671	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-30	672	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-31	673	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-32	674	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-33	675	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-34	676	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-35	677	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-36	678	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-37	679	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-38	680	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-39	681	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-40	682	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-41	683	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-42	684	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-43	685	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-44	686	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-45	687	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-46	688	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-47	689	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-48	690	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-49	691	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-50	692	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
63-51	693	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
一致	694	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y

表 9A

HVR-H1

純系編號	SEQ ID NO:											
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
apu2.01	695	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H	
apu2.02	696	G	F	N	I	F	Y	G	G	I	H	
apu2.03	697	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H	
apu2.04	698	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H	
apu2.05	699	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H	
apu2.06	700	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H	
apu2.07	701	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H	
apu2.08	702	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H	
apu2.09	703	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H	
apu2.10	704	G	F	N	I	S	Y	S	S	M	H	
一致	705	G	F	N	I	S/F	Y	S/G	S/G	M/I	H	

HVR-H2

純系編號	SEQ ID NO:																		
		50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	
apu2.01	706	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	
apu2.02	707	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	
apu2.03	708	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	
apu2.04	709	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	
apu2.05	710	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	
apu2.06	711	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	
apu2.07	712	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	
apu2.08	713	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	
apu2.09	714	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	
apu2.10	715	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	
一致	716	S	I	Y	S	Y	Y	S	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	

純系編號	SEQ ID NO:											
		95	96	97	98	99	100	100a	100b	101	102	
apu2.01	717	S	Y	S	Y	S	E	A	L	D	Y	
apu2.02	718	S	Y	S	Y	Y	S	A	M	D	Y	
apu2.03	719	S	Y	S	Y	S	L	A	F	D	Y	
apu2.04	720	S	Y	S	Y	S	F	G	M	D	Y	
apu2.05	721	S	Y	S	Y	R	M	A	F	D	Y	
apu2.06	722	G	Y	S	W	F	N	A	I	D	Y	
apu2.07	723	S	Y	S	Y	H	L	G	M	D	Y	
apu2.08	724	S	Y	S	Y	S	V	G	M	D	Y	
apu2.09	725	S	Y	S	Y	H	V	A	F	D	Y	
apu2.10	726	S	Y	S	Y	F	L	A	M	D	Y	
一致	727	S/G	Y	S	Y/W	S/Y/ R/F/H	E/S/L/ F/M/N/V	A/G	L/M/ F/I	D	Y	

表 9B

HVR-L3

純系統編號	SEQ ID NO:										
		89	90	91	92	93	94	95	95a	96	97
apu2.01	728	Q	Q	S	S	Y	S	S	L	I	T
apu2.02	729	Q	Q	S	S	Y	S	S	L	I	T
apu2.03	730	Q	Q	S	S	Y	S	S	L	I	T
apu2.04	731	Q	Q	S	S	Y	S	S	L	I	T
apu2.05	732	Q	Q	S	S	Y	S	S	L	I	T
apu2.06	733	Q	Q	S	S	Y	S	S	L	I	T
apu2.07	734	Q	Q	S	S	Y	S	S	L	I	T
apu2.08	735	Q	Q	S	S	Y	S	S	L	I	T
apu2.09	736	Q	Q	S	S	Y	S	S	L	I	T
apu2.10	737	Q	Q	S	S	Y	S	S	L	I	T
一致	738	Q	Q	S	S	Y	S	S	L	I	T

表 10A

HVR-H1

純系編號	SEQ ID NO:										
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
apu2.11	739	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
apu2.12	740	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
apu2.13	741	G	F	N	V	K	W	N	Y	I	H
apu2.14	742	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
apu2.15	743	G	F	N	I	K	G	S	I	M	H
apu2.16	744	G	F	N	V	K	T	G	L	I	H
apu2.17	745	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
apu2.18	746	G	F	N	L	V	S	S	L	M	H
apu2.19	747	G	F	N	V	V	S	S	F	I	H
apu2.20	748	G	F	N	I	S	S	S	Y	I	H
一致	749	G	F	N	I/V/L	S/K/V	S/W/G/T	S/N/G	Y/I/L/F	I/M	H

HVR-H2

純系編號	SEQ ID NO:																	
		50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
apu2.11	750	Y	I	S	P	Y	L	S	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu2.12	751	F	I	S	P	Y	L	G	S	T	N	Y	A	D	S	V	K	G
apu2.13	752	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu2.14	753	D	I	A	P	Y	L	G	T	T	K	Y	A	D	S	V	K	G
apu2.15	754	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu2.16	755	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu2.17	756	H	I	S	P	Y	L	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu2.18	757	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu2.19	758	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	S	Y	A	D	S	V	K	G
apu2.20	759	A	I	Q	P	Y	F	G	W	T	I	Y	A	D	S	V	K	G
一致	760	Y/F/ D/H/ A	I	S/A/ Q	P	Y	L/Y/ F	S/ G	S/T/ W	T	S/N/ K/I	Y	A	D	S	V	K	G

HVR-H3

純系編號	SEQ ID NO:											
		95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	101	102
apu2.11	761	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu2.12	762	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu2.13	763	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu2.14	764	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu2.15	765	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu2.16	766	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu2.17	767	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu2.18	768	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu2.19	769	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu2.20	770	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
一致	771	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y

表 10B

HVR-L3

純系 編號	SEQ ID NO:											
		89	90	91	92	93	94	95	95a	95b	96	97
apu2.11	772	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	L	F	T
apu2.12	773	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	L	F	T
apu2.13	774	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	L	F	T
apu2.14	775	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	L	F	T
apu2.15	776	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	L	F	T
apu2.16	777	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	L	F	T
apu2.17	778	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	L	F	T
apu2.18	779	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	L	F	T
apu2.19	780	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	L	F	T
apu2.20	781	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	L	F	T
一致	782	Q	Q	Y	S	S	Y	S	S	L	F	T

表 11A

HVR-H1

純系編號	SEQ ID NO:										
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
apu3.01	789	G	F	N	V	K	T	G	F	M	H
apu3.02	790	G	F	N	V	K	T	G	F	I	H
apu3.03	791	G	F	N	I	K	M	V	F	M	H
apu3.04	792	G	F	N	V	K	N	F	I	I	H
apu3.05	793	G	F	N	V	K	T	G	F	M	H
apu3.06	794	G	F	N	V	K	R	G	F	M	H
apu3.07	795	G	F	N	L	K	T	G	F	I	H
apu3.08	796	G	F	N	V	K	T	G	Y	M	H
apu3.09	797	G	F	N	V	K	T	G	L	I	H
apu3.10	798	G	F	N	V	M	I	G	I	I	H
apu3.11	799	G	F	N	I	K	T	G	F	M	H
apu3.12	ND										
一致	800	G	F	N	V/I/L	K/M	T/M/N/R/I	G/V/F	F/I/Y/L	M/I	H

HVR-H2

純系編號	SEQ ID NO:																		
		50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	
apu3.01	801	Y	I	S	P	Y	Y	G	W	T	R	Y	A	D	S	V	K	G	
apu3.02	802	Y	I	S	P	Y	L	G	V	T	R	Y	A	D	S	V	K	G	
apu3.03	803	Y	I	S	P	Y	D	G	S	T	N	Y	A	D	S	V	K	G	
apu3.04	804	Y	I	I	P	Y	S	G	N	T	V	Y	A	D	S	V	K	G	
apu3.05	805	Y	I	S	P	Y	S	G	R	T	R	Y	A	D	S	V	K	G	
apu3.06	806	Y	I	S	P	Y	L	G	S	T	R	Y	A	D	S	V	K	G	
apu3.07	807	Y	I	S	P	Y	W	G	S	T	T	Y	A	D	S	V	K	G	
apu3.08	808	Y	I	S	P	Y	Y	G	S	T	R	Y	A	D	S	V	K	G	
apu3.09	809	Y	I	S	P	Y	F	G	Y	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	
apu3.10	810	Y	I	I	P	Y	S	G	S	T	K	Y	A	D	S	V	K	G	
apu3.11	811	Y	I	T	P	Y	W	G	S	T	K	Y	A	D	S	V	K	G	
apu3.12	ND																		
一致	812	Y	I	S/I/T	P	Y	Y/L/D/S/W	G	W/N/S/N/R/Y	T	R/N/V/T/S/K	Y	A	D	S	V	K	G	



表 11B

HVR-H3

純系 編號	SEQ ID NO:											
		95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	101	102
apu3.01	813	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu3.02	814	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu3.03	815	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu3.04	816	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu3.05	817	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu3.06	818	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu3.07	819	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu3.08	820	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu3.09	821	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu3.10	822	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu3.11	823	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y
apu3.12	ND											
一致	824	E	Y	Y	R	W	Y	T	A	I	D	Y

序列表

<110> 美商建南德克公司

<120> 靶向聚泛素之方法及組合物

<130> P2260R1-US

<140> 095147221

<141> 2006-12-15

<150> 60/751,081

<151> 2005-12-15

<150> 60/793,980

<151> 2006-04-21

<160> 908

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 1

Gly Phe Asn Leu Ser Tyr Ser Ser Met His

1

5

10

<210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 2
Gly Phe Asn Val Ser Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 3
Gly Phe Asn Ile Tyr Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 4
Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 5

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 5
Gly Phe Asn Val Ser Tyr Tyr Tyr Met His
1 5 10

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 6
Gly Phe Asn Phe Tyr Ser Ser Tyr Met His
1 5 10

<210> 7
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 7
Gly Phe Asn Leu Tyr Tyr Ser Tyr Met His
1 5 10

$\langle 210 \rangle$ 8 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

 $\langle 400 \rangle$ 8

Gly Phe Asn Val Tyr Tyr Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 9

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 9

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Tyr Met His

1 **5** **10**

 $\langle 210 \rangle$ 10 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽



•

•

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 16

Gly Phe Asn Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Ile His

1 **5** **10**

<210> 17

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 17

Gly Phe Asn Val Ser Ser Tyr Ser Ile His

1 **5** **10**

<210> 18

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 18

Gly Phe Asn Val Ser Ser Tyr Ser Met His

1 **5** **10**

<210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 19
Gly Phe Asn Leu Ser Tyr Tyr Ser Ile His
1 5 10

<210> 20
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 20
Gly Phe Asn Leu Ser Tyr Tyr Ser Ile His
1 5 10

<210> 21
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 21
Gly Phe Asn Val Ser Tyr Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 22
Gly Phe Asn Val Ser Tyr Tyr Ser Ile His
1 5 10

<210> 23
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 23
Gly Phe Asn Leu Ser Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 24
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 24

Gly Phe Asn Val Ser Tyr Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 25

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 25

Gly Phe Asn Leu Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

<210> 26

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (4) \dots (4)$

<223> Leu, Val, Ile or Phe

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

$\langle 222 \rangle$ (5)..(8)

<223> Ser or Tyr

•

•

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

1 5 10 15

Gly

<210> 29

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 29

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

1 5 10 15

Gly

 $\langle 210 \rangle$ 30

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 30

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

1 5 10 15

Gly

<210> 31
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 31
Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 32
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 32
Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 33
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 33
Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 34
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 34
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 35

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 35
Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 36
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 36
Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 37
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 37
Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 38
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 38
Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 39
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 39
Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 40
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 40
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 41
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 41

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

1 5 10 15

Gly

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 42

Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 43

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 43

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

1 5 10 15

Gly

<210> 44
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 44
Ser Ile Tyr Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 45
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 45
Ser Ile Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 46
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 46
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 47
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 47
Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 48

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 48
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 49
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 49
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 50
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 50

Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 51

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 51

Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 52

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (3) \dots (3)$

<223> Tyr or Ser

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (4) \dots (4)$

<223> Pro or Ser

<221> MOD_RES

<222> (5)..(6)

<223> Tyr or Ser

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (7)..(7)

<223> Ser or Gly

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Tyr or Ser

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (10)..(10)

<223> Ser or Tyr

Ser Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Tyr Ala Asp Ser Val Lys

15

Gly

$\langle 211 \rangle$ 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Gly Tyr Glu Gly Gly Met Ala Met Asp Tyr

1 5 10

$\langle 211 \rangle$ 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Asp Gly Tyr Ala Met Asp Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

$\langle 211 \rangle$ 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 55
Leu Tyr His Asn Thr Leu Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 56
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 56
Pro Tyr Ser Tyr Ser Glu Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 57
Glu Tyr Tyr Met Tyr Asp Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 58
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 58

Asp Tyr Tyr Tyr Ile Ser Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 59

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 59

Ser Tyr Ser Tyr Ser Ser Ala Leu Asp Tyr

1 **5** **10**

$\langle 210 \rangle$ 60

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 60

Gly Tyr Lys Tyr Trp Ser Ala Phe Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 61

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 61
Ser Tyr Ser Ser Tyr Ser Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 62
Glu Gly Tyr Ser Gln Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 63
Ser Tyr Gly Tyr Tyr Val Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 64

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 64

Asp Tyr Lys Phe Gly Tyr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 65

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 65

Glu Gly Tyr Ser Gln Gly Gly Phe Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 66

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 66

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 67
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 67
Gly Tyr Met Trp Tyr Gly Gly Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 68
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 68
Glu Tyr Tyr Ser Tyr Leu Gly Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 69
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 69

His Thr Lys Tyr Val Tyr Leu Tyr Thr Tyr Trp Glu Asp Ser Met Asp

1 5 10 15

Tyr Gly Leu Asp Tyr

20

<210> 70

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 70

Ser Ser Ile Ser Glu Trp Tyr Gly Ser Trp Tyr Tyr Phe Trp Glu Ser

1 5 10 15

Ser Gly Ile Asp Tyr

20

<210> 71

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 71

•

•

1

•

•

<400> 74

Ser Tyr Ser Tyr Ser Tyr Gly Leu Asp Tyr

1 **5** **10**

$\langle 210 \rangle$ 75

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 75

Gly Tyr Ile His Trp Glu Ala Leu Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 76

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 76

Ser Tyr Ser Tyr Ser Ser Gly Leu Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 77

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 77

Ser Tyr Ser Tyr Ser Tyr Gly Met Asp Tyr

1

5

10

<210> 78

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Gly, Asp, Leu, Pro, Glu, Ser or His

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Tyr, Gly, Thr or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Glu, Tyr, His, Ser, Lys, Gly, Met or Ile

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Gly, Ala, Asn, Tyr, Met, Ser, Phe, Trp or His

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Gly, Met, Thr, Ser, Tyr, Ile, Trp, Gln, Val or Glu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Met, Asp, Leu, Glu, Ser, Gly, Val, Tyr or Trp

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Ala, Gly, Leu or Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Met, Leu, Ile, Phe, Ala, Tyr or Gly

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Ile, Thr, Ser or not present

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(11)
 <223> Tyr, Trp or not present

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Glu, Tyr or not present

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)

<223> Asp, Phe or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> Ser, Trp or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (15)..(15)

<223> Met, Glu or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> Asp, Ser or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17)..(17)

<223> Tyr, Ser or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (18)..(18)

<223> This residue may or may not be present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (19)..(19)

<223> Leu, Ile or not present

<400> 78

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Gly Xaa Asp Tyr
20

<210> 79

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 79

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ala Val Ala

1 5 10

<210> 80

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 80

Ser Ala Ser Ser Leu Tyr Ser

1 5

<210> 81

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 81
Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 82
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 82
Gly Phe Asn Phe Ser Tyr Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 83
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 83
Gly Phe Asn Leu Ser Tyr Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 84
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 84
Gly Phe Asn Phe Tyr Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 85
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 85
Gly Phe Asn Phe Tyr Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 86
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 86
Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 87
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 87

Gly Phe Asn Phe Tyr Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 88

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 88

Gly Phe Asn Phe Ser Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 89

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 89

Gly Phe Asn Val Ser Ser Tyr Ser Ile His
1 5 10

$\langle 211 \rangle$ 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

<221> MOD_RES

<223> Ile, Phe, Leu or Val

<221> MOD RES

<223> Ser or Tyr

Gly Phe Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile His

1 5 10

<211> 17

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

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

1 5 10 15

Gly

<210> 92
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 92
Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 93
Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 94
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 94
Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 95
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 95
Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 96
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 96
Ser Ile Ser Pro Ser Tyr Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 97
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 97
Ser Ile Tyr Ser Ser Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 98
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 98
Ser Ile Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 99
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 99
Ser Ile Tyr Pro Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Tyr or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Ser or Tyr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Pro or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(6)

<223> Tyr or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Gly or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Ser or Tyr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Ser or Tyr

<400> 100

Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 101
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 101
Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 102
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 102
Glu Lys Met Tyr Tyr Ser Tyr Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 103
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<210> 106
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 106
Tyr Lys Tyr Asn Tyr Tyr Tyr Phe Glu Ser Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 107
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 107
Glu Tyr Tyr Trp Trp Tyr Lys Glu Ala Trp Tyr Ser Ala Gly Met Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 108
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 108
Gly Ile Met Phe Ser Ser Trp Trp Trp Tyr Tyr Asp Tyr Ser Asp Ala
1 5 10 15

Leu Asp Tyr

<210> 109
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 109
Ser Gly Tyr Tyr Tyr Gln Gly Tyr Trp Trp Tyr Tyr Tyr Thr Gly Tyr
1 5 10 15

Tyr Gly Met Asp Tyr
20

<210> 110
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Glu, Met, Gly, Tyr or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Tyr, Lys, Ser, Ile or Gly

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Tyr, Met or Ile

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Arg, Tyr, Ser, Pro, Asn, Trp or Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Trp, Tyr, Ile or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Tyr, Ser, His or Gln

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Thr, Tyr, Phe, Trp, Lys or Gly

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Ala, Gly, Arg, Ser, Phe, Glu, Trp or Tyr

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Ile, Phe, Pro, Ala, Glu or Trp

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Tyr, Asp, Ser, Trp or not present

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Gly, Trp, Tyr or not present

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Asn, Tyr, Met, Ser, Asp or not present

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Ala, Tyr or not present

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (14)..(14)
 <223> Ile, Tyr, Gly, Ser, Thr or not present

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (15)..(15)
 <223> Tyr, Met, Asp, Gly or not present

$\langle 220 \rangle$

<221> MOD RES

 $\langle 222 \rangle$ (16)..(16)

<223> Gly, Ala, Tyr or not present

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (17)..(17)

<223> Leu, Tyr or not present

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD RES

 $\langle 222 \rangle$ (18)..(18)

<223> This residue may or may not be present

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (19)..(19)

<223> This residue may or may not be present

$\langle 400 \rangle$ 110

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10 15

Xaa Gly Met Asp Tyr

20

 $\langle 210 \rangle$ 111

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 111

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25 30

<210> 112
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 112
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 113
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 113
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 114
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 114
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser

20 25

$\langle 210 \rangle$ 115

$\langle 211 \rangle$ 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 115

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Val Ser

20 25 30

$\langle 210 \rangle$ 116

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人

<400> 116

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser

20 25

<210> 117

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人

<400> 117
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser
20 25

<210> 118
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 118
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser
20 25

<210> 119
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 119
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

<210> 120

<213> 智人

1 5 10 15

20 25

<213> 智人

1 5 10 15

20 25

<213> 智人

1 5 10 15

20 25

<210> 123
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 123
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys
 20 25 30

<210> 124
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 124
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 20 25

<210> 125
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 125
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 126
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 126
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys
20 25 30

<210> 127
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 127
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 128
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 128

•

—

•

25



1 5 10 15

20

25

<213> 智人

1 5 10 15

20

<212> PRT

<213> 智人

<400> 131

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

$\langle 210 \rangle$ 132

$\langle 211 \rangle$ 23

<212> PRT

<213> 智人

<400> 132

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

20

<210> 133

 $\langle 211 \rangle$ 23

<212> PRT

<213> 智人

<400> 133

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys

20

<210> 134
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 134
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
20

<210> 135
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 135
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 136
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 136
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 137

<213> 智人

1 5 10

<213> 智人

1 5 10 15

20 25

<213> 智人

1 5 10

<213> 智人

<400> 140

1 5 10 15

20 25 30

 $\langle 211 \rangle$ 11

<213> 智人

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

<210> 142

<212> PRT

<400> 142

1 5 10 15

20

<211> 15

<213> 智人

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

1 5 10 15

<210> 144

<211> 32

<212> PRT

<213> 智人

<400> 144

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 145

Phe Arg Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 146

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人

<400> 146

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20 25

<210> 147
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 147
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

<210> 148
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 148
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 149
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 149
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 150
<211> 66
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成寡核?酸

<400> 150

tcttgtgaca aaactcacca tcaccatcac catcactagg gcggtggctc tggttccggt 60

gatttt 66

<210> 151

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 151

Gly Phe Asn Val Tyr Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 152

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 152

Gly Phe Asn Val Ser Tyr Ser Tyr Met His
1 5 10

<210> 153

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 153

Gly Phe Asn Phe Ser Tyr Tyr Ser Met His

1 5 10

<210> 154

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 154

Gly Phe Asn Leu Ser Tyr Tyr Ser Ile His

1 5 10

<210> 155

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 155

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 **5** **10**

<210> 156

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 156

Gly Phe Asn Val Tyr Tyr Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 157

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 157

Gly Phe Asn Leu Ser Tyr Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 158

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 5 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 **5** **10**

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 5 10

<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 161

Gly Phe Asn Val Ser Tyr Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 162

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 162

Gly Phe Asn Val Tyr Tyr Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 163

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 163

Gly Phe Asn Val Ser Tyr Tyr Tyr Ile His

1 5 10

<210> 164

:

<210> 167
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 167
Gly Phe Asn Val Ser Tyr Tyr Tyr Met His
1 5 10

<210> 168
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 168
Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Tyr Met His
1 5 10

<210> 169
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

•

• •

-

•

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 172

Gly Phe Asn Val Ser Tyr Tyr Ser Ile His

1 5 10

<210> 173

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 173

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His

1 **5** **10**

<210> 174

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 174

Gly Phe Asn Phe Ser Tyr Tyr Ser Ile His

1 **5** **10**

<210> 175

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

•

•

•

<223> Ile or Met

<400> 176

Gly Phe Asn Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa His
1 5 10

<210> 177

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 177

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

Gly

<210> 178

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 178

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

Gly

<210> 179

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 179

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

1 5 10 15

Gly

 $\langle 210 \rangle$ 180

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

$\langle 400 \rangle$ 180

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

1 5 10 15

Gly

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

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

Gly

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

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

Gly

<210> 183
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 183
Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 184
Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 185
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 186
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 187

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

1 5 10 15

Gly

<210> 188

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 188

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

1 5 10 15

Gly

<210> 189

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 189

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

1 5 10 15

Gly

<210> 190
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 190
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 191
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 191
Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

$\langle 210 \rangle$ 192

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 192

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

1 5 10 15

Gly

<210> 193

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 193

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

1 5 10 15

Gly

<210> 194

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 194

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

1 5 10 15

Gly

<210> 195

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 195

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

1 5 10 15

Gly

<210> 196

<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

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

Gly

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

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

Gly

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

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

Gly

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 199
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 200
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 200
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 201
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 201
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 202
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD RES

 $\langle 222 \rangle (3) \dots (3)$

<223> Ser or Tyr

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (4) \dots (4)$

<223> Pro or Ser

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (5) \dots (5)$

<223> Tyr or Ser

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (7)..(7)

<223> Ser or Gly

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Tyr or Ser

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

$\langle 222 \rangle$ (10)..(10)

<223> Ser or Tyr

<400> 202

Ser Ile Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Thr Xaa Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 203

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 203
Glu Gly Tyr Ser Gln Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 204
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 204
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 205
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 205
Ser Tyr Ser Tyr Ser Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 206
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 206
Ser Tyr Ser Tyr Ser Tyr Gly Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 207
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 207
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 208
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽



•

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 211
Gly Tyr Glu Gly Gly Met Ala Met Asp Tyr
1 5 10

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 212
Ser Tyr Ser Tyr Ser Ser Gly Leu Asp Tyr
1 5 10

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

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 213
Gly Tyr Met Trp Tyr Gly Gly Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 214
<211> 10
<212> PRT

<223> 人工序列描述: 合成肽

<221> MOD RES

<223> Variable amino acid

Asp Cys Tyr Tyr Xaa Ala Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Glu Asn Tyr Trp Trp Ala Ile Asp Tyr

1 5

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

$\langle 400 \rangle$ 216

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 217

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 217

Asp Tyr Tyr Phe Phe Ser Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 218

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 218

Ser Tyr Ser Tyr Ser Ser Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 219

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 219
Glu Gly Tyr Ile Ser Gly Asp Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 220
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 220
Ser Tyr Ser Ser Tyr Ser Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 221
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 221
Gly Tyr Phe Glu Gly Trp Tyr Gly Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 222
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 222
Glu Tyr Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 223
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 223
Glu Ser Tyr Trp Ser Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 224
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 224
Ser Tyr Ser Tyr Ser Tyr Gly Leu Asp Tyr
1 5 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 5 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 **5** **10**

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 227

Ser Tyr Ser Tyr Ser Tyr Gly Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 228

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Glu, Ser, Gly, Asp or Tyr

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (2) \dots (2)$

<223> Gly, Tyr, Ser, Cys or Asn

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Tyr, Ser, Lys, Phe, Glu or Met

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

$\langle 222 \rangle$ (4)..(4)

<223> Ser, Tyr, Gly, Trp, Phe, Ile or Glu

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

$\langle 222 \rangle$ (5)..(5)

<223> Variable amino acid



—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

—

$\langle 210 \rangle$ 230 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 230

Gly Phe Asn Val Ser Ser Tyr Ser Ile His

1 5 10

 $\langle 210 \rangle$ 231 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 231

Gly Phe Asn Phe Ser Tyr Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 232

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 232

Gly Phe Asn Phe Tyr Ser Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 233
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 233
Gly Phe Asn Phe Tyr Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 234
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 234
Gly Phe Asn Val Tyr Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 235
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 235

Gly Phe Asn Phe Tyr Tyr Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 236

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 236

Gly Phe Asn Val Ser Ser Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 237

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 237

Gly Phe Asn Phe Tyr Tyr Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 238

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Gly Phe Asn Phe Tyr Ser Ser Tyr Met His

<210> 239

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Gly Phe Asn Val Ser Ser Tyr Ser Ile His

<210> 240

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

<221> MOD RES

$\langle 222 \rangle$ (4)..(4)

<223> Ile, Val or Phe

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES
<222> (5)..(8)
<223> Ser or Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> Ile or Met

<400> 240
Gly Phe Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His
1 5 10

<210> 241
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 241
Tyr Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 242
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 242
Ser Ile Tyr Pro Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 243
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 243
Ser Ile Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 244
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 244

1 5 10 15

 $\langle 210 \rangle$ 245

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 245

1 5 10 15

Gly

<210> 246

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 246

1 5 10 15

Gly

<210> 247

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 247

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

Gly

<210> 248

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 248

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

Gly

<210> 249
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 249
Ser Ile Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 250
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 250
Tyr Ile Ser Ser Tyr Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 251

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 251
Ser Ile Tyr Pro Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 252
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Tyr or Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> Ser or Tyr

<220>
<221> MOD_RES

$\langle 222 \rangle (4) \dots (4)$

<223> Pro or Ser

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

$\langle 222 \rangle$ (5)..(6)

<223> Tyr or Ser

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (7) \dots (7)$

<223> Gly or Ser

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (8)..(8)

<223> Ser or Tyr

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (10)..(10)

<223> Ser or Tyr

<400> 252

Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 253

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 253

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 254

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 254

Ser Gly Tyr Tyr Tyr Gln Gly Tyr Trp Trp Tyr Tyr Tyr Thr Gly Tyr
1 5 10 15

Tyr Gly Met Asp Tyr
20

<210> 255

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 255

Gly Ile Met Phe Ser Ser Trp Trp Trp Tyr Tyr Asp Tyr Ser Asp Ala
1 5 10 15

Leu Asp Tyr

<210> 256

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 256

Gly Ser Ile Pro Ser Tyr Trp Ser Ala Asp Trp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
1 5 10 15

Leu Asp Tyr

<210> 257

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 257

Glu Tyr Tyr Trp Trp Tyr Lys Glu Ala Trp Tyr Ser Ala Gly Met Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 258
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 258
Trp Gln Gly Tyr Gly Phe Lys Tyr Tyr Trp Ser Tyr Tyr Val Ser Tyr
1 5 10 15

Gly Gly Leu Asp Tyr
 20

<210> 259
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 259
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Ser Ser Tyr Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 260
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 260

Glu Ser Tyr Ala Gly Val Pro Pro Tyr Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 261

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 261

Gly Ile Met Phe Ser Ser Trp Trp Trp Tyr Tyr Asp Tyr Ser Asp Ala
1 5 10 15

Leu Asp Tyr

<210> 262

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 262

Gly Ile Met Phe Ser Ser Trp Trp Trp Tyr Tyr Asp Tyr Ser Asp Ala
1 5 10 15

Leu Asp Tyr

<210> 263

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 263

Glu Tyr Tyr Trp Trp Tyr Lys Glu Ala Trp Tyr Ser Ala Gly Met Asp

1

5

10

15

Tyr

<210> 264

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Glu, Ser, Gly or Trp

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Tyr, Gly, Ile, Ser or Gln

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Tyr, Met, Ile, Gly or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Arg, Tyr, Phe, Pro or Trp

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Trp, Tyr, Ser or Gly

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Tyr, Gln, Ser, Phe or Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Thr, Gly, Trp, Lys, Tyr or Pro

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Ala, Tyr, Trp, Ser, Glu or Pro

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Ile, Trp, Ala, Tyr or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Trp, Tyr, Asp or Gly

<220>

<221> MOD_RES

<222> (11)..(11)

<223> Tyr, Trp, Ser, Gly or Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

<223> Tyr, Asp, Ser, Phe or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> Tyr, Ala or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> Thr, Ser, Tyr, Gly, Val or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (15)..(15)

<223> Gly, Asp, Tyr, Met, Ser or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> Tyr, Ala, Gly or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17)..(17)

<223> Tyr, Leu, Gly or not present

<220>
<221> MOD_RES
<222> (18)..(18)
<223> This residue may or may not be present

<220>
<221> MOD_RES
<222> (19)..(19)
<223> Met, Leu or not present

<400> 264
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Gly Xaa Asp Tyr
20

<210> 265
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 265
Gly Phe Asn Val Tyr Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 266
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 266

Gly Phe Asn Val Ser Tyr Ser Tyr Met His

1 **5** **10**

<210> 267

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 267

Gly Phe Asn Phe Ser Tyr Tyr Ser Met His

1 5 10

<210> 268

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 268

Gly Phe Asn Leu Ser Tyr Tyr Ser Ile His

1 5 10

<210> 269

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 269

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

<210> 270

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

$\langle 400 \rangle$ 270

Gly Phe Asn Val Tyr Tyr Ser Ser Ile His

1 **5** **10**

<210> 271

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 271

Gly Phe Asn Leu Ser Tyr Ser Tyr Ile His

1 **5** **10**

Gly Phe Asn Val Ser Tyr Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 275

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 275

Gly Phe Asn Val Ser Tyr Tyr Tyr Ile His

1 **5** **10**

<210> 276

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 276

Gly Phe Asn Leu Tyr Tyr Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 277

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 277
Gly Phe Asn Val Ser Tyr Tyr Ser Ile His
1 5 10

<210> 278
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 278
Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 279
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 279
Gly Phe Asn Phe Ser Tyr Tyr Ser Ile His
1 5 10

<210> 280
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (4) \dots (4)$

<223> Val, Phe, Leu or Ile

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Tyr or Ser

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (7)..(8)

<223> Ser or Tyr

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Ile or Met

<400> 280

Gly Phe Asn Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa His

1 5 10

<210> 281

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

•

—

•

•

•

•

1 5 10 15

Gly

<210> 284
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 284
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 285
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 285
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 286

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 286

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

1 5 10 15

Gly

<210> 287

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 287

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

1 5 10 15

Gly

<210> 288
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 288
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 289
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 289
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 290
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 290
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 291
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 291
Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 292
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 292

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

1 5 10 15

Gly

<210> 293

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 293

Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 294

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 294
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 295
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 295
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 296
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

$\langle 222 \rangle (3) \dots (3)$ $\langle 220 \rangle$ $\langle 222 \rangle (4) \dots (4)$ $\langle 220 \rangle$ $\langle 222 \rangle (7) \dots (7)$ $\langle 220 \rangle$ $\langle 222 \rangle$ (8)..(8) $\langle 220 \rangle$ $\langle 222 \rangle$ (10)..(10)

<400> 296

1 5 10 15

<210> 297

<212> PRT

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 297

Glu Gly Tyr Ser Gln Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 298

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 298

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 299

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 299

Ser Tyr Ser Tyr Ser Tyr Gly Met Asp Tyr

1 5 10

 $\langle 210 \rangle$ 300 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

$\langle 210 \rangle$ 303 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 303

Glu Ser Phe Tyr Tyr Ser Pro Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 304

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 304

Gly Tyr Glu Gly Gly Met Ala Met Asp Tyr

1 5 10

$\langle 210 \rangle$ 305

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 305

Ser Tyr Ser Tyr Ser Ser Gly Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 306
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 306
Gly Tyr Met Trp Tyr Gly Gly Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 307
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 307
Glu Asn Tyr Trp Trp Ala Ile Asp Tyr
1 5

<210> 308
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 308
Ser Tyr Ser Tyr Ser Ser Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 309
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 309
Ser Tyr Ser Tyr Ser Tyr Gly Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 310
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 310
Tyr Tyr Ser Tyr Ser Ser Gly Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 311
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

$\langle 400 \rangle$ 311

Ser Tyr Ser Tyr Ser Tyr Gly Leu Asp Tyr

1 **5** **10**

 $\langle 210 \rangle$ 312 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD RES

 $\langle 222 \rangle$ (1)..(1)

<223> Glu, Ser, Gly or Tyr

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (2) \dots (2)$

<223> Gly, Tyr, Ser or Asn

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD RES

 $\langle 222 \rangle (3) \dots (3)$

<223> Tyr, Ser, Lys, Phe or Glu

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

$\langle 222 \rangle$ (4)..(4)

<223> Ser, Tyr, Gly or Trp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Gln, Tyr, Ser or Gly

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> Gly, Ser, Tyr, Met or Ala

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Gly, Ala, Pro or Ile

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> Phe, Ile, Met, Ala, Leu or not present

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> This residue may or may not be present

<400> 312
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 313
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 316

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Tyr Ser Pro Val Thr

1 5 10

<210> 317

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 317

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Ile Thr

1 **5** **10**

<210> 318

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 318

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Val Thr

1 **5** **10**

<210> 319

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

• •

• •

•

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 5 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 5 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

•

•

• •

1

•

•

•

<210> 329

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 329

Gly Phe Asn Val Ser Ser Tyr Ser Ile His

1 **5** **10**

 $\langle 210 \rangle$ 330

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 330

Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His

1 **5** **10**

 $\langle 210 \rangle$ 331

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

•

•

•

1

•

•

•

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 334

Gly Phe Asn Val Ser Ser Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 335

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 335

Gly Phe Asn Phe Tyr Ser Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 336

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 336

Gly Phe Asn Phe Tyr Ser Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 337

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Val, Ile or Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(8)

<223> Ser or Tyr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Ile or Met

<400> 337

Gly Phe Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His

1 5 10

<210> 338

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 338

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

1 5 10 15

Gly

<210> 339

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 339

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

Gly

<210> 340

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 340

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

Gly

<210> 341

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 341

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

1 5 10 15

Gly

<210> 342

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 342

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

1 5 10 15

Gly

<210> 343
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 343
Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 344
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 344
Tyr Ile Ser Ser Tyr Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 345
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 345

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

1 5 10 15

Gly

<210> 346

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Ser or Tyr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Tyr or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Pro or Ser

$\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (5)..(6)

<223> Ser or Tyr

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (7)..(7)

<223> Gly or Ser

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (8)..(8)

<223> Ser or Tyr

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (10)..(10)

<223> Tyr or Ser

<400> 346

Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 347

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 347
Ser Gly Tyr Tyr Tyr Gln Gly Tyr Trp Trp Tyr Tyr Tyr Thr Gly Tyr
1 5 10 15

Tyr Gly Met Asp Tyr
20

<210> 348
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 348
Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 349
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 349
Gly Ile Met Phe Ser Ser Trp Trp Trp Tyr Tyr Asp Tyr Ser Asp Ala
1 5 10 15

Leu Asp Tyr

<210> 350

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 350

Trp Gln Gly Tyr Gly Phe Lys Tyr Tyr Trp Ser Tyr Tyr Val Ser Tyr
1 5 10 15

Gly Gly Leu Asp Tyr
 20

<210> 351

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 351

Glu Tyr Tyr Trp Trp Tyr Lys Glu Ala Trp Tyr Ser Ala Gly Met Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 352

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 352
Glu Ser Tyr Ala Gly Val Pro Pro Tyr Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 353
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 353
Gly Ile Met Phe Ser Ser Trp Trp Trp Tyr Tyr Asp Tyr Ser Asp Ala
1 5 10 15

Leu Asp Tyr

<210> 354
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 354
Gly Ser Ile Pro Ser Tyr Trp Ser Ala Asp Trp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
1 5 10 15

Leu Asp Tyr

<210> 355
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Ser, Glu, Gly or Trp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Gly, Tyr, Ile, Gln or Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> Tyr, Met, Gly or Ile

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Tyr, Arg, Phe, Trp, Ala or Pro

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Tyr, Trp, Ser or Gly

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Gln, Tyr, Ser, Phe or Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Gly, Thr, Trp, Lys or Pro

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Tyr, Ala, Trp, Glu, Pro or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Trp, Ile, Tyr or Ala

<220>

<221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Trp, Tyr, Gly, Asp or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (11)..(11)

<223> Tyr, Ser, Phe, Trp or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

<223> Tyr, Asp, Ser or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> Tyr, Ala or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> Thr, Ser, Val, Gly, Tyr or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (15)..(15)

<223> Gly, Asp, Ser, Met, Tyr or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> Tyr, Ala, Gly or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17)..(17)

<223> Tyr, Leu, Gly or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (18)..(18)

<223> This residue may or may not be present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (19)..(19)

<223> Met, Leu or not present

<400> 355

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

10

15

Xaa Gly Xaa Asp Tyr

20

<210> 356

 $\langle 211 \rangle$ 9

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 356

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Phe Arg

1 5

<210> 357

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 357

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Phe Thr

1 **5** **10**

<210> 358

 $\langle 211 \rangle 9$

<212> PRT

<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 358

Gln Gln Tyr Ser Ser Ser Leu Val Thr

1 5

<210> 359

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 359

Gln Gln Tyr Ser Ser Ser Ser Pro Phe Thr Phe

1 **5** **10**

<210> 360

 $\langle 211 \rangle$ 9

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

$\langle 400 \rangle$ 360

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Ile Thr

1 5

<210> 361

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 361
Gln Gln Tyr Ser Tyr Ser Ser Tyr Leu Ile Thr
1 5 10

<210> 362
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 362
Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Phe Thr
1 5

<210> 363
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 363
Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Leu Val Thr
1 5

<210> 364

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(6)

<223> Tyr or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Pro, Ser or Leu

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Ser, Pro, Tyr or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Leu, Phe or not present

<220>

<221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Phe, Val, Thr or Ile

<220>

<221> MOD_RES

<220>

<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>

<221> modified_base

<222> (20)..(22)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (26)..(30)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (32)..(33)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (35)..(37)

<223> a, c, g or t

<220>

<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 367

cgtctattat tgtgctcgcn nntacnnnnn snnsnnngst wtsgactact ggggtcaagg 60

<210> 368

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(24)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (26)..(28)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (32)..(33)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (35)..(37)
<223> a, c, g or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 368
cgtctattat tgtgtctcgc nnnnsnnnta cnsnnngst wtsgactact ggggtcaagg 60

<210> 369
<211> 60
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成

寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(24)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (26)..(30)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (35)..(37)
<223> a, c, g or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 369
cgtctattat tgtgtctcgc nnnnsnnnnn stacnnngst wtsgactact ggggtcaagg 60

<210> 370
<211> 60
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(24)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (26)..(30)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (32)..(33)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (35)..(37)

<223> a, c, g or t

<220>

<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 370

cgtctattat tgtgtctgcg nnnnsnnnnn snnsnnngst wtsgactact ggggtcaagg 60

<210> 371

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<400> 371

gcagcttctg gcttcaacta ataacactgg gtgcgtcagg 40

<210> 372

<211> 52
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (19)..(19)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (22)..(23)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (31)..(32)
<223> a, c, g or t

<400> 372
gcagcttctg gctcaacnt cnnstactct nnsatscact ggggtgcgtca gg 52

<210> 373
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<400> 373
ggcctggaat ggggtgcata ataatatgcc gatagcgtca agg 43

<210> 374
<211> 67
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (25)..(26)
<223> a, c, g or t

<400> 374
ggcctggaat gggttgcac taccnnsyct tactactctt acacctctta tgccgatagc 60

gtcaagg 67

<210> 375
<211> 60
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (32)..(33)
<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base
<222> (35)..(36)
<223> a, c, g or t

<400> 375
cgtctattat tgtgctcgct cttactctta cnsnnsngst wtsgactact ggggtcaagg 60

<210> 376
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<400> 376
cgcaacttat tactgtcagc aataataaac gttcggacag ggtacc 46

<210> 377
<211> 76
<212> PRT
<213> 智人

<400> 377
Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
1 5 10 15

Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
20 25 30

Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
35 40 45

Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
50 55 60

Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly
65 70 75

<210> 378
<211> 61
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(24)
<223> a, c, g or t

<400> 378
cgcaacttat tactgtcagc aannstctta ctcttctctg dttacgttcg gacagggtac 60

c 61

<210> 379
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(22)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (29)..(33)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (35)..(36)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (38)..(40)
<223> a, c, g or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 379
cgtctattat tgtgctcgen nntactacnn nnnsnnsnnn gstwtsgact actggggtca 60

agg 63

<210> 380
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(24)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (26)..(27)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (29)..(31)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (38)..(40)
<223> a, c, g or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 380
cgtctattat tgtgtctcgc nnnnsnnsnn ntggtaacnnn gstwts gact actgggggtca 60

agg 63

<210> 381
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(22)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (29)..(33)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (38)..(40)
<223> a, c, g or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 381
cgtctattat tgtgctcgcn nntacbbsnn nnnstacnnn gstwtsgact actgggggtca 60

agg 63

<210> 382
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base

<222> (20)..(24)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (29)..(31)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (35)..(36)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (38)..(40)
<223> a, c, g or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 382
cgtctattat tgtgctcgcn nnnnstacnn ntggnnsnnn gswtsgact actggggcca 60

agg 63

<210> 383
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>

<221> modified_base
<222> (20)..(22)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (26)..(27)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (29)..(31)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (35)..(36)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (38)..(40)
<223> a, c, g or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 383
cgtctattat tgtgctcgc nntacnnsnn ntggnsnnnn gstwtsgact actgggggtca 60

agg 63

<210> 384
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(24)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (29)..(33)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (38)..(40)
<223> a, c, g or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 384
cgtctattat tgtgctcgcn nnnnstacnn nnnstacnnn gstwtsgact actggggtca 60

agg 63

<210> 385
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(24)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (26)..(27)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (29)..(33)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (35)..(36)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (38)..(40)
<223> a, c, g or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 385
cgtctattat tgtgtctgcgcn nnnnsnnsnn nnnnsnnsnnn gstwtsgact actgggggtca 60

agg 63

<210> 386
<211> 67
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>

<221> modified_base

<222> (25)..(26)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (31)..(32)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (34)..(35)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (40)..(42)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (46)..(48)

<223> a, c, g or t

<220>

<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 386

ggcctggaat gggttgcata catcnnsyct nnsnnsrgcn nnaccnnnta tgccgatagc

60

gtcaagg

67

<210> 387

<211> 67

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>

<221> modified_base

<222> (19)..(20)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (25)..(26)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (34)..(35)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (40)..(42)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (46)..(48)

<223> a, c, g or t

<220>

<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 387

ggcctggaat gggttgcann satcnsyct tacnnsrgcn nnaccnnnta tgccgatagc 60

gtcaagg 67

<210> 388

<211> 67

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
寡核?酸

<220>

<221> modified_base

<222> (19)..(20)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (25)..(26)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (31)..(32)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (40)..(42)

<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (46)..(48)
<223> a, c, g or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 388
ggcctggaat gggttgcann satcnnsyct nnstacrgcn nnaccnnnta tgccgatagc 60

gtcaagg 67

<210> 389
<211> 67
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (19)..(20)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (25)..(26)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (31)..(32)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (34)..(35)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (40)..(42)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (46)..(48)
<223> a, c, g or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 389
ggcctggaat gggttgcann satcnnsyct nnsnnsrgcn nnaccnnnta tgccgatagc 60

gtcaagg 67

<210> 390
<211> 64
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(24)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (26)..(33)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (35)..(39)

<223> a, c, g or t

<220>

<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 390

cgcaacttat tactgtcagc aannsnnnnn nnnsnnnnns ctgdttagct tcggacaggg 60

tacc 64

<210> 391

<211> 52

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>

<221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> a, c, g or t

<220>

<221> modified_base

<222> (22)..(23)
<223> a, c, g or t

<220>
<221> modified_base
<222> (25)..(32)
<223> a, c, g or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 391
gcagcttctg gcttcaacnt cnsnnnnnnn nnsatscact gggtgcgtca gg 52

<210> 392
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 392
Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His
1 5 10

<210> 393
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 396

Gly Phe Asn Ile Gly Tyr Ser Phe Met His

1 **5** **10**

<210> 397

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 397

Gly Phe Asn Val Asp Tyr Ser Tyr Met His

1 **5** **10**

<210> 398

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 398

Gly Phe Asn Val Asp Tyr Ser Tyr Met His

1 **5** **10**

<210> 399

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

•

•

•

•

•

•

•

•

1 **5** **10**

$\langle 210 \rangle$ 405

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 405

Gly Phe Asn Val Ile Tyr Ser Phe Met His

1 5 10

<210> 406

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 406

Gly Phe Asn Val Ala Tyr Ser Leu Met His

1 5 10

<210> 407

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

•

• •

• •



•

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 410

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 **5** **10**

<210> 411

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 411

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

<210> 412

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 412

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

<210> 413

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 413
Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His
1 5 10

<210> 414
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 414
Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His
1 5 10

<210> 415
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 415
Gly Phe Asn Ile Leu Tyr Ser Gly Ile His
1 5 10

$\langle 210 \rangle$ 416 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 416

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

<210> 417

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 417

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

<210> 418

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 418

1 **5** **10**

 $\langle 211 \rangle$ 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

$\langle 211 \rangle$ 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

 $\langle 211 \rangle$ 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

 $\langle 211 \rangle$ 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

 $\langle 211 \rangle$ 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 **5** **10**

 $\langle 211 \rangle$ 10

<213> 人工序列

—

•

•

1

1

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 427

Gly Phe Asn Ile Phe Tyr Ser Gly Ile His

1 **5** **10**

<210> 428

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 428

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 **5** **10**

<210> 429

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 429

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

$\langle 211 \rangle$ 10

$\langle 212 \rangle$ PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 430

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

 $\langle 210 \rangle$ 431 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 431

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

 $\langle 210 \rangle$ 432

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 432

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

 $\langle 210 \rangle$ 433 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 433

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

<210> 434

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 434

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

<210> 435

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 435

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 **5** **10**

<210> 436

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 436

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 **5** **10**

<210> 437

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 437

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

<210> 438

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<210> 441
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 441
Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His
1 5 10

<210> 442
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 442
Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His
1 5 10

<210> 443
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 443
Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

<210> 444

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 444

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

<210> 445

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 445

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His

1 5 10

<210> 446

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 5 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 **5** **10**

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 5 10

<213> 人工序列

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 452
Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His
1 5 10

<210> 453
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 453
Gly Phe Asn Leu Ser Tyr Ser Gly Met His
1 5 10

<210> 454
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 454
Gly Phe Asn Leu Leu Tyr Ser Gly Met His
1 5 10

<210> 455

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 455

Gly Phe Asn Val Ala Tyr Ser Gly Ile His

1 5 10

<210> 456

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 456

Gly Phe Asn Val Asp Tyr Ser Gly Met His

1 5 10

<210> 457

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 457

•

• •

•

<223> 人工序列描述: 合成肽

<223> 人工序列描述: 合成肽

<221> MOD RES

<223> Ile, Val, Phe or Leu

<221> MOD_RES

<223> Ser, Gly, Asp, Val, Ile, Leu, Phe or Ala

<221> MOD_RES

<223> Ser, Phe, Tyr, Leu, Trp or Gly

<221> MOD_RES

<223> Met or Ile

Gly Phe Asn Xaa Xaa Tyr Ser Xaa Xaa His

<210> 461

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

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

1 5 10 15

Gly

<210> 462

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 462

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

1 5 10 15

Gly

<210> 463

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 463

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

1 5 10 15

Gly

<210> 464
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 464
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 465
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 465
Ser Ile Ala Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 466
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 466
Ser Ile Ala Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 467
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 467
Ser Ile Ala Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 468
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 468
Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 469
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 469
Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 470
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 470
Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 471
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 471
Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 472
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 472

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

1 5 10 15

Gly

<210> 473

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 473

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

1 5 10 15

Gly

<210> 474

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 474

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

1 5 10 15

Gly

<210> 475

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 475

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

1 5 10 15

Gly

<210> 476

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 476

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

1 5 10 15

Gly

<210> 477

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 477

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

Gly

<210> 478

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 478

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

Gly

<210> 479
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 479
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 480
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 480
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 481
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 481
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 482
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 482
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 483
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 483
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 484
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 484
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 485
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 485
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 486
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 486
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 487
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 487
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 488

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 488

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

1 5 10 15

Gly

<210> 489

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 489

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

1 5 10 15

Gly

<210> 490
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 490
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 491
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 491
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 492
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 492
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 493
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 493
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 494
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 494
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 495
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 495
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 496
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 496
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 497
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 497
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 498
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 498
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 499
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 499
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 500
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 500
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 501

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 501

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

1 5 10 15

Gly

<210> 502

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 502

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

1 5 10 15

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 5 10 15

Gly

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 5 10 15

Gly

<210> 505
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 505
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 506
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 506
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 507
<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 507

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

Gly

<210> 508

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 508

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

Gly

<210> 509

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 509
Ser Ile Tyr Pro Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 510
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 510
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 511
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 511
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 512
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 512
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 513
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 513
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 514

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 514

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

1 5 10 15

Gly

<210> 515

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 515

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

1 5 10 15

Gly

<210> 516

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 516

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

Gly

<210> 517

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 517

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

Gly

<210> 518
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 518
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 519
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 519
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 520
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 520
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 521
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 521
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 522
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

•

.

1

•

<400> 524
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 525
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 525
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 526
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 526
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Thr Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 527

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 527

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

1 5 10 15

Gly

<210> 528

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 528

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

1 5 10 15

Gly

<210> 529

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Tyr, Ala, Ser or Thr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Ser or Pro

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Ser or Thr

<400> 529

Ser Ile Xaa Xaa Tyr Tyr Xaa Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 530

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 530
Ser Tyr Asn Asn Thr Thr Ser Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 531
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 531
Gly Tyr Ser Trp Tyr Asn Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 532
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 532
Gly Tyr Ser Trp Phe Asn Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

$\langle 210 \rangle$ 533

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 533

Gly Tyr Tyr Trp Phe Asp Ala Met Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 534

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 534

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 535

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

•

•

•

1

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 538

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 539

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 539

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 540

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 540

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 541

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 541

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 542

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 542

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 543

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 543

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 544
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 544
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 545
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 545
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 546
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 546
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 547

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 547

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 548

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 548

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 549

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 549
Ser Tyr Ser Tyr Ser Phe Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 550
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 550
Ser Tyr Ser Tyr Phe Met Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 551
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 551
Ser Tyr Ser Tyr His Val Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 552
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 552
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 553
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 553
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 554
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 554
Ser Tyr Ser Tyr His Leu Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 555
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 555
Ser Tyr Ser Tyr Ser Leu Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 556
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 556
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ile Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 557
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 557
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Met Gly Met Asp Tyr
1 5 10

•

..

• •

•

<400> 563

Ser Tyr Ser Tyr Ser Met Gly Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 564

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 564

Ser Tyr Ser Tyr Phe Leu Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 565

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 565

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 566

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 566

Ser Tyr Ser Tyr Ser Glu Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 567

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 567

Ser Tyr Ser Tyr Ser Leu Gly Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 568

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 568

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 569

•

•

<210> 572

 $\langle 211 \rangle$ 10

$\langle 212 \rangle$ PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 572

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Leu Ala Met Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 573

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 573

Ser Tyr Ser Tyr Phe Ile Gly Met Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 574

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 574
Ser Tyr Ser Tyr His Leu Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 575
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 575
Ser Tyr Ser Tyr Thr Glu Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 576
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 576
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 577
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 580

Ser Tyr Ser Tyr Trp Val Gly Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 581

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 581

Ser Tyr Ser Tyr Thr Leu Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 582

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 582

Ser Tyr Ser Tyr Thr Met Gly Leu Asp Tyr

1 5 10

1 5 10

<210> 586

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 586

Ser Tyr Ser Tyr Tyr Glu Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 587

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 587

Ser Tyr Ser Tyr Arg Met Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 588

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 588

Ser Tyr Ser Tyr His Ile Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 589

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 589

Ser Tyr Ser Tyr Ser Val Gly Met Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 590

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 590

Ser Tyr Ser Tyr Thr Leu Gly Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 591

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 591
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 592
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 592
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 593
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 593
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 594
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 594
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 595
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 595
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 596
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 596
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 597
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 597
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 598
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Ser or Gly

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> Ser, Asn or Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Tyr, Asn or Trp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Thr, Tyr, Phe, Arg, Ser, His or Trp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> Thr, Asn, Asp, Ser, Glu, Phe, Met, Val, Leu, Ile
or Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Ser, Ala, Thr or Gly

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> Ile, Met, Phe or Leu

<400> 598
Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr
1 5 10

<210> 599
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 599
Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 600
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 600
Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 601
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 601
Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 602
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 605

Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 606

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 606

Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 607

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 607

Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 608

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 608

Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 609

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 609

Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 610

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 610

Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His

1 5 10

1 5 10

<210> 614

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 614

Gly Phe Asn Ile Lys Gly Ser Leu Ile His

1 5 10

<210> 615

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 615

Gly Phe Asn Ile Lys Gly Ser Ile Met His

1 5 10

<210> 616

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

2

• •

•

•

•

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 622
Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 623
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 623
Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 624
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 624
Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 625

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 625

Gly Phe Asn Leu Ala Ser Ser Phe Met His

1 5 10

<210> 626

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 626

Gly Phe Asn Leu Val Ser Ser Leu Met His

1 5 10

<210> 627

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 627

—

•

<221> MOD_RES

<223> Ile, Phe, Leu or Val

<221> MOD_RES

<223> Ser, Lys, Ala or Val

<221> MOD_RES

<223> Ser, Gly, Thr or Trp

<221> MOD_RES

<223> Ser, Gly or Asn

<221> MOD_RES

<223> Tyr, Leu, Ile or Phe

<221> MOD_RES

<223> Ile or Met

Gly Phe Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His

<210> 631

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 631
Ala Ile Ala Pro Tyr Leu Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 632
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 632
Ala Ile Pro Pro Phe Tyr Gly Trp Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 633
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 633
Ala Ile Gln Pro Tyr Phe Gly Trp Thr Ile Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 634
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 634
Ala Ile Ser Pro Tyr Leu Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 635
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 635

Asp Ile Ala Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 636

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 636

Asp Ile Ser Pro Trp Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 637

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 637

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

1 5 10 15

Gly

<210> 638

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 638

Phe Ile Gln Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Ile Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 639

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 639

Phe Ile Ser Pro Tyr Leu Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

<210> 642
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 642
Ile Ile Ser Pro Tyr Leu Gly Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 643
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 643
Ser Ile Thr Pro Tyr Tyr Gly Trp Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 644

• •

—

●

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 646
Tyr Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 647
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 647
Tyr Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 648
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 648

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

1 5 10 15

Gly

<210> 649

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 649

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

1 5 10 15

Gly

<210> 650

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 650

Tyr Ile Ser Pro Phe Leu Ser Thr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 651

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 651

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

1 5 10 15

Gly

<210> 652

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 652

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

1 5 10 15

Gly

<210> 653
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 653
Tyr Ile Ser Pro Tyr Tyr Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 654
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 654
Tyr Ile Ser Pro Tyr Leu Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 655
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 655
Tyr Ile Ser Pro Tyr Leu Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 656
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 656
Tyr Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 657

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 657
Tyr Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 658
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 658
Tyr Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 659
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 659
Tyr Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 660
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 660
Tyr Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 661
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 661

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

1 5 10 15

Gly

<210> 662

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Ala, Asp, Phe, Gly, His, Ile, Ser, Trp or Tyr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Ala, Pro, Gln, Ser, Thr or Gly

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Pro or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Tyr or Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Leu, Tyr, Phe or Thr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Gly or Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Ser, Trp, Thr, Gly or Arg

<220>

<221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Ser, Ile, Lys, Asp, Asn, Gly or Arg

<400> 662

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

Gly

<210> 663

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 5 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 **5** **10**

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 5 10

<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 666

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 667

$\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 667

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 668

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 668

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 669

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 669
Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 670
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 670
Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 671
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 671
Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 672

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 672

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 673

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 673

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 674

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 674

1

5

10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1

5

10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1

5

10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 677

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 678

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 678

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 679

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 679

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 680

$\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 680
Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 681
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 681
Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 682
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 682
Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 683

$\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 683

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 684

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 684

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 685

$\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 685

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

•

—

• •



—

• •



•

•

<400> 688

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 689

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 689

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 690

$\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 690

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 691

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<210> 692
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

$\langle 211 \rangle$ 11
 $\langle 212 \rangle$ PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 694

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 695

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 695

Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His
1 5 10

<210> 696

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 696

Gly Phe Asn Ile Phe Tyr Gly Gly Ile His
1 5 10

- -

—

- -

- -

—

—

—



•

•

•

•

•

•

•

•

•

•

1 5 10

<210> 700
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 700
Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His
1 5 10

<210> 701
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 701
Gly Phe Asn Ile Ser Tyr Ser Ser Met His
1 5 10

<210> 702
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

•

—

• •

<223> 人工序列描述: 合成肽



<223> 人工序列描述: 合成肽

•

•

•

<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle \text{ MOD RES}$ $\langle 222 \rangle$ (5)..(5)

<223> Ser or Phe

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD RES

$\langle 222 \rangle$ (7)..(8)

<223> Ser or Gly

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Met or Ile

<400> 705

Gly Phe Asn Ile Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa His

1 **5** **10**

<210> 706

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 706

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

1 5 10 15

Gly

<210> 707
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 707
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 708
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 708
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 709

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 709

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

1 5 10 15

Gly

<210> 710

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 710

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

1 5 10 15

Gly

<210> 711

<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 711
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 712
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 712
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 713
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 713
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 714
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 714
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 715
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 715
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 716
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 716
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 717
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 717
Ser Tyr Ser Tyr Ser Glu Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 718
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 718
Ser Tyr Ser Tyr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 719
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 719
Ser Tyr Ser Tyr Ser Leu Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 720
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

1 **5** **10**

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 **5** **10**

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

1 5 10

<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 723

Ser Tyr Ser Tyr His Leu Gly Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 724

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 724

Ser Tyr Ser Tyr Ser Val Gly Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 725

$\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 725

Ser Tyr Ser Tyr His Val Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 726

 $\langle 211 \rangle$ 11

•

• •

• •

• •

• •



•

•

.

$\langle 222 \rangle$ (6)..(6)

<223> Glu, Ser, Leu, Phe, Met, Asn or Val

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (7) \dots (7)$

<223> Ala or Gly

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Leu, Met, Phe or Ile

<400> 727

Xaa Tyr Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 728

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 728

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Ile Thr

1 **5** **10**

<210> 729

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 729

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Ile Thr

1 5 10

<210> 730

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 730

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Ile Thr

1 5 10

<210> 731

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 731

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Ile Thr

1 5 10

<210> 732

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 732

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Ile Thr

1 **5** **10**

<210> 733

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 733

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Ile Thr

1 **5** **10**

<210> 734

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 734

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Ile Thr

1 **5** **10**

<210> 735

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 735
Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Ile Thr
1 5 10

<210> 736
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 736
Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Ile Thr
1 5 10

<210> 737
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 737
Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Ile Thr
1 5 10

<210> 738

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 738

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Ile Thr

1 5 10

<210> 739

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 739

Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 740

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 740
Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 741
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 741
Gly Phe Asn Val Lys Trp Asn Tyr Ile His
1 5 10

<210> 742
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 742
Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 743
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 743
Gly Phe Asn Ile Lys Gly Ser Ile Met His
1 5 10

<210> 744
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 744
Gly Phe Asn Val Lys Thr Gly Leu Ile His
1 5 10

<210> 745
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 745
Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 746
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 746

Gly Phe Asn Leu Val Ser Ser Leu Met His

1 5 10

<210> 747

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 747

Gly Phe Asn Val Val Ser Ser Phe Ile His

1 5 10

<210> 748

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 748

Gly Phe Asn Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 749

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Ile, Val or Leu

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Ser, Lys or Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Ser, Trp, Gly or Thr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Ser, Asn or Gly

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Tyr, Ile, Leu or Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Ile or Met

<400> 749
Gly Phe Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His
1 5 10

<210> 750
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 750
Tyr Ile Ser Pro Tyr Leu Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 751
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 751
Phe Ile Ser Pro Tyr Leu Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 752

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 752

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

1 5 10 15

Gly

<210> 753

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 753

Asp Ile Ala Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 754
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 754
Tyr Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 755
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 755
Tyr Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 756
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 756

His Ile Ser Pro Tyr Leu Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 757

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 757

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

Gly

<210> 758

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 758

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

Gly

<210> 759

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 759

Ala Ile Gln Pro Tyr Phe Gly Trp Thr Ile Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 760

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

$\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (1) \dots (1)$

<223> Tyr, Phe, Asp, His or Ala

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (3) \dots (3)$

<223> Ser, Ala or Gln

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (6)..(6)

<223> Leu, Tyr or Phe

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (7)..(7)

<223> Ser or Gly

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

$\langle 222 \rangle$ (8)..(8)

<223> Ser, Thr or Trp

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD RES

 $\langle 222 \rangle (10) \dots (10)$

<223> Ser, Asn, Lys or Ile

<400> 760

Xaa Ile Xaa Pro Tyr Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

•

—

—



•

•

•

•

•

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 764

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 764

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 765

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 765

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 766

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 766

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 767

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 767

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 768

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 768

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 769

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 769

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

$\langle 210 \rangle$ 770

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 770

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 771

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 771

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 772

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 772
Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Phe Thr
1 5 10

<210> 773
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 773
Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Phe Thr
1 5 10

<210> 774
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 774
Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Phe Thr
1 5 10

<210> 775

 $\langle 211 \rangle$ 11

$\langle 212 \rangle$ PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 775

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Phe Thr

1 **5** **10**

<210> 776

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 776

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Phe Thr

1 **5** **10**

 $\langle 210 \rangle$ 777 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

•

• •

• •



•

•

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 780

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Phe Thr
1 5 10

<210> 781

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 781

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Phe Thr
1 5 10

<210> 782

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 782

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Ser Ser Leu Phe Thr
1 5 10

<210> 783

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 783

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 Val Asn Thr Ala
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg 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 His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 784

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 784

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ala
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 785

<211> 52

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>

<221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> a, c, g, or t

<220>

<221> modified_base

<222> (22)..(33)

<223> a, c, g, or t

<220>

<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 785

gcagcttctg gcttcaacnt cnnnnnnnnn nnnatscact gggtgcgtca gg

52

<210> 786

<211> 67

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>

<221> modified_base

<222> (19)..(20)

<223> a, c, g, or t

<220>

<221> modified_base

<222> (25)..(27)

<223> a, c, g, or t

<220>

<221> modified_base

<222> (40)..(42)

<223> a, c, g, or t

<220>
<221> modified_base
<222> (46)..(48)
<223> a, c, g, or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 786
ggcctggaat gggttgcann satcnnnccg tactacggtn nnaccnnnta tgccgatagc 60

gtcaagg 67

<210> 787
<211> 67
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成
寡核?酸

<220>
<221> modified_base
<222> (25)..(27)
<223> a, c, g, or t

<220>
<221> modified_base
<222> (34)..(35)
<223> a, c, g, or t

<220>
<221> modified_base
<222> (40)..(42)

<223> a, c, g, or t

<220>

<221> modified_base

<222> (46)..(48)

<223> a, c, g, or t

<220>

<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 787

ggcctggaat gggttgcata catcnnnccg tacnnsaggtn nnaccnnnta tgccgatagc 60

gtcaagg 67

<210> 788

<211> 67

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
寡核?酸

<220>

<221> modified_base

<222> (19)..(20)

<223> a, c, g, or t

<220>

<221> modified_base

<222> (25)..(27)

<223> a, c, g, or t

<220>

<221> modified_base

<222> (34)..(35)
<223> a, c, g, or t

<220>
<221> modified_base
<222> (40)..(42)
<223> a, c, g, or t

<220>
<221> modified_base
<222> (46)..(48)
<223> a, c, g, or t

<220>
<223> 取代及較佳態樣之描述請參見說明書

<400> 788
ggcctggaat ggggtgcann satcnnnccg tacnnsaggtn nnaccnnnta tgccgatagc 60

gtcaagg 67

<210> 789
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 789
Gly Phe Asn Val Lys Thr Gly Phe Met His
1 5 10

<210> 790
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 790
Gly Phe Asn Val Lys Thr Gly Phe Ile His
1 5 10

<210> 791
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 791
Gly Phe Asn Ile Lys Met Val Phe Met His
1 5 10

<210> 792
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 792
Gly Phe Asn Val Lys Asn Phe Ile Ile His
1 5 10

<210> 793

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 793

Gly Phe Asn Val Lys Thr Gly Phe Met His

1 5 10

<210> 794

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 794

Gly Phe Asn Val Lys Arg Gly Phe Met His

1 5 10

<210> 795

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 795

1 5 10

<210> 796

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 796

Gly Phe Asn Val Lys Thr Gly Tyr Met His

1 5 10

<210> 797

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 797

Gly Phe Asn Val Lys Thr Gly Leu Ile His

1 5 10

<210> 798

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

Gly Phe Asn Val Met Ile Gly Ile Ile His

1 **5** **10**

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

Gly Phe Asn Ile Lys Thr Gly Phe Met His

1 **5** **10**

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

<223> Val, Ile or Leu

 $\langle 222 \rangle (5) \dots (5)$

<223> Lys or Met

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Thr, Met, Asn, Arg or Ile

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Gly, Val or Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Phe, Ile, Tyr or Leu

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Met or Ile

<400> 800

Gly Phe Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His

1 5 10

<210> 801

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 801

Tyr Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Trp Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 802

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 802

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

Gly

<210> 803

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 803

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

Gly

<210> 804
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 804
Tyr Ile Ile Pro Tyr Ser Gly Asn Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 805
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 805
Tyr Ile Ser Pro Tyr Ser Gly Arg Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 806

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 806

Tyr Ile Ser Pro Tyr Leu Gly Ser Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 807

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 807

Tyr Ile Ser Pro Tyr Trp Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 808

<211> 17

<212> PRT

•

•

• •



•

•

•

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 810

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

Gly

<210> 811

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 811

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

Gly

<210> 812

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

•

•

• •



●

1

—

.

•

•

<400> 813

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 814

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 814

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 815

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 815

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 816

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 816

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 817

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 817

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 818

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 818

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 819

<211> 11

<212> PRT

1

-

—

•

1 5 10

<210> 825
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Val, Phe, Leu or Ile

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Ser or Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(8)
<223> Ser or Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> Ile or Met

<400> 825
Gly Phe Asn Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa His
1 5 10

<210> 826

15

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 828
Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 829
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Ser or Gly

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Tyr or Trp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Ser, Tyr, Arg, Phe or His

<220>

<221> MOD RES

<222> (6)..(6)

<223> Glu, Ser, Leu, Phe, Met, Asn or Val

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD RES

 $\langle 222 \rangle$ (7)..(7)

<223> Ala or Gly

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD RES

 $\langle 222 \rangle$ (8)..(8)

<223> Leu, Met, Phe or Ile

<400> 829

Xaa Tyr Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr

1 **5** **10**

<210> 830

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD RES

 $\langle 222 \rangle$ (3)..(7)

<223> Ser or Tyr

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD RES

 $\langle 222 \rangle$ (8)..(8)

<223> Leu, Ser, Pro or Tyr

•

2

•

.

1

<400> 831
Gly Phe Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His
1 5 10

<210> 832
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Ser or Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> Ser or Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Pro or Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(6)
<223> Ser or Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)

•

2

—

•

<223> Ser, Lys or Val

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (6)..(6)

<223> Ser, Trp, Gly or Thr

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle (7) \dots (7)$

<223> Ser, Asn or Gly

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle$ (8)..(8)

<223> Tyr, Ile, Leu or Phe

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD RES

 $\langle 222 \rangle$ (9)..(9)

<223> Ile or Met

<400> 833

Gly Phe Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His

1 **5** **10**

<210> 834

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列描述: 合成肽

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

.

•

—



•

•

•

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Ile, Val or Leu

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Lys or Met

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Thr, Met, Asn, Arg or Ile

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Gly, Val or Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Tyr, Ile, Leu or Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Ile or Met

<400> 835

Gly Phe Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His
1 5 10

<210> 836

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Ser, Ile or Thr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Leu, Tyr, Asp, Ser or Trp

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Trp, Val, Ser, Asn, Arg or Tyr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (11)..(11)

<223> Arg, Asp, Val, Thr, Ser or Lys

<400> 836

Ala Tyr Ile Xaa Pro Tyr Xaa Gly Xaa Thr Xaa Tyr Ala Asp Ser Val
1 5 10 15

•

3

— •

•

3

— •

•

1

1

1



1



1

1

—

—

•

•

•

<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 840
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
1 5 10

<210> 841
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 841
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
1 5 10

<210> 842
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 842
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
1 5 10

<210> 843
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 843
Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<213> 智人

1 5 10

<213> 智人

1 **5** **10**

<213> 智人

1 5 10

<213> 智人

1 5 10

<210> 848

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人

<400> 848

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

1 5 10

<210> 849

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人

<400> 849

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

1 5 10

<210> 850

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人

<400> 850

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

1 5 10

<210> 851

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<400> 851

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

1 5 10

<213> 智人

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

<213> 智人

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

<213> 智人

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

<213> 智人

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

1 5 10

<210> 856
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 856
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

<210> 857
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 857
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

<210> 858
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 858
Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 859
<211> 32

<212> PRT
<213> 智人

<400> 859

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 860
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 860

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
20 25 30

<210> 861
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 861

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 862
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 862
Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 863
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 863
Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 864
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 864
Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
20 25 30

<210> 865
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 865
Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 866
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 866
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 867
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 867
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 868
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 868
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
20 25 30

<210> 869
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 869
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 870
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 870

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg
 20 25 30

<210> 871

<211> 32

<212> PRT

<213> 智人

<400> 871

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg
 20 25 30

<210> 872

<211> 31

<212> PRT

<213> 智人

<400> 872

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
 20 25 30

<210> 873

<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 873
Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 874
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 874
Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 875
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 875
Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 20 25 30

<210> 876
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 876
Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 877
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 877
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 878
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 878
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 879
<211> 11
<212> PRT

<213> 智人

<400> 879

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 880

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 880

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 881

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 881

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 882

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 882

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 883

<211> 11

<212> PRT
<213> 智人

<400> 883
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 884
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 884
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 885
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 885
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 886
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 886
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 887

$\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 887

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 **5** **10**

<210> 888

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 888

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 **5** **10**

<210> 889

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 889

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 890

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 890

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 891
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 891
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 892
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 892
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 893
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 893
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 894
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 894
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 895

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 895

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 **5** **10**

<210> 896

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人

<400> 896

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

1 5 10 15

<210> 897

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人

<400> 897

Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 898

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人

<400> 898

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

1 5 10 15

<210> 899
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 899
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 900
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 900
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 901
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 901
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 902
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 902
Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 903
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 903
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 904
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 904
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<213> 智人

1 5 10

<213> 智人

1 5 10

<213> 智人

1 5 10

<213> 人工序列

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 908

Glu Tyr Tyr Arg Trp Tyr Thr Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

五、中文發明摘要：

本發明提供抗聚泛素單株抗體及使用該等抗體之方法。

六、英文發明摘要：

十、申請專利範圍：

1. 一種與包含第一離胺酸鍵聯(lysine linkage)之第一聚泛素特異性結合之經分離抗體，其中該抗體並不與包含第二離胺酸鍵聯之第二聚泛素特異性結合，或其中該抗體以與該抗體對該第一聚泛素之結合親和力相比實質上降低之結合親和力與該包含第二離胺酸鍵聯之第二聚泛素結合；且其中該第一聚泛素為經離胺酸48鍵聯之聚泛素且該第二聚泛素為經離胺酸63鍵聯之聚泛素，或其中該第一聚泛素為經離胺酸63鍵聯之聚泛素且該第二聚泛素為經離胺酸48鍵聯之聚泛素。
2. 如請求項1之抗體，其中該第一聚泛素為經離胺酸48鍵聯者，且該第二聚泛素為經離胺酸63鍵聯者。
3. 如請求項1之抗體，其中該第一聚泛素為經離胺酸63鍵聯者，且該第二聚泛素為經離胺酸48鍵聯者。
4. 如請求項2之經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合。
5. 如請求項4之抗體，其包含分別選自SEQ ID NO: 1-25、151-175、265-279、392-459及695-704；SEQ ID NO: 27-51、177-201、281-295、461-528及706-715；SEQ ID NO: 53-77、203-227、297-311、530-597及717-726；以及SEQ ID NO: 313-327及728-737中之任一者之HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3及HVR-L3的至少一高變(HVR)序列。
6. 如請求項4之抗體，其包含選自HVR-H1、HVR-H2、

HVR-H3之至少一序列，其中HVR-H1包含胺基酸序列a b c d e f g h i j (SEQ ID NO: 825)，其中胺基酸a為甘胺酸；胺基酸b為苯丙胺酸；胺基酸c為天冬醯胺酸；胺基酸d係選自纈胺酸、苯丙胺酸、白胺酸及異白胺酸；胺基酸e係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸f為酪胺酸；胺基酸g係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸h係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸i係選自異白胺酸及甲硫胺酸；且胺基酸j為組胺酸；其中HVR-H2包含胺基酸序列k l m n o p q r s t u v w x y z a' (SEQ ID NO: 826)，其中胺基酸k為絲胺酸；胺基酸l為異白胺酸；胺基酸m係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸n係選自脯胺酸及絲胺酸；胺基酸o為酪胺酸；胺基酸p為酪胺酸；胺基酸q係選自絲胺酸及甘胺酸；胺基酸r係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸s為蘇胺酸；胺基酸t係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸u為酪胺酸；胺基酸v為丙胺酸；胺基酸w為天冬胺酸；胺基酸x為絲胺酸；胺基酸y為纈胺酸；胺基酸z為離胺酸；且胺基酸a'為甘胺酸；且其中HVR-H3包含胺基酸序列b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' l'，其中胺基酸b'係選自麩胺酸、絲胺酸、甘胺酸及酪胺酸；胺基酸c'係選自甘胺酸、酪胺酸、絲胺酸及天冬醯胺酸；胺基酸d'係選自酪胺酸、絲胺酸、離胺酸、苯丙胺酸及麩胺酸；胺基酸e'係選自絲胺酸、酪胺酸、甘胺酸及色胺酸；胺基酸f'係選自麩醯胺酸、酪胺酸、絲胺酸及甘胺酸；胺基酸g'係選自甘胺酸、絲胺酸、酪胺酸、甲硫胺酸及丙胺酸；胺基酸h'係

選自甘胺酸、丙胺酸、脯胺酸及異白胺酸；胺基酸i'係選自苯丙胺酸、異白胺酸、甲硫胺酸、丙胺酸及白胺酸，或不存在；胺基酸j'為苯丙胺酸或不存在；胺基酸k'為天冬胺酸；且胺基酸l'為酪胺酸。

7. 如請求項4之抗體，其包含選自HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3之至少一序列，其中HVR-H1包含胺基酸序列a b c d e f g h i j (SEQ ID NO: 827)，其中胺基酸a為甘胺酸；胺基酸b為苯丙胺酸；胺基酸c為天冬醯胺酸；胺基酸d為異白胺酸；胺基酸e係選自絲胺酸及苯丙胺酸；胺基酸f為酪胺酸；胺基酸g係選自絲胺酸及甘胺酸；胺基酸h係選自絲胺酸及甘胺酸；胺基酸i係選自異白胺酸及甲硫胺酸；且胺基酸j為組胺酸；其中HVR-H2包含胺基酸序列k l m n o p q r s t u v w x y z a' (SEQ ID NO: 828)，其中胺基酸k為絲胺酸；胺基酸l為異白胺酸；胺基酸m為酪胺酸；胺基酸n為絲胺酸；胺基酸o為酪胺酸；胺基酸p為酪胺酸；胺基酸q為絲胺酸；胺基酸r為酪胺酸；胺基酸s為蘇胺酸；胺基酸t為絲胺酸；胺基酸u為酪胺酸；胺基酸v為丙胺酸；胺基酸w為天冬胺酸；胺基酸x為絲胺酸；胺基酸y為纈胺酸；胺基酸z為離胺酸；且胺基酸a'為甘胺酸；且其中HVR-H3包含胺基酸序列b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' (SEQ ID NO: 829)，其中胺基酸b'係選自絲胺酸及甘胺酸；胺基酸c'為酪胺酸；胺基酸d'為絲胺酸；胺基酸e'係選自酪胺酸及色胺酸；胺基酸f'係選自絲胺酸、酪胺酸、精胺酸、苯丙胺酸及組胺酸；胺基

酸 g'係選自麩胺酸、絲胺酸、白胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、天冬醯胺酸及纈胺酸；胺基酸 h'係選自丙胺酸及甘胺酸；胺基酸 i'係選自白胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸及異白胺酸；胺基酸 j'為天冬胺酸；且胺基酸 k'為酪胺酸。

8. 如請求項4之抗體，其包含HVR-L3序列，該HVR-L3序列包含胺基酸序列 m' n' o' p' q' r' s' t' u' v' w'(SEQ ID NO: 830)，其中胺基酸 m'為麩醯胺酸；胺基酸 n'為麩醯胺酸；胺基酸 o'係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 p'係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 q'係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 r'係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 s'係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 t'係選自白胺酸、絲胺酸、脯胺酸及酪胺酸；胺基酸 u'為脯胺酸或不存在；胺基酸 v'係選自苯丙胺酸、異白胺酸、纈胺酸及白胺酸；且胺基酸 w'為蘇胺酸。
9. 如請求項4之抗體，其包含HVR-L3序列，該HVR-L3序列包含SEQ ID NO: 728之胺基酸序列。
10. 如請求項6之抗體，其包含與表5A及5B中對於純系 apu01、apu02、apu03、apu04、apu05、apu06、apu07、apu08、apu09、apu10、apu11、apu12、apu13、apu14或 apu15所述之序列相對應的HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列。
11. 如請求項7之抗體，其包含與表9A中對於純系 apu2.01、apu2.02、apu2.03、apu2.04、apu2.05、apu2.06、

apu2.07、apu2.08、apu2.09或apu2.10所述之序列相對應的HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列。

12. 如請求項8之抗體，其包含SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及與表5C中對於純系apu01、apu02、apu03、apu04、apu05、apu06、apu07、apu08、apu09、apu10、apu11、apu12、apu13、apu14或apu15所述之HVR-L3序列相對應的HVR-L3序列。
13. 如請求項9之抗體，其包含SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及與表9B中對於純系apu2.01、apu2.02、apu2.03、apu2.04、apu2.05、apu2.06、apu2.07、apu2.08、apu2.09或apu2.10所述之HVR-L3序列相對應的HVR-L3序列。
14. 如請求項4之抗體，其包含SEQ ID NO: 269之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 285之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 301之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 317之HVR-L3序列。
15. 如請求項4之抗體，其包含SEQ ID NO: 701之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 712之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 723之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 734之HVR-L3序列。
16. 如請求項3之經分離抗體，其中該抗體並不與單泛素特異性結合。

17. 如請求項16之抗體，其包含分別選自SEQ ID NO: 81-89、229-239、329-336、599-629、739-748及789-799；SEQ ID NO: 91-99、241-251、338-345、631-661、750-759及801-811；SEQ ID NO: 101-109、253-263、347-354、663-693、761-770及813-823；以及SEQ ID NO: 356-363及772-781中之任一者之HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3及HVR-L3的至少一高變(HVR)序列。
18. 如請求項16之抗體，其包含選自HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3之至少一序列，其中HVR-H1包含胺基酸序列a b c d e f g h i j (SEQ ID NO: 831)，其中胺基酸a為甘胺酸；胺基酸b為苯丙胺酸；胺基酸c為天冬醯胺酸；胺基酸d係選自纈胺酸、異白胺酸及苯丙胺酸；胺基酸e係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸f係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸g係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸h係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸i係選自異白胺酸及甲硫胺酸；且胺基酸j為組胺酸；其中HVR-H2包含胺基酸序列k l m n o p q r s t u v w x y z a' (SEQ ID NO: 832)，其中胺基酸k係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸l為異白胺酸；胺基酸m係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸n係選自脯胺酸及絲胺酸；胺基酸o係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸p係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸q係選自絲胺酸及甘胺酸；胺基酸r係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸s為蘇胺酸；胺基酸t係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸u為酪胺酸；胺基酸v為丙胺酸；胺基酸w為天冬胺酸；胺基酸x為絲胺酸；胺基酸y

為纈胺酸；胺基酸z為離胺酸；且胺基酸a'為甘胺酸；且其中HVR-H3包含胺基酸序列b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' l' m' n' o' p' q' r' s' t' u' v'，其中胺基酸b'係選自絲胺酸、麩胺酸、甘胺酸及色胺酸；胺基酸c'係選自甘胺酸、酪胺酸、異白胺酸、麩醯胺酸及絲胺酸；胺基酸d'係選自酪胺酸、甲硫胺酸、甘胺酸及異白胺酸；胺基酸e'係選自酪胺酸、精胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、丙胺酸及脯胺酸；胺基酸f'係選自酪胺酸、色胺酸、絲胺酸及甘胺酸；胺基酸g'係選自麩醯胺酸、酪胺酸、絲胺酸、苯丙胺酸及纈胺酸；胺基酸h'係選自甘胺酸、蘇胺酸、色胺酸、離胺酸及脯胺酸；胺基酸i'係選自酪胺酸、丙胺酸、色胺酸、麩胺酸、脯胺酸及絲胺酸；胺基酸j'係選自色胺酸、異白胺酸、酪胺酸及丙胺酸；胺基酸k'係選自色胺酸、酪胺酸、甘胺酸及天冬胺酸，或不存在；胺基酸l'係選自酪胺酸、絲胺酸、苯丙胺酸及色胺酸，或不存在；胺基酸m'係選自酪胺酸、天冬胺酸及絲胺酸，或不存在；胺基酸n'係選自酪胺酸及丙胺酸，或不存在；胺基酸o'係選自蘇胺酸、絲胺酸、纈胺酸、甘胺酸及酪胺酸，或不存在；胺基酸p'係選自甘胺酸、天冬胺酸、絲胺酸、甲硫胺酸及酪胺酸，或不存在；胺基酸q'係選自酪胺酸、丙胺酸及甘胺酸，或不存在；胺基酸r'係選自酪胺酸、白胺酸及甘胺酸，或不存在；胺基酸s'為甘胺酸或不存在；胺基酸t'係選自甲硫胺酸及白胺酸，或不存在；胺基酸u'為天冬胺酸；且胺基酸v'為酪

胺酸。

19. 如請求項16之抗體，其包含選自HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3之至少一序列，其中HVR-H1包含胺基酸序列a b c d e f g h i j (SEQ ID NO: 833)，其中胺基酸a為甘胺酸；胺基酸b為苯丙胺酸；胺基酸c為天冬醯胺酸；胺基酸d係選自異白胺酸、纈胺酸及白胺酸；胺基酸e係選自絲胺酸、離胺酸及纈胺酸；胺基酸f係選自絲胺酸、色胺酸、甘胺酸及蘇胺酸；胺基酸g係選自絲胺酸、天冬醯胺酸及甘胺酸；胺基酸h係選自酪胺酸、異白胺酸、白胺酸及苯丙胺酸；胺基酸i係選自異白胺酸及甲硫胺酸；且胺基酸j為組胺酸；其中HVR-H2包含胺基酸序列k l m n o p q r s t u v w x y z a' b' (SEQ ID NO: 838)，其中胺基酸k為丙胺酸；胺基酸l係選自酪胺酸、苯丙胺酸、天冬胺酸、組胺酸及丙胺酸；胺基酸m為異白胺酸；胺基酸n係選自絲胺酸、丙胺酸及麩醯胺酸；胺基酸o為脯胺酸；胺基酸p為酪胺酸；胺基酸q係選自白胺酸、酪胺酸及苯丙胺酸；胺基酸r係選自絲胺酸及甘胺酸；胺基酸s係選自絲胺酸、蘇胺酸及色胺酸；胺基酸t為蘇胺酸；胺基酸u係選自絲胺酸、天冬醯胺酸、離胺酸及異白胺酸；胺基酸v為酪胺酸；胺基酸w為丙胺酸；胺基酸x為天冬胺酸；胺基酸y為絲胺酸；胺基酸z為纈胺酸；胺基酸a'為離胺酸；且胺基酸b'為甘胺酸；且其中HVR-H3包含胺基酸序列c' d' e' f' g' h' i' j' k' l' m' n' o' (SEQ ID NO: 837)，其中胺基酸c'為絲胺酸；胺基酸d'為精胺酸；胺基

酸 e' 為麩胺酸；胺基酸 f' 為酪胺酸；胺基酸 g' 為酪胺酸；
胺基酸 h' 為精胺酸；胺基酸 i' 為色胺酸；胺基酸 j' 為酪胺
酸；胺基酸 k' 為蘇胺酸；胺基酸 l' 為丙胺酸；胺基酸 m' 為
異白胺酸；胺基酸 n' 為天冬胺酸；且胺基酸 o' 為酪胺
酸。

20. 如請求項 16 之抗體，其包含 HVR-L3 序列，該 HVR-L3 序
列包含胺基酸序列 w' x' y' z' A B C D E F G，其中胺基
酸 w' 為麩醯胺酸；胺基酸 x' 為麩醯胺酸；胺基酸 y' 係選自
絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 z' 係選自絲胺酸及酪胺酸；胺
基酸 A 係選自絲胺酸及酪胺酸；胺基酸 B 係選自絲胺酸及
酪胺酸；胺基酸 C 係選自脯胺酸、絲胺酸及白胺酸；胺
基酸 D 係選自絲胺酸、脯胺酸及酪胺酸，或不存在；胺
基酸 E 係選自白胺酸及苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 F 係
選自苯丙胺酸、纈胺酸、蘇胺酸及異白胺酸；且胺基酸
G 係選自精胺酸、蘇胺酸及苯丙胺酸。

21. 如請求項 16 之抗體，其包含 HVR-L3 序列，該 HVR-L3 序
列包含胺基酸序列 Q-Q-Y-S-S-Y-S-S-L-F-T (SEQ ID NO:
772)。

22. 如請求項 18 之抗體，其包含與表 6A 及 6B 中對於純系
apu17、apu18、apu19、apu20、apu21、apu22、apu23 及
apu24 所述之序列相對應的 HVR-H1、HVR-H2 及 HVR-H3
序列。

23. 如請求項 19 之抗體，其包含與表 10A 中對於純系
apu2.11、apu2.12、apu2.13、apu2.14、apu2.15、

apu2.16、apu2.17、apu2.18、apu2.19及apu2.20所述之序列相對應的HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列。

24. 如請求項20之抗體，其包含SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及與表6C中對於純系apu17、apu18、apu19、apu20、apu21、apu22、apu23及apu24所述之HVR-L3序列相對應的HVR-L3序列。
25. 如請求項21之抗體，其包含SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及與表10C中對於純系apu2.11、apu2.12、apu2.13、apu2.14、apu2.15、apu2.16、apu2.17、apu2.18、apu2.19及apu2.20所述之HVR-L3序列相對應的HVR-L3序列。
26. 如請求項16之抗體，其包含SEQ ID NO: 330之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 339之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 348之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 357之HVR-L3序列。
27. 如請求項16之抗體，其包含SEQ ID NO: 739之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 750之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 761之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 772之HVR-L3序列。
28. 如請求項16之抗體，其包含SEQ ID NO: 740之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 751之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 762之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ

ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 773之HVR-L3序列。

29. 如請求項16之抗體，其包含選自HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3之至少一序列，其中HVR-H1包含胺基酸序列a b c d e f g h i j(SEQ ID NO: 835)，其中胺基酸a為甘胺酸；胺基酸b為苯丙胺酸；胺基酸c為天冬醯胺酸；胺基酸d係選自異白胺酸、纈胺酸及白胺酸；胺基酸e係選自離胺酸及甲硫胺酸；胺基酸f係選自蘇胺酸、甲硫胺酸、天冬醯胺酸、精胺酸及異白胺酸；胺基酸g係選自甘胺酸、纈胺酸及苯丙胺酸；胺基酸h係選自酪胺酸、異白胺酸、白胺酸及苯丙胺酸；胺基酸i係選自異白胺酸及甲硫胺酸；且胺基酸j為組胺酸；其中HVR-H2包含胺基酸序列k l m n o p q r s t u v w x y z a' b'(SEQ ID NO: 836)，其中胺基酸k為丙胺酸；胺基酸l為酪胺酸；胺基酸m為異白胺酸；胺基酸n係選自絲胺酸、異白胺酸及蘇胺酸；胺基酸o為脯胺酸；胺基酸p為酪胺酸；胺基酸q係選自白胺酸、酪胺酸、天冬胺酸、絲胺酸及色胺酸；胺基酸r為甘胺酸；胺基酸s係選自色胺酸、纈胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、精胺酸及酪胺酸；胺基酸t為蘇胺酸；胺基酸u係選自精胺酸、天冬醯胺酸、纈胺酸、蘇胺酸、絲胺酸及離胺酸；胺基酸v為酪胺酸；胺基酸w為丙胺酸；胺基酸x為天冬胺酸；胺基酸y為絲胺酸；胺基酸z為纈胺酸；胺基酸a'為離胺酸；且胺基酸b'為甘胺酸；且其中HVR-H3包含胺基酸序列c' d' e' f' g' h' i' j' k'

l' m' n' o'(SEQ ID NO: 837)，其中胺基酸c'為絲胺酸；胺基酸d'為精胺酸；胺基酸e'為麩胺酸；胺基酸f'為酪胺酸；胺基酸g'為酪胺酸；胺基酸h'為精胺酸；胺基酸i'為色胺酸；胺基酸j'為酪胺酸；胺基酸k'為蘇胺酸；胺基酸l'為丙胺酸；胺基酸m'為異白胺酸；胺基酸n'為天冬胺酸；且胺基酸o'為酪胺酸。

30. 如請求項29之抗體，其包含與表11A及11B中對於純系apu3.01、apu3.02、apu3.03、apu3.04、apu3.05、apu3.06、apu3.07、apu3.08、apu3.09、apu3.10及3.11所述之序列相對應的HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列。
31. 如請求項29或30之抗體，其包含SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 777之HVR-L3序列。
32. 如請求項16之抗體，其包含SEQ ID NO: 744之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 755之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 766之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 777之HVR-L3序列。
33. 如請求項16之抗體，其包含SEQ ID NO: 795之HVR-H1序列、SEQ ID NO: 807之HVR-H2序列、SEQ ID NO: 819之HVR-H3序列、SEQ ID NO: 79之HVR-L1序列、SEQ ID NO: 80之HVR-L2序列及SEQ ID NO: 777之HVR-L3序列。
34. 一種經分離抗體，其結合至聚泛素上之抗原決定子，該

抗原決定子與如請求項1至33中任一項之抗體所結合之抗原決定子相同，其中該抗體並不與單泛素特異性結合。

35. 一種經分離抗體，其與如請求項1至33中任一項之抗體競爭與聚泛素之結合，其中該抗體並不與單泛素特異性結合。

36. 如請求項1至33中任一項之抗體，其中該抗體與聚泛素化蛋白特異性結合。

37. 如請求項36之抗體，其中該抗體抑制該聚泛素化蛋白之降解。

38. 如請求項36之抗體，其中該抗體調節至少一種聚泛素介導之信號傳輸路徑。

39. 如請求項36之抗體，其中該抗體抑制至少一種聚泛素介導之信號傳輸路徑。

40. 如請求項36之抗體，其中該抗體刺激至少一種聚泛素介導之信號傳輸路徑。

41. 一種編碼如請求項1至33中任一項之抗體之核酸分子。

42. 一種包含如請求項41之核酸之載體。

43. 一種包含如請求項42之載體之宿主細胞。

44. 一種能夠產生如請求項1至33中任一項之抗體之細胞株。

45. 一種用於產生如請求項1至33中任一項之抗體之方法，其包含在產生該抗體之條件下培養包含編碼該抗體之核酸分子的宿主細胞。

46. 一種醫藥組合物，包含有效量的如請求項1至33中任一項之抗體及醫藥學上可接受之載劑。
47. 一種用於識別樣本中聚泛素或聚泛素化蛋白之存在之方法，其包含使該樣本與至少一種如請求項1至33中任一項之抗體接觸，及使聚泛素或聚泛素化蛋白與非聚泛素化蛋白分離。
48. 一種如請求項1至33中任一項之抗體之用途，其係用於製造用於治療患者之與聚泛素調節異常相關的疾病或病況之藥劑。
49. 如請求項48之用途，其中該患者為哺乳動物患者。
50. 如請求項49之用途，其中該患者為人類。
51. 如請求項48之用途，其中該疾病係選自癌症、肌肉病症、與泛素路徑相關之遺傳病症、免疫/發炎病症及神經病症。
52. 如請求項51之用途，其中該疾病係選自癌、淋巴瘤、胚細胞瘤、肉瘤、白血病、肌肉萎縮症、多發性硬化、肌肉萎縮性側索硬化、囊腫性纖維化、天使症候群(Angelman's syndrome)、李德氏症候群(Liddle syndrome)、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)、帕金森氏病(Parkinson's disease)、畢克氏病(Pick's disease)及柏哲氏病(Paget's disease)。
53. 一種用於確定懷疑含有聚泛素或聚泛素化蛋白之樣本中聚泛素或聚泛素化蛋白之存在之方法，其包含將該樣本暴露至至少一種如請求項1至33中任一項之抗體，及確

定該樣本中該至少一種抗體與聚泛素或聚泛素化蛋白之結合。

54. 一種用於使樣本中之聚泛素化蛋白與非聚泛素化蛋白分離之方法，其包含使該樣本與至少一種如請求項1至33中任一項之抗體接觸，及使聚泛素化蛋白與非聚泛素化蛋白分離。
55. 一種用於確定細胞中聚泛素之功能及/或活性之方法，其包含使該細胞與至少一種如請求項1至33中任一項之抗體接觸，及評定該接觸步驟對該細胞之影響。
56. 一種用於確定樣本中聚泛素之功能及/或活性之方法，其包含使該細胞與至少一種如請求項1至33中任一項之抗體接觸，及評定該接觸步驟對該樣本之影響。
57. 一種與第一聚泛素特異性結合之經分離抗體，該第一聚泛素包含與泛素分子之第一胺基酸位置處的第一離胺酸殘基鍵結的至少一異肽鍵，其中該抗體並不與第二聚泛素特異性結合，該第二聚泛素包含與泛素分子之第二胺基酸位置處的第二離胺酸殘基鍵結的至少一異肽鍵，且其中該第一胺基酸位置與該第二胺基酸位置不同。
58. 如請求項57之經分離抗體，其中該抗體與該經離胺酸63鍵聯之聚泛素中的抗原決定基結合。
59. 如請求項58之經分離抗體，其中該經分離抗體與該經離胺酸63鍵聯之聚泛素的第一泛素次單元及第二泛素次單元兩者結合。
60. 如請求項59之經分離抗體，其中該抗體與選自Glu-18、

Pro-19、Ser-20、Asp-21、Thr-55、Leu-56、Ser-57、Asp-58、Asn-60、Ile-61及Gln-62之第一泛素次單元中的至少一殘基結合。

61. 如請求項59之經分離抗體，其中該抗體與選自Leu-8、Thr-9、Glu-34、Gly-35、Ile-36、Pro-37、Asp-39、Gln-40、Leu-71、Arg-72、Leu-73、Arg-74及Gly-75之第二泛素次單元中的至少一殘基結合。

62. 如請求項59之經分離抗體，其中該抗體與選自Glu-18、Pro-19、Ser-20、Asp-21、Thr-55、Leu-56、Ser-57、Asp-58、Asn-60、Ile-61及Gln-62之第一泛素次單元中的至少一殘基，及選自Leu-8、Thr-9、Glu-34、Gly-35、Ile-36、Pro-37、Asp-39、Gln-40、Leu-71、Arg-72、Leu-73、Arg-74及Gly-75之第二泛素次單元中的至少一殘基結合。

63. 一種如請求項1至33或57至62中任一項之抗體之抗原結合片段，其中該抗原結合片段並不與包含第二離胺酸鍵聯之第二聚泛素特異性結合，或其中該抗原結合片段以與該抗原結合片段對該第一聚泛素之結合親和力相比大體上降低之結合親和力與該包含第二離胺酸鍵聯之第二聚泛素結合。

公告本

1 MET GLN ILE PHE VAL LYS THR LEU THR GLY LYS THR ILE THR
15 LEU GLU VAL GLU PRO SER ASP THR ILE GLU ASN VAL LYS ALA
29 LYS ILE GLN ASP LYS GLU GLY ILE PRO PRO ASP GLN GLN ARG
43 LEU ILE PHE ALA GLY LYS GLN LEU GLU ASP GLY ARG THR LEU
57 SER ASP TYR ASN ILE GLN LYS GLU SER THR LEU HIS LEU VAL
71 LEU ARG LEU ARG GLY GLY

圖1A

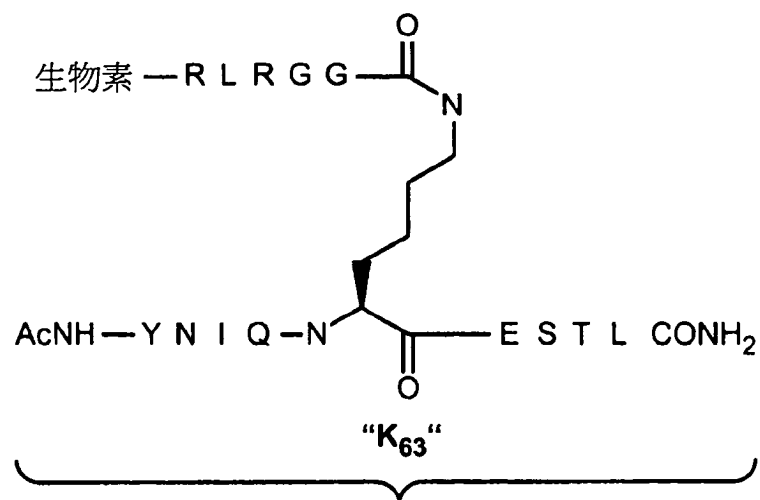
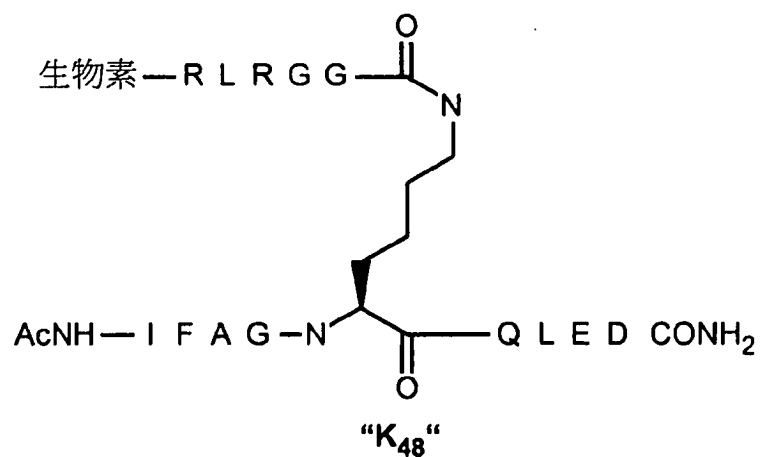


圖 1B

I			
A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	-H1-	WVRQAPGQGLEWMG
B	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	-H1-	WVRQAPGQGLEWM
C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	-H1-	WVRQAPGQGLEWM
D	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	-H1-	WVRQAPGQGLEWM
RVTIT			
-H2-			
RVTIT			
-H2-			
RVTIT			
-H2-			
RVTIT			
II			
A	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTLTCTVSGGSVS	-H1-	WIRQPPGKGLEWIG
B	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTLTCTVS	-H1-	WIRQPPGKGLEWI
C	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTLTCTVS	-H1-	WIRQPPGKGLEWI
D	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTLTCTVS	-H1-	WIRQPPGKGLEWI
RVTIS			
-H2-			
RVTIS			
-H2-			
RVTIS			
-H2-			
RVTIS			
III			
A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	-H1-	WVRQAPGKGLEWVS
B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	-H1-	WVRQAPGKGLEVV
C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	-H1-	WVRQAPGKGLEVV
D	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	-H1-	WVRQAPGKGLEVV
RFTIS			
-H2-			
RFTIS			
-H2-			
RFTIS			
-H2-			
RFTIS			
受體			
A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK	-H1-	WVRQAPGKGLEWVS
B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	-H1-	WVRQAPGKGLEVV
C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	-H1-	WVRQAPGKGLEVV
RFTIS			
-H2-			
RFTIS			
-H2-			
RFTIS			
第二受體			
A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK	-H1-	WVRQAPGKGLEWVS
B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	-H1-	WVRQAPGKGLEVV
C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	-H1-	WVRQAPGKGLEVV
RFTIS			
-H2-			
RFTIS			
-H2-			
RFTIS			
-H2-			
RFTIS			

圖 2A

I					
A	ADTSTSTAYMELSSLRSED	TAVYYCAR	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
B	ADTSTSTAYMELSSLRSED	TAVYYCAR	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
C	ADTSTSTAYMELSSLRSED	TAVYYCAR	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
D	ADTSTSTAYMELSSLRSED	TAVYYC	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
II					
A	VDTSKNQFSLKLSSVTAAD	TAVYYCAR	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
B	VDTSKNQFSLKLSSVTAAD	TAVYYCAR	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
C	VDTSKNQFSLKLSSVTAAD	TAVYYCA	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
D	VDTSKNQFSLKLSSVTAAD	TAVYYC	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
III					
A	RDNSKNTLYLQMN	SLRAEDTAVYYCAR	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
B	RDNSKNTLYLQMN	SLRAEDTAVYYCAR	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
C	RDNSKNTLYLQMN	SLRAEDTAVYYCA	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
D	RDNSKNTLYLQMN	SLRAEDTAVYYC	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
受體					
A	ADTSKNTAYLQMN	SLRAEDTAVYYQSR	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
B	ADTSKNTAYLQMN	SLRAEDTAVYYQSR	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
C	ADTSKNTAYLQMN	SLRAEDTAVYYQS	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
第一受體					
A	ADTSKNTAYLQMN	SLRAEDTAVYYCAR	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
B	ADTSKNTAYLQMN	SLRAEDTAVYYCAR	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
C	ADTSKNTAYLQMN	SLRAEDTAVYYCA	-H3-	WGQGT	TLVTVSS
D	ADTSKNTAYLQMN	SLRAEDTAVYYC	-H3-	WGQGT	TLVTVSS

圖 2B

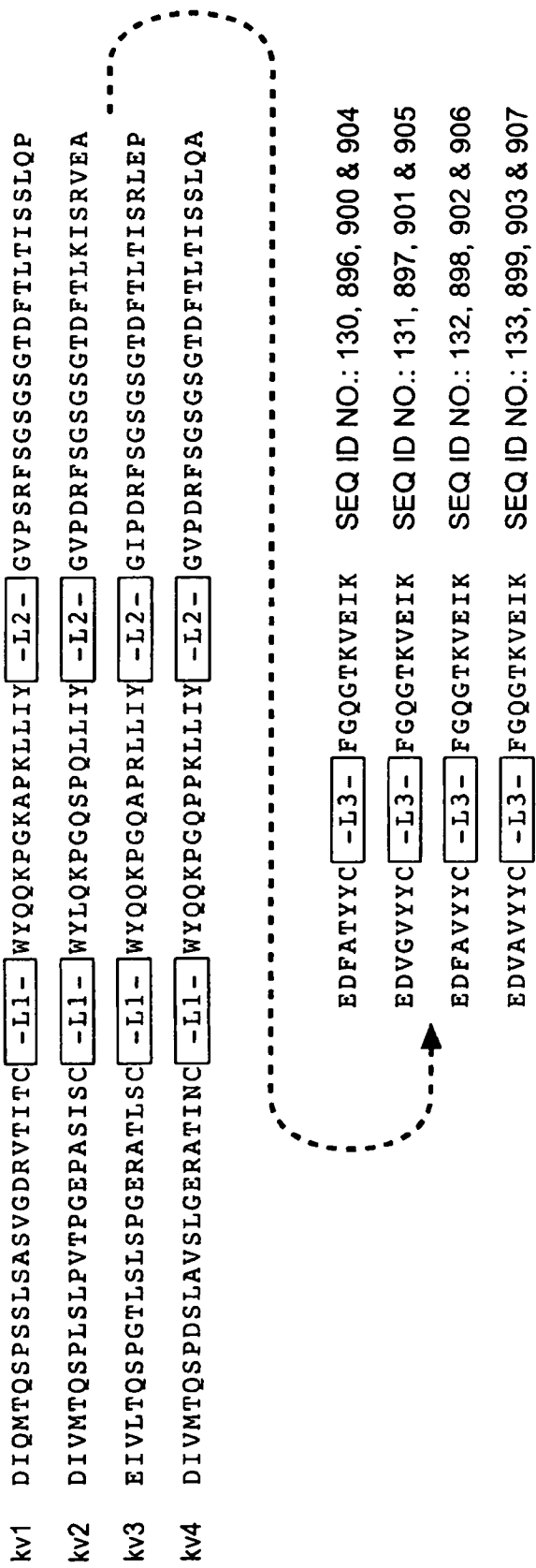


圖 3

huMAb4D5-8輕鏈之框架序列

- LC-FR1 ¹Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys²³ (SEQ ID NO: 134)
- LC-FR2 ³⁵Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr⁴⁹
(SEQ ID NO: 135)
- LC-FR3 ⁵⁷Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys⁸⁸
(SEQ ID NO: 136)
- LC-FR4 ⁹⁸Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys¹⁰⁷ (SEQ ID NO: 137)

huMAb4D5-8重鏈之框架序列

- HC-FR1 ¹Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser²⁵ (SEQ ID NO: 138)
- HC-FR2 ³⁶Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val⁴⁸
(SEQ ID NO: 139)
- HC-FR3 ⁶⁶Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
Met Asn⁸³ Ser^{83a} Leu^{83b} Arg^{83c} Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys⁹²
(SEQ ID NO: 140)
- HC-FR4 ¹⁰³Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser¹¹³ (SEQ ID NO: 141)

圖 4

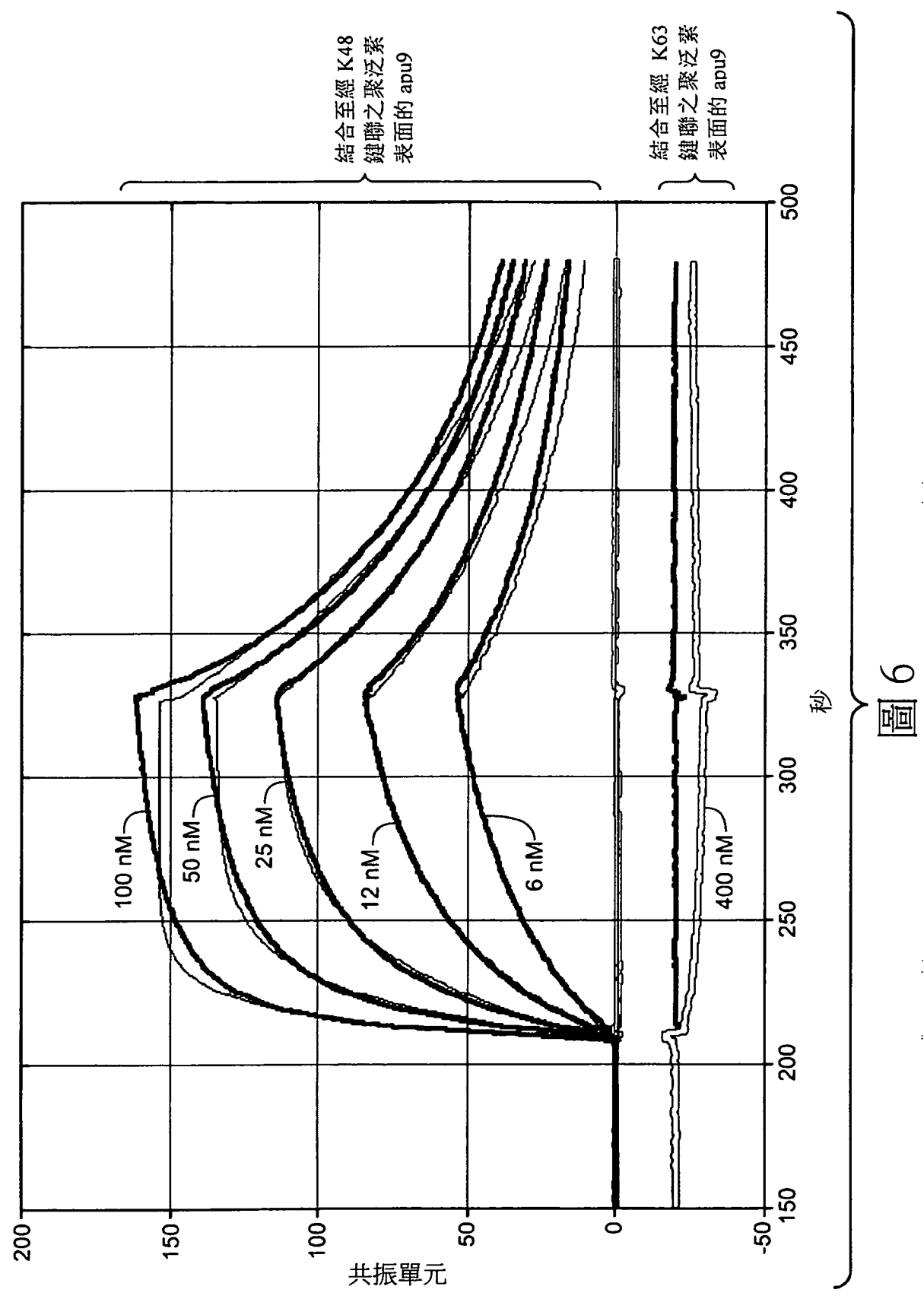
位置66及99（帶下劃線）處經修飾huMAb4D5-8輕鏈之框架序列

- LC-FR1 ¹Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys²³ (SEQ ID NO: 142)
- LC-FR2 ³⁵Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr⁴⁹
(SEQ ID NO: 143)
- LC-FR3 ⁵⁷Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys⁸⁸
(SEQ ID NO: 144)
- LC-FR4 ⁹⁸Phe Arg Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys¹⁰⁷ (SEQ ID NO: 145)

71位、73位及78位（帶下劃線）經修飾之huMAb4D5-8重鏈之框架序列

- HC-FR1 ¹Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser²⁵ (SEQ ID NO: 146)
- HC-FR2 ³⁶Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val⁴⁸
(SEQ ID NO: 147)
- HC-FR3 ⁶⁶Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
Met Asn⁸³ Ser^{83a} Leu^{83b} Arg^{83c} Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
Cys⁹² (SEQ ID NO: 148)
- HC-FR4 ¹⁰³Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser¹¹³ (SEQ ID NO: 149)

圖 5



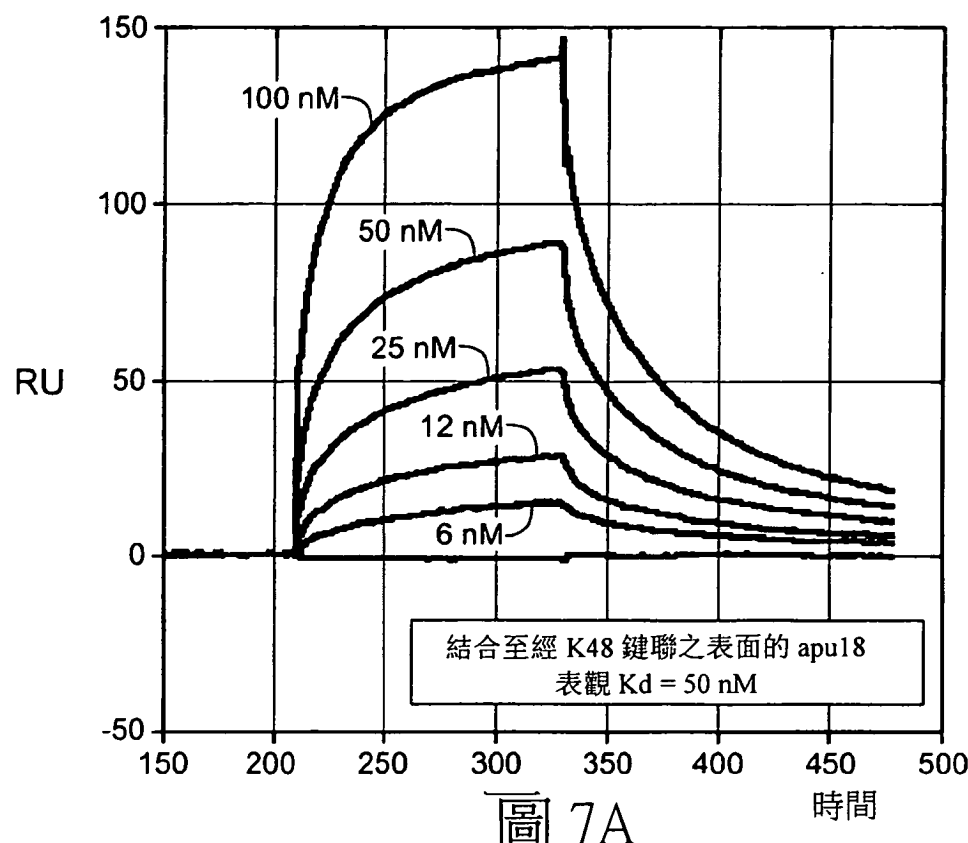


圖 7A

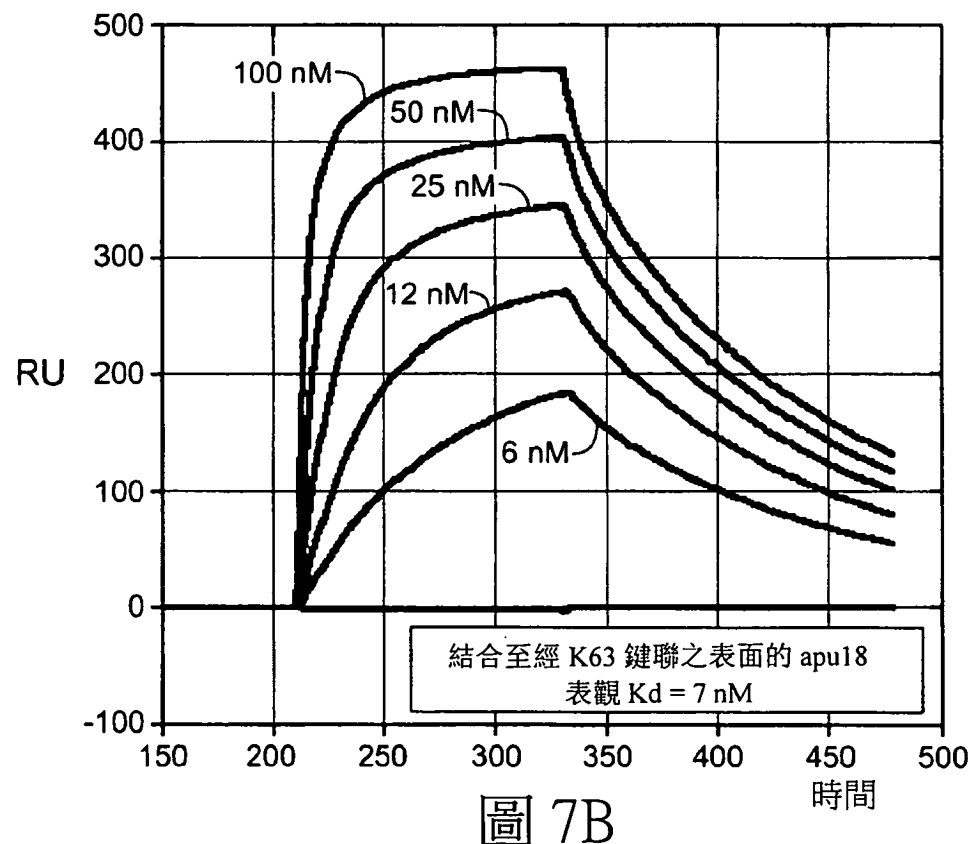
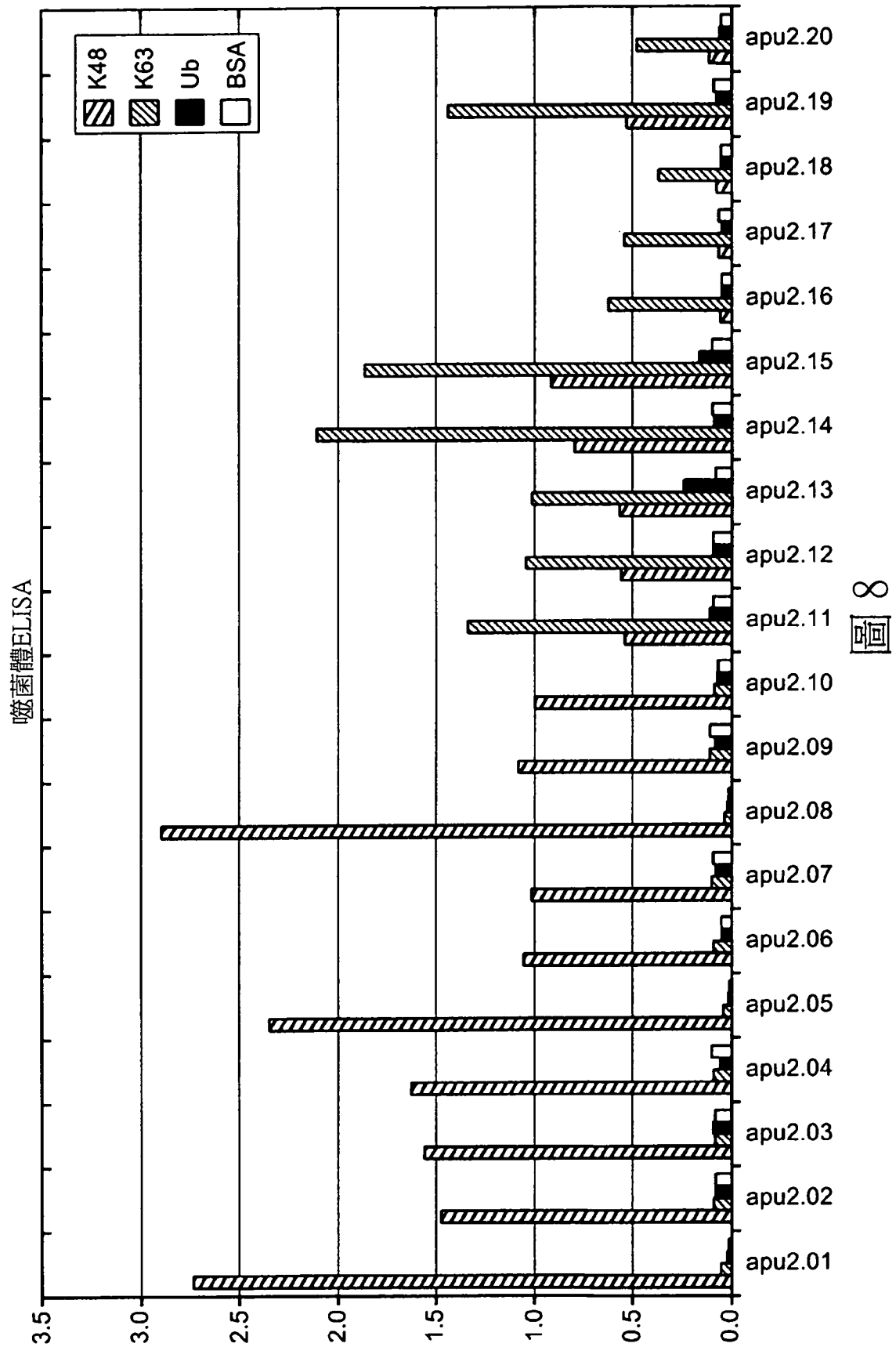
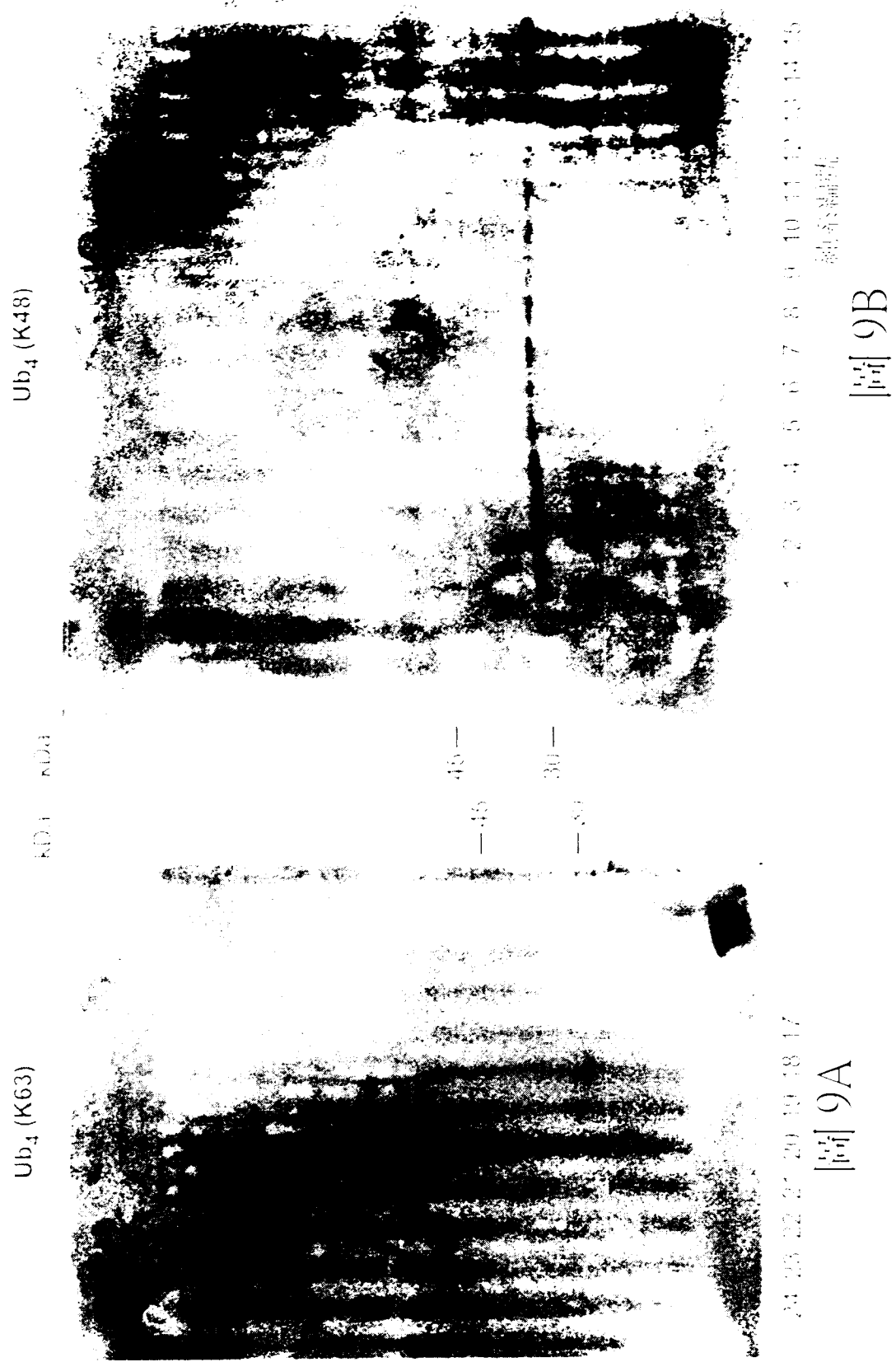


圖 7B





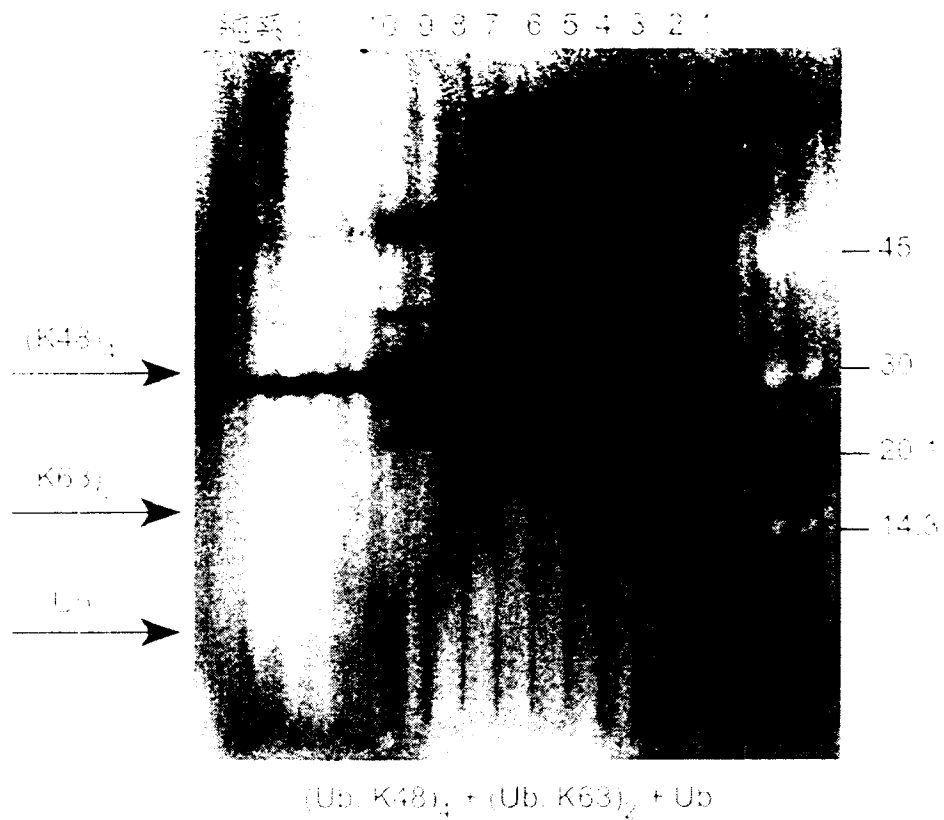


圖 10A

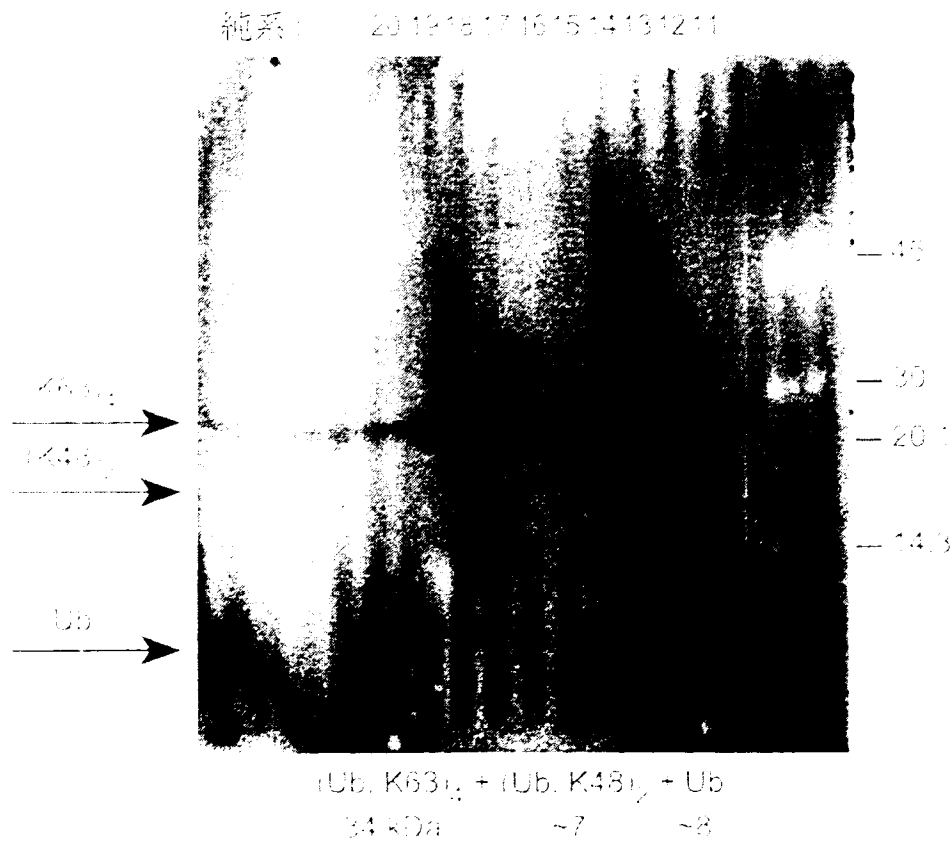


圖 10B

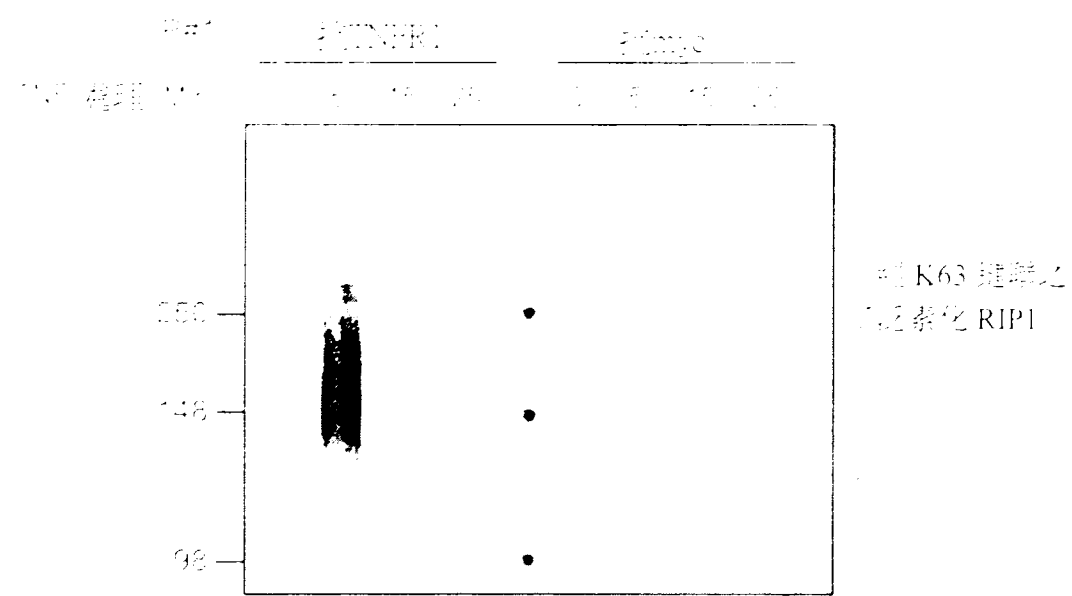


圖 11A

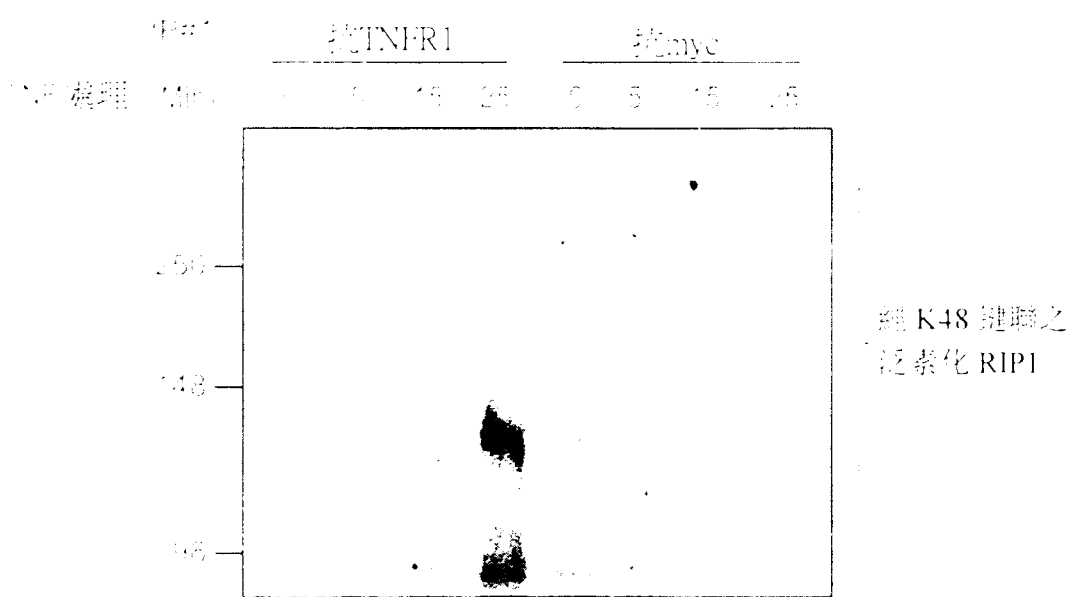
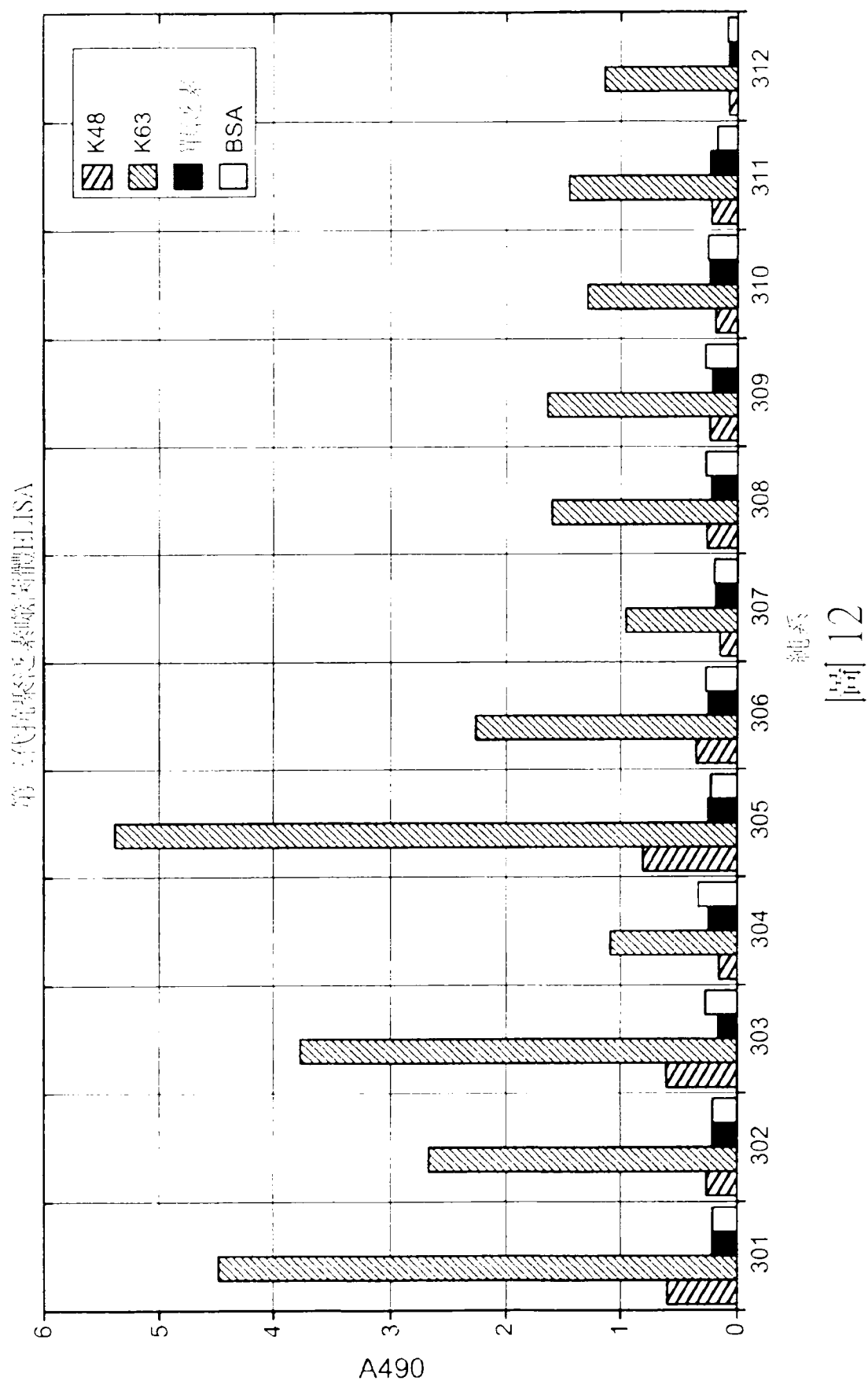


圖 11B



Western blot analysis of K63-linked polyubiquitin in WT and K48 Ub4 strains. The blot shows protein bands for WT (left) and K48 Ub4 (right) strains, probed with anti-K63 antibody. Molecular weight markers (kDa) are indicated on the left: 220, 67, 66, 45, 30, 20.1, and 14.3. The WT strain shows a prominent band at approximately 20 kDa, while the K48 Ub4 strain shows a band at approximately 30 kDa. The blot is labeled with 'V.B. 1 µg/mL anti-K63' and '7 (31-3)'.

116765-fig-1011126.doc

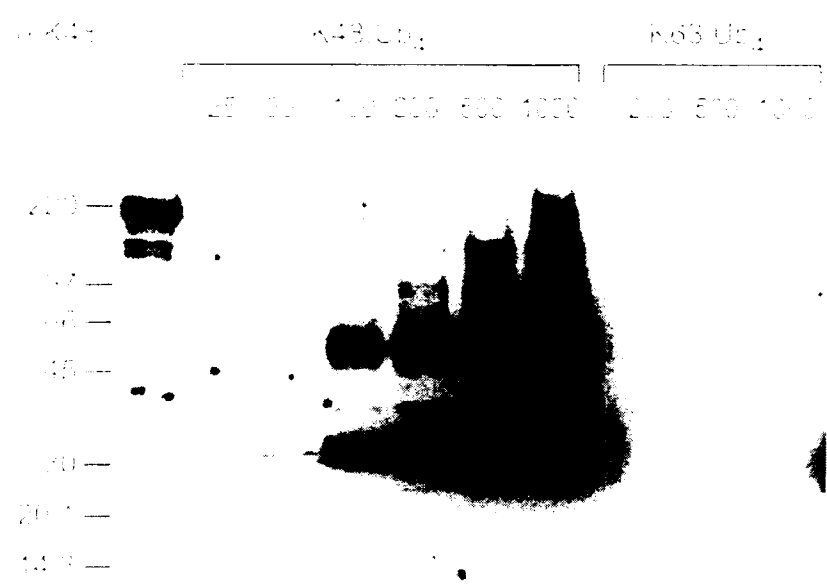


圖 13C

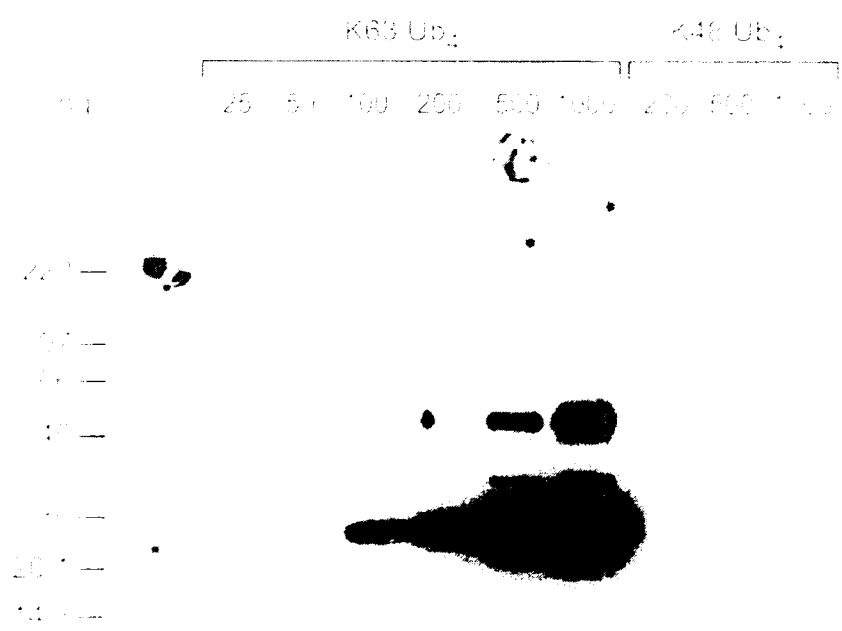


圖 13D

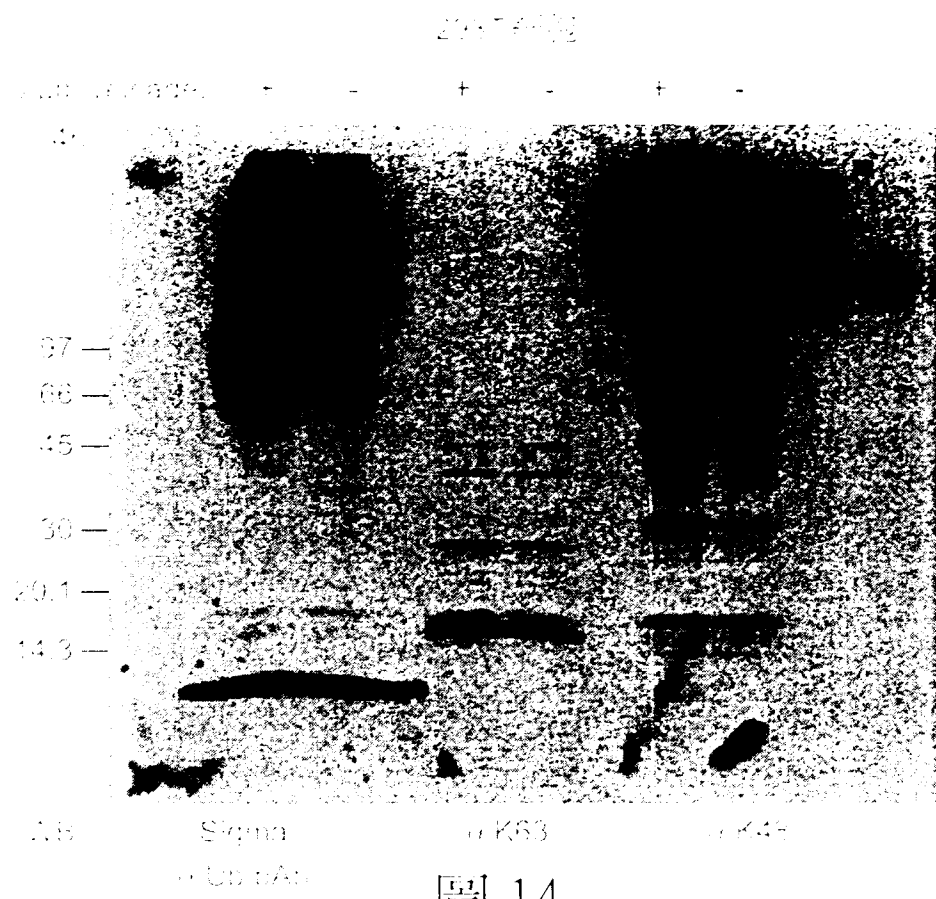




図 15A

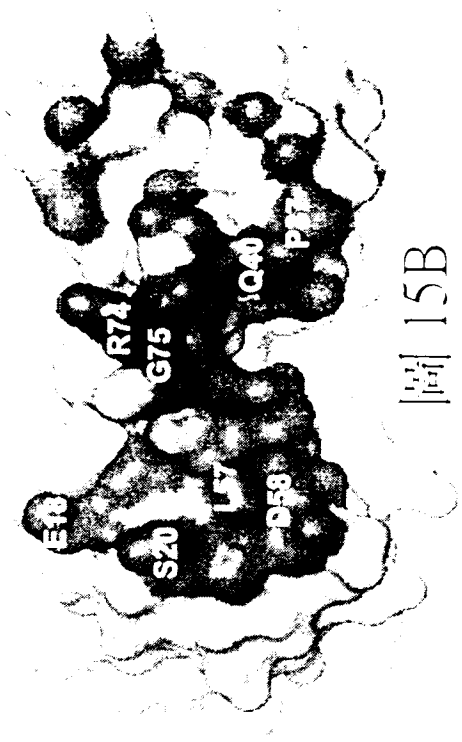


図 15B

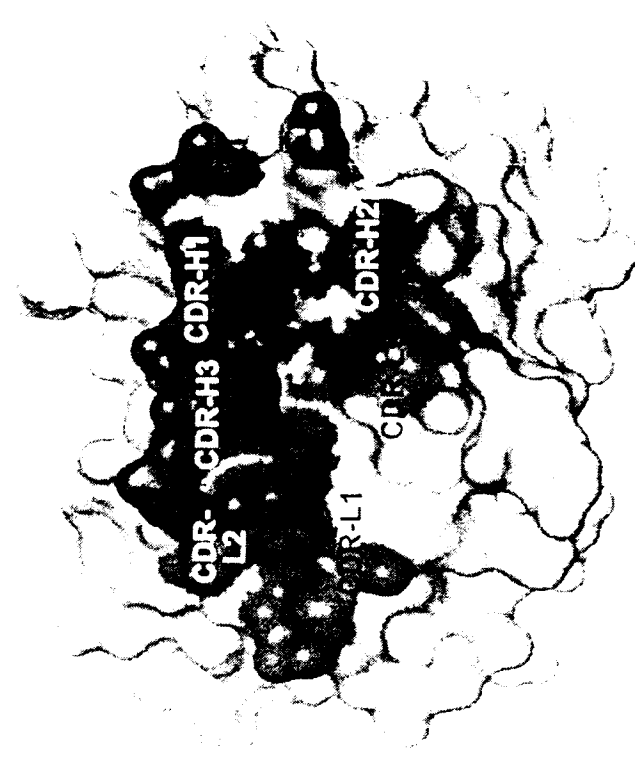


図 15C

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)