



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104271599 A

(43) 申请公布日 2015. 01. 07

(21) 申请号 201280055008. 7

ATCC PTA-5399 2003. 08. 08

(22) 申请日 2012. 11. 02

ATCC PTA-5400 2003. 08. 08

(30) 优先权数据

61/557, 175 2011. 11. 08 US

(71) 申请人 辉瑞公司

地址 美国纽约

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 05. 08

(72) 发明人 M·黑根 D·A·扬 H·M·瓜伊

K·杜努西-约安诺普洛斯

S·斯里达拉恩 A·迪尔

G·科梅尔 M·M·奥图尔

J·E·毕比 R·福格尔

M·宏科扎兰克 D·贝德勒

P·S·雷迪 D·J·沃沙克

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2012/056125 2012. 11. 02

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/068902 EN 2013. 05. 16

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 左路 林晓红

(83) 生物保藏信息

ATCC PTA-5401 2003. 08. 08

ATCC PTA-5390 2003. 08. 08

ATCC PTA-5391 2003. 08. 08

ATCC PTA-5392 2003. 08. 08

ATCC PTA-5393 2003. 08. 08

ATCC PTA-5394 2003. 08. 08

ATCC PTA-5395 2003. 08. 08

ATCC PTA-5396 2003. 08. 08

ATCC PTA-5397 2003. 08. 08

ATCC PTA-5398 2003. 08. 08

(51) Int. Cl.

C07K 16/24 (2006. 01)

A61K 39/395 (2006. 01)

A61P 29/00 (2006. 01)

权利要求书6页 说明书88页

序列表80页 附图36页

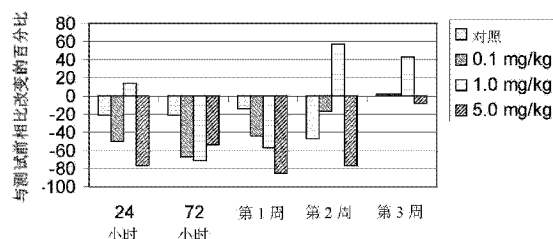
(54) 发明名称

使用抗 M-CSF 抗体治疗炎性疾病的方法

(57) 摘要

本发明涉及抗体及其抗原结合部分,其特异性结合 M-CSF,优选地人 M-CSF,并抑制 M-CSF。本发明还涉及人抗 M-CSF 抗体及其抗原结合部分。本发明的抗体是嵌合抗体、双特异性抗体、衍生化抗体、单链抗体或是融合蛋白的一部分。本发明还涉及衍生自人抗 M-CSF 抗体的分离的重链和轻链免疫球蛋白和编码此类免疫球蛋白的核酸分子。本发明还涉及制备人抗 M-CSF 抗体、包含这些抗体的组合物的方法,以及使用所述抗体和组合物进行诊断和治疗的方法。本发明还提供使用编码包含人抗 M-CSF 抗体的重链和 / 或轻链免疫球蛋白分子的核酸分子的基因治疗方法。本发明还涉及包含本发明的核酸分子的转基因动物和转基因植物。

给予抗-MCSF 抗体 8.10.3 的雄性猴中的单核细胞计数的改变



1. 一种治疗狼疮的方法,其包括给有需要的个体施用治疗有效量的特异性结合 M-CSF 的人单克隆抗体或其抗原结合部分。

2. 权利要求 1 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分具有以下特性中的至少一种:

- a) 结合人 M-CSF 的分泌亚型和 M-CSF 的膜结合亚型;
- b) 对 M-CSF 的选择性是其对 GM-CSF 或 G-CSF 的选择性的至少 100 倍;
- c) 以 $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ 或更低的 K_D 结合 M-CSF;
- d) 对 M-CSF 的解离速率 (k_{off}) 为 $2.0 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ 或更小;或
- e) 在存在人 c-fms 的情况下结合人 M-CSF。

3. 权利要求 2 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分阻断与 c-fms 的结合并以 $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ 或更低的 K_D 结合 M-CSF。

4. 权利要求 1 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分具有以下特性中的至少一种:

a) 与选自如下一组的抗体交叉竞争结合 M-CSF: 抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1;

b) 与选自如下一组的抗体竞争结合 M-CSF: 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1;

c) 与选自如下一组的抗体结合 M-CSF 的相同的表位: 抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1;

d) 以与选自如下一组的抗体基本上相同的 K_D 结合 M-CSF: 抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1; 和

e) 以与选自如下一组的抗体基本上相同的解离速率结合 M-CSF: 抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1。

5. 权利要求 1 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分选自以下一组:

a) 抗体,其包含 SEQ ID NO:2 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:4 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

b) 抗体,其包含 SEQ ID NO:6 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:8 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

c) 抗体,其包含 SEQ ID NO:10 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:12 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

d) 抗体,其包含 SEQ ID NO:14 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:16 所示的轻链氨

基酸序列,但不具有信号序列;

e) 抗体,其包含 SEQ ID NO:18 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:20 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

f) 抗体,其包含 SEQ ID NO:22 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:24 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

g) 抗体,其包含 SEQ ID NO:26 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:28 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

h) 抗体,其包含 SEQ ID NO:38 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:28 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

i) 抗体,其包含 SEQ ID NO:54 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:56 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

j) 抗体,其包含 SEQ ID NO:74 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:56 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

k) 抗体,其包含 SEQ ID NO:78 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:56 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

l) 抗体,其包含 SEQ ID NO:82 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:28 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

m) 抗体,其包含 SEQ ID NO:102 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:28 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

n) 抗体,其包含 SEQ ID NO:30 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:32 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

o) 抗体,其包含 SEQ ID NO:30 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:44 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

p) 抗体,其包含 SEQ ID NO:58 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:60 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

q) 抗体,其包含 SEQ ID NO:62 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:60 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

r) 抗体,其包含 SEQ ID NO:90 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:44 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

s) 抗体,其包含 SEQ ID NO:94 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:60 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

t) 抗体,其包含 SEQ ID NO:98 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:32 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

u) 抗体,其包含 SEQ ID NO:34 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:36 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

v) 抗体,其包含 SEQ ID NO:46 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:48 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

w) 抗体,其包含 SEQ ID NO:50 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:52 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

x) 抗体,其包含 SEQ ID NO:66 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:52 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;

y) 抗体,其包含 SEQ ID NO:70 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:52 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列;和

z) 抗体,其包含 SEQ ID NO:86 所示的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO:48 所示的轻链氨基酸序列,但不具有信号序列。

6. 权利要求 1 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分包含:

a) 重链 CDR1、CDR2 和 CDR3,其独立地选自如下一组的抗体的重链:单克隆抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1;或

b) 轻链 CDR1、CDR2 和 CDR3,其独立地选自如下一组的抗体的轻链:单克隆抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1。

7. 权利要求 1 的方法,其中:

a) 所述抗体或抗原结合部分包含选自如下一组的抗体的重链 CDR1、CDR2 和 CDR3:抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1;

b) 所述抗体或抗原结合部分包含选自如下一组的抗体的重链 CDR1、CDR2 和 CDR3:抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1;

c) 所述抗体包含 (a) 的重链和 (b) 的轻链;或

d) 所述抗体或抗原结合部分包含 (a) 的重链和 (b) 的轻链,其中所述重链和轻链 CDR 氨基酸序列选自同一抗体。

8. 权利要求 1 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分包含:

a) 重链,其包含选自如下一组的抗体的重链中从 CDR1 起始处至 CDR3 结束处的氨基酸序列:抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1;

b) 轻链,其包含选自如下一组的抗体的从 CDR1 起始处至 CDR3 结束处的氨基酸序列:抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1;

c) (a) 的重链和 (b) 的轻链;或

d) (a) 的重链和 (b) 的轻链, 其中所述重链和轻链序列选自同一抗体。

9. 权利要求 1 的方法, 其中所述单克隆抗体或抗原结合部分包含:

a) 选自如下一组的抗体的重链可变区 (VH) 氨基酸序列: 抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1, 但不具有信号序列;

b) 选自如下一组的抗体的轻链可变区 (VL) 氨基酸序列: 抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1, 但不具有信号序列;

c) (a) 的 VH 氨基酸序列和 (b) 的 VL 氨基酸序列; 或

d) (a) 的 VH 氨基酸序列和 (b) 的 VL 氨基酸序列, 其中所述 VH 和 VL 来自同一抗体。

10. 权利要求 1 的方法, 其中所述抗体或抗原结合部分包含选自如下一组的抗体的一或多个 FR1、FR2、FR3 或 FR4 氨基酸序列: 抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 和 9.14.4G1。

11. 权利要求 1-10 中任一项的方法, 其中所述抗体或抗原结合部分的重链无 C 末端赖氨酸。

12. 权利要求 1 的方法, 其中所述抗体包含:

a) 重链氨基酸序列, 其与单克隆抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的重链氨基酸序列具有至少 90% 的相同性, 但不具有信号序列;

b) 轻链氨基酸序列, 其与单克隆抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的轻链氨基酸序列具有至少 90% 的相同性, 但不具有信号序列; 或

c) (a) 的重链氨基酸序列和 (b) 的轻链氨基酸序列。

13. 权利要求 1 的方法, 其中所述抗体或抗原结合部分包含:

a) 重链氨基酸序列, 其与单克隆抗体 8.10.3F 的重链氨基酸序列具有至少 90% 的相同性, 但不具有信号序列;

b) 轻链氨基酸序列, 其与单克隆抗体 8.10.3F 的轻链氨基酸序列具有至少 90% 的相同性;

c) (a) 的重链氨基酸序列和 (b) 的轻链氨基酸序列; 或

d) 重链氨基酸序列和轻链氨基酸序列,它们一起与抗体 8.10.3F 的重链氨基酸序列和轻链氨基酸序列具有至少 90% 的相同性。

14. 权利要求 13 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分的重链氨基酸序列与单克隆抗体 8.10.3F 的重链氨基酸序列具有至少 95% 的相同性,但不具有信号序列。

15. 权利要求 13 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分的轻链氨基酸序列与单克隆抗体 8.10.3F 的轻链氨基酸序列具有至少 95% 的相同性,但不具有信号序列。

16. 权利要求 13 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分的重链氨基酸序列和轻链氨基酸序列两者一起与单克隆抗体 8.10.3F 的重链氨基酸序列和轻链氨基酸序列具有至少 95% 的相同性,但不具有信号序列。

17. 权利要求 13 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分的重链氨基酸序列与单克隆抗体 8.10.3F 的重链氨基酸序列具有至少 97% 的相同性,但不具有信号序列。

18. 权利要求 13 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分的轻链氨基酸序列与单克隆抗体 8.10.3F 的轻链氨基酸序列具有至少 97% 的相同性,但不具有信号序列。

19. 权利要求 13 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分的重链氨基酸序列和轻链氨基酸序列两者一起与单克隆抗体 8.10.3F 的重链氨基酸序列和轻链氨基酸序列具有至少 97% 的相同性,但不具有信号序列。

20. 权利要求 1 的方法,其中所述抗体是单克隆抗 M-CSF 抗体 8.10.3F。

21. 权利要求 1 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分包含抗体 8.10.3F 的重链 CDR1、CDR2、CDR3 和轻链 CDR1、CDR2、CDR3。

22. 权利要求 1 的方法,其中所述抗体或抗原结合部分包含抗体 8.10.3F 的可变重链和可变轻链部分。

23. 权利要求 1 的方法,其中所述狼疮是系统性红斑狼疮 (SLE)。

24. 权利要求 1 的方法,其中所述狼疮是狼疮性肾炎。

25. 权利要求 1 的方法,其中所述狼疮是皮肤狼疮。

26. 权利要求 1 的方法,其中通过检查患者情况的改变来确定抗 M-CSF 抗体治疗狼疮的功效,所述情况选自症状、生物学标记物、组织学样品和生理条件。

27. 权利要求 26 的方法,其中检查患者选自以下一组的情况改变:皮肤损害、蛋白尿、淋巴结病、血清 M-CSF 水平、抗 dsDNA 抗体水平、CD14+CD16+ 单核细胞群、骨细胞标记物和肾脏病理学。

28. 权利要求 27 的方法,其中通过检查选自以下一组的情况来确定肾脏病理学:巨噬细胞浸润、炎性浸润、蛋白管型、肾小球簇大小、肾小球 IgG 沉积和 C3 沉积。

29. 权利要求 26 的方法,其中可检查患者选自以下一组的一或多种生物学标记物的改变:表 1C 中的基因、红细胞沉降率 (ESR)、C- 反应蛋白 (CRP)、补体 (C3/C4)、Ig 水平 (IgA、IgM、IgG)、抗核抗体 (ANA)、可提取性核抗原 (ENA) 和抗 dsDNA 抗体。

30. 权利要求 1-23 任一项的抗 M-CSF 抗体在治疗有需要的患者的狼疮中的用途。

31. 权利要求 30 的用途,其中所述狼疮是 SLE。

32. 权利要求 30 的用途,其中所述狼疮是狼疮性肾炎。

33. 权利要求 30 的用途,其中所述狼疮是皮肤狼疮。

34. 权利要求 1-23 任一项的抗 M-CSF 抗体在制备治疗狼疮的药物中的用途。

35. 权利要求 34 的用途,其中所述狼疮是 SLE。
36. 权利要求 34 的用途,其中所述狼疮是狼疮性肾炎。
37. 权利要求 34 的用途,其中所述狼疮是皮肤狼疮。

使用抗 M-CSF 抗体治疗炎性疾病的方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求 2011 年 11 月 8 日提交的美国临时申请 No. 61/557, 175 的权益, 其全部内容通过引用并入本申请。

[0003] 发明背景

[0004] 巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF) 是称为集落刺激因子 (CSF) 的蛋白质家族的成员。M-CSF 是分泌型的或细胞表面的糖蛋白, 其由通过二硫键连接的两个亚基组成, 总分子量为 40-90kD (Stanley E. R., et al., Mol. Reprod. Dev., 46:4-10 (1997))。类似于其他 CSF, M-CSF 由巨噬细胞、单核细胞和人关节组织细胞例如软骨细胞和滑膜成纤维细胞等应答于例如白介素-1 或肿瘤坏死因子 α 等蛋白质而产生。M-CSF 刺激多能造血前体干细胞形成巨噬细胞集落 (Stanley E. R., et al., Mol. Reprod. Dev., 46:4-10 (1997))。

[0005] M-CSF 典型地结合其受体 c-fms 而发挥其生物学效应。c-fms 含有五个细胞外 Ig 结构域, 一个跨膜结构域和具有两个激酶结构域的细胞内结构域。M-CSF 结合 c-fms 之后, 受体发生同二聚化并启动一连串信号转导途径, 包括 JAK/STAT、PI3K 和 ERK 途径。

[0006] M-CSF 是单核细胞 / 巨噬细胞功能、活化和存活的重要调节物。多种动物模型已经证实了 M-CSF 参与多种疾病, 包括类风湿性关节炎 (RA) 和癌症。巨噬细胞是 RA 中的关键效应细胞。已经发现 RA 中滑膜的巨噬细胞浸润程度与潜在的关节破坏程度密切相关。由单核细胞 / 巨噬细胞、成纤维细胞和内皮细胞在类风湿关节中内源性产生的 M-CSF 作用于单核细胞 / 巨噬细胞系列的细胞, 促进它们的存活并分化为具有骨破坏性的破骨细胞, 并增强促炎性细胞功能, 例如细胞毒性、过氧化物产生、吞噬作用、趋化作用和产生次级细胞因子。例如, 以 M-CSF 处理无乳链球菌超声处理物诱导的实验性关节炎大鼠模型导致加重的病理学表现 (Abd, A. H., et al., Lymphokine Cytokine Res. 10:43-50 (1991))。类似地, 给胶原诱导的关节炎 (CIA) 小鼠模型 (其是一种 RA 模型) 皮下注射 M-CSF, 导致 RA 疾病症状明显加重 (Campbell I. K., et al., J. Leuk. Biol. 68:144-150 (2000))。不仅如此, 对 RA 和其他自身免疫性疾病高度易感的 MRL/lpr 小鼠具有升高的基线 M-CSF 血清浓度 (Yui M. A., et al., Am. J. Pathol. 139:255-261 (1991))。通过使用 M-CSF 中和性小鼠单克隆抗体显著降低了已建立的疾病的严重程度, 证实了内源性 M-CSF 对于维持 CIA 是必需的这一事实 (Campbell I. K., et al., J. Leuk. Biol. 68:144-150 (2000))。

[0007] 对于癌症, 在小鼠中用反义寡核苷酸抑制集落刺激因子, 通过减慢巨噬细胞介导的 ECM 破坏抑制了胚胎和结肠肿瘤异种移植物的肿瘤生长 (Seyedhossein, A., et al., Cancer Research, 62:5317-5324 (2002))。

[0008] M-CSF 结合于 c-fms 并随后活化单核细胞 / 巨噬细胞, 这在多种疾病状态中具有重要性。除了 RA 和癌症, M-CSF 相关疾病状态的其他实例包括骨质疏松、破坏性关节炎、动脉粥样化形成、肾小球肾炎、川崎病、HIV-1 感染, 在这些疾病中, 单核细胞 / 巨噬细胞和有关细胞类型发挥了作用。例如, 破骨细胞类似于巨噬细胞, 并在一定程度上受到 M-CSF 的调控。在破骨细胞成熟的初始阶段, M-CSF 所诱导的生长和分化信号对于其随后在骨骼中发挥破骨活性是必需的。

[0009] 破骨细胞介导的骨丢失,既可以是局灶性骨侵蚀,也可以是更加弥漫性的近关节处骨质疏松的形式,其是 RA 的难以解决的主要问题。这种骨丢失的后果包括关节变形、功能丧失、骨折风险增加和死亡率升高。M-CSF 对于破骨细胞形成具有独特的必要性,在关节炎动物模型中实验性阻断该细胞因子成功地消除了关节破坏。已知类似的破坏途径也在其他形式的破坏性关节炎例如牛皮癣性关节炎中发挥作用,并可能代表了类似的干预措施的靶点。

[0010] 绝经后骨丢失继发于因雌激素缺乏所导致的破骨细胞介导的过度骨再吸收且骨形成不足的缺陷型骨重塑。在小鼠中已经发现,使用阻断性抗体体内中和 M-CSF 可完全防止卵巢切除术所诱导的破骨细胞数量升高、骨吸收升高和随后的骨丢失。

[0011] 一些线索表明, M-CSF 在动脉粥样硬化形成以及动脉壁机械创伤后的增殖性内膜增生中发挥核心作用。已经发现,粥样硬化病变中的所有主要细胞类型均表达 M-CSF,并且暴露于氧化的脂蛋白可使之进一步上调。使用中和性 c-fms 抗体阻断 M-CSF 信号途径,降低了巨噬细胞衍生的泡沫细胞在以高脂饮食饲养的载脂蛋白 E 缺陷小鼠的主动脉根部的聚集。

[0012] 在实验性肾小球肾炎和人肾小球肾炎中均发现,肾小球 M-CSF 表达与局部巨噬细胞聚集、活化和增殖共定位,并与肾小球损伤和蛋白尿的程度相关。通过使用针对其受体 c-fms 的抗体阻断 M-CSF 信号途径,显著下调了小鼠中实验性单侧输尿管结扎所诱导的肾脏炎症反应过程中的局部巨噬细胞聚集。

[0013] 川崎病 (KD) 是一种原因不明的急性发热性小儿血管炎。其最常见和严重的并发症累及冠状血管,表现为动脉瘤扩张。川崎病的急性期,血清 M-CSF 水平显著升高,在静脉输注免疫球蛋白治疗后正常。巨细胞动脉炎 (GCA) 是一种炎性血管病变,主要出现在老年患者,其中 T 细胞和巨噬细胞浸润中等和大动脉壁,引起包括继发于动脉阻塞的失明和中风等临床后果。在血管病变处存在升高水平的来自巨噬细胞的炎性介质是巨噬细胞活跃参与 GCA 的证据。

[0014] 已经报道了 M-CSF 导致人单核细胞来源的巨噬细胞在体外更加易感于 HIV-1 感染。近期研究发现, M-CSF 增加了单核细胞来源的巨噬细胞被感染的频率、每个感染细胞所表达的 HIV mRNA 的量以及每个感染培养物所表达的原病毒 DNA 水平。

[0015] 鉴于 M-CSF 在各种疾病中的作用,亟需抑制 M-CSF 活性的方法。

[0016] 迫切需要治疗性抗 M-CSF 抗体。

发明内容

[0017] 本发明提供分离的特异性结合人 M-CSF 并作为 M-CSF 拮抗剂的人抗体或其抗原结合部分以及包含所述抗体或部分的组合物。

[0018] 本发明还提供组合物,其包含有效用于此种治疗的抗 M-CSF 抗体的重链和 / 或轻链、其可变区、或其抗原结合部分,或编码本发明的抗体、抗体链或其可变区的核酸分子,以及药用可接受载体。在某些实施方式中,所述组合物可进一步包含其他组分,例如治疗剂或诊断剂。本发明还提供诊断和治疗方法。在某些实施方式中,所述组合物以治疗或预防特定疾病或病症所需的治疗有效量使用。

[0019] 本发明还提供以有效量的本发明的抗 M-CSF 抗体或其抗原结合部分、编码所述抗体或其重链和 / 或轻链、可变区或抗原结合部分的核酸治疗或预防多种疾病和病症的方

法,例如但不限于,狼疮、炎症、癌症、动脉粥样化形成、神经系统疾病和心脏病。

[0020] 本发明提供产生抗 M-CSF 抗体或其抗原结合部分的分离的细胞系,例如杂交瘤。

[0021] 本发明还提供编码抗 M-CSF 抗体的重链和 / 或轻链、其可变区、或其抗原结合部分的核酸分子。

[0022] 本发明提供包含所述核酸分子的载体和宿主细胞、以及重组产生由所述核酸分子编码的多肽的方法。

[0023] 本发明还提供表达所述抗 M-CSF 抗体的重链和 / 或轻链或其抗原结合部分的非人转基因动物或植物。

[0024] 本申请以及公开号为 W02005/030124 的 PCT 申请 PCT/US2004/029390 详细描述了所述抗 M-CSF 抗体或其抗原结合部分、组合物、细胞系、核酸分子、载体、宿主细胞和是用所述抗 M-CSF 抗体治疗或预防疾病的方法,通过引用将该 PCT 申请的全部内容并入本申请。

附图说明

[0025] 图 1A 和 1B 显示了抗 M-CSF 抗体随时间以剂量相关的方式降低雄猴和雌猴的总单核细胞计数。使用 Abbott Diagnostics Inc. Cell Dyn system 通过光散射方法确定单核细胞计数。以 3.79mL/kg 的剂量体积在大约 5 分钟时间内施用空载体或抗体 8.10.3 (0、0.1、1 或 5mg/kg), 监测施用后 24 小时至 3 周的单核细胞计数。

[0026] 图 1A 雄猴。

[0027] 图 1B 雌猴。

[0028] 图 2A 和 2B 显示了抗 M-CSF 抗体处理降低雄猴和雌猴的 CD14+CD16+ 单核细胞百分比。以 3.79mL/kg 的剂量体积在大约 5 分钟时间内施用空载体或抗体 8.10.3 (0、0.1、1 或 5mg/kg), 施用后 0-21 天。对每只测试的猴子, 在注射 8.10.3 后的 1、3、7、14 和 21 天测定 CD14+CD16+ 亚群内的单核细胞百分比。

[0029] 图 2A 雄猴。

[0030] 图 2B 雌猴。

[0031] 图 3A 和 3B 显示了与单核细胞的测试前水平相比, 使用抗体 8.10.3F 和抗体 9.14.4I 的抗 M-CSF 处理在所有剂量上均降低了总单核细胞的百分比改变。

[0032] 图 3A 显示了使用抗体 8.10.3F 得到的实验数据。

[0033] 图 3B 显示了使用抗体 9.14.4I 得到的实验数据。

[0034] 图 4 是来自 26 种抗 M-CSF 抗体的轻链和重链可变区的推定的氨基酸序列与相应的可变区基因的种系氨基酸序列相比的序列比对。抗体序列与种系基因序列之间的差异以粗体字显示。破折号表示与种系相比无改变。每一比对中以下划线标出的序列从左到右代表 FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3 和 FR4 的序列。

[0035] 图 4A 显示了抗体 252 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:4 的残基 21-127) 与种系 V_κ012, J_κ3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0036] 图 4B 显示了抗体 88 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:8 的残基 21-127) 与种系 V_κ012, J_κ3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0037] 图 4C 显示了抗体 100 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:12 的残基 21-127) 与种系 V_κL2, J_κ3 序列 (SEQ ID NO:107) 之间的比对。

[0038] 图 4D 显示了抗体 3.8.3 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:16 的残基 23-130) 与种系 V_k L5, J_k 3 序列 (SEQ ID NO:109) 之间的比对。

[0039] 图 4E 显示了抗体 2.7.3 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:20 的残基 23-130) 与种系 V_k L5, J_k 4 序列 (SEQ ID NO:117) 之间的比对。

[0040] 图 4F 显示了抗体 1.120.1 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:24 的残基 21-134) 与种系 V_k B3, J_k 1 序列 (SEQ ID NO:112) 之间的比对。

[0041] 图 4G 显示了抗体 252 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:2 的残基 20-136) 与种系 V_H 3-11, D_H 7-27 J_H 6 序列 (SEQ ID NO:106) 之间的比对。

[0042] 图 4H 显示了抗体 88 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:6 的残基 20-138) 与种系 V_H 3-7, D_H 6-13, J_H 4 序列 (SEQ ID NO:105) 之间的比对。

[0043] 图 4I 显示了抗体 100 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:10 的残基 20-141) 与种系 V_H 3-23, D_H 1-26, J_H 4 序列 (SEQ ID NO:104) 之间的比对。

[0044] 图 4J 显示了抗体 3.8.3 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:14 的残基 20-135) 与种系 V_H 3-11, D_H 7-27, J_H 4 序列 (SEQ ID NO:108) 之间的比对。

[0045] 图 4K 显示了抗体 2.7.3 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:18 的残基 20-137) 与种系 V_H 3-33, D_H 1-26, J_H 4 序列 (SEQ ID NO:110) 之间的比对。

[0046] 图 4L 显示了抗体 1.120.1 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:22 的残基 20-139) 与种系 V_H 1-18, D_H 4-23, J_H 4 序列 (SEQ ID NO:111) 之间的比对。

[0047] 图 4M 显示了抗体 8.10.3 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:44 的残基 21-129) 与种系 V_k A27, J_k 4 序列 (SEQ ID NO:114) 之间的比对。

[0048] 图 4N 显示了抗体 8.10.3 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:30 的残基 20-141) 与种系 V_H 3-48, D_H 1-26, J_H 4b 序列 (SEQ ID NO:113) 之间的比对。

[0049] 图 4O 显示了抗体 9.14.4 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:28 的残基 23-130) 与种系 V_k 012, J_k 3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0050] 图 4P 显示了抗体 9.14.4 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:38 的残基 20-135) 与种系 V_H 3-11, D_H 7-27, J_H 4b 序列 (SEQ ID NO:116) 之间的比对。

[0051] 图 4Q 显示了抗体 9.7.2 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:48 的残基 23-130) 与种系 V_k 012, J_k 3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0052] 图 4R 显示了抗体 9.7.2 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:46 的残基 20-136) 与种系 V_H 3-11, D_H 6-13, J_H 6b 序列 (SEQ ID NO:115) 之间的比对。

[0053] 图 4S 显示了抗体 9.14.4I 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:28 的残基 23-130) 与种系 V_k 012 J_k 3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0054] 图 4T 显示了抗体 9.14.4I 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:26 的残基 20-135) 与种系 V_H 3-11, D_H 7-27, J_H 4b 序列 (SEQ ID NO:116) 之间的比对。

[0055] 图 4U 显示了抗体 8.10.3F 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:32 的残基 21-129) 与种系 V_k A27, J_k 4 序列 (SEQ ID NO:114) 之间的比对。

[0056] 图 4V 显示了抗体 8.10.3F 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:30 的残基 20-141) 与种系 V_H 3-48, D_H 1-26, J_H 4b 序列 (SEQ ID NO:113) 之间的比对。

[0057] 图 4W 显示了抗体 9.7.2IF 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:36 的

残基 23-130) 与种系 V_k 012, J_k 3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0058] 图 4X 显示了抗体 9. 7. 2IF 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:34 的残基 20-136) 与种系 V_H3-11, D_H6-13, J_H6b 序列 (SEQ ID NO:115) 之间的比对。

[0059] 图 4Y 显示了抗体 9. 7. 2C-Ser 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:52 的残基 23-130) 与种系 V_k 012, J_k 3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0060] 图 4Z 显示了抗体 9. 7. 2C-Ser 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:50 的残基 20-136) 与种系 V_H3-11, D_H6-13, J_H6b 序列 (SEQ ID NO:115) 之间的比对。

[0061] 图 4AA 显示了抗体 9. 14. 4C-Ser 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:56 的残基 23-130) 与种系 V_k 012, J_k 3 序列 (SEQ ID NO:103)。

[0062] 图 4BB 显示了抗体 9. 14. 4C-Ser 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:54 的残基 20-135) 与种系 V_H3-11, D_H7-27, J_H4b 序列 (SEQ ID NO:116) 之间的比对。

[0063] 图 4CC 显示了抗体 8. 10. 3C-Ser 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:60 的残基 21-129) 与种系 V_k A27, J_k 4 序列 (SEQ ID NO:114) 之间的比对。

[0064] 图 4DD 显示了抗体 8. 10. 3C-Ser 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:58 的残基 20-141) 与种系 V_H3-48, D_H1-26, J_H4b 序列 (SEQ ID NO:113) 之间的比对。

[0065] 图 4EE 显示了抗体 8. 10. 3-CG2 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:60 的残基 21-129) 与种系 V_k A27, J_k 4 序列 (SEQ ID NO:114) 之间的比对。

[0066] 图 4FF 显示了抗体 8. 10. 3-CG2 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:62 的残基 20-141) 与种系 V_H3-48, D_H1-26, J_H4b 序列 (SEQ ID NO:113) 之间的比对。

[0067] 图 4GG 显示了抗体 9. 7. 2-CG2 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:52 的残基 23-130) 与种系 V_k 012, J_k 3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0068] 图 4HH 显示了抗体 9. 7. 2-CG2 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:66 的残基 20-136) 与种系 V_H3-11, D_H6-13, J_H6b 序列 (SEQ ID NO:115) 之间的比对。

[0069] 图 4II 显示了抗体 9. 7. 2-CG4 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:52 的残基 23-130) 与种系 V_k 012, J_k 3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0070] 图 4JJ 显示了抗体 9. 7. 2-CG4 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:70 的残基 20-135) 与种系 V_H3-11, D_H6-13, J_H6b 序列 (SEQ ID NO:115) 之间的比对。

[0071] 图 4KK 显示了抗体 9. 14. 4-CG2 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:56 的残基 23-130) 与种系 V_k 012, J_k 3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0072] 图 4LL 显示了抗体 9. 14. 4-CG2 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:74 的残基 20-135) 与种系 V_H3-11, D_H7-27, J_H4b 序列 (SEQ ID NO:116) 之间的比对。

[0073] 图 4MM 显示了抗体 9. 14. 4-CG4 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:56 的残基 23-130) 与种系 V_k 012, J_k 3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0074] 图 4NN 显示了抗体 9. 14. 4-CG4 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:78 的残基 20-135) 与种系 V_H3-11, D_H7-27, J_H4b 序列 (SEQ ID NO:116) 之间的比对。

[0075] 图 400 显示了抗体 9. 14. 4-Ser 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:28 的残基 23-130) 与种系 V_k 012, J_k 3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0076] 图 4PP 显示了抗体 9. 14. 4-Ser 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:82 的残基 20-135) 与种系 V_H3-11, D_H7-27, J_H4b 序列 (SEQ ID NO:116) 之间的比对。

[0077] 图 4QQ 显示了抗体 9.7.2-Ser 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:48 的残基 23-130) 与种系 V_k012, J_k3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0078] 图 4RR 显示了抗体 9.7.2-Ser 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:86 的残基 20-136) 与种系 V_H3-11, D_H6-13, J_H6b 序列 (SEQ ID NO:115) 之间的比对。

[0079] 图 4SS 显示了抗体 8.10.3-Ser 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:44 的残基 21-129) 与种系 V_kA27, J_k4 序列 (SEQ ID NO:114) 之间的比对。

[0080] 图 4TT 显示了抗体 8.10.3-Ser 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:90 的残基 20-141) 与种系 V_H3-48, D_H1-26, J_H4b 序列 (SEQ ID NO:113) 之间的比对。

[0081] 图 4UU 显示了抗体 8.10.3-CG4 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:60 的残基 21-129) 与种系 V_kA27, J_k4 序列 (SEQ ID NO:114) 之间的比对。

[0082] 图 4VV 显示了抗体 8.10.3-CG4 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:94 的残基 20-141) 与种系 V_H3-48, D_H1-26, J_H4b 序列 (SEQ ID NO:113) 之间的比对。

[0083] 图 4WW 显示了抗体 9.14.4G1 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:28 的残基 23-130) 与种系 V_k012J_k3 序列 (SEQ ID NO:103) 之间的比对。

[0084] 图 4XX 显示了抗体 9.14.4G1 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:102 的残基 20-135) 与种系 V_H3-11, D_H7-27, J_H4b 序列 (SEQ ID NO:116) 之间的比对。

[0085] 图 4YY 显示了抗体 8.10.3FG1 的轻链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:32 的残基 21-129) 与种系 V_kA27, J_k4 序列 (SEQ ID NO:114) 之间的比对。

[0086] 图 4ZZ 显示了抗体 8.10.3FG1 的重链可变区的推定的氨基酸序列 (SEQ ID NO:98 的残基 20-141) 与种系 V_H3-48, D_H1-26, J_H4b 序列 (SEQ ID NO:113) 之间的比对。

[0087] 图 5 显示了抗 M-CSF 抗体对小鼠 MRL-1pr 狼疮模型淋巴结病发展的影响。按照实施例所述,给小鼠 (n = 10/组) 施用盐水 (菱形)、抗 M-CSF Ab5A1 (方形)、CHOCK IgG1 (三角) 或 CTLA-4Ig (X), 3x/周, 共 12 周, 并对淋巴结病评分。* 抗 M-CSF 处理组显著不同于盐水 (p<0.05)。** 抗 M-CSF 处理组显著不同于盐水和 CTLA-4Ig (p<0.05)。抗 M-CSF 组与 CHOCK IgG1 处理组无显著差异 (p = 0.065, 6 周至 12 周)。

[0088] 图 6 显示了抗 M-CSF 抗体对小鼠 MRL-1pr 狼疮模型皮肤病变发展的影响。按照实施例所述,给小鼠 (n = 10/组) 施用盐水 (菱形)、抗 M-CSF Ab5A1 (方形)、CHOCK IgG1 (三角) 或 CTLA-4Ig (X), 3x/周, 共 12 周, 并对皮肤病变评分。* 抗 M-CSF 处理组显著不同于盐水 (p<0.05)。** 抗 M-CSF 处理组显著不同于盐水和 CTLA-4Ig (p<0.05)。抗 M-CSF 组与 CHOCK IgG1 处理组无显著差异 (p = 0.065, 6 周至 12 周)。

[0089] 图 7 显示了抗 M-CSF 抗体对小鼠 MRL-1pr 狼疮模型抗 dsDNA 自身抗体发展的影响。以盐水 (菱形)、CTLA-4Ig (方形)、抗 M-CSF Ab5A1 (三角) 或 CHOCK IgG1 同种型对照 (X) 处理小鼠, 在 4 个时间点测定抗 dsDNA 抗体滴度。* CTLA-4Ig 显著不同于盐水和抗 M-CSF (p<0.05)。** 抗 M-CSF 处理组显著不同于 CHOCK IgG1 (p<0.05)。

[0090] 图 8 显示了抗 M-CSF 抗体对小鼠 MRL-1pr 狼疮模型肾小球核面积和 C3 沉积的影响。在研究结束时收集以盐水、CTLA-4Ig、抗 M-CSF Ab5A1 或 CHOCK IgG1 同种型对照处理的小鼠的肾脏, 显微镜下检查肾小球核面积 (左) 和 C3 沉积免疫组织化学染色 (右)。数据条形代表平均积分, 短线是标准误。

[0091] 图 9 显示了抗 M-CSF 抗体对小鼠 NZBWF1/J 狼疮模型蛋白尿发展的影响。以盐水

(方形)、CHOCK IgG1 同种型对照(三角)或抗 M-CSF 抗体(圆形)处理小鼠,使用以下量表对蛋白尿进行评分:0 = 阴性;1 = 微量;2 = $>30\text{mg/dL}$;3 = $>100\text{mg/dL}$;4 = $>300\text{mg/dL}$;5 = $>2000\text{mg/dL}$ 。图 9A 显示了各组的蛋白尿平均积分,每两周测定一次。图 9B 显示了个体小鼠第 10 周时的蛋白尿积分。

[0092] 图 10 显示了抗 M-CSF 抗体对小鼠 NZBWF1/J 狼疮模型抗 dsDNA 抗体滴度的影响。如实施例所述,以盐水(圆形)、CHOCK IgG1 同种型对照(三角)或抗 M-CSF 抗体(菱形)处理小鼠,通过 ELISA 测定抗 dsDNA 抗体水平。图 10A 显示了第 6 周时的抗体滴度。图 10B 显示了第 10 周时的抗体滴度。

[0093] 图 11 显示了抗 M-CSF 抗体对小鼠 NZBWF1/J 狼疮模型血清 M-CSF 水平的影响。以盐水(圆形)、同种型对照(方形)或抗 M-CSF(三角)处理小鼠,在研究结束时收集血清,通过特异性 ELISA 测定 M-CSF 的血清水平。

[0094] 图 12 显示了抗 M-CSF 抗体对 NZBWF1/J 小鼠肾脏中免疫复合物沉积和巨噬细胞浸润的影响。以盐水、CHOCK IgG1 对照或抗 M-CSF 抗体处理小鼠,条形代表每组评价肾脏免疫组织化学染色积分,短线表示标准误。

[0095] 图 13 显示了给健康对象施用单剂量静脉注射液后平均血清抗体 8.10.3F 浓度随时间的变化。上图和下图分别是线性和半对数刻度。图例是以 mg 表示的抗体剂量。700 小时后的浓度为 0(低于定量低限)或代表 $<3\text{subjects}$ 。

[0096] 图 14 显示了给健康对象施用单剂量静脉注射液后抗体 8.10.3F C_{max} (上图)和 AUC(0- ∞)(下图)的数值。左侧显示了观测值;右侧显示了剂量-标准化值。圆形是个体对象,菱形是算数平均值。

[0097] 图 15 显示了给健康对象施用单剂量 100-mg 静脉注射液后抗体 8.10.3F(空白方形)和 M-CSF(X)的平均浓度。

[0098] 图 16 显示了给健康对象施用单剂量静脉注射液后,在研究的第 28 天时 $\text{CD}14^+16^+$ 单核细胞的剂量应答。

[0099] 图 17 显示了给健康对象施用单剂量 100-mg 静脉注射液后 $\text{CD}14^+16^+$ 的时间应答。

[0100] 图 18 显示了给健康对象施用单剂量 100-mg 静脉注射液后的平均抗体 8.10.3F(空白方形)浓度和 $\text{CD}14^+16^+$ 单核细胞计数(X)。

[0101] 图 19 显示了给健康对象施用单剂量 100-mg 静脉注射液后的平均抗体 8.10.3F 浓度(空白方形)和 uNTX-1(X)。

[0102] 发明详述

[0103] 定义和通用技术

[0104] 除非特别指明,否则本发明中使用的科技术语应具有本领域人员通常理解的含义。此外,除非上下文有要求,否则单数术语应包括多个,且复数术语应包括单个。通常,涉及本申请所述的细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学以及蛋白质和核酸化学和杂交的命名法和技术均是本领域熟知和常用的。

[0105] 除非另有说明,本发明的方法和技术通常根据本领域熟知的常规方法实施,这些常规方法描述于本说明书中所引用和讨论的各种通用的以及更加具体的参考文献中。参见例如 Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989) 和 Ausubel et al., *Current*

Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates(1992), 以及 Harlow and Lane Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1990), 通过引用将这些文献并入本文。酶反应和纯化技术依照生产商的说明书, 以本领域通常采用或本申请所描述的那样进行。涉及本申请所描述的分析化学、有机合成化学以及医学和药物化学的命名法和实验室流程和技术均是本领域所熟知和常用的。采用标准技术进行化合物合成、化合物分析、药物制备、制剂和递送、以及患者治疗。

[0106] 除非另有说明, 否则以下术语应理解为具有如下含义:

[0107] 术语“多肽”涵盖天然的或人工合成的蛋白质、蛋白质片段和蛋白质序列的多肽类似物。多肽可以是单体或多聚体。

[0108] 术语“分离的蛋白质”、“分离的多肽”或“分离的抗体”是指其来源或者衍生来源具有如下 1-4 种特点的蛋白质、多肽或抗体: (1) 与在其天然状态中伴随的天然关联成分不相关, (2) 没有来自相同物种的其它蛋白质, (3) 由不同物种的细胞表达, 或者 (4) 不是天然产生的。因此, 化学合成的多肽或者是在与其从中天然产生的细胞不同的细胞系统中合成的多肽是与其天然关联的成分相“分离的”。也可以通过本领域熟知的分离和蛋白质纯化技术使得蛋白质与其天然关联的成分基本上分开。

[0109] 分离的抗体的实例包括使用 M-CSF 经亲和纯化的抗 M-CSF 抗体、由杂交瘤或其他细胞系体外合成的抗 M-CSF 抗体以及来自转基因小鼠的人抗 M-CSF 抗体。

[0110] 当样品的至少大约 60-75% 呈现出单一多肽时, 该蛋白质或多肽是“基本上纯的”、“基本上均质的”或者“基本上纯化的”。蛋白质或多肽可以是单体或者是多聚体。基本上纯的蛋白质或多肽可典型包含大约 50%、60%、70%、80% 或者 90% w/w 的蛋白质样品, 更通常为大约 95%, 优选是 99% 以上纯的。蛋白质纯度或者均质性可以通过本领域已知的许多手段检测, 如蛋白质样品的聚丙烯酰胺凝胶电泳, 继以本领域熟知的染料对凝胶进行染色观察到单一多肽条带。对于特定的目的, 使用 HPLC 或其他本领域熟知的纯化技术可提供更高的分辨率。

[0111] 术语“多肽片段”在本文中指的是这样的多肽, 其具有氨基端和 / 或羧基端的缺失, 但剩下的氨基酸序列与天然存在的序列中的相应位置相同。在一些实施方式中, 片段的长度为至少 5、6、8 或 10 个氨基酸。在其他一些实施方式中, 片段的长度为至少 14、至少 20、至少 50、或至少 70、80、90、100、150 或 200 个氨基酸。

[0112] 术语“多肽类似物”在本文中指的是这样的多肽, 其包含与氨基酸序列的一部分基本上相同的节段并具有至少一种以下特性: (1) 在合适的结合条件下特异性结合 M-CSF, (2) 能够抑制 M-CSF。

[0113] 典型地, 相对于正常存在的序列, 多肽类似物包含保守性氨基酸取代 (或插入或缺失)。类似物的长度典型地为至少 20 或 25 个氨基酸, 优选地至少 50、60、70、80、90、100、150 或 200 个氨基酸或更长, 且通常可与全长多肽一样长。

[0114] 在某些实施方式中, 所述抗体或其抗原结合部分的氨基酸取代是这样的取代: (1) 其降低对蛋白水解作用的易感性, (2) 其降低对氧化作用的易感性, (3) 其改变形成蛋白复合物的结合亲和力, 或者 (4) 其赋予或改变此类类似物的其他生理化学或功能特性。类似物可包括各种突变蛋白质, 其序列不同于正常存在的肽序列。例如, 可在正常存在的序列中

造成单个或多个氨基酸取代（优选地保守性氨基酸取代），优选地在多肽的形成分子间接接触的结构域之外的部分。

[0115] 保守性氨基酸取代不应明显改变亲本序列的结构特征。例如，置换的氨基酸不应改变形成亲本序列中存在的免疫球蛋白结合结构域的反向平行 β 折叠，或破坏亲本序列特征性的其他类型的二级结构。通常，甘氨酸和脯氨酸类似物不会被用于反向平行 β 折叠中。本领域已知的多肽二级结构和三级结构的实例可参见 *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)) ; *Introduction to Protein Structure* (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N. Y. (1991)) ; 和 Thornton et al., *Nature* 354:105 (1991), 通过引用将上述各文献并入本申请。

[0116] 制药业中经常将非肽类似物用作具有与模板肽相类似的特性的药物。这些类型的非肽化合物称为“肽模拟物”或“模拟肽”。Fauchere, J. *Adv. Drug Res.* 15:29 (1986) ; Veber and Freidinger, *TINS* p. 392 (1985) ; 和 Evans et al., *J. Med. Chem.* 30:1229 (1987), 通过引用将上述各文献并入本申请。通常借助于计算机化的分子建模而开发此类化合物。可使用结构上类似于具有治疗用途的肽的肽模拟物来产生等同的治疗或预防效果。通常，模拟肽在结构上类似范例多肽 (paradigm polypeptide) (即具有所需的生物化学特性或药理学活性的多肽)，例如人抗体，但其一个或多个肽键任选地通过本领域熟知的方法由选自以下一组的键替代： $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{S}-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ （顺式和反式）、 $-\text{COCH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}_2\text{SO}-$ 。也可用相同类型的 D-氨基酸系统地取代共有序列的一个或多个氨基酸（如 D-赖氨酸代替 L-赖氨酸）来生产更稳定的肽。此外，可通过本领域已知的方法产生包含共有序列或基本上相同的共有序列变异的限制性肽 (constrained peptide) (Rizo and Gierasch, *Ann. Rev. Biochem.* 61:387 (1992), 通过引用并入本申请) ; 例如通过加入能形成分子内二硫键使肽环化的内部半胱氨酸残基。

[0117] “抗体”指完整的抗体或抗原结合部分，该抗原结合部分与完整的抗体竞争特异性结合。通常参见 *Fundamental Immunology*, Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N. Y. (1989)) (为所有目的，通过引用将其全部内容并入本申请)。可通过重组 DNA 技术或通过对完整抗体的酶或化学裂解产生抗原结合部分。在一些实施方式中，抗原结合部分包括 Fab、Fab'、 F(ab')_2 、Fd、Fv、dAb 和互补性决定区 (CDR) 片段、单链抗体 (scFv)、嵌合抗体、双特异抗体和包含抗体的至少一部分的多肽，该部分足以使多肽特异性结合抗原。

[0118] 从 N-端至 C-端，成熟的轻链和重链可变结构域都包含 FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3 和 FR4 区。依照 Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)), Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987) 或 Chothia et al., *Nature* 342:878-883 (1989) 的定义给各结构域分配氨基酸。

[0119] 在本文中，以编号命名的抗体是与从具有相同编号的杂交瘤获得的单克隆抗体相同的抗体。例如，单克隆抗体 3.8.3 是与从杂交瘤 3.8.3 获得的抗体相同的抗体。

[0120] 在本文中，Fd 片段指的是由 V_H 和 C_H1 结构域组成的抗体片段； F_V 片段由抗体单臂的 V_L 和 V_H 结构域组成；而 dAb 片段 (Ward et al., *Nature* 341:544-546 (1989)) 由 V_H 结构域组成。

[0121] 在一些实施方式中,抗体是单链抗体(scFv),其中通过合成的连接序列使 V_L 和 V_H 结构域成对以形成单价分子的抗体,所述连接序列能使 V_L 和 V_H 区作为单条蛋白质链而制备(Bird et al., Science242:423-426(1988)和Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA85:5879-5883(1988))。在一些实施方式中,抗体是双特异抗体,即二价抗体,其中 V_H 和 V_L 结构域在单一的多肽链上表达,但使用太短而使得同一链上的两个结构域之间不能形成配对的连接序列,从而迫使结构域与另一条链的互补结构域成对并产生两个抗原结合位点(参见例如,Holliger P. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA90:6444-6448(1993)和Poljak R. J. et al., Structure2:1121-1123(1994))。在一些实施方式中,来自本发明的抗体的一个或多个CDR可共价或非共价地整合至分子中以使其成为特异性结合至M-CSF的免疫粘合物。在此类实施方式中,CDR可作为更大的多肽链的部分而整合,可共价地连接至另一个多肽链,或可非共价地整合。

[0122] 在具有一个或多个结合位点的实施方式中,结合位点可彼此相同或不同。

[0123] 在本文中,术语“人抗体”指的是其中可变区和恒定区序列是人序列的任何抗体。该术语涵盖具有源于人基因但经改变(如用以降低可能的免疫原性、增强亲和力、消除可能引起不希望的折叠的半胱氨酸等)的序列的抗体。该术语涵盖在非人细胞中重组产生的这种抗体,这可以造成抗体发生人细胞中不常见的糖基化。这些抗体可通过下文所述的各种方法制备。

[0124] 术语“嵌合抗体”在本文中指的是包含来自两种或更多种不同抗体的结构域的抗体。在一个实施方式中,一个或多个CDR源自人抗M-CSF抗体。在另一实施方式中,所有的CDR源自人抗M-CSF抗体。在另一实施方式中,嵌合抗体中组合的CDR源自多于一种的人抗M-CSF抗体。例如,嵌合抗体可包含来自第一人抗M-CSF抗体的轻链的CDR1、来自第二人抗M-CSF抗体的轻链的CDR2和来自第三人抗M-CSF抗体的轻链的CDR3,而来自重链的CDR可源自一或多种其他抗M-CSF抗体。此外,框架区可以源自从中获得一或多个CDR的抗M-CSF抗体之一或源自一或多种不同人抗体。

[0125] 依照本说明书的教导,本领域人员可容易地制备抗体或免疫球蛋白分子的片段或类似物。片段或类似物的优选的氨基端和羧基端位于功能结构域的边界附近。通过将核苷酸序列和/或氨基酸序列数据与公共或私有序列数据库相比较,可鉴定到结构和功能结构域。优选地,使用计算机化的比较法来鉴定存在于已知结构和/或功能的其它蛋白质中的基序或推定的蛋白质构象结构域。用于鉴定折叠成已知三维结构的蛋白质序列的方法是已知的,见Bowie et al., Science253:164(1991)。

[0126] 术语“表面等离子共振”在本文中指的是一种光学现象,其使得能通过检测生物传感器基质内的蛋白质浓度的改变来分析实时生物特异性相互作用,例如使用BIACORE™系统(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N. J.)。进一步的描述可参见Jonsson U. et al., Ann. Biol. Clin. 51:19-26(1993); Jonsson U. et al., Biotechniques 11:620-627(1991); Jonsson B. et al., J. Mol. Recognit. 8:125-131(1995);和Jonsson B. et al., Anal. Biochem. 198:268-277(1991)。

[0127] 术语“ K_D ”指特定的抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0128] 术语“表位”包括能特异性结合至免疫球蛋白或T细胞受体或以其它方式与分子相互作用的任何蛋白质决定簇。表位决定簇通常由分子的化学活性表面簇例如氨基酸或糖

侧链组成,并通常具有特定的三维结构特征及特定电荷特征。表位可以是“线性的”或“构象的”。在线性表位中,蛋白质和相互作用分子(如抗体)之间相互作用的所有点均线性地沿着该蛋白质的一级氨基酸序列存在。在构象表位中,相互作用点跨越蛋白质上彼此分开的氨基酸残基。当解离常数 $\leq 1\text{mM}$,优选地 $\leq 100\text{nM}$,且最优选地 $\leq 10\text{nM}$ 时,称抗体特异性结合抗原。在某些实施方式中, K_D 为 1pM 至 500pM 。在其他一些实施方式中, K_D 在 500pM 至 $1\mu\text{M}$ 之间。在其他一些实施方式中, K_D 在 $1\mu\text{M}$ 至 100nM 之间。在其他一些实施方式中, K_D 在 100mM 至 10nM 之间。确定抗原上的所需表位之后,便可以产生针对该表位的抗体,例如采用本发明中所描述的技术。或者,在发现过程中,抗体的产生和表征可阐明关于合意表位的信息。根据这些信息,便可以竞争性地筛选结合同一表位的抗体。实现这一目的的方法是进行交叉竞争研究,以便找到彼此竞争结合的抗体,例如竞争结合该抗体的抗体。国际申请W003/48731描述了基于抗体的交叉竞争而将抗体“装箱(bin)”的高通量方法。

[0129] 在本文中,20个常规氨基酸及其缩写遵循常规用法。见Immunology-A Synthesis (2nd Edition, E. S. Golub and D. R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)),通过引用将其并入本申请。

[0130] 术语“多核苷酸”在本文中是指长度为至少10个碱基的核苷酸的聚合形式,所述核苷酸可以是核糖核酸或脱氧核糖核酸或任一类型核苷酸的修饰形式。该术语包括单链和双链形式。

[0131] 术语“分离的多核苷酸”在本文中是指基因组、cDNA或合成来源的多核苷酸或它们的一些组合,由于其来源,该“分离的多核苷酸”具有以下1-3的特征:(1)与其中该“分离的多核苷酸”在自然界中得以发现处的全部或部分多核苷酸不关联,(2)可操纵地连接至在自然界中不与其连接的多核苷酸,或(3)在自然界中不作为更大序列的一部分存在。

[0132] 术语“寡核苷酸”在本文中包括通过天然存在和非天然存在的寡核苷酸键连接在一起的天然存在的和经修饰的核苷酸。寡核苷酸是通常包含200个碱基或更少碱基长度的多核苷酸子集。优选地,寡核苷酸的长度是10-60个碱基,最优选地,其长度是12、13、14、15、16、17、18、19或20-40个碱基。虽然寡核苷酸可以是双链,如用于基因突变体的构建,但寡核苷酸通常为单链,如用于引物和探针。本发明的寡核苷酸可以是有义或反义寡核苷酸。

[0133] 术语“天然存在的核苷酸”在本文中包括脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸。术语“经修饰的核苷酸”在本文中包括具有经修饰或取代的糖基等的核苷酸。术语“寡核苷酸键”在本文中包括寡核苷酸连键如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、二硒代磷酸酯、苯胺基硫代磷酸酯(phosphoroanilothioate)、苯胺基磷酸酯(phosphoraniladate)、phosphoramidate等。见例如,LaPlanche et al., Nucl. Acids Res. 14:9081(1986); Stec et al., J. Am. Chem. Soc. 106:6077(1984); Stein et al., Nucl. Acids Res. 16:3209(1988); Zon et al., Anti-Cancer Drug Design 6:539(1991); Zon et al., Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, pp. 87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); 美国专利 No. 5,151,510; Uhlmann and Peyman, Chemical Reviews 90:543(1990),通过引用将这些公开内容并入本申请。如果需要,寡核苷酸可包括用于检测的标记物。

[0134] “可操纵地连接的”序列包括邻接目的基因的表达调控序列和通过反式作用控制目的基因或相隔一段距离控制目的基因的表达调控序列。术语“表达调控序列”在本文中

指实现其连接的编码序列的表达和加工所需的多核苷酸序列。表达调控序列包括适当的转录起始、终止、启动子和增强子序列；有效的 RNA 加工信号如剪接和多腺苷酸化信号；稳定细胞质 mRNA 的序列；增强翻译效率的序列（即 Kozak 共有序列）；增强蛋白质稳定性的序列；以及当需要时，包括增强蛋白分泌的序列。在不同的宿主生物体，这种调控序列的性质不同；在原核生物中，这种调控序列一般包括启动子、核糖体结合位点和转录终止序列；在真核生物中，通常，这种调控序列包括启动子和转录终止序列。术语“调控序列”意在包括（最少）其存在对表达和加工处理是必需的所有成分，并还可包括其存在是有利的额外成分，例如引导序列和融合伴侣序列。

[0135] 术语“载体”在本文中意指能运输已与之连接的另外的核酸的核酸分子。在一些实施方式中，载体是“质粒”，即可将额外的 DNA 片段连接至其中的环状双链 DNA 环。在一些实施方式中，载体是病毒载体，其中额外的 DNA 片段可连接至该病毒基因组中。在一些实施方式中，载体能在其被导入的宿主细胞中自主复制（如，具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体）。在其他一些实施方式中，载体（如非附加型哺乳动物载体）在将其导入宿主细胞后可整合至宿主细胞的基因组中，并因而可随宿主基因组一起复制。而且，某些载体能指导与它们可操纵地连接的基因的表达。此类载体在此称为“重组表达载体”（或简称“表达载体”）。

[0136] 术语“重组宿主细胞”（或简称“宿主细胞”）在本文中意指已经导入重组表达载体的细胞。应该理解，“重组宿主细胞”和“宿主细胞”不仅指特定的对象细胞而且指这种细胞的后代。因为某些修饰由于突变或环境的影响可能发生在随后的子代，实际上，这种子代可能与亲本细胞不完全相同，但仍然包括在本文中术语“宿主细胞”的范围内。

[0137] 在此涉及的术语“选择性杂交”指的是以可检测且特异性的方式结合。本发明的多核苷酸、寡核苷酸及其片段在杂交和洗涤条件下可选择性地杂交至核酸链，所述的杂交和洗涤条件使可检测的与非特异性核酸的结合的可感知量最小化。正如本领域已知的并在此讨论的那样，可采用“高严格性”或“高度严格的”条件获得选择性杂交条件。“高严格性”或“高度严格的”条件的实例是于 42℃ 杂交温度、在 6X SSPE 或 SSC, 50% 甲酰胺, 5X Denhardt 试剂, 0.5% SDS, 100 μg/ml 变性的片段化鲑精 DNA 的杂交缓冲液中将多核苷酸与另一种多核苷酸温育 12-16 小时，其中可将一种多核苷酸固定至固体表面如膜上，随后，于 55℃ 用 1X SSC, 0.5% SDS 的洗涤缓冲液洗涤两次。也见 Sambrook et al., 见上, pp. 9.50-9.55.

[0138] 在提及核苷酸序列的上下文中，术语“百分比序列相同性”指当第一连续序列与第二连续序列相比较达到最大对应的比对时的残基百分比。序列相同性比较的长度可超过至少约 9 个核苷酸、通常至少约 18 个核苷酸、更通常为至少约 24 个核苷酸、典型地为至少约 28 个核苷酸、更典型的为至少约 32 个核苷酸，并且优选地为至少约 36、48 或更多核苷酸的一段序列。本领域已知的可用于测量核苷酸序列相同性的不同算法有许多。例如，可使用 FASTA、Gap 或 Bestfit（均为 Wisconsin Package Version 10.0 的程序，Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin）比较多核苷酸序列。FASTA，其包括如 FASTA2 和 FASTA3 程序，提供了查询序列和检索序列之间最佳重叠区域的比对和百分比序列相同性 (Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990); Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219 (2000); Pearson, Methods Enzymol. 266:227-258 (1996); Pearson, J. Mol. Biol. 276:71-84 (1998), 通过引用并入本申请)。除非另外指定，使用特定程序或算法

的默认参数。例如,核苷酸序列之间的百分比序列相同性可使用采用默认参数(字段大小为 6 和 NOPAM 因子用于评分矩阵)的 FASTA 或使用采用 GCG Version6.1 所提供的默认参数的 Gap 来测定,在此通过引用将其并入本申请。

[0139] 除非另外说明,对核苷酸序列的指代涵盖其互补链。因此,对具有特定序列的核酸分子的指代应该理解为涵盖具有其互补序列的其互补链。

[0140] 术语“百分比序列相同性”指的是一个比例,以相同残基的数量占所比较的残基数量的百分数表示。

[0141] 当涉及核酸或其片段时,术语“显著相似性”或“显著序列相似性”表示当以合适的核苷酸插入或删除达到与另外的核苷酸(或其互补链)最优地比对时,在至少约 85%,优选地至少约 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%的核苷酸碱基中存在核苷酸序列相同性,如通过任何熟知的序列相同性算法测量,如上面讨论的 FASTA、BLAST 或 Gap。

[0142] 当应用于多肽时,术语“显著相同性”表示两个肽序列,当例如通过采用默认缺口权重(gap weight)的程序 GAP 或 BESTFIT 最优比对时,具有至少 70%、75%、80%或 85%的序列相同性,优选地至少 90%、91%、92%、93%、94% 95%、96%、97%、98%或 99%的序列相同性。在某些实施方式中,不一致的残基位置的区别在于保守性氨基酸取代。“保守性氨基酸取代”是指其中氨基酸残基由带有具有相似化学性质(如电荷或疏水性)的侧链 R 基团的另外的氨基酸残基取代。一般而言,保守性氨基酸取代基本不会改变蛋白质的功能特性。在两个或多个氨基酸序列由于保守取代而彼此不同的情况下,可上调百分比序列相同性以校正取代的保守性质。进行这种调节的方法是本领域人员熟知的。参见例如 Pearson, Methods Mol. Biol. 243:307-31(1994)。带有具有相似化学性质的侧链的氨基酸组的实例包括:1) 脂族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;2) 脂族-羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3) 含酰胺的侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;4) 芳香侧链:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;5) 碱性侧链:赖氨酸、精氨酸和组氨酸;6) 酸性侧链:天冬氨酸和谷氨酸;和 7) 包含硫的侧链:半胱氨酸和蛋氨酸。保守氨基酸取代组是:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸、谷氨酸-天冬氨酸和天冬酰胺-谷氨酰胺。

[0143] 或者,保守性取代是在 PAM250log-可能性矩阵(Gonnet et al., Science 256:1443-45(1992),这里将其通过引用并入本申请)中具有正值的任何改变。“适度保守性”取代是在 PAM250log-可能性矩阵中具有非负值的任何改变。

[0144] 多肽的序列相同性通常使用序列分析软件测量。蛋白质分析软件通过赋予不同取代、缺失和其它修饰(包括保守性氨基酸取代)的相似性度量而匹配序列。例如, GCG 包括程序如“Gap”和“Bestfit”,可采用其程序所述的默认参数测定紧密相关的多肽如来自不同生物体物种的同源性多肽之间或野生型蛋白质和其突变型蛋白之间的序列同源性或序列相同性。见,例如 GCG Version6.1。也可以使用 FASTA,采用默认或推荐的参数来比较多肽序列,见 GCG Version6.1.(University of Wisconsin WI)。FASTA(例如, FASTA2 和 FASTA3)提供了查询序列和搜索序列之间最佳重叠的区域的比对和百分比序列相同性(Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98(1990); Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219(2000))。当将本发明的序列和含有大量来自不同生物体的序列的数据

库相比较时,另外优选的算法是计算机程序 BLAST,特别是 blastp 或 tblastn,采用程序自带的默认参数。参见,例如,Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410(1990); Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-402(1997)。

[0145] 比较同源性的多肽序列的长度一般为至少约 16 个氨基酸残基,通常至少约 20 个残基,更通常为至少约 24 个残基,典型的为至少约 28 个残基,并且优选多于约 35 个残基。当搜索含有来自大量不同生物体的序列的数据库时,优选比较氨基酸序列。

[0146] 在本文中,术语“标记”或“经标记的”指将另一种分子掺入抗体中。在一个实施方式中,该标记是可检测的标记,如掺入放射性标记的氨基酸或给多肽附着可通过标记的抗生物素蛋白(如,含有可通过光学或比色法检测的荧光标记或酶活性的抗生物素蛋白链菌素)检测的生物素基部分。在另一实施方式中,标记物或标记可以是治疗性的,如药物缀合物或毒素。标记多肽和糖蛋白的多种方法是本领域已知的并可使用。多肽标记的实例包括但不限于:放射性同位素或放射性核素(例如, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I)、荧光标记(如 FITC、若丹明、稀土元素荧光体)、酶标记(如辣根过氧化物酶、 β -半乳糖苷酶、荧光素酶、碱性磷酸酶)、化学发光标记、生物素基、由第二报道分子识别的预定的多肽表位(如亮氨酸拉链对序列、二抗的结合位点、金属结合结构域、表位标签)、磁性试剂如钆螯合物、毒素如百日咳毒素、紫杉醇、细胞松弛素 B、短杆菌肽 D、溴化乙锭、吐根碱、丝裂霉素、依托泊苷、鬼臼噻吩甙、长春新碱、长春花碱、秋水仙碱、阿霉素、柔红霉素、二羟基蒽二酮(dihydroxy anthracin dione)、米托蒽醌、光辉霉素、放线菌素 D、1-去氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛尔以及嘌呤霉素和其类似物或同系物。在一些实施方式中,标记由不同长度的间隔臂连接以减少可能的位阻。

[0147] 在说明书和权利要求书中,“包含”应理解为意味着包括所述的整数或整数组,但不排除任何其他整数或整数组。

[0148] 人抗 M-CSF 抗体及其表征

[0149] 在一个实施方式中,本发明提供人源化抗 M-CSF 抗体。在另一实施方式中,本发明提供人抗 M-CSF 抗体。在一些实施方式中,人抗 M-CSF 抗体通过免疫非人转基因动物而产生,所述动物例如为啮齿动物,其基因组包含人免疫球蛋白基因以使得所述啮齿动物产生人抗体。

[0150] 本发明的抗 M-CSF 抗体可包含人 κ 或人 λ 轻链或源自它们的氨基酸序列。在包含 κ 轻链的一些实施方式中,轻链可变区(VL)部分地由人 $V_{\kappa}012$ 、 $V_{\kappa}L2$ 、 $V_{\kappa}L5$ 、 $V_{\kappa}A27$ 或 $V_{\kappa}B3$ 基因和 $J_{\kappa}1$ 、 $J_{\kappa}2$ 、 $J_{\kappa}3$ 或 $J_{\kappa}4$ 基因编码。在本发明的特定实施方式中,轻链可变区由 $V_{\kappa}012/J_{\kappa}3$ 、 $V_{\kappa}L2/J_{\kappa}3$ 、 $V_{\kappa}L5/J_{\kappa}3$ 、 $V_{\kappa}L5/J_{\kappa}4$ 、 $V_{\kappa}A27/J_{\kappa}4$ 或 $V_{\kappa}B3/J_{\kappa}1$ 基因编码。

[0151] 在一些实施方式中,M-CSF 抗体的 VL 相对于种系氨基酸序列包含一或多个氨基酸取代。在一些实施方式中,抗 M-CSF 抗体的 V_L 相对于种系氨基酸序列包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个氨基酸取代。在一些实施方式中,对种系的这些取代中的一或多个位于轻链的 CDR 区。在一些实施方式中,所述相对于种系的氨基酸取代与抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的任何一或多个 V_L 中相对于种系的那些取代位于一或多个相同的位置。例如,抗 M-CSF 抗体的 V_L 具有一或

多个与种系相比在抗体 88 的 V_L 中出现的氨基酸取代以及与种系相比在抗体 252 的 V_L 中出现的其他氨基酸取代, 抗体 252 与抗体 88 使用相同的 V_k 基因。在一些实施方式中, 所述氨基酸改变位于一或多个相同的位置, 但涉及与参照抗体不同的突变。

[0152] 在一些实施方式中, 相对于种系的氨基酸改变出现于一或多个与抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的任一 V_L 的氨基酸改变相同的位置, 但这些改变可代表在这些位置上相对于参照抗体中的氨基酸的保守性氨基酸取代。例如, 如果这些抗体之一在特定位置相对于种系发生改变且该位置是谷氨酸, 那么可以在该位置以天冬氨酸取代。类似地, 如果相对于种系的氨基酸取代是丝氨酸, 可以用苏氨酸取代该位置的丝氨酸。保守性氨基酸取代已在上文中讨论。

[0153] 在一些实施方式中, 人抗 M-CSF 抗体的轻链包含与抗体 252 (SEQ ID NO:4)、88 (SEQ ID NO:8)、100 (SEQ ID NO:12)、3.8.3 (SEQ ID NO:16)、2.7.3 (SEQ ID NO:20)、1.120.1 (SEQ ID NO:24)、9.14.4I (SEQ ID NO:28)、8.10.3F (SEQ ID NO:32)、9.7.2IF (SEQ ID NO:36)、9.14.4 (SEQ ID NO:28)、8.10.3 (SEQ ID NO:44)、9.7.2 (SEQ ID NO:48)、9.7.2C-Ser (SEQ ID NO:52)、9.14.4C-Ser (SEQ ID NO:56)、8.10.3C-Ser (SEQ ID NO:60)、8.10.3-CG2 (SEQ ID NO:60)、9.7.2-CG2 (SEQ ID NO:52)、9.7.2-CG4 (SEQ ID NO:52)、9.14.4-CG2 (SEQ ID NO:56)、9.14.4-CG4 (SEQ ID NO:56)、9.14.4-Ser (SEQ ID NO:28)、9.7.2-Ser (SEQ ID NO:48)、8.10.3-Ser (SEQ ID NO:44)、8.10.3-CG4 (SEQ ID NO:60) 8.10.3FG1 (SEQ ID NO:32) 或 9.14.4G1 (SEQ ID NO:28) 的 V_L 的氨基酸序列相同的氨基酸序列, 或者具有多达 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个保守性氨基酸取代和 / 或总共多达 3 个非保守性氨基酸取代的所述氨基酸序列。在一些实施方式中, 轻链包含任一前述抗体的从 CDR1 起始处至 CDR3 结束处的氨基酸序列。

[0154] 在一些实施方式中, 抗 M-CSF 抗体的轻链至少包含种系或在此所述的抗体序列的轻链 CDR1、CDR2 或 CDR3。在另一实施方式中, 轻链可独立地选自 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的抗体的 CDR1、CDR2 或 CDR3 区, 或者各自具有少于 4 个或少于 3 个保守性氨基酸取代和 / 或总共 3 个或更少的非保守性氨基酸取代的所述 CDR 区。在其他一些实施方式中, 抗 M-CSF 抗体的轻链包含轻链 CDR1、CDR2 或 CDR3, 其中每一 CDR 独立地选自如下抗体的 CDR1、CDR2 和 CDR3 区, 所述抗体具有的轻链可变区包含选自 SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、44、48、52、56 或 60 的 V_L 区氨基酸序列, 或由选自 SEQ ID NO:3、7、11、27、31、35、43 或 47 的编码 V_L 区的核酸分子所编码的氨基酸序列。抗 M-CSF 抗体的轻链可包含抗体的 CDR1、CDR2 和 CDR3 区, 所述抗体包含选自 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的 V_L 区的氨基酸序列或 SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、44、48、52、56 或 60 的 V_L 区氨基酸序列。

[0155] 在一些实施方式中,轻链包含抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的 CDR1、CDR2 和 CDR3 区,或者各自具有少于 4 个或少于 3 个保守性氨基酸取代和 / 或总共 3 个或更少的非保守性氨基酸取代的所述 CDR 区。

[0156] 对于重链,在一些实施方式中,重链氨基酸序列的可变区部分地由人 V_H3-11、V_H3-23、V_H3-7、V_H1-18、V_H3-33、V_H3-48 基因和 J_H4、J_H6、J_H4b 或 J_H6b 基因编码。在本发明的特定实施方式中,重链可变区由 V_H3-11/D_H7-27/J_H6、V_H3-7/D_H6-13/J_H4、V_H3-23/D_H1-26/J_H4、V_H3-11/D_H7-27/J_H4、V_H3-33/D_H1-26/J_H4、V_H1-18/D_H4-23/J_H4、V_H3-11/D_H7-27/J_H4b、V_H3-48/D_H1-26/J_H4b、V_H3-11/D_H6-13/J_H6b、V_H3-11/D_H7-27/J_H4b、V_H3-48/D_H1-6/J_H4b 或 V_H3-11/D_H6-13/J_H6b 基因编码。在一些实施方式中,抗 M-CSF 抗体的 V_H 相对于种系氨基酸序列含有一或多个氨基酸取代、缺失或插入(添加)。在一些实施方式中,重链可变区与种系氨基酸序列相比包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17 或 18 个突变。在一些实施方式中,与种系氨基酸序列相比所述突变是非保守性取代。在一些实施方式中,所述突变位于重链的 CDR 区。在一些实施方式中,所述氨基酸改变与抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的任何一或多个 V_H 中与种系相比的那些突变位于一或多个相同的位置。在其他一些实施方式中,所述氨基酸改变位于一或多个相同的位置,但涉及与参照抗体不同的突变。

[0157] 在一些实施方式中,重链包含抗体 252(SEQ ID NO:2)、88(SEQ ID NO:6)、100(SEQ ID NO:10)、3.8.3(SEQ ID NO:14)、2.7.3(SEQ ID NO:18)、1.120.1(SEQ ID NO:22)、9.14.4I(SEQ ID NO:26)、8.10.3F(SEQ ID NO:30)、9.7.2IF(SEQ ID NO:34)、9.14.4(SEQ ID NO:38)、8.10.3(SEQ ID NO:30)、9.7.2(SEQ ID NO:46)、9.7.2C-Ser(SEQ ID NO:50)、9.14.4C-Ser(SEQ ID NO:54)、8.10.3C-Ser(SEQ ID NO:58)、8.10.3-CG2(SEQ ID NO:62)、9.7.2-CG2(SEQ ID NO:66)、9.7.2-CG4(SEQ ID NO:70)、9.14.4-CG2(SEQ ID NO:74)、9.14.4-CG4(SEQ ID NO:78)、9.14.4-Ser(SEQ ID NO:82)、9.7.2-Ser(SEQ ID NO:86)、8.10.3-Ser(SEQ ID NO:90)、8.10.3-CG4(SEQ ID NO:94)、8.10.3FG1(SEQ ID NO:98) 或 9.14.4G1(SEQ ID NO:102) 的可变结构域(V_H)的氨基酸序列,或者具有多达 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个保守性氨基酸取代和 / 或总共多达 3 个的非保守性氨基酸取代的所述氨基酸序列。在一些实施方式中,重链包含任一前述抗体的从 CDR1 起始处至 CDR3 结束处的氨基酸序列。

[0158] 在一些实施方式中,重链包含抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的重链 CDR1、CDR2 和 CDR3 区,或者各自具有少于 8 个、少于 6 个、少于 4 个或少于 3 个的保守性氨基酸取代和 / 或总共 3 个或更少的非保守性氨基酸取代的所述 CDR 区。

[0159] 在一些实施方式中,重链包含种系或如上所述的具有在此所述的抗体序列的抗体 CDR3,并还可包含种系序列的 CDR1 和 CDR2 区,或者可包含抗体序列的 CDR1 和 CDR2,它们各自独立地选自包含选自 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3CG2、9.7.2CG2、9.7.2CG4、9.14.4CG2、9.14.4CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的抗体的重链的抗体。在另一实施方式中,重链包含在此所述的抗体序列的 CDR3,并还可包含 CDR1 和 CDR2 区,它们各自独立地选自如下所述的重链可变区的 CDR1 和 CDR2 区,所述重链可变区包含选自 SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98 或 102 的 V_H 区氨基酸序列,或由选自 SEQ ID NO:1、5、9、25、29、33、37、45、97 或 101 的编码 V_H 区的核酸序列所编码的氨基酸序列。在另一实施方式中,所述抗体包含如上所述的轻链和如上所述的重链。

[0160] 可以进行的一种类型的氨基酸取代是改变抗体中的一或多个半胱氨酸,半胱氨酸可与另一残基具有化学反应性,例如但不限于,丙氨酸或丝氨酸。在一个实施方式中,其是非规范半胱氨酸(non-canonical cysteine)的取代。取代可以出现在抗体可变结构域的框架区或恒定结构域。在另一实施方式中,半胱氨酸位于抗体的非规范区域(non-canonical region)。

[0161] 可以进行的另一类型的氨基酸取代是去除抗体中的任何潜在的蛋白水解位点,特别是那些位于抗体可变结构域的 CDR 或框架区或者恒定结构域内的潜在的蛋白水解位点。取代半胱氨酸残基和去除蛋白水解位点可降低抗体产物的异质性并增加其均质性。另一类型的氨基酸取代是消除天冬酰胺-甘氨酸对,它们形成潜在的脱酰胺位点,这可通过改变这两个残基之一或两者而实现。

[0162] 在一些实施方式中,本发明的抗 M-CSF 抗体的重链没有 C 端赖氨酸(Lewis D. A., et al., Anal. Chem, 66(5):585-95(1994))。在本发明的各种实施方式中,抗 M-CSF 抗体的重链和轻链看任选地包括单一序列。

[0163] 在一个方面,本发明涉及人抗 M-CSF 单克隆抗体和经工程化以产生所述抗体的细胞系。表 1A 列出了以下单克隆抗体的编码重链和轻链可变区的核酸的序列号(SEQ ID NO)以及相应的推定的氨基酸序列:单克隆抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3 和 9.7.2。可通过本领域人员已知的方法制备额外的变体抗体 9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3CG2、9.7.2CG2、9.7.2CG4、9.14.4CG2、9.14.4CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1。表 1B 列出了抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.7.2、9.14.4、8.10.3、8.10.3C-Ser、8.10.3CG2、8.10.3-Ser、8.10.3CG4 和 8.10.3FG1 的重链、轻链以及重链和轻链分别与抗体 8.10.3F 的重链、轻链以及重链和轻链相比的氨基酸百分比相同性。

[0164] 在另一方面,本发明涉及与单克隆抗体 8.10.3F 基本上类似的抗 M-CSF 单克隆抗体,其中所述抗体的重链或轻链或者重链和轻链的氨基酸序列与抗体 8.10.3F 的重链或轻链或者重链和轻链分别享有至少大约 70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的相同性。

[0165] 表 1A

[0166]

人抗 M-CSF 抗体				
MAb	序列号 (SEQ ID NO:)			
	全长			
	重链		轻链	
	DNA	蛋白质	DNA	蛋白质
252	1	2	3	4
88	5	6	7	8
100	9	10	11	12
3.8.3		14		16
2.7.3		18		20
1.120.1		22		24
9.14.4I	25	26	27	28
9.14.4	37	38	27	28
9.14.4C-Ser		54		56
9.14.4-CG2		74		56
9.14.4-CG4		78		56
9.14.4-Ser		82	27	28
9.14.4-G1	101	102	27	28
8.10.3F	29	30	31	32
8.10.3	29	30	43	44
8.10.3C-Ser		58		60
8.10.3-CG2		62		60
8.10.3-Ser		90	43	44
8.10.3-CG4		94		60
8.10.3FG1	97	98	31	32
9.7.2IF	33	34	35	36
9.7.2	45	46	47	48
9.7.2C-Ser		50		52
9.7.2-CG2		66		52
9.7.2-CG4		70		52
9.7.2-Ser		86	47	48

[0167] 表 1B

[0168]

MAb	与抗体 8.10.3F 的重链、轻链或者重链和轻链的百分比相同性		
	重链	轻链	重链和轻链组合
8.10.3-CG2	100	99	99
8.10.3-CG4	94	99	96
8.10.3-Ser	95	99	96
8.10.3C-Ser	95	99	96
8.10.3FG1	94	100	96
8.10.3	100	99	99
1.120.1	87	85	86
100	94	90	93
2.7.3	89	84	87
252	95	84	91
3.8.3	96	83	92
88	95	84	91
9.14.4	91	83	88
9.7.2	90	83	88

[0169] 抗 M-CSF 抗体的类别和亚类

[0170] 可通过本领域已知的任何方法确定抗 M-CSF 抗体的类别和亚类。通常,抗体的类别和亚类可使用对特定类别和亚类的抗体具有特异性的抗体来测定。这些抗体是可从商业获得的。通过 ELISA、蛋白质印迹法及其它技术能测定类别和亚类。或者,可通过测序抗体重链和 / 或轻链的全部或部分恒定区,将它们的氨基酸序列与各种不同类别和亚类的免疫球蛋白的已知氨基酸序列相比较,而确定抗体的类别和亚类。

[0171] 在一些实施方式中,抗 M-CSF 抗体是单克隆抗体。抗 M-CSF 抗体可以是 IgG、IgM、IgE、IgA 或 IgD 分子。在优选的实施方式中,抗 M-CSF 抗体是 IgG,且是 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 亚类。在其他优选的实施方式中,抗体是 IgG2 或 IgG4 亚类。在另一优选的实施方式中,抗体是 IgG1 亚类。

[0172] 物种和分子选择性

[0173] 在本发明的另一方面,该抗 M-CSF 抗体显示出物种和分子选择性。在一些实施方式中,抗 M-CSF 抗体结合人、食蟹猴和鼠的 M-CSF。遵循本说明书的教导,可以使用本领域熟知的方法确定抗 M-CSF 抗体的物种选择性。例如,可使用蛋白质印迹法、FACS、ELISA、RIA、细胞增殖测定法或 M-CSF 受体结合测定法来确定物种选择性。在优选的实施方式中,可使用细胞增殖测定法或 ELISA 确定物种选择性。

[0174] 在另一实施方式中,抗 M-CSF 抗体对 M-CSF 的选择性是其对 GM-/G-CSF 的选择性的至少 100 倍。在一些实施方式中,抗 M-CSF 抗体对 M-CSF 以外的其他蛋白质不显示任何可检测到的特异性结合。根据本说明书的教导,采用本领域熟知的方法,本领域人员可确定抗 M-CSF 抗体对 M-CSF 的选择性。例如可采用蛋白质印迹法、FACS、ELISA 或 RIA 来确定所

述选择性。

[0175] 鉴定由抗 M-CSF 抗体识别的 M-CSF 表位

[0176] 本发明提供结合 M-CSF 的人抗 M-CSF 单克隆抗体,其与以下抗体竞争结合 M-CSF、交叉竞争结合 M-CSF 和 / 或结合 M-CSF 的相同表位和 / 或以相同的 K_D 结合 M-CSF : (a) 抗体,其选自 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 ; (b) 抗体,其包含具有氨基酸序列 SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98 或 102 的重链可变区 ; (c) 抗体,其包含具有氨基酸序列 SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、44、48、52、56 或 60 的轻链可变区 ; (d) 抗体,其包含 (b) 中所定义的重链可变区和 (c) 中所定义的轻链可变区。

[0177] 可使用本领域已知的方法确定一种抗体是否与抗 M-CSF 抗体结合相同的表位、竞争结合、交叉竞争结合或以相同的 K_D 结合 M-CSF。在一个实施方式中,可在饱和条件下将本发明的抗 M-CSF 抗体结合至 M-CSF,并随后测量测试抗体结合至 M-CSF 的能力。如果测试抗体能与抗 M-CSF 抗体同时结合至 M-CSF,那么该测试抗体与抗 M-CSF 抗体结合至不同的表位。然而,如果该测试抗体不能同时结合至 M-CSF,那么该测试抗体结合的表位与该人抗 M-CSF 抗体结合的表位是相同的表位、重叠的表位或是非常接近的表位。可采用 ELISA、RIA 或 FACS 来进行这一实验。在优选的实施方式中,采用 BIACORE™ 进行该实验。

[0178] 抗 M-CSF 抗体对 M-CSF 的结合亲和力

[0179] 在本发明的一些实施方式中,抗 M-CSF 抗体以高亲和力结合 M-CSF。在一些实施方式中,抗 M-CSF 抗体以 $1 \times 10^{-7} M$ 或更低的 K_D 结合 M-CSF。在其他优选的实施方式中,该抗体以 $1 \times 10^{-8} M$ 、 $1 \times 10^{-9} M$ 、 $1 \times 10^{-10} M$ 、 $1 \times 10^{-11} M$ 、 $1 \times 10^{-12} M$ 或更低的 K_D 结合 M-CSF。在某些实施方式中, K_D 为 1pM 至 500pM。在其他一些实施方式中, K_D 在 500pM 至 1 μM 之间。在其他一些实施方式中, K_D 在 1 μM 至 100nM 之间。在其他一些实施方式中, K_D 在 100mM 至 10nM 之间。在更加优选的实施方式中,抗体以与选自如下一组的抗体基本上相同的 K_D 结合 M-CSF : 抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1。在另一优选的实施方式中,抗体以与包含来自选自如下一组的抗体的轻链 CDR2 和 / 或重链 CDR3 的抗体基本上相同的 K_D 结合 M-CSF : 抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1。在另一优选的实施方式中,抗体以与包含氨基酸序列 SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98 或 102 的重链可变区或包含氨基酸序列 SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、44、48、52、56 或 60 的轻链可变区的抗体基本上相同的 K_D 结合 M-CSF。在另一优选的实施方式中,抗体以与包含具有 V_L 区氨基酸序列 SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、44、48、52、56 或 60 的轻链可变区的 CDR2 且可任选地包含其 CDR1 和 / 或 CDR3 的抗体、或与包含具有 V_H 区氨基酸序列 SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、46、50、54、58、62、66、70、74、78、

82、86、90、94、98 或 102 的重链可变区 CDR3 且可任选地包含其 CDR1 和 / 或 CDR2 的抗体基本上相同的 K_D 结合 M-CSF。

[0180] 在一些实施方式中,抗 M-CSF 抗体具有低解离速率。在一些实施方式中,抗 M-CSF 抗体的 k_{off} 为 $2.0 \times 10^{-4} s^{-1}$ 或更低。在其他优选的实施方式中,抗体结合 M-CSF 的 k_{off} 为 2.0×10^{-5} 或 $k_{off} 2.0 \times 10^{-6} s^{-1}$ 或更低。在一些实施方式中, K_{off} 与在此所述的抗体基本上相同,这样的抗体选自 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3CG2、9.7.2CG2、9.7.2CG4、9.14.4CG2、9.14.4CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1。在一些实施方式中,抗体以与如下所述的抗体基本上相同的 k_{off} 结合 M-CSF:(a) 抗体,其包含选自 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3CG2、9.7.2CG2、9.7.2CG4、9.14.4CG2、9.14.4CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的抗体的重链的 CDR3 且可任选地包含其 CDR1 和 / 或 CDR2;或 (b) 抗体,其包含选自 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3CG2、9.7.2CG2、9.7.2CG4、9.14.4CG2、9.14.4CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的抗体的轻链的 CDR2 且可任选地包含其 CDR1 和 / 或 CDR3。在一些实施方式中,抗体以与包含具有氨基酸序列 SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98 或 102 的重链可变区的抗体、或包含具有氨基酸序列 SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、44、48、52、56 或 60 的轻链可变区抗体基本上相同的 k_{off} 结合 M-CSF。在另一优选的实施方式中,抗体以与包含具有氨基酸序列 SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、44、48、52、56 或 60 的轻链可变区的 CDR2 且可任选地包含其 CDR1 和 / 或 CDR3 的抗体、或包含具有氨基酸序列 SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98 或 102 的重链可变区的 CDR3 且可任选地包含其 CDR1 和 / 或 CDR2 的抗体基本上相同的 k_{off} 结合 M-CSF。

[0181] 可通过本领域已知的方法确定抗 M-CSF 抗体与 M-CSF 的解离速率。可通过竞争性 ELISA、RIA 或表面等离子共振(例如,通过采用 BIACORE™ 技术)来测定结合亲和力。可通过表面等离子共振测定解离速率。优选地,通过表面等离子共振测定结合亲和力和解离速率。更优选地,采用 BIACORE™ 技术测定结合亲和力和解离速率。实施例 VI 举例阐述了通过 BIACORE™ 技术确定抗 M-CSF 单克隆抗体的亲和力常数的方法。

[0182] 抗 M-CSF 抗体抑制 M-CSF 的活性

[0183] 抑制 M-CSF 与 c-fms 结合

[0184] 在另一实施方式中,本发明提供抗 M-CSF 抗体,其抑制 M-CSF 与 c-fms 受体的结合并阻断或预防 c-fms 的活化。在优选的实施方式中,M-CSF 是人的 M-CSF。在另一优选的实施方式中,抗 M-CSF 抗体人抗体。可通过如下方法测定 IC_{50} :ELISA、RIA 和基于细胞的测定法例如细胞增殖测定法、全血单核细胞形态改变测定法或受体结合抑制测定法。在一个实施方式中,通过细胞增殖测定法测定,抗体或其部分抑制细胞增殖的 IC_{50} 为不超过 $8.0 \times 10^{-7} M$ 、优选地不超过 $3 \times 10^{-7} M$ 或更优选地不超过 $8 \times 10^{-8} M$ 。在另一实施方式中,通过单核细胞形态改变测定法测定的 IC_{50} 为不超过 $2 \times 10^{-6} M$ 、优选地不超过 $9.0 \times 10^{-7} M$ 或更优选地不超过 $9 \times 10^{-8} M$ 。

在另一优选的实施方式中,通过受体结合测定法测定的 IC_{50} 为不超过 $2 \times 10^{-6}M$ 、优选地不超过 $8.0 \times 10^{-7}M$ 或更优选地不超过 $7.0 \times 10^{-8}M$ 。实施例 III、IV 和 V 例证了各种类型的测定法。

[0185] 在另一方面,本发明的抗 M-CSF 抗体抑制单核细胞/巨噬细胞应答于 M-CSF 的细胞增殖,与不存在抗体时的细胞增殖相比,抑制至少 20%、更优选地 40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、80%、85%、90%、95% 或 100%。

[0186] 抗体和抗体产生细胞系的产生方法

[0187] 免疫

[0188] 在一些实施方式中,用 M-CSF 抗原免疫其基因组中包含部分或全部人免疫球蛋白重链和轻链基因座的非人动物而产生人抗体。在优选的实施方式中,非人动物是 XENOMOUSE™ 动物 (Abgenix Inc., Fremont, CA)。可使用的另一种非人动物是由 Medarex (Medarex, Inc., Princeton, NJ) 产生的转基因动物。

[0189] XENOMOUSE™ 小鼠是遗传工程化的小鼠品系,其包含人免疫球蛋白重链和轻链基因座的大片段,且在产生小鼠抗体方面具有缺陷。参见,例如,Green et al., Nature Genetics 7:13-21 (1994) 和美国专利 5,916,771、5,939,598、5,985,615、5,998,209、6,075,181、6,091,001、6,114,598、6,130,364、6,162,963 和 6,150,584。另见 W091/10741、W094/02602、W096/34096、W096/33735、W098/16654、W098/24893、W098/50433、W099/45031、W099/53049、W000/09560 和 W000/037504。

[0190] 在另一方面,本发明提供用 M-CSF 抗原免疫包含人免疫球蛋白基因座的非人转基因动物而从非人、非小鼠动物制备抗 M-CSF 抗体的方法。可使用上述文献描述的方法产生这些动物。可如美国专利 5,994,619 中所述对这些文献中公开的方法进行改良。美国专利 5,994,619 描述了用于产生新的培养的内细胞团 (CICM) 细胞和细胞系 (其源于猪和奶牛),以及异源 DNA 已经插入其中的转基因 CICM 细胞的方法。CICM 转基因细胞可用于产生克隆的转基因胚胎、胎儿和后代。该 '619 专利也描述了用于产生能将异源 DNA 传递至其后代的转基因动物的方法。在优选的实施方式中,非人动物是大鼠、绵羊、猪、山羊、牛或马。

[0191] 该 XENOMOUSE™ 小鼠产生成人样完全人抗体库 (repertoire) 并产生抗原特异性人抗体。在一些实施方式中,XENOMOUSE™ 小鼠通过引入兆碱基大小的人重链基因座和 κ 轻链基因座的种系构型酵母人工染色体 (YAC) 片段而含有约 80% 人抗体 V 基因库 (repertoire)。在其他一些实施方式中,XENOMOUSE™ 小鼠进一步含有大约全部的 λ 轻链基因座。见 Mendez et al., Nature Genetics 15:146-156 (1997), Green and Jakobovits, J. Exp. Med. 188:483-495 (1998) 和 W098/24893,将其公开内容在此通过引用并入本申请。

[0192] 在一些实施方式中,含有人免疫球蛋白基因的非人动物是具有人免疫球蛋白的“小基因座 (minilocus)”的动物。在小基因座方法中,通过引入来自 Ig 基因座的单个基因来模拟外源 Ig 基因座。从而,将一个或多个 V_H 基因、一个或多个 D_H 基因、一个或多个 J_H 基因、 μ 恒定区和第二恒定区 (优选地 γ 恒定区) 构成一种构建体用于插入至动物中。该方法描述于,例如,美国专利 5,545,807、5,545,806、5,569,825、5,625,126、5,633,425、5,661,016、5,770,429、5,789,650、5,814,318、5,591,669、5,612,205、5,721,367、5,789,215 和 5,643,763,在此通过引用将其并入本申请。

[0193] 在另一方面,本发明提供制备人源化抗 M-CSF 抗体的方法。在一些实施方式中,如下所述在允许抗体产生的条件下用 M-CSF 抗原免疫非人动物。从动物分离抗体产生细胞,

与骨髓瘤融合以产生杂交瘤,并分离编码所需抗 M-CSF 抗体的重链和轻链的核酸。随后采用本领域已知的技术并如下文所述对这些核酸进行工程化处理,以降低非人序列的量,即,对抗体进行人源化以降低在人体中的免疫应答。

[0194] 在一些实施方式中,M-CSF 抗原是分离的和 / 或纯化的 M-CSF。在优选的实施方式中,M-CSF 抗原是人 M-CSF。在一些实施方式中,M-CSF 抗原是 M-CSF 的片段。在一些实施方式中,M-CSF 片段是 M-CSF 的细胞外结构域。在一些实施方式中,M-CSF 片段包含 M-CSF 的至少一种表位。在其他一些实施方式中,M-CSF 抗原是细胞,所述细胞在其表面表达或过表达 M-CSF 或其免疫原性片段。在一些实施方式中,M-CSF 抗原是 M-CSF 融合蛋白。M-CSF 可通过已知的技术纯化自天然来源。重组 M-CSF 已经商品化。

[0195] 可通过本领域已知的任何方法免疫动物。参见,例如,Harlow and Lane,Antibodies:A Laboratory Manual,New York:Cold Spring Harbor Press,1990。用于免疫非人动物如小鼠、大鼠、绵羊、山羊、猪、牛和马的方法是本领域熟知的。参见,例如,Harlow and Lane,见上,和美国专利 5,994,619。在优选的实施方式中,M-CSF 抗原与一种佐剂一起施用以刺激免疫应答。这种佐剂包括完全或不完全弗氏佐剂、RIBI(胞壁酰二肽)或 ISCOM(免疫刺激复合物)。这种佐剂可通过将多肽隔离于局部沉积物中而保护多肽免于迅速分散,或它们可含有刺激宿主分泌对巨噬细胞和免疫系统的其它成分具有趋化性的因子的物质。优选地,如果施用多肽,该免疫接种程序表将包含两次或更多次施用多肽,在数周内展开。实施例 I 例证了在 XENOMOUSE™ 小鼠中产生抗 M-CSF 单克隆抗体的方法。

[0196] 抗体和抗体产生细胞系的产生

[0197] 用 M-CSF 抗原免疫动物后,可从该动物中获得抗体和 / 或产生抗体的细胞。在一些实施方式中,含有抗 M-CSF 抗体的血清可通过放血或处死动物从该动物中获得。血清可如其从动物中获得那样使用,可从该血清获得免疫球蛋白部分,或可从血清中纯化抗 M-CSF 抗体。

[0198] 在一些实施方式中,可从分离自经免疫的动物的细胞制备产生抗体的永生化细胞系。免疫后,处死动物并使淋巴结和 / 或脾脏的 B 细胞永生化。使细胞永生化的方法包括但不限于用癌基因转染它们、用致癌病毒感染它们、将其在选择永生化的条件下培养、使其接受致癌或突变化合物影响、将其与永生化细胞如骨髓瘤细胞融合、以及使肿瘤抑制基因失活。参见,例如,Harlow and Lane,见上。如果采用与骨髓瘤细胞融合的方式,骨髓瘤细胞优选地不分泌免疫球蛋白多肽(非分泌细胞系)。使用 M-CSF、它的一部分或表达 M-CSF 的细胞筛选永生化细胞。在优选的实施方式中,初次筛选使用酶联免疫测定(ELISA)或放射免疫测定法进行。W000/37504 给出了 ELISA 筛选的实例,在此通过引用将其并入本申请。

[0199] 如下文中进一步讨论的那样,对产生抗 M-CSF 抗体的细胞如杂交瘤进行选择、克隆并进一步筛选所需的特征,包括健康的细胞生长、高抗体产量及所需的抗体特征。杂交瘤可在体内在同系动物、在缺乏免疫系统的动物如裸鼠中,或在体外细胞培养物中扩增。选择、克隆和扩增杂交瘤的方法是本领域人员熟知的。

[0200] 在优选的实施方式中,免疫的动物是表达人免疫球蛋白基因的非人动物,将脾脏的 B 细胞融合至源于与该非人动物相同物种的骨髓瘤。在更加优选的实施方式中,免疫的动物是 XENOMOUSE™ 动物并且骨髓瘤细胞系是非分泌型小鼠骨髓瘤。在更加优选的实施方

式中,骨髓瘤细胞系是 P3-X63-AG8-653。参见,例如,实施例 I。

[0201] 因此,在一个实施方式中,本发明提供用于产生能产生针对 M-CSF 的人单克隆抗体或其片段的细胞系的方法,所述方法包括 (a) 用 M-CSF、M-CSF 的一部分或表达 M-CSF 的细胞或组织免疫在此描述的非人转基因动物;(b) 让该转基因动物产生对 M-CSF 的免疫应答;(c) 从转基因动物中分离 B 淋巴细胞;(d) 使 B 淋巴细胞永生化;(e) 建立永生化的 B 淋巴细胞的独立单克隆群;并 (f) 筛选该永生化的 B 淋巴细胞以鉴定针对 M-CSF 的抗体。

[0202] 在另一方面,本发明提供产生人抗 M-CSF 抗体的杂交瘤。在优选的实施方式中,杂交瘤是小鼠杂交瘤,如上描述的。在其他一些实施方式中,杂交瘤在非人、非小鼠物种如大鼠、绵羊、猪、山羊、牛或马中产生。在另一实施方式中,杂交瘤是人杂交瘤。

[0203] 在另一优选的实施方式中,用 M-CSF 免疫转基因动物,从经免疫的转基因动物分离原代细胞,例如脾脏细胞或者外周血细胞,并鉴定产生对所需抗原具有特异性的抗体的独立细胞。分离来自各独立细胞的多腺苷酸化 mRNA 并进行逆转录多聚酶链反应 (RT-PCR),其中使用退火至至可变区序列的有义引物,例如识别大部分或全部人重链和轻链可变区基因 FR1 区的简并引物,以及退火至恒定区或链接区序列的反义引物。然后克隆重链和轻链可变区的 cDNA,并在任何合适的宿主细胞例如骨髓瘤细胞中,作为与免疫球蛋白恒定区例如重链和 κ 或 λ 恒定区的嵌合抗体的形式表达。见 Babcook, J. S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:7843-48, 1996, 通过引用将其并入本申请。然后可如在此所述的方式鉴定并分离抗 M-CSF 抗体。

[0204] 在另一实施方式中,可使用噬菌体展示技术来提供含有对 M-CSF 具有不同亲和力的抗体库 (repertoire) 的文库。产生此类库 (repertoire) 不需要使得来自被免疫动物的 B 细胞永生化。反之,原代 B 细胞可直接作为 DNA 的来源。使用获得自例如源自脾脏的 B 细胞的 cDNA 混合物制备表达文库,例如,转染至大肠杆菌的噬菌体展示文库。测试所得细胞对 M-CSF 的免疫反应性。从此类文库中鉴定高亲和力人抗体的技术可参见 Griffiths et al., EMBO J., 13:3245-3260 (1994); Nissim et al., ibid, pp. 692-698 和 Griffiths et al., ibid, 12:725-734。最终从文库中鉴定到产生对抗原具有所需结合亲和力水平的克隆,回收编码负责此结合的产物的 DNA 并用于标准重组表达操作。也可使用以前操作的核苷酸序列构建噬菌体展示文库并以类似的方式筛选。通常,编码重链和轻链的 cDNA 独立地提供或链接形成 Fv 类似物用于产生噬菌体文库。

[0205] 随后筛选噬菌体文库找到对 M-CSF 具有最高亲和力的抗体并从合适的克隆回收遗传物质。多轮次的筛选可提高所分离的初始抗体的亲和力。

[0206] 在另一方面,本发明提供产生人抗 M-CSF 抗体的杂交瘤。在优选的实施方式中,杂交瘤是如上所述的小鼠杂交瘤。在其他一些实施方式中,杂交瘤在非人、非小鼠物种如大鼠、绵羊、猪、山羊、牛或马中产生。在另一实施方式中,杂交瘤是人杂交瘤。

[0207] 制备抗体的核酸、载体、宿主细胞和重组方法

[0208] 核酸

[0209] 本发明还涵盖编码抗 M-CSF 抗体的核酸分子。在一些实施方式中,不同的核酸分子编码抗 M-CSF 免疫球蛋白的重链和轻链。在其他一些实施方式中,同一核酸分子编码抗 M-CSF 免疫球蛋白的重链和轻链。在一个实施方式中,核酸编码本发明的 M-CSF 抗体。

[0210] 在一些实施方式中,所述编码轻链可变结构域的核酸分子包含人的 V_{κ} L5、012、L2、

B3、A27 基因和 J κ 1、J κ 2、J κ 3 或 J κ 4 基因。

[0211] 在一些实施方式中,所述编码轻链的核酸分子编码与种系氨基酸序列相比包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个突变的氨基酸序列。在一些实施方式中,所述核酸分子包含编码与种系序列相比包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个非保守性氨基酸取代和 / 或 1、2 或 3 个非保守性取代的 V_L 氨基酸序列的核苷酸序列。取代可以在 CDR 区、框架区或在恒定区内。

[0212] 在一些实施方式中,所述核酸分子编码与种系序列相比包含一或多个变异的 V_L 氨基酸序列,所述一或多个变异与抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 中任一抗体的 V_L 中的那些变异相同。

[0213] 在一些实施方式中,与种系序列相比,所述核酸分子编码抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4、8.10.3 或 9.7.2 中任一抗体的 V_L 中的至少 3 个氨基酸突变。

[0214] 在一些实施方式中,所述核酸分子包含编码单克隆抗体 252(SEQ ID NO:4)、88(SEQ ID NO:8)、100(SEQ ID NO:12)、3.8.3(SEQ ID NO:16)、2.7.3(SEQ ID NO:20)、1.120.1(SEQ ID NO:24)、9.14.4I(SEQ ID NO:28)、8.10.3F(SEQ ID NO:32)、9.7.2IF(SEQ ID NO:36)、9.14.4(SEQ ID NO:28)、8.10.3(SEQ ID NO:44)、9.7.2(SEQ ID NO:48)、9.7.2C-Ser(SEQ ID NO:52)、9.14.4C-Ser(SEQ ID NO:56)、8.10.3C-Ser(SEQ ID NO:60)、8.10.3-CG2(SEQ ID NO:60)、9.7.2-CG2(SEQ ID NO:52)、9.7.2-CG4(SEQ ID NO:52)、9.14.4-CG2(SEQ ID NO:56)、9.14.4-CG4(SEQ ID NO:56)、9.14.4-Ser(SEQ ID NO:28)、9.7.2-Ser(SEQ ID NO:48)、8.10.3-Ser(SEQ ID NO:44)、8.10.3-CG4(SEQ ID NO:60)8.10.3FG1(SEQ ID NO:32) 或 9.14.4G1(SEQ ID NO:28) 的 V_L 氨基酸序列或其部分的核苷酸序列。在一些实施方式中,所述部分至少包含 CDR2 区。在一些实施方式中,核酸编码所述抗体的轻链 CDR 的氨基酸序列。在一些实施方式中,所述部分是包含 CDR1-CDR3 的连续部分。

[0215] 在一些实施方式中,所述核酸分子包含编码 SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、44、48、52、56 或 60 之一的轻链氨基酸序列的核苷酸序列。在一些优选的实施方式中,核酸分子包含 SEQ ID NO:3、7、11、27、31、35、43 或 47 的轻链核苷酸序列或其部分。

[0216] 在一些实施方式中,所述核酸分子编码与图 1 所示的 V_L 氨基酸序列或者与抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 中任一抗体的 V_L 氨基酸序列、或与 SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、44、48、52、56 或 60 中任一氨基酸序列具有至少 70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的相同性的 V_L 氨基酸序列。本发明的核酸分子包括在高严格性条件(例如如上所述的条件)下与编码 SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、44、48、52、56 或 60 的轻链氨基酸序列的核酸序列、或与具有 SEQ ID NO:3、7、11、27、31、35、43 或 47 的轻链核酸序列的核酸序列杂交的核酸。

[0217] 在另一实施方式中,核酸编码选自 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、

8. 10. 3-CG2、9. 7. 2-CG2、9. 7. 2-CG4、9. 14. 4-CG2、9. 14. 4-CG4、9. 14. 4-Ser、9. 7. 2-Ser、8. 10. 3-Ser、8. 10. 3-CG4、8. 10. 3FG1 或 9. 14. 4G1 的抗体的全长轻链、或包含 SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、44、48、52、56 或 60 的氨基酸序列和轻链恒定区的轻链、或包含突变的轻链。此外,上所述核酸可包含 SEQ ID NO:3、7、11、27、31、35、43 或 47 的轻链核苷酸序列和编码轻链恒定区的核苷酸序列、或编码包含突变的轻链的核酸分子。

[0218] 在另一优选的实施方式中,所述核酸分子编码重链可变区 (V_H),其包含人 VH1-18、3-33、3-11、3-23、3-48 或 3-7 基因序列或从其衍生的序列。在各种实施方式中,核酸分子包含人 V_H 1-18 基因、 D_H 4-23 基因和人 J_H 4 基因;人 V_H 3-33 基因、人 D_H 1-26 基因和人 J_H 4 基因;人 V_H 3-11 基因、人 D_H 7-27 基因和人 J_H 4 基因;人 V_H 3-11 基因、人 D_H 7-27 基因和人 J_H 6 基因;人 V_H 3-23 基因、人 D_H 1-26 基因和人 J_H 4 基因;人 V_H 3-7 基因、人 D_H 6-13 基因和人 J_H 4 基因;人 V_H 3-11 基因、人 D_H 7-27 基因和人 J_H 4b 基因;人 V_H 3-48 基因、人 D_H 1-26 基因和人 J_H 4b 基因;人 V_H 3-11 基因、人 D_H 6-13 基因和人 J_H 6b 基因、或衍生自所述人基因的序列。

[0219] 在一些实施方式中,所述核酸分子编码与人 V、D 或 J 基因的种系氨基酸序列相比包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17 或 18 个突变的氨基酸序列。在一些实施方式中,所述突变位于 V_H 区。在一些实施方式中,所述突变位于 CDR 区。

[0220] 在一些实施方式中,与种系序列相比,所述核酸分子编码与单克隆抗体 252、88、100、3. 8. 3、2. 7. 3、1. 120. 1、9. 14. 4I、8. 10. 3F、9. 7. 2IF、9. 14. 4、8. 10. 3、9. 7. 2、9. 7. 2C-Ser、9. 14. 4C-Ser、8. 10. 3C-Ser、8. 10. 3-CG2、9. 7. 2-CG2、9. 7. 2-CG4、9. 14. 4-CG2、9. 14. 4-CG4、9. 14. 4-Ser、9. 7. 2-Ser、8. 10. 3-Ser、8. 10. 3-CG4、8. 10. 3FG1 或 9. 14. 4G1 的 V_H 中的那些氨基酸突变相同的一或多个氨基酸突变。在一些实施方式中,与种系序列相比,所述核酸编码与上述单克隆抗体之一中的至少 3 个氨基酸突变相同的至少 3 个氨基酸突变。

[0221] 在一些实施方式中,所述核酸分子包含核苷酸序列,其编码抗体 252(SEQ ID NO:4)、88(SEQ ID NO:8)、100(SEQ ID NO:12)、3. 8. 3(SEQ ID NO:16)、2. 7. 3(SEQ ID NO:20)、1. 120. 1(SEQ ID NO:24)、9. 14. 4I(SEQ ID NO:28)、8. 10. 3F(SEQ ID NO:32)、9. 7. 2IF(SEQ ID NO:36)、9. 14. 4(SEQ ID NO:28)、8. 10. 3(SEQ ID NO:44)、9. 7. 2(SEQ ID NO:48)、9. 7. 2C-Ser(SEQ ID NO:52)、9. 14. 4C-Ser(SEQ ID NO:56)、8. 10. 3C-Ser(SEQ ID NO:60)、8. 10. 3-CG2(SEQ ID NO:60)、9. 7. 2-CG2(SEQ ID NO:52)、9. 7. 2-CG4(SEQ ID NO:52)、9. 14. 4-CG2(SEQ ID NO:56)、9. 14. 4-CG4(SEQ ID NO:56)、9. 14. 4-Ser(SEQ ID NO:28)、9. 7. 2-Ser(SEQ ID NO:48)、8. 10. 3-Ser(SEQ ID NO:44)、8. 10. 3-CG4(SEQ ID NO:60)8. 10. 3FG1(SEQ ID NO:32) 或 9. 14. 4G1(SEQ ID NO:28) 的 V_H 氨基酸序列的至少一部分、或具有保守性氨基酸突变和 / 或总共 3 个或更少的非保守性氨基酸取代的所述序列的至少一部分。在各种实施方式中,所述序列编码一或多个 CDR 区、优选地 CDR3 区、所有 3 个 CDR 区、包括 CDR1-CDR3 的连续部分或完整 V_H 区。

[0222] 在一些实施方式中,所述核酸分子包含编码 SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98 或 102 之一的氨基酸序列的重链核苷酸序列。在一些优选的实施方式中,核酸分子包含 SEQ ID NO:1、5、9、25、29、33、37、45、97 或 101 的重链核苷酸序列的至少一部分。在一些实施方式中,所述部分编码 V_H 区、CDR3 区、所有 3 个 CDR 区、或包括 CDR1-CDR3 的连续区域。

[0223] 在一些实施方式中,所述核酸分子编码 VH 氨基酸序列,其与图 4 所示的 V_H 氨基酸序列或与 SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98 或 102 中任一 V_H 氨基酸序列具有至少 70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的相同性。本发明的核酸分子包括在高严格性条件(例如如上所述的条件下)与编码 SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98 或 102 的重链氨基酸序列的核酸序列、或与具有 SEQ ID NO:1、5、9、25、29、33、37、45、97 或 101 的核苷酸序列的核酸序列杂交的核酸。

[0224] 在另一实施方式中,还是编码选自 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4.8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的抗体的全长重链、或具有 SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98 或 102 的氨基酸序列和重链恒定区的重链、或包含突变的重链。此外,上所述核酸可包含 SEQ ID NO:1、5、9、25、29、33、37、45、97 或 101 的重链核苷酸序列和编码轻链恒定区的核苷酸序列、或编码包含突变的重链的核酸分子。

[0225] 编码抗 M-CSF 抗体的完整重链或轻链或其部分的核酸分子可分离自产生该抗体的任何来源。在各种实施方式中,核酸分子可分离自来自以 M-CSF 免疫的动物的 B 细胞,或分离自源自这样的 B 细胞且表达抗 M-CSF 抗体的永生细胞。分离编码抗体的 mRNA 的方法是本领域熟知的。参见,例如,Sambrook et al. mRNA 可用于产生 cDNA 以便用于聚合酶链反应(PCR)或 cDNA 克隆抗体基因。在优选的实施方式中,所述核酸分子分离自杂交瘤,杂交瘤具有作为其融合伴侣之一的来自非人转基因动物的产生人免疫球蛋白的细胞。在更加优选的实施方式中,产生人免疫球蛋白的细胞分离自 XENOMOUSE™ 动物。在另一实施方式中,产生人免疫球蛋白的细胞来自如上所述的非人、非小鼠转基因动物。在另一实施方式中,核酸分离自非人、非转基因的动物。分离自非人、非转基因的动物的核酸分子可用于,例如,人源化抗体。

[0226] 在一些实施方式中,编码本发明的抗 M-CSF 抗体的重链的核酸可包含与编码任意来源的重链恒定结构域的核苷酸序列框内连接的编码本发明的 V_H 结构域的核苷酸序列。类似地,编码本发明的抗 M-CSF 抗体的轻链的核酸分子可包含与编码任意来源的轻链恒定结构域的核苷酸序列框内连接的编码本发明的 V_L 结构域的核苷酸序列。

[0227] 在本发明的另一方面,编码重链(V_H)轻链(V_L)可变结构域的核酸分子被“转换”成全长抗体基因。在一个实施方式中,编码 V_H 或 V_L 结构域的核酸分子可通过将其插入至分别已经编码重链恒定区(C_H)或轻链恒定区(C_L)的表达载体,使得 V_H 节段可操纵地连接至载体内的 C_H 节段而 V_L 节段可操纵地连接至载体内的 C_L 节段,从而转换为全长抗体基因。在另一实施方式中,编码 V_H 和 / 或 V_L 结构域的核酸分子通过使用标准的分子生物学技术通过连接,例如连接编码 V_H 和 / 或 V_L 结构域的核酸分子至编码 C_H 和 / 或 C_L 结构域的核酸分子而使其转换成全长抗体基因。使用编码 VL 和 CL 链的核酸分子可达到一样的结果。人重链和轻链免疫球蛋白恒定结构域基因的核酸序列是本领域已知的。参见,例如,Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., NIH Publ.

No. 91-3242, 1991。编码全长重链和 / 或轻链的核酸分子可随后由已经导入所述核酸分子的细胞表达,并可随后分离抗 M-CSF 抗体。

[0228] 可使用核酸分子来重组表达大量抗 M-CSF 抗体。核酸分子还可用于产生嵌合抗体、双特异性抗体、单链抗体、免疫粘合素、二价抗体、突变抗体和抗体衍生物,如下文所述。如果核酸分子源自非人、非转基因的动物,核酸分子可用于抗体的人源化,如下文所述。

[0229] 在另一实施方式中,本发明的核酸分子用作特定抗体序列的探针或 PCR 引物。例如,所述核酸可作为探针用于诊断方法或作为 PCR 引物用于扩增可能使用的 DNA 区域,例如,用于分离编码抗 M-CSF 抗体可变结构域的其他核酸分子。在一些实施方式中,所述核酸分子是寡核苷酸。在一些实施方式中,寡核苷酸来自的目标抗体的重链和轻链的高可变区。在一些实施方式中,寡核苷酸编码抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3 或 1.120.1 的一或多个 CDR 的全部或部分、或在此所述的它们的变体。

[0230] 载体

[0231] 本发明提供包含编码本发明的抗 M-CSF 抗体或其抗原结合部分的重链的核酸分子的载体。本发明也提供包含编码此类抗体或其抗原结合部分的轻链的核酸分子的载体。本发明还提供包含编码融合蛋白、修饰抗体、抗体片段和其探针的核酸分子的载体。

[0232] 在一些实施方式中,通过将如上所述获得的编码部分或全长轻链和重链的 DNA 插入至表达载体,使得基因可操纵地连接至必需的表达调控序列例如转录和翻译调控序列,从而表达本发明的抗 M-CSF 抗体或抗原结合部分。表达载体包括质粒、逆转录病毒、腺病毒、腺伴随病毒 (AAV)、植物病毒如花椰菜花叶病毒、烟草花叶病毒、粘粒、YAC、EBV 衍生的附加体等。将抗体基因连接进载体中,使得载体中的转录和翻译调控序列发挥它们预期的调节该抗体基因转录和翻译的功能。选择表达载体和表达调控序列使其与使用的表达宿主细胞相容。抗体轻链的基因和抗体重链的基因可插入分开的载体中。在优选的实施方式中,两种基因都插入同一表达载体。抗体基因可通过标准方法(例如连接抗体基因片段和载体上的互补性限制位点,或如果无限制位点则进行平端连接)插入表达载体。

[0233] 方便的载体是编码功能完全的人 C_H 或 C_L 免疫球蛋白序列的载体,通过工程化造成合适的限制位点使得任何 V_H 或 V_L 序列能如上所述容易地插入和表达。在这种载体中,剪接通常发生在插入的 J 区的剪接供体位点和在人 C 区之前的剪接受体位点之间,也发生在人 C_H 外显子中存在的剪接区域。多腺苷酸化和转录终止发生在编码区下游的天然染色体位点。重组表达载体也能编码促进抗体链从宿主细胞分泌的信号肽。抗体链基因可克隆进载体中使得信号肽框内连接至免疫球蛋白链的氨基末端。信号肽可以是免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(即来自非免疫球蛋白的信号肽)。

[0234] 除了抗体链基因,本发明的重组表达载体还携带有控制抗体链基因在宿主细胞中表达的调节序列。本领域技术人员将理解表达载体的设计,包括对调节序列的选择可依赖于待转化的宿主细胞的选择、期望的蛋白质表达水平等因素。用于哺乳动物宿主细胞表达的优选的调节序列包括在哺乳动物细胞中指导高水平蛋白质表达的病毒元件,例如源于逆转录病毒 LTR、巨细胞病毒 (CMV)(如 CMV 启动子 / 增强子)、猿猴病毒 40 (SV40)(例如 SV40 启动子 / 增强子)、腺病毒(如腺病毒主要晚期启动子 (AdMLP)) 的启动子和 / 或增强子,多瘤和强的哺乳动物启动子如天然免疫球蛋白和肌动蛋白启动子。对于进一步的病毒调控元件和其序列的描述,见例如,美国专利 No. 5, 168, 062、美国专利 No. 4, 510, 245 和美国专利

No. 4, 968, 615。用于在植物中表达抗体的方法,包括对启动子和载体的描述以及植物的转化在本领域是已知的。参见,例如,美国专利 6,517,529,通过引用将其并入本申请。在细菌细胞或真菌细胞如酵母细胞中表达多肽的方法也是本领域熟知的。

[0235] 除了抗体链基因和调节序列外,本发明的重组表达载体可携带另外的序列,如调节该载体在宿主细胞中的复制的序列(如复制起点)和选择标记基因。选择标记基因便于对载体已经导入其中的宿主细胞进行选择(参见例如,美国专利 No. 4,399,216、4,634,665 和 5,179,017)。例如,通常选择标记基因赋予载体已经导入其中的宿主细胞以药物抗性,例如对 G418、潮霉素或甲氨蝶呤的抗性。优选的选择标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用于以甲氨蝶呤选择/扩增 dhfr⁻ 宿主细胞)、新霉素耐药基因(用于 G418 选择)以及谷氨酸合成酶基因。

[0236] 用于重组产生蛋白质的非杂交瘤宿主细胞和方法

[0237] 编码抗 M-CSF 抗体的核酸分子和包含这些核酸分子的载体可用于转化合适的哺乳动物、植物、细菌或酵母宿主细胞。转化可通过用于将多核苷酸导入宿主细胞的任何已知方法完成。用于将异源多核苷酸导入哺乳动物细胞的方法是本领域熟知的,包括葡聚糖介导的转染、磷酸钙沉淀、聚凝胺-介导的转染、原生质体融合、电穿孔术、脂质体包囊化的多核苷酸和直接显微注射 DNA 至胞核。另外,核酸分子可通过病毒载体引入至哺乳动物细胞。转化细胞的方法是本领域熟知的。参见,例如,美国专利 No. 4,399,216、4,912,040、4,740,461 和 4,959,455(通过引用将这些专利并入本申请)。转化植物细胞的方法是本领域熟知的,包括如农杆菌属介导的转化、基因枪转化、直接注射、电穿孔和病毒转化。转化细菌和酵母细胞的方法也是本领域熟知的。

[0238] 可用作表达用宿主的哺乳动物细胞系是本领域熟知的,包括许多可从美国典型培养物保藏中心(ATCC)获得的永生化细胞系。这些例如包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、NS0、SP2 细胞、HeLa 细胞、幼仓鼠肾(BHK)细胞、猴肾细胞(COS)、人肝细胞癌细胞(如 Hep G2)、A549 细胞和许多其它的细胞系。通过确定哪种细胞系具有高表达水平来选择特别优选的细胞系。其它可使用的细胞系是昆虫细胞系如 Sf9 细胞。当将编码抗体基因的重组表达载体引入至哺乳动物宿主细胞时,可通过培养宿主细胞一段时间来产生抗体,所述的时间足以使该抗体在宿主细胞中表达,或更优选地使该抗体分泌至宿主细胞生长的培养基中。可使用标准蛋白质纯化方法从培养基回收抗体。植物宿主细胞包括如烟草、拟南芥、浮萍、玉米、小麦、马铃薯等。细菌宿主细胞包括大肠杆菌和链霉菌属种类。酵母宿主细胞包括粟酒裂殖酵母、酿酒酵母和巴斯得毕赤酵母。

[0239] 此外,可使用许多已知的技术增强本发明的抗体(或其其它部分)从生产细胞系中的表达。例如,谷氨酰胺合成酶基因表达系统(GS 系统)是用于在一定条件下改善表达的普通方法。该 GS 系统在欧洲专利 No. 0 216 846、0 256 055 和 0 323 997 以及欧洲专利申请 No. 89303964.4 中有完整或部分讨论。

[0240] 通过不同细胞系表达或在转基因动物中表达的抗体可能彼此具有不同的糖基化。然而,由在此提供的核酸分子编码或包含在此提供的氨基酸序列的所有抗体是本发明的一部分,无需考虑该抗体的糖基化状态或形式或修饰情况。

[0241] 转基因动物和植物

[0242] 也可通过产生以目标免疫球蛋白重链和轻链序列转基因的哺乳动物或植物而以

转基因的方式产生本发明的抗 M-CSF 抗体,且所产生的抗体是可自其回收的形式。就在哺乳动物中转基因产生而言,抗 M-CSF 抗体可产生于山羊、牛或其他哺乳动物的乳中,并可从中回收。参见,例如,美国专利 No. 5,827,690、5,756,687、5,750,172 和 5,741,957。在一些实施方式中,如上所述,以 M-CSF 或其免疫原性部分免疫包含人免疫球蛋白基因座的非人转基因动物。在植物、酵母或真菌 / 藻类中制备抗体的方法描述于,例如,美国专利 6,046,037 和 US5,959,177。

[0243] 在一些实施方式中,非人转基因动物或转基因植物可通过标准转基因技术将一或多种编码本发明的抗 M-CSF 抗体的核酸分子导入动物或植物中而产生。参见 Hogan 和美国专利 6,417,429,见上。用于生产转基因动物的转基因细胞可以是胚胎干细胞或体细胞。转基因非人生物体可以是嵌合、非嵌合的杂合子及非嵌合的纯合子。参见,例如, Hogan et al., *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual* 2ed., Cold Spring Harbor Press (1999); Jackson et al., *Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach*, Oxford University Press (2000); 和 Pinkert, *Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook*, Academic Press (1999)。在一些实施方式中,转基因非人动物具有通过编码目标重链和 / 或轻链的靶向构建体所造成的靶向断裂和替换。在优选的实施方式中,转基因动物包含并表达编码特异性结合至 M-CSF, 优选地结合至人 M-CSF 的重链和轻链的核酸分子。在一些实施方式中,转基因动物包含编码修饰的抗体如单链抗体、嵌合抗体或人源化抗体的核酸分子。抗 M-CSF 抗体可在任何转基因动物中生产。在优选的实施方式中,非人动物是小鼠、大鼠、绵羊、猪、山羊、牛或马。非人转基因动物将所述编码的多肽表达于血、乳、尿、唾液、泪液、粘液和其它体液中。

[0244] 噬菌体展示文库

[0245] 本发明提供制备抗 M-CSF 抗体或其抗原结合部分的方法,其包括如下步骤:在噬菌体上合成人抗体文库,筛选含有 M-CSF 或其部分的文库,分离与 M-CSF 结合的噬菌体,并从该噬菌体获得抗体。例如,制备抗体文库用于噬菌体展示技术的方法包括如下步骤:以 M-CSF 或其抗原部分免疫包括人免疫球蛋白基因座的非 - 人动物以便引起免疫应答,由经免疫的动物提取产生抗体的细胞;由该提取的细胞分离 RNA,将 RNA 反转录以产生 cDNA,使用引物扩增 cDNA,并将 cDNA 插入噬菌体展示载体以便抗体在噬菌体上表达。可以此方式获得本发明的重组抗 M-CSF 抗体。

[0246] 本发明的重组抗 M-CSF 人抗体可通过筛选重组的组合抗体文库来分离。优选地,该抗体文库为 scFv 噬菌体展示文库,其通过使用分离自 B 细胞的 mRNA 所制备的人 V_L 和 V_H cDNA 产生。制备及筛选此类文库的方法是本领域已知的。已有用于产生噬菌体展示文库的商品化试剂盒(例如,Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, 目录号 27-9400-01;和 Stratagene SurfZAPTM phage display kit, 目录号 240612)。也有其它可用于产生及筛选抗体展示文库的方法及试剂(参见,例如,美国专利 No. 5,223,409; PCT 出版物 W092/18619、W091/17271、W092/20791、W092/15679、W093/01288、W092/01047、W092/09690; Fuchs et al., *Bio/Technology* 9:1370-1372 (1991); Hay et al., *Hum. Antibod. Hybridomas* 3:81-85 (1992); Huse et al., *Science* 246:1275-1281 (1989); McCafferty et al., *Nature* 348:552-554 (1990); Griffiths et al., *EMBO J.* 12:725-734 (1993); Hawkins et al., *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992);

Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991); Gram et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:3576-3580 (1992); Garrad et al., Bio/Technology 9:1373-1377 (1991); Hoogenboom et al., Nuc. Acid Res. 19:4133-4137 (1991); 和 Barbas et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7978-7982 (1991)。

[0247] 在一个实施方式中,为分离具有所需特性的人抗 M-CSF 抗体,首先采用在此所述的人抗 M-CSF 抗体来选择对 M-CSF 具有类似结合活性的人重链及轻链序列,其使用 PCT 出版物 W093/06213 中描述的表位印记法 (epitope imprinting)。用于此方法的抗体文库优选为 scFv 文库,其制备及筛选描述于 PCT 出版物 W092/01047, McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990); 和 Griffiths et al., EMBO J. 12:725-734 (1993)。scFv 抗体文库优选使用人 M-CSF 作为抗原来筛选。

[0248] 一旦选定最初的人 V_L 和 V_H 结构域,即可进行“混合及匹配”试验,其中筛选不同对的最初选择的 V_L 和 V_H 节段的 M-CSF 结合情况,以选出优选的 V_L/V_H 配对组合。此外,为进一步改善抗体品质,可对优选的 V_L/V_H 对的 V_L 和 V_H 节段进行随机突变,优选在 V_H 和 / 或 V_L 的 CDR3 区内,其方法类似于体内导致天然免疫应答过程中抗体的亲和力成熟的体细胞突变过程。这种体外亲和力成熟可通过使用分别互补于 V_H CDR3 或 V_L CDR3 的 PCR 引物扩增 V_H 和 V_L 结构域而实现,其中该引物的某些位置已经掺入四种核苷酸碱基的随机混合物,以使得所得 PCR 产物所编码的 V_H 和 V_L 节段中的 V_H 和 / 或 V_L CDR3 区中导入了随机突变。可再次就其 M-CSF 结合性对这些随机突变的 V_H 和 V_L 节段进行筛选。

[0249] 从重组免疫球蛋白展示文库筛选并分离本发明的抗 M-CSF 抗体之后,可回收来自展示包装(如来自噬菌体基因组)的编码选定抗体的核酸,并通过标准重组 DNA 技术亚克隆入其它表达载体。若需要时,该核酸可进一步如下所述加以操作以产生其它本发明的抗体形式。为表达通过筛选组合文库所分离的重组人抗体,如上所述将编码抗体的 DNA 克隆入重组表达载体并导入哺乳动物宿主细胞中。

[0250] 类别转换

[0251] 本发明的另一方面提供一种方法,用于将抗 M-CSF 抗体的类别或亚类转换为另一种类别或亚类。在一些实施方式中,使用本领域所熟知的方法来分离编码 V_L 或 V_H 但不包含任何编码 C_L 或 C_H 的核酸序列的核酸分子。接着将该核酸分子可操作地连接至编码来自所需免疫球蛋白类别或亚类的 C_L 或 C_H 的核酸序列。其可通过使用包括 C_L 或 C_H 链的载体或核酸分子而实现,如前所述。例如,原本为 IgM 的抗 M-CSF 抗体可转换类别成为 IgG。此外,类别转换可用于将 IgG 亚类转换为另一种,如由 IgG1 转换为 IgG2。另一制备包括所需同种型的本发明的抗体的方法包括以下步骤:分离编码抗 M-CSF 抗体的重链的核酸及编码抗 M-CSF 抗体的轻链的核酸,分离编码 V_H 区的序列,连接 V_H 序列至编码所需同种型的重链恒定结构域的序列,在细胞中表达轻链基因及重链构建体,并收集具有所需同种型的抗 M-CSF 抗体。

[0252] 在一些实施方式中,本发明的抗 M-CSF 抗体的重链第 228 位(根据欧洲编号惯例)的丝氨酸变为脯氨酸。因此, IgG4 的 F_c 区中的 CPSC 亚序列变为 IgG1 中的亚序列 CPPC (Aalberse, R. C. and Schuurman, J., Immunology, 105:9-19 (2002))。例如,位于 SEQ ID NO:46 的残基 243(其相当于欧洲编号惯例中的残基 228)的丝氨酸可变为脯氨酸。类似地,位于 SEQ ID NO:38 的残基 242(其相当于欧洲编号惯例中的残基 228)的丝氨酸可变为脯氨酸。

酸。在一些实施方式中, IgG4 抗体的框架区可回复突变成为种系构架序列。某些具体实施方式同时包括构架区的回复突变及 FC 区的丝氨酸变为脯氨酸。参见, 例如, 表 1A 中的 SEQ ID NO:54(抗体 9.14.4C-Ser) 和 SEQ ID NO:58(抗体 8.10.3C-Ser)。

[0253] 去免疫化的抗体

[0254] 另一产生具有减低免疫原性的抗体的方法为抗体去免疫化。在本发明的另一方面, 抗体可使用描述于如 PCT 出版物 W098/52976 和 W000/34317(其全文以引用的方式并入本申请)的技术来进行去免疫化。

[0255] 突变的抗体

[0256] 在另一实施方式中, 核酸分子、载体及宿主细胞可用于制备突变的抗 M-CSF 抗体。该抗体可于重链和 / 或轻链的可变结构域内产生突变, 如改变抗体的结合特性。例如, 可于一个或多个 CDR 区中产生突变以增加或降低抗体对 M-CSF 的 K_D , 以增加或降低 k_{off} , 或者改变抗体的结合特异性。定点突变技术是本领域中所熟知的。参见, 例如, Sambrook et al. 和 Ausubel et al., 见上。在优选的实施方式中, 与种系相比, 已知突变发生在抗 M-CSF 抗体的可变结构域内要改变的氨基酸残基位置。在另一实施方式中, 与种系相比, 已知一或多个突变发生在单克隆抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3CG2、9.7.2CG2、9.7.2CG4、9.14.4CG2、9.14.4CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1 的可变结构域的 CDR 区或框架区内或恒定结构域内要改变的氨基酸残基位置。在另一实施方式中, 与种系相比, 已知一或多个突变发生在选自 SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98 或 102 的重链氨基酸序列或其重链核苷酸序列为 SEQ ID NO:1、5、9、25、29、33、37、45、97 或 101 的重链氨基酸序列的可变结构域的 CDR 区或框架区内要改变的氨基酸残基位置。在另一实施方式中, 与种系相比, 已知一或多个突变发生在选自 SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、44、48、52、56 或 60 的轻链氨基酸序列或其轻链核苷酸序列为 SEQ ID NO:3、7、11、27、31、35、43 或 47 的轻链氨基酸序列的可变结构域的 CDR 区或框架区内要改变的氨基酸残基位置。

[0257] 在一个实施方式中, 构架区已经突变以便所产生的构架区具有对应的种系基因的氨基酸序列。突变发生于构架区或恒定区以增加抗 M-CSF 抗体的半衰期。请见如 PCT 出版物 W000/09560, 通过引用将其并入本申请。也可在构架区或恒定区中产生突变以改变抗体的免疫原性, 以提供共价或非共价结合另一分子的位点, 或改变如补体结合的特性、FcR 结合及抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC)。根据本发明, 单一抗体可在可变结构域的一或多个 CDR 或框架区内或者是恒定结构域内具有突变。

[0258] 在一些实施方式中, 与突变前的抗 M-CSF 抗体相比, 在突变的抗 M-CSF 抗体的 V_H 或 V_L 结构域中有由 1 至 8 个 (包含其间任何数字) 氨基酸突变。上述任一情况中, 突变可发生于一个或多个 CDR 区。而且, 任一突变都可为保守性氨基酸取代。在一些实施方式中, 恒定区含有不超过 5、4、3、2 或 1 个氨基酸变化。

[0259] 修饰的抗体

[0260] 在另一实施方式中, 可产生融合抗体或免疫粘附素, 其包括连接至另一多肽的本发明的抗 M-CSF 抗体的全部或部分。在优选的实施方式中, 仅抗 M-CSF 抗体的可变结构域连

接至多肽。在另一优选的实施方式中,抗 M-CSF 抗体的 V_H 结构域连接第一多肽,而抗 M-CSF 抗体的 V_L 结构域连接第二多肽,第二多肽与第一多肽的关联方式使得 V_H 和 V_L 结构域能彼此相互作用从而形成抗体结合位点。在另一优选的实施方式中, V_H 结构域通过接头与 V_L 结构域分离,以便 V_H 和 V_L 结构域可彼此互相作用(请见下文有关单链抗体的部分)。 V_H -接头- V_L 抗体再连接至目的多肽。融合抗体可用以将多肽指引向表达 M-CSF 的细胞或组织。该多肽可为一种治疗剂,如毒素、生长因子或其它调节蛋白质,或者其可为诊断剂,例如易于观察的酶,如辣根过氧化物酶。此外,产生的融合抗体中两个(或多个)单链抗体可互相连接。这对于希望在单一多肽链上产生二价或多价抗体或者希望产生双特异性抗体而言是有用的。

[0261] 为产生单链抗体(scFv),将编码 V_H 和 V_L 的 DNA 片段可操作地连接至另一编码柔性接头的片段(如编码氨基酸序列 $(Gly_4-Ser)_3$),使得 V_H 和 V_L 序列可作为连续的单链蛋白质表达,且该 V_L 和 V_H 结构域以柔性接头连结。参见,例如, Bird et al., Science 242:423-426 (1988); Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988); McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990)。单链抗体可为单价(若仅使用单一 V_H 和 V_L)、二价(若使用两种 V_H 和 V_L)或多价(若使用多于两种 V_H 和 V_L)。可产生能与 M-CSF 及另一分子特异性结合的双特异性或多价抗体。

[0262] 在其他一些实施方式中,可使用编码抗 M-CSF 抗体的核酸分子制备其它经修饰的抗体。例如,可依照说明书教导采用标准的分子生物技术来制备“ κ 抗体”(Ill et al., Protein Eng. 10:949-57 (1997))、“微型抗体”(Martin et al., EMBO J. 13:5303-9 (1994))、“二价抗体”(Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993))或“Janusins”(Traunecker et al., EMBO J. 10:3655-3659 (1991) 和 Traunecker et al., Int. J. Cancer (Suppl.) 7:51-52 (1992))。

[0263] 可通过多种方法来制备双特异性抗体或抗原结合片段,包括杂交瘤的融合或 Fab' 片段的连接等。参见,例如, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990), Kostelny et al., J. Immunol. 148:1547-1553 (1992)。另外,可形成“二价抗体”或“Janusins”形式的双特异性抗体。在一些实施方式中,双特异性抗体可与两种不同的 M-CSF 表位结合。在一些实施方式中,双特异性抗体具有来自单克隆抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3 或 9.7.2 的第一重链及第一轻链,以及另外的抗体重链及轻链。在一些实施方式中,另外的轻链及重链也来自上述单克隆抗体之一,但不同于所述第一重链及轻链。

[0264] 在一些实施方式中,可使用来自在此所提供的人抗 M-CSF 单克隆抗体、该单克隆抗体的氨基酸序列、或由编码该单克隆抗体的核酸序列所编码的重链或轻链的一或多个可变区或 CDR 区制备上述经修饰抗体。

[0265] 衍生及标记的抗体

[0266] 本发明的抗 M-CSF 抗体或抗原结合部分可经另一分子(如另一肽或蛋白质)衍生化或与之连接。通常,抗体或其部分的衍生方式使得该衍生或标记不会不利影响其与 M-CSF 结合。因此,本发明的抗体与抗体部分意欲包括在此所述的完整及经修饰形式的人抗 M-CSF 抗体。例如,本发明的抗体或抗体部分可功能性地连接(通过化学结合、基因融合、非共价键结合等)至一或多个其它分子实体,如另一抗体(如双特异性抗体或二价抗体)、检测剂、

细胞毒性剂、药剂和 / 或可介导所述抗体或抗体部分与另一分子（如链霉抗生物素蛋白核心区或聚组氨酸标签）结合的蛋白质或肽。

[0267] 一种衍生的抗体是通过使两个或多个抗体（各为同类或不同类，如产生双特异性抗体）交联而制备的。适当的交联接头是异双官能团，具有两个以适当间隔子（如间 - 马来酰亚胺苯甲酰基 -N- 羟基琥珀酰亚胺酯）分隔的不同反应基团，或是同种双官能团（如琥珀酰亚胺基辛二酸酯）的。此种接头可得自 Pierce Chemical Company, Rockford, Ill.

[0268] 另一种衍生抗体为标记抗体。可用于衍生本发明的抗体或抗原结合部分的检测剂包含荧光化合物，包含荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、5- 二甲胺 -1- 萘磺酰氯、藻红素、镧系元素磷光体等。抗体也可标记上用于检测的酶，如辣根过氧化物酶、 β - 半乳糖苷酶、萤光素酶、碱性磷酸酶、葡萄糖氧化酶等。当抗体以可检测的酶标记时，其通过添加额外的试剂来检测，所述的试剂被酶利用产生可识别的反应产物。例如，存在辣根过氧化物酶试剂时，添加过氧化氢及二氨基联苯胺能产生可检测的有色反应产物。抗体亦可以生物素标记，并通过间接测量抗生物素蛋白或链霉抗生物素蛋白结合进行检测。抗体还可由能以二级报告子（如亮氨酸拉链对序列、二抗的结合部位、金属结合区、表位标签）识别的预先测定的多肽表位标记。在一些实施方式中，标记可通过不同长度的间隔臂附着以减少可能的空间障碍。

[0269] 抗 M-CSF 抗体也可以放射标记氨基酸标记。放射标记的抗 M-CSF 抗体可用于诊断及治疗目的。例如放射标记的抗 M-CSF 抗体可通过 x- 射线或其它诊断技术来检测能表达 M-CSF 的肿瘤。另外，放射标记的抗 M-CSF 抗体可治疗性地用作癌细胞或肿瘤的毒素。标记多肽实例包含（不限于）下列放射性同位素或放射核素 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 和 ^{131}I 。

[0270] 抗 M-CSF 抗体也可用化学基团例如聚乙二醇 (PEG)、甲基或乙基或碳水化合物基团来衍生。这些基团可用于改善抗体的生物学特性，如增加血清半衰期或增强组织结合。

[0271] 药物组合物及试剂盒

[0272] 本发明还涉及包含人抗 M-CSF 拮抗剂抗体的组合物，其用于有需要治疗的对象来治疗类风湿性关节炎、骨质疏松症或动脉硬化。在一些实施方式中，治疗的对象为人。在其他一些实施方式中，对象为兽医对象。可以本发明拮抗剂抗 M-CSF 抗体治疗的单核细胞在其中发挥重要作用的过度增殖性病症可涉及任何组织或器官并包含（但不限于）脑癌、肺癌、鳞状细胞癌、膀胱癌、胃癌、胰脏癌、乳腺癌、头癌、颈癌、肝癌、肾癌、卵巢癌、前列腺癌、结肠直肠、食道癌、妇科癌症、鼻咽癌或甲状腺癌、黑色素瘤、淋巴瘤、白血病或多发性骨髓瘤。特别地，本发明的人拮抗剂抗 M-CSF 抗体可用于治疗或预防乳癌、前列腺癌、结肠癌及肺癌。

[0273] 本发明还涵盖用于治疗选自下列病症的组合物：哺乳动物（包含人）的包括系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎和皮肤狼疮的狼疮、关节炎、牛皮癣性关节炎、Reiter's 综合征、痛风、创伤性关节炎、风疹关节炎与急性滑膜炎、类风湿性关节炎、类风湿性脊椎炎、强直性脊柱炎、骨关节炎、痛风性关节炎及其它关节炎病症、脓毒症、脓毒性休克、内毒素休克、革兰氏阴性菌脓毒症、中毒性休克综合征、阿尔茨海默氏症、中风、神经创伤、哮喘、成人呼吸道窘迫综合征、脑型疟、慢性肺炎性疾病、硅肺、肺部类肉瘤病、骨质再吸收疾病、骨质疏松症、再狭窄、心脏及肾脏再灌注伤害、血栓形成、肾小球肾炎、糖尿病、移植物抗宿主反应、同种

异体移植物排斥、炎性肠病、局限性回肠炎、溃疡性结肠炎、多发性硬化症、肌肉变性、湿疹、接触性皮炎、牛皮癣、晒伤或结膜炎性，该组合物包含治疗有效量的本发明人抗 M-CSF 单克隆抗体及药用可接受载体。

[0274] 治疗可包含施用一或多种本发明的拮抗剂抗 M-CSF 单克隆抗体或其抗原结合片段，其可单独或与药用可接受载体共同给药。在本文中，“药用可接受载体”意指任何及所有生理相容的溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂及抗真菌剂、等渗剂及吸收延缓剂等等。药用可接受载体的一些实例为水、盐水、磷酸缓冲盐水、葡萄糖、甘油、乙醇等以及其混合物。在许多情况下，优选为组合物中包含等渗剂，如糖类、多元醇类如甘露醇、山梨糖醇或氯化钠。额外的药用可接受物质实例为可增加抗体的保存期或效力的湿润剂或少量助剂，如湿润剂或乳化剂、防腐剂或缓冲剂。

[0275] 本发明的抗 M-CSF 抗体及包括这些抗体的组合物可与一种或多种其它治疗剂、诊断剂或预防剂组合给药。额外的治疗剂包含其它抗新生物、抗肿瘤、抗血管形成或化学治疗剂。此种额外的药剂可包含于相同组合物中或分别给药。在一些实施方式中，一种或多种的本发明抑制性抗 M-CSF 抗体可做为疫苗或疫苗的佐剂。

[0276] 本发明的组合物可为多种形式，例如液体、半固体及固体剂型，如液体溶液（如可注射及输注溶液）、分散液或悬浮液、片剂、丸剂、粉剂、脂质体及栓剂。优选形式取决于预期的给药方式及治疗用途。典型的优选组合物为可注射或输注溶液形式，如类似运用于人被动免疫的组合物。优选给药方式为胃肠外给药（如静脉、皮下、腹腔、肌肉）。在优选的实施方式中，抗体是以静脉输注或注射给药。在另一优选的实施方式中，该抗体可肌肉注射或皮下注射给药。在另一实施方式中，本发明包括以可特异性结合 M-CSF 的抗体或其抗原结合部分治疗需治疗的对象的方法，其步骤包括：(a) 施用有效量的编码重链或其抗原结合部分的分离核酸分子、编码轻链或其抗原结合部分的分离核酸分子，或同时施用编码轻链及重链或其抗原结合部分的核酸分子；及 (b) 表达该核酸分子。

[0277] 治疗性组合物典型地必须是无菌且于制造及贮存条件下稳定。组合物可调配为溶液、微乳化溶液、分散液、脂质体或其它适于高药物浓度的规定结构。无菌可注射溶液的制备可通过将含需要量抗 M-CSF 抗体的合适溶剂与视需要的一种上列成分或上列成分的组相混合，然后无菌过滤。通常，分散剂的制备是通过将活性化合物掺入包含基础分散介质及必需的上列其它成分的无菌载体中。至于可供制备无菌可注射溶液的无菌粉剂，优选制备方法为真空干燥及冷冻干燥处理预先无菌过滤的溶液以产生包括活性成分及任何附加所需成分的粉末。可通过如使用包衣（如卵磷脂）、于分散液中维持所需颗粒大小及使用表面活性剂维持溶液的适当流动性。可通过在组合物中纳入可延缓吸收的药剂（如单硬脂酸盐类及明胶）延长可注射组合物的吸收。

[0278] 本发明的抗体可通过多种本领域中已知的方法给药，不过对许多治疗用途而言，优选给药途径/方法为皮下注射、肌肉注射或静脉输注。本领域人员应了解给药途径和/或方式取决于所需的结果。

[0279] 在某些实施方式中，可用能防止抗体快速释放的载体处理该抗体组合物的活性化合物，制备成例如控制释放制剂，包含植入物、经皮贴片及微胶囊递送系统。可使用生物可分解、生物相容性聚合物，如乙烯乙酸乙烯酯、聚酞类、聚乙醇酸、胶原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。许多可制备此种制剂的方法都已申请专利或普遍为本领域人员所熟知。参见，例如，

Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems (J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978)。

[0280] 在某些实施方式中,本发明的抗 M-CSF 抗体可口服给药,例如与惰性稀释剂或可吸收的食用载体合用。该化合物(及视需要的其它成分)亦可封入硬胶囊或软明胶胶囊中,压缩为片剂或直接掺入对象饮食中。对治疗性的口服给药,抗 M-CSF 抗体可与赋形剂并用,并以可食片剂、口腔片、含片、胶囊、酏剂、悬浮液、糖浆、薄片等形式运用。除了胃肠外施用本发明化合物外,该化合物可能需要以能预防其失活的物质包衣或与可预防其失活的物质共同施用。

[0281] 额外的活性化合物亦可掺入所述组合物中。在某些实施方式中,本发明的抗 M-CSF 抗体可与一种或多种额外的治疗剂共同调配和/或共同给药。这些药剂包含可与其它靶结合的抗体、抗癌剂、抗肿瘤剂、化学治疗剂、抑制 M-CSF 的肽类似物、能与 M-CSF 结合的可溶性 c-fms、一种或多种抑制 M-CSF 的化学剂、抗炎剂、抗凝血剂、降血压药剂(即血管紧张素-转化酶(ACE)抑制剂)。此种组合疗法可需要较低剂量的抗 M-CSF 抗体以及共同施用的药剂,从而避免与各种单一药物治疗法相关的可能毒性或并发症。

[0282] 本发明的抑制性抗 M-CSF 抗体及包括该抗体的组合物亦可与其它治疗方案组合施用,特别是与放射疗法并用治疗癌症。本发明化合物亦可与抗癌剂(如血管内皮抑制素及血管抑制素(angiostatin))或细胞毒性药物(如阿霉素)、柔红霉素、顺铂、鬼臼噻吩甙、紫杉醇、泰素帝及生物碱(如长春花新碱、法呢基转移酶抑制剂、VEGF 抑制剂)及抗代谢剂(如氨甲喋呤)并用。

[0283] 本发明的化合物亦可与抗病毒剂(如 Viracept、AZT、阿昔洛韦及泛昔洛韦、以及抗脓毒症化合物(如 Valant)并用。

[0284] 本发明的组合物可包含“治疗有效量”或“预防有效量”的本发明的抗体或其抗原结合部分。“治疗有效量”意指,以剂量及所需时间而言,可有效达到所需的治疗效果的量。抗体或抗体部分的治疗有效量可依各种因素而不同,如个体的疾病状态、年龄、性别及体重,以及抗体或抗体部分诱发个体所需反应的能力。治疗有效量也是指该剂量时抗体或抗体部分的有益治疗作用胜过其任何毒性或有害作用。“预防有效量”意指,以剂量及所需时间而言,可有效达到所需的预防作用的量。典型地,由于预防性剂量是用于染病前或患病早期的对象,预防有效量将小于治疗有效量。

[0285] 可调整剂量方案以提供最佳所需反应(如治疗或预防反应)。例如可施用单一冲击剂量、可于一段时间内施用数次分割剂量或该剂量可视治疗状态的迫切需要而成比例地减少或增加。将胃肠外组合物调配成为单位剂型特别有利,其可易于给药且剂量统一。在本文中,单位剂型意指物理上离散的单位,其适合用作欲治疗的哺乳动物对象的单位剂型;各单位包含预先定量的活性化合物,其加上所需的药用载体、经计算可产生所需疗效。本发明的剂量形式的规格直接取决于(a)抗 M-CSF 抗体或部分的独特特性以及欲实现的特定治疗或预防作用,及(b)配制此抗体用于治疗敏感个体的技术中的内在限制因素。

[0286] 本发明的抗体或抗体部分的治疗或预防有效量的示范性非限制性范围为 0.025 至 50mg/kg,更优选地为 0.1 至 50mg/kg,更优选地为 0.1 至 25、0.1 至 10 或 0.1 至 3mg/kg。应注意的是剂量值可随所需减轻的病症类型及严重性而变化。应进一步了解对任何特定对象而言,特定的剂量方案应于一段时间后依个体需要及给药者或监督施用组合物者的专业

判断来加以调整,且在此所示的剂量范围仅为示范性的且并非意欲限制本发明的组合物的范围或运用。

[0287] 本发明的另一方面提供试剂盒,其包括本发明的抗 M-CSF 抗体或抗原结合部分或包括此种抗体或部分的组合物。除抗体或组合物外,试剂盒可包含诊断剂或治疗剂。试剂盒亦可包含用于诊断或治疗法的说明。在优选的实施方式中,该试剂盒包含了抗体或包括该抗体的组合物及可用于下述方法中的诊断剂。在另一优选的实施方式中,该试剂盒包含抗体或包含其的组合物及一种或多种可用于下述方法中的治疗剂。本发明的一个实施方式为试剂盒,其包括容器、对患有炎症性疾病的人施用抗 M-CSF 抗体的说明、或测量生物学样品中的 CD14+CD16+ 单核细胞数量的说明、以及抗 M-CSF 抗体。

[0288] 本发明还涉及抑制哺乳动物中异常细胞生长的组合物,其包括一定量的本发明的抗体以及一定量的化学治疗剂,其中的化合物、盐类、溶剂化物或前药及化学治疗剂的量可一起有效抑制异常细胞的生长。许多化学治疗剂为本领域中已知。在一些实施方式中,该化学治疗剂选自:有丝分裂抑制剂、烷化剂、抗代谢剂、嵌入抗生素、生长因子抑制剂、细胞周期抑制剂、酶、拓扑异构酶抑制剂、生物反应调节剂、抗激素、如抗雄激素及抗血管形成剂。

[0289] 抗血管形成剂,如 MMP-2(基质金属蛋白酶 2)抑制剂、MMP-9(基质金属蛋白酶-9)抑制剂及 COX-II(环氧化酶 II)抑制剂,可与本发明的抗 M-CSF 抗体组合。可用的 COX-II 抑制剂实例包含 CELEBREX™(塞来考昔(celecoxib))、伐地考昔(valdecoxib)及罗非考昔(rofecoxib)。可用的基质金属蛋白酶抑制剂实例描述于 W096/33172(1996 年 10 月 24 日公开)、W096/27583(1996 年 3 月 7 日公开)、欧洲专利申请号 97304971.1(1997 年 7 月 8 日申请)、欧洲专利申请号 99308617.2(1999 年 10 月 29 日申请)、W098/07697(1998 年 2 月 26 日公开)、W098/03516(1998 年 1 月 29 日公开)、W098/34918(1998 年 8 月 13 日公开)、W098/34915(1998 年 8 月 13 日公开)、W98/33768(1998 年 8 月 6 日公开)、W098/30566(1998 年 7 月 16 日公开)、欧洲专利申请 606,046(1994 年 7 月 13 日公开)、欧洲专利公开 931,788(1999 年 7 月 28 日公开)、W090/05719(1990 年 5 月 31 日公开)、W099/52910(1999 年 10 月 21 日公开)、W099/52889(1999 年 10 月 21 日公开)、W099/29667(1999 年 6 月 17 日公开)、PCT 国际申请 PCT/IB98/01113(1998 年 7 月 21 日申请)、欧洲专利申请 99302232.1(1999 年 3 月 25 日申请)、英国专利申请 9912961.1(1999 年 6 月 3 日申请)、美国临时申请 60/148,464(1999 年 8 月 12 日申请)、美国专利 5,863,949(1999 年 1 月 26 日颁予)、美国专利 5,861,510(1999 年 1 月 19 日颁予)及欧洲专利公开 780,386(1997 年 6 月 25 日公开),其全部内容皆以引用的方式并入本申请。优选的 MMP 抑制剂为不会导致关节疼痛。更优选的为相对于其它基质金属蛋白酶(即 MMP-1、MMP-3、MMP-4、MMP-5、MMP-6、MMP-7、MMP-8、MMP-10、MMP-11、MMP-12 及 MMP-13)可选择性抑制 MMP-2 和/或 MMP-9 的 MMP 抑制剂。用于本发明中的 MMP 抑制剂的一些具体实例为 AG-3340、R032-3555、RS13-0830、以及下列化合物:3-[[4-(4-氟-苯氧基)-苯磺酰基-(1-羟基氨甲酰基-环戊基)-氨基]-丙酸;3-外-3-[4-(4-氟-苯氧基)-苯磺酰氨基]-8-氧杂-二环[3.2.1]辛烷-3-羧酸羟基酰胺;(2R,3R)1-[4-(2-氯-4-氟-苄氧基)-苯磺酰基]-3-羟基-3-甲基-哌啶-2-羧酸羟基酰胺;4-[4-(4-氟-苯氧基)-苯磺酰氨基]四氢-吡喃-4-羧酸羟基酰胺;3-[[4-(4-氟-苯氧基)-苯磺酰基-(1-羟基氨甲酰基-环丁基)-氨基]-丙酸;4-[4-(4-氯-苯氧基)-苯磺酰氨基]-四氢-吡喃-4-羧酸羟基酰胺;(R)3-[4-(4-氯-苯氧基)-苯磺酰氨基]-四氢-吡

喃-3-羧酸羟基酰胺;(2R,3R)1-[4-(4-氟-2-甲基-苄氧基)-苯磺酰]-3-羟基-3-甲基-哌啶-2-羧酸羟基酰胺;3-[[4-(4-氟-苄氧基)-苯磺酰]-(1-羟基氨甲酰基-1-甲基-乙基)-氨基]-丙酸;3-[[4-(4-氟-苄氧基)-苯磺酰]-(4-羟基氨甲酰基-四氢-吡喃-4-基)-氨基]-丙酸;3-外-3-[4-(4-氯-苄氧基)-苯磺酰氨基]-8-氧杂-二环[3.2.1]辛烷-3-羧酸羟基酰胺;3-内-3-[4-(4-氟-苄氧基)-苯磺酰胺基]-8-氧杂-二环[3.2.1]辛烷-3-羧酸羟基酰胺;和(R)3-[4-(4-氟-苄氧基)-苯磺酰氨基]-四氢-呋喃-3-羧酸羟基酰胺;及上述化合物药学上可接受盐类及溶剂化物。

[0290] 包括本发明的人抗 M-CSF 单克隆抗体的化合物可与信号转导抑制剂一起使用,如可抑制 EGF-R(表皮生长因子受体)反应的药剂,如 EGF-R 抗体、EGF 抗体及 EGF-R 抑制剂分子;VEGF(血管内皮生长因子)抑制剂,如可抑制 VEGF 的 VEGF 受体及分子;及 erbB2 受体抑制剂,如有机分子或可与 erbB2 受体结合的抗体,如 HERCEPTIN™(Genentech, Inc.)。EGF-R 抑制剂描述于如 W095/19970 中(1995 年 7 月 27 日公开)、W098/14451(1998 年 4 月 9 日公开)、W098/02434(1998 年 1 月 22 日公开)及美国专利 5,747,498(1998 年 5 月 5 日颁予),且此种物质可如在此所述运用于本发明。EGFR-抑制剂包含(但不限于)单克隆抗体 C225 及抗 EGFR22Mab(ImClone systems Incorporated)、ABX-EGF(Abgenix/Cell Genesys)、EMD-7200(Merck KgaA)、EMD-5590(Merck KgaA)、MDX-447/H-477(Medarex Inc. and Merck KgaA)和化合物 ZD-1834, ZD-1838 和 ZD-1839(AstraZeneca)、PKI-166(Novartis)、PKI-166/CGP-75166(Novartis)、PTK787(Novartis)、CP701(Cephalon)、leflunomide(Pharmacia/Sugen)、CI-1033(Warner Lambert Parke Davis)、CI-1033/PD183,805(Warner Lambert Parke Davis)、CL-387,785(Wyeth-Ayerst)、BBR-1611(Boehringer Mannheim GmbH/Roche)、Naamidine A(Bristol Myers Squibb)、RC-3940-II(Pharmacia)、BIBX-1382(Boehringer Ingelheim)、OLX-103(Merck&Co.)、VRCTC-310(Ventech Research)、EGF 融合毒素(Seragen Inc.)、DAB-389(Seragen/Lilgand)、ZM-252808(Imperial Cancer Research Fund)、RG-50864(INSERM)、LFM-A12(Parker Hughes Cancer Center)、WHI-P97(ParkerHughes Cancer Center)、GW-282974(Glaxo)、KT-8391(Kyowa Hakko)和 EGF-R 疫苗(York Medical/Centro de Immunologia Molecular(CIM))。这些和其他 EGF-R 抑制剂和用于本发明。

[0291] VEGF 抑制剂,例如 SU-5416 及 SU-6668(Sugen Inc.)、AVASTIN™(Genentech)、SH-268(Schering)及 NX-1838(NeXstar)亦可与本发明化合物组合。VEGF 抑制剂描述于,例如, W099/24440(1999 年 5 月 20 日公开)、PCT 国际申请 PCT/IB99/00797(1999 年 5 月 3 日申请)、W095/21613(1995 年 8 月 17 日公开)、W099/61422(1999 年 12 月 2 日公开)、美国专利 5,834,504(1998 年 11 月 10 日颁予)、W098/50356(1998 年 11 月 12 日公开)、美国专利 5,883,113(1999 年 3 月 16 日颁予)、美国专利 5,886,020(1999 年 3 月 23 日颁予)、美国专利 5,792,783(1998 年 8 月 11 日颁予)、W099/10349(1999 年 3 月 4 日公开)、W97/32856(1997 年 9 月 12 日公开)、W97/22596(1997 年 6 月 26 日公开)、W098/54093(1998 年 12 月 3 日公开)、W098/02438(1998 年 1 月 22 日公开)、W099/16755(1999 年 4 月 8 日公开)及 W098/02437(1998 年 1 月 22 日公开),其全文以引用的方式并入本文中。其它一些可用于本发明的特异性 VEGF 抑制剂的实例为 IM862(Cytran Inc.);Genentech, Inc. 的抗 VEGF 单克隆抗体;以及 angiozyme,一种来自 Ribozyme and Chiron 公司的合成核酶。这些及其它

VEGF 抑制剂可如在此所述运用于本发明。ErbB2 受体抑制剂,如 GW-282974 (Glaxo Wellcome plc) 及单克隆抗体 AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc.) 及 2B-1 (Chiron), 可进一步与本发明化合物并用, 如那些描述于 W098/02434 (1998 年 1 月 22 日公开)、W099/35146 (1999 年 7 月 15 日公开)、W099/35132 (1999 年 7 月 15 日公开)、W098/02437 (1998 年 1 月 22 日公开)、W097/13760 (1997 年 4 月 17 日公开)、W095/19970 (1995 年 7 月 27 日公开)、美国专利 5,587,458 (1996 年 12 月 M 日颁予) 及美国专利号 5,877,305 (1999 年 3 月 2 日颁予), 其全部内容以引用的方式并入本文中。可用于本发明的 ErbB2 受体抑制剂也描述于美国专利 6,465,449 (2002 年 10 月 15 日颁予) 及美国专利 6,284,764 (2001 年 9 月 4 日颁予) 中, 两者全文内容皆以引用的方式并入本文中。ErbB2 受体抑制剂化合物及物质 (描述于上述 PCT 申请案、美国专利与美国临时申请案中), 以及其它可抑制 erbB2 受体的化合物与物质, 可依本发明所述与本发明化合物并用。

[0292] 抗生存 (anti-survival) 剂包含抗 IGF-IR 抗体及抗整合素剂, 如抗整合素抗体。

[0293] 抗炎剂可与本发明的抗 M-CSF 抗体并用。对治疗类风湿性关节炎而言, 本发明的人抗 M-CSF 抗体可与下列药剂并用: 如 TNF- α 抑制剂, 如 TNF 药物 (如 REMICADE™、CDP-870 及 HUMIRA™) 及 TNF 受体免疫球蛋白分子 (如 ENBREL™)、IL-1 抑制剂、受体拮抗剂或可溶性 IL-1ra (如 Kineret 或 ICE 抑制剂)、COX-2 抑制剂 (如塞来考昔、罗非考昔、伐地考昔及依托考昔)、金属蛋白酶抑制剂 (优选为 MMP-13 选择性抑制剂)、p2X7 抑制剂、 $\alpha 2\delta$ 配体 (如 NEURONTIN™ 及 PREGABALIN™)、低剂量氨甲蝶呤、Ieflunomide、hydroxychloroquine、d- 青霄胺、auranofin 或胃肠外或口服金制剂。本发明的化合物亦可与现存可治疗骨关节炎的治疗剂组合使用。可组合使用的适当药剂包含标准非类固醇抗炎剂 (以下称为 NSAID), 如炎痛喜康、双氯酚酸钠、丙酸类如萘普生、氟比洛芬 (flurbiprofen)、fenoprofen、ketoprofen 和布洛芬、芬那美特 (fenamates) (如甲灭酸)、吲哚美辛、苏林大 (sulindac)、apazone、pyrazolones (如苯基保泰松)、水杨酸类 (如阿司匹林)、COX-2 抑制剂如塞来考昔、伐地考昔、罗非考昔及依托考昔, 止痛剂及关节内治疗剂, 如类固醇及透明质酸如 hyalgan 及欣维可 (synvisc)。

[0294] 抗凝剂可与本发明的抗 M-CSF 抗体并用。抗凝剂实例包含 (但不限于) 华法令 (COUMADIN™)、肝素及 enoxaparin (LOVENOX™)。

[0295] 本发明的人抗 M-CSF 抗体亦可与心血管药剂, 如钙通道阻断剂、降血脂制剂, 如抑制素 (statins)、fibrates、 β - 阻断剂、Ace 抑制剂、血管紧张素 -2 受体拮抗剂及血小板聚集抑制剂组合使用。本发明的化合物亦可与 CNS 药物并用, 如抗抑郁剂 (如舍曲林)、抗帕金森氏症药 (如司立吉林 (deprenyl)、L- 多巴、REQUIP™、MIRAPEX™、MAOB 抑制剂, 如司来吉兰 (selegine) 及雷沙吉兰 (rasagiline)、comP 抑制剂 (如答是美 (Tasmar))、A-2 抑制剂、多巴胺再摄取抑制剂、NMDA 拮抗剂、尼古丁激动剂、多巴胺激动剂及神经元氧化氮合酶抑制剂) 及抗阿尔茨海默症药物如 donepezil、tacrine、 $\alpha 2\delta$ 配体 (如 NEURONTIN™ 和 PREGABALIN™) 抑制剂、COX-2 抑制剂、丙戊茶碱或 metryfonate。

[0296] 本发明的人抗 M-CSF 抗体亦可与骨质疏松症药物并用, 如 roloxifene、屈洛昔芬 (droloxifene)、拉索昔芬 (Iasofoxifene) 或 fosomax 及免疫抑制剂, 如 FK-506 和雷帕霉素。

[0297] 诊断用途的方法

[0298] 另一方面,本发明提供诊断方法。抗 M-CSF 抗体可用于检测体外或体内生物学样品的 M-CSF。在一个实施方式中,本发明提供一种可诊断有需要的对象体内表达 M-CSF 的肿瘤的存在或其位置的方法,其步骤包括将抗体注射至对象,通过定位抗体结合处而确定对象中的 M-CSF 表达,比较对象与正常参考对象或标准的表达并诊断肿瘤的存在或位置。

[0299] 抗 M-CSF 抗体可用于常规的免疫分析法,包含(但不限于)ELISA、RIA、FACS、组织免疫组化、蛋白质印迹法或免疫沉淀法。本发明的抗 M-CSF 抗体可用于检测来自人的 M-CSF。在另一实施方式中,抗 M-CSF 抗体可用于检测源自灵长类(如食蟹猴、恒河猴、黑猩猩或猿)的 M-CSF。本发明提供可检测生物学样品中 M-CSF 的方法,其包括将生物学样品与本发明的抗 M-CSF 抗体接触并检测已结合的抗体。在一个实施方式中,抗 M-CSF 抗体可直接以可检测的标记来标记。在另一实施方式中,抗 M-CSF 抗体(第一抗体)并未标记而第二抗体或可与抗 M-CSF 抗体结合的其它分子是标记的。例如,为本领域人员所熟知,所选的第二抗体可与第一抗体的特定物种及类别特异性结合。例如,若抗 M-CSF 抗体为人 IgG,那么二抗可为抗人 IgG。其它可结合抗体的分子包含(但不限于)蛋白质 A 及蛋白质 G,二者皆已商品化,如源自 Pierce Chemical Co。

[0300] 前文已公开了抗体或二抗的适当标记,包括各种酶、辅基、荧光物质、发光物质及放射性物质。适当的酶的实例包含辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;适当辅基复合物实例包含链霉抗生物素蛋白/生物素及抗生物素蛋白/生物素;适当荧光物质实例包含伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪胺荧光素、丹磺酰氯或藻红素;发光物实例包含鲁米诺;适当放射性物实例包含 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 或 ^3H 。

[0301] 在其他一些实施方式中,M-CSF 可于生物学样品中通过竞争性免疫分析法、利用以可检测物质标记的 M-CSF 标准及未标记的抗 M-CSF 抗体进行分析。在此测定法析中,将生物学样品、已标记的 M-CSF 标准与抗 M-CSF 抗体组合,并确定标记的 M-CSF 标准与未标记抗体结合的量。生物学样品中的 M-CSF 的量为标记的 M-CSF 标准与抗 M-CSF 抗体结合的量成反比。

[0302] 上述免疫分析法可用于多种目的。如抗 M-CSF 抗体可用于检测细胞培养物中的细胞内或细胞表面上或分泌至组织培养基的 M-CSF。抗 M-CSF 抗体可用于测定细胞表面上或分泌至组织培养基中的 M-CSF 含量,其中该培养基已使用不同化合物处理。本方法可用以鉴别可用来抑制或活化 M-CSF 表达或分泌的化合物。依照该方法,将一种细胞样本以测试化合物处理一段时间而另一样本则未经处理。若欲测定总 M-CSF 水平,将细胞裂解并使用上述一种免疫测定法来测量 M-CSF 总水平。比较经处理与未处理细胞中 M-CSF 总水平以确定受试化合物的效果。

[0303] 一种可测量 M-CSF 总水平的免疫分析法是 ELISA 或 Western 印迹法。若欲测量细胞表面的 M-CSF 水平,细胞不裂解,并可使用上述免疫分析法之一来测量细胞表面的 M-CSF 水平。可测定细胞表面 M-CSF 水平的免疫分析法包含步骤:以可检测标记(如生物素或 ^{125}I)来标记细胞表面蛋白质,以抗 M-CSF 抗体免疫沉淀 M-CSF,随后再检测标记的 M-CSF。另一种测定 M-CSF 定位的免疫分析法(如细胞表面水平)可为免疫组织化学法。如 ELISA、RIA、蛋白质印迹法、免疫组织化学、整合膜蛋白质的细胞表面标记及免疫沉淀等方法为本领域中所熟知。请见如 Harlow 和 Lane,见上。此外,免疫分析法可将规模放大以用于高通量筛选,以便测试大量抑制或活化 M-CSF 的化合物。

[0304] 另一可测量分泌的 M-CSF 水平的免疫分析法实例为抗原捕捉分析、ELISA、免疫组织染色分析、蛋白质印迹法及使用本发明的抗体的类似方法。若欲测量所分泌的 M-CSF, 可分析细胞培养基或体液(如血清、尿液或滑液)中分泌的 M-CSF 和/或将细胞裂解以释出已产生但尚未分泌的 M-CSF。可测定分泌的 M-CSF 水平的免疫分析法包含步骤: 以可检测的标记(如生物素或 ^{125}I) 将所分泌的蛋白质加以标记, 以抗 M-CSF 抗体免疫沉淀 M-CSF 并接着检测标记的 M-CSF。另一可测定分泌的 M-CSF 水平的免疫分析法包含步骤: (a) 预先将抗 M-CSF 抗体与微量滴定板表面结合; (b) 添加包含分泌 M-CSF 的组织培养细胞培养基或体液至微量滴定板的孔中与抗 M-CSF 抗体结合; (c) 添加可检测抗 M-CSF 抗体的抗体, 如以地高辛配基标记的抗 M-CSF, 其可与 M-CSF 的表位结合, 但此表位与步骤 (a) 的抗 M-CSF 抗体所结合的不同; (d) 添加过氧化物酶缀合的地高辛配基抗体; 及 (e) 添加过氧化物酶底物, 其可产生一种有色反应产物, 其可被定量以确定组织培养细胞培养基或体液样本中分泌的 M-CSF 水平。如 ELISA、RIA、蛋白质印迹法、免疫组织化学及抗原捕捉分析等方法是本领域中所熟知。参见, 例如, Harlow 和 Lane, 见上。此外, 为了测试大量抑制或活化 M-CSF 的化合物, 免疫分析法可扩大规模以供高通量筛选。

[0305] 本发明的抗 M-CSF 抗体亦可用于测定组织或起源于组织的细胞中的细胞表面 M-CSF 水平。在一些实施方式中, 组织是源自患病组织。在一些实施方式中, 该组织可为肿瘤或其活检物。在本方法的一些实施方式中, 可自患者切除组织或活检物。然后该组织或活检物可用于免疫分析法, 以通过上述方法测定如总 M-CSF 总水平、细胞表面 M-CSF 水平或 M-CSF 的定位。

[0306] 该方法可包括步骤: 对需进行该诊断试验的病患施用可检测的标记的抗 M-CSF 抗体或包括该抗体的组合物并对病患进行成像分析以测定 M-CSF 表达组织的位置。成像分析是医学领域中所熟知的方法, 且包含(但不限于)x-射线分析、核磁共振成像(MRI)或计算机断层(CE)。抗体可以任何适用于体内成像的物质标记, 如造影剂, 如钡(其可用于 x-射线分析)或磁性造影剂, 如钆螯合物, 其可用于 MRI 或 CE。其它标记物质包含(但不限于)放射性同位素, 如 ^{99}Tc 。在另一实施方式中, 抗 M-CSF 抗体将不标记, 其通过施用第二抗体或其它可与抗 M-CSF 抗体结合的可检测分子来成像。在一个实施方式中, 活检物自患者获得以测定目的组织是否表达 M-CSF。

[0307] 本发明的抗 M-CSF 抗体亦可用于测定体液(如血清、尿液或源自组织的滑液)中 M-CSF 所分泌的水平。在一些实施方式中, 体液源自患病组织。在一些实施方式中, 体液源自肿瘤或其活检物。在本方法的一些实施方式中, 体液取自病患, 随后将体液运用于免疫分析法中以通过前述方法测定分泌的 M-CSF 水平。本发明的一个实施方式为一种分析 M-CSF 拮抗剂活性的方法, 其包括: 对灵长类或人对象施用 M-CSF 拮抗剂并测量生物学样品中 CD14+CD16+ 单核细胞数量。

[0308] 治疗用途的方法

[0309] 在另一实施方式中, 本发明提供一种方法, 其可通过对需要的患者施用抗 M-CSF 抗体而抑制 M-CSF 活性。在此所述的任何类型抗体皆可做治疗用。在优选的实施方式中, 抗 M-CSF 抗体为人嵌合抗体或人源化抗体。在另一优选的实施方式中, M-CSF 属于人且患者为人患者。或者, 该患者可为表达可与抗 M-CSF 抗体交叉反应的 M-CSF 的哺乳动物。该抗体可对表达与抗体交叉反应的 M-CSF 的非人哺乳动物(即灵长类)给药作为兽医用途或

一种人疾病的动物模型。此种动物模型可用于评估本发明的抗体的疗效。

[0310] 在本文中,术语“M-CSF 活性在其中有害的病症”意欲包含疾病及其它病症,其中罹患该病症的对象中高水平 M-CSF 的存在被发现或怀疑似为该病症的病理生理学的原因或为导致病症恶化的因素。此类病症可通过如分泌的和/或于细胞表面的 M-CSF 水平增加或患有该疾病的对象受影响细胞或组织中 c-fms 的酪氨酸自身磷酸化反应增加而证实。可使用如上述的抗 M-CSF 抗体检测 M-CSF 的水平增加。

[0311] 在一个实施方式中,抗 M-CSF 抗体可给药患有表达 c-fms 的肿瘤或分泌 M-CSF 和/或于细胞表面表达 M-CSF 的肿瘤的患者。优选地,该肿瘤所表达的 c-fms 或 M-CSF 的水平高于正常组织。肿瘤可为实体肿瘤或可为非实体肿瘤,如淋巴瘤。在更加优选的实施方式中,可对患有表达 c-fms 的肿瘤、表达 M-CSF 的肿瘤或分泌 M-CSF 的癌性肿瘤的病患施用抗 M-CSF 抗体。另外,肿瘤可为癌性。在更加优选的实施方式中,肿瘤为肺癌、乳腺癌、前列腺癌或结肠癌。在另一优选的实施方式中,对患者施用的抗 M-CSF 抗体造成 M-CSF 不再与 c-fms 受体结合。在一非常优选具体实施方式中,该方法导致肿瘤重量或体积不增加或减少。在另一实施方式中,该方法可导致肿瘤细胞上的 c-fms 不被 M-CSF 结合。在另一实施方式中,该方法可导致肿瘤细胞上的 M-CSF 不被 c-fms 结合。在另一具体实施方式中,该方法可导致肿瘤细胞分泌的 M-CSF 不被 c-fms 结合。在优选的实施方式中,选自 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3、9.7.2、9.7.2C-Ser、9.14.4C-Ser、8.10.3C-Ser、8.10.3-CG2、9.7.2-CG2、9.7.2-CG4、9.14.4-CG2、9.14.4-CG4、9.14.4-Ser、9.7.2-Ser、8.10.3-Ser、8.10.3-CG4、8.10.3FG1 或 9.14.4G1,或抗体包含其重链、轻链或抗原结合区。在另一实施方式中,抗体是具有与抗体 8.10.3F 的重链、轻链、或者重链和轻链分别具有 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、96%、97%、98%或 99% 的相同性的重链、轻链、或者重链和轻链的抗 M-CSF 抗体。

[0312] 在另一优选的实施方式中,给 M-CSF 表达水平不当升高的患者施用抗 M-CSF 抗体。本领域中已知高水平 M-CSF 表达可导致多种常见癌症。在一个实施方式中,该方法涉及治疗癌症,如脑癌、鳞状细胞癌、膀胱癌、胃癌、胰腺癌、乳腺癌、头部癌症、颈部癌症、食道癌、前列腺癌、结肠直肠癌、肺癌、肾癌、肾脏癌、卵巢癌、妇科癌或甲状腺癌。可以用本发明的化合物按照本发明的方法进行治疗的患者包括,例如,已诊断为患有肺癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头及颈部癌症、皮肤或眼内黑色素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛门区癌症、胃癌、结肠癌、乳腺癌、妇科肿瘤(如子宫肉瘤、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌或外阴癌)、霍奇金氏病、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌症(如甲状腺癌、甲状旁腺癌或肾上腺癌)、软组织的肉瘤、尿道癌、阴茎癌、前列腺癌、慢性或急性白血病、实体瘤(除血液、骨髓或淋巴系统外的身体组织癌症,如肉瘤、癌或淋巴瘤)、儿童期实体瘤、淋巴细胞性淋巴瘤、膀胱癌、肾脏或输尿管癌(如肾细胞癌、肾盂癌)或中枢神经系统肿瘤(如原发性 CNS 淋巴瘤、脊柱肿瘤、脑干神经胶质瘤或脑垂体腺瘤)的患者。在更加优选的实施方式中,给患有乳腺癌、前列腺癌、肺癌或结肠癌的患者施用抗 M-CSF 抗体。在更加优选的实施方式中,该方法可导致癌症停止异常地增殖,或者不增加或减少其重量或体积。

[0313] 在另一优选的实施方式中,给 M-CSF 表达水平不当升高可导致各种炎症或免疫疾病的患者施用抗 M-CSF 抗体。此类疾病包括但不限于,狼疮包括系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎和皮肤狼疮、关节炎、牛皮癣性关节炎、Reiter's 综合征、痛风、创伤性关节炎、风疹关节

炎与急性滑膜炎、类风湿性关节炎、类风湿性脊椎炎、强直性脊柱炎、骨关节炎、痛风性关节炎及其它关节炎病症、脓毒症、脓毒性休克、内毒素休克、革兰氏阴性菌脓毒症、中毒性休克综合征、阿尔茨海默氏症、中风、神经创伤、哮喘、成人呼吸道窘迫综合征、脑型疟、慢性肺炎性疾病、硅肺、肺部类肉瘤病、骨质再吸收疾病、骨质疏松症、再狭窄、心脏及肾脏再灌注伤害、血栓形成、肾小球肾炎、糖尿病、移植物抗宿主反应、同种异体移植物排斥、炎性肠病、局限性回肠炎、溃疡性结肠炎、多发性硬化症、肌肉变性、湿疹、接触性皮炎、牛皮癣、晒伤或结膜炎性。

[0314] 抗体可给药一次,但更优选为多次给药。如该抗体可自每日给药三次至每六个月或更久给药一次。给药时间表可为如每日三次、每日二次、每日一次、每二日一次、每三日一次、每周一次、每二周一次、每月一次、每二月一次、每三月一次及每六个月一次。抗体亦可经由微型泵持续给药。该抗体可口服、粘膜、颊内、鼻内、吸入、静脉、皮下、肌内、肠胃外、肿瘤内或局部给药途径进行给药。抗体可于肿瘤的部位或发炎的身体部分给药,投入至肿瘤或发炎的身体部分内或于远离肿瘤的位置或发炎的身体部分处给药。该抗体可给药一次、至少二次或至少施用一段时间直到病症经治疗、减轻或治愈。只要肿瘤存在,该抗体通常可持续施用,前提为该抗体导致肿瘤或癌症停止生长或减少重量或体积或直到发炎的身体部分治愈。抗体通常可以前述药物组合物的一部分来施用。抗体剂量范围通常为 0.1-100mg/kg,更优选地 0.5-50mg/kg,更优选地 1-20mg/kg,且更优选为 1-10mg/kg。抗体的血清浓度可通过任何本领域中已知的方法测量。

[0315] 在另一方面,可通过检查患者与各种疾病有关的症状、各种生物学标记物、组织学和生理条件的改变来确定抗 M-CSF 抗体治疗或预防各种疾病的功效。本领域人员已知如何确定此类症状、生物学标记物、组织学和条件。例如,确定抗 M-CSF 抗体在治疗或预防患者的狼疮中的功效可包括分析或观察狼疮相关症状的改变,例如皮肤损害、蛋白尿、淋巴结病、血清 M-CSF 水平、抗 dsDNA 抗体水平和肾脏病理学改变,例如检查巨噬细胞浸润、炎性浸润、蛋白管型、肾小球簇大小、肾小球 IgG 沉积和 C3 沉积。也可检查单核细胞群例如 CD14+CD16+ 单核细胞的改变,以及破骨细胞标记物例如 uNTX-1 的改变。系统性红斑狼疮、皮肤狼疮、和狼疮性肾炎的生物学标记物可包括红细胞沉降率 (ESR)、C-反应蛋白 (CRP)、补体 (C3/C4)、Ig 水平 (IgA、IgM、IgG)、抗核抗体 (ANA)、可提取性核抗原 (ENA) 和抗 dsDNA 抗体。

[0316] 除了药代动力学生物学标记物数据,原理验证 (proof of principle) 生物学标记物可包括临床研究过程中所取得的 M-CSF 途径标记物、促炎性细胞因子 / 趋化因子、免疫细胞亚组 (B 细胞、T 细胞和 DC) 以及来自全血、血清、尿液和组织样品的其他疾病相关性标记物。

[0317] 例如,可使用探究性血清标记物组来检查与 M-CSF、单核细胞、巨噬细胞和狼疮 (系统性、肾炎和皮肤) 活动有关的细胞因子、趋化因子和其他血清的蛋白质的血清水平改变。可通过本领域人员熟知的标准免疫测定技术检查血清生物学标记物。细胞因子 / 趋化因子血清生物学标记物组可包括,例如: IFN- γ 、IFN- α 、IL-12、TNF- α 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-13、IL-15、IL-6、IL-10、TGF- β 、IL-1- α 、IL-1- β 、IL-21、IL-22、IL-23、IL-17A、IL-17F、CXCL10、CXCL9、CCL2、CCL19、RANTES、CXCL11、CCL7、CCL3、CXCL13、CCL8、CXCL8、CD40L、可溶性 TNFR 和可溶性 IL-1 受体拮抗剂。与 M-CSF、单核细胞、和巨噬细胞活性相关

的组包括：M-CSF、GM-CSF、RANKL、可溶性 CD14 和新蝶呤。与皮肤狼疮、系统性狼疮相关的血清生物学标记物亚组可包括：E-选择素、BAFF、可溶性 CD27、可溶性 CD154 和 CCL17。

[0318] 可检查来自经治疗的患者的尿液中尿液生物学标记物组的改变，其可包括例如：M-CSF、MCP-1、IL-6、IL-10、CCL3 和 RANTES。

[0319] 为了评价循环免疫细胞库 (repertoire) 暴露于抗 M-CSF 抗体后的改变，也可对来自经治疗的人类对象的全血进行荧光激活细胞分选 (FACS) 检查。可通过已经建立的细胞表面标记物表达模式来确定免疫细胞亚群。例如，B 细胞亚群组可包括评价总 B 细胞、原初 B 细胞、记忆 B 细胞（未转换的和已类别转换的）、浆细胞、双阴性 B 细胞和 IgD 原初 B 细胞。过渡 B 细胞 (transitional B cell) 组可包括过渡 B 细胞、未成熟 B 细胞和种系中心 B 细胞。T 细胞亚群组可分为总 T 细胞、NK T 细胞、NK 细胞、原初 T 细胞、记忆 T 细胞、中央记忆 T 细胞、和效应记忆 T 细胞。树突状细胞组可检查髓样树突细胞以及浆细胞样树突细胞。本领域人员知晓如何确定和检测此类细胞亚群。

[0320] 此外，可检查暴露于抗 M-CSF 抗体之后 RNA 表达的改变。RNA 可分离自来自经治疗的患者的全血和组织活检样品。可由分离的 RNA 定量基因表达，例如，通过标准的 Taqman RT-qPCR TLDA 组测定技术。例如，表 1C 列出了一组与 M-CSF 途径参与、细胞因子 / 趋化因子、和疾病相关基因表达有关的靶基因。可检查表 1C 中所列基因中一或多种 RNA 的表达以确定治疗的功效。

[0321] 例如，可通过免疫组化 (IHC) 和 RNA 表达谱评价来自皮肤狼疮患者的病损和非病损处皮肤活检样品的 M-CSF 依赖性改变。可通过 IHC 检查的细胞群包括巨噬细胞、树突状细胞 (pDC 和 mDC) 和 T 细胞群。可考虑针对血清生物学标记物组中所列的生物学标记物进行额外的 IHC 染色。对分离自皮肤活检样品的 RNA 表达分析可检查表 1C 中所列的一或多种基因。

[0322] 表 1C

[0323]

GENE, GeneBook	Entrez Gene ID
粒细胞集落刺激因子	0
α 2M 受体表达	2
ACACA	31
ACACB	32
ACP5	54
AKT1	207
Akt2 表达	208
ALAS2	212
ALOX15	246
Amd1	262
ANPEP	290
BIRC5	332
APOC1	341
APOE	348
FAS	355
FASLG	356
ARAF	369
ARF6 WT	382
ARG1	383
ARHGAP5	394
BAX	581
细胞周期蛋白 D1	595
BCL2	596
BCL2L1	598
高水平 CSF-1	629
骨形态发生蛋白-2-诱导的集落刺激因子-1	650
CA2	760
OPGL/CSF-1 处理	796
CALCR	799
CASP3	836
CSF-1	841
caspase 9	842
Runx1	861
CBL	867
CCND2	894
CSF-1	920
CD14	929
CD34 阳性造血前体细胞	947
CD36	948
CD44	960
CD47	961
CD68	968
CD97	976
CDH5	1003
CDK4	1019
CDKN1A	1026
CDKN2D	1032
CCR5	1234
COL3A1	1281
CP	1356
CPE	1363
CREB1	1385
CREB-结合蛋白	1387

[0324]

GENE, GeneBook	Entrez Gene ID
CRP	1401
MAPK14	1432
CSF-1	1435
巨噬细胞 CSF-1 抗-有义寡脱氧核苷酸	1435
抗 CSF I 抗体	1435
抗 CSF-1 Fab	1435
c-fms 基因产物	1436
表达 CSF-1 受体的 BT20 乳腺癌细胞系	1436
c-fms 原癌基因	1436
CSF-1 受体 mRNA	1436
mouse c-fms	1436
CSF1R	1436
粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)-刺激的 BAC1.2F5 巨噬细胞	1437
GM-CSF	1437
CSF2RA	1438
粒细胞集落刺激因子	1440
c-Src 激酶活性	1445
CTSK	1513
CYP11A1	1583
CYP17A1	1586
DCK	1633
DNMT1	1786
DUSP1	1843
上皮生长因子(EGF)	1950
EGR1	1958
EGR2	1959
EGR3	1960
CSF-1-诱导的 TCF/SAP-1 改变	2002
SLC29A1	2030
促红细胞生成素(EPO)	2056
ErbB2	2064
endogenous ets-2	2114
集落刺激因子 1	2114
ETS2	2114
ETV3	2117
血浆凝血酶原片段 F1	2147
F2R	2149
F2RL1	2150
F2RL2	2151
FABP7	2173
PTK2B	2185
FASN	2194
FCER1G	2207
FCGR2A	2212
FCGR2B	2213
FCGR3A	2214
FLT3	2322
FN1	2335
c-fos	2353
FYN	2534
GAPDH	2597
生长因子依赖性-1	2672
CXCR3	2833

[0325]

GENE, GeneBook	Entrez Gene ID
若干其他 GRB2-相关蛋白质	2885
HCK	3055
HDAC1	3065
HDAC2	3066
HLX1	3142
HNRNPH1	3187
HRAS	3265
HSD17B1	3292
HSPA5	3309
HTR5A	3361
IRF8	3394
IFNB1	3456
IFN- γ	3458
纯化的 IFN- γ	3458
IFN- γ	3458
IFNGR1	3459
IGF-1	3479
IGF1R	3480
IGFBP2	3485
IGF 结合蛋白-3	3486
IKK β	3551
IL-1 α	3552
IL-1 β	3553
鼠白介素-1 受体拮抗剂	3557
IL-2-受体	3558
白介素-2 (IL-2)	3558
IL-3	3562
IL-4	3565
IL-6	3569
IL6ST	3572
IL-7 增强的巨噬细胞集落刺激因子(CSF-1)-诱导的集落形成	3574
IL-8	3576
IL8	3576
IL10 水平	3586
IL10RA	3587
Il1Ira2	3590
IL12A	3592
IL12B	3593
IL18	3606
CSF-1	3630
INPP5D	3635
INPPL1	3636
IRF7	3665
ITGA5	3678
ITGAM	3684
ITGAV	3685
所有 CD11c(高) DC 亚群	3687
ITGB3	3690
ITGB5	3693
jun	3725
JUNB	3726
KCNA3	3738
KCNJ2	3759
LHB	3972

[0326]

GENE, GeneBook	Entrez Gene ID
TNF- β	4049
LYN	4067
Smad 4 增强的 CSF-1 转录	4089
MAP3K3	4215
MMP2	4313
MMP9	4318
MMP12	4321
MMP16	4325
MSR1	4481
嵌合 c-Myc 反式激活因子	4609
NFATC1	4772
NF- κ B site	4790
NFKB2	4791
CSF-1 抗体	4843
NPY1R	4886
NT5E	4907
嵌合集落刺激因子-1/TrkB-受体	4915
集落刺激因子-1	4982
OPRD1	4985
CSF-1-介导的活化	4988
SERPINE1	5054
PAI-2	5055
PAK2	5062
PDE6A	5145
PDGFA	5154
PDGFB 受体	5155
PENK	5179
PIK3CA	5290
PIK3CB	5291
PIK3CD	5293
PI3K γ (-)	5294
PIK3R2	5296
磷脂酶 A2 活性	5319
PLA2G4A	5321
uPA 启动子活化	5328
uPA 受体	5328
PLCG2	5336
PLD2	5338
PPARG	5468
PRKACA	5566
PRKCA	5578
MAPK1	5594
MAPK3	5595
ERK5/BMK1	5598
MAPK8	5599
MAPK9	5601
MAP2K1	5604
MAP2K2	5605
增强的 PTH-诱导的增加	5741
抗 CSF-1	5741
抗 CSF-1	5744
抗 CSF-1	5745
PTK2	5747
SHP-1	5777
PTPN6	5777

[0327]

GENE, GeneBook	Entrez Gene ID
抗 CD148 单克隆抗体	5795
PTPRO	5800
RAC1	5879
非显性负性 c-Raf-1	5894
RBPI	5947
RPS6KB2	6199
CCL3	6348
CCL5	6352
CCL13	6357
CX3CL1	6376
CSF-1	6446
SHCI	6464
INIL/hSNF5/BAF47	6598
SPII	6688
SRC-1	6714
STAT1	6772
STAT3	6774
STX3	6809
Syk Piceatannol	6850
Substance P augmentation	6863
mCSF-1	6868
TGF- β 1	7040
TGF- β 2	7042
Tpo	7066
TLR1	7096
TLR2	7097
TLR5	7100
12-0-十四酰-佛波酯-13-乙酸盐(TPA)-诱导的下调	7112
TNF- α	7124
TNFAIP3	7128
TNFRSF1A	7132
TNFRSF1B	7133
TOP2A	7153
TP53	7157
Tpo	7173
Tpt1	7178
HSP90B1	7184
TRAF2	7186
血管细胞粘附分子-1 (VCAM-1)	7412
血管内皮细胞生长因子(VEGF)-A 产生	7422
WAS	7454
CNBP 结合	7555
CXCR4	7852
GPR68	8111
SHP-1	8431
OPGL	8600
RANKL	8600
SRC-1	8648
SOCS1	8651
MARCO	8685
RIPK1	8737
TNFRSF11A	8792
SKAP2	8935
CH25H	9023
DOK2	9046
MAYP	9050

[0328]

GENE, GeneBook	Entrez Gene ID
IL1RL1	9173
CD163	9332
GRAP2	9402
ITM2B	9445
GDF15	9518
CLOCK	9575
IKBKE	9641
HCK (p)	9846
MAFB	9935
Abi1	10006
IL18BP	10068
STX6	10228
RAMP2	10266
SIGMAR1	10280
TRAIP	10293
SIRPB1	10326
TLR6	10333
KHDRBS1	10657
SLC7A9	11136
TRIM35	23087
CSF-1-诱导的 TCF/SAP-1 改变	23415
STX12	23673
磷脂酶 A2 活性	26279
NKIRAS1	28512
RHOD	29984
TLR9	54106
HPP-CFC-1	55997
CXCR7	57007
SLAP-2	84174
ADSSL1	122622
OSCAR	126014
GAB3	139716
192162	192162
MPEG1	219972
ANXA8	653145
CCR2	729230
Hsd3b	3283/3284
BCLXL	
Ferls	

[0329] 另一方面,可给有治疗需要的患者共同施用抗 M-CSF 抗体与其它治疗剂(如抗炎剂、抗凝血剂、可降低血压的药物、抗癌剂或分子)。在一个方面,本发明涉及一种治疗哺乳动物过度增殖性病症的方法,其包括对该哺乳动物施用治疗有效量的本发明化合物并结合选自(但不限于)下列抗肿瘤剂:有丝分裂抑制剂、烷化剂、抗代谢剂、嵌入剂、生长因子抑制剂、细胞周期抑制剂、酶、拓扑异构酶抑制剂、生物反应调节剂、抗激素、激酶抑制剂、基质金属蛋白酶抑制剂、基因治疗剂及抗雄激素物质。在更加优选的实施方式中,抗体可与抗癌药共同给药,如阿霉素或紫杉醇。在另一优选的实施方式中,抗体或组合治疗是与放射疗法,化学疗法、光动力疗法、手术或其它免疫疗法一起施用。在另一优选的实施方式中,抗体可与另一抗体共同给药。例如,抗 M-CSF 抗体可与已知可抑制肿瘤或癌细胞增殖的抗体或其它药剂共同给药,如可抑制 erbB2 受体、EGF-R、CD20 或 VEGF 的抗体或药剂。

[0330] 共同施用抗体以及额外的治疗剂（组合疗法）包含施用一种包括抗 M-CSF 抗体及额外的治疗剂的药物组合物，以及施用两种或多种分开的药物组合物，一种包括抗 M-CSF 抗体而另一种包括额外的治疗剂。此外，虽然共同给药或组合疗法通常指抗体及额外的治疗剂于同一时间共同给药，但亦包含抗体及额外的治疗剂于不同时间给药的实例。例如，抗体可每三天给药一次，而额外的治疗剂则每日给药一次。或者，该抗体可于以额外的治疗剂治疗该病症前或治疗后施用。类似地，抗 M-CSF 抗体的可于进行其它疗法（如放射疗法、化学疗法、光动力疗法、手术或其它免疫疗法）之前或之后施用。

[0331] 抗体与一种或多种额外的治疗剂（组合疗法）可施用一次、二次或至少一段时间，直到病症已经治疗、减轻或治愈。优选地，组合疗法可多次施用。组合疗法可由每日给药三次至每六个月给药一次。给药时间表可为如每日三次、每日二次、每日一次、每二日一次、每三日一次、每周一次、每二周一次、每月一次、每两个月一次、每三个月一次及每六个月一次或者其可由微型泵持续给药。组合疗法可借口服、粘膜、颊内、鼻内、吸入、静脉、皮下、肌内、肠胃外、肿瘤内或局部途径施用。组合疗法可于距肿瘤部位较远的部位施用。只要该肿瘤存在，组合疗法通常可持续施用，前提为该抗体可导致肿瘤或癌症停止生长或重量或体积减少。

[0332] 在另一实施方式中，抗 M-CSF 抗体是以放射标记、免疫毒素或毒素标记的，或为一种包括毒性肽的融合蛋白。抗 M-CSF 抗体或抗 M-CSF 抗体融合蛋白将放射标记、免疫毒素、毒素或毒性肽导入可表达 M-CSF 的细胞中。在优选的实施方式中，放射标记、免疫毒素、毒素或毒性肽于抗 M-CSF 抗体与 M-CSF 在靶细胞表面结合后方才内在化。

[0333] 在另一方面，抗 M-CSF 抗体可用于治疗非癌性状态，其中的高水平 M-CSF 和 / 或 M-CSF 是与非癌性状态或疾病有关。在一个实施方式中，该方法包括步骤：给病患施用抗 M-CSF 抗体，该病患患有由高水平 M-CSF 和 / 或 M-CSF 水平或活性所引起或恶化的非癌性病理状态。在更加优选的实施方式中，抗 M-CSF 抗体可减缓非癌性病理状态的发展。在更加优选的实施方式中，抗 M-CSF 抗体可停止或逆转（至少部分）非癌性的病理状态。

[0334] 基因治疗

[0335] 本发明核酸分子可通过基因疗法给需要的患者施用。该疗法可用于体内或体外。在优选的实施方式中，给患者施用编码重链及轻链的核酸分子。在更加优选的实施方式中，可施用核酸分子以便其能稳定地整合至 B 细胞染色体中，因为这些细胞是专供产生抗体的。在优选的实施方式中，前体 B 细胞可经体外转染或感染并再移植至需要的患者。在另一实施方式中，使用已知可感染目的细胞类型的病毒体内感染前体 B 细胞或其它细胞。用于基因疗法的典型载体包含脂质体、质体及病毒性载体。示范性病毒载体为反转录病毒、腺病毒及腺相关病毒。在体内或体外感染后，抗体的表达水平可由接受治疗患者取得样本、使用任何本领域中已知或在此所述的免疫分析法监测。

[0336] 在优选的实施方式中，基因疗法包括步骤：施用经分离的编码抗 M-CSF 抗体的重链或其抗原结合部分的核酸分子，以及表达该核酸分子。在另一实施方式中，基因疗法包括步骤：施用经分离的编码抗 M-CSF 抗体轻链或其抗原结合部分的核酸分子，以及表达该核酸分子。在更优选方法中，基因疗法包括步骤：施用经分离的编码本发明的抗 M-CSF 抗体的重链或其抗原结合部分的核酸分子及分离的编码轻链或其抗原结合部分的核酸分子，以及表达该核酸分子。基因疗法亦可包括步骤：施用额外的抗癌剂，如紫杉醇或阿霉素。

[0337] 为使本发明被更好了解,提供下列实施例。这些实施例仅供说明的目的,不可理解为欲以任何方式限制本发明范围。

[0338] 实施例 I :制备产生抗 M-CSF 抗体的细胞系

[0339] 本发明的抗体如下制备,选择并分析:

[0340] 免疫和产生杂交瘤

[0341] 8-10 周龄 XENOMOUSE™ 小鼠经腹腔或在后足垫内用人 M-CSF (10 μ g/剂/小鼠)。3-8 周内重复该剂量 5-7 次。输注前四天,最后对小鼠注射人 M-CSF 的 PBS 溶液。经免疫小鼠的脾和淋巴结淋巴细胞与非分泌性骨髓瘤 P3-X63-Ag8.653 细胞系融合,然后如前所述对融合细胞进行 HAT 选择 (Galfre and Milstein, Methods Enzymol. 73:3-46, 1981)。收获了一组杂交瘤全部分泌 M-CSF 特异性人 IgG2 和 IgG4 抗体。还如 Babcook, J. S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA93:7843-48, 1996 所述,利用 XENOMAX™ 技术产生抗体。改造 9 个细胞系产生的本发明抗体经选择进行进一步研究,命名为 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4、8.10.3 和 9.7.2。杂交瘤根据布达佩斯条约的规定于 2003 年 8 月 8 日保藏在美国典型培养物保藏中心 (ATCC), 10801 University Blvd., Manassas, VA20110-2209。所述杂交瘤的保藏号如下:

[0342]

杂交瘤 3.8.3 (LN 15891)	PTA-5390
杂交瘤 2.7.3 (LN 15892)	PTA-5391
杂交瘤 1.120.1 (LN 15893)	PTA-5392
杂交瘤 9.7.2 (LN 15894)	PTA-5393
杂交瘤 9.14.4 (LN 15895)	PTA-5394
杂交瘤 8.10.3 (LN 15896)	PTA-5395
杂交瘤 88- γ (UC 25489)	PTA-5396
杂交瘤 88- κ (UC 25490)	PTA-5397
杂交瘤 100- γ (UC 25491)	PTA-5398
杂交瘤 100- κ (UC 25492)	PTA-5399
杂交瘤 252- γ (UC 25493)	PTA-5400
杂交瘤 252- κ (UC 25494)	PTA-5401

[0343] 实施例 II :基因利用分析

[0344] 分别从相应的杂交瘤细胞系克隆编码单克隆抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4、8.10.3 和 9.7.2 的重链和轻链的 DNA,并通过本领域已知的方法进行测定 DNA 序列。此外来自杂交瘤细胞系 9.14.4、8.10.3 和 9.7.2 的 DNA 在可变区特定读框区域突变和/或同种型转化以分别获得,例如,9.14.4I、8.10.3F、和 9.7.2IF。根据抗体的核酸序列以及推定的氨基酸序列,可测定各抗体链所使用基因的身份 ("VBASE")。表 2 给出了如本发明选定抗体的基因使用情况:

[0345] 表 2 :重链和轻链基因使用情况

克隆	重链				κ 轻链		
	SEQ ID NO:	V _H	D _H	J _H	SEQ ID NO:	V _κ	J _κ
252	1, 2	3-11	7-27	6	3, 4	O12	3
88	5, 6	3-7	6-13	4	7, 8	O12	3
100	9, 10	3-23	1-26	4	11, 12	L2	3
3.8.3	14	3-11	7-27	4	16	L5	3
2.7.3	18	3-33	1-26	4	20	L5	4
1.120.1	22	1-18	4-23	4	24	B3	1
9.14.4I	25, 26	3-11	7-27	4b	27, 28	O12	3
8.10.3F	29, 30	3-48	1-26	4b	31, 32	A27	4
9.7.2IF	33, 34	3-11	6-13	6b	35, 36	O12	3
9.14.4	37, 38	3-11	7-27	4b	27, 28	O12	3
8.10.3	29, 30	3-48	1-26	4b	43, 44	A27	4
9.7.2	45, 46	3-11	6-13	6b	47, 48	O12	3
8.10.3FG1	97, 98	3-48	1-26	4b	31, 32	A27	4
9.14.4G1	101, 102	3-11	7-27	4b	27, 28	O12	3
9.14.4C-Ser	54	3-11	7-27	4b	56	O12	3
9.14.4-CG2	74	3-11	7-27	4b	56	O12	3
9.14.4-CG4	78	3-11	7-27	4b	56	O12	3
8.10.3C-Ser	58	3-48	1-26	4b	60	A27	4
8.10.3-CG2	62	3-48	1-26	4b	60	A27	4
8.10.3-CG4	94	3-48	1-26	4b	60	A27	4
8.10.3-Ser	90	3-48	1-26	4b	43, 44	A27	4
9.7.2C-Ser	50	3-11	6-13	6b	52	O12	3
9.7.2-CG2	66	3-11	6-13	6b	52	O12	3
9.7.2-CG4	70	3-11	6-13	6b	52	O12	3
9.7.2-Ser	86	3-11	6-13	6b	47, 48	O12	3
9.14.4-Ser	82	3-11	7-27	4b	27, 28	O12	3

[0347] 通过设计引物并利用购自 Stratagene 的 QuickChange 位点特定诱变试剂盒根据厂商说明来进行重链和轻链的特定残基诱变。通过自动测序确定突变,并将诱变亚克隆到表达载体中。所述表达载体转染到 HEK293 细胞中产生足够的抗体用于定性。

[0348] 实施例 III :M-CSF 小鼠单核细胞增殖测定

[0349] 进行体外测定来测定在抗 M-CSF 抗体存在下 M-CSF- 依赖性小鼠单核细胞细胞增殖被抗 M-CSF 抗体抑制的程度。

[0350] 获得小鼠单核细胞, M-NFS-60 细胞 (来自美国典型培养物保藏中心 (ATCC))

(Manassas, VA)) 并保存在含有以下成分的 RPMI-1640 培养基中: 2mM L- 谷氨酸盐 (ATCC), 10 % 热灭火的胚胎牛血清 (FBS) (Invitrogen, Carlsbad, CA), 0.05mM 2- 巯基乙醇 (Sigma, St. Louis MO) (测定介质), 其中含有 15ng/ml 人 M-CSF。M-NSF-60 细胞分成 5×10^4 第二天使用或分成 2.5×10^4 两天内使用。在用于测定之前, 所述细胞用 RPMI-1640 洗涤三次, 计数并用测定培养基调整体积为 2×10^5 细胞 /ml。所有条件一式三份重复用于 96- 孔处理的组织培养物板 (Corning, Corning, NY) 上。每个孔中加入 $50 \mu\text{l}$ 经洗涤的细胞, $25 \mu\text{l}$ 100pM 或 1000pM M-CSF 或 $25 \mu\text{l}$ 各个浓度的对照抗体的醋酸缓冲液 (140mM 氯化钠, 20mM 醋酸钠, 以及 0.2mg/ml 聚山梨醇酯 80, pH5.5), 使得终体积 $100 \mu\text{l}$ 。本发明抗体单独测定并与人 M-CFS 共同测定。培养板在 37°C 5% CO_2 下培养 24 小时。

[0351] 24 小时 后, 加入 $10 \mu\text{l}$ / 孔 的 $0.5 \mu\text{Ci}$ ^3H - 胸 苷 (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ) 并脉冲细胞 3 小时。为了检测掺入胸苷的量, 将细胞收获置于预先湿化的单滤 GF/C 滤板 (Packard, Meriden, CT) 并用水洗涤 10 次。允许该板干燥过夜。将封底剂加入滤板。然后, 加入 $45 \mu\text{l}$ Microscint20 (Packard, Meriden, CT) 每孔。加入封顶剂之后, 在 Trilux microbeta 计数器 (Wallac, Norton, OH) 中计数该板。

[0352] 这些实验显示本发明抗 M-CSF 抗体抑制小鼠单核细胞对 M-CSF 的响应性增殖。此外, 通过利用各种浓度的抗体, 测定抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3 和 9.7.2 对小鼠单核细胞增殖抑制的 IC_{50} (细胞增殖测定, 表 3a 和表 3b)。

[0353] 表 3a

[0354]

抗体	252	88	100	3.8.3	2.7.3	1.120.1
M-CSF 小鼠单核细胞增殖测定 [IC_{50} , M]	1.86×10^{-10}	2.31×10^{-10}	7.44×10^{-10}	7.3×10^{-11}	1.96×10^{-10}	1.99×10^{-10}
人全血单核细胞 活化测定 [IC_{50} , M]	8.67×10^{-10}	5.80×10^{-10}	1.53×10^{-10}	8.6×10^{-11}	7.15×10^{-10}	8.85×10^{-10}
受体结合抑制测定 [IC_{50} , M]	7.47×10^{-10}	4.45×10^{-10}	1.252×10^{-9}	7.0×10^{-11}	3.08×10^{-10}	1.57×10^{-10}

[0355] 表 3b

[0356]

抗体	9.14.4I	8.10.3F	9.7.2IF	9.14.4	8.10.3	9.7.2
M-CSF 小鼠单核细胞增殖测定 [IC_{50} , M]	2.02×10^{-10}	4.13×10^{-10}	7.37×10^{-10}	2.02×10^{-10}	4.13×10^{-10}	7.37×10^{-10}
人全血单核细胞 活化测定 [IC_{50} , M]	2.49×10^{-10}	4.46×10^{-10}	1.125×10^{-9}	6.48×10^{-10}	2.8×10^{-10}	1.98×10^{-10}
受体结合抑制测定 [IC_{50} , M]	2.97×10^{-10}	9.8×10^{-11}	5.29×10^{-10}	4.1×10^{-11}	1.5×10^{-9}	6×10^{-12}

[0357] 实施例 IV : 人全血单核细胞活化测定

[0358] 体外测定 M-CSF 依赖性单核细胞在抗 M-CSF 抗体存在下的形状改变以确定所述抗 M-CSF 抗体能否抑制全血单核细胞活化以及其对单核细胞形状改变的抑制程度。

[0359] 在 96 孔组织培养板的各个孔中,混合 6 μ l 的 1.7nM 抗 M-CSF 和 94 μ l 人全血获得 102pM 终浓度的抗 M-CSF 抗体。将板在 37°C CO₂ 组织培养保温箱中保温。然后,将板从保温箱中取出。在每个孔中,加入 100 μ l 固定液 (0.5% 福尔马林磷酸缓冲盐水,其中不含 MgCl₂ 或 CaCl₂) 并将板在室温保温 10 分钟。对于每个样品,每孔取出 180 μ l 与 1ml 红细胞裂解缓冲液混合。涡旋试管 2 秒钟。然后,将样品在震荡水浴中在 37°C 保温 5 分钟以裂解红细胞但保留单核细胞完整。该次保温之后,立即将样品置于荧光即获得细胞淘选 (FACS) 仪 (BD Beckman FACS) 中读数,利用 FACS Station Software Version3.4 分析数据。

[0360] 这些试验证明,与对照样品相比本发明的抗 M-CSF 抗体与抑制单核细胞形状改变。利用单核细胞形状改变测定,测定抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3 和 9.7.2 的 IC₅₀ (人全血单核细胞活化,表 3a 和表 3b)。

[0361] 实施例 V :c-fms 受体结合抑制实验

[0362] 进行体外实验以测定 M-CSF 与 c-fms 受体在抗 M-CSF 抗体存在下的结合从而确定抗 M-CSF 抗体是否抑制 M-CSF 与 c-fms 受体的结合以及其抑制程度。

[0363] 洗涤转染的人 NIH-3T3 细胞,所述细胞由保存在不含镁或钙的 Dulbecco's 磷酸缓冲盐水中的人 c-fms 或 M-NSF-60 细胞转染。用 5mM 乙二胺四乙酸 (EDTA), pH7.4, 从组织培养板除去 NIH-3T3 细胞。将 NIH-3T3 细胞返回组织培养箱中 1-2 分钟并轻敲培养瓶以使细胞松散。NIH-3T3 细胞和 M-NSF-60 细胞被转移到 50ml 试管中并用反应缓冲液洗涤两次 (1xRPMI, 不含碳酸氢钠的 50mM N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸 (HEPES), pH7.4)。然后,将 NIH-3T3 细胞重悬于反应缓冲液中使得终浓度为 1.5x10⁵ 细胞 /ml。M-NSF-60 细胞重悬于反应缓冲液中使得终浓度为 2.5x10⁶ 细胞 /ml。

[0364] 为了进行测定,将 9 μ l 无菌 0.4M 蔗糖溶液,100 μ l 终浓度为 200pM 的 ¹²⁵I-M-CSF (Amersham, IMQ7228v) 在含有以下成分的 RPMI-1640 在结合试管中混合 :50mM HEPES (pH7.4), 0.2% 牛血清白蛋白,100 μ l 终浓度为 200nM 的未标记 M-CSF。然后,加入 50 μ l / 管的浓度递增的测定抗体。为了测定抗体的非特异性结合,我们纳入了其中还加入 200nM M-CSF 的样品。在对照试管中,我们没有加入抗体。然后,每个试管中加入 15,000NIH-3T3 细胞或 250,000M-NSF-60 细胞。所有试管在室温保温 3 小时然后在 10,000rpm 离心 2min。含有细胞碎片的试管尖端被切下并利用 Packard Cobra II Gamma 计数器测定结合于细胞的 M-CSF 的量。特异性结合通过从总结合中减去非特异性结合来确定。所有测定一式两份进行。结合数据利用计算机程序 Graph Pad Prism2.01 分析。

[0365] 这些试验显示与对照样品相比本发明的抗 M-CSF 抑制 M-CSF 与 c-fms 受体的结合。此外,通过利用各种浓度的抗体,测定抗体 252、88、100、3.8.3、2.7.3、1.120.1、9.14.4I、8.10.3F、9.7.2IF、9.14.4、8.10.3 和 9.7.2 的受体结合抑制 IC₅₀ (受体结合抑制实验,表 3a 和表 3b)。

[0366] 实施例 VI :通过 BIACORE™ 测定抗 M-CSF 单克隆抗体的亲和力常数 (KD)

[0367] 纯化抗体的亲和力测定通过利用 BIACORE™3000 仪根据厂商说明利用表面等离子共振进行。

[0368] 对于抗体 3.8.3、2.7.3 和 1.120.1,在 BIACORE™3000 仪中在 25°C 含有 0.0005% Tween-20 的 Dulbecco's 磷酸缓冲盐水中进行实验。蛋白浓度从沉淀速度试验获得或通过利用来自氨基酸序列的理论消光系数测定样品在 280nm 的波长。为了进行试验测定抗体与

固定化抗原的结合,通过标准直接胺偶联法将 M-CSF 固定在 B1 芯片上。对于 3.8.3, 2.7.3 和 1.120.1, 制备 $0.69 \mu\text{M}$ 抗体样品。这些样品连续稀释 3 倍到 8.5nM 或 2.8nM, 浓度范围大概 100 倍。对于每个浓度, 所述样品一式两份以 $5 \mu\text{l}/\text{min}$ 的流速注射 4 分钟。监测解离 2000 秒。数据利用 BIACORE™ Biaevaluation 软件全面适应于简化 1:1 结合模型。在所有情况中, 该方法用于获得 k_{off} 并发现该数据组与得自结合与解离的全面适应的数据相当。

[0369] 对于抗体 252、88 和 100, 在 BIACORE™3000 仪在 25°C HBS-EP 缓冲液 (0.01M HEPES, pH7.4, 0.15M NaCl, 3mM EDTA, 0.005% Surfactant P20) 中进行试验。对于测定抗体与固定抗原的结合的试验, 通过标准直接胺偶联法将 M-CSF 固定在 CM5 研究级感应芯片上。制备抗体样品: 12.5nM 的抗体 252 和 100 以及 25.0nM 的抗体 88。这些样品被两倍连续稀释到 0.78nM , 大致浓度范围为 15-30 倍。对于每个浓度, 所述样品一式两份随机顺序以 $30 \mu\text{l}/\text{min}$ 注射 3min。监测解离 300sec。数据利用 BIACORE™Biaevaluation 软件全面适应于简化 1:1 结合模型。在所有情况中, 该方法用于获得 k_{off} 并发现该数据组与得自结合与解离的全面适应的数据相当。

[0370] 表 4 显示抗体 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3 和 1.120.1 的结果。

[0371] 表 4

[0372]

	252	88	100	3.8.3	2.7.3	1.120.1
$K_D(\text{M})$	1.33×10^{-11}	1.33×10^{-9}	2.0×10^{-11}	4.0×10^{-10}	4.7×10^{-9}	5.4×10^{-9}
$k_{\text{off}}(1/\text{s})$	1.03×10^{-6}	7.3×10^{-5}	1.7×10^{-5}			

[0373] 实施例 VII: 从 8.10.3 杂交瘤细胞制备 8.10.3 抗体

[0374] 于 3L 射流旋转器 (sparged spinners) 制备制备抗体 8.10.3。3L 射流旋转烧瓶为一种玻璃器皿, 其使用以磁性平台所控制的推动器来混合培养物。将旋转器连接至气体管线以供给 5% CO_2 及空气。首先将 8.10.3 杂交瘤细胞融解在 T-25 细胞培养瓶中。细胞逐渐扩增直到有足量细胞可供植入射流旋转器中。

[0375] 以 8.10.3 杂交瘤细胞接种于二个 3L 的射流旋转烧瓶内, 培养基为无血清杂交瘤用培养基, 添加物细节见表 5。所显示 UltraLow IgG 血清 (Gibco cat#16250-078)、L-谷氨酰胺 (JRH Biosciences cat#59202-500M)、非-必须氨基酸 (Gibco cat#11140-050)、蛋白胨 (Difco cat#211693)、葡萄糖 (由 JT Baker 自制储备物 cat#1920-07) 及消泡剂 C (Sigma cat. #A-8011) 的浓度为其于培养基的最终浓度。平衡各反应器体积使用无血清杂交瘤用培养基。

[0376] 表 5: 杂交瘤 8.10.3 在两个 3L 射流旋转烧瓶中生长的条件

[0377]

条件	旋转烧瓶 1	旋转烧瓶 2
接种密度 (1×10^6 细胞 /ml)	0.16ml	0.16ml
无血清杂交瘤用培养基 (Gibco cat#12045-076)	平衡	平衡

超低 IgG 血清 (Gibco cat#16250-078)	5%	5%
L- 谷氨酸盐 (JRH Biosciences cat#59202-500M)	8mmol/L	8mmol/L
非必需氨基酸 (Gibco cat#11140-050)	1%	1%
肽酮 (Difco cat#211693)	1g/L	1g/L
2M 葡萄糖 (制备自 JT Baker cat#1920-07 的内部批号)	8g/L	8g/L
消泡剂 C(Sigma cat. #A-8011)	1ml/L	1ml/L

[0378] 让培养物生长 15 天,当生存力低于 20%时进行收集。生存力可通过台盼蓝排除法以自动化细胞计数器 (Cedex, Innovatis) 测定。采集可由离心及随后的过滤完成。于 7000rpm 离心 15 分钟后可获得澄清的上清液并随后以无菌 0.22 μ m⁴ OpticapMillipore 滤膜 (cat#KVSC04HB3) 过滤至 10L 无菌 TC-iTech 袋 (cat#P/N12420Bag Style CC-10-112420)。滤液随后于下列实施例中进行纯化。

[0379] 实施例 VIII :纯化抗 M-CSF 抗体

[0380] 首先如下预备蛋白质 A 柱 (Amersham Pharmacia),以 3 柱体积的 8M 尿素洗涤,再以 20mM Tris(pH8) 平衡洗涤。来自实施例 VII 的最终滤出液与 2% v/v 的 1M Tris pH8.3 及 0.02% 的 NaN₃ 混合,然后通过重力滴落方式装入蛋白质 A 柱。装填完成后,以 5 柱体积的 20mM Tris(pH8) 洗树脂,接着以 5 柱体积的洗脱缓冲液 (0.1M 甘氨酸 pH3.0) 冲洗。注意任何沉淀物,接着掺入 10% v/v 的 1M Tris pH8.3 以洗脱抗体。被洗脱的蛋白质接着以 100 倍的洗脱物体积量的透析缓冲液 (140mM NaCl/20mM 醋酸钠 pH5.5) 进行透析洗脱物。于透析后,该抗体以 0.22 μ m 滤膜进行无菌过滤并贮存直到进一步应用。

[0381] 实施例 IX :猴子处理和单核细胞计数

[0382] 每剂量组采用一只雄性与一只雌性食蟹猴,于约 5 分钟的时间以静脉注射给予空载体或抗体 8.10.3 (如实施例 VII 及 VIII 中所述制备),剂量分别为 0、0.1、1 或 5mg/kg, 体积为 3.79mL/kg。于给药后 24 及 72 小时及每周 (共 3 周) 采集供临床实验分析的血液样本。单核细胞计数是使用 Abbott Diagnostics Inc. Cell Dyn 系统 (Abbott Park, Illinois) 通过光散射测定。

[0383] 观察到所有剂量中单核细胞总数 (图 1A 及 1B) 的剂量相关性减少 (~25% 至 85%)。于第 2 周时 0.1 及 1 mg/kg 的单核细胞计数似乎回升至接近对照组,而 5mg/kg 的单核细胞计数于第 3 周时仍减少。

[0384] CD14+CD16+ 单核细胞亚群分析

[0385] 将灵长类全血抽入含有肝素钠的 Vacutainer 管中。将 0.2ml 的各血液样本加入含 10ml 红细胞裂解缓冲液 (Sigma) 的 15ml 圆锥形聚丙烯离心试管中,并于 37°C 水浴中温育 15 分钟。接着将该管于 Sorvall RT7 离心机以 1,200rpm 离心 5 分钟。吸出上清液,将沉淀再悬浮于 10ml 的 4°C FACS 缓冲溶液中 (Hanks' 平衡盐溶液 /2% FBS/0.02% 叠氮化钠),并将管再次以 1,200rpm 离心 5 分钟。吸出上清液并将沉淀再悬浮于由下列各物所组成的抗体混合物中:80 μ l 4°C FACS 缓冲液、10 μ l FITC 缀合的抗人类 CD14 单

克隆抗体 (BD Biosciences, San Diego, CA)、0.5 μ l Cy5-PE- 缀合的抗人类 CD16 单克隆抗体 (BD Biosciences, San Diego, CA) 及 10 μ l PE 缀合的抗人类 CD89 单克隆抗体 (BD Biosciences, San Diego, CA)。细胞悬浮液于冰上温育 20 分钟,之后加入 4℃的 10ml FACS 缓冲液并将细胞如前述方式离心。吸出上清液,并将细胞沉淀再悬浮于 400 μ l FACS 缓冲溶液中并于 FACSCaliber 流式细胞分析仪 (BD Biosciences, San Jose, CA) 分析细胞。每样本收集 30,000 个细胞的数据。

[0386] 通过前角 (forward angle) 光散射及直角 (orthogonal) 光散射组合来鉴别单核细胞群。进一步分析单核细胞门控的细胞的 CD14 及 CD16 表达。可观察到二种明显不同的单核细胞群,一种可表达高水平的 CD14 及很少或无 CD16 表达 (CD14⁺⁺CD16⁻),而另一种可表达较低水平的 CD14 及高水平的 CD16 (CD14⁺CD16⁺),类似前述的人类外围血中的二种单核细胞亚群 (Ziegler-Heitbrock H. W., Immunology Today 17 :424-428 (1996))。对受测的各灵长类而言,于以 8.10.3 注射后第 1、3、7、14 及 21 天各次抽血后进行测定 CD14⁺CD16⁺ 亚群中的单核细胞百分比。

[0387] 一般来说,以 8.10.3 处理可导致 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞百分比下降 (请见图 2A 及 2B)。未接受 8.10.3 抗体的猴子显示相对稳定的 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞水平。CD14⁺CD16⁺ 单核细胞被称为“促炎性”,因其可产生较高水平的 TNF- α 及其它炎症性细胞因子 (Frankenberger, et al., Blood 87 :373-377 (1996))。亦有报导显示单核细胞由常见的 CD14⁺⁺CD16⁻ 表型分化为促炎性表型是取决于 M-CSF (Saleh M. N. et al., Blood 85 :2910-2917 (1995))。实施例 X :猴子处理和单核细胞计数

[0388] 每剂量组三只雄食蟹猴于约 5 分钟的时间内以静脉内给予载体 (20mM 醋酸钠, pH5.5, 140mM NaCl)、纯化抗体 8.10.3F 或纯化抗体 9.14.4I,其剂量为 0.1 或 5mg/kg,体积为 3.79mL/kg。猴子年龄为 4 至 9 岁而体重为 6 至 10kg。于 2、4、8、15、23 及 29 日采集供临床实验分析的血液样本。单核细胞计数使用 Abbott Diagnostics Inc. Cell Dyn 系统 (Abbott Park, Illinois) 通过光散射测定。

[0389] 观察到与测试前的单核细胞水平 (图 3A 及 3B) 相比,在抗体 8.10.3F 及抗体 9.14.4I 所有剂量 (请见如图 3A 及 3B 中的第 4、8、15 及 23 日) 的总单核细胞百分比改变皆减少。

[0390] 实施例 XI :抗 M-CSF 抗体在鼠狼疮模型中的效果

[0391] 在该实施例中,在两个独立的鼠模型 MRL-Fas^{lpr} 和 NZBWF1/J 中检测 M-CSF 被大鼠抗小鼠 M-CSF 抗体中和对狼疮样疾病的产生的效果。抗 M-CSF 抗体的效果也与鼠 CTLA-4Ig 进行比较,之前已经证明后者可降低 MRL-Fas^{lpr} 小鼠中的疾病。

[0392] 在显示与人疾病有多个相同特征的鼠 SLE 模型 (Perry et al, J Biomed Biotechnol. 2011:271694. Epub 2011 Feb 14) 中对用于治疗人疾病的多个候选物进行了评估。

[0393] MRL-Fas^{lpr} 小鼠自发症状模拟人狼疮的症状,包括高循环抗双链 DNA (dsDNA) 血清自身抗体、肾小球 IgG 沉积以及严重疾病中的蛋白尿、淋巴结病和皮肤损伤。淋巴结病的发生是由于聚集了双阴性 (CD4⁻CD8⁻) 和 B220⁺T⁻ 细胞 (Watson et al, Journal of Experimental Medicine. 176(6):1645-56 (1992))。细胞毒 T 细胞淋巴细胞抗原-4 (CTLA-4) 参与调节 T 淋巴细胞活化,并且血清 CTLA-4Ig 的存在与自身反应性 B 淋巴

细胞扩增减少, CD4+T 淋巴细胞数量减少, 以及小鼠 SLE 模型中的有利反应相关 (Mihara et al, J Clin Invest. 106(1):91-101(2002))。M-CSF 缺陷型 MRL-Fas^{lpr} 小鼠不发生肾炎 (Lenda et al. J Immunol. 173(7):4644-4754(2004))。

[0394] 通过 NZB 和 NZW 株之间的 F1 杂交产生的 NZBWF1/J 模型是狼疮的最早经典模型, 其与狼疮患者发生类似的严重狼疮样表型, 包括淋巴结病、脾肿大、血清抗核自身抗体升高, 其中包括抗 dsDNA IgG。免疫复合物介导的肾小球肾炎在 5-6 月龄明显出现, 导致肾衰并且在 10-12 月龄死亡 (Mihara et al.)。在人 SLE 中, NZBWF1 中的疾病在两性中明显不同并偏向于女性发病 (Theofilopoulos&Dixon, Adv Immunol. 37:269-390(1985))。

[0395] 材料和方法

[0396] 本实施例中使用的抗体和对照蛋白总结在表 6。

[0397] 表 6

[0398]

蛋白 ^a	活性
大鼠抗小鼠 M-CSF Ab5A1	小鼠 M-CSF 的中和性抗体
CHOCK IgG1	大鼠同种型对照免疫球蛋白
CTLA-4Ig	减轻狼疮疾病的阳性对照

[0399] CHOCK = 表达 CK-1 的中国仓鼠卵巢细胞; CTLA = 细胞毒 T 淋巴细胞结合的抗原; Ig = 免疫球蛋白; M-CSF = 巨噬细胞集落刺激因子。

[0400] ^a 蛋白在 Pfizer 制备。

[0401] 雌性 MRL-Fas^{lpr} 和 NZBWF1/J (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) 在 Pfizer 的无病原体动物饲养室中圈养。小鼠根据 Pfizer 动物关怀和利用委员会批准的方案使用。

[0402] SLE 研究

[0403] 利用 MRL-Fas^{lpr} 和 NZBWF1/J SLE 模型进行 M-CSF 中和对狼疮样疾病的出现的影响。10 周龄雌性 MRL-Fas^{lpr} 或 26 周龄雌性 NZBWF1/J 小鼠每周经腹腔内 (IP) 用以下物质处理 3 次: 盐水、10mg/kg 的 5A1 抗 M-CSF、CHOCK IgG1 同种型对照抗体或 CTLA-4Ig (仅 MRL 模型)。MRL-Fas^{lpr} 小鼠每两周检查蛋白尿, 皮肤损伤和淋巴结病, NZBWF1/J 小鼠每两周检查蛋白尿。蛋白尿利用 Albustix (Bayer, Tarrytown, NY) 测定并根据以下标准评分 0 - 5: 0 = 无; 1 = 痕量; 2 = 30mg/dL; 3 = 100mg/dL; 4 = 300mg/dL; 和 5 = ≥ 2000mg/dL。淋巴结可触及并对淋巴结病评分为 0 - 3: 0 = 无; 1 = 小; 2 = 中等, 两个不同部位; 3 = 大, 三个或更多不同部位。皮肤损伤利用宏观病理学评估并评分为 0 - 3: 0 = 无; 1 = 小 (面部, 耳朵); 2 = 中等 (<2cm 面部、耳朵和背部); 3 = 严重 (>2cm 面部, 耳朵和背部)。两个模型中的血清每两周收集一次用来通过酶联免疫测定 (ELISA) 检测抗 dsDNA IgG 血清抗体。在研究结束时, 将脑、肺和肾收集在 10% 非缓冲福尔马林中用于病理分析或冷冻在最佳切片温度 (OCT) 化合物中用于免疫组化分析。

[0404] 抗 dsDNA 血清抗体和 M-CSF ELISA

[0405] 抗 dsDNA IgG 血清抗体通过 ELISA 测定。简而言之, Immulon1B 板 (Thermolab Systems, Billerica, MA) UV 照射过夜然后用 2 μg/mL 小牛胸腺 DNA (Sigma Aldrich, St.

Louis, MO) 在室温包被 1 小时。板用磷酸缓冲盐水 (PBS) 加 1% 牛血清白蛋白 (BSA) 封闭, 加入稀释血清样品 (在 1:100 滴度开始), 结合抗体利用抗小鼠 IgG 抗体的辣根过氧化物酶 (HRP) 缀合的山羊抗体 (Southern Biotech, Birmingham, AL) 检测。板用 3, 3', 5, 5'-四甲基联苯胺 (TMB; KPL, Gaithersburg, MD) 显色并用 2N 硫酸终止。吸光度利用 SpectraMax Plus384 酶标仪和 SoftMax Pro 软件 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) 在 450nm 读数。通过利用收集自患病 MRL-Fas^{lpr} 或 NZBWF1/J 小鼠的标准阳性对照血清测定抗体 (任意单位)。M-CSF 血清水平通过抗鼠 M-CSF 试剂盒 (R&D Systems, Minneapolis, MN; Cat. #MC00) 如厂商说明测定。

[0406] 组织学

[0407] 在 MRL-lpr 研究中, 检查肾脏的病理学和 Ig 和 C3 沉积。对福尔马林固定的左右肾脏标本进行苏木精和伊红 (H&E) 染色和过碘酸-希夫 (PAS; 以苏木精复染) 染色。将左右肾脏冷冻在液氮中, 然后针对 C3、IgG 和 IgM 进行免疫组化染色。所有组织切片均由具有全面资格的兽医病理学家检查。通过免疫组化检查 F4/80 染色的巨噬细胞。

[0408] 结果

[0409] 在 8 周龄的 MRL-lpr 小鼠上设计研究以测试以中和性抗体 5A1 (参见, 例如, Campbell I. K., et al., J. Leuk. Biol. 68:144-150 (2000) 和 ATCC Number CRL-2702) 阻断 M-CSF 的效应。每日给小鼠腹腔注射 (IP) 400 μ g 抗体 (10mg/kg) 共 12 周。使用相同剂量的同种型对照抗体 CHOCK IgG1 (参见, 例如, ATCC Number HB-9421) 或盐水处理对照小鼠。小鼠还以 CTLA-4Ig (融合于含有效应物功能无效突变的小鼠 IgG2a 的小鼠 CTLA4 的胞外结构域) 处理作为阳性对照。每两周检查小鼠的血清抗 dsDNA 抗体、蛋白尿、皮肤病变和淋巴结病。研究设计概述于表 7。

[0410] 表 7: 测试抗 M-CSF 抗体在 MRL^{lpr} 狼疮模型中的功效的研究设计

[0411]

处理	数量	IP 剂量	显微镜检查的动物 ^a
盐水	10	100 μ g 3x/周	1-10
CTLA-4Ig	10	10mg/kg, 3x/周	11-20
大鼠抗 M-CSF Ab5A1	10	400 μ g 3x/周	31-40
大鼠 CHOCK IgG1 对照 Ab	10	400 μ g 3x/周	41-40

[0412] a. 每只动物检查一份 H&E 染色、一份 PAS 染色、一份 C3-免疫染色、一份 IgG-免疫染色、一份 IgM 免疫染色和一份对照抗体免疫染色的切片。

[0413] 如图 5 所示, 阳性对照蛋白质 CTLA-4Ig 和抗 M-CSF 抗体处理显著降低了 MRL-lpr 小鼠淋巴结病的严重程度。图 6 显示, 以抗 M-CSF 抗体处理还显著降低了该模型出现的皮肤病变的严重程度。有趣的是, 抗 M-CSF 处理预防 MRL-lpr 小鼠出现皮肤病变, 与此不同的是, CTLA-4Ig 处理降低了 MRL-lpr 小鼠皮肤病变的严重程度。

[0414] 如图 7 所示, 与同种型对照处理的小鼠相比, 这些小鼠在 12 周的时间点产生的抗 dsDNA 抗体较少; 而以 CTLA-4Ig 处理在 4 个测试时间点均非常有效的降低了抗 dsDNA 抗体

产生。

[0415] 在这一研究中,小鼠没有出现显著的蛋白尿 ;因此也没有评价肾脏功能。显微镜检查发现,仅施用 CTLA-4Ig 与对炎性浸润和蛋白管型的严重程度、肾小球簇大小、肾小球构成和肾小球 IgG 沉积严重程度的有益影响相关。如图 8 所示,与施用盐水或同种型对照相比,施用大鼠抗 M-CSF 抗体与较低的肾小球构成和轻度降低的 C3 免疫组织化学染色积分的组平均值相关。然而,这并不与对所测量的任何其他参数的任何其他明显的有益影响相关。

[0416] 随后的研究评价了抗 M-CSF 抗体 5A1 在减轻 NZBWF1/J 模型的狼疮性肾炎中的功效。以 400 μg (10mg/kg) 的对照 Ig 或抗 M-CSF 或盐水处理 26 周龄的小鼠,每周 3 次 IP 共 10 周。每两周对小鼠的蛋白尿、体重增加 / 减轻和抗 dsDNA 滴度进行评分。给药 10 周后手机肾脏并检查病理学和免疫复合物沉积。表 8 描述了该研究设计。

[0417] 表 8 :测试抗 M-CSF 抗体在 NZBWF1/J 狼疮模型中的功效的研究设计

[0418]

处理	数量	剂量(IP)	显微镜检查的动物: 肾脏 ^a	显微镜检查的动物: 肾脏 ^b
盐水	10	100 μL 3x/周	46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55	46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55
大鼠抗 M-CSF Ab 5A1	10	400 μg 3x/周	57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65	57, 58, 60, 61, 62, 63, 64, 65
大鼠 CHOCK IgG1 对照 Ab	10	400 μg 3x/周	66, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75	66, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75

[0419] a. 每只动物检查一份 H&E 和一份 PAS 染色的切片和两份 F4/80 免疫染色的组织切片

[0420] b. 每只动物检查 4 份 IgG、IgM 和 C3 的免疫染色组织切片

[0421] 如图 9 所示,在 NZBWF1/J 狼疮模型中,与同种型对照相比,从给药后 4 周开始直至研究结束,抗 M-CSF 处理对蛋白尿的产生均具有显著的作用。然而,在这一模型中,以 M-CSF 抗体处理没有影响造成免疫复合物沉积和肾脏损害的抗 dsDNA 自身抗体的产生。如图 10 所示,在给药后的第 6 和 10 周时间点,抗 dsDNA 抗体水平与盐水、同种型对照和抗 M-CSF 处理的小鼠相似。图 11 显示,ELISA 测定发现,以 M-CSF 抗体升高了 M-CSF 的血清水平,表明该抗体与其靶反应并隔离了血清中的 M-CSF。

[0422] 如图 12 所示,对研究结束后收集的并对免疫沉积物染色的肾脏进行显微镜检查发现,在所有 3 个处理组,IgG、IgM 和 C3 染色的水平相似。有趣的是,与以同种型对照处理的小鼠相比,来自以抗 M-CSF 处理的小鼠的肾脏显示出轻度降低的巨噬细胞 (F4/80 阳性细胞,由成熟巨噬细胞表达的一种跨膜蛋白) 染色。肾脏的巨噬细胞 F4/80 染色出现于所有小鼠的外部髓质和内部皮质区的间质细胞。与施用 CHOCK IgG1 同种型对照抗体的小鼠相比,施用盐水或大鼠抗 M-CSF 的小鼠的这些部位较少的细胞出现染色,提示阻断 M-CSF 对该模型的肾脏中的巨噬细胞浸润具有影响。抗 M-CSF 处理似乎还减轻了 NZBWF1/J 小鼠肾脏内的肾脏蛋白管型以及嗜碱细胞增多和退化。与施用 CHOCK IgG1 同种型对照的小鼠相比,

施用盐水或抗 M-CSF 的动物中的这些表现严重程度较低。

[0423] 实施例 XII

[0424] 研究设计

[0425] 这是随机双盲（赞助商非盲）安慰剂对照剂量递增 6 组贯续平行研究，目的在于研究以静脉（IV）剂型施用于健康成年志愿者的 6 个单剂量水平的人单克隆抗 M-CSF 抗体 8.10.3F 的安全性和耐受性。

[0426] 对象处理

[0427] 总共 48 个对象入选本研究。第 1 至 5 组的对象接受剂量为 3、10、30、100 或 300mg 的抗体 8.10.3F 或者安慰剂，给药后这些对象在 CRU（重症监护室）中留观 3 天，然后出院，随后按照计划返回 CRU。第 6 组的对象以 100mg 抗体 8.10.3F 或安慰剂处理，给药后这些对象在 CRU 中留观 21 天，然后出院，随后按照计划返回 CRU。在各水平组中，6 个对象接受单剂量抗体 8.10.3F，2 个对象接受单剂量安慰剂。所有入选对象均完成了实验。

[0428] 药代动力学评估

[0429] A) 用于分析抗体 8.10.3F 的血清

[0430] 在给药前和方案设计的给药后时间点直至第 28 天以及第 28 天后每次门诊随访时收集用于分析抗体 8.10.3F 的样品。将 3mL 静脉血收集到适当标记的含有添加物的管中，在收集后 40 分钟内离心，在收集后 60 分钟内将血清冻存在大约 -70℃。

[0431] 在 PPD Development (2244 Dabney Road, Richmond, VA 23230, USA) 使用有效的分析方法分析血清样品的抗体 8.10.3F。使用有效的敏感且特异性的酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 测定抗体 8.10.3F 样品。血清标本储存在 -70℃ 直至使用，且样品在建立矩阵稳定性数据的 439 天之内测定。通过在校准的标准曲线（范围在 35.0ng/mL 至 1600ng/mL）上的插入值确定样品浓度，该曲线已经使用 4-参数逻辑方程进行拟合。浓度超出定量上限值 (1600ng/mL) 的样品经充分稀释后插入至校准范围。抗体 8.10.3F 的 LLOQ（定量下限值）是 35.0ng/mL。血清抗体 8.10.3F 浓度低于 LLOQ 的临床标本报告为 <35.0ng/mL。

[0432] 日间测定准确度以估计值与理论质控 (QC) 浓度的比例 (%) 表示，低、中、高和稀释 QC 样品的范围在 -7.81% 至 2.22%。低 (75.0ng/mL)、中 (320ng/mL)、高 (1200ng/mL) 和稀释 (1200ng/mL, 16000ng/mL 和 160000ng/mL) 浓度的测定精密度，表示为与 QC 样品的估计浓度的日间变异系数 (CV%)，均低于 10.0%。

[0433] B) 药代动力学参数的计算

[0434] 对血清浓度 - 时间数据进行不分区分析以计算经各种处理的各对象的抗体 8.10.3F PK 参数值。研究设计不包括在 IV 输注期间的 PK 采样。鉴于预期抗体 8.10.3F 具有长末段 $t_{1/2}$ ，预期输注期间的浓度 - 时间曲线下面积 (AUC) 相对于 AUC 极小，因此未试图估计输注期间或结束时的浓度。

[0435] 低于 LLOQ 的样品被归于 0。样品的实际收集时间被用于 PK 分析。使用 WinNonlin version 4.0.1 计算药代动力学参数值。

[0436] 药效动力学评估

[0437] A) 用于分析 CD14⁺16⁺ 单核细胞的全血

[0438] 在给药前和给药后第 2、4、7、14 和 28 天以及第 28 天后每次门诊随访时收集用于分析 CD14⁺16⁺ 单核细胞的样品。将 3mL 静脉血收集到 2 个管中，其一含有肝素锂，另一

含有 EDTA 钾。在收集后 2 小时内分析样品。使用有效的敏感且特异性流式细胞术测定法 (Becton-Dickinson FACSCalibur Flow Cytometry) 以全血样品分析人外周血的单核细胞亚群 (CD14 和 CD16) 百分比,测定在 Pfizer Drug Safety Research&Development (DSRD), P GRD, Ann Arbor, Michigan 进行。基于细胞散射光和发射荧光信号的能力来区分单核细胞亚群。

[0439] 对于总体样品分析的测定性能特征,使用 BD CaliBRITE 珠来调整仪器的设置,在每一次单核细胞亚群 -CD14/16 测定之前设定荧光补偿并评估仪器的敏感性。

[0440] B) 用于骨骼特异性碱性磷酸酶 (BSAP) 的血清

[0441] 在给药前和给药后第 2、4、7、14 和 28 天以及第 28 天后每次门诊随诊时收集用于分析 BSAP 的样品。将 5mL 静脉血收集到不含添加物的管中,在收集后 40 分钟内离心,在收集后 60 分钟内将血清分为大约等体积转移至 2 个管中并冻存在大约 -70°C。

[0442] 在 Pacific Biometrics Inc. (PBI) (220West Harrison Street, Seattle, Washington 98119, US) 使用有效的分析方法分析血清样品的 BSAP 浓度。使用有效的敏感且特异性的酶免疫测定法 (EIA) 测定 BSAP 样品。验证期间记录方法的性能。血清标本储存在 -70°C 直至使用,且样品在验证期间产生的建立的稳定性数据的 365 天之内测定。通过在校准的标准曲线上的插入值确定样品浓度,该曲线已经使用 4- 参数逻辑方程进行拟合。浓度超出 ULOQ (140U/L) 的样品经充分稀释后插入至校准范围。以观测检测限 (LOD) 所表示的 BSAP 的测定敏感性为 0.4U/L。血清 BSAP 浓度低于 LOD 的临床标本报告为低于检测下限。

[0443] 通过 QC 评估测定性能特征。将 3 个水平的 QC 置于每次运行。运行接受度标准是:3 个 QC 结果中的 2 个必须是在 2.0 标准差指数 (SDI) 之内,而第 3 个必须是在 2.5SDI 之内。对于所有 4 次样品分析运行,平均运行 SDI 的范围为 QC 样品的 -1.1 至 0.8。

[0444] C) 用于分析 NTX-1 的尿液

[0445] 在给药前和给药后第 2、4、7、14 和 28 天以及第 28 天后每次门诊随诊时收集用于分析 NTX-1 的尿液。将次日空腹晨尿收集到清洁容器中,在每一时间点收集 5ml 用于 NTX-1, 收集 2 个额外的 5ml 用于计划中的探究性生物学标记物分析。样品冻存在大约 -70°C。

[0446] 在 Pacific Biometrics Inc. (PBI) (220West Harrison Street, Seattle, Washington 98119, USA) 使用有效的分析方法分析用于分析尿液交联的胶原蛋白 I (uNTX-1) 的 N- 端肽浓度的尿液样品。使用有效的敏感且特异性的 NTX-1ELISA 和有效的尿液肌酐动力学 Jaffe 测定 uNTX-1 样品。

[0447] 尿液标本储存在 -70°C 直至使用,且样品在验证期间产生的建立的稳定性数据的 365 天之内测定。通过在校准的标准曲线上的插入值确定样品 NTX-1 浓度,该曲线已经使用 4- 参数逻辑方程进行拟合。浓度超出 ULOQ (3000nM 当量 /L) 的样品经充分稀释后插入至校准范围。NTX-1 的以 LLOQ 所表示的 NTX-1 测定敏感性是 44.0nM 当量 /L。NTX-1 浓度低于 LLOQ 的临床标本报告为低于检测下限。

[0448] NTX-1 测定值被标准化为骨骼胶原蛋白的相当量,并以 nM 骨骼胶原蛋白当量 /L (nmol BCE/L) 表示。通过分析尿液肌酐针对尿液稀释来校正 uNTX-1 测定值,并以 nM 骨骼胶原蛋白当量 /L (nM BCE) / 毫摩尔肌酐 /L (mM 肌酐) 表示。

[0449] 通过质控 (QC) 评估测定性能特征。将 3 个水平的 QC 置于每次运行。运行接受度标准是:3 个 QC 结果中的 2 个必须是在 2.0 标准差指数 (SDI) 之内,而第 3 个必须是在

2.5SDI 之内。对于所有 4 次样品分析运行,平均运行 SDI 的范围为 NTX-1QC 样品的 -0.2 至 0.8,而对于尿液肌酐 QC 样品为 -0.1 至 0.2。

[0450] D) 用于分析总人 M-CSF 的 K₂EDTA 血浆

[0451] 使用针对探索性生物标记物收集的 K₂EDTA 血浆样品分析总 M-CSF。在给药前和第 2、7 和 28 天,以及第 28 天后的每次额外门诊患者访问时收集样品。在不含 EDTA 钾盐 (K₂EDTA) 作为抗凝剂的血液收集管中获得 10mL 静脉血样品。离心后,血浆冷冻储存于大约 -70℃。ELISA 测定试剂盒 (DMC00) 来自 R&D Systems, Inc. (614McKinley Place NE, Minneapolis 55413)。在该测定中采用定量夹心酶免疫测定技术且测定操作和主要试剂遵循试剂盒说明。K₂EDTA 血浆样本储存于大约 -70℃直至测定。通过使用 4- 参数逻辑方程拟合的校准标准曲线 (跨越 31.2pg/mL 至 2000pg/mL 的范围) 的插值确定样品浓度。具有高于定量上限 (2000pg/mL) 的浓度的样品充分稀释至校准范围。M-CSF 的定量下限 (LLOQ) 为 31.2pg/mL。血清 M-CSF 浓度低于 LLOQ 的临床样品报道为 <31.2pg/mL。

[0452] 在 Pfizer Discovery-Molecular Pharmacology, PGRD, Ann Arbor, Michigan 使用商业可得的分析 K₂EDTA 血浆样品的 M-CSF 浓度。

[0453] 结果

[0454] A) 血清抗体 8.10.3F 药代动力学

[0455] 表 9 和表 10 含有健康患者中施用单一 IV 剂量后的血清抗体 8.10.3F 药代动力学参数的总结。施用每剂后的平均血清浓度-时间谱示于图 13。C_{max} 和 AUC 值 vs. 抗体 8.10.3F 剂量的图示于图 14。

[0456] 在 1 小时给健康成人志愿者施用抗体 8.10.3F 的单一输注后, C_{max} 以剂量比例方式增加。然而, 全身性暴露的程度, AUC(0-∞), 在 3-300mg 的剂量范围以比剂量比例方式更高的方式增加。因为系统的非线性, 并不认为表观终点 t_{1/2}(用于计算 AUC[0-∞]) 是暴露持续时间的有意义的量度。相反, 全部对象抗体 8.10.3F 浓度低于 LLOQ 的研究日通过调查浓度-时间表确定。血清抗体 8.10.3F 浓度在施用 3、10、30、100 和 300mg 剂量后分别在第 7、14、28、56 和 84 天低于 LLOQ。

[0457] 表 9 :给健康对象施用单一静脉内溶液剂量后血清抗体 8.10.3F 药代动力学参数值的总结

[0458]

	参数总结统计 ^a 相对 抗体 8.10.3F 剂量				
参数, 单位	3 mg	10 mg	30 mg	100 mg ^b	300 mg
N	6	6	6	12	6
C _{max} , µg/mL	0.825 (24)	2.39 (21)	9.57 (23)	36.0 (19)	90.7 (18)
t _{max} , hr	0.25 (0.25-0.28)	0.76 (0.25-4.0)	2.0 (1.3-4.0)	1.3 (1.3-2.0)	3.1 (1.8-4.0)
AUC(0-t _{lqc}), µg*hr/mL	13.6 (49)	97.7 (33)	601 (40)	3870 (18)	17800 (22)
AUC(0-∞), µg*hr/mL	16.9 (31)	105 (30)	640 (36)	3870 (18)	18100 (23)
T-BLQ ^c	7	14	21	56	84
CL, mL/min	3.18 (27)	1.72 (29)	0.842 (25)	0.442 (17)	0.290 (24)
V _d , mL/min	4.20 (23)	3.63 (26)	3.21 (24)	2.33 (22)	2.92 (15)
暴露持续时间 (天) ^c	7	14	21	56	84

[0459] ^a 对 t_{max} 为中位数 (范围); 对其它参数为算数平均 (% CV)

[0460] ^b 门诊患者和住院患者组合并。

[0461] ^c 所有对象中血清浓度低于定量下限 (LLQ = 0.035 µg/mL) 的研究日

[0462] N = 对象数目

[0463] 表 10 : 给健康对象施用单一静脉内溶液剂量后平均血清抗体 8.10.3F 浓度 (ng/mL)

[0464]

研究日	1	2	7	28 ^a	56 ^a	84
剂量	3 mg					
N	6	6	6			
平均值	0.00	235.83	0.00			
中位数	0.00	224.50	0.00			
STD	0.00	53.16	0.00			
剂量	10 mg					
N	6	6	6	6		

[0465]

平均值	0.00	1531.67	25.88 ^b	0.00		
中位数	0.00	1495.00	18.30 ^b	0.00		
STD	0.00	386.13	32.03	0.00		
剂量	30 mg					
N	6	6	6	6		
平均值	0.00	5991.67	1057.83	0.00		
中位数	0.00	5480.00	803.50	0.00		
STD	0.00	1597.09	717.84	0.00		
剂量	100 mg					
N	12	12	12	12	12	
平均值	0.00	24958.33	9751.67	22.93 ^b	0.00	
中位数	0.00	25400.00	9810.00	0.00	0.00	
STD	0.00	4170.78	2216.52	28.90	0.00	
剂量	300 mg					
N	6	6	6	6	6	6
平均值	0.00	72800.00	40333.33	2476.00	11.82 ^b	0.00
中位数	0.00	75850.00	42300.00	1614.50	0.00	0.00
STD	0.00	13733.17	8571.74	2266.54	28.94	0.00

[0466] ^a 以标称研究日总结数据：针对 300mg 剂量组的第 28 天组合 6 个患者中的 5 个在第 28 天收集的数据和另一患者在第 29 天收集的数据。

[0467] 类似地, 针对 300mg 剂量组的第 56 天组合 6 个患者中的 4 个在第 56 天收集的数据和 6 个患者中另外 2 个在第 58 天收集的数据。

[0468] ^b 低于定量限的平均值和 / 或中位数值反映包括在计算中报道为 BLQ(<35ng/mL) 为 0 的样品。

[0469] B) 总血清 M-CSF

[0470] 总 (游离的和结合抗体 8. 10. 3F 的) M-CSF 浓度相对剂量和研究日示于表 11 且针对 100-mg 剂量示于图 15。

[0471] 在安慰剂处理组, 基线处的平均 M-CSF 浓度为 0. 21ng/mL, 并且在给健康成年志愿者施用安慰剂后基本上不改变 (范围 0. 21-0. 28ng/mL) 直至第 84 天 (表 11)。

[0472] 施用抗体 8. 10. 3F 后, 最大平均 M-CSF 浓度随着剂量增加而增加。总 M-CSF 的峰浓度在第 2 或第 7 天获得。

[0473] 施用针对抗体 8. 10. 3F 的平衡解离常数 (K_D 2. 8x10⁻¹⁰M) 以及 M-CSF 和抗体 8. 10. 3F 的浓度确定游离和结合配体的比率, 计算出在抗体 8. 10. 3F 可检测的时间内, 100% 的测量

的 M-CSF 配体结合抗体 8. 10. 3F。尽管 M-CSF 的取样频率不如抗体 8. 10. 3F 的取样频繁，M-CSF 浓度与抗体 8. 10. 3F 平行地下降，提示 M-CSF 的暂时增加随后作为抗体-抗原复合物被清除。

[0474] 表 11 :给健康对象施用单一静脉内溶液剂量后的平均 M-CSF 浓度 (ng/mL)

研究日	1	2	7	28	56a	84
剂量	0 mg					
N	12	12	12	10	6	2
平均值	0.21	0.24	0.28	0.23	0.22	0.21
中位数	0.21	0.20	0.19	0.19	0.22	0.21
STD	0.04	0.07	0.19	0.10	0.03	0.01
剂量	3 mg					
N	6	6	6			
平均值	0.20	4.26	0.24			
中位数	0.20	4.43	0.24			
SDT	0.02	1.16	0.04			
剂量	10 mg					
N	6	6	6	6		
平均值	0.18	21.07	0.49	0.21		
中位数	0.19	18.37	0.40	0.21		
STD	0.01	6.18	0.25	0.02		
剂量	30 mg					
N	6	6	6	6		
平均值	0.18	34.28	56.10	0.35		
中位数	0.18	33.30	34.45	0.25		
STD	0.02	7.28	57.48	0.19		
剂量	100 mg					
N	12	12	12	12	12	

[0476]

平均值	0.20	42.75	429.33	0.54	0.26	
中位数	0.20	46.84	468.84	0.46	0.25	
STD	0.03	14.15	104.64	0.19	0.03	
剂量	300 mg					
N	6	6	6	6	6	6
平均值	0.21	22.89	482.74	247.85	0.35	0.24
中位数	0.21	23.93	391.79	256.58	0.32	0.24
STD	0.03	5.37	176.28	181.54	0.08	0.03

[0477] ^a100mg 剂量的第 56 天组合组 4 在第 56 天和组 6 在第 52 天进行的测量。

[0478] 原始数据储存于 ePharm, 人工编号 1236578。

[0479] C)CD14⁺16⁺单核细胞

[0480] 图 16 显示研究 28 天对 CD14⁺16⁺ 单核细胞计数的计量应答 (CD14^{bright}CD16⁺ 和 CD14^{dim}CD16⁺ 的总数)。表 12 通过剂量和研究天数来显示平均 CD14⁺16⁺ 单核细胞计数, 图 17 和图 18 对 100-mg 剂量进行了图示。图 17 中 56 天的数据与 56 天组 4 和 52 天组 6 的测量结果组合。显示 CD14⁺16⁺ 细胞计数数据的全部图不包括被认为是离群值的单个观察结果。研究 28 天的对象 1031 (100-mg) 具有 179.0 细胞 /mc1 的报告值。

[0481] 对于全部剂量在 4 天时, 用抗体 8.10.3F 治疗引起外周循环 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞的绝对值的快速下降, 最低值为约 60% 至 80% 的抑制率。增加剂量保持更长时期内 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞的抑制率。对于 3 和 10mg 剂量, CD14⁺CD16⁺ 单核细胞的绝对值在 14 天内返回至基线; 对于 30mg 剂量, CD14⁺CD16⁺ 单核细胞的绝对值在 28 天内返回至基线; 对于 100 和 300mg 剂量, CD14⁺CD16⁺ 单核细胞的绝对值在 56 天内返回至基线。

[0482] 表 12 : 对健康对象施用单次静脉内溶液剂量后的 CD14⁺16⁺ 单核细胞计数 (细胞 / μ L)

[0483]

研究日	1	2	4	7	14	28	56	84
剂量	0 mg							
N	11	12	12	12	12	10	5	2
平均值	32.72	34.19	37.53	40.62	37.42	35.91	36.66	39.95
中位数	26.6	30.50	36.00	36.70	37.50	32.00	41.20	39.95

[0484]

STD	16.55	18.16	16.03	18.14	14.99	17.46	13.29	15.20
剂量	3 mg							
N	6	6	6	6	6			
平均值	27.70	23.05	12.32	22.22	40.95			
中位数	25.80	16.25	10.90	19.70	42.40			
STD	11.17	18.72	6.10	11.19	15.17			
剂量	10 mg							
N	6	6	6	6	6	6		
平均值	19.88	13.82	8.82	14.90	37.50	32.58		
中位数	17.60	10.70	8.50	17.05	29.30	30.60		
STD	9.99	9.37	7.11	9.43	30.59	16.95		
剂量	30 mg							
N	6	6	6	6	6	6		
平均值	23.90	13.72	3.92	5.03	8.52	28.47		
中位数	19.00	12.05	4.25	4.80	8.75	22.75		
STD	7.78	8.11	1.95	3.21	2.54	17.39		
剂量	100 mg							
N	12	12	12	12	11	12	12	
平均值	35.61	14.98	5.55	8.93	9.37	37.43	41.89	
中位数	29.85	14.00	5.05	5.60	7.90	18.10	30.25	
STD	18.66	5.58	3.50	7.73	5.75	52.98	27.64	
剂量	300 mg							
N	6	6	6	6	6	6	6	6
平均值	36.35	10.92	6.42	11.00	12.05	15.73	38.52	35.77
中位数	34.80	8.95	6.25	7.75	9.55	14.85	29.80	27.35
STD	17.41	5.82	3.18	10.54	8.34	9.48	23.51	20.84

[0485] D)BSAP 和 uNTX-1

[0486] 抗体 8.10.3F 的治疗与 uNTX-1 (破骨细胞的骨再吸收活性的标志物) 中剂量和

时间依赖性的降低相关。uNTX-1 的降低速率对于 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞而言较慢,且抑制率的恢复被更加地延长。在 30、100 和 300mg 剂量组中, uNTX-1 降低至最低 64.4、60.5 和 39.9% 的基线值,其分别出现在 7、14 和 28 天。对于相同的各剂量组,在 28 天,平均 uNTX-1 为 78.0、69.4 和 39.3%。对于 ≤ 100mg 的剂量, uNTX-1 在约 56 天返回至基线。

[0487] 表 13 通过剂量和研究天数来显示平均 uNTX-1,图 19 对 100-mg 剂量进行了图示。

[0488] BSAP 水平不受到剂量增加至 100mg (包括 100mg) 的治疗的影响。在 300mg,在 7 至 28 天观察到 BSAP 增加的趋势,随后在 56 天返回至基线。然而,在接受 300mg 的对象中观察到的最大绝对值可与包括安慰剂在内的其它治疗组中观察到的值相匹配。

[0489] 表 13 :对健康对象施用单次静脉内溶液剂量后的平均 uNTX-1 (nM BCE/mM 肌酸酐)

[0490]

研究日	1	2	4	7	14	28	56	84
剂量	0 mg							
N	12	12	12	12	12	10	5	2
平均值	51.73	54.12	46.48	51.46	51.73	40.58	38.08	0.21
中位数	45.25	51.70	47.75	42.75	47.05	34.50	34.50	0.21
STD	24.89	24.37	22.12	23.44	22.89	18.18	12.21	0.01
剂量	3 mg							
N	6	6	6	6	6			
平均值	59.02	50.65	49.50	52.58	45.57			
中位数	58.35	51.00	44.75	52.25	44.90			
STD	23.79	17.03	12.09	14.09	10.62			
剂量	10 mg							
N	6	6	6	6	6	6		
平均值	44.65	37.50	32.50	36.72	38.02	44.55		
中位数	31.85	33.25	27.80	31.75	27.40	46.05		
STD	31.60	25.40	21.25	17.76	24.56	20.90		

[0491]

剂量	30 mg							
N	6	6	6	6	6	6		
平均值	49.38	41.12	38.58	31.78	37.83	38.50		
中位数	49.70	46.55	39.95	32.10	36.75	39.95		
STD	18.55	16.59	13.63	13.18	12.67	13.49		
剂量	100 mg							
N	12	12	12	12	12	12	12	
平均值	46.01	43.67	38.59	29.04	27.83	31.95	43.60	
中位数	45.65	41.55	35.20	28.15	25.30	27.45	43.05	
STD	13.79	15.97	22.99	8.61	15.64	13.80	17.53	
剂量	300 mg							
N	6	6	6	6	6	6	5	6
平均值	43.00	32.98	31.13	24.08	17.42	17.17	30.26	0.24
中位数	41.35	32.70	30.00	22.50	17.40	13.90	23.80	0.24
STD	17.11	10.16	11.82	7.49	2.76	5.91	20.20	0.03

[0492] 讨论

[0493] 在向健康成年志愿者施用 3-300mg 单次静脉内剂量后抗体 8. 10. 3F 通常很好地被耐受。抗体 8. 10. 3F 治疗引起药效标志物（其在药物清除后是可逆转的）的快速变化。此机理的主要生物标志物是大量循环 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞，其已与临床前的关节炎模型的功效相结合。在 4 天时，全部剂量的抗体 8. 10. 3F 治疗引起 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞的快速下降，最低值为约 60% 至 80% 的抑制率。增加剂量保持更长时期内 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞的抑制率。对于 3 和 10mg 剂量，CD14⁺CD16⁺ 单核细胞的绝对值在 14 天内返回至基线；对于 30mg 剂量，CD14⁺CD16⁺ 单核细胞的绝对值在 28 天内返回至基线；对于 100 和 300mg 剂量，CD14⁺CD16⁺ 单核细胞的绝对值在 56 天内返回至基线。

[0494] 基于使用替代抗体的临床前模型，预测提供治疗益处的剂量是维持 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞抑制率在基线值 ≤ 50% 水平的剂量。在此研究中，≥ 30mg 的剂量能够持续至少 14 天抑制循环 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞低于基线值的 50%。30mg 剂量在研究 7、14 和 28 天分别具有基线的 25%、46% 和 120% 的中位 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞值。100mg 剂量在研究 7、14 和 28 天分别具有基线的 19%、26% 和 61% 的中位 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞值。CD14⁺CD16⁺ 单核细胞可随着重复给药进一步降低。

[0495] 预测 M-CSF 的抑制会抑制导致骨再吸收的抑制的破骨细胞分化。抗体 8. 10. 3F 的治疗与 uNTX-1 中剂量和时间依赖性的降低相关。uNTX-1 的降低速率对于 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞而言较慢，且抑制率的恢复被更加地延长。在 30、100 和 300mg 剂量组中，uNTX-1 降低

至最低 64.4、60.5 和 39.9% 的基线值,其分别出现在 7、14 和 28 天。对于相同的各剂量组,在 28 天,平均 uNTX-1 为 78.0、69.4 和 39.3%。对于 $\leq 100\text{mg}$ 的剂量,uNTX-1 在约 56 天返回至基线。BSAP 水平不受到剂量增加至 100mg (包括 100mg) 的治疗的影响。在 300mg ,在 7 至 28 天观察到 BSAP 增加的趋势,随后在 56 天返回至基线。然而,在接受 300mg 的对象中观察到的最大绝对值可与包括安慰剂在内的其它治疗组中观察到的值相匹配。

[0496] 所有于本说明书所引用的公开及专利公开是以引用的方式并入本文中,其方式犹如各单独公开或专利公开是特别且单独指明以引用的方式并入本文中。为供清楚了解的目的,前述本发明通过说明及实施例的方式进行了一定程度的描述,但对熟谙本领域的一般技术人员而言,很明显的可按照本发明的指导而做出某些改变及修饰而不偏离所附申请权利要求的精神或范围。

[0497] 序列表

[0498] 关键词:

[0499] 信号肽:下划线小写字体

[0500] CDR1, 2, 3:下划线大写字体

[0501] 可变区:大写字体

[0502] 恒定区:小写字体

[0503] 自种系的突变:粗体

[0504] SEQ ID NO:1

[0505] 252 重链 [γ 链] 核苷酸序列

[0506] atggagttggggctgtgctggattttccttgttgctattataaaagggtgtccagtgtCAGGTGCAGCTG
GTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAG
TGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG **A**TTTCATACATTAGT **G**GTAGTGG
TAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGTCACTGTATCT
GCCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTAT **C**ACTGTGCGAGAGCCCTGGGTGGGATGGACGCTCTGGG
GCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTtccaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctctaga
agcacctccgagagcacagcgccctgggctgcctggtaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgtggaa
ctcagcgctctgaccagcgcggtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcg
tggtgaccgtgccctccagcaacttcggcacccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaag
gtggacaagacagttgagcgcaaatgtttgtgtcgagtgccaccgtgccagcaccacctgtggcaggaccgtcagt
cttctcttccccccaaaacccaaggacacctcatgatctcccgaccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacg
tgagccacgaagaccccaggtccagttcaactggtagctggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagcca
cgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactgggtgaacggcaa
ggagtacaagtgaaggtctccaacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagc
cccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctg
gtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagacaactacaagaccac
acctcccatgctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcacctgggacaagagcaggtggcagcagg
ggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccg
ggtaaa

[0507] SEQ ID NO:2

[0508] 252 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0509] melglcwiflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEW **I**
SYIS **G** SGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVY **H** CARALGGMDVWGQGTTVTVSSAstkgp
svfplapcsrstsestaalglvkdypfpvptvswngaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqytyc
nvdhkpsntkvdktkverkecvecppcpappvagpsvflfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdg
vevhnaktkpreeqfnstfrvsvltvvhqdlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepvytlppsreem
tknqvsltclvkgyfypsdiavewesngqpennykttppmlsdsgsflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealnh
ytqkslsispkg

[0510] SEQ ID NO:3

[0511] 252 轻链 [K 链] 核苷酸序列

[0512] atgagggctccctgctcagctcctggggctcctgctactctggctccgaggtgccagatgtGACATCC
AGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAG
AGCATTAGCG **G** CT **T** TTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCT **A**
CATCCAGTTTGAAAGTGGGGTCCCA **TT** CAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAG
CAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGAGTTACAGT **GT** CCCATTCACTTTCGGCCCTGGG
ACCAAAGTGGATATCAAACGAactgtggctgcaccatctgttcttcatcttcccgcctctgatgagcagttgaaatc
tggaactgctagegttggtgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgggaaggtggataacg
ccctccaatcgggtaactcccaggagagtgctcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacc
ctgacgctgagcaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcc
cgtcacaaagagcttcaacaggggagagtg

[0513] SEQ ID NO:4

[0514] 252 轻链 [K 链] 蛋白质序列

[0515] mrtpaqllglilllwlrgarcDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSI**S** **GF**
LNWYQQKPGKAPKLLIYA **T** SSLQSGVP **F** RFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQQSYS **V** PFTFGPGTKVD
IKRtvaapsvffpppsdeqlkshtasvcllnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsdstylsstltlsk
adyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

[0516] SEQ ID NO:5

[0517] 88 重链 [γ 链] 核苷酸序列

[0518] atggaatttgggctgtgctgggttttccttggtgctattttagaaggtgtccagtgGAGGTGCAGCTG
GTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAG
TAGCTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATAAAGCAAGATGGAA
GTGAGAAATACTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTG
CAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCTCCGGGTATAGCAGCAGCTGGTAGGGCCTA
CTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTtccaccaagggcccatcgtcttccccctggcgccctgct
ctagaagcacctccgagagcacagcgccctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaaccggtagcggtgtcg
tggaactcaggcgctctgaccagcggtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcggtggtgaccgtgccctccagcaacttcggcaccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaaca
ccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttggtgctgagtgcccacgtgcccagcaccacctgtggcaggaccg
tcagtccttctcttccccccaaaacccaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacgtgcgtgggtgt

ggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactgggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaa
agccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtgggtcagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggctgaac
ggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagg
gcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacct
gcctgggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgaggagagcaatgggcagccggagaacaactacaag
accacacctcccatgtctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggca
gcaggggaacgtcttctcatgtctcgtgatgcagtgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcctgt
ctccgggtaaa

[0519] SEQ ID NO:6

[0520] 88 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0521] mefglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVAN
IKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA PGIAAAG RAY WGQGLTVTVSSAstkgp
svfplapcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqytyc
nvdhkpsntkvdkterkeccvecppcpappvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvdvshedpevfqnwyvdg
vevhnaktkpreeqfnstfrvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepvytlppsreem
tknqvsltclvkgyfypsdiavewesngqpennykttppmlsdsgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealnhh
ytqkslsispk

[0522] SEQ ID NO:7

[0523] 88 轻链 [K 链] 核苷酸序列

[0524] atgagggtccctgctcagctcctggggctcctgctactctggctccgaggtgccagatgtGACATCCAG
ATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTTGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGG C CAAGTCAG GA C
ATTAGCAGTTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTG
CAAAGTGGGGTCCCAT T AAGGTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAAC
CTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGAT
ATCAAACGAactgtggetgcaccatctgtcttcatcttcccgcacatctgatgagcagttgaaatctggaactgctag
cgttgtgtgectgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcctccaatcgg
gtaactcccaggagagtgctcacagagcaggacagcaaggacagcaccacagcctcagcagcaccctgacgctgagc
aaagcagactacgagaaacacaaagtctacgctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaagag
cttcaacaggggagagtg

[0525] SEQ ID NO:8

[0526] 88 轻链 [K 链] 蛋白质序列

[0527] mrvpaqllgllllwlrgarcDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCR P SQ D
ISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP L RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGPGTKV
DIKRtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfyfpreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsdstyslsstltls
kadyekkhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

[0528] SEQ ID NO:9

[0529] 100 重链 [γ 链] 核苷酸序列

[0530] atggagtttgggctccgctggatttttcttggctattttaaaagggtgtccagtgtGAGGTGCAGCT
GTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTT

TAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGGTCTCAGCTATTAGTGGT **C**
GTGGTGGTAG **G** ACATACT **T** CGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACG
CTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATT **T** CTGTGCG **GT** AGAAGGCTATAGTGGG
CGCTACGGATTTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTAGTCACCGTCTCCTCAGCC tcaccaagggeccatcggt
cttccccctggcgccctgctctagaagcacctccgagagcacagcgccctgggctgcctggtaaggactacttcc
ccgaaccggtagcggtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggtgcacaccttcccagctgtcctacagtcc
tcaggactctactccctcagcagcgtggtagccgtgccctccagcaacttcggcaccagacctacacctgcaacgt
agatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttggtgctgagtgcccaccgtgcccag
caccacctgtggcaggaccgtcagttcttcttccccccaaaaccaaggacacctcatgatctcccgaccct
gaggtcacgtgcgtgggtggtagcgtgagccacgaagaccccagggtccagttcaactggtagctggacggcggtgga
ggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtagcgtcctcaccgttg
tgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgaaggcttccaacaaaggcctcccagcccccatcgagaaa
accatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccgggaggagatgaccaa
gaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggc
agccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcacc
gtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgaggtctgcacaaccactacac
gcagaagagcctctccctgtctcgggtaaa

[0531] SEQ ID NO:10

[0532] 100 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0533] mefglrwiflvailkgvqcEVQLLES^{GG}GLVQPGGSLRLS^{CA}ASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSA
ISG **R** GG **R** TY **F** ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY **F** CA **VEG** YSG **R** Y **GF** FDYWGQGLTV
TVSSAstkgpsvflapcsrstsestaalglvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvps
snfgtqytytencvdkpsntkvdktkverkecveppcpappvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedp
evqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepqv
ytlppsreemtknqvsltclvkgyfypsdiavewesngqpennyktpmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfsc
svmhealhnhytqkslslspgk

[0534] SEQ ID NO:11

[0535] 100 轻链 [K 链] 核苷酸序列

[0536] atggaagccccagctcagcttctcttctcctgctactctggctcccagataccactggaGAAATAGTG
ATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGT
TAGCAGCAACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGC
CAG**T**GGTATCCCAG **A**CAGG **A**TCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAGTTCACTCTCATCATCAGCAGCCTGCAGT
CTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGTCTAATAACTGGCCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGAT
ATCAAACGAactgtggtgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgctag
cgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcctccaatcgg
gtaactcccaggagagtgctcacagagcaggacagcaaggacagcactacagcctcagcagcaccctgacgtgagc
aaagcagactacgagaaacacaaagctctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaagag
cttcaacaggggagagtggt

[0537] SEQ ID NO:12

[0538] 100 轻链 [K 链] 蛋白质序列

[0539] meapaqlflfllllwlpdttgEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIY
GASTRASGIPDRISGSGSGTEFTLIISLQSEDFAVYYCQQSNNWPFTFGPGTKVDIKRtvaapsvfifppsdeql
ksgtasvvc^{ll}nnfybreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsdstyslsstltlskadyekkhkvyacevthqgl
spvtsfnrgec

[0540] SEQ ID NO:14

[0541] 3.8.3 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0542] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEW **F**
SYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSL **S** LQMNSLRAEDTAVYYCAR **G** LTGDYWGQGLTVTVSSAstkgpsv
fplapc^{srstsesta}algc^{lvkdyfpep}vtvsw^{ns}galtsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqytyc^{nv}
dhkpsntkvdk^{tver}kecc^{ve}pcpappvagpsvflfppkpkdtl^{mis}rtp^{ev}tc^{vv}dvsh^{ed}pevqfnwyvdg^{ve}
vhnaktkpreeqfnstfrvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepvytlppsreemtk
nqvsl^{tl}clvkgfypsdiavewesngqpennykttpmldsdgsfflyskl^{tv}dk^{srw}qqgnvfscsv^mheal^{hn}hyt
qkslslspgk

[0543] SEQ ID NO:16

[0544] 3.8.3 轻链 [K 链] 蛋白质序列

[0545] mdmrvpaqlflgllllwfpgsrcDIQMTQSPSSVSASVGDRVIT **S** CRASQ D IS G
WLAWYQQKPGKAPKLLISA T SSL HSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ TNSFPFTFGPGTKV
DIKRtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvc^{ll}nnfybreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsdstyslsstltls
kadyekkhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

[0546] SEQ ID NO:18

[0547] 2.7.3 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0548] mefglswvflvalirgcqcQVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFTFESSYGMHWVRQAPGKGLEWV
A **F** IWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGY **RV** YFDYWGQGLTVTVSSAstkgp
svfplapc^{srstsesta}algc^{lvkdyfpep}vtvsw^{ns}galtsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtktytc
nv^{dh}kpsntkvdk^{rves}kygppc^{ps}papeflggpsvflfppkpkdtl^{mis}rtp^{ev}tc^{vv}dv^{sq}edpevqfnwyvd
gvevhnaktkpreeqfnstyr^{vv}svltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssi^{ekt}iskakgqprepvytlpps^{qee}
mtknqvsl^{tl}clvkgfypsdiavewesngqpennykttpvldsdgsfflysr^{lt}vd^{ksr}wqeg^{nv}fscsv^mheal^{hn}
hytqkslslspgk

[0549] SEQ ID NO:20

[0550] 2.7.3 轻链 [K 链] 蛋白质序列

[0551] mdmrvpaqlflgllllwfpgsrcDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQ **D** ISSWLAWYQ R
KPGKAPKL Q IYAASSL ESGVPSRF **N**SGSGTDFTL **S** ISLQPEDFATYYCQQ TNSFPLTFGGGKVEIKRt
vaapsvfifppsdeqlksgtasvvc^{ll}nnfybreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsdstyslsstltlskadye
khkvyacevthqglsspvtksfnrgec

[0552] SEQ ID NO:22

[0553] 1.120.1 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0554] mewtwsflflvaaatgahsQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWVRQAPGGLEWMGW
ISAYNGNTNYAQLQ D RVTMTTDTST **T** TAYMELRSLRSDDTAVYYCA **RRA YG A N F** FDYWGQGLTVTVSSA

stkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgt
qytycnvdhkpstnkvdktverkeccveppcpappvagpsvflfppkpkdtlmi srtpevtcvvvdvshedpevqfn
wyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepvytlpp
sreemtknqvsltelvkgyfypsdiavewesngqpennykttppmlsdsgsflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhe
alhnhytqkslsispk

[0555] SEQ ID NO:24

[0556] 1.120.1 轻链 [K 链] 蛋白质序列

[0557] mvltqtqvflslwlgaygDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQS **I** L **FF** SNNKNYLAWY **R**
QKPGQPP **N** LLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFLTITSSLQAEDVAVYYCQQYYS **S** PWTFGQGTKVEIKRtvaa
psvfifppsdeqlksgtasvvelnnfyfpreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsdstyslsstltliskadyekhk
vyacevthqglsspvtksfnrgec

[0558] SEQ ID NO:25

[0559] 9.14.4I 重链 [γ 链] 核苷酸序列

[0560] atggagtttgggctgagctgggttttccctgttgcattataaaaaggtgtCCAGTGTCAGGTGCAGCTG
GTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAG
TGACTACTATATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGTA
GTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGTCACTGTATCTG
CAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCCTAACTGGGGACTACTGGGGCCA
GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTtccaccaagggeccatccgttcttccccctggcgccctgctctagaagca
cctccgagagcacageggccctgggctgectggtaaggactacttccccgaaccggtagcgggtgctggaactca
ggcgctctgaccageggcggtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggacttacttccctcagcagcgtggt
gaccgtgccctccagcaacttccgacccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtgg
acaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagttctt
cttcttccccccaaaacccaaggacacctcatgatctccggacccctgaggtcacgtgctggtggtggacgtgag
ccacgaagaccccaggtccagttcaactggtacgtggacggcggtgaggtgcataatgccaagacaaagccacggg
aggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgctcctcaccgttgtgcaccaggactggctgaacggcaaggag
tacaagtgaaggtctccaacaaaggectcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccg
agaaccacaggtgtacacctgcccccatccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtca
aaggttctatccccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaaactacaagaccacacct
cccatgctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaa
cgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcctgtctccgggta
aa

[0561] SEQ ID NO:26

[0562] 9.14.4I 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0563] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKLEWVSY
ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARG**L**TGDYWGQTLVTVSSAstkgpsvfpla
pcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqytycnvdhkp
stnkvdktverkeccveppcpappvagpsvflfppkpkdtlmi srtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhn
aktkpreeqfnstfrvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepvytlppsreemtknqvs

ltclvkgyfypsdiavewesngqpennykttppmlsdsgsflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqksl
slspgk

[0564] SEQ ID NO:27

[0565] 9.14.4, 9.14.4I, 9.14.4-Ser 和 9.14.4-G1 轻链 [K 链] 核苷酸序列

[0566] atggacatgagggtccccgctcagctcctggggctcctgctactctggctccgaggtgccagatgTGAC
ATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTTCGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGCCAAGTCA
GATCATTAGCAGTTTATTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCATGCTGCATCCA
TTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGTAGTCTG
CAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCATTCCTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGT
GGATATCAAACGAactgtggtgcaccatctgtcttcatcttccccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactg
cctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgggaaggtggataacgcctccaa
tcgggtaactcccaggagagtgctcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgct
gagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgctcaca
agagcttcaacaggggagagtg

[0567] SEQ ID NO:28

[0568] 9.14.4, 9.14.4I, 9.14.4-Ser 和 9.14.4-G1 轻链 [K 链] 蛋白质序列

[0569] mdmrvpaglllgllllwlrgarcDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR **P SQ I ISS L**
LLNWYQQKPGKAPKLLI **H** AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGPGTKVDIKR
tvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfyfpreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsdstyslsstltlskady
ekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

[0570] SEQ ID NO:37

[0571] 9.14.4 重链 [γ 链] 核苷酸序列

[0572] atggagtttgggctgagctgggttttccttgttgctattataaaaggtgtCCAGTGTCAAGTGCAGCTG
GTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGCTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAG
TGACTACTATATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGA
GTACCATATACTACGCACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGTCACTGTATCTG
CAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCCTAACTGGGGACTACTGGGGCCA
GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTtccaccaagggcccatccgtcttccccctgggcgcctgctctagaagca
cctccgagagcacagcgccctgggctgcctggtaaggactacttccccgaaccggtagcgggtgctgtggaactca
ggcgctctgaccagcgcgctgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggt
gaccgtgccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtgg
acaagagagttgagtcacaatatgggtcccccatgccatcatgccagcacctgagttcctggggggaccatcagtc
ttcctgttccccccaaaaccaaggacactctcatgatctcccggaccctgaggtcacgtgcgtgggtggacgt
gagccaggaagaccccaggttccagttcaactggtagctggatggcgtggaggtgcataatgccaaagcaaaagccgc
gggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgctcctaccgtcctgcaccaggactggctgaacgggaag
gagtacaagtgaaggtctccaacaaaggcctcccgctcctccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagagccacaggtgtacacctgcccccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgg
tcaaaggttcttaccaccagcagatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaaactacaagaccag
cctcccgctgctggactccgacggctccttcttctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggaggg

gaatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctccgg
gtaaa

[0573] SEQ ID NO:38

[0574] 9.14.4 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0575] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSY
ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLTGDYWGQGLVTVSSAstkgpsvfpla
pcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavllqssglyslssvvtvpssslgtktytcnvdhkp
sntkvdkrveskygppcscpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhn
aktkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiectiskakgqprepvytlppsqeemtknqv
sltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysrlltdksrwqegnvfscsvmhealhnhytqks
lsispkg

[0576] SEQ ID NO:54

[0577] 9.14.4C-Ser 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0578] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSY
ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLTGDYWGQGLVTVSSAstkgpsvfpla
pcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavllqssglyslssvvtvpssslgtktytcnvdhkps
ntkvdkrveskygppcpPcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnak
tkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiectiskakgqprepvytlppsqeemtknqvs
tclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysrlltdksrwqegnvfscsvmhealhnhytqksls
lspgk

[0579] SEQ ID NO:56

[0580] 9.14.4C-Ser, 9.14.4-CG2 和 9.14.4-CG4 轻链 [K 链] 蛋白质序列

[0581] mdmrvaqllglilllwlrgarcDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR **P** **SQ** **I** **ISS** **L** **LN**WYQQKPKGKAP
KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQSYSTPFTFGPGTKVDIKRtvaapsvfifppsd
eqlksgtasvcllnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsdstyslsstltlskadyekkhkyacevthq
glsspvtksfnrgec

[0582] SEQ ID NO:74

[0583] 9.14.4-CG2 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0584] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSY
ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLTGDYWGQGLVTVSSAstkgpsvfpla
pcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavllqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkp
sntkvdktkverkecveppcpappvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhn
aktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepvytlppsreemtknqvs
ltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmlsdgsfflyskltdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqksl
slspgk

[0585] SEQ ID NO:78

[0586] 9.14.4-CG4 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0587] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSY
ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLTGDYWGQGLVTVSSAstkgpsvfpla

pcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavllqssglyslssvvtvpssslgktytcnvdhkp
sntkvdkrveskygppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhn
aktkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiectiskakgqprepvytlppsqeemtknqv
sltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysrlltdksrwqegnvfscsvmhealhnhytqks
lslspgk

[0588] SEQ ID NO:82

[0589] 9.14.4-Ser 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0590] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSY
ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLTGDIYWGQGLTVTVSSAstkgpsvfpla
pcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavllqssglyslssvvtvpssslgktytcnvdhkp
ntkvdkrveskygppcpPcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnak
tkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiectiskakgqprepvytlppsqeemtknqvsl
tclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysrlltdksrwqegnvfscsvmhealhnhytqksls
lspgk

[0591] SEQ ID NO.101

[0592] 9.14.4G1 重链 (γ 链) 核苷酸序列

[0593] atggagtttgggctgagctgggttttccttgttgctattataaaagggtgtccagtgtCAGGTGCAGCTG
GTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAG
TGACTACTATATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGACTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGTA
GTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTG
CAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCCTAACTGGGGACTACTGGGGCCA
GGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTtccaccaaggggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagca
cctctgggggcacagecgccctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgtggaac tca
ggcgccctgaccagecggtgcacaccttccccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagegtggt
gaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaacaccaaggtgg
acaagaaagttgagcccaaattcttgtagacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctgggggga
ccgtcagttcttcttccccccaaaaccaaggacacctcatgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaga
caaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg
aatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaa
agggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccggtgagctgaccaagaaccaggtcagcctga
cctgcctggtcaaagcttctatccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactac
aagaccacgcctcccggtgctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtg
gcagcaggggaacgtcttctcatgctcgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccc
tgtctccgggtaaatag

[0594] SEQ ID NO102

[0595] 9.14.4G1 重链 (γ 链) 蛋白质序列

[0596] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSY
ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLTGDIYWGQGLTVTVSSAstkgpsvfpla

psskstsggtaalglclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavllqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkp
sntkvdkkvepkscdkthtceppcpapellggpsvflfpkpkdltlmsrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgve
vhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepvytlppsrdeltk
nqvsltclvkgyfypsdiavewesngqpennykttpvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhyt
qkslsispk

[0597] SEQ ID NO:29

[0598] 8. 10. 3 和 8. 10. 3F 重链 [γ 链] 核苷酸序列

[0599] atggagttggggctgtgctgggttttccttgttgcatttttagaagggtgtccagtgtGAGGTGCAGCTG
GTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAG
TAGTTTTAGTATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGAAGTA
GTACCATATCCTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACTCACTGTATCTG
CAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATCCTTCTAGCGGGAGCTACCTT
CTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCtccaccaagggcccatcggtcttcccccttg
cgccttgctccaggagcacctccgagagcacagcgccctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaaccggtg
acggtgtcgtggaactcaggegtcttgaccagcggtgcacaccttccagctgtctacagtcctcaggactcta
ctccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcaacttcggcaccagacctacacctgcaacgtagatcacaagc
ccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgccaccgtgccagcaccacctgtg
gcaggaccgtcagttcttcttccccccaaaacccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacgtg
cgtggtggtggacgtgagccacgaagacccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatg
ccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtctcaccgttgtgcaccaggac
tggctgaacggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaaggcctcccagccccatcgagaaaaccatctccaa
aaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtca
gcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaac
aactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagag
caggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcc
tctccctgtctccgggtaaa

[0600] SEQ ID NO:30

[0601] 8. 10. 3 和 8. 10. 3F 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0602] melglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQP GGLRLSCAASGFTFSS **F** **SM** **T**
WVRQAPGKGLEWVSYISS **R** **SSTI** **S**YADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR **DPLLA**G **ATF**
FDYWGQGLTVTVSSAstkgpsvfplapcsrcstsestaalglclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavllqssgly
slssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdkterkccvecppcpappvagpsvflfpkpkdltlmsrtpevtc
vvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisk
tkgqprepvytlppsreemtknqvsltclvkgyfypsdiavewesngqpennyktpmldsdgsfflyskltvdks
rwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslsispk

[0603] SEQ ID NO:31

[0604] 8. 10. 3FG1 和 8. 10. 3F 轻链 [K 链] 核苷酸序列

[0605] atggaaacccagcgcagcttctcttctcctcctgctactctggctcccagataccaccggaGAATTTGTG
TTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGT

TAGCAGCAGTTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCA
GGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGA
GATCAAACGAactgtggetgcaccatctgttcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcct
ctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcg
ggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgag
caaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaaga
gcttcaacaggggagagtgt

[0606] SEQ ID NO:32

[0607] 8. 10. 3FG1 和 8. 10. 3F 轻链 [K 链] 蛋白质序列

[0608] metpaql1fl1111wlpdttgE **F** VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRL
IYGASSRATGIPDRFSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKVEIKR **tvaapsvfi** **fppsdeql**
ksgtasvvc11nnfybreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsksdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqgl
spvtskfnrgec

[0609] SEQ ID NO:43

[0610] 8. 10. 3 和 8. 10. 3-Ser 轻链 [K 链] 核苷酸序列

[0611] atggaaaccccagcgcagcttctcttccctcctgctactctggctcccagataccaccggaGAATTTGTG
TTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGT
TAGCAGCAGTTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCA
GGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGTAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGA
GATCAAACGAactgtggetgcaccatctgttcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcct
ctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcg
ggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgag
caaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaaga
gcttcaacaggggagagtgt

[0612] SEQ ID NO:44

[0613] 8. 10. 3 和 8. 10. 3-Ser 轻链 [K 链] 蛋白质序列

[0614] metpaql1fl1111wlpdttgE **F** VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRL
IYGASSRATGIPDRFSGSGTDFTLTISRLEPEDF **V** VYYCQQYGSSPLTFGGGTKVEIKR **tvaapsvfi** **fppsdeql**
ksgtasvvc11nnfybreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsksdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqgl
spvtskfnrgec

[0615] SEQ ID NO:58

[0616] 8. 10. 3C-Ser 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0617] melglcwwflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS **F** **SM** **T**
WVRQAPGKGLEWVSYISS **R** **SSTI** **S** **YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR** **DPLLAG** **ATF**
FDYWGQGLTVTVSSAstkgpsvfplapcsrcstsestaalgclvkdyfpeptvswnsaltsgvhtfpavlqssgly
slssvvtvpssslgktytencvdkpsntkvdkrveskygppcp **P**cpapeflggpsvflfpkpkdltlmisrtpetv
cvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstyrvvsltlvqhgdwlngkeykckvsnkgplssiectis

kakgqprepqvvtlppsqeemtknqvsltcclvkgyfypsdiavewesngqpennykttpvldsdgsfflysrlltvdk
srwqegnfvfscsvmeahlnhytqkslsispkg

[0618] SEQ ID NO:60

[0619] 8. 10. 3-CG2, 8. 10. 3-CG4 和 8. 10. 3C-Ser 轻链 [k 链] 蛋白质序列

[0620] metpaqlflfllllwlpdttgEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLI
YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKVEIKRtvaapsvfi fppsdeqlk
sgtasvvccllnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglss
pvtksfnrgec

[0621] SEQ ID NO:62

[0622] 8. 10. 3-CG2 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0623] melglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS F SM T
WVRQAPGKGLEWVSYISS R SSSI SYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR DPLLA G ATF
FDYWGQGTLTVSSAstkgpsvfplapcsrcstsestaalgclvkdyfpeptvswngaltsgvhtfpavlqssgly
slssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdkterkccvecppcpappvagpsvflfpkpkdltlmisrtpevtc
vvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisk
tkgqprepqvvtlppsreemtknqvsltcclvkgyfypsdiavewesngqpennykttpmldsdgsfflyskltvdk
rwqqgnfvfscsvmeahlnhytqkslsispkg

[0624] SEQ ID NO:90

[0625] 8. 10. 3-Ser 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0626] melglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS F SM T
WVRQAPGKGLEWVSYISS R SSSI SYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR DPLLA G ATF
FDYWGQGTLTVSSAstkgpsvfplapcsrcstsestaalgclvkdyfpeptvswngaltsgvhtfpavlqssgly
slssvvtvpssslgtktytcnvdhkpsntkvdkrveskygppcpPcpapeflggpsvflfpkpkdltlmisrtpevtc
vvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstyrsvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiektisk
akgqprepqvvtlppsqeemtknqvsltcclvkgyfypsdiavewesngqpennykttpvldsdgsfflysrlltvdk
rwqegnfvfscsvmeahlnhytqkslsispkg

[0627] SEQ ID NO:94

[0628] 8. 10. 3-CG4 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0629] melglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS F SM T
WVRQAPGKGLEWVSYISS R SSSI SYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR DPLL A
G ATF FDYWGQGTLTVSSAstkgpsvfplapcsrcstsestaalgclvkdyfpeptvswngaltsgvhtfpavl
qssglyslssvvtvpssslgtktytcnvdhkpsntkvdkrveskygppcpscpapeflggpsvflfpkpkdltlmis
rtpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstyrsvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpss
iektiskakgqprepqvvtlppsqeemtknqvsltcclvkgyfypsdiavewesngqpennykttpvldsdgsfflysr
lltvdksrwqegnfvfscsvmeahlnhytqkslsispkg

[0630] SEQ ID NO:97

[0631] 8. 10. 3FG1 重链核苷酸序列

[0632] atggagttggggctgagctgggttttccctgttgcattataaaaagggtgtccagtgtGAGGTGCAGCTG

GTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAG
TAGTTTTAGTATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGAAGTA
GTACCATATCCTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACTCACTGTATCTG
CAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATCCTCTTCTAGCGGGAGCTACCTT
CTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTccaccaagggeccatcggtcttccccctgg
caccctcctccaagagacacctctgggggcacagcgccctgggctgcctggtaaggactacttccccgaaccggtg
acggtgtcgtggaactcaggegcctgaccagcggtgcacaccttccggctgtcctacagtcctcaggactcta
ctcctcagcagcgtggtgacctgacctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagc
ccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaactcttgtagacaaaactcacacatgccaccgtgccagca
cctgaactcctggggggaccgtcagttctctcttccccccaaaaccaaggacacctcatgatctccccggacccc
tgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgg
aggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtacctgtgtggtcagcgtcctcaccgtc
ctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaagccctcccagcccccatcgagaa
aaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccgggatgagctgacca
agaaccaggtcagcctgacctgcctggtaaaaggtctctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatggg
cagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcac
cgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactaca
cgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaatag

[0633] SEQ ID NO:98

[0634] 8.10.3FG1 重链 (γ 链) 蛋白质序列

[0635] melglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS **F SM T**
WVRQAPGKGLEWVSYSIS**R**SSTI**S**YADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR**DPLLA****G****ATF**
FDYWGQGLTVTVSSAstkgpsvfplapsskstsggtaalglvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavllqssgly
slssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppcpapel lggpsvflfppkpkdtlmsrtp
evtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeyckvsnkalpapie
tiskakgqprepqvtytlppsrdeitknqvsltlvkgyfypsdiavewesngqpennyktpvldsdgsfflysklt
vdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslsispk

[0636] SEQ ID NO:33

[0637] 9.7.2IF 重链 [γ 链] 核苷酸序列

[0638] atggagtttgggctgagctgggttttccctgttgcattataaaaaggtgtccagtgtcAGGTGCAGCTG
GTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAG
TGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGTA
GTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGACAAACGCCAAGAATTCACTGTATCTG
CAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGGCGTATAGGAGGTATGGACGCTTGGGG
CCAAGGGACACGGTCACCGTCTCCTCAGCTtccaccaagggeccatccgtcttccccctggegcctgctctagaa
gcacctccgagagcacagcggecctgggctgcctggtaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaac
tcaggegtcttgaccagcggtgcacaccttccagctgtcctacagtcctcaggactctactcctcagcagcgt
ggtgacctgacctccagcaacttcggcaccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaagg
tggaacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgccaccgtgccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtc

ttccttctccccccaaaacccaaggacacctcatgatctcccgaccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgt
gagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtagctggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaagccac
gggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggctgaacggcaag
gagtacaagtgaaggtctccaacaaaggcctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgg
tcaaaggettctaccccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccaca
cctcccatgctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggg
gaacgtcttctcatgctcctgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgg
gtaaa

[0639] SEQ ID NO:34

[0640] 9.7.2IF 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0641] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSY
ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA**RR**I**G**GMDVWGQGTTVTVSSAstkgpsvf
plapcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavllqssglyslssvvtvpssnfgtqytycnvd
hkpsntkvdktkverkcceppcpappvagpsvflfpkpkdltmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvev
hnaktkpreeqfnstfrvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepvytlppsreemtkn
qvsltclvkgyfypsdiavewesngqpennykttppmlsdsgsflyskl tvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytq
kslsispkg

[0642] SEQ ID NO:35

[0643] 9.7.2IF 轻链 [K 链] 核苷酸序列

[0644] atggacatgaggggtccccgctcagctcctggggctcctgctactctggctccgaggtgccagatgtGAC
ATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA
GAGCATTAGCGGCTTTTTAATTTGGTATCAGCAGAGACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTACATCCA
GTTTACAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTACCATCAGCAGTCTG
CAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCATTCCTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGT
GGATATCAAACGAactgtggtgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactg
cctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaa
tcgggtaactcccaggagagtgtagacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgct
gagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcaca
agagcttcaacaggggagagtgt

[0645] SEQ ID NO:36

[0646] 9.7.2IF 轻链 [k 链] 蛋白质序列

[0647] mdmrvaqllgl1111wlrargcDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSIG**GF**L**I**WYQQ**R**
PGKAPKLLIYA**T**SSLQSGVPSRFSSGSGSGTDFLTLSLQPEDFATYYC**QQSYSTP**FTFGPGTKVDIKRtvaapsv
fifppsdeqlksgtasvcllnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsdstyslsstltlskadyekhkvy
cevthqglsspvtksfnrgec

[0648] SEQ ID NO:45

[0649] 9.7.2 重链 [γ 链] 核苷酸序列

[0650] atggagtttgggctgagctgggttttcttgttgctattataaaaggtgtccagtgtcAGGTGCAGCTG

GTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAG
TGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGA
GTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAATTCAGTGTATCTG
CAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGGCGTATAGGAGGTATGGACGTCTGGGG
CCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTTccaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctctagaa
gcacctccgagagcacagcgccctgggctgctgggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgctgctggaac
tcaggcgctctgaccageggcggtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgt
ggtgaccgtgcccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaagg
tggaacaagagagttgagtcacaatatgggtcccccatgcccacatgcccagcacctgagttcctggggggaccatca
gtcttctctgttccccccaaaacccaaggacactctcatgatctcccgaccctgaggtcacgtgctggtggtgga
cgtgagccaggaagaccccaggtccagttcaactggtacgtggatggcggtggaggtgcataatgccaagacaaagc
cgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtgggtcagcgtcctcacgtcctgcaccaggactggctgaacggc
aaggagtacaagtgaagggtctccaacaaaggcctcccgctcctccatcgagaaaaccatctccaaagccaaaggga
gccccgagagccacaggtgtacacctgcccccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcc
tggtcaaaggcttctaccccagegacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagacc
acgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcagga
ggggaatgtcttctcatgtccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctc
cgggtaaa

[0651] SEQ ID NO:46

[0652] 9.7.2 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0653] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSY
ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**RR**I**G**GMDVWQGQTTTVTVSSAstkgpsvf
plapcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqssglylssvvtvpssslgtktytcnvd
hkpsntkvdkrveskygppepcspapeflggpsvflfpkpkdltlmsrtpevtcvvvdvsqedpevfqnwyvdgve
vhnaktkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiectiskakgqprepvytlppsqeemtk
nqvsltclvkgyfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysrlltvdksrwqegnfvscsvmhealhnhyt
qkslslspgk

[0654] SEQ ID NO:47

[0655] 9.7.2 和 9.7.2-Ser 轻链 [K 链] 核苷酸序列

[0656] atggacatgaggggtccccgctcagctcctggggctcctgctactctggctccgaggtgccagatgtGAC
ATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA
GAGCATTAGCGCTTTTTTAATTTGGTATCAGCAGAGACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTACATCCA
GTTTACAAAGTGGGGTCCCATTAAAGGTTCACTGGCAGTGAATCTGGGACAGATTTCACTCTACCATCAGCAGTCTG
CAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCATTCCTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGT
GGATATCAAACGAactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactg
cctctgttgtgtgctgtgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgggaaggtggataacgccctccaa
tcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgct
gagcaaagcagactacgagaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgccccgtcacia
agagcttcaacaggggagagtggt

[0657] SEQ ID NO:48

[0658] 9.7.2 和 9.7.2-Ser 轻链 [K 链] 蛋白质序列

[0659] mdmrvpagllgl1111wlrargarcDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ**SIS** **GF** **L** **I** WYQQ **R**
PGKAPKLLIYA **T** SSLQSGVP **L** RFSGS **E** SGTDFTLTISLQPEDFATYYC**QQSYSTP**FTFGPGTKVDIKRtvaa
psvfifppsdeqlksgtasvvc1lnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltliskadyekhk
vyacevthqglsspvtksfnrgec

[0660] SEQ ID NO:50

[0661] 9.7.2C-Ser 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0662] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WIRQAPGKGLEWVS**Y**
ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAI **R** **I** **G** **GMDVWGQ**GTTVTVSSAstkgpsvf
plapcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpav1qssglyslssvvtvpssslgtktytcnvdh
kpsntkvdkrveskygppcp**P**cpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvev
hnaktkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkg1pssiectiskakgpprepqvytlppsqeemtkn
qvsltclvkgfypsdiavewesngqpennyk1tppvldsdgsfflysr1tvdksrwqegnfvscsvmhealhnhytq
ks1slspgk

[0663] SEQ ID NO:52

[0664] 9.7.2C-Ser, 9.7.2-CG2 和 9.7.2-CG4 轻链 [K 链] 蛋白质序列

[0665] mdmrvpagllgl1111wlrargarcDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ**SIS** **GF** **L** **I**
WYQQKPGKAPKLLIYA **T** SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC**QQSYSTP**FTFGPGTKVDIKRtv
aapsvfifppsdeqlksgtasvvc1lnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltliskadyek
hkvyacevthqglsspvtksfnrgec

[0666] SEQ ID NO:66

[0667] 9.7.2-CG2 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0668] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WIRQAPGKGLEWVS**Y**
ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAI **R** **I** **G** **GMDVWGQ**GTTVTVSSAstkgpsvf
plapcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpav1qssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvd
hkpsntkvdktkvercccveppcpappvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvev
hnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdw1ngkeykckvsnkg1papiectisktkgpprepqvytlppsreemtkn
qvsltclvkgfypsdiavewesngqpennyk1tppmldsdgsfflysk1tvdksrwqqgnfvscsvmhealhnhytq
ks1slspgk

[0669] SEQ ID NO:70

[0670] 9.7.2-CG4 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0671] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WIRQAPGKGLEWVS**Y**
ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAI **R** **I** **G** **GMDVWGQ**GTTVTVSSAstkgpsvf
lapcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpav1qssglyslssvvtvpssslgtktytcnvdh
kpsntkvdkrveskygppcp**P**cpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvev
hnaktkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkg1pssiectiskakgpprepqvytlppsqeemtkn
qvsltclvkgfypsdiavewesngqpennyk1tppvldsdgsfflysr1tvdksrwqegnfvscsvmhealhnhytq
ks1slspgk

[0672] SEQ ID NO:86

[0673] 9.7.2-Ser 重链 [γ 链] 蛋白质序列

[0674] mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS
YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA**RR**I**G**GMDVWGQGTTVTVSSAstkgpsvf
plapcsrstsestalgcclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtktytcnvdh
kpsntkvdkrveskygppcp**P**cpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpvtecvvdvsqedpevqfnwyvdgvev
hnaktkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiectiskakgqprepvytlppsqeemtkn
qvsltcclvkgfypsdiavewesngqpennykttpvldsdgsfflysrltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhytq
kslsispkg

[0001]

序列表

<110> 辉瑞公司
 M·黑根
 D·A·扬
 H·M·瓜伊
 K·杜努西-约安诺普洛斯
 S·斯里达拉恩
 A·迪尔
 G·科梅尔
 M·M·奥图尔
 J·E·毕比
 R·福格尔
 M·宏科扎兰克
 D·贝德勒
 P·S·雷迪
 D·J·沃沙克

<120> 使用抗 M-CSF 抗体治疗炎性疾病的方法

<130> PC071869

<150> 61/557,175

<151> 2011-11-08

<160> 117

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1383

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

```

atggagttgg ggctgtgtg gattttcctt gttgetatta taaaagggtg ccagtgtcag      60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggett gteaagcctg gagggtccct gagactetec      120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagigac tactacatga gctggatccg ccagggtcca      180
gggaaggggc tggagtggat ttcatacatt agtggtagtg gtagtaccat atactacgca      240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agggacaacg ccaagaacte acgttatctg      300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtgtatc actgtgcgag agccctgggt      360
gggatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctcagcttc caccaagggc      420
ccatccgtct tccccctggc gccctgctct agaagcacct ccgagagcac agcggccctg      480
ggctgccttg tcaaggacta ctccccgaa ccggtgacgg tgcgtggaa ctgagcgct      540
ctgaccagcg gcgtgcacac ctccagct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc      600
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcaac ttcggcaccc agacctacac ctgcaacgta      660
gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagacagttg agcgcaaatg ttgtgtcgag      720
tgcccaccgt gccagcacc acctgtggca ggaccgtcag tcttctcttt cccccaaaa      780
cccaggaca cctcatgat ctccggacc cctgaggtea cgtgcgtggt ggtggacgtg      840
agccacgaag accccgaggt ccagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat      900
gccaaagaaa agccacggga ggagcagttc aacagcagct tccgtgtggt cagcgtcctc      960
accgttgtgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa     1020

```

[0002]

```

ggcctccag ccccatcga gaaaaccatc tccaaaacca aagggcagcc ccgagaacca    1080
caggtgtaca ccctgcccc atcccgggag gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc    1140
tgcttggtca aaggtttcta ccccagcgac atgccgtgg agtgggagag caatgggcag    1200
cgggagaaca actacaagac cacacctccc atgetggact ccgaeggctc ettettecte    1260
tacageaagc tcacctgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtett etcatgctcc    1320
gtgatgcatt aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt    1380
aaa                                                                    1383

```

<210> 2
 <211> 461
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2

Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Ile Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Ser Tyr Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr His Cys Ala Arg Ala Leu Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
 115 120 125

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 130 135 140

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 165 170 175

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 180 185 190

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

[0003]

195	200	205
Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro 210 215 220		
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu 225 230 235 240		
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala 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 His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu 305 310 315 320		
Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys 325 330 335		
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys 340 345 350		
Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser 355 360 365		
Arg 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 Met Leu Asp Ser Asp Gly 405 410 415		
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln 420 425 430		
Gln 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 Pro Gly Lys 450 455 460		
<210> 3		
<211> 702		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		

[0004]

<400> 3
 atgagggtcc ctgtcagct cctggggctc ctgtactct ggctcagagg tgccagatgt 60
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120
 atcacttgcc gggeaagtca gageattagc ggetttttaa attggtatca gcagaaacca 180
 gggaaagecc ctaagctect gatctatgct acatccagtt tgcaaagtgg ggteccattc 240
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 300
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag agttacagtg tccattcac ttctggccct 360
 gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat ctteccgcca 420
 tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgt agcgctgltt gectgtgaa taacttctat 480
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgcc tccaatcggg taactcccag 540
 gagagtgtca cagagcagga cageaaggac ageacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgctt gcgaagtcac ccatcagggc 660
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 702

<210> 4
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Arg
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 Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45

Ile Ser Gly Phe Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Phe
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 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr
100 105 110

Ser Val Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp 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

[0005]

145	150	155	160
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser	165	170	175
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	

<210> 5
 <211> 1389
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 5
 atggaatttg ggctgtgctg ggttttccctt gtgtctatatt tagaagggtg ccagtgtagag 60
 gtgcagctgg tggagtcctgg gggaggcttg gtccagcctg gggggtcctt gagactctcc 120
 tggcagcct ctggatcac cttagtagc tatggatga gctgggtccg ccaggctcca 180
 gggaaggggc tggagtgggt ggccaacata aagcaagatg gaagtgagaa atactatgtg 240
 gactctgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacte actgtatctg 300
 caaatgaaca gcctgagagc cgaggacaac gcgtgtgatt actgtgctcc gggatatagca 360
 gcagctggta ggccctactg gggccaggga accctggta ccgtctctcc agcttcaccc 420
 aaggggccat ccgtctctcc cctggcgccc tgccttagaa gcacctccga gacacacgg 480
 gccctgggtt gcctggtaaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactea 540
 ggctgtctga ccagcggcgt gcacaccttc ccagctgtcc tacagtcctc aggactctac 600
 tccctcagca gctgtgtgac cgtgcctctc agcaacttcg gcaccagac ctacacctgc 660
 aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga cagttgagcg caaatgttgt 720
 gtgcagtgcc caccgtgccc agcaccacct gtggcaggac cgtcagtcct cctcttcccc 780
 ccaaaacca aggacacctt catgatctcc cggaccctg aggtcacgtg cgtggtggtg 840
 gacgtgagcc acgaagaccc cgaggtccag ttcaactggc acgtggacgg cgtggaggtg 900
 cataatgcca agacaaagcc acgggaggag cagttcaaca gcacgttcg tgtggtcagc 960
 gtctcaccg ttgtgacca ggactggtg aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc 1020
 aacaaaggcc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aaacaaagg gcagcccca 1080
 gaaccacagg tgtacacctt gccccatcc cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc 1140
 ctgacctgcc tggtaaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1200
 gggcagccgg agaacaacta caagaccaca cctcccattg tggactccga cggtctctc 1260

[0006]

```

ttctctetaca gcaagctcac cgtggacaag agcagggtgga agcaggggaa cgtcttctca      1320
tgctccgtga tgcattgagc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct      1380
ccgggtaaa                                     1389

```

```

<210> 6
<211> 463
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 6

```

```

Met Glu Phe Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
1                               10                          15

```

```

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20                               25                          30

```

```

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35                               40                          45

```

```

Ser Ser Tyr Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50                               55                          60

```

```

Glu Trp Val Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val
65                               70                          75                          80

```

```

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85                               90                          95

```

```

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100                              105                          110

```

```

Tyr Tyr Cys Ala Pro Gly Ile Ala Ala Ala Gly Arg Ala Tyr Trp Gly
115                              120                          125

```

```

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130                              135                          140

```

```

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145                              150                          155                          160

```

```

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165                              170                          175

```

```

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180                              185                          190

```

```

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195                              200                          205

```

```

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
210                              215                          220

```

```

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

```

[0007]

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

<210> 7

<211> 702

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

atgagggtcc ctgctcagct cctggggctc ctgctactct ggctccgagg tgccagatgt 60

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgctcgcac ctgtttggaga cagagtcacc 120

atcaattgcc ggccaagtca ggacattagc agttatttaa atttggtatca gcagaaaacca 180

[0008]

```

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggteccatta      240
agggttcagtg gcagtggtac tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct      300
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccatcac ttctggccct      360
gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat ettccegcc      420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgt agegttggtg gcctgetgaa taactttat      480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag      540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgaag      600
ctgagcaaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgctt gegaagtcac ccateaggge      660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt                          702

```

<210> 8
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 8

```

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Arg
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 Arg Pro Ser Gln Asp
35          40          45

```

```

Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50          55          60

```

```

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Leu
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 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr
100         105         110

```

```

Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp 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

```

```

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

```

[0009]

	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	

<210> 9
 <211> 1398
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 9
 atggagtttg ggctccgctg gatttttctt gtggetatct taaaagggtg ccagtgtag 60
 gtgcagctgt tggagtcagg gggaggett gtagagcctg gggggctcct gagactctcc 120
 tgtgcagcct ctggattcac cttagcagc tatgccatga gctgggtccg ccaggtccca 180
 gggaaggggc tggaaatgggt ctgagctatt agtggctcgt gtggtaggac ataactcgca 240
 gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
 caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt tctgtcgggt agaagctat 360
 agtgggcgt acggaatctt tgaactctgg ggcagggaa cctagtcac cgtctctca 420
 gcctccacca agggccctc ggtcttcccc ctggcgcct gctctagaag cactccgag 480
 agcacagcgg ccctgggctg ctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgctg 540
 tggaaactcag gcctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtct acagtctca 600
 ggactctact cctcagcag cgtgggtgac gtgcccctca gcaacttgg caccagacc 660
 tacactgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720
 aaatgttgtg tctagtgccc accgtgccc gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 780
 ctcttcccc caaaacccaa ggacacctc atgatctccc ggacctga ggtcacgtgc 840
 gtgggtgttg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 900
 gtggaggctc ataattgcaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 960
 gtggtcagcg tctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020
 aaggcttcca acaaagccct ccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaagg 1080
 cagccccgag aaccacaggt gtacacctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140
 caggtcagcc tgacctgctt gtcaaaagc ttctacccca gcgacatgc cgtggagtgg 1200
 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctccatgct ggactccgac 1260
 ggtctctct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggaac 1320
 gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggt ctgcacaacc actacacgca gaagagctc 1380
 tccctgtctc cgggtaaa 1398

<210> 10

[0010]

```

<211> 466
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

```

[0011]

260	265	270
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu 275 280 285		
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His 290 295 300		
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg 305 310 315 320		
Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys 325 330 335		
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu 340 345 350		
Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr 355 360 365		
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu 370 375 380		
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp 385 390 395 400		
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met 405 410 415		
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp 420 425 430		
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His 435 440 445		
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro 450 455 460		
Gly Lys 465		
<210> 11		
<211> 702		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 11		
atggaagccc cagctcagct tetcttctctc ctgtctactct ggcctcccaga taccactgga 60		
gaaatagtga tgaagcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 120		
ctctctctgca ggccagtcga gagtgttagc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 180		
ggccaggtct ccaggtctct catctatggt gcatccacca gggccagtgg tatcccagac 240		
aggatcagtg gcagtgggtc tggaacagag ttcactctca tcatcagcag cctgcagtct 300		

[0012]

```

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tctaaiaact ggccattcac ttteggccct      360
gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcac etteccgcca      420
tetgatgagc agttgaaatc tggaaactgct agcgttgigt gcttctgaa taacttttat      480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgecc tccaateggg taactcccag      540
gagagtgtca cagagcagga cageaaggac agcacctaca gccfcagcag caccctgacg      600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gogaagtcac ccacagggc      660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt                          702

```

<210> 12
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 12

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Val Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45

Val Ser Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Ile Pro Asp
65 70 75 80

Arg Ile Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Ile Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
100 105 110

Asn Trp Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp 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

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

[0013]

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	
<210> 13		
<400> 13		
000		
<210> 14		
<211> 460		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 14		
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly		
1	5	10 15
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys		
	20 25	30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe		
	35 40	45
Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu		
50	55	60
Glu Trp Phe Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala		
65	70	75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn		
	85 90	95
Ser Leu Ser Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val		
	100 105	110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly 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

[0014]

Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	195	200	205	
Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	210	215	220	
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	225	230	235	240
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	245	250	255	
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	260	265	270	
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	275	280	285	
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	290	295	300	
Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	305	310	315	320
Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	325	330	335	
Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	340	345	350	
Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	355	360	365	
Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	370	375	380	
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	385	390	395	400
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	405	410	415	
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	420	425	430	
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	435	440	445	
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	450	455	460					
<210> 15																			
<400> 15																			

[0015]

<000>

<210> 16
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 16

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Gly Ser Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser
 35 40 45

Gln Asp Ile Ser Gly Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Ser Ala Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val
 65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 100 105 110

Thr Asn Ser Phe Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
 115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 17

[0016]

```

<400> 17
000

<210> 18
<211> 463
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Cys Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Arg Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
225 230 235 240

Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

```

[0017]

	245	250	255	
Phe Leu Phe	Pro Pro Lys Pro Lys	Asp Thr Leu Met Ile	Ser Arg Thr	
	260	265	270	
Pro Glu Val	Thr Cys Val Val Val	Asp Val Ser Gln Glu	Asp Pro Glu	
	275	280	285	
Val Gln Phe	Asn Trp Tyr Val	Asp Gly Val Glu Val	His Asn Ala Lys	
	290	295	300	
Thr Lys Pro	Arg Glu Glu Gln Phe	Asn Ser Thr Tyr Arg	Val Val Ser	
	305	310	315	320
Val Leu Thr	Val Leu His Gln Asp	Trp Leu Asn Gly Lys	Glu Tyr Lys	
	325	330	335	
Cys Lys Val	Ser Asn Lys Gly Leu Pro	Ser Ser Ile Glu	Lys Thr Ile	
	340	345	350	
Ser Lys Ala	Lys Gly Gln Pro Arg	Glu Pro Gln Val Tyr	Thr Leu Pro	
	355	360	365	
Pro Ser Gln	Glu Glu Met Thr Lys	Asn Gln Val Ser	Leu Thr Cys Leu	
	370	375	380	
Val Lys Gly	Phe Tyr Pro Ser Asp	Ile Ala Val Glu	Trp Glu Ser Asn	
	385	390	395	400
Gly Gln Pro	Glu Asn Asn Tyr Lys	Thr Thr Pro Pro	Val Leu Asp Ser	
	405	410	415	
Asp Gly Ser	Phe Phe Leu Tyr Ser	Arg Leu Thr Val	Asp Lys Ser Arg	
	420	425	430	
Trp Gln Glu	Gly Asn Val Phe Ser	Cys Ser Val Met	His Glu Ala Leu	
	435	440	445	
His Asn His	Tyr Thr Gln Lys Ser	Leu Ser Leu Ser	Pro Gly Lys	
	450	455	460	
<210>	19			
<400>	19			
000				
<210>	20			
<211>	236			
<212>	PRT			
<213>	Homo sapiens			
<400>	20			
Met Asp Met	Arg Val Pro Ala Gln	Leu Leu Gly Leu	Leu Leu Leu Trp	
1	5	10	15	

[0018]

Phe Pro Gly Ser Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30
 Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45
 Gln Asp Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Lys
 50 55 60
 Ala Pro Lys Leu Gln Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
 65 70 75 80
 Pro Ser Arg Phe Asn Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser
 85 90 95
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 100 105 110
 Thr Asn Ser Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 115 120 125
 Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 130 135 140
 Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 145 150 155 160
 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 165 170 175
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 180 185 190
 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 195 200 205
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 210 215 220
 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235
 <210> 21
 <400> 21
 000
 <210> 22
 <211> 464
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 22
 Met Glu Trp Thr Trp Ser Phe Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
 1 5 10 15

[0019]

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

[0020]

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
 305 310 315 320
 Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 325 330 335
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 340 345 350
 Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 355 360 365
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 370 375 380
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 385 390 395 400
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
 405 410 415
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 420 425 430
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 435 440 445
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460
 <210> 23
 <400> 23
 000
 <210> 24
 <211> 240
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 24
 Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
 1 5 10 15
 Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala
 20 25 30
 Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser
 35 40 45
 Ile Leu Phe Phe Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln
 50 55 60
 Lys Pro Gly Gln Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg

[0021]

65	70	75	80
Glu Ser Gly Val	Pro Asp Arg Phe Ser	Gly Ser Gly Ser Gly	Thr Asp
	85	90	95
Phe Thr Leu Thr	Ile Ser Ser Leu	Gln Ala Glu Asp Val	Ala Val Tyr
	100	105	110
Tyr Cys Gln Gln	Tyr Tyr Ser Ser	Pro Trp Thr Phe	Gly Gln Gly Thr
	115	120	125
Lys Val Glu Ile	Lys Arg Thr Val	Ala Ala Pro Ser	Val Phe Ile Phe
	130	135	140
Pro Pro Ser Asp	Glu Gln Leu Lys	Ser Gly Thr Ala	Ser Val Val Cys
	145	150	155
Leu Leu Asn Asn	Phe Tyr Pro Arg	Glu Ala Lys Val	Gln Trp Lys Val
	165	170	175
Asp Asn Ala Leu	Gln Ser Gly Asn	Ser Gln Glu Ser	Val Thr Glu Gln
	180	185	190
Asp Ser Lys Asp	Ser Thr Tyr Ser	Leu Ser Ser Thr	Leu Thr Leu Ser
	195	200	205
Lys Ala Asp Tyr	Glu Lys His Lys	Val Tyr Ala Cys	Glu Val Thr His
	210	215	220
Gln Gly Leu Ser	Ser Pro Val Thr	Lys Ser Phe Asn	Arg Gly Glu Cys
	225	230	235
			240

<210> 25
 <211> 1380
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 25
 atggagtttg ggctgagctg ggttttcctt gtgctatta taaaagggtg ccagtgtcag 60
 gtgcagctgg tggagctcgg gggaggcttg gtcaagcctg gagggtcct gagactctcc 120
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtgac tactatatga gctggatccg ccaggtccca 180
 gggaaggagc tggagtgggt ttcatacatt agtagtagtg gtagtaccat atactacgea 240
 gactctgtga agggccgatt caccatctcc agggacaacg ccaagaacte actgtatctg 300
 caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag aggcctaact 360
 ggggactact ggggccaggg aaccttggtc accgtctcct cagettccac caagggccca 420
 tccgtcttcc ccctggcgcc ctgctctaga agcaactccg agageacage ggccctgggc 480
 tgccctggta aggactactt ccccgaaacg gtgacggigt cgtggaacte aggcgctctg 540
 accagcggeg tgcacaacct cccagctgct ctacagtcct caggacteta ctcctcage 600
 agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc ggcaaccaga cctacacctg caacgtagat 660

[0022]

```

cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag acagttgagc gcaaattgtg tgtcgagtgc      720
ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga cgtcagttct tctcttccc cccaaaaccc      780
aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctt gaggtcacgt gcgtgggtgt ggacgtgagc      840
cacgaagacc ccgaggteca gtccaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc      900
aagacaaagc caccgggagga gcagttcaac agcacgttcc gtgtggtcag cgteetcacc      960
gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag gactacaagt gcaaggcttc caacaaagge     1020
ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc aaaaccaaag ggcagccccc agaaccacag     1080
gtgtacaccc tgccccate ccgggaggag atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc     1140
ctgggtcaaag gctttctacc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg     1200
gagaacaact acaagaccac acctcccatg ctggaactcc acggctcett ctctcttac     1260
agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgtctccgtg     1320
atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctctctgtc tccgggtaaa     1380

```

<210> 26
 <211> 460
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 26

```

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1           5           10           15

```

```

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20           25           30

```

```

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35           40           45

```

```

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50           55           60

```

```

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65           70           75           80

```

```

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85           90           95

```

```

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100          105          110

```

```

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly 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

```

[0023]

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

[0024]

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 27

<211> 708

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 27

```
atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc      60
agatgtgaca tccagatgac ccagctctcca tctctcctgt ctgcatctgt cggagacaga      120
gtcaccatca cttgccggcc aagtcagatc attagcagtt tattaaattg gtatcagcag      180
aaaccaggga aagccccctaa gctcctgac catgctgcat ccagtttgca aagtggggtc      240
ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagtagtctg      300
caacctgaag attttgcaac ttactactgt caacagagtt acagtacccc attcactttc      360
ggccttgga ccaagtga tatcaaaga actgtgctg caccatctgt cttcatcttc      420
ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgct gctgaataac      480
ttctatccca gagaggecaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac      540
tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc      600
ctgacgtga gcaaagcaga ctacagaaaa cacaagctt acgcctgca agtcacccat      660
cagggcctga gctcgccctg cacaagagc ttcaacagg gagagtgt      708
```

<210> 28

<211> 236

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Pro Ser
35 40 45

Gln Ile Ile Ser Ser Leu Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110

[0025]

Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 29
<211> 1398
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 29
atggagttag ggctgtgttg ggttttcett gttgctatit tagaagggtg ccagtgtgag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg gggggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cticagtagt tttagtatga cctgggtccg ccaggctcca 180
ggaaaggggc tggagtgggt ttcatacatt agtagtagaa gtagtaccat atcctacgea 240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaactc actgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagaga cgaggacacg gcctgtgtat acgtgtcgag agatcctctt 360
ctagegggag ctaccttctt tgactacttg gccaggga ccttggtcac cgtctcctea 420
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag caccctcgag 480
agcaccagcg ccttggtgtg cctgggtcaag gactacttcc cogaaccggt gacgggtgtg 540
tggaactcag gcgtcttgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtccca 600
ggactctact cctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc 660
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720
aatgttgtg tggagtgcgc accgtgccc aaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 780
ctcttcccc caaaacccaa ggacacctc atgatctccc ggacctga ggtcacgtgc 840
gtggtgttg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactgta cgtggacggc 900
gtggagggtc aatgtgcaa gacaaagcca cgggaggagc agtccaacag cacttccgt 960

[0026]

```

gtggtcagcg tectcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc      1020
aaggctctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg      1080
cagcccccagag aaccacaggt gtacacctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac      1140
caggtcagec tgacctgeet ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatgcg cgtggagtgg      1200
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccattgt ggactccgac      1260
ggctctctct tectctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggiggca gcaggggaac      1320
gtctctctcat gctcctgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc      1380
tccctgtctc cgggtaaa

```

```

<210> 30
<211> 466
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 30

```

```

Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
1          5          10          15

```

```

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20          25          30

```

```

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35          40          45

```

```

Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50          55          60

```

```

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala
65          70          75          80

```

```

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85          90          95

```

```

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val
100         105         110

```

```

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Leu Leu Ala Gly Ala Thr Phe Phe Asp
115         120         125

```

```

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130         135         140

```

```

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145         150         155         160

```

```

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165         170         175

```

```

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180         185         190

```

[0027]

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

[0028]

<210> 31
 <211> 705
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 31
 atggaaaccc cagcgcagct tctcttctct ctgtctactct ggtctccaga taccaccgga 60
 gaatttgigt tgaecgagtc tccaggeacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagttact tagccttgta ccagcagaaa 180
 cctggccagg ctcccaggt cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 240
 gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gaattcactc tcaccatcag cagactggag 300
 ccigaagatt ttgcagtgtt ttactgtcag cagtatggta gctcacctct cactttcggc 360
 ggagggacca aggtggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgectgct gaataacttc 480
 tatccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccttccaatc gggtaacttc 540
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 600
 acgtgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 660
 ggcctgagct cgcccgteac aaagagcttc aacaggggag agtgt 705

<210> 32
 <211> 235
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 32

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Phe Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
 35 40 45

Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
 50 55 60

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 85 90 95

Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
 100 105 110

Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 115 120 125

[0029]

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Gln
130 135 140

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
145 150 155 160

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
165 170 175

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
180 185 190

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
195 200 205

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
210 215 220

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 33
<211> 1383
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 33
atggagtttg ggctgagctg ggttttccctt gttagctattt taaaagggtg ccagtgtcag 60
gtgcagetgg tggagtctgg gggaggcttg gtcaagcctg gagggtcctt gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtgac tactacatga gctggatccg ccaggetcca 180
gggaaggggc tggagtgggt ttcatatcatt agtagtagtg gtagtaccat atactacgca 240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agggacaacg ccaagaattc actgtatctg 300
caaaatgaaca gccagagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag gcgtatagga 360
ggtatggacg tetggggcca agggaccaag gtcaccgtct cctcagcttc caccaagggc 420
ccatccgtct tccccctggc gccctgtctt agaagcacct ccgagagcac agcggccctg 480
ggctgccttg tcaaggacta ctccccgaa ccggtgacgg tgcctggaa ctcaggoget 540
ctgaccagcg gcgtgcacac ctccccagct gtccacagct cctcaggact ctactccctc 600
agcagcgttg tgaccgtgce ctccagcaac ttcggcacc agacctacac ctgcaacgta 660
gatacaagc ccagcaacac caaggtggac aagacagttg agcgcaaatg ttgtgtcgag 720
tgcccacegt gcccagcacc acctgtggca ggaccgtcag tcttctcttt cccccaaaa 780
cccaaggaca cctcatgat ctcccgacc cctgaggtca cgtgcgtggt ggtggacgtg 840
agccacgaag accccgaggt ccagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat 900
gccaagacaa agccacggga ggagcagttc aacagcagct tccgtgtggt cagcgtcttc 960
accgttgtgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca agtgaaggt ctccaacaaa 1020
ggcctcccag ccccatcga gaaaaccatc tccaaaacca aagggcagcc ccgagaacca 1080

[0030]

```

caggtgtaca cectgcccc atcecgagg gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc      1140
tgcctgggtca aagcttteta cccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag      1200
ceggagaaca actacaagac cacacctccc atgctggact cgcagggctc cttcttcctc      1260
tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc      1320
gtgatgcatg aggtcttgea caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt      1380
aaa                                                                    1383

```

```

<210> 34
<211> 461
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 34

```

```

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1           5           10           15

```

```

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20           25           30

```

```

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35           40           45

```

```

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50           55           60

```

```

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65           70           75           80

```

```

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85           90           95

```

```

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100          105          110

```

```

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ile Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
115          120          125

```

```

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
130          135          140

```

```

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
145          150          155          160

```

```

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
165          170          175

```

```

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
180          185          190

```

```

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
195          200          205

```

[0031]

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 210 215 220
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 225 230 235 240
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala 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 His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 305 310 315 320
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 325 330 335
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 340 345 350
 Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 355 360 365
 Arg 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 Met Leu Asp Ser Asp Gly
 405 410 415
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 420 425 430
 Gln 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 Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 35
 <211> 708
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 35

[0032]

```

atggacatga gggtecccg ctagctcctg gggctcctgc tactctgget ccgaggtgcc      60
agatgtgaca tccagatgac ccagttccca tectccctgt ctgcatctgt aggagacaga      120
gtcaccatca cttgcceggc aagtcagagc attagcggct itttaatttg gtatcagcag      180
agaccaggga aageccctaa gctcctgac tatgtacat ccagtttaca aagtggggtc      240
ccatcaaggt tcatggcag tggatctggg acagatttca ctctaccat cagcagtcg      300
caacctgaag attttgcaac ttactactgt caacagagtt acagtacccc attcaetttc      360
ggccctggga ccaaagtga tatcaaacga actgtggctg caccatctgt ctcatcttc      420
ccgccatctg atgagcaggt gaaatctgga actgectctg ttgtgtgect gctgaataac      480
ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgcccctca atcgggtaac      540
tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc      600
ctgacgctga gcaaagcaga ctacagaaaa cacaagctct acgcctgcga agtcacccat      660
cagggcctga gctgcacctg cacaagagc ttcaacaggg gagagtgl      708

```

<210> 36
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 36

```

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1          5          10          15

```

```

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20          25          30

```

```

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
35          40          45

```

```

Gln Ser Ile Ser Gly Phe Leu Ile Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys
50          55          60

```

```

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
65          70          75          80

```

```

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85          90          95

```

```

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100         105         110

```

```

Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
115         120         125

```

```

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130         135         140

```

```

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145         150         155         160

```

[0033]

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 37

<211> 1383

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 37

```

atggagtttg ggctgagctg ggttttcctt gtfgctatta taaaagggtg ccagtgtcag      60
gtgcagctgg tggagtctgg gggagccttg gtaagcctg gagggtccct gagactctcc      120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtac tactatatga gctggatccg ccaggtccca      180
gggaagggaac tggagtgggt ttacataatt agtagtagtg gtagtaccat atactacgca      240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agggacaacg ccaagaactc actgtatctg      300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag aggcctaaact      360
ggggaactact gggggccaggg aaccttggtc accgtctcct cagcttcac caagggccca      420
tccgtcttcc ccttggcgcc ctgctctaga agcacctccg agagcacagc ggccctgggc      480
tgcttggtca aggaactatt cccgaaccg gtgacgggtg cgtggaactc aggcgtctctg      540
accagcgcg tgcacacctt cccagctgct ctacagtcct caggactcta ctccctcagc      600
agcgtggtga cctgcccctc cagcagcttg ggcacgaaga cctacacctg caacgtagat      660
cacaagccca gcaacacca ggtggacaag agagttgagt ccaaatatgg tccccatgc      720
ccatcatgcc cagcacctga gtacctgggg ggaccatcag tcttctgtt cccccaaaa      780
cccaaggaca ctctcatgat ctcccgacc cctgaggtca cgtgcgtggt ggtggacgtg      840
agccaggaag accccgaggt ccagttcaac tggtagctgg atggcgtgga ggtgcataat      900
gccaaagaaa agccgcggga ggagcagttc aacagcacgt accgtgtggt cagcgtctctc      960
accgtcctgc accaggaetg gctgaacggc aaggagtaca agtgaaggt ctccaacaaa      1020
ggcctcccgt ctccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagagcca      1080
caggtgtaca ccttgcctcc atcccaggag gatatgacca agaaccaggt cagcctgacc      1140
tgcttggtca aaggtttcta cccagcgac atcgcctgg agtgggagag caatgggcag      1200
ccggagaaca actaaagac cagcctccc gtgctggact ccgaaggctc ctcttctctc      1260
tacagcagge taacctgga caagagcagg tggcaggagg ggaatgtctt ctcatgctcc      1320

```

[0034]

```

gtgatgcatg aggetctgca caaccactac acacagaaga gectctccct gtctccgggt      1380
aaa                                                                    1383

<210> 38
<211> 461
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1          5          10          15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20          25          30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35          40          45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50          55          60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65          70          75          80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85          90          95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100         105         110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly 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

```

[0035]

Pro Ser 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
 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 Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 39

<400> 39
000

<210> 40

<400> 40
000

<210> 41

<400> 41
000

[0036]

<210> 42

<400> 42

000

<210> 43

<211> 705

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 43

```

atggaaaccc cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggtccccaga taccaccgga      60
gaatttgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc      120
ctctccctgca gggccagtca gagtgttagc agcagttact tagcctggta ccagcagaaa      180
cctggccagg ctcccagget cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca      240
gacaggttca gtggcagtgg gcttgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag      300
cctgaagatt ttgtagtgtt ttactgtcag cagtatggta gtcacctct cactttcggc      360
ggagggacca aggtggagat caaacgaact gtggetgcac catctgtctt catcttcccg      420
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctget gaataacttc      480
tateccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaaactc      540
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcactt acagcctcag cagcaccttg      600
acgtgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag      660
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgtt      705

```

<210> 44

<211> 235

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

```

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1          5          10          15

Asp Thr Thr Gly Glu Phe Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
20          25          30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35          40          45

Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50          55          60

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
65          70          75          80

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85          90          95

Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Val Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
100         105         110

```

[0037]

Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
130 135 140

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
145 150 155 160

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
165 170 175

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
180 185 190

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
195 200 205

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
210 215 220

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 45
<211> 1386
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 45
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctt gttgctatta taaaagggtg ccagtgtcag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtcaagcctg gagggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac ctfcagtgac tactacatga gctggatccg ccaggetcca 180
gggaaggggc tggagtgggt ttcatatatt agtagtagtg gtagtaccat atactacgca 240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agggacaacg ccaagaatte actgtatctg 300
caaatgaaca gcttgagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag gcgtatagga 360
ggatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctcagcttc caccaagggc 420
ccatccgtct tccccctggc gccctgctct agaagcacct ccgagagcac agcggccctg 480
ggctgcctgg tcaaggacta ctccccgaa ccggtgacgg tgcgtggaa ctcaggecgt 540
ctgaccagcg gcgtgcacac ctccccagct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 600
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcacga agacctacac ctgcaacgta 660
gatacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agtccaaata tggtecccca 720
tgcctatcat gccagcacc ttagttcctg gggggaccat cagtcttccct gttcccccca 780
aaacccaagg acactctcat gatctcccgg acctctgagg tcacgtgcgt ggtgggtggac 840
gtgagccagg aagaccccga ggtccagttc aactggtacg tggatggcgt ggagggtgat 900
aatgccaaga caaagcccg gaggagcag ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960

[0038]

```

ctcaccgtcc tgcaccagga ctggetgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaaggcctcc cgtctcccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgagag 1080
ccacaggtgt acaccetgce cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggteagecctg 1140
acctgcctgg tcaaaggett ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc 1260
ctctacagca ggctaacegt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt cttctcatge 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagectctc cctgtctccg 1380
ggtaaa 1386

```

<210> 46
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 46

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ile Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
115 120 125

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
130 135 140

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
165 170 175

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
180 185 190

[0039]

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 195 200 205
 Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 210 215 220
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 225 230 235 240
 Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 245 250 255
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 260 265 270
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 275 280 285
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 290 295 300
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 305 310 315 320
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 325 330 335
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 340 345 350
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 355 360 365
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 370 375 380
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 385 390 395 400
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 405 410 415
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 420 425 430
 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 435 440 445
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460
 <210> 47
 <211> 708

[0040]

<212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 47
 atggacatga ggggtcecege teagctcctg gggtccctgc tactctgget ccgaggtgcc 60
 agatgtgaca tecagatgac ccagttctca tcctccctgt ctgcattctgt aggagacaga 120
 gtcaccateca ctgtccgggc aagtcagagc attagcgget ttttaatttg gttacagcag 180
 agaccaggga aagccctctaa gctcttgatc tatgtacat ccagtttaca aagtgggggc 240
 ccattaaggt tcagtggcag tgaatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagtcctg 300
 caacctgaag attttgcaac ttactactgt caacagagtt acagtacccc attcacttct 360
 ggccctggga ccaaagtga tatcaaacga actgtggctg caccatctgt ctctatcttc 420
 ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480
 ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgcccctca atcgggtaac 540
 tcccaggaga ggttcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600
 ctgacgtga gcaaagcaga ctacagaaaa cacaagtct acgctgcga agtcacccat 660
 cagggcctga gctcgccctg cacaagagc ttcaacaggg gagagtgt 708

<210> 48
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 48

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

[0041]

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 145 150 155 160
 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 165 170 175
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 180 185 190
 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 195 200 205
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 210 215 220
 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235
 <210> 49
 <400> 49
 000
 <210> 50
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 50
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
 1 5 10 15
 Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95
 Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Ile Arg Ile Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
 115 120 125
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 130 135 140

[0042]

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

[0043]

	420		425		430
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His	435	440	445		
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	450	455	460		
<210>	51				
<400>	51				
000					
<210>	52				
<211>	236				
<212>	PRT				
<213>	Homo sapiens				
<400>	52				
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp	1	5	10	15	
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser	20	25	30		
Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser	35	40	45		
Gln Ser Ile Ser Gly Phe Leu Ile Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys	50	55	60		
Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val	65	70	75	80	
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr	85	90	95		
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln	100	105	110		
Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile	115	120	125		
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp	130	135	140		
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn	145	150	155	160	
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu	165	170	175		
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp	180	185	190		

[0044]

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 195 200 205
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 210 215 220
 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235
 <210> 53
 <400> 53
 000
 <210> 54
 <211> 461
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 54
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
 1 5 10 15
 Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95
 Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly 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

[0045]

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
 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 Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 55

[0046]

<400> 55
 000

 <210> 56
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 56
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

 Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Pro Ser
 35 40 45

 Gln Ile Ile Ser Ser Leu Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60

 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
 65 70 75 80

 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 100 105 110

 Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
 115 120 125

 Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 130 135 140

 Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 145 150 155 160

 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 165 170 175

 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 180 185 190

 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 195 200 205

 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 210 215 220

 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

 <210> 57

[0047]

```

<400> 57
000

<210> 58
<211> 467
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58
Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
1      5      10     15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20     25     30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35     40     45

Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50     55     60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala
65     70     75     80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85     90     95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val
100    105    110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Leu Leu Ala Gly Ala Thr Phe Phe Asp
115    120    125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130    135    140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145    150    155    160

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165    170    175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180    185    190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195    200    205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
210    215    220

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
225    230    235    240

```

[0048]

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
 245 250 255
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
 275 280 285
 Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 290 295 300
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
 305 310 315 320
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 325 330 335
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
 340 345 350
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 355 360 365
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 370 375 380
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 385 390 395 400
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 405 410 415
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
 420 425 430
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460
 Pro Gly Lys
 465
 <210> 59
 <400> 59
 000
 <210> 60
 <211> 235
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 60

[0049]

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15
Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
20 25 30
Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45
Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
100 105 110
Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
130 135 140
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
145 150 155 160
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
165 170 175
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
180 185 190
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
195 200 205
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
210 215 220
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235
<210> 61
<400> 61
000
<210> 62
<211> 466
<212> PRT
<213> Homo sapiens

[0050]

<400> 62

Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Leu Leu Ala Gly Ala Thr Phe Phe Asp
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145 150 155 160

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
210 215 220

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
225 230 235 240

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

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

[0051]

275	280	285
Asp Pro Glu Val Gln Phe	Asn Trp Tyr Val Asp	Gly Val Glu Val His
290	295	300
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg	Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg	
305	310	315
Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His	Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys	
	325	330
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys	Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu	
	340	345
Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg	Glu Pro Gln Val Tyr	
	355	360
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys	Asn Gln Val Ser Leu	
	370	375
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser	Asp Ile Ala Val Glu Trp	
	385	390
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met		
	405	410
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
	420	425
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
	435	440
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
	450	455
Gly Lys		
465		
<210>	63	
<400>	63	
000		
<210>	64	
<400>	64	
000		
<210>	65	
<400>	65	
000		
<210>	66	
<211>	461	
<212>	PRT	
<213>	Homo sapiens	

[0052]

<400> 66

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Ile Arg Ile Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
 115 120 125

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 130 135 140

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 165 170 175

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 180 185 190

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 195 200 205

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 210 215 220

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala 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 His Glu Asp Pro Glu Val Gln

[0053]

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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu 305 310 315 320		
Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys 325 330 335		
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys 340 345 350		
Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser 355 360 365		
Arg 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 Met Leu Asp Ser Asp Gly 405 410 415		
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln 420 425 430		
Gln 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 Pro Gly Lys 450 455 460		
<210> 67		
<400> 67 000		
<210> 68		
<400> 68 000		
<210> 69		
<400> 69 000		
<210> 70		
<211> 461		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 70		
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly 1 5 10 15		

[0054]

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

[0055]

290	295	300
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu 305 310 315 320		
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 Pro Gly Lys 450 455 460		
<210> 71		
<400> 71 000		
<210> 72		
<400> 72 000		
<210> 73		
<400> 73 000		
<210> 74		
<211> 460		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 74		
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly 1 5 10 15		
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys 20 25 30		

[0056]

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly 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

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
 210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys
 225 230 235 240

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 245 250 255

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 260 265 270

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
 275 280 285

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 290 295 300

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr

[0057]

305	310	315	320
Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val	325	330	335
Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr	340	345	350
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg	355	360	365
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly	370	375	380
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro	385	390	395
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser	405	410	415
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln	420	425	430
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His	435	440	445
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	450	455	460
<210> 75			
<400> 75			
000			
<210> 76			
<400> 76			
000			
<210> 77			
<400> 77			
000			
<210> 78			
<211> 461			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 78			
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly	1	5	10
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys	20	25	30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe	35	40	45

[0058]

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

[0059]

	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
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 Pro Gly Lys	450		455		460
<210> 79					
<400> 79					
000					
<210> 80					
<400> 80					
000					
<210> 81					
<400> 81					
000					
<210> 82					
<211> 461					
<212> PRT					
<213> Homo sapiens					
<400> 82					
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly	1	5	10		15
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys	20		25		30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe	35		40		45
Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu	50		55		60

[0060]

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

[0061]

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 Pro Gly Lys 450 455 460		
<210> 83		
<400> 83 000		
<210> 84		
<400> 84 000		
<210> 85		
<400> 85 000		
<210> 86		
<211> 462		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 86		
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly 1 5 10 15		
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys 20 25 30		
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe 35 40 45		
Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu 50 55 60		
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala 65 70 75 80		

[0062]

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

[0063]

355	360	365
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val		
370	375	380
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly		
385	390	395
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp		
405	410	415
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp		
420	425	430
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His		
435	440	445
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
450	455	460
<210> 87		
<400> 87		
000		
<210> 88		
<400> 88		
000		
<210> 89		
<400> 89		
000		
<210> 90		
<211> 467		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 90		
Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Gly Gly		
1	5	10
Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln		
20	25	30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe		
35	40	45
Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu		
50	55	60
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala		
65	70	75
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn		
85	90	95

[0064]

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

[0065]

370	375	380
Leu Thr Cys Leu Val	Lys Gly Phe Tyr Pro	Ser Asp Ile Ala Val Glu
385	390	395 400
Trp Glu Ser Asn Gly	Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr	Pro Pro
	405	410 415
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe	Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val	
	420	425 430
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly	Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met	
	435	440 445
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys	Ser Leu Ser Leu Ser	
	450	455 460
Pro Gly Lys		
465		
<210> 91		
<400> 91		
000		
<210> 92		
<400> 92		
000		
<210> 93		
<400> 93		
000		
<210> 94		
<211> 467		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 94		
Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe	Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly	
1	5 10	15
Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu	Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln	
	20 25	30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala	Ser Gly Phe Thr Phe	
	35 40	45
Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala	Pro Gly Lys Gly Leu	
	50 55	60
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser	Ser Thr Ile Ser Tyr Ala	
	65 70	75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile	Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn	
	85 90	95

[0066]

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

[0067]

370	375	380
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu 385 390 395 400		
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro 405 410 415		
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val 420 425 430		
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met 435 440 445		
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser 450 455 460		
Pro Gly Lys 465		
<210> 95		
<400> 95 000		
<210> 96		
<400> 96 000		
<210> 97		
<211> 1413		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 97		
atggagtgg ggcagctg ggttttctt gtgctatta taaaagggt ccagtgtgag 60		
gtgcagctgg tggagtctg gggagcttg gtacagccg gggggtccet gagactctec 120		
tgtgcagcct ctggattcac ctfcagtagt tttagtatga cctgggtccg ccaggctcca 180		
ggaaaggggc tggagtgggt ttcatacatt agtagtagaa gtagtaccat atcctacgca 240		
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaactc actgtatctg 300		
caaatgaaca gcctgagaga cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agatctcttt 360		
ctagcgggag ctaccttctt tgactactgg ggccaggaa ccttggtcac cgtctctcca 420		
gcctccaeca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cactcttgga 480		
ggcacagcgg cctgggctg cctggtcaag gactacttec ccgaaccggt gacggtgtcg 540		
tggaactcag gcgcctgac cagcggtgtg cacaccttec cggtgtctct acagtctcca 600		
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcccctcca gcagcttggg caccagacc 660		
tacatctgca acgtgaatca caagccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 720		
aaatcttgtg acaaaaacta cacatgccca cctgccccag cactgaaact cctgggggga 780		
cgtcagctct tctctctccc cccaaaaccc aaggacccc tcatgatctc ccgaccct 840		

[0068]

gaggtcacat gcggtggtgtt ggacgtgagc cacgaagacc ctgagggtcaa gttcaactgg 900
 tacgtggacg gcggtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 960
 ageacgtacc gtgtggteag cgtectcacc gtcctgcacc aggactgget gaatggcaag 1020
 gagtacaagt geaaggctct caacaaagcc ctcccagccc ccategagaa aaccatctcc 1080
 aaagccaaag ggcagccccc agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 1140
 ctgaccaaga accaggteag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1260
 ctggactccg acggtctctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggttg 1320
 cagcagggga acgtctctct atgtctccgt atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1380
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tag 1413

<210> 98
 <211> 470
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 98

Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Leu Leu Ala Gly Ala Thr Phe Phe Asp
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

[0069]

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

[0070]

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 99

<400> 99
000

<210> 100

<400> 100
000

<210> 101
<211> 1395

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 101

```

atggagtttg ggctgagctg ggttttctt gttgetatta taaaagggtg ccagtgtcag      60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtcaagcctg gagggtcct gagactctcc      120
tgtgcagcct ctggaattca cttcagtga tactataatga gtggatccg ccaggetcca      180
gggaaggagc tggagtgggt ttcatatatt agtagtagtg gtagtaccat atactacgca      240
gactctgtga aggccgatt caccatctcc agggacaacg ccaagaactc actgtatctg      300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag aggcctaact      360
ggggactact ggggccaggg aacctgtgtc accgtctct cagcttccac caagggccca      420
tcggtcttcc ccctggcacc ctctctcaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc      480
tgectgtgca aggactactt cccgaaccg gtagcgggtg cgtggaactc aggcgcctg      540
accagcggcg tgcaacactt cccggtgtc ctacagtctt caggactcta ctccctcagc      600
agcgtgtgta ccgtgccctc cagcagcttg ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat      660
cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagttgagc ccaaattctt tgacaaaact      720
cacacatgcc caccgtgcc agcacctgaa ctcttggggg gaccgtcagt ctctctcttc      780
ccccaaaae ccaaggacac cctcatgat tcccgaccc ctgaggctac atgcgtggtg      840
gtggacgtga gccacgaaga cctgaggtc aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag      900
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc      960
agcgtctctc ccgtctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc     1020
tccaacaaag cctctccagc cccatcgag aaaacctct ccaaagccaa agggcagccc     1080
cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggatg agctgacca gaaccaggtc     1140
agcctgacct gcctgggtcaa aggttttat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc     1200
aatgggcagc cgagaacaa ctacaagacc acgcctccg tgctggactc cgacgctcc     1260
ttctctctct acageaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc     1320
tcattgctcg tgaigcatga ggtctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg     1380
tctccgggta aatag                                     1395

```

[0071]

```

<210> 102
<211> 464
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 102

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1          5          10          15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20          25          30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35          40          45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50          55          60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65          70          75          80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85          90          95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100         105         110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly 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 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210         215         220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225         230         235         240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
245         250         255

```

[0072]

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 260 265 270
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 275 280 285
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 290 295 300
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 305 310 315 320
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 325 330 335
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 340 345 350
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 355 360 365
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 370 375 380
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 385 390 395 400
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 405 410 415
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 420 425 430
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 435 440 445
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460
 <210> 103
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 103
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

[0073]

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105
 <210> 104
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 104
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Tyr Ser Gly Ser Tyr Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 115 120
 <210> 105
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 105
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0074]

35	40	45
Ala Asn Ile Lys Gln Asp 50	Gly Ser Glu Lys Tyr 55	Tyr Val Asp Ser Val 60
Lys Gly Arg Phe Thr 65	Ile Ser Arg Asp Asn 70	Ala Lys Asn Ser Leu Tyr 75 80
Leu Gln Met Ser 85	Leu Arg Ala Glu Asp 90	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala 95
Arg Gly Ile Ala Ala Ala 100	Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp 105	Gly Gln Gly Thr 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala 115		
<210> 106		
<211> 117		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 106		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly 1 5	Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly 10 15	
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala 20	Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr 25 30	
Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro 35 40	Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val 45	
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser 50	Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val 55 60	
Lys Gly Arg Phe Thr 65	Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr 70 75 80	
Leu Gln Met Asn Ser 85	Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 90 95	
Ala Arg Ala Leu Gly Gly Met Asp Val 100 105	Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val 110	
Thr Val Ser Ser Ala 115		
<210> 107		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 107		
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala 1 5	Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly 10 15	

[0075]

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 108
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 108

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser Ala
115

<210> 109
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 109

[0076]

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
100 105

<210> 110
<211> 117
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 110

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

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

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala
115

<210> 111
<211> 118
<212> PRT

[0077]

<213> Homo sapiens
 <400> 111
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala
 115
 <210> 112
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 112
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
 20 25 30
 Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95
 Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

[0078]

Lys Arg

<210> 113

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

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

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

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ile Val Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala
115

<210> 114

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 114

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

[0079]

	85	90	95
Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg	100	105	
<210> 115			
<211> 114			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 115			
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly	1	5	10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr	20	25	30
Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	35	40	45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr	65	70	75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	85	90	95
Ala Ile Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser	100	105	110
Ser Ala			
<210> 116			
<211> 115			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 116			
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly	1	5	10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr	20	25	30
Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	35	40	45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr	65	70	75 80

[0080]

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser Ala
115

<210> 117
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 117

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

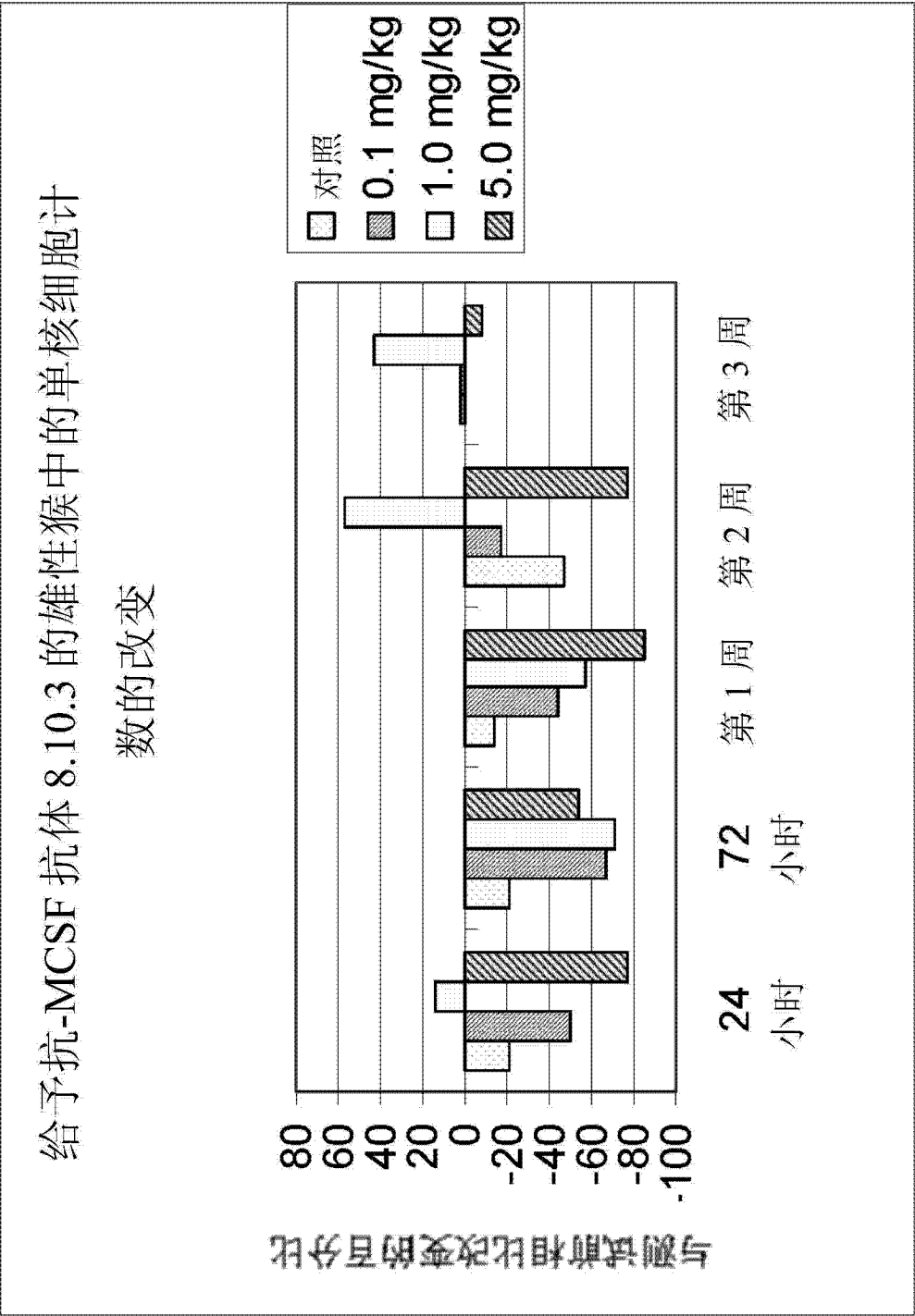


图 1A

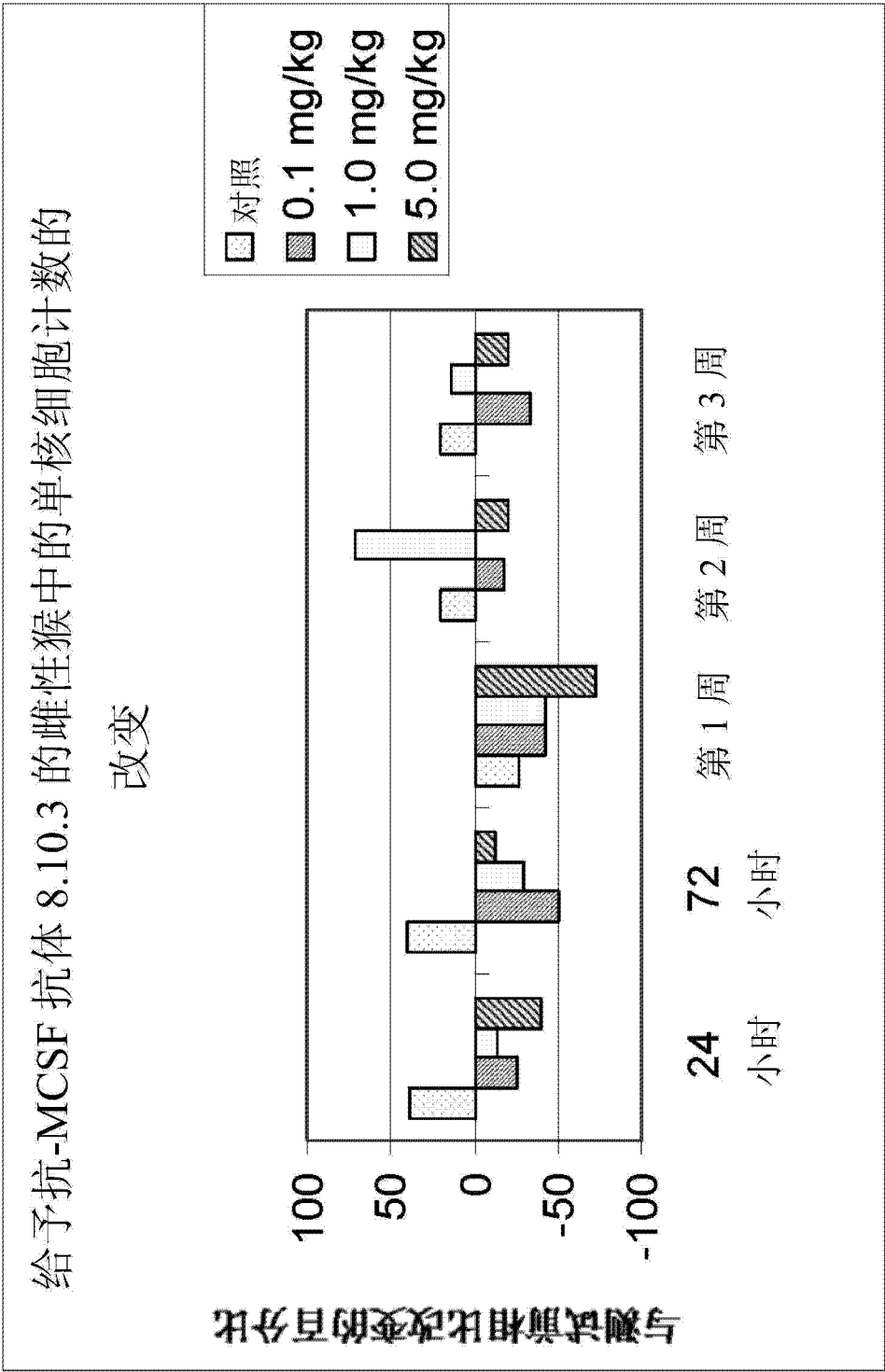


图 1B

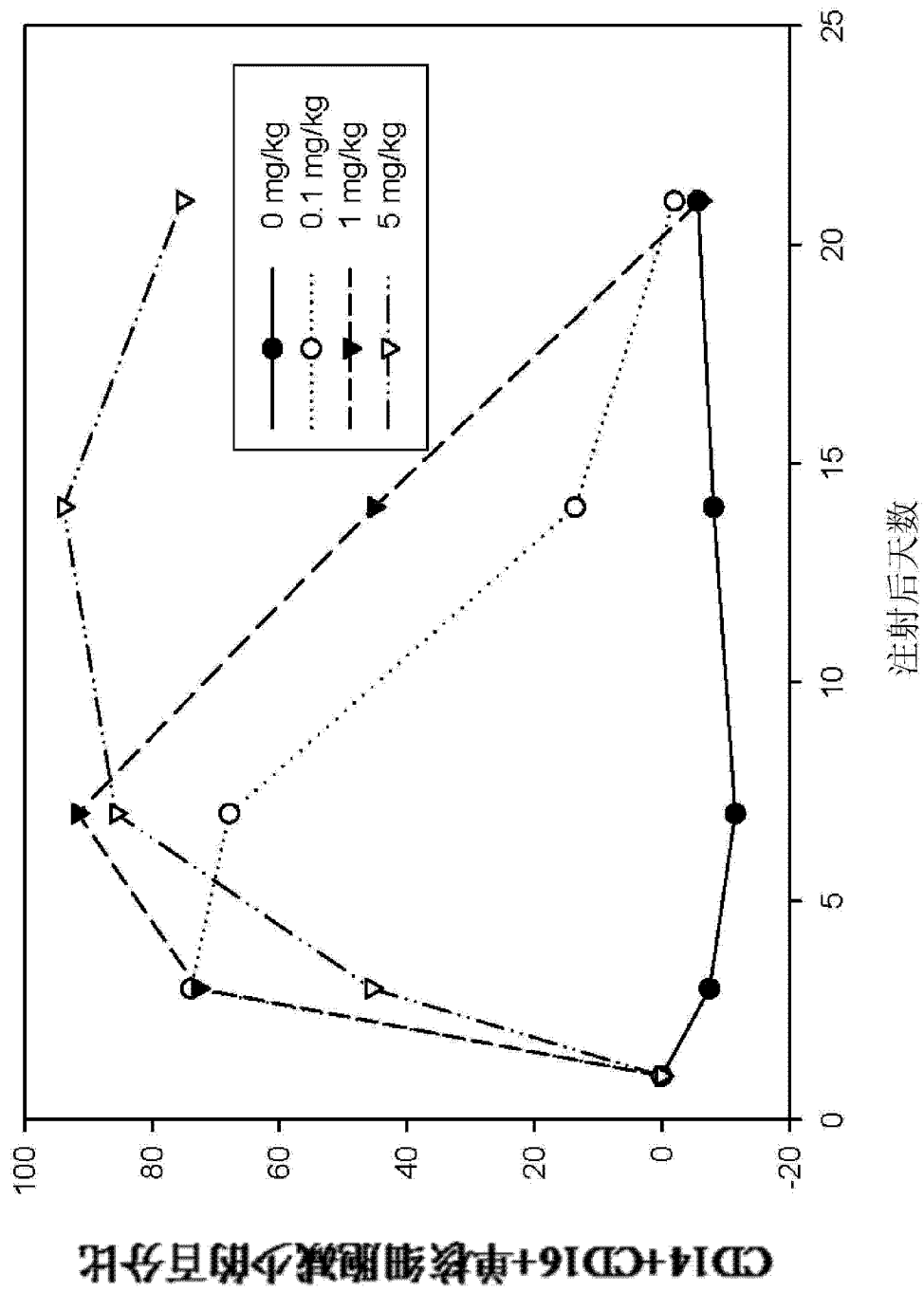


图 2A

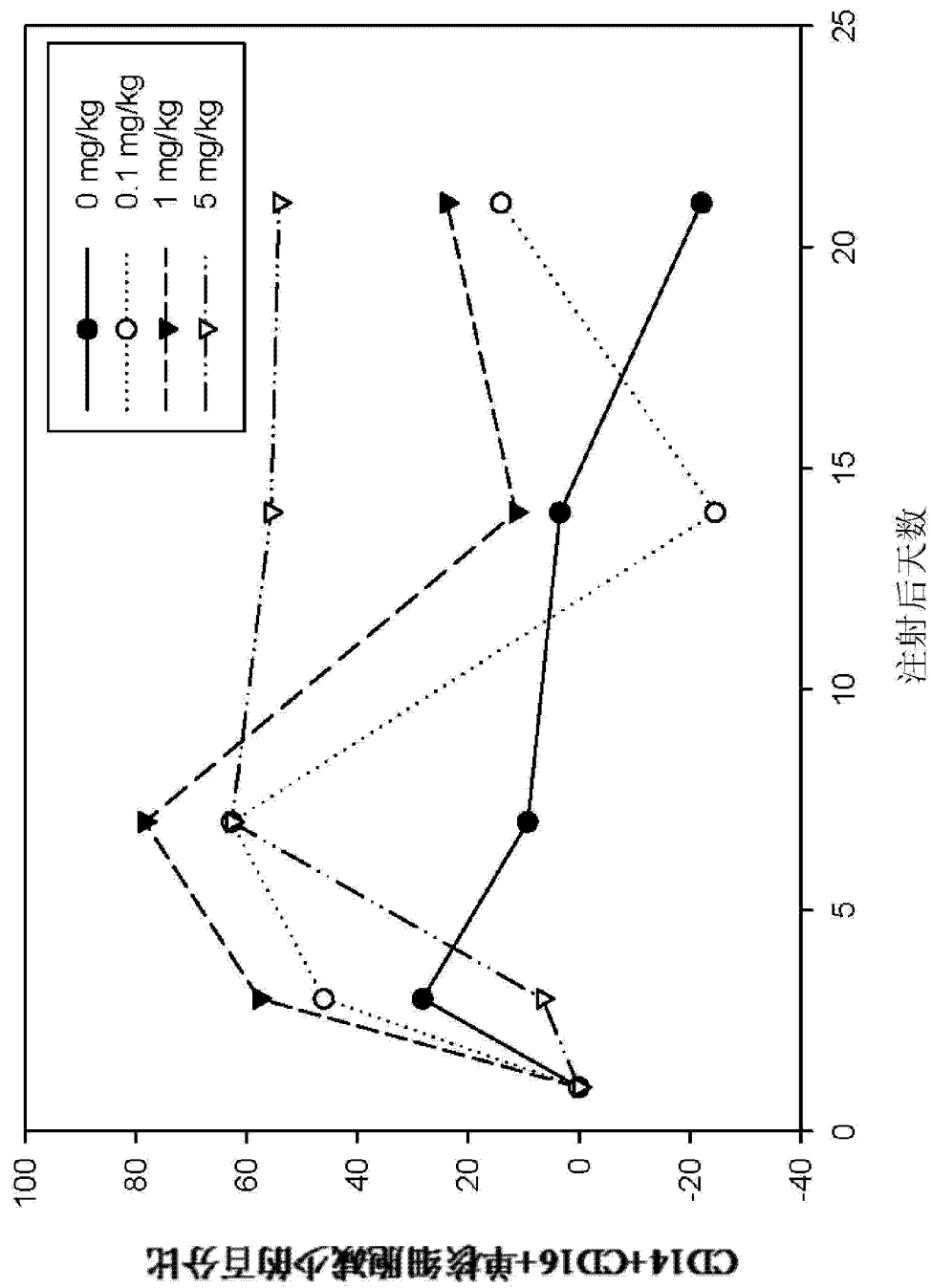


图 2B

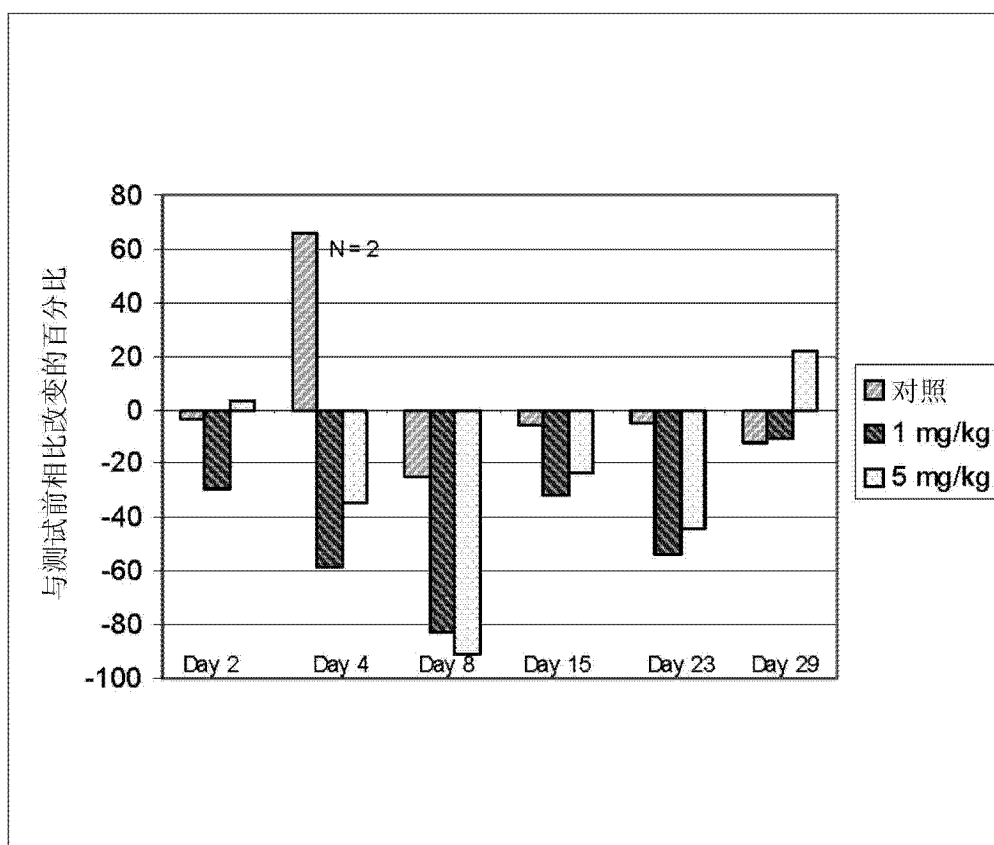


图 3A

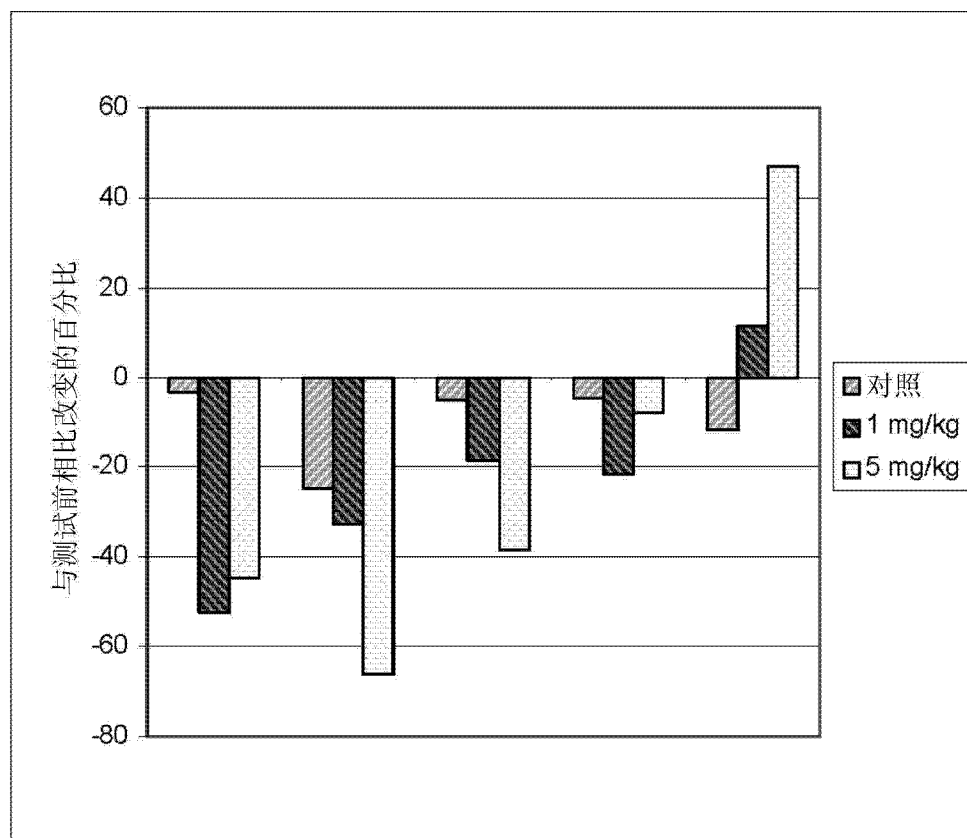


图 3B

种系 V=012, J=JK3
252
-----GF-----T-----F-----V-----
种 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQISSYLN WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSIQPEDFATYYC QQSYSTPFT
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
252 ----- (残基 21-127 of SEQ ID NO: 4)
种 FGPGTKVDIK (SEQ ID NO: 103)
J

图 4A

种系 V=012, J=JK3
88
-----P-D-----L-----
种 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQISSYLN WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSIQPEDFATYYC QQSYSTPFT
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
88 ----- (残基 21-127 of SEQ ID NO: 8)
种 FGPGTKVDIK (SEQ ID NO: 103)
J

图 4B

种系 V=L2, J=JK3
100
-----S-D-I-----
种 EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC RASQSVSSNLA WYQQKPGQAPRLIY GASTRAT GLPARFSGSGSGTEFTLTITSSIQSEDFATYYC QQYNMPEFT
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
100 ----- (残基 21-127 of SEQ ID NO: 12)
种 FGPGTKVDIK (SEQ ID NO: 107)
J

图 4C

种 系 V=L5, J=JK3
3.8.3
(残 基 23-130 of SEQ ID NO: 16)
种
(SEQ ID NO: 109) FR1 CDR1 FR2 CDR2 CDR3 J
DIQMTQSPSSVSASVGRVTITC RASQGISWLA WYQKPGAPKLLIY AASSIQS GVPSPFSGSGGTFITLTISSLQPEDFATYYC QQANSPFT FGPGTKVDIKR

图 4D

种 系 V=L5, J=JK4
2.7.3
(残 基 23-130 of SEQ ID NO: 20)
种
(SEQ ID NO: 117) FR1 CDR1 FR2 CDR2 CDR3 J
DIQMTQSPSSVSASVGRVTITC RASQGISWLA WYQKPGAPKLLIY AASSIQS GVPSPFSGSGGTFITLTISSLQPEDFATYYC QQANSPFT FGPGTKVEIKR

图 4E

种 系 V=B3, J=JK1
1.120.1
种
1.120.1
种
DIVMTQSPDLSAVSLG残 基 SSQSVLYSSNNKNYLA WYQKPGQPKLLIY WASTRES GVPDRFSGSGGTFITLTISSLQAEADVAVYIC QQYISTPWT
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
----- (残 基 21-134 of SEQ ID NO: 24)
FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 112)
J

图 4F

种系 V=3-11, D=D7-27, J=JH6
252

种
OVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSDIYMS MIROAPGKGLEWVS YISSGSLIYADSVKG RFTISRDNAKNSLYIQMNSLRAEDTAVYICAR ALGGMDV
FR1 FR2 CDR1 CDR2 FR3 CDR3

252 ----- (残基 20-136 of SEQ ID NO: 2)

种 WGQGTIVTVSSA (SEQ ID NO: 106)
FR4

图 4G

种系 V=3-7, D=6-13, J=JH4
88

种
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSYMS WVRQAPGKLEWA NIKQDSERYVDSVKG RFTISRDNAKNSLYIQMNSLRAEDTAVYICAR GIAAGYFDY
FR1 FR2 CDR1 CDR2 FR3 CDR3

88 ----- (残基 20-138 of SEQ ID NO: 6)

种 WGQGTIVTVSSA (SEQ ID NO: 105)
FR4

图 4H

种系 V=3-23, D=D1-26, J=JH4
100

种
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSYMS WVRQAPGKLEWVS ALSGGSLIYADSVKG RFTISRDNSKNTILYIQMNSLRAEDTAVYICAK #YSGSYYPDY
FR1 FR2 CDR1 CDR2 FR3 CDR3

100 ----- (残基 20-141 of SEQ ID NO: 10)

种 WGQGTIVTVSSA (SEQ ID NO: 104)
FR4

图 4I

种系 V=3-11, D=D7-27, J=JH4
3.8.3
-----P-----S-----G-----
种 QVQLVSGGGLVKKPGSLRLSCAAS GFTFSDYMS WIRQAPGKGLEHWS YISSEGTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYQMNSLRAEFTAVYICAR #LIGDY CDR3
FR1 CDR1 FR2 CDR2
3.8.3 ----- (残基 20-135 of SEQ ID NO: 14)
种 MQQGLIVTVSSA (SEQ ID NO: 108)
FR4

图 4J

种系 V=3-33, D=D1-26, J=JH4
2.7.3
-----F-----RV-----
种 QVQLVSGGGLVKKPGSLRLSCAAS GFTFSSYGMH WIRQAPGKGLEHWA VIWYDGSNKYYADSVKG RFTISRDNSKNTLYQMNSLRAEFTAVYICAR GYSHYFDY CDR3
FR1 CDR1 FR2 CDR2
2.7.3 ----- (残基 20-137 of SEQ ID NO: 18)
种 MQQGLIVTVSSA (SEQ ID NO: 110)
FR4

图 4K

种系 V=1-18, D=D4-23, J=JH4
1.120.1
-----T-----D-----R RA-A-F-----
种 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYFTISYGIS WIRQAPGQGLEMMG WISAYNGNINIAOKIQG RVTMTDSTSTAVMWELFSLRSDDTAVYICA# #DYGGNYFDY CDR3
FR1 CDR1 FR2 CDR2
1.120.1 ----- (残基 20-139 of SEQ ID NO: 22)
种 MQQGLIVTVSSA (SEQ ID NO: 111)
FR4

图 4L

种系 V=K27, J=JK4
8.10.3
-F-----V-----

种
EIVLTQSPETLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQKPGQAPRLIY GASSRAT GIEDRPSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYVC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3

8.10.3
----- (残基 21-129 of SEQ ID NO: 44)

种
QQYGSPLT FGGSKVEIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

图 4M

种系 V=VH3-48, D=D1-26, J=JH4b
8.10.3
-----DPLLA-ATF-----

种
EVQLVDSGGGLVPGGSLRLSCAAS GTFFSSYMN WVRQAPGKLEWVS YISSESSTIYYALSVKG RTTISRDNAKNSLYQMNSLRDRDTAVYVCAR ###IVG##FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

8.10.3
----- (残基 20-141 of SEQ ID NO: 30)

种
WGQGITLVTS9A (SEQ ID NO: 113)
J

图 4N

种系 V=012, J=JK3
9.14.4
-----P-I--L--H-----

种
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTC RASQSISSYN WYQKPGKAPKLLIY AKSSLQ GVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPQEDFAVYVC QQSYSTPFT PGPGTKVDIKR
FR1 CDR1 FR2 CDR2 CDR3 J

9.14.4
----- (残基 23-130 of SEQ ID NO: 28)

图 40

种系 V=VH3-11, D=D7-27, J=JH4b
9.14.4

种
QVQLVESGGLVKKPGGSLRLSCAAS GFTFSDYMS WIRQAPGKGLWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEEDTAVYICAR #LTGDIY CDR3

9.14.4 (残基 20-135 of SEQ ID NO: 38)

种 WGGGTIVYSSA (SEQ ID NO: 116)
J

图 4P

种系 V=012, J=JK3
9.7.2

种
QVQLVESGGLVKKPGGSLRLSCAAS GFTFSDYMS WIRQAPGKGLWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEEDTAVYICAR #LTGDIY CDR3

9.7.2 (残基 23-130 of SEQ ID NO: 48)

种
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC RASQISSYLWYQKPKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGGTDFTLTSSLOPEDFATYYC QQSYSTPFT FGPCTKVDIKR CDR3

9.7.2 (SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

种系 V=VH3-11, D=D6-13, J=JH4b
9.7.2

种
QVQLVESGGLVKKPGGSLRLSCAAS GFTFSDYMS WIRQAPGKGLWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEEDTAVYICAR #ITGMDV CDR3

9.7.2 (残基 20-136 of SEQ ID NO: 46)

种 WGGGTIVYSSA (SEQ ID NO: 115)
J

图 4Q

种系 V=012, J=JK3
9.14.4I

种
QVQLVESGGLVKKPGGSLRLSCAAS GFTFSDYMS WIRQAPGKGLWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEEDTAVYICAR #ITGMDV CDR3

9.14.4I (残基 23-130 of SEQ ID NO: 28)

种
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC RASQISSYLWYQKPKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGGTDFTLTSSLOPEDFATYYC QQSYSTPFT FGPCTKVDIKR CDR3

9.14.4I (SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

种系 V=012, J=JK3
9.14.4I

种
QVQLVESGGLVKKPGGSLRLSCAAS GFTFSDYMS WIRQAPGKGLWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEEDTAVYICAR #ITGMDV CDR3

9.14.4I (残基 23-130 of SEQ ID NO: 28)

种
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC RASQISSYLWYQKPKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGGTDFTLTSSLOPEDFATYYC QQSYSTPFT FGPCTKVDIKR CDR3

9.14.4I (SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

图 4R

图 4S

种 系 V=VH3-11, D=D7-27, J=JH4b
9.14.4I -----g-----

种 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS QTFSDYYMS WIRQAPGKLEWVS YISSSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYIQMNSLRAEITAVYICAR #LTGDIY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
9.14.4I ----- (残 基 20-135 of SEQ ID NO: 26) -----
种 WQGGLIVTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

图 4T

种 系 V=A27, J=JK4
8.10.3F -F-----

种 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC PASQSVSSYLIA WFOQPGQAPRLIY GASRRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLIEPEDFAVYIC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
8.10.3F ----- (残 基 21-129 of SEQ ID NO: 32) -----
种 QQYGSPLT FGGKVEIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

图 4U

种 系 V=VH3-48, D=D1-26, J=JH4b
8.10.3F -----F--T-----R--S-----DPILA-ATF-----

种 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS QTFSSYMN WIRQAPGKLEWVS YISSSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYIQMNSLRDEDTAVYICAR ##IVG##FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
8.10.3F ----- (残 基 20-141 of SEQ ID NO: 30) -----
种 WQGGLIVTVSSA (SEQ ID NO: 113)
J

图 4V

种 系 V=012, J=JK3
9.7.2IF -----GF-I-----R-----T-----
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J
(残 基 23-130 of SEQ ID NO: 36)
种 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTC RASQISSTLN WYQKPGKAPKLLIY AASSIQS QVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPFT FGPCTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

图 4W

种 系 V=VH3-11, D=D6-13, J=JH6b
9.7.2IF -----GF-I-----R-----T----- R R G
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
种 QVQLVSGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSDYMS MIRQAPGKLEWS YISSGGTIYVADSVKG EFTISRDNAKNSLYLQNSLRAEDTAVYYCA# H1#GMDV
(残 基 20-136 of SEQ ID NO: 34) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
种 WQQGTTVTSSA (SEQ ID NO: 115)
J

图 4X

种 系 V=012, J=JK3
9.7.2C-Ser -----GF-I-----T-----
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J
(残 基 23-130 of SEQ ID NO: 52)
种 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTC RASQISSTLN WYQKPGKAPKLLIY AASSIQS QVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPFT FGPCTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

图 4Y

种 系 V=VH3-11, D=D6-13, J=JH6b
9.7.2C-Ser ----- R-G-----

种 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAS QTFSDYMS WIRQAPGKGLEWVS YISSGGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMSLRAEDTAVYCA #IGHMDV
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.7.2C-Ser ----- (残 基 20-136 of SEQ ID NO: 50)

种 MGQGTIVTSSA (SEQ ID NO: 115)
J

图 4Z

种 系 V=Q12, J=JK3
9.14.4C-Ser ----- -P-I-L-----
(残 基 23-130 of SEQ ID NO: 56)

种 DIQWTQSPSSLSASVGDRTITC PASQISISYIN WYQZPGKAPKLLIY AASSLOS GVPSPFGSGSGTFTLTITSSLPEDFATYYC QQSYSTPFT FGPGTKVDIR
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J
(SEQ ID NO: 103)

图 4AA

种 系 V=VH3-11, D=D7-27, J=JH4b
9.14.4C-Ser ----- G-----

种 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAS QTFSDYMS WIRQAPGKGLEWVS YISSGGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMSLRAEDTAVYCAR #LTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.14.4C-Ser ----- (残 基 20-135 of SEQ ID NO: 54)

种 MGQGTIVTSSA (SEQ ID NO: 116)
J

图 4BB

种 系 V=A27, J=JK4
8.10.3C-Ser -----

种 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
WYQQKPGQAPRLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC

种 QQYGGSPILT CDR3 J (残 基 21-129 of SEQ ID NO: 60)

8.10.3 ----- (SEQ ID NO: 114)

图 4CC

种 系 V=VH3-48, D=D1-26, J=JH4b
8.10.3C-Ser -----

种 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
GTFPSSYSMN WYQAPGKLEWVS YISSSTIYADSVKG RFLISRDNAKNSLYLQMNSIRDEDTAVYYCAR ###IVGHH##FDY
DPLLA-ATF

8.10.3C-Ser ----- (残 基 20-141 of SEQ ID NO: 58)

种 WQQGTLIVYSSA J (SEQ ID NO: 113)

图 4DD

种 系 V=A27, J=JK4
8.10.3-CG2 -----

种 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
WYQQKPGQAPRLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC

8.10.3-CG2 ----- (残 基 21-129 of SEQ ID NO: 60)

种 QQYGGSPILT CDR3 J (SEQ ID NO: 114)

图 4EE

种 系 V=VH3-48, D=D1-26, J=JH4b
8.10.3-CG2

种 EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYNN WYQAPGKGLEWVS YISSSSSTIYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLEDEDTAVIYCAR ###IVG###FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 CDR3
DPLLAATF

图 4FF

种 系 V=012, J=JK3
8.10.3-CG2 (残 基 20-141 of SEQ ID NO: 62)

种 WQGTITVTSSA (SEQ ID NO: 113)
J

种 系 V=012, J=JK3
9.7.2-CG2

(残 基 23-130 of SEQ ID NO: 52)

种 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQISIVYN WYQKPKAPKLLIY AASSLQS GVESRFSGSGSDFTLTISLQPEDFATVYC QQSYSTPFT FPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 CDR3 J

图 4GG

种 系 V=VH3-11, D=D6-13, J=JH6b
9.7.2-CG2

(残 基 20-136 of SEQ ID NO: 66)

种 QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTFSDYMS WIRQAPKGLEWVS YISSSGSTIYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVIYCA #L#GMDV
(SEQ ID NO: 115) FR1 CDR1 FR2 CDR2 CDR3

9.7.2-CG2

种 WQGTITVTSSA
J

图 4HH

种 系 V=012, J=JK3
9.7.2-CG4

(残 基 23-130 of SEQ ID NO: 52)

种 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQISIVYN WYQKPKAPKLLIY AASSLQS GVESRFSGSGSDFTLTISLQPEDFATVYC QQSYSTPFT FPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 CDR3 J

图 4II

种 系 V=VH3-11, D=D6-13, J=JH6b
9.7.2-CG4

种 QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTFSDYMS WIRQAPGKGLWVS YISSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA #I#GMDV

9.7.2-CG4 (残 基 20-135 of SEQ ID NO: 70)

种 WGQGLTWVSSA (SEQ ID NO: 115)

图 4JJ

种 系 V=012, J=JK3
9.14.4-CG2 (残 基 23-130 of SEQ ID NO: 56)

种 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTC RASQSISSYLN WYQKPKAPKILLY AASSLQS GVPGRFSGSGSDTFTLTISLQPEDFATYVC QQSYSTPFT FPGTKVDIKR

9.14.4-CG2 (SEQ ID NO: 103)

种 V=VH3-11, D=D7-27, J=JH4b
9.14.4-CG2

图 4KK

种 QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTFSDYMS WIRQAPGKGLWVS YISSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA #LIGDY

9.14.4-CG2 (残 基 20-135 of SEQ ID NO: 74)

种 WGQGLTWVSSA (SEQ ID NO: 116)

图 4LL

种 系 V=012, J=JK3
9.14.4-CG4 (残 基 23-130 of SEQ ID NO: 56)

种 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTC RASQSISSYLN WYQKPKAPKILLY AASSLQS GVPGRFSGSGSDTFTLTISLQPEDFATYVC QQSYSTPFT FPGTKVDIKR

9.14.4-CG4 (SEQ ID NO: 103)

图 4MM

种 系 V=VH3-11, D=D7-27, J=JH4b
9.14.4-OG4 ----- G-----

种 QVQLVHSGGGLVKGGSLRLSCAAS GFTFSDYMS WIRQAPQKGLEWVS YISSGGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMSLRAEDTAVYYCAR #LTGDIY CDR3
FR1 CDR1 FR2 CDR2
9.14.4-OG4 ----- (残 基 20-135 of SEQ ID NO: 78)

种 MGQGLVTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

图 4NN

种 系 V=012, J=JK3
9.14.4-Ser -----P-I-L-----H-----
(残 基 23-130 of SEQ ID NO: 28)

种 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTC RASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIY AASSTQS GVPSPFGSGSGTDFTLTLSISLQPEDFATYYC QQSYSTPFT FGPGTKVDIKR CDR3
FR1 CDR1 FR2 CDR2 CDR3 J
种 系 V=VH3-11, D=D7-27, J=JH4b
9.14.4-Ser ----- G-----

种 QVQLVHSGGGLVKGGSLRLSCAAS GFTFSDYMS WIRQAPQKGLEWVS YISSGGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMSLRAEDTAVYYCAR #LTGDIY CDR3
FR1 CDR1 FR2 CDR2 CDR3
9.14.4-Ser ----- (残 基 20-135 of SEQ ID NO: 82)

种 MGQGLVTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

图 400

图 4PP

种 系 V=012, J=JK3
9.7.2-Ser -----GF-I-R-----T-L-E-----
(残 基 23-130 of SEQ ID NO: 48)
FR1 CDR1 FR2 CDR2 CDR3 J
种 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTC RASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIY AASSTQS GVPSPFGSGSGTDFTLTLSISLQPEDFATYYC QQSYSTPFT FGPGTKVDIKR CDR3
FR1 CDR1 FR2 CDR2 CDR3 J

图 4QQ

种 系 V=VH3-11, D=D6-13, J=JH6b
9.7.2-Ser ----- R-G-
种 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTEFDYMS WIRQAPKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDAVYYCA #1#GMDV
FR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
9.7.2-Ser ----- (残 基 20-136 of SEQ ID NO: 50)
种 WGQGTIVVSSA (SEQ ID NO: 115)
J

图 4RR

种 系 V=A27, J=JK4
8.10.3-Ser -F-----V-
种 EIVLTQSPDTLSLSPGERATLSC RASQSVSSYLA WYQOKPQAPRLIY QASSRAT GIPDRFGSGSGTFTLTISRLEPEDFAVYIC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
8.10.3-Ser ----- (残 基 21-129 of SEQ ID NO: 44)
种 QQYGSPLT FGGTRVEIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

图 4SS

种 系 V=VH3-48, D=D1-26, J=JH4b
8.10.3-Ser -----F-T-----R-S-----DPLLA-ATF
种 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTEFSYSMN WVRQAPKGLEWVS YISSSSSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDAVYYCAR ##1VG##FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
8.10.3-Ser ----- (残 基 20-141 of SEQ ID NO: 90)
种 WGQGTIVVSSA (SEQ ID NO: 113)
J

图 4TT

种 系 V=A27, J=JK4
8.10.3-CG4

种
EIVLTQSPGTLSTISPGERATISG RASQSVSSSYLA WYQKPGQAPRIIY GASSRAT GIPDRFSGSGGTDFLTITISRLPEDEFAVYYC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3

8.10.3-CG4 (残 基 21-129 of SEQ ID NO: 60)

种
QQYGSPLT FGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

种 系 V=VH3-48, D=D1-26, J=JH4b
8.10.3-CG4

种
EVQLVESGGGLVQPGSSLRISCAAS GTFSSYSMN WYQAPGKGLEWVE YISSSSSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLDEDEIAVYYCAR ###IVG##FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

8.10.3-CG4 (残 基 20-141 of SEQ ID NO: 94)

种
WGQGLTVIVSSA (SEQ ID NO: 113)
J

种 系 V=012, J=JK3
9.14.4G1

(残 基 23-130 of SEQ ID NO: 28)

种
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSTSSYLN WYQKPGKAPKILIV AASSIQS GVERFSSGSGCTDFTLTISLQPEDFATYYC QQSYSTPFT FGPCTKVDIKR
FR1 CDR1 FR2 CDR2 CDR3 J

图 4VV

图 4WW

种 系 V=VH3-11, D=D7-27, J=JH4b
9.14.4G1

种
QVQLVESGGGLVQPGSLRLISCAAS GTFSSDYMS WYQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRATEDFAVYYCAR #LIGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.14.4G1 (残 基 20-135 of SEQ ID NO: 102)

种
WGQGLTVIVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

图 4XX

种 系 V=A27, J=JK4
8.10.3FG1 -F-----
种 EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSC RASQSVSSYL A MYOQPGQAPRLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTITISRLPEDEFTAVYVC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
8.10.3FG1 ----- (残 基 21-129 of SEQ ID NO: 32)
种 QOYGSPLT FGGTKVELIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

图 4YY

种 系 V=VH3-48, D=D1-26, J=JH4b
8.10.3FG1 -----F-T-----R-S-----DPLLA-ATP-----
种 EVQIVESGGGLVQPGGSLRLSCAS GFTFSSYMN WVRQAPGKLEWVS YISSSSSTIYVDSVKG RFTISRDNAKNSLYLQWNSLDEDEFTAVYCAR ##IVG##FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
8.10.3FG1 ----- (残 基 20-141 of SEQ ID NO: 98)
种 WQGGTLVTVSSA (SEQ ID NO: 113)
J

图 4ZZ

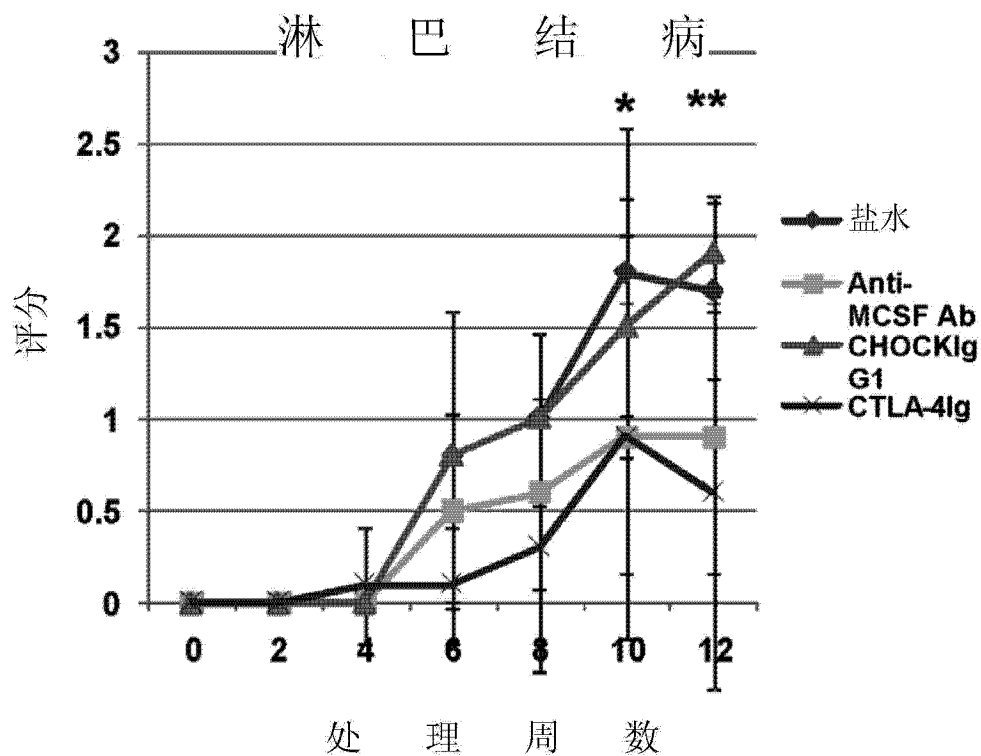


图 5

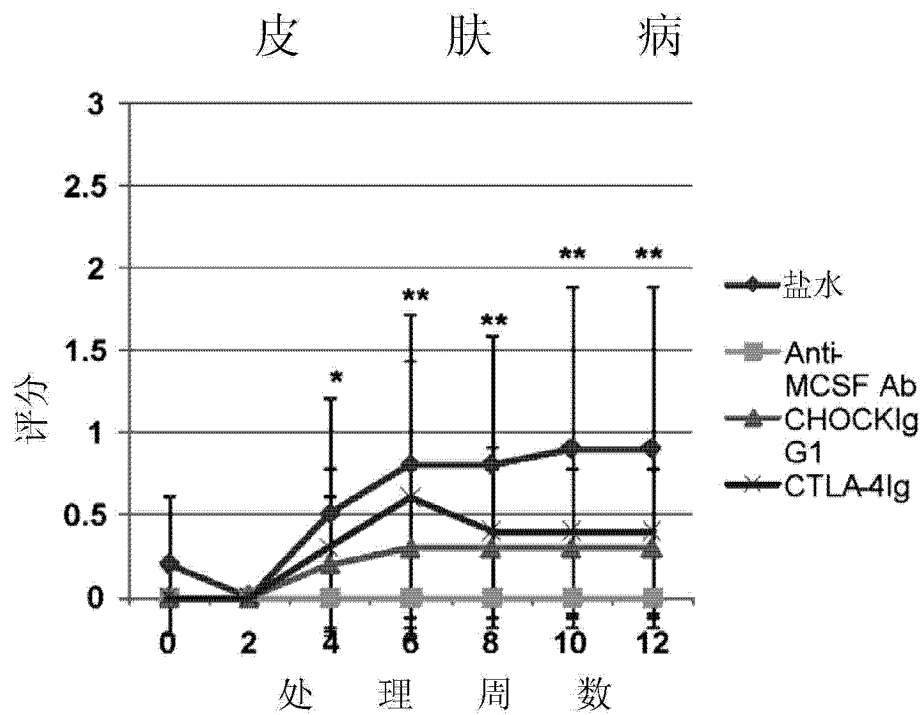


图 6

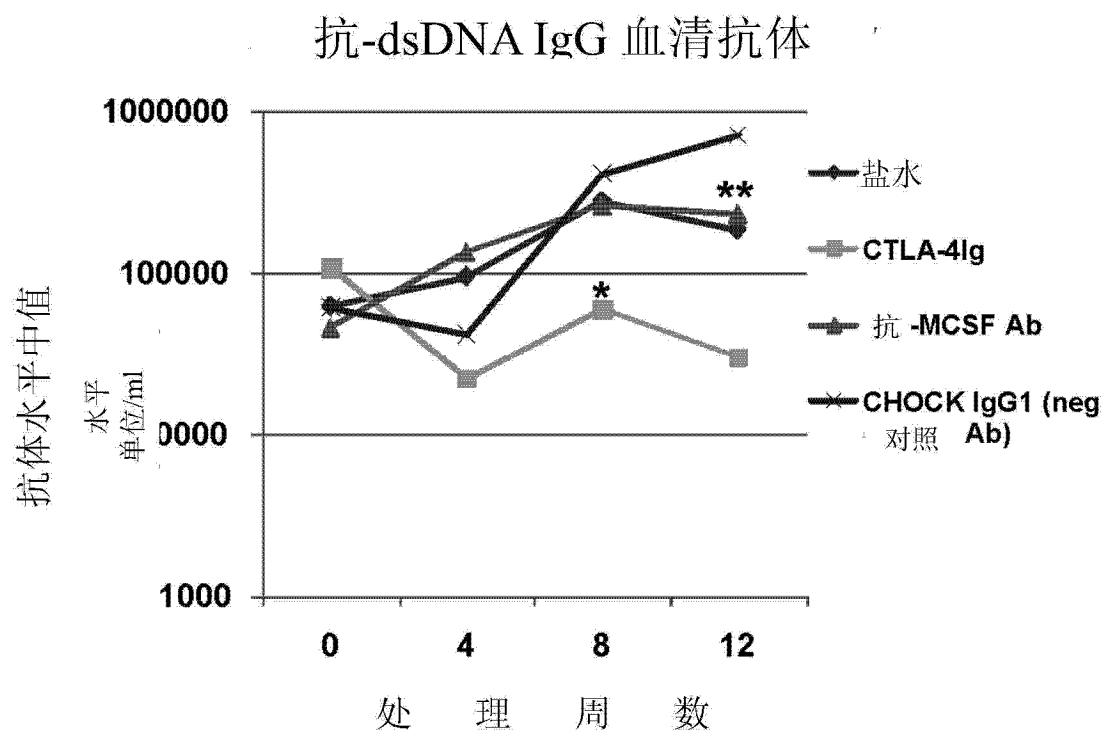


图 7

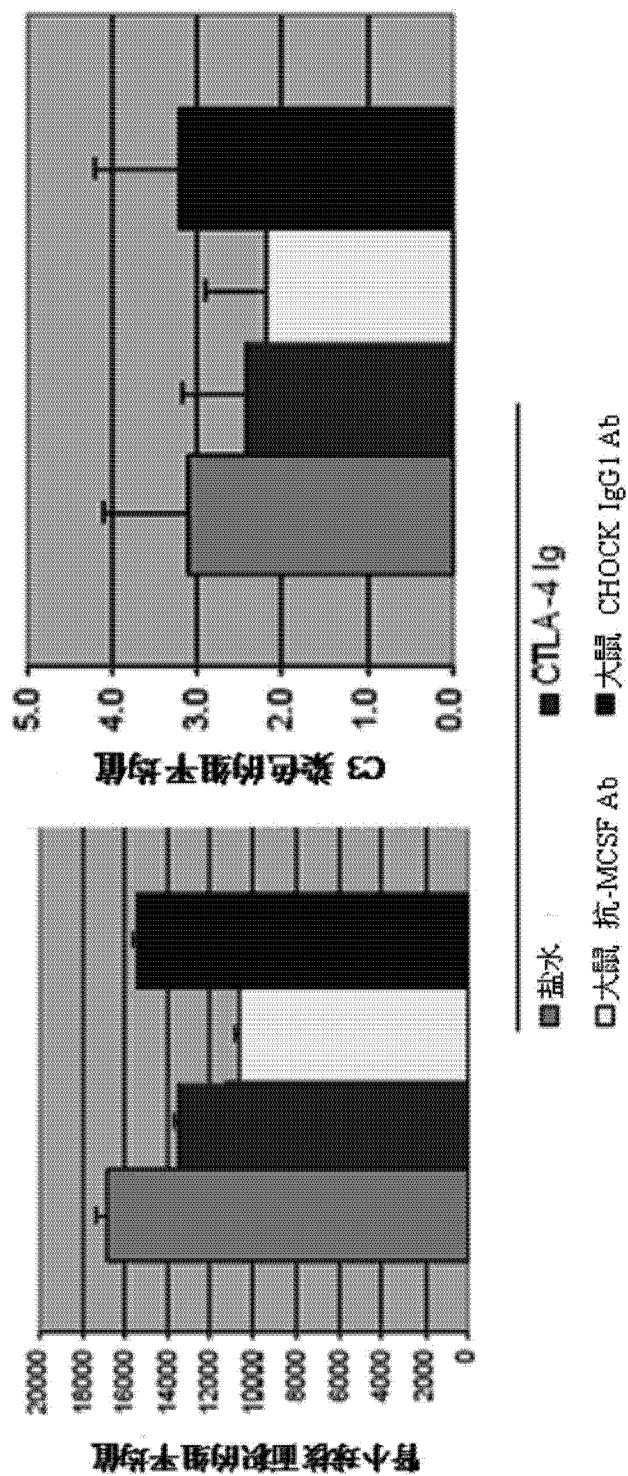


图 8

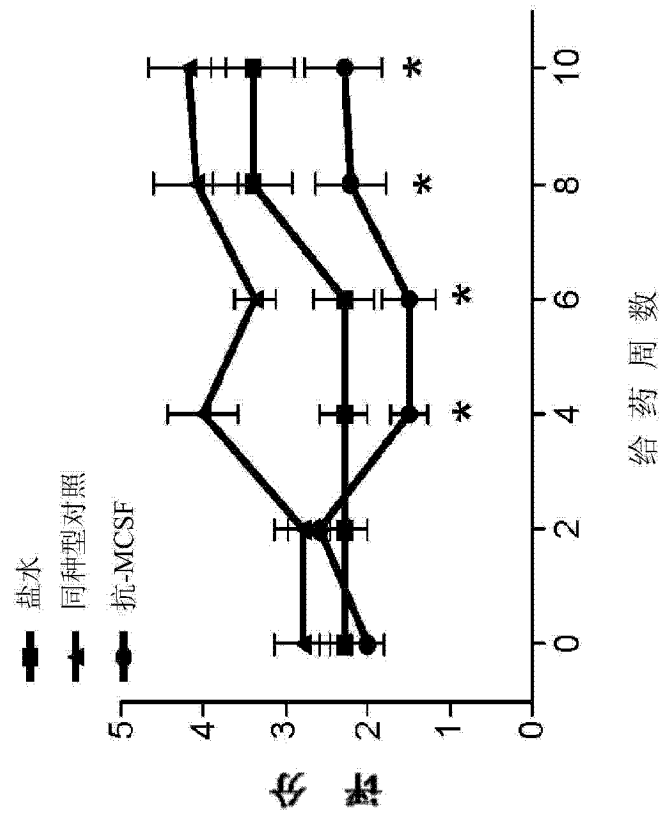


图 9A

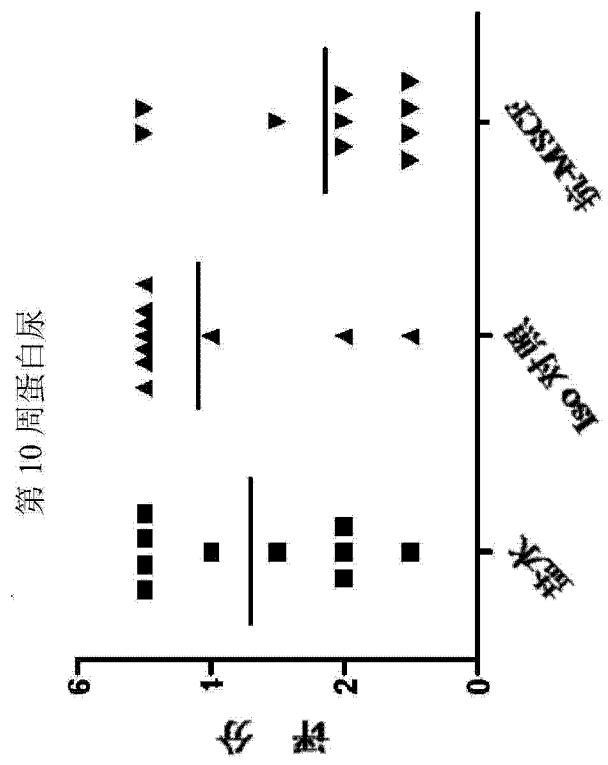


图 9B

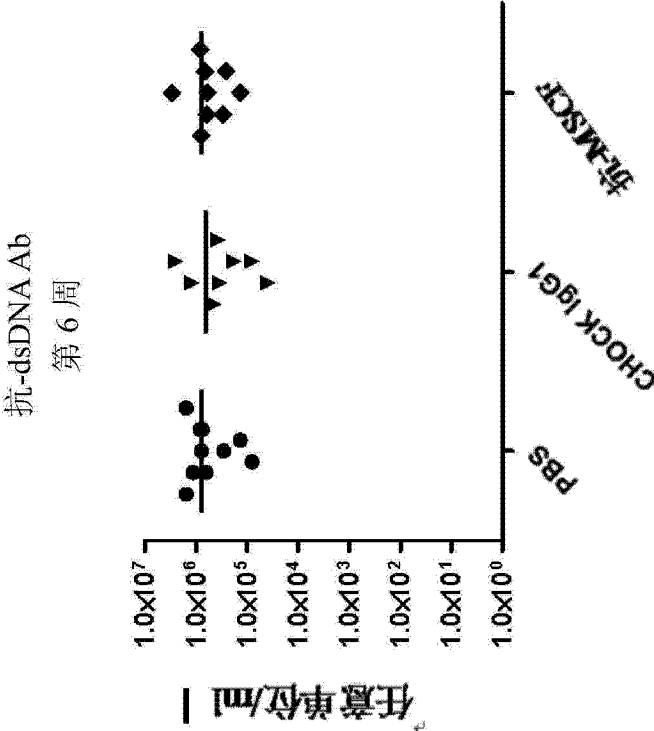


图 10A

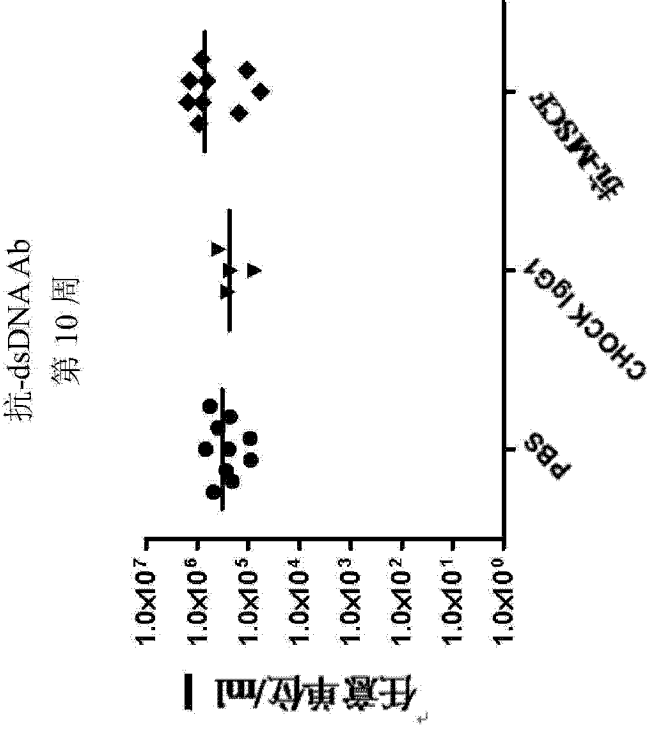


图 10B

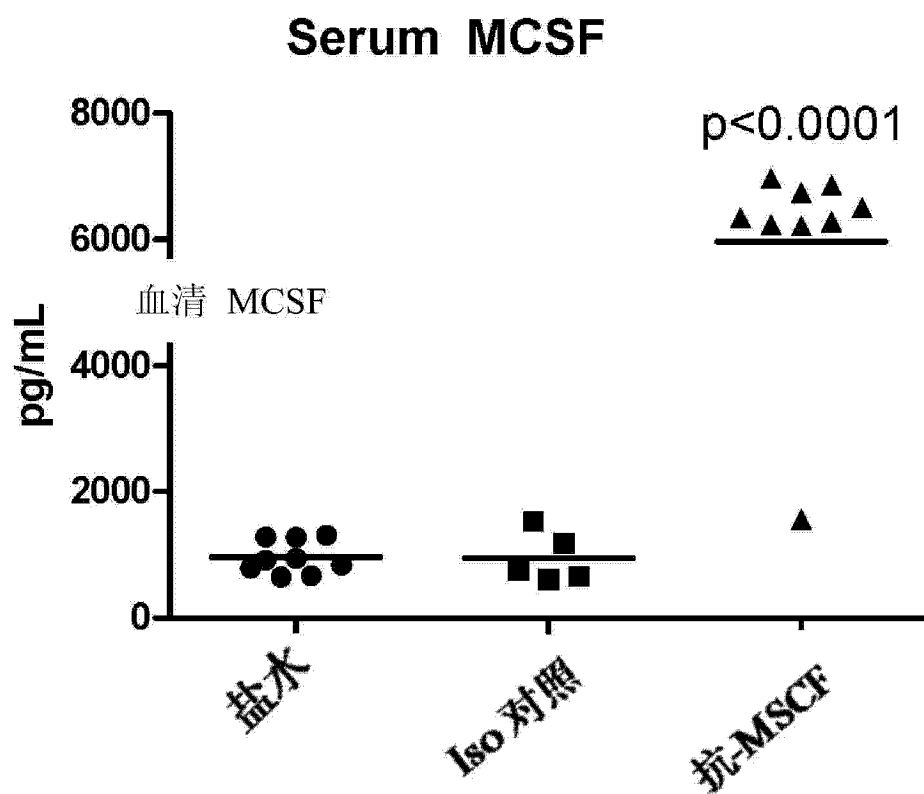


图 11

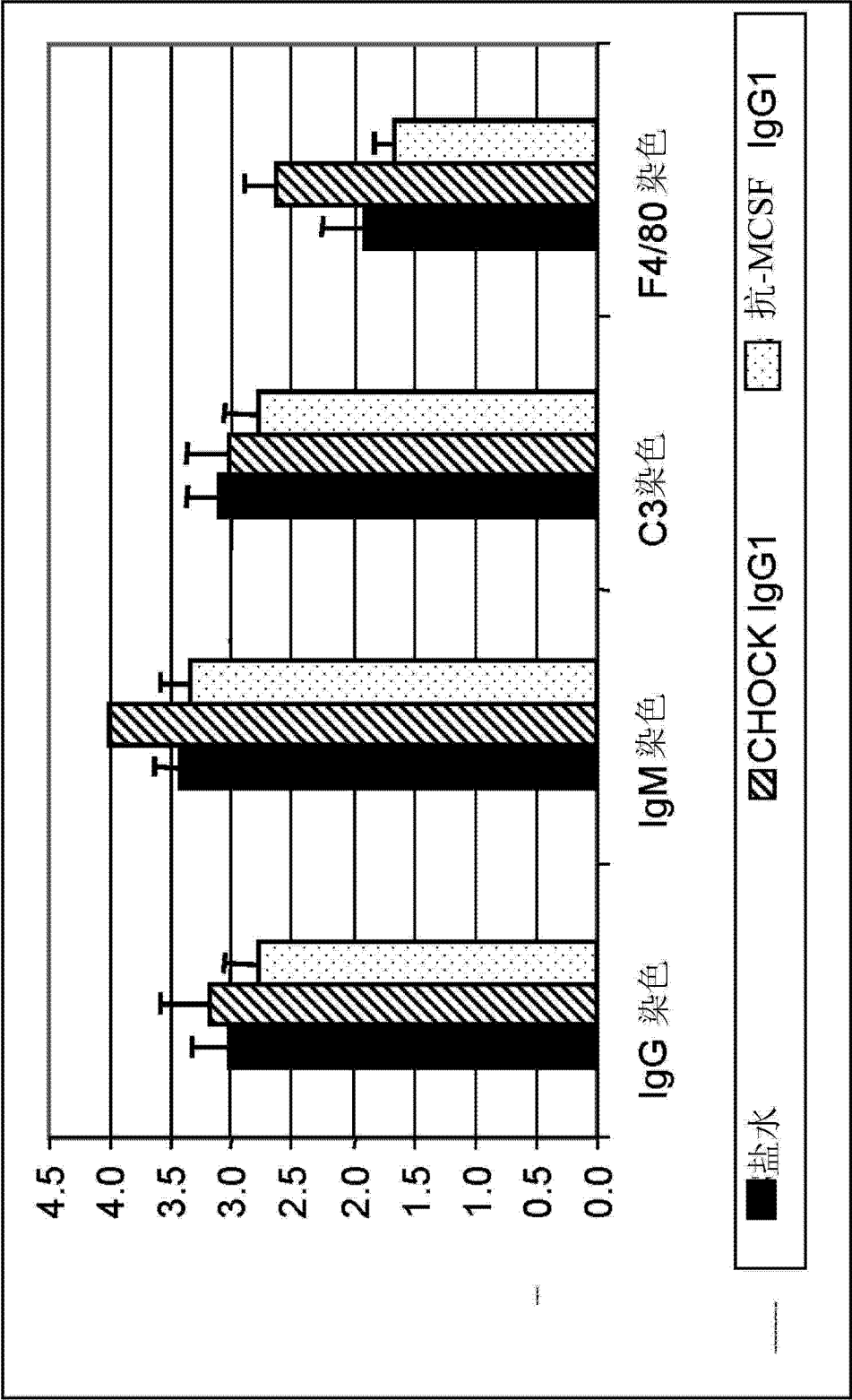


图 12

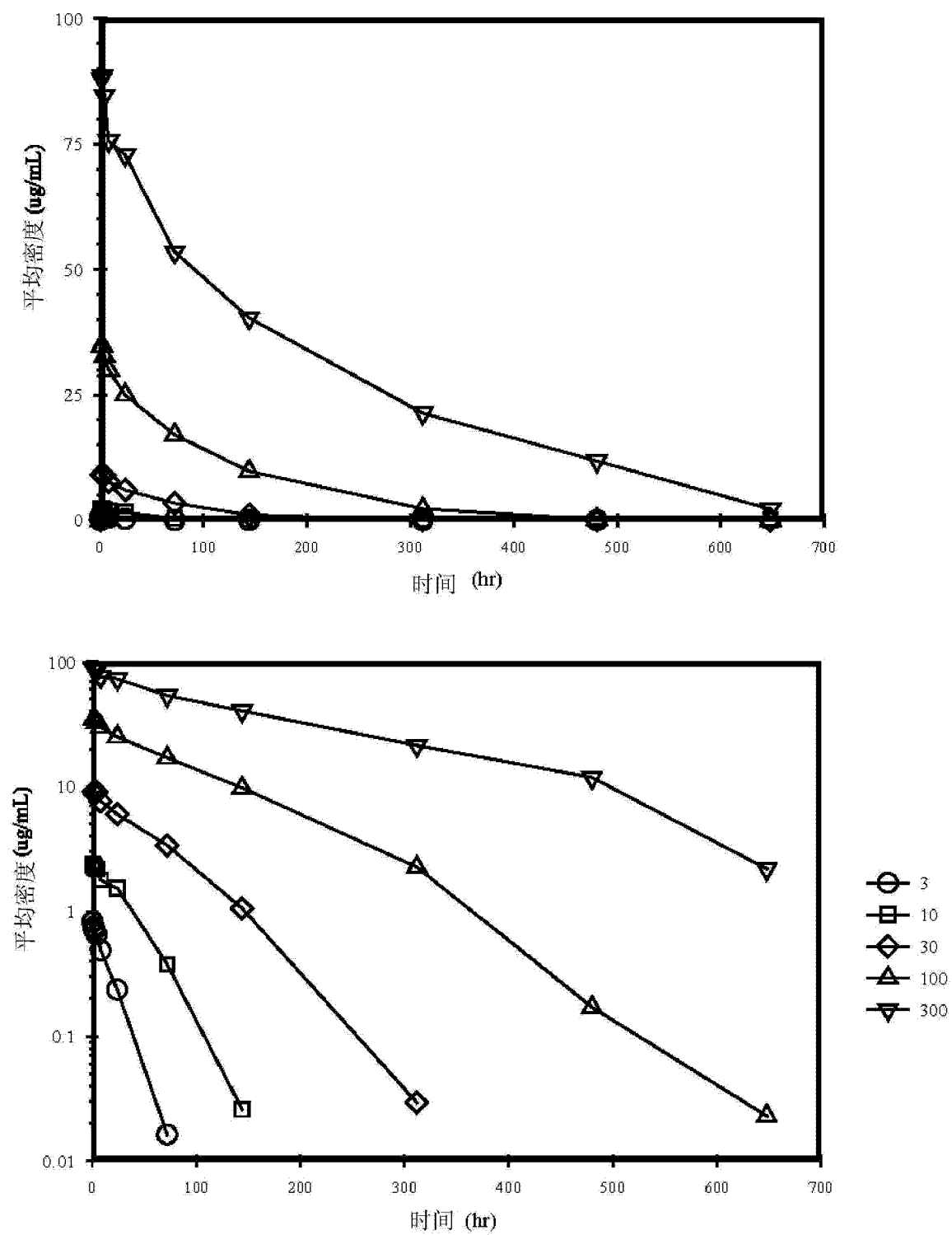


图 13

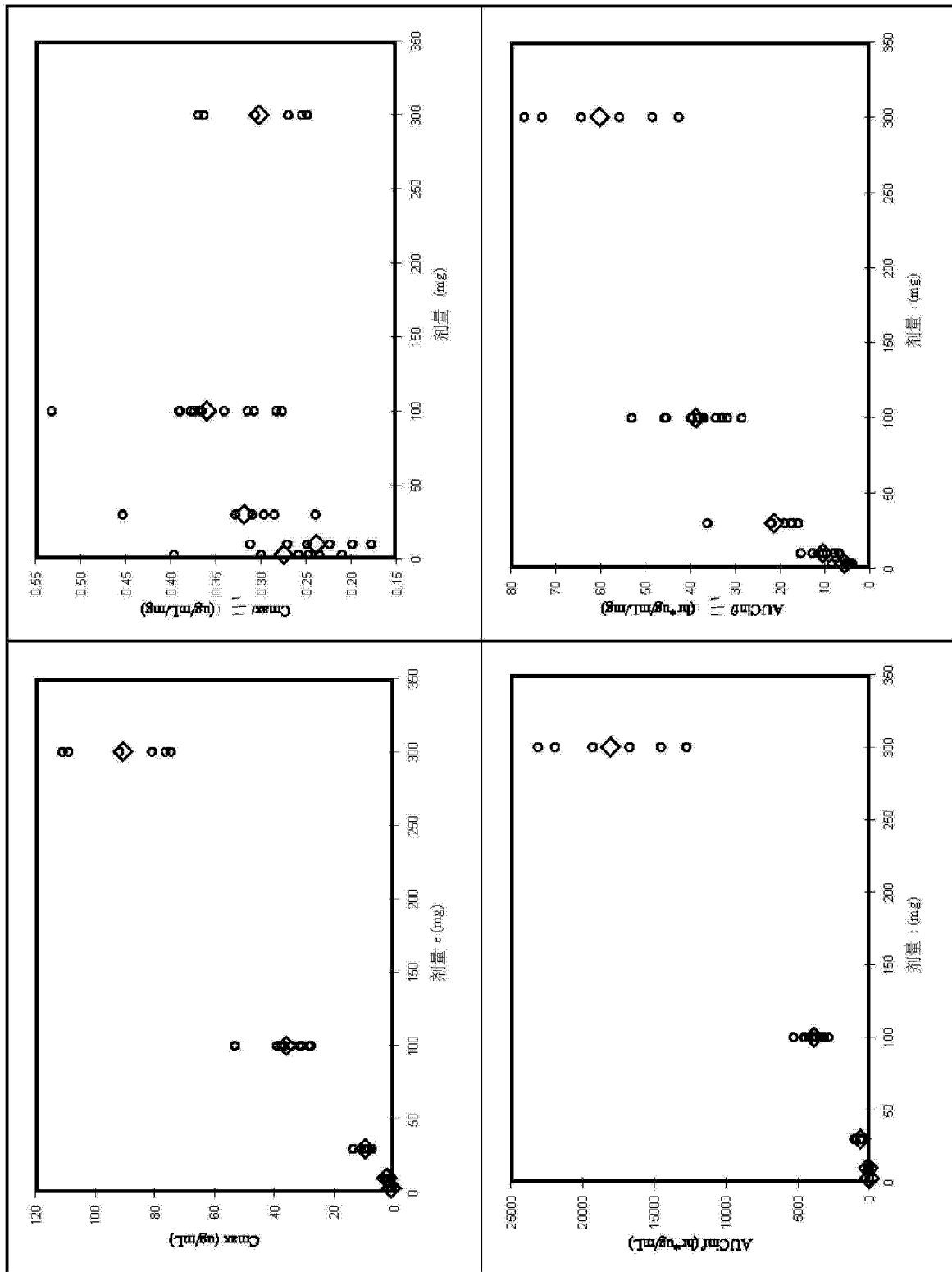


图 14

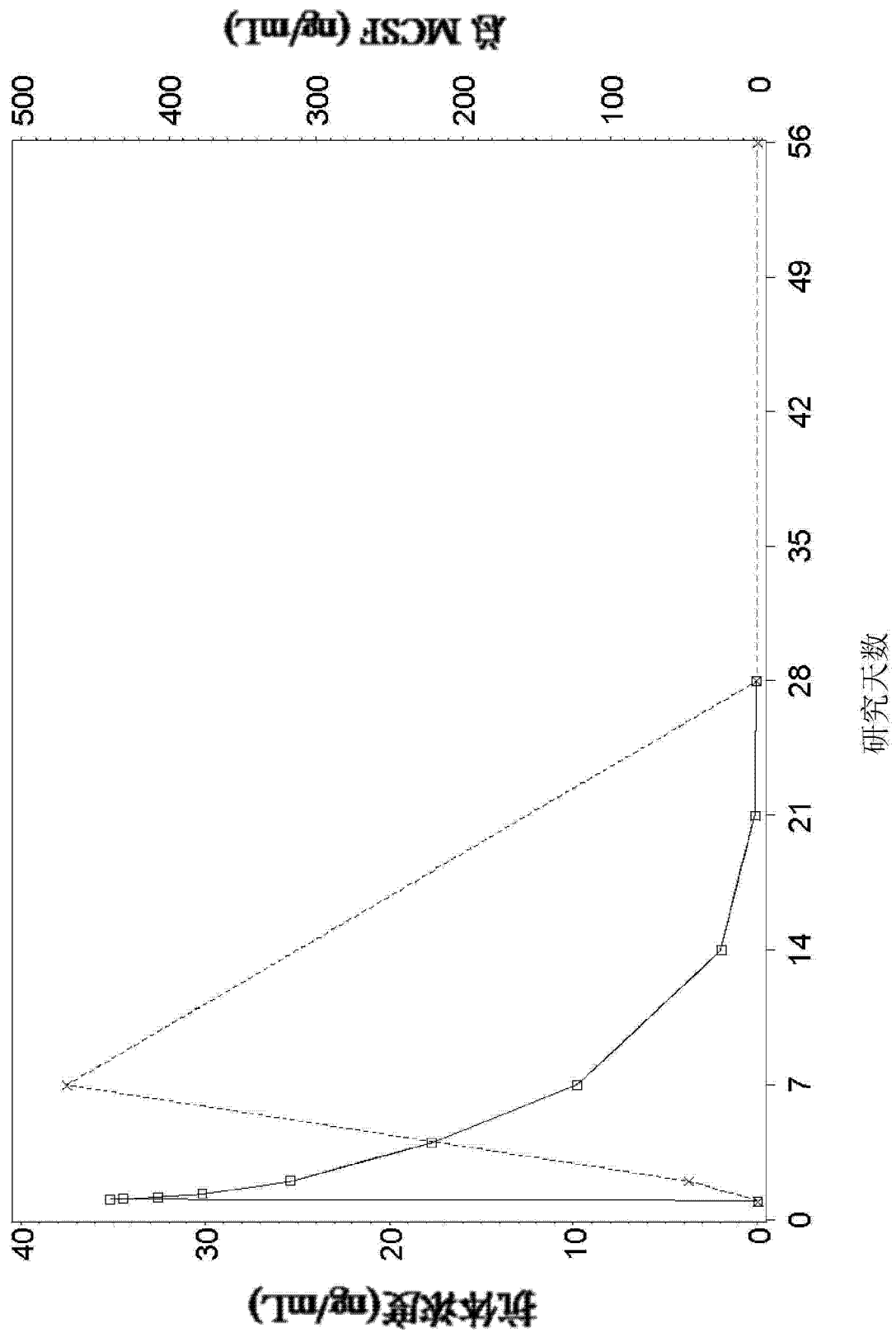


图 15

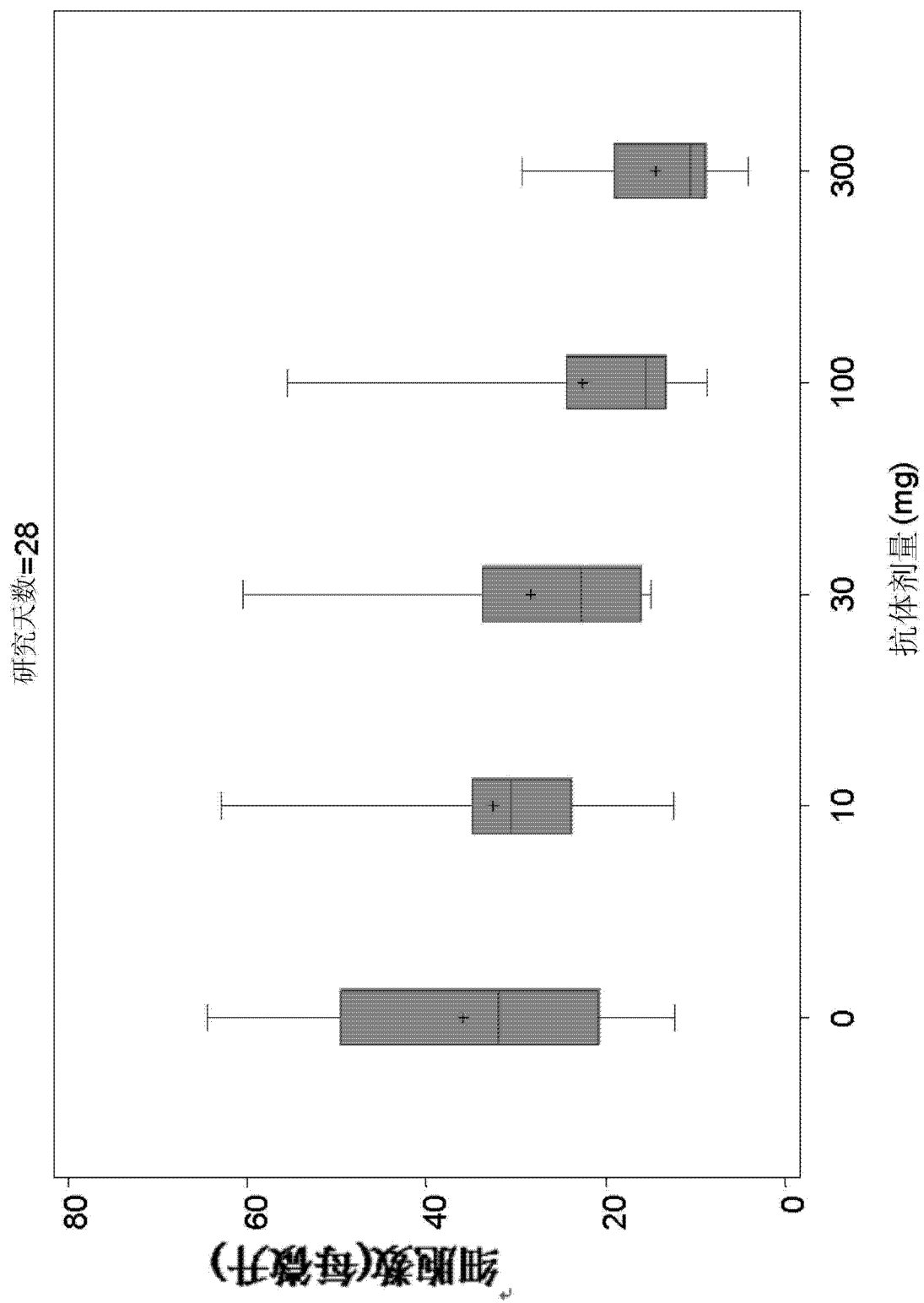


图 16

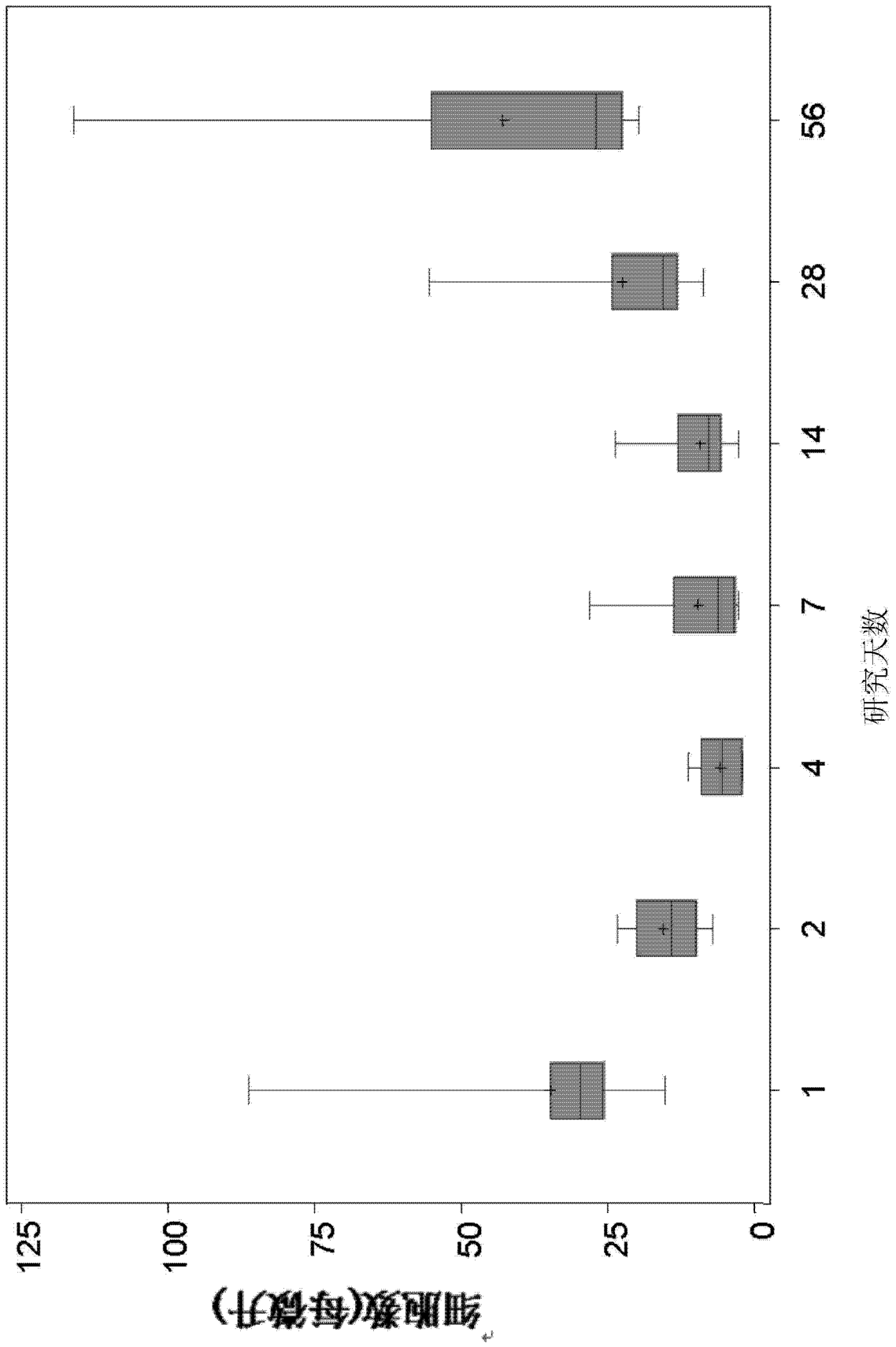


图 17

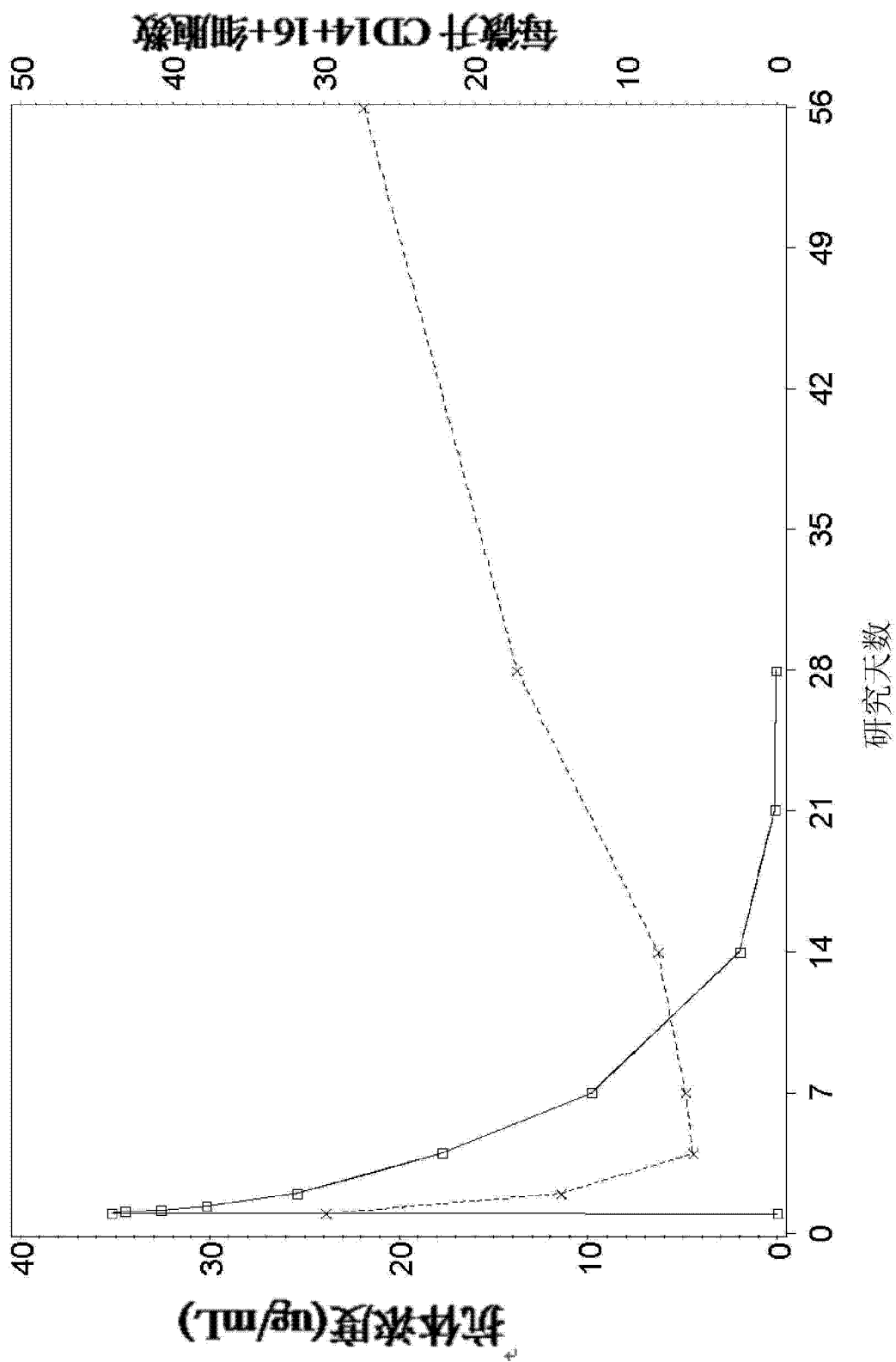


图 18

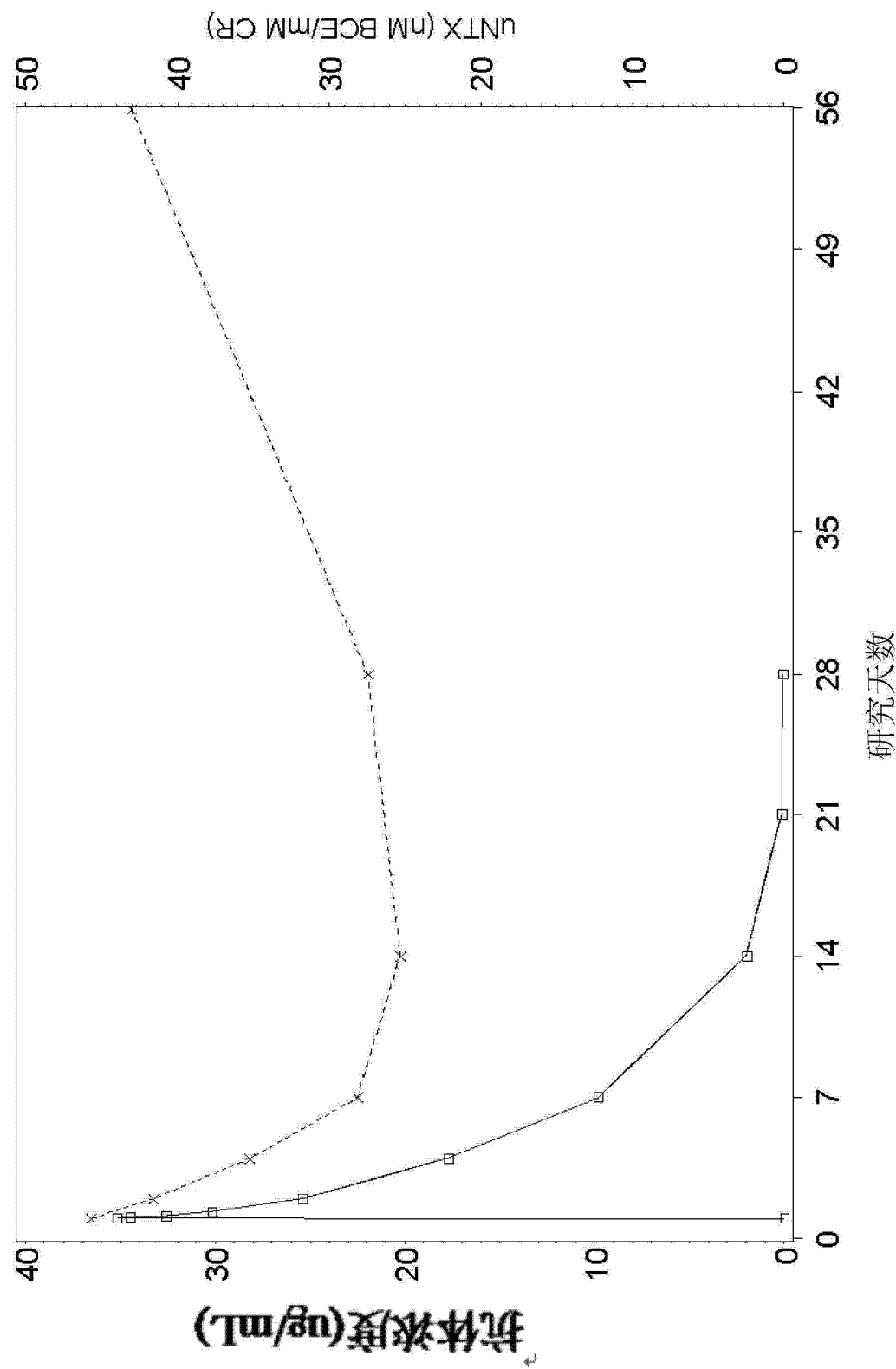


图 19