



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110945029 B

(45) 授权公告日 2024. 10. 01

(21) 申请号 201880047918.8

(22) 申请日 2018.07.18

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110945029 A

(43) 申请公布日 2020.03.31

(30) 优先权数据
PA201700419 2017.07.20 DK

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.01.17

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2018/069460 2018.07.18

(87) PCT国际申请的公布数据
W02019/016247 EN 2019.01.24

(73) 专利权人 H.隆德贝克有限公司
地址 丹麦渥尔比

(72) 发明人 L·C·比尔曼勒恩 I·J·马里克
J·B·斯塔文哈根
S·克里斯滕森 J·埃格比约

T·斯图曼 A·格里森
E·范登布林克 P·帕伦
E·特拉伯格 K·D·兰德

(74) 专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司
72003

专利代理师 付文川 吴小瑛

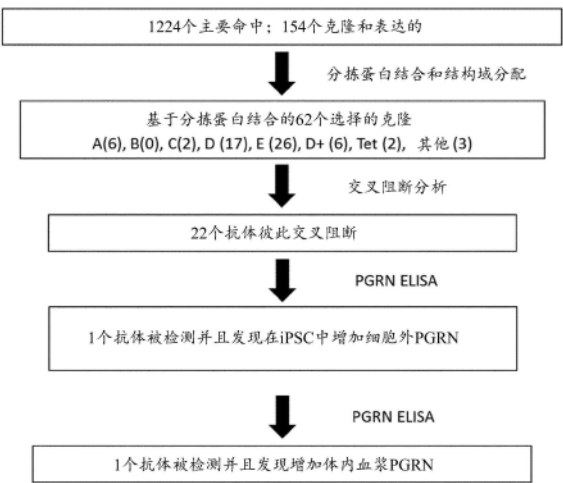
(51) Int.Cl.
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(56) 对比文件
WO 2017009327 A1, 2017.01.19
WO 2016/164637 A1, 2016.10.13
CN 110621698 A, 2019.12.27
CN 113151432 A, 2021.07.23
江政松 等. “颗粒蛋白前体在膀胱癌患者血
清的表达及其临床价值”.《江西医药》.2023,第
58卷(第3期),第320-323页.

审查员 唐雪珂
权利要求书2页 说明书45页
序列表74页 附图16页

(54) 发明名称
用于治疗药剂、用途和方法

(57) 摘要
本发明涉及单克隆抗分选蛋白抗体,已经发现它们在校正缺陷水平的颗粒蛋白前体(PGRN)中是有用的。具体而言,这些抗体可以用于额颞痴呆(FTD)和肌萎缩性侧索硬化症(ALS)以及其他神经退行性障碍(如阿尔茨海默病(AD))的治疗。



1. 一种抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含:
 - a. 由SEQ ID NO:61组成的重链可变域CDR 1;
 - b. 由SEQ ID NO:62组成的重链可变域CDR 2;
 - c. 由SEQ ID NO:63组成的重链可变域CDR 3;
 - d. 由SEQ ID NO:64组成的轻链可变域CDR 1;
 - e. 由SEQ ID NO:65组成的轻链可变域CDR 2;和
 - f. 由SEQ ID NO:66组成的轻链可变域CDR 3。
2. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗原结合片段选自下组,该组由以下组成:Fv片段;Fab样片段;以及结构域抗体。
3. 根据权利要求2所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中Fv片段是单链Fv或二硫化物键合的Fv。
4. 根据权利要求2所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中Fab样片段是Fab片段、Fab' 片段或F(ab')₂片段。
5. 根据权利要求2所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中结构域抗体是单个VH可变域或VL可变域。
6. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体由完整抗体组成。
7. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体选自下组,该组由以下组成:亚型IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的抗体。
8. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段展现出以下特性中的一种或多种:
 - a. 在0.5nM-10nM之间的对分拣蛋白的KD;
 - b. 减少和/或抑制表达分拣蛋白的细胞清除PGRN的能力;
 - c. 减少和/或抑制表达分拣蛋白的细胞对PGRN的内吞的能力;
 - d. 增加脑中的PGRN量和/或浓度的能力,和/或
 - e. 增加表达人分拣蛋白的敲入小鼠的血浆中的PGRN量和/或浓度的能力。
9. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段展现出在1nM-5nM之间的对分拣蛋白的KD。
10. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段展现出在1nM-2nM之间的对分拣蛋白的KD。
11. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段展现出在0.5pM-500pM之间的对分拣蛋白的KD。
12. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或其抗原结合片段减少和/或抑制清除PGRN的能力包括以22nM的IC₅₀或低于22nM的IC₅₀减少和/或抑制清除PGRN。
13. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或其抗原结合片段减少和/或抑制清除PGRN的能力包括以22nM-1nM之间的IC₅₀或低于22nM-1nM之间的IC₅₀减少和/或抑制清除PGRN。
14. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或其抗原结

合片段减少和/或抑制清除PGRN的能力包括以10nM-1nM之间的IC50或低于10nM-1nM之间的IC50减少和/或抑制清除PGRN。

15. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或其抗原结合片段减少和/或抑制清除PGRN的能力包括以5nM-1nM之间的IC50或低于5nM-1nM之间的IC50减少和/或抑制清除PGRN。

16. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或其抗原结合片段是人抗体、人源化抗体、重组抗体或嵌合抗体。

17. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或其抗原结合片段包含重链可变域,该重链可变域包含SEQ ID NO:129。

18. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或其抗原结合片段包含轻链可变域,该轻链可变域包含SEQ ID NO:130。

19. 根据权利要求1所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或其抗原结合片段包含如在权利要求17和18中所定义的重链可变域和轻链可变域两者。

20. 一种药物组合物,其包含如权利要求1至19任一项所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,以及药学上可接受的载体。

21. 如权利要求1至19任一项所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段或如权利要求20所述的药物组合物在制备用于治疗FTD、ALS、AD或PD的药物中的用途。

22. 根据权利要求21所述的用途,其中疾病是AD。

23. 一种试剂盒,该试剂盒包含如权利要求1-19任一项所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段或如权利要求20所述的药物组合物。

24. 如权利要求1-19任一项所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段已经在细胞系中产生或制备。

25. 根据权利要求24所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其在CHO细胞系、HEK细胞系、鼠类细胞系、纤维肉瘤细胞系、PER.C6细胞系、HKB-11细胞系、CAP细胞系以及HuH-7人细胞系中产生。

26. 根据权利要求24所述的抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,其在BHK-21细胞系中产生。

用于治疗药剂、用途和方法

技术领域

[0001] 本发明涉及在校正缺陷水平的颗粒蛋白前体 (PGRN) 中是有用的单克隆抗分拣蛋白 (Sortilin) 抗体。具体而言,这些抗体可以用于额颞痴呆 (FTD) 和肌萎缩性侧索硬化症 (ALS) 的治疗。此外,预期这些单克隆抗体还可以用于治疗神经退行性障碍 (如阿尔茨海默病 (AD))。

[0002] 序列表的引用

[0003] 本申请包括一个或多个序列表 (依照37C.F.R.1.821等等),其是以计算机可读介质形式披露的 (文件名:0993_ST25.txt,创建于2016年6月22日,并且大小为144kB),将该文件通过引用以其全部内容结合在此。

背景技术

[0004] 分拣蛋白是一种已经被报道介导前神经营养因子的促凋亡效应并且介导神经营养因子受体的运输和分拣的受体 (Nykjaer等人,2012,Trends Neurosci.[神经科学趋势]2012;35(4):261-70;Glerup等人,Handb Exp Pharmacol[实验药理学手册],2014;220:165-89,Carlo等人,J Mol Med (Berl).[分子医学杂志 (柏林)]2014年9月;92(9):905-11)。已经鉴定了多种分拣蛋白配体,包括通过X射线晶体学将其高亲和力结合位点定位到分拣蛋白分子的 β 螺旋桨通道内的神经降压素 (Quistgaard等人,Nat Struct Mol Biol.[自然结构与分子生物学]2009年1月;16(1):96-8;Quistgaard等人,Protein Sci.[蛋白质科学]2014年9月;23(9):1291-300)。最近,显示分拣蛋白作为生长因子颗粒蛋白前体 (PGRN) 的高亲和力受体起作用 (PGRN,Hu等人,Neuron.[神经元]2010年11月18日;68(4):654-67)。

[0005] PGRN ((前上皮因子,颗粒体蛋白-上皮因子前体,PC细胞衍生的生长因子,acrogranin)) 是一种具有抗炎和神经营养样作用的分泌型糖基化蛋白 (关于最新综述,Nguyen,Trends Endocrinol Metab.[内分泌与代谢趋势]2013年12月;24(12):597-606)。PGRN被蛋白水解地切割为颗粒体蛋白,但是关于PGRN和颗粒体蛋白的生理作用以及其受体的身份还有许多需要了解。PGRN已经被牵涉于若干细胞功能中,包括细胞周期调节和细胞运动 (He,Z.&Bateman,A.,J.Mol.Med.[分子医学杂志]57:600-612(2003);Monami,G.等人,Cancer Res.[癌症研究]5(5:7103-7110(2006))、创面修复、炎症 (Zhu,J.等人,Cell[细胞]777:867-878(2002))、生长因子 (如血管内皮生长因子 (VEGF)) 的诱导 (Tangkeangsinsin,W.&Serrero,G,Carcinogenesis[致癌作用]25:1587-1592(2004)) 以及肿瘤发生 (He,Z.&Bateman,A.,J.Mol.Med.[分子医学杂志]81:600-612(2003),Monami,G.等人,Cancer Res[癌症研究]5(5:7103-7110(2006);Serrero,G.,Biochem Biophys.Res.Commun.[生物化学和生物物理研究通讯]505-409-413(2003),Lu,R&Serrero,G.,Proc.Natl Acad Sci U.SA[美国国家科学院院刊]98:142-147(2001);Liau,L M.,等人,Cancer Res[癌症研究]60:1353-1360(2000))。已经报道PGRN结合TNF受体 (Tang W等人,Science[科学]2011,332(6028):478-84),但是这种观察已经受到了别人的质疑 (Chen等人,J Neurosci.[神经科学杂志]2013,33(21):9202-9213)。

[0006] PGRN与分拣蛋白的结合已经被映射到神经降压素位点并且被报道按与神经降压素类似的方式仅由PGRN C末端结构域介导(Zheng等人, PLoS One. [公共科学图书馆期刊] 2011;6(6):e21023; Lee等人, Hum Mol Genet. [人分子遗传学] 2013), 并且与其一致, 已经显示神经降压素阻断分拣蛋白与PGRN以及其他配体的相互作用。结合后, 分拣蛋白介导PGRN的溶酶体清除并且由此调节细胞外PGRN水平(Hu等人, 2010)。因此, 已经显示分拣蛋白的敲减或过表达调节细胞培养物中的细胞外PGRN水平(Carrasquillo等人, Am J Hum Genet. [美国人遗传学杂志] 2010年12月10日; 87(6):890-7), 并且在小鼠中, 报道分拣蛋白缺陷增加PGRN水平并且恢复PGRN^{+/+}小鼠中的血浆和脑PGRN水平(Hu等人, 2010)。有趣的是, 分拣蛋白附近的单核苷酸多态性(SNP)与降低的血浆PGRN水平和增加的分拣蛋白mRNA水平相关(Carrasquillo等人, Am J Hum Genet. [美国人遗传学杂志] 2010年12月10日; 87(6):890-7)。这些观察表明分拣蛋白是一种关键的细胞外PGRN调节剂。

[0007] PGRN已经与额颞痴呆(FTD, 一种由行为和语义改变表征的进行性痴呆)以及额颞叶退化(FTLD)和含有TAR DNA结合蛋白-43(TDP-43)的神经元包涵体或 τ 包涵体联系(Baker等人, 2006, Nature. [自然] 2006年8月24日; 442(7105):916-9; Cruts等人, 2006, Nature [自然]. 2006年8月24日; 442(7105):916-9; Cruts等人, Nature [自然] 442:920-924(2006); Am J Hum Genet. [美国人遗传学杂志] 2010年12月10日; 87(6):890-7, M等人, Trends in Genetics [遗传学趋势] 24:186-194(2008))。大部分的散发性和家族性FTD病例显示出与ALS类似的TDP-43病理学(约50%), 并且FTD-TDP43和ALS被一些人认为构成疾病谱(Ito D Neurology. [神经病学] 2011年10月25日; 77(17):1636-43; Boxer AL等人, Alzheimers Dement. [阿尔茨海默病与痴呆症] 2013年3月; 9(2):176-88; Rademakers等人, Nat Rev Neurol. [神经病学自然评论] 2012年8月; 8(8):423-434), 这是由于共同的病理和遗传因素以及症状学中的一些重叠。没有可供FTD用的疾病修饰治疗选择。具有TDP-43病理学的一小群额颞痴呆患者在颗粒体蛋白基因(GRN)中具有功能缺失突变, 从而导致PGRN单倍型不足。颗粒体蛋白基因中的超过75个不同突变(全部都导致PGRN水平和/或功能减少)已经与FTD相关联并且据信升高血浆和脑中的细胞外PGRN将阻碍疾病过程。

[0008] PGRN突变还已经与阿尔茨海默病(AD)联系(Sheng等人, 2014, Gene. [基因] 2014年6月1日; 542(2):141-5; Brouwers等人, 2008, Neurology. [神经病学] 2008年8月26日; 71(9):656-64), 表明PGRN缺陷可能在AD发病机制中发挥重要作用。此外, 已经在小鼠AD模型中观察到PGRN的神经保护作用(Minami等人, 2014, Nat Med. [自然医学] 2014年10月; 20(10):1157-64), 从而为以下观点提供支持, 即增强的PGRN在AD和可能地其他神经退行性疾病中可能是有益的。

[0009] 本申请描述了抗人分拣蛋白抗体的产生和鉴定, 这些抗体可以调节细胞模型和小鼠中的PGRN。那些抗体出人意料地结合到分拣蛋白上的远离先前报道的颗粒蛋白前体结合位点(所谓的神经降压素-位点)的区域, 并且仍能够增加细胞外PGRN。

[0010] 诸位发明人已经定义了六个分拣蛋白结合区并且鉴定出结合区域(“E区”)的有效抗体。这些抗体不阻断PGRN与分拣蛋白的结合, 但影响/增加PGRN水平, 表明这些抗体具有新颖的作用模式。因为PGRN具有神经保护和抗炎作用, 诸位发明人的发现指示靶向分拣蛋白的此类抗体在一系列神经退行性障碍(包括FTD/FTLD)的治疗中可能具有有益效果。具有TDP-43病理学的一个亚组的FTD/FTLD患者在编码PGRN的基因中携带突变, 从而导致PGRN

单倍型不足。预期分拣蛋白抗体可阻碍此PGRN缺陷并且可能对于患有其中PGRN水平可以影响TDP43功能和病理的其他TDP-43蛋白病(包括ALS)的患者,以及在其中增加的PGRN功能可能是神经保护性的其他神经退行性疾病(包括AD)中具有类似的治疗益处。

发明内容

[0011] 本发明的诸位发明人已经产生了单克隆抗体,这些抗体能够出人意料地结合到被命名为如在SEQ ID NO:146中所定义的“E-区”的新颖分拣蛋白区,并且能够调节患者脑中的PGRN水平。

[0012] 本发明还涉及一种预防或治疗与患者的脑中降低的PGRN水平相关的疾病的方法,该方法包括给予有效剂量的结合到分拣蛋白的E-区的抗体或其抗原结合片段。特别地,这些疾病包括FTD、ALS和蛋白病(如AD、PD)。

附图说明

[0013] 图1说明了抗体选择中的步骤。A-E是指基于如描述于实施例1和SEQ ID No 147-155中的改组构建体,对应的分拣蛋白结合抗体所分配的区域。“其他”是指不能被分配到一个区域并且可以结合在A-区与B-区之间的界面处的抗体。Tet是指还结合四齿鲉属-分拣蛋白的抗体。

[0014] 图2示出了基于与分拣蛋白改组构建体的结合的抗体区域分配。

[0015] 图A示出了用于抗体区域分配的如实施例1中所述的改组构建体的线性说明。基于人分拣蛋白序列(SEQ ID NO:145)(以灰色描绘的区段)产生分拣蛋白改组构建体,在该序列中氨基酸残基被交换为来自四齿鲉属分拣蛋白序列(以黑色描绘)(SEQ ID NO:149)的相应氨基酸(实施例1-3)。

[0016] 图B示出了在A中线性地说明的改组构建体的预测结构。深色残基指示在改组构建体中变为相应的四齿鲉属序列的残基。

[0017] 图C说明了分别被分配到D-区和E区类别的抗体的结合模式。“+”指示与给定的改组构建体结合,并且“-”指示缺少结合。基于与不同改组构建体的结合模式,为抗体分配区域。所得抗体区域类别由A-E指示。对于说明的D和E区抗体,两者均结合如由“+”指示的人序列(全部为灰色)并且均不结合如由“-”指示的四齿鲉属序列(全部为黑色),而E区抗体结合hB45678改组构建体,然而D区抗体并不结合,从而产生如图A中说明的结合定位。对于E区抗体,观察到与以下改组区域结合:hsort、hB06-10、B12390、hB45678。这些抗体不与hB01-05和四齿鲉属构建体结合。

[0018] 这些抗体并不与完全四齿鲉属的分拣蛋白结合,两个除外。这两个能够结合四齿鲉属序列的抗体被表示为“tet”。“其他”是指不能被分配到一个区域的抗体。

[0019] 图3示出了人E-区抗体的结合亲和力。使用Octet384RED,通过生物膜层干涉技术如实施例2中描述的确与分拣蛋白构建体的结合亲和力(EC₅₀,ng/ml)。NB指示没有结合。0.1ng/ml-10ng/ml和>10ng/ml之间的值指示结合。区域分配是基于抗体与不同分拣蛋白改组构建体的结合模式(图2)。与分拣蛋白构建体hB01-05和Tetra缺少结合表明这些抗体与E区结合。

[0020] 图4示出了E-区抗体之间的交叉阻断。每种抗体与人野生型分拣蛋白结合以形成

抗体-分拣蛋白复合物。针对与预成型的抗体-分拣蛋白复合物的结合对所有其他E结构域抗体进行测试(实施例8)。通过分析抗体-分拣蛋白结合的干扰来确定来自相同或不同结构域的分拣蛋白抗体之间的交叉阻断。使用Octet 384RED通过生物膜层干涉技术测量抗体与分拣蛋白-ECD-His的结合(如前所述)。左栏指示一级(固定)抗体并且顶行指示二级抗体(针对固定抗体进行测试的抗体)。一级和二级抗体与分拣蛋白-ECD-His的结合都将产生高于0.1的应答值并且指示两种抗体都结合到该蛋白的不同区域。小于0.1的应答值显示缺少二级抗体的结合和被固定(一级)抗体有效的交叉阻断,这表明两种抗体结合到分拣蛋白的同一区域。‘x’指示没有结合,并且因此抗体彼此阻断。‘b’指示两种抗体与分拣蛋白的结合,并且因此不彼此交叉阻断。

[0021] 来自E结构域的26种抗体中的22种交叉阻断来自该组的所有抗体,并且剩余4种抗体交叉阻断26种抗体中的20种抗体,表明大多数抗体结合到分拣蛋白上的相同区域或相邻区域。

[0022] 图5示出了分拣蛋白抗体对从明显健康的男性(18岁)产生的神经元分化的诱导多能干细胞(iPSC)中的细胞外PGRN的影响。(实施例9)

[0023] 图6示出了用分拣蛋白人E-区结合抗体处理的人分拣蛋白的敲入(KI)小鼠中的血浆PGRN水平(实施例10)。与同种型对照抗体抗HEL治疗的小鼠相比,抗体#30增加血浆PGRN水平。

[0024] 通过皮下给药给小鼠注射10mg/kg的测试抗体。将它们在48小时后处死,并收集血液样品进行分析。通过ELISA测量血浆PGRN。数据呈现为平均值±SD。通过t检验分析数据。***p<0.001

[0025] 图7A和B示出了分拣蛋白抗体对从明显健康的个体以及从PGRN R493X患者产生的神经元分化的诱导多能干细胞(iPSC)中的细胞外PGRN的影响(实施例11)。

[0026] 图8(A-F)示出了涵盖抗体30的构象表位的代表肽。示出的所有肽都显示出受保护免于交换大于0.5D(实施例12)。

具体实施方式

[0027] 如在此使用的,术语“分拣蛋白(Sortilin)”与“分拣蛋白(Sortilin protein)”是同义的(在例如UniProt中鉴定为Q99523,1和2)。分拣蛋白的氨基酸编号相对于SEQ ID NO: 145如下所示的给出,甲硫氨酸(M)是氨基酸1:

[0028] MERPWGAADG LSRWPHGLGL LLLLQLLPSS TLSQDRLDAP PPPAAPLPRW
[0029] SGPIGVSWGL RAAAAGGAFP RGGRWRRSAP GEDEECGRVR DFVAKLANNT
[0030] HQHVFDDLRLG SVLSWVGDS TGVILVLTTF HVPLVIMTFG QSKLYRSEDY
[0031] GKNFKDITDL INNTFIRTEF GMAIGPENSG KVVLTAEVSG GSRGGRIFRS
[0032] SDFAKNFVQT DLPFHPLTQM MYSPQNSDYL LALSTENGLW VSKNFGGKWE
[0033] EIHKAVCLAK WGSNTIFFT TYANGSCKAD LGALELWRTS DLGKSFKTIG
[0034] VKIYSFGLGG RFLFASVMAD KDTTRRIHVS TDQGDTSMA QLPSVGQEQF
[0035] YSILAANDDM VFMHVDEPGD TGFGTIFTSD DRGIVYSKSL DRHLYTTTGG
[0036] ETDFTNVTSL RGVYITSVLS EDNSIQTMIT FDQGGRWTHL RKPENSECDA
[0037] TAKNKNECSL HIHASYSISQ KLNVPMAPLS EPNAVGIIVIA HGSVGDAISV

[0038] MVPDVYISDD GGYSWTKMLE GPHYTTILDS GGIIVAIEHS SRPINVIKFS

[0039] TDEGQCWQTY TFTRDPIYFT GLASEPGARS MNISIWGFTE SFLTSQWVSY

[0040] TIDFKDILER NCEEKDYTIW LAHSTDPEDY EDGCILGYKE QFLRLRKSSV

[0041] CQNGRDYVVT KQPSICLCSL EDFLCDFGY RPENDSKCVE QPELKGHDLE

[0042] FCLYGREEHL TTNGYRKIPG DKCQGGVNPV REVKDLKKKC TSNFLSPEKQ

[0043] NSKSNSVPII LAIVGLMLVT VVAGVLIVKK YVCGGRFLVH RYSLVQQHAE

[0044] ANGVDGVDAL DTASHTNKS G YHDDSDEDLLE

[0045] 如在此使用的,术语“E区”旨在是指分拣蛋白上的由如下所示的SEQ ID NO:146中的氨基酸组成的区域(对应于SEQ ID NO:145的残基612-753):

[0046] CEEKDYTIW LAHSTDPEDY EDGCILGYKEQFLRLRKSSVCQNGRDYVVT KQPSICLCSL EDFLCDFGY RPENDSKCVE QPELKGHDLEFCLYGREEHL TTNGYRKIPG DKCQGGVNPV REVKDLKKKC TSNFLSPEKQNSKSNS

[0047] 对于E区抗体,观察到与以下改组区域结合:hsort、hB06-10、B12390、hB45678。这些抗体不与hB01-05和tetra结合。

[0048] PGRN基因(前上皮因子,颗粒体蛋白-上皮因子前体,PC细胞衍生的生长因子,acrogranin)编码68.5kDa的分泌型糖蛋白,该糖蛋白具有较小的颗粒体蛋白基序(范围从6kDa-25kDa)的7.5倍重复,该重复可以从前体PGRN中蛋白水解地切割下来(He,Z.& Bateman,J.MoI.Med.[分子医学杂志]81:600-6X2(2003))。在非神经元细胞中,PGRN已经与多个事件相关联,如细胞周期调节和细胞运动(He,Z.& Bateman,A.,J.MoI.Med.[分子医学杂志]57:600-612(2003); Monami,G.等人,Cancer Res.[癌症研究]5(5:7103-7110(2006))、创面修复、炎症(Zhu,J.等人,Ce11[细胞]777:867-878(2002))、生长因子(如血管内皮生长因子(VEGF))的诱导(Tangkeangsin,W.&Serrero,G,Carcinogenesis[致癌作用]25:1587-1592(2004))以及肿瘤发生(He,Z.& Bateman,A.,J.MoI.Med.[分子医学杂志]81:600-612(2003), Monami,G.等人,Cancer Res[癌症研究]5(5:7103-7110(2006); Serrero,G.,Biochem Biophys.Res.Commun.[生物化学和生物物理研究通讯]505-409-413(2003),Lu,R&Serrero,G.,Proc.Natl Acad Sa U.SA[美国国家科学院院刊]98 142-147(2001);Liau,L M.等人,Cancer Res.[癌症研究]60:1353-1360(2000))。

[0049] PGRN突变导致单倍型不足(Baker,M.等人,Nature[自然]442:916-919(2006); Cruts,M.等人,Nature[自然]442:920-924(2006))并且已知存在于将近50%的家族性FTD病例中,使得PGRN突变成为FTD的主要遗传促成因素(Cruts,M.&Van Broeckhoven,C,Trends Genet.[遗传学趋势]24:186-194(2008); Le Ber,I.等人,Brain[脑]129:3051-3065(2006))。PGRN突变的功能缺失杂合性状意味着在健康个体中,PGRN表达在保护健康个体免于患上FTD中发挥剂量依赖性的关键作用。

[0050] 在本发明的背景下,术语“抗体”(Ab)是指免疫球蛋白分子或根据本发明的一些实施方案,免疫球蛋白分子的具有结合到分子(“抗原”)的表位上的能力的片段。天然存在的抗体典型地包含四聚体,该四聚体通常由至少两条重(H)链和至少两条轻(L)链构成。每条重链由重链可变域(在此缩写为VH)和重链恒定域构成,重链恒定域通常由3个结构域(CH1、CH2和CH3)构成。重链可以具有任何同种型,包括IgG(IgG1、IgG2、IgG3和IgG4亚型)。每条轻链由轻链可变域(在此缩写为VL)和轻链恒定域(CL)构成。轻链包括κ链和λ链。重链和轻链

可变域典型地负责抗原识别,而重链和轻链恒定域可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子(包括免疫系统的各种细胞(例如,效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q))的结合。VH和VL域还可以被进一步细分成称作“互补性决定区”的超变区,它们中间穿插着更保守的称为“构架区”(FR)的区域。每个VH和VL由三个CDR域和四个FR域构成,按以下顺序从氨基末端排到羧基末端:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。重链和轻链可变域含有与抗原相互作用的结合域。特别相关的是已经“被分离”以便存在于与它可以在自然界中存在的不同于物理环境中的或者已经被修饰以便在氨基酸序列上不同于天然存在的抗体的抗体及其抗原结合片段。

[0051] 术语“表位”意指能够特异性结合抗体的抗原决定簇。表位通常由如氨基酸或糖侧链分子的表面基团组成,并且通常具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。构象表位和线性表位的区别在于与前者而非后者的结合在变性溶剂的存在下常常缺失。表位可以包含直接牵涉在结合中的氨基酸残基以及其他没有直接牵涉在结合中的氨基酸残基,如被特异性抗原结合肽有效阻断的氨基酸残基(换言之,氨基酸残基在特异性抗原结合肽的影响范围之内)。

[0052] 如在此使用的,术语“抗体的抗原结合片段”意指能够与表位结合的抗体的片段、部分、区域或结构域(无论它是如何产生的(例如,经由切割、重组、合成等)),并且因此术语“抗原结合”旨在意指与“表位结合”是相同的,这样使得例如,“抗体的抗原结合片段”旨在是与“抗体的表位结合片段”是相同的。抗原结合片段可以含有这样的抗体的1、2、3、4、5或所有6个CDR域,并且尽管能够结合到这样的表位,仍可以展现出对不同于这样的抗体的表位的这样的表位的特异性、亲和力或选择性。然而,优选地,抗原结合片段含有这样的抗体的所有6个CDR域。抗体的抗原结合片段可以是单条多肽链(例如,scFv)的一部分或包含单条多肽链,或者可以是两条或更多条多肽链(各自具有氨基末端和羧基末端)(例如,双抗体、Fab片段、Fab₂片段等)的一部分或包含两条或更多条多肽链。可以例如通过完整抗体的蛋白酶切割来获得展现出抗原结合能力的抗体片段。更优选地,尽管Fv片段的两个结构域VL和VH由单独基因或编码这样的基因序列的多核苷酸(例如,其编码cDNA)天然地编码,但是可以将这两个结构域使用重组方法通过柔性接头连接,该柔性接头使得这两个结构域能够成为单条蛋白链,在该单条蛋白链中VL区和VH区缔合以形成单价抗原结合分子(称为单链Fv(scFv);参见例如,Bird等人,(1988) Science[科学]242:423-426;和Huston等人,(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) [美国国家科学院院刊]85:5879-5883)。可替代地,通过采用太短(例如,小于约9个残基)的柔性接头以使得单条多肽链的VL域和VH域缔合在一起,可以形成双特异性抗体、双抗体或类似分子(其中两条这样的多肽链缔合在一起以形成二价抗原结合分子)(关于双抗体的描述,参见例如PNAS USA 90(14),6444-8(1993))。本发明所包括的抗原结合片段的实施例包括(i) Fab'或Fab片段,由VL、VH、CL和CH1域组成的单价片段,或如描述于WO 2007059782中的单价抗体;(ii) F(ab')₂片段,包含两个由二硫键在铰链结构域连接的Fab片段的二价片段;(iii)基本上由VH域和CH1域组成的Fd片段;(iv) Fv片段,实质上由VL和VH结构域组成,(v) dAb片段(Ward等人,Nature[自然]341,544-546(1989)),实质上由VH结构域组成,并且还称为域抗体(Holt等人;Trends Biotechnol.[生物技术趋势]2003年11月;21(11):484-90);(vi) 骆驼抗体或纳米抗体(Revetts等人;Expert Opin Biol Ther.[生物理论专家观点]2005年1月;5(1):11-24)以及(vii)分离的互补

决定区 (CDR)。此外,尽管Fv片段的两个结构域VL和VH由分离基因编码,但是可以使用重组方法通过合成接头将它们连接,该合成接头使得它们能够成为单条蛋白链,在该单条蛋白链中VL域和VH域配对以形成单价分子(称为单链抗体或单链Fv(scFv);参见例如,Bird等人,Science[科学]242,423-426(1988)和Huston等人,PNAS USA 85,5879-5883(1988))。在此进一步讨论在本发明的背景下的这些和其他有用抗体片段。还应理解的是,除非另外指明,否则术语抗体还包括抗体样多肽,如通过任何已知技术(如酶促切割、肽合成和重组技术)提供的嵌合抗体和人源化抗体以及保留与抗原结合能力的抗体片段(抗原结合片段)。这样产生的抗体可以具有任何同种型。如在此使用的,“同种型”是指由重链恒定结构域基因编码的免疫球蛋白类别(例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)。使用本领域的普通技术人员已知的常规技术获得这类抗体片段;可以按与完整抗体相同的方式针对实用性容易地对能够与希望的表位结合的适合片段进行筛选。

[0053] 术语“双特异性抗体”是指含有各自靶向独立靶标的两个独立抗原结合片段的抗体。这些靶标可以是存在于不同蛋白上的表位或存在于相同靶标上的不同表位。可以使用亲本单特异性二价抗体分子的HC的恒定域中的补偿氨基酸变化制备双特异性抗体分子。所得异源二聚体抗体含有一个由两个不同亲本单特异性抗体贡献的Fab。Fc域中的氨基酸变化导致具有随时间稳定的双特异性的异源二聚体抗体的稳定性增加。(Ridgway等人,Protein Engineering[蛋白质工程]9,617-621(1996);Gunasekaran等人,JBC 285,19637-1(2010);Moore等人,MAB 3:6 546-557(2011);Strop等人,JMB 420,204-219(2012);Metz等人,Protein Engineering[蛋白质工程]25:10 571-580(2012);Labrijn等人,PNAS 110:113,5145-5150(2013);Spreter Von Kreudenstein等人,MAB 5:5 646-654(2013))。双特异性抗体还可以包括使用ScFv融合物产生的分子。然后将两个单特异性scfv独立地连接至能够形成稳定异源二聚体的Fc域,以产生单个双特异性分子(Mabry等人,PEDS 23:3 115-127(2010))。双特异性分子具有双重结合能力。

[0054] “抗分拣蛋白抗体”或“分拣蛋白抗体”(取决于书写它的背景,在此可互换地使用)是特异性地结合到分拣蛋白,并且尤其是结合到分拣蛋白E区SEQ ID NO:146的抗体其抗原结合片段。结合到分拣蛋白E区的抗分拣蛋白抗体通常将以或低于22nM,如在22nM与1nM之间、在10nM与1nM之间或在5nM与1nM之间,或甚至更高,如在约1pM或1pM至5pM的亲和力(IC50)结合到E-区内的1、2、3、4、5、6或7个连续氨基酸的构象表位或线性表位。

[0055] 如在此使用的,术语“人抗体”(其可以缩写为“humAb”或“HuMab”)旨在包括具有衍生自人种系免疫球蛋白序列的可变域和恒定域的抗体。本发明的人抗体可以包括不是由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,在体外通过随机或位点特异性诱变或在基因重排期间或在体内通过体细胞突变引入的突变)。

[0056] 如在此使用的,术语“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”是指单分子组合物的抗体分子制剂。常规的单克隆抗体组合物表现出对特定表位的单一结合特异性和亲和力。在某些实施方案中,单克隆抗体可以由多于一种Fab域构成,由此增加对多于一种靶标的特异性。术语“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”并不旨在受限于任何具体产生方法(例如,重组的、转基因的、杂交瘤等)。

[0057] 术语“抗体XX”旨在表示以下抗体或其抗原结合片段(例如抗体“6003-056”),其包含如由其对应SEQ ID NO定义的轻链、轻链可变域或轻链可变域CDR1-3和如由其对应SEQ

ID NO定义的重链、重链可变域或重链可变域CDR1-3或者由其组成。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段通过包括如由其SEQ ID NO定义的其整个重链可变域和如由其SEQ ID NO定义的其轻链可变域定义。

[0058] 氨基酸残基的编号可以通过以下进行:IMGT®, 国际免疫遗传学信息系统® (the international ImMunoGeneTics information system®) 或Kabat,E.A.、Wu, T.T.、Perry,H.M.、Gottesmann,K.S.&Foeller,C. (1991). Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学目的蛋白质序列],第5版,NIH出版号91-3242美国健康与人服务部(U.S.Department of Health and Human Services);Chothia,C.&Lesk,A.M. (1987),或Canonical structures For The Hypervariable domains Of Immunoglobulins.[免疫球蛋白的高变结构域的典型结构],J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]196,901-917。

[0059] 如在此使用的,抗体或其抗原结合片段被说成“特异性地”结合另一分子的区域(即,表位),如果它相对于替代表位与该表位更加频繁地、更加快速地、以更长的持续时间和/或以更大的亲和力或亲合力反应或缔合的话。在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段相对于另一分子至少强10倍地与其靶标(分拣蛋白)结合;优选地强至少50倍并且更优选地强至少100倍。优选地,抗体或其抗原结合片段在生理条件下(例如,在体内)结合。因此,所谓“特异性地结合到分拣蛋白”,我们包括该抗体或其抗原结合片段以这样的特异性和/或在这样的条件下结合到分拣蛋白上的能力。适合于确定这样的结合的方法是本领域的普通技术人员已知的,并且示例性方法描述在所附实施例中。如在此使用的,在抗体与预定抗原结合的背景下,术语“结合”典型地是指以对应于约 10^{-7} M或更小(如约 10^{-8} M或更小、如约 10^{-9} M或更小)的KD的亲和力结合,当用抗原作为配体并且抗体作为分析物在BIAcore®3000或T200仪器中通过例如表面等离子体共振 (SPR) 技术确定时,并且以对应于以下KD的亲和力结合到预定抗原,该KD比该抗体对与除预定抗原或紧密相关抗原之外的非特异性抗原(例如,BSA、酪蛋白)结合的亲和力低至少十倍,如低至少100倍、例如低至少1,000倍、如低至少10,000倍、例如低至少100,000倍。使亲和力更低的量依赖于抗体的KD,从而当抗体的KD非常低时(即抗体是高度特异性的),则使针对抗原的亲和力低于针对非特异性抗原的亲和力的量可以是至少10,000倍。具体而言,本发明涉及抗分拣蛋白抗体,当使用Octet384RED通过例如生物膜层干涉技术确定时(实施例7),其展现出对应于或低于22nM(如在22nM与1nM之间、在10nM与1nM之间或在5nM与1nM之间)的结合亲和力。

[0060] 在本发明的某些实施方案中,本发明涉及能够与humAb抗体30或humAb抗体900竞争与分拣蛋白结合的抗体或其抗原结合片段。在另一个实施方案中,本发明涉及能够与抗体30竞争与如在SEQ ID NO:146中定义的分拣蛋白的E区结合的抗体或其抗原结合片段。这种竞争性结合抑制可以使用本领域熟知的测定和方法确定,例如使用固定有人分拣蛋白的BIAcore®芯片并且与参考抗体(如抗体“30”或“900”),与和不与有待测试的抗体多肽孵育。可替代地,可以使用成对映射方法,其中参考抗体(如抗体“30”或“900”)被固定到BIAcore®芯片的表面,人分拣蛋白抗原被结合到固定的抗体,并且然后测试第二抗体同时结合人分拣蛋白的能力(参见‘BIAcore® Assay Handbook[BIAcore®测定手册]’,GE 医疗集团生命科学部(GE Healthcare Life Sciences),29-0194-00 AA 05/2012;将其披

露通过引用结合在此)。可替代地,使用Octet 384Red(实施例7&8)或类似方法以证明竞争性结合。

[0061] 如在此使用的,术语“ k_d ”(sec⁻¹或1/s)是指特定抗体-抗原相互作用的解离速率常数。所述值又称为 k_{off} 值。

[0062] 如在此使用的,术语“ k_a ”(M⁻¹x sec⁻¹或1/Msec)是指特定抗体-抗原相互作用的缔合速率常数。

[0063] 如在此使用的,术语“ K_D ”(M)是指特定抗体-抗原相互作用的解离平衡常数并且通过 k_d 除以 k_a 获得。

[0064] 如在此使用的,术语“ K_A ”(M⁻¹或1/M)是指特定抗体-抗原相互作用的缔合平衡常数并且通过 k_a 除以 k_d 获得。

[0065] 在一个实施方案中,本发明涉及展现出以下特性中的一种或多种的抗体或其抗原结合片段:

[0066] (i) 在0.5nM-10nM(如1nM-5nM或1nM-2nM)之间的对分选蛋白的结合亲和力(K_D);

[0067] (ii) 减少和/或抑制表达分选蛋白的细胞清除PGRN的能力;

[0068] (iii) 减少和/或抑制表达分选蛋白的细胞对PGRN的内吞的能力;

[0069] (iv) 增加表达人分选蛋白的敲入小鼠的血浆中的PGRN量和/或浓度的能力。

[0070] 术语“减少和/或抑制表达分选蛋白的细胞清除PGRN的能力”包括将培养基中的PGRN浓度增加至少20%(如在25%与500%之间、在25%与400%之间或在25%与200%之间)的能力,如通过ELISA测定如实施例9中所披露的测量的。

[0071] “增加表达人分选蛋白的敲入小鼠的血浆中的PGRN量和/或浓度的能力”包括将血浆中的PGRN浓度增加至少25%但优选在50%与500%之间的能力,如通过ELISA测定如实施例10中所披露的测量的。

[0072] 在一些抗体中,仅需CDR的一部分(即结合所需的CDR残基亚群,称为SDR)在人源化抗体中保持结合。可以通过分子建模和/或凭经验或者如在Gonzales,N.R.等人,(2004)“SDR Grafting Of A Murine Antibody Using Multiple Human Germline Templates To Minimize Its Immunogenicity[使用多个人种系模板对鼠类抗体进行SDR接枝以最小化其免疫原性],”Mol.Immunol.[分子免疫学]41:863-872中所述的,基于先前研究(例如CDR H2中的残基H60-H65通常是不需要的)从位于乔西亚(Chothia)超变环外的卡巴特CDR区域(参见,Kabat等人,(1992)Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学关注的蛋白序列],National Institutes of Health[美国国立卫生研究院]公开号91-3242; Chothia,C.等人,(1987)“Canonical Structures For The Hypervariable Regions Of Immunoglobulins[免疫球蛋白的超变区的典型结构],”J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]196:901-917)中鉴定不接触相关表位并且不在SDR中的CDR残基。在此类人源化抗体中,在一个或多个供体CDR残基不存在或整个供体CDR被省略的位置处,占据该位置的氨基酸可以是在受体抗体序列中占据相应位置(通过Kabat编号)的氨基酸。在包含在内的CDR中受体对供体氨基酸的这样的取代的数目反映了竞争考虑的平衡。这样的取代在降低人源化抗体中的小鼠氨基酸的数目方面并且因此在降低潜在的免疫原性方面是潜在有利的。然而,取代还可以引起亲和力变化,并且优选避免亲和力的显著减少。还可以凭经验选择CDR内的取代位置和待取代的氨基酸。

[0073] CDR残基的单个氨基酸改变可以导致失去功能性结合的事实 (Rudikoff, S. 等人, (1982) “Single Amino Acid Substitution Altering Antigen-binding Specificity [单个氨基酸取代改变抗原结合特异性],” Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) [美国国家科学院院刊] 79(6):1979-1983) 提供了用于系统性鉴定可替代的功能性CDR序列的手段。在用于获得此类变体CDR的一个优选方法中, 诱变编码CDR的多核苷酸 (例如经由随机诱变或通过定点方法 (例如聚合酶链介导的采用编码突变座位的引物进行的扩增)) 以产生具有经取代的氨基酸残基的CDR。通过比较原始 (功能性) CDR序列中的相关残基的身份与取代的 (非功能性) 变体CDR序列的身份, 可以鉴定出该取代的BLOSUM62.ii j取代得分。BLOSUM系统提供了通过分析序列数据库创建的氨基酸取代矩阵, 用于可信比对 (Eddy, S.R. (2004) “Where Did The BLOSUM62 Alignment Score Matrix Come From? [BLOSUM62比对得分矩阵来自哪里?]” Nature Biotech. [自然生物技术] 22(8):1035-1036; Henikoff, J.G. (1992) “Amino acid substitution matrices from protein blocks [来自蛋白嵌段的氨基酸取代矩阵],” Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) [美国国家科学院院刊] 89:10915-10919; Karlin, S. 等人, (1990) “Methods For Assessing The Statistical Significance Of Molecular Sequence Features By Using General Scoring Schemes [通过使用通用评分方案评估分子序列特征的统计显著性的方法]” Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) [美国国家科学院院刊] 87:2264-2268; Altschul, S.F. (1991) “Amino Acid Substitution Matrices From An Information Theoretic Perspective [来自信息理论视角的氨基酸取代矩阵]” J. Mol. Biol. [分子生物学杂志] 219, 555-565。目前, 最先进的BLOSUM数据库是BLOSUM62数据库 (BLOSUM62.ii j)。表1呈现了BLOSUM62.ii j取代得分 (得分越高取代越保守, 并且因此更加可能地, 该取代将不会影响功能)。如果包含所得CDR的抗原结合片段不能结合到分选蛋白, 例如, 则BLOSUM62.ii j取代得分被认为是不充分保守的, 并且选择且产生新的具有更高取代得分的候选取代。因此, 例如, 如果原始残基是谷氨酸 (E) 并且非功能性取代残基是组氨酸 (H), 则BLOSUM62.ii j取代得分将为0, 并且更保守的变化 (如到天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺或赖氨酸) 是优选的。

表 1

[0074]

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	+4	-1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	+1	0	-3	-2	0

[0075]

R	-1	+5	0	-2	-3	+1	0	-2	0	-3	-2	+2	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	-3
N	-2	0	+6	+1	-3	0	0	0	+1	-3	-3	0	-2	-3	-2	+1	0	-4	-2	-3
D	-2	-2	+1	+6	-3	0	+2	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	-1	-4	-3	-3
C	0	-3	-3	-3	+9	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
Q	-1	+1	0	0	-3	+5	+2	-2	0	-3	-2	+1	0	-3	-1	0	-1	-2	-1	-2
E	-1	0	0	+2	-4	+2	+5	-2	0	-3	-3	+1	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	+6	-2	-4	-4	-2	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
H	-2	0	+1	-1	-3	0	0	-2	+8	-3	-3	-1	-2	-1	-2	-1	-2	-2	+2	-3
I	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	+4	+2	-3	+1	0	-3	-2	-1	-3	-1	+3
L	-1	-2	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	+2	+4	-2	+2	0	-3	-2	-1	-2	-1	+1
K	-1	+2	0	-1	-3	+1	+1	-2	-1	-3	-2	+5	-1	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
M	-1	-1	-2	-3	-1	0	-2	-3	-2	+1	+2	-1	+5	0	-2	-1	-1	-1	-1	+1
F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	+6	-4	-2	-2	+1	+3	-1
P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	+7	-1	-1	-4	-3	-2
S	+1	-1	+1	0	-1	0	0	0	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	+4	+1	-3	-2	-2
T	0	-1	0	-1	-1	-1	-1	-2	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	+1	+5	-2	-2	0
W	-3	-3	-4	-4	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-1	+1	-4	-3	-2	+11	+2	-3
Y	-2	-2	-2	-3	-2	-1	-2	-3	+2	-1	-1	-2	-1	+3	-3	-2	-2	+2	+7	-1
V	0	-3	-3	-3	-1	-2	-2	-3	-3	+3	+1	-2	+1	-1	-2	-2	0	-3	-1	+4

[0076] 本发明因此考虑了随机诱变用于鉴定改进的CDR的用途。在本发明的背景下,保守取代可以由反映在以下三个表中的一个或多个中的氨基酸类别内的取代定义:

[0077] 保守取代的氨基酸残基类别:

[0078]

表 2	
酸性残基	Asp (D) 和 Glu (E)
碱性残基	Lys (K)、Arg (R) 和 His (H)
亲水性不带电残基	Ser (S)、Thr (T)、Asn (N) 和 Gln (Q)
脂肪族不带电残基	Cly (G)、Ala (A)、Val (V)、Leu (L) 和 Ile (I)
非极性不带电残基	Cys (C)、Met (M) 和 Pro (P)
芳香族残基	Phe(F)、Tyr (Y) 和 Trp (W)

[0079] 替代性保守氨基酸残基取代类别:

[0080]

表 3			
1	A	S	T
2	D	E	
3	N	Q	
4	R	K	
5	I	L	M
6	F	Y	W

[0081] 氨基酸残基的可替代性物理和功能分类:

[0082]

表 4	
含有醇基基团的残基	S 和 T
脂肪族残基	I、L、V 和 M
环烯基相关残基	F、H、W 和 Y
疏水性残基	A、C、F、G、H、I、L、M、R、T、V、W 和 Y
带负电荷的残基	D 和 E
极性残基	C、D、E、H、K、N、Q、R、S 和 T
带正电荷的残基	H、K 和 R
小残基	A、C、D、G、N、P、S、T 和 V
非常小的残基	A、G 和 S
涉及转角形成的残基	A、C、D、E、G、H、K、N、Q、R、S、P 和 T
柔性残基	Q、T、K、S、G、P、D、E 和 R

[0083] 更保守的取代分组包括: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-缬氨酸以及天冬酰胺-谷氨酰胺。

[0084] 另外组的氨基酸还可以使用描述于例如Creighton(1984) Proteins: Structure and Molecular Properties[蛋白:结构和分子特性](第2版,1993),W.H.弗里曼公司(W.H.Freeman and Company)中的原则来配制。

[0085] 噬菌体展示技术可以可替代地用于增加(或降低)CDR亲和力。被称为亲和力成熟的这种技术采用诱变或“CDR步移”并且重新选择使用靶抗原或其抗原性抗原结合片段来鉴定具有如下CDR的抗体,这些CDR当与初始抗体或亲本抗体相比时以更高(或更低)亲和力结合到抗原(参见例如,Glaser等人,(1992)J. Immunology[免疫学杂志]149:3903)。诱变整个密码子而不是单个核苷酸产生氨基酸突变的半随机谱。可构建由一组变体克隆所组成的库,每一克隆都在单个CDR中相差单个氨基酸改变,并且这些克隆包含代表了每个CDR残基的每个可能氨基酸取代的变体。可通过使固定化突变体与标记的抗原相接触来筛选对抗原的结合亲和力增加(或减少)的突变体。本领域中已知的任何筛选方法(例如ELISA)可以用于鉴定对抗原具有增加或降低的亲合力的突变体抗体(参见Wu等人,1998, Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.)[美国国家科学院院刊]95:6037;Yelton等人,1995, J. Immunology[免疫学杂志]155:1994)。可以可能地使用使轻链随机化的CDR步移(参见例如Schier等人,1996,J.Mol.Bio.[分子生物学杂志]263:551)。

[0086] 用于完成此类亲和力成熟的方法描述于以下中,例如:Krause,J.C.等人(2011)“An Insertion Mutation That Distorts Antibody Binding Site Architecture Enhances Function Of A Human Antibody[扭曲抗体结合位点构造的插入突变增强了人类抗体的功能]”,MBio.2(1)pii:e00345-10.doi:10.1128/mBio.00345-10;Kuan,C.T.等人(2010)“Affinity-Matured Anti-Glycoprotein NMB Recombinant Immunotoxins Targeting Malignant Gliomas And Melanomas[靶向恶性胶质瘤和黑色素瘤的亲和力成熟的抗糖蛋白NMB重组免疫毒素]”,Int.J.Cancer[国际癌症杂志]10.1002/ijc.25645;Hackel,B.J.等人(2010)“Stability And CDR Composition Biases Enrich Binder Functionality Landscapes[稳定性和CDR组成偏移丰富了结合物功能景观]”,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]401(1):84-96;Montgomery,D.L.等人(2009)“Affinity Maturation And Characterization Of A Human Monoclonal Antibody Against HIV-1 gp41[针对HIV-1gp41的人类单克隆抗体的亲和力成熟和表征]”,MAntibodies[M抗体]1(5):462-474;Gustchina,E.等人(2009)“Affinity Maturation By Targeted Diversification Of The CDR-H2 Loop Of A Monoclonal Fab Derived From A Synthetic **Naïve** Human Antibody Library And Directed Against The Internal Trimeric Coiled-Coil Of Gp41 Yields A Set Of Fantibodies With Improved HIV-1Neutralization Potency And Breadth[通过源自合成原初人类抗体文库并且针对Gp41的内部三聚卷曲螺旋的单克隆F抗体的CDR-H2环的靶向多样化的亲和力成熟产生了一组具有改进的HIV-1中和效力和幅度的Fab]”,Virology[病毒学]393(1):112-119;Finlay,W.J.等人(2009)“Affinity Maturation Of A Humanized Rat Antibody For Anti-RAGE Therapy:Comprehensive Mutagenesis Reveals A High Level Of Mutational Plasticity Both Inside And Outside The Complementarity-Determining Regions[用于抗RAGE治疗的人源化大鼠抗体的亲和力成熟:全面诱变揭示在互补决定区内外同时存在的高水平的突变可塑性]”,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]388(3):541-558;Bostrom,J.等人(2009)“Improving Antibody Binding Affinity And Specificity For Therapeutic Development[改进抗体结合亲和力和特异性用于治疗开发]”,Methods Mol.Biol.[分子生物学方法],525:353-376;Steidl,S.等人(2008)“In Vitro Affinity Maturation Of Human GM-CSF Antibodies By Targeted CDR-Diversification[通过靶向的CDR多样化的人类GM-CSF抗体的体外亲和力成熟]”,Mol.Immunol.[分子免疫学]46(1):135-144;和Barderas,R.等人(2008)“Affinity Maturation Of Antibodies Assisted By In Silico Modeling[通过计算机建模辅助的抗体的亲和力成熟]”,Proc.Natl.Acad.Sci.(USA)[美国国家科学院院刊]105(26):9029-9034。

[0087] 因此,所包含的抗体或其抗原结合片段的CDR变体的序列可以通过取代而不同于亲本抗体的CDR的序列;例如取代的4个氨基酸残基、3个氨基酸残基、2个氨基酸残基或氨基酸残基中的1个。根据本发明的实施方案,进一步设想的是在CDR区中的氨基酸可以用如在上表3中定义的保守取代来取代。

[0088] 术语“转基因非人动物”是指具有包含一个或多个重链和/或轻链转基因或转染色体(整合或未整合进动物的天然基因组DNA)的基因组并且能够表达全人抗体的非人动物。例如,转基因小鼠可以具有人轻链转基因和人重链转基因或人重链转染色体,这样使得

当用分选蛋白抗原和/或表达分选蛋白的细胞免疫时,该小鼠产生人抗分选蛋白抗体。人重链转基因可以被整合进小鼠的染色体DNA中,转基因小鼠就是这样,例如HuMAb小鼠,如HCo7或HCo12小鼠,或者人重链转基因可以被维持在染色体外,如描述于WO 02/43478中的转染色体KM小鼠就是这样。这样的转基因和转染色体小鼠(在此统称为“转基因小鼠”)通过经历V-D-J重组和同种型转换能够产生多种针对给定抗原的人单克隆抗体同种型(如IgG、IgA、IgM、IgD和/或IgE)。

[0089] 转基因非人动物还可以通过引入编码这样的特异性抗体的基因(例如通过将这些抗体基因可操作地连接到在该动物的乳中表达的编码蛋白的基因)而用于产生针对特定抗原的抗体。

[0090] 如在此使用的术语“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”意指改善、减缓、减弱或逆转疾病或障碍的进展或严重性,或者改善、减缓、减弱或逆转这种疾病或障碍的一种或多种症状或副作用。出于本发明的目的,“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”另外意指用于获得有益的或希望的临床结果的方法,其中“有益的或希望的临床结果”包括但不限于症状的缓解、障碍或疾病程度的减小、稳定化的(即没有恶化的)疾病或障碍状态、疾病或障碍状态进展的延缓或减缓、疾病或障碍状态的改善或减轻以及疾病或障碍的缓解,不论是部分地或全部地、可检出的或不可检出的。

[0091] 当应用于本发明的抗体或其抗原结合片段时,“有效量”是指以所需剂量并且持续所需时间段足以达到预期生物效应或希望的治疗结果(包括但不限于临床结果)的量。当应用于本发明的抗体或其抗原结合片段时,短语“治疗有效量”旨在表示足以改善、减轻、稳定、逆转、减缓、减弱或延缓障碍或疾病状态的进展,或者该障碍或疾病的症状的进展的抗体或其抗原结合片段的量。在实施方案中,本发明的方法提供了抗体或其抗原结合片段与其他化合物组合的给药。在此类情况下,“有效量”是足以引起预期的生物效应的该组合的量。

[0092] 本发明的抗分选蛋白抗体或其抗原结合片段的治疗有效量可以根据以下因素而变化,如个体的疾病状态、年龄、性别和体重,以及抗分选蛋白抗体或其抗原结合片段在个体中引起希望的应答的能力。治疗有效量还是抗体或抗体部分的有益治疗效果超过其任何毒性或有害效果的量。

[0093] 本发明的抗体优选是人或人源化抗体。

[0094] 这个区域中的氨基酸残基的编号可以使用以下来进行,例如:IMGT®, 国际免疫遗传学信息系统®(the international ImMunoGeneTics information system®)或Kabat,E.A.、Wu,T.T.、Perry,H.M.、Gottesmann,K.S.&Foeller,C.(1991).Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学目的蛋白序列],第5版,NIH出版号91-3242美国健康与人服务部(U.S.Department of Health and Human Services);Chothia,C.&Lesk,A.M.(1987),或Canonical structures For The Hypervariable domains Of Immunoglobulins.[免疫球蛋白的高变结构域的典型结构]J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]196,901-917。

[0095] 抗体6003-028:

[0096] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

- [0097] (a) 具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链CDR1;
- [0098] (b) 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链CDR2;
- [0099] (c) 具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链CDR3;
- [0100] (d) 具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链CDR1;
- [0101] (e) 具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的轻链CDR2;和
- [0102] (f) 具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链CDR3;
- [0103] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:109的重链可变域和SEQ ID NO:110的轻链可变域或者由其组成。
- [0104] 抗体6003-056:
- [0105] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:
- [0106] a. 包含SEQ ID NO:7的重链可变域CDR1;
- [0107] b. 包含SEQ ID NO:8的重链可变域CDR 2;
- [0108] c. 包含SEQ ID NO:9的重链可变域CDR 3;
- [0109] d. 包含SEQ ID NO:10的轻链可变域CDR 1;
- [0110] e. 包含SEQ ID NO:11的轻链可变域CDR 2;和
- [0111] f. 包含SEQ ID NO:12的轻链可变域CDR 3。
- [0112] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:111的重链可变域和SEQ ID NO:112的轻链可变域或者由其组成。
- [0113] 抗体6003-1286:
- [0114] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:
- [0115] a. 包含SEQ ID NO:13的重链可变域CDR1;
- [0116] b. 包含SEQ ID NO:14的重链可变域CDR 2;
- [0117] c. 包含SEQ ID NO:15的重链可变域CDR 3;
- [0118] d. 包含SEQ ID NO:16的轻链可变域CDR 1;
- [0119] e. 包含SEQ ID NO:17的轻链可变域CDR 2;和
- [0120] f. 包含SEQ ID NO:18的轻链可变域CDR 3。
- [0121] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:113的重链可变域和SEQ ID NO:114的轻链可变域或者由其组成。
- [0122] 抗体6003-030:
- [0123] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:
- [0124] a. 包含SEQ ID NO:19的重链可变域CDR1;
- [0125] b. 包含SEQ ID NO:20的重链可变域CDR 2;
- [0126] c. 包含SEQ ID NO:21的重链可变域CDR 3;
- [0127] d. 包含SEQ ID NO:22的轻链可变域CDR 1;
- [0128] e. 包含SEQ ID NO:23的轻链可变域CDR 2;和
- [0129] f. 包含SEQ ID NO:24的轻链可变域CDR 3。
- [0130] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:115的重链可变域和SEQ ID NO:116的轻链可变域或者由其组成。
- [0131] 抗体6003-1277:

[0132] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0133] a. 包含SEQ ID NO:25的重链可变域CDR1;

[0134] b. 包含SEQ ID NO:26的重链可变域CDR 2;

[0135] c. 包含SEQ ID NO:27的重链可变域CDR 3;

[0136] d. 包含SEQ ID NO:28的轻链可变域CDR 1;

[0137] e. 包含SEQ ID NO:29的轻链可变域CDR 2;和

[0138] f. 包含SEQ ID NO:30的轻链可变域CDR 3。

[0139] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:117的重链可变域和SEQ ID NO:118的轻链可变域或者由其组成。

[0140] 抗体6003-381:

[0141] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0142] a. 包含SEQ ID NO:31的重链可变域CDR1;

[0143] b. 包含SEQ ID NO:32的重链可变域CDR 2;

[0144] c. 包含SEQ ID NO:33的重链可变域CDR 3;

[0145] d. 包含SEQ ID NO:34的轻链可变域CDR 1;

[0146] e. 包含SEQ ID NO:35的轻链可变域CDR 2;和

[0147] f. 包含SEQ ID NO:36的轻链可变域CDR 3。

[0148] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:119的重链可变域和SEQ ID NO:120的轻链可变域或者由其组成。

[0149] 抗体6003-083:

[0150] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0151] a. 包含SEQ ID NO:37的重链可变域CDR1;

[0152] b. 包含SEQ ID NO:38的重链可变域CDR 2;

[0153] c. 包含SEQ ID NO:39的重链可变域CDR 3;

[0154] d. 包含SEQ ID NO:40的轻链可变域CDR 1;

[0155] e. 包含SEQ ID NO:41的轻链可变域CDR 2;和

[0156] f. 包含SEQ ID NO:42的轻链可变域CDR 3。

[0157] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:121的重链可变域和SEQ ID NO:122的轻链可变域或者由其组成。

[0158] 抗体6003-799:

[0159] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0160] a. 包含SEQ ID NO:43的重链可变域CDR1;

[0161] b. 包含SEQ ID NO:44的重链可变域CDR 2;

[0162] c. 包含SEQ ID NO:45的重链可变域CDR 3;

[0163] d. 包含SEQ ID NO:46的轻链可变域CDR 1;

[0164] e. 包含SEQ ID NO:47的轻链可变域CDR 2;和

[0165] f. 包含SEQ ID NO:48的轻链可变域CDR 3。

[0166] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:123的重链可变域和SEQ ID NO:124的轻链可变域或者由其组成。

[0167] 抗体6003-910:

[0168] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0169] a. 包含SEQ ID NO:49的重链可变域CDR1;

[0170] b. 包含SEQ ID NO:50的重链可变域CDR 2;

[0171] c. 包含SEQ ID NO:51的重链可变域CDR 3;

[0172] d. 包含SEQ ID NO:52的轻链可变域CDR 1;

[0173] e. 包含SEQ ID NO:53的轻链可变域CDR 2;和

[0174] f. 包含SEQ ID NO:54的轻链可变域CDR 3。

[0175] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:125的重链可变域和SEQ ID NO:126的轻链可变域或者由其组成。

[0176] 抗体6003-423:

[0177] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0178] a. 包含SEQ ID NO:55的重链可变域CDR1;

[0179] b. 包含SEQ ID NO:56的重链可变域CDR 2;

[0180] c. 包含SEQ ID NO:57的重链可变域CDR 3;

[0181] d. 包含SEQ ID NO:58的轻链可变域CDR 1;

[0182] e. 包含SEQ ID NO:59的轻链可变域CDR 2;和

[0183] f. 包含SEQ ID NO:60的轻链可变域CDR 3。

[0184] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:127的重链可变域和SEQ ID NO:128的轻链可变域或者由其组成。

[0185] 抗体6003-822:

[0186] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0187] a. 包含SEQ ID NO:61的重链可变域CDR1;

[0188] b. 包含SEQ ID NO:62的重链可变域CDR 2;

[0189] c. 包含SEQ ID NO:63的重链可变域CDR 3;

[0190] d. 包含SEQ ID NO:64的轻链可变域CDR 1;

[0191] e. 包含SEQ ID NO:65的轻链可变域CDR 2;和

[0192] f. 包含SEQ ID NO:66的轻链可变域CDR 3。

[0193] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:129的重链可变域和SEQ ID NO:130的轻链可变域或者由其组成。

[0194] 抗体6003-886:

[0195] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0196] a. 包含SEQ ID NO:67的重链可变域CDR1;

[0197] b. 包含SEQ ID NO:68的重链可变域CDR 2;

[0198] c. 包含SEQ ID NO:69的重链可变域CDR 3;

[0199] d. 包含SEQ ID NO:70的轻链可变域CDR 1;

[0200] e. 包含SEQ ID NO:71的轻链可变域CDR 2;和

[0201] f. 包含SEQ ID NO:72的轻链可变域CDR 3。

[0202] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:131的重链可变域和SEQ ID NO:132的轻

链可变域或者由其组成。

[0203] 抗体6003-072:

[0204] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0205] a. 包含SEQ ID NO:73的重链可变域CDR1;

[0206] b. 包含SEQ ID NO:74的重链可变域CDR 2;

[0207] c. 包含SEQ ID NO:75的重链可变域CDR 3;

[0208] d. 包含SEQ ID NO:76的轻链可变域CDR 1;

[0209] e. 包含SEQ ID NO:77的轻链可变域CDR 2;和

[0210] f. 包含SEQ ID NO:78的轻链可变域CDR 3。

[0211] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:133的重链可变域和SEQ ID NO:134的轻链可变域或者由其组成。

[0212] 抗体6003-900:

[0213] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0214] a. 包含SEQ ID NO:79的重链可变域CDR1;

[0215] b. 包含SEQ ID NO:80的重链可变域CDR 2;

[0216] c. 包含SEQ ID NO:81的重链可变域CDR 3;

[0217] d. 包含SEQ ID NO:82的轻链可变域CDR 1;

[0218] e. 包含SEQ ID NO:83的轻链可变域CDR 2;和

[0219] f. 包含SEQ ID NO:84的轻链可变域CDR 3。

[0220] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:135的重链可变域和SEQ ID NO:136的轻链可变域或者由其组成。

[0221] 抗体6003-936:

[0222] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0223] a. 包含SEQ ID NO:85的重链可变域CDR1;

[0224] b. 包含SEQ ID NO:86的重链可变域CDR 2;

[0225] c. 包含SEQ ID NO:87的重链可变域CDR 3;

[0226] d. 包含SEQ ID NO:88的轻链可变域CDR 1;

[0227] e. 包含SEQ ID NO:89的轻链可变域CDR 2;和

[0228] f. 包含SEQ ID NO:90的轻链可变域CDR 3。

[0229] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:137的重链可变域和SEQ ID NO:138的轻链可变域或者由其组成。

[0230] 抗体6003-408:

[0231] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0232] a. 包含SEQ ID NO:91的重链可变域CDR1;

[0233] b. 包含SEQ ID NO:92的重链可变域CDR 2;

[0234] c. 包含SEQ ID NO:93的重链可变域CDR 3;

[0235] d. 包含SEQ ID NO:94的轻链可变域CDR 1;

[0236] e. 包含SEQ ID NO:95的轻链可变域CDR 2;和

[0237] f. 包含SEQ ID NO:96的轻链可变域CDR 3。

[0238] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:139的重链可变域和SEQ ID NO:140的轻链可变域或者由其组成。

[0239] 抗体6003-471:

[0240] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0241] a. 包含SEQ ID NO:97的重链可变域CDR1;

[0242] b. 包含SEQ ID NO:98的重链可变域CDR 2;

[0243] c. 包含SEQ ID NO:99的重链可变域CDR 3;

[0244] d. 包含SEQ ID NO:100的轻链可变域CDR 1;

[0245] e. 包含SEQ ID NO:101的轻链可变域CDR 2;和

[0246] f. 包含SEQ ID NO:102的轻链可变域CDR 3。

[0247] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:141的重链可变域和SEQ ID NO:142的轻链可变域或者由其组成。

[0248] 抗体6003-972:

[0249] 因此,本发明涉及包含以下或由其组成的抗体或其抗原结合片段:

[0250] a. 包含SEQ ID NO:103的重链可变域CDR1;

[0251] b. 包含SEQ ID NO:104的重链可变域CDR 2;

[0252] c. 包含SEQ ID NO:105的重链可变域CDR 3;

[0253] d. 包含SEQ ID NO:106的轻链可变域CDR 1;

[0254] e. 包含SEQ ID NO:107的轻链可变域CDR 2;和

[0255] f. 包含SEQ ID NO:108的轻链可变域CDR 3。

[0256] 优选地,单克隆抗体可以包含SEQ ID NO:143的重链可变域和SEQ ID NO:144的轻链可变域或者由其组成。

[0257] 根据一个实施方案,以上所提及的抗体可以进一步包括与所述CDR1、CDR2和/或CDR3 (HC和/或VC) 序列具有不超过4个氨基酸差异、或不超过3个氨基酸差异、或不超过2个氨基酸差异或不超过1个氨基酸差异的变体。

[0258] 此外,抗体可以与药学上可接受的载体一起处于组合物中。本发明的抗体可以在治疗中使用。具体而言,本发明的抗体可以用于治疗FTD或ALS或蛋白病(如阿尔茨海默病(AD))。

[0259] 通过本发明所设想的治疗可以是长期的并且患者可以接受至少2周(如至少持续1个月、6个月、1年或更久)治疗。

[0260] 本发明的抗体可以例如是通过杂交瘤方法产生的单克隆抗体,该方法首次由Kohler等人,Nature[自然]256,495(1975)进行描述,或者可以通过重组DNA或其他方法产生的单克隆抗体。还可以使用例如,在Clackson等人(Nature[自然]352,624-628(1991))和Marks等人,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]222,581-597(1991)中描述的技术从噬菌体抗体展示文库中分离单克隆抗体。单克隆抗体可以从任何适合的来源获得。因此,例如,单克隆抗体可以从制备自鼠类脾脏B淋巴细胞的杂交瘤获得,这些淋巴细胞获得自用感兴趣的抗原或编码感兴趣的抗原的核酸免疫的小鼠,例如,这些淋巴细胞处于在表面表达该抗原的细胞的形式。单克隆抗体还可以从来源于免疫的人的或来自非人哺乳动物(如大鼠、兔、狗、绵羊、山羊、灵长类动物等)的表达抗体的细胞的杂交瘤获得。

[0261] 在一个实施方案中,本发明的抗体是人抗体。可以使用携带部分人免疫系统而非小鼠系统的转基因或转染色体小鼠产生针对分选蛋白的人单克隆抗体。这样的转基因和转染色体小鼠包括在此分别称为HuMAb小鼠和KM小鼠的小鼠。

[0262] HuMAb小鼠含有人免疫球蛋白基因微座位连同定向突变,该微座位编码非重排人重链可变和恒定(μ 和Y)以及轻链可变和恒定(κ)免疫球蛋白序列,这些定向突变使内源 μ 和K链座位失活(Lonberg,N.等人,Nature[自然]368,856-859(1994))。因此,这些小鼠展示出小鼠IgM或 κ 的表达减少,并且响应于免疫,所引入的人类重链和轻链转基因经历类别转换和体细胞突变以产生高亲和力人类IgG、 κ 单克隆抗体(Lonberg,N.等人(1994),同上;评论于Lonberg,N.,Handbook of Experimental Pharmacology[实验药理学手册]113,49-101(1994)中;Lonberg,N.和Huszar,D.,Intern.Rev.Immunol.[国际免疫学评论]第13卷65-93(1995),以及Harding,F.和Lonberg,N.,Ann.N.Y.Acad.Sci.[纽约科学院年刊]764 536-546(1995))。HuMAb小鼠的制备详细描述于Taylor,L.等人,Nucleic Acids Research[核酸研究]20,6287-6295(1992),Chen,J.等人,International Immunology[国际免疫学]5,647-656(1993),Tuailon等人,J.Immunol.[免疫学杂志]152,2912-2920(1994),Taylor,L.等人,International Immunology[国际免疫学]6,579-591(1994),Fishwild,D.等人,Nature Biotechnology[自然生物技术]14,845-851(1996)。还参见US 5,545,806、US 5,569,825、US 5,625,126、US 5,633,425、US 5,789,650、US 5,877,397、US 5,661,016、US 5,814,318、US 5,874,299、US 5,770,429、US 5,545,807、WO 98/24884、WO 94/25585、WO 93/1227、WO 92/22645、WO 92/03918以及WO 01/09187。

[0263] HCo7、HCo12、HCo17和HCo20小鼠在其内源轻链(κ)基因中具有JKD破坏(如描述于Chen等人,EMBO J.[欧洲分子生物学学会杂志]12,811-820(1993)),在其内源重链基因中具有种CMD破坏(如描述于WO 01/14424的实施例1)以及KCo5人 κ 轻链转基因(如描述于Fishwild等人,Nature Biotechnology[自然生物技术]14,845-851(1996))。此外,HCo7小鼠具有HCo7人重链转基因(如描述于US 5,770,429),HCo12小鼠具有HCo12人重链转基因(如描述于WO 01/14424的实施例2),HCo17小鼠具有HCo17人重链转基因(如描述于WO 01/09187的实施例2)并且HCo20小鼠具有HCo20人重链转基因。所得小鼠在对内源小鼠重链和 κ 轻链座位破坏纯合的背景下表达人免疫球蛋白重链和 κ 轻链转基因。

[0264] 在KM小鼠品系中,内源小鼠 κ 轻链基因已经纯合地破坏,如Chen等人EMBO J.[欧洲分子生物学学会杂志]12,811-820(1993)中所述,并且内源性小鼠重链基因已经纯合地破坏,如在WO 01/09187的实施例1中所述。这个小鼠品系携带人 κ 轻链转基因KCo5,如描述于Fishwild等人,Nature Biotechnology[自然生物技术]14,845-851(1996)中。这个小鼠品系还携带由染色体14片段hCF(SC20)构成的人重链转染色体,如描述于WO 02/43478中。HCo12-Balb/c、HCo17-Balb/c和HCo20-Balb/c小鼠可以通过将HCo12、HCo17和HCo20与KCo5[J/K](Balb)杂交来产生,如描述于WO 09/097006中。

[0265] 在KM小鼠品系中,内源小鼠 κ 轻链基因已经纯合地破坏,如Chen等人EMBO J.[欧洲分子生物学学会杂志]12,811-820(1993)中所述,并且内源性小鼠重链基因已经纯合地破坏,如在WO 01/09187的实施例1中所述。这个小鼠品系携带人 κ 轻链转基因KCo5,如描述于Fishwild等人,Nature Biotechnology[自然生物技术]14,845-851(1996)中。这个小鼠品系还携带由染色体14抗原结合片段hCF(SC20)构成的人重链转染色体,如描述于WO 02/

43478中。

[0266] 来自这些转基因小鼠的脾细胞可以用于根据熟知的技术产生分泌人单克隆抗体的杂交瘤。本发明的人单克隆抗体或多克隆抗体或者源于其他物种的本发明的抗体还可以通过产生对于感兴趣的免疫球蛋白重链和轻链序列而言转基因的另一非人哺乳动物或植物并且从其中产生可回收形式的抗体而转基因地产生。与哺乳动物中的转基因生产相结合,抗体可以从山羊、奶牛或其他哺乳动物的乳中产生和回收。参见例如US 5,827,690、US 5,756,687、US 5,750,172和US 5,741,957。

[0267] 本发明的抗体可以具有任何同种型。同种型的选择典型地将由希望的效应子功能(如ADCC诱导)来指导。示例性同种型是IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。可以使用人轻链恒定域 κ 或 λ 中任一者。如果希望的话,可以通过已知方法转换本发明的抗分选蛋白抗体的类别。例如,最初是IgM的本发明抗体可以类别转换为本发明的IgG抗体。此外,类别转换技术可以用来将一个IgG亚类转化成另一亚类,例如从IgG1到IgG2。因此,本发明的抗体的效应子功能可以通过同种型切换变为例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4抗体,用于各种治疗用途。在一个实施方案中,本发明的抗体是IgG1抗体,例如IgG1, κ 。抗体被说成属于特定同种型,如果其氨基酸序列相对于其他同种型与该同种型大部分同源的话。

[0268] 在一个实施方案中,本发明的抗体是全长抗体,优选IgG抗体,特别是IgG1, κ 抗体。在另一个实施方案中,本发明的抗体是抗体抗原结合片段或单链抗体。

[0269] 抗体及其抗原结合片段可以例如使用常规技术通过抗原结合片段化来获得,并且按与如在此针对完整抗体描述的相同方式针对实用性对抗原结合片段进行筛选。例如,F(ab')₂抗原结合片段可以通过用胃蛋白酶处理抗体而产生。可以处理所得F(ab')₂抗原结合片段,以减少二硫键,从而产生Fab'抗原结合片段。Fab'抗原结合片段可以通过用木瓜蛋白酶处理IgG抗体而获得;Fab'抗原结合片段可以用胃蛋白酶消化IgG抗体而获得。F(ab')₂抗原结合片段还可以经由硫醚键或二硫键通过结合以下描述的Fab'而产生。Fab'抗原结合片段是通过切割F(ab')₂的铰链域的二硫键获得的抗体抗原结合片段。Fab'-抗原结合片段可以通过用还原剂(如二硫苏糖醇)处理F(ab')₂抗原结合片段而获得。抗体抗原结合片段还可以通过在重组细胞中表达编码此类抗原结合片段的核酸而产生(参见例如Evans等人,J.Immunol.Meth.[免疫学方法杂志]184,123-38(1995))。例如,编码F(ab')₂抗原结合片段的一部分的嵌合基因可以包括编码H链的CH1域和铰链域的DNA序列,随后是翻译终止密码子,以产生这样一种截短的抗体抗原结合片段分子。

[0270] 在一个实施方案中,抗分选蛋白抗体是单价抗体,优选如在WO 2007059782(将其通过引用以其全部内容结合在此)中描述的具有铰链区缺失的单价抗体。因此,在一个实施方案中,抗体是单价抗体,其中所述抗分选蛋白抗体通过以下方法构建,该方法包括:i)提供编码所述单价抗体的轻链的核酸构建体,所述构建体包含编码所选抗原特异性抗分选蛋白抗体的VL区的核苷酸序列和编码Ig的恒定CL区的核苷酸序列,其中编码所选抗原特异性抗体的VL区的所述核苷酸序列和编码Ig的CL区的所述核苷酸序列被可操作地连接在一起,并且其中,在IgG1亚型的情况下,编码CL区的核苷酸序列已经被修饰,这样使得在多克隆人IgG的存在下或当给予给动物或人时,该CL区不含有能够与包含该CL区的一致氨基酸序列的其他肽形成二硫键或共价键的任何氨基酸;ii)提供编码所述单价抗体的重链的核酸构建体,所述构建体包含编码所选抗原特异性抗体的VH区的核苷酸序列和编码人Ig的恒定CH

区的核苷酸序列,其中编码CH区的核苷酸序列已经被修饰,这样使得在多克隆人IgG的存在下或当给予给动物人时,对应于铰链区和(如由Ig亚型所要求的)CH区的其他区域(如CH3区)的区域不包含参与和包含人Ig的CH区的一致氨基酸序列的其他肽形成二硫键或共价或稳定的非共价重链间键的任何氨基酸残基,其中编码所选抗原特异性抗体的VH区的所述核苷酸序列和编码所述Ig的CH区的所述核苷酸序列被可操作地连接在一起;iii)提供用于产生所述单价抗体的细胞表达系统;iv)通过在(iii)的细胞表达系统的细胞中共表达(i)和(ii)的核酸构建体来产生所述单价抗体。

[0271] 类似地,在一个实施方案中,抗分拣蛋白抗体是单价抗体,其包含:

[0272] (i)如在此描述的本发明抗体的可变域或所述结构域的抗原结合部分,以及

[0273] (ii)免疫球蛋白的CH域或其包含CH2和CH3域的结构域,其中该CH域或其结构域已经被修饰,这样使得对应于铰链域和(如果该免疫球蛋白不是IgG4亚型的话)CH域的其他结构域(如CH3域)的结构域不包含任何氨基酸残基,这些任何氨基酸残基能够与相同CH域形成二硫键或在多克隆人IgG的存在下与相同CH域形成其他共价或稳定的非共价重链间键。

[0274] 在一个另外的实施方案中,单价抗体的重链已经被修饰,这样使得已经缺失整个铰链区。

[0275] 在另一个另外的实施方案中,单价抗体的序列已经被修饰,这样使得它不包含用于N-连接的糖基化的任何受体位点。

[0276] 本发明还包括“双特异性抗体”,其中抗分拣蛋白结合区(例如,抗分拣蛋白单克隆抗体的分拣蛋白结合区)是靶向一种以上表位的二价或多价双特异性支架的一部分(例如第二表位可以包含主动转运受体的表位,这样使得该双特异性抗体将展现出跨生物屏障(如血脑屏障)的改进的胞转作用)。因此,在另一个另外的实施方案中,抗分拣蛋白抗体的单价Fab可以连接到另外的靶向不同蛋白的Fab或scfv,以产生双特异性抗体。双特异性抗体可以具有双重功能,例如由抗分拣蛋白结合域赋予的治疗功能和可以结合到受体分子以增强跨生物屏障(如血脑屏障)转移的转运功能。

[0277] 本发明的抗体及其抗原结合片段还包括单链抗体。单链抗体是重链和轻链Fv域被连接的肽。在一个实施方案中,本发明提供了单链Fv(scFv),其中本发明的抗分拣蛋白抗体的Fv中的重链和轻链由柔性肽接头(典型地为约10、12、15或更多个氨基酸残基)连接成单条肽链。产生此类抗体的方法描述于例如US 4,946,778;Pluckthun,在The Pharmacology of Monoclonal Antibodies[单克隆抗体药理学],第113卷,Rosenburg和Moore编辑,施普林格出版公司(Springer-Verlag),纽约,第269-315页(1994);Bird等人,Science[科学] 242,423-426(1988);Huston等人,PNAS USA 85,5879-5883(1988)和McCafferty等人,Nature[自然]348,552-554(1990)。单链抗体可以是单价的,如果仅使用单个VH和VL的话;可以是二价的,如果使用两个VH和VL的话;或可以是多价的,如果使用两个以上VH和VL的话。

[0278] 可以通过包含任何适合数目的经修饰的氨基酸和/或与此类偶联取代基缔合来修饰在此描述的抗体及其抗原结合片段。在此背景下适合性通常由至少基本上保留与非衍生化亲本抗分拣蛋白抗体相关的分拣蛋白选择性和/或分拣蛋白特异性的能力决定。一个或多个经修饰的氨基酸的包含在例如增加多肽血清半衰期、降低多肽抗原性或增加多肽储存稳定性中可以有利的。对一种或多种氨基酸进行修饰,例如,在重组产生的过程中与翻译

同时进行或在翻译之后进行(例如,在哺乳动物细胞中表达过程中在N-X-S/T基序上的N-连接的糖基化作用),或通过合成手段进行修饰。经修饰的氨基酸的非限制性实例包括糖基化的氨基酸、硫酸化的氨基酸、异戊二烯化(例如,法尼基化、香叶基-香叶基化(geranyl-geranylated))的氨基酸、乙酰化的氨基酸、酰化的氨基酸、聚乙二醇化的氨基酸、生物素酰化的氨基酸、羧基化的氨基酸、磷酸化的氨基酸等。足够指导本领域中的普通技术人员进行氨基酸修饰的参考文献在文献中相当充分。示例性方案见于Walker (1998) Protein Protocols On CD-Rom[只读型光盘蛋白指南],胡马纳出版社(Humana Press),托托华(Totowa),新泽西州。经修饰的氨基酸可以例如选自糖基化的氨基酸、聚乙二醇化的氨基酸、法尼基化的氨基酸、乙酰化的氨基酸、生物素酰化的氨基酸、偶联到脂质部分的氨基酸或偶联到有机衍化剂的氨基酸。

[0279] 本发明的抗体及其抗原结合片段还可以通过共价偶联到聚合物而化学地修饰,以例如增加其循环半衰期。示例性聚合物和将其附接至肽的方法展示于例如US 4,766,106; US 4,179,337; US 4,495,285和US 4,609,546。另外的说明性聚合物包括聚氧乙基化多元醇和聚乙二醇(PEG)(例如,具有在约1,000g/mol与约40,000g/mol之间,例如在约2,000g/mol与约20,000g/mol之间,例如约3,000g/mol-12,000g/mol的分子量的PEG)。

[0280] 本发明的抗体及其抗原结合片段可以进一步用在诊断方法中或用作诊断成像配体。

[0281] 在一个实施方案中,提供了本发明的包含一个或多个放射性标记的氨基酸的抗体及其抗原结合片段。放射性标记的抗分选蛋白抗体可以用于诊断和治疗两种目的(偶联到放射性标记的分子是另一可能特征)。此类标记的非限制性实例包括但不限于铋(^{213}Bi)、碳(^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C)、铬(^{51}Cr)、钴(^{57}Co 、 ^{60}Co)、铜(^{64}Cu)、镝(^{165}Dy)、铒(^{169}Er)、氟(^{18}F)、钆(^{153}Gd 、 ^{159}Gd)、镓(^{68}Ga 、 ^{67}Ga)、锗(^{68}Ge)、金(^{198}Au)、钬(^{166}Ho)、氢(^3H)、铟(^{111}In 、 ^{112}In 、 ^{113}In 、 ^{115}In)、碘(^{121}I 、 ^{123}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I)、铱(^{192}Ir)、铁(^{59}Fe)、氪($^{81\text{m}}\text{Kr}$)、镧(^{140}La)、镨(^{177}Lu)、锰(^{54}Mn)、钼(^{99}Mo)、氮(^{13}N 、 ^{15}N)、氧(^{15}O)、钯(^{103}Pd)、磷(^{32}P)、钾(^{42}K)、镤(^{142}Pr)、钷(^{149}Pm)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、铑(^{105}Rh)、铷(^{81}Rb 、 ^{82}Rb)、钌(^{82}Ru 、 ^{97}Ru)、钐(^{153}Sm)、钪(^{47}Sc)、硒(^{75}Se)、钠(^{24}Na)、锶(^{85}Sr 、 ^{89}Sr 、 ^{92}Sr)、硫(^{35}S)、锝(^{99}Tc)、铊(^{201}Tl)、锡(^{113}Sn 、 ^{117}Sn)、氙(^{133}Xe)、镱(^{169}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Yb)、钇(^{90}Y)以及锌(^{65}Zn)。用于制备放射性标记的氨基酸和相关肽衍生物的方法在本领域是已知的(参见例如,Junghans等人,Cancer Chemotherapy and Biotherapy[在癌症化疗和生物疗法]655-686(第2版,Chafner和Longo编辑,利平科特瑞文公司(Lippincott Raven)(1996))以及US 4,681,581、US 4,735,210、US 5,101,827、US 5,102,990(US RE35,500)、US 5,648,471和US 5,697,902)。例如,放射性同位素可以氯胺T方法进行偶联(Lindgren, S.等人(1998)“Chloramine-T In High-Specific-Activity Radioiodination Of Antibodies Using N-Succinimidyl-3-(Trimethylstannyl) Benzoate As An Intermediate[使用N-琥珀酰亚胺基-3-(三甲基锡烷基)苯甲酸酯作为中间体的抗体的高比活放射性碘化中的氯胺-T]”,Nucl.Med.Biol.[核医学与生物学]25(7): 659-665;Kurth, M.等人(1993)“Site-Specific Conjugation Of A Radioiodinated Phenethylamine Derivative To A Monoclonal Antibody Results In Increased Radioactivity Localization In Tumor[放射性碘化的苯乙胺衍生物至单克隆抗体的位点特异性偶联在肿瘤中产生增加的放射性]”,J.Med.Chem.[药物化学杂志]36(9):1255-

1261;Rea,D.W.等人(1990)“Site-specifically radioiodinated antibody for targeting tumors[用于靶向肿瘤的位点特异性放射性碘化的抗体]”,Cancer Res.[癌症研究]50(3增刊):857s-861s)。

[0282] 本发明还提供了使用以下可检测地标记的抗分拣蛋白抗体及其抗原结合片段:荧光标记(如稀土螯合物(例如,钆螯合物))、荧光素型标记(例如,荧光素、荧光素异硫氰酸酯、5-羧基荧光素、6-羧基荧光素、二氯三嗪基胺荧光素)、罗丹明型标记(例如,ALEXA FLUOR® 568(英杰公司(Invitrogen))、TAMRA®或丹磺酰氯)、VIVOTAG 680 XL FLUOROCHROME™(珀金埃尔默公司(Perkin Elmer))、藻红蛋白;伞形酮、丽丝胺;花菁;藻红蛋白、德克萨斯红、BODIPY FL-SE®(英杰公司)或其类似物,所有这些都适用于光学检测。可以采用化学发光标记(例如,鲁米诺、荧光素酶、荧光素和水母蛋白)。这种诊断和检测还可以通过将本发明的诊断分子偶合至可检测物质(包括但不限于各种酶,酶包括但不限于辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶)或者偶合至辅基复合体(包括但不限于链霉亲和素/生物素和亲和素/生物素)来完成。

[0283] 可以采用化学发光标记(例如,鲁米诺、荧光素酶、荧光素和水母蛋白)。这种诊断和检测还可以通过将本发明的诊断分子偶合至可检测物质(包括但不限于各种酶,酶包括但不限于辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶)或者偶合至辅基复合体(包括但不限于链霉亲和素/生物素和亲和素/生物素)来完成。还可以采用顺磁性标记,并且优选地使用正电子发射断层术(PET)或单光子发射计算机断层术(SPECT)进行检测。这样的顺磁性标记包括但不限于含有铝(Al)、钡(Ba)、钙(Ca)、铈(Ce)、镝(Dy)、铒(Er)、镱(Eu)、钆(Gd)、钬(Ho)、铱(Ir)、锂(Li)、镁(Mg)、锰(Mn)、钼(M)、钕(Nd)、锆(Os)、氧(O)、钯(Pd)、铂(Pt)、铑(Rh)、钌(Ru)、钐(Sm)、钠(Na)、锶(Sr)、铽(Tb)、铥(Tm)、锡(Sn)、钛(Ti)、钨(W)和锆(Zr)并且特别是 Co^{+2} 、 Cr^{+2} 、 Cr^{+3} 、 Cu^{+2} 、 Fe^{+2} 、 Fe^{+3} 、 Ga^{+3} 、 Mn^{+3} 、 Ni^{+2} 、 Ti^{+3} 、 V^{+3} 和 V^{+4} 的顺磁离子的化合物,使用各种正电子发射断层术的正电子发射金属以及非放射性顺磁金属离子。

[0284] 因此,在一个实施方案中,可以用荧光标记、化学发光标记、顺磁性标记、放射性同位素标记或酶标记来标记本发明的抗分拣蛋白抗体或其分拣蛋白结合片段。可以使用经标记的抗体的片段检测或测量所述分拣蛋白在受试者的脑中的存在或量。这种方法可以包括结合到所述分拣蛋白的抗分拣蛋白抗体或分拣蛋白结合片段的体内成像的检测或测量并且可以包括结合到这样的分拣蛋白的所述抗分拣蛋白抗体或分拣蛋白结合片段的离体成像。

[0285] 在另外的方面,本发明涉及编码本发明的抗体或其抗原结合域的一条或多条多肽链的表达载体。此类表达载体可以用于重组产生本发明的抗体和抗原结合片段。

[0286] 在本发明的背景下,表达载体可以是任何适合的DNA或RNA载体,包括染色体载体、非染色体载体和合成核酸载体(包含一组适合的表达控制元件的核酸序列)。此类载体的实例包括SV40的衍生物、细菌质粒、噬菌体DNA、杆状病毒、酵母质粒、衍生自质粒与噬菌体DNA的組合的载体以及病毒核酸(RNA或DNA)载体。在一个实施方案中,编码抗分拣蛋白抗体的核酸被包含在裸DNA或RNA载体中,包括例如线性表达元件(如描述于例如Sykes和Johnston,Nat Biotech[自然生物技术]12,355-59(1997))、紧凑型核酸载体(如描述于例如US 6,077,835和/或WO 00/70087)、质粒载体(如pBR322、pUC 19/18或pUC 118/119)、“侏

儒(midge)”最小尺寸的核酸载体(如描述于例如Schakowski等人,MoI Ther[分子治疗学] 3,793-800(2001)),或作为沉淀型核酸载体构建体,如CaPO₄沉淀型构建体(如描述于例如WO 00/46147;Benvenisty和Reshef,PNAS USA 83,9551-55(1986);Wigler等人,Cell[细胞]14,725(1978)以及Coraro和Pearson,Somatic Cell Genetics[体细胞遗传学]2,603(1981))。此类核酸载体及其使用在本领域是熟知的(参见例如US 5,589,466和US 5,973,972)。

[0287] 在一个实施方案中,载体适用于在细菌细胞中表达抗分选蛋白抗体或其抗原结合片段。此类载体的实例包括以下表达载体,如BlueScript(Stratagene公司)、pIN载体(Van Heeke&Schuster,J Biol Chem[生物化学杂志]264,5503-5509(1989))、pET载体(Novagen公司,麦迪逊,威斯康星州)等。

[0288] 表达载体还可以是或可替代地是适用于在酵母系统中进行表达的载体。可以采用任何适用于在酵母系统中进行表达的载体。适合的载体包括例如包含组成型或诱导型启动子(如 α 因子、醇氧化酶和PGH)的载体(综述于:F.Ausubel等人编辑的Current Protocols in Molecular Biology[分子生物学实验指南],格林出版和威利国际科学(Greene Publishing and Wiley InterScience)纽约(1987);Grant等人,Methods in Enzymol[酶学方法]153,516-544(1987);Mattanovich,D.等人,Methods Mol.Biol.[分子生物学方法]824,329-358(2012);Celik,E.等人,Biotechnol.Adv.[生物技术进展]30(5),1108-1118(2012);Li,P.等人,Appl.Biochem.Biotechnol.[应用生物化学与生物技术]142(2),105-124(2007);Böer,E.等人,Appl.Microbiol.Biotechnol.[应用微生物学与生物技术]77(3),513-523(2007);van der Vaart,J.M.,Methods Mol.Biol.[分子生物学方法]178,359-366(2002)和Holliger,P.,Methods Mol.Biol.[分子生物学方法]178,349-357(2002))。

[0289] 在本发明的表达载体中,编码抗分选蛋白抗体的核酸可以包含任何适合的启动子、增强子和其他有助于表达的元件或者与其缔合。此类元件的实例包括强表达型启动子(例如,人CMV IE启动子/增强子连同RSV、SV40、SL3-3、MMTV和HIV LTR启动子)、有效的聚(A)终止序列、用于在大肠杆菌中产生质粒的复制起点、作为选择性标记的抗生素抗性基因和/或便利的克隆位点(例如,多聚接头)。核酸还可以包含与组成型启动子(如CMV IE)相对的诱导型启动子(本领域的技术人员应认识到此类术语实际上是在某些条件下的基因表达程度的描述语)。

[0290] 在甚至另外的方面,本发明涉及重组真核或原核宿主细胞(如转染瘤),其产生如在此定义的本发明的抗体或其抗原结合片段或如在此定义的本发明的双特异性分子。宿主细胞的实例包括酵母、细菌和哺乳动物细胞(如CHO或HEK细胞)。例如,在一个实施方案中,本发明提供了包含稳定地整合进细胞基因组中的核酸的细胞,该基因组包含编码本发明的抗分选蛋白抗体或其抗原结合片段的表达的序列。在另一个实施方案中,本发明提供了包含非整合型核酸(如质粒、粘粒、噬菌粒或线性表达元件)的细胞,该核酸包含编码本发明的抗分选蛋白抗体或其抗原结合片段的表达的序列。

[0291] 在另外的方面,本发明涉及用于产生本发明的抗分选蛋白抗体的方法,所述方法包括以下步骤:a)培养如在上文描述的本发明的杂交瘤或宿主细胞,并且b)从培养基中纯化本发明的抗体。

[0292] 在一个实施方案中,本发明涉及一种制剂,如此术语在此使用的,该制剂包含如在此定义的抗分拣蛋白抗体,并且基本上不含天然产生的不能结合到分拣蛋白或不实质性地改变该制剂的抗分拣蛋白功能性的抗体。因此,这样一种制剂不包括天然产生的血清或这样的血清的经纯化的衍生物,该制剂包含抗分拣蛋白抗体和另一种抗体的混合物,所述另一种抗体不改变该制剂的抗分拣蛋白抗体的功能性,其中这样的功能性是:

[0293] (i) 对分拣蛋白的结合亲和力(K_D);

[0294] (ii) a;

[0295] (iii) 减少和/或抑制表达分拣蛋白的细胞清除PGRN的能力;

[0296] (iv) 减少和/或抑制表达分拣蛋白的细胞对PGRN的内吞的能力;

[0297] (v) 增加表达人分拣蛋白的敲入小鼠的血浆中的PGRN量和/或浓度的能力;增加脑中的PGRN量和/或浓度的能力和/或

[0298] (vi) 当长期给予时,提供额颞痴呆(FTD)和/或肌萎缩性侧索硬化症(ALS)的治疗的能力。

[0299] 本发明具体涉及在其氨基酸序列中(在任何其CDR、可变域、构架残基和/或恒定域中)相对于天然存在的抗分拣蛋白抗体的结构具有结构改变的这样一种抗分拣蛋白抗体的制剂,其中所述结构改变使得抗分拣蛋白抗体单克隆抗体相对于由所述天然存在的抗分拣蛋白抗体展现出的功能性展现出显著改变的功能性(即,在功能性方面,差异超过20%、差异超过40%、差异超过60%、差异超过80%、差异超过100%、差异超过150%、差异超过2倍、差异超过4倍、差异超过5倍或差异超过10倍);其中这样的功能性是:

[0300] (i) 对分拣蛋白的结合亲和力(K_D);

[0301] (ii) 减少和/或抑制表达分拣蛋白的细胞清除PGRN的能力;

[0302] (iii) 减少和/或抑制表达分拣蛋白的细胞对PGRN的内吞的能力;

[0303] (iv) 增加表达人分拣蛋白的敲入小鼠的血浆中的PGRN量和/或浓度的能力;

[0304] (v) 增加脑中的PGRN量和/或浓度的能力和/或

[0305] (vi) 当长期给予时,提供额颞痴呆(FTD)、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)和/或阿尔茨海默病(AD)的治疗的能力。

[0306] 尤其是其中这样改变的功能性是结构改变的结果并且因此与它不可分。

[0307] 术语“基本不含”天然产生的抗体是指在此类制剂中完全不存在此类天然产生的抗体,或在此类制剂中包含不实质上影响这些制剂的分拣蛋白结合特性的浓度的此类天然产生的抗体。如果抗体不具有天然产生的对应物或已经从天然伴随该抗体的组分中分离或纯化,则认为该抗体是“分离的”。

[0308] 当它涉及此类制剂时,术语“天然产生的抗体”是指作为活的人或其他动物的免疫系统发挥功能的自然结果在活的人或其他动物体内诱出的抗体(包括天然产生的自身抗体)。

[0309] 因此,本发明的制剂不排除并且的确明确地包括含有抗分拣蛋白抗体和有意添加的另外的抗体的此类制剂,该另外的抗体能够结合到不为分拣蛋白所具有的表位。此类制剂具体包括制剂在治疗额颞痴呆(FTD)和/或肌萎缩性侧索硬化症(ALS)中展现出增强的功效的其实施方案。

[0310] 本发明的抗体的其抗原结合片段可以在不同细胞系中产生,如人细胞系、非人哺

乳动物细胞系和昆虫细胞系,例如CHO细胞系、HEK细胞系、BHK-21细胞系、鼠类细胞系(如骨髓瘤细胞系)、纤维肉瘤细胞系、PER.C6细胞系、HKB-11细胞系、CAP细胞系和HuH-7人细胞系(Dumont等人,2015,Crit Rev Biotechnol.[生物技术评论性综述]9月18日:1-13.,将其内容通过引用包括在此)。

[0311] 在甚至另外的方面,本发明涉及药物组合物,其包含:

[0312] (i) 抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段,两者均如在此定义的,或包含这样一种抗分拣蛋白抗体或其抗原结合片段的制剂,如此术语在此定义的;和

[0313] (ii) 药学上可接受的载体。

[0314] 药物组合物可以用药学上可接受的载体或稀释剂连同任何其他已知的佐剂和赋形剂根据常规技术配制,这些常规技术是如以下披露的那些:Remington:The Science and Practice of Pharmacy[雷明顿:药学科学与实践],第22版,Gennaro编辑,Mack Publishing Co.[马克出版公司],伊斯顿,宾夕法尼亚州,2013。

[0315] 药学上可接受的载体或稀释剂连同任何其他已知的佐剂和赋形剂应该适合于本发明的所选化合物和所选给药方式。基于就表位结合而言对本发明的所选化合物或药物组合物的所希望的生物特性的显著不利影响的缺少(例如,小于实质性影响,10%或更少相对抑制、5%或更少相对抑制等))来确定药物组合物的载体和其他组分的适合性。

[0316] 本发明的药物组合物还可以包含稀释剂、填充剂、盐、缓冲剂、洗涤剂(例如,非离子型洗涤剂,如Tween-20或Tween-80)、稳定剂(例如,糖或无蛋白氨基酸)、防腐剂、组织固定剂、增溶剂和/或适于包含在药物组合物中的其他材料。将稀释剂选择为不影响组合的生物活性。此类稀释剂的实例为蒸馏水、生理磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液、右旋糖溶液和汉克氏溶液。此外,药物组合物或配制品还可以包含其他载体,或无毒的、非治疗性的、非免疫原性的稳定剂等。组合物还可以包含大的、缓慢代谢的大分子,如蛋白、多糖(像壳聚糖)、聚乳酸、聚乙醇酸和共聚物(例如,乳胶功能化的交联琼脂糖、琼脂糖、纤维素等)、聚合氨基酸、氨基酸共聚物以及脂质聚集体(例如,油滴或脂质体)。

[0317] 本发明药物组合物中活性成分的实际剂量水平可以变化,以获得对于特定患者、组合物和给药方式而言有效实现所希望的治疗应答的活性分量。所选的剂量水平将取决于多种药代动力学因素,包括所采用的本发明具体组合物或其酰胺的活性,给药路径,给药时间,所采用的具体化合物的排泄速率,治疗持续时间,与所采用的具体组合物组合使用的其他药物、化合物和/或材料,所治疗患者的年龄、性别、体重、病情、一般健康状况和既往病史以及医学领域熟知的类似因素。

[0318] 药物组合物可以通过任何适合的途径和方式给予,包括:用于预防性和/或治疗性治疗的胃肠外、局部、口服或鼻内手段。在一个实施方案中,胃肠外地给予本发明的药物组合物。如在此使用的短语“胃肠外给药(parenteral administration)”和“胃肠外地给药(administered parenterally)”意指除肠内和局部给药之外的给药方式,通常是通过注射,并且包括表皮、静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眼眶内、心内、真皮内、腹膜内、腱内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、椎管内、颅内、胸腔内、硬膜外以及胸骨内注射和输注。另外的适合的在体内和在体外给予本发明化合物的途径在本领域是熟知的并且可以由本领域的普通技术人员进行选择。在一个实施方案中,通过静脉内或皮下注射或输注给予该药物组合物。

[0319] 药学上可接受的载体包括任何和所有适合的溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂、抗氧化剂和吸收延迟剂以及可与本发明的化合物生理上兼容的类似物。

[0320] 可以在本发明药物组合物中采用的适合的水性和非水性载体的实例包括水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、乙醇、右旋糖、多元醇(如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)及其适合的混合物、植物油(如橄榄油、玉米油、花生油、棉籽油和芝麻油)、羧甲基纤维素胶体溶液、黄蓍胶和可注射有机酯(如油酸乙酯)和/或各种缓冲剂。其他载体在制药领域是熟知的。

[0321] 药学上可接受的载体包括无菌水溶液或分散体和用于临时制备无菌注射液或分散体的无菌粉剂。使用此类介质和试剂用于药物活性物质在本领域是已知的。除了在任何常规介质或试剂与活性化合物不兼容的情况下,考虑了其在本发明药物组合物中的使用。

[0322] 可以例如通过使用包衣材料(如卵磷脂),通过维持所需的粒度(在分散体的情况下)和通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。

[0323] 本发明的药物组合物还可以包含药学上可接受的抗氧化剂,例如(1)水溶性抗氧化剂,如抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等;(2)油溶性抗氧化剂,如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基羟基茴香醚(BHA)、丁基羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚等;以及(3)金属螯合剂,如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸等。

[0324] 本发明的药物组合物还可以在组合物中包含等渗剂,如糖、多元醇(如甘露醇、山梨醇、甘油)或氯化钠。

[0325] 本发明的药物组合物还可以含有一种或多种适用于所选给药途径的佐剂,如防腐剂、润湿剂、乳化剂、分散剂、防腐剂或缓冲剂,这些试剂可以增强药物组合物的保质期或有效性。本发明的化合物可以与载体一起制备,这些载体可以保护化合物免于被快速释放,如控释配制品,包括植入物、透皮贴剂和微囊化递送系统。此类载体可以包括明胶、单硬脂酸甘油酯、二硬脂酸甘油酯、可生物降解的生物兼容聚合物(如乙烯乙酸乙烯酯、聚酞、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸)(单独的或与蜡一起)或本领域熟知的其他材料。用于制备此类配制品的方法通常是本领域普通技术人员已知的。参见例如,Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems[缓释和控释递药系统],J.R.Robinson编辑,马歇尔德克公司(Marcel Dekker, Inc.),纽约,1978。

[0326] 在一个实施方案中,可以将本发明的化合物配制成确保在体内恰当分布。用于胃肠外给药的药学上可接受的载体包括无菌水溶液或分散体和用于临时制备无菌注射液或分散体的无菌粉剂。使用此类介质和试剂用于药物活性物质在本领域是已知的。除了在任何常规介质或试剂与活性化合物不兼容的情况下,考虑了其在本发明药物组合物中的使用。还可以将补充活性化合物掺入组合物中。

[0327] 注射用药物组合物通常在生产和保存条件下典型地必须是无菌且稳定的。可以将组合物配制为溶液、微乳液、脂质体或适于高药物浓度的其他有序结构。载体可以是含有例如水、乙醇、多元醇(如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)及其适合的混合物、植物油(如橄榄油)和可注射有机酯(如油酸乙酯)的水性或非水性溶剂或分散介质。可以例如通过使用包衣(如卵磷脂),通过维持所需的粒度(在分散体的情况下)和通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。在许多情况下,优选的是在组合物中包括等渗剂,例如糖、多元醇(如甘油、甘露醇、山梨醇)或氯化钠。可注射组合物的延长吸收可以通过在组合物中包括延迟抗体吸收的试

剂(例如单硬脂酸盐和明胶)来实现。无菌可注射溶液可通过按需要将处于适当溶剂中的所需量的活性化合物与例如如上文列举的成分中的一种或组合掺在一起、随后微滤除菌来制备。通常,通过将活性化合物掺入无菌运载体中来制备分散体,该无菌运载体包含基础分散介质以及例如来自以上列举的那些的所需的成分。在无菌粉末用于制备无菌可注射溶液的情况下,制备方法的实例是真空干燥和冷冻干燥(冻干),这些方法由其先前无菌过滤的溶液得到活性成分加任何另外所希望的成分的粉末。

[0328] 无菌可注射溶液可以通过按需要将所需量的活性化合物与一种上文列举的成分或成分的组合掺在适当溶剂中,随后灭菌微孔过滤来制备。通常,通过将活性化合物掺入无菌载体中来制备分散体,该无菌载体含有基础分散介质和来自上文列举的那些的其他所需成分。在无菌粉末用于制备无菌可注射溶液的情况下,制备方法的实例是真空干燥和冷冻干燥(冻干),这些方法由其先前无菌过滤的溶液得到活性成分加任何另外所希望的成分的粉末。

[0329] 调整在以上治疗方法和在此描述的使用中的剂量方案,以提供最佳期望应答(例如,治疗应答)。例如,可以给予单次推注,可以随时间给予若干分次剂量或者可以由治疗情况的紧迫性所指示的按比例减少或增加剂量。为了便于给药和剂量统一,胃肠外组合物可以被配制为剂量单位形式。如在此使用的剂量单位形式是指作为针对治疗受试者的单一剂量适合的物理上离散的单位;每个单位含有经计算产生与所需药物载体相关的所希望的治疗效果的活性化合物的预定量。针对本发明的剂量单位形式的描述受指示于并且直接取决于(a)活性化合物的独特特征和待达到的具体治疗效果,以及(b)在复合这样的活性化合物以在个体中获得灵敏治疗的领域中固有的限制。

[0330] 抗分选蛋白抗体的有效剂量和剂量方案取决于待治疗的疾病或病症并且可以由本领域的普通技术人员确定。本发明抗体的治疗有效量的示例性、非限制性范围是约0.1mg/kg-10mg/kg体重,如约0.1mg/kg-5mg/kg体重,例如约0.1mg/kg-2mg/kg体重,如约0.1-1mg/kg体重,例如约0.15mg/kg、约0.2mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、约1.5mg/kg或约2mg/kg体重。

[0331] 具有本领域普通技术的医师或兽医可以容易地确定并且开出所需药物组合物的有效量。例如,医师或兽医可以按低于为了达到所希望的治疗效果所需的水平开始给予药物组合物中采用的抗分选蛋白抗体,并且逐步增加剂量直至达到所希望的效果。通常,本发明组合物的适合日剂量将是有效产生治疗效果的最低剂量的化合物量。这样一个有效剂量通常将取决于上述因素。给药可以例如是静脉内的、肌内的、腹膜内的或皮下的,或者例如临近靶标位点给予。如果希望的话,药物组合物的有效日剂量可以在一整天以适当的时间间隔分开为两个、三个、四个、五个、六个或更多个子剂量来给予,任选地以单位剂型给予。虽然本发明的化合物可以单独给予,但是优选的是作为如上描述的药物组合物给予该化合物。

[0332] 本发明的标记抗体或其抗原结合片段可以用于诊断目的,以检测、诊断或监测疾病或障碍。本发明提供了用于对神经退行性或认知疾病或障碍的检测或诊断,所述疾病或障碍包括但不限于FTD、ALS或蛋白病(如阿尔茨海默病(AD)),该检测或诊断包括:(a)使用特异性地结合至分选蛋白的一种或多种抗体,测定焦谷氨酸化的A β 片段在受试者细胞或组织样品中的存在;并且(b)将该抗原的水平与对照水平(例如,在正常组织样品中的水平)进

行比较,借此相比于该抗原的对照水平而言该抗原的测定水平的增加指示该疾病或失调,或指示该疾病或失调的严重性。

[0333] 使用本领域熟知的免疫组织化学方法,本发明的抗体或其抗原结合片段可以用于测定生物样品中的分拣蛋白或分拣蛋白抗原结合片段。有用于检测蛋白的其他基于抗体的方法包括免疫测定(如酶联免疫测定(ELISA)和放射免疫测定(RIA))以及基于中型发现平台(mesoscale discovery platform)的测定(MSD)。适合的抗体标记可以用在此类试剂盒和方法中,并且本领域已知的标记包括酶标记,如碱性磷酸酶和葡萄糖氧化酶;放射性同位素标记,如碘(^{125}I 、 ^{131}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氚(^3H)、铟(^{121}In)和锝($^{99\text{m}}\text{Tc}$);和发光标记,如鲁米诺和荧光素酶;以及荧光标志,如荧光素和罗丹明。

[0334] 可以在体内检测标记的抗分拣蛋白抗体或其分拣蛋白结合片段的存在,用于诊断目的。在一个实施方案中,诊断包括:a)向受试者给予有效量的这样的标记分子;b)在给药后等待一定时间间隔,以允许标记的分子在A β 沉积位点(如果有的话)聚集并且以允许未结合的标记分子被清除至背景水平;c)确定背景水平;并且d)检测受试者中经标记的分子,使得对超过背景水平的经标记的分子的检测指示受试者患有该疾病或障碍,或者指示该疾病或障碍的严重性。根据这样的实施方案,该分子用成像部分标记,以用于使用本领域的普通技术人员已知的具体成像系统检测。背景水平可以通过本领域中已知的不同方法来确定,包括将检测到的标记抗体的量与先前确定的针对具体成像系统的标准值进行比较。可用于本发明的诊断方法中的方法以及系统包括但不限于计算机断层摄影(CT)、全身扫描诸如正电子发射体层摄影(PET)、磁共振成像(MRI)、以及超声检查。

[0335] 在另外的方面,本发明涉及用于在医学中使用的抗体或其抗原结合片段。

[0336] 在另外的方面,本发明涉及用于在治疗与患者的脑中降低的PGRN水平相关的疾病中使用的本发明的抗体或其抗原结合片段。

[0337] 在另外的方面,本发明涉及本发明的抗体或其抗原结合片段在生产用于治疗与患者的脑中降低的PGRN水平相关的疾病的药物中的用途。

[0338] 在另外的方面,本发明涉及预防或治疗与患者的脑中降低的PGRN或降低的功能PGRN水平相关的疾病的方法,该方法包括给予有效剂量的本发明的抗体或其抗原结合片段。

[0339] 优选的是在本发明的那些方面的用途和方法中,该疾病是:FTD、ALS或蛋白病如AD。

[0340] 优选地,在本发明的那些方面的用途和方法中,治疗是长期的,并且优选持续至少2周,如至少持续1个月、6个月、1年或更久。

[0341] 在另外的方面,本发明提供了包含本发明的抗体或其抗原结合片段的试剂盒。

[0342] 表5-序列

抗体		6003-028		
	Seq ID No	1	CDR 1	重链
	Seq ID No	2	CDR 2	重链
	Seq ID No	3	CDR 3	重链
	Seq ID No	4	CDR 1	轻链
	Seq ID No	5	CDR 2	轻链
	Seq ID No	6	CDR 3	轻链
抗体		6003-056		
[0343]	Seq ID No	7	CDR 1	重链
	Seq ID No	8	CDR 2	重链
	Seq ID No	9	CDR 3	重链
	Seq ID No	10	CDR 1	轻链
	Seq ID No	11	CDR 2	轻链
	Seq ID No	12	CDR 3	轻链
抗体		6003-1286		
	Seq ID No	13	CDR 1	重链
	Seq ID No	14	CDR 2	重链
	Seq ID No	15	CDR 3	重链
	Seq ID No	16	CDR 1	轻链

	Seq ID No	17	CDR 2	轻链
	Seq ID No	18	CDR 3	轻链
	抗体	6003-030		
	Seq ID No	19	CDR 1	重链
	Seq ID No	20	CDR 2	重链
	Seq ID No	21	CDR 3	重链
	Seq ID No	22	CDR 1	轻链
	Seq ID No	23	CDR 2	轻链
	Seq ID No	24	CDR 3	轻链
	抗体	6003-1277		
	Seq ID No	25	CDR 1	重链
	Seq ID No	26	CDR 2	重链
	Seq ID No	27	CDR 3	重链
	Seq ID No	28	CDR 1	轻链
	Seq ID No	29	CDR 2	轻链
	Seq ID No	30	CDR 3	轻链
	抗体	6003-381		
	Seq ID No	31	CDR 1	重链
	Seq ID No	32	CDR 2	重链
[0344]	Seq ID No	33	CDR 3	重链
	Seq ID No	34	CDR 1	轻链
	Seq ID No	35	CDR 2	轻链
	Seq ID No	36	CDR 3	轻链
	抗体	6003-083		
	Seq ID No	37	CDR 1	重链
	Seq ID No	38	CDR 2	重链
	Seq ID No	39	CDR 3	重链
	Seq ID No	40	CDR 1	轻链
	Seq ID No	41	CDR 2	轻链
	Seq ID No	42	CDR 3	轻链
	抗体	6003-799		
	Seq ID No	43	CDR 1	重链
	Seq ID No	44	CDR 2	重链
	Seq ID No	45	CDR 3	重链
	Seq ID No	46	CDR 1	轻链
	Seq ID No	47	CDR 2	轻链
	Seq ID No	48	CDR 3	轻链
	抗体	6003-910		
	Seq ID No	49	CDR 1	重链

	Seq ID No	50	CDR 2	重链
	Seq ID No	51	CDR 3	重链
	Seq ID No	52	CDR 1	轻链
	Seq ID No	53	CDR 2	轻链
	Seq ID No	54	CDR 3	轻链
	抗体	6003-423		
	Seq ID No	55	CDR 1	重链
	Seq ID No	56	CDR 2	重链
	Seq ID No	57	CDR 3	重链
	Seq ID No	58	CDR 1	轻链
	Seq ID No	59	CDR 2	轻链
	Seq ID No	60	CDR 3	轻链
	抗体	6003-822		
	Seq ID No	61	CDR 1	重链
	Seq ID No	62	CDR 2	重链
	Seq ID No	63	CDR 3	重链
	Seq ID No	64	CDR 1	轻链
	Seq ID No	65	CDR 2	轻链
	Seq ID No	66	CDR 3	轻链
[0345]	抗体	6003-886		
	Seq ID No	67	CDR 1	重链
	Seq ID No	68	CDR 2	重链
	Seq ID No	69	CDR 3	重链
	Seq ID No	70	CDR 1	轻链
	Seq ID No	71	CDR 2	轻链
	Seq ID No	72	CDR 3	轻链
	抗体	6003-072		
	Seq ID No	73	CDR 1	重链
	Seq ID No	74	CDR 2	重链
	Seq ID No	75	CDR 3	重链
	Seq ID No	76	CDR 1	轻链
	Seq ID No	77	CDR 2	轻链
	Seq ID No	78	CDR 3	轻链
	抗体	6003-900		
	Seq ID No	79	CDR 1	重链
	Seq ID No	80	CDR 2	重链
	Seq ID No	81	CDR 3	重链
	Seq ID No	82	CDR 1	轻链
	Seq ID No	83	CDR 2	轻链

[0346]	Seq ID No	84	CDR 3	轻链
	抗体	6003-936		
	Seq ID No	85	CDR 1	重链
	Seq ID No	86	CDR 2	重链
	Seq ID No	87	CDR 3	重链
	Seq ID No	88	CDR 1	轻链
	Seq ID No	89	CDR 2	轻链
	Seq ID No	90	CDR 3	轻链
	抗体	6003-408		
	Seq ID No	91	CDR 1	重链
	Seq ID No	92	CDR 2	重链
	Seq ID No	93	CDR 3	重链
	Seq ID No	94	CDR 1	轻链
	Seq ID No	95	CDR 2	轻链
	Seq ID No	96	CDR 3	轻链
	抗体	6003-471		
	Seq ID No	97	CDR 1	重链
	Seq ID No	98	CDR 2	重链
	Seq ID No	99	CDR 3	重链
	Seq ID No	100	CDR 1	轻链
	Seq ID No	101	CDR 2	轻链
	Seq ID No	102	CDR 3	轻链
	抗体	6003-972		
	Seq ID No	103	CDR 1	重链
	Seq ID No	104	CDR 2	重链
	Seq ID No	105	CDR 3	重链
	Seq ID No	106	CDR 1	轻链
	Seq ID No	107	CDR 2	轻链
	Seq ID No	108	CDR 3	轻链
	Seq ID No	109	HC	6003-028
	Seq ID No	110	LC	6003-028
	Seq ID No	111	HC	6003-056
	Seq ID No	112	LC	6003-056
	Seq ID No	113	HC	6003-1286
	Seq ID No	114	LC	6003-1286
	Seq ID No	115	HC	6003-030
	Seq ID No	116	LC	6003-030
	Seq ID No	117	HC	6003-1277
	Seq ID No	118	LC	6003-1277
	Seq ID No	119	HC	6003-381
	Seq ID No	120	LC	6003-381

	Seq ID No	121	HC	6003-083
	Seq ID No	122	LC	6003-083
	Seq ID No	123	HC	6003-799
	Seq ID No	124	LC	6003-799
	Seq ID No	125	HC	6003-910
	Seq ID No	126	LC	6003-910
	Seq ID No	127	HC	6003-423
	Seq ID No	128	LC	6003-423
	Seq ID No	129	HC	6003-822
	Seq ID No	130	LC	6003-822
	Seq ID No	131	HC	6003-886
	Seq ID No	132	LC	6003-886
	Seq ID No	133	HC	6003-072
	Seq ID No	134	LC	6003-072
	Seq ID No	135	HC	6003-900
	Seq ID No	136	LC	6003-900
	Seq ID No	137	HC	6003-936
	Seq ID No	138	LC	6003-936
[0347]	Seq ID No	139	HC	6003-408
	Seq ID No	140	LC	6003-408
	Seq ID No	141	HC	6003-471
	Seq ID No	142	LC	6003-471
	Seq ID No	143	HC	6003-972
	Seq ID No	144	LC	6003-972
	Seq ID No	145	全人分选蛋白序列同种型 1	
	Seq ID No	146	如由本发明鉴定的“E 区”	
	Seq ID No	147	分选蛋白“hSORTECDBAP”	
	Seq ID No	148	分选蛋白 SORTECDBAP_hBACK	
	Seq ID No	149	分选蛋白 SORTECDBAP_tetra	
	Seq ID No	150	分选蛋白 SORTECDBAP_hB01-05	
	Seq ID No	151	分选蛋白 SORTECDBAP_hRIM	
	Seq ID No	152	分选蛋白 SORTECDBAP_hB06-10	
	Seq ID No	153	分选蛋白 SORTECDBAP_hB12390	
	Seq ID No	154	分选蛋白 SORTECDBAP_hB45678	
	Seq ID No	155	分选蛋白 SORTECD_HIS	
	Seq ID No	156	HDX-MS 构建体	

[0348] 在明显在先公开的文献的说明书中的清单或讨论并不一定要视为承认该文献是现有技术的一部分或是公知常识。

[0349] 实施方案

[0350] 如应从文本和实施例显而易见的,本发明进一步涉及以下实施方案:

[0351] 1.一种抗体或其抗原结合片段,其能够特异性地结合到分选蛋白并且抑制PGRN与

分拣蛋白的结合。

[0352] 2. 根据实施方案1所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该抗体包含完整抗体或由其组成。

[0353] 3. 根据实施方案1或2所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该抗原结合片段包含选自下组的抗原结合片段或由其组成, 该组由以下组成: Fv片段(例如单链Fv或二硫化物键合的Fv); Fab样片段(例如Fab片段或F(ab')₂片段); 以及结构域抗体(例如单个V_H可变域或V_L可变域)。

[0354] 4. 根据任一项前述实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该抗体选自下组, 该组由以下组成: 亚型IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的抗体。

[0355] 5. 根据任一项前述实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段特异性地结合到如在SEQ ID NO:146中定义的分拣蛋白的E区。

[0356] 6. 根据任一项前述实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其片段特异性地结合到如在SEQ ID NO:146中定义的分拣蛋白的E区的至少3个连续氨基酸, 如4、5、6或7个连续氨基酸。

[0357] 7. 根据任一项前述实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该抗体或抗原结合片段展现出以下特性中的一种或多种:

[0358] (i) 在0.5nM-10nM(如1nM-5nM或1nM-2nM)之间, 或甚至更高, 如在0.5pM与500pM之间的对分拣蛋白的结合亲和力(K_D)

[0359] (ii) 减少和/或抑制表达分拣蛋白的细胞清除PGRN的能力;

[0360] (iii) 减少和/或抑制表达分拣蛋白的细胞对PGRN的内吞的能力;

[0361] (iv) 增加表达人分拣蛋白的敲入小鼠的血浆中的PGRN量和/或浓度的能力。

[0362] 8. 根据实施方案5所述的抗体或其抗原结合片段, 其是人类的或人源化的。

[0363] 9. 根据实施方案6所述的抗体或其抗原结合片段, 其是人类的或人源化的。

[0364] 10. 根据任何以上实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该抗体或其抗原结合片段是人的或是人源化的。

[0365] 11. 根据任一项前述实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 包含轻链可变域, 该轻链可变域包含如针对表5中所定义的抗体中的每者列出的CDR 1-3轻链中的一条或多条, 或具有不超过4个氨基酸差异、或不超过3个氨基酸差异、或不超过2个氨基酸差异、或不超过1个氨基酸差异的氨基酸序列。

[0366] 12. 根据实施方案11所述的抗体或其抗原结合片段, 包含轻链可变域, 该轻链可变域包含如针对表5中所定义的抗体中的每者列出的CDR 1-3轻链。

[0367] 13. 根据实施方案11或12所述的抗体或其抗原结合片段, 包含轻链可变域, 该轻链可变域包含如针对表5中所定义的抗体中的每者列出的氨基酸序列VL或由其组成。

[0368] 14. 根据实施方案11至13中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 包含轻链, 该轻链包含如针对表5中所定义的抗体中的每者列出的VL的氨基酸序列或由其组成。

[0369] 15. 根据任一项前述实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 包含重链可变域, 该重链可变域包含如针对表5中所定义的抗体中的每者列出的一条或多条CDR 1-3重链, 或具有不超过4个氨基酸差异、或不超过3个氨基酸差异、或不超过2个氨基酸差异、或不超过1个氨基酸差异的氨基酸序列。

[0370] 16. 根据实施方案15所述的抗体或其抗原结合片段, 包含重链可变域, 该重链可变域包含如针对表5中所定义的抗体中的每者列出的CDR 1-3重链。

[0371] 17. 根据实施方案15或16所述的抗体或其抗原结合片段, 包含重链可变域, 该重链可变域包含如针对表5中所定义的抗体中的每者列出的VH的氨基酸序列或由其组成。

[0372] 18. 根据实施方案15至17中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 包含重链, 该重链包含如针对表5中所定义的抗体中的每者列出的氨基酸序列VL或由其组成。

[0373] 19. 根据任一项前述实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 包含轻链可变域以及重链可变域, 该轻链可变域包含如针对表5中所定义的抗体中的每者列出的VL的氨基酸序列或由其组成, 该重链可变域包含如针对表5中所定义的抗体中的每者列出的VH的氨基酸序列或由其组成。

[0374] 20. 根据任一项前述实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 包含轻链以及重链, 该轻链包含如针对表5中所定义的抗体中的每者列出的VL的氨基酸序列或由其组成, 该重链包含如针对表5中所定义的抗体中的每者列出的VH的氨基酸序列或由其组成。

[0375] 21. 根据任一项前述实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段与在实施方案20中所定义的抗体或其抗原结合片段竞争与分拣蛋白的结合。

[0376] 22. 根据任一项前述实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该抗体或抗原结合片段包含Fc区。

[0377] 23. 根据任一项前述实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该抗体或抗原结合片段进一步包含用于增加体内半衰期的部分。

[0378] 24. 根据实施方案22所述的抗体或其抗原结合片段, 其中用于增加体内半衰期的该部分选自下组, 该组由以下组成: 聚乙二醇 (PEG)、人血清白蛋白、糖基化基团、脂肪酸以及葡聚糖。

[0379] 25. 根据任一项前述实施方案所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该抗体或抗原结合片段进一步包含可检测部分。

[0380] 26. 根据实施方案25所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该可检测部分选自下组, 该组由以下组成: 荧光标记、化学发光标记、顺磁性标记、放射性同位素标记、或酶标记。

[0381] 27. 根据实施方案25或26所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该可检测部分包含放射性同位素或由其组成。

[0382] 28. 根据实施方案26或27所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该放射性同位素选自下组, 该组由以下组成: ^{99m}Tc 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{72}As 、 ^{89}Zr 、 ^{123}I 以及 ^{201}Tl 。

[0383] 29. 根据实施方案25所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该可检测部分包含顺磁性同位素或由其组成。

[0384] 30. 根据实施方案29所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该顺磁性同位素选自下组, 该组由以下组成: ^{157}Gd 、 ^{55}Mn 、 ^{162}Dy 、 ^{52}Cr 以及 ^{56}Fe 。

[0385] 31. 根据实施方案25至30中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该可检测部分可通过成像技术如SPECT、PET、MRI、光学或超声成像检测到。

[0386] 32. 根据实施方案25至31中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该可检测部分经由连接部分间接地连接到该抗体或其抗原结合片段。

[0387] 33. 根据实施方案32所述的抗体或其抗原结合片段, 其中该连接部分选自下组, 该

组由以下组成:1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10,四乙酸(DOTA)的衍生物,去铁胺(DF0),二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)的衍生物,S-2-(4-异硫氰基苄基)-1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)的衍生物,以及1,4,8,11-四氮杂环十二烷-1,4,8,11-四乙酸(TETA)的衍生物。

[0388] 34.一种分离的核酸分子,编码如在实施方案1-33的任一项中所定义的抗体或其抗原结合片段。

[0389] 35.根据实施方案34所述的核酸分子,其中该分子是cDNA分子。

[0390] 36.一种载体,包含如在实施方案34或35中所定义的核酸分子。

[0391] 37.一种重组宿主细胞,包含如在实施方案34-36的任一项中所定义的核酸分子。

[0392] 38.一种用于产生如在实施方案1-33的任一项中所定义的抗体或抗原结合片段的方法,该方法包括在允许表达所编码的抗体或其抗原结合片段的条件下培养如在实施方案37中所定义的宿主细胞。

[0393] 39.一种包含根据以上实施方案中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的制剂,其中所述制剂基本上不含天然产生的抗体,这些抗体不能结合到分拣蛋白或不实质上改变该制剂的抗分拣蛋白功能性,所述功能性选自下组,该组由以下组成:

[0394] (i) 对分拣蛋白的结合亲和力(K_D);

[0395] (ii) 减少和/或抑制表达分拣蛋白的细胞清除PGRN的能力;

[0396] (iii) 减少和/或抑制表达分拣蛋白的细胞对PGRN的内吞的能力;

[0397] (iv) 增加表达人分拣蛋白的敲入小鼠的血浆中的PGRN量和/或浓度的能力;和/或

[0398] (v) 当长期给予时,提供额颞痴呆(FTD)和/或肌萎缩性侧索硬化症(ALS)的治疗的能力。

[0399] 40.一种包含根据以上实施方案中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合片段的制剂,其中所述单克隆抗体在其氨基酸序列中相对于天然存在的抗分拣蛋白抗体的结构具有结构改变,其中所述结构改变使得所述单克隆抗体相对于由所述天然存在的抗分拣蛋白抗体展现出的功能性展现出改变的功能性,其中所述功能性是:

[0400] (i) 对分拣蛋白的结合亲和力(K_D);

[0401] (ii) 减少和/或抑制表达分拣蛋白的细胞清除PGRN的能力;

[0402] (iii) 减少和/或抑制表达分拣蛋白的细胞对PGRN的内吞的能力;

[0403] (iv) 增加表达人分拣蛋白的敲入小鼠的血浆中的PGRN量和/或浓度的能力;和/或

[0404] (v) 当长期给予时,提供额颞痴呆(FTD)和/或肌萎缩性侧索硬化症(ALS)的治疗的能力。

[0405] 41.一种药物组合物,包含如在实施方案1-33的任一项中所定义的抗体或其抗原结合片段,或如实施方案39-40中任一项所述的制剂,以及药学上可接受的载体。

[0406] 42.如在实施方案1-33的任一项中所定义的抗体或其抗原结合片段,或如实施方案39-40中任一项所述的制剂,用于在医学中使用。

[0407] 43.如在实施方案1-33的任一项中所定义的抗体或其抗原结合片段,或如实施方案39-40中任一项所述的制剂,用于在预防和/或治疗与患者的脑中降低的PGRN或降低的功能PGRN水平相关的疾病中使用。

[0408] 44.如在实施方案1-33的任一项中所定义的抗体或其抗原结合片段,或如实施方

案39-40中任一项所述的制剂在生产用于预防和/或治疗与患者的脑中降低的PGRN水平相关的疾病的药物中的用途。

[0409] 45. 根据实施方案43所述供使用的抗体或其抗原结合片段,或根据实施方案44所述的用途,其中该疾病选自下组,该组由以下组成:FTD;ALS;蛋白病如AD、PD。

[0410] 46. 一种预防或治疗与患者的脑中降低的PGRN水平相关的疾病的方法,该方法包括给予有效剂量的如在实施方案1-33的任一项中所定义的抗体或其片段、如实施方案39-40中任一项所述的制剂、或如实施方案41所述的药物组合物。

[0411] 47. 根据实施方案43所述供使用的抗体或其抗原结合片段,或根据实施方案44所述的用途,或根据实施方案46所述的方法,其中该疾病选自下组,该组由以下组成:FTD;ALS;或蛋白病如AD、PD。

[0412] 48. 根据实施方案46或47所述的供使用的抗体或其抗原结合片段;或用途;或方法,其中该治疗是长期的。

[0413] 49. 根据实施方案48所述的供使用的抗体或其抗原结合片段;或用途;或方法,其中该长期治疗持续至少2周,如至少持续1个月、6个月、1年或更久。

[0414] 50. 如在实施方案1-33的任一项中所定义的抗体或其抗原结合片段,如实施方案39-40中任一项所述的制剂,或如实施方案41所述的药物组合物,其能够特异性地结合到分选蛋白,但是该结合不抑制或基本上不抑制神经降压素或AF38469与分选蛋白的结合(Schröder TJ等人,Bioorg Med Chem Lett.[生物有机化学与药物化学快报]2014年1月1日;24(1):177-80)。

[0415] 51. 一种试剂盒,包含如在实施方案1-33的任一项中所定义的抗体或其抗原结合片段、如在实施方案39-40的任一项中所定义的制剂、或如在实施方案41中所定义的药物组合物。

[0416] 现在将参照附图描述采用本发明的某些方面的优选的、非限制性实施例。

[0417] 实施例

[0418] 实施例1-3描述了分选蛋白构建体的产生

[0419] 实施例1披露了改组构建体。实施例2披露了分选蛋白构建体的表达。实施例3披露了分选蛋白构建体的纯化。

[0420] 实施例4-6描述了分选蛋白抗体的产生

[0421] 实施例4披露了免疫和杂交瘤。实施例5披露了序列分析。实施例6披露了抗体的纯化。

[0422] 实施例7-11描述了分选蛋白抗体的表征

[0423] 实施例7披露了与分选蛋白的结合。实施例8披露了分选蛋白抗体的交叉阻断能力。实施例9披露了iPSC中的细胞外PGRN水平。实施例10披露了血浆PGRN水平。

[0424] 实施例1

[0425] 为了用于在杂交瘤筛选过程中使用和用作抗体组的多样化两者,设计、构建并且产生了所谓的“改组构建体”,从而制备一组含有来源于人分选蛋白和具有显著降低的序列同源性的远亲物种(四齿鲀属)两者的氨基酸序列的嵌合分选蛋白分子。基本原理是这些嵌合构建体的整体分选蛋白结构和功能性将被保留,但是抗体与某些嵌合构建体的结合损失将指示在结合中涉及特定交换区域。将可溶性胞外区(ECD,aa 1-755)构建体用BAP标签(生

物素受体肽) (使得能够通过共表达生物素连接酶而进行蛋白的“体外”生物素酰化) 或His 标签 (使得能够容易地纯化) 进行标记。制备编码以下蛋白的表达载体: SORT-ECDBAP、SORT-ECDBAP-hB01-05、SORT-ECDBAP-hB06-10、SORT-ECDBAP-hB12390、SORT-ECDBAP-hB45678、SORT-ECDBAP-tetra、SORT、SORT-tetra。

[0426] 分选蛋白序列可以发现于SEQ ID NO:147-155中并且图2示出了基于与分选蛋白改组构建体的结合的抗体区域分配的示意性展示。

[0427] 实施例2

[0428] 在抗体表达的情况下, 在HEK-293F细胞中共表达适当的重链和轻链载体, 如在实施例4、5和6中描述的。

[0429] 实施例3: His标记的分选蛋白的纯化

[0430] 在HEK-293F细胞中表达SORTECDHis。蛋白中的His-标签使得能够通过固定化金属亲和层析进行纯化。在这种方法中, 将NiNTA超流柱体 (NiNTA Superflow Cartridge) (凯杰公司 (Qiagen)) 用50mM NaH_2PO_4 、300mM NaCl和10mM咪唑 (pH 8.0) 平衡。柱装载有His标记的蛋白, 其中停留时间为1分钟。将柱用50mM NaH_2PO_4 、300mM NaCl和20mM咪唑 (pH 8.0) 洗涤。将蛋白用50mM NaH_2PO_4 、300mM NaCl和250mM咪唑 (pH 8.0) 洗脱。随后, 将蛋白使用截留为10.000mwco的Slide-A-Lyzer (赛默科技公司 (Thermo Scientific)) 用PBS透析。透析后, 将蛋白使用0.2微米SFCA过滤器 (赛默科技公司) 无菌过滤。

[0431] 使用qPCR针对分选蛋白mRNA表达对克隆进行表征。然后使用抗分选蛋白多克隆抗体 (多克隆山羊分选蛋白生物素酰化的Ab, 目录号: BAF2934 (R&D系统公司 (R&D Systems))) 通过FACS (Guava, 密理博公司 (Millipore)) 分析最高的表达克隆, 以确定分选蛋白的表面表达水平。

[0432] 实施例4

[0433] A-转基因小鼠的免疫程序

[0434] 抗体HuMab分选蛋白来源于HuMab小鼠品系HCo12、HCo17、HCo20、HCo12-BALB/c、HCo17-BALB/c和HCo20-BALB/c (人单克隆抗体; 梅达瑞克斯公司 (Medarex Inc.), 圣何塞, 加利福尼亚州, 美国) 的免疫。这些小鼠被双敲除了小鼠免疫球蛋白 (Ig) 重链和小鼠 κ 轻链, 这基本上使完全鼠类的抗体表达失活。通过插入人Ig重链和人Ig κ 轻链座位使得不同小鼠品系成为转基因的并且区别在于人VH (重链的可变域) 和VL (轻链的可变域) 基因的数目。通过用KCo5-BALB/c (κ 轻链转基因的) 小鼠杂交繁育得到HCo12-BALB/c小鼠。

[0435] 将48只小鼠用20 μg SORTECDHis (SEQ ID NO:155) 腹膜内地 (IP) 并且用相同蛋白皮下地 (SC, 在尾根处) 交替免疫, 间隔为14天。进行最多八次免疫, 4次IP和4次SC。

[0436] 在一个方案中, 用完全弗氏佐剂 (CFA; Difco实验室 (Difco Laboratories), 底特律, 密歇根州, 美国) 中的SORTECDHis进行第一次免疫, 之后的免疫在不完全弗氏佐剂 (IFA) 中进行。第二方案在所有免疫步骤中使用SAS作为佐剂。当发现血清滴度足够 (针对至少两个连续的、双周的、筛选事件, 在抗原特异性筛选测定中, 发现1/50或更低的血清稀释度呈阳性) 时, 在融合之前四天和三天, 将小鼠另外用100 μL PBS中的10 μg SORTECDHis蛋白静脉内地 (IV) 强化两次。

[0437] B-HuMab杂交瘤-产生

[0438] 将具有如上定义的足够抗原特异性滴度发生的HuMab小鼠处死并且收集腹主动脉

与腔静脉两侧的脾脏和淋巴结。基本上根据制造商的说明书,使用CEEF 50电融合系统(细胞脉冲科学(Cyto Pulse Sciences),格伦伯尼,马里兰州,美国)通过电融合进行脾细胞和淋巴结细胞与小鼠骨髓瘤细胞系的融合。将融合的细胞接种在融合培养基中,该培养基含有10%Fetal Clone I牛血清(普达生物公司(Perbio))、1mM丙酮酸钠(康伯司公司(Cambrex))、0.5U/mL青霉素、0.5U/mL链霉素(康伯司公司)、50 μ M 2-巯基乙醇(英杰公司)、600ng/mL白介素6(IL-6)(施特拉特曼公司(Strathmann))、1x HAT(西格玛公司(Sigma))和0.5mg/mL卡那霉素(英杰公司),在HyQ mADCF-Mab(普达生物公司)中。十天之后,收获上清液并且将细胞培养基更换为收获培养基,该收获培养基含有10%Fetal Clone I牛血清、0.5U/mL青霉素、0.5U/mL链霉素、600ng/mL IL-6和1x proHT(康伯司公司),在HyQ mADCF-Mab中。通过初级筛选测定和偶合到SORTECDBAP(SEQ ID NO 147)、SORTECDBAPhB06-10(SEQ ID NO 152)、SORTECDBAPhB12390(SEQ ID NO 153)上的链霉亲和素珠对杂交瘤培养物上清液进行筛选,以检测产生人(或嵌合)抗分泌蛋白抗体的杂交瘤。将来自最佳初级孔的杂种瘤细胞接种于半固体培养基中,该培养基由40%克隆培养基(CloneMedia)(基因有限公司(Genetix),汉普郡,英国)和60%HyQ 2x完全培养基(Hyclone公司,沃尔瑟姆,美国)制成。对于每个初级孔,接种Genetix黑色6孔板的孔。使用ClonePix系统(基因有限公司)从每个孔中挑取25个亚克隆。将亚克隆挑取在收获培养基中。七天之后,针对分泌蛋白特异性人IgG结合再次对亚克隆上清液进行筛选并且使用Octet 384red(Fortebio公司,门洛帕克,美国)测量人IgG浓度。从每个初级孔选择最佳亚克隆并且在仅含有600ng/mL IL-6、0.5U/mL青霉素、0.5U/mL链霉素和1x proHT的扩增培养基中进行扩增。将亚克隆从一个96孔板孔扩增到一个24孔板孔,到四个24孔板孔,到六个6孔板孔。通过这种方法得到的克隆被指定为初级克隆(PC)。

[0439] 对本发明的抗分泌蛋白HuMab抗体进行鉴定并且使其经受序列分析。

[0440] 实施例5:分泌蛋白特异性HuMab可变域的序列分析与表达载体中的克隆

[0441] 从 0.2 至 5×10^6 个杂交瘤细胞制备总RNA并且根据制造商的说明书,使用SMART RACE cDNA扩增试剂盒(克罗泰克公司(Clontech))从100ng总RNA制备5'-RACE-互补DNA(cDNA)。通过PCR扩增VH和VL编码区并且框内地直接在p33G1f和p33 κ 表达载体(含有人IgG1./ κ 恒定域编码序列)中通过连接独立克隆进行克隆(Aslanidis,C.和P.J.de Jong, Nucleic Acids Res[核酸研究]1990;18(20):6069-74)。对于每个抗体,对16个VL克隆和16个VH克隆进行测序。选择具有正确开放阅读框(ORF)的克隆进行进一步研究和表达。使用293fectin在FreestyleTM 293-F细胞中瞬时共表达重链和轻链的所有组合的载体。

[0442] 所得序列示于在此的序列表(SEQ ID NO:1-144)中。根据公开的指南定义CDR序列。

[0443] 实施例6:抗体的纯化

[0444] 将培养物上清液经0.2 μ m死端过滤器进行过滤,装载在5mL蛋白A柱(rProtein A FF,阿莫仙生物科学公司(Amersham Bioscience))上并且用0.1M柠檬酸-NaOH(pH 3)洗脱。将洗脱物立即用2M Tris-HCl(pH 9)中和并且用12.6mM NaH₂PO₄、140mM NaCl,pH 7.4(贝朗公司(B.Braun)),0/N透析(过夜)。透析之后,将样品经0.2 μ m死端过滤器进行无菌过滤。通过SDS-PAGE确定纯度并且通过比浊法和280nm处的吸光度测量浓度。将纯化的抗体等分并且储存在-80°C下。一旦解冻,便将纯化的抗体等分部分保持在4°C下。进行质谱法,以鉴定

由杂交瘤表达的抗体重链和轻链的分子量。

[0445] 实施例7:分选蛋白特异性HuMab对分选蛋白的重组胞外区的亲和力

[0446] 使用Octet 384RED (ForteBio公司, 门洛帕克, 美国) 确定抗分选蛋白HuMab抗体对分选蛋白的结合动力学。通过稀释于样品稀释剂 (ForteBio公司, 品号18-5028) 中制备2 μ g/ml的HuMab溶液。将Prot A传感蛋白 (ForteBio公司, 品号18-0004) 用动力学缓冲液 (PBS中的1:10样品稀释液) 预湿至少600秒。随后, 将传感蛋白用HuMab溶液固定600秒。通过在动力学缓冲液中浸渍120秒获得基线应答。在1000秒孵育期间进行SORTECD构建体的缔合。这之后在动力学缓冲液中解离100秒。解离之后, 使传感蛋白再生 (10mM甘氨酸pH 1.0) 并且中和 (动力学缓冲液) 3次, 每次持续5秒。使用四个浓度的SORTECD构建体 (10、5、2.5和1.25 μ g/ml) 分析所有HuMab。将76.8kDA的分子量用于SORTECDHis。将数据使用全球全拟合 (global full fit) 用ForteBio分析6.4软件进行拟合。结果在图3中示出。

[0447] 实施例8:抗分选蛋白人抗体 (HuMantibody) 的抗体交叉阻断

[0448] 使用Octet 384RED (ForteBio公司, 门洛帕克, 美国) 进行抗体交叉阻断研究。通过稀释于样品稀释剂 (ForteBio公司, 品号18-5028) 中制备2 μ g/ml的HuMab抗体溶液。将胺反应性传感蛋白 (ForteBio公司, 品号18-0008) 用于人抗体的固定。在偶合至胺反应性传感蛋白之前, 将人抗体稀释在MES pH 6.0缓冲液 (18-5027) 中。如下在30°C和1000rpm下进行偶合:将胺反应性传感蛋白在PBS中预湿并且随后用EDC/NHS (ForteBio公司, 品号18-1033/18-1034) 活化溶液 (根据制造商的说明书) 活化300秒。在600秒期间用人抗体固定活化的传感蛋白。由于剩余的胺与乙醇胺 (ForteBio公司, 目录号18-1039) 的反应性, 将固定的传感蛋白淬灭。淬灭之后, 将传感蛋白置于PBS中直到使用。在30°C和1000rpm下通过建立基线应答开始交叉阻断分析。通过在样品稀释液中浸渍120秒获得基线应答。在300秒期间进行SORTECDHis的缔合, 随后直接进行HuMab的缔合持续300秒。HuMab的缔合之后, 使传感蛋白再生 (10mM甘氨酸pH 1.0) 并且中和 (样品稀释液) 3次, 每次持续5秒。使用ForteBio分析6.4软件处理数据。

[0449] 基于它们在不同分选蛋白改组构建体上的结合谱将抗体分组 (图2和图3)。为了证实来自E区的所有抗体都结合到人野生型分选蛋白ECD的同一区域, 使用Octet384 red在交叉阻断研究中表征它们阻断彼此与野生型人分选蛋白ECD的结合的能力。例如, 当测试来自同一区域的抗体时, 一级抗体将阻断二级抗体的结合, 反之亦然。然而, 当测试来自不同区域的抗体时, 将不会存在交叉阻断, 因为仅有一个区域被该一级抗体阻断并且其余的区域可供二级抗体结合使用。图4示出了来自E结构域的26种抗体中的22种交叉阻断来自该组的所有抗体, 并且剩余4种抗体交叉阻断26种抗体中的20种抗体, 这证实了大多数这些抗体在分选蛋白上的相同区结合, 并且其余的具有重叠的结合位点和/或在E区周围结合。这证实了基于改组构建体对E区的抗体的分类。另外, 这些数据还证实嵌合分选蛋白构建体保留与天然人野生型分选蛋白ECD的相似性。

[0450] 实施例9:

[0451] iPSC中的细胞外PGRN的ELISA测定

[0452] 分选蛋白E区抗体900增加PGRN水平, 而对照抗体B12不影响细胞外颗粒蛋白前体水平。将生长因子成熟的iPSC神经元铺板在96孔板中进行测定。将抗体添加到细胞培养基中。根据制造商的说明书, 在暴露72小时后收集培养基并通过人PGRN ELISA (Biovendor

公司) 进行分析并分析样品。分选蛋白抗体900增加了从iPSC神经元收集的培养基中的PGRN水平,而对照抗体B12没有观察到效果(图5)。没有暴露于细胞的抗体的培养基在PGRN ELISA中显示没有信号。CellTiter-Glo发光细胞活力测定(Promega)显示对抗体应用的活力没有影响。数据呈现为平均值 $\pm$ SD。通过单因素方差分析,随后是邓尼特分析对数据进行分析*** $p < 0.001$ 。

[0453] 根据如Rasmussen等人描述的非整合方法,通过重编程从明显健康的男性(18岁)取样的人成纤维细胞产生iPSC系(Stem Cell Reports.[干细胞报告]2014年9月9日;3(3):404-13)。使用命名为NHDF K1_shp53的克隆(作为BIONi010-A保藏在诱导多能干细胞的欧洲库(European Bank of induced Pluripotent Stem Cells)中)。将iPSC在mTeSR1培养基(干细胞科技公司(Stemcell Technologies))中在基质胶(BD生物科学(BD Biosciences))上以单层进行培养。在密度铺板的iPSC的N3培养基(补充有0.5%N2、具有RA的1%B27、0,5mM GlutaMAX-I、0,5%NEA、50 μ M 2-巯基乙醇和2.5 μ g/mL胰岛素的50%DMEM/F12+50%Neurobasal培养基)中通过双重SMAD抑制(100nM LDN和10 μ M SB431542在第0天启动神经元分化。细胞在第12天分裂并从现在开始铺板在聚-L-鸟氨酸/层粘连蛋白上。LDN和SB431542从第13天取出。从这个时间点开始,细胞大约每隔5天分裂一次,直到神经元祖细胞(NPC)在第21天冷冻以产生NPC库。将这些NPC解冻,允许增殖大约4天,然后在第25天重新铺板并从第26天起使其经受最终成熟培养基(具有20ng/mL BDNF、10ng/mL GDNF、500 μ M db-cAMP、200 μ M抗坏血酸的N3)。在第32天,使这些细胞经受最终重新铺板到测定板中的成熟培养基中。FACS研究证实了以相似方式产生的来自其他系的iPSC神经元上的分选蛋白受体的表面表达。在第56天施用抗体,并在第59天收集样品。

[0454] 实施例10抗体对小鼠中血浆PGRN水平的影响

[0455] 为了分析抗体对血浆中PGRN水平的影响,通过皮下注射向人源化分选蛋白KI小鼠给予单次分选蛋白抗体或同种型对照注射(10mg/kg)。在给药后48小时将动物麻醉并且处死,并且通过ELISA确定血浆PGRN水平。

[0456] 将小鼠用0.4ml阿佛丁腹膜内地麻醉,并且收集心脏血并且转移到500 μ l KEDTA小瓶中。将样品保持在冰上,直到在4 $^{\circ}$ C以3600G离心15min。将血浆移液到micronic小瓶中并且冷冻于-20 $^{\circ}$ C下。按照制造商的说明书使用PGRN ELISA试剂盒(Adipogen公司)测量样品中的PGRN。

[0457] 与抗HEL同种型对照抗体相比,用分选蛋白humab#30处理的小鼠在48小时后显示血浆PGRN水平增加。结果可以见于图6中。

[0458] 实施例11

[0459] 图7A和B示出了分选蛋白抗体对从明显健康个体以及从PGRN R493X患者产生的神经元分化的诱导多能干细胞(iPSC)中的细胞外PGRN的影响。

[0460] 抗分选蛋白抗体#72、#1277、#83、#900、#799、#886、#28、#471、#1286、#822、#423、#56、#381、#936增加了细胞外PGRN水平,而对照抗体B12则不增加细胞外PGRN水平。将生长因子成熟的iPSC神经元铺板在96孔板中进行测定。将抗体添加到细胞培养基中。根据制造商的说明书,在暴露72小时后收集来自iPSC神经元的培养基并通过人PGRN ELISA(Biovendor公司)进行分析。没有暴露于细胞的抗体的培养基在PGRN ELISA中显示没有信号。CellTiter-Glo发光细胞活力测定(Promega)显示对抗体应用的活力(细胞内ATP水平的

定量)没有影响。数据表示为三次实验运行的平均值 $\pm$ SEM,各运行重复六次。通过单因素方差分析,随后是邓尼特分析对数据进行分析 $*p<0.05$ 、 $**p<0.01$ 、 $***p<0.001$ 、 $****p<0.0001$ 。

[0461] 将iPSC系根据非整合方法将从明显健康的个体(18岁男性)以及从PGRN R493X患者(65岁男性)采样的人成纤维细胞重编程。使用的克隆命名为BIONi010-A(明显健康的个体)和LUBi001-A(PGRN R493X患者)。它们被保藏在诱导多能干细胞的欧洲库中,并由认证细胞培养物欧洲保藏中心(European Collection of Authenticated Cell Cultures)分发。将iPSC分别在mTeSR1培养基(干细胞科技公司(Stemcell Technologies))和Essential 8培养基(Gibco公司)中在基质胶(BD Biosciences)上以单层进行培养。在密度铺板的iPSC的N3培养基(补充有0.5%N2、具有RA的1%B27、0.5mM GlutaMAX-I、0.5%NEA、50 μ M 2-巯基乙醇和2.5 μ g/mL胰岛素的50%DMEM/F12+50%Neurobasal培养基)中通过双重SMAD抑制(100nM LDN和10 μ M SB431542)在第0天启动神经元分化。细胞在第12天分裂并从现在开始铺板在聚-L-鸟氨酸/层粘连蛋白上。从第13天起,LDN和SB431542被20ng/ml的FGF2取代。从这个时间点开始,细胞大约每隔5天分裂一次,直到神经元祖细胞(NPC)在第21天冷冻以产生NPC库。将这些NPC解冻,允许增殖,然后在第25天重新铺板并从第26天起使其经受成熟培养基(具有20ng/mL BDNF、10ng/mL GDNF、500 μ M db-cAMP、200 μ M抗坏血酸的N3)。在第32天,将这些细胞最终重新铺板到测定板中的成熟培养基中。对BIONi010-A iPSC神经元的FACS研究证实了分拣蛋白受体的表面表达。在第57天施用抗体,并在72小时(即第60天)后收集样品。

[0462] 实施例12:通过氢/氘交换随后通过质谱法对靶向颗粒蛋白前体-分拣蛋白相互作用的抗体进行表位作图

[0463] 在氢/氘交换,随后是质谱法(HDX-MS)中,测量蛋白中的骨架酰胺氢的交换速率。由此,有可能探测到整个蛋白骨架的构象动力学,除了在脯氨酸残基处之外。交换反应的速率由骨架酰胺的氢键合状态并且在较小程度上由其溶剂可及性决定。可以观察到作为氘掺入变化的例如由配体的存在引起的这两个参数的微妙变化。

[0464] 为了对氘掺入变化进行亚定位,将蛋白用酸稳定蛋白酶(例如胃蛋白酶)处理,这产生典型地为十至十五个氨基酸的局部区域。在配体的存在下显示出扰动的区域直接牵涉在结合界面中或者别构性地受结合事件的影响。

[0465] 抗体的表位作图

[0466] 在不存在和存在mAb30(其结合E区)的情况下测量分拣蛋白的胞外区(SEQ ID NO: 156)的氘掺入。为了保证在稳态条件下进行测量,在启动交换反应之前,使复合物在25 $^{\circ}$ C下平衡15min。通过将蛋白样品1:9(v/v)地稀释到氘化的缓冲液(99%D2O、20mM tris、150mM NaCl,pDread=7.6)中启动交换反应。在不同时间点(15s、1min、10min、1h和8h)之后,通过用冰冷的淬灭缓冲液(2M甘氨酸、0.8M三-(2-羧乙基)膦(TCEP),pH=2.3)1:1(v/v)地稀释将交换反应淬灭,由此使pH降至2.46。立即将淬灭的样品置于-80 $^{\circ}$ C冷冻箱中并且储存直到分析。通过将分拣蛋白样品1:9(v/v)地稀释到氘化的变性缓冲液(6M盐酸胍、99%D2O、20mM tris、150mM NaCl,pDread=7.6)中,随后在25 $^{\circ}$ C下孵育16h来制备完全氘化的对照样品,之后如上所述的将它们淬灭并处理。

[0467] 将淬灭的样品解冻并且注入配备有家庭装胃蛋白酶柱(60 μ L的内体积,获得自赛

默科技公司(Thermo Scientific Inc.)的胃蛋白酶珠)的冷却(0°C)反相UPLC-HDX系统(沃特斯公司(Waters Inc.),美国)中。这里,使氘化的蛋白样品在20°C下经受在线胃蛋白酶消化,并且通过反相UPLC分离所得胃酶解肽。在最终的质量测定之前,将肽通过电喷射离子化电离到质谱仪(Synapt G2质谱仪,沃特斯公司,英国)中,在该质谱仪中肽通过离子迁移被进一步分离。

[0468] 使用数据独立(MSe)和数据依赖采集的组合通过串联质谱法在完全还原且非氘化的样品上进行肽的鉴定。

[0469] 数据分析

[0470] 肽的鉴定

[0471] 将采集的质谱针对GFP进行锁定质量校正并且在PLGS 3.0中进行分析,其将前体和片段离子匹配到本地蛋白数据库中。手动地谨慎评估所有肽鉴定。

[0472] 氘掺入的确定:将采集的质谱针对GFP进行锁定质量校正并且使用软件DynamX 3.0(沃特斯公司,美国)来确定在不存在或存在抗体的情况下分拣蛋白的所有肽的氘掺入。

[0473] 肽被认为是结合表位的一部分,如果在抗体的存在下观察到保护免于交换大于0.5D的话。

[0474] 表1-通过HDX-MS鉴定的构象表位表。

[0475]	抗体	通过 HDX-MS 进行的、相对于 SEQ ID NO:145 的表位作图			
	30	617-642	657-672	715-728	

[0001] 序列表

[0002] <110> H.隆德贝克有限公司(H.Lundbeck A/S)

[0003] <120> 用于治疗药剂、用途和方法

[0004] <130> 1079-DK-NP

[0005] <160> 156

[0006] <170> PatentIn版本3.5

[0007] <210> 1

[0008] <211> 4

[0009] <212> PRT

[0010] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0011] <220>

[0012] <223> 6003-028 HC CDR 1

[0013] <400> 1

[0014] Tyr Ala Met Ser

[0015] 1

[0016] <210> 2

[0017] <211> 16

[0018] <212> PRT

[0019] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0020] <220>

[0021] <223> 6003-028 HC CDR2

[0022] <400> 2

[0023] Thr Ile Ser Gly Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

[0024] 1 5 10 15

[0025] <210> 3

[0026] <211> 11

[0027] <212> PRT

[0028] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0029] <220>

[0030] <223> 6003-028 HC CDR3

[0031] <400> 3

[0032] Asn Leu Tyr Ser Asn Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu

[0033] 1 5 10

[0034] <210> 4

[0035] <211> 11

[0036] <212> PRT

[0037] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0038] <220>

[0039] <223> 6003-028 LC CDR1
[0040] <400> 4
[0041] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Phe Leu Ala
[0042] 1 5 10
[0043] <210> 5
[0044] <211> 7
[0045] <212> PRT
[0046] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0047] <220>
[0048] <223> 6003-028 LC CDR2
[0049] <400> 5
[0050] Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
[0051] 1 5
[0052] <210> 6
[0053] <211> 9
[0054] <212> PRT
[0055] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0056] <220>
[0057] <223> 6003-028 LC CDR3
[0058] <400> 6
[0059] Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
[0060] 1 5
[0061] <210> 7
[0062] <211> 5
[0063] <212> PRT
[0064] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0065] <220>
[0066] <223> 6003-056 HC CDR1
[0067] <400> 7
[0068] Ser Tyr Ala Met His
[0069] 1 5
[0070] <210> 8
[0071] <211> 17
[0072] <212> PRT
[0073] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0074] <220>
[0075] <223> 6003-056 HC CDR2
[0076] <400> 8
[0077] Ala Ile Ser Gly Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

[0078]	1	5	10	15
[0079]	Gly			
[0080]	<210> 9			
[0081]	<211> 10			
[0082]	<212> PRT			
[0083]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[0084]	<220>			
[0085]	<223> 6003-056 HC CDR3			
[0086]	<400> 9			
[0087]	Ile Ile Pro Ser Leu Tyr Trp Tyr Phe Asp			
[0088]	1	5	10	
[0089]	<210> 10			
[0090]	<211> 11			
[0091]	<212> PRT			
[0092]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[0093]	<220>			
[0094]	<223> 6003-056 LC CDR1			
[0095]	<400> 10			
[0096]	Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Phe Leu Ala			
[0097]	1	5	10	
[0098]	<210> 11			
[0099]	<211> 7			
[0100]	<212> PRT			
[0101]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[0102]	<220>			
[0103]	<223> 6003-056 LC CDR2			
[0104]	<400> 11			
[0105]	Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr			
[0106]	1	5		
[0107]	<210> 12			
[0108]	<211> 9			
[0109]	<212> PRT			
[0110]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[0111]	<220>			
[0112]	<223> 6003-056 LC CDR3			
[0113]	<400> 12			
[0114]	Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr			
[0115]	1	5		
[0116]	<210> 13			

[0117] <211> 5
[0118] <212> PRT
[0119] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0120] <220>
[0121] <223> 6003-1286 HC CDR1
[0122] <400> 13
[0123] Ser Tyr Ala Met Ser
[0124] 1 5
[0125] <210> 14
[0126] <211> 17
[0127] <212> PRT
[0128] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0129] <220>
[0130] <223> 6003-1286 HC CDR2
[0131] <400> 14
[0132] Thr Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[0133] 1 5 10 15
[0134] Gly
[0135] <210> 15
[0136] <211> 10
[0137] <212> PRT
[0138] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0139] <220>
[0140] <223> 6003-1286 HC CDR3
[0141] <400> 15
[0142] Asn Ile Tyr Ser His Tyr Trp Tyr Phe Asp
[0143] 1 5 10
[0144] <210> 16
[0145] <211> 11
[0146] <212> PRT
[0147] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0148] <220>
[0149] <223> 6003-1286 LC CDR1
[0150] <400> 16
[0151] Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Tyr Leu Ala
[0152] 1 5 10
[0153] <210> 17
[0154] <211> 7
[0155] <212> PRT

[0156] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0157] <220>
[0158] <223> 6003-1286 LC CDR2
[0159] <400> 17
[0160] Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
[0161] 1 5
[0162] <210> 18
[0163] <211> 10
[0164] <212> PRT
[0165] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0166] <220>
[0167] <223> 6003-1286 LC CDR3
[0168] <400> 18
[0169] Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr Phe
[0170] 1 5 10
[0171] <210> 19
[0172] <211> 5
[0173] <212> PRT
[0174] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0175] <220>
[0176] <223> 6003-030 HC CDR1
[0177] <400> 19
[0178] Ser Tyr Ala Met Ser
[0179] 1 5
[0180] <210> 20
[0181] <211> 17
[0182] <212> PRT
[0183] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0184] <220>
[0185] <223> 6003-030 HC CDR2
[0186] <400> 20
[0187] Thr Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[0188] 1 5 10 15
[0189] Gly
[0190] <210> 21
[0191] <211> 11
[0192] <212> PRT
[0193] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0194] <220>

[0195] <223> 6003-030 HC CDR3
[0196] <400> 21
[0197] Ile Ile Pro Ser Leu Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu
[0198] 1 5 10
[0199] <210> 22
[0200] <211> 11
[0201] <212> PRT
[0202] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0203] <220>
[0204] <223> 6003-030 LC CDR1
[0205] <400> 22
[0206] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
[0207] 1 5 10
[0208] <210> 23
[0209] <211> 7
[0210] <212> PRT
[0211] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0212] <220>
[0213] <223> 6003-030 LC CDR2
[0214] <400> 23
[0215] Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
[0216] 1 5
[0217] <210> 24
[0218] <211> 9
[0219] <212> PRT
[0220] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0221] <220>
[0222] <223> 6003-030 LC CDR3
[0223] <400> 24
[0224] Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
[0225] 1 5
[0226] <210> 25
[0227] <211> 5
[0228] <212> PRT
[0229] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0230] <220>
[0231] <223> 6003-1277 HC CDR1
[0232] <400> 25
[0233] His Tyr Gly Ile Ser

[0234]	1	5	
[0235]	<210>	26	
[0236]	<211>	17	
[0237]	<212>	PRT	
[0238]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0239]	<220>		
[0240]	<223>	6003-1277 HC CDR2	
[0241]	<400>	26	
[0242]	Trp	Ile Asn Thr Tyr Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Leu Gln	
[0243]	1	5	10 15
[0244]	Gly		
[0245]	<210>	27	
[0246]	<211>	7	
[0247]	<212>	PRT	
[0248]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0249]	<220>		
[0250]	<223>	6003-1277 HC CDR3	
[0251]	<400>	27	
[0252]	Leu Gly Arg Asn Phe Asp Tyr		
[0253]	1	5	
[0254]	<210>	28	
[0255]	<211>	11	
[0256]	<212>	PRT	
[0257]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0258]	<220>		
[0259]	<223>	6003-1277 LC CDR1	
[0260]	<400>	28	
[0261]	Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala		
[0262]	1	5	10
[0263]	<210>	29	
[0264]	<211>	7	
[0265]	<212>	PRT	
[0266]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0267]	<220>		
[0268]	<223>	6003-1277 LC CDR2	
[0269]	<400>	29	
[0270]	Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr		
[0271]	1	5	
[0272]	<210>	30	

[0273]	<211> 10
[0274]	<212> PRT
[0275]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0276]	<220>
[0277]	<223> 6003-1277 LC CDR3
[0278]	<400> 30
[0279]	Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ala Leu Thr
[0280]	1 5 10
[0281]	<210> 31
[0282]	<211> 5
[0283]	<212> PRT
[0284]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0285]	<220>
[0286]	<223> 6003-381 HC CDR1
[0287]	<400> 31
[0288]	Asn Tyr Val Met His
[0289]	1 5
[0290]	<210> 32
[0291]	<211> 17
[0292]	<212> PRT
[0293]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0294]	<220>
[0295]	<223> 6003-381 HC CDR2
[0296]	<400> 32
[0297]	Ala Ile Ser Tyr Asn Gly Asn Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[0298]	1 5 10 15
[0299]	Gly
[0300]	<210> 33
[0301]	<211> 8
[0302]	<212> PRT
[0303]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0304]	<220>
[0305]	<223> 6003-381 HC CDR3
[0306]	<400> 33
[0307]	Gly Leu Asn Asp Ala Phe Asp Ile
[0308]	1 5
[0309]	<210> 34
[0310]	<211> 10
[0311]	<212> PRT

[0312] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0313] <220>
[0314] <223> 6003-381 LC CDR1
[0315] <400> 34
[0316] Ala Ser Gln Ser Val Ser Gly Tyr Leu Ala
[0317] 1 5 10
[0318] <210> 35
[0319] <211> 7
[0320] <212> PRT
[0321] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0322] <220>
[0323] <223> 6003-381 LC CDR2
[0324] <400> 35
[0325] Asn Ala Ser Asn Arg Ala Thr
[0326] 1 5
[0327] <210> 36
[0328] <211> 10
[0329] <212> PRT
[0330] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0331] <220>
[0332] <223> 6003-381 LC CDR3
[0333] <400> 36
[0334] Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Leu Thr
[0335] 1 5 10
[0336] <210> 37
[0337] <211> 5
[0338] <212> PRT
[0339] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0340] <220>
[0341] <223> 6003-83 HC CDR1
[0342] <400> 37
[0343] Ser Tyr Ala Met Ser
[0344] 1 5
[0345] <210> 38
[0346] <211> 17
[0347] <212> PRT
[0348] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0349] <220>
[0350] <223> 6003-83 HC CDR2

[0351] <400> 38
[0352] Thr Ile Ser Gly Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[0353] 1 5 10 15
[0354] Gly
[0355] <210> 39
[0356] <211> 10
[0357] <212> PRT
[0358] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0359] <220>
[0360] <223> 6003-83 HC CDR3
[0361] <400> 39
[0362] Ile Val Ala Thr Met Tyr Trp Tyr Phe Asp
[0363] 1 5 10
[0364] <210> 40
[0365] <211> 11
[0366] <212> PRT
[0367] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0368] <220>
[0369] <223> 6003-83 LC CDR1
[0370] <400> 40
[0371] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
[0372] 1 5 10
[0373] <210> 41
[0374] <211> 7
[0375] <212> PRT
[0376] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0377] <220>
[0378] <223> 6003-83 LC CDR2
[0379] <400> 41
[0380] Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
[0381] 1 5
[0382] <210> 42
[0383] <211> 9
[0384] <212> PRT
[0385] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0386] <220>
[0387] <223> 6003-83 LC CDR3
[0388] <400> 42
[0389] Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ile Thr

[0390]	1	5	
[0391]	<210>	43	
[0392]	<211>	5	
[0393]	<212>	PRT	
[0394]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0395]	<220>		
[0396]	<223>	6003-799 HC CDR1	
[0397]	<400>	43	
[0398]	Ser Tyr Gly Met His		
[0399]	1	5	
[0400]	<210>	44	
[0401]	<211>	17	
[0402]	<212>	PRT	
[0403]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0404]	<220>		
[0405]	<223>	6003-799 HC CDR2	
[0406]	<400>	44	
[0407]	Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
[0408]	1	5	10 15
[0409]	Gly		
[0410]	<210>	45	
[0411]	<211>	8	
[0412]	<212>	PRT	
[0413]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0414]	<220>		
[0415]	<223>	6003-799 HC CDR3	
[0416]	<400>	45	
[0417]	Leu Thr Gly Asp Ala Phe Asp Ile		
[0418]	1	5	
[0419]	<210>	46	
[0420]	<211>	11	
[0421]	<212>	PRT	
[0422]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0423]	<220>		
[0424]	<223>	6003-799 LC CDR1	
[0425]	<400>	46	
[0426]	Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Val		
[0427]	1	5	10
[0428]	<210>	47	

[0429] <211> 7
[0430] <212> PRT
[0431] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0432] <220>
[0433] <223> 6003-799 LC CDR2
[0434] <400> 47
[0435] His Ala Ser Asn Arg Ala Thr
[0436] 1 5
[0437] <210> 48
[0438] <211> 10
[0439] <212> PRT
[0440] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0441] <220>
[0442] <223> 6003-799 LC CDR3
[0443] <400> 48
[0444] Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Arg Ile Thr
[0445] 1 5 10
[0446] <210> 49
[0447] <211> 5
[0448] <212> PRT
[0449] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0450] <220>
[0451] <223> 6003-910 HC CDR1
[0452] <400> 49
[0453] Ser Tyr Ala Met Ser
[0454] 1 5
[0455] <210> 50
[0456] <211> 17
[0457] <212> PRT
[0458] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0459] <220>
[0460] <223> 6003-910 HC CDR2
[0461] <400> 50
[0462] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
[0463] 1 5 10 15
[0464] Gly
[0465] <210> 51
[0466] <211> 14
[0467] <212> PRT

[0468] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0469] <220>
[0470] <223> 6003-910 HC CDR3
[0471] <400> 51
[0472] Asp Ile Arg Gly Ile Gly Phe Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
[0473] 1 5 10
[0474] <210> 52
[0475] <211> 11
[0476] <212> PRT
[0477] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0478] <220>
[0479] <223> 6003-910 LC CDR1
[0480] <400> 52
[0481] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Val
[0482] 1 5 10
[0483] <210> 53
[0484] <211> 7
[0485] <212> PRT
[0486] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0487] <220>
[0488] <223> 6003-910 LC CDR2
[0489] <400> 53
[0490] Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
[0491] 1 5
[0492] <210> 54
[0493] <211> 9
[0494] <212> PRT
[0495] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0496] <220>
[0497] <223> 6003-910 LC CDR3
[0498] <400> 54
[0499] Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr
[0500] 1 5
[0501] <210> 55
[0502] <211> 5
[0503] <212> PRT
[0504] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0505] <220>
[0506] <223> 6002-423 HC CDR1

[0507] <400> 55
[0508] Ser Tyr Val Met Ser
[0509] 1 5
[0510] <210> 56
[0511] <211> 17
[0512] <212> PRT
[0513] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0514] <220>
[0515] <223> 6003-423 HC CDR2
[0516] <400> 56
[0517] Thr Ile Ser Gly Gly Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys
[0518] 1 5 10 15
[0519] Gly
[0520] <210> 57
[0521] <211> 8
[0522] <212> PRT
[0523] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0524] <220>
[0525] <223> 6003-423 HC CDR3
[0526] <400> 57
[0527] Asn Trp Gly Ser Gly Phe Asp Tyr
[0528] 1 5
[0529] <210> 58
[0530] <211> 11
[0531] <212> PRT
[0532] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0533] <220>
[0534] <223> 6003-423 LC CDR1
[0535] <400> 58
[0536] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
[0537] 1 5 10
[0538] <210> 59
[0539] <211> 7
[0540] <212> PRT
[0541] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0542] <220>
[0543] <223> 6003-423 LC CDR2
[0544] <400> 59
[0545] Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

[0546] 1 5
[0547] <210> 60
[0548] <211> 10
[0549] <212> PRT
[0550] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0551] <220>
[0552] <223> 6003-423 LC CDR3
[0553] <400> 60
[0554] Gln Gln Arg Ser Asn Trp Leu Ile Phe Thr
[0555] 1 5 10
[0556] <210> 61
[0557] <211> 5
[0558] <212> PRT
[0559] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0560] <220>
[0561] <223> 6003-822 HC CDR1
[0562] <400> 61
[0563] Ser Tyr Ala Met Ser
[0564] 1 5
[0565] <210> 62
[0566] <211> 17
[0567] <212> PRT
[0568] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0569] <220>
[0570] <223> 6003-822 HC CDR2
[0571] <400> 62
[0572] Ser Ile Ser Gly Arg Leu Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser Val Lys
[0573] 1 5 10 15
[0574] Gly
[0575] <210> 63
[0576] <211> 9
[0577] <212> PRT
[0578] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0579] <220>
[0580] <223> 6003-822 HC CDR3
[0581] <400> 63
[0582] Lys Ala Pro Ser Asp Ala Phe Asp Ile
[0583] 1 5
[0584] <210> 64

[0585] <211> 11
[0586] <212> PRT
[0587] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0588] <220>
[0589] <223> 6003-822 LC CDR1
[0590] <400> 64
[0591] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
[0592] 1 5 10
[0593] <210> 65
[0594] <211> 7
[0595] <212> PRT
[0596] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0597] <220>
[0598] <223> 6003-822 LC CDR2
[0599] <400> 65
[0600] Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
[0601] 1 5
[0602] <210> 66
[0603] <211> 10
[0604] <212> PRT
[0605] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0606] <220>
[0607] <223> 6003-822 LC CDR3
[0608] <400> 66
[0609] Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ile Phe Thr
[0610] 1 5 10
[0611] <210> 67
[0612] <211> 5
[0613] <212> PRT
[0614] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0615] <220>
[0616] <223> 6003-886 HC CDR1
[0617] <400> 67
[0618] Lys Tyr Gly Ile Ser
[0619] 1 5
[0620] <210> 68
[0621] <211> 17
[0622] <212> PRT
[0623] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0624] <220>
[0625] <223> 6003-886 HC CDR2
[0626] <400> 68
[0627] Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
[0628] 1 5 10 15
[0629] Asp
[0630] <210> 69
[0631] <211> 15
[0632] <212> PRT
[0633] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0634] <220>
[0635] <223> 6003-886 HC CDR3
[0636] <400> 69
[0637] Asp Gly Pro Leu Thr Gly Asp Phe Thr Phe Tyr Gly Met Asp Val
[0638] 1 5 10 15
[0639] <210> 70
[0640] <211> 11
[0641] <212> PRT
[0642] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0643] <220>
[0644] <223> 6003-886 LC CDR1
[0645] <400> 70
[0646] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
[0647] 1 5 10
[0648] <210> 71
[0649] <211> 7
[0650] <212> PRT
[0651] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0652] <220>
[0653] <223> 6003-886 LC CDR2
[0654] <400> 71
[0655] Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
[0656] 1 5
[0657] <210> 72
[0658] <211> 10
[0659] <212> PRT
[0660] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0661] <220>
[0662] <223> 6003-886 LC CDR3

[0663] <400> 72
[0664] Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Phe Thr
[0665] 1 5 10
[0666] <210> 73
[0667] <211> 5
[0668] <212> PRT
[0669] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0670] <220>
[0671] <223> 6003-72 HC CDR1
[0672] <400> 73
[0673] Ser Tyr Ala Met Asn
[0674] 1 5
[0675] <210> 74
[0676] <211> 17
[0677] <212> PRT
[0678] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0679] <220>
[0680] <223> 6003-72 HC CDR2
[0681] <400> 74
[0682] Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[0683] 1 5 10 15
[0684] Gly
[0685] <210> 75
[0686] <211> 13
[0687] <212> PRT
[0688] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0689] <220>
[0690] <223> 6003-72 HC CDR3
[0691] <400> 75
[0692] Arg Gly Arg Gly Ile Gly Tyr Tyr Asn Gly Met Asp Val
[0693] 1 5 10
[0694] <210> 76
[0695] <211> 12
[0696] <212> PRT
[0697] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0698] <220>
[0699] <223> 6003-72 LC CDR1
[0700] <400> 76
[0701] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

[0702]	1	5	10
[0703]	<210> 77		
[0704]	<211> 7		
[0705]	<212> PRT		
[0706]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0707]	<220>		
[0708]	<223> 6003-72 LC CDR2		
[0709]	<400> 77		
[0710]	Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr		
[0711]	1	5	
[0712]	<210> 78		
[0713]	<211> 10		
[0714]	<212> PRT		
[0715]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0716]	<220>		
[0717]	<223> 6003-72 LC CDR3		
[0718]	<400> 78		
[0719]	Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Met Tyr Thr		
[0720]	1	5	10
[0721]	<210> 79		
[0722]	<211> 5		
[0723]	<212> PRT		
[0724]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0725]	<220>		
[0726]	<223> 6003-900 HC CDR1		
[0727]	<400> 79		
[0728]	Ser Tyr Ser Met Asn		
[0729]	1	5	
[0730]	<210> 80		
[0731]	<211> 16		
[0732]	<212> PRT		
[0733]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0734]	<220>		
[0735]	<223> 6003-900 HC CDR2		
[0736]	<400> 80		
[0737]	Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly		
[0738]	1	5	10 15
[0739]	<210> 81		
[0740]	<211> 11		

[0741] <212> PRT
[0742] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0743] <220>
[0744] <223> 6003-900 HC CDR3
[0745] <400> 81
[0746] Arg Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Ala Phe Asp Ile
[0747] 1 5 10
[0748] <210> 82
[0749] <211> 11
[0750] <212> PRT
[0751] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0752] <220>
[0753] <223> 6003-900 LC CDR1
[0754] <400> 82
[0755] Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Tyr Ser Leu His
[0756] 1 5 10
[0757] <210> 83
[0758] <211> 7
[0759] <212> PRT
[0760] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0761] <220>
[0762] <223> 6003-900 LC CDR2
[0763] <400> 83
[0764] Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser
[0765] 1 5
[0766] <210> 84
[0767] <211> 9
[0768] <212> PRT
[0769] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0770] <220>
[0771] <223> 6003-900 LC CDR3
[0772] <400> 84
[0773] His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Leu Thr
[0774] 1 5
[0775] <210> 85
[0776] <211> 5
[0777] <212> PRT
[0778] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0779] <220>

[0780] <223> 6003-936 HC CDR1
[0781] <400> 85
[0782] Ser Phe Trp Ile Gly
[0783] 1 5
[0784] <210> 86
[0785] <211> 16
[0786] <212> PRT
[0787] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0788] <220>
[0789] <223> 6003-936 HC CDR2
[0790] <400> 86
[0791] Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
[0792] 1 5 10 15
[0793] <210> 87
[0794] <211> 13
[0795] <212> PRT
[0796] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0797] <220>
[0798] <223> 6003-936 HC CDR3
[0799] <400> 87
[0800] His Ser Arg Gly Ser Phe Trp Tyr Gly Ala Phe Gln His
[0801] 1 5 10
[0802] <210> 88
[0803] <211> 11
[0804] <212> PRT
[0805] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0806] <220>
[0807] <223> 6003-936 LC CDR1
[0808] <400> 88
[0809] Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser Leu His
[0810] 1 5 10
[0811] <210> 89
[0812] <211> 7
[0813] <212> PRT
[0814] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0815] <220>
[0816] <223> 6003-936 LC CDR2
[0817] <400> 89
[0818] Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser

[0819]	1	5	
[0820]	<210>	90	
[0821]	<211>	9	
[0822]	<212>	PRT	
[0823]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0824]	<220>		
[0825]	<223>	6003-936 LC CDR3	
[0826]	<400>	90	
[0827]	His Gln Ser Ser Ser Leu Pro His Thr		
[0828]	1	5	
[0829]	<210>	91	
[0830]	<211>	5	
[0831]	<212>	PRT	
[0832]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0833]	<220>		
[0834]	<223>	6003-408 HC CDR1	
[0835]	<400>	91	
[0836]	Ser Tyr Ser Met Asn		
[0837]	1	5	
[0838]	<210>	92	
[0839]	<211>	17	
[0840]	<212>	PRT	
[0841]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0842]	<220>		
[0843]	<223>	6003-408 HC CDR2	
[0844]	<400>	92	
[0845]	Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
[0846]	1	5	10 15
[0847]	Gly		
[0848]	<210>	93	
[0849]	<211>	15	
[0850]	<212>	PRT	
[0851]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0852]	<220>		
[0853]	<223>	6003-408 HC CDR3	
[0854]	<400>	93	
[0855]	Arg Arg Ile Ala Ala Ala Gly Thr Gly Tyr Gly Ala Phe Asp Ile		
[0856]	1	5	10 15
[0857]	<210>	94	

[0858] <211> 11
[0859] <212> PRT
[0860] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0861] <220>
[0862] <223> 6003-408 LC CDR1
[0863] <400> 94
[0864] Arg Ala Ser Gln Gly Ile Thr Ser Ala Leu Ala
[0865] 1 5 10
[0866] <210> 95
[0867] <211> 7
[0868] <212> PRT
[0869] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0870] <220>
[0871] <223> 6003-408 LC CDR2
[0872] <400> 95
[0873] Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
[0874] 1 5
[0875] <210> 96
[0876] <211> 10
[0877] <212> PRT
[0878] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0879] <220>
[0880] <223> 6003-408 LC CDR3
[0881] <400> 96
[0882] Gln Gln Phe Asn Gly Tyr Pro Met Phe Ser
[0883] 1 5 10
[0884] <210> 97
[0885] <211> 5
[0886] <212> PRT
[0887] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0888] <220>
[0889] <223> 6003-471 HC CDR1
[0890] <400> 97
[0891] Asn Tyr Ala Ile Ser
[0892] 1 5
[0893] <210> 98
[0894] <211> 17
[0895] <212> PRT
[0896] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0897] <220>
[0898] <223> 6003-471 HC CDR2
[0899] <400> 98
[0900] Arg Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
[0901] 1 5 10 15
[0902] Gly
[0903] <210> 99
[0904] <211> 13
[0905] <212> PRT
[0906] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0907] <220>
[0908] <223> 6003-471 HC CDR3
[0909] <400> 99
[0910] Asp Arg Arg Gly Phe Ser Gly Tyr Glu Val Phe Asp Tyr
[0911] 1 5 10
[0912] <210> 100
[0913] <211> 11
[0914] <212> PRT
[0915] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0916] <220>
[0917] <223> 6003-471 LC CDR1
[0918] <400> 100
[0919] Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
[0920] 1 5 10
[0921] <210> 101
[0922] <211> 7
[0923] <212> PRT
[0924] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0925] <220>
[0926] <223> 6003-471 LC CDR2
[0927] <400> 101
[0928] Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser
[0929] 1 5
[0930] <210> 102
[0931] <211> 10
[0932] <212> PRT
[0933] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0934] <220>
[0935] <223> 6003-471 LC CDR3

[0936] <400> 102
[0937] Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Ile Thr Phe
[0938] 1 5 10
[0939] <210> 103
[0940] <211> 5
[0941] <212> PRT
[0942] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0943] <220>
[0944] <223> 6003-972 HC CDR1
[0945] <400> 103
[0946] Asp Tyr Ala Met His
[0947] 1 5
[0948] <210> 104
[0949] <211> 17
[0950] <212> PRT
[0951] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0952] <220>
[0953] <223> 6003-972 HC CDR2
[0954] <400> 104
[0955] Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[0956] 1 5 10 15
[0957] Gly
[0958] <210> 105
[0959] <211> 10
[0960] <212> PRT
[0961] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0962] <220>
[0963] <223> 6003-972 HC CDR3
[0964] <400> 105
[0965] Asp Pro Ser Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Leu
[0966] 1 5 10
[0967] <210> 106
[0968] <211> 11
[0969] <212> PRT
[0970] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0971] <220>
[0972] <223> 6003-972 LC CDR1
[0973] <400> 106
[0974] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

[0975]	1	5	10
[0976]	<210> 107		
[0977]	<211> 7		
[0978]	<212> PRT		
[0979]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0980]	<220>		
[0981]	<223> 6003-972 LC CDR2		
[0982]	<400> 107		
[0983]	Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr		
[0984]	1	5	
[0985]	<210> 108		
[0986]	<211> 9		
[0987]	<212> PRT		
[0988]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0989]	<220>		
[0990]	<223> 6003-972 LC CDR3		
[0991]	<400> 108		
[0992]	Gln Gln Arg Ser His Trp Pro Arg Thr		
[0993]	1	5	
[0994]	<210> 109		
[0995]	<211> 119		
[0996]	<212> PRT		
[0997]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0998]	<220>		
[0999]	<223> 6003-28 HC		
[1000]	<400> 109		
[1001]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[1002]	1	5	10 15
[1003]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr		
[1004]	20 25 30		
[1005]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[1006]	35 40 45		
[1007]	Ser Thr Ile Ser Gly Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[1008]	50 55 60		
[1009]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
[1010]	65 70 75 80		
[1011]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[1012]	85 90 95		
[1013]	Ala Asn Leu Tyr Ser Asn Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly		

[1014]	100	105	110
[1015]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[1016]	115		
[1017]	<210> 110		
[1018]	<211> 107		
[1019]	<212> PRT		
[1020]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1021]	<220>		
[1022]	<223> 6003-28 LC		
[1023]	<400> 110		
[1024]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
[1025]	1 5 10 15		
[1026]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Phe		
[1027]	20 25 30		
[1028]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile		
[1029]	35 40 45		
[1030]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly		
[1031]	50 55 60		
[1032]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro		
[1033]	65 70 75 80		
[1034]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu		
[1035]	85 90 95		
[1036]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
[1037]	100 105		
[1038]	<210> 111		
[1039]	<211> 119		
[1040]	<212> PRT		
[1041]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1042]	<220>		
[1043]	<223> 6003-56 HC		
[1044]	<400> 111		
[1045]	Glu Val Gln Val Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[1046]	1 5 10 15		
[1047]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr		
[1048]	20 25 30		
[1049]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[1050]	35 40 45		
[1051]	Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[1052]	50 55 60		

[1053]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[1054]	65 70 75 80
[1055]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1056]	85 90 95
[1057]	Ala Ile Ile Pro Ser Leu Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
[1058]	100 105 110
[1059]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1060]	115
[1061]	<210> 112
[1062]	<211> 107
[1063]	<212> PRT
[1064]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1065]	<220>
[1066]	<223> 6003-56 LC
[1067]	<400> 112
[1068]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[1069]	1 5 10 15
[1070]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Phe
[1071]	20 25 30
[1072]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
[1073]	35 40 45
[1074]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
[1075]	50 55 60
[1076]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
[1077]	65 70 75 80
[1078]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
[1079]	85 90 95
[1080]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[1081]	100 105
[1082]	<210> 113
[1083]	<211> 119
[1084]	<212> PRT
[1085]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1086]	<220>
[1087]	<223> 6003-1286 HC
[1088]	<400> 113
[1089]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1090]	1 5 10 15
[1091]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

[1092]	20	25	30
[1093]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[1094]	35	40	45
[1095]	Ser Thr Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[1096]	50	55	60
[1097]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
[1098]	65	70	75
[1099]	80		
[1099]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys		
[1100]	85	90	95
[1101]	Ala Asn Ile Tyr Ser His Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly		
[1102]	100	105	110
[1103]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[1104]	115		
[1105]	<210> 114		
[1106]	<211> 107		
[1107]	<212> PRT		
[1108]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1109]	<220>		
[1110]	<223> 6003-1286 LC		
[1111]	<400> 114		
[1112]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
[1113]	1	5	10
[1114]	15		
[1114]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Tyr		
[1115]	20	25	30
[1116]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile		
[1117]	35	40	45
[1118]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly		
[1119]	50	55	60
[1120]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro		
[1121]	65	70	75
[1122]	80		
[1122]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu		
[1123]	85	90	95
[1124]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
[1125]	100	105	
[1126]	<210> 115		
[1127]	<211> 119		
[1128]	<212> PRT		
[1129]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1130]	<220>		

[1131]	<223>	6003-30	HC
[1132]	<400>	115	
[1133]	Glu	Val	Gln Val Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1134]	1	5	10 15
[1135]	Ser	Leu	Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[1136]	20	25	30
[1137]	Ala	Met	Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1138]	35	40	45
[1139]	Ser	Thr	Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1140]	50	55	60
[1141]	Lys	Gly	Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[1142]	65	70	75 80
[1143]	Leu	Gln	Met Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1144]	85	90	95
[1145]	Ala	Ile	Ile Pro Ser Leu Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
[1146]	100	105	110
[1147]	Thr	Leu	Val Thr Val Ser Ser
[1148]	115		
[1149]	<210>	116	
[1150]	<211>	107	
[1151]	<212>	PRT	
[1152]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[1153]	<220>		
[1154]	<223>	6003-30	LC
[1155]	<400>	116	
[1156]	Glu	Ile	Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[1157]	1	5	10 15
[1158]	Glu	Arg	Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
[1159]	20	25	30
[1160]	Leu	Ala	Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
[1161]	35	40	45
[1162]	Tyr	Asp	Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
[1163]	50	55	60
[1164]	Ser	Gly	Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
[1165]	65	70	75 80
[1166]	Glu	Asp	Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
[1167]	85	90	95
[1168]	Thr	Phe	Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[1169]	100	105	

[1170]	<210>	117
[1171]	<211>	116
[1172]	<212>	PRT
[1173]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1174]	<220>	
[1175]	<223>	6003-1277 HC
[1176]	<400>	117
[1177]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[1178]	1	5 10 15
[1179]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr	
[1180]	20	25 30
[1181]	Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[1182]	35	40 45
[1183]	Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Leu	
[1184]	50	55 60
[1185]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	
[1186]	65	70 75 80
[1187]	Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1188]	85	90 95
[1189]	Ala Ser Leu Gly Arg Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val	
[1190]	100	105 110
[1191]	Thr Val Ser Ser	
[1192]	115	
[1193]	<210>	118
[1194]	<211>	108
[1195]	<212>	PRT
[1196]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1197]	<220>	
[1198]	<223>	6003-1277 LC
[1199]	<400>	118
[1200]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
[1201]	1	5 10 15
[1202]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr	
[1203]	20	25 30
[1204]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile	
[1205]	35	40 45
[1206]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly	
[1207]	50	55 60
[1208]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro	

[1209]	65	70	75	80
[1210]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ala			
[1211]	85	90	95	
[1212]	Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
[1213]	100	105		
[1214]	<210> 119			
[1215]	<211> 117			
[1216]	<212> PRT			
[1217]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[1218]	<220>			
[1219]	<223> 6003-381 HC			
[1220]	<400> 119			
[1221]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg			
[1222]	1	5	10	15
[1223]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr			
[1224]	20	25	30	
[1225]	Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[1226]	35	40	45	
[1227]	Ala Ala Ile Ser Tyr Asn Gly Asn Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
[1228]	50	55	60	
[1229]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
[1230]	65	70	75	80
[1231]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Ser Tyr Cys			
[1232]	85	90	95	
[1233]	Ala Lys Gly Leu Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met			
[1234]	100	105	110	
[1235]	Val Thr Val Ser Ser			
[1236]	115			
[1237]	<210> 120			
[1238]	<211> 108			
[1239]	<212> PRT			
[1240]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[1241]	<220>			
[1242]	<223> 6003-381 LC			
[1243]	<400> 120			
[1244]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
[1245]	1	5	10	15
[1246]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Gly Tyr			
[1247]	20	25	30	

[1248]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
[1249]		35					40					45				
[1250]	Tyr	Asn	Ala	Ser	Asn	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly
[1251]		50					55				60					
[1252]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro
[1253]	65					70					75				80	
[1254]	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Arg	Ser	Asn	Trp	Pro	Pro
[1255]					85					90					95	
[1256]	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys				
[1257]				100					105							
[1258]	<210> 121															
[1259]	<211> 119															
[1260]	<212> PRT															
[1261]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[1262]	<220>															
[1263]	<223> 6003-83 HC															
[1264]	<400> 121															
[1265]	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[1266]	1			5					10					15		
[1267]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
[1268]			20					25				30				
[1269]	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[1270]		35					40					45				
[1271]	Ser	Thr	Ile	Ser	Gly	Arg	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
[1272]		50					55				60					
[1273]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
[1274]	65					70					75				80	
[1275]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[1276]				85						90					95	
[1277]	Ala	Ile	Val	Ala	Thr	Met	Tyr	Trp	Tyr	Phe	Asp	Leu	Trp	Gly	Arg	Gly
[1278]				100					105					110		
[1279]	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
[1280]				115												
[1281]	<210> 122															
[1282]	<211> 107															
[1283]	<212> PRT															
[1284]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[1285]	<220>															
[1286]	<223> 6003-83 LC															

[1287]	<400> 122
[1288]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[1289]	1 5 10 15
[1290]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
[1291]	20 25 30
[1292]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
[1293]	35 40 45
[1294]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
[1295]	50 55 60
[1296]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
[1297]	65 70 75 80
[1298]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ile
[1299]	85 90 95
[1300]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[1301]	100 105
[1302]	<210> 123
[1303]	<211> 117
[1304]	<212> PRT
[1305]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1306]	<220>
[1307]	<223> 6003-799 HC
[1308]	<400> 123
[1309]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
[1310]	1 5 10 15
[1311]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[1312]	20 25 30
[1313]	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1314]	35 40 45
[1315]	Thr Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1316]	50 55 60
[1317]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[1318]	65 70 75 80
[1319]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1320]	85 90 95
[1321]	Ala Lys Leu Thr Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
[1322]	100 105 110
[1323]	Val Thr Val Ser Ser
[1324]	115
[1325]	<210> 124

[1326]	<211>	108
[1327]	<212>	PRT
[1328]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1329]	<220>	
[1330]	<223>	6003-799 LC
[1331]	<400>	124
[1332]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
[1333]	1	5 10 15
[1334]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr	
[1335]	20	25 30
[1336]	Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile	
[1337]	35	40 45
[1338]	Tyr His Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly	
[1339]	50	55 60
[1340]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro	
[1341]	65	70 75 80
[1342]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Arg	
[1343]	85	90 95
[1344]	Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys	
[1345]	100	105
[1346]	<210>	125
[1347]	<211>	124
[1348]	<212>	PRT
[1349]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1350]	<220>	
[1351]	<223>	6003-910 HC
[1352]	<400>	125
[1353]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[1354]	1	5 10 15
[1355]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
[1356]	20	25 30
[1357]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1358]	35	40 45
[1359]	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val	
[1360]	50	55 60
[1361]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
[1362]	65	70 75 80
[1363]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1364]	85	90 95

[1365]	Ala Lys Asp Ile Arg Gly Ile Gly Phe Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
[1366]	100 105 110
[1367]	Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[1368]	115 120
[1369]	<210> 126
[1370]	<211> 107
[1371]	<212> PRT
[1372]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1373]	<220>
[1374]	<223> 6003-910 LC
[1375]	<400> 126
[1376]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[1377]	1 5 10 15
[1378]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
[1379]	20 25 30
[1380]	Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
[1381]	35 40 45
[1382]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
[1383]	50 55 60
[1384]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
[1385]	65 70 75 80
[1386]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
[1387]	85 90 95
[1388]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[1389]	100 105
[1390]	<210> 127
[1391]	<211> 117
[1392]	<212> PRT
[1393]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1394]	<220>
[1395]	<223> 6003-423 HC
[1396]	<400> 127
[1397]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1398]	1 5 10 15
[1399]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr
[1400]	20 25 30
[1401]	Val Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1402]	35 40 45
[1403]	Ser Thr Ile Ser Gly Gly Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val

[1404]	50	55	60
[1405]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
[1406]	65	70	75
[1407]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		80
[1408]		85	90
[1409]	Ala Lys Asn Trp Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		95
[1410]		100	105
[1411]	Val Thr Val Ser Ser		110
[1412]	115		
[1413]	<210> 128		
[1414]	<211> 108		
[1415]	<212> PRT		
[1416]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1417]	<220>		
[1418]	<223> 6003-423 LC		
[1419]	<400> 128		
[1420]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
[1421]	1	5	10
[1422]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr		15
[1423]		20	25
[1424]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile		30
[1425]		35	40
[1426]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly		45
[1427]	50	55	60
[1428]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro		
[1429]	65	70	75
[1430]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Leu Ile		80
[1431]		85	90
[1432]	Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys		95
[1433]		100	105
[1434]	<210> 129		
[1435]	<211> 117		
[1436]	<212> PRT		
[1437]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1438]	<220>		
[1439]	<223> 6003-822 HC		
[1440]	<400> 129		
[1441]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Glu		
[1442]	1	5	10
			15

[1443]	Ser	Leu	Thr	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Leu	Ser	Ser	Tyr
[1444]				20					25					30		
[1445]	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[1446]			35					40						45		
[1447]	Ser	Ser	Ile	Ser	Gly	Arg	Leu	Gly	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ala	Ser	Val
[1448]		50					55					60				
[1449]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
[1450]	65					70					75				80	
[1451]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Ser	Cys
[1452]				85						90					95	
[1453]	Ala	Lys	Ala	Pro	Ser	Asp	Ala	Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met
[1454]				100					105					110		
[1455]	Val	Thr	Val	Ser	Ser											
[1456]				115												
[1457]	<210> 130															
[1458]	<211> 108															
[1459]	<212> PRT															
[1460]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[1461]	<220>															
[1462]	<223> 6003-822 LC															
[1463]	<400> 130															
[1464]	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
[1465]	1			5					10					15		
[1466]	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Tyr
[1467]			20						25					30		
[1468]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
[1469]			35				40						45			
[1470]	Tyr	Asp	Ala	Ser	Asn	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly
[1471]		50				55					60					
[1472]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro
[1473]	65					70					75				80	
[1474]	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Arg	Ser	Asn	Trp	Pro	Ile
[1475]				85						90					95	
[1476]	Phe	Thr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Lys	Val	Asp	Ile	Lys				
[1477]				100					105							
[1478]	<210> 131															
[1479]	<211> 124															
[1480]	<212> PRT															
[1481]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															

[1482]	<220>
[1483]	<223> 6003-886 HC
[1484]	<400> 131
[1485]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[1486]	1 5 10 15
[1487]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr
[1488]	20 25 30
[1489]	Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[1490]	35 40 45
[1491]	Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
[1492]	50 55 60
[1493]	Gln Asp Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Phe Thr Ser Thr Ala Tyr
[1494]	65 70 75 80
[1495]	Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[1496]	85 90 95
[1497]	Ala Arg Asp Gly Pro Leu Thr Gly Asp Phe Thr Phe Tyr Gly Met Asp
[1498]	100 105 110
[1499]	Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[1500]	115 120
[1501]	<210> 132
[1502]	<211> 108
[1503]	<212> PRT
[1504]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1505]	<220>
[1506]	<223> 6003-886 LC
[1507]	<400> 132
[1508]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[1509]	1 5 10 15
[1510]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
[1511]	20 25 30
[1512]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
[1513]	35 40 45
[1514]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
[1515]	50 55 60
[1516]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
[1517]	65 70 75 80
[1518]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
[1519]	85 90 95
[1520]	Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

[1521]	100	105
[1522]	<210> 133	
[1523]	<211> 121	
[1524]	<212> PRT	
[1525]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
[1526]	<220>	
[1527]	<223> 6003-72 HC	
[1528]	<400> 133	
[1529]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[1530]	1 5 10 15	
[1531]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
[1532]	20 25 30	
[1533]	Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1534]	35 40 45	
[1535]	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
[1536]	50 55 60	
[1537]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
[1538]	65 70 75 80	
[1539]	Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1540]	85 90 95	
[1541]	Thr Arg Gly Arg Gly Ile Gly Tyr Tyr Asn Gly Met Asp Val Trp Gly	
[1542]	100 105 110	
[1543]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
[1544]	115 120	
[1545]	<210> 134	
[1546]	<211> 109	
[1547]	<212> PRT	
[1548]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
[1549]	<220>	
[1550]	<223> 6003-72 LC	
[1551]	<400> 134	
[1552]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
[1553]	1 5 10 15	
[1554]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser	
[1555]	20 25 30	
[1556]	Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu	
[1557]	35 40 45	
[1558]	Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser	
[1559]	50 55 60	

[1560]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
[1561]	65 70 75 80
[1562]	Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
[1563]	85 90 95
[1564]	Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[1565]	100 105
[1566]	<210> 135
[1567]	<211> 120
[1568]	<212> PRT
[1569]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1570]	<220>
[1571]	<223> 6003-900 HC
[1572]	<400> 135
[1573]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
[1574]	1 5 10 15
[1575]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[1576]	20 25 30
[1577]	Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1578]	35 40 45
[1579]	Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1580]	50 55 60
[1581]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
[1582]	65 70 75 80
[1583]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1584]	85 90 95
[1585]	Ala Arg Arg Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
[1586]	100 105 110
[1587]	Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
[1588]	115 120
[1589]	<210> 136
[1590]	<211> 107
[1591]	<212> PRT
[1592]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1593]	<220>
[1594]	<223> 6003-900 LC
[1595]	<400> 136
[1596]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
[1597]	1 5 10 15
[1598]	Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Tyr Ser

90

[1638]	<223> 6003-936 LC
[1639]	<400> 138
[1640]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
[1641]	1 5 10 15
[1642]	Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
[1643]	20 25 30
[1644]	Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
[1645]	35 40 45
[1646]	Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1647]	50 55 60
[1648]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
[1649]	65 70 75 80
[1650]	Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro His
[1651]	85 90 95
[1652]	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
[1653]	100 105
[1654]	<210> 139
[1655]	<211> 124
[1656]	<212> PRT
[1657]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1658]	<220>
[1659]	<223> 6003-408 HC
[1660]	<400> 139
[1661]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
[1662]	1 5 10 15
[1663]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[1664]	20 25 30
[1665]	Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1666]	35 40 45
[1667]	Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1668]	50 55 60
[1669]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
[1670]	65 70 75 80
[1671]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1672]	85 90 95
[1673]	Ala Arg Arg Arg Ile Ala Ala Ala Gly Thr Gly Tyr Gly Ala Phe Asp
[1674]	100 105 110
[1675]	Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
[1676]	115 120

92

[1716]		85		90		95	
[1717]	Ala Arg Asp Arg Arg Gly Phe Ser Gly Tyr Glu Val Phe Asp Tyr Trp						
[1718]		100		105		110	
[1719]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser						
[1720]		115		120			
[1721]	<210> 142						
[1722]	<211> 107						
[1723]	<212> PRT						
[1724]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)						
[1725]	<220>						
[1726]	<223> 6003-471 LC						
[1727]	<400> 142						
[1728]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly						
[1729]	1	5		10		15	
[1730]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp						
[1731]		20		25		30	
[1732]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile						
[1733]		35		40		45	
[1734]	Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly						
[1735]	50		55		60		
[1736]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro						
[1737]	65		70		75		80
[1738]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Ile						
[1739]		85		90		95	
[1740]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys						
[1741]		100		105			
[1742]	<210> 143						
[1743]	<211> 119						
[1744]	<212> PRT						
[1745]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)						
[1746]	<220>						
[1747]	<223> 6003-972 HC						
[1748]	<400> 143						
[1749]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg						
[1750]	1	5		10		15	
[1751]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr						
[1752]		20		25		30	
[1753]	Ala Met His Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val						
[1754]		35		40		45	

[1755]	Val Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1756]	50 55 60
[1757]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[1758]	65 70 75 80
[1759]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1760]	85 90 95
[1761]	Ala Arg Asp Pro Ser Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
[1762]	100 105 110
[1763]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1764]	115
[1765]	<210> 144
[1766]	<211> 107
[1767]	<212> PRT
[1768]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1769]	<220>
[1770]	<223> 6003-972 LC
[1771]	<400> 144
[1772]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[1773]	1 5 10 15
[1774]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
[1775]	20 25 30
[1776]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
[1777]	35 40 45
[1778]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
[1779]	50 55 60
[1780]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
[1781]	65 70 75 80
[1782]	Glu Asp Phe Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser His Trp Pro Arg
[1783]	85 90 95
[1784]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[1785]	100 105
[1786]	<210> 145
[1787]	<211> 831
[1788]	<212> PRT
[1789]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1790]	<220>
[1791]	<223> 人分拣蛋白同种型1
[1792]	<400> 145
[1793]	Met Glu Arg Pro Trp Gly Ala Ala Asp Gly Leu Ser Arg Trp Pro His

[1794]	1	5	10	15
[1795]	Gly Leu Gly Leu Leu Leu Leu Leu Gln Leu Leu Pro Pro Ser Thr Leu			
[1796]	20	25	30	
[1797]	Ser Gln Asp Arg Leu Asp Ala Pro Pro Pro Pro Ala Ala Pro Leu Pro			
[1798]	35	40	45	
[1799]	Arg Trp Ser Gly Pro Ile Gly Val Ser Trp Gly Leu Arg Ala Ala Ala			
[1800]	50	55	60	
[1801]	Ala Gly Gly Ala Phe Pro Arg Gly Gly Arg Trp Arg Arg Ser Ala Pro			
[1802]	65	70	75	80
[1803]	Gly Glu Asp Glu Glu Cys Gly Arg Val Arg Asp Phe Val Ala Lys Leu			
[1804]	85	90	95	
[1805]	Ala Asn Asn Thr His Gln His Val Phe Asp Asp Leu Arg Gly Ser Val			
[1806]	100	105	110	
[1807]	Ser Leu Ser Trp Val Gly Asp Ser Thr Gly Val Ile Leu Val Leu Thr			
[1808]	115	120	125	
[1809]	Thr Phe His Val Pro Leu Val Ile Met Thr Phe Gly Gln Ser Lys Leu			
[1810]	130	135	140	
[1811]	Tyr Arg Ser Glu Asp Tyr Gly Lys Asn Phe Lys Asp Ile Thr Asp Leu			
[1812]	145	150	155	160
[1813]	Ile Asn Asn Thr Phe Ile Arg Thr Glu Phe Gly Met Ala Ile Gly Pro			
[1814]	165	170	175	
[1815]	Glu Asn Ser Gly Lys Val Val Leu Thr Ala Glu Val Ser Gly Gly Ser			
[1816]	180	185	190	
[1817]	Arg Gly Gly Arg Ile Phe Arg Ser Ser Asp Phe Ala Lys Asn Phe Val			
[1818]	195	200	205	
[1819]	Gln Thr Asp Leu Pro Phe His Pro Leu Thr Gln Met Met Tyr Ser Pro			
[1820]	210	215	220	
[1821]	Gln Asn Ser Asp Tyr Leu Leu Ala Leu Ser Thr Glu Asn Gly Leu Trp			
[1822]	225	230	235	240
[1823]	Val Ser Lys Asn Phe Gly Gly Lys Trp Glu Glu Ile His Lys Ala Val			
[1824]	245	250	255	
[1825]	Cys Leu Ala Lys Trp Gly Ser Asp Asn Thr Ile Phe Phe Thr Thr Tyr			
[1826]	260	265	270	
[1827]	Ala Asn Gly Ser Cys Lys Ala Asp Leu Gly Ala Leu Glu Leu Trp Arg			
[1828]	275	280	285	
[1829]	Thr Ser Asp Leu Gly Lys Ser Phe Lys Thr Ile Gly Val Lys Ile Tyr			
[1830]	290	295	300	
[1831]	Ser Phe Gly Leu Gly Gly Arg Phe Leu Phe Ala Ser Val Met Ala Asp			
[1832]	305	310	315	320

[1833]	Lys	Asp	Thr	Thr	Arg	Arg	Ile	His	Val	Ser	Thr	Asp	Gln	Gly	Asp	Thr
[1834]					325					330					335	
[1835]	Trp	Ser	Met	Ala	Gln	Leu	Pro	Ser	Val	Gly	Gln	Glu	Gln	Phe	Tyr	Ser
[1836]				340					345					350		
[1837]	Ile	Leu	Ala	Ala	Asn	Asp	Asp	Met	Val	Phe	Met	His	Val	Asp	Glu	Pro
[1838]			355					360					365			
[1839]	Gly	Asp	Thr	Gly	Phe	Gly	Thr	Ile	Phe	Thr	Ser	Asp	Asp	Arg	Gly	Ile
[1840]		370					375					380				
[1841]	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Leu	Asp	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Thr	Thr	Gly	Gly
[1842]	385					390				395					400	
[1843]	Glu	Thr	Asp	Phe	Thr	Asn	Val	Thr	Ser	Leu	Arg	Gly	Val	Tyr	Ile	Thr
[1844]				405					410					415		
[1845]	Ser	Val	Leu	Ser	Glu	Asp	Asn	Ser	Ile	Gln	Thr	Met	Ile	Thr	Phe	Asp
[1846]			420					425					430			
[1847]	Gln	Gly	Gly	Arg	Trp	Thr	His	Leu	Arg	Lys	Pro	Glu	Asn	Ser	Glu	Cys
[1848]		435					440					445				
[1849]	Asp	Ala	Thr	Ala	Lys	Asn	Lys	Asn	Glu	Cys	Ser	Leu	His	Ile	His	Ala
[1850]		450				455				460						
[1851]	Ser	Tyr	Ser	Ile	Ser	Gln	Lys	Leu	Asn	Val	Pro	Met	Ala	Pro	Leu	Ser
[1852]	465					470				475					480	
[1853]	Glu	Pro	Asn	Ala	Val	Gly	Ile	Val	Ile	Ala	His	Gly	Ser	Val	Gly	Asp
[1854]			485				490					495				
[1855]	Ala	Ile	Ser	Val	Met	Val	Pro	Asp	Val	Tyr	Ile	Ser	Asp	Asp	Gly	Gly
[1856]			500				505					510				
[1857]	Tyr	Ser	Trp	Thr	Lys	Met	Leu	Glu	Gly	Pro	His	Tyr	Tyr	Thr	Ile	Leu
[1858]		515				520						525				
[1859]	Asp	Ser	Gly	Gly	Ile	Ile	Val	Ala	Ile	Glu	His	Ser	Ser	Arg	Pro	Ile
[1860]		530				535				540						
[1861]	Asn	Val	Ile	Lys	Phe	Ser	Thr	Asp	Glu	Gly	Gln	Cys	Trp	Gln	Thr	Tyr
[1862]	545					550				555					560	
[1863]	Thr	Phe	Thr	Arg	Asp	Pro	Ile	Tyr	Phe	Thr	Gly	Leu	Ala	Ser	Glu	Pro
[1864]				565					570					575		
[1865]	Gly	Ala	Arg	Ser	Met	Asn	Ile	Ser	Ile	Trp	Gly	Phe	Thr	Glu	Ser	Phe
[1866]			580				585					590				
[1867]	Leu	Thr	Ser	Gln	Trp	Val	Ser	Tyr	Thr	Ile	Asp	Phe	Lys	Asp	Ile	Leu
[1868]		595				600						605				
[1869]	Glu	Arg	Asn	Cys	Glu	Glu	Lys	Asp	Tyr	Thr	Ile	Trp	Leu	Ala	His	Ser
[1870]		610				615				620						
[1871]	Thr	Asp	Pro	Glu	Asp	Tyr	Glu	Asp	Gly	Cys	Ile	Leu	Gly	Tyr	Lys	Glu

[1872]	625	630	635	640
[1873]	Gln Phe Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn Gly Arg Asp			
[1874]		645	650	655
[1875]	Tyr Val Val Thr Lys Gln Pro Ser Ile Cys Leu Cys Ser Leu Glu Asp			
[1876]		660	665	670
[1877]	Phe Leu Cys Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Pro Glu Asn Asp Ser Lys Cys			
[1878]		675	680	685
[1879]	Val Glu Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Asp Leu Glu Phe Cys Leu Tyr			
[1880]		690	695	700
[1881]	Gly Arg Glu Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys Ile Pro Gly			
[1882]	705	710	715	720
[1883]	Asp Lys Cys Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val Lys Asp Leu			
[1884]		725	730	735
[1885]	Lys Lys Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys Gln Asn Ser			
[1886]		740	745	750
[1887]	Lys Ser Asn Ser Val Pro Ile Ile Leu Ala Ile Val Gly Leu Met Leu			
[1888]		755	760	765
[1889]	Val Thr Val Val Ala Gly Val Leu Ile Val Lys Lys Tyr Val Cys Gly			
[1890]		770	775	780
[1891]	Gly Arg Phe Leu Val His Arg Tyr Ser Val Leu Gln Gln His Ala Glu			
[1892]	785	790	795	800
[1893]	Ala Asn Gly Val Asp Gly Val Asp Ala Leu Asp Thr Ala Ser His Thr			
[1894]		805	810	815
[1895]	Asn Lys Ser Gly Tyr His Asp Asp Ser Asp Glu Asp Leu Leu Glu			
[1896]		820	825	830
[1897]	<210> 146			
[1898]	<211> 145			
[1899]	<212> PRT			
[1900]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[1901]	<220>			
[1902]	<223> E-区			
[1903]	<400> 146			
[1904]	Cys Glu Glu Lys Asp Tyr Thr Ile Trp Leu Ala His Ser Thr Asp Pro			
[1905]	1	5	10	15
[1906]	Glu Asp Tyr Glu Asp Gly Cys Ile Leu Gly Tyr Lys Glu Gln Phe Leu			
[1907]		20	25	30
[1908]	Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn Gly Arg Asp Tyr Val Val			
[1909]		35	40	45
[1910]	Thr Lys Gln Pro Ser Ile Cys Leu Cys Ser Leu Glu Asp Phe Leu Cys			

[1911]	50	55	60
[1912]	Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Pro Glu Asn Asp Ser Lys Cys Val Glu Gln		
[1913]	65	70	75
[1914]	Pro Glu Leu Lys Gly His Asp Leu Glu Phe Cys Leu Tyr Gly Arg Glu		
[1915]	85	90	95
[1916]	Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys Ile Pro Gly Asp Lys Cys		
[1917]	100	105	110
[1918]	Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val Lys Asp Leu Lys Lys Lys		
[1919]	115	120	125
[1920]	Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys Gln Asn Ser Lys Ser Asn		
[1921]	130	135	140
[1922]	Ser		
[1923]	145		
[1924]	<210> 147		
[1925]	<211> 700		
[1926]	<212> PRT		
[1927]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1928]	<220>		
[1929]	<223> 分拣蛋白“hSORTECDBAP”		
[1930]	<400> 147		
[1931]	Ser Ala Pro Gly Glu Asp Glu Glu Cys Gly Arg Val Arg Asp Phe Val		
[1932]	1	5	10
[1933]	Ala Lys Leu Ala Asn Asn Thr His Gln His Val Phe Asp Asp Leu Arg		
[1934]	20	25	30
[1935]	Gly Ser Val Ser Leu Ser Trp Val Gly Asp Ser Thr Gly Val Ile Leu		
[1936]	35	40	45
[1937]	Val Leu Thr Thr Phe His Val Pro Leu Val Ile Met Thr Phe Gly Gln		
[1938]	50	55	60
[1939]	Ser Lys Leu Tyr Arg Ser Glu Asp Tyr Gly Lys Asn Phe Lys Asp Ile		
[1940]	65	70	75
[1941]	Thr Asp Leu Ile Asn Asn Thr Phe Ile Arg Thr Glu Phe Gly Met Ala		
[1942]	85	90	95
[1943]	Ile Gly Pro Glu Asn Ser Gly Lys Val Val Leu Thr Ala Glu Val Ser		
[1944]	100	105	110
[1945]	Gly Gly Ser Arg Gly Gly Arg Ile Phe Arg Ser Ser Asp Phe Ala Lys		
[1946]	115	120	125
[1947]	Asn Phe Val Gln Thr Asp Leu Pro Phe His Pro Leu Thr Gln Met Met		
[1948]	130	135	140
[1949]	Tyr Ser Pro Gln Asn Ser Asp Tyr Leu Leu Ala Leu Ser Thr Glu Asn		

[1950]	145	150	155	160
[1951]	Gly Leu Trp Val Ser Lys Asn Phe Gly Gly Lys Trp Glu Glu Ile His			
[1952]		165	170	175
[1953]	Lys Ala Val Cys Leu Ala Lys Trp Gly Ser Asp Asn Thr Ile Phe Phe			
[1954]		180	185	190
[1955]	Thr Thr Tyr Ala Asn Gly Ser Cys Lys Ala Asp Leu Gly Ala Leu Glu			
[1956]		195	200	205
[1957]	Leu Trp Arg Thr Ser Asp Leu Gly Lys Ser Phe Lys Thr Ile Gly Val			
[1958]		210	215	220
[1959]	Lys Ile Tyr Ser Phe Gly Leu Gly Gly Arg Phe Leu Phe Ala Ser Val			
[1960]	225	230	235	240
[1961]	Met Ala Asp Lys Asp Thr Thr Arg Arg Ile His Val Ser Thr Asp Gln			
[1962]		245	250	255
[1963]	Gly Asp Thr Trp Ser Met Ala Gln Leu Pro Ser Val Gly Gln Glu Gln			
[1964]		260	265	270
[1965]	Phe Tyr Ser Ile Leu Ala Ala Asn Asp Asp Met Val Phe Met His Val			
[1966]		275	280	285
[1967]	Asp Glu Pro Gly Asp Thr Gly Phe Gly Thr Ile Phe Thr Ser Asp Asp			
[1968]		290	295	300
[1969]	Arg Gly Ile Val Tyr Ser Lys Ser Leu Asp Arg His Leu Tyr Thr Thr			
[1970]	305	310	315	320
[1971]	Thr Gly Gly Glu Thr Asp Phe Thr Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val			
[1972]		325	330	335
[1973]	Tyr Ile Thr Ser Val Leu Ser Glu Asp Asn Ser Ile Gln Thr Met Ile			
[1974]		340	345	350
[1975]	Thr Phe Asp Gln Gly Gly Arg Trp Thr His Leu Arg Lys Pro Glu Asn			
[1976]		355	360	365
[1977]	Ser Glu Cys Asp Ala Thr Ala Lys Asn Lys Asn Glu Cys Ser Leu His			
[1978]		370	375	380
[1979]	Ile His Ala Ser Tyr Ser Ile Ser Gln Lys Leu Asn Val Pro Met Ala			
[1980]	385	390	395	400
[1981]	Pro Leu Ser Glu Pro Asn Ala Val Gly Ile Val Ile Ala His Gly Ser			
[1982]		405	410	415
[1983]	Val Gly Asp Ala Ile Ser Val Met Val Pro Asp Val Tyr Ile Ser Asp			
[1984]		420	425	430
[1985]	Asp Gly Gly Tyr Ser Trp Thr Lys Met Leu Glu Gly Pro His Tyr Tyr			
[1986]		435	440	445
[1987]	Thr Ile Leu Asp Ser Gly Gly Ile Ile Val Ala Ile Glu His Ser Ser			
[1988]		450	455	460

[1989]	Arg Pro Ile Asn Val Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp
[1990]	465 470 475 480
[1991]	Gln Thr Tyr Thr Phe Thr Arg Asp Pro Ile Tyr Phe Thr Gly Leu Ala
[1992]	485 490 495
[1993]	Ser Glu Pro Gly Ala Arg Ser Met Asn Ile Ser Ile Trp Gly Phe Thr
[1994]	500 505 510
[1995]	Glu Ser Phe Leu Thr Ser Gln Trp Val Ser Tyr Thr Ile Asp Phe Lys
[1996]	515 520 525
[1997]	Asp Ile Leu Glu Arg Asn Cys Glu Glu Lys Asp Tyr Thr Ile Trp Leu
[1998]	530 535 540
[1999]	Ala His Ser Thr Asp Pro Glu Asp Tyr Glu Asp Gly Cys Ile Leu Gly
[2000]	545 550 555 560
[2001]	Tyr Lys Glu Gln Phe Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn
[2002]	565 570 575
[2003]	Gly Arg Asp Tyr Val Val Thr Lys Gln Pro Ser Ile Cys Leu Cys Ser
[2004]	580 585 590
[2005]	Leu Glu Asp Phe Leu Cys Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Pro Glu Asn Asp
[2006]	595 600 605
[2007]	Ser Lys Cys Val Glu Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Asp Leu Glu Phe
[2008]	610 615 620
[2009]	Cys Leu Tyr Gly Arg Glu Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys
[2010]	625 630 635 640
[2011]	Ile Pro Gly Asp Lys Cys Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val
[2012]	645 650 655
[2013]	Lys Asp Leu Lys Lys Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys
[2014]	660 665 670
[2015]	Gln Asn Ser Lys Ser Asn Gly Ser Ala Gly Gly Ser Gly Gly Leu Asn
[2016]	675 680 685
[2017]	Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
[2018]	690 695 700
[2019]	<210> 148
[2020]	<211> 700
[2021]	<212> PRT
[2022]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2023]	<220>
[2024]	<223> 分拣蛋白SORTECDBAP_hBACK
[2025]	<400> 148
[2026]	Ser Ala Pro Gly Glu Asp Glu Glu Cys Gly Arg Val Arg Asp Phe Val
[2027]	1 5 10 15

[2028]	Ala	Lys	Leu	Ala	Asn	Asn	Thr	His	Gln	His	Ile	Phe	Asn	Asp	Leu	Ser
[2029]				20					25					30		
[2030]	Gly	Ser	Val	Ser	Leu	Ser	Trp	Val	Gly	Asp	Ser	Thr	Gly	Val	Ile	Leu
[2031]				35					40					45		
[2032]	Val	Leu	Thr	Thr	Phe	Gln	Val	Pro	Ile	Phe	Met	Ile	Thr	Ile	Gly	Gln
[2033]				50					55					60		
[2034]	Ser	Lys	Leu	Tyr	Arg	Ser	Glu	Asp	Tyr	Gly	Lys	Asn	Phe	Lys	Asp	Ile
[2035]	65						70					75				80
[2036]	Thr	Asp	Leu	Ile	Asn	Asn	Thr	Phe	Ile	Arg	Ser	Asp	Phe	Gly	Ile	Ala
[2037]					85					90					95	
[2038]	Ile	Gly	Pro	Glu	Asn	Ser	Gly	Lys	Val	Val	Leu	Thr	Ala	Asp	Val	Ser
[2039]					100					105					110	
[2040]	Gly	Ser	His	Gly	Ser	Arg	Ile	Phe	Arg	Ser	Ser	Asp	Phe	Ala	Lys	Asn
[2041]								115						120		125
[2042]	Phe	Val	Gln	Gln	Glu	Leu	Pro	Phe	Val	Pro	Leu	Met	Gln	Ile	Met	Tyr
[2043]								130						135		140
[2044]	Ser	Pro	Gln	Asn	Ser	Asp	Tyr	Leu	Leu	Ala	Leu	Ser	Asn	Lys	Asn	Glu
[2045]	145							150						155		160
[2046]	Leu	Trp	Val	Ser	Lys	Asn	Phe	Gly	Gly	Lys	Trp	Glu	Lys	Leu	Tyr	Asp
[2047]								165						170		175
[2048]	Thr	Val	Cys	Leu	Ala	Lys	Trp	Gly	Ser	Asp	Asn	Thr	Ile	Phe	Phe	Thr
[2049]								180						185		190
[2050]	Ala	Asn	His	Asn	Gly	Ser	Cys	Ser	Asn	Asp	Arg	Gly	Met	Leu	Glu	Leu
[2051]								195						200		205
[2052]	Trp	Arg	Thr	Ser	Asp	Leu	Gly	Lys	Ser	Phe	Lys	Thr	Ile	Gly	Ser	Lys
[2053]								210						215		220
[2054]	Ile	Tyr	Ser	Phe	Gly	Leu	Gly	Gly	Arg	Phe	Leu	Phe	Ala	Ser	Val	Met
[2055]	225							230						235		240
[2056]	Thr	Gly	Lys	Gly	Thr	Leu	Arg	Ala	Ile	His	Val	Ser	Thr	Asp	Gln	Gly
[2057]								245						250		255
[2058]	Asp	Thr	Trp	Ser	Met	Ala	Gln	Leu	Pro	Pro	Val	Gly	His	Glu	Gln	Phe
[2059]								260						265		270
[2060]	Tyr	Ser	Ile	Leu	Ala	Ala	Asn	Asp	Asp	Met	Val	Phe	Met	His	Val	Asp
[2061]								275						280		285
[2062]	Glu	Pro	Gly	Asp	Ser	Gly	Phe	Gly	Thr	Ile	Phe	Thr	Ser	Asp	Asp	Arg
[2063]								290						295		300
[2064]	Gly	Ile	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Leu	Glu	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Thr	Thr
[2065]	305							310						315		320
[2066]	Gly	Gly	Glu	Thr	Asp	Phe	Thr	Asn	Val	Thr	Ser	Leu	Arg	Gly	Val	Tyr

[2067]					325								330								335							
[2068]	Ile	Thr	Ser	Ile	Leu	Ala	Glu	Asp	Lys	Ser	Val	Gln	Ser	Met	Ile	Thr												
[2069]					340								345								350							
[2070]	Phe	Asp	Gln	Gly	Gly	Arg	Trp	Thr	His	Leu	Arg	Lys	Pro	Glu	Asn	Ser												
[2071]					355								360								365							
[2072]	Lys	Cys	Asp	Ala	Thr	Ala	Arg	Asp	Pro	Glu	Lys	Cys	Ser	Leu	His	Ile												
[2073]					370								375								380							
[2074]	His	Ala	Ala	Tyr	Ser	Ile	Ala	Thr	Gly	Leu	Asn	Val	Pro	Met	Leu	Pro												
[2075]	385								390								395								400			
[2076]	Leu	Ser	Glu	Pro	Asn	Ala	Val	Gly	Ile	Val	Ile	Ala	His	Gly	Ser	Val												
[2077]					405								410								415							
[2078]	Gly	Asp	Ala	Ile	Ser	Val	Met	Arg	Pro	Asp	Val	Tyr	Ile	Ser	Asp	Asp												
[2079]					420								425								430							
[2080]	Gly	Gly	Tyr	Ser	Trp	Thr	Lys	Ala	Leu	Glu	Gly	Pro	His	His	Tyr	Thr												
[2081]					435								440								445							
[2082]	Ile	Leu	Asp	Ser	Gly	Gly	Ile	Ile	Val	Ala	Val	Glu	Gln	Asn	Ala	His												
[2083]	450								455								460											
[2084]	Gln	Gly	Val	Asn	Gln	Ile	Lys	Phe	Ser	Thr	Asp	Glu	Gly	Gln	Cys	Trp												
[2085]	465								470								475								480			
[2086]	Gln	Thr	Tyr	Asn	Phe	Thr	Lys	Asp	Pro	Ile	Phe	Phe	Thr	Gly	Leu	Ala												
[2087]					485								490								495							
[2088]	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Arg	Ser	Met	Asn	Ile	Ser	Ile	Trp	Gly	Tyr	Arg												
[2089]					500								505								510							
[2090]	Ser	Ser	Leu	Phe	His	Gln	Tyr	Trp	Ile	Ser	Tyr	Thr	Ile	Asp	Phe	Lys												
[2091]					515								520								525							
[2092]	Asp	Ile	Leu	Glu	Arg	Asn	Cys	Glu	Glu	Lys	Asp	Tyr	Thr	Ile	Trp	Leu												
[2093]	530								535								540											
[2094]	Ala	His	Ser	Thr	Asp	Pro	Glu	Asp	Tyr	Glu	Asp	Gly	Cys	Ile	Leu	Gly												
[2095]	545								550								555								560			
[2096]	Tyr	Lys	Glu	Gln	Phe	Leu	Arg	Leu	Arg	Lys	Ser	Ser	Val	Cys	Gln	Asn												
[2097]					565								570								575							
[2098]	Gly	Arg	Asp	Tyr	Val	Val	Thr	Lys	Gln	Pro	Ser	Ile	Cys	Leu	Cys	Ser												
[2099]					580								585								590							
[2100]	Leu	Glu	Asp	Phe	Leu	Cys	Asp	Phe	Gly	Tyr	Tyr	Arg	Pro	Glu	Asn	Asp												
[2101]					595								600								605							
[2102]	Ser	Lys	Cys	Val	Glu	Gln	Pro	Glu	Leu	Lys	Gly	His	Asp	Leu	Glu	Phe												
[2103]	610								615								620											
[2104]	Cys	Leu	Tyr	Gly	Arg	Glu	Glu	His	Leu	Thr	Thr	Asn	Gly	Tyr	Arg	Lys												
[2105]	625								630								635								640			

[2106]	Ile Pro Gly Asp Lys Cys Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val
[2107]	645 650 655
[2108]	Lys Asp Leu Lys Lys Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys
[2109]	660 665 670
[2110]	Gln Asn Ser Lys Ser Asn Gly Ser Ala Gly Gly Ser Gly Gly Leu Asn
[2111]	675 680 685
[2112]	Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
[2113]	690 695 700
[2114]	<210> 149
[2115]	<211> 700
[2116]	<212> PRT
[2117]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2118]	<220>
[2119]	<223> 分拣蛋白 SORTECDBAP_tetra
[2120]	<400> 149
[2121]	Arg Ser Thr Glu Gln Gly Glu Ser Cys Ser Gly Leu Leu Gly Ala Asp
[2122]	1 5 10 15
[2123]	Ala Lys Leu Ala Gly Asn Thr His Gln His Ile Phe Asn Asp Leu Ser
[2124]	20 25 30
[2125]	Gly Ser Val Ser Leu Ala Trp Val Gly Asp Gly Thr Gly Val Ile Leu
[2126]	35 40 45
[2127]	Ala Leu Thr Thr Phe Gln Val Pro Ile Phe Met Ile Thr Ile Gly Gln
[2128]	50 55 60
[2129]	Ser Lys Leu Tyr Arg Ser Glu Asp Tyr Gly Lys Ser Phe Glu Asp Val
[2130]	65 70 75 80
[2131]	Thr Asn Leu Ile Asn Asn Thr Phe Ile Arg Ser Asp Phe Gly Ile Ala
[2132]	85 90 95
[2133]	Ile Gly Pro Glu Asn Ser Gly Lys Val Ile Leu Thr Ala Asp Val Ser
[2134]	100 105 110
[2135]	Gly Ser His Gly Ser Arg Ile Phe Val Ser Ser Asp Phe Gly Lys Ser
[2136]	115 120 125
[2137]	Phe Thr His Gln Glu Leu Pro Phe Val Pro Leu Met Gln Ile Thr Tyr
[2138]	130 135 140
[2139]	Asn Pro Glu Asn Ser Asn Val Leu Leu Ala Leu Ser Asn Lys Asn Glu
[2140]	145 150 155 160
[2141]	Leu Trp Leu Ser Glu Asp Phe Gly Thr Asn Trp Lys Lys Leu Tyr Asp
[2142]	165 170 175
[2143]	Thr Val Cys Leu Ala Lys Trp Gly Arg Lys Gly Thr Ile Phe Phe Thr
[2144]	180 185 190

[2145]	Ala Asn His Asn Gly Ser Cys Ser Asn Asp Arg Gly Met Leu Glu Leu
[2146]	195 200 205
[2147]	Glu Arg Thr Thr Asp Tyr Gly Lys Ser Phe Lys Thr Val Ala Ser Lys
[2148]	210 215 220
[2149]	Ile Tyr Ser Phe Gly Leu Gly Gly Lys Phe Leu Phe Ala Ser Val Met
[2150]	225 230 235 240
[2151]	Thr Gly Lys Gly Thr Leu Arg Ala Ile His Val Ser Val Asp Asp Gly
[2152]	245 250 255
[2153]	Asp Thr Trp Asn Met Ala Gln Leu Pro Pro Val Gly His Glu Gln Phe
[2154]	260 265 270
[2155]	Tyr Ser Ile Leu Ala Ala Asn Asp Glu Met Val Phe Met His Val Asp
[2156]	275 280 285
[2157]	Glu Pro Gly Asp Ser Gly Phe Gly Thr Ile Tyr Val Ser Asp Asp Arg
[2158]	290 295 300
[2159]	Gly Thr Val Tyr Ser Lys Ser Leu Glu Arg His Leu Tyr Thr Thr Thr
[2160]	305 310 315 320
[2161]	Gly Gly Glu Thr Asp Phe Ile Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val Phe
[2162]	325 330 335
[2163]	Thr Thr Ser Ile Leu Ala Glu Asp Lys Ser Val Gln Ser Val Ile Ser
[2164]	340 345 350
[2165]	Phe Asp Gln Gly Gly Glu Trp Val Pro Leu Arg Lys Pro Ala Asp Ser
[2166]	355 360 365
[2167]	Lys Cys Asp Ala Thr Ala Arg Asp Pro Glu Lys Cys Ser Leu His Ile
[2168]	370 375 380
[2169]	His Ala Ala Tyr Ser Ile Ala Thr Gly Leu Asn Val Pro Met Leu Pro
[2170]	385 390 395 400
[2171]	Leu Ser Glu Pro Asn Ala Val Gly Leu Val Leu Ala His Gly Ser Val
[2172]	405 410 415
[2173]	Gly Asp Ala Ile Ser Val Met Arg Pro Asp Val Tyr Val Ser Asp Asp
[2174]	420 425 430
[2175]	Gly Gly Tyr Thr Trp Ile Lys Ala Leu Glu Gly Pro His His Tyr Ala
[2176]	435 440 445
[2177]	Ile Leu Asp Ser Gly Gly Leu Leu Val Ala Val Glu Gln Asn Ala His
[2178]	450 455 460
[2179]	Gln Gly Val Asn Gln Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp
[2180]	465 470 475 480
[2181]	Gly Val Tyr Asn Phe Thr Lys Asp Pro Ile Phe Phe Thr Gly Leu Ala
[2182]	485 490 495
[2183]	Ser Glu Pro Gly Ala Arg Ser Met Asn Val Ser Leu Trp Gly Tyr Arg

[2184]	500	505	510
[2185]	Ser Ser Leu Phe His Gln Tyr Trp Ile Ser Phe Thr Ile Asp Phe Arg		
[2186]	515	520	525
[2187]	Asp Leu Ile Thr Arg Asn Cys Thr Asp Lys Asp Tyr Val Gln Trp Leu		
[2188]	530	535	540
[2189]	Ala His Ser Asp Asp Ile Ser Asp Pro Asn Asp Gly Cys Met Leu Gly		
[2190]	545	550	555
[2191]	Tyr Lys Glu Lys Phe Leu Arg Leu Lys Lys Asp Ser Val Cys Leu Asn		
[2192]	565	570	575
[2193]	Gly Arg Asp Tyr Glu Val Asn Thr Gln Pro Thr Pro Cys Leu Cys Thr		
[2194]	580	585	590
[2195]	Leu Asp Asp Phe Leu Cys Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Lys Glu Asn Ser		
[2196]	595	600	605
[2197]	Ser Glu Cys Val Glu Gln Pro Asp Leu Lys Gly Lys Val Leu Glu Phe		
[2198]	610	615	620
[2199]	Cys Leu His Gly Thr Glu Glu Glu Leu Leu Thr Asn Gly Tyr Arg Lys		
[2200]	625	630	635
[2201]	Ile Pro Gly Asp Lys Cys Glu Gly Gly Gln Ile Pro Glu Arg Lys Glu		
[2202]	645	650	655
[2203]	Ile Asn Leu Arg Arg Arg Cys Val Ser Asp Leu Leu Gly Pro Glu Phe		
[2204]	660	665	670
[2205]	Leu Val Lys Lys Ser Ser Gly Ser Ala Gly Gly Ser Gly Gly Leu Asn		
[2206]	675	680	685
[2207]	Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu		
[2208]	690	695	700
[2209]	<210> 150		
[2210]	<211> 701		
[2211]	<212> PRT		
[2212]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2213]	<220>		
[2214]	<223> 分拣蛋白 SORTECDBAP_hB01-05		
[2215]	<400> 150		
[2216]	Ser Ala Pro Gly Glu Asp Glu Glu Cys Gly Arg Val Arg Asp Phe Val		
[2217]	1 5 10 15		
[2218]	Ala Lys Leu Ala Asn Asn Thr His Gln His Val Phe Asp Asp Leu Arg		
[2219]	20 25 30		
[2220]	Gly Ser Val Ser Leu Ser Trp Val Gly Asp Ser Thr Gly Val Ile Leu		
[2221]	35 40 45		
[2222]	Val Leu Thr Thr Phe His Val Pro Leu Val Ile Met Thr Phe Gly Gln		

[2223]	50	55	60
[2224]	Ser Lys Leu Tyr Arg	Ser Glu Asp Tyr Gly Lys Asn Phe Lys Asp Ile	
[2225]	65	70	75 80
[2226]	Thr Asp Leu Ile Asn Asn Thr Phe Ile Arg Thr Glu Phe Gly Met Ala		
[2227]	85	90	95
[2228]	Ile Gly Pro Glu Asn Ser Gly Lys Val Val Leu Thr Ala Glu Val Ser		
[2229]	100	105	110
[2230]	Gly Gly Ser Arg Gly Gly Arg Ile Phe Arg Ser Ser Asp Phe Ala Lys		
[2231]	115	120	125
[2232]	Asn Phe Val Gln Thr Asp Leu Pro Phe His Pro Leu Thr Gln Met Met		
[2233]	130	135	140
[2234]	Tyr Ser Pro Gln Asn Ser Asp Tyr Leu Leu Ala Leu Ser Thr Glu Asn		
[2235]	145	150	155 160
[2236]	Gly Leu Trp Val Ser Lys Asn Phe Gly Gly Lys Trp Glu Glu Ile His		
[2237]	165	170	175
[2238]	Lys Ala Val Cys Leu Ala Lys Trp Gly Ser Asp Asn Thr Ile Phe Phe		
[2239]	180	185	190
[2240]	Thr Thr Tyr Ala Asn Gly Ser Cys Lys Ala Asp Leu Gly Ala Leu Glu		
[2241]	195	200	205
[2242]	Leu Trp Arg Thr Ser Asp Leu Gly Lys Ser Phe Lys Thr Ile Gly Val		
[2243]	210	215	220
[2244]	Lys Ile Tyr Ser Phe Gly Leu Gly Gly Arg Phe Leu Phe Ala Ser Val		
[2245]	225	230	235 240
[2246]	Met Ala Asp Lys Asp Thr Thr Arg Arg Ile His Val Ser Thr Asp Gln		
[2247]	245	250	255
[2248]	Gly Asp Thr Trp Ser Met Ala Gln Leu Pro Pro Val Gly His Glu Gln		
[2249]	260	265	270
[2250]	Phe Tyr Ser Ile Leu Ala Ala Asn Asp Glu Met Val Phe Met His Val		
[2251]	275	280	285
[2252]	Asp Glu Pro Gly Asp Ser Gly Phe Gly Thr Ile Tyr Val Ser Asp Asp		
[2253]	290	295	300
[2254]	Arg Gly Thr Val Tyr Ser Lys Ser Leu Glu Arg His Leu Tyr Thr Thr		
[2255]	305	310	315 320
[2256]	Thr Gly Gly Glu Thr Asp Phe Ile Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val		
[2257]	325	330	335
[2258]	Phe Thr Thr Ser Ile Leu Ala Glu Asp Lys Ser Val Gln Ser Val Ile		
[2259]	340	345	350
[2260]	Ser Phe Asp Gln Gly Gly Glu Trp Val Pro Leu Arg Lys Pro Ala Asp		
[2261]	355	360	365

[2262]	Ser	Lys	Cys	Asp	Ala	Thr	Ala	Arg	Asp	Pro	Glu	Lys	Cys	Ser	Leu	His
[2263]	370							375					380			
[2264]	Ile	His	Ala	Ala	Tyr	Ser	Ile	Ala	Thr	Gly	Leu	Asn	Val	Pro	Met	Leu
[2265]	385						390				395				400	
[2266]	Pro	Leu	Ser	Glu	Pro	Asn	Ala	Val	Gly	Leu	Val	Leu	Ala	His	Gly	Ser
[2267]					405					410					415	
[2268]	Val	Gly	Asp	Ala	Ile	Ser	Val	Met	Arg	Pro	Asp	Val	Tyr	Val	Ser	Asp
[2269]				420					425					430		
[2270]	Asp	Gly	Gly	Tyr	Thr	Trp	Ile	Lys	Ala	Leu	Glu	Gly	Pro	His	His	Tyr
[2271]			435					440					445			
[2272]	Ala	Ile	Leu	Asp	Ser	Gly	Gly	Leu	Leu	Val	Ala	Val	Glu	Gln	Asn	Ala
[2273]	450						455						460			
[2274]	His	Gln	Gly	Val	Asn	Gln	Ile	Lys	Phe	Ser	Thr	Asp	Glu	Gly	Gln	Cys
[2275]	465					470					475					480
[2276]	Trp	Gly	Val	Tyr	Asn	Phe	Thr	Lys	Asp	Pro	Ile	Phe	Phe	Thr	Gly	Leu
[2277]					485					490					495	
[2278]	Ala	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Arg	Ser	Met	Asn	Val	Ser	Leu	Trp	Gly	Tyr
[2279]				500					505					510		
[2280]	Arg	Ser	Ser	Leu	Phe	His	Gln	Tyr	Trp	Ile	Ser	Phe	Thr	Ile	Asp	Phe
[2281]			515					520					525			
[2282]	Arg	Asp	Leu	Ile	Thr	Arg	Asn	Cys	Thr	Asp	Lys	Asp	Tyr	Val	Gln	Trp
[2283]	530						535					540				
[2284]	Leu	Ala	His	Ser	Asp	Asp	Ile	Ser	Asp	Pro	Asn	Asp	Gly	Cys	Met	Leu
[2285]	545					550					555					560
[2286]	Gly	Tyr	Lys	Glu	Lys	Phe	Leu	Arg	Leu	Lys	Lys	Asp	Ser	Val	Cys	Leu
[2287]					565					570					575	
[2288]	Asn	Gly	Arg	Asp	Tyr	Glu	Val	Asn	Thr	Gln	Pro	Thr	Pro	Cys	Leu	Cys
[2289]				580					585					590		
[2290]	Thr	Leu	Asp	Asp	Phe	Leu	Cys	Asp	Phe	Gly	Tyr	Tyr	Arg	Lys	Glu	Asn
[2291]			595					600					605			
[2292]	Ser	Ser	Glu	Cys	Val	Glu	Gln	Pro	Asp	Leu	Lys	Gly	Lys	Val	Leu	Glu
[2293]	610						615					620				
[2294]	Phe	Cys	Leu	His	Gly	Thr	Glu	Glu	Glu	Leu	Leu	Thr	Asn	Gly	Tyr	Arg
[2295]	625					630					635					640
[2296]	Lys	Ile	Pro	Gly	Asp	Lys	Cys	Glu	Gly	Gly	Gln	Ile	Pro	Glu	Arg	Lys
[2297]					645					650					655	
[2298]	Glu	Ile	Asn	Leu	Arg	Arg	Arg	Cys	Val	Ser	Asp	Leu	Leu	Gly	Pro	Glu
[2299]				660					665					670		
[2300]	Phe	Leu	Val	Lys	Lys	Ser	Ser	Gly	Ser	Ala	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Leu

[2301]	675	680	685
[2302]	Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu		
[2303]	690	695	700
[2304]	<210> 151		
[2305]	<211> 700		
[2306]	<212> PRT		
[2307]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2308]	<220>		
[2309]	<223> 分拣蛋白 SORTECDBAP_hRIM		
[2310]	<400> 151		
[2311]	Ser Ala Pro Gly Glu Asp Glu Glu Cys Gly Arg Val Arg Asp Phe Val		
[2312]	1 5 10 15		
[2313]	Ala Lys Leu Ala Asn Asn Thr His Gln His Val Phe Asp Asp Leu Arg		
[2314]	20 25 30		
[2315]	Gly Ser Val Ser Leu Ala Trp Val Gly Asp Gly Thr Gly Val Ile Leu		
[2316]	35 40 45		
[2317]	Ala Leu Thr Thr Phe Gln Val Pro Ile Phe Met Ile Thr Ile Gly Gln		
[2318]	50 55 60		
[2319]	Ser Lys Leu Tyr Arg Ser Glu Asp Tyr Gly Lys Asn Phe Lys Asp Ile		
[2320]	65 70 75 80		
[2321]	Thr Asp Leu Ile Asn Asn Thr Phe Ile Arg Ser Asp Phe Gly Ile Ala		
[2322]	85 90 95		
[2323]	Ile Gly Pro Glu Asn Ser Gly Lys Val Ile Leu Thr Ala Asp Val Ser		
[2324]	100 105 110		
[2325]	Gly Ser His Gly Ser Arg Ile Phe Arg Ser Ser Asp Phe Ala Lys Asn		
[2326]	115 120 125		
[2327]	Phe Val Gln Thr Asp Leu Pro Phe Val Pro Leu Met Gln Ile Thr Tyr		
[2328]	130 135 140		
[2329]	Asn Pro Glu Asn Ser Asn Val Leu Leu Ala Leu Ser Asn Lys Asn Glu		
[2330]	145 150 155 160		
[2331]	Leu Trp Val Ser Lys Asn Phe Gly Gly Lys Trp Glu Glu Ile His Asp		
[2332]	165 170 175		
[2333]	Thr Val Cys Leu Ala Lys Trp Gly Arg Lys Gly Thr Ile Phe Phe Thr		
[2334]	180 185 190		
[2335]	Ala Asn His Asn Gly Ser Cys Ser Asn Asp Arg Gly Met Leu Glu Leu		
[2336]	195 200 205		
[2337]	Trp Arg Thr Ser Asp Leu Gly Lys Ser Phe Lys Thr Ile Gly Val Lys		
[2338]	210 215 220		
[2339]	Ile Tyr Ser Phe Gly Leu Gly Gly Lys Phe Leu Phe Ala Ser Val Met		

[2340]	225	230	235	240
[2341]	Thr Gly Lys Gly Thr Leu Arg Arg Ile His Val Ser Thr Asp Gln Gly			
[2342]		245	250	255
[2343]	Asp Thr Trp Ser Met Ala Gln Leu Pro Ser Val Gly His Glu Gln Phe			
[2344]		260	265	270
[2345]	Tyr Ser Ile Leu Ala Ala Asn Asp Glu Met Val Phe Met His Val Asp			
[2346]		275	280	285
[2347]	Glu Pro Gly Asp Ser Gly Phe Gly Thr Ile Phe Thr Ser Asp Asp Arg			
[2348]		290	295	300
[2349]	Gly Ile Val Tyr Ser Lys Ser Leu Asp Arg His Leu Tyr Thr Thr Thr			
[2350]	305	310	315	320
[2351]	Gly Gly Glu Thr Asp Phe Ile Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val Phe			
[2352]		325	330	335
[2353]	Thr Thr Ser Ile Leu Ala Glu Asp Lys Ser Ile Gln Thr Met Ile Thr			
[2354]		340	345	350
[2355]	Phe Asp Gln Gly Gly Arg Trp Thr His Leu Arg Lys Pro Glu Asn Ser			
[2356]		355	360	365
[2357]	Glu Cys Asp Ala Thr Ala Lys Asn Lys Asn Glu Cys Ser Leu His Ile			
[2358]		370	375	380
[2359]	His Ala Ala Tyr Ser Ile Ala Thr Gly Leu Asn Val Pro Met Leu Pro			
[2360]	385	390	395	400
[2361]	Leu Ser Glu Pro Asn Ala Val Gly Leu Val Leu Ala His Gly Ser Val			
[2362]		405	410	415
[2363]	Gly Asp Ala Ile Ser Val Met Arg Pro Asp Val Tyr Ile Ser Asp Asp			
[2364]		420	425	430
[2365]	Gly Gly Tyr Ser Trp Thr Lys Met Leu Glu Gly Pro His His Tyr Ala			
[2366]		435	440	445
[2367]	Ile Leu Asp Ser Gly Gly Leu Leu Val Ala Val Glu Gln Asn Ala His			
[2368]		450	455	460
[2369]	Gln Gly Val Asn Val Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp			
[2370]	465	470	475	480
[2371]	Gln Thr Tyr Thr Phe Thr Arg Asp Pro Ile Phe Phe Thr Gly Leu Ala			
[2372]		485	490	495
[2373]	Ser Glu Pro Gly Ala Arg Ser Met Asn Val Ser Leu Trp Gly Tyr Arg			
[2374]		500	505	510
[2375]	Ser Ser Leu Phe His Gln Gln Trp Val Ser Tyr Thr Ile Asp Phe Lys			
[2376]		515	520	525
[2377]	Asp Ile Leu Glu Arg Asn Cys Glu Glu Lys Asp Tyr Thr Ile Trp Leu			
[2378]		530	535	540

[2379]	Ala His Ser Thr Asp Pro Glu Asp Tyr Glu Asp Gly Cys Ile Leu Gly
[2380]	545 550 555 560
[2381]	Tyr Lys Glu Gln Phe Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn
[2382]	565 570 575
[2383]	Gly Arg Asp Tyr Val Val Thr Lys Gln Pro Ser Ile Cys Leu Cys Ser
[2384]	580 585 590
[2385]	Leu Glu Asp Phe Leu Cys Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Pro Glu Asn Asp
[2386]	595 600 605
[2387]	Ser Lys Cys Val Glu Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Asp Leu Glu Phe
[2388]	610 615 620
[2389]	Cys Leu Tyr Gly Arg Glu Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys
[2390]	625 630 635 640
[2391]	Ile Pro Gly Asp Lys Cys Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val
[2392]	645 650 655
[2393]	Lys Asp Leu Lys Lys Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys
[2394]	660 665 670
[2395]	Gln Asn Ser Lys Ser Asn Gly Ser Ala Gly Gly Ser Gly Gly Leu Asn
[2396]	675 680 685
[2397]	Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
[2398]	690 695 700
[2399]	<210> 152
[2400]	<211> 699
[2401]	<212> PRT
[2402]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2403]	<220>
[2404]	<223> 分拣蛋白 SORTECDBAP_hB06-10
[2405]	<400> 152
[2406]	Arg Ser Thr Glu Gln Gly Glu Ser Cys Ser Gly Leu Leu Gly Ala Asp
[2407]	1 5 10 15
[2408]	Ala Lys Leu Ala Gly Asn Thr His Gln His Ile Phe Asn Asp Leu Ser
[2409]	20 25 30
[2410]	Gly Ser Val Ser Leu Ala Trp Val Gly Asp Gly Thr Gly Val Ile Leu
[2411]	35 40 45
[2412]	Ala Leu Thr Thr Phe Gln Val Pro Ile Phe Met Ile Thr Ile Gly Gln
[2413]	50 55 60
[2414]	Ser Lys Leu Tyr Arg Ser Glu Asp Tyr Gly Lys Ser Phe Glu Asp Val
[2415]	65 70 75 80
[2416]	Thr Asn Leu Ile Asn Asn Thr Phe Ile Arg Ser Asp Phe Gly Ile Ala
[2417]	85 90 95

[2418]	Ile Gly Pro Glu Asn Ser Gly Lys Val Ile Leu Thr Ala Asp Val Ser
[2419]	100 105 110
[2420]	Gly Ser His Gly Ser Arg Ile Phe Val Ser Ser Asp Phe Gly Lys Ser
[2421]	115 120 125
[2422]	Phe Thr His Gln Glu Leu Pro Phe Val Pro Leu Met Gln Ile Thr Tyr
[2423]	130 135 140
[2424]	Asn Pro Glu Asn Ser Asn Val Leu Leu Ala Leu Ser Asn Lys Asn Glu
[2425]	145 150 155 160
[2426]	Leu Trp Leu Ser Glu Asp Phe Gly Thr Asn Trp Lys Lys Leu Tyr Asp
[2427]	165 170 175
[2428]	Thr Val Cys Leu Ala Lys Trp Gly Arg Lys Gly Thr Ile Phe Phe Thr
[2429]	180 185 190
[2430]	Ala Asn His Asn Gly Ser Cys Ser Asn Asp Arg Gly Met Leu Glu Leu
[2431]	195 200 205
[2432]	Glu Arg Thr Thr Asp Tyr Gly Lys Ser Phe Lys Thr Val Ala Ser Lys
[2433]	210 215 220
[2434]	Ile Tyr Ser Phe Gly Leu Gly Gly Lys Phe Leu Phe Ala Ser Val Met
[2435]	225 230 235 240
[2436]	Thr Gly Lys Gly Thr Leu Arg Ala Ile His Val Ser Val Asp Asp Gly
[2437]	245 250 255
[2438]	Asp Thr Trp Asn Met Ala Gln Leu Pro Ser Val Gly Gln Glu Gln Phe
[2439]	260 265 270
[2440]	Tyr Ser Ile Leu Ala Ala Asn Asp Asp Met Val Phe Met His Val Asp
[2441]	275 280 285
[2442]	Glu Pro Gly Asp Thr Gly Phe Gly Thr Ile Phe Thr Ser Asp Asp Arg
[2443]	290 295 300
[2444]	Gly Ile Val Tyr Ser Lys Ser Leu Asp Arg His Leu Tyr Thr Thr Thr
[2445]	305 310 315 320
[2446]	Gly Gly Glu Thr Asp Phe Thr Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val Tyr
[2447]	325 330 335
[2448]	Ile Thr Ser Val Leu Ser Glu Asp Asn Ser Ile Gln Thr Met Ile Thr
[2449]	340 345 350
[2450]	Phe Asp Gln Gly Gly Arg Trp Thr His Leu Arg Lys Pro Glu Asn Ser
[2451]	355 360 365
[2452]	Glu Cys Asp Ala Thr Ala Lys Asn Lys Asn Glu Cys Ser Leu His Ile
[2453]	370 375 380
[2454]	His Ala Ser Tyr Ser Ile Ser Gln Lys Leu Asn Val Pro Met Ala Pro
[2455]	385 390 395 400
[2456]	Leu Ser Glu Pro Asn Ala Val Gly Ile Val Ile Ala His Gly Ser Val

[2457]		405		410		415
[2458]	Gly Asp Ala Ile Ser Val Met Val Pro Asp Val Tyr Ile Ser Asp Asp					
[2459]		420		425		430
[2460]	Gly Gly Tyr Ser Trp Thr Lys Met Leu Glu Gly Pro His Tyr Tyr Thr					
[2461]		435		440		445
[2462]	Ile Leu Asp Ser Gly Gly Ile Ile Val Ala Ile Glu His Ser Ser Arg					
[2463]		450		455		460
[2464]	Pro Ile Asn Val Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp Gln					
[2465]	465		470		475	480
[2466]	Thr Tyr Thr Phe Thr Arg Asp Pro Ile Tyr Phe Thr Gly Leu Ala Ser					
[2467]		485		490		495
[2468]	Glu Pro Gly Ala Arg Ser Met Asn Ile Ser Ile Trp Gly Phe Thr Glu					
[2469]		500		505		510
[2470]	Ser Phe Leu Thr Ser Gln Trp Val Ser Tyr Thr Ile Asp Phe Lys Asp					
[2471]		515		520		525
[2472]	Ile Leu Glu Arg Asn Cys Glu Glu Lys Asp Tyr Thr Ile Trp Leu Ala					
[2473]		530		535		540
[2474]	His Ser Thr Asp Pro Glu Asp Tyr Glu Asp Gly Cys Ile Leu Gly Tyr					
[2475]	545		550		555	560
[2476]	Lys Glu Gln Phe Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn Gly					
[2477]		565		570		575
[2478]	Arg Asp Tyr Val Val Thr Lys Gln Pro Ser Ile Cys Leu Cys Ser Leu					
[2479]		580		585		590
[2480]	Glu Asp Phe Leu Cys Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Pro Glu Asn Asp Ser					
[2481]		595		600		605
[2482]	Lys Cys Val Glu Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Asp Leu Glu Phe Cys					
[2483]		610		615		620
[2484]	Leu Tyr Gly Arg Glu Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys Ile					
[2485]	625		630		635	640
[2486]	Pro Gly Asp Lys Cys Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val Lys					
[2487]		645		650		655
[2488]	Asp Leu Lys Lys Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys Gln					
[2489]		660		665		670
[2490]	Asn Ser Lys Ser Asn Gly Ser Ala Gly Gly Ser Gly Gly Leu Asn Asp					
[2491]		675		680		685
[2492]	Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu					
[2493]		690		695		
[2494]	<210> 153					
[2495]	<211> 700					

[2496]	<212>	PRT
[2497]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2498]	<220>	
[2499]	<223>	分拣蛋白 SORTECDBAP_hB12390
[2500]	<400>	153
[2501]	Ser Ala Pro Gly Glu Asp Glu Glu Cys Gly Arg Val Arg Asp Phe Val	
[2502]	1 5 10 15	
[2503]	Ala Lys Leu Ala Asn Asn Thr His Gln His Val Phe Asp Asp Leu Arg	
[2504]	20 25 30	
[2505]	Gly Ser Val Ser Leu Ser Trp Val Gly Asp Ser Thr Gly Val Ile Leu	
[2506]	35 40 45	
[2507]	Val Leu Thr Thr Phe His Val Pro Leu Val Ile Met Thr Phe Gly Gln	
[2508]	50 55 60	
[2509]	Ser Lys Leu Tyr Arg Ser Glu Asp Tyr Gly Lys Asn Phe Lys Asp Ile	
[2510]	65 70 75 80	
[2511]	Thr Asp Leu Ile Asn Asn Thr Phe Ile Arg Thr Glu Phe Gly Met Ala	
[2512]	85 90 95	
[2513]	Ile Gly Pro Glu Asn Ser Gly Lys Val Val Leu Thr Ala Glu Val Ser	
[2514]	100 105 110	
[2515]	Gly Gly Ser Arg Gly Gly Arg Ile Phe Arg Ser Ser Asp Phe Ala Lys	
[2516]	115 120 125	
[2517]	Asn Phe Val Gln Thr Asp Leu Pro Phe His Pro Leu Thr Gln Met Met	
[2518]	130 135 140	
[2519]	Tyr Ser Pro Gln Asn Ser Asp Tyr Leu Leu Ala Leu Ser Thr Glu Asn	
[2520]	145 150 155 160	
[2521]	Gly Leu Trp Val Ser Lys Asn Phe Gly Gly Lys Trp Glu Glu Ile His	
[2522]	165 170 175	
[2523]	Lys Thr Val Cys Leu Ala Lys Trp Gly Arg Lys Gly Thr Ile Phe Phe	
[2524]	180 185 190	
[2525]	Thr Ala Asn His Asn Gly Ser Cys Ser Asn Asp Arg Gly Met Leu Glu	
[2526]	195 200 205	
[2527]	Leu Glu Arg Thr Thr Asp Tyr Gly Lys Ser Phe Lys Thr Val Ala Ser	
[2528]	210 215 220	
[2529]	Lys Ile Tyr Ser Phe Gly Leu Gly Gly Lys Phe Leu Phe Ala Ser Val	
[2530]	225 230 235 240	
[2531]	Met Thr Gly Lys Gly Thr Leu Arg Ala Ile His Val Ser Val Asp Asp	
[2532]	245 250 255	
[2533]	Gly Asp Thr Trp Asn Met Ala Gln Leu Pro Pro Val Gly His Glu Gln	
[2534]	260 265 270	

[2535]	Phe Tyr Ser Ile Leu Ala Ala Asn Asp Glu Met Val Phe Met His Val
[2536]	275 280 285
[2537]	Asp Glu Pro Gly Asp Ser Gly Phe Gly Thr Ile Tyr Val Ser Asp Asp
[2538]	290 295 300
[2539]	Arg Gly Thr Val Tyr Ser Lys Ser Leu Glu Arg His Leu Tyr Thr Thr
[2540]	305 310 315 320
[2541]	Thr Gly Gly Glu Thr Asp Phe Ile Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val
[2542]	325 330 335
[2543]	Phe Thr Thr Ser Ile Leu Ala Glu Asp Lys Ser Val Gln Ser Val Ile
[2544]	340 345 350
[2545]	Ser Phe Asp Gln Gly Gly Glu Trp Val Pro Leu Arg Lys Pro Ala Asp
[2546]	355 360 365
[2547]	Ser Lys Cys Asp Ala Thr Ala Arg Asp Pro Glu Lys Cys Ser Leu His
[2548]	370 375 380
[2549]	Ile His Ala Ala Tyr Ser Ile Ala Thr Gly Leu Asn Val Pro Met Leu
[2550]	385 390 395 400
[2551]	Pro Leu Ser Glu Pro Asn Ala Val Gly Leu Val Leu Ala His Gly Ser
[2552]	405 410 415
[2553]	Val Gly Asp Ala Ile Ser Val Met Arg Pro Asp Val Tyr Val Ser Asp
[2554]	420 425 430
[2555]	Asp Gly Gly Tyr Thr Trp Ile Lys Ala Leu Glu Gly Pro His Tyr Tyr
[2556]	435 440 445
[2557]	Thr Ile Leu Asp Ser Gly Gly Ile Ile Val Ala Ile Glu His Ser Ser
[2558]	450 455 460
[2559]	Arg Pro Ile Asn Val Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp
[2560]	465 470 475 480
[2561]	Gln Thr Tyr Thr Phe Thr Arg Asp Pro Ile Tyr Phe Thr Gly Leu Ala
[2562]	485 490 495
[2563]	Ser Glu Pro Gly Ala Arg Ser Met Asn Ile Ser Ile Trp Gly Phe Thr
[2564]	500 505 510
[2565]	Glu Ser Phe Leu Thr Ser Gln Trp Val Ser Tyr Thr Ile Asp Phe Lys
[2566]	515 520 525
[2567]	Asp Ile Leu Glu Arg Asn Cys Glu Glu Lys Asp Tyr Thr Ile Trp Leu
[2568]	530 535 540
[2569]	Ala His Ser Thr Asp Pro Glu Asp Tyr Glu Asp Gly Cys Ile Leu Gly
[2570]	545 550 555 560
[2571]	Tyr Lys Glu Gln Phe Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn
[2572]	565 570 575
[2573]	Gly Arg Asp Tyr Val Val Thr Lys Gln Pro Ser Ile Cys Leu Cys Ser

[2574]	580	585	590
[2575]	Leu Glu Asp Phe Leu Cys Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Pro Glu Asn Asp		
[2576]	595	600	605
[2577]	Ser Lys Cys Val Glu Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Asp Leu Glu Phe		
[2578]	610	615	620
[2579]	Cys Leu Tyr Gly Arg Glu Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys		
[2580]	625	630	635
[2581]	Ile Pro Gly Asp Lys Cys Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val		
[2582]	645	650	655
[2583]	Lys Asp Leu Lys Lys Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys		
[2584]	660	665	670
[2585]	Gln Asn Ser Lys Ser Asn Gly Ser Ala Gly Gly Ser Gly Gly Leu Asn		
[2586]	675	680	685
[2587]	Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu		
[2588]	690	695	700
[2589]	<210> 154		
[2590]	<211> 700		
[2591]	<212> PRT		
[2592]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2593]	<220>		
[2594]	<223> 分拣蛋白 SORTECDBAP_hB45678		
[2595]	<400> 154		
[2596]	Arg Ser Thr Glu Gln Gly Glu Ser Cys Ser Gly Leu Leu Gly Ala Asp		
[2597]	1 5 10 15		
[2598]	Ala Lys Leu Ala Gly Asn Thr His Gln His Ile Phe Asn Asp Leu Ser		
[2599]	20 25 30		
[2600]	Gly Ser Val Ser Leu Ala Trp Val Gly Asp Gly Thr Gly Val Ile Leu		
[2601]	35 40 45		
[2602]	Ala Leu Thr Thr Phe Gln Val Pro Ile Phe Met Ile Thr Ile Gly Gln		
[2603]	50 55 60		
[2604]	Ser Lys Leu Tyr Arg Ser Glu Asp Tyr Gly Lys Ser Phe Glu Asp Val		
[2605]	65 70 75 80		
[2606]	Thr Asn Leu Ile Asn Asn Thr Phe Ile Arg Ser Asp Phe Gly Ile Ala		
[2607]	85 90 95		
[2608]	Ile Gly Pro Glu Asn Ser Gly Lys Val Ile Leu Thr Ala Asp Val Ser		
[2609]	100 105 110		
[2610]	Gly Ser His Gly Ser Arg Ile Phe Val Ser Ser Asp Phe Gly Lys Ser		
[2611]	115 120 125		
[2612]	Phe Thr His Gln Glu Leu Pro Phe Val Pro Leu Met Gln Ile Thr Tyr		

[2613]	130	135	140
[2614]	Asn Pro Glu Asn Ser Asn Val Leu Leu Ala Leu Ser Asn Lys Asn Glu		
[2615]	145	150	155
[2616]	Leu Trp Leu Ser Glu Asp Phe Gly Thr Asn Trp Lys Lys Leu Tyr Asp		
[2617]	165	170	175
[2618]	Ala Val Cys Leu Ala Lys Trp Gly Ser Asp Asn Thr Ile Phe Phe Thr		
[2619]	180	185	190
[2620]	Thr Tyr Ala Asn Gly Ser Cys Lys Ala Asp Leu Gly Ala Leu Glu Leu		
[2621]	195	200	205
[2622]	Trp Arg Thr Ser Asp Leu Gly Lys Ser Phe Lys Thr Ile Gly Val Lys		
[2623]	210	215	220
[2624]	Ile Tyr Ser Phe Gly Leu Gly Gly Arg Phe Leu Phe Ala Ser Val Met		
[2625]	225	230	235
[2626]	Ala Asp Lys Asp Thr Thr Arg Arg Ile His Val Ser Thr Asp Gln Gly		
[2627]	245	250	255
[2628]	Asp Thr Trp Ser Met Ala Gln Leu Pro Ser Val Gly Gln Glu Gln Phe		
[2629]	260	265	270
[2630]	Tyr Ser Ile Leu Ala Ala Asn Asp Asp Met Val Phe Met His Val Asp		
[2631]	275	280	285
[2632]	Glu Pro Gly Asp Thr Gly Phe Gly Thr Ile Phe Thr Ser Asp Asp Arg		
[2633]	290	295	300
[2634]	Gly Ile Val Tyr Ser Lys Ser Leu Asp Arg His Leu Tyr Thr Thr Thr		
[2635]	305	310	315
[2636]	Gly Gly Glu Thr Asp Phe Thr Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val Tyr		
[2637]	325	330	335
[2638]	Ile Thr Ser Val Leu Ser Glu Asp Asn Ser Ile Gln Thr Met Ile Thr		
[2639]	340	345	350
[2640]	Phe Asp Gln Gly Gly Arg Trp Thr His Leu Arg Lys Pro Glu Asn Ser		
[2641]	355	360	365
[2642]	Glu Cys Asp Ala Thr Ala Lys Asn Lys Asn Glu Cys Ser Leu His Ile		
[2643]	370	375	380
[2644]	His Ala Ser Tyr Ser Ile Ser Gln Lys Leu Asn Val Pro Met Ala Pro		
[2645]	385	390	395
[2646]	Leu Ser Glu Pro Asn Ala Val Gly Ile Val Ile Ala His Gly Ser Val		
[2647]	405	410	415
[2648]	Gly Asp Ala Ile Ser Val Met Val Pro Asp Val Tyr Ile Ser Asp Asp		
[2649]	420	425	430
[2650]	Gly Gly Tyr Ser Trp Thr Lys Met Leu Glu Gly Pro His His Tyr Ala		
[2651]	435	440	445

[2652]	Ile Leu Asp Ser Gly Gly Leu Leu Val Ala Val Glu Gln Asn Ala His
[2653]	450 455 460
[2654]	Gln Gly Val Asn Gln Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp
[2655]	465 470 475 480
[2656]	Gly Val Tyr Asn Phe Thr Lys Asp Pro Ile Phe Phe Thr Gly Leu Ala
[2657]	485 490 495
[2658]	Ser Glu Pro Gly Ala Arg Ser Met Asn Val Ser Leu Trp Gly Tyr Arg
[2659]	500 505 510
[2660]	Ser Ser Leu Phe His Gln Tyr Trp Ile Ser Phe Thr Ile Asp Phe Arg
[2661]	515 520 525
[2662]	Asp Leu Ile Thr Arg Asn Cys Glu Glu Lys Asp Tyr Thr Ile Trp Leu
[2663]	530 535 540
[2664]	Ala His Ser Thr Asp Pro Glu Asp Tyr Glu Asp Gly Cys Ile Leu Gly
[2665]	545 550 555 560
[2666]	Tyr Lys Glu Gln Phe Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn
[2667]	565 570 575
[2668]	Gly Arg Asp Tyr Val Val Thr Lys Gln Pro Ser Ile Cys Leu Cys Ser
[2669]	580 585 590
[2670]	Leu Glu Asp Phe Leu Cys Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Pro Glu Asn Asp
[2671]	595 600 605
[2672]	Ser Lys Cys Val Glu Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Asp Leu Glu Phe
[2673]	610 615 620
[2674]	Cys Leu Tyr Gly Arg Glu Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys
[2675]	625 630 635 640
[2676]	Ile Pro Gly Asp Lys Cys Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val
[2677]	645 650 655
[2678]	Lys Asp Leu Lys Lys Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys
[2679]	660 665 670
[2680]	Gln Asn Ser Lys Ser Asn Gly Ser Ala Gly Gly Ser Gly Gly Leu Asn
[2681]	675 680 685
[2682]	Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
[2683]	690 695 700
[2684]	<210> 155
[2685]	<211> 763
[2686]	<212> PRT
[2687]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2688]	<220>
[2689]	<223> 分拣蛋白 SORTECD_HIS
[2690]	<400> 155

[2691]	Met	Glu	Arg	Pro	Trp	Gly	Ala	Ala	Asp	Gly	Leu	Ser	Arg	Trp	Pro	His
[2692]	1				5					10					15	
[2693]	Gly	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Gln	Leu	Leu	Pro	Pro	Ser	Thr	Leu
[2694]				20					25					30		
[2695]	Ser	Gln	Asp	Arg	Leu	Asp	Ala	Pro	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Pro	Leu	Pro
[2696]			35					40					45			
[2697]	Arg	Trp	Ser	Gly	Pro	Ile	Gly	Val	Ser	Trp	Gly	Leu	Arg	Ala	Ala	Ala
[2698]		50					55					60				
[2699]	Ala	Gly	Gly	Ala	Phe	Pro	Arg	Gly	Gly	Arg	Trp	Arg	Arg	Ser	Ala	Pro
[2700]	65					70					75				80	
[2701]	Gly	Glu	Asp	Glu	Glu	Cys	Gly	Arg	Val	Arg	Asp	Phe	Val	Ala	Lys	Leu
[2702]				85						90					95	
[2703]	Ala	Asn	Asn	Thr	His	Gln	His	Val	Phe	Asp	Asp	Leu	Arg	Gly	Ser	Val
[2704]				100					105					110		
[2705]	Ser	Leu	Ser	Trp	Val	Gly	Asp	Ser	Thr	Gly	Val	Ile	Leu	Val	Leu	Thr
[2706]			115					120					125			
[2707]	Thr	Phe	His	Val	Pro	Leu	Val	Ile	Met	Thr	Phe	Gly	Gln	Ser	Lys	Leu
[2708]		130						135				140				
[2709]	Tyr	Arg	Ser	Glu	Asp	Tyr	Gly	Lys	Asn	Phe	Lys	Asp	Ile	Thr	Asp	Leu
[2710]	145					150					155				160	
[2711]	Ile	Asn	Asn	Thr	Phe	Ile	Arg	Thr	Glu	Phe	Gly	Met	Ala	Ile	Gly	Pro
[2712]				165						170				175		
[2713]	Glu	Asn	Ser	Gly	Lys	Val	Val	Leu	Thr	Ala	Glu	Val	Ser	Gly	Gly	Ser
[2714]				180						185				190		
[2715]	Arg	Gly	Gly	Arg	Ile	Phe	Arg	Ser	Ser	Asp	Phe	Ala	Lys	Asn	Phe	Val
[2716]			195					200					205			
[2717]	Gln	Thr	Asp	Leu	Pro	Phe	His	Pro	Leu	Thr	Gln	Met	Met	Tyr	Ser	Pro
[2718]		210						215				220				
[2719]	Gln	Asn	Ser	Asp	Tyr	Leu	Leu	Ala	Leu	Ser	Thr	Glu	Asn	Gly	Leu	Trp
[2720]	225					230					235				240	
[2721]	Val	Ser	Lys	Asn	Phe	Gly	Gly	Lys	Trp	Glu	Glu	Ile	His	Lys	Ala	Val
[2722]				245						250				255		
[2723]	Cys	Leu	Ala	Lys	Trp	Gly	Ser	Asp	Asn	Thr	Ile	Phe	Phe	Thr	Thr	Tyr
[2724]				260					265					270		
[2725]	Ala	Asn	Gly	Ser	Cys	Lys	Ala	Asp	Leu	Gly	Ala	Leu	Glu	Leu	Trp	Arg
[2726]			275					280					285			
[2727]	Thr	Ser	Asp	Leu	Gly	Lys	Ser	Phe	Lys	Thr	Ile	Gly	Val	Lys	Ile	Tyr
[2728]		290						295				300				
[2729]	Ser	Phe	Gly	Leu	Gly	Gly	Arg	Phe	Leu	Phe	Ala	Ser	Val	Met	Ala	Asp

[2730]	305	310	315	320
[2731]	Lys Asp Thr Thr Arg Arg Ile His Val Ser Thr Asp Gln Gly Asp Thr			
[2732]		325	330	335
[2733]	Trp Ser Met Ala Gln Leu Pro Ser Val Gly Gln Glu Gln Phe Tyr Ser			
[2734]		340	345	350
[2735]	Ile Leu Ala Ala Asn Asp Asp Met Val Phe Met His Val Asp Glu Pro			
[2736]		355	360	365
[2737]	Gly Asp Thr Gly Phe Gly Thr Ile Phe Thr Ser Asp Asp Arg Gly Ile			
[2738]		370	375	380
[2739]	Val Tyr Ser Lys Ser Leu Asp Arg His Leu Tyr Thr Thr Thr Gly Gly			
[2740]	385	390	395	400
[2741]	Glu Thr Asp Phe Thr Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val Tyr Ile Thr			
[2742]		405	410	415
[2743]	Ser Val Leu Ser Glu Asp Asn Ser Ile Gln Thr Met Ile Thr Phe Asp			
[2744]		420	425	430
[2745]	Gln Gly Gly Arg Trp Thr His Leu Arg Lys Pro Glu Asn Ser Glu Cys			
[2746]		435	440	445
[2747]	Asp Ala Thr Ala Lys Asn Lys Asn Glu Cys Ser Leu His Ile His Ala			
[2748]		450	455	460
[2749]	Ser Tyr Ser Ile Ser Gln Lys Leu Asn Val Pro Met Ala Pro Leu Ser			
[2750]	465	470	475	480
[2751]	Glu Pro Asn Ala Val Gly Ile Val Ile Ala His Gly Ser Val Gly Asp			
[2752]		485	490	495
[2753]	Ala Ile Ser Val Met Val Pro Asp Val Tyr Ile Ser Asp Asp Gly Gly			
[2754]		500	505	510
[2755]	Tyr Ser Trp Thr Lys Met Leu Glu Gly Pro His Tyr Tyr Thr Ile Leu			
[2756]		515	520	525
[2757]	Asp Ser Gly Gly Ile Ile Val Ala Ile Glu His Ser Ser Arg Pro Ile			
[2758]		530	535	540
[2759]	Asn Val Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp Gln Thr Tyr			
[2760]	545	550	555	560
[2761]	Thr Phe Thr Arg Asp Pro Ile Tyr Phe Thr Gly Leu Ala Ser Glu Pro			
[2762]		565	570	575
[2763]	Gly Ala Arg Ser Met Asn Ile Ser Ile Trp Gly Phe Thr Glu Ser Phe			
[2764]		580	585	590
[2765]	Leu Thr Ser Gln Trp Val Ser Tyr Thr Ile Asp Phe Lys Asp Ile Leu			
[2766]		595	600	605
[2767]	Glu Arg Asn Cys Glu Glu Lys Asp Tyr Thr Ile Trp Leu Ala His Ser			
[2768]		610	615	620

[2769]	Thr Asp Pro Glu Asp Tyr Glu Asp Gly Cys Ile Leu Gly Tyr Lys Glu
[2770]	625 630 635 640
[2771]	Gln Phe Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn Gly Arg Asp
[2772]	645 650 655
[2773]	Tyr Val Val Thr Lys Gln Pro Ser Ile Cys Leu Cys Ser Leu Glu Asp
[2774]	660 665 670
[2775]	Phe Leu Cys Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Pro Glu Asn Asp Ser Lys Cys
[2776]	675 680 685
[2777]	Val Glu Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Asp Leu Glu Phe Cys Leu Tyr
[2778]	690 695 700
[2779]	Gly Arg Glu Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys Ile Pro Gly
[2780]	705 710 715 720
[2781]	Asp Lys Cys Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val Lys Asp Leu
[2782]	725 730 735
[2783]	Lys Lys Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys Gln Asn Ser
[2784]	740 745 750
[2785]	Lys Ser Asn His His His His His His His His
[2786]	755 760
[2787]	<210> 156
[2788]	<211> 696
[2789]	<212> PRT
[2790]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2791]	<220>
[2792]	<223> HDX-MS序列
[2793]	<400> 156
[2794]	Ser Ala Pro Gly Glu Asp Glu Glu Cys Gly Arg Val Arg Asp Phe Val
[2795]	1 5 10 15
[2796]	Ala Lys Leu Ala Asn Asn Thr His Gln His Val Phe Asp Asp Leu Arg
[2797]	20 25 30
[2798]	Gly Ser Val Ser Leu Ser Trp Val Gly Asp Ser Thr Gly Val Ile Leu
[2799]	35 40 45
[2800]	Val Leu Thr Thr Phe His Val Pro Leu Val Ile Met Thr Phe Gly Gln
[2801]	50 55 60
[2802]	Ser Lys Leu Tyr Arg Ser Glu Asp Tyr Gly Lys Asn Phe Lys Asp Ile
[2803]	65 70 75 80
[2804]	Thr Asp Leu Ile Asn Asn Thr Phe Ile Arg Thr Glu Phe Gly Met Ala
[2805]	85 90 95
[2806]	Ile Gly Pro Glu Asn Ser Gly Lys Val Val Leu Thr Ala Glu Val Ser
[2807]	100 105 110

[2808]	Gly	Gly	Ser	Arg	Gly	Gly	Arg	Ile	Phe	Arg	Ser	Ser	Asp	Phe	Ala	Lys
[2809]			115				120						125			
[2810]	Asn	Phe	Val	Gln	Thr	Asp	Leu	Pro	Phe	His	Pro	Leu	Thr	Gln	Met	Met
[2811]			130				135						140			
[2812]	Tyr	Ser	Pro	Gln	Asn	Ser	Asp	Tyr	Leu	Leu	Ala	Leu	Ser	Thr	Glu	Asn
[2813]			145				150					155				160
[2814]	Gly	Leu	Trp	Val	Ser	Lys	Asn	Phe	Gly	Gly	Lys	Trp	Glu	Glu	Ile	His
[2815]						165					170					175
[2816]	Lys	Ala	Val	Cys	Leu	Ala	Lys	Trp	Gly	Ser	Asp	Asn	Thr	Ile	Phe	Phe
[2817]						180					185				190	
[2818]	Thr	Thr	Tyr	Ala	Asn	Gly	Ser	Cys	Lys	Ala	Asp	Leu	Gly	Ala	Leu	Glu
[2819]						195						200			205	
[2820]	Leu	Trp	Arg	Thr	Ser	Asp	Leu	Gly	Lys	Ser	Phe	Lys	Thr	Ile	Gly	Val
[2821]						210						215			220	
[2822]	Lys	Ile	Tyr	Ser	Phe	Gly	Leu	Gly	Gly	Arg	Phe	Leu	Phe	Ala	Ser	Val
[2823]						225					230			235		240
[2824]	Met	Ala	Asp	Lys	Asp	Thr	Thr	Arg	Arg	Ile	His	Val	Ser	Thr	Asp	Gln
[2825]						245					250				255	
[2826]	Gly	Asp	Thr	Trp	Ser	Met	Ala	Gln	Leu	Pro	Ser	Val	Gly	Gln	Glu	Gln
[2827]						260					265				270	
[2828]	Phe	Tyr	Ser	Ile	Leu	Ala	Ala	Asn	Asp	Asp	Met	Val	Phe	Met	His	Val
[2829]						275					280				285	
[2830]	Asp	Glu	Pro	Gly	Asp	Thr	Gly	Phe	Gly	Thr	Ile	Phe	Thr	Ser	Asp	Asp
[2831]						290					295				300	
[2832]	Arg	Gly	Ile	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Leu	Asp	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Thr
[2833]						305					310				315	320
[2834]	Thr	Gly	Gly	Glu	Thr	Asp	Phe	Thr	Asn	Val	Thr	Ser	Leu	Arg	Gly	Val
[2835]						325					330				335	
[2836]	Tyr	Ile	Thr	Ser	Val	Leu	Ser	Glu	Asp	Asn	Ser	Ile	Gln	Thr	Met	Ile
[2837]						340					345				350	
[2838]	Thr	Phe	Asp	Gln	Gly	Gly	Arg	Trp	Thr	His	Leu	Arg	Lys	Pro	Glu	Asn
[2839]						355					360				365	
[2840]	Ser	Glu	Cys	Asp	Ala	Thr	Ala	Lys	Asn	Lys	Asn	Glu	Cys	Ser	Leu	His
[2841]						370					375				380	
[2842]	Ile	His	Ala	Ser	Tyr	Ser	Ile	Ser	Gln	Lys	Leu	Asn	Val	Pro	Met	Ala
[2843]						385					390				395	400
[2844]	Pro	Leu	Ser	Glu	Pro	Asn	Ala	Val	Gly	Ile	Val	Ile	Ala	His	Gly	Ser
[2845]						405					410				415	
[2846]	Val	Gly	Asp	Ala	Ile	Ser	Val	Met	Val	Pro	Asp	Val	Tyr	Ile	Ser	Asp

[2847]	420							425							430						
[2848]	Asp	Gly	Gly	Tyr	Ser	Trp	Thr	Lys	Met	Leu	Glu	Gly	Pro	His	Tyr	Tyr					
[2849]	435							440							445						
[2850]	Thr	Ile	Leu	Asp	Ser	Gly	Gly	Ile	Ile	Val	Ala	Ile	Glu	His	Ser	Ser					
[2851]	450							455							460						
[2852]	Arg	Pro	Ile	Asn	Val	Ile	Lys	Phe	Ser	Thr	Asp	Glu	Gly	Gln	Cys	Trp					
[2853]	465							470							475						
[2854]	Gln	Thr	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Asp	Pro	Ile	Tyr	Phe	Thr	Gly	Leu	Ala					
[2855]	485							490							495						
[2856]	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Arg	Ser	Met	Asn	Ile	Ser	Ile	Trp	Gly	Phe	Thr					
[2857]	500							505							510						
[2858]	Glu	Ser	Phe	Leu	Thr	Ser	Gln	Trp	Val	Ser	Tyr	Thr	Ile	Asp	Phe	Lys					
[2859]	515							520							525						
[2860]	Asp	Ile	Leu	Glu	Arg	Asn	Cys	Glu	Glu	Lys	Asp	Tyr	Thr	Ile	Trp	Leu					
[2861]	530							535							540						
[2862]	Ala	His	Ser	Thr	Asp	Pro	Glu	Asp	Tyr	Glu	Asp	Gly	Cys	Ile	Leu	Gly					
[2863]	545							550							555						
[2864]	Tyr	Lys	Glu	Gln	Phe	Leu	Arg	Leu	Arg	Lys	Ser	Ser	Val	Cys	Gln	Asn					
[2865]	565							570							575						
[2866]	Gly	Arg	Asp	Tyr	Val	Val	Thr	Lys	Gln	Pro	Ser	Ile	Cys	Leu	Cys	Ser					
[2867]	580							585							590						
[2868]	Leu	Glu	Asp	Phe	Leu	Cys	Asp	Phe	Gly	Tyr	Tyr	Arg	Pro	Glu	Asn	Asp					
[2869]	595							600							605						
[2870]	Ser	Lys	Cys	Val	Glu	Gln	Pro	Glu	Leu	Lys	Gly	His	Asp	Leu	Glu	Phe					
[2871]	610							615							620						
[2872]	Cys	Leu	Tyr	Gly	Arg	Glu	Glu	His	Leu	Thr	Thr	Asn	Gly	Tyr	Arg	Lys					
[2873]	625							630							635						
[2874]	Ile	Pro	Gly	Asp	Lys	Cys	Gln	Gly	Gly	Val	Asn	Pro	Val	Arg	Glu	Val					
[2875]	645							650							655						
[2876]	Lys	Asp	Leu	Lys	Lys	Lys	Cys	Thr	Ser	Asn	Phe	Leu	Ser	Pro	Glu	Lys					
[2877]	660							665							670						
[2878]	Gln	Asn	Ser	Lys	Ser	Asn	Ser	Gly	Ser	Ala	Met	Ile	Glu	Gly	Arg	Gly					
[2879]	675							680							685						
[2880]	Val	Gly	His	His	His	His	His	His													
[2881]	690							695													

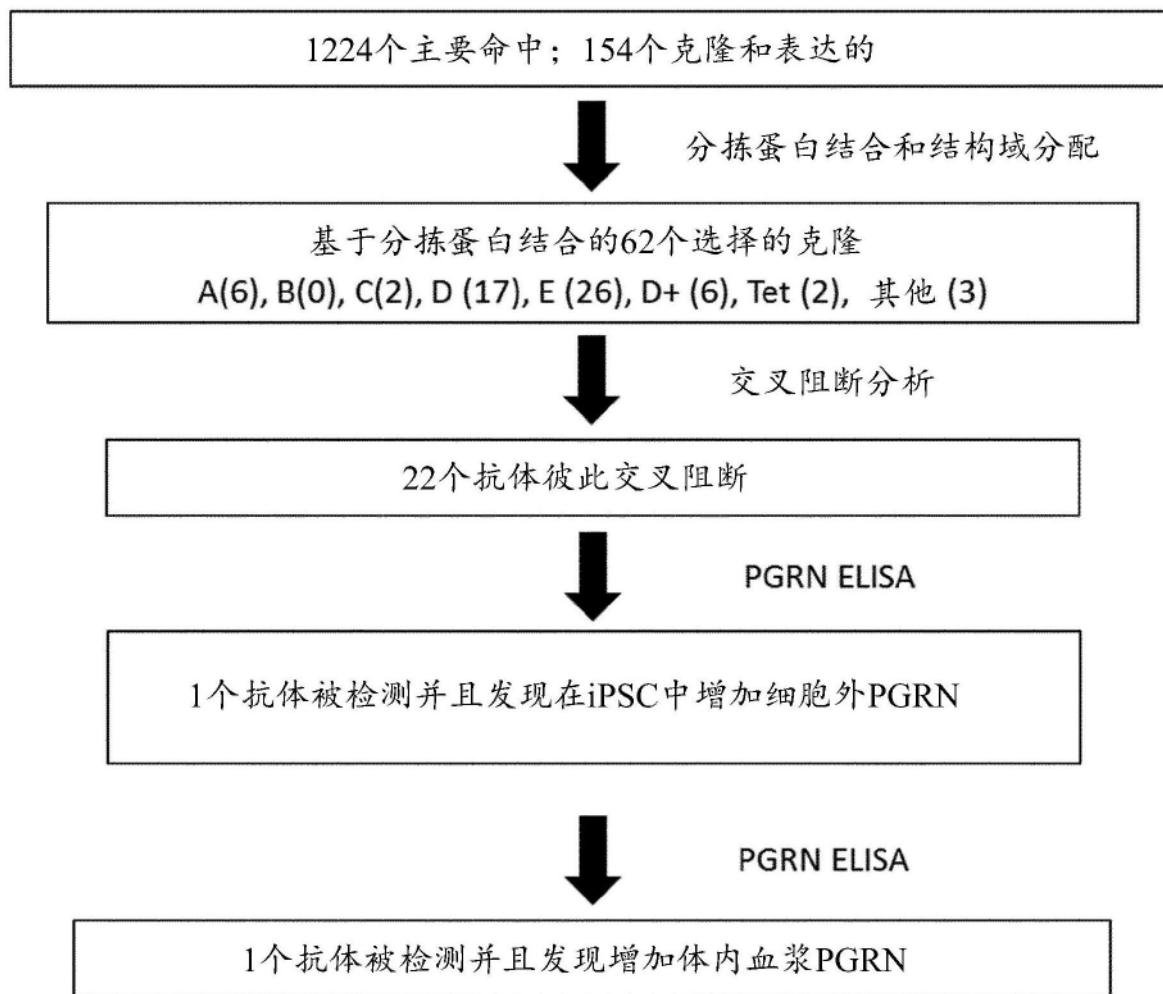


图1

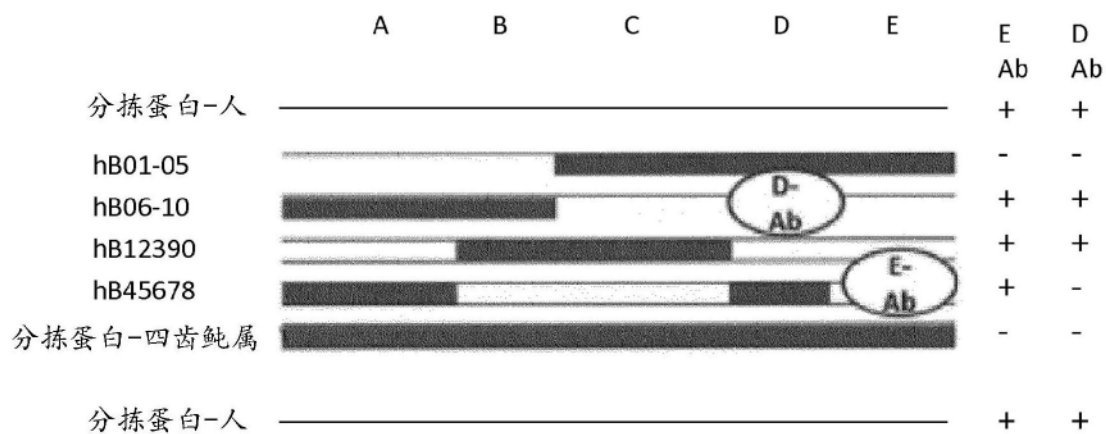


图2A

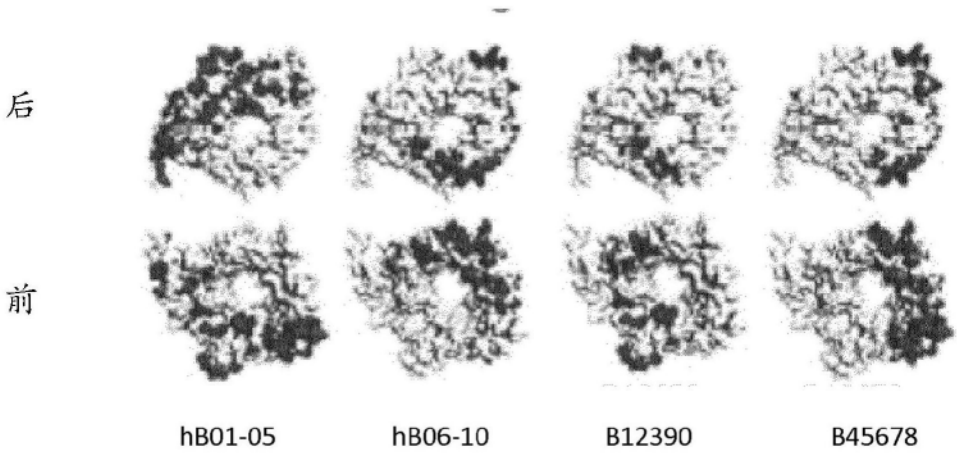


图2B

mAb	结构域	人分选蛋白	hB01-05	hB06-10	B12390	B45678	Tet
6	A	+	+	-	+	-	-
0	B	+	+	-	-	+	-
2	C	+	-	+	-	+	-
17	D	+	-	+	+	-	-
26	E	+	-	+	+	+	-
6	D+	+	-	-	+	-	-
2	Tet	+	+	+	+	+	+
3	其他	+	+/-	+/-	+/-	+	-

图2C

抗体	分拣蛋白 野生型	hB01- 05	hB06- 10	hB12390	hB45678	hBack	hRim	Tetra
IgG1-6003-030	0.89	NB	0.74	0.82	0.85	0.85	0.86	NB
IgG1-6003-010	2.45	NB	2.29	3.00	4.39	2.85	3.77	NB
IgG1-6003-028	1.75	NB	1.56	1.86	1.96	1.87	2.04	NB
IgG1-6003-056	1.26	NB	0.97	1.42	1.10	1.14	1.24	NB
IgG1-6003-072	2.03	NB	1.96	6.29	4.41	2.63	4.93	NB
IgG1-6003-083	0.77	NB	0.76	0.86	0.92	1.34	0.99	NB
IgG1-6003-1277	3.03	NB	2.62	3.63	4.30	4.07	4.34	NB
IgG1-6003-1286	1.02	NB	0.87	0.86	1.02	1.02	1.05	NB
IgG1-6003-1342	1.79	NB	1.49	2.08	2.51	1.84	2.44	NB
IgG1-6003-381	1.82	NB	1.34	1.93	2.00	1.60	2.28	NB
IgG1-6003-408	1.93	NB	1.68	2.21	2.58	2.37	2.78	NB
IgG1-6003-423	3.47	NB	2.96	3.55	4.45	4.00	4.24	NB
IgG1-6003-471	2.63	NB	2.06	3.16	2.93	2.54	3.65	NB
IgG1-6003-530	4.77	NB	5.77	8.37	14.89	8.01	11.99	NB
IgG1-6003-532	1.30	NB	1.01	1.23	1.35	1.25	1.42	NB

图3

IgG1-6003-784	2.14	NB	2.33	4.27	6.50	3.25	5.86	NB
IgG1-6003-799	3.49	NB	2.63	3.36	4.16	3.20	5.02	NB
IgG1-6003-822	1.97	NB	1.49	1.89	2.08	2.59	2.31	NB
IgG1-6003-826	6.54	NB	6.95	15.40	18.06	9.36	18.27	NB
IgG1-6003-886	3.40	NB	2.44	3.36	3.45	2.72	4.42	NB
IgG1-6003-899	3.06	NB	2.32	17.70	5.55	4.54	5.35	NB
IgG1-6003-900	1.06	NB	0.91	1.06	1.19	1.16	1.26	NB
IgG1-6003-910	1.34	NB	1.16	1.84	2.23	1.54	2.59	NB
IgG1-6003-936	2.18	NB	1.85	11.40	2.86	2.62	3.20	NB
IgG1-6003-995	2.03	NB	1.42	10.21	2.99	2.03	3.31	NB
IgG1-6003-972	1.35	NB	1.12	2.36	2.57	1.49	3.08	NB

图3(续)

同源结合图例	
+	EC50 0.1-10 ng/ml
+	EC50 >10 ng/ml
NB	无结合

图3(续)

		E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
结构域	抗体	530	784	010	471	532	910	072	972	826.0	028	030	056	083					
E	530	0.00	0.00	-0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.00	-0.01	0.01	-0.04	-0.04	-0.04	-0.03					
E	784	-0.01	-0.01	0.00	-0.01	0.00	0.00	-0.01	0.00	0.00	-0.01	-0.01	-0.03	-0.01					
E	010	0.00	0.01	0.01	0.02	0.01	0.03	0.00	0.02	0.03	0.02	0.01	0.00	0.01					
E	471	0.01	0.02	0.00	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02					
E	532	0.01	0.01	0.00	0.02	0.01	0.03	0.01	0.01	0.03	0.00	0.01	0.01	0.01					
E	910	0.02	0.03	0.01	0.02	0.03	0.04	0.02	0.04	0.05	0.01	0.02	0.00	0.02					
E	072	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.01	0.01	-0.01	0.00	0.00	0.00					
E	972	x	x	0.01	0.10	x	x	0.06	x	x	0.00	0.00	0.06	0.06					
E	826	0.00	0.00	0.00	-0.01	-0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	-0.03	-0.03	-0.05	-0.03					
E	028	0.03	0.04	0.00	0.02	0.04	0.07	0.01	0.04	0.06	0.00	0.00	0.01	0.02					
E	030	0.03	0.03	0.00	0.02	0.04	0.06	0.01	0.05	0.06	0.00	0.01	0.01	0.02					
E	056	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.02	-0.07	0.01	0.02	0.01	0.01	0.00	0.01					
E	083	0.02	0.02	0.00	0.02	0.02	0.03	0.02	0.03	0.05	0.00	0.01	0.01	0.02					

图4

E	381	0.01	0.02	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02	0.03	0.03	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01
E	408	0.01	0.02	0.00	0.01	0.01	0.02	0.05	0.03	0.03	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01
E	423	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.03	0.02	0.02	0.04	-0.01	-0.01	-0.02	0.00	0.00
E	799	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.05	0.02	0.02	0.03	0.00	0.05	0.00	0.01	0.01
E	822	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.02	0.00	0.01	0.01
E	1286	0.04	0.04	0.00	0.05	0.04	0.04	0.05	0.04	0.04	0.07	0.01	0.01	0.03	0.04	0.04
E	1342	0.01	0.02	0.02	0.00	0.03	0.02	0.03	0.03	0.03	0.07	0.01	-0.04	-0.01	0.01	0.01
E	900	0.02	0.03	0.00	0.02	0.02	0.02	0.05	0.03	0.03	0.04	-0.01	-0.02	-0.01	0.00	0.00
E	1277	0.02	0.01	0.00	0.08	0.02	0.02	0.04	0.02	0.02	0.04	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02
E	899*	b	b	b	b	b	b	B	ND	x	x	x	x	x	x	x
E	995	b	b	0.21	b	b	b	b	x	x	x	-0.03	-0.03	x	x	x
E	936	b	b	0.71	0.33	b	b	b	x	x	x	-0.22	-0.20	-0.07	x	x
E	886	0.34	0.39	0.37	0.57	0.58	0.37	0.37	0.02	0.02	0.02	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01

图4 (续)

		E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
结构域	抗体	381	408	423	799	822	1286	1342	900	1277	899	995	936	886			
E	530	-0.01	-0.02	-0.01	0.00	0.00	-0.03	-0.01	-0.03	-0.01	b	b	b	b			
E	784	-0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.02	-0.01	-0.01	-0.01	b	b	b	b			
E	010	0.00	0.01	0.01	0.02	0.03	0.01	0.03	0.02	0.01	0.52	0.60	0.53	0.44			
E	471	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.54	0.62	0.58	0.54			
E	532	0.01	0.01	0.01	0.02	0.03	0.02	0.03	0.01	0.01	0.64	0.71	0.64	0.51			
E	910	0.01	0.02	0.04	0.03	0.03	0.02	0.04	0.03	0.02	0.23	0.31	0.35	0.51			
E	072	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.02	0.00	0.00	0.01	0.02	0.01	0.05			
E	972	x	x	0.10	x	x	x	x	x	x	ND	ND	ND	x			
E	826	0.00	-0.01	0.00	0.00	0.00	-0.03	0.00	-0.03	-0.01	-0.02	-0.02	-0.03	0.00			
E	028	0.02	0.02	0.03	0.05	0.07	0.04	0.07	0.04	0.04	0.02	0.02	-0.11	0.04			
E	030	0.02	0.03	0.03	0.04	0.05	0.03	0.05	0.04	0.03	0.01	0.01	-0.10	0.03			
E	056	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01	0.00	-0.04	0.01			
E	083	0.01	0.02	0.02	0.02	0.04	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01	-0.02	-0.07	0.02			

图4(续)

E	381	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.03	0.02	0.01	0.01	-0.07	0.01
E	408	0.00	0.01	0.02	0.02	0.02	0.06	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01
E	423	0.00	0.01	0.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.01	0.01	0.01	-0.03	0.01
E	799	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.03	0.02	0.03	0.01	0.02	0.01	-0.09	0.02
E	822	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	-0.03	0.00
E	1286	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	-0.01	0.04
E	1342	0.00	0.02	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01	0.03	0.02	0.01	0.00	-0.09	0.01
E	900	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01	0.03	0.02	0.05	0.02	0.04	0.03	0.03	0.02
E	1277	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.03	0.02	0.04	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
E	899*	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ND	ND	x
E	995	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ND	ND	x
E	936	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ND	ND	x
E	886	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01

0	应答 <0.1	b = 结合-无交叉阻断	ND= 未进行
0.2	应答 >0.1	x = 无结合-交叉阻断	

图4 (续)

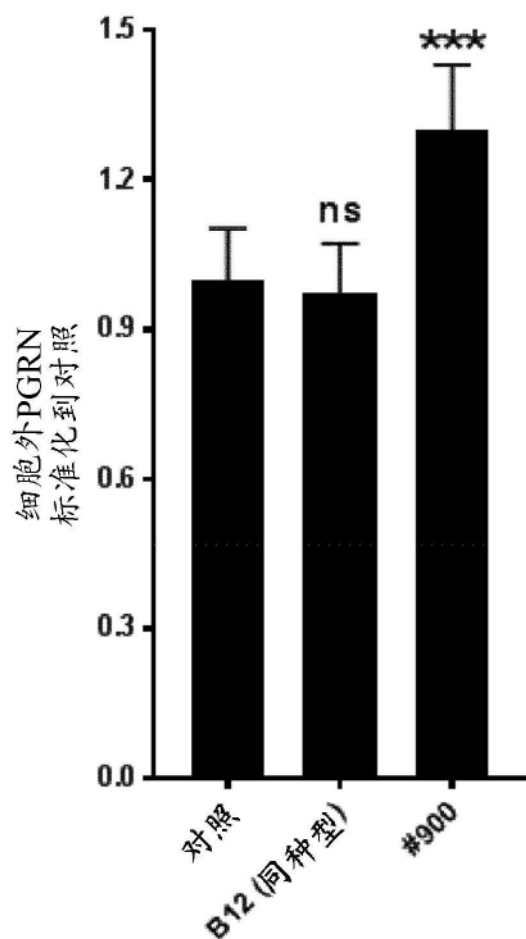


图5

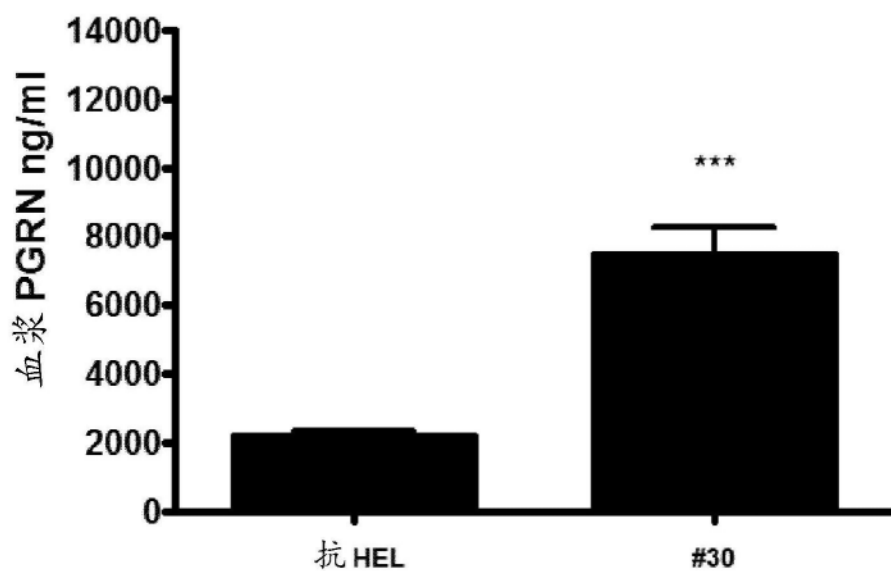


图6

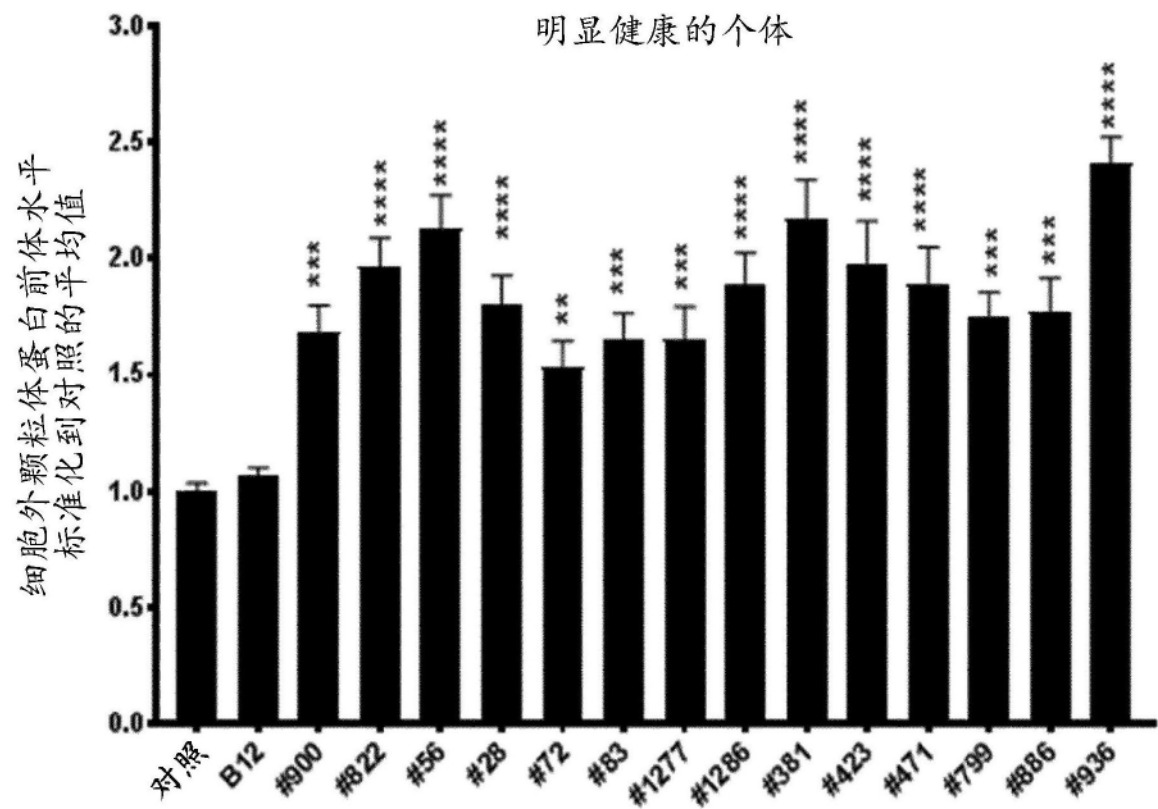


图7A

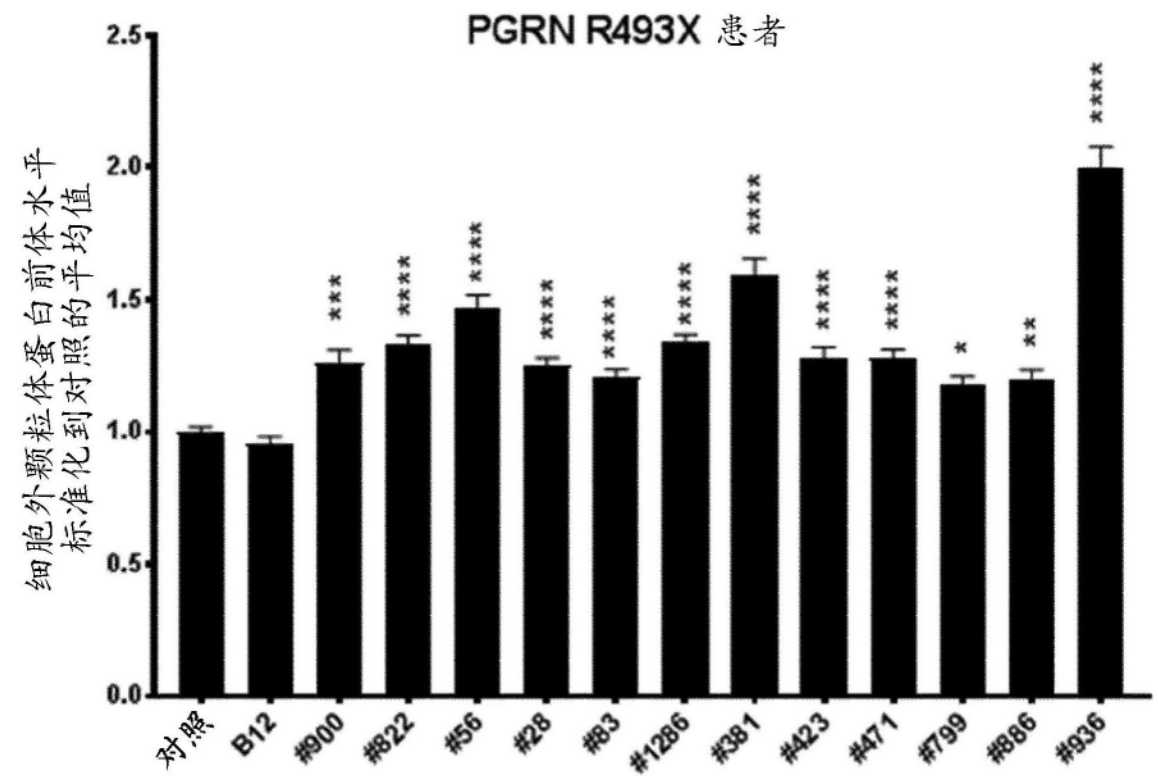


图7B

617-629 YTIWLAHSTDPED

相对氘
摄取 (D)

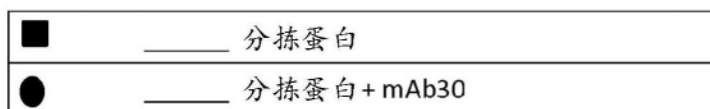
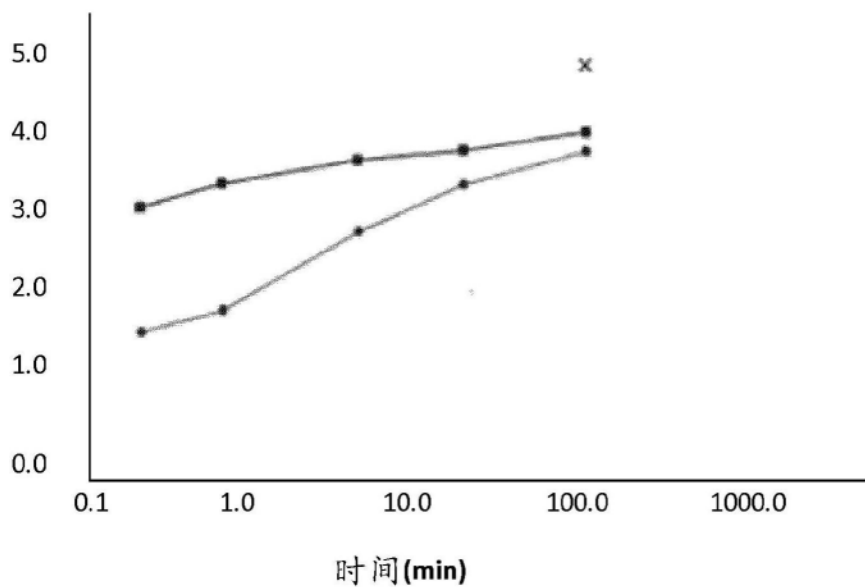


图8A

630-637 YEDGCILG

相对氘
摄取 (D)

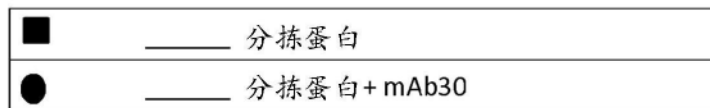
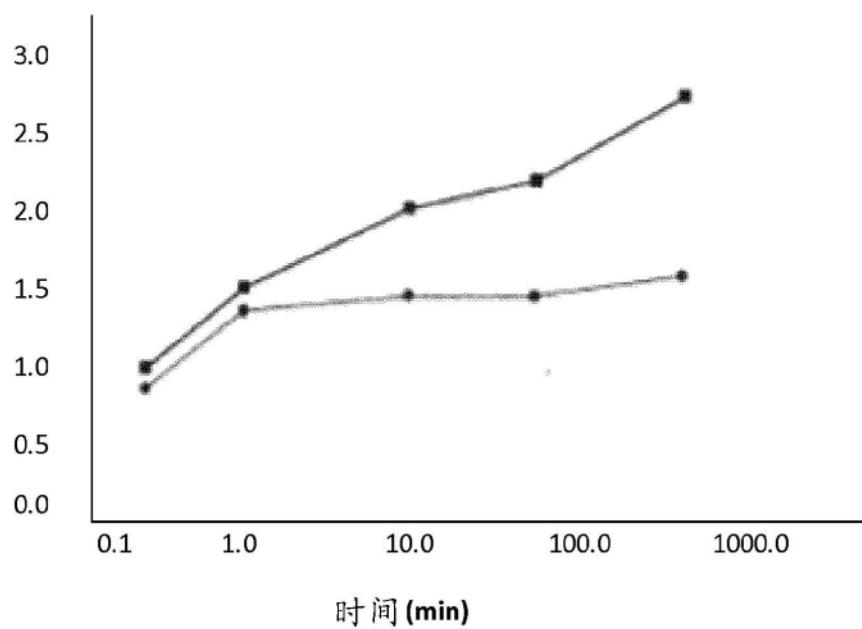


图8B

637-642 GYKEQF

相对氘
摄取 (D)

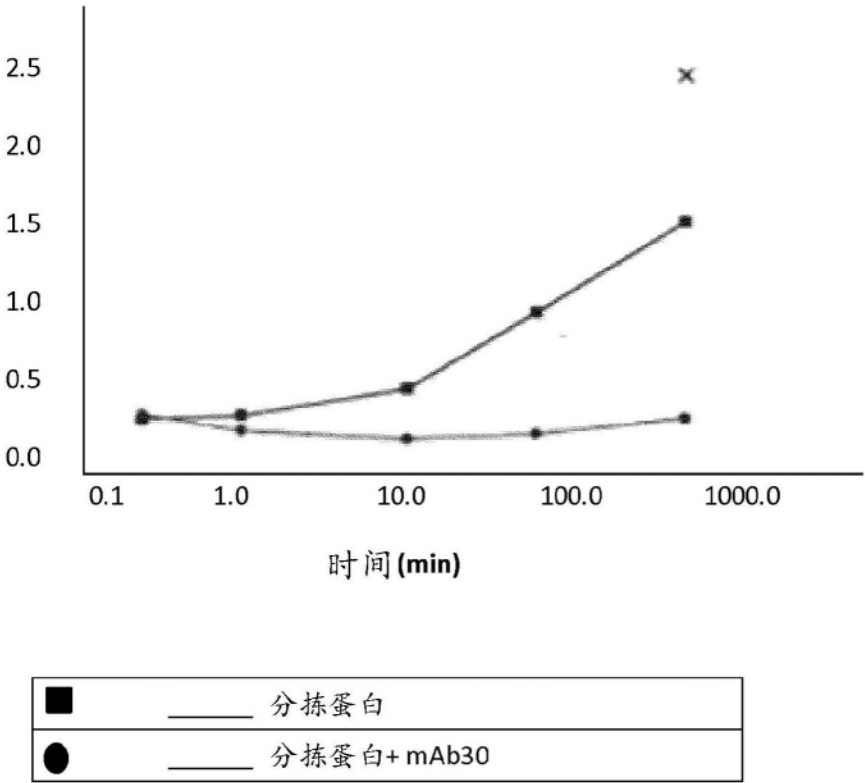


图8C

657-667 YVVTQPSICL

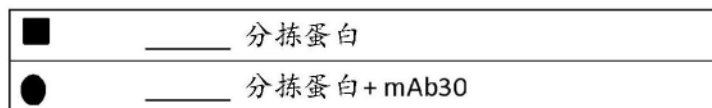
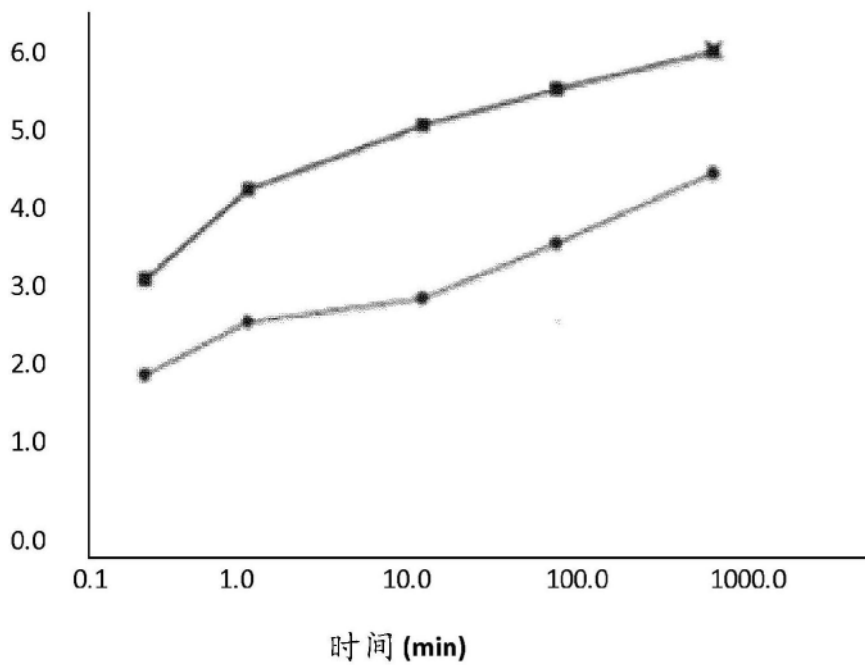
相对氘
摄取 (D)

图8D

668-672 CSLED

相对氘
摄取 (D)

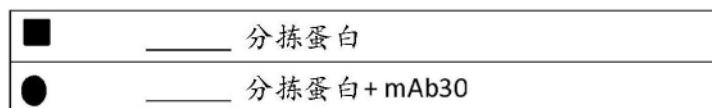
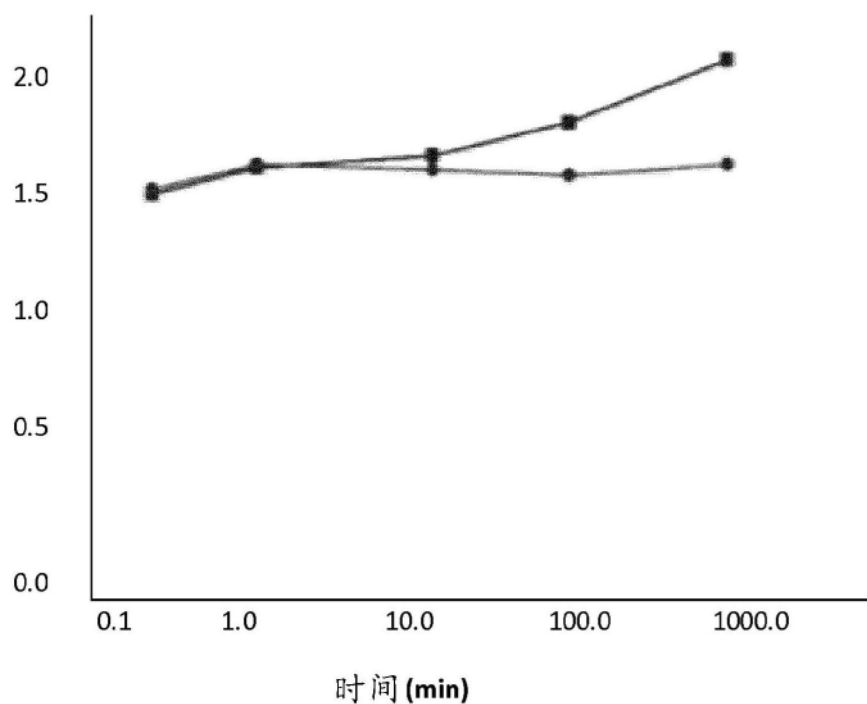


图8E

715-728 YRKIPGDKCQGGVN

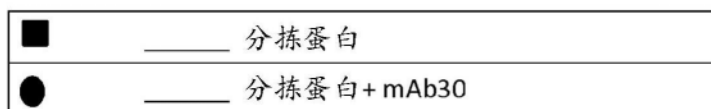
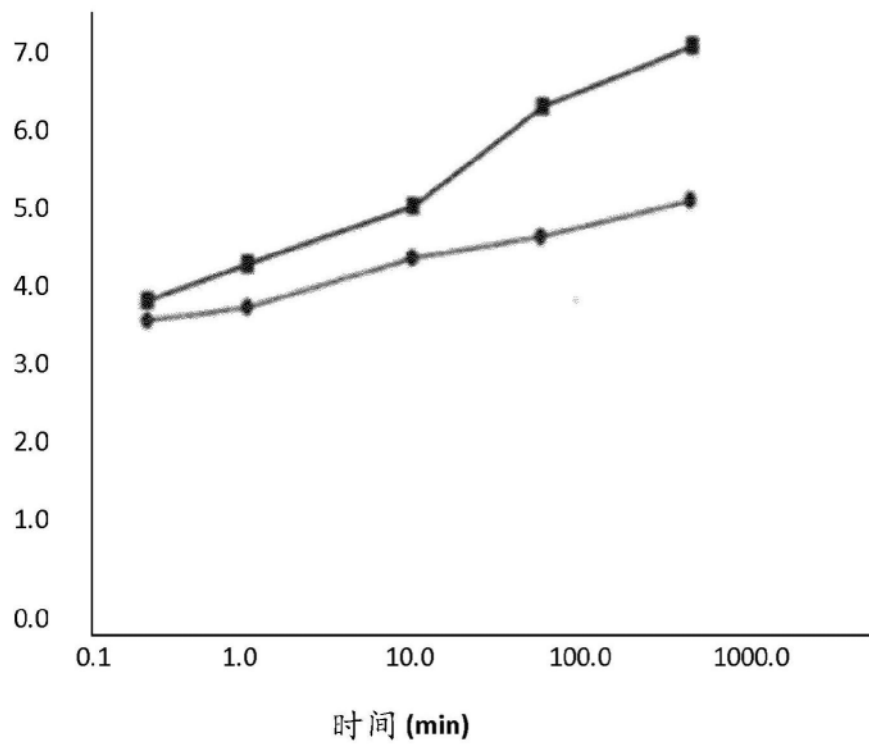
相对氘
摄取 (D)

图8F