



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104395345 A

(43) 申请公布日 2015. 03. 04

(21) 申请号 201280072749. 6

(22) 申请日 2012. 02. 29

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2014. 10. 28(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2012/027160 2012. 02. 29(87) PCT国际申请的公布数据
W02013/130078 EN 2013. 09. 06(71) 申请人 吉联亚生物科技有限公司
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 维多莉亚·史密斯 斯科特·麦考利

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限公司
责任人 11287

代理人 江葳

(51) Int. Cl.

C07K 16/40(2006. 01)

C12N 9/64(2006. 01)

A61K 39/395(2006. 01)

权利要求书3页 说明书29页
序列表30页 附图3页

(54) 发明名称

抗基质金属蛋白酶9 抗体

(57) 摘要

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

抗基质金属蛋白酶9人类化重链

AB0041	QVQLKESGGG	LVPDSQSLST	TCVSGGSL	SYGVHWVRQ	PGKGLWLG
重链可变区1	QVQLKESGGG	LVPDSQSLST	TCVSGGSL	SYGVHWVRQ	PGKGLWLG
重链可变区2	QVQLKESGGG	LVPDSQSLST	TCVSGGSL	SYGVHWVRQ	PGKGLWLG
重链可变区3	QVQLKESGGG	LVPDSQSLST	TCVSGGSL	SYGVHWVRQ	PGKGLWLG
重链可变区4	QVQLKESGGG	LVPDSQSLST	TCVSGGSL	SYGVHWVRQ	PGKGLWLG
AB0041	INTGGTTN	SALMSRLTIS	RDDSKSTVYL	KMNSLKTEDT	AIYYCARYYY
重链可变区1	INTGGTTN	SALMSRLTIS	RDDSKSTVYL	KMNSLKTEDT	AIYYCARYYY
重链可变区2	INTGGTTN	SALMSRLTIS	RDDSKSTVYL	KMNSLKTEDT	AIYYCARYYY
重链可变区3	INTGGTTN	SALMSRLTIS	RDDSKSTVYL	KMNSLKTEDT	AIYYCARYYY
重链可变区4	INTGGTTN	SALMSRLTIS	RDDSKSTVYL	KMNSLKTEDT	AIYYCARYYY
AB0041	GMDYWGQGS	VTSS	(SEQ ID NO:3)		
重链可变区1	GMDYWGQGS	VTSS	(SEQ ID NO:5)		
重链可变区2	GMDYWGQGS	VTSS	(SEQ ID NO:6)		
重链可变区3	GMDYWGQGS	VTSS	(SEQ ID NO:7)		
重链可变区4	GMDYWGQGS	VTSS	(SEQ ID NO:8)		

1. 一种分离的抗体或其片段,其包含:具有重链互补决定区 CDR 的重链可变 VH 区,所述 CDR 具有选自 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 及 SEQ ID NO:15 组成的群组的氨基酸序列。

2. 根据权利要求 1 所述的抗体或片段,其中所述 VH 区具有氨基酸序列为 SEQ ID NO:13 的重链 CDR1、氨基酸序列为 SEQ ID NO:14 的重链 CDR2 及氨基酸序列为 SEQ ID NO:15 的重链 CDR3。

3. 一种分离的抗体或其片段,其包含:具有轻链互补决定区 CDR 的轻链可变 VL 区,所述 CDR 具有选自 SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17 及 SEQ ID NO:18 组成的群组的氨基酸序列。

4. 根据权利要求 3 所述的抗体或片段,其中所述 VL 区具有氨基酸序列为 SEQ ID NO:16 的轻链 CDR1、氨基酸序列为 SEQ ID NO:17 的轻链 CDR2 及氨基酸序列为 SEQ ID NO:18 的轻链 CDR3。

5. 根据权利要求 3 或 4 所述的抗体或片段,其中所述抗体另外包含具有氨基酸序列为 SEQ ID NO:13 的重链 CDR1、氨基酸序列为 SEQ ID NO:14 的重链 CDR2 及氨基酸序列为 SEQ ID NO:15 的重链 CDR3 的 VH 区。

6. 根据权利要求 1、2 及 5 中任一权利要求所述的抗体或片段,其中所述 VH 区具有 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7 或 SEQ ID NO:8 中所陈述的氨基酸序列。

7. 根据权利要求 6 所述的抗体或片段,其中所述 VH 区具有 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7 或 SEQ ID NO:8 中所陈述的氨基酸序列。

8. 根据权利要求 3 到 7 中任一权利要求所述的抗体或片段,其中所述 VL 区具有 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11 或 SEQ ID NO:12 中所陈述的氨基酸序列。

9. 根据权利要求 8 所述的抗体或片段,其中所述 VL 区具有 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11 或 SEQ ID NO:12 中所陈述的氨基酸序列。

10. 根据权利要求 5 所述的抗体或片段,其中所述 VH 区具有 SEQ ID NO:7 中所陈述的氨基酸序列并且所述 VL 区具有 SEQ ID NO:12 中所陈述的氨基酸序列。

11. 一种分离的抗体或其片段,其与具有含 SEQ ID NO:7 中所陈述的氨基酸序列的 VH 区和含 SEQ ID NO:12 中所陈述的氨基酸序列的 VL 区的抗体竞争结合到 MMP9。

12. 一种特异性结合到 MMP9 的表位的分离的抗体或其片段,其中所述表位包含在 MMP9 的区域内的氨基酸残基,所述区域由 SEQ ID NO:27 的残基 104-119、残基 159-166 或残基 191-202 组成。

13. 根据权利要求 12 所述的抗体或片段,其中所述表位包含在由 SEQ ID NO:27 的残基 104-119 组成的 MMP9 的区域内的氨基酸残基、在由 SEQ ID NO:27 的残基 159-166 组成的 MMP9 的区域内的氨基酸残基及在由 SEQ ID NO:27 的残基 191-202 组成的 MMP9 的区域内的氨基酸残基。

14. 根据权利要求 12 或 13 所述的抗体或片段,其中所述表位包含 SEQ ID NO:27 的 E111、D113、R162 或 I198。

15. 根据权利要求 14 所述的抗体或片段,其中所述表位包含 SEQ ID NO:27 的 R162。

16. 根据权利要求 14 所述的抗体或片段,其中所述表位包含 SEQ ID NO:27 的 E111、D113、R162 及 I198。

17. 根据权利要求 1 到 16 中任一权利要求所述的抗体或片段,其中所述抗体或片段抑制 MMP9 的酶活性。

18. 根据权利要求 17 所述的抗体或片段,其中所述酶活性的所述抑制是非竞争性的。

19. 根据权利要求 1 到 18 中任一权利要求所述的抗体或片段,其为人类或人类化的。

20. 根据权利要求 1 到 19 中任一权利要求所述的抗体或片段,其用于抑制个体中的 MMP9 活性的方法中,所述方法包含向所述个体授予有效抑制所述个体中的 MMP9 活性的量的所述抗体或片段。

21. 一种抑制个体中的 MMP9 活性的方法,所述方法包含向所述个体授予有效抑制所述个体中的 MMP9 活性的量的根据权利要求 1 到 19 中任一权利要求所述的抗体或片段。

22. 根据权利要求 21 所述的方法,其中所述抗体或其片段是以约 1mg/kg 到约 14mg/kg 的剂量静脉内授予。

23. 根据权利要求 21 所述的方法,其中所述抗体或片段是以约 4mg/kg 到约 28mg/kg 的剂量皮下授予。

24. 根据权利要求 21 到 23 中任一权利要求所述的方法,其中所述抗体或片段是每 7 到 28 天一次授予。

25. 一种分离的核酸,其包含:编码包含具有 SEQ ID NO:13-15 中所陈述的氨基酸序列的 CDR 的重链多肽或包含具有 SEQ ID NO:16-18 中所陈述的氨基酸序列的 CDR 的轻链多肽的核苷酸序列。

26. 根据权利要求 25 所述的分离的核酸,其中所述核苷酸序列编码所述重链多肽,所述重链多肽具有选自自由 SEQ ID NO:1、3 及 5-8 组成的群组的氨基酸序列。

27. 根据权利要求 25 或 26 所述的分离的核酸,其中所述核苷酸序列编码所述轻链多肽,所述轻链多肽具有选自自由 SEQ ID NO:2、4 及 9-12 组成的群组的氨基酸序列。

28. 根据权利要求 25 到 27 中任一权利要求所述的分离的核酸,其中所述核苷酸序列包含选自自由 SEQ ID NO:19-26 组成的群组的序列。

29. 根据权利要求 25 到 28 中任一权利要求所述的分离的核酸,其中所述核苷酸序列包含 SEQ ID NO:21 和 SEQ ID NO:26。

30. 一种载体,其包含根据权利要求 25 到 29 中任一权利要求所述的分离的核酸。

31. 一种细胞,其包含根据权利要求 30 所述的载体。

32. 一种医药组合物,其包含根据权利要求 1 到 19 中任一权利要求所述的抗体或其片段。

33. 一种医药组合物,其包含根据权利要求 30 所述的载体。

34. 一种医药组合物,其包含根据权利要求 31 所述的细胞。

35. 根据权利要求 32 到 34 中任一权利要求所述的医药组合物,其用于抑制个体中的 MMP9 活性的方法中,所述方法包含向所述个体授予有效抑制所述个体中的 MMP9 活性的量的所述医药组合物。

36. 一种抑制个体中的 MMP9 活性的方法,其包含向所述个体授予有效抑制所述个体中的 MMP9 活性的量的根据权利要求 32 到 34 中任一权利要求所述的医药组合物。

37. 一种检测来自个体的测试样品中的 MMP9 表达的方法,所述方法包含:

(a) 使所述测试样品与根据权利要求 1 到 19 中任一权利要求所述的抗体或片段接触;
及

(b) 检测所述抗体或片段与所述样品中蛋白质的结合,由此检测 MMP9 的存在。

38. 根据权利要求 37 所述的方法,其另外包含将在所述测试样品中检测到的结合的量与所述抗体或片段结合到对照样品的量相比较。

39. 一种分离的多肽,其具有基本上由 SEQ ID NO:27 的残基 111-198 组成的氨基酸序列。

40. 一种分离的突变体 MMP9 多肽,其包含含有 SEQ ID NO:27 的残基 111-198 并且在残基 111、113、162 或 198 处具有氨基酸取代的氨基酸序列。

41. 根据权利要求 40 所述的分离的突变体 MMP9 多肽,其中所述氨基酸序列在 SEQ ID NO:27 的残基 111、113、162 及 198 处含有氨基酸取代。

抗基质金属蛋白酶 9 抗体

[0001] 有关经由 EFS-WEB 提交的序列表的参考

[0002] 如 MPEP § 1730II. B. 2(a) (C) 中所批准并陈述的, 以下经由 USPTO EFS-WEB 服务器提交的电子版序列表的完整内容以全文引用的方式并入本文中用于所有目的。所述序列表在电子提交的文本文档上标识如下:

[0003]

文件名	创建日期	大小 (字节)
246102008540Seq1ist	2012 年 2 月 29 日	65, 102 字节

技术领域

[0004] 本发明属于细胞外酶、细胞外基质酶、蛋白酶及免疫学领域。

背景技术

[0005] 基质金属蛋白酶 (MMP) 属于涉及到细胞外基质形成和重塑的细胞外酶家族。这些酶含有一个保守的催化结构域, 其中锌原子经三个组氨酸残基配位。已知这一家族的超过 20 个成员, 组织成包括胶原酶类、明胶酶类、溶基质素类、基质溶解因子类、釉质溶解素类及膜 MMP 类在内的多个群组。

[0006] MMP2 和 MMP9 属于基质金属蛋白酶的明胶酶群组。除含有大多数 MMP 共有的信号肽、前肽、催化结构域、锌结合结构域及血红素结合蛋白样结构域外, 明胶酶还含有多个纤连蛋白样结构域和一个 O-糖基化结构域。

[0007] MMP 与多种疾病有关。然而, 可用的 MMP 抑制剂部分由于毒性和缺乏功效而未取得成功。因此, 需要具有特异性并且有效的 MMP 抑制剂。

发明内容

[0008] 本发明提供涉及结合到基质金属蛋白酶 -9 (MMP9) 蛋白 (又称为明胶酶 -B) 的结合蛋白 (例如抗体和其抗原结合片段) 的组合物和使用方法。所述结合蛋白通常为抗体或其片段 (例如, 抗原结合片段) 并且通常含有免疫球蛋白 (Ig) 重链 (或其功能片段) 和 Ig 轻链 (或其功能片段)。重链通常为 IgG, 通常为人类 IgG (例如 IgG1 或 IgG4), 或其它 IgG (例如 IgG2), 或其经修饰型式。轻链通常为 κ 链。

[0009] MMP9 结合蛋白 (例如抗体) 为特异性结合到 MMP9 并且不结合其它基质金属蛋白酶的结合蛋白。这些 MMP9 结合蛋白可用于需要或希望获得对 MMP9 的特异性调节 (例如, 抑制), 例如而不直接地影响其它基质金属蛋白酶的活性的应用中。因此, 在本发明的某些实施例中, 抗 MMP9 抗体或其片段是 MMP9 活性的特异性抑制剂。在一些方面中, 本文所揭示的 MMP9 结合蛋白将可用于抑制 MMP9, 同时允许其它相关基质金属蛋白酶的正常功能。

[0010] 这些抗体和片段可参照其氨基酸序列或其部分, 和 / 或各种功能 (例如与 MMP9 或其特定表位的结合特异性, 或与特定抗体竞争结合到 MMP9 上的表位的能力) 和 / 或活性

(例如抑制 MMP9 的能力,例如非竞争性抑制) 进行描述。

[0011] 所述抗体和片段包括具有重链可变 (VH) 区的那些,所述 VH 区具有含 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 或 SEQ ID NO:15 的氨基酸序列的重链互补决定区 (CDR);具有轻链可变 (VL) 区的那些,所述 VL 区具有含 SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17 或 SEQ ID NO:18 的氨基酸序列的轻链互补决定区 (CDR)。示例性抗体和片段包括具有氨基酸序列为 SEQ ID NO:13 的重链 CDR1、氨基酸序列为 SEQ ID NO:14 的重链 CDR2 及氨基酸序列为 SEQ ID NO:15 的重链 CDR3 的那些;及具有 SEQ ID NO:15 的重链 CDR3 的那些。示例性抗体和片段另外包括具有氨基酸序列为 SEQ ID NO:16 的轻链 CDR1、氨基酸序列为 SEQ ID NO:17 的轻链 CDR2 及氨基酸序列为 SEQ ID NO:18 的轻链 CDR3 的那些;及具有氨基酸序列为 SEQ ID NO:18 的轻链 CDR3 的那些;以及具有 SEQ ID NO:13、14 及 15 的重链 CDR 和 SEQ ID NO:16、17 及 18 的轻链 CDR 的那些。

[0012] 示例性抗体和片段另外包括具有氨基酸序列为 SEQ ID NO:34 的重链 CDR1、氨基酸序列为 SEQ ID NO:35 的重链 CDR2 及氨基酸序列为 SEQ ID NO:36 的重链 CDR3 的那些;具有氨基酸序列为 SEQ ID NO:36 的重链 CDR3 的那些;具有氨基酸序列为 SEQ ID NO:37 的轻链 CDR1、氨基酸序列为 SEQ ID NO:38 的轻链 CDR2 及氨基酸序列为 SEQ ID NO:39 的轻链 CDR3 的那些;具有氨基酸序列为 SEQ ID NO:39 的轻链 CDR3 的那些;以及具有 SEQ ID NO:34、35 及 36 的重链 CDR 和 SEQ ID NO:37、38 及 39 的轻链 CDR 的那些。

[0013] 示例性抗体和片段另外包括具有氨基酸序列为 SEQ ID NO:42 的轻链 CDR1、氨基酸序列为 SEQ ID NO:43 的轻链 CDR2 及氨基酸序列为 SEQ ID NO:44 的轻链 CDR3 的那些;及具有氨基酸序列为 SEQ ID NO:44 的轻链 CDR3 的那些。

[0014] 所述抗体和片段另外包括具有含 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7 或 SEQ ID NO:8 中所陈述的氨基酸序列的 VH 区的那些;及具有含 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11 或 SEQ ID NO:12 中所陈述的氨基酸序列的 VL 区的那些;以及具有含 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7 或 SEQ ID NO:8 中所陈述的氨基酸序列的 VH 区和含 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11 或 SEQ ID NO:12 中所陈述的氨基酸序列的 VL 区的抗体和片段。在一个特定实例中,所述抗体或片段具有 SEQ ID NO:7 的 VH 区和 SEQ ID NO:12 的 VL 区,或与这些序列具有至少或约 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高序列一致性。其另外包括具有含 SEQ ID NO:32 或 47 中所陈述的氨基酸序列的 VH 区的那些,及具有含 SEQ ID NO:33 中或 SEQ ID NO:41 中或 SEQ ID NO:48 中所陈述的氨基酸序列的 VL 区的那些,及其组合,以及与这些序列具有至少或约 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高序列一致性的序列。

[0015] 所述抗体和片段另外包括具有含 SEQ ID NO:1 中所陈述的氨基酸序列的 VH 区,和 / 或具有含 SEQ ID NO:2 中所陈述的氨基酸序列的 VL 区,和 / 或与这些序列具有至少或约 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高序列一致性的 VH 或 VL 区。

[0016] 在一些情形中,所述重链是由具有选自由 SEQ ID NO:19-22 组成的群组的核苷酸序列的多核苷酸编码,并且所述轻链是由具有选自由 SEQ ID NO:23-26 组成的群组的核苷酸序列的多核苷酸编码。

[0017] 在一些实施例中,所述抗体或其片段抑制(例如通过非竞争性抑制)MMP9 的酶活性。

[0018] 所述抗体和片段另外包括特异性结合到 MMP9 的指定表位的那些。在一些情形中,所述表位是由上述抗体中的任一种特异性结合的表位。在一个实例中,所述表位含有在 SEQ ID NO:27 的半胱氨酸开关活性袋外部的氨基酸残基(即,一或多个氨基酸残基)。在某些实例中,所述表位包括在 MMP9 的指定区域内的氨基酸残基(即,一或多个氨基酸残基),例如其中所述区域是 SEQ ID NO:27 的残基 104-202。在一些实例中,所述表位包括在 MMP9 的指定区域内的氨基酸残基(即,一或多个氨基酸残基),例如其中所述区域是 SEQ ID NO:27 的残基 104-119、残基 159-166 或残基 191-202。在一个实例中,所述表位包括在作为 SEQ ID NO:27 的残基 104-119 的 MMP9 区域内的氨基酸残基(即,一或多个氨基酸残基)、在作为 SEQ ID NO:27 的残基 159-166 的 MMP9 区域内的氨基酸残基,及在作为 SEQ ID NO:27 的残基 191-202 的 MMP9 区域内的氨基酸残基。在一些情形中,所述表位包括 SEQ ID NO:27 的 E111、D113、R162 或 I198。在一些情形中,其包括 SEQ ID NO:27 的 R162。在一些情形中,其包括 SEQ ID NO:27 的 E111、D113、R162 及 I198。

[0019] 在一些情形中,所述抗体或片段是人类或人类化的。

[0020] 在一些实例中,如在约 4℃、25℃、37℃或 42℃温度下所测量,所述抗体和片段以单克隆抗体、scFv、Fab 形式或其它抗体形式以等于或小于 100nM,任选地小于 10nM,任选地小于 1nM,任选地小于 0.5nM,任选地小于 0.1nM,任选地小于 0.01nM 或任选地小于 0.005nM,在某些实例中介于 0.1 与 0.2nM 之间,或介于 0.1 与 10pM 之间,例如介于 0.4 与 9pM 之间,例如介于 0.4 与 8.8pM 之间的解离常数 (K_d) 特异性结合到人类 MMP9。

[0021] 所提供的抗体和片段还是与上述抗体中任一种具有至少或约 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列一致性,或含有与上述抗体的对应部分具有至少或约 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列一致性的各种部分,例如具有与 SEQ ID NO:7 具此类一致性的 VH 区和与 SEQ ID NO:12 具此类一致性的 VL 区的那些。还提供了与上述抗体中的任一种竞争结合到 MMP9 的抗体,例如与具有含 SEQ ID NO:7 中所陈述的氨基酸序列的 VH 区和含 SEQ ID NO:12 中所陈述的氨基酸序列的 VL 区的抗体竞争结合到 MMP9 的抗体。

[0022] 还提供了编码所述抗体和片段的分离的核酸,例如包括上述抗体和片段中任一种的编码序列的核酸。所提供的核酸为含有一种核苷酸序列的核酸,所述核苷酸序列编码包含具有 SEQ ID NO:13-15 中所陈述的氨基酸序列的 CDR 的重链多肽和/或包含具有 SEQ ID NO:16-18 中所陈述的氨基酸序列的 CDR 的轻链多肽。在一个实例中,所述核苷酸序列编码所述重链多肽,所述重链多肽具有选自由 SEQ ID NO:1、3 及 5-8 组成的群组的氨基酸序列。在另一个实例中,所述核苷酸序列编码所述轻链多肽,所述轻链多肽具有选自由 SEQ ID NO:2、4 及 9-12 组成的群组的氨基酸序列。在一个实例中,所述核苷酸序列包括选自由 SEQ ID NO:19-26,例如 SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:26 或 SEQ ID NO:21 及 26 组成的群组的序列。还提供了含有这些核酸的载体和包括其的细胞,例如宿主细胞。

[0023] 还提供了包括所述抗体、片段、核酸、载体及细胞的医药组合物。在一些实例中,所述医药组合物另外包括载体或赋形剂,例如医药学上可接受或生物学上可接受的载剂或赋形剂。在一些情形中,所述医药组合物被用于所提供的治疗方法和应用中。

[0024] 还提供了所述抗体、片段、核酸、载体、细胞及组合物例如用于治疗学（例如抑制个体中的 MMP9）和诊断学（例如用于检测个体中的 MMP9）中的方法和用途。

[0025] 举例来说，提供了涉及 MMP9 的检测的诊断和预后方法，及用于这些方法中的药剂（例如上述抗 MMP9 抗体和其它 MMP9 结合蛋白中的任一种）。在一些情形中，所述检测方法检测来自个体的测试样品中的 MMP9 表达。这些方法可例如通过使测试样品与如本文所述的抗体或片段（例如上述抗体或片段中的任一种）接触并检测所述抗体或片段与所述样品中蛋白质的结合，由此检测 MMP9 的存在来进行。在一些情形中，首先获得或提供样品。在一些实例中，所述方法包括将所检测的 MMP9 的量或水平与对照水平或量相比较，例如通过将所述测试样品中检测到的结合的量与所述抗体或片段结合到对照样品的量相比较。在一些情形中，所述方法涉及简单地比较 MMP9 的测试水平与对照水平。在一些情形中，较高的测试水平（如与对照水平相比较）指示疾病或病况。

[0026] 在一些情形中，由所述方法检测到 MMP9 指示所述个体中疾病或病况的存在，例如 MMP9 相关性疾病或病况。在一些情形中，所述方法另外包括基于所述方法的结果，例如基于在所述样品中检测到的 MMP9 的水平，治疗所述个体，或调整（即，改变或中断）所述个体的治疗。生物样品为组织、从这些组织分离的细胞等。在一些情形中，所述方法是对例如血液、血浆、血清、全血、唾液、尿液或精液等液体样品进行的。组织样品包括例如福尔马林固定或冷冻的组织切片。

[0027] 还提供了例如使用非竞争性抑制 MMP9 的药剂抑制个体中的 MMP9 活性和 / 或治疗个体的疾病或病况的方法，及用于这些方法中的药剂（例如上述抗 MMP9 抗体和其它 MMP9 结合蛋白中的任一种）。所述方法一般是通过向个体授予例如有效量的 MMP9 结合蛋白，例如，如本文所提供的 MMP9 结合抗体或其片段来进行。所述抗体或片段一般特异性结合到并且非竞争性抑制 MMP9，例如，由此使个体中的 MMP9 活性得到抑制。在一些情形中，所述抗体或片段为结合在半胱氨酸开关活性袋外部的 MMP9，例如结合于上述表位之一中的抗体或片段。在一些情形中，所述抗体或片段实质上不结合到除 MMP9 外的 MMP 蛋白和 / 或实质上不结合到 MMP2。

[0028] 所述个体一般是患有疾病或病况，通常与 MMP9 表达和 / 或活性的增加或降低有关的疾病或病况者。在某些情形中，所述个体是患有与 MMP9 表达和 / 或活性增加有关的疾病或病况者。在其它情形中，所述个体是患有与 MMP9 表达和 / 或活性降低有关的疾病或病况者。

[0029] 还提供了 MMP9 多肽，包括突变体 MMP9 多肽，例如含有 SEQ ID NO:27 的残基 111-198 的多肽，及具有含 SEQ ID NO:27 的残基 111-198 并且在 SEQ ID NO:27 的残基 111、113、162 或 198 处具有氨基酸取代或在所有这些残基处具有氨基酸取代的氨基酸序列的多肽。

[0030] 还提供了上述抗体、核酸、载体、细胞及组合物中的任一种在上述治疗和诊断方法中的用途。

附图说明

[0031] 图 1 示出了小鼠单克隆抗 MMP9 抗体 (AB0041) 的重链可变区的氨基酸序列，以及重链的人类化变体 (VH1-VH4) 的氨基酸序列，其经比对以显示由人类化引起的构架氨基酸

序列的差异。CDR 是以斜体显示,并且人类化变体中与亲本小鼠单克隆抗体不同的氨基酸加下划线。

[0032] 图 2 示出了小鼠单克隆抗 MMP9 抗体 (AB0041) 的轻链可变区的氨基酸序列,以及这一轻链的人类化变体 (VH1-VH4) 的氨基酸序列,其经比对以显示由人类化引起的构架氨基酸序列的差异。CDR 是以斜体显示,并且人类化变体中与亲本小鼠单克隆抗体不同的氨基酸加下划线。

[0033] 图 3 示出了 MMP9 蛋白的示意图。

[0034] 图 4 示出了指定为 AB0041、M4 及 M12 的抗体的重链和轻链的氨基酸序列之间的比较。

具体实施方式

[0035] 除非另作指示,否则本发明的实践采用了细胞生物学、毒理学、分子生物学、生物化学、细胞培养、免疫学、肿瘤学、重组 DNA 领域及的相关领域中的标准方法和常规技术,其在所属领域的技术范围内。这些技术描述于文献中并由此是所属领域技术人员可用的。参见例如,艾伯特 B. (Alberts, B.) 等人,“细胞分子生物学 (Molecular Biology of the Cell),”第 5 版,加兰德科技出版社 (Garland Science), 纽约州纽约 (New York, NY), 2008 ;沃特 D. (Voet, D.) 等人,“基础生物化学:在分子水平上的生命 (Fundamentals of Biochemistry:Life at the Molecular Level),”第 3 版,约翰威立出版公司 (John Wiley&Sons), 新泽西州霍博肯 (Hoboken, NJ), 2008 ;萨姆布鲁克 J. (Sambrook, J.) 等人,“分子克隆实验指南 (Molecular Cloning:A Laboratory Manual),”第 3 版,冷泉港实验室出版社 (Cold Spring Harbor Laboratory Press), 2001 ;奥苏贝尔 F. (Ausubel, F.) 等人,“现代分子生物学实验技术 (Current Protocols in Molecular Biology),”约翰威立出版公司 (John Wiley&Sons), 纽约 (New York), 1987 及定期更新 ;弗雷谢尼 R. I. (Freshney, R. I.), “动物细胞培养:基本技术指南 (Culture of Animal Cells:A Manual of Basic Technique),”第 4 版,约翰威立出版公司,新泽西州桑莫塞县 (Somerset, NJ), 2000 ;及丛书“酶学方法 (Methods in Enzymology),”学术出版社 (Academic Press), 加利福尼亚州圣地亚哥 (San Diego, CA)。还参见例如,“现代免疫学实验技术 (Current Protocols in Immunology),” (R. 凯克 (R. Coico), 丛书编辑), 威立公司 (Wiley), 2010 年 8 月最新更新。

[0036] 某些 MMP 在肿瘤生长、转移、炎症、自体免疫性及血管疾病中起到作用。参见例如,胡 (Hu) 等人 (2007) 自然评述:药物发现 (Nature Reviews:Drug Discovery) 6:480-498。因此,在某些治疗环境中需要抑制一或多种特定 MMP 的活性。尽管在序列水平上共有显著同源性,但 MMP9 和 MMP2 两种明胶酶的表达和功能作用明显不同。MMP9 表达是由多种疾病相关性细胞因子和生长因子诱导的。另外,MMP9 基因敲除小鼠在多种疾病模型中得到保护,而 MMP2 的表达更具组成性并且 MMP2 基因消除动物倾向于具有极少保护作用。一些研究已显示, MMP2 基因敲除小鼠在激发模型中展现较差的疾病。对于一些疾病或病症,超过一种 MMP 的活性受到抑制。在临床研究中,针对超过一种 MMP 的抑制剂已引起非所需的不良作用,例如毒性或缺乏功效。经显示,某些 MMP (例如 MMP2) 的活性通常是正常组织动态平衡所需的和 / 或防止疾病。某些可用的 MMP 抑制剂已引起副作用。

[0037] 所提供的实施例有特异性抑制单一 MMP 或多种所选 MMP (例如 MMP9) 的催化活性并且不与某些其它 MMP 或任何其它 MMP 反应或抑制某些其它 MMP 或任何其它 MMP 的药剂, 包括治疗剂, 例如抗体和其抗原结合片段。所提供的实施例还有其用于各种疾病的治疗的方法和用途。

[0038] MMP9 结合蛋白

[0039] 本发明提供了结合到基质金属蛋白酶 -9 (MMP9) 蛋白 (MMP9 又称为明胶酶 -B), 例如人类 MMP9, 例如具有 SEQ ID NO:27 或 SEQ ID NO:28 中所陈述的氨基酸序列的人类 MMP9 的结合蛋白, 例如抗体和其片段 (例如抗原结合片段)。本发明的结合蛋白一般包含免疫球蛋白 (Ig) 重链 (或其功能片段) 和 Ig 轻链 (或其功能片段)。

[0040] 本发明还提供了特异性结合到 MMP9 并且不结合例如 MMP1、MMP2、MMP3、MMP7、MMP9、MMP10、MMP12 及 MMP13 等其它基质金属蛋白酶的 MMP9 结合蛋白。因此, 此类特异性 MMP9 结合蛋白一般不与非 MMP9 基质金属蛋白酶显著地或可检测地交叉反应。特异性结合 MMP9 的 MMP9 结合蛋白可用于需要或希望获得对 MMP9 的特异性调节 (例如, 抑制), 例如而不直接地影响其它基质金属蛋白酶的活性的应用中。

[0041] 在本发明的某些实施例中, 抗 MMP9 抗体为 MMP9 活性的一种抑制剂并且可为特异性 MMP9 抑制剂。在一个实施例中, 本文所揭示的 MMP9 结合蛋白可用于抑制 MMP9, 同时不影响其它基质金属蛋白酶。“MMP 抑制剂”或“MMP9 活性的抑制剂”可为直接或间接抑制 MMP9 活性, 包括 (但不限于) 酶加工、抑制 MMP9 对其底物的作用 (例如, 通过抑制底物结合、底物裂解等) 等的抗体或其抗原结合片段。

[0042] 本发明还提供了特异性结合到非小鼠 MMP9 (例如人类 MMP9、食蟹猴 MMP9 及大鼠 MMP9) 的 MMP9 结合蛋白。

[0043] 本发明还提供了充当非竞争性抑制剂的 MMP9 结合蛋白 (例如抗 MMP9 抗体和其功能片段)。“非竞争性抑制剂”是指结合于远离酶的底物结合位点的位点, 并因此可结合所述酶并且影响抑制活性, 而不管所述酶是否结合到其底物的一种抑制剂。非竞争性或变构抑制作用一般与底物缔合或浓度无关。此类非竞争性抑制剂可例如提供一定水平的抑制作用, 所述抑制作用可与底物浓度实质上无关。

[0044] 本发明的 MMP9 结合蛋白 (例如抗体和其功能片段) 包括结合 MMP9, 特别是人类 MMP9, 并且具有与本文所揭示的重链多肽具有至少约 80%、85%、90%、95% 或更高氨基酸序列一致性的重链多肽 (或其功能片段) 的结合蛋白。

[0045] 本发明的 MMP9 结合蛋白 (例如抗体和其功能片段) 包括结合 MMP9, 特别是人类 MMP9, 并且具有与本文所揭示的重链多肽具有至少约 80%、85%、90%、95% 或更高氨基酸序列一致性的轻链多肽 (或其功能片段) 的结合蛋白。

[0046] 本发明的 MMP9 结合蛋白 (例如抗体和其功能片段) 包括结合 MMP9, 特别是人类 MMP9, 并且具有如本文所揭示的重链多肽的互补决定区 (“CDR”) 的重链多肽 (或其功能片段) 以及轻链多肽 (或其功能片段) 的 CDR 的结合蛋白。

[0047] 如本文所使用, “同源性”或“一致性”或“相似性”在核酸和多肽的情形中是指分别基于氨基酸序列或核酸序列比对, 两个多肽或两个核酸分子之间的关系。同源性和一致性可各自通过比较出于比较的目的对准的每个序列的位置来测定。当所比较的序列中的相同位置被相同碱基或氨基酸占据时, 则这些分子在所述位置相同; 当相同位点被相同或相

似的氨基酸残基（例如空间性和 / 或电子性质类似）占据时，则这些分子可称为在所述位置同源（相似）。以同源性 / 相似性或一致性百分比表示是指在多个位置处所比较的序列共有的一致或相似氨基酸的数量的函数。在比较两个序列时，残基（氨基酸或核酸）的不存在或额外残基的存在也会降低一致性和同源性 / 相似性。

[0048] 如本文所使用，“一致性”意谓当将两个或两个以上序列对准以使序列匹配达到最大（即，考虑空位和插入）时，在这些序列中相应位置处一致核苷酸或氨基酸残基的百分比。序列一般在指定区域内，例如至少约 20、25、30、35、40、45、50、55、60、65 或更多个氨基酸或核苷酸长的区域内对准以达到最大对应，并且可长达参考氨基酸或核苷酸的全长。为进行序列比较，通常一个序列充当参考序列，以与测试序列相比较。当使用序列比较算法时，将测试序列和参考序列输入计算机程序中，必要时，指定子序列座标，并且指定序列算法的程序参数。随后序列比较算法基于指定的程序参数计算测试序列相对于参考序列的序列一致性百分比。

[0049] 适用于测定序列一致性百分比的算法的实例为 BLAST 和 BLAST 2.0 算法，其分别描述于奥兹楚尔 (Altschul) 等人 (1990) 分子生物学杂志 (J. Mol. Biol.) 215:403-410 及奥兹楚尔等人 (1977) 核酸研究 (Nucleic Acids Res.) 25:3389-3402 中。执行 BLAST 分析的软件可经由国家生物技术资讯中心 (National Center for Biotechnology Information; www.ncbi.nlm.nih.gov) 公开获得。其它示例性算法包括 ClustalW (海金思 D. (Higgins D.) 等人 (1994) 核酸研究 (Nucleic Acids Res) 22:4673-4680)，在 www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw/index.html 上可得。

[0050] 不一致的残基位置可因保守氨基酸取代而不同。保守氨基酸取代是指具有类似侧链的残基的可互换性。举例来说，一组具有脂肪族侧链的氨基酸为甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸；一组具有脂肪族羟基侧链的氨基酸为丝氨酸和苏氨酸；一组具有含酰胺的侧链的氨基酸为天冬酰胺和谷氨酰胺；一组具有芳香族侧链的氨基酸为苯丙氨酸、酪氨酸及色氨酸；一组具有碱性侧链的氨基酸为赖氨酸、精氨酸和组氨酸；并且一组具有含硫侧链的氨基酸为半胱氨酸和甲硫氨酸。

[0051] 两个核酸之间的序列一致性也可以关于两个分子彼此在严格条件下的杂交来描述。杂交条件是遵循所属领域中的标准方法选择（参见例如，萨姆布鲁克 (Sambrook) 等人，分子克隆实验指南，第二版，(1989) 纽约冷泉港 (Cold Spring Harbor, N.Y.))。严格杂交条件的一个实例是在 50℃ 或更高温度及 0.1×SSC (15mM 氯化钠 / 1.5mM 柠檬酸钠) 下杂交。严格杂交条件的另一个实例为在 42℃ 下于以下溶液中过夜培育：50% 甲酰胺、5×SSC (150mM NaCl、15mM 柠檬酸三钠)、50mM 磷酸钠 (pH7.6)、5×丹哈特氏溶液 (Denhardt's solution)、10% 硫酸葡聚糖及 20mg/ml 变性剪切的鲑鱼精 DNA；随后在约 65℃ 下于 0.1×SSC 中洗涤过滤器。严格杂交条件是至少与上述代表性条件同样严格的杂交条件，其中如果这些条件与上述特定严格条件至少约 80% 同样严格，通常至少 90% 同样严格，就认为其为至少同样严格的。

[0052] 因此，本发明提供了例如这样一些抗体或其抗原结合片段，其包含与本文所述的重链可变区的氨基酸序列（例如 SEQ ID NO:1 或 5-8）具有至少 80%、85%、90%、95% 或更高氨基酸序列一致性的重链可变区多肽，及与如本文所陈述的轻链多肽的氨基酸序列（例如 SEQ ID NO:2 或 9-12）具有至少 80%、85%、90%、95% 或更高氨基酸序列一致性的可变

轻链多肽。

[0053] 本发明的抗 MMP9 抗体的实例将于以下更详细地描述。

[0054] 抗体

[0055] MMP9 结合蛋白包括抗体和其功能片段,例如特异性结合到 MMP9 的那些。如本文所使用,术语“抗体”意谓包含特异性结合抗原表位的肽序列(例如可变区序列)的分离的或重组多肽结合剂。所述术语是以其最广泛意义使用并且特别涵盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体、人类抗体、人类化抗体、嵌合抗体、纳米抗体、双功能抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体),及抗体片段,包括(但不限于)Fv、scFv、Fab、Fab'、F(ab')₂及 Fab₂,只要其展现所需的生物活性即可。术语“人类抗体”是指除可能的非人类 CDR 区外,含有人类来源的序列的抗体,并且并非暗指存在免疫球蛋白分子的完整结构,只是指所述抗体在人体中具有极少免疫原性作用(即,不会诱导产生针对其自身的抗体)。

[0056] “抗体片段”包含全长抗体的一部分,例如全长抗体的抗原结合区或可变区。此类抗体片段也可以在本文中称为“功能片段”或“抗原结合片段”。抗体片段的实例包括 Fab、Fab'、F(ab')₂及 Fv 片段;双功能抗体;线性抗体(扎帕塔(Zapata)等人(1995)蛋白质工程(Protein Eng.)8(10):1057-1062);单链抗体分子;及由抗体片段形成的多特异性抗体。木瓜蛋白酶消化抗体产生两个相同的抗原结合片段,称为“Fab”片段,其各自具有单个抗原结合位点;及一个残留的“Fc”片段,其名称反映了易于结晶的能力。胃蛋白酶处理得到 F(ab')₂片段,其具有两个抗原组合位点并且仍能够交联抗原。

[0057] “Fv”是含有完整抗原识别和结合位点的最小抗体片段。这一区域是由紧密非共价缔合的一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域构成的二聚物组成。在这种构型中,每个可变结构域的三个互补决定区(CDR)相互作用以在 V_H-V_L二聚物的表面上界定抗原结合位点。六个 CDR 共同地赋予抗体抗原结合特异性。然而,每个单一可变结构域(或仅包含对于抗原具特异性的六个 CDR 中的三个的分离的 V_H或 V_L区)能够识别并结合抗原,不过亲和力和一般低于完整 Fv 片段。

[0058] “F_{ab}”片段除重链和轻链可变区外,还含有轻链恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH₁)。Fab 片段最初是在木瓜蛋白酶消化抗体之后观察到。Fab'片段与 Fab 片段的区别之处在于,F(ab')₂片段在重链 CH₁结构域的羧基末端处含有若干其它残基,包括抗体铰链区中的一或多个半胱氨酸。F(ab')₂片段含有在铰链区附近通过二硫键接合的两个 Fab 片段,并且最初是在胃蛋白酶消化抗体之后观察到。Fab'-SH 在本文中指定为 Fab'片段,其中恒定结构域的半胱氨酸残基带有游离硫醇基。抗体片段的其它化学偶合也是已知的。

[0059] 来自任何脊椎动物物种的抗体(免疫球蛋白)的“轻链”基于其恒定结构域的氨基酸序列可以被分配到两种明显相异的类型之一中,称为 κ 和 λ。取决于重链恒定结构域的氨基酸序列,可将免疫球蛋白分为五个主要类别:IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM,并且这些类别中的若干类别可进一步细分成子类(同型),例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 及 IgA2。

[0060] “单链 Fv”或“sFv”或“scFv”抗体片段包含抗体的 V_H和 V_L结构域,其中这些结构域存在于单一多肽链中。在一些实施例中,Fv 多肽进一步包含在 V_H与 V_L结构域之间的多肽连接子,所述连接子使 sFv 能够形成抗原结合所需的结构。关于 sFv 的评述,参见普鲁可敦(Pluckthun),单克隆抗体药理学(The Pharmacology of Monoclonal Antibodies),第 113 卷(罗森博格(Rosenburg)和摩尔(Moore)编)斯普林格-维拉格出

版社 (Springer-Verlag), 纽约 (New York), 第 269-315 页 (1994)。

[0061] 术语“双功能抗体”是指具有两个抗原结合位点的小抗体片段, 这些片段包含连接到同一多肽链 (V_H - V_L) 中的轻链可变结构域 (V_L) 的重链可变结构域 (V_H)。通过使用太短而无法使同一链中的两个结构域之间配对的连接子, 迫使这些结构域与另一条链的互补结构域配对, 由此产生两个抗原结合位点。双功能抗体另外描述于例如 EP404, 097 ; WO 93/11161 ; 及霍林格 (Hollinger) 等人 (1993) 美国国家科学院院刊 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA) 90:6444-6448 中。

[0062] “分离的”抗体为从自然环境的组分鉴别并且分离和 / 或回收的抗体。其自然环境的组分可包括酶、激素及其它蛋白质或非蛋白质溶质。在一些实施例中, 分离的抗体被纯化 (1) 达到如通过劳里法 (Lowry method) 所测定的超过 95 重量%, 例如超过 99 重量%的抗体; (2) 达到例如通过使用旋杯式顺序分析仪足以获得 N 末端或内部氨基酸序列的至少 15 个残基的程度; 或 (3) 达到通过在还原或非还原条件下进行凝胶电泳 (例如 SDS-PAGE) 并且通过考马斯蓝 (Coomassie blue) 或银染色检测的均质性。术语“分离的抗体”包括一种在重组细胞内原位的抗体, 因为所述抗体的自然环境的至少一种组分将不存在。在某些实施例中, 分离的抗体是通过至少一个纯化步骤制备。

[0063] 如本文所使用, “免疫反应性”是指对氨基酸残基的序列 (“结合位点”或“表位”) 具有特异性, 但又与其它肽 / 蛋白质交叉反应, 在将其调配用于授予人类使用的水平下无毒的抗体或其片段。“表位”是指抗原中能够与抗体或其抗原结合片段形成结合相互作用的部分。表位可为线性肽序列 (即, “连续的”) 或可由非邻接的氨基酸序列 (即, “构象”或“不连续”) 构成。术语“优先结合”意谓结合剂结合到结合位点的亲和力高于其结合不相关氨基酸序列的亲和力。

[0064] 抗 MMP9 抗体可关于重链和轻链的 CDR 进行描述。如本文所使用, 术语“CDR”或“互补决定区”打算意谓在重链多肽与轻链多肽的可变区内发现的非邻接抗原组合位点。这些特定区域已描述于卡贝特 (Kabat) 等人, 生物化学杂志 (J. Biol. Chem.) 252:6609-6616(1977); 卡贝特等人, 美国卫生和公众服务部 (U. S. Dept. of Health and Human Services), “免疫相关蛋白质的序列 (Sequences of proteins of immunological interest)” (1991); 查赛 (Chothia) 等人, 分子生物学杂志 (J. Mol. Biol.) 196:901-917(1987); 及麦克卡伦 (MacCallum) 等人, 分子生物学杂志, 262:732-745(1996) 中, 其中当彼此相比较时, 这些定义包括氨基酸残基的重叠或亚组。尽管如此, 用以指抗体或移植抗体或其变体的 CDR 的任一定义的应用打算在如本文所定义和使用的术语的范围内。涵盖如以上引用的每一参考文献所定义的 CDR 的氨基酸残基陈述于下表 1 中供比较。

[0065] 表 1: CDR 定义

[0066]

	卡贝特 ¹	查赛 ²	麦克卡伦 ³
V _H CDR1	31-35	26-32	30-35
V _H CDR2	50-65	53-55	47-58
V _H CDR3	95-102	96-101	93-101
V _L CDR1	24-34	26-32	30-36
V _L CDR2	50-56	50-52	46-55
V _L CDR3	89-97	91-96	89-96

[0067] ¹ 残基编号遵循卡贝特等人（同上文）的命名法

[0068] ² 残基编号遵循查赛等人（同上文）的命名法

[0069] ³ 残基编号遵循麦克卡伦等人（同上文）的命名法

[0070] 如本文所使用，当提及抗体可变区时使用的术语“构架”打算意谓在抗体可变区内的除 CDR 区外的所有氨基酸残基。可变区构架一般是长度在约 100-120 个氨基酸之间的不连续氨基酸序列，但打算仅提到除 CDR 外的氨基酸。如本文所使用，术语“构架区”打算意谓所述构架被 CDR 分开的每个结构域。

[0071] 在一些实施例中，抗体是人类化抗体或人类抗体。人类化抗体包括来自受体互补决定区（CDR）的残基被来自非人类物种（供体抗体；例如小鼠、大鼠或兔）的 CDR 的残基置换的人类免疫球蛋白（受体抗体），其具有所需特异性、亲和力和能力。因此，非人类（例如，鼠类）抗体的人类化形式为含有源自于非人类免疫球蛋白的最小序列的嵌合免疫球蛋白。非人类序列主要位于可变区中，特别是互补决定区（CDR）中。在一些实施例中，人类免疫球蛋白的 Fv 构架残基被相应非人类残基置换。人类化抗体也可包含在受体抗体和引入的 CDR 或构架序列中都未发现的残基。在某些实施例中，人类化抗体包含实质上所有的至少一个并且通常两个可变结构域，其中所有或实质上所有的 CDR 都与非人类免疫球蛋白的 CDR 对应并且所有或实质上所有的构架区都为人类免疫球蛋白共同序列的构架区。出于本发明的目的，人类化抗体也可包括免疫球蛋白片段，例如 Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂ 或抗体的其它抗原结合子序列。

[0072] 人类化抗体还可包含免疫球蛋白恒定区（Fc）的至少一部分，通常为人类免疫球蛋白恒定区的至少一部分。例如，参见琼斯（Jones）等人（1986）自然（Nature）321:522-525；瑞奇曼（Riechmann）等人（1988）自然 332:323-329；及普雷斯塔（Presta）（1992）结构生物学新观点（Curr. Op. Struct. Biol.）2:593-596。

[0073] 用于使非人类抗体人类化的方法是所属领域中已知的。一般来说，人类化抗体在其中引入了一或多个来自非人类来源的氨基酸残基。这些非人类氨基酸残基通常称为“输入”或“供体”残基，这些残基通常是从“输入”或“供体”可变结构域获得。举例来说，人类化可基本上根据维特（Winter）和其同事的方法，通过用啮齿动物 CDR 或 CDR 序列取代人类抗体的相应序列来进行。例如，参见琼斯等人，同上文；瑞奇曼等人，同上文；维霍恩（Verhoeyen）等人（1988）科学（Science）239:1534-1536。因此，此类“人类化”抗体包括嵌合抗体（美国专利第 4,816,567 号），其中实质上少于完整人类可变结构域被来自非人类物种的相应序列取代。在某些实施例中，人类化抗体是一些 CDR 残基和任选地一些构架区残基被来自啮齿动物抗体（例如鼠类单克隆抗体）中类似位点的残基取代的人类抗体。

[0074] 人类抗体也可例如通过使用噬菌体展示文库来产生。霍格波姆（Hoogenboom）等人（1991）分子生物学杂志（J. Mol. Biol.），227:381；马克斯（Marks）等人（1991）分子生物

学杂志, 222:581。用于制备人类单克隆抗体的其它方法描述于科勒 (Cole) 等人 (1985)“单克隆抗体和癌症疗法 (Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy),”艾伦 R. 利斯 (Alan R. Liss), 第 77 页; 及博纳 (Boerner) 等人 (1991) 免疫学杂志 (J. Immunol.) 147:86-95 中。

[0075] 还可以通过将人类免疫球蛋白基因座引入转基因动物 (例如小鼠) 中来制备人类抗体, 在这些转基因动物中, 已经使内源免疫球蛋白基因部分地或完全地失活。在免疫激发之后, 观察到人类抗体的产生, 其在所有方面都与在人类所见非常类似, 包括基因重排、组装及抗体谱系。这一方法描述于例如美国专利第 5,545,807 号、第 5,545,806 号、第 5,569,825 号、第 5,625,126 号、第 5,633,425 号、第 5,661,016 号, 以及以下科技出版物中: 马克斯 (Marks) 等人 (1992) 生物技术 (Bio/Technology) 10:779-783 (1992); 朗伯格 (Lonberg) 等人 (1994) 自然, 368:856-859; 莫里森 (Morrison) (1994) 自然, 368:812-813; 费西沃德 (Fishwald) 等人 (1996) 自然 - 生物技术 (Nature Biotechnology) 14:845-851; 纽伯格 (Neuberger) (1996) 自然 - 生物技术, 14:826; 及朗伯格等人 (1995) 国际免疫学评论 (Intern. Rev. Immunol.) 13:65-93。

[0076] 抗体可使用如以上所描述的已知的选择和 / 或诱变方法进行亲和力成熟。在一些实施例中, 亲和力成熟的抗体的亲和力是用于制备所述成熟抗体的起始抗体 (一般为鼠类、兔、鸡、人类化或人类抗体) 的亲力的五倍或更高、十倍或更高、二十倍或更高, 或三十倍或更高。

[0077] 抗体还可以为双特异性抗体。双特异性抗体是单克隆的, 并且可为对至少两种不同抗原具有结合特异性的人类或人类化抗体。在本情形中, 所述两种不同结合特异性可针对两种不同的 MMP, 或针对单一 MMP (例如 MMP9) 上的两个不同表位。

[0078] 如本文所揭示的抗体还可以是免疫偶联物。所述免疫偶联物包含与第二分子 (例如报导子) 偶联的抗体 (例如针对 MMP9 的抗体)。免疫偶联物还可包含与细胞毒性剂 (例如化学治疗剂)、毒素 (例如, 细菌、真菌、植物或动物起源的酶活性毒素, 或其片段) 或放射性同位素 (即, 放射性偶联物) 偶联的抗体。

[0079] “特异性结合到”特定多肽或表位, 或对特定多肽或表位“具特异性”的抗体是指所述抗体选择性结合到目标抗原或表位; 这些术语及用于确定特异性结合的方法是所属领域中众所周知的。如果抗体结合特定目标抗原或表位的亲和力、亲合力、容易性和 / 或持续时间高于其与其它物质的结合, 那么其展现对所述目标抗原或表位的“特异性结合”。在一些实施例中, 特异性结合到多肽或表位的抗体是结合到所述特定多肽或表位, 而不实质上结合到任何其它多肽或多肽表位的抗体。

[0080] 在一些实施例中, 如在约 4°C、25°C、37°C 或 42°C 温度下所测量, 所提供的抗体以单克隆抗体、scFv、Fab 形式或其它抗体形式以等于或小于 100nM, 任选地小于 10nM, 任选地小于 1nM, 任选地小于 0.5nM, 任选地小于 0.1nM, 任选地小于 0.01nM 或任选地小于 0.005nM, 在某些实例中介于 0.1 与 0.2nM 之间, 或介于 0.1 与 10pM 之间, 例如介于 0.4 与 9pM 之间, 例如介于 0.4 与 8.8pM 之间的解离常数 (K_d) 特异性结合到人类 MMP9。

[0081] 在某些实施例中, 本发明的抗体结合到 MMP9 中的一或多个加工位点 (例如, 蛋白水解裂解位点), 由此有效地阻断酶原或前酶原加工成催化活性酶, 并且因此降低 MMP9 的蛋白水解活性。

[0082] 在某些实施例中, 根据本发明的抗体结合到 MMP9 的亲和力是其对另一 MMP 的结合

亲和力的至少 2 倍、至少 5 倍、至少 10 倍、至少 25 倍、至少 50 倍、至少 100 倍、至少 500 倍或至少 1000 倍。结合亲和力可通过所属领域中已知的任何方法测量并且可以例如缔合速率、解离速率、解离常数 (K_d)、平衡常数 (K_{eq}) 或所属领域中的任何术语表示。

[0083] 在某些实施例中,根据本发明的抗体是抑制 MMP9 的酶活性(即,催化活性)的抗体,例如 MMP9 催化活性的非竞争性抑制剂。在某些实施例中,根据本发明的抗体在 MMP9 的催化结构域内结合。在其它实施例中,根据本发明的抗体在 MMP9 的催化结构域外部结合。

[0084] 还提供了与本文描述的一或多种抗 MMP9 抗体或其抗原结合片段竞争结合到 MMP9 的抗体或其抗原结合片段。因此,本发明涵盖与例如具有 SEQ ID NO:1 或 5-8 中任一种的重链多肽、SEQ ID NO:2 或 9-12 的轻链多肽或其组合的抗体竞争结合的抗 MMP9 抗体及其功能片段。在一个实施例中,抗 MMP9 抗体或其功能片段与本文描述为 AB0041 的抗体竞争结合到人类 MMP9。

[0085] 表位结合

[0086] 还提供了结合到与任一种或多种本文所述的抗体相同的表位(例如 MMP9 表位)的抗体和其片段。还提供了特异性结合到 MMP9 表位的抗体和片段,其中所述表位包括在 MMP9 的一个特定区域或 MMP9 的多个区域内的氨基酸残基。这些区域可包括例如 MMP9 的结构环和/或其它结构性结构域,例如经显示对结合到本文所述的示例性抗体很重要的那些。通常,这些区域是根据氨基酸残基在全长 MMP9 序列(例如 SEQ ID NO:27)上的位置界定。在一些实例中,所述表位是在 SEQ ID NO:27 的半胱氨酸开关活性袋的外部。在一些实例中,所述表位含有在 SEQ ID NO:27 的残基 104-202 的区域内的氨基酸残基(即,一或多个氨基酸残基)。在一个实例中,所述表位含有在 SEQ ID NO:27 的残基 104-119、残基 159-166 或残基 191-202 的区域内的氨基酸残基(即,一或多个氨基酸残基)。在一些方面中,所述表位包括在作为 SEQ ID NO:27 的残基 104-119 的 MMP9 区域内的氨基酸残基(即,一或多个氨基酸残基)、在作为 SEQ ID NO:27 的残基 159-166 的 MMP9 区域内的氨基酸残基,及在作为 SEQ ID NO:27 的残基 191-202 的 MMP9 区域内的氨基酸残基。在一些情形中,所述表位包括 SEQ ID NO:27 的 E111、D113、R162 或 I198。在一些情形中,其包括 SEQ ID NO:27 的 R162。在一些情形中,其包括 SEQ ID NO:27 的 E111、D113、R162 及 I198。

[0087] MMP9 序列

[0088] 人类 MMP9 蛋白的氨基酸序列如下:

[0089]

```

MSLNQPLVLV LLVLGCCFAA PRQRQSTLVL FPGDLRTNLT DRQLAEELY 50
RYGYTRVAEM RGEKSLGPA LLLLQKQLSL PETGELDSAT LKAMRTPRCG 100
VPDLGRFQTF EGOLKWHHHN ITYWIQNYSE DLPRVIDDA FARAFALWSA 150
VTPLTFFTRVY SRDADIVIQF GVAEHGDGYP FDGKDGLLAH AFPPGPGIQG 200
DAHFDDELW SLGKGVVPT RFGNADGAAC HFPFIFEGRS YSACTDGRS 250
DGLPWCSTTA NYDTDDRFGF CPSERLYTRD GNADGKPCQF PFIFQGQSYS 300
ACTTDGRSDG YRWCAITANY DRDKLFGFCP TRADSTVMGG NSAGELCVFP 350
FTFLGKEYST CTSEGRGDGR LWCATTSNFD SDEKKGFCPD QGYSLFLVAA 400
HEFGHALGLD HSSVPEALMY FMYRFTGEPF LHKDDVNGIR HLYGPRPEPE 450
PRPPTTTTPQ PTAPPTVCPT GPPTVHPSER PTAGPTGPPS AGPTGPPTAG 500
PSTATTVPLS PVDDACNVNI FDAIAEIGNQ LYLKDGKYW RFSEGRGSRP 550
QGPFLLADKW PALPRKLDV FEEPLSKLFF FFSGRQVWVY TGASVLGPRR 600
LDKLGGLGADV AQVTGALRSG RGMLLFSGR RLWRFDVKAQ MVDPRSASEV 650
DRMEFGVPLD THDVFQYREK AYFCQDRFYW RVSSRSELNQ VDQVGVTYD 700
ILQCPED (SEQ ID NO:27)

```

[0090] 蛋白质结构域示意性显示于图 3 中并且指示于下：

[0091]

<u>氨基酸编号</u>	<u>特征</u>
1-19	信号肽
38-98	肽聚糖结合结构域
R98/C99	半胱氨酸开关活性袋
112-445	Zn 依赖性金属蛋白酶结构域
223-271	纤连蛋白 II 型结构域(明胶结合结构域)
281-329	纤连蛋白 II 型结构域(明胶结合结构域)
340-388	纤连蛋白 II 型结构域(明胶结合结构域)
400-411	Zn 结合区
521-565	血红素结合蛋白样结构域
567-608	血红素结合蛋白样结构域
613-659	血红素结合蛋白样结构域
661-704	血红素结合蛋白样结构域

[0092] 成熟全长人类 MMP9 的氨基酸序列（其为不含信号肽的具有 SEQ ID NO:27 的前肽的氨基酸序列）为：

[0093]

```

APRQRQSTLVL FPGDLRTNLT DRQLAEEYLY RYGYTRVAEM RGESKSLGPA
LLLLQKQLSL PETGELDSAT LKAMRTPRCG VPDLGRFQTF EGD LKWHHHN
ITYWIQNYSE DLPRAVIDDA FARAFALWSA VTPLTFTRVY SRDADIVIQF
GVAEHGDGYF FDGKDGLLAH AFPPGPGIQG DAHFDDDELW SLGKGVVVP
RFGNADGAAC HPPFIFEGRS YSACTTDGRS DGLPWCSTTA NYDTDDRFGF
CFSERLYTRD GNADGKPCQF PFIFQGSYS ACTTDGRSDG YRWCAITANY
DRDKLFGFCP TRADSTVMGG NSAGELCVFP FTFLGKEYST CTSEGRGDGR
LWCATTSNED SDKKWGFCDP QGYSLFLVAA HEFGHALGLD HSSVPEALMY
PMYRFTEGPF LHKDDVNGIR HLYGPRPEPE PRPPTTTTPQ PTAPPTVCPT
GPPTVHP3ER PTAGPTGPPS AGPTGPPTAG PSTATTVPLS PVDDACNVNI
FDAIAEIGNQ LYLFDKGKYW RFSEGRGSRP QGPFLIADKW PALPRKLD3V
FEEPLSKKLF FFSGRQVWVY TGASVLGPRR LDKLGLGADV AQVTGALRSG
RGKMLLF3GR RLWREDVKAQ MVDPRSASEV DRMFPGVPLD THDVFQYREK
AYFCQDRFYW RVSSRSELNQ VDQVGYVTYD ILQCPED (SEQ ID NO:28)

```

[0094] 信号肽的氨基酸序列为 MSLWQPLVLV LLVLGCCFA (SEQ ID NO:29)。

[0095] 还提供了 MMP9 多肽,包括突变体 MMP9 多肽。这些肽可用于例如产生并选择如本文所提供的抗体和片段。示例性多肽包括具有含 SEQ ID NO:27 的残基 104-202 的氨基酸序列的多肽,及具有 SEQ ID NO:27 的氨基酸序列并且在 SEQ ID NO:27 的残基 111、113、162 或 198 处具有氨基酸取代或在所有这些残基处具有氨基酸取代的多肽。其它示例性多肽包括具有含 SEQ ID NO:27 的残基 111-198 的氨基酸序列的多肽,及具有含 SEQ ID NO:27 的残基 111-198 的氨基酸序列并且在 SEQ ID NO:27 的残基 111、113、162 或 198 处具有氨基酸取代或在所有这些残基处具有氨基酸取代的多肽。这些多肽可用于例如选择结合到含这

些残基的表位和 / 或 MMP9 的这些残基对于结合很重要的抗体,例如本文所述的抗体。

[0096] 本发明涵盖结合 MMP9 (例如人类 MMP9) 的任何部分的 MMP9 结合蛋白,其中相对于其它 MMP,优先结合 MMP9 的 MMP9 结合蛋白是特别值得关注的。

[0097] 抗 MMP9 抗体和其功能片段可根据所属领域中众所周知的方法产生。示例性抗 MMP9 抗体提供于下。

[0098] 小鼠单克隆抗 MMP9 抗体

[0099] 针对人类 MMP9 的小鼠单克隆抗体是如实例 1 中所述获得。这一抗体含有小鼠 IgG2b 重链和小鼠 κ 轻链,并且称为 AB0041。

[0100] AB0041 重链的氨基酸序列如下:

[0101] MAVLVLFCLCLVAFPSCVLSQVQLKESGPLVAPSQSLSTCTVSGFSLLSYGVHWVRQPPGKGLEWLG VIWTGGTTNYSALMSRLSISKDDSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCARYYYGMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYP LAPGCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPESVTVTWNSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSTWPSQTVTCSVA HPASSTTVDDKKLEPSGPISTINPCPPCKECKCPAPNLEGGPSVFIFFPNIKDVLMI SLTPKVT CVVDVSEDDP DVRISWVFVNNEVHTAQTQTHREDYNSTIRVVSALPIQH QDWM SGEKFKCKVNNKDLPSPIERTISKIKGLVRAP QVYILPPPAEQLSRKDVSLTCLVVGFNPGDISVEWTSNGHTEENYKDTAPVLDSDGSYFIYSKLDIKTSKWEKTD SFSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPGK (SEQ ID NO:1)。

[0102] 信号序列加下划线,并且 IgG2b 恒定区的序列以斜体表示。

[0103] AB0041 轻链的氨基酸序列如下:

[0104] MESQIQVFVFVFLWLSGVDGDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVRNTVAWYQQKTGQSPKLLIY SSSYRNTGVPDRFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAVYFCQQHYITPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKIDNVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCEATHKTST PIVKSFNRNEC (SEQ ID NO:2)。

[0105] 信号序列加下划线,并且 κ 恒定区的序列以斜体表示。

[0106] 以下氨基酸序列包含 AB0041 的 IgG2b 重链可变区的构架区和互补决定区 (CDR) (其中 CDR 加下划线):

[0107] QVQLKESGPLVAPSQSLSTCTVSGFSLLSYGVHWVRQPPGKGLEWLG VIWTGGTTNYSALMSRLSISKDDSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCARYYYGMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO:3)。

[0108] 以下氨基酸序列包含 AB0041 的 κ 轻链可变区的构架区和互补决定区 (CDR) (其中 CDR 加下划线):

[0109] DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVRNTVAWYQQKTGQSPKLLIYSSSYRNTGVPDRFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAVYFCQQHYITPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:4)。

[0110] 其它示例性小鼠抗人类 MMP9 抗体 (例如 M4 和 M12) 描述于实例 1B 中。示例性抗小鼠 MMP9 抗体 (AB0046) 描述于实例 1C 中。其它示例性小鼠抗人类 MMP9 抗体包括了包含具有 SEQ ID NO:3 的序列的可变区及与 IgG2b 恒定区序列具有 95% 相似性的恒定区的抗体。此外,示例性小鼠抗人类 MMP9 抗体包括了包含具有 SEQ ID NO:4 的序列的可变区及与 IgG2b 恒定区序列具有 95% 相似性的恒定区的抗体。其它示例性小鼠抗人类 MMP9 抗体包括了包含具有 SEQ ID NO:3 和 4 的序列的可变区及与 IgG2b 恒定区序列具有 95% 相似性的恒定区的抗体。这些抗小鼠抗体适用于测试并评估 MMP9 抑制方法。

[0111] 重链变体

[0112] 通过改变 AB0041 重链和轻链可变区中的构架区序列来单独地修饰所述重链和轻链可变区的氨基酸序列。这些序列改变的影响是使人类 T 细胞表位的抗体耗尽,从而减少或消除其在人体中的免疫原性。

[0113] 在含有使铰链结构域稳定的 S241P 氨基酸改变的人类 IgG4 重链背景下构建四个重链变体(安格(Angal)等人(1993)分子免疫学(Molec. Immunol.) 30 :105-108),并且称为 VH1、VH2、VH3 及 VH4。其构架区和 CDR 的氨基酸序列如下:

[0114] VH1

[0115] QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLLSYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWTGGTTNYSALMSRLTI SKDDSKSTVYVKMNSLKTEDTAIYYCARYYYGMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO :5)

[0116] VH2

[0117] QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLLSYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWTGGTTNYSALMSRLTI SKDDSKNTVYVKMNSLKTEDTAIYYCARYYYGMDYWGQGTSLVTVSS (SEQ ID NO :6)

[0118] VH3

[0119] QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLLSYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWTGGTTNYSALMSRFTI SKDDSKNTVYVKMNSLKTEDTAIYYCARYYYGMDYWGQGTSLVTVSS (SEQ ID NO :7)

[0120] VH4

[0121] QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLLSYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWTGGTTNYSALMSRFTI SKDDSKNTLYVKMNSLKTEDTAIYYCARYYYGMDYWGQGTSLVTVSS (SEQ ID NO :8)

[0122] 图 1 示出了人类化重链可变区的氨基酸序列的比对并且指示这四个变体的构架区中的氨基酸序列存在差异。

[0123] 轻链变体

[0124] 在人类 κ 链背景下构建四个轻链变体,并且称为 Vk1、Vk2、Vk3 及 Vk4。其构架区和 CDR 的氨基酸序列如下:

[0125] Vk1

[0126] DIVMTQSPSFLSASVGDRTITCKASQDVRNTVAWYQQKTGKAPKLLIYSSSYRNTGVPDRFTGSGSGT DFTLTISLQAEDVAVYFCQQHYITPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO :9)

[0127] Vk2

[0128] DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVRNTVAWYQQKPGKAPKLLIYSSSYRNTGVPDRFTGSGSGT DFTLTISLQAEDVAVYFCQQHYITPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO :10)

[0129] Vk3

[0130] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVRNTVAWYQQKPGKAPKLLIYSSSYRNTGVPDRFSGSGSGT DFTLTISLQAEDVAVYFCQQHYITPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO :11)

[0131] Vk4

[0132] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVRNTVAWYQQKPGKAPKLLIYSSSYRNTGVPDRFSGSGSGT DFTLTISLQAEDVAVYYCQQHYITPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO :12)

[0133] 图 2 示出了人类化轻链可变区的氨基酸序列的比对并且指示这四个变体的构架区中的氨基酸序列存在差异。

[0134] 人类化重链和轻链以所有可能的逐对组合方式组合以产生多种功能性人类化抗 MMP9 抗体。举例来说,提供了含具有 SEQ ID NO :3、5、6、7 及 8 中的任一个中所陈述的氨基

酸序列的重链可变 (VH) 区的抗体;含具有 SEQ ID NO:4、9、10、11 及 12 中的任一个中所陈述的氨基酸序列的轻链可变 (VL) 区的抗体;及含具有 SEQ ID NO:3、5、6、7 及 8 中的任一个中所陈述的氨基酸序列的重链可变 (VH) 区及具有 SEQ ID NO:4、9、10、11 及 12 中的任一个中所陈述的氨基酸序列的轻链可变 (VL) 区的抗体,以及与这些抗体竞争结合到 MMP9 的抗体和与这些抗体具有至少或约 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列一致性的抗体。在一个实例中,所述抗体具有 VH 区,所述 VH 区的氨基酸序列与 SEQ ID NO:7 具有至少或约 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列一致性;及 VL 区,所述 VL 区的氨基酸序列与 SEQ ID NO:12 具有至少或约 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列一致性;或具有 SEQ ID NO:7 的 VH 区和 SEQ ID NO:12 的 VL 区。

[0135] 还提供了与本文所揭示的重链可变区序列具有 75%或更高,80%或更高,90%或更高,95%或更高,或 99%或更高同源性的其它重链可变区氨基酸序列。此外,还提供了与本文所揭示的轻链可变区序列具有 75%或更高,80%或更高,90%或更高,95%或更高,或 99%或更高同源性的其它轻链可变区氨基酸序列。

[0136] 还提供了与本文所揭示的重链可变区序列具有 75%或更高,80%或更高,90%或更高,95%或更高,或 99%或更高序列一致性的其它重链可变区氨基酸序列。此外,还提供了与本文所揭示的轻链可变区序列具有 75%或更高,80%或更高,90%或更高,95%或更高,或 99%或更高序列一致性的其它轻链可变区氨基酸序列。

[0137] 互补决定区 (CDR)

[0138] 在一些实施例中,如本文所揭示的示例性提供的抗 MMP9 抗体的重链 CDR 具有以下氨基酸序列:

[0139] CDR1:GFSLLSYGVH(SEQ ID NO:13)

[0140] CDR2:VIWTGGTTNYSALMS(SEQ ID NO:14)

[0141] CDR3:YYYGMDY(SEQ ID NO:15)。

[0142] 因此,所提供的抗 MMP9 抗体为具有含如 SEQ ID NO:13 中所陈述的氨基酸序列的重链 CDR1 区的抗体、具有含如 SEQ ID NO:14 中所陈述的氨基酸序列的重链 CDR2 区的抗体,及具有含如 SEQ ID NO:15 中所陈述的氨基酸序列的重链 CDR3 区的抗体,以及与这些抗体竞争结合或结合到 MMP9 上与这些抗体相同的表位的抗体。在一些情形中,所述抗体含有具 SEQ ID NO:13、14 及 15 中所陈述的序列的 VH CDR。

[0143] 在一些实施例中,如本文所揭示的示例性抗 MMP9 抗体的轻链 CDR 具有以下氨基酸序列:

[0144] CDR1:KASQDVRNTVA(SEQ ID NO:16)

[0145] CDR2:SSSYRNT(SEQ ID NO:17)

[0146] CDR3:QQHYITPYT(SEQ ID NO:18)。

[0147] 因此,所提供的抗 MMP9 抗体为具有含如 SEQ ID NO:16 中所陈述的氨基酸序列的轻链 CDR1 区的抗体、具有含如 SEQ ID NO:17 中所陈述的氨基酸序列的轻链 CDR2 区的抗体,及具有含如 SEQ ID NO:18 中所陈述的氨基酸序列的轻链 CDR3 区的抗体,以及与这些抗体竞争结合或结合到 MMP9 上与这些抗体相同的表位的抗体。在一些情形中,所述抗体含有具

SEQ ID NO:16、17 及 18 中所陈述的序列的 VL CDR。

[0148] 编码抗 MMP9 抗体的核酸

[0149] 本发明提供了编码抗 MMP9 抗体和其功能片段的核酸。因此,本发明提供了一种编码如本文所述的抗体或抗原结合片段的分离的多核苷酸(核酸)、含有这些多核苷酸的载体及用于将这些多核苷酸转录并翻译成多肽的宿主细胞和表达系统。

[0150] 本发明还涵盖呈质粒、载体、转录或表达盒形式的构建体,其包含至少一种如上述的多核苷酸。

[0151] 本发明还提供一种包含一或多种如上述的构建体的重组宿主细胞,以及制造本文所述的抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包含在重组宿主细胞中表达编码重链多肽和轻链多肽的核酸(在相同或不同宿主细胞中并且来自相同或不同构建体)。表达可以通过在适当条件下培养含有所述核酸的重组宿主细胞来实现。在通过表达进行制造之后,可使用任何适合的技术分离和/或纯化抗体或抗原结合片段,随后在适当时使用。

[0152] 用于在多种不同宿主细胞中克隆并表达多肽的系统是众所周知的。适合宿主细胞包括细菌、哺乳动物细胞、酵母及杆状病毒系统。所属领域中可用于表达异源多肽的哺乳动物细胞系包括中国仓鼠卵巢细胞、海拉细胞(HeLa cell)、幼仓鼠肾细胞、NS0 小鼠黑素瘤细胞及许多其它细胞。常用的细菌宿主是大肠杆菌。

[0153] 所选择或构建的适合载体可含有适当调控序列,包括可操作地连接的启动子序列、终止子序列、聚腺苷酸化序列、增强子序列、标记物基因和/或(适当时)其它序列。适当时,载体可为质粒、病毒,例如噬菌体或噬菌粒。有关进一步详情,参见例如,分子克隆实验指南:第2版,萨姆布鲁克等人,1989,冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press)。许多已知的用于操作核酸,例如制备核酸构建体、诱变、测序、将 DNA 引入细胞中和基因表达,以及蛋白质分析的技术和方案详细描述于精编分子生物学实验指南(Short Protocols in Molecular Biology),第二版,奥苏贝尔等人编,约翰威立出版公司(John Wiley&Sons),1992 中。萨姆布鲁克等人和奥苏贝尔等人的揭示内容以全文引用的方式并入本文中。

[0154] 编码所关注多肽的核酸被整合到宿主细胞基因组中或可维持稳定或短暂游离体元件形式。

[0155] 多种表达控制序列(即,控制可操作地连接到的 DNA 序列的表达的序列)中的任一种都可用于这些载体中以表达 DNA 序列。举例来说,编码所关注多肽的核酸可以可操作地连接到启动子,并且提供于表达构建体中以用于制造重组 MMP9 蛋白或其部分的方法中。

[0156] 所属领域技术人员应了解,编码本文所揭示的抗体链的核酸可使用分子生物学中的标准知识和程序合成。

[0157] 编码本文所揭示的重链和轻链氨基酸序列的核苷酸序列的实例如下:

[0158]

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

[0159]

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

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

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

Vk1: GACATCGTGA TGACCCAGTC CCCCAGCTTC CTGTCCGCT
CCGTGGGCGA CAGAGTGACC ATCACATGCA AGGCCTCTCA GGACGTGCGG
AACACCGTGG CCTGGTATCA GCAGAAAACC GGCAAGGCC CCAAGCTGCT
GATCTACTCC TCCTCCTACC GGAACACCGG CGTGCCCGAC CGGTTTACCG
GCTCTGGCTC CGGCACCGAC TTTACCTGA CCATCAGCTC CCTGCAGGCC
GAGGACGTGG CCGTGTACTT CTGCCAGCAG CACTACATCA CCCCTACAC
CTTCGGCGGA GGCACCAAGG TGGAAATAAA A (SEQ ID NO:23)

[0160]

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

Vk3: GACATCCAGA TGACCCAGTC CCCCTCCAGC CTGTCCGCCT
CTGTGGGCGA CAGAGTGACC ATCACATGCA AGGCCTCCCA GGACGTGCGG
AACACCGTGG CCTGGTATCA GCAGAAGCCC GGCAAGGCC CCAAGCTGCT
GATCTACTCC TCCTCCTACC GGAACACCGG CGTGCCCGAC CGGTTCTCTG
GCTCTGGAAG CGGCACCGAC TTTACCCTGA CCATCAGCTC CCTGCAGGCC
GAGGACGTGG CCGTGTACTT CTGCCAGCAG CACTACATCA CCCCCTACAC
CTTCGGCGGA GGCACCAAGG TGGAAATAAA A (SEQ ID NO:25)

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

[0161] 由于抗体结构,包括可变区中的 CDR 和构架区的并置、构架区的结构以及重链和轻链恒定区的结构是所属领域中众所周知的;故获得编码抗 MMP-9 抗体的相关核酸正在所属领域的技能范围内。因此,还提供了包含与本文所揭示的核苷酸序列中的任一种具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98% 及至少 99% 同源性的核酸序列的多核苷酸。因此,还提供了包含与本文所揭示的核苷酸序列中的任一种具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98% 及至少 99% 一致性的核酸序列的多核苷酸。在一个实例中,所述多核苷酸与 SEQ ID NO:21 含有至少或约 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高序列一致性,或包括或为 SEQ ID NO:21,和 / 或与 SEQ ID NO:26 含有至少或约 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高序列一致性,或包括或为 SEQ ID NO:26。

[0162] 医药组合物

[0163] 提供的 MMP9 结合蛋白,以及编码 MMP9 结合蛋白的核酸(例如 DNA 或 RNA)可为例如与医药学上可接受的载剂或赋形剂组合的医药组合物形式。所述医药组合物可用于例如在体内或离体投予个体,并且用于用 MMP9 结合蛋白诊断和 / 或治疗个体,例如用于本文所提供的治疗或诊断方法中的任一种中。

[0164] 医药学上可接受的载剂为经投药的患者生理学上可接受的并且保持与其一起投药的抗体或肽的治疗特性。医药学上可接受的载剂及其调配物大体上描述于例如雷氏药大全 (Remington's pharmaceutical Sciences) (第 18 版, A. 杰纳罗 (A. Gennaro) 编, 默克出版公司 (Mack Publishing Co.), 宾夕法尼亚州伊斯顿 (Easton, PA) 1990) 中。一种示例性医药载剂是生理盐水。在与所述调配物的其它成分可相容并且对患者实质上无害的意义上看, 每种载剂为“医药学上可接受的”。

[0165] 医药组合物可经调配以与特定投药途径 (全身或局部) 相容。因此, 医药组合物包括适于通过各种途径投药的载剂、稀释剂或赋形剂。

[0166] 医药组合物可包括医药学上可接受的添加剂。添加剂的实例包括 (但不限于) 糖, 例如甘露糖醇、山梨糖醇、葡萄糖、木糖醇、海藻糖、山梨糖、蔗糖、半乳糖、葡聚糖、右旋糖、果糖、乳糖及其混合物。医药学上可接受的添加剂可与医药学上可接受的载剂和 / 或赋形剂 (例如右旋糖) 组合。添加剂还包括表面活性剂, 例如聚山梨醇酯 20 或聚山梨醇酯 80。

[0167] 所述调配物和递送方法一般将根据有待治疗的部位和疾病来调整。示例性调配物包括 (但不限于) 适于肠胃外投药 (例如静脉内、动脉内、肌肉内或皮下投药) 或经口投药的调配物。

[0168] 供肠胃外递送的医药组合物包括例如水、生理盐水、磷酸盐缓冲的生理盐水、汉克氏溶液 (Hank's solution)、林格氏溶液 (Ringer's solution)、右旋糖 / 生理盐水及葡萄糖溶液。所述调配物可含有用于模拟生理条件的辅助物质, 例如缓冲剂、张力调节剂、润湿剂、清洁剂等。添加剂还可包括其它活性成分, 例如杀菌剂或稳定剂。举例来说, 所述溶液可含有乙酸钠、乳酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、脱水山梨糖醇单月桂酸酯或三乙醇胺油酸酯。其它肠胃外调配物和方法描述于白 (Bai) (1997) 神经免疫学杂志 (J. Neuroimmunol.) 80:6575; 瓦伦 (Warren) (1997) 神经科学杂志 (J. Neurol. Sci.) 152:3138; 及托尼盖瓦 (Tonegawa) (1997) 实验医学杂志 (J. Exp. Med.) 186:507515 中。肠胃外制剂可封装于由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[0169] 供真皮内或皮下投药的医药组合物可包括无菌稀释剂, 例如水、生理盐水溶液、非挥发性油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂; 抗菌剂, 例如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯; 抗氧化剂, 例如抗坏血酸、谷胱甘肽或亚硫酸氢钠; 螯合剂, 例如乙二胺四乙酸; 缓冲剂, 例如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐; 及用于调整张力的试剂, 例如氯化钠或右旋糖。

[0170] 供注射的医药组合物包括水溶液 (在水溶性情况下) 或分散液及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。对于静脉内投药, 适合载剂包括生理盐水、抑菌性水、Cremophor ELTM (巴斯夫公司 (BASF), 新泽西州帕西帕尼 (Parsippany, N. J.)) 或磷酸盐缓冲的生理盐水 (PBS)。载剂可为含有例如水、乙醇、多元醇 (例如, 甘油、丙二醇及液体聚乙二醇等) 及其适合混合物的溶剂或分散介质。可通过例如利用包衣 (例如卵磷脂), 在分散液的情况通过维持所需粒度及通过利用表面活性剂来维持流动性。抗菌剂和抗真菌剂包括例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸及硫柳汞。在所述组合物中可包括等渗剂, 例如糖、多元醇 (例如甘露糖醇、山梨糖醇) 及氯化钠。所得溶液可经包装以按原样使用, 或经冻干; 冻干的制剂可随后在投药之前与无菌溶液组合。

[0171] 医药学上可接受的载剂可含有使吸收或清除稳定、增加或延迟的化合物。所述化合物包括例如碳水化合物, 例如葡萄糖、蔗糖或葡聚糖; 低分子量蛋白质; 降低肽清除率

或水解的组合物；或赋形剂或其它稳定剂和 / 或缓冲剂。延迟吸收的试剂包括例如单硬脂酸铝和明胶。也可以使用清洁剂来使医药组合物的吸收稳定或者增加或减少，包括脂质体载剂。为了防止消化，可使所述化合物与组合物形成复合物，以使其对酸性和酶促水解具有抗性，或可使所述化合物与具有适当抗性的载剂（例如脂质体）形成复合物。保护化合物免于消化的手段是所属领域中已知的（参见例如，费克斯 (Fix) (1996) 药学研究 (Pharm. Res.) 13:17601764；萨曼伦 (Samanen) (1996) 药理学与药理学杂志 (J. Pharm. Pharmacol.) 48:119135；及美国专利第 5,391,377 号，其描述了供经口递送治疗剂的脂质组合物）。

[0172] 本发明的组合物可与如本文所提供的其它治疗部分或成像 / 诊断部分组合。治疗部分和 / 或成像部分可作为单独组合物，或作为 MMP9 结合蛋白上存在的偶联的部分提供。

[0173] 供体内投药的调配物一般为无菌的。在一个实施例中，所述医药组合物被调配成不含热原质，由此使其可接受用于授予人类患者。

[0174] 依据本发明，各种其它医药组合物及其制备和使用技术将为所属领域技术人员所知。有关适合药理学组合物和相关投药技术的详细清单，可参考本文的详细教导，其可通过例如雷氏药物学与实践 (Remington: The Science and Practice of Pharmacy) 第 20 版（利平科特威廉姆斯威尔金斯出版公司 (Lippincott, Williams & Wilkins) 2003）等课本进一步补充。

[0175] 医药组合物可基于需要治疗的患者 / 个体的身体特征、投药途径等进行调配。这些可包装于适合医药包装中，并附上适当标记供分配到医院和诊所，其中所述标记是用于指示治疗个体的如本文所述的病症。药物可按单一或多个单位形式包装。有关本发明的医药组合物的剂量和投药的说明书可包括在以下所述的医药包装和试剂盒中。

[0176] 使用方法

[0177] 本发明的 MMP9 结合蛋白，包括抗 MMP9 抗体及其片段可用于例如治疗和诊断方法中，例如检测样品中的 MMP9 的方法、治疗方法（例如，如在抑制血管生成的方法中）及诊断和预后方法。因此，提供了抗 MMP9 抗体的诊断和治疗方法及用途。使用方法的实例描述于下。

[0178] 治疗方法

[0179] 本文提供了治疗方法，包括治疗与 MMP9 表达和 / 或活性有关的疾病和病症的方法，以及所提供的抗体和组合物在这些方法中的用途。所述疾病和病症包括（但不限于）癌症，例如肿瘤（例如原发性或转移性肿瘤），例如表达或安置于表达 MMP9 的组织中的那些，以及炎症性疾病，例如炎症性肠病、类风湿性关节炎及炎症性肌病。

[0180] 如本文所使用，“治疗 (treat/treatment)” 意谓与本文所述疾病或病症有关的一种或多种症状的停滞或发生延缓，或改善现有的不受控制或不想要的症状、预防其它症状，或改善或预防症状的潜在代谢原因。因此，所述术语表示已赋予患有疾病或症状，或有可能发生所述疾病或症状的哺乳动物个体有益结果。当患者经历疾病的病征或症状的部分或完全减轻，或减少时，实现反应，并且可包括（不限于）存活期延长。取决于预后因子，包括复发次数、疾病的阶段及其它因素，所测量的预期无进展存活时间可为数月到数年。

[0181] 还提供了结合这些方法使用的医药组合物，例如含有本文所述抗体或其片段中的任一种的医药组合物。组合物可适于通过任何适合途径局部或全身授予。

[0182] 一般来说, MMP9 结合蛋白是以治疗有效量投予, 例如以实现个体中肿瘤生长的抑制、抑制转移、抑制炎症、抑制组织破坏, 或抑制 MMP9 活性, 或治疗与 MMP9 相关的特定疾病或病况的量投予

[0183] 如本文所使用, 除非另作具体说明, 否则术语“治疗有效量”或“有效量”是指当投予(单独或与另一治疗剂组合, 如可能具体说明的)个体时有效预防或改善疾病病况或疾病的进展, 或使症状改善, 例如使相关医学病况得到治疗、治愈、预防或改善, 或使这些病况的治疗、治愈、预防或改善的几率增加的药剂或化合物或组合物的量。当应用于单独投予的个别活性成分时, 治疗有效剂量仅指所述成分。当应用于组合时, 治疗有效剂量是指引起治疗作用的多种活性成分的组合量, 无论依序还是同时组合投予。在一个实例中, 当采用抗 MMP9 抗体的体内投予时, 取决于投药途径, 标准剂量可在每天每公斤哺乳动物体重约 10ng 到 100mg 或更高, 优选地每天约 1 μ g/kg 到 50mg/kg, 任选地每天约 100 μ g/kg 到 20mg/kg、每天 500 μ g/kg 到 10mg/kg, 或每天 1mg/kg 到 10mg/kg 间变化。在一个实施例中, 静脉内剂量在约 1mg/kg 到约 30mg/kg 范围内。在一些实施例中, 静脉内剂量在每 14 天一次 (q14d) 1mg/kg 或约 1mg/kg 到 14mg/kg 或约 14mg/kg 范围内, 例如在 2mg/kg 或约 2mg/kg 到 14mg/kg 或约 14mg/kg 范围内。在其它实施例中, 皮下剂量在每 14 天一次 (q14d) 1mg/kg 或约 1mg/kg 到 28mg/kg 或约 28mg/kg 范围内, 例如在 2mg/kg 或约 2mg/kg 到 28mg/kg 或约 28mg/kg 范围内。在一些实施例中, 有效剂量是每 7 到 28 天一次投予。在一个实施例中, 有效剂量是每 7 天一次投予。在另一个实施例中, 有效剂量是每 28 天一次投予。

[0184] 所选剂量方案将取决于多种因素, 包括 MMP9 结合蛋白的活性、投药途径、投药时间、所用特定化合物的排泄速率、治疗持续时间、与所用特定组合物组合使用的其它药物、化合物和 / 或材料、所治疗的患者的年龄、性别、体重、病况、一般健康状况和前病史, 及医疗技术中众所周知的类似因素。

[0185] 具有所属领域普通技术的临床医生能容易地确定所需医药组合物的有效量并开具处方。举例来说, 医师或兽医可以比获得所需治疗作用所需水平低的水平的以医药组合物形式使用的本发明化合物的剂量开始并逐步增加剂量直到达成所需作用。

[0186] 在一些情形中, 治疗方法包括肠胃外投药, 例如静脉内、动脉内、肌肉内或皮下投药; 或经口投予药剂, 例如抗 MMP9 抗体或含有其的组合物。

[0187] 如本文所使用, 术语“个体”意谓哺乳动物个体。示例性个体包括(但不限于)人类、猴、狗、猫、小鼠、大鼠、母牛、马、山羊及绵羊。在一些实施例中, 所述个体患有癌症、炎症性疾病或病况, 或自体免疫性疾病或病况, 并且可用如以下所述的本发明的药剂治疗。

[0188] 必要时, 为进行治疗, 方法可进一步包括其它疗法, 例如在癌症的情况下, 除 MMP9 结合蛋白外, 手术去除癌症和 / 或投予抗癌剂或治疗。此类抗癌剂或治疗的投予可与本文所揭示的组合物的投予同时进行。

[0189] MMP9 的检测方法

[0190] 本发明还涵盖检测个体中的 MMP9, 例如检测表达 MMP9 的肿瘤或肿瘤相关性组织, 或者与如本文所述的疾病(例如自体免疫性疾病或炎症性疾病)相关的组织或流体或其它生物样品的方法。因此, 提供了诊断、监测、分期或检测具有 MMP9 活性的肿瘤的方法。

[0191] 可分析来自个体(例如, 怀疑患有或已知患有与 MMP9 表达相关的肿瘤, 或怀疑患有或已知患有另一疾病或病况的个体)的样品(例如, 测试生物样品)中 MMP9 的存在、不

存在、表达和 / 或水平。举例来说,可收集这些样品,并通过检测 MMP9 结合蛋白(例如,如本文所述的抗体或片段)与样品中的物质(例如蛋白质)的结合的存在或不存在来进行分析。在一些实例中,所述方法另外包括将检测到的结合的量与结合到对照样品的量相比较,或将所检测的 MMP9 水平与对照 MMP9 水平相比较。在一些情形中,所述方法指示 MMP9 相关性疾病或病况(如本文所述的疾病或病况)的存在、不存在或严重程度。

[0192] 这一分析可在使用如本文所述的 MMP9 结合蛋白的治疗起始之前进行,或可作为监测癌症治疗的进展的一部分进行。在一些实施例,提供了治疗方法,其是通过进行检测分析,并例如基于诊断分析的结果起始、改变或中断个体的治疗来进行。所述诊断分析可使用任何样品进行,包括(但不限于)组织、从所述组织分离的细胞等。在一些情形中,所述方法是对例如血液、血浆、血清、全血、唾液、尿液或精液等液体样品进行的。组织样品包括例如福尔马林固定或冷冻的组织切片。

[0193] 用于检测和分析 MMP9 的任何适合方法均可使用。所属领域中已知的各种诊断分析技术可用于所述目的,例如竞争性结合分析、直接或间接夹心分析和在非均质或均质相中进行的免疫沉淀分析。

[0194] 用于检测方法中的 MMP9 结合蛋白可用可检测部分标记。可检测部分直接或间接地产生可检测信号。举例来说,可检测部分可为本文所述部分中的任一种,例如放射性同位素,例如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 或 ^{125}I ; 荧光或化学发光化合物,例如荧光素异硫氰酸酯 (FITC)、德克萨斯红 (Texas red)、花青苷、光青素 (photocyan)、罗丹明 (rhodamine) 或虫荧光素; 或酶,例如碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或辣根过氧化物酶。

[0195] 检测可通过使样品在适于 MMP9 结合蛋白结合到 MMP9 的条件下接触,并评估 MMP9 结合蛋白-MMP9 复合物的存在(例如水平)或不存在来实现。将样品中 MMP9 的水平与参考样品中的水平相比较可指示具有 MMP9 活性的肿瘤或肿瘤相关性组织的存在。参考样品可为在较早时间点从个体取得的样品或来自另一个体的样品。

[0196] 本发明的各方面将借助于以下若干实例进一步描述并说明,这些实例不打算限制本发明的范围。

[0197] 实例

[0198] 实例 1A :针对人类 MMP-9 的抗体的制备。

[0199] 使用不含信号肽的全长人类 MMP9 蛋白 (SEQ ID NO. 28) 对小鼠进行免疫。将来自经免疫小鼠的脾细胞与骨髓瘤细胞融合以产生杂交瘤文库。制备单克隆培养物并进行筛选以鉴别出表达抗 MMP9 单克隆抗体的培养物。

[0200] 从一种培养物中纯化出抗体 (AB0041) 并进行表征。这一抗体含有 IgG2b 重链和 κ 轻链。表征包括测试 AB0041 与其它人类 MMP 和来自其它物种(包括食蟹猴、大鼠和小鼠)的 MMP9 蛋白的结合。如表 2 中所示,AB0041 抗体对人类和食蟹猴 MMP9 具有较高亲和力,其对大鼠 MMP9 具有较低亲和力。此外,AB0041 抗体不结合到鼠类 MMP9 或许多人类非 MMP 基质金属蛋白酶。

[0201] 表 2 :AB0041 和 AB0045 的交叉反应性

[0202]

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

[0203] 其它表征包括分析 AB0041 与突变体小鼠和人类 MMP9 蛋白的结合。鉴别出小鼠和人类 MMP9 蛋白催化结构域中的不一致残基,并选择四十六个不一致氨基酸残基进行诱变。在小鼠 MMP9 中产生大多数突变:使小鼠氨基酸残基突变以匹配人类 MMP9 的残基。在人类 MMP9 中产生其它突变:使人类氨基酸残基突变以匹配小鼠 MMP9 的残基。将突变的小鼠或人类 MMP9 蛋白用于 ELISA 分析中。

[0204] 在 ELISA 分析中,使用 AB0041 抗体作为一次抗体,并且使用偶联到辣根过氧化物酶的山羊抗小鼠 IgG 抗体来检测结合。使用野生型人类 MMP9 作为阳性对照并且使用野生型小鼠 MMP9 作为阴性对照。ELISA 分析的结果显示,在 MMP9 氨基酸序列 162 位的精氨酸残基 (R162) 对于 AB0041 抗体结合 MMP9 很重要。这些结果还显示,氨基酸残基 E111、D113 及 I198 对于 AB0041 抗体结合 MMP9 很重要。基于 MMP9 的晶体结构, E111、D113、R162 及 I198 在 MMP9 的 Ca²⁺ 离子结合袋周围彼此接近地集合成群。在本研究中,经显示, AB0041 抗体特异性结合到这样一种表位,其含有的氨基酸残基在含氨基酸残基 104-119、159-166 及 191-202 的 MMP9 区域内。

[0205] 在针对 MMP9 的酶分析中,发现 AB0041 抗体充当 MMP9 的非竞争性抑制剂。

[0206] 实例 1B:针对人类 MMP-9 的其它抗体的制备。

[0207] 产生其它杂交瘤,这些杂交瘤产生具有与 AB0041 共有一致性的可变区的抗体。一种此类杂交瘤,称为 M4,表达一种抗体,其含有以下重链 (IgG2b) 序列:

[0208] MAVLVLFCLCLVAFPSCLVLSQVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLLSYGVHWVRQPPGKGLEWLG
VIWTGGSTNYNSALMSRLSISKDDSKSQVFLKMNSLQTDDTAMYCYARYYYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYP
LAPGCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPESVTVTWNSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSTWPSQTVTCSVA
HPASSTTVDDKKLEPSGPISTINPCPPCKECKCPAPNLEGGPSVFIFPPNIKDVLMIISLTPKVTCTVVDVSEDPP
DVRISWFFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTIRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKIKGLVRAP
QVYILPPPAEQLSRKDVSLTCLVVGFNPGDISVEWTSNGHTEENYKDTAPVLDSDGSYFIYSKLDIKTSKWEKTD
SFSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPGK (SEQ ID NO:30)

[0209] (信号肽以加下划线文字陈述,可变区以无格式文字陈述,并且恒定区以斜体陈

述), 及以下轻链 (κ) 序列:

[0210] MESQIQVFVFVFLWLSGVDGDIVMTQSHKFMFTSVGDRVSITCKASQDVRNTVAWYQQKTGQSPKLLIY
SASYRNTGVPDRFTGSGTDFTFITSSVQAEDLALYYCQQHYSTPYTFGGGKLEVKRADAAPTVSIFPPSSEQLT
SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTLTCKEYERHNSYTCEATHKTSTS
PIVKSFNNEC(信号肽以加下划线文字陈述, 可变区以无格式文字陈述, 并且恒定区以斜体
陈述)(SEQ ID NO:31)。

[0211] M4 抗体具有含以下氨基酸序列的可变重链:

[0212] QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLLSYGVHVWRQPPGKLEWLGLVIWTGGSTNYNSALMSRL
SISKDDSKSQVFLKMNSLTDDTAMYYCARYYYAMDYWGQTSVTVSS(CDR 1、2 及 3(分别为 SEQ ID
NO:34、35 及 36) 加下划线)(SEQ ID NO:32)

[0213] 及含以下氨基酸序列的可变轻链:

[0214] DIVMTQSHKFMFTSVGDRVSITCKASQDVRNTVAWYQQKTGQSPKLLIYSASYRNTGVPDRFTGSGT
DFTFTISSVQAEDLALYYCQQHYSTPYTFGGGKLEVK(CDR 1、2 及 3(分别为 SEQ ID NO:37、38 及 39)
加下划线)(SEQ ID NO:33)。

[0215] 另一种此类杂交瘤, 称为 M12, 仅表达 κ 链, 其具有以下序列:

[0216] QVFVYMLLWLSGVDGDIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNAWYQQKPGQSPKALIYSASYR
FSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPYTFGGGKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGAS
VVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTLTCKEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS
FNNEC(信号肽以加下划线文字陈述, 可变区以无格式文字陈述, 并且恒定区以斜体陈述)
(SEQ ID NO:40)。

[0217] M12 抗体具有含以下氨基酸序列的可变轻链:

[0218] DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNAWYQQKPGQSPKALIYSASYRFGVDPDRFTGSGSGT
DFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPYTFGGGKLEIK(CDR 1、2 及 3(分别为 SEQ ID NO:42、43 及 44)
加下划线)(SEQ ID NO:41)。

[0219] 图 4 中示出了序列比较, 显示了如与 AB0041 抗体相比较, M4 与 M12 重链和轻链之间的差异。

[0220] 进行酶分析。结果证实, 由 M4 和 M12 杂交瘤产生的抗体充当 MMP9 的非竞争性抑制剂(数据未示出)。

[0221] 实例 1C: 针对小鼠 MMP-9 的抗体的制备。

[0222] 产生另一小鼠抗体 AB0046。使用与实例 1A 中所述类似的方法, 使用鼠类 MMP9 的前体 / 催化结构域片段的靶向结构域对 MMP9 基因敲除小鼠(品系 B6.FVB(Cg)-Mmp9^{tm1Tvu}/J) 进行免疫。AB0046 抗体具有含以下氨基酸序列的 κ 轻链: MSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMT
QTTSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQKPDGTFKLLIYYTILHSGVPSRFGSGSGTDYSLTISNLEPED
IATYYCQQYGWLPRTFGGGKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGV
LNSWTDQDSKSTYSMSSTLTLTCKEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNNEC(SEQ ID NO:45)(信号肽
以加下划线文字陈述, 可变区以无格式文字陈述, 并且恒定区以斜体陈述); 及含以下氨基酸
序列的 IgG1 重链: MGWSSIILFLVATATGVHSQVQLQQPGSVLVRPGASVKLSCTASGYTFTSYWMNWVKQR
PGQGLEWIGEIYPISGRTNYNEKFKVKATLTVDTSSTAYMDLNSLTSEDSAVYYCARSANWDDYWGQGTTLTVSS
AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTPSSTWPS

ETVTCNVAHPASSTKVDDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSW
FVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPP
KEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCSVLHEG
LHNHTEKSLSHSPGK(SEQ ID NO:46)(信号肽以加下划线文字陈述,可变区以无格式文字陈
述,并且恒定区以斜体陈述)。

[0223] 以下氨基酸序列包含 AB0046 的 IgG1 重链可变区的构架区和互补决定区(CDR)
(其中 CDR 加下划线):

[0224] QVQLQQPGSVLVRPGASVKLSCTASGYTFTSYWMNWVKQRPQGGLWIGEIYPISGRTNYNEKFKVKAT
LTVDTSSSTAYMDLNSLTSEDSAVYYCARSANWDDYWGQGTTLVSS(SEQ ID No:47)。

[0225] 以下氨基酸序列包含 AB0046 的 κ 轻链可变区的构架区和互补决定区(CDR)(其
中 CDR 加下划线):

[0226] DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQKPDGTFKLLIYYTSLHSGVPSRFSGSGSGT
DYSLTISNLEPEDIATYYCQQYGWLPRTFGGGTKLEIK(SEQ ID No:48)。

[0227] 其它表征显示, AB0046 抗体以非竞争性方式结合到小鼠 MMP9 或其结合不取决于
小鼠 MMP9 的浓度。AB0046 抗体不结合到人类 MMP9 或 MMP2、小鼠 MMP2、3、7、8 或 12。使用
如实例 1A 中所述的表位分析显示,在小鼠 MMP9 氨基酸序列 162 位的脯氨酸残基(P162)(对
应于人类 MMP9 的 R162)对于 AB0046 抗体结合 MMP9 很重要。结果表明, AB0046 特异性结
合到这样一种表位,其含有的残基在小鼠 MMP9 对应于人类 MMP9 的含氨基酸 159-166 的部
分的一部分内。因此, AB0046 抗体是对小鼠 MMP9 具有特异性的一种抑制性抗体并且具有
与 AB0041 类似的结合动力学和抑制作用。由于 AB0046 对小鼠 MMP9 具有特异性并且结合
到与 AB0041/AB0045 相同的表位,故 AB0046 适合于使用 AB0041 或 AB0045 的分析。

[0228] 进一步表征显示, AB0046 抗体是一种鼠类 IgG1 同型,在小鼠中具有一种有限的效
应功能。

[0229] 使用类似方法产生三种其它的小鼠抗 MMP9 抗体,其为非抑制性的并且 P162 对于
结合很重要。

[0230] 实例 2:针对人类 MMP9 的抗体的人类化

[0231] 使小鼠 AB0041 抗体重链和轻链的氨基酸序列在其可变区的构架(即,非 CDR)部
分中的某些位置处发生改变以产生在人体中具有较低免疫原性的蛋白质。这些氨基酸序列
变化显示于图 1 和 2 中。上表 2A 中显示了一种称为 AB0045 的人类化抗体的交叉反应性。

[0232] 人类化变体抗 MMP9 抗体 AB0045(人类化,经修饰 IgG4(S241P);参见以上实例 2)
含有人类化 AB0041 重链变体 VH3(具有 SEQ ID NO:7

[0233] (QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLLSYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWTGGTTNYSALMSRFT
ISKDDSKNTVYLKMNLSKTEDTAIYYCARYYYGMDYWGQGLTVTVSS)中所陈述的序列)

[0234] 及人类化 AB0041 轻链变体 VH4(具有 Vk4(具有 SEQ ID NO:12

[0235] (DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVRNTVAWYQQKPKAPKLLIYSSSYRNTGVPDRFSGSGSG
TDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHYITPYTFGGGTKVEIK)中所陈述的序列)中所陈述的轻链序列)。

[0236] AB0045 抗体的重链具有 SEQ ID NO:49(MGWSLILLFLVAVATRVHSQVQLQESGPGLVKPS
E LSLTCTVSGFSLLSYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWTGGTTNYSALMSRFTISKDDSKNTVYLKMNLSKTEDTAIYY
CARYYYGMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAV

LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS
SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLY
SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK (信号序列加下划线;恒定区序列以斜体呈现))中所陈述的序列;AB0045 抗体的轻链具有 SEQ ID NO:50 (MRVPAQLLGLLLLWLPGARCDIQ
MTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVRNTVAWYQQKPGKAPKLLIYSSSYRNTGVPDRFSGSGSGTDFTLTITSSLQA
EDVAVYYCQGHYITPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (信号序列加下划线;恒定区序列以斜体呈现))中所陈述的序列。所述抗体含有 1312 个氨基酸的长度,由两个重链和两个轻链构成并且具有约 7.90 的理论 pI 值、对于 1g/L 在 280nm 下约 1.50AU/cm 的消光系数、约 144kDa 的分子量及在调配缓冲液中约 1g/mL 的密度 (50-100mg/mL 产物浓度)。

[0237] 这一抗体的进一步表征描述于以下实例 3 中。

[0238] 实例 3:变体 MMP9 抗体 AB0045 的表征及与 AB0041 和 AB0046 的比较

[0239] 如以上所述,AB0045 和 AB0041 抗体是 MMP9 的非竞争性抑制剂。因此,两种抗体都抑制 MMP9 酶活性,而与底物浓度无关。AB0045 抗体结合到与 AB0041 抗体相同的 MMP9 表位,并且亲和力在 1×10^{-12} 摩尔浓度范围内,如通过直接结合和表面等离子共振 (SPR) 分析所显示。两种抗体都对 MMP9 具有特异性,并且未观察到针对其它纯化蛋白质目标 (包括 MMP 酶的纯化结构域和全长形式) 的显著非特异性结合。AB0045 和 AB0041 抗体都与天然和重组人类 MMP9 以及重组大鼠和食蟹猴 MMP9 交叉反应。

[0240] 使用酶连免疫吸附剂分析 (ELISA) 和 MMP9 酶分析来测定 AB0045、AB0041 及 AB0046 抗体对于人类和非人类来源的 MMP9 的体外结合亲和力、抑制特征和特异性。同时使用 SPR 分析来产生 AB0045 和 AB0041 的解离常数 (K_d)。

[0241] 在 ELISA 分析中,发现由 ELISA 得到的 AB0045 和 AB0041 抗体对于人类、食蟹猴及大鼠 MMP9 的 K_d 值都 $<400\text{pM}$ 。ELISA 数据说明,AB0045 和 AB0041 抗体都与来自所测试的所有相关毒理学物种的 MMP9 交叉反应。经显示,AB0046 抗体对小鼠 MMP9 具有特异性,并因此可在小鼠功效模型中用作代用抗体。结果显示,AB0045 抗体对于人类 MMP9 的 K_d 值为 $0.168 \pm 0.117\text{nM}$ 并且 AB0041 抗体的 K_d 值为 $0.133 \pm 0.030\text{nM}$ 。有关 AB0046 抗体的结果显示,其结合到小鼠 MMP9,并且 K_d 值为 $0.218 \pm 0.097\text{nM}$ 。在 SPR 分析中,结果显示 AB0045 和 AB0041 抗体对于人类 MMP9 的 K_d 值分别为 8.8pM 和 0.4pM 。

[0242] 在评估 MMP9 介导的荧光肽底物 Mca-PLGL-Dpa-AR-NH₂ 裂解的分析中评价 AB0045、AB0041 及 AB0046 抗体的酶抑制活性。全部三种抗体都抑制 MMP9 酶活性。AB0045 ($0.691 \pm 0.097\text{nM}$) 和 AB0041 ($0.569 \pm 0.185\text{nM}$) 对于人类 MMP9 的 IC_{50} 值无统计学差异。有关 AB0046 对小鼠 MMP9 的抑制作用的 IC_{50} 值为 $0.352 \pm 0.03\text{nM}$ 。

[0243] 所述值未针对在制备期间产生的活性酶的浓度进行调整。使用在稳态条件下进行的其它 MMP9 酶分析来测定 IC_{50} 和抑制模式。在这一分析中,AB0045 的 IC_{50} 值在 0.148nM 到 0.161nM 范围内 (在 20 倍底物浓度范围内),并且在一个实例中为 0.158nM 。这些结果显示,AB0045 的 MMP9 抑制活性是非竞争性的。

[0244] 表 2B:AB0045、AB0041 及代用小鼠抗体 AB0046 的结合和抑制特性

[0245]

	AB0045	AB0041	AB0046
ELISA			
人类 MMP9 解离常数	0.168 ± 0.117 nM	0.133 ± 0.030 nM	>100 nM
食蟹猴 MMP9 解离常数	0.082 ± 0.022 nM	0.145 ± 0.16 nM	>100 nM
小鼠 MMP9 解离常数	>100 nM	>100 nM	0.218 ± 0.097 nM
大鼠 MMP9 解离常数	0.311 ± 0.017 nM	0.332 ± 0.022 nM	>100 nM
SPR			
人类 MMP9 解离常数	8.8pM	0.4pM	ND
活性分析			
人类 MMP9 IC ₅₀	0.691 ± 0.097 nM	0.569 ± 0.185 nM	>100 nM
食蟹猴 MMP9 IC ₅₀	0.194 ± 0.048 nM*	0.189 ± 0.019 nM*	>100 nM

[0246]

大鼠 MMP9 IC ₅₀	8.23 ± 1.24 nM*	2.78 ± 1.17 nM*	>100 nM
小鼠 MMP9 IC ₅₀	>100 nM	>100 nM	0.352 ± 0.03 nM*

[0247] 结果证实, AB0045 和 AB0041 具有相当的结合和抑制特性, 并且 AB0046 可例如在小鼠人类疾病模型中用作相关小鼠代用抗体。

[0001]

序列表

<110> 吉联亚生物科技有限公司

<120> 抗基质金属蛋白酶9抗体

<130> 246102008540

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<160> 50

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 470

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> CHAIN

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

<223> AB0041重链

<220>

<221> PEPTIDE

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

<223> 信号肽

<220>

<221> misc_feature

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

<223> IgG2b恒定区

<400> 1

```

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

```

[0002]

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

<210> 2

<211> 234

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> CHAIN

<222> (1)... (234)

<223> AB0041轻链

<220>

<221> PEPTIDE

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

<223> 信号肽

[0003]

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (128)... (234)
 <223> κ 恒定区

<400> 2

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

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

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

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (26)... (35)
 <223> 互补决定区(CDR)

<220>
 <221> misc_feature

[0004]

<222> (50)... (65)
 <223> 互补决定区(CDR)

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

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

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

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

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

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

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

<400> 4
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Thr

[0005]

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)... (115)

38

<223> VH2 重链变体

<400> 6

```

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

```

<210> 7

<211> 115

<212> PRT

<223> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> VARIANT

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

<223> VH3 重链变体

<400> 7

```

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

```

<210> 8

<211> 115

<212> PRT

[0007]

<223> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> VARIANT

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

<223> VH4 重链变体

<400> 8

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

<210> 9

<211> 107

<212> PRT

<223> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)... (107)

<223> Vk1 轻链变体

<400> 9

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

[0008]

100

105

<210> 10
 <211> 107
 <212> PRT
 <223> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

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

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

<210> 11
 <211> 107
 <212> PRT
 <223> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

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

<400> 11
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Thr
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ser Ser Tyr Arg Asn Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala

[0009]

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

<210> 12
 <211> 107
 <212> PRT
 <223> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

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

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

<210> 13
 <211> 10
 <212> PRT
 <223> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)... (10)
 <223> 抗MMP9抗体重链的互补决定区(CDR1)

<400> 13
Gly Phe Ser Leu Leu Ser Tyr Gly Val His
1 5 10

<210> 14

[0010]

<211> 16
<212> PRT
<223> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)... (16)
<223> 抗MMP9抗体重链的互补决定区(CDR2)

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

<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<223> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)... (7)
<223> 抗MMP9抗体重链的互补决定区(CDR3)

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

<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<223> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)... (11)
<223> 抗MMP9抗体轻链的互补决定区(CDR1)

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

<210> 17
<211> 7
<212> PRT

[0011]

<223> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)... (7)

<223> 抗MMP9抗体轻链的互补决定区(CDR2)

<400> 17

Ser Ser Ser Tyr Arg Asn Thr
1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<223> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)... (9)

<223> 抗MMP9抗体轻链的互补决定区(CDR3)

<400> 18

Gln Gln His Tyr Ile Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 19

<211> 345

<212> DNA

<223> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)... (345)

<223> 编码VH1重链氨基酸序列的核苷酸序列

<400> 19

```
caggtgcagc tgcaggaatc cggeccctggc ctggteaage cctcegagac actgtccctg 60
acctgcaccg tgtccggett ctccctgctg tctacggcg tgcactgggt ccgacagcct 120
ccagggaagg gcctggaatg gctgggcgtg atctggaccg gcggcaccac caactacaae 180
tccgccctga tgtcccggct gaccatctcc aaggacgact ccaagtcac cgtgtacctg 240
aagatgaact ccctgaaaac cgaggacace gccatctact actgegeccg gtactactac 300
ggcatggact actggggcca gggeacctcc gtgaccgtgt cctea 345
```

<210> 20

<211> 345

[0012]

<212> DNA

<223> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)... (345)

<223> 编码VH2重链氨基酸序列的核苷酸序列

<400> 20

```
cagggtgcagc tgcaggaatc cggccctggc ctgggtcaagc cctccgagac actgtccctg 60
acctgcaccg tgtccggctt ctccctgctg tcctacggcg tgcactgggt ccgacagcct 120
ccaggcaaag gcctggaatg gctgggcgtg atctggaccg gcggcaccac caactacaac 180
tcgcceetga tgtcccggtt gaccatctcc aaggacgaact ccaagaacac cgtgtacctg 240
aagatgaact ccctgaaaac cgaggacacc gccatctact actgegcccg gtactactac 300
ggcatggact actggggcca gggcaccctg gtcaccgtgt cctca 345
```

<210> 21

<211> 345

<212> DNA

<223> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)... (345)

<223> 编码VH3重链氨基酸序列的核苷酸序列

<400> 21

```
cagggtgcagc tgcaggaatc cggccctggc ctgggtcaagc cctccgagac actgtccctg 60
acctgcaccg tgtccggctt ctccctgctg tcctacggcg tgcactgggt ccgacagcct 120
ccaggcaaag gcctggaatg gctgggcgtg atctggaccg gcggcaccac caactacaac 180
tcgcceetga tgtcccggtt caccatctcc aaggacgaact ccaagaacac cgtgtacctg 240
aagatgaact ccctgaaaac cgaggacacc gccatctact actgcgcccg gtactactac 300
ggcatggact actggggcca gggcaccctg gtcaccgtgt cctca 345
```

<210> 22

<211> 345

<212> DNA

<223> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)... (345)

<223> 编码VH4重链氨基酸序列的核苷酸序列

<400> 22

```
cagggtgcagc tgcaggaatc cggccctggc ctgggtcaagc cctccgagac actgtccctg 60
acctgcaccg tgtccggctt ctccctgctg tcctacggcg tgcactgggt ccgacagcct 120
```

[0013]

```
ccaggcaaag gcctggaatg gctggggcgtg atctggaccg gcggcaccac caactacaac 180
tccgccctga tgccecggtt caccatctcc aaggacgact ccaagaacac cctgtacctg 240
aagatgaact ccctgaaaac cgaggacacc gccatctact actgcgccg gtaetactac 300
ggcatggact actggggcca gggcaccctg gtcaccgtgt cctca 345
```

<210> 23

<211> 321

<212> DNA

<223> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)... (321)

<223> 编码Vk1轻链氨基酸序列的核苷酸序列

<400> 23

```
gacatcgtga tgaccagtc ccccagcttc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc 60
atcacatgca aggcctctca ggacgtgcgg aacaccgtgg cctggtatca gcagaaaacc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctactcc tcctectacc ggaacaccgg cgtgcccgac 180
cggtttaccg gctctggctc cggcaccgac ttaccctga ccateagctc cctgcaggcc 240
gaggacgtgg ccgtgtactt ctgccagcag cactacatca cccctacac cticggcgga 300
ggcaccaagg tggaaataaa a 321
```

<210> 24

<211> 321

<212> DNA

<223> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)... (321)

<223> 编码Vk2轻链氨基酸序列的核苷酸序列

<400> 24

```
gacatcgtga tgaccagtc cccctccagc ctgtccgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60
atcacatgca aggcctctca ggacgtgcgg aacaccgtgg cctggtatca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctactcc tcctectacc ggaacaccgg cgtgcccgac 180
cggtttaccg gctctggctc cggcaccgac ttaccctga ccateagctc cctgcaggcc 240
gaggacgtgg ccgtgtactt ctgccagcag cactacatca cccctacac cticggcgga 300
ggcaccaagg tggaaataaa a 321
```

<210> 25

<211> 321

<212> DNA

<223> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

[0014]

```

<221> misc_feature
<222> (1)... (321)
<223> 编码Vk3轻链氨基酸序列的核苷酸序列

<400> 25
gacatccaga tgaccacagtc cccctccage ctgtccgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60
atcacatgca aggcctccca ggacgtgcgg aacaccgtgg cctgggtatca gcagaagccc 120
ggcaaggecc ccaagctgct gatetactcc tctcctacc ggaacacagg cgtgcccgac 180
eggttctctg gctctggaag cggcaccgac ttaccctga ccatacagtc cctgcaggcc 240
gaggacgtgg ccgtgtactt ctgccagcag cactacatca cccctacac ettcggcgga 300
ggcaccaagg tggaataaa a 321

<210> 26
<211> 321
<212> DNA
<223> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)... (321)
<223> 编码Vk4轻链氨基酸序列的核苷酸序列

<400> 26
gacatccaga tgaccacagtc cccctccage ctgtccgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60
atcacatgca aggcctctca ggacgtgcgg aacaccgtgg cctgggtatca gcagaagccc 120
ggcaaggecc ccaagctgct gatetactcc tctcctacc ggaacacagg cgtgcccgac 180
eggttctctg gctctggaag cggcaccgac ttaccctga ccatacagtc cctgcaggcc 240
gaggacgtgg ccgtgtacta ctgccagcag cactacatca cccctacac ettcggcgga 300
ggcaccaagg tggaataaa a 321

<210> 27
<211> 707
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)... (707)
<223> 基质金属蛋白酶9 (MMP9)

<220>
<221> PEPTIDE
<222> (1)... (19)
<223> 信号肽

<220>
<221> DOMAIN
<222> (38)... (98)
<223> 肽聚糖结合结构域

<220>
<221> SITE
<222> (98)... (99)

```

[0015]

<223> 前肽裂解位点

<220>

<221> DOMAIN

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

<223> Zn依赖性金属蛋白酶结构域

<220>

<221> DOMAIN

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

<223> 纤连蛋白II型结构域(明胶结合结构域)

<220>

<221> DOMAIN

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

<223> 纤连蛋白II型结构域(明胶结合结构域)

<220>

<221> DOMAIN

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

<223> 纤连蛋白II型结构域(明胶结合结构域)

<220>

<221> misc_feature

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

<223> Zn结合区

<220>

<221> DOMAIN

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

<223> 血红素结合蛋白样结构域

<220>

<221> DOMAIN

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

<223> 血红素结合蛋白样结构域

<220>

<221> DOMAIN

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

<223> 血红素结合蛋白样结构域

<220>

<221> DOMAIN

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

<223> 血红素结合蛋白样结构域

<400> 27

```
Met Ser Leu Trp Gln Pro Leu Val Leu Val Leu Leu Val Leu Gly Cys
 1           5           10           15
Cys Phe Ala Ala Pro Arg Gln Arg Gln Ser Thr Leu Val Leu Phe Pro
          20          25          30
Gly Asp Leu Arg Thr Asn Leu Thr Asp Arg Gln Leu Ala Glu Glu Tyr
          35          40          45
Leu Tyr Arg Tyr Gly Tyr Thr Arg Val Ala Glu Met Arg Gly Glu Ser
```

[0016]

50	55	60
Lys Ser Leu Gly Pro Ala	Leu Leu Leu Leu Gln Lys Gln Leu Ser Leu	
65	70	75
Pro Glu Thr Gly Glu Leu Asp Ser Ala Thr	Leu Lys Ala Met Arg Thr	80
85	90	95
Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Leu Gly Arg Phe Gln Thr Phe Glu Gly		
100	105	110
Asp Leu Lys Trp His His His Asn Ile Thr Tyr Trp Ile Gln Asn Tyr		
115	120	125
Ser Glu Asp Leu Pro Arg Ala Val Ile Asp Asp Ala Phe Ala Arg Ala		
130	135	140
Phe Ala Leu Trp Ser Ala Val Thr Pro Leu Thr Phe Thr Arg Val Tyr		
145	150	155
Ser Arg Asp Ala Asp Ile Val Ile Gln Phe Gly Val Ala Glu His Gly		
165	170	175
Asp Gly Tyr Pro Phe Asp Gly Lys Asp Gly Leu Leu Ala His Ala Phe		
180	185	190
Pro Pro Gly Pro Gly Ile Gln Gly Asp Ala His Phe Asp Asp Asp Glu		
195	200	205
Leu Trp Ser Leu Gly Lys Gly Val Val Val Pro Thr Arg Phe Gly Asn		
210	215	220
Ala Asp Gly Ala Ala Cys His Phe Pro Phe Ile Phe Glu Gly Arg Ser		
225	230	235
Tyr Ser Ala Cys Thr Asp Gly Arg Ser Asp Gly Leu Pro Trp Cys		
245	250	255
Ser Thr Thr Ala Asn Tyr Asp Thr Asp Arg Phe Gly Phe Cys Pro		
260	265	270
Ser Glu Arg Leu Tyr Thr Arg Asp Gly Asn Ala Asp Gly Lys Pro Cys		
275	280	285
Gln Phe Pro Phe Ile Phe Gln Gly Gln Ser Tyr Ser Ala Cys Thr Thr		
290	295	300
Asp Gly Arg Ser Asp Gly Tyr Arg Trp Cys Ala Thr Thr Ala Asn Tyr		
305	310	315
Asp Arg Asp Lys Leu Phe Gly Phe Cys Pro Thr Arg Ala Asp Ser Thr		
325	330	335
Val Met Gly Gly Asn Ser Ala Gly Glu Leu Cys Val Phe Pro Phe Thr		
340	345	350
Phe Leu Gly Lys Glu Tyr Ser Thr Cys Thr Ser Glu Gly Arg Gly Asp		
355	360	365
Gly Arg Leu Trp Cys Ala Thr Thr Ser Asn Phe Asp Ser Asp Lys Lys		
370	375	380
Trp Gly Phe Cys Pro Asp Gln Gly Tyr Ser Leu Phe Leu Val Ala Ala		
385	390	395
His Glu Phe Gly His Ala Leu Gly Leu Asp His Ser Ser Val Pro Glu		
405	410	415
Ala Leu Met Tyr Pro Met Tyr Arg Phe Thr Glu Gly Pro Pro Leu His		
420	425	430
Lys Asp Asp Val Asn Gly Ile Arg His Leu Tyr Gly Pro Arg Pro Glu		
435	440	445
Pro Glu Pro Arg Pro Pro Thr Thr Thr Thr Pro Gln Pro Thr Ala Pro		
450	455	460
Pro Thr Val Cys Pro Thr Gly Pro Pro Thr Val His Pro Ser Glu Arg		
465	470	475
Pro Thr Ala Gly Pro Thr Gly Pro Pro Ser Ala Gly Pro Thr Gly Pro		
485	490	495
Pro Thr Ala Gly Pro Ser Thr Ala Thr Val Pro Leu Ser Pro Val		

[0017]

```

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

```

<210> 28

<211> 688

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)... (688)

<223> 成熟全长基质金属蛋白酶9 (MMP9)

<400> 28

```

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

```

[0018]

Trp	Ser	Ala	Val	Thr	Pro	Leu	Thr	Phe	Thr	Arg	Val	Tyr	Ser	Arg	Asp
130						135					140				
Ala	Asp	Ile	Val	Ile	Gln	Phe	Gly	Val	Ala	Glu	His	Gly	Asp	Gly	Tyr
145					150					155					160
Pro	Phe	Asp	Gly	Lys	Asp	Gly	Leu	Leu	Ala	His	Ala	Phe	Pro	Pro	Gly
				165					170					175	
Pro	Gly	Ile	Gln	Gly	Asp	Ala	His	Phe	Asp	Asp	Asp	Glu	Leu	Trp	Ser
			180					185					190		
Leu	Gly	Lys	Gly	Val	Val	Val	Pro	Thr	Arg	Phe	Gly	Asn	Ala	Asp	Gly
		195					200					205			
Ala	Ala	Cys	His	Phe	Pro	Phe	Ile	Phe	Glu	Gly	Arg	Ser	Tyr	Ser	Ala
	210					215					220				
Cys	Thr	Thr	Asp	Gly	Arg	Ser	Asp	Gly	Leu	Pro	Trp	Cys	Ser	Thr	Thr
225					230					235					240
Ala	Asn	Tyr	Asp	Thr	Asp	Asp	Arg	Phe	Gly	Phe	Cys	Pro	Ser	Glu	Arg
				245					250					255	
Leu	Tyr	Thr	Arg	Asp	Gly	Asn	Ala	Asp	Gly	Lys	Pro	Cys	Gln	Phe	Pro
			260					265						270	
Phe	Ile	Phe	Gln	Gly	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ala	Cys	Thr	Thr	Asp	Gly	Arg
		275					280						285		
Ser	Asp	Gly	Tyr	Arg	Trp	Cys	Ala	Thr	Thr	Ala	Asn	Tyr	Asp	Arg	Asp
	290					295					300				
Lys	Leu	Phe	Gly	Phe	Cys	Pro	Thr	Arg	Ala	Asp	Ser	Thr	Val	Met	Gly
305					310					315					320
Gly	Asn	Ser	Ala	Gly	Glu	Leu	Cys	Val	Phe	Pro	Phe	Thr	Phe	Leu	Gly
				325					330					335	
Lys	Glu	Tyr	Ser	Thr	Cys	Thr	Ser	Glu	Gly	Arg	Gly	Asp	Gly	Arg	Leu
			340					345					350		
Trp	Cys	Ala	Thr	Thr	Ser	Asn	Phe	Asp	Ser	Asp	Lys	Lys	Trp	Gly	Phe
		355					360					365			
Cys	Pro	Asp	Gln	Gly	Tyr	Ser	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Ala	His	Glu	Phe
	370					375					380				
Gly	His	Ala	Leu	Gly	Leu	Asp	His	Ser	Ser	Val	Pro	Glu	Ala	Leu	Met
385					390					395					400
Tyr	Pro	Met	Tyr	Arg	Phe	Thr	Glu	Gly	Pro	Pro	Leu	His	Lys	Asp	Asp
				405					410					415	
Val	Asn	Gly	Ile	Arg	His	Leu	Tyr	Gly	Pro	Arg	Pro	Glu	Pro	Glu	Pro
			420					425					430		
Arg	Pro	Pro	Thr	Thr	Thr	Thr	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Pro	Pro	Thr	Val
		435					440					445			
Cys	Pro	Thr	Gly	Pro	Pro	Thr	Val	His	Pro	Ser	Glu	Arg	Pro	Thr	Ala
	450					455					460				
Gly	Pro	Thr	Gly	Pro	Pro	Ser	Ala	Gly	Pro	Thr	Gly	Pro	Pro	Thr	Ala
465					470					475					480
Gly	Pro	Ser	Thr	Ala	Thr	Thr	Val	Pro	Leu	Ser	Pro	Val	Asp	Asp	Ala
				485					490					495	
Cys	Asn	Val	Asn	Ile	Phe	Asp	Ala	Ile	Ala	Glu	Ile	Gly	Asn	Gln	Leu
			500					505					510		
Tyr	Leu	Phe	Lys	Asp	Gly	Lys	Tyr	Trp	Arg	Phe	Ser	Glu	Gly	Arg	Gly
		515					520					525			
Ser	Arg	Pro	Gln	Gly	Pro	Phe	Leu	Ile	Ala	Asp	Lys	Trp	Pro	Ala	Leu
	530					535					540				
Pro	Arg	Lys	Leu	Asp	Ser	Val	Phe	Glu	Glu	Pro	Leu	Ser	Lys	Lys	Leu
545					550					555					560
Phe	Phe	Phe	Ser	Gly	Arg	Gln	Val	Trp	Val	Tyr	Thr	Gly	Ala	Ser	Val
				565					570					575	

[0019]

```

Leu Gly Pro Arg Arg Leu Asp Lys Leu Gly Leu Gly Ala Asp Val Ala
      580      585      590
Gln Val Thr Gly Ala Leu Arg Ser Gly Arg Gly Lys Met Leu Leu Phe
      595      600      605
Ser Gly Arg Arg Leu Trp Arg Phe Asp Val Lys Ala Gln Met Val Asp
      610      615      620
Pro Arg Ser Ala Ser Glu Val Asp Arg Met Phe Pro Gly Val Pro Leu
      625      630      635
Asp Thr His Asp Val Phe Gln Tyr Arg Glu Lys Ala Tyr Phe Cys Gln
      645      650      655
Asp Arg Phe Tyr Trp Arg Val Ser Ser Arg Ser Glu Leu Asn Gln Val
      660      665      670
Asp Gln Val Gly Tyr Val Thr Tyr Asp Ile Leu Gln Cys Pro Glu Asp
      675      680      685

```

<210> 29

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人

<400> 29

```

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

```

<210> 30

<211> 470

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> CHAIN

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

<223> M4重链(IgG2b)

<400> 30

```

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

```

[0020]

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

<210> 31

<211> 234

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> CHAIN

<222> (1)... (234)

<223> M4轻链(κ)

<400> 31

[0021]

```

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

```

<210> 32

<211> 115

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 32

```

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

```

[0022]

<210> 33
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠

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

<210> 34
<211> 10
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 34
Gly Phe Ser Leu Leu Ser Tyr Gly Val His
1 5 10

<210> 35
<211> 10
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 35
Val Ile Trp Thr Gly Gly Ser Thr Asn Tyr
1 5 10

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 36
Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 37
<211> 11
<212> PRT

[0023]

<213> 小家鼠

<400> 37

Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Thr Val Ala
1 5 10

<210> 38

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 38

Ser Ala Ser Tyr Arg Asn Thr
1 5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 39

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 40

<211> 229

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> CHAIN

<222> (1)... (229)

<223> M12 κ 链

<400> 40

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

[0024]

Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn
 145 150 155 160
 Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn
 165 170 175
 Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser
 180 185 190
 Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr
 195 200 205
 Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe
 210 215 220
 Asn Arg Asn Glu Cys
 225

<210> 41
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 小家鼠

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

<210> 42
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 小家鼠

<400> 42
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
 1 5 10

<210> 43
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 小家鼠

<400> 43
 Ser Ala Ser Tyr Arg Phe Ser
 1 5

[0025]

<210> 44
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 小家鼠

<400> 44
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 45
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> 小家鼠

<220>
 <221> CHAIN
 <222> (1)... (233)
 <223> AB0046 κ 轻链

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

<210> 46
 <211> 460
 <212> PRT

[0026]

<213> 小家鼠

<220>

<221> CHAIN

<222> (1)... (460)

<223> AB0046 IgG1重链

<400> 46

```

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

```

[0027]

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

<210> 47
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 小家鼠

<400> 47
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ser Val Leu Val Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Glu Ile Tyr Pro Ile Ser Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Val Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Asp Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Arg Ala Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Leu Thr Val Ser Ser
 115

<210> 48
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 小家鼠

<400> 48
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Phe Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Thr Ser Ile Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Trp Leu Pro Arg
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

[0028]

<210> 49
 <211> 461
 <212> PRT
 <223> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<220>
 <221> CHAIN
 <222> (1)... (461)
 <223> AB0045重链

<400> 49
 Met Gly Trp Ser Leu Ile Leu Leu Phe Leu Val Ala Val Ala Thr Arg
 1 5 10 15
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu
 35 40 45
 Leu Ser Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser
 65 70 75 80
 Ala Leu Met Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 85 90 95
 Val Tyr Leu Lys Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
 100 105 110
 Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 115 120 125
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 130 135 140
 Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
 145 150 155 160
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 165 170 175
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 180 185 190
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 195 200 205
 Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
 210 215 220
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
 225 230 235 240
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 245 250 255
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 260 265 270
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
 275 280 285
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 290 295 300
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 305 310 315 320

[0029]

```

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

```

<210> 50
 <211> 234
 <212> PRT
 <223> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<220>
 <221> CHAIN
 <222> (1)... (234)
 <223> AB0045轻链

```

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

```

[0030]

Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr
			180					185					190		
Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys
		195					200					205			
His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro
	210					215					220				
Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys						
225					230										

抗基质金属蛋白酶9人类化重链

AB0041	QVQLKESGPG LVAPSQSLST	TCTVSGFSLL	SYGVHWVRQP	PKGLEWLG
重链可变区1	QVQLQESGPG LVKPSSEILSL	TCTVSGFSLL	SYGVHWVRQP	PKGLEWLG
重链可变区2	QVQLQESGPG LVKPSSEILSL	TCTVSGFSLL	SYGVHWVRQP	PKGLEWLG
重链可变区3	QVQLQESGPG LVKPSSEILSL	TCTVSGFSLL	SYGVHWVRQP	PKGLEWLG
重链可变区4	QVQLQESGPG LVKPSSEILSL	TCTVSGFSLL	SYGVHWVRQP	PKGLEWLG
AB0041	INTGGTTNIN SALMSRLSIS	KDDSKSQVFL	KNSLKTDST	AIYYCARYY
重链可变区1	INTGGTTNIN SALMSRLTIS	KDDSKSTVIL	KNSLKTEDT	AIYYCARYY
重链可变区2	INTGGTTNIN SALMSRLTIS	KDDSKNTVIL	KNSLKTEDT	AIYYCARYY
重链可变区3	INTGGTTNIN SALMSRETTIS	KDDSKNTVIL	KNSLKTEDT	AIYYCARYY
重链可变区4	INTGGTTNIN SALMSRETTIS	KDDSKNTVIL	KNSLKTEDT	AIYYCARYY
AB0041	GMDYWGQGIS	VTVSS	(SEQ ID NO:3)	
重链可变区1	GMDYWGQGIS	VTVSS	(SEQ ID NO:5)	
重链可变区2	GMDYWGQGIS	VTVSS	(SEQ ID NO:6)	
重链可变区3	GMDYWGQGIS	VTVSS	(SEQ ID NO:7)	
重链可变区4	GMDYWGQGIS	VTVSS	(SEQ ID NO:8)	

图 1

抗基质金属蛋白酶9人类化轻链

AB0041	DIVMTQSHKF	MSTSVGDRVS	ITCKASQDVR	NTVAVYQOKI	NTVAVYQOKI	QOSP KLLIYS
Vk1	DIVMTQSESP	LSASVGDRVT	ITCKASQDVR	NTVAVYQOKI	NTVAVYQOKI	GNAP KLLIYS
Vk2	DIVMTQSESS	LSASVGDRVT	ITCKASQDVR	NTVAVYQOKI	NTVAVYQOKI	GNAP KLLIYS
Vk3	DIVMTQSESS	LSASVGDRVT	ITCKASQDVR	NTVAVYQOKI	NTVAVYQOKI	GNAP KLLIYS
Vk4	DIVMTQSESS	LSASVGDRVT	ITCKASQDVR	NTVAVYQOKI	NTVAVYQOKI	GNAP KLLIYS
AB0041	SSYRNITGVPD	RFTSGSGTD	FTFTISSVQA	EDVAVYFCQ	EDVAVYFCQ	HYTPTPTFGG
Vk1	SSYRNITGVPD	RFTSGSGTD	FTFTISSVQA	EDVAVYFCQ	EDVAVYFCQ	HYTPTPTFGG
Vk2	SSYRNITGVPD	RFTSGSGTD	FTFTISSVQA	EDVAVYFCQ	EDVAVYFCQ	HYTPTPTFGG
Vk3	SSYRNITGVPD	RFTSGSGTD	FTFTISSVQA	EDVAVYFCQ	EDVAVYFCQ	HYTPTPTFGG
Vk4	SSYRNITGVPD	RFTSGSGTD	FTFTISSVQA	EDVAVYFCQ	EDVAVYFCQ	HYTPTPTFGG
AB0041	GTKLEIK	(SEQ ID NO:4)				
Vk1	GTKVEIK	(SEQ ID NO:9)				
Vk2	GTKVEIK	(SEQ ID NO:10)				
Vk3	GTKVEIK	(SEQ ID NO:11)				
Vk4	GTKVEIK	(SEQ ID NO:12)				

图 2

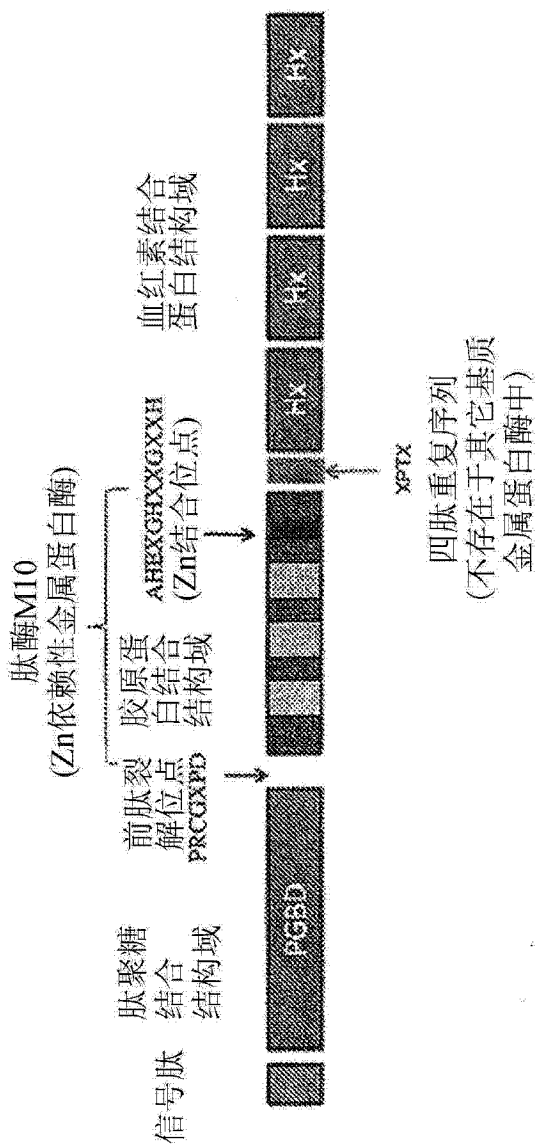


图 3

轻链		信号肽	互补决定区L1	互补决定区L2
M4	AB0041	MESQI QVFVFVFL LVL SGVDGDI VMTQSHKF MFTSVGDRVSI TCKASQDV RNTVAVW QOKTQSPKLLI YSAGYRNTGVPO		
M12		... QVFVYML LVL SGVDGDI VMTQSQKF MSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAVW QOKPQSPKALI YSA SYRF SGVPO		
轻链		信号肽	互补决定区L3	恒定区
M4	AB0041	RFTQSI SGTDFTFI SSVOAEDLALVYQQCHYSTPYTF GQOTKLEVNRA DAAPTYSI FFPSTRDPRAN		
M12		RFTQSGSGTDFTFI SSVOAEDLAVYFQQCHYI IPYTF GQGTKLEI KRADAAPTYSI FFPSTRDPRAN		
M4	AB0041	MAVLVLF LCLVAFPSCVL SGVQLKESG POLVAPSSLSI ICTVSGF SLLSYGVHW/RQPPQKGLEW LGVI WFGGSTWYN8	互补决定区L1	互补决定区L2
M12		MAVLVLF LCLVAFPSCVL SGVQLKESG POLVAPSSLSI ICTVSGF SLLSYGVHW/RQPPQKGLEW LGVI WFGGTTNYN8	互补决定区L3	免疫球蛋白G2b恒定区
M4	AB0041	ALMSRLSI SKDDSKSGVFL KMNSLQTDOTAI YYCARYYYCNDYWGQGT SVTVSSAKTTTPPSVYFLAPGCGDTTQSSVTLG		
M12		ALMSRLSI SKDDSKSGVFL KMNSLQTDOTAI YYCARYYYCNDYWGQGT SVTVSSAKTTTPPSVYFLAPGCGDTTQSSVTLG		
M4	AB0041	CLVKGYFPESVTVTWNSGSL		
M12		CLVKGYFPESVTVTWNSGSL		

图4:AB0041、M4及M12重链和轻链之间的比较