



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103958544 B

(45)授权公告日 2018.04.24

(21)申请号 201280049537.6

(22)申请日 2012.09.10

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 103958544 A

(43)申请公布日 2014.07.30

(30)优先权数据

61/535,532 2011.09.16 US

61/638,731 2012.04.26 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2014.04.09

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/GB2012/052222 2012.09.10

(87)PCT国际申请的公布数据
W02013/038156 EN 2013.03.21

(73)专利权人 UCB医药有限公司
地址 比利时布鲁塞尔

(72)发明人 D·P·哈姆费雷斯

D·J·莱特伍德 K·L·泰森

D·E·O·奈特 K·J·M·赫伍

J·E·康普森 M·J·T·裴知

A·C·佩内 N·L·菲舍

B·麦肯泽 M·寇克斯

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专
利商标事务所 11038

代理人 李程达

(51)Int.Cl.

C07K 16/12(2006.01)

A61K 39/40(2006.01)

A61P 31/04(2006.01)

审查员 吴永庆

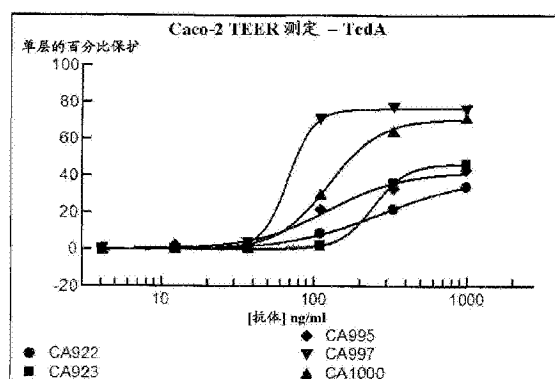
权利要求书2页 说明书62页
序列表70页 附图69页

(54)发明名称

针对艰难梭菌的主要外毒素TcdA和TcdB的
中和抗体

(57)摘要

本发明描述了能够中和艰难梭菌的主要外
毒素TcdA和TcdB的抗体的衍生和选择。本发明还
描述了单个Mab及其混合物的新型中和和抗原结
合性质。



1. 特异于抗原TcdA的单克隆抗体,其中所述抗体包含重链和轻链,其中所述重链的可变结构域包含SEQ ID NO:44中所示的CDR-H1、SEQ ID NO:45中所示的CDR-H2和SEQ ID NO:46所示的CDR-H3,其中所述轻链的可变结构域包含SEQ ID NO:41中所示的CDR-L1、SEQ ID NO:42中所示的CDR-L2和SEQ ID NO:43中所示的CDR-L3。

2. 权利要求1的单克隆抗体,其中所述单克隆抗体具有重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:49所示的序列并且所述轻链包含SEQ ID NO:47所示的序列。

3. 药物组合物,其包含权利要求1或2任一项所述的单克隆抗体。

4. 权利要求3的药物组合物,其还包含特异性结合TcdA的单克隆抗体,所述特异性结合TcdA的单克隆抗体包含重链和轻链,其中所述重链的可变结构域包含SEQ ID NO:54中所示的CDR-H1、SEQ ID NO:55中所示的CDR-H2和SEQ ID NO:56所示的CDR-H3,其中所述轻链的可变结构域包含SEQ ID NO:51中所示的CDR-L1、SEQ ID NO:52中所示的CDR-L2和SEQ ID NO:53中所示的CDR-L3。

5. 权利要求4的药物组合物,其包含单克隆抗体,所述单克隆抗体具有重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:59中所示的序列并且所述轻链包含SEQ ID NO:57中所示的序列。

6. 权利要求3-5任一项的药物组合物,其包含特异性结合TcdB的单克隆抗体,其中所述特异性结合TcdB的单克隆抗体包含重链和轻链,其中所述重链的可变结构域包含SEQ ID NO:124中所示的CDR-H1、SEQ ID NO:125中所示的CDR-H2和SEQ ID NO:126所示的CDR-H3,其中所述轻链的可变结构域包含SEQ ID NO:121中所示的CDR-L1、SEQ ID NO:122中所示的CDR-L2和SEQ ID NO:123中所示的CDR-L3。

7. 权利要求6的药物组合物,其包含单克隆抗体,所述单克隆抗体具有重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:129中所示的序列并且所述轻链包含SEQ ID NO:127中所示的序列。

8. 权利要求3至5或7任一项的药物组合物,其包含特异性结合TcdB的单克隆抗体,其中所述特异性结合TcdB的单克隆抗体包含重链和轻链,其中所述重链的可变结构域包含SEQ ID NO:154中所示的CDR-H1、SEQ ID NO:155中所示的CDR-H2和SEQ ID NO:156所示的CDR-H3,其中所述轻链的可变结构域包含SEQ ID NO:151中所示的CDR-L1、SEQ ID NO:152中所示的CDR-L2和SEQ ID NO:153中所示的CDR-L3。

9. 权利要求8的药物组合物,其包含单克隆抗体,所述单克隆抗体具有包含SEQ ID NO:159中所示的序列的重链和包含SEQ ID NO:157中所示的序列的轻链。

10. 权利要求3至5、7或9任一项的药物组合物,其包含特异性结合TcdA的单克隆抗体,其中所述特异性结合TcdA的单克隆抗体具有重链和轻链,其中重链可变区包含选自SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:39的序列并且轻链可变区包含选自SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:37的序列。

11. 权利要求3至5、7或9任一项的药物组合物,其包含特异性结合TcdB的单克隆抗体,其中所述特异性结合TcdB的单克隆抗体具有重链和轻链,其中重链可变区包含选自SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:149和SEQ ID NO:159的序列,并且轻链可变区包含选自SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:147和SEQ ID NO:157的序列。

12. 权利要求3至5、7或9任一项的药物组合物,其中组合物中的至少一种抗体特异于

TcdA并且组合物中的至少一种抗体特异于TcdB。

13. 权利要求12的药物组合物,其中所述组合物还包含至少一种特异于TcdB的第二抗体。

14. 权利要求1或2任一项中定义的单克隆抗体在制备用于治疗艰难梭菌感染的药物中的用途。

15. 权利要求14的用途,其中艰难梭菌感染是超毒力菌株感染。

16. 权利要求15的用途,其中所述超毒力菌株是核糖型027。

针对艰难梭菌的主要外毒素TcdA和TcdB的中和抗体

[0001] 本发明涉及针对艰难梭菌 (*Clostridium difficile*) 的外毒素例如TcdA和TcdB的抗体、包含所述抗体的药物组合物、产生所述抗体和组合物的方法以及所述抗体和组合物用于治疗 and/或预防,特别是治疗或预防艰难梭菌感染、假膜性结肠炎、暴发性结肠炎和/或中毒性巨结肠的用途。

[0002] 两种主要外毒素TcdA和TcdB已在许多体外和体内研究中被确定为艰难梭菌的主要致病性决定子。非产毒株对动物和人是非致病性的 (1,2)。迄今为止仍然需要确立对二元毒素的作用的明确理解 (3)。

[0003] 两种毒素都是肠毒性的和细胞毒性的,但综合各种证据显示TcdA是比TcdB更强的肠毒素,而通常观察到TcdB的细胞毒性为TcdA的约1000倍 (4)。虽然两种毒素都能够诱发炎症反应,但TcdA似乎帮助更多炎症性TcdB迁移进入更深的肠黏膜 (5)。

[0004] 总体来说,30多年产生的一大批数据支持其中两种毒素都可能在人疾病过程中具有非常重要的意义的模型。TcdA可能通过紧密连接的丢失和绒毛尖的破坏和从而腹泻,可能地通过白蛋白驱动的液体流失来起始早期 (即在TcdB之前) 和快速 (即1-3小时) 肠损伤。对肠衬里的完整性的这种损害使得TcdB能够更快和更有效地 (即深入更深的组织,或细胞靶并且全身性破坏可及的器官) 施加其优良的摩尔效力 (TcdB通常被引证为是TcdA的细胞毒性的1000倍)。任一毒素在体外对人或动物细胞和组织是单独有效的。取决于其它诱发因素例如机械损伤、屏障过载和宿主特异性敏感性,任一毒素单独地在动物的体内是有效的。现已清楚在仓鼠中,至少通过艰难梭菌肠感染递送的单独的TcdA或TcdB可引起死亡 (1)。已证明A-B+菌株能够引起人的症状和死亡 (6,7)。然而,绝大部分 (~95%) 临床菌株为A+B+,从而目标在于治疗艰难梭菌感染 (CDI) 的药物必须能够有效中和两种毒素的活性和清除所述毒素。

[0005] CDI是老年患者或具有并发合并症的那些患者的最常见的医院内感染。然而,社区获得性感染的增加已引起人们的注意。感染几乎总是与广谱抗生素的使用相关或由其诱发。仅在美国医疗保健相关花费据估计每年超过10亿美元。这些花费主要因具有更长的住院期的患者造成。目前的疗法包括使用杀死肠内的艰难梭菌细胞的抗生素,例如克林霉素、万古霉素或非达米星。目前的疗法解决了细菌感染但不能对付或直接防止由TcdA和TcdB引发的显著发病机制,所述TcdA和TcdB是CDI症状和死亡率的主要贡献者。

[0006] 人的CDI症状包括轻度至严重的腹泻、假膜性结肠炎 (PMC) 和暴发性结肠炎或所谓的中毒性巨结肠。死亡导致5-15%的接受目前最好的照护的患者。因此,目前还没有患者可获得用于防止在感染后由艰难梭菌毒素引起的损害和损伤的特异性疗法。

[0007] 已显示通过接种产生抗体反应和胃肠外施用多克隆和单克隆抗体能够保护动物免受腹泻的症状和死亡 (8-15)。仓鼠中的早期研究表明单独的抗TcdA抗体是获得保护作用所需的所有物质。然而,功能上缺失TcdA或TcdB的菌株的使用证明了任一毒素都能够引起仓鼠的疾病,但两种毒素一起更有效 (1)。

[0008] 对于治疗性应用,单克隆抗体 (Mab) 可提供优于血清来源的多克隆抗体或血清来源的高免疫血清的效力、安全性、制造和监管有利方面。由于这些原因,Mab对于治疗产品通

常是优选的选择。

[0009] 已进行了许多努力来产生抗TcdA和TcdB保护性Mab。这些Mab中在临床上最先进的Mab是2种IgG1Mab的混合物,由MBL和Medarex开发的最初称为CDA1和MDX1388的各自抗TcdA和TcdB的Mab。已显示它们在急性或复发性感染的模型中不能完全保护仓鼠(15)。该Mab组合现由Merck Inc开发为MK3415A。在人II期临床试验中,MK3415A导致统计上显著的疾病复发的减少($p=0.006$) (也参见Lowy等人,NEJM(2010) 362:197-205)但不影响腹泻的持续时间/严重度或死亡率(16)。这可能意味着这些抗体仅对预防感染的复发有用。感染的复发导致约25%的患者。因此,可能存在这些抗体在其中无效的大量患者群体。

[0010] 为了能够对腹泻(例如作为因TcdA引起的对肠紧密连接的急性损害的结果)和死亡(例如因下列情况而引起的:延长的不良营养状况、脱水应激和炎症级联的引发、对肠衬里的广泛解剖学上的损伤和可能地因全身性毒性TcdB(更甚于TcdA)引起的对远距离器官的损害)产生积极影响,需要具有优良亲和力、毒素中和、对TEER(跨上皮电阻)的丢失的优良防止、抗原修饰和抗原免疫清除的Mab。

[0011] 发明概述

[0012] 本发明提供了具有极高水平的体外和体内效力的Mab,其具有对患有艰难梭菌感染(CDI)的人的腹泻的持续和严重度以及死亡率产生影响的潜力。

[0013] 在一个实施方案中,提供了特异于抗原TcdA或TcdB的单克隆抗体,其中所述抗体对靶抗原具有高亲和力,并且适合用于减少患有艰难梭菌感染或处于发生所述感染的风险中的患者的腹泻的持续时间和/或严重度以及发病率。

[0014] 在一个实施方案中,提供了特异于的TcdA或TcdB的Mab,或至少两种Mab的群体,所述Mab的至少一种特异于TcdA并且所述Mab的至少一种特异于TcdB,其中所述抗体或每一种抗体或抗体的组合的 EC_{50} 为200ng/ml或更少,例如150ng/ml或更小,例如100ng/ml。

[0015] 本公开内容的抗体是有用的,因为它们可能提供治疗患者的原发感染例如腹泻的症状的严重度和持续时间或防止死亡而不仅仅是预防疾病症状的复发的手段。

[0016] 在至少一些实施方案中,根据本公开内容的抗体在高浓度毒素存在的情况下不显示效力的减小。

[0017] 发明详述

[0018] 如本文中所用,特异性意指这样的抗体,所述抗体仅识别其所特异的抗原,或这样的抗体,所述抗体对于其所特异性于的抗原的结合,相较于该抗体对于其所非特异性于的抗原的结合,具有显著更高的结合亲和力,例如为5、6、7、8、9、10倍的结合亲和力。

[0019] 结合亲和力可通过标准测定例如表面等离子体共振技术例如BIAcore来测量。

[0020] 在一个实施方案中,对于细胞培养测定和患者的艰难梭菌感染, EC_{50} 小于75、70、60、65、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1.5ng/ml。这显著低于(效力更强)已知抗体,并且被认为是关于为什么本公开内容的抗体对接受治疗的受试者的存活具有显著的和积极影响的主要因素。

[0021] 如本文中所用,效力是抗体在给定的剂量或浓度诱发适当的生物反应例如有害毒素作用的中和的能力。效力的实例包括毒素活性的最大中和百分比(保护的程度)、Mab对抗原的最低相对浓度(例如 EC_{50})、中和活性的速度和耐久性。

[0022] 在细胞培养测定中,中和可能被观察为下列方面的一个或多个方面:毒素结合至

细胞的防止、毒素从溶液的免疫沉淀、细胞形式和形状丢失的防止、细胞骨架结构的丢失的防止、细胞单层紧密连接和跨上皮电阻的丢失的防止、细胞死亡、细胞凋亡的防止以及促炎细胞因子例如TNF α 、IL-1 β 、IL-6和MIP1 α 的产生。

[0023] 在组织切片和外植体测定中,中和可以例如被观察为坏死和/或水肿液积累的防止。

[0024] 在体外测定中,中和可被观察为如下方面的一个或多个方面:液体在结扎的回肠祥中的积累的防止以及肠组织坏死、腹泻、动物死亡的假膜形成的防止,

[0025] 因此,在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素A抗体),所述CDR选自:

QASQSISNALA SEQ ID NO: 1

SASSLAS SEQ ID NO: 2

QYTHYSHTSKNP SEQ ID NO: 3

[0026] GFTISSYYMS SEQ ID NO: 4

IISSGGHFTWYANWAKG SEQ ID NO: 5

AYVSGSSFNGYAL SEQ ID NO: 6

[0027] 在一个实施方案中,序列1至3存在于抗体的轻链中。

[0028] 在一个实施方案中,序列4至6存在于抗体的重链中。

[0029] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:1为CDR L1,SEQ ID NO:2为CDR L2以及SEQ ID NO:3为CDR L3。

[0030] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:4为CDR H1,SEQ ID NO:5为CDR H2以及SEQ ID NO:6为CDR H3。

[0031] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:1为CDR L1,SEQ ID NO:2为CDR L2,SEQ ID NO:3为CDR L3,SEQ ID NO:4为CDR H1,SEQ ID NO:5为CDR H2以及SEQ ID NO:6为CDR H3。

[0032] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列的轻链可变区(抗体922抗-毒素A抗体;轻链可变区序列) SEQ ID NO:7:

[0033] DPVMTQSPSTLSASVGDRTITCQASQSISNALAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLASGVPSRFKSGSGT EFTLTISLQPDFFATYYCQYTHYSHTSKNPFGGGTKVEIK

[0034] 其中将CDR加以下划线并且构建体在本文中被称为922.g1VK(gL1)。

[0035] 编码SEQ ID NO:7的多核苷酸序列示于图1中和SEQ ID NO:8。

[0036] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:9的重链可变区(抗体922抗-毒素A抗体重链可变区序列):

[0037] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISSYYMSWVRQAPGKGLEWIGI IISSGGHFTWYANWAKGRFT ISSDSTTVYLQMNSLRDEDTATYFCARAYVSGSSFNGYALWGQGLTVTVS

[0038] 其中将CDR加以下划线并且构建体在本文中被称为922.g1VH(gH1)

[0039] 编码SEQ ID NO:9的多核苷酸序列示于图1中和SEQ ID NO:10。

[0040] 在一个实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:7和9中显示的可变区。

[0041] 因此,在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如

抗-毒素A抗体),所述CDR选自:

	QASQSISNYLA	SEQ ID NO: 11
	SASTLAS	SEQ ID NO: 12
[0042]	QYSHYGTGVFGA	SEQ ID NO: 13
	AFSLSNYMS	SEQ ID NO: 14
	IISGSGSNALKWYASWPKG	SEQ ID NO: 15
	NYVGSGSYGMDL	SEQ ID NO: 16

[0043] 在一个实施方案中,序列11至13存在于抗体的轻链中。

[0044] 在一个实施方案中,序列14至16存在于抗体的重链中。

[0045] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:11为CDR L1,SEQ ID NO:12为CDR L2以及SEQ ID NO:13为CDR L3。

[0046] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:14为CDR H1,SEQ ID NO:15为CDR H2以及SEQ ID NO:16为CDR H3。

[0047] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:11为CDR L1,SEQ ID NO:12为CDR L2,SEQ ID NO:13为CDR L3,SEQ ID NO:14为CDR H1,SEQ ID NO:15为CDR H2以及SEQ ID NO:16为CDR H3。

[0048] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:17的轻链可变区(抗体923抗-毒素A抗体;轻链可变区序列):

[0049] DVVMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSISNYLAWYQQKPKVPKLLIYSASTLASGVPSRFKSGSGT
QFTLTISSLQPEDVATYYCQYSHYGTGVFGAFGGGTKVEIK

[0050] 其中将CDR加以下划线并且构建体在本文中被称为CA923.g1gL1

[0051] 编码SEQ ID NO:17的多核苷酸序列示于图1中和SEQ ID NO:18。

[0052] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:19的重链可变区(抗体923抗-毒素A抗体重链可变区序列):

[0053] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASAFSLSNYMSWVRQAPGKGLEWIGIIISGSGSNALKWYASWPKGRF
TISKDSTTVYLQMNSLRAEDTATYFCARNYVGSGSYGMDLWGQGTLVTVS

[0054] 其中将CDR加以下划线并且构建体在本文中被称为CA923.g1gH1

[0055] 编码SEQ ID NO:19的多核苷酸序列示于图2中和SEQ ID NO:20。

[0056] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:19中所示的可变区。

[0057] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素A抗体),所述CDR选自:

	QASQSISSYFS	SEQ ID NO: 21
	GASTLAS	SEQ ID NO: 22
	QCTDYSGIYFGG	SEQ ID NO: 23
[0058]	GFSLSYYMS	SEQ ID NO: 24
	IISGSSSTTFTWYASWAKG	SEQ ID NO: 25
	AYVGSSSYGFD	SEQ ID NO: 26

[0059] 在一个实施方案中,序列21至23存在于抗体的轻链中。

[0060] 在一个实施方案中,序列24至26存在于抗体的重链中。

[0061] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:21为CDR L1,SEQ ID NO:22为CDR L2以及SEQ ID NO:23为CDR L3。

[0062] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:24为CDR H1,SEQ ID NO:25为CDR H2以及SEQ ID NO:26为CDR H3。

[0063] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:21为CDR L1,SEQ ID NO:22为CDR L2,SEQ ID NO:23为CDR L3,SEQ ID NO:24为CDR H1,SEQ ID NO:25为CDR H2以及SEQ ID NO:26为CDR H3。

[0064] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:27的轻链可变区(抗体993抗-毒素A抗体;轻链可变区序列):

[0065] DVVMTQSPSTLSASVGDRTITCQASQSISSYFSWYQQKPGKAPQLLIYGASTLASGVPSRFKSGSGT
ELTLTISSLQPDFFATYYCQCTDYSGIYFGGFGGTKVEIK

[0066] 其中将CDR加以下划线并且构建体在本文中被称为CA993.g1g1

[0067] 编码SEQ ID NO:27的多核苷酸序列示于图2中和SEQ ID NO:28。

[0068] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:29的重链可变区(抗体993抗-毒素A抗体重链可变区序列):

[0069] EVQLVESGGGLVQPGSLKLSCTASGFSLSYYMSWVRQAPGKGLEWIGIISGSSSTTFTWYASWAKGR
FTISKSTTTVYLQMNSLKTEDTATYFCARAYVGSSSYGFDPPWGQGLTVTS

[0070] 其中将CDR加以下划线并且构建体在本文中被称为CA993.g1gH1

[0071] 编码SEQ ID NO:29的多核苷酸序列示于图2中和SEQ ID NO:30。

[0072] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:29中显示的可变区。

[0073] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素A抗体),所述CD选自:

	QASQSINNYFS	SEQ ID NO: 31
	GAANLAS	SEQ ID NO: 32
	QNNYGVHIYGAA	SEQ ID NO: 33
[0074]	GFSLSNYDMI	SEQ ID NO: 34
	FINTGGITYIASWAKG	SEQ ID NO: 35
	VDDYIGAWGAGL	SEQ ID NO: 36

[0075] 在一个实施方案中,序列31至33存在于抗体的轻链中。

[0076] 在一个实施方案中,序列34至36存在于抗体的重链中。

[0077] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:31为CDR L1,SEQ ID NO:32为CDR L2以及SEQ ID NO:33为CDR L3。

[0078] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:34为CDR H1,SEQ ID NO:35为CDR H2以及SEQ ID NO:36为CDR H3。

[0079] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:31为CDR L1,SEQ ID NO:32为CDR L2,SEQ ID NO:33为CDR L3,SEQ ID NO:34为CDR H1,SEQ ID NO:35为CDR H2以及SEQ ID NO:36为CDR H3。

[0080] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列的轻链可变区(抗体995抗-毒素A抗体;轻链可变区序列)SEQ ID NO:37:

[0081] DVVMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNYFSWYQQKPGKAPKLLIYGAANLASGVPSRFKSGSGT
EYTLTISSLQPDDFATYSCQNNYGVHIYGAAFGGTKVEIK

[0082] 其中将CDR加以下划线

[0083] 编码SEQ ID NO:37的多核苷酸序列示于图3中和SEQ ID NO:38。

[0084] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:39的重链可变区(抗体995抗-毒素A抗体重链可变区序列):

[0085] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLSNYDMIWVRQAPGKGLEYIGFINTGGITYYASWAKGRFTI
SRDSSTVYLQMNSLRAEDTATYFCARVDDYIGAWGAGLWGQGTLVTVS

[0086] 其中将CDR加以下划线

[0087] 编码SEQ ID NO:39的多核苷酸序列示于图3中和SEQ ID NO:40。

[0088] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:39中显示的可变区。

[0089] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素A抗体),所述CDR选自:

QASQSISSYLS	SEQ ID NO: 41
RASTLAS	SEQ ID NO: 42
LGVIYGYSNDDGIA	SEQ ID NO: 43
[0090] GIDLSSHMC	SEQ ID NO: 44
VIYHFGSTIYANWATG	SEQ ID NO: 45
ASIAGYSAFDP	SEQ ID NO: 46

[0091] 在一个实施方案中,序列41至43存在于抗体的轻链中。

[0092] 在一个实施方案中,序列44至46存在于抗体的重链中。

[0093] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:41为CDR L1,SEQ ID NO:42为CDR L2以及SEQ ID NO:43为CDR L3。

[0094] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:44为CDR H1,SEQ ID NO:45为CDR H2以及SEQ ID NO:46为CDR H3。

[0095] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:41为CDR L1,SEQ ID NO:42为CDR L2,SEQ ID NO:

43为CDR L3,SEQ ID NO:44为CDR H1,SEQ ID NO:45为CDR H2以及SEQ ID NO:46为CDR H3。

[0096] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:47的轻链可变区(抗体997抗-毒素A抗体;轻链可变区序列):

[0097] ALVMTQSPSSFSASTGDRVTITCQASQSISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT
EYTLTISCLQSEDFATYYCLGVYGYSDNDGIAFGGGTKVEIK

[0098] 其中将CDR加以下划线

[0099] 编码SEQ ID NO:的多核苷酸序列47示于图3中和SEQ ID NO:48。

[0100] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:49的重链可变区(抗体997抗-毒素A抗体重链可变区序列):

[0101] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTVSGIDLSSHMCWVRQAPGKGLYIGVIYHFGSTYYANWATGRFTI
SKDSTTVYLQMNSLRAEDTATYFCARASIAGYSAFDPWGQGTLLTVS

[0102] 其中将CDR加以下划线

[0103] 编码SEQ ID NO:49的多核苷酸序列示于图4中和SEQ ID NO:50。

[0104] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:47和SEQ ID NO:49中显示的可变区。

[0105] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素A抗体),所述CDR选自:

	<u>QASQSIYSYLA</u>	SEQ ID NO: 51
	<u>DASTLAS</u>	SEQ ID NO: 52
	<u>QGNAYTSNSHDNA</u>	SEQ ID NO: 53
[0106]	<u>GIDLSSEAVG</u>	SEQ ID NO: 54
	<u>LIATFDSTYYASWAKG</u>	SEQ ID NO: 55
	<u>TGSWYYISGWGSYYYGMDL</u>	SEQ ID NO: 56

[0107] 在一个实施方案中,序列51至53存在于抗体的轻链中。

[0108] 在一个实施方案中,序列54至56存在于抗体的重链中。

[0109] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:51为CDR L1,SEQ ID NO:52为CDR L2以及SEQ ID NO:53为CDR L3。

[0110] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:54为CDR H1,SEQ ID NO:55为CDR H2以及SEQ ID NO:56为CDR H3。

[0111] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:51为CDR L1,SEQ ID NO:52为CDR L2,SEQ ID NO:53为CDR L3,SEQ ID NO:54为CDR H1,SEQ ID NO:55为CDR H2以及SEQ ID NO:56为CDR H3。

[0112] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:57的轻链可变区(抗体1000抗-毒素A抗体;轻链可变区序列):

[0113] EIVMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIYSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLASGVPSRFRKSGSGT
EFTLTISLQPDFFATYYCQGNAYTSNSHDNAFGGGTKVEIK

[0114] 其中将CDR加以下划线。

[0115] 编码SEQ ID NO:57的多核苷酸序列示于图4中和SEQ ID NO:58。

[0116] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:59的重链可变

区(抗体1000抗-毒素A抗体重链可变区序列):

[0117] EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCTVSGIDLSSDAVGWVRQAPGKGLEYIGIIATFDSTYYASWAKGRFTI
SKASSTTVYLQMNSLRAEDTATYFCARTGSWYYISGWGSYYYGMDLWGQGTLVTVS

[0118] 其中将CDR加以下划线。

[0119] 编码SEQ ID NO:59的多核苷酸序列示于图4中和SEQ ID NO:60。

[0120] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:59中显示的可变区。

[0121] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素B抗体),所述CDR选自:

	RASKSVSTLMH	SEQ ID NO: 61
	LASNLES	SEQ ID NO: 62
	QQTWNDPWT	SEQ ID NO: 63
[0122]	GFTEFSNYGMA	SEQ ID NO: 64
	SISSSGGSTYYRDSVKG	SEQ ID NO: 65
	VIRGYVMDA	SEQ ID NO: 66

[0123] 在一个实施方案中,序列61至63存在于抗体的轻链中。

[0124] 在一个实施方案中,序列64至66存在于抗体的重链中。

[0125] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:61为CDR L1,SEQ ID NO:62为CDR L2以及SEQ ID NO:63为CDR L3。

[0126] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:64为CDR H1,SEQ ID NO:65为CDR H2以及SEQ ID NO:66为CDR H3。

[0127] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:61为CDR L1,SEQ ID NO:62为CDR L2,SEQ ID NO:63为CDR L3,SEQ ID NO:64为CDR H1,SEQ ID NO:65为CDR H2以及SEQ ID NO:66为CDR H3。

[0128] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:67的轻链可变区(抗体926抗-毒素B抗体;轻链可变区序列):

[0129] DTVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSVSTLMHWFQQKPGQAPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGT
DFTLTISSLEPEDFAVYYCQQTWNDPWTFGGGTKVEIK

[0130] 其中将CDR加以下划线。

[0131] 编码SEQ ID NO:67的多核苷酸序列示于图5中和SEQ ID NO:68。

[0132] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:69的重链可变区(抗体926抗-毒素B抗体重链可变区序列):

[0133] EVELLESGGGLVQPGGSLRLSCEASGFTFSNYGMAWVRQAPTKGLEWVTSISSSGGSTYYRDSVKGRFT
ISRDNAKSSLYLQMNSLRAEDTATYYCTTVIRGYVMDAWGQGTTLVTVS

[0134] 其中将CDR加以下划线

[0135] 编码SEQ ID NO:69的多核苷酸序列示于图5中和SEQ ID NO:70。

[0136] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素B抗体),所述CDR选自:

	RASGSVSTLMH	SEQ ID NO: 71
	KASNLAS	SEQ ID NO: 72
	HQSWNSDT	SEQ ID NO: 73
[0137]	GFTFSNYGMA	SEQ ID NO: 74
	TINYDGRTHYRDSVKG	SEQ ID NO: 75
	ISRSHYFDC	SEQ ID NO: 76

[0138] 在一个实施方案中,序列71至73存在于抗体的轻链中。

[0139] 在一个实施方案中,序列74至76存在于抗体的重链中。

[0140] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:71为CDR L1,SEQ ID NO:72为CDR L2以及SEQ ID NO:73为CDR L3。

[0141] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:74为CDR H1,SEQ ID NO:75为CDR H2以及SEQ ID NO:76为CDR H3。

[0142] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:71为CDR L1,SEQ ID NO:72为CDR L2,SEQ ID NO:73为CDR L3,SEQ ID NO:74为CDR H1,SEQ ID NO:75为CDR H2以及SEQ ID NO:76为CDR H3。

[0143] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:77的轻链可变区(抗体927抗-毒素B抗体;轻链可变区序列):

[0144] DTQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASGSVSTLMHWYQQKPGKAPKLLIYKASNLASGVPSRFSGSGSGT EFTLTISLQPDFFATYYCHQSWNSDTFGQGTRLEIK

[0145] 其中将CDR加以下划线

[0146] 编码SEQ ID NO:77的多核苷酸序列示于图5中和SEQ ID NO:78。

[0147] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:79的重链可变区(抗体927抗-毒素B抗体重链可变区序列):

[0148] EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMAWVRQAPGKGLEWVATINYDGRTHYRDSVKGGRFT ISRDNSKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTSISRSHYFDCWGQGLTVTVS

[0149] 其中将CDR加以下划线

[0150] 编码SEQ ID NO:79的多核苷酸序列示于图5中和SEQ ID NO:80。

[0151] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:79中显示的可变区。

[0152] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素B抗体),所述CDR选自:

	KASKSISNHLA	SEQ ID NO: 81
	SGSTLQS	SEQ ID NO: 82
	QQYDEYFYT	SEQ ID NO: 83
[0153]	GFSLQSYTIS	SEQ ID NO: 84
	AISGGGSTYYNLPLKS	SEQ ID NO: 85
	PRWYPRSYFDY	SEQ ID NO: 86

- [0154] 在一个实施方案中,序列81至83存在于抗体的轻链中。
- [0155] 在一个实施方案中,序列84至86存在于抗体的重链中。
- [0156] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:81为CDR L1,SEQ ID NO:82为CDR L2以及SEQ ID NO:83为CDR L3。
- [0157] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:84为CDR H1,SEQ ID NO:85为CDR H2以及SEQ ID NO:86为CDR H3。
- [0158] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:81为CDR L1,SEQ ID NO:82为CDR L2,SEQ ID NO:83为CDR L3,SEQ ID NO:84为CDR H1,SEQ ID NO:85为CDR H2以及SEQ ID NO:86为CDR H3。
- [0159] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列的轻链可变区(抗体1099抗-毒素B抗体;轻链可变区序列)SEQ ID NO:87:
- [0160] DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCKASKSISNHLAWYQEKPGKANKLLIHSGSTLQSGTPSRFSGSGSGT
EFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEYPYTFGQGTRLEIKRT
- [0161] 其中将CDR加以下划线
- [0162] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:87的最后两个氨基酸(RT)被省略。
- [0163] 编码SEQ ID NO:87的多核苷酸序列示于图6中和SEQ ID NO:88。在一个实施方案中,编码最后两个氨基酸(RT)的密码子被省略。
- [0164] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列的重链可变区(抗体1099抗-毒素B抗体重链可变区序列)SEQ ID NO:89:
- [0165] EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLQSYTISWVRQPPGKGLEWIAAISGGGSTYYNLPPKSRVTI
SRDTSKSQVSLKLSSVTAADTAVYYCTRPRWYPRSYFDYWGRGTLVTVS
- [0166] 其中将CDR加以下划线
- [0167] 编码SEQ ID NO:89的多核苷酸序列示于图6中和SEQ ID NO:90。
- [0168] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:87和SEQ ID NO:89中所示的可变区。
- [0169] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素B抗体),所述CDR选自:

	RASQRISTSIH	SEQ ID NO: 91
	YASQGIS	SEQ ID NO: 92
	QQSYSSLYT	SEQ ID NO: 93
[0170]	GFTFSDSYMA	SEQ ID NO: 94
	SISYGGTIIQYGDSVKG	SEQ ID NO: 95
	RQGTYARYLDF	SEQ ID NO: 96

- [0171] 在一个实施方案中,序列91至93存在于抗体的轻链中。
- [0172] 在一个实施方案中,序列94至96存在于抗体的重链中。
- [0173] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:91为CDR L1,SEQ ID NO:92为CDR L2以及SEQ ID NO:93为CDR L3。
- [0174] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:94为CDR H1,SEQ ID NO:95为CDR H2以及SEQ ID

NO:96为CDR H3。

[0175] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:91为CDR L1,SEQ ID NO:92为CDR L2,SEQ ID NO:93为CDR L3,SEQ ID NO:94为CDR H1,SEQ ID NO:95为CDR H2以及SEQ ID NO:96为CDR H3。

[0176] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:97的轻链可变区(抗体1102抗-毒素B抗体;轻链可变区序列):

[0177] NIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQRISTSIHWYQQKPGQAPRLLIKYASQSISGIPARFSGSGSGT
DFTLTISSELPEDFAVYYCQQSYSSLYTFGQGTKLEIK

[0178] 其中将CDR加以下划线

[0179] 编码SEQ ID NO:97的多核苷酸序列示于图6中和SEQ ID NO:98。

[0180] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:99的重链可变区(抗体1102抗-毒素B抗体重链可变区序列):

[0181] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSDSYMAWVRQAPGKGLEWIASISYGGTIIQYGDSVKGRFT
ISRDNKSSLYLQMSLRAEDTAVYYCARRQGTYARYLDFWGQGTTLVTVS

[0182] 其中将CDR加以下划线

[0183] 编码SEQ ID NO:99的多核苷酸序列示于图7中和SEQ ID NO:100。

[0184] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:97和SEQ ID NO:99中所示的可变区。

[0185] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素B抗体),所述CDR选自:

	RASESVSTLLH	SEQ ID NO: 101
	KASNLAS	SEQ ID NO: 102
	HQSWNSPPT	SEQ ID NO: 103
[0186]	GFTFSNYGMA	SEQ ID NO: 104
	IINYDASTTHYRDSVKG	SEQ ID NO: 105
	YGRSHYFDY	SEQ ID NO: 106

[0187] 在一个实施方案中,序列101至103存在于抗体的轻链中。

[0188] 在一个实施方案中,序列104至106存在于抗体的重链中。

[0189] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:101为CDR L1,SEQ ID NO:102为CDR L2以及SEQ ID NO:103为CDR L3。

[0190] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:104为CDR H1,SEQ ID NO:105为CDR H2以及SEQ ID NO:106为CDR H3。

[0191] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:101为CDR L1,SEQ ID NO:102为CDR L2,SEQ ID NO:103为CDR L3,SEQ ID NO:104为CDR H1,SEQ ID NO:105为CDR H2以及SEQ ID NO:106为CDR H3。

[0192] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:107的轻链可变区(抗体1114抗-毒素B抗体;轻链可变区序列):

[0193] ATQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVSTLLHWYQQKPGKAPKLLIYKASNLASGVPSRFSFGSGSGT

DFTLTISLQPEDFATYYCHQSWNSPPTFGQGTKLEIK

[0194] 其中将CDR加以下划线

[0195] 编码SEQ ID NO:107的多核苷酸序列示于图7中和SEQ ID NO:108。

[0196] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:109的重链可变区(抗体1114抗-毒素B抗体重链可变区序列):

[0197] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMAWVRQAPGKGLEWVAI IINYDASTTHYRDSVKGRFT
ISRDNAKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRYGRSHYFDYWGQGLVTVS

[0198] 其中将CDR加以下划线

[0199] 编码SEQ ID NO:109的多核苷酸序列示于图7中和SEQ ID NO:110。

[0200] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:109中显示的可变区。

[0201] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素B抗体),所述CDR选自:

	RASESVSTLLH	SEQ ID NO: 111
	KASNLAS	SEQ ID NO: 112
	HQSWNSPPT	SEQ ID NO: 113
[0202]	GFTFSNYGMA	SEQ ID NO: 114
	IINYDASTTHYRDSVK	SEQ ID NO: 115
	YGRSHYFDY	SEQ ID NO: 116

[0203] 在一个实施方案中,序列111至113存在于抗体的轻链中。

[0204] 在一个实施方案中,序列114至116存在于抗体的重链中。

[0205] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:111为CDR L1,SEQ ID NO:112为CDR L2以及SEQ ID NO:113为CDR L3。

[0206] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:114为CDR H1,SEQ ID NO:115为CDR H2以及SEQ ID NO:116为CDR H3。

[0207] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:111为CDR L1,SEQ ID NO:112为CDR L2,SEQ ID NO:113为CDR L3,SEQ ID NO:114为CDR H1,SEQ ID NO:115为CDR H2以及SEQ ID NO:116为CDRH3。

[0208] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:117的轻链可变区(抗体1114graft8抗-毒素B抗体;轻链可变区序列):

[0209] DTVLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVSTLLHWYQQKPGKAPKLLIYKASNLASGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCHQSWNSPPTFGQGTKLEIK

[0210] 其中将CDR加以下划线。

[0211] 编码SEQ ID NO:117的多核苷酸序列示于图8中和SEQ ID NO:118。

[0212] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:119的重链可变区(抗体1114graft8抗-毒素B抗体重链可变区序列):

[0213] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMAWVRQAPGKGLEWVAI IINYDASTTHYRDSVKGRFT

ISRDNAKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRYGRSHYFDYWGQGLVTVS

[0214] 其中将CDR加以下划线

[0215] 编码SEQ ID NO:119的多核苷酸序列示于图8中和SEQ ID NO:120。

[0216] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:117和SEQ ID NO:119中显示的可变区。

[0217] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素B抗体),所述CDR选自:

KASQNIYMYLN	SEQ ID NO: 121
NTNKLHT	SEQ ID NO: 122
LQHKSFPHYT	SEQ ID NO: 123
[0218] GFTFRDSFMA	SEQ ID NO: 124
SISYEGDKTYYGDSVKG	SEQ ID NO: 125
LTITTS GDS	SEQ ID NO: 126

[0219] 在一个实施方案中,序列121至123存在于抗体的轻链中。

[0220] 在一个实施方案中,序列124至126存在于抗体的重链中。

[0221] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:121为CDR L1,SEQ ID NO:122为CDR L2以及SEQ ID NO:123为CDR L3。

[0222] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:124为CDR H1,SEQ ID NO:125为CDR H2以及SEQ ID NO:126为CDR H3。

[0223] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:121为CDR L1,SEQ ID NO:122为CDR L2,SEQ ID NO:123为CDR L3,SEQ ID NO:124为CDR H1,SEQ ID NO:125为CDR H2以及SEQ ID NO:126为CDRH3。

[0224] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:127的轻链可变区(抗体1125抗-毒素B抗体;轻链可变区序列):

[0225] DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASQNIYMYLNWYQQKPKGKAPKRLIYNTNKLHTGVPSRFSGSGSGT
EYTLTISSLQPEDFATYYCLQHKSFPHYTFGQGTKLEIK

[0226] 其中将CDR加以下划线

[0227] 编码SEQ ID NO:127的多核苷酸序列示于图8中和SEQ ID NO:128。

[0228] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:129的重链可变区(抗体1125抗-毒素B抗体重链可变区序列):

[0229] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDSFMAWVRQAPGKGLEWVASISYEGDKTYYGDSVKGGRFT
ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLTITTS GDSWGQGMVTVSS

[0230] 其中将CDR加以下划线

[0231] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:129的最后一个氨基酸(S)被省略。

[0232] 编码SEQ ID NO:129的多核苷酸序列示于图9中和SEQ ID NO:130。在一个实施方案中,编码最后1个氨基酸S的密码子AGC被省略。

[0233] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:127和SEQ ID NO:129中显

示的可变区。

[0234] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素B抗体),所述CDR选自:

KASQHVGTNVD SEQ ID NO: 131

GASIRYT SEQ ID NO: 132

LQYNYPYT SEQ ID NO: 133

[0235] GFIFSNFGMS SEQ ID NO: 134

SISPSGGNAYYRDSVKG SEQ ID NO: 135

RAYSSPFAF SEQ ID NO: 136

[0236] 在一个实施方案中,序列131至133存在于抗体的轻链中。

[0237] 在一个实施方案中,序列134至136存在于抗体的重链中。

[0238] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:131为CDR L1,SEQ ID NO:132为CDR L2以及SEQ ID NO:133为CDR L3。

[0239] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:134为CDR H1,SEQ ID NO:135为CDR H2以及SEQ ID NO:136为CDR H3。

[0240] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:131为CDR L1,SEQ ID NO:132为CDR L2,SEQ ID NO:133为CDR L3,SEQ ID NO:134为CDR H1,SEQ ID NO:135为CDR H2以及SEQ ID NO:136为CDR H3。

[0241] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:137的轻链可变区(抗体1129抗-毒素B抗体;轻链可变区序列):

[0242] DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQHVGTNVDWYQQKPGKVPKLLIYGASIRYTGVPDRFTGSGSGT
DFTLTISLQPEDVATYYCLQYNYPYTFGQGTKLEIK

[0243] 其中将CDR加以下划线

[0244] 编码SEQ ID NO:137的多核苷酸序列示于图8中和SEQ ID NO:138。

[0245] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:139的重链可变区(抗体1129抗-毒素B抗体重链可变区序列):

[0246] EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCATSGFIFSNFGMSWVRQAPGKGLEWVASISPSGGNAYYRDSVKGRFT
ISRDNKTTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRAYSSPFAFWGQGLTVTVSS

[0247] 其中将CDR加以下划线

[0248] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:139的最后一个氨基酸(S)被省略。

[0249] 编码SEQ ID NO:139的多核苷酸序列示于图8中和SEQ ID NO:140。在一个实施方案中,编码最后一个氨基酸S的密码子AGC被省略。

[0250] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:137和SEQ ID NO:139中显示的可变区。

[0251] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素B抗体),所述CDR选自:

	KASKSISNHLA	SEQ ID NO: 141
	SGSTLQP	SEQ ID NO: 142
	QQYDEYPYT	SEQ ID NO: 143
[0252]	GFSLNSYTIT	SEQ ID NO: 144
	AISGGGSTYFNSALKS	SEQ ID NO: 145
	PRWYPRSYFDY	SEQ ID NO: 146

[0253] 在一个实施方案中,序列141至143存在于抗体的轻链中。

[0254] 在一个实施方案中,序列144至146存在于抗体的重链中。

[0255] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:141为CDR L1,SEQ ID NO:142为CDR L2以及SEQ ID NO:143为CDR L3。

[0256] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:144为CDR H1,SEQ ID NO:145为CDR H2以及SEQ ID NO:146为CDR H3。

[0257] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:141为CDR L1,SEQ ID NO:142为CDR L2,SEQ ID NO:143为CDR L3,SEQ ID NO:144为CDR H1,SEQ ID NO:145为CDR H2以及SEQ ID NO:146为CDRH3。

[0258] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:147的轻链可变区(抗体1134抗-毒素B抗体;轻链可变区序列):

[0259] DVQLTQSPSFLSASVGDRTTITCKASKSISNHLAWYQEKP GKANKLLIHSGSTLQPGTPSRFSGSGSGT EFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEYPYTFGQGRLEIK

[0260] SEQ ID NO:147

[0261] 其中将CDR加以下划线。

[0262] 编码SEQ ID NO:147的多核苷酸序列示于图9中和SEQ ID NO:148。

[0263] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:149的重链可变区(抗体1134抗-毒素B抗体重链可变区序列):

[0264] EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLNSYTITWVRQPPGKGLEWIAAISGGGSTYFNSALKSRVTI SRDTSKSVSLKLSSVTAADTAVYYCTRPWYPRSYFDYWGRGTLVTVS

[0265] 其中将CDR加以下划线

[0266] 编码SEQ ID NO:149的多核苷酸序列示于图9中和SEQ ID NO:150。

[0267] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:147和SEQ ID NO:149中所示的可变区。

[0268] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素B抗体),所述CDR选自:

	KASQNVGNVA	SEQ ID NO: 151
	YASNRFT	SEQ ID NO: 152
	QRVYQSTWT	SEQ ID NO: 153
[0269]	GFSLTSYVH	SEQ ID NO: 154
	CIRTGGNTEYQSEFKS	SEQ ID NO: 155
	GNYGFAF	SEQ ID NO: 156

[0270] 在一个实施方案中,序列151至153存在于抗体的轻链中。

[0271] 在一个实施方案中,序列154至156存在于抗体的重链中。

[0272] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:151为CDR L1,SEQ ID NO:152为CDR L2以及SEQ ID NO:153为CDR L3。

[0273] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:154为CDR H1,SEQ ID NO:155为CDR H2以及SEQ ID NO:156为CDR H3。

[0274] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:151为CDR L1,SEQ ID NO:152为CDR L2,SEQ ID NO:153为CDR L3,SEQ ID NO:154为CDR H1,SEQ ID NO:155为CDR H2以及SEQ ID NO:156为CDR H3。

[0275] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:157的轻链可变区(抗体1151抗-毒素B抗体;轻链可变区序列):

[0276] AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGNVAWYQHKGKAPKLLIYYASNRFTGVPSRFTGGGYGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQRVYQSTWTFGGTKVEIK

[0277] 其中将CDR加以下划线

[0278] 编码SEQ ID NO:157的多核苷酸序列示于图9中和SEQ ID NO:158。

[0279] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:159的重链可变区(抗体1151抗-毒素B抗体重链可变区序列):

[0280] EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLTSYVHWVRQPPGKGLEWMGCIRTGGNTEYQSEFKSRVTI
SRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARGNYGFAYWGQGTLVTVS

[0281] 其中将CDR加以下划线

[0282] 编码SEQ ID NO:159的多核苷酸序列示于图9中和SEQ ID NO:160。

[0283] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含SEQ ID NO:157和SEQ ID NO:159中显示的可变区。

[0284] 在一个实施方案中,提供了包含CDR例如1,2,3,4,5或6个CDR的抗体(例如抗-毒素B抗体),所述CDR选自:

	KASQNINKYLD	SEQ ID NO: 161
	NIQSLHT	SEQ ID NO: 162
	FQHNSGW	SEQ ID NO: 163
[0285]	GFTFTQAAMF	SEQ ID NO: 164
	RISTKSNNFATYYPSVKG	SEQ ID NO: 165
	PAYYYDGTVPFAY	SEQ ID NO: 166

[0286] 在一个实施方案中,序列161至163存在于抗体的轻链中。

[0287] 在一个实施方案中,序列164至166存在于抗体的重链中。

[0288] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:161为CDR L1,SEQ ID NO:162为CDR L2以及SEQ ID NO:163为CDR L3。

[0289] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:164为CDR H1,SEQ ID NO:165为CDR H2以及SEQ ID NO:166为CDR H3。

[0290] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:161为CDR L1,SEQ ID NO:162为CDR L2,SEQ ID NO:163为CDR L3,SEQ ID NO:164为CDR H1,SEQ ID NO:165为CDR H2以及SEQ ID NO:166为CDR H3。

[0291] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:167的轻链可变区(抗体1153抗-毒素B抗体;轻链可变区序列):

[0292] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNINKYLDWYQQKPGKVPKLLIYNIQSLHTGIPSRFSGSGSGT
DFTLTISSLQPEDVATYYCFQHNSGWTFGQGTRLEIK

[0293] 其中将CDR加以下划线

[0294] 编码SEQ ID NO:167的多核苷酸序列示于图10中和SEQ ID NO:168。

[0295] 在一个实施方案中,提供了可变区,例如具有下列序列SEQ ID NO:169的重链可变区(抗体1153抗-毒素B抗体重链可变区序列):

[0296] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFTQAAMFWVRQASGKGLEGIARISTKSNNFATYYPSVKGR
FTISRDDSKNTVYLQMNLSKTEDAVYYCTAPAYYYDGTVPFAYWGQGLTVTS

[0297] 其中将CDR加以下划线

[0298] 编码SEQ ID NO:169的多核苷酸序列示于图10中和SEQ ID NO:170。

[0299] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体包含中SEQ ID NO:167和SEQ ID NO:169显示的可变区。

[0300] 在一个实施方案中,提供了包含6个CDR的抗体,所述CDR独立地选自SEQ ID NO1、2、3、4、5、6、11、12、13、14、15、16、21、22、23、24、25、26、31、32、33、34、35、36、41、42、43、44、45、46、51、52、53、54、55、56、61、62、63、64、65、66、71、72、73、74、75、76、81、82、83、84、85、86、91、92、93、94、95、96、101、102、103、104、105、106、111、112、113、114、115、116、121、122、123、124、125、126、131、132、133、134、135、136、141、142、143、144、145、146、151、152、153、154、155、156、161、162、163、164、165和166。

[0301] 在一个实施方案中,提供了包含6个CDR的抗-TcdA抗体,所述CDR独立地选自SEQ ID NO1、2、3、4、5、6、11、12、13、14、15、16、21、22、23、24、25、26、31、32、33、34、35、36、41、42、43、44、45、46、51、52、53、54、55和56。

[0302] 在一个实施方案中,提供了包含6个CDR的抗-TcdB抗体,所述CDR独立地选自SEQ ID N0:61、62、63、64、65、66、71、72、73、74、75、76、81、82、83、84、85、86、91、92、93、94、95、96、101、102、103、104、105、106、111、112、113、114、115、116、121、122、123、124、125、126、131、132、133、134、135、136、141、142、143、144、145、146、151、152、153、154、155、156、161、162、163、164、165和166。

[0303] 在一个实施方案中,提供了包含两个可变区的抗体,所述可变区独立地选自SEQ ID N0:7、9、17、19、27、29、37、39、47、49、57、59、67、69、77、79、87、89、97、99、107、109、117、119、127、129、137、139、147、149、157和159。

[0304] 在一个实施方案中,提供了包含两个可变区的抗体,所述可变区独立地选自SEQ ID N0:7、9、17、19、27、29、37、39、47、49、57和59。

[0305] 在一个实施方案中,提供了包含两个可变区的抗体,所述可变区独立地选自SEQ ID N0:67、69、77、79、87、89、97、99、107、109、117、119、127、129、137、139、147、149、157和159。

[0306] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体是人源化的。

[0307] 在一个实施方案中,抗体是针对TcdA和/或TcdB毒素的C末端“细胞结合”部分的。

[0308] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体适合用于中和毒素A或毒素B。

[0309] 如本文中所用,中和意指消除或减小目标毒素的有害/有毒作用,例如至少50%的相关有害作用的减小。

[0310] 本发明人通过使用本申请中发现的抗体之间的内部比较和通过与本领域中良好描述的抗体(Babcock等人2006;Lowy等人,2010)比较,已确定一些抗体即使在高毒素浓度下也具有期望的维持有效中和的特征(例如低EC₅₀和高百分比保护作用)。包括本领域中描述的那些抗体的其它抗体在高毒素浓度下不维持有效毒素中和。

[0311] 有效毒素浓度在滴定研究中可被定义为在中和抗体不存在的情况下的‘致死剂量’(LD)。中和测定通常在50%的完全细胞杀死的LD(即LD₅₀)下进行,但也可在LD₈₀下更严苛地进行。

[0312] 测定还可在更具挑战性的条件例如LD₉₀、LD₉₅和/或LD_{max}(LD_{max}是可包括在测定中的受测定体积和最大毒素浓度/溶解度限制的最大毒素量)下进行。这样的测定目的在于模拟当肠中生长的艰难梭菌蔓延时并且腹泻和其它症状导致人们假设毒素浓度处于它们的最高值时人的感染的早期阶段。在高毒素浓度条件下有效地中和有害毒素活性的抗体被本发明人认为具有针对人感染的症状的控制的特殊临床值。在一个实施方案中,本公开内容的抗体具有有用的例如低EC₅₀值和/或对于LD₈₀、LD₉₀、LD₉₅和/或LD_{max}中的一个或多个使细胞免于死亡的高百分比保护作用。在一个实施方案中,后一种情况的一个或多个中的EC₅₀为15ng/ml或更少,例如10ng/ml或更少,例如5ng/ml或更少,特别地1ng/ml或更少。在一个实施方案中,使细胞免于死亡的百分比保护作用大于90%,或大于75%或大于50%。

[0313] 因此,在一个实施方案中,本公开内容提供了即使在高水平毒素存在的情况下仍然维持毒素中和作用(例如如本文中提供的测定中测量的)的抗体或抗体组合。

[0314] 可以例如在适当的体外测定中测量毒素的有害作用。在一个实施方案中,在下面实施例1中给出的测定中测量中和作用。还提供了在中和测定中鉴定的抗体,例如其中抗体的效力在高水平毒素存在的情况下得到维持。

[0315] 毒素A可与TcdA互换使用。

[0316] 毒素B可与TcdB互换使用。

[0317] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体为单克隆抗体或其结合片段。

[0318] 在一个实施方案中,根据本发明的单克隆抗体能够以极高的效力和亲和力中和TcdA。

[0319] 在一个实施方案中,根据本发明的单克隆抗体能够以极高的效力和亲和力以及高亲合性(avidity)中和TcdA。

[0320] 如本文中所用,亲合性是指多个结合亲和力的组合强度。

[0321] 在一个实施方案中,根据本发明的单克隆抗体能够以极高的效力和亲和力以及高亲合性和高结合效价中和TcdA。

[0322] 如本文中所用,结合效价是指单克隆抗体多次结合抗原的能力。高结合效价因而导致高水平的抗体对抗原的修饰和/或高水平的毒素分子的交联,这被认为是有利的。

[0323] 根据本公开内容的抗-TcdA Mab可适合于中和TcdA的早期作用,例如细胞上的例如紧密连接的丢失。

[0324] 如本文中所用,紧密连接意指指单层或解剖组织结构内的细胞之间的不能渗透的连接区域。当紧密连接保持它们的结构和功能完整性时,液体丢失不发生。紧密连接的丢失是细胞已被毒素损害的指征,并且被良好地记录为TcdA和TcdB的毒性作用的早期步骤(25),并且导致包含血清、免疫球蛋白和离子的流体的丢失(26,3)。紧密连接的丢失被认为是人的腹泻发作的第一步骤。

[0325] TEER测定系统可用于体外测量紧密连接的丢失。TEER为跨上皮电阻测定的首字母缩略词并且其通常用于测量代表肠内皮衬里的分化细胞层的通透性。然而,在抗体筛选的背景中,TEER丢失可用于鉴定减缓或防止对紧密连接的损害的抗体,从而为抗导致腹泻的组织损害的保护作用的替代者。

[0326] 通常地使用Caco-2细胞,因为它们来源于人结肠细胞并且已知形成分化的单层,细胞通过紧密连接进行连接。试剂盒可从Becton-Dickinson命名的Caco-2BioCoat HTS平板系统(BDBiosciences/354802)商购获得。试剂盒中的说明书适合用于本说明书中的测试。当膜已受损后,膜的电阻改变。

[0327] 通常地,在添加至TEER系统以确定抗体是否可防止或减缓对由毒素引起的对膜的损害之前,用毒素预温育抗体。可在一段适当的时间例如24小时内通过在某些时间点上进行测量来进行测定。本发明人已确定4小时的时间点特别适合鉴别治疗上有用的抗体。

[0328] TEER测定中使用的毒素的浓度通常在100-200ng/ml的范围内,最优选为125ng/ml。

[0329] TEER测定中使用的抗体(例如IgG1)的浓度通常在4至2000ng/ml,例如50至1000ng/ml,例如100至500ng/ml的范围内。

[0330] 在一个实施方案中,在所述条件中使用的TEER测定中的抗体的EC₅₀为至少200ng/ml,例如少于100ng/ml,例如约60-80ng/ml。

[0331] 在一个实施方案中,提供了在艰难梭菌感染的治疗或预防中适合用作治疗剂的抗-TcdA抗体或抗-TcdB抗体,其中使用TEER测定筛选和选择所述抗体。

[0332] 在一个方面,提供了就减缓或防止紧密连接丢失的能力在TEER测定中筛选抗体的

方法。在一个实施方案中,筛选的抗体是抗-TcdA抗体。在一个实施方案中,筛选的抗体是抗-TcdB抗体。在一个实施方案中,筛选的抗体是抗-TcdA与抗-TcdB抗体的组合。在一个实施方案中,方法包括鉴定适当的抗体和表达适当量的所述抗体的步骤。在一个实施方案中,方法还包括在药物制剂中配制所述抗体的步骤。在一个实施方案中,方法还包括将所述抗体或所述制剂给有此需要的患者施用的步骤。

[0333] 在一个实施方案中,本公开内容的多个抗体可以能够结合目标毒素(TcdA或TcdB),所述抗体可帮助毒素的免疫清除。

[0334] 如本文中所用,多个抗体意指指多个拷贝的具有相同序列的抗体或具有相同氨基酸序列的抗体,或特异于相同靶抗原但具有不同氨基酸序列的抗体。

[0335] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体特异于靶抗原,例如特异于靶抗原中的表位。

[0336] 在一个实施方案中,本发明的抗体能够在两个或更多个位置,例如两个或3个位置,例如4、5、6、7、8、9、10或更多个位置上结合靶抗原,例如毒素可包含重复结构域,从而抗体对于表位可以是特异性的并且事实上表位可数次存在于抗原中,即存在于超过一个位置中。因此,给定的抗体可在抗原的不同位置结合相同表位数次。

[0337] 在一个实施方案中,抗体结合给定的抗原数次,例如2至20次例如3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16次。在一个实施方案中,抗体结合给定的抗原至少3次。该多次结合被认为在毒素的中和和/或清除中是非常重要的。不希望受理论束缚,认为多次结合例如3次或更多次结合,即被3个或更多个Fc片段修饰,在触发主要通过肝和脾(27,28)进行的毒素快速清除(24)中是非常重要的。

[0338] 在一个实施方案中,抗-TcdA抗体结合3次或更多次,例如3至16次。

[0339] 在一个实施方案中,抗-TcdA抗体结合12次。

[0340] 在一个实施方案中,抗-TcdA抗体结合2次。

[0341] 在一个实施方案中,抗-TcdA抗体在TcdA的催化末端细胞结合结构域中结合。

[0342] 在一个实施方案中,抗-Tcd B抗体结合2次或更多次,例如2次。

[0343] 在一个实施方案中,抗-TcdB抗体在TcdB的催化末端细胞结合结构域中结合。

[0344] 在一个实施方案中,根据本公开内容的抗体能够交联毒素分子,例如抗体分子的一个臂结合一个毒素分子,抗体的另一个臂结合不同毒素分子中的表位,从而形成一种免疫复合物。后者的形成还可促进免疫系统的活化,以清除相关毒素,从而使所述毒素的有害体内作用减小至最小。

[0345] 在一个实施方案中,先天性免疫反应,例如补体被活化。

[0346] 在一个实施方案中,本公开内容的抗体具有高的抗来源于不同核糖型例如003、027、078的菌株的毒素的效力。

[0347] 在一个实施方案中,抗TcdA抗体,例如针对自核糖型003、027和078的菌株的毒素,可具有在0.1-100ng/ml,例如1至10ng/ml范围内的EC₅₀以及在LD₈₀₋₉₅的毒素浓度具有在50-100%的范围内的最大抑制。

[0348] 在一个实施方案中,抗TcdA抗体,例如针对自核糖型003、027和078的菌株的毒素,可具有在0.1-100ng/ml,例如1至10ng/ml范围内的EC₅₀以及在LD₈₀₋₉₅的毒素浓度具有在60-100%、70-100%、80-100%或90-100%的范围内的最大抑制。

[0349] 在一个实施方案中,抗TcdB抗体,例如针对自核糖型003的菌株的毒素,可具有在0.1-100ng/ml,例如1至10ng/ml范围内的EC₅₀以及在LD₈₀₋₉₅的毒素浓度具有在50-100%的范围内的最大抑制。

[0350] 在一个实施方案中,抗TcdB抗体,例如针对自核糖型003的菌株的毒素,可具有在0.1-100ng/ml,例如1至10ng/ml范围内的EC₅₀以及在LD₈₀₋₉₅的毒素浓度具有在60-100%、70-100%、80-100%或90-100%的范围内的最大抑制。

[0351] 在一个实施方案中,提供了根据本发明的抗体的组合,例如特异于TcdA的抗体的组合,特异于TcdB的抗体的组合或特异于TcdA的抗体与特异于TcdB的抗体的组合。

[0352] 特异于TcdA的抗体的组合通常是指针对靶抗原TcdA上的不同表位的抗体的组合,或至少具有两个不同结合性质的抗体的组合。

[0353] 特异于TcdB的抗体的组合通常是指针对靶抗原TcdB上的不同表位的抗体的组合,或至少具有两个不同结合性质的抗体的组合。

[0354] 组合可包括2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14或15种不同抗体,例如2,3,4或5种抗体。

[0355] 在一个实施方案中,提供了一种抗-TcdA抗体与两种抗-TcdB抗体的组合,例如其中抗-TcdA抗体为997并且其中抗-TcdB抗体为1125和1151。

[0356] 具体地,提供了一种抗-TcdA抗体(其包含具有SEQ ID NO:49中显示的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:47中显示的序列的轻链可变区)与两种抗-TcdB抗体(第一种抗-TcdB抗体具有SEQ ID NO:129中显示的重链可变区和SEQ ID NO:127中显示的轻链可变区,第二种抗-TcdB抗体具有SEQ ID NO:159中显示的重链可变区和SEQ ID NO:157中显示的轻链可变区)的组合。

[0357] 如本文中所用,不同的抗体意欲指具有不同的氨基酸序列的抗体,其可结合靶抗原上的相同表位或不同表位。

[0358] 本发明还提供的是被本发明提供的抗体(特别是包含SEQ ID NO:49中显示的重链序列和SEQ ID NO:47中显示的轻链序列的抗体)结合的TcdA的特定区域或表位。

[0359] 本发明还提供的是被本发明提供的抗体(特别地包含SEQ ID NO:129中显示的重链序列和SEQ ID NO:127中显示的轻链序列的抗体,或包含SEQ ID NO:159中显示的重链序列和SEQ ID NO:157中显示的轻链序列的抗体)结合的TcdB的特定区域或表位。

[0360] TcdA或TcdB毒素的该特定区域或表位可通过本领域内已知的任何适当的表位作图法与本发明提供的抗体的任一种相组合来鉴定。这样的方法的实例包括就与本发明的抗体的结合筛选来源于毒素的具有不同长度的肽,可特异性结合抗体的最小片段包含被抗体识别的表位的序列。可合成产生或通过毒素多肽的蛋白水解消化产生肽。结合抗体的肽可以通过例如质谱分析来鉴定。在另一个实例中,NMR光谱学或X射线晶体学可用于鉴定被本发明的抗体结合的表位。鉴定后,必要时,可将结合本发明的抗体的表位片段用作获得结合相同表位的其它拮抗性抗体的免疫原。

[0361] 交叉阻断根据本发明的抗体的结合的抗体可类似地用于中和毒素活性。因此,本发明还提供了具有对于TcdA或TcdB的特异性的中和抗体,所述中和抗体交叉阻断上述抗体的任一种对TcdA或TcdB的结合和/或被那些抗体的任一种交叉阻断对这些毒素的结合。在一个实施方案中,这样的抗体结合与本文中上述抗体相同的表位。在另一个实施方案中,交

叉阻断中和抗体结合与被本文中上述抗体结合的表位相邻和/或重叠的表位。在另一个实施方案中,本发明的该方面的交叉阻断中和抗体不结合与本发明的抗体结合的表位相同的表位或与所述表位相邻和/或重叠的表位。

[0362] 交叉阻断抗体可使用本领域中的任何适当方法来鉴定,例如通过使用竞争性的ELISA或BIAcore测定来进行,其中交叉阻断抗体对TcdA或TcdB的结合阻止本发明的抗体的结合或反之亦然。

[0363] 在一个实施方案中,提供了产生抗-TcdA或抗-TcdB抗体,特别是交叉阻断本文中描述的抗体的结合的中和抗体的方法,所述方法包括步骤:用适当的抗原例如SEQ ID N0173至194的任一个所示的抗原或其组合免疫宿主。所述方法还包括一个或多个下列步骤,例如鉴定目标抗体(特别是使用功能测定例如TEER测定),表达目标抗体,和任选地将抗体配制为药学上可接受的组合物。

[0364] 因此在一个方面,本公开内容提供了利用SEQ ID N0173至194中所示的氨基酸序列或其组合免疫宿主的方法。

[0365] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体具有10nM或更少,例如1nM或更少例如900pM,特别是800pM、700pM、600pM或500pM,例如60pM的对靶抗原的亲合力。

[0366] 在一个实施方案中,亲合力是针对TcdA或TcdB或其片段的。在一个实例中,片段为对应于TcdA的S1827-D2249残基的TcdA123。在一个实例中,片段为对应于残基G2205-R2608的TcdA456。在一个实施方案中,片段为对应于TcdB的残基S1833-E2366的TcdB1234。

[0367] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体或其组合具有200ng/ml或更少,例如150ng/ml或更少例如100ng/ml或更少,例如在0.1至10ng/ml的范围内的EC₅₀。

[0368] 混合物的单个组分抗体不必具有在所述范围内的EC₅₀,只要当它们与一种或多种抗体组合使用时组合具有在所述范围内的EC₅₀即可。

[0369] 有利地,本发明的抗体是稳定的,例如在高于50℃例如60或70℃的温度是热稳定的。

[0370] 根据本发明的抗体和组合还具有下列有利性质的一个或多个性质:慢的解离速率(off rate)、高亲合力、高效力、多次结合靶抗原的能力、利用减少可测量的TEER活性的损失的机制中和毒素、刺激或帮助宿主天然免疫反应、催化或帮助病原体(或毒素)的免疫清除和/或训练免疫系统对病原体(或毒素)作出适当反应的能力。

[0371] 按照由Kabat等人设计的系统常规地给抗体可变结构域中的残基进行编号。该系统示于Kabat等人,1987,in Sequences of Proteins of Immunological Interest,US Department of Health and Human Services,NIH,USA(在下文中“Kabat等人(同上)”)中。除其中另有所指的地方外,该编码系统用于本说明书中。

[0372] Kabat残基命名不总是直接对应于氨基酸残基的线性编号。实际的线性氨基酸序列可包含比严格Kabat编号中的氨基酸更少或更多的氨基酸,对应于基本可变结构域结构的结构组分(无论是构架区还是互补决定区(CDR))的缩短或插入。可通过将抗体序列中具有同源性的残基与“标准”Kabat编号的序列比对来确定给定的抗体的正确残基Kabat编号。

[0373] 重链可变结构域的CDR位于根据Kabat编号系统的残基31-35(CDR-H1)、残基50-65(CDR-H2)和残基95-102(CDR-H3)上。然而根据Chothia(Chothia,C.和Lesk,A.M.J.Mol.Biol.,196,901-917(1987)),等同于CDR-H1的环从残基26延伸至残基32。因此

除非另外指出,否则如本文中所用,‘CDR-H1’意指残基26至35,如通过Kabat编号系统和Chothia’s拓扑学环定义的组合描述的。

[0374] 轻链可变结构域的CDR位于根据Kabat编号系统的残基24-34 (CDR-L1)、残基50-56 (CDR-L2) 和残基89-97 (CDR-L3) 上。

[0375] 本发明中使用的抗体可使用本领域已知的任何适当的方法来获得。可使用毒素A和/或毒素B多肽/蛋白质,包括融合蛋白例如毒素-Fc融合蛋白或表达(重组地或天然)多肽的细胞(例如活化的T细胞)来产生特异性识别目标毒素的抗体。毒素多肽可以是全长多肽或其生物活性片段或衍生物。

[0376] 多肽可通过本领域公知的方法从包含表达系统的遗传工程化宿主细胞制备,或可从天然生物来源回收它们。在本申请中,术语“多肽”包括肽、多肽和蛋白质。除非另外明确地指出,否则这些术语可互换使用。来自核糖型027的TcdA的序列示于SEQ ID NO:171 (Uniprot登录号C9YJ37),来自核糖型027的TcdB的序列示于SEQ ID NO:172 (Uniprot登录号C9YJ35)。

[0377] 抗原多肽可在一些情况下为更大的蛋白质例如融合蛋白(例如融合至亲和标记物)的一部分。

[0378] 可通过使用公知的和常规方案给动物,优选非人动物施用多肽来获得针对抗原多肽产生的抗体,其中动物的免疫是必需的,参见,例如Handbook of Experimental Immunology, D.M. Weir (ed.), 第4卷, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, England, 1986)。可免疫许多温血动物例如兔、小鼠、大鼠、绵羊、牛、骆驼或猪。然而,小鼠、兔、猪和大鼠通常是最适当的。

[0379] 单克隆抗体可通过本领域已知的任何方法例如杂交瘤技术 (Kohler&Milstein, 1975, Nature, 256:495-497)、三源杂交瘤技术、人B细胞杂交瘤技术 (Kozbor等人, 1983, Immunology Today, 4:72) 和EBV-杂交瘤技术 (Cole等人, Monoclonal Antibody and Cancer Therapy, pp77-96, Alan R Liss, Inc., 1985) 来制备。

[0380] 本发明中使用的抗体还可使用单淋巴细胞抗体法,通过克隆和表达从通过例如 Babcock, J. 等人, 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93 (15): 7843-7848; W092/02551; W02004/051268 和国际专利申请号 W02004/106377 中描述的方法选择的产生特定抗体的单个淋巴细胞产生的免疫球蛋白可变区cDNA来产生。

[0381] 人源化抗体(其包含CDR移植的抗体)是具有来自非人物种的一个或多个互补决定区(CDR)和来自人免疫球蛋白分子的构架区的抗体分子(参见,例如US5,585,089; W091/09967)。应理解,可能仅必需转移CDR的特异性决定残基而非整个CDR(参见例如, Kashmiri 等人, 2005, Methods, 36, 25-34)。人源化抗体可任选地还包含来源于CDR所源自的非人物种的一个或多个构架残基。

[0382] 如本文中所用,术语‘人源化抗体分子’是这样的抗体分子,在所述抗体分子中,重链和/或轻链包含来自移植至受体抗体(例如,人抗体)的重链和/或轻链可变构架内的供体抗体(例如鼠单克隆抗体)的一个或多个CDR(包括,必要时,一个或多个修饰的CDR)。关于综述,参见Vaughan等人, Nature Biotechnology, 16, 535-539, 1998。在一个实施方案中,不是整个CDR被移植,而是将来自本文中上述CDR的任一个的特异性决定残基的仅一个或多个转移至人抗体构架(参见例如, Kashmiri 等人, 2005, Methods, 36, 25-34)。在一个实施方案中,

仅将本文中上述CDR的一个或多个的特异性决定残基转移至人抗体构架。在另一个实施方案中,仅将本文中上述CDR的每一个的特异性决定残基转移至人抗体构架。

[0383] 当移植CDR或特异性决定残基时,通过考虑CDR所源自的供体抗体的种类/类型,可使用任何适当的受体可变区构架序列,包括小鼠、灵长类动物和人构架区。适当地,根据本发明的人源化抗体具有包含人受体构架区以及本文中提供的CDR的一个或多个的可变结构域。

[0384] 因此,在一个实施方案中提供的是结合毒素A或毒素B的人源化抗体,其中可变结构域包含人受体构架区和非人供体CDR。

[0385] 可用于本发明的人构架的实例是KOL、NEWM、REI、EU、TUR、TEI、LAY和POM (Kabat等人,同上)。例如,KOL和NEWM可用于重链,REI可用于轻链,EU、LAY和POM可用于重链和轻链。或者,可使用人种系序列;这些序列可在:<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>上获得。

[0386] 在本发明的人源化抗体中,受体重链和轻链不必来源于相同抗体,并且必要时,可包含具有来源于不同链的构架区的混合链。

[0387] 同样地,在本发明的人源化抗体中,构架区不必具有与受体抗体的构架区完全相同的序列。例如,可将罕见残基改变成对于该受体链种类或类型是更加频繁存在的残基。或者,可改变受体构架区中选择的残基,以便它们对应于在供体抗体中相同位置上发现的残基(参见Reichmann等人,1998,Nature,332,323-324)。应当使这样的变化保持至恢复供体抗体的亲和力所必需的最低程度。用于选择可能需要被改变的受体构架区中的残基的方案示于W091/09967中。

[0388] 一般而言,本说明书中公开的抗体序列被人源化。

[0389] 本发明还提供了与本文中公开的序列或抗体具有80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的相似性的序列。

[0390] 如本文中所用,“同一性”表示在对齐的序列中的任意特定位置上,氨基酸残基在序列之间是相同的。如本文中所用,“相似性”意指,在对齐的序列中的任意特定位置上,氨基酸残基在序列之间具有相似类型。例如,亮氨酸可置换异亮氨酸或缬氨酸。通常可彼此置换的其它氨基酸包括但不限于:

[0391] -苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸(具有芳香族侧链的氨基酸);

[0392] -赖氨酸、精氨酸和组氨酸(具有碱性侧链的氨基酸);

[0393] -天冬氨酸和谷氨酸(具有酸性侧链的氨基酸);

[0394] -天冬酰胺和谷氨酰胺(具有酰胺侧链的氨基酸);和

[0395] -半胱氨酸和甲硫氨酸(具有含硫侧链的氨基酸)。

[0396] 同一性和相似性的程度可容易地计算(Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing. Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A.M., 和 Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987, Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. 和 Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991, 可从NCBI获得的BLAST™软件(Altschul, S.F.等人, 1990, J.Mol.Biol.215:403-410; Gish, W. & States, D.J. 1993, Nature Genet.3:266-272. Madden,

T.L.等人,1996,Meth.Enzymol.266:131-141;Altschul,S.F.等人,1997,Nucleic Acids Res.25:3389-3402;Zhang,J.&Madden,T.L.1997,Genome Res.7:649-656,.)。

[0397] 本发明的抗体分子包括具有全长重链和轻链或其片段的完全抗体分子,其可以是但不限于Fab、修饰的Fab、Fab'、修饰的Fab'、F(ab')₂、Fv、Fab-Fv、Fab-dsFv、单结构域抗体(例如VH或VL或VHH)、scFv、二价、三价或四价抗体、双-scFv、双链抗体、三链抗体、四链抗体以及上述任一个的表位结合片段(参见例如,Holliger和Hudson,2005,Nature Biotech.23(9):1126-1136;Adair和Lawson,2005,Drug Design Reviews-Online2(3),209-217)。用于产生和制造这类抗体片段的方法在本领域是公知的(参见例如Verma等人,1998,Journal of Immunological Methods,216,165-181)。用于本发明的其它抗体片段包括国际专利申请W02005/003169、W02005/003170和W02005/003171中描述的Fab和Fab'片段。多价抗体可包括多特异性,例如双特异性或可以是单特异性的(参见例如W092/22853和W005/113605)。在本实例中特别考虑了双特异性和多特异性抗体变体,因为目的是中和两种独立的目标蛋白:TcdA和TcdB。来自本文中公开的抗体的可变区可以以这样的方式构造来产生能够结合并中和TcdA和TcdB的单一抗体变体。

[0398] 在一个实施方案中,根据本公开内容的抗体被提供为TcdA或TcdB结合抗体融合蛋白,其包含免疫球蛋白部分,例如Fab或Fab'片段,和一个或两个直接或间接与其连接的单结构域抗体(dAb),例如如W02009/040562中描述的。

[0399] 在一个实施方案中,融合蛋白包含两个结构域抗体,例如,任选地通过二硫键连接的可变重链(VH)和可变轻链(VL)配对,例如如W02010/035012中描述的。

[0400] 在一个实施方案中,融合蛋白的Fab或Fab'元件具有相同的或相似的对于单结构域抗体的特异性。在一个实施方案中,Fab或Fab'具有不同的对单结构域抗体的特异性,也就是说融合蛋白是多价的。在一个实施方案中,根据本发明的多价融合蛋白具有白蛋白结合位点,例如本文中的VH/VL对提供了白蛋白结合位点。

[0401] 在一个实施方案中,根据本发明的多价融合蛋白结合TcdA和TcdB。

[0402] 在一个实施方案中,根据本发明的多价融合蛋白在多个位置结合TcdB,例如具有特异于两个不同表位的不同的结合区域。

[0403] 可以就预期的抗体分子的功能,特别是可能需要的效应子功能,来选择本发明的抗体分子的恒定区结构域(如果存在的话)。例如,恒定区结构域可以是人IgA,IgD,IgE,IgG或IgM结构域。具体地,当意欲将抗体分子用于治疗用途并且需要抗体效应功能时,可使用人IgG恒定区结构域,特别是IgG1和IgG3同种型的恒定区结构域。或者,当意欲将抗体分子用于治疗目的并且不需要抗体效应子功能(例如仅用于中和或激动抗原)时,可使用IgG2和IgG4同种型。应理解,还可使用这些恒定区结构域的序列变体。例如可使用其中位置241上的丝氨酸已被改变成脯氨酸的IgG4分子(如Angal等人,Molecular Immunology,1993,30(1),105-108中描述的)。本领域技术人员还应理解,抗体可经历多种翻译后修饰。这些修饰的类型和程度通常取决于用于表达抗体的宿主细胞系以及培养条件。这样的修饰可包括糖基化、甲硫氨酸氧化、哌嗪二酮形成、天冬氨酸异构化和天冬酰胺脱酰胺作用的变化。常见修饰是因羧肽酶的作用而导致的羧基末端碱性残基(例如赖氨酸或精氨酸)的丢失(如Harris,RJ.Journal of Chromatography705:129-134,1995中描述的)。

[0404] 在一个实施方案中,抗体重链包含CH1结构域并且抗体轻链包含CL结构域(κ 或 λ)。

[0405] 生物分子例如抗体或片段包含酸性和/或碱性官能团,从而赋予分子净正电荷或负电荷。总的“观察到的”电荷的量将取决于物质的绝对氨基酸序列,3D结构中的带电荷的局部环境和分子的环境条件。等电点(pI)是特定分子或其溶剂可及表面不携带净电荷时的pH。在一个实例中,本发明的抗体和片段可被工程化来具有适当的等电点。这可导致具有更加强健的性质,特别是适当的溶解度和/或稳定性特征和/或改善的纯化特征的抗体和/或片段。

[0406] 因此,在本发明的一个方面,提供了经工程化从而具有与其所源自的原始鉴定的抗体的等电点不同的等电点的人源化抗体。抗体可以例如通过替代氨基酸残基,例如用一个或多个碱性氨基酸残基替代酸性氨基酸残基来进行工程化。或者,可引入碱性氨基酸残基或可除去酸性氨基酸残基。或者,如果分子具有不可接受的高pI值,则可视需要引入酸性残基来降低pI。重要的是当操纵pI时,必须小心以保持抗体或片段的期望的活性。因此,在一个实施方案中,工程化抗体或片段具有与“未修饰”抗体或片段相同或大体上相同的活性。

[0407] 程序例如**ExpASY http://www.expasy.ch/tools/pi_tool.html, and http://www.iut-arles.univ-mrs.fr/w3bb/d_abim/compo-p.html, 可用于预测抗体或片段的等电点。

[0408] 应理解,可使用本领域已知的任何适当方法来改变本发明提供的抗体的亲和力。抗体或其变体的亲和力可使用本领域已知的任何适当方法,包括BIAcore,使用适当的分离的天然的或重组蛋白或适当的融合蛋白/多肽来测量。

[0409] 本发明从而还涉及视情况而定具有改善的对于TcdA或TcdB的亲和本发明的抗体分子的变体。这样的变体可通过许多亲和力成熟方案来获得,包括突变CDR(Yang等人, J.Mol.Biol., 254, 392-403, 1995)、链改组(Marks等人, Bio/Technology, 10, 779-783, 1992)、大肠杆菌的增变株的使用(Low等人, J.Mol.Biol., 250, 359-368, 1996)、DNA改组(Patten等人, Curr.Opin.Biotechnol., 8, 724-733, 1997)、噬菌体展示(Thompson等人, J.Mol.Biol., 256, 77-88, 1996)和有性PCR(Cramer等人, Nature, 391, 288-291, 1998)。Vaughan等人(同上)论述了这些亲和力成熟的方法。

[0410] 本文中使用的改善的亲和力在本说明书中是指高于起始分子的改善。

[0411] 必要时,可将本发明中使用的抗体缀合至一个或多个效应分子。应理解,效应分子可包括单个效应分子,或连接以形成可连接至本发明的抗体的单个部分的两个或更多个这样的分子。当期望获得连接至效应分子的抗体片段时,这可通过标准化学或重组DNA法来制备,其中将抗体片段直接地或通过偶联剂连接至效应分子。用于将这样的效应分子缀合至抗体的技术在本领域是公知的(参见, Hellstrom等人, Controlled Drug Delivery, 第2版, Robinson等人, eds., 1987, pp. 623-53; Thorpe等人, 1982, Immunol.Rev., 62:119-58和 Dubowchik等人, 1999, Pharmacology and Therapeutics, 83, 67-123)。特定的化学方法包括例如W093/06231、W092/22583、W089/00195、W089/01476和W003031581中描述的方法。或者,当效应分子是蛋白质或多肽时,可使用重组DNA法,例如W086/01533和EP0392745中描述的方法来实现连接。

[0412] 如本文中所用,术语效应分子包括例如生物活性蛋白,例如酶、其它抗体或抗体片段、合成或天然存在的聚合物、核酸及其片段例如DNA、RNA及其片段、放射性核素,特别是放射性碘、放射性同位素、螯合的金属、纳米颗粒和受体基团例如荧光化合物或可通过NMR或

ESR光谱学检测的化合物。

[0413] 其它效应分子可包括螯合的放射性核素例如¹¹¹In和⁹⁰Y、^{Lu}177、^{Bi}213、^{Cu}252、^{Er}192和^{Ga}188/^{Ge}188;或药物例如但不限于烷基磷酸胆碱、DNA拓扑异构酶I抑制剂、紫杉烷和舒拉明。

[0414] 其它效应分子包括蛋白质、肽和酶。目标酶包括但不限于蛋白水解酶、水解酶、裂解酶、异构酶、转移酶。目标蛋白质、多肽和肽包括但不限于免疫球蛋白、毒素例如相思豆毒蛋白、蓖麻蛋白A、假单胞菌外毒素或白喉毒素、蛋白质例如胰岛素、肿瘤坏死因子、 α -干扰素、 β -干扰素、神经生长因子、血小板衍生的生长因子或组织型纤溶酶原激活物、血栓形成剂或抗-血管生成剂例如血管他丁或内皮他丁,或生物应答调节剂例如淋巴因子、白细胞介素-1 (IL-1)、白细胞介素-2 (IL-2)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、神经生长因子 (NGF) 或其它生长因子和免疫球蛋白。

[0415] 其它效应分子可包括用于例如诊断的可检测物质。可检测物质的实例包括各种酶、辅基、荧光材料、发光材料、生物发光材料、放射性核素、正电子发射金属(用于正电子发射断层摄影术)和非放射性顺磁性金属离子。关于可被缀合至抗体以用作诊断剂的金属离子,通常参见美国专利号4,741,900。适当的酶包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β 半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;适当的辅基包括链霉抗生物素蛋白、抗生物素蛋白和生物素;适当的荧光材料包括伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪胺荧光素、丹磺酰氯和藻红蛋白;适当的发光材料包括鲁米诺;适当的生物发光材料包括萤光素酶、萤光素和水母发光蛋白;以及适当的放射性核素包括¹²⁵I、¹³¹I、¹¹¹In和⁹⁹Tc。

[0416] 在另一个实例中,效应分子可增加抗体的体内半衰期和/或减小抗体的免疫原性和/或增强抗体穿过上皮屏障至免疫系统的递送。该类型的适当的效应分子的实例包括聚合物、白蛋白、白蛋白结合蛋白或白蛋白结合化合物例如W005/117984中描述的那些化合物。

[0417] 当效应分子为聚合物时,其通常可以是合成的或天然存在的聚合物,例如任选地取代的直链或支链聚亚烷基、聚亚链烯基或聚氧化烯基聚合物或分支或未分枝多糖例如同多糖或异多糖。

[0418] 可存在于上述合成聚合物上的具体的任选的取代基包括一个或多个羟基、甲基或甲氧基。

[0419] 合成聚合物的具体实例包括任选地取代的直链或支链聚(乙二醇)、聚(丙二醇)聚(乙烯醇)或其衍生物,特别是任选地取代的聚(乙二醇)例如甲氧基聚(乙二醇)或其衍生物。

[0420] 具体的天然存在的聚合物包括乳糖、直链淀粉、葡聚糖、糖原或其衍生物。

[0421] 如本文中所用,“衍生物”意欲包括反应性衍生物,例如巯基选择性反应性基团例如马来酰亚胺等。可将反应性基团直接或通过接头区段连接至聚合物。应理解,这样的基团的残基在一些情况下形成作为抗体片段与聚合物之间的连接基团的产物的部分。

[0422] 聚合物的大小可按需变化,但通常在500Da至50000Da,例如5000至40000Da,例如20000至40000Da的平均分子量范围内。可以特别地基于产物的期望用途例如定位至某些组织例如肿瘤或延长循环半衰期的能力选择聚合物大小(关于综述,参见Chapman, 2002, Advanced Drug Delivery Reviews, 54, 531-545)。因此,例如,当期望产物离开循环并渗入

组织,例如用于治疗肿瘤时,可有利地使用小分子量例如具有约5000Da的分子量的聚合物。关于其中产物保留在循环中的应用,可有利地使用更高分子量例如具有在20000Da至40000Da的范围内的分子量的聚合物。

[0423] 适当的聚合物包括聚烷基聚合物,例如聚(乙二醇)或,特别是甲氧基聚(乙二醇)或其衍生物,特别是具有在约15000Da至约40000Da的范围内的分子量。

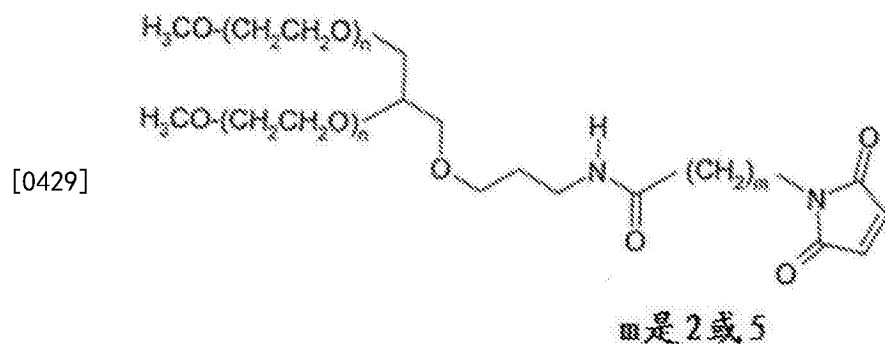
[0424] 在一个实例中,可将用于本发明的抗体连接至聚(乙二醇)(PEG)部分。在一个具体实例中,抗体是抗体片段,并且可通过位于抗体片段中的任何可获得的氨基酸侧链或末端氨基酸官能团,例如任何游离氨基、亚氨基、巯基、羟基或羧基连接PEG分子。这样的氨基酸可天然地存在于抗体片段中,或可使用重组DNA法将其工程化入片段(参见例如,US5,219,996;US5,667,425;W098/25971,W02008/038024)。在一个实例中,本发明的抗体分子是修饰的Fab片段,其中将修饰添加至其重链的C末端上的一个或多个氨基酸以允许效应分子的连接。适当地,另外的氨基酸形成包含一个或多个可将效应分子与其连接的半胱氨酸残基的修饰的铰链区。多个位点可用于连接两个或更多个PEG分子。

[0425] 适当地可通过位于抗体片段中的至少一个半胱氨酸残基的巯基共价地连接PEG分子。可将连接至修饰的抗体片段的每一个聚合物分子共价地连接至位于片段中的半胱氨酸残基的硫原子。共价连接通常是二硫键,或具体地,硫-碳键。当巯基用作适当地活化的效应分子的连接点时,可使用例如巯基选择性衍生物例如马来酰亚胺和半胱氨酸衍生物。活化的聚合物可在上述聚合物修饰的抗体片段的制备中用作起始材料。活化的聚合物可以是任意聚合物,所述聚合物包含巯基反应性基团例如 α -卤代羧酸或酯,例如碘乙酰胺、酰亚胺例如马来酰亚胺、乙烯基砷或二硫化物。这样的起始材料可商购获得(例如来自Nektar,以前称为Shearwater Polymers Inc.,Huntsville,AL,USA)或可使用常规化学方法从商购可得的起始材料制备而来。具体的PEG分子包括20K甲氧基-PEG-胺(可从Nektar,formerly Shearwater;Rapp Polymere;和SunBio获得)和M-PEG-SPA(可从Nektar,以前称为Shearwater获得)。

[0426] 在一个实施方案中,抗体是被PEG化的,即具有例如按照EP0948544或EP1090037中公开的方法共价地连接至其的PEG(聚(乙二醇))的修饰的Fab片段或diFab[也参见“Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications”,1992, J.Milton Harris(ed),Plenum Press,New York,“Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications”,1997, J.Milton Harris和S.Zalipsky(eds),American Chemical Society,Washington DC and“Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences”,1998,M.Aslam和A.Dent,Grove Publishers,New York;Chapman,A.2002,Advanced Drug Delivery Reviews2002,54:531-545]。在一个实例中,PEG被连接至铰链区中的半胱氨酸。在一个实例中,PEG修饰的Fab片段具有共价地连接至修饰的铰链区中的单个巯基的马来酰亚胺基。可将赖氨酸残基共价地连接至马来酰亚胺基并将赖氨酸残基上的每一个胺基连接至具有约20,000Da的分子量的甲氧基聚(乙二醇)聚合物。连接至Fab片段的PEG的总分子量从而可以为约40,000Da。

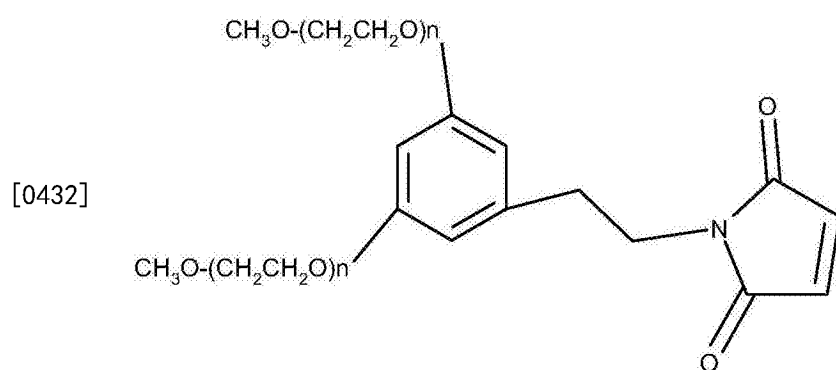
[0427] 具体的PEG分子包括N,N'-双(甲氧基丙基(乙二醇)MW20,000)的2-[3-(N-马来酰亚胺基)丙酰胺基]乙基酰胺修饰的赖氨酸,也称为PEG2MAL40K(可获自Nektar,先前称为Shearwater)。

[0428] PEG接头的可选择来源包括NOF,其提供GL2-400MA2 (其中结构中的m小于5) 和GL2-400MA (其中m是2) 并且n为约450;



[0430] 即每一个PEG为约20,000Da。

[0431] 下列类型的其它可选择的PEG效应分子:



[0433] 可获自Dr Reddy,NOF和Jenkem。

[0434] 在一个实施方案中,提供了通过链中的氨基酸226 (例如重链的氨基酸226 (按照序列编号)) 上或其附近的半胱氨酸残基连接的被PEG化 (例如利用本文中描述的PEG) 的抗体。

[0435] 在一个实施方案中,根据本发明的一个特定抗体具有下列性质:

[0436]

抗体	亲和力(pM)		结合的效价	EC ₅₀ (ng/ml)
	TcdA ₁₂₃	TcdA ₄₅₆	TcdA, est.	
CA922	4.06	2.59	16	1.21
CA923	64.7	312	12	160.42
CA995	0	119	1	37.64
CA997	132	66.8	12	6.25
CA1000	73.3	84.1	2	19.73

[0437] 本发明还提供了组合物,例如本文中定义的抗体或抗体的组合的药物组合物。

[0438] 本发明还提供了包含至少两种根据本发明的抗体的组合物,例如其中其中的至少一种抗体特异于TcdA并且其中的至少一种抗体特异于TcdB,或可选择地至少两种抗体特异

于TcdA或至少两种抗体特异于TcdB。

[0439] 在一个实施方案中,提供了包含多种特异于TcdA的抗体和任选地一种或多种特异于TcdB的抗体的组合物。

[0440] 在一个实施方案中,提供了包含多种特异于TcdB的抗体和任选地一种或多种特异于TcdA的抗体的组合物。

[0441] 因此,在一个实施方案中,提供了包含2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15种根据本发明的抗体,即不同的抗体的组合物。

[0442] 本发明描述了一种包含3种Mab的具体混合物,所述Mab的一种特异于TcdA并且所述Mab的两种特异于TcdB。该混合物显示极高水平的使仓鼠免受致死感染性口服剂量的艰难梭菌引起的死亡和肠炎症的保护作用。

[0443] 具体地,提供了包含一种抗-TcdA抗体(包含具有SEQ ID NO:49中显示的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:47中显示的轻链可变区)和两种抗-TcdB(第一种具有SEQ ID NO:129显示的重链可变区和SEQ ID NO:127中显示的轻链可变区,第二种具有SEQ ID NO:159中显示的重链可变区和SEQ ID NO:157中显示的轻链可变区)的组合物。

[0444] 在一个实施方案中,其中组合物包含3种抗体,例如一种抗-TcdA和两种抗-TcdB抗体,所述抗体以分别为其总抗体含量的50%、25%和25%的比率存在。

[0445] 在一个实施方案中,提供了包含特异于2、3、4或5个特异于TcdA的抗体和任选地1、2、3、4或5种特异于TcdB的抗体的组合物。

[0446] 在一个实施方案中,根据本发明提供的组合物已被良好地定义,例如为单克隆抗体的混合物而不只是来源于免疫的的宿主或具有免疫活性的宿主的多克隆组合物。

[0447] 在一个实施方案中,抗体的组合物具有200ng/ml或更少,例如150ng/ml或更少,例如100ng/ml或更少,例如0.1至10ng/ml的EC₅₀。

[0448] 有利地,本文中描述的抗体具有极高水平的生物物理稳定性,从而适合包含在抗体的混合物中。

[0449] 在一个方面,根据本发明的药物制剂或组合物还包含药学上可接受的赋形剂。

[0450] 治疗性组合物中的药学上可接受的载体可额外地包含液体例如水、盐水、甘油和乙醇。此外,辅助物质例如湿润剂或乳化剂或pH缓冲物质可存在于这样的组合物中。这样的载体使得药物组合物能够被配制为片剂、丸剂、锭剂、胶囊剂、液体、凝胶、糖浆剂、膏剂和栓剂,以被患者摄入。

[0451] 用于施用的适当形式包括适合用于例如通过注射或输注(例如通过单次快速静脉注射或连续输注)胃肠外施用的形式。当产品用于注射或输注时,其可采用油性或含水媒介物中的悬浮液、溶液或乳剂的形式,并且其可包含配制剂,例如悬浮剂、防腐剂、稳定剂和/或分散剂。或者,抗体分子可以以无水形式存在,以在使用前利用适当的无菌液体重建。

[0452] 配制后,可将本发明的组合物直接施用至受试者。待治疗的受试者可以是动物。然而,在一个或多个实施方案中,组合物可被改造来适合给人受试者施用。

[0453] 适当地在根据本公开内容的制剂中,最终制剂的pH与抗体或片段的等电点的值不相似,例如如果制剂的pH为7,则为8-9或更高的pI可以是适当的。虽然不希望受理论束缚,但认为这可最终提供具有改善的稳定性的最终制剂,例如抗体或片段保持在溶液中。

[0454] 在一个实施方案中,本公开内容的组合物或制剂包含1-200mg/mL的抗体,这就是

说组合的抗体含量,例如150mg/mL或更少,例如100mg/mL或更少,具体地90、80、70、60、50、40、30、20、10mg/mL或更少。

[0455] 在一个实施方案中,本公开内容的组合物或制剂包含其中各20mg/mL的每一种抗体。

[0456] 在一个实施方案中,提供了制剂,所述制剂包含:

[0457] 33mg/mL或更少的一种包含具有SEQ ID NO:49中所示序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:47所示的序列的轻链可变区的抗-TcdA抗体,和

[0458] 28mg/mL或更少的具有SEQ ID NO:129显示的重链可变区和SEQ ID NO:127显示的轻链可变区的第一抗-TcdB抗体,和

[0459] 25mg/mL的具有SEQ ID NO:159显示的重链可变区和SEQ ID NO:157显示的轻链可变区的第二抗-TcdB抗体。

[0460] 在一个实施方案中,pH在4.0至7.0的范围内的药物制剂包含:1至200mg/mL的根据本公开内容的抗体、1至100mM的缓冲剂、0.001至1%的表面活性剂,

[0461] a) 10至500mM的稳定剂,

[0462] b) 5至500mM的张度剂,或

[0463] c) 10至500mM的稳定剂和5至500mM的张度剂。

[0464] 在一个实施方案中,根据本公开内容的组合物或制剂包含缓冲剂液磷酸盐缓冲盐水。

[0465] 例如,具有约pH6的制剂可包含1至50mg/mL的抗体、20mM L-盐酸组氨酸、240mM海藻糖和0.02%的聚山梨醇20。或者,具有约pH5.5的制剂可包含1至50mg/mL的抗体、20mM柠檬酸盐缓冲液、240mM蔗糖、20mM精氨酸和0.02%的聚山梨醇20。

[0466] 本发明的药物组合物可通过许多途径来施用,包括但不限于口服、静脉内、肌内、动脉内、髓内、硬膜内、心室内、经真皮、经皮(例如,参见W098/20734)、皮下、腹膜内、鼻内、肠内、局部、舌下、阴道内或直肠途径。皮下注射器也可用于施用本发明的药物组合物。通常地,可将治疗性组合物配制为可注射液体溶液或悬浮液。还可制备在注射之前适合用于在液体媒介物中配制成溶液或悬浮液的固体形式。

[0467] 组合物的直接递送通常可通过皮下、腹膜内、静脉内或肌内注射来实现,或被递送至组织的细胞间隙。

[0468] 还可通过例如用于吞咽的封装的口服剂量,通过鼻胃管至胃或回肠,通过直肠管或灌肠溶液或通过直肠胶囊将组合物施用至伤口或直接施用至胃肠道中。剂量处理可以是单剂量方案或多剂量方案。

[0469] 应理解,组合物中的活性成分可为抗体分子。这样,其易于在胃肠道中降解。因此,如果将通过使用胃肠道的途径施用组合物,则组合物需要包含试剂,所述试剂保护抗体免受降解,但一旦其已从胃肠道吸收就释放抗体。

[0470] 药学上可接受的载体的详尽论述可在《雷氏药学大全》(Mack Publishing Company, N.J. 1991)中获得。

[0471] 本发明还提供了如本文中描述的抗体或抗体组合或包含所述抗体或抗体组合的组合物,其用于治疗,例如用于治疗或预防艰难梭菌感染或与所述感染相关的并发症例如腹泻、结肠炎特别是假膜性结肠炎、胃气胀、腹痛和中毒性巨结肠。

[0472] 预防还可通过施用预形成的灭活的毒素抗原(类毒素)与抗体的复合物(以产生疫苗)来实现。

[0473] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体、其组合和包含所述抗体的组合物适合用于治疗艰难梭菌的所谓超级菌株(即超毒力菌株例如核糖型027)的感染。

[0474] 根据本发明的抗体和组合物适合用于治疗或预防相关艰难梭菌毒素在原发感染过程中的急性和/或慢性作用。

[0475] 根据本发明的抗体和组合物适合用于治疗或预防相关艰难梭菌毒素在继发感染或再感染过程中的作用。国际指南(International guidelines)确立原发感染后的时间间隔,这从而将继发(或回归)感染定义为与现有症状的持续不同(有时描述为复发)(29)。研究已显示继发感染可以是与原发感染相同的菌株或核糖型的结果。在这样的情况下,回归感染而非复发依赖于达成的时间约束。然而,研究还显示继发感染还可以是与原发感染的菌株或核糖型不同的菌株或核糖型的感染的结果。在一个研究中,48%的疾病回归是与已引起第一感染的菌株不同的第二菌株的结果(30)。在另一个研究中,超过56%的疾病回归是与引起第一感染的菌株不同的第二菌株的结果(31)。

[0476] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体、其组合和包含所述抗体的组合物适合用于防止损伤,例如对结肠上皮的长期结构损伤。

[0477] 在一个实施方案中,抗体、组合和组合物适合用于防止艰难梭菌感染,包括感染特别是医院内感染的回归。

[0478] 在一个实施方案中,根据本发明的抗体、其组合和包含所述抗体的组合物适合用于减小艰难梭菌感染回归的风险。

[0479] 有利地,可预防性施用本公开内容的抗体以防止感染或再感染,因为在抗体所特异于毒素不存在的情况下,抗体只是被从身体清除而不引起不利的与受试者身体组织的相互作用。

[0480] 有利地,本公开内容的抗体似乎在施用后引发快速反应,例如在1或2天的施用内,激起目标毒素的快速清除,这可阻止重要器官例如肺、心脏和肾被损伤。这是第一次可获得可用于在急性艰难梭菌感染期防止毒素A和/或B对患者的损害或损伤的试剂。

[0481] 因此,在一个实施方案中,根据本发明的抗体、其组合和包含所述抗体的组合物适合用于防止对重要器官的损害。

[0482] 在一个实施方案中,本文中描述的抗体、组合或制剂适合用于防止被感染的患者死亡,如果在毒素已产生不可挽回的损伤之前在适当的时间施用的话。

[0483] 本公开内容的抗体具有快速的结合速率,其促进体内快速作用。

[0484] 在一个实施方案中,患者群体超过60岁,例如超过65岁。

[0485] 在一个实施方案中,患者群体为5岁或更小。

[0486] 可将根据本发明的抗体与抗生素治疗例如甲硝唑、万古霉素或非达米星组合使用。

[0487] 一系列体外数据证明了Mab和Mab混合物的性质。我们显示3种Mab的一种混合物(50%摩尔当量的抗-TcdA和50%摩尔当量的抗-TcdB组分)能够保护仓鼠免受致死性CDI。

[0488] 在一个实施方案中,提供了通过例如在艰难梭菌感染或与所述感染相关的并发症例如腹泻、结肠炎特别是假膜性结肠炎、胃气胀、腹痛和中毒性巨结肠的治疗或预防中,施

用治疗有效量的本文中描述的抗体或抗体组合或包含所述抗体的组合物来治疗有此需要的患者的方法。

[0489] 在一个实施方案中,通过常规途径例如皮下、腹膜内、静脉内或肌肉内施用抗体、组合或制剂。仓鼠中产生的实施例的数据表明通过该途径施用的剂量到达肠,从而能够产生治疗作用。

[0490] 在一个实施方案中,通过口服(例如肠溶衣制剂)施用抗体、组合或制剂。

[0491] 在一个实施方案中,提供了本文中描述的抗体、组合或制剂用于制造用于治疗或预防艰难梭菌感染的药物的用途。

[0492] 在一个实施方案中,施用的剂量在1至1000mg/Kg,例如10至75mg/Kg例如20至50mg/Kg的范围内。

[0493] 在一个实施方案中,抗体在小鼠和仓鼠中的体内半衰期在健康(未感染的)动物中在6至8天的范围内,从而预期具有在14-28天的范围内的人中的半衰期。

[0494] 在一个实施方案中,仅以一个剂量提供抗体。

[0495] 在一个实施方案中,以每周一个剂量或每两周一个剂量提供抗体。

[0496] 在一个实施方案中,以每天一次的剂量提供抗体。

[0497] 在一个实施方案中,提供了包含与一种或多种本文中定义的抗-TcdA抗体复合的TcdA或其免疫原性片段的复合物。复合物可在疫苗制剂中用作抗原,例如适合用于在给人施用后体内产生针对毒素A的保护性抗体。

[0498] 在一个实施方案中,提供了包含与一种或多种本文中定义的抗-TcdB抗体复合的TcdB或其免疫原性片段的复合物。复合物可在疫苗制剂中用作抗原,例如适合用于在给人施用后体内产生针对毒素B的保护性抗体。

[0499] 可被配制来产生适合本发明中使用的佐剂的Th1型免疫刺激物包括并且不限于下列物质。

[0500] 在一个实施方案中,提供了包含TcdA或其免疫原性片段和TcdB或其免疫原性片段的复合物,其中将每一种毒素或片段与一种或多种特异于其的抗体复合,其中复合物适合用于作为疫苗制剂施用。

[0501] 已知抗体:抗原复合物在Fc受体介导的过程中被免疫系统吸收(27,28),并且抗体:抗原复合物的预形成的复合物已在人临床试验中被成功地用作疫苗(22)。

[0502] 在一个或多个实施方案中,疫苗制剂还包含佐剂作为免疫刺激物。

[0503] 单磷酸脂质A,特别是3-脱-O-酰化单磷酸脂质A(3D-MPL)是用于本发明的优选Th1型免疫刺激物。3D-MPL是由Ribi Immunochem, Montana生产的公知佐剂。在化学上,其通常以3-脱-O-酰化单磷酸脂质A与4,5或6个酰化链的混合物提供。可通过GB2122204B中教导的方法纯化和制备,所述参考资料还公开了二磷酸脂质A及其3-O-脱酰基变体的制备。已描述了其它纯化和合成的脂多糖(US6,005,099和EP0729473B1; Hilgers等人,1986, Int. Arch. Allergy. Immunol., 79(4):392-6; Hilgers等人,1987, Immunology, 60(1):141-6; 和EP0549 074 B1)。3D-MPL的优选形式以具有直径小于0.2mm的小的颗粒尺寸的颗粒制剂的形式存在,其制备方法公开于EP0 689 454中。

[0504] 根据本发明,皂苷也是优选的Th1免疫刺激物。皂苷是公知的佐剂并且教导于: Lacaille-Dubois, M和Wagner H. (1996. A review of the biological and

pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine* 第2卷, 第363-386页) 中。例如 Quil A (来源于南美的树石碱木 (*Quillaja Saponaria* Molina) 的树皮) 及其级分描述于 US5,057,540 和 “Saponins as vaccine adjuvants”, Kensil, C.R., *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 1996, 12 (1-2): 1-55; 和 EP0 362 279B1 中。溶血性皂苷 QS21 和 QS17 (Quil A 的 HPLC 纯化的级分) 已被描述为有效的系统性佐剂, 其生产方法描述于美国专利号 5,057,540 和 EP0 362 279B1。这些文献中还描述了 QS7 (Quil-A 的非溶血性级分) 的使用, 其用作系统性疫苗的有效佐剂。QS21 的使用进一步描述于 Kensil 等人 (1991. *J. Immunology* 第146卷, 431-437) 中。QS21 与聚山梨酯或环糊精的组合也是已知的 (W099/10008)。包含 QuilA 级分、例如 QS21 和 QS7 的颗粒佐剂系统描述于 W096/33739 和 W096/11711 中。一个这样的系统称为 Iscorn 并且可包含一种或多种皂苷。

[0505] 另一种优选免疫刺激物是包含未甲基化的 CpG 二核苷酸 (“CpG”) 的免疫刺激性寡核苷酸。CpG 是存在于 DNA 中的胞苷-鸟苷二核苷酸基序的缩写。当通过系统性和粘膜途径施用, CpG 在本领域已知为佐剂 (W096/02555, EP468520, Davis 等人, *J. Immunol*, 1998, 160 (2): 870-876; McCluskie 和 Davis, *J. Immunol.*, 1998, 161 (9): 4463-6)。历史上, 观察到 BCG 的 DNA 级分可产生抗肿瘤作用。在其它研究中, 已显示来源于 BCG 基因序列的合成寡核苷酸能够诱导免疫刺激性作用 (在体外和体内)。这些研究的研究人员得出某些回文序列 (包括中央 CG 基序) 具有该活性。CG 基序在免疫刺激中的作用后来在 Krieg 的出版物, *Nature* 374, p546 1995 中进行了阐明。详细分析已显示 CG 基序必须存在于某些序列背景中, 并且这样的序列在细菌 DNA 中是常见的但在脊椎动物 DNA 中是稀有的。免疫刺激性序列通常是: 嘌呤、嘌呤、C、G、嘧啶、嘧啶; 其中 CG 基序未被甲基化, 但已知其它未甲基化的 CpG 序列是免疫刺激性的并且可用于本发明。

[0506] 在 6 个核苷酸的某些组合中, 存在回文序列。这些基序中的几个, 作为一个基序的重复或不同基序的组合, 可存在于相同的寡核苷酸中。这些含免疫刺激性序列的寡核苷酸的一个或多个的存在可活化各种免疫亚组, 包括天然杀伤细胞 (其产生干扰素 γ 并且具有溶细胞活性) 和巨噬细胞 (Wooldridge 等人第 89 卷 (no. 8), 1977)。其它不具有该共有序列的含未甲基化 CpG 的序列现也显示是免疫刺激性的。

[0507] 当配制成疫苗时, 通常将 CpG 与游离抗原一起在自由溶液中施用 (W096/02555; McCluskie 和 Davis, 同上) 或共价地缀合至抗原 (W098/16247), 或利用载体例如氢氧化铝来配制 ((肝炎表面抗原), Davis 等人 (同上); Brazolot-Millan 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, USA, 1998, 95 (26), 15553-8)。

[0508] 可将上述这样的免疫刺激物与载体例如脂质体、水包油乳剂和/或金属性盐包括铝盐 (例如氢氧化铝) 一起配制。例如, 3D-MPL 可用氢氧化铝 (EP0 689 454) 或水包油乳剂 (W095/17210) 来配制; QS21 可以有利地利用含胆固醇脂质体 (W096/33739)、水包油乳剂 (W095/17210) 或明矾 (W098/15287) 来配制; CpG 可以利用明矾 (Davis 等人 (同上); Brazolot-Millan (同上)) 或利用其它阳离子载体来配制。

[0509] 免疫刺激物的组合也是优选的, 特别是单磷酸脂质 A 与皂苷衍生物的组合 (W094/00153; W095/17210; W096/33739; W098/56414; W099/12565; W099/11241), 更特别是 W094/00153 中公开的 QS21 与 3D-MPL 的组合。或者, CpG+皂苷例如 QS21 的组合也形成用于本发明的有效佐剂。或者, 可将皂苷配制在脂质体中或 Iscorn 中, 以及与免疫刺激性寡核苷酸组合。

- [0510] 因此,适当的佐剂系统包括例如单磷酸脂质A,优选3D-MPL与铝盐的组合。
- [0511] 因此在一个实施方案中,佐剂是QS21与3D-MPL在水包油或脂质体制剂中的组合。
- [0512] 增强的系统包括单磷酸脂质A与皂苷衍生物的组合,特别是QS21和3D-MPL的组合(如W094/00153中公开的),或其中QS21在含胆固醇脂质体(DQ)中被淬灭的不太具有反应原性的组合物,如W096/33739中公开的。该组合可额外地包含免疫刺激性寡核苷酸。
- [0513] 在水包油乳剂中包含QS21、3D-MPL和生育酚的特别有效的佐剂制剂描述于W095/17210中,并且是用于本发明的另一种优选制剂。
- [0514] 另一种优选制剂单独地或与铝盐一起地包含CpG寡核苷酸。
- [0515] 在本发明的其它方面,提供了制造本文中描述的疫苗制剂的方法,其中所述方法包括将根据本发明的多肽与适当的佐剂混合。
- [0516] 用于根据本发明的制剂的特别适合的佐剂组合如下:
- [0517] i) 3D-MPL+QS21,在脂质体中
- [0518] ii) 铝+3D-MPL
- [0519] iii) 铝+脂质体中的QS21+3D-MPL
- [0520] iv) 铝+CpG
- [0521] v) 3D-MPL+QS21+水包油乳剂
- [0522] vi) CpG
- [0523] 如本文中所用,本说明书的上下文中的术语“包含”应当被解释为“包括”。
- [0524] 当技术上恰当时,可组合实施方案与参数选择。
- [0525] 本文中的公开内容描述了包含某些整体的实施方案。本公开内容还扩展至由所述整体组成或基本上由所述整体组成的相同实施方案。
- [0526] 图
- [0527] 图1-10显示各种抗体和片段序列。
- [0528] 图11显示TcdA和TcdB的血清滴度。
- [0529] 图12显示单个Mab的抗TcdA(核糖型003)体外中和数据。
- [0530] 图13显示单一和成对Mab的抗TcdA(核糖型003)体外中和数据。
- [0531] 图14-15显示成对的Mab的抗TcdA(核糖型003)体外中和数据。
- [0532] 图16-18显示3种Mab的混合物的抗TcdA(核糖型003)体外中和数据。
- [0533] 图19-20显示4和5种Mab的混合物的抗TcdA(核糖型003)体外中和数据。
- [0534] 图21-22显示在不同TcdA浓度单一和成对Mab的抗TcdA(核糖型003)体外中和数据。
- [0535] 图23-24显示在不同TcdA浓度单一Mab和达到5种Mab的混合物的抗TcdA(核糖型003)体外中和数据。
- [0536] 图25-26显示单一Mab的抗TcdB(核糖型003)体外中和数据。
- [0537] 图27-30显示成对Mab的抗TcdB(核糖型003)体外中和数据。
- [0538] 图31-33显示3种Mab的混合物的抗TcdB(核糖型003)体外中和数据。
- [0539] 图34-40显示在不同毒素浓度两种Mab的混合物的抗TcdB(核糖型003)体外中和数据。
- [0540] 图41-45显示在不同毒素浓度不同相对Mab比率的两种Mab混合物的抗TcdB(核糖

型003) 体外中和数据。

[0541] 图46-59显示单一抗体和成对抗体的TcdB中和数据。

[0542] 图60显示TcdA的氨基酸序列。

[0543] 图61显示TcdB的氨基酸序列。

[0544] 图62显示以直方图形式表示的TcdA的TEER测定数据。

[0545] 图62A显示以线图形式表示的TcdA的TEER测定数据。

[0546] 图63显示抗体997、1125和1151的組合的meier-kaplan曲线,高浓度为50mg/Kg,低浓度为5mg/Kg。

[0547] 50mg/kg的剂量至第11天产生100%的保护作用,至第28天产生~82%的保护作用。

[0548] 5mg/kg的剂量导致非持久的且不完全保护作用。

[0549] 图64显示万古霉素和媒介物处理的仓鼠的体重变化。

[0550] 图65显示低剂量抗体5mg/Kg和高剂量抗体50mg/Kg的体重。

[0551] 图66显示其中接受利用根据本公开内容的抗体的处理的动物相对于对照的结肠的照片。

[0552] 图67-68显示涡旋对抗体稳定性的作用。

[0553] 图69显示不同抗体的聚集稳定性的比较。

[0554] 图70-73显示不同核糖型的TcdA的中和。

实施例

[0555] 抗体的产生

[0556] 一系列不同的免疫原和筛选试剂购自或产生自常规大肠杆菌表达技术,以提供多种多样的广泛的免疫反应和帮助单克隆抗体(表1中列出的)的鉴定和表征。在其中产生重组蛋白或肽的情况下,序列基于核糖型027。来自核糖型027的TcdA的序列示于SEQ ID NO:171(Uniprot登录号C9YJ37)中,给出的核糖型027的TcdB的序列为SEQ ID NO:172(Uniprot登录C9YJ35)。

[0557] 利用定位至对于TcdA和TcdB全长毒素是共同的区域的合成肽、甲醛灭活的类毒素A、毒素A的结合结构域片段(CROPs1、2、3或CROPs4、5、6)或毒素B的结合结构域(CROPs1、2、3、4)或在一些情况下上述毒素的組合来免疫斯普拉-道来大鼠和半垂耳兔。在2至6次免疫后,杀死动物,收集PBMC、脾和骨髓。通过ELISA监控血清对毒素A结构域、毒素B结构域、毒素或类毒素的结合。2个这样的免疫的血清滴度示于图11中。

[0558] UCB SLAM用作产生单克隆抗体的工具。直接从免疫的动物培养B细胞(Zubler等人,1985)。该步骤使得能够采集大百分比的B细胞库。通过整合选择的淋巴细胞抗体法(SLAM)(Babcook等人,1996),可能使阳性培养孔讯号去卷积(deconvolute)并且鉴定抗原特异性抗体分泌性细胞。此处我们使用SLAM(UCB SLAM(Tickle等人2009))的改进形式,该形式利用基于荧光的方法来从培养孔鉴定抗原特异性B细胞。建立B细胞培养物,首先在基于珠粒的测定中,使用Applied Biosystem8200细胞检测系统筛选上清液的结合相关纯化的毒素结构域的能力(结合、转运或催化)。这是使用包含IgG的B细胞培养上清液、涂覆至链霉抗生物素珠粒上的生物素化毒素结构域和山羊抗大鼠/兔Fc-Cy5缀合物进行的均相测定。来自该测定的对于对TcdA或TcdB组分的结合是阳性的细胞培养物被选择用于基于细胞的功能测定来鉴定毒素诱导的细胞毒性的中和剂。在初步结合筛选中从总共40x50-板实验

鉴定了约12,000个毒素特异性阳性物。这等同于大约5亿个B细胞的筛选。在逆转录(RT)-PCR后,从通过显微操作从约100个毒素中和孔收获的单细胞分离重链和轻链可变区基因对。随后将这些V区基因克隆为用于大鼠可变区的小鼠IgG1/ κ 全长抗体和用于兔可变区的兔IgG/ κ 全长抗体。在HEK-293瞬时表达系统中再表达抗体。随后再测试这些重组抗体的在基于细胞的测定中中和毒素的能力。重组抗体也通过BIAcore筛选来测定对于给定的毒素结构域的亲和力,以及还测定抗体对毒素的特异性和结合事件的大致数目。基于细胞的测定中的体外活性,选择先导候选物(lead candidate)来进行人源化。除非另外声明,否则本文中的所有数据都使用人源化抗体来产生。

[0559] 产生了一组重组大肠杆菌产生的毒素片段(TcdA)、艰难梭菌来源的毒素或类毒素(A)和合成肽(B),或购自商业来源。

[0560] 表1.用于筛选和免疫的毒素A(TcdA)序列相关试剂。

[0561]

片段	残基编号	来源
TcdA催化	M1-E659	UCB大肠杆菌表达
TcdA迁移	K577-D1350	UCB大肠杆菌表达
TcdA CROPS ₁₂₃ (TcdA123)	S1827-D2249	UCB大肠杆菌表达
TcdA CROPS ₄₅₆ (TcdA456)	G2205-R2608	UCB大肠杆菌表达
TcdA CROP ₁	S1827-N1978	UCB大肠杆菌表达
TcdA CROP ₂	G1966-N2133	UCB大肠杆菌表达
TcdA CROP ₃	G2100-D2249	UCB大肠杆菌表达
TcdA CROP ₄	G2213-N2381	UCB大肠杆菌表达
TcdA CROP ₅	G2328-N2494	UCB大肠杆菌表达
TcdA CROP ₆	G2462-N2609	UCB大肠杆菌表达
TcdA CROP ₇	R2554-D2701	UCB大肠杆菌表达
TcdB催化	M1-A593	UCB大肠杆菌表达
TcdB迁移	R576-D1349	UCB大肠杆菌表达

[0562]

TcdB结合(TcdB1234)	S1833-E2366	UCB大肠杆菌表达
TcdB CROP ₁	S1833-S1981	UCB大肠杆菌表达
TcdB CROP ₂	G1968-D2113	UCB大肠杆菌表达
TcdB CROP ₃	G2100-E2247	UCB大肠杆菌表达
TcdB CROP ₄	G2234-E2366	UCB大肠杆菌表达
毒素A	全长	购买的
毒素B	全长	购买的
类毒素A	全长	购买的

[0563] 表2.用于筛选和免疫的毒素B(TcdB)序列相关试剂。

[0564]

毒素结构域	氨基酸序列	
催化	SPVEKNLHFVWIGGEVSD	SEQ ID NO: 173

催化	NLAAASDIVRL	SEQ ID NO: 174
催化	CGGVYLDVDMLPGIH	SEQ ID NO: 175
催化	CGGVYLDVDMLPGIHSDLFK	SEQ ID NO: 176
催化	CWEMIKLEAIMKYK	SEQ ID NO: 177
催化	CTNLVIEQVKNR	SEQ ID NO: 178
催化	PEARSTISLSGP	SEQ ID NO: 179
催化	CSNLIVKQIENR	SEQ ID NO: 180
催化	TEQEINSLWSFDQA	SEQ ID NO: 181
催化	TEQEINSLWSFDPEARSTISLSGPC	SEQ ID NO: 182
转运	NVEETYPGKLLLC	SEQ ID NO: 183
转运	Acetyl-CANQYEVRIINSEGR	SEQ ID NO: 184
转运	VNTLNAAFFIQLIC	SEQ ID NO: 185
转运	YAQLFSTGLNTIC	SEQ ID NO: 186
转运	CAGISAGIPSLVNNEL	SEQ ID NO: 187
转运	DDLVISEIDFNNSIC	SEQ ID NO: 188
转运	MEGGSGHTVT	SEQ ID NO: 189
转运	AVNDTINVLPITITEGIPIVSTILDGI	SEQ ID NO: 190

[0565]

	NLGAAIKEL	
结合	CGFEYFAPANTDANNIEGQA	SEQ ID NO: 191
结合	CGYKYFAPANTVNDNIYGQA	SEQ ID NO: 192
结合	CKYYFNTNTAEA	SEQ ID NO: 193
结合	CKYYFDEDTAEA	SEQ ID NO: 194

[0566] 艰难梭菌抗-毒素Mab的表达和纯化

[0567] 将单独的轻链和重链哺乳动物表达质粒以等摩尔组合,用于转染HEK-293或CHO-S细胞。对于小规模表达研究,使用lipofectamine和HEK-293细胞,而对于更大批的IgG的产生,至CHO-S内的电穿孔是优选的。

[0568] 将培养上清液加载至MabSelect SuRe柱(于PBS pH7.4中)上。利用100%0.1M的柠檬酸钠pH3.4缓冲液洗脱抗体。利用Tris.Cl pH8.0将样品中和至pH7.4。通过PBS pH7.4中的Superdex200凝胶过滤柱除去聚集体。

[0569] 表3

[0570]

抗体	细胞类型	SN(L)的体积	表达类型	纯化的量 (mg)
CA164_00997.g1_P3	CHO	10	瞬时	755.93
CA164_00922.g1_P3	CHO	0.5	瞬时	129.36
CA164_01125.g2_P3	CHO	10	瞬时	498.96
CA164_01151.g4_P3	CHO	5	瞬时	262.43

[0571] 实施例1.纯化的Mab对TcdA活性的体外中和

[0572] 在96孔聚苯乙烯板中运行所有中和筛选测定。测定使用在MEM+20%FCS, 2mM Q和NEAA中生长和筛选的CACO-2细胞。除非另外声明, 否则任何抗体组合以等摩尔比率存在。第1天: 将细胞以每孔3000个于50 μ l培养基中涂板, 温育24hr; 第2天: 将人源化Mab的纯化样品添加至96孔圆底聚苯乙烯无菌板; 将毒素A以足以产生适当的致死剂量的浓度 (即LD₈₀或以上) 掺入PP板, 在37℃温育1hr; 将50 μ l的该混合物添加至细胞板, 温育96hr; 在第5天: 添加亚甲蓝 (0.5%亚甲蓝, 50%乙醇); 在室温温育1hr; 利用1%N-十二烷基肌氨酸裂解细胞, 在BIOTEK Synergy2板读数器上于405nm进行读数。结果示于图12至24中。显示的EC₅₀和TcdA活性的最大中和百分比确认选择的抗体具有作为单一试剂的极高效力。这些抗体的2至5种的组合不提高最佳EC₅₀或最大中和百分比。当与MabCA922、923、995、997和1000组合时任何协同作用的不存在是非常重要的观察, 并且可归因于每一种抗体单独地具有特别高水平的亲和力和效力的事实。实施例5中的支持数据也显示一些Mab (例如CA997) 能够结合TcdA亚结构域许多次。因此, 这5种Mab似乎可能代表当靶向TcdA的C末端细胞结合结构域时可获得的最大亲和力、效力和效价。抗体在中和范围从LD₈₀变化至大于LD₉₅ (LD_{max}) 的极高毒素浓度时是有效的, 但对于高水平的[TcdA]观察到EC₅₀的一些适度的增加 (即效力的减小)。这些数据也是令人惊讶的, 因为其它数据已显示当测试升高的TcdA浓度时效力显著下降 (20)。

[0573] 此处描述的Mab (例如对于CA997) 的高效力和亲和力并不仅仅归因于它们的高结合效价。其它研究 (20和W006/071877) 描述了能够结合达到14次的抗-TcdA Mab。这些Mab仅具有在0.3至100nM的范围内的亲和力, 并且显示不完全的抗TcdA介导的细胞杀伤的保护作用: 单独地 (26-63%的保护作用) 或成对地 (31-73%的保护作用)。因此已显示对TcdA的结合的高效价不一定激起对TcdA的结合的高亲和力或中和。未描述Mab CDA-1的对TcdA的结合的亲和力和效价 (18和US7625559)。因此, 本文中描述的Mab具有令人惊讶的亲和力、效力和效价。

[0574] 表4单一TcdA浓度 (LD₈₀) 时的抗TcdA1、2和3Mab组合

抗体	最终(最高)Mab 浓度 ng/ml	EC ₅₀ (ng/ml)
922	500	1.21
923	500	160.42
995	500	37.64
997	500	6.25
1000	500	19.73
922+923	500	3.58
922+925	500	3.326
922+997	500	2.88
922+1000	500	2.64
923+995	500	60.23
923+997	500	7.54
923+1000	500	9.24
995+997	500	7.29
995+1000	500	19.63
997+1000	500	4.46
922+923+995	500	4.72
922+923+997	500	3.23
922+923+1000	500	3.21
922+995+997	500	2.22
922+995+1000	500	2.85
922+997+1000	500	2.22
923+995+997	500	5.04
923+995+1000	500	9.49
995+997+1000	500	5.84
922+923+995+997	500	2.75
922+923+995+1000	500	3.75
922+995+997+1000	500	3.46
923+995+997+1000	500	4.81
922+923+997+1000	500	3.06
922+923+995+997+1000	500	4.72

[0576] 表5. 不同TcdA浓度时的抗TcdA单一、成对和三个一组的Mab组合,其中TcdA在其LD₈₀,LD₉₀,LD₉₅和LD_{max}。

[0577]

毒素 TcdA	样品	最终 Mab 浓度 ng/ml	EC ₅₀ (ng/ml)
@3000 pg/ml(LD _{MAX})	922	500	4.89
	997	500	10.99
	1000	500	50.17
	922+997	500	7.18
	922+1000	500	6.99
	997+1000	500	9.437
	922+997+1000	500	10.80
	922+997+1000+995	500	15.03
	922+997+1000+995+923	500	7.16
@ 1000 pg/ml(LD ₉₅)	922	500	1.24
	997	500	3.42
	1000	500	9.60
	922+997	500	1.85
	922+1000	500	2.51
	997+1000	500	3.61
	922+997+1000	500	2.40
	922+997+1000+995	500	2.74
	922+997+1000+995+923	500	2.38
@ 700 pg/ml(LD ₉₀)	922	500	0.84
	997	500	2.40
	1000	500	6.23
	922+997	500	1.19
	922+1000	500	1.33
	997+1000	500	2.68
	922+997+1000	500	1.84

[0578]		922+997+1000+995	500	2.17
		922+997+1000+995+923	500	2.06
	@ 350 pg/ml(LD₈₀)	922	500	0.39
		997	500	1.18
		1000	500	2.76
		922+997	500	0.67
		922+1000	500	0.85
		997+1000	500	2.06
		922+997+1000	500	0.83
		922+997+1000+995	500	0.97
		922+997+1000+995+923	500	0.98

[0579] 实施例2. 纯化的Mab的抗TcdB体外中和作用

[0580] 测定法描述:

[0581] 在96孔聚苯乙烯板中进行所有中和筛选测定。

[0582] 测定使用在MEM+20%FCS, 2mM Q和NEAA中生长和筛选的CACO-2细胞。除非另外声明, 否则所有Ab组合以等比率存在。

[0583] • 第1天: 以每孔3000将细胞于50μl培养基中涂板, 温育24hr

[0584] • 第2天: 将人源化Mab的纯化样品添加至96孔圆底聚苯乙烯无菌板中

[0585] • 将毒素B批次#031掺入PP板, 在37℃温育1hr

[0586] • 将50μl的该混合物添加至细胞板中

[0587] • 温育96hr

[0588] • 第5天: 添加亚甲蓝 (0.5%亚甲蓝, 50%乙醇)

[0589] • 在室温温育1hr

[0590] • 用1%N-十二烷基肌氨酸裂解细胞

[0591] • 在BIOTEK Synergy2板计数器上于405nm进行读数

[0592] 图25至33中的数据显示: 就百分比最大中和作用和活性 (EC₅₀) 而言, 单独的单一Mab在中和TcdB上是相对无效的。然而, 当将2种和3种抗体组合时, 在百分比最大中和作用和活性 (EC₅₀) 上观察到相当大的改善。1125和1151被选择作为最佳配对, 尽管观察到其它良好配对: 1125+1153、1125+1134。

[0593] 最有效的Mab配对凭经验地选择, 并且当考虑每一种Mab的单个效力时, 并回顾地发现产生预料之外的令人惊讶的组合。例如, 在表6中, 仅CA927具有可导致确定的EC₅₀的TcdB中和效力, 然而CA1125和CA1151的TcdB中和效力在这些测定条件下都不足以导致确定的EC₅₀。然而, 发现CA927不是组合内使用的最有效的Mab。最佳的含CA927的组合具有13.5ng/ml的EC₅₀, 然而其它两种Mab组合具有低至2.59和4.71ng/ml的EC₅₀。在另一个实例中, 在表8中, CA1099在使用的测定条件下具有最低TcdB中和EC₅₀。然而, 发现CA1099不是组

合中使用的最有效Mab。最佳的含CA1099组合具有6ng/ml的EC₅₀，然而其它两种Mab组合具有低至2和1ng/ml的EC₅₀。我们可推测最有效的Mab配对通过它们的协同结合方式来确定，特别是如通过具有非重叠表位来确定。

[0594] 表6. 抗-TcdB Mab组合和在恒定毒素浓度时的相对Mab比率

[0595]

样品	最终Mab浓度ng/ml	EC ₅₀ (ng/ml)
1125.g2	1000	>1000
1134.g5	1000	>1000
927.g2	1000	12.89
1153.g8	1000	>1000
1102.g4	1000	>1000
927+1099	1000	>1000
927+1102	1000	>1000
927+1114	1000	>111.111
927+1125	1000	13.55
927+1134	1000	51.58
1099+1114	1000	>1000
1102+1114	1000	>333.333

[0596]

1102+1125	1000	15.51
1114+1134	1000	19.70
1114+1151	1000	25.69
1114+1153	1000	27.48
1125+1134	1000	2.59
1125+1151	1000	4.71
1125+1153	1000	21.23
1125+1134+1114	1000	3.77
1125+1134+927	1000	2.63
1125+1151+1114	1000	4.90
1125+1151+927	1000	5.69
1125.g2+1134.g5+927.g2	1000	5.83
1125.g2+1134.g5+1153.g8	1000	9.89
1125.g2+1134.g5+1102.g4	1000	2.72

[0597] 实施例3. 纯化的Mab的组合对TcdB的中和作用

[0598] 在96孔聚苯乙烯板中进行所有中和筛选测定。

[0599] 测定使用在MEM+20%FCS, 2mM Q和NEAA中生长和筛选的CACO-2细胞。

[0600] • 第1天: 以每孔3000将细胞于50μl培养基中涂板, 温育24hr

[0601] • 第2天: 将人源化Mab的纯化样品添加至96孔圆底聚苯乙烯无菌板中

[0602] • 将毒素B (VPI10463) 掺入PP板, 在37℃温育1hr

- [0603] • 将50 μ l的该混合物添加至细胞板中
- [0604] • 温育72hr
- [0605] • 第5天:添加亚甲蓝(0.5%亚甲蓝,50%ETOH)
- [0606] • 在室温温育1hr
- [0607] • 用1%N-十二烷基肌氨酸裂解细胞
- [0608] • 在BIOTEK Synergy2板计数器上于405nm进行读数
- [0609] 结果示于图34至45。
- [0610] 这些数据显示在一系列毒素浓度时中和TcdB的最佳Mab配对是CA1125和CA1151。此外,1125+1151组合大体上不受相对摩尔比率的变化影响,这与1125+1153相反。
- [0611] 表7. 抗-TcdB Mab组合和在3个不同的毒素浓度时的相对Mab比率

[0612]		EC50 值(ng/ml)		
	抗体组合	TcdB LD60	TcdB LD77	TcdB LD85
	1125.g2 + 927.g2 (50:50)	2.8	6	11.3
	1125.g2 + 1102.g4 (50:50)	4	13	44
	1125.g2 + 1114.g8 (50:50)	3.5	7.1	25.4
	1125.g2 + 1134.g5 (50:50)	0.48	1.4	4
	1125.g2 + 1151.g4 (50:50)	0.85	0.85	1.5
	1125.g2 + 1153.g8 (50:50)	2.7	5.2	25.2
	1125.g2 + 1134.g5 (25:75)	<0.15	0.84	7.2
	1125.g2 + 1151.g4 (25:75)	0.73	1	2.1
	1125.g2 + 1153.g8 (25:75)	7	10	27
	1125.g2 + 1134.g5 (75:25)	0.66	1.2	2.5
	1125.g2 + 1151.g4 (75:25)	1.4	1.2	8.3
1125.g2 + 1153.g8 (75:25)	2.9	7.5	30	

[0613] 数据显示甚至最具有活性的特异性配对的组合具有令人惊讶地和不可预测地彼此相对不同的性质。等摩尔比率的CA1125与CA1151的优选组合的EC₅₀大体上不受递增的[TcdB]影响。测试的Mab的3个相对摩尔比率(即25:75相对于50:50相对于75:25)具有彼此极其相似的EC₅₀,从而表明CA1125和CA1151特别地具有互补作用模式。这与CA1125与CA1134的组合相反,在所述CA1125与CA1134的组合中,对于更高[TcdB],EC₅₀的增加(即效力的减少)更显著,并且其中3个Mab摩尔比率效力不同:25:75的CA1125:CA1134比率的效力明显低于50:50和75:25。这表明CA1125+CA1134的组合效力更加依赖于CA1125组分。CA1125与CA1153的所有3个摩尔组合的EC₅₀基本上不受递增的[TcdB]影响,从而表明CA1153是不太适合的与CA1125的组合的伴侣。总体上,这些数据显示CA1125和CA1151是特别有利的组合,因为最高效力在一系列Mab与TcdB的摩尔比率上得到维持。

[0614] 表8.TcdB中和-在恒定毒素剂量 (LD₈₀) 时的1种或2种抗-TcdB

[0615]

抗体	IC50 (ng/ml)
1099	2
1102	N/A
1114	103
1125	N/A
1134	8
1151	182
1153	260
926	N/A
927	N/A
1099+1125	6
1114+1125	7
1151+1125	2
1134+1125	1
1102+1125	6
1125+1153	12
926+1125	42
927+1125	4

[0616] 表9.TcdB中和-在不同TcdB剂量时的1种或2种抗-TcdB Mab

[0617]

抗体组合	EC50 值(ng/ml)			最大中和		
	TcdB	TcdB	TcdB	TcdB	TcdB	TcdB
	LD75	LD86	LD90	LD75	LD86	LD90
1125.g2	n/a	n/a	n/a	40%	25%	15%
1114.g8	n/a	n/a	n/a	45%	25%	15%
1134.g5	n/a	n/a	n/a	45%	25%	15%
1151.g4	n/a	n/a	n/a	45%	25%	20%
1153.g8	28.3	n/a	n/a	65%	35%	28%
1125.g2+1114.g8(50:50)	10.1	243.8	n/a	85%	65%	40%
1125.g2+1134.g5(50:50)	1.7	22.6	n/a	87%	60%	40%
1125.g2+1153.g8(50:50)	6.1	32.2	n/a	95%	75%	48%
1125.g2+1151.g4(50:50)	0.8	2.8	19.1	85%	80%	55%
1125.g2+1151.g4(25:75)	1.2	2.8	47.2	85%	75%	60%
1125.g2+1151.g4(75:25)	2.9	3.8	2.6	75%	70%	60%

[0618] 这些数据显示Mab的组合,特别是CA1125与CA1151的组合,改善了效力(如通过EC₅₀测量的,还有如通过百分比最大保护作用测量的)。百分比最大保护作用在本测定法中具有特别的相关性,因为将Mab:TcdB混合物与细胞一起温育了很长时间(72h)。因为TcdB在2-4小时内pg/ml的范围内对于Caco-2细胞是有毒的,该测量可被认为是非常难的Mab中和能力的测试,并且可在它们的结合动力学或模式方面反映Mab混合物的能力。继而,当大量TcdB可在组织内存在许多小时时,这可反映Mab混合物在建立的感染过程中保护免受TcdB的作用的能力。

[0619] 在图46-59中进一步显示了来自表6-9的选择的数据。

[0620] 实施例4.Mab对TcdB亚结构域的结合的效价

[0621] 可在Biacore3000 (GE Healthcare) 上通过表面等离子体共振 (SPR) 来测定抗-艰难梭菌TcdB抗体对TcdB₁₂₃₄的结合事件的摩尔数。通过胺偶联将链霉抗生物素蛋白固定在CM5传感器芯片 (GE Healthcare) 上至~4000RU的水平,生物素化的TcdB₁₂₃₄在500-600RU被结合。以10μl/min在该表面上方进行2次20μl的相同抗-TcdB抗体混合物(每一种抗体的终浓度为500nM)的注射,记录饱和结合反应。在每一轮后使用HCl再生表面。使用对仅有链霉抗生物素蛋白的参照流动池的反应来针对本底结合校正所有数据。

[0622] 表10.TcdB₁₂₃₄上的IgG结合位点的数目的表面等离子体共振分析

抗体组合	结合循环重复的次数	结合反应(RU)	相对于 CA927 平均反应的结合
CA1125.g2	10	750	0.9
CA1151.g4	10	1232	1.6
CA1125_CA1151	4	1941	2.5
CA1125_CA927	3	1570	2.0
CA1151_CA927	3	1959	2.5
CA927	8	791	1.0

[0624] 相对于多个CA927平均反应来表达所有反应(表10的最后一列),因为CA927似乎代表仅结合TcdB₁₂₃₄一次的Mab。

[0625] 当结合至TcdB₁₂₃₄时,固定的CA1125不允许CA1125进一步结合,从而支持CA1125在TcdB₁₂₃₄上具有一个结合位点并且在该位点已被饱和后未能发现CA1125的其它结合位点的想法。然而,当TcdB₁₂₃₄已被CA1125饱和后,CA1151仍然可结合。这表明CA1151在作为被CA1125占据的位点的替代位点上结合。这些数据一起显示了CA1125是TcdB₁₂₃₄的单结合剂,然而1151IgG结合TcdB₁₂₃₄超过一次,最可能地2次。因此,CA1125与CA1151的混合物可结合TcdB₁₂₃₄大致3次。

[0626] 所有抗体组合具有额外的结合反应,显示了在TcdB₁₂₃₄上存在2个或更多个被这些组合结合的非竞争性位点。

[0627] 实施例5.Mab对TcdA亚结构域的结合的效价

[0628] 在Biacore3000 (GE Healthcare) 上通过表面等离子体共振 (SPR) 测定抗-艰难梭菌TcdA抗体对TcdA₁₂₃和A₄₅₆的结合事件的摩尔数。通过胺偶联将链霉抗生物素蛋白固定在

CM5传感器芯片(GEHealthcare)上至~4000RU的水平,以及将生物素化的TcdA₁₂₃结合至一个流动池,将TcdA₄₅₆结合至不同流动池至~500RU的反应。以10 μ l/min在两个流动池上方进行2次30 μ l的1 μ M的相同抗-TcdA抗体的注射,记录饱和结合反应。在每一轮后,使用HCl再生表面。使用对仅有链霉抗生物素蛋白的参照流动池的反应来针对本底结合校正所有数据。

[0629] 表11. IgG对固定的TcdA₁₂₃和TcdA₄₅₆的结合反应的SPR分析

[0630]		CA997	CA1000	CA997/CA1000 的比率
	TcdA123	1069	166	6
	TcdA456	1285	407	3

[0631] 抗体CA997和CA1000以6个CA997对1个CA1000的比率结合TcdA₁₂₃,然而它们以3个CA997对1个CA1000的比率结合TcdA₄₅₆(表2)。

[0632] 就分子量和固定的毒素水平进行了修正的CA997针对TcdA₁₂₃与针对TcdA₄₅₆的最大抗体反应相似。这表明CA997结合TcdA₄₅₆6次并且CA1000结合TcdA₄₅₆2次。因此抗体CA997可能结合完整TcdA毒素(TcdA)约12次。

[0633] 总体上CA997结合A₁₂₃6次或更多次,结合A₄₅₆6次或更多次,然而CA1000结合A₁₂₃至少1次,结合A₄₅₆2次。

[0634] 增加的对TcdA和TcdB结合的效价可具有两个重要的体内作用。第一个作用是能够结合TcdB超过一次的任何Mab或Mab混合物将具有增加的形成毒素间结合事件和从而免疫沉淀的潜能。免疫沉淀可通过降低毒素的溶解性和形成非常大的大分子复合物(这从而降低毒素的有效工作浓度)来提供效力。这样的大的蛋白质复合物可被驻留在组织中的巨噬细胞和单核细胞吸收并且可能促成增强的宿主免疫应答。具有Fc片段的抗原:抗体复合物已明确地显示能够引发抗肠病原体的宿主免疫反应(21)。同样地,可溶性抗原:抗体复合物已在人临床试验中被成功地用作抗病原体疫苗(22)。此外,利用具有Fc的IgG对毒素的免疫修饰可促成通过肝和脾使用正常机制进行的免疫清除。一般而言,更高水平的抗原的Fc修饰导致更快更完全水平的消除(23)。极其重要地,每毒素2个或更多个Mab Fc结构域的存在,特别是每毒素3个Fc结构域的存在,可能可以代表毒素的极快速的和大量清除所需的Fc的临界数目(24)。抗-TcdA Mab CA997可能能够结合TcdA多至12次,CA1125与CA1151的组合可能能够结合TcdB3次。因此3种Mab的混合物极可能能够在体内提供这些类型的额外的效力机制。

[0635] 实施例6.由TcdA引起的TEER的丢失的Mab中和

[0636] 使用Becton-Dickinson(BD)Caco-2BioCoat HTS平板系统进行艰难梭菌单层完整性测定。

[0637] 第1天-将Caco-2细胞以每孔2x10⁵/ml于500 μ l基础接种培养基(由BD提供)中接种在插入板中。将35ml的基础接种培养基添加至进料盘。将细胞在37℃温育24小时。第2天-从插入板除去基础接种培养基,替换为Entero-STIM分化培养基(由BD提供)。每孔添加500 μ l,向进料盘中添加35ml。将细胞在37℃再温育72小时。第5天-以相对于待用于聚丙烯板中的测定孔的浓度的2倍的浓度制备的抗体和毒素A。将毒素A以125ng/ml的浓度添加至抗体,将板在37℃温育1hr。将1ml的Caco-2生长培养基(MEM+20%FCS,2mM Q,NEAA)添加至标准24孔

TC板的每一个孔。将BioCoat插入板转移至24孔TC板。从插入板除去Entero-STIM培养基,替换为400 μ l的毒素:Ab混合物。

[0638] 肠细胞之间的紧密连接的丧失是TcdA对细胞单层和肠组织切片的重要早期作用,并且是腹泻的主要原因。白蛋白和其它血清蛋白质随同伴随的血清液一起流失至肠腔中。已形成单层的分化的培养细胞的跨上皮电阻的丢失是抗TcdA的急性作用的保护作用的有用替代。显示的3种抗体具有良好水平的抗TEER丢失的保护作用,图62。令人瞩目和惊讶的是这些Mab在TEER测定中的能力不反映在毒素中和中看到的能力,如在细胞增殖测定中测量的。CA922在细胞增殖测定中具有最佳性能($EC_{50}=1.21\text{ng/ml}$),然而这被在细胞增殖测定中具有小于10倍的效力的抗体(CA1000)远远超过($EC_{50}=19.73\text{ng/ml}$)。CA997在TEER测定中具有最佳性能,因为其具有高水平的保护作用并且在更低的Mab浓度上维持该保护作用。CA997具有很大的可能在第4小时时以达到80%的最大抑制和约80ng/ml的 EC_{50} 中和TEER丢失。这些观察是预料之外的,因为所述Mab全都具有对于TcdA结构域的高亲和力(CA922 $\sim 4\text{pM}$ 、CA997 $\sim 132\text{pM}$ 、CA1000 $\sim 73\text{pM}$)。这些数据表明CA997和CA1000识别在TEER丢失中是重要的表位或通过与对其它Mab不同的机制中和TcdA。此外,由于CA1000据估计结合完全毒素2次(一次在TcdA123中以及一次在TcdA456中),因此CA1000可确定TcdA细胞结合区域内的‘TEER决定性’表位,这可能对确定疫苗免疫原具有特殊价值。结果示于图62中。

[0639] 实施例7. 抗-艰难梭菌毒素抗体对于TcdA和TcdB的亚结构域:TcdA₁₂₃、TcdA₄₅₆和TcdB₁₂₃₄的亲合力

[0640] 通过在BIAcore3000上使用CM5传感器芯片进行的表面等离子体共振测定抗-艰难梭菌TcdA和TcdB抗体的相互作用的动力学常数。

[0641] 所有实验在25 $^{\circ}\text{C}$ 进行。通过胺偶联化学将特异性Affinipure F(ab')₂片段山羊抗-人IgG、Fc片段(Jackson ImmunoResearch)固定在CM5传感器芯片(GE)上至 ~ 7000 反应单位(RU)的捕获水平。以10 $\mu\text{L/min}$ 的流速将HBS-EP缓冲液(10mM HEPES pH7.4, 0.15M NaCl, 3mM EDTA, 0.005%表面活性剂P20, Biacore AB)用作运行缓冲液。将10 μL 的1 $\mu\text{g/ml}$ 或更低的每一种抗体通过注射用于利用固定的抗-人IgG、Fc进行的捕获。以30 $\mu\text{L/min}$ 的流速,从12.5nM开始以二倍稀释在捕获的纯化的抗体上滴定TcdA₁₂₃、TcdA₄₅₆或TcdB₁₂₃₄。对于存在于培养上清液中的抗体,以30 $\mu\text{L/min}$ 在抗体上通过单个浓度的12.5nM的TcdA₁₂₃或TcdA₄₅₆和50nM的TcdB₁₂₃₄。在 $n=2$ 时计算动力学。以10 $\mu\text{L/min}$ 的流速通过两次10 μL 的40mM HCl的注射和5 μL 的5mM NaOH的注射再生表面。

[0642] 按照标准方法使用BIAevaluation软件(3.2版)分析扣除两倍参照本底的结合曲线。根据拟合算法测定动力学参数。

[0643] 表12. 抗-TcdA Mab亲和力和结合动力学

[0644]

	抗体 ID	ka(1/Ms)	kd(1/s)	KD(M)	KD(pM)	材料/测定
TcdA123	CA164_00922.g1	1.09E+06	4.43E-06	4.06E-12	4.06	纯化的 Mab 5 点滴定
	CA164_00923.g1	5.36E+05	3.47E-05	6.47E-11	64.7	
	CA164_00995.g1	无结合			无结合	
	CA164_00997.g1	7.84E+05	1.03E-04	1.32E-10	132	
	CA164_01000.g1	1.33E+05	9.78E-06	7.33E-11	73.3	
	CA164_00993.g1	9.00E+05	5.00E-06	5.56E-12	5.56	上清液 2x 1 点滴定
TcdA456	CA164_00922.g1	1.29E+06	3.33E-06	2.59E-12	2.59	纯化的 Mab 5 点滴定
	CA164_00923.g1	6.16E+05	1.92E-04	3.12E-10	312	
	CA164_00995.g1	2.87E+05	3.42E-05	1.19E-10	119	
	CA164_00997.g1	9.21E+05	6.15E-05	6.68E-11	66.8	
	CA164_01000.g1	3.55E+05	2.98E-05	8.41E-11	84.1	
	CA164_00993.g1	1.25E+06	5.00E-06	4.00E-12	4.00	上清液 2x 1 点滴定

[0645] 表13. 抗-TcdB Mab亲和力和结合动力学

[0646]

	抗体 ID	ka(1/Ms)	kd(1/s)	KD(M)	KD(pM)	材料/测定
TcdB1234	CA164_1125.g2	2.64E+05	3.23E-05	1.22E-10	122	纯化的 Mab 3 点滴定
	CA164_1151.g4	7.49E+05	4.13E-04	5.51E-10	551	纯化的 Mab 3 点滴定
	CA164_926.g1	1.38E+05	7.12E-05	5.16E-10	516	上清液 2x 1 点滴定
	CA164_927.g2	3.97E+05	3.61E-05	9.11E-11	91	纯化的 Mab 3 点滴定
	CA164_1099.g2	5.24E+05	1.63E-05	3.10E-11	31	纯化的 Mab 3 点滴定
	CA164_1102.g4	1.17E+05	3.78E-04	3.25E-09	3250	上清液 2x 1 点滴定
	CA164_1114.g2	2.87E+05	1.97E-03	6.87E-09	6870	上清液 2x 1 点滴定
	CA164_1114.g8	2.55E+05	1.85E-03	7.25E-09	7250	上清液 2x 1 点滴定
	CA164_1129.g1	1.89E+05	2.30E-04	1.22E-09	1220	上清液 2x 1 点滴定
	CA164_1134.g5	5.09E+05	2.45E-05	4.81E-11	48	纯化的 Mab 3 点滴定
	CA164_1153.g8	1.43E+05	4.48E-05	3.14E-10	314	纯化的 Mab 3 点滴定

[0647] 抗-TcdA亲和力相较于公开的其它Mab的亲和力特别高。我们证明低至4pM的亲和力是可实现的。优选的CA997具有132pM的亲和力,CA1125具有122pM的亲和力,CA115具有551pM的亲和力。CA995明确地显示其不结合CROPs A₁₂₃,从而以令人惊讶和意外的方式显示此处显示的Mab具有彼此不同的性质。CA922、923、997和1000结合CROPs A₁₂₃和A₄₅₆至少一

次。因此这4种Mab确认了每一种必须结合完全毒素至少2次。我们因技术限制而不能得出这些Mab对完全毒素的结合的亲合力。然而,鉴于针对抗-TcdA Mab显示的高亲和力和效价,可能推测抗完全毒素的功能性亲和力可能甚至比针对对毒素亚结构域的结合证明的所述功能性亲和力更强。抗-TcdBMab还显示达到低至31pM的强亲和力。具体地,CA1125、1151、927、1099、1134和1153显示超过由其它抗体显示的亲和力的亲和力。

[0648] 实施例8.艰难梭菌抗-毒素人源化IgG1分子的生物物理学表征

[0649] 分析的分子

[0650] 抗-TcdA IgG1:

[0651] CA164_00922.g1

[0652] CA164_0923.g1

[0653] CA164_0995.g1

[0654] CA164_0997.g1

[0655] CA164_01000.g1

[0656] 抗-TcdB IgG1

[0657] CA164_01125.g1

[0658] CA164_01125.g2

[0659] CA164_01134.g4

[0660] CA164_01134.g5

[0661] CA164_01134.g6

[0662] CA164_01102.g1

[0663] CA164_01102.g4

[0664] CA164_01151.g4

[0665] 抗体组合需要由具有高水平稳定性的Mab组成以在长期贮存中减小聚集的潜在风险。热稳定性(T_m)用作一个量度。对于Mab混合物特别有价值的是测量它们对因物理应激例如搅拌或摇动而聚集的倾向性。聚集体是药物组合物的不想要的组分,因为它们可减少贮存期限,并且可在某些水平上对患者产生安全性风险。T_m数据显示所有5种抗-TcdA Mab具有高T_m稳定性,而3种(CA922、923和997)具有在79-81℃的范围内的极高T_m。在测试的抗-TcdB Mab中,除两个外全都具有极高的T_m。注意在仓鼠感染研究(实施例9)中测试的CA997、CA1125和CA1151具有极高的T_m(分别地79.2℃、79.3℃和80.8℃),这使得它们适合用于Mab混合物。

[0666] 在摇动聚集测定中,CA997和922具有最低的对5种抗-TcdA Mab的聚集的倾向性。类似地,CA115和1151具有最低的抗-TcdB Mab的聚集倾向性。因此,CA997、1125和1151作为Mab混合物的用途可具有特别的价值,因为它们更可能在共配制后保持活性,以及以高蛋白质浓度贮存。

[0667] 利用毛细管IEF估计等电点(pI)

[0668] 通过混合下列组分来制备样品:30ul的2mg/ml的蛋白质样品、0.35%的甲基纤维素、4%的pH3-10两性电解质(Pharmalyte)、合成的pI标准产品(4.65和9.77)、各1ul的原液和加HPLC级水至200ul的终体积。随后使用iCE280IEF分析仪(在1500V预聚焦1min,随后在3000V聚焦6min)分析混合物。随后使用Empower软件(来自Waters)整合校准的电泳图。

[0669] 通过Thermofluor测定法测量的热稳定性 (T_m)

[0670] 本方法使用Sypro橙荧光染料监控蛋白质结构域的解折叠过程。染料结合作为解折叠的结果而变得暴露的暴露的疏水区域,这导致发射光谱的改变。

[0671] 将样品 (5ul, 1mg/ml) 与5ul的Sypro橙的原液 (30x) 混合, 利用pH7.40的PBS使体积达到50ul。

[0672] 将10ul的该溶液的等份添加至384孔板的孔中 ($n=4$)。

[0673] 将板置于包含用于精确温度控制的加热装置的7900HT快速实时PCR系统中。使温度从20℃升高至99℃ (1.1℃/min的升降温速度)。CCD装置同时监控孔中的荧光变化。将算法用于处理强度数据并且将多重转变 (multiple transitions) 加以考虑。

[0674] 通过搅拌对样品进行应激

[0675] 在制备过程中, 将抗体样品经历通过方法例如抽吸和过滤产生的机械应激。这可引起由于蛋白质对气-液界面和剪切力的暴露而引起的变性和随后聚集, 从而导致生物活性的最终丢失。通过涡旋产生的应激是筛选抗体样品鲁棒性以用于预测聚集稳定性的方法。

[0676] 将抗-TcdA和抗-TcdB IgG1分子经历通过搅拌, 通过涡旋 (在25℃, 以1400rpm使用Eppendorf Thermomixer Comfort) 产生的应激。样品大小为250uL (x3/样品), 在1.5mL圆锥形Eppendorf-式加帽的管 (塑料) 中, 于PBS pH7.4中进行。使每一种样品达到1mg/ml的浓度 (使用从序列计算的消光系数), 通过使用Varian Cary50-Bio分光光度计, 在一定间隔 (总共达到24小时) 测量的340nm和/或595nm处的吸光度监控聚集。

[0677] 结果: 表14提供了针对抗-TcdA和抗-TcdB IgG1分子测量的pI和 T_m 数据的总结

[0678] 表14.pI和 T_m 数据的汇编

	测量的 pI	PBS 中的 Tm(Fab)	Tm(CH2)
抗-TcdA IgG1			
CA164_00922.g1	8.8	81	69.2
CA164_0923.g1	9.2	79	69.3
CA164_0995.g1	8.5	71	无数据*
CA164_0997.g1	8.3	79.2	68.4
CA164_01000.g1	7.74	70.5	无数据*
抗-TcdB IgG1			
CA164_01125.g1	9.2	79.3	69.4
CA164_01125.g2	9.2	79.5	69.3
CA164_01134.g4	9.3	78.4	69.4
CA164_01134.g5	9.2	76.4	69.2
CA164_01134.g6	9.2	76.6	69.6
CA164_01102.g1	9.1	69	无数据*
CA164_01102.g4	9.1	69.1	无数据*
CA164_01151.g4	9.2	80.8	69.8

[0680] *表示不可能辨别Fab和CH2结构域。

[0681] 测量的pI

[0682] 分子的测量的pI是高的(除CA164_01000.g1_P3外)并且远离配制缓冲液例如PBS, pH7.4和50m醋酸钠/125m氯化钠, pH5的pH。这可表示可选择具有适合于两种或更多种Mab的共配制的pH的缓冲液。

[0683] 通过Thermofluor测定法测量的热稳定性(Tm)

[0684] 由于所有分子是IgG1,因此Fc结构域的Tm(Tm(CH2))相同。分子之间热稳定性的差异可通过Fab'结构域的Tm(Tm(Fab))来测定。

[0685] 对于抗-TcdA分子,等级次序(首先是最稳定的)为CA922 $\geq$ 997>923>995>1000,对于抗-TcdB分子(首先是最稳定的)是CA1151.g4>1125.g1,g4>1134.g4>1134.g5 $\geq$ 1134.g6>1102.g1=1102.g4。

[0686] 通过搅拌进行的样品的应激反应

[0687] 测定不同抗体之间的不同聚集稳定性是可能的,图67显示通过涡旋对PH7.4的PBS中的不同抗-TcdA IgG1分子的搅拌的作用。

[0688] 确定等级次序(首先最稳定聚合的)是可能的:CA922 $\geq$ 997>923 $\geq$ 995>1000。

[0689] 图68显示通过涡旋对不同抗-TcdB分子的搅拌的作用。

[0690] 确定聚集稳定性的等级顺序是可能的,以便CA1125移植物表现比CA1134分子更稳定,所述CA1134分子比CA1102分子更稳定。

[0691] 进行了进一步研究以直接比较抗-TcdB分子(CA1151.g4)与更稳定的分子CA1125.g2(参见图2)和更加聚集稳定的抗-TcdA分子(CA922.g1和CA997.g1)的聚集稳定性。结果可见于图69中。

[0692] 这4种Mab的其它结果也示于图67和68中。

[0693] 对于抗-TcdA分子CA922.g1和CA977.g1,基于上述分析,CA922是优选的,尽管除CA1000外,所有分子可被当作用作治疗性IgG1的适当候选者。

[0694] 对于抗-TcdB分子,可基于聚集稳定性和T_m将生物物理学特征归类在移植物的家族内,以便CA1125移植物潜在地证明更加稳定。CA1102移植物显示最差的T_m数据并且还显示最大的对通过应激(通过搅拌产生的)产生的聚集的倾向性。

[0695] 使用CA1151.g4的研究显示该分子相较于CA1125.g2显示略微增加的聚集稳定性并且似乎等于TcdA分子(CA922.g1和CA997.g1)。所有4种分子都显示相等的T_m值。CA997、CA1125和CA1151显示极高水平的热稳定性和在搅拌后极低水平的聚集体形成。

[0696] 实施例9.抗-艰难梭菌毒素Mab仓鼠感染研究

[0697] 仓鼠感染研究由Ricerca Biosciences LLC,Cleveland,Ohio,USA来进行。研究方案由Ricerca IACUC委员会批准。在完成计划的28天的研究期之前,活性组分和对照组分(组成和剂量)对于Ricerca员工来说是未知的。

[0698] 将Golden Syrian雄性仓鼠(体重82-103g,54日龄)单个地圈养在HEPA过滤的一次性笼子中,并且随意地喂食Teklad Global Diet2016和水。适应后,利用Mab混合物或PBS(媒介物对照)给仓鼠预给药(i.p.),每天一次,进行4天:第-3、-2、-1和0天。研究了两个剂量的Mab:高剂量=各50mg/kg的抗-TcdA和抗-TcdB组分;低剂量=各5mg/kg的抗-TcdA和抗-TcdB组分。

[0699] 测试的药物组合由下列组成:一种构成50%的注射蛋白的抗-TcdA抗体(CA997.g1)和共同构成50%的注射蛋白(但单独地构成25%的注射蛋白)的两种抗-TcdB抗体(CA1125.g2和CA1151.g4)。在刺激之前,利用50mg/kg的PBS中的克林霉素磷酸酯使仓鼠致敏(s.c.)(第-1天),1天后(第0天)用 3.4×10^6 c.f.u.的来自菌株ATCC43596的营养细胞进行刺激。在第1、2、3、4、5天每天两次以5mg/kg施用(p.o.)万古霉素即进行5天。

[0700] 每两天一次对动物进行存活性检查,将被发现濒死的动物无痛致死,并将其计数为死亡。在给药的每一天测定体重,随后每周2次测定体重直至对存活者者实施无痛致死术。对所有动物进行肉眼尸检。利用Kaplan和Meier的方法产生存活曲线。使用相较于P=0.005的Bonferroni修正的阈值的来自时序检验的P值分析存活曲线。分析不包括万古霉素处理的组。利用Prism v5.04进行所有统计检验。所有组包含11只动物,除包含5只动物的万古霉素对照组外。

[0701] 存活曲线可见于图63中。接受PBS(对照)的仓鼠在第+2和+3天都死亡,然而接受5天万古霉素处理的组在第+10和+11天都死亡。接受高剂量的UCB Mab混合物的仓鼠直至第+11天都存活,此后直至28天的研究结束仅两只动物死亡。接受低剂量的UCB Mab混合物的仓鼠直至第+3天都存活,此后动物相当稳定地失去,直至第+16天,此时所有动物都死亡。当与在仓鼠中使用抗-毒素Mab的公开的数据(18)相比较时,本数据显示异常水平和持续时间的

保护作用。这些体内数据支持中和和稳定性的极高水平的性能的体外观察。

[0702] 在感染的急性期(第1-5天)期间死亡与体重之间不存在明显的关联性,图64-65。因此,可猜测仓鼠死于TcdA和TcdB的压倒性直接和间接作用。因中和Mab的部分保护作用(UCB低剂量)而活过急性期的仓鼠重量减轻,假定归因于肠损伤和改变的营养状况。值得注意的是许多因UCB高剂量Mab的保护作用而持续活过28天的研究期的仓鼠从体重减轻恢复并且事实上甚至体重增加。这可被当作UCB Mab使得肠正常发挥作用的优良保护作用的证据

[0703] 表15. 总体病理学评分

组	黑色盲肠	暗红色盲肠	红色盲肠	粉红色盲肠	正常盲肠	肛门生殖器染色‘湿尾症’	红色小肠
[0704] PBS 对照	1	9	1	0	0	1	1
UCB 低	0	4	5	2	0	4	1
UCB 高	0	0	1	1	9	3	0

[0705] 很清楚,UCB Mab能够保护大肠和小肠免受由TcdA和TcdB引起的血液渗出。

[0706] 结果示于图63至66。

[0707] 图66中的照片显示了由TcdA和TcdB引起的盲肠的膨胀和血液渗出(左图,PBS对照,动物在第2天死亡)的典型肉眼检测病理学和在利用UCB高剂量Mab的保护后充满粪便的正常盲肠(右图,UCB高剂量,动物存活至第28天)。这些数据显示在利用高剂量的UCB Mab保护后,大肠可恢复至正常形态和功能。

[0708] 实施例10. 纯化的Mab对来自不同核糖体分型的菌株的TcdA的中和作用

[0709] 临床感染由多种不同的菌株引起。使用许多方法(其中核糖体分型是至关重要的)表征菌株差异。观察到不同的核糖型菌株具有不同的致病性、感染和芽孢形成性质。所有上文中显示的TcdA中和使用从称为VPI10463的菌株纯化的TcdA。然而,与暴发相关的优势侵袭性致病性菌株称为核糖型027。其它重要的核糖型包括078、001、106。已在由不同核糖型产生的毒素之间观察到氨基酸序列差异,因此重要的是Mab能够中和来自不同组的临床分离株的毒素。测试CA922、997和1000中和来自菌株027和078的TcdA的能力,将其与它们抗来自VPI10463的TcdA的能力相比较。在4个[TcdA]测试Mab,发现其能够中和所有毒素而在LD₈₀、LD₉₀和LD₉₅无显著差异。

[0710] 表16

抗体	EC50 值(ng/ml) – TcdA 菌株 VPI 10463			
	LD80	LD90	LD95	LDmax
[0711] CA164_922	0.27	0.9	1.2	>500
CA16_997	1	2.5	3.5	25.4
CA164_1000	3.6	13.5	19.3	>500

[0712] 表17

[0713]

EC50 值(ng/ml) – TcdA 核糖型 027				
抗体	LD80	LD90	LD95	LDmax
CA164_922	0.19	0.25	0.41	1.46
CA16_997	0.92	1.27	1.75	7.19
CA164_1000	2.25	2.49	3.52	16.32

[0714] 表18

[0715]

EC50 值(ng/ml) – TcdA 核糖型 078				
抗体	LD80	LD90	LD95	LDmax
CA164_922	0.11	0.12	0.25	0.68
CA16_997	0.33	0.64	1.11	2.57
CA164_1000	2.04	2.41	5.03	14.16

[0716] 实施例11.PK数据

[0717] 在健康仓鼠中进行的人IgG1 (20mg/kg) 的PK研究。发现仓鼠PK具有与小鼠或大鼠中的Mab相似的半衰期($t_{1/2}$ 6-8天)。i.p.和s.c.给药基本上相同。

[0718] 在‘正常’(非感染的)golden Syrian仓鼠中研究了hIgG1Mab的药代动力学和至肠的分配。通过CARE Research LLC, Fort Collins, Colorado, USA将纯化的Mab施用至雄性仓鼠(120-135g), 利用UCBPharma测定样品。研究获得CARE IACUC委员会批准。8只动物各自接受单一剂量的20mg/kg的IgG1, 4只i.p.给药, 4只s.c.给药。在给药后1、3、8、24、48、72、103和168小时收集血液, 分离血清, 随后在-80℃贮存。还从两只未处理的仓鼠采集血液以提供测定对照。在无痛致死后, 从每一只仓鼠的盲肠联接处向前切取2cm长的结肠。用洗涤缓冲液(50%(v/v)含50%(v/v) Sigma蛋白酶抑制剂混合物(P2714)的PBS)冲洗结肠片段, 随后打开、分离并从下面的肌肉取出粘膜。将粘膜样品置于0.5ml的洗涤缓冲液中进行匀浆, 直至目视均匀, 在于湿冰上立即装运之前将其在4℃贮存。对于抗-人IgG1, 利用山羊F(ab')₂抗-人IgG-Fc γ 片段(Jackson109-006-098)于0.1M NaHCO₃pH8.3中涂覆ELISA Nunc maxisorp96孔板, 过夜, 用PBS-Tween (PBS/0.1%(v/v) Tween20)洗涤板, 随后用1.0%(w/v)的PBS中的BSA&0.1%(v/v) Tween封闭板。将血清样品在样品-缀合物缓冲液(1%(w/v)的PBS中的BSA, 0.2% Tween)中进行稀释, 洗涤后, 利用样品-缀合物缓冲液中的山羊抗-人 κ -HRP (Cambridge Bioscience2060-05)和2.5M H₂SO₄终止溶液中的TMB显色。

[0719] 肠、粘膜和血清水平:

[0720] 此后取出从在第168小时时间点上采集的血液收集的的血清样品和结肠样品。

[0721] 第168小时的20mg/kg IP

[0722]

样品	ng/mL/cm粘膜	血清 μ g/mL
1001	23.2	75.0
1002	13.7	90.8

1003	21.8	70.5
1004	53.8	119.4

[0723] 第168小时的20mg/kg SC

[0724]

样品	ng/mL/cm粘膜	血清 $\mu\text{g/mL}$
2001	41.4	108.7
2002	62.1	76.6
2003	35.6	163.7
2004	37.3	153.3

[0725] 血清数据

		仓鼠 <i>i.p.</i>		仓鼠 <i>s.c.</i>	
		平均值	平均值的 SE	平均值	平均值的 SE
C_{max}:	$\mu\text{g/mL}$	202	12	186	21
T_{max}:	hr	36	7	76	16
AUC_(last):	hr$\cdot\mu\text{g/mL}$	22626	1378	22371	2258
AUC_(inf):	hr$\cdot\mu\text{g/mL}$	43287	7169	61290	17637
百分比外推:		43.7	9.2	54	11.7
CL/F	mL/hr/kg	0.50	0.07	0.43	0.13
MRT_{inf}	h	223	53	310	88
t_{1/2,z}:	h	149.2	36.9	188.5	61.9

[0727] 数据也示于图70和71中。

[0728]

仓鼠 ID		平均值	SE
IP 血清药理学			
C_{max} :	$\mu\text{g/mL}$	202	12
T_{max} :	hr	36	7
$AUC_{(last)}$:	$\text{hr}\cdot\mu\text{g/mL}$	22626	1378
$AUC_{(inf)}$:	$\text{hr}\cdot\mu\text{g/mL}$	43287	7169
百分比外推:		43.7	9.2
CL/F	mL/hr/kg	0.50	0.07
MRT_{inf}	h	223	53
$t_{1/2,z}$:	h	149.2	36.9
SC 血清药理学			
仓鼠 ID		平均值	SE

[0729]

C_{max} :	$\mu\text{g/mL}$	186	21
T_{max} :	hr	76	16
$AUC_{(last)}$:	$\text{hr}\cdot\mu\text{g/mL}$	22371	2258
$AUC_{(inf)}$:	$\text{hr}\cdot\mu\text{g/mL}$	61290	17637
百分比外推:		54	11.7
CL/F	mL/hr/kg	0.43	0.13
MRT_{inf}	h	310	88
$t_{1/2}$:	h	188.5	61.9

[0730] 还显示hIgG1可见于肠的‘削刮的碎屑’，即hIgG1进入健康肠的血管系统-从而在‘预防性给药’中可具有保护性。该作用在人中甚至更重大，因为它们具有同源hFcRn。

[0731] 实施例12.具有艰难梭菌感染的仓鼠的血清水平

[0732] 本研究是测定i.p.施用(下面详述的不同剂量)后Golden Syrian仓鼠中的CA725.0、CA726.0、CA997.g1CA1125.g2和CA01151.g4的血清浓度。

[0733] 在胰蛋白酶消化后使用液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)分析定量人源化Mab。通过将已知浓度掺入空白基质的真正的标准材料与用作内部标准的掺入的马肌红蛋白相比较来实现定量。

[0734] 选择对于所有研究的人源化Mab是共同的独特(“裂解蛋白质(proteotypic)”)肽(DTLMISR,CH2区肽),如所概述的使用胰蛋白酶消化样品和校准样品。在利用乙腈/Tris(2-羧乙基)胍变性/还原和利用碘乙酰(Sigma-Aldrich,Poole,UK)进行胺基甲酰-甲基化之后,使用测序级的修饰的胰蛋白酶对5 μ l血清样品进行胰蛋白酶消化过夜。

[0735] LC-MS/MS系统由CTC HTS-x自动采样器(CTC Analytics,Zwingen,Switzerland)、Agilent1290LC系统(Agilent Technologies,Stockport,UK)和配备有以电喷雾模式操作的Turbo V离子源的Sciex5500QTrap MS系统(AB Sciex,Warrington,UK)组成。使用Onyx Monolithic C18柱(100x4.6mm,Phenomenex,Macclesfield,UK),通过以1.5mL/min递送的2至95%(v/v)的水/乙腈(0.1%的甲酸)的梯度分离分析物,进行6分钟。注射体积为10 μ L;将所有洗脱剂引入质谱仪源。将质谱仪的源温度维持在600 $^{\circ}$ C,并且将其它源参数(例如碰撞能、去簇电压、帘式气压等)最优化以获得对目标肽的最大敏感性。监控每一个目标裂解蛋白质的选择跃迁(selective transition)。

[0736] 对于所有目标分析物,选择独特的(“裂解蛋白质”)肽;在胰蛋白酶消化后分析样品。

[0737] 基于监控的肽计算的血浆浓度概述于下文中。

[0738] 对于CA164_00997和CA164_01151,在MRM描述(MRM trace)中观察到干扰峰。为此,不能定量样品中的这两种分析物。

[0739] 使用对于所有目标分析物来说是共同的肽来定量所有样品中的总h-IgG。这使用所有5种分析物的组合标准曲线来进行。该方法的有效性通过这样的事实来证明:对于CA164_00725和CA164_00726观察到的浓度之和与对于总的h-IgG观察到的浓度充分一致(在实验误差内)。

[0740] 通过使用该方法,测定利用CA164_00997、CA164_01125和CA164_01151给药的动物的样品中的h-IgG的总浓度。

[0741] 总体上,获得的数据表明全部5个目标分析物的暴露对于给定的剂量是相似的。

[0742] 研究组

不知情 标记		处理组分					
		实际处理	剂量天数				
组	处理			抗毒素 A	抗毒素 B		
	4	处理3	媒介物 PBS 5mL/kg i/p/	3,-2,-1,0			
	2	万古霉素	万古霉素 5mg/kg b.i.d.p.o.	1,2,3,4,5			
[0743]	1	处理1	UCB LD*	3,-2,-1,0	CA997.g1_P3	CA1125.g2_p3	CA1151.g4_P3
			5mg/kg A 5mg/kg i.p.		5mg/kg	25mg/kg	25mg/kg
	5	处理4	UCB HD*	3,-2,-1,0	CA997.g1_P3	CA1125.g2_P3	CA1151.g4_P3
			50mg/kg A 50mg/kg i.p.		50mg/kg	25mg/kg	25mg/kg
	6	处理5	竞争剂 LD*	3,-2,-1,0	CA726_P3	CA725_P3	
			5mg/kg A 5mg/kg i.p.		5mg/kg	25mg/kg	
	3	处理2	竞争剂 HD*	3,-2,-1,0	CA726_P3	CA725_P3	
			50mg/kg A 50mg/kg i.p.		50mg/kg	50mg/kg	

[0744] 表19

组/时间	天	动物编号	剂量	血清浓度 $\mu\text{g/mL}$ 总的 h-IgG
[0745]	1	44	5 mg/kg	280
	1	45		302
	1	46	997,	182
	6	45	2.5 mg/kg	61
	6	47	1125, 2.5	71
	6	49	mg/kg 1151	45

[0746]

3	1	60	50 mg/kg 725, 50 mg/kg 726	3040
	1	61		3330
	1	62		2990
	6	62		583
	6	63		913
	6	64		1240
	28	64		199
	28	65		36
4	1	71	媒介物	nd
	1	72		nd
	1	73		nd
5	1	82	50 mg/kg 997, 25 mg/kg 1125, 25 mg/kg 1151	3050
	1	83		2790
	1	84		2370
	6	82		838
	6	83		645
	6	84		855
	28	82		116
	28	83		65
	28	84		66
	28	85		44
	28	86		101
	28	87		89
	28	88		27
	28	89		31
	28	90		66
6	1	93	5 mg/kg	335
	1	94	725,	322
	1	95	5 mg/kg 726	260

[0747]		6	200		103
		6	202		62
		6	203		79
		28	203		nd

[0748] nd-未检测到(对于所有分析LOQ=2.5μg/mL)

[0749] na-未分析:对于997和1151观察到样品中的干扰

[0750] 表20. 抗体CA725是现有技术抗体MDX1388。抗体CA726是如描述的现有技术抗体CDA1 (15)。该数据的概述示于图72中。

组	盲肠病状					小肠病状	
	黑色	暗红色	红色	粉红色	正常	暗红色	红色
PBS 对照	1	9	1	0	0	0	1
高 MDX 50mg/Kg x4	0	1	4	4	2	1	0
高 UCB 50mg/Kg x4	0	0	1	1	9	0	0

[0752] 参考资料

[0753] 1.Kuehne,S et al.,“The role of toxin A and toxin B in Clostridium difficile Infection”Nature (2010) 467:711-713.

[0754] 2.Davies AH et al.,“Super toxins from a super bug:structure and function of Clostridium difficile toxins”Biochem.J (2011) 436:517-526.

[0755] 3.Rothman,S et al.,“Differential Cytotoxic Effects of Toxins A and B Isolated from Clostridium difficile”Infect.Imm. (1984) 46:324-331.

[0756] 4.Du,T and Alfa,MJ“Translocation of Clostridium difficile toxin B across polarized Caco-2cell monolayers is enhanced by toxin A”Can J Infect Dis. (2004) 15:83-88.

[0757] 5.Kim,Iaconis and Rolfe.“Immunization of Adult Hamsters against Clostridium difficile-Associated Ileocectitis and Transfer of Protection to Infant Hamsters”Infect.Imm. (1987) 55:2984-2992

[0758] 6.Rupnik JCM(2003) 41:1118-1125

[0759] 7.Chaves-Olarte JBC(1999) 274:11046-11052.

[0760] 8.Lylerly,DM et al.,“Passive Immunization of Hamsters against Disease Caused by Clostridium difficile by Use of Bovine Immunoglobulin G Concentrate”Infection and Immunity(1991) 59:2215-2218.

[0761] 9.Lylerly,DM et al.,“Vaccination against Lethal Clostridium difficile

Enterocolitis with a Nontoxic Recombinant Peptide of Toxin A"Current Microbiology (1990) 21:29-32.

[0762] 10.Lylerly,DM et al., "Characterization of Toxins A and B of Clostridium difficile with Monoclonal Antibodies" Infect.Imm. (1986) 54:70-76.

[0763] 11.Corthier et al., "Protection against Experimental Pseudomembranous Colitis in Gnotobiotic Mice by Use of Monoclonal Antibodies against Clostridium difficile Toxin A" Infect.Imm. (1991) 59:1192-1195.

[0764] 12.Kink JA and Williams JA, "Antibodies to Recombinant Clostridium difficile Toxins A and B Are an Effective Treatment and Prevent Relapse of C.difficile-Associated Disease in a Hamster Model of Infection" Infect.Imm. (1998) 66:2018-2025.

[0765] 13.Ma D,et al.,Progenics inc.ASM Poster27th May2010

[0766] 14.Hansen,G and Demarest,SJ.WO2006/0718877A2

[0767] 15.Babcock GJ,et al., "Human monoclonal antibodies directed against toxins A and B prevent Clostridium difficile-induced mortality in hamster" Infect.Imm. (2006) 74:6339-6347.

[0768] 16.Lowy I et al., "Treatment with Monoclonal Antibodies against Clostridium difficile Toxins" NEJM (2010) 362:197-205.

[0769] 17.Zubler,R.H.,Erard,F.,Lees,R.K.,Van,L.M.,Mingari,C.,Moretta,L.& MacDonald,H.R. (1985).Mutant EL-4thymoma cells polyclonally activate murine and human B cells via direct cell interaction.J.Immunol.134,3662-3668

[0770] 18.Babcook,J.S.,Leslie,K.B.,Olsen,O.A.,Salmon,R.A.&Schrader,J.W. (1996).A novel strategy for generating monoclonal antibodies from single, isolated lymphocytes producing antibodies of defined specificities.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A93,7843-7848

[0771] 19.Tickler,S.,Adams,R.,Brown,D.,Griffiths,M.,Lightwood,D.&Lawson,A. (2010).High-Throughput Screening for High Affinity Antibodies.,pp.303-307.

[0772] 20.Demarest et al.,mAbs (2010) 2:190-198

[0773] 21.Yoshida et al.,J.Clin.Invest. (2006) 116:2142-2151

[0774] 22.Xu et al.,Vaccine (2005) 23:2658-2664.

[0775] 23.Yousaf et al.,Clin.Exp.Immunol. (1986) 66:654-660

[0776] 24.Mannik et al.,J.Exp.Med. (1971) 133:713-739

[0777] 25.Nusrat et al.,Infection and Immunity (2001) 69:1329-1336

[0778] 26.Lima et al.,Infect Immun (1988) 56:582-588

[0779] 27.Ravichandran et al J of Pharmacology and Experimental Therapeutics. (2006) 318:1343-1351

[0780] 28.Takahashi et al., (2009) Vaccine27:2616-2619

[0781] 29.Cohen et al.,Infect.Cont.and Hosp.Epidem. (2010) 31:431-455

[0782] 30.Barbut et al.,J.Clin.Microbiol. (2000) 38:2386-2388

[0783] 31.Wilcox et al.,J.Hospital Infection (1998) 38:93-100

<110> UCB Pharma S. A.
<120> 针对艰难梭菌的主要外毒素TcdA和TcdB的中和抗体
<130> G0159-W0
<150> US 61/535, 532
<151> 2011-09-16
<150> US 61/638, 731
<151> 2012-04-26
<160> 194
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的
<220>
<223> 抗体CDR
<400> 1
Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 2
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的
<220>
<223> 抗体CDR
<400> 2
Ser Ala Ser Ser Leu Ala Ser
1 5

<210> 3
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的
<220>
<223> 抗体CDR
<400> 3
Gln Tyr Thr His Tyr Ser His Thr Ser Lys Asn Pro
1 5 10

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的
<220>
<223> 抗体CDR
<400> 4
Gly Phe Thr Ile Ser Ser Tyr Tyr Met Ser
1 5 10

<210> 5
<211> 17

<212> PRT
 <213> 人工的
 <220>
 <223> 抗体CDR
 <400> 5
 Ile Ile Ser Ser Gly Gly His Phe Thr Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 6
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 6
 Ala Tyr Val Ser Gly Ser Ser Phe Asn Gly Tyr Ala Leu
 1 5 10

<210> 7
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体可变区

[0002]

<400> 7
 Asp Pro Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Ala
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Tyr Thr His Tyr Ser His Thr
 85 90 95

Ser Lys Asn Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 8
 <211> 330
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdA抗体922.gI的可变区的多核苷酸

<400> 8
 gaccctgtga tgaccagag tccgagcaact ctttctgcct ccgtgggaga ccgcgtgacc 60
 attacatgtc aggettcaca aagtatctcc aatgcctcgg cctggatatc gcagaaaccc 120
 ggcaaagccc ctaagctgct catctactct gcatcaagcc tggctagcgg cgtgcccaagc 180
 cgattcaagg ggagcggctc tggcactgag tttaacgtga ccatcagtag cttgcagcct 240
 gacgattttg caacctatta ctgccagtac acacactact cccatacacc taaaaaccca 300
 ttccggagggg gtactaagggt cgaataaaag 330

<210> 9
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗-TcdA抗体922的抗体可变区

<400> 9
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Ser Ser Gly Gly His Phe Thr Trp Tyr Ala Asn Trp Ala
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln
 65 70 75 80
 Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg
 85 90 95
 Ala Tyr Val Ser Gly Ser Ser Phe Asn Gly Tyr Ala Leu Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 115

[0003]

<210> 10
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdA抗体922的可变区(重链可变区)的多核苷酸

<400> 10
 gaagtgcact tgggtggaag tggcggagga ctggtgcaac ccgggggtag tcctgcactg 60
 agctgtgctg cctccgctt taccattagc tcctactata tgagctgggt tcgacaggcc 120
 cctggaaaag gactcgaatg gatcgccatc atatcttccg gtgggcattt caccctgtac 180
 gcaaacctggg ctaaggggag attcaccgatt agcagcgaact ccacaaccgt gtaacctgca 240
 atgaacagcc tgagggatga ggacactgcc acatatttct gcgcacgcgc ttacgtgagc 300
 ggaagctcat ttaattggctc tgcactgtgg gggcaaggaa cactcgtgac tgtctcgc 357

[0004]

<210> 11
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 11

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

<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 12

Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 13
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 13

Gln Tyr Ser His Tyr Gly Thr Gly Val Phe Gly Ala
1 5 10

<210> 14
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 14

Ala Phe Ser Leu Ser Asn Tyr Tyr Met Ser
1 5 10

<210> 15
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 15

Ile Ile Ser Ser Gly Ser Asn Ala Leu Lys Trp Tyr Ala Ser Trp Pro
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 16
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 16

Asn Tyr Val Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Leu
 1 5 10

<210> 17
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗-TcdA抗体923的抗体可变区

<400> 17

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
 50 55 60

[0005]

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Tyr Ser His Tyr Gly Thr Gly
 85 90 95

Val Phe Gly Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 18
 <211> 330
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdA抗体923.gI的抗体可变区的多核苷酸

<400> 18
 gacgtcgiga tgactcagag cccatctagt ctgagcgcia gcgtcggaga ccgagtcaca 60
 attacctgtc aagcctccca gagcatctcc aactacctgg cctggtacca acagaaacct 120
 ggcaaggtgc ccaagctgct gatctatagt gcttcacac tgcgaagcgg cgttccgtca 180
 cgttttaagg gatctggctc tggcactcag ttcaccttga cgatctcaag cctgcagcca 240
 gaagatgigg ccacctatta ctgccagiat tccactacg gaactggggt gttcgggtgc 300
 tttggaggtg ggaccaaagt ggagataaag 330

<210> 19
 <211> 120

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗-TcdA抗体923的抗体可变区

<400> 19

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Phe Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Pro Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Arg Asn Tyr Val Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Leu Trp Gly
100 105 110

[0006]

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120

<210> 20

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 编码抗-TcdA抗体923.g1的抗体可变区的多核苷酸

<400> 20

gaagttcaac ttgtggaatc tggaggcggg ctcgtgcagc ctggtggaag ccttagactg 60

agctgcgctg catccgcatt ttccctgtcc aactactaca tgagctgggt gcgacaagca 120

ccaggcaagg gactggaatg gattggcatc ataagctccg gtteccaatgc cctgaaatgg 180

tacgcatcat ggccgaaagg ccgtcttacc ataagcaagg acctccaccac cgtctatcig 240

cagatgaact cattgcgtgc cgaggacact gcaacgtact tetgtgctcg caactacgtg 300

ggaagcggat ctattatgg catggatcig tggggacaag gtacactcgt gaccgtctcg 360

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 21

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Phe Ser
1 5 10

<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 22

Gly Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 23
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 23

Gln Cys Thr Asp Tyr Ser Gly Ile Tyr Phe Gly Gly
1 5 10

<210> 24
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 24

[0007]

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Tyr Met Ser
1 5 10

<210> 25
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 25

Ile Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Thr Phe Thr Trp Tyr Ala Ser Trp
1 5 10 15

Ala Lys Gly

<210> 26
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 26

Ala Tyr Val Gly Ser Ser Ser Tyr Tyr Gly Phe Asp Pro
1 5 10

<210> 27
<211> 110

<212> PRT
 <213> 人工的
 <220>
 <223> 抗-TcdA抗体993的抗体可变区
 <400> 27
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Phe Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Leu Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Cys Thr Asp Tyr Ser Gly Ile
 85 90 95
 Tyr Phe Gly Gly Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

[0008]

<210> 28
 <211> 330
 <212> DNA
 <213> 人工的
 <220>
 <223> 编码抗 TcdA抗体933.g1的抗体可变区的多核苷酸
 <400> 28
 gatgtcgtga tgactcagtc cccctctaca ttgagtgcct ctgtcgggtga tcgagttacc 60
 atcacctgtc aagcaagcca gagcatcagc tectacttct ctgtgtacca gcaaaagccg 120
 ggaaaagccc ctcaactgct gatttatggg gctcaaacac tggttctctgg cgtgccatca 180
 agattcaagg gatctggctc eggcactgag cttacactga ccattagctc cctgcaacct 240
 gacgattitg ctacctacta ctgccagtgc accgactata gtgggatata tttcggcgga 300
 ttggggggag ggacgaaagt ggaaatcaag 330
 <210> 29
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> 人工的
 <220>
 <223> 抗-TcdA抗体993的抗体可变区 (重链)
 <400> 29
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

<210> 30
 <211> 363
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdA抗体993.g1的抗体可变区的多核苷酸

[0009]

<400> 30
 gaagttcagc tggtcgagag cggaggcgga ctggtgcaac ctggtggtag cctgaaactc 60
 tcttgtagctg cctccgggtt ttccctgagc tcttactata tgtcatgggt gagacaggct 120
 cccgggaanag gattggaatg gatcgggaft atctctctcg gctcttccac cactttcaca 180
 tggtagcct catgggcaaa ggggaggttt accataagca agacaagcac gaccgtgtat 240
 cttcagatga actccctgaa gacggaggat acigccacct acttttgcgc tcgggcctat 300
 gtgggctcaa gctcttacta tggettcgac ccatggggac agggcacact tgtgaccgtc 360
 tcg 363

<210> 31
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 31

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Tyr Phe Ser
 1 5 10

<210> 32
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 32

Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser
 1 5

<210> 33
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 33

Gln Asn Asn Tyr Gly Val His Ile Tyr Gly Ala Ala
1 5 10

<210> 34
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 34

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr Asp Met Ile
1 5 10

<210> 35
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 35

[0010]

Phe Ile Asn Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 36
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 36

Val Asp Asp Tyr Ile Gly Ala Trp Gly Ala Gly Leu
1 5 10

<210> 37
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗 TcdA抗体995的抗体可变区

<400> 37

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Phe Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Ser Cys Gln Asn Asn Tyr Gly Val His Ile
 85 90 95

Tyr Gly Ala Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 38
 <211> 330
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdA抗体995.g1的抗体可变区的多核苷酸

<400> 38
 gacgtcgtga tgacacagag cccttcaaca ctgtctgcaa gcgtgggaga tagggtcacc 60
 ataacgtgcc aggcctctca atccatchac aactatttta gcctgtacca gcagaagcca 120
 ggcaaggttc cgaaacitct gatctaegga gcctccaacc tggcaagigg cgtgccalea 180
 cggttcaagg gatccgggag cgttactgag tataacctga ccatttcata tctccaaacc 240
 gacgatttcg ccacctactc ctgccagaat aattacggcg tgcacateta tggagctgcc 300
 tttggcggtg ggacaaaagt ggaaattaag 330

[0011]

<210> 39
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗-TcdA抗体995 的抗体可变区(重链)

<400> 39
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

Asp Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Asn Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ser Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Val
 85 90 95

Asp Asp Tyr Ile Gly Ala Trp Gly Ala Gly Leu Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser
115

<210> 40
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 编码抗-TcdA抗体的抗体可变区的多核苷酸

<400> 40
gaagttcagc tggtcgagag tgggggaggg ctgttgcaac ctgggtggctc cctcgtctg 60
agctgtactg ctctcggatt ctcactgagc aattacgaca tgatctgggt gcgacaggca 120
cccggcaaag gactggagta cattggcttc atcaacaccg ggggtataac gtactatgcc 180
tcatgggcta aggggcgctt tacaattagt agggattcct ctaccgtgta cctgcagatg 240
aactcactga gagccgagga cactgccaca tatttctgcg ctccggtgga tgactatata 300
ggggcctggg gcgcgggatt gtggggccaa ggaacactgg tcaccgtctc g 351

<210> 41
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 41

[0012]

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 42
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 42

Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 43
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 43

Leu Gly Val Tyr Gly Tyr Ser Asn Asp Asp Gly Ile Ala
1 5 10

<210> 44
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>

[0013]

<223> 抗体CDR

<400> 44

Gly Ile Asp Leu Ser Ser His His Met Cys
1 5 10

<210> 45

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 45

Val Ile Tyr His Phe Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Thr Gly
1 5 10 15

<210> 46

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 46

Ala Ser Ile Ala Gly Tyr Ser Ala Phe Asp Pro
1 5 10

<210> 47

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗-TcdA抗体997的抗体可变区

<400> 47

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

<210> 48

<211> 333

<212> DNA
 <213> 人工的
 <220>
 <223> 编码抗-TcdA抗体997.g1的抗体可变区的多核苷酸
 <400> 48
 gcactcgtga tgacacagag cccgagtagc tttagtgctt caaccgggtga tagggtcact 60
 attacttgcc aagectctca gagtatatct agetatctga gciggtacca gcaaaagccc 120
 gggaaggctc ctaaactgct gaictacegg gcttccacat tggectccgg cgttccctca 180
 cgcttttagcg gctccggatc cggaaccgag tacaccctga ctatctcttg cctgcaatct 240
 gaggacttgc caacctacta ttgtctgggc gtctacggat atagcaacga tgacgggatc 300
 gecttcggcg gcggtaccaaa agtggaatt aag 333

<210> 49
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗-TcdA抗体997的抗体可变区(重链)

<400> 49
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser His
 20 25 30
 [0014] His Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile
 35 40 45
 Gly Val Ile Tyr His Phe Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Thr
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Ala
 85 90 95
 Ser Ile Ala Gly Tyr Ser Ala Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser
 115

<210> 50
 <211> 348
 <212> DNA
 <213> 人工的
 <220>
 <223> 编码抗-TcdA抗体997.g1的抗体可变区(重链)的多核苷酸
 <400> 50
 gaggtgcaac ttgtggaaag cgggggagga ctggtgcagc ctgggggctc attgagactg 60
 agetgcaccg ttictggtat tgacctgagc tccatcata tgtgtgggt gcgccaggca 120
 cccgaaaag gaciggaata catcgcgctc atataccact ttggcictac atactatgcc 180

aactgggcaa ctgggcgatt cacaattagc aaggactcaa ctaccgttta cctgcaaatg 240
aatagcctga gggtcgagga tactgccacc tatttctgtg cccgggcttc aatcgccggc 300
tattctgect ttgatccatg ggggcaagga acactcgtga ccgtctcg 348

<210> 51
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 51

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 52

Asp Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

[0015]

<210> 53
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 53

Gln Gly Asn Ala Tyr Thr Ser Asn Ser His Asp Asn Ala
1 5 10

<210> 54
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 54

Gly Ile Asp Leu Ser Ser Asp Ala Val Gly
1 5 10

<210> 55
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 55

Ile Ile Ala Thr Phe Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 56
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 56

Thr Gly Ser Trp Tyr Tyr Ile Ser Gly Trp Gly Ser Tyr Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15

Met Asp Leu

<210> 57
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗-TcdA抗体1000的抗体可变区

<400> 57

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Tyr Ser Tyr
 20 25 30

[0016]

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Asn Ala Tyr Thr Ser Asn
 85 90 95

Ser His Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 58
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdA抗体1000. gI的抗体可变区的多核苷酸

<400> 58
 gaaatcgtga tgacgcagtc accaagcaca ctgagcgett ctgtgggaga tcgggtcaca 60
 ataacctgtc aggcctccca gagcatctac tcttatcttg catggtacca gcagaagcca 120
 gggaaagctc ccaagctget gatttatgac gccagcactt tggttccegg tgttcctagt 180
 aggttcaaag gctccggaag cggtagcgag tttaacctga ccatctcatc tetgcaaccc 240
 gatgactttg ccacatacta ttgccagggg aatgcctaca ctccaactc acacgacaac 300

gcatttcgggg gaggcaccaa agtcgaaatt aag 333

<210> 59

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗-TcdA抗体1000的抗体可变区(重链)

<400> 59

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Asp
20 25 30

Ala Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile
35 40 45

Gly Ile Ile Ala Thr Phe Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg
85 90 95

[0017] Thr Gly Ser Trp Tyr Tyr Ile Ser Gly Trp Gly Ser Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

<210> 60

<211> 375

<212> DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 编码抗-TcdA抗体1000. g1的抗体可变区(重链)的多核苷酸

<400> 60

gaagttcagc tggctcagag cggagggggt ttgattcagc ccggttgctc acttagattg 60

agctgcaccc tgtccggaat cgatctgtca tctgatgccg tgggctgggt gcgacaggca 120

cctgggaaag gactggagta tatagggaac atcgccacct tcgactccac atactacgct 180

agctgggcaa aaggcgctt tacgattagc aaggcctct ctactaccgt gtacctccaa 240

atgaactcac tgagggcaga ggacactgcc acttatttct gtctctggac cggtagctgg 300

tactacatct ctgctgggg ctctactat tatggcatgg acctgtgggg acaggggaca 360

ctcgtgaccg tctcg 375

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR
<400> 61
Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Leu Met His
1 5 10

<210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR
<400> 62
Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR
<400> 63
Gln Gln Thr Trp Asn Asp Pro Trp Thr
1 5

[0018] <210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR
<400> 64
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ala
1 5 10

<210> 65
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR
<400> 65
Ser Ile Ser Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 66

Val Ile Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala
1 5

<210> 67

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗-TcdB抗体926的抗体可变区

<400> 67

Asp Thr Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Leu
20 25 30

Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

[0019]

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Trp Asn Asp Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 68

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 编码抗-TcdB抗体926.g1的抗体可变区的多核苷酸

<400> 68

gataccgtgc tgaccagag ccctgctaca ttgtcactga gccccgggga gagggccaca 60
tigagctgcc gggtttcaaa atccgtgtcc accctcatgc actgggttca gcaaaagccc 120
gggcaggccc caaaactgct gatctaccte gcattetaacc ttgaatctgg cgtgccggcc 180
cgcttttagtg gctccggaag cggaaccgac tteacactga cgattagctc cctggagcct 240
gaggatttgc ccgtgtacta ttgccagcaa acttggaatg acccttggac tttcgggggc 300
ggtactaagg tcgaaataaa g 321

<210> 69

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗-TcdB抗体926的抗体可变区(重链)

<400> 69

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

<210> 70
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> 人工的

[0020]

<220>
 <223> 编码抗-TcdB抗体926.g1的抗体可变区(重链)的多核苷酸

<400> 70
 gaggtggaac tgctegaate tgggtggtggg ctggtgcagc ccggtggatc tctgagattg 60
 tcatgcgagg catccggett taccttttcc aaactacggaa tggcctgggt gagacaggcc 120
 ccaacgaagg ggctegaatg ggttacaagc atcagctctt ctgggggata tacttactat 180
 cgcgatagcg tcaaaggccg gtttaccatt agccgagata atgccaaatc aagcctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag ggctgaggac accgccacat actattgtac aaccgtgata 300
 aggggctacg tgatggagcg atggggacag gggacattgg ttaccgtctc g 351

<210> 71
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 71

Arg Ala Ser Gly Ser Val Ser Thr Leu Met His
 1 5 10

<210> 72
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

[0021]

<400> 72

Lys Ala Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 73

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 73

His Gln Ser Trp Asn Ser Asp Thr
1 5

<210> 74

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 74

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ala
1 5 10

<210> 75

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 75

Thr Ile Asn Tyr Asp Gly Arg Thr Thr His Tyr Arg Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 76

Ile Ser Arg Ser His Tyr Phe Asp Cys
1 5

<210> 77

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗-TcdB抗体927的抗体可变区

<400> 77

Asp Thr Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Ser Val Ser Thr Leu
20 25 30

Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Trp Asn Ser Asp Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 78
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 编码抗-TcdB抗体927.g2的抗体可变区的多核苷酸

[0022]

<400> 78
gacacacaga tgaccacagag cccatccact ttgtctgcat ccgtggcgga ccgagtgaca 60
atcacctgta gagcaagcgg ttccgtgagc aactgatgc attggtacca gcagaagcct 120
gggaaggctc ccaagctgct gatctacaaa gccagcaacc ttgcctecgg cgttccaagc 180
cggttatagc gtccggatc tggaaaccgag ttcacctga ccatacaag cctgcaaccc 240
gacgacttcg ccacctacta ttgccaccag agctggaata gcgacacgtt cgggcaaggc 300
acaaggctgg aaatcaaa 318

<210> 79
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗-TcdB抗体927的抗体可变区(重链)

<400> 79

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

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

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

Ala Thr Ile Asn Tyr Asp Gly Arg Thr Thr His Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ser Ile Ser Arg Ser His Tyr Phe Asp Cys Trp Gly Glu Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser
115

<210> 80

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 编码抗-TcdB抗体927.g2的抗体可变区(重链)的多核苷酸

<400> 80

gaggtgcaac ttgtggaag cggagggggc gtgtccaac ccggaagaag tctccgtett 60

tcttgcgcc caagtggctt caccttttcc aactacggaa tggccitgggt tcgacaagct 120

cctgggaaag gattggagtg ggtggccact atcaactatg acggacgcac gacacactac 180

cgagactctg ttaagggcg ctttacgatt tcccgegaca atagcaagag caccctctac 240

ctgcaaatga atagcctccg ggccgaggat actgctgtgt actatigtac ctccatctca 300

cggagccact acttcgattg ctggggacaa ggcacactcg tgactgtctc g 351

[0023]

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 81

Lys Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn His Leu Ala
1 5 10

<210> 82

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 82

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 83

[0024]

Gln Gln Tyr Asp Glu Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 84
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 84

Gly Phe Ser Leu Gln Ser Tyr Thr Ile Ser
1 5 10

<210> 85
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 85

Ala Ile Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Leu Pro Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 86
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 86

Pro Arg Trp Tyr Pro Arg Ser Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 87
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗-TcdB抗体1099的抗体可变区

<400> 87

Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn His
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Ala Asn Lys Leu Leu Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Glu Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 88
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 编码抗-TcdB抗体1099, g2的抗体可变区的多核苷酸

<400> 88
gacgtccagc tcactcaatc tccctccctt ctgctcgtt ctgtgggaga tcgcgtgaca 60
ataacctgea aggcctccaa atcaattagc aaccatctgg catggtatca ggagaagcct 120
ggcaaagcca ataagctgct gatccactcc ggetcaactc tgcaatccgg taccccaagc 180
cgatttagcg gatctgggag cggaaaccgag ttcacactta ccattagctc ccigcaaccg 240
gaggactteg ccacctatta ctgccagcaa tacgacgaat acccctatac gtteggecaa 300
gggacaagat tggaaatcaa gcgtacg 327

<210> 89
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗-TcdB抗体1099的抗体可变区(重链)

[0025]

<400> 89

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Gln Ser Tyr
20 25 30

Thr Ile Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
85 90 95

Arg Pro Arg Trp Tyr Pro Arg Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser
115

<210> 90
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdB抗体1099. g2的抗体可变区(重链)的多核苷酸
 <400> 90
 gaagttcage tgcaggaatc tggacctggc ttggtgaaac caagcgagac acttagtctc 60
 acttgcaecg titecggett ctcccttcaa tcttacacga tctcttgggt gcggcaacca 120
 cccgggaaag gactggaatg gatcgagcc attagcgggg gagggagcac ctattacaac 180
 ttgcctctca agagccggt gaccatatcc cgtgacacaa gcaagagcca ggtttccctg 240
 aagctgagct ccgtgactgc tgcgatacg gcgttttact attgcaccgc acctcgctgg 300
 tatecccggt cctatttcca ctactgggga agaggcacac tggttaccgt ctcg 354

<210> 91
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 91
 Arg Ala Ser Gln Arg Ile Ser Thr Ser Ile His
 1 5 10

<210> 92
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工的

[0026]

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 92
 Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser
 1 5

<210> 93
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 93
 Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Leu Tyr Thr
 1 5

<210> 94
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDRs

<400> 94
 Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser Tyr Met Ala
 1 5 10

<210> 95
 <211> 17

<212> PRT
 <213> 人工的
 <220>
 <223> 抗体CDR
 <400> 95
 Ser Ile Ser Tyr Gly Gly Thr Ile Ile Gln Tyr Gly Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 96
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工的
 <220>
 <223> 抗体CDR
 <400> 96
 Arg Gln Gly Thr Tyr Ala Arg Tyr Leu Asp Phe
 1 5 10

<210> 97
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工的

[0027]

<220>
 <223> 抗-TcdB抗体1102的抗体可变区
 <400> 97
 Asn Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Ile Ser Thr Ser
 20 25 30
 Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Leu Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 98
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工的
 <220>
 <223> 编码抗-TcdB抗体1102.g4的抗体可变区的多核苷酸

<400> 98	aacatcgtgc tgacacagtc tctgcaacc ctttcaetgt ctccaggtga acgagcaacc	60
	ctgagttgta gagccagtc gagatctcc acgagcattc actggtatca gcaaaagcct	120
<210> 99	gggcaagctc ccagactctt gatcaagtac gcctctcaga gcataagtgg cattccagct	180
	aggtttagcg gctcaggtc aggaacagac ttcactctga ccatcagctc cctggaaccg	240
<211> 119	gaggacttgg ccgtctatta ctgccagcaa tcctactcca gtctgtacac ctccgggcag	300
	ggtactaac tggagataaa g	321
<212> PRT		
<213> 人工的		
<220>		
<223> 抗-TcdB抗体1102的抗体可变区(重链)		
<400> 99	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
	1 5 10 15	
<210> 100	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser	
	20 25 30	
<211> 357	Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile	
	35 40 45	
<212> DNA	Ala Ser Ile Ser Tyr Gly Gly Thr Ile Ile Gln Tyr Gly Asp Ser Val	
	50 55 60	
<213> 人工的	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr	
	65 70 75 80	
<220>	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
<223> 编码抗-TcdB抗体1002.g4的抗体可变区(重链)的多核苷酸	Ala Arg Arg Gln Gly Thr Tyr Ala Arg Tyr Leu Asp Phe Trp Gly Gln	
	100 105 110	
<400> 100		
<210> 100	gaagtgcagc tggtcgaatc cgggggaggt ttggtgcaac caggtggctc actgagactg	60
	agctgtgccg tttccggctt tacgttctca gacagttata tggcctgggt gcgtcaagca	120
<211> 357	cctggaaaag ggctggagtg gattgceagt atcagctaig gtgggaacct aatccagtac	180
	ggcgatagcg tcaagggcag gttaactatc tccagggaca acgccaagtc aagcctttac	240
<212> DNA	ctgcagatga attctctccg cgcagaggat accgctgtgt attactgcgc tagacggcag	300

ggaacctacg ctcgatacct ggacttctgg ggtcagggaa cactcgttac agtctcg 357

<210> 101
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 101

Arg Ala Ser Glu Ser Val Ser Thr Leu Leu His
1 5 10

<210> 102
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 102

Lys Ala Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

[0029]

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 103

His Gln Ser Trp Asn Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 104
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> Anitbody CDR

<400> 104

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ala
1 5 10

<210> 105
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 105

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

Gly

<210> 106
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 106

Tyr Gly Arg Ser His Tyr Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 107
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗-TcdB抗体1114的抗体可变区

<400> 107

Ala Thr Glu Met Thr Glu Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Ser Thr Leu
 20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

[0030]

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Trp Asn Ser Pro Pro
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 108
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdB抗体1114. g2的抗体可变区的多核苷酸

<400> 108

gcgacgcaaa tgactcagtc gccctcatcg cttagcgctt ccgtcggaga tagagtgcg 60
 atcacctgcc gcgcatcaga gtcggtgtcc acactcctcc actggatatca gcagaaaccg 120
 gggaaggcac caaaactctt gatctacaaa gccagcaacc ttgcgtccgg tgtcccgtca 180
 aggttctccg ggagcgggtt ggggacagac ttactttga ccatttcgtc gcttcagccg 240
 gaggacttcg ccacctatta ctgtcatcag tcatggaact cactctccac atttgccag 300
 ggaacgaaac tcgaatcaa g 321

<210> 109

<211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工的

 <220>
 <223> 抗-TcdB抗体I114的抗体可变区(重链)

 <400> 109
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ile Ile Asn Tyr Asp Ala Ser Thr Thr His Tyr Arg Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Tyr Gly Arg Ser His Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

[0031]

Leu Val Thr Val Ser
 115

<210> 110
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> 人工的

 <220>
 <223> 编码抗-TcdB抗体I114, g2的抗体可变区(重链)的多核苷酸

 <400> 110
 gaagtacaac tcgtagagtc agggggtggg ctggtccaac ctggcggtc cttcggtt 60
 tcgtgtgcgc cctcggttgc cacttttgc aattacggta tggcctgggt gaggcaggca 120
 ccagggaagg gtcttgagtg ggtagcgatc atcaactatg atgcaagcac caccactac 180
 agggatagcg tcaagggacg ctttactatc agecgggata atgcgaaatc ctgcctctat 240
 ctgcagatga actccctcag agccgaggac accgcagtgt actatfgcac acgatacggg 300
 cgctcgcaat atttcgacta ttggggacag gggacgctcg taactgtctc g 351

<210> 111
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 111

Arg Ala Ser Glu Ser Val Ser Thr Leu Leu His
 1 5 10

<210> 112
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> Anitbody CDR

<400> 112

Lys Ala Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 113

His Gln Ser Trp Asn Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 114
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 114

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ala
1 5 10

<210> 115
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 115

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

<210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 116

Tyr Gly Arg Ser His Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 117
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工的

[0032]

<220>
 <223> 抗-TcdB抗体I114 graft 8的抗体可变区
 <400> 117
 Asp Thr Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Ser Thr Leu
 20 25 30
 Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Lys Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Trp Asn Ser Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 118
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工的

[0033]

<220>
 <223> 编码抗-TcdB抗体I114, g8的抗体可变区的多核苷酸
 <400> 118
 gacacgggcc tgactcagtc gccctcatcg cttagcgcgt ccgtcggaga tagagtgacg 60
 atcacctgcc gcgcatacaga gtcgggtgcc acactcctcc aciggtatca gcagaaaccg 120
 gggaaggcac caaaactcct gatctacaaa gccagcaacc ttgcgtccgg tgtcccgta 180
 aggtctctcc ggagcgggtc ggggacagac tttactttga ccatttcgtc gcttcagccg 240
 gaggaacttc ccacctatta ctgtcatcag tcatggaact caccctccac atttgccag 300
 ggaacgaaac tcgaaatcaa g 321

<210> 119
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗-TcdB抗体I114 graft 8的抗体可变区(重链)
 <400> 119
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Ile Ile Asn Tyr Asp Ala Ser Thr Thr His Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Tyr Gly Arg Ser His Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser
115

<210> 120

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 编码抗-TcdB抗体1114.g8的抗体可变区的多核苷酸

<400> 120

gaagtacaac tcgtagagtc aggggggtggg ctggtccaac ctggcggtc cctteggett 60

tcgtgtgccg cctcgggatt cacgttttagc aattacggta tggectgggt gaggcaggca 120

ccagggaagg gtcttgagtg ggtagcgatc atcaactatg atgcaagcac caccactac 180

agggatagcg icaagggaag ctttactatc agccgggata atgcgaaatc ctgcgtctat 240

[0034]

ctgcagatga actccctcag agccgaggac accgcagtgt actattgcac acgatacggg 300

cgctcgcaact atttcgacta ttggggacag gggacgctcg taactgtctc g 351

<210> 121

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 121

Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Met Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 122

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 122

Asn Thr Asn Lys Leu His Thr
1 5

<210> 123

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 123

Leu Gln His Lys Ser Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 124

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 124

Gly Phe Thr Phe Arg Asp Ser Phe Met Ala
1 5 10

<210> 125

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 125

Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Asp Lys Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

[0035]

Gly

<210> 126

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 126

Leu Thr Ile Thr Thr Ser Gly Asp Ser
1 5

<210> 127

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗-TcdB抗体1125的抗体可变区

<400> 127

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

Tyr Asn Thr Asn Lys Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Lys Ser Phe Pro Tyr
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 128
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdB抗体1125.g2的抗体可变区的多核苷酸

<400> 128
 gatatacaaa tgactcagag ccctagctca ctgagcgtt ctgtgggcca tctgtigaca 60
 atcacttgca aagcaagcca gaacatctat atgtacciga attggtacca gcaaaaaccg 120
 ggaaaagctc ccaagcgctt gatttacaac accaataagc tgcataccgg cgtgccaagc 180
 cgttttagcg gatctggctc tggaaaccgaa tatacaactga ccataagctc cctgcaaccg 240
 gaagacttgg caacttacta ttgectccag cacaaatect tccctatac gttcggacaa 300
 gggaccaaac tggaaatcaa a 321

[0036]

<210> 129
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗-TcdB抗体1125的抗体可变区(重链)

<400> 129

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

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

Phe Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Asp Lys Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Leu Thr Ile Thr Thr Ser Gly Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 130
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 编码抗-TcdB抗体I125.g2的抗体可变区(重链)的多核苷酸

<400> 130
gaagtgcagc tggtcgaaag cggcggagga ttggtgcaac ctggtggctc tcttcgcctg 60
tcttgcgctg caagcggtt tacgttccgc gatagcttta tggttgggt gcgacaagct 120
cctgggaaag ggcctggaatg ggtcgttagc ataagctacg aaggcgacaa gacttactai 180
ggggactctg tgaagggcgg attcaccatt agccgagaca acgcaaagaa ctcctgtac 240
ctgcagatga actcctgcg tgccgaagat accgcctgt actattgcgc taggctgacg 300
atcactacaa gcggagatag ctggggacaa gggacaatgg tgaccgtctc gacg 354

<210> 131
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 131

[0037]

Lys Ala Ser Gln His Val Gly Thr Asn Val Asp
1 5 10

<210> 132
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 132

Gly Ala Ser Ile Arg Tyr Thr
1 5

<210> 133
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 133

Leu Gln Tyr Asn Tyr Asn Pro Tyr Thr
1 5

<210> 134
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 134

Gly Phe Ile Phe Ser Asn Phe Gly Met Ser
1 5 10

<210> 135

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 135

Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 136

Arg Ala Tyr Ser Ser Pro Phe Ala Phe
1 5

[0038]

<210> 137

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗-TcdB抗体1129的抗体可变区

<400> 137

Asp Thr Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln His Val Gly Thr Asn
20 25 30

Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ile Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asn Tyr Asn Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 138
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdB抗体1129. g1的抗体可变区的多核苷酸

<400> 138
 gacaaccaga tgactcagtc tccgtcaagc ctttctgcct ctgttgaga tcgagtcaca 60
 attacgtgca aggcaagcca acacgtgggt accaactgg actggtatca acagaagcca 120
 gggaaggtcc ccaaactgct gatctacgtt gccagtattc gctatacegg cgtgcctgat 180
 cgcttcaccg gaagcgggtc agggaccgat ttcacactga caatcagtc cctgcaacct 240
 gaagacgtgg ctacttacta ctgccigcag tacaactata atccctacac ctttgccag 300
 ggcaccaaac tggagataaa g 321

<210> 139
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗-TcdB抗体1129的抗体可变区(重链)

<400> 139

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

[0039]

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

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

Ala Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Thr Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Arg Arg Ala Tyr Ser Ser Pro Phe Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 140
 <211> 354
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdB抗体1129. g1的抗体可变区(重链)的多核苷酸

<400> 140
 gaggtgcaac ttgtggaate aggaggtggc gtggttcagc ccggtagatc acttcgtctg 60

agttgtgcaa caagcggctt tatcttctcc aacttcggga tgtcttgggt tagacagget 120
ccctgtaagg gectcgaatg ggtggctagt attageccaa ggggggaaa cgcctactat 180
agggacagcg tgaaggacg ctccactatc agccgagata aciccaagac cagcctgiat 240
ctgcagatga atagtctgag ggcgaggat accgcagtgt actactgcac tcgacgggcc 300
tattcttccc cttttgcttt ttggggacag gggactctgg tgacagtctc gagg 354

<210> 141
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 141

Lys Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn His Leu Ala
1 5 10

<210> 142
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 142

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Pro
1 5

[0040]

<210> 143
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 143

Gln Gln Tyr Asp Glu Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 144
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 144

Gly Phe Ser Leu Asn Ser Tyr Thr Ile Thr
1 5 10

<210> 145
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 145

Ala Ile Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Phe Asn Ser Ala Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 146
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 146

Pro Arg Trp Tyr Pro Arg Ser Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 147
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗-TcdB抗体1134的抗体可变区

<400> 147

Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn His
20 25 30

[0041]

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Ala Asn Lys Leu Leu Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Pro Gly Thr Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Glu Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 148
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 编码抗-TcdB抗体1134, g5的抗体可变区的多核苷酸

<400> 148

gacgtccagc tcactcaatc tccctccitt ctgtctgctt ctgtgggcga tcgcgtgaca 60
ataacctgca aggcctccaa atcaattage aacctctgg catggtatca ggagaagcct 120
ggcaaagcca ataaactgct gatccactcc ggctcaactc tgcaaccgg taccccaagc 180
cgatttagcg gatctgggag cggaaccgag ttcacactta ccattagetc ectgcaaccg 240
gaggacttcg ccacctatta ctgccagcaa tacgacgaat acccctatac gttcggccaa 300

gggacaagat tggaaatcaa g 321

<210> 149

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗-TcdB抗体I134的抗体可变区(重链)

<400> 149

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Ser Tyr
20 25 30

Thr Ile Thr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Ala Ala Ile Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Phe Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
85 90 95

[0042] Arg Pro Arg Trp Tyr Pro Arg Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser
115

<210> 150

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 编码抗-TcdB抗体I134.g5的抗体可变区(重链)的多核苷酸

<400> 150

gaagttcagc tgcaggaatc tggacctggc ttggtgaaac caagcgagac acttagtetc 60

acttgcaecg ttcccgctt ctccttaat tctacacga tcaacttgggt gggcaacca 120

ccccggaaag gactggaatg gatcgagcc attagcgggg gagggagcac ctatttcaac 180

tcgctctca agagccgcgt gaccatatcc cgtgacacaa gcaagagcca ggtttccctg 240

aagctgagct ccgtgactgc tgcgatacg gctgittact attgcaccgc acctcgctgg 300

tatccccgtt cctatttga ctactgggga agaggcacac tggttacgt cteg 354

<210> 151

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 抗体CDR

<400> 151

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Asn Asn Val Ala
1 5 10

<210> 152
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 152

Tyr Ala Ser Asn Arg Phe Thr
1 5

<210> 153
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 153

Gln Arg Val Tyr Gln Ser Thr Trp Thr
1 5

<210> 154
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

[0043]

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 154

Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Tyr Val His
1 5 10

<210> 155
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 155

Cys Ile Arg Thr Gly Gly Asn Thr Glu Tyr Gln Ser Glu Phe Lys Ser
1 5 10 15

<210> 156
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 抗体CDR

<400> 156

Gly Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr
1 5

<210> 157
<211> 107

<212> PRT
 <213> 人工的
 <220>
 <223> 抗-TcdB抗体1151的抗体可变区
 <400> 157
 Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Asn Asn
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Gly Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Val Tyr Gln Ser Thr Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

[0044]

<210> 158
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工的
 <220>
 <223> 编码抗 TcdB抗体1151. g1的抗体可变区的多核苷酸
 <400> 158
 gcgattcaaa tgactcagtc gccctcatcg cttagcgcgt ccgtcggaga tagagtgaacg 60
 atcacgtgca aagcatcaca aaatgtcggg aacaatgttg catggtatca gcataaaccg 120
 ggggaaggcac caaaactctt gatctactac gccagcaaca ggtttacttg tgtcccgta 180
 aggttcacgg gagggggita cgggacagac ttctacttga ccatttcgtc gcttcagecg 240
 gaggacttcg ccacctatta ctgtcagagg gtctaccagt caacgtggac atttgccag 300
 ggaacgaaag tggaatcaa g 321

<210> 159
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工的
 <220>
 <223> 抗-TcdB抗体1151的抗体可变区(重链)
 <400> 159
 Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

<210> 160
 <211> 342
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdB抗体1151. g4的抗体可变区(重链)的多核苷酸

<400> 160
 gaagtacaac tccaagagtc ggggcctggt ctggtcaagc cgtccgaaac accttcgctg 60
 acgtgtacgg taccaggatt ctcaattaca tcatactacg tcactgggt gaggcagcca 120
 cccgggaagg gtcttgagtg gatgggtgc attagaaccg gagggaaac cgagtaccag 180
 agcgaattta agagccgct cactatcagc cgggatacgt ccaaaaacca gggtcgtc 240
 aaattgtctt cegtgaagc cgtgacacc gcagtgtact attgcgcgcg aggaactat 300
 ggctttgctt attggggaca ggggacgctc gtaactgtct eg 342

[0045]

<210> 161
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 161

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

<210> 162
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗体CDR

<400> 162

Asn Ile Gln Ser Leu His Thr
 1 5

<210> 163
 <211> 7

<212> PRT
 <213> 人工的

 <220>
 <223> 抗体CDR

 <400> 163
 Phe Gln His Asn Ser Gly Trp
 1 5

 <210> 164
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工的

 <220>
 <223> 抗体CDR

 <400> 164
 Gly Phe Thr Phe Thr Gln Ala Ala Met Phe
 1 5 10

 <210> 165
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工的

 <220>
 <223> 抗体CDR

 <400> 165
 [0046] Arg Ile Ser Thr Lys Ser Asn Asn Phe Ala Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser
 1 5 10 15

 Val Lys Gly

 <210> 166
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工的

 <220>
 <223> 抗体CDR

 <400> 166
 Pro Ala Tyr Tyr Tyr Asp Gly Thr Val Pro Phe Ala Tyr
 1 5 10

 <210> 167
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工的

 <220>
 <223> 抗-TcdB抗体1153. g8的抗体可变区

 <400> 167
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Asn Lys Tyr
 20 25 30

Leu Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asn Ile Gln Ser Leu His Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln His Asn Ser Gly Trp Thr
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 168
 <211> 318
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 编码抗-TcdB抗体1153. g8的抗体可变区的多核苷酸

<400> 168
 gatatacaga tgactcagtc cccttctage ctttcagctt ccgtgggcga tagagtgact 60
 atcacgtgta aggctagtca gaacattaac aagtatctgg actggtacca gcagaaaccc 120
 gggaagggttc ccaagctgct gatctacaac atccagtcce tgcatacagg cattcctage 180
 cggtttagcgg gatctggttc agggaccgac ttaccctga caatcagetc tctgcaacca 240
 gaagacgtgg ccacctatta ctgtttccag cacaatagtg gctggacttt tggacaaggt 300
 accaggctgg agatcaaa 318

[0047]

<210> 169
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 抗-TcdB抗体1153的抗体可变区(graft 8
 重链)

<400> 169

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Gln Ala
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Gly Ile
 35 40 45

Ala Arg Ile Ser Thr Lys Ser Asn Asn Phe Ala Thr Tyr Tyr Pro Asp
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Thr Ala Pro Ala Tyr Tyr Tyr Asp Gly Thr Val Pro Phe Ala
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120

<210> 170

<211> 369

<212> DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 编码抗-TcdB抗体1153. g8的抗体可变区(重链)的多核苷酸

<400> 170

gaggttcagc tgggtgaatc aggagggggt ctggtgcaac caggaggctc cctgaaactg 60

tcttgcgcgc caagcggett tacgtttacc caggccgcta tgttctgggt taggcaggcc 120

agtgggaagg gtcttgaagg catcgcaaga atcagcacca agagcaacaa tttegtacg 180

tactatccgg actccgtgaa aggccggttt accatttctc gcgatgacag caagaacacc 240

gtgtacctgc agatgaacag tctcaagacc gaggacacag ccgtgtacta ttgtactget 300

ccgcctatt attacgatgg cacagtgcct itcgcatact ggggacaggg tactttggtg 360

actgtctcg 369

<210> 171

<211> 2710

<212> PRT

<213> 梭状芽胞杆菌

[0048]

<400> 171

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

	Val	Glu	Ser	Ser	Thr	Thr	Glu	Ala	Leu	Gln	Leu	Leu	Glu	Glu	Glu	Ile	
	145					150					155					160	
	Gln	Asn	Pro	Gln	Phe	Asp	Asn	Met	Lys	Phe	Tyr	Lys	Lys	Arg	Met	Glu	
				165						170					175		
	Phe	Ile	Tyr	Asp	Arg	Gln	Lys	Arg	Phe	Ile	Asn	Tyr	Tyr	Lys	Ser	Glu	
			180						185					190			
	Ile	Asn	Lys	Pro	Thr	Val	Pro	Thr	Ile	Asp	Asp	Ile	Ile	Lys	Ser	His	
		195						200					205				
	Leu	Val	Ser	Glu	Tyr	Asn	Arg	Asp	Glu	Thr	Val	Leu	Glu	Ser	Tyr	Arg	
	210					215						220					
	Thr	Asn	Ser	Leu	Arg	Lys	Ile	Asn	Ser	Asn	His	Gly	Ile	Asp	Ile	Arg	
	225				230						235					240	
	Ala	Asn	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Gln	Glu	Leu	Leu	Asn	Ile	Tyr	Ser	Gln	
				245						250					255		
	Glu	Leu	Leu	Asn	Arg	Gly	Asn	Leu	Ala	Ala	Ala	Ser	Asp	Ile	Val	Arg	
			260					265						270			
	Leu	Leu	Ala	Leu	Lys	Asn	Phe	Gly	Gly	Val	Tyr	Leu	Asp	Val	Asp	Met	
		275					280						285				
[0049]	Leu	Pro	Gly	Ile	His	Ser	Asp	Leu	Phe	Lys	Thr	Ile	Ser	Arg	Pro	Ser	
	290					295						300					
	Ser	Ile	Gly	Leu	Asp	Arg	Trp	Glu	Met	Ile	Lys	Leu	Glu	Ala	Ile	Met	
	305				310						315					320	
	Lys	Tyr	Lys	Lys	Tyr	Ile	Asn	Asn	Tyr	Thr	Ser	Glu	Asn	Phe	Asp	Lys	
				325						330					335		
	Leu	Asp	Gln	Gln	Leu	Lys	Asp	Asn	Phe	Lys	Leu	Ile	Ile	Glu	Ser	Lys	
			340					345						350			
	Ser	Glu	Lys	Ser	Glu	Ile	Phe	Ser	Lys	Leu	Glu	Asn	Leu	Asn	Val	Ser	
		355					360						365				
	Asp	Leu	Glu	Ile	Lys	Ile	Ala	Phe	Ala	Leu	Gly	Ser	Val	Ile	Asn	Gln	
	370					375						380					
	Ala	Leu	Ile	Ser	Lys	Gln	Gly	Ser	Tyr	Leu	Thr	Asn	Leu	Val	Ile	Glu	
	385				390						395					400	
	Gln	Val	Lys	Asn	Arg	Tyr	Gln	Phe	Leu	Asn	Gln	His	Leu	Asn	Pro	Ala	
				405						410					415		
	Ile	Glu	Ser	Asp	Asn	Asn	Phe	Thr	Asp	Thr	Thr	Lys	Ile	Phe	His	Asp	
			420						425					430			
	Ser	Leu	Phe	Asn	Ser	Ala	Thr	Ala	Glu	Asn	Ser	Met	Phe	Leu	Thr	Lys	
		435					440						445				

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
 450 455 460
 Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
 465 470 475 480
 Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
 485 490 495
 Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
 500 505 510
 Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
 515 520 525
 Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
 530 535 540
 Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
 545 550 555 560
 Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
 565 570 575
 Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
 580 585 590
 [0050] Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
 595 600 605
 Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
 610 615 620
 Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
 625 630 635 640
 Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
 645 650 655
 Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
 660 665 670
 Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
 675 680 685
 Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
 690 695 700
 Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
 705 710 715 720
 Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
 725 730 735
 Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
 740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
 755 760 765
 Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
 770 775 780
 Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
 785 790 795 800
 Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
 805 810 815
 Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
 820 825 830
 Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
 835 840 845
 Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
 850 855 860
 Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
 865 870 875 880
 Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
 885 890 895
 [0051] Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
 900 905 910
 Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
 915 920 925
 Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
 930 935 940
 Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
 945 950 955 960
 Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
 965 970 975
 Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
 980 985 990
 Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Tyr Asp Ser Ile Gln
 995 1000 1005
 Leu Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val
 1010 1015 1020
 Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu
 1025 1030 1035
 Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu
 1040 1045 1050

	His Asp 1055	Pro Leu Leu Lys 1060	Lys Glu Leu Glu Ala Lys 1065	Val Gly Val
	Leu Ala 1070	Ile Asn Met Ser 1075	Leu Ser Ile Ala Ala Thr 1080	Val Ala Ser
	Ile Val 1085	Gly Ile Gly Ala Glu 1090	Val Thr Ile Phe Leu 1095	Leu Pro Ile
	Ala Gly 1100	Ile Ser Ala Gly Ile 1105	Pro Ser Leu Val Asn 1110	Asn Glu Leu
	Ile Leu 1115	His Asp Lys Ala Thr 1120	Ser Val Val Asn Tyr 1125	Phe Asn His
	Leu Ser 1130	Glu Ser Lys Lys Tyr 1135	Gly Pro Leu Lys Thr 1140	Glu Asp Asp
	Lys Ile 1145	Leu Val Pro Ile Asp 1150	Asp Leu Val Ile Ser 1155	Glu Ile Asp
	Phe Asn 1160	Asn Asn Ser Ile Lys 1165	Leu Gly Thr Cys Asn 1170	Ile Leu Ala
	Met Glu 1175	Gly Gly Ser Gly His 1180	Thr Val Thr Gly Asn 1185	Ile Asp His
[0052]	Phe Phe 1190	Ser Ser Pro Ser Ile 1195	Ser Ser His Ile Pro 1200	Ser Leu Ser
	Ile Tyr 1205	Ser Ala Ile Gly Ile 1210	Glu Thr Glu Asn Leu 1215	Asp Phe Ser
	Lys Lys 1220	Ile Met Met Leu Pro 1225	Asn Ala Pro Ser Arg 1230	Val Phe Trp
	Trp Glu 1235	Thr Gly Ala Val Pro 1240	Gly Leu Arg Ser Leu 1245	Glu Asn Asp
	Gly Thr 1250	Arg Leu Leu Asp Ser 1255	Ile Arg Asp Leu Tyr 1260	Pro Gly Lys
	Phe Tyr 1265	Trp Arg Phe Tyr Ala 1270	Phe Phe Asp Tyr Ala 1275	Ile Thr Thr
	Leu Lys 1280	Pro Val Tyr Glu Asp 1285	Thr Asn Ile Lys Ile 1290	Lys Leu Asp
	Lys Asp 1295	Thr Arg Asn Phe Ile 1300	Met Pro Thr Ile Thr 1305	Thr Asn Glu
	Ile Arg 1310	Asn Lys Leu Ser Tyr 1315	Ser Phe Asp Gly Ala 1320	Gly Gly Thr
	Tyr Ser 1325	Leu Leu Leu Ser Ser 1330	Tyr Pro Ile Ser Thr 1335	Asn Ile Asn

	Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val 1340 1345 1350
	Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu 1355 1360 1365
	Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu 1370 1375 1380
	Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ile Asp Phe Ser Gly Asp Ile Asp Asn 1385 1390 1395
	Lys Asp Arg Tyr Ile Phe Leu Thr Cys Glu Leu Asp Asp Lys Ile 1400 1405 1410
	Ser Leu Ile Ile Glu Ile Asn Leu Val Ala Lys Ser Tyr Ser Leu 1415 1420 1425
	Leu Leu Ser Gly Asp Lys Asn Tyr Leu Ile Ser Asn Leu Ser Asn 1430 1435 1440
	Thr Ile Glu Lys Ile Asn Thr Leu Gly Leu Asp Ser Lys Asn Ile 1445 1450 1455
	Ala Tyr Asn Tyr Thr Asp Glu Ser Asn Asn Lys Tyr Phe Gly Ala 1460 1465 1470
[0053]	Ile Ser Lys Thr Ser Gln Lys Ser Ile Ile His Tyr Lys Lys Asp 1475 1480 1485
	Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Asp Ser Thr Leu Glu Phe 1490 1495 1500
	Asn Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys 1505 1510 1515
	Asp Asp Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn 1520 1525 1530
	Thr Asp Lys Ser Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn 1535 1540 1545
	Gln Val Lys Val Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser 1550 1555 1560
	Ser Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ser Asp Gly His His Asn Thr 1565 1570 1575
	Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys 1580 1585 1590
	Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Ile Asp Lys Tyr Phe 1595 1600 1605
	Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys 1610 1615 1620

	Asp	Asn	Asn	Lys	Asn	Ile	Asp	Ile	Tyr	Phe	Gly	Glu	Trp	Lys	Thr
	1625						1630					1635			
	Ser	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ile	Phe	Ser	Gly	Asn	Gly	Arg	Asn	Val
	1640						1645					1650			
	Val	Val	Glu	Pro	Ile	Tyr	Asn	Pro	Asp	Thr	Gly	Glu	Asp	Ile	Ser
	1655						1660					1665			
	Thr	Ser	Leu	Asp	Phe	Ser	Tyr	Glu	Pro	Leu	Tyr	Gly	Ile	Asp	Arg
	1670						1675					1680			
	Tyr	Ile	Asn	Lys	Val	Leu	Ile	Ala	Pro	Asp	Leu	Tyr	Thr	Ser	Leu
	1685						1690					1695			
	Ile	Asn	Ile	Asn	Thr	Asn	Tyr	Tyr	Ser	Asn	Glu	Tyr	Tyr	Pro	Glu
	1700						1705					1710			
	Ile	Ile	Val	Leu	Asn	Pro	Asn	Thr	Phe	His	Lys	Lys	Val	Asn	Ile
	1715						1720					1725			
	Asn	Leu	Asp	Ser	Ser	Ser	Phe	Glu	Tyr	Lys	Trp	Ser	Thr	Glu	Gly
	1730						1735					1740			
	Ser	Asp	Phe	Ile	Leu	Val	Arg	Tyr	Leu	Glu	Glu	Ser	Asn	Lys	Lys
	1745						1750					1755			
[0054]	Ile	Leu	Gln	Lys	Ile	Arg	Ile	Lys	Gly	Ile	Leu	Ser	Asn	Thr	Gln
	1760						1765					1770			
	Ser	Phe	Asn	Lys	Met	Ser	Ile	Asp	Phe	Lys	Asp	Ile	Lys	Lys	Leu
	1775						1780					1785			
	Ser	Leu	Gly	Tyr	Ile	Met	Ser	Asn	Phe	Lys	Ser	Phe	Asn	Ser	Glu
	1790						1795					1800			
	Asn	Glu	Leu	Asp	Arg	Asp	His	Leu	Gly	Phe	Lys	Ile	Ile	Asp	Asn
	1805						1810					1815			
	Lys	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Asp	Glu	Asp	Ser	Lys	Leu	Val	Lys	Gly	Leu
	1820						1825					1830			
	Ile	Asn	Ile	Asn	Asn	Ser	Leu	Phe	Tyr	Phe	Asp	Pro	Ile	Glu	Phe
	1835						1840					1845			
	Asn	Leu	Val	Thr	Gly	Trp	Gln	Thr	Ile	Asn	Gly	Lys	Lys	Tyr	Tyr
	1850						1855					1860			
	Phe	Asp	Ile	Asn	Thr	Gly	Ala	Ala	Leu	Thr	Ser	Tyr	Lys	Ile	Ile
	1865						1870					1875			
	Asn	Gly	Lys	His	Phe	Tyr	Phe	Asn	Asn	Asp	Gly	Val	Met	Gln	Leu
	1880						1885					1890			
	Gly	Val	Phe	Lys	Gly	Pro	Asp	Gly	Phe	Glu	Tyr	Phe	Ala	Pro	Ala
	1895						1900					1905			

	Asn	Thr	Gln	Asn	Asn	Asn	Ile	Glu	Gly	Gln	Ala	Ile	Val	Tyr	Gln
	1910						1915					1920			
	Ser	Lys	Phe	Leu	Thr	Leu	Asn	Gly	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Asn
	1925						1930					1935			
	Asn	Ser	Lys	Ala	Val	Thr	Gly	Trp	Arg	Ile	Ile	Asn	Asn	Glu	Lys
	1940						1945					1950			
	Tyr	Tyr	Phe	Asn	Pro	Asn	Asn	Ala	Ile	Ala	Ala	Val	Gly	Leu	Gln
	1955						1960					1965			
	Val	Ile	Asp	Asn	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Asn	Pro	Asp	Thr	Ala	Ile
	1970						1975					1980			
	Ile	Ser	Lys	Gly	Trp	Gln	Thr	Val	Asn	Gly	Ser	Arg	Tyr	Tyr	Phe
	1985						1990					1995			
	Asp	Thr	Asp	Thr	Ala	Ile	Ala	Phe	Asn	Gly	Tyr	Lys	Thr	Ile	Asp
	2000						2005					2010			
	Gly	Lys	His	Phe	Tyr	Phe	Asp	Ser	Asp	Cys	Val	Val	Lys	Ile	Gly
	2015						2020					2025			
	Val	Phe	Ser	Thr	Ser	Asn	Gly	Phe	Glu	Tyr	Phe	Ala	Pro	Ala	Asn
	2030						2035					2040			
[0055]	Thr	Tyr	Asn	Asn	Asn	Ile	Glu	Gly	Gln	Ala	Ile	Val	Tyr	Gln	Ser
	2045						2050					2055			
	Lys	Phe	Leu	Thr	Leu	Asn	Gly	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Asn	Asn
	2060						2065					2070			
	Ser	Lys	Ala	Val	Thr	Gly	Leu	Gln	Thr	Ile	Asp	Ser	Lys	Lys	Tyr
	2075						2080					2085			
	Tyr	Phe	Asn	Thr	Asn	Thr	Ala	Glu	Ala	Ala	Thr	Gly	Trp	Gln	Thr
	2090						2095					2100			
	Ile	Asp	Gly	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Asn	Thr	Asn	Thr	Ala	Glu	Ala
	2105						2110					2115			
	Ala	Thr	Gly	Trp	Gln	Thr	Ile	Asp	Gly	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Asn
	2120						2125					2130			
	Thr	Asn	Thr	Ala	Ile	Ala	Ser	Thr	Gly	Tyr	Thr	Ile	Ile	Asn	Gly
	2135						2140					2145			
	Lys	His	Phe	Tyr	Phe	Asn	Thr	Asp	Gly	Ile	Met	Gln	Ile	Gly	Val
	2150						2155					2160			
	Phe	Lys	Gly	Pro	Asn	Gly	Phe	Glu	Tyr	Phe	Ala	Pro	Ala	Asn	Thr
	2165						2170					2175			
	Asp	Ala	Asn	Asn	Ile	Glu	Gly	Gln	Ala	Ile	Leu	Tyr	Gln	Asn	Glu
	2180						2185					2190			

	Phe	Leu	Thr	Leu	Asn	Gly	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Gly	Ser	Asp	Ser
	2195						2200					2205			
	Lys	Ala	Val	Thr	Gly	Trp	Arg	Ile	Ile	Asn	Asn	Lys	Lys	Tyr	Tyr
	2210						2215					2220			
	Phe	Asn	Pro	Asn	Asn	Ala	Ile	Ala	Ala	Ile	His	Leu	Cys	Thr	Ile
	2225						2230					2235			
	Asn	Asn	Asp	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ile	Leu	Gln	Asn
	2240						2245					2250			
	Gly	Tyr	Ile	Thr	Ile	Glu	Arg	Asn	Asn	Phe	Tyr	Phe	Asp	Ala	Asn
	2255						2260					2265			
	Asn	Glu	Ser	Lys	Met	Val	Thr	Gly	Val	Phe	Lys	Gly	Pro	Asn	Gly
	2270						2275					2280			
	Phe	Glu	Tyr	Phe	Ala	Pro	Ala	Asn	Thr	His	Asn	Asn	Asn	Ile	Glu
	2285						2290					2295			
	Gly	Gln	Ala	Ile	Val	Tyr	Gln	Asn	Lys	Phe	Leu	Thr	Leu	Asn	Gly
	2300						2305					2310			
	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Asn	Asp	Ser	Lys	Ala	Val	Thr	Gly	Trp
	2315						2320					2325			
[0056]	Gln	Thr	Ile	Asp	Gly	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Asn	Leu	Asn	Thr	Ala
	2330						2335					2340			
	Glu	Ala	Ala	Thr	Gly	Trp	Gln	Thr	Ile	Asp	Gly	Lys	Lys	Tyr	Tyr
	2345						2350					2355			
	Phe	Asn	Leu	Asn	Thr	Ala	Glu	Ala	Ala	Thr	Gly	Trp	Gln	Thr	Ile
	2360						2365					2370			
	Asp	Gly	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Asn	Thr	Asn	Thr	Phe	Ile	Ala	Ser
	2375						2380					2385			
	Thr	Gly	Tyr	Thr	Ser	Ile	Asn	Gly	Lys	His	Phe	Tyr	Phe	Asn	Thr
	2390						2395					2400			
	Asp	Gly	Ile	Met	Gln	Ile	Gly	Val	Phe	Lys	Gly	Pro	Asn	Gly	Phe
	2405						2410					2415			
	Glu	Tyr	Phe	Ala	Pro	Ala	Asn	Thr	Asp	Ala	Asn	Asn	Ile	Glu	Gly
	2420						2425					2430			
	Gln	Ala	Ile	Leu	Tyr	Gln	Asn	Lys	Phe	Leu	Thr	Leu	Asn	Gly	Lys
	2435						2440					2445			
	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Gly	Ser	Asp	Ser	Lys	Ala	Val	Thr	Gly	Leu	Arg
	2450						2455					2460			
	Thr	Ile	Asp	Gly	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Asn	Thr	Asn	Thr	Ala	Val
	2465						2470					2475			

[0057]

Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
 2480 2485 2490
 Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser
 2495 2500 2505
 Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
 2510 2515 2520
 Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
 2525 2530 2535
 Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
 2540 2545 2550
 Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
 2555 2560 2565
 Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
 2570 2575 2580
 Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
 2585 2590 2595
 Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
 2600 2605 2610
 Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
 2615 2620 2625
 Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
 2630 2635 2640
 Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
 2645 2650 2655
 Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
 2660 2665 2670
 Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
 2675 2680 2685
 Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
 2690 2695 2700
 Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
 2705 2710
 <210> 172
 <211> 2366
 <212> PRT
 <213> 梭状芽胞杆菌
 <400> 172
 Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
 1 5 10 15
 Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu

	20	25	30
	Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys 35	40	45
	Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys 50	55	60
	Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val 65	70	75 80
	Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys 85	90	95
	Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile 100	105	110
	Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn 115	120	125
	Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr 130	135	140
	Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn 145	150	155 160
	Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met 165	170	175
[0058]	Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala 180	185	190
	Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr 195	200	205
	Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr 210	215	220
	Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val 225	230	235 240
	Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu 245	250	255
	Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu 260	265	270
	Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp 275	280	285
	Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro 290	295	300
	Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile 305	310	315 320
	Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp		

	325	330	335
	Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser 340 345 350		
	Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala 355 360 365		
	Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn 370 375 380		
	Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val 385 390 395 400		
	Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro 405 410 415		
	Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile 420 425 430		
	Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met 435 440 445		
	Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr 450 455 460		
	Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp 465 470 475 480		
[0059]	Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala 485 490 495		
	Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr 500 505 510		
	Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys 515 520 525		
	Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly 530 535 540		
	Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu 545 550 555 560		
	Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly 565 570 575		
	Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu 580 585 590		
	Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe 595 600 605		
	Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly 610 615 620		
	Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile		

625	630	635	640
Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp	645	650	655
Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser	660	665	670
Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro	675	680	685
Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser	690	695	700
Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys	705	710	715
Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile	725	730	735
Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg	740	745	750
Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile	755	760	765
Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu	770	775	780
Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu	785	790	795
Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu	805	810	815
Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile	820	825	830
Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr	835	840	845
Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser	850	855	860
Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp	865	870	875
Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe	885	890	895
Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu	900	905	910
Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu	915	920	925
Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu			

[0060]

[0061]

930	935	940
Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn		
945	950	955 960
Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu		
	965	970 975
Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln		
	980	985 990
Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val		
	995	1000 1005
Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro		
	1010	1015 1020
Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Ile Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly		
	1025	1030 1035
Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp		
	1040	1045 1050
Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala		
	1055	1060 1065
Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu		
	1070	1075 1080
Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly		
	1085	1090 1095
Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu		
	1100	1105 1110
Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser		
	1115	1120 1125
Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile		
	1130	1135 1140
Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn		
	1145	1150 1155
Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu		
	1160	1165 1170
Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe		
	1175	1180 1185
Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr		
	1190	1195 1200
Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp		
	1205	1210 1215
Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu		

[0062]

1220	1225	1230
Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp Gly Thr		
1235	1240	1245
Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp Asn Tyr Glu Gly Glu Phe Tyr		
1250	1255	1260
Trp Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu		
1265	1270	1275
Lys Pro Arg Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Arg Ile Asn Leu Asp Ser		
1280	1285	1290
Asn Thr Arg Ser Phe Ile Val Pro Ile Ile Thr Thr Glu Tyr Ile		
1295	1300	1305
Arg Glu Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Tyr Gly Ser Gly Gly Thr Tyr		
1310	1315	1320
Ala Leu Ser Leu Ser Gln Tyr Asn Met Gly Ile Asn Ile Glu Leu		
1325	1330	1335
Ser Glu Ser Asp Val Trp Ile Ile Asp Val Asp Asn Val Val Arg		
1340	1345	1350
Asp Val Thr Ile Glu Ser Asp Lys Ile Lys Lys Gly Asp Leu Ile		
1355	1360	1365
Glu Gly Ile Leu Ser Thr Leu Ser Ile Glu Glu Asn Lys Ile Ile		
1370	1375	1380
Leu Asn Ser His Glu Ile Asn Phe Ser Gly Glu Val Asn Gly Ser		
1385	1390	1395
Asn Gly Phe Val Ser Leu Thr Phe Ser Ile Leu Glu Gly Ile Asn		
1400	1405	1410
Ala Ile Ile Glu Val Asp Leu Leu Ser Lys Ser Tyr Lys Leu Leu		
1415	1420	1425
Ile Ser Gly Glu Leu Lys Ile Leu Met Leu Asn Ser Asn His Ile		
1430	1435	1440
Gln Gln Lys Ile Asp Tyr Ile Gly Phe Asn Ser Glu Leu Gln Lys		
1445	1450	1455
Asn Ile Pro Tyr Ser Phe Val Asp Ser Glu Gly Lys Glu Asn Gly		
1460	1465	1470
Phe Ile Asn Gly Ser Thr Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Leu		
1475	1480	1485
Pro Asp Val Val Leu Ile Ser Lys Val Tyr Met Asp Asp Ser Lys		
1490	1495	1500
Pro Ser Phe Gly Tyr Tyr Ser Asn Asn Leu Lys Asp Val Lys Val		

[0063]

1505	1510	1515
Ile Thr Lys Asp Asn Val Asn	Ile Leu Thr Gly Tyr	Tyr Leu Lys
1520	1525	1530
Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu	Ser Leu Thr Leu Gln	Asp Glu Lys
1535	1540	1545
Thr Ile Lys Leu Asn Ser Val	His Leu Asp Glu Ser	Gly Val Ala
1550	1555	1560
Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn	Arg Lys Gly Asn Thr	Asn Thr Ser
1565	1570	1575
Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu	Glu Ser Met Asn Ile	Lys Ser Ile
1580	1585	1590
Phe Val Asn Phe Leu Gln Ser	Asn Ile Lys Phe Ile	Leu Asp Ala
1595	1600	1605
Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr	Thr Ser Ile Gly Gln	Phe Glu Phe
1610	1615	1620
Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn	Ile Gln Pro Tyr Phe	Ile Lys Phe
1625	1630	1635
Asn Thr Leu Glu Thr Asn Tyr	Thr Leu Tyr Val Gly	Asn Arg Gln
1640	1645	1650
Asn Met Ile Val Glu Pro Asn	Tyr Asp Leu Asp Asp	Ser Gly Asp
1655	1660	1665
Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn	Phe Ser Gln Lys Tyr	Leu Tyr Gly
1670	1675	1680
Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys	Val Val Ile Ser Pro	Asn Ile Tyr
1685	1690	1695
Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr	Pro Val Tyr Glu Thr	Asn Asn Thr
1700	1705	1710
Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu	Asp Ala Asn Tyr Ile	Asn Glu Lys
1715	1720	1725
Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp	Leu Ser Ile Arg Tyr	Val Trp Ser
1730	1735	1740
Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile	Leu Met Ser Thr Ser	Glu Glu Asn
1745	1750	1755
Lys Val Ser Gln Val Lys Ile	Arg Phe Val Asn Val	Phe Lys Asp
1760	1765	1770
Lys Thr Leu Ala Asn Lys Leu	Ser Phe Asn Phe Ser	Asp Lys Gln
1775	1780	1785
Asp Val Pro Val Ser Glu Ile	Ile Leu Ser Phe Thr	Pro Ser Tyr

[0064]

1790	1795	1800
Tyr Glu Asp Gly Leu Ile Gly	Tyr Asp Leu Gly Leu	Val Ser Leu
1805	1810	1815
Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile	Asn Asn Phe Gly Met	Met Val Ser
1820	1825	1830
Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp	Ser Leu Tyr Tyr Phe	Lys Pro Pro
1835	1840	1845
Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly	Phe Val Thr Val Gly	Asp Asp Lys
1850	1855	1860
Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn	Gly Gly Ala Ala Ser	Ile Gly Glu
1865	1870	1875
Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn	Tyr Tyr Phe Asn Glu	Ser Gly Val
1880	1885	1890
Leu Glu Thr Gly Val Phe Ser	Thr Glu Asp Gly Phe	Lys Tyr Phe
1895	1900	1905
Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp	Glu Asn Leu Glu Gly	Glu Ala Ile
1910	1915	1920
Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile	Ile Asp Glu Asn Ile	Tyr Tyr Phe
1925	1930	1935
Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala	Val Glu Trp Lys Glu	Leu Asp Gly
1940	1945	1950
Glu Met His Tyr Phe Ser Pro	Glu Thr Gly Lys Ala	Phe Lys Gly
1955	1960	1965
Leu Asn Gln Ile Gly Asp Tyr	Lys Tyr Tyr Phe Asn	Ser Asp Gly
1970	1975	1980
Val Met Gln Lys Gly Phe Val	Ser Ile Asn Asp Asn	Lys His Tyr
1985	1990	1995
Phe Asp Asp Ser Gly Val Met	Lys Val Gly Tyr Thr	Glu Ile Asp
2000	2005	2010
Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala	Glu Asn Gly Glu Met	Gln Ile Gly
2015	2020	2025
Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly	Phe Lys Tyr Phe Ala	His His Asn
2030	2035	2040
Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu	Gly Glu Glu Ile Ser	Tyr Ser Gly
2045	2050	2055
Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys	Ile Tyr Tyr Phe Asp	Asp Ser Phe
2060	2065	2070
Thr Ala Val Val Gly Trp Lys	Asp Leu Glu Asp Gly	Ser Lys Tyr

[0065]

2075	2080	2085
Tyr Phe Asp Glu Asp Thr	Ala Glu Ala Tyr Ile	Gly Leu Ser Leu
2090	2095	2100
Ile Asn Asp Gly Gln Tyr	Tyr Phe Asn Asp Asp	Gly Ile Met Gln
2105	2110	2115
Val Gly Phe Val Thr Ile	Asn Asp Lys Val Phe	Tyr Phe Ser Asp
2120	2125	2130
Ser Gly Ile Ile Glu Ser	Gly Val Gln Asn Ile	Asp Asp Asn Tyr
2135	2140	2145
Phe Tyr Ile Asp Asp Asn	Gly Ile Val Gln Ile	Gly Val Phe Asp
2150	2155	2160
Thr Ser Asp Gly Tyr Lys	Tyr Phe Ala Pro Ala	Asn Thr Val Asn
2165	2170	2175
Asp Asn Ile Tyr Gly Gln	Ala Val Glu Tyr Ser	Gly Leu Val Arg
2180	2185	2190
Val Gly Glu Asp Val Tyr	Tyr Phe Gly Glu Thr	Tyr Thr Ile Glu
2195	2200	2205
Thr Gly Trp Ile Tyr Asp	Met Glu Asn Glu Ser	Asp Lys Tyr Tyr
2210	2215	2220
Phe Asn Pro Glu Thr Lys	Lys Ala Cys Lys Gly	Ile Asn Leu Ile
2225	2230	2235
Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr	Phe Asp Glu Lys Gly	Ile Met Arg Thr
2240	2245	2250
Gly Leu Ile Ser Phe Glu	Asn Asn Tyr Tyr	Phe Asn Glu Asn
2255	2260	2265
Gly Glu Met Gln Phe Gly	Tyr Ile Asn Ile Glu	Asp Lys Met Phe
2270	2275	2280
Tyr Phe Gly Glu Asp Gly	Val Met Gln Ile Gly	Val Phe Asn Thr
2285	2290	2295
Pro Asp Gly Phe Lys Tyr	Phe Ala His Gln Asn	Thr Leu Asp Glu
2300	2305	2310
Asn Phe Glu Gly Glu Ser	Ile Asn Tyr Thr Gly	Trp Leu Asp Leu
2315	2320	2325
Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr	Phe Thr Asp Glu Tyr	Ile Ala Ala Thr
2330	2335	2340
Gly Ser Val Ile Ile Asp	Gly Glu Glu Tyr Tyr	Phe Asp Pro Asp
2345	2350	2355
Thr Ala Gln Leu Val Ile	Ser Glu	

	2360	2365
	<210> 173	
	<211> 18	
	<212> PRT	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 来自艰难梭菌毒素TcdB的片段	
	<400> 173	
	Ser Pro Val Glu Lys Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val	
	1 5 10 15	
	Ser Asp	
	<210> 174	
	<211> 11	
	<212> PRT	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 来自艰难梭菌毒素TcdB的片段	
	<400> 174	
	Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg Leu	
	1 5 10	
	<210> 175	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段	
	<400> 175	
	Cys Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met Leu Pro Gly Ile His	
	1 5 10 15	
	<210> 176	
	<211> 20	
	<212> PRT	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 来自艰难梭菌毒素TcdB的片段	
	<400> 176	
	Cys Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met Leu Pro Gly Ile His Ser	
	1 5 10 15	
	Asp Leu Phe Lys	
	20	
	<210> 177	
	<211> 14	
	<212> PRT	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段	
	<400> 177	

[0066]

Cys Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met Lys Tyr Lys
1 5 10

<210> 178
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段

<400> 178

Cys Thr Asn Leu Val Ile Glu Gln Val Lys Asn Arg
1 5 10

<210> 179
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段

<400> 179

Pro Glu Ala Arg Ser Thr Ile Ser Leu Ser Gly Pro
1 5 10

<210> 180
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

[0067]

<220>
<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段

<400> 180

Cys Ser Asn Leu Ile Val Lys Gln Ile Glu Asn Arg
1 5 10

<210> 181
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段

<400> 181

Thr Glu Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala
1 5 10

<210> 182
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段

<400> 182

Thr Glu Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Pro Glu Ala Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ile Ser Leu Ser Gly Pro Cys

	20	25
	<210> 183	
	<211> 13	
	<212> PRT	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段	
	<400> 183	
	Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Cys	
	1 5 10	
	<210> 184	
	<211> 14	
	<212> PRT	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段	
	<400> 184	
	Cys Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg	
	1 5 10	
	<210> 185	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> 人工的	
	<220>	
[0068]	<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段	
	<400> 185	
	Val Asn Thr Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Cys	
	1 5 10 15	
	<210> 186	
	<211> 13	
	<212> PRT	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段	
	<400> 186	
	Tyr Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Cys	
	1 5 10	
	<210> 187	
	<211> 16	
	<212> PRT	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段	
	<400> 187	
	Cys Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu	
	1 5 10 15	
	<210> 188	
	<211> 16	
	<212> PRT	

<213> 人工的

<220>

<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段

<400> 188

Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn Asn Asn Ser Ile Cys
1 5 10 15

<210> 189

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段

<400> 189

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr
1 5 10

<210> 190

<211> 35

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段

<400> 190

Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile
1 5 10 15

[0069]

Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile
20 25 30

Lys Glu Leu
35

<210> 191

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段

<400> 191

Cys Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile
1 5 10 15

Glu Gly Gln Ala
20

<210> 192

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 艰难梭菌毒素TcdB的片段

<400> 192

Cys Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn Asp Asn Ile

	1	5	10	15
	Tyr Gly Gln Ala			
		20		
	<210>	193		
	<211>	12		
	<212>	PRT		
	<213>	人工的		
	<220>			
	<223>	艰难梭菌毒素TcdB的片段		
	<400>	193		
[0070]	Cys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala			
	1	5	10	
	<210>	194		
	<211>	12		
	<212>	PRT		
	<213>	人工的		
	<220>			
	<223>	艰难梭菌毒素TcdB的片段		
	<400>	194		
	Cys Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala			
	1	5	10	

SEQ IN NO:8 编码抗毒素 A 抗体 922.g1 VK(gL1)的多核苷酸序列

GACCCTGTGA TGACCCAGAG TCCGAGCACT CTTTCTGCCT CCGTGGGAGA CCGCGTGACC
ATTACATGTC AGGCTTCACA AAGTATCTCC AATGCTCTGG CCTGGTATCA GCAGAAACCC
GGCAAAGCCC CTAAGCTGCT CATCTACTCT GCATCAAGCC TGGCTAGCGG CGTGCCAAGC
CGATTCAAGG GGAGCGGTTC TGGCACTGAG TTTACGCTGA CCATCAGTAG CTTGCAGCCT
GACGATTTTG CAACCTATTA CTGCCAGTAC ACACACTACT CCCATACATC TAAAAACCCA
TTCGGAGGGG GTACTAAGGT CGAAATAAAG

SEQ IN NO:10 编码抗毒素 A 抗体 922.g1 VH(gH1)的多核苷酸序列

GAAGTGCAAT TGGTGGAAG TGGCGGAGGA CTGGTGCAAC CCGGGGGTAG TCTGCGACTG
AGCTGTGCTG CCTCCGGCTT TACCATTAGC TCCTACTATA TGAGCTGGGT TCGACAGGCC
CCTGGAAAAG GACTCGAATG GATCGGCATC ATATCTTCCG GTGGGCATTT CACCTGGTAC
GCAAACCTGGG CTAAGGGGAG ATTCACGATT AGCAGCGACT CCACAACCGT GTACCTGCAA
ATGAACAGCC TGAGGGATGA GGACACTGCC ACATATTTCT GCGCACGCGC TTACGTGAGC
GGAAGCTCAT TTAATGGCTA TGCCTGTGG GGGCAAGGAA CACTCGTGAC TGTCTCG

SEQ IN NO:18 编码抗毒素 A 抗体 CA923.g1 gL1 的多核苷酸序列

GACGTCGTGATGACTCAGAGCCCATCTAGTCTGAGCGCTAGCGTCGGAGACCGAGTCACAATTACC
TGTCAGCCTCCAGAGCATCTCCAACCTACCTGGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCAAGGTGCCC
AAGCTGCTGATCTATAGTGCTTCCACACTCGCAAGCGCGTTCCGTCACGCTTTAAGGGATCTGGC
TCTGGCACTCAGTTCACCTTGACGATCTCAAGCCTGCAGCCAGAAGATGTGGCCACCTATTACTGC
CAGTATTCCCACTACGGGACTGGGGTGTTCGGTGCCTTTGGAGGTGGGACCAAAGTGGAGATAAAG

图1

SEQ IN NO:20 编码抗毒素 A 抗体的多核苷酸序列 CA923.g1 gH1

GAAGTTCAACTTGTGGAATCTGGAGGCGGGCTCGTGACGCTGGTGGAAAGCCTTAGACTGAGCTGC
GCTGCATCCGCATTTTCCCTGTCCAACCTACTACATGAGCTGGGTGCGACAAGCACCAGGCAAGGGA
CTGGAATGGATTGGCATCATAAGCTCCGGTTCCAATGCCCTGAAATGGTACGCATCATGGCCGAAA
GGCCGCTTTACCATAAGCAAGGACTCCACCACCGTCTATCTGCAGATGAACTCATTGCGTGCCGAG
GACACTGCAACGTACTTCTGTGCTCGCAACTACGTGGGAAGCGGATCTTATTATGGCATGGATCTG
TGGGGACAAGGTACACTCGTGACCGTCTCG

SEQ IN NO:28 编码抗毒素 A 抗体 CA993.g1 gL1 的多核苷酸序列

GATGTCGTGA TGA CTAGTC CCCCTCTACA TTGAGTGCCT CTGTGCGTGA TCGAGTTACC
ATCACCTGTC AAGCAAGCCA GAGCATCAGC TCCTACTTCT CTTGGTACCA GCAAAAGCCG
GGAAAAGCCC CTCAACTGCT GATTTATGGG GCCTCAACAC TGGCTTCTGG CGTGCCATCA
AGATTCAAGG GATCTGGCTC CGGCACTGAG CTTACACTGA CCATTAGCTC CCTGCAACCT
GACGATTTTG CTACCTACTA CTGCCAGTGC ACCGACTATA GTGGGATATA TTTCGGCGGA
TTTGGGGGAG GGACGAAAGT GGAAATCAAG

SEQ IN NO:30 编码抗毒素 A 抗体 CA993.g1 gH1 的多核苷酸序列

GAAGTTCAGC TGGTCGAGAG CGGAGGCGGA CTGGTGCAAC CTGGTGGTAG CCTGAAACTC
TCTTGTA CTG CCTCCGGGTT TTCCCTGAGC TCTTACTATA TGTGATGGGT GAGACAGGCT
CCCGGGAAAG GATTGGAATG GATCGGGATT ATCTCCTCCG GCTCTTCAC CACTTTCACA
TGGTACGCT CATGGGCAA GGGGAGGTTT ACCATAAGCA AGACAAGCAC GACCGTGTAT
CTTCAGATGA ACTCCCTGAA GACGGAGGAT ACTGCCACCT ACTTTTGCGC TCGGGCCTAT
GTGGGCTCAA GCTCTTACTA TGGCTTCGAC CCATGGGGAC AGGGCACACT TGTGACCGTC
TCG

图2

SEQ IN NO:38 编码抗毒素 A 抗体 995.g1 VL 区域的多核苷酸序列

GACGTCGTGA TGACACAGAG CCCTTCAACA CTGTCTGCAA GCGTGGGCGA TAGGGTCACC
ATAACGTGCC AGGCCTCTCA ATCCATCAAC AACTATTTTA GCTGGTACCA GCAGAAGCCA
GGCAAGGCTC CGAAACTTCT GATCTACGGA GCTGCCAACC TGGCAAGTGG CGTGCCATCA
CGGTTCAAGG GATCCGGGAG CGGTACTGAG TATACCCTGA CCATTTTCATC TCTCCAACCC
GACGATTTTCG CCACCTACTC CTGCCAGAAT AATTACGGCG TGCACATCTA TGGAGCTGCC
TTTGGCGGTG GGACAAAAGT GGAAATTAAG

SEQ IN NO:40 编码抗毒素 A 抗体 995.g1 VH 区域的多核苷酸序列

GAAGTTCAGC TGGTCGAGAG TGGGGGAGGG CTTGTGCAAC CTGGTGGCTC CCTCCGTCTG
AGCTGTACTG CTTCTGGATT CTCACTGAGC AATTACGACA TGATCTGGGT GCGACAGGCA
CCCGGCAAAG GACTGGAGTA CATTGGCTTC ATCAACACCG GGGGTATAAC GTACTATGCC
TCATGGGCTA AGGGGCGCTT TACAATTAGT AGGGATTCCCT CTACCGTGTA CCTGCAGATG
AACTCACTGA GAGCCGAGGA CACTGCCACA TATTTCTGCG CTCGGGTGGA TGAATATATC
GGGGCCTGGG GCGCCGGATT GTGGGGCCAA GGAACACTGG TCACCGTCTC G

SEQ IN NO:48 编码抗毒素 A 抗体 997.g1 VL 区域的多核苷酸序列

GCACTCGTGATGACACAGAGCCCGAGTAGCTTTAGTGCTTCAACCGGTGATAGGGTCACTATTACT
TGCCAAGCCTCTCAGAGTATATCTAGCTATCTGAGCTGGTACCAGCAAAGCCCGGGAAGGCTCCT
AACTGCTGATCTACCGGGCTTCCACATTGGCCTCCGGCGTTCCCTCACGCTTTAGCGGCTCCGGA
TCCGGAACCGAGTACACCCTGACTATCTCTTGCTGCAATCTGAGGACTTCGCAACCTACTATTGT
CTGGGCGTCTACGGATATAGCAACGATGACGGGATCGCCTTCGGCGGCGGTACCAAAGTGGAAATT
AAG

图3

SEQ IN NO:50 编码抗毒素 A 抗体 997.g1 VH 区域的多核苷酸序列

GAGGTGCAACTTGTGGAAAGCGGGGAGGACTGGTGCAGCCTGGGGGCTCATTGAGACTGAGCTGC
ACCGTTTCTGGTATTGACCTGAGCTCCCATCATATGTGCTGGGTGCGCCAGGCACCCGAAAAGGA
CTGGAATACATCGGCGTCATATACCACCTTTGGCTCTACATACTATGCCAACTGGGCAACTGGGCGA
TTCACAATTAGCAAGGACTCAACTACCGTTTACCTGCAAATGAATAGCCTGAGGGCTGAGGATACT
GCCACCTATTTCTGTGCCCGGGCTTCAATCGCCGGCTATTCTGCCTTTGATCCATGGGGGCAAGGA
ACACTCGTGACCGTCTCG

SEQ IN NO:58 编码抗毒素 A 抗体 1000.g1 VL 区域的多核苷酸序列

GAAATCGTGA TGACGCAGTC ACCAAGCACA CTGAGCGCTT CTGTGGGAGA TCGGGTCACA
ATAACCTGTC AGGCCTCCCA GAGCATCTAC TCTTATCTGG CATGGTACCA GCAGAAGCCA
GGGAAAGCTC CCAAGCTGCT GATTTATGAC GCCAGCACTT TGGCTTCCGG TGTTCCTAGT
AGGTTCAAAG GCTCCGGAAG CGGTACCGAG TTTACCCTGA CCATCTCATC TCTGCAACCC
GATGACTTTG CCACATACTA TTGCCAGGGG AATGCCTACA CTTCCAATC ACACGACAAC
GCATTCGGGG GAGGCACCAA AGTCGAAATT AAG

SEQ IN NO:60 编码抗毒素 A 抗体 1000.g1 VH 区域的多核苷酸序列

GAAGTTCAGC TGGTCGAGAG CGGAGGGGGT TTGATTCAGC CCGGTGGCTC ACTTAGATTG
AGCTGCACCG TGTCCGGAAT CGATCTGTCA TCTGATGCCG TGGGCTGGGT GCGACAGGCA
CCTGGGAAAG GACTGGAGTA TATAGGGATC ATCGCCACCT TCGACTCCAC ATACTACGCT
AGCTGGGCAA AAGGGCGCTT TACGATTAGC AAGGCCTCCT CTACTACCGT GTACCTCCAA
ATGAACTCAC TGAGGGCCGA GGACACTGCC ACTTATTTCT GTGCTCGGAC CGGTAGCTGG
TACTACATCT CTGGCTGGGG CTCCTACTAT TATGGCATGG ACCTGTGGGG ACAGGGGACA
CTCGTGACCG TCTCG

图4

SEQ IN NO:68 编码抗毒素 B 抗体 926.g1 VL 区域的多核苷酸序列

GATACCGTGCTGACCCAGAGCCCTGCTACATTGTCACTGAGCCCCGGGGAGAGGGCCACATTGAGC
TGCCGGGCTTCAAAATCCGTGTCCACCCTCATGCACTGGTTTCAGCAAAGCCCCGGGCAGGCCCCA
AACTGCTGATCTACCTCGCATCTAACCTTGAATCTGGCGTGCCGGCCCGCTTTAGTGGCTCCGGA
AGCGGAACCGACTTCACACTGACGATTAGCTCCCTGGAGCCTGAGGATTTGCGCCGTGTACTATTGC
CAGCAAACCTTGAATGACCCTTGGACTTTCGGGGGCGGTACTAAGGTCGAAATAAAG

SEQ IN NO:70 编码抗毒素 B 抗体 926.g1 VH 区域的多核苷酸序列

GAGGTGGAAGTCTCGAATCTGGTGGTGGGCTGGTGCAGCCCGGTGGATCTCTGAGATTGTCATGC
GAGGCATCCGGCTTTACCTTTTCCAACACTACGGAATGGCCTGGGTGAGACAGGCCCAACGAAGGGG
CTCGAATGGGTTACAAGCATCAGCTCTTCTGGGGGATCTACTTACTATCGCGATAGCGTCAAAGGC
CGGTTTACCATTAGCCGAGATAATGCCAAATCAAGCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCT
GAGGACACCGCCACATACTATTGTACAACCGTGATAAGGGGCTACGTGATGGACGCATGGGGACAG
GGGACATTGGTTACCGTCTCG

SEQ IN NO:78 编码抗毒素 B 抗体 927.g2 VL 区域的多核苷酸序列

GACACACAGA TGACCCAGAG CCCATCCACT TTGTCTGCAT CCGTGGGCGA CCGAGTGACA
ATCACCTGTA GAGCAAGCGG TTCCGTGAGC AACTGATGC ATTGGTACCA GCAGAAGCCT
GGGAAGGCTC CCAAGCTGCT GATCTACAAA GCCAGCAACC TTGCCTCCGG CGTTCCAAGC
CGGTTTAGCG GTTCCGATC TGGAAACCGAG TTCACCCTGA CCATATCAAG CCTGCAACCC
GACGACTTCG CCACCTACTA TTGCCACCAG AGCTGGAATA GCGACACGTT CGGGCAAGGC
ACAAGGCTGG AAATCAAA

SEQ IN NO:80 编码抗毒素 B 抗体 927.g2 VH 区域的多核苷酸序列

GAGGTGCAAC TTGTGGAAAG CGGAGGGGGC GTGGTCCAAC CCGGAAGAAG TCTCCGTCTT
TCTTGCGCCG CAAGTGGCTT CACCTTTTCC AACTACGGAA TGGCCTGGGT TCGACAAGCT
CCTGGGAAAG GATTGGAGTG GGTGGCCACT ATCAACTATG ACGGACGCAC GACACACTAC
CGAGACTCTG TTAAGGGGCG CTTTACGATT TCCCGCGACA ATAGCAAGAG CACCCTCTAC
CTGCAAATGA ATAGCCTCCG GGCCGAGGAT ACTGCTGTGT ACTATTGTAC CTCCATCTCA
CGGAGCCACT ACTTCGATTG CTGGGGACAA GGCACACTCG TGACTGTCTCG

图5

SEQ IN NO:88 编码抗毒素 B 抗体 1099.g2 VL 区域的多核苷酸序列

GACGTCCAGC TCACTCAATC TCCCTCCTTT CTGTCTGCTT CTGTGGGCGA TCGCGTGACA
 ATAACCTGCA AGGCCTCCAA ATCAATTAGC AACCATCTGG CATGGTATCA GGAGAAGCCT
 GGCAAAGCCA ATAAGCTGCT GATCCACTCC GGCTCAACTC TGCAATCCGG TACCCCAAGC
 CGATTTAGCG GATCTGGGAG CGGAACCGAG TTCACACTTA CCATTAGCTC CCTGCAACCG
 GAGGACTTCG CCACCTATTA CTGCCAGCAA TACGACGAAT ACCCCTATAC GTTCGGCCAA
 GGGACAAGAT TGGAAATCAA GCGTACG

SEQ IN NO:90 编码抗毒素 B 抗体 1099.g2 VH 区域的多核苷酸序列

GAAGTTCAGC TGCAGGAATC TGGACCTGGC TTGGTGAAAC CAAGCGAGAC ACTTAGTCTC
 ACTTGCACCG TTTCCGGCTT CTCCCTTCAA TCCTACACGA TCTCTTGGGT GCGGCAACCA
 CCCGGGAAAG GACTGGAATG GATCGCAGCC ATTAGCGGGG GAGGGAGCAC CTATTACAAC
 TTGCCTCTCA AGAGCCGCGT GACCATATCC CGTGACACAA GCAAGAGCCA GGTTCCTCTG
 AAGCTGAGCT CCGTGACTGC TGCCGATACG GCTGTTTACT ATTGCACCCG ACCTCGCTGG
 TATCCCCGTT CCTATTTCGA CTACTGGGGA AGAGGCACAC TGGTTACCGT CTCG

SEQ IN NO:98 编码抗毒素 B 抗体 1102.g4 VL 区域的多核苷酸序列

AACATCGTGC TGACACAGTC TCCTGCAACC CTTTCACTGT CTCCAGGTGA ACGAGCAACC
 CTGAGTTGTA GAGCCAGTCA GAGGATCTCC ACGAGCATTC ACTGGTATCA GCAAAAGCCT
 GGGCAAGCTC CCAGACTCTT GATCAAGTAC GCCTCTCAGA GCATAAGTGG CATTCCAGCT
 AGGTTTAGCG GCTCAGGCTC AGGAACAGAC TTCCTCTGA CCATCAGCTC CCTGGAACCG
 GAGGACTTTG CCGTCTATTA CTGCCAGCAA TCCTACTCCA GTCTGTACAC CTTCCGGGCAG
 GGTACTAAAC TGGAGATAAA G

图6

SEQ IN NO:100 编码抗毒素 B 抗体 1102.g4 VH 区域的多核苷酸序列

GAAGTGCAGC TGGTCAATC CGGGGGAGGT TTGGTGCAAC CAGGTGGCTC ACTGAGACTG
 AGCTGTGCCG TTTCCGGCTT TACGTTCTCA GACAGTTATA TGGCCTGGGT GCGTCAAGCA
 CCTGGAAAAG GGCTGGAGTG GATTGCCAGT ATCAGCTATG GTGGGACCAT AATCCAGTAC
 GGCGATAGCG TCAAGGGCAG GTTTACTATC TCCAGGGACA ACGCCAAGTC AAGCCTTTAC
 CTGCAGATGA ATTCTCTCCG CGCAGAGGAT ACCGCTGTGT ATTACTGCGC TAGACGGCAG
 GGAACCTACG CTCGATACCT GGACTTCTGG GGTCAGGGAA CACTCGTTAC AGTCTCG

SEQ IN NO:108 编码抗毒素 B 抗体 1114.g2 VL 区域的多核苷酸序列

GCGACGCAAA TGA CTAGTC GCCCTCATCG CTTAGCGCGT CCGTCGGAGA TAGAGTGACG
 ATCACCTGCC GCGCATCAGA GTCGGTGTCC AACTCCTCC ACTGGTATCA GCAGAAACCG
 GGGAAAGCAC CAAACTCTT GATCTACAAA GCCAGCAACC TTGCGTCCGG TGTCCCGTCA
 AGGTCTCCG GGAGCGGTTT GGGGACAGAC TTTACTTTGA CCATTTCGTC GCTTCAGCCG
 GAGGACTTCG CCACCTATTA CTGTCATCAG TCATGGAAC CACCTCCCAC ATTTGGCCAG
 GGAACGAAAC TCGAAATCAA G

SEQ IN NO:110 编码抗毒素 B 抗体 1114.g2 VH 区域的多核苷酸序列

GAAGTACAAC TCGTAGAGTC AGGGGGTGGG CTGGTCCAAC CTGGCGGCTC CCTTCGGCTT
 TCGTGTGCCG CCTCGGGATT CACGTTTAGC AATTACGGTA TGGCCTGGGT GAGGCAGGCA
 CCAGGGAAGG GTCTTGAGTG GGTAGCGATC ATCAACTATG ATGCAAGCAC CACCCACTAC
 AGGGATAGCG TCAAGGGACG CTTTACTATC AGCCGGGATA ATGCGAAATC CTCGCTCTAT
 CTGCAGATGA ACTCCCTCAG AGCCGAGGAC ACCGCAGTGT ACTATTGCAC ACGATACGGA
 CGCTCGCACT ATTTGACTA TTGGGGACAG GGGACGCTCG TAACTGTCTC G

图7

SEQ IN NO:118 编码抗毒素 B 抗体 1114.g8 VL 区域的多核苷酸序列

GACACGGTCC TGACTCAGTC GCCCTCATCG CTTAGCGCGT CCGTCGGAGA TAGAGTGACG
 ATCACCTGCC GCGCATCAGA GTCGGTGTCC AACTCTCC ACTGGTATCA GCAGAAACCG
 GGAAGGCAC CAAACTCTT GATCTACAAA GCCAGCAACC TTGCGTCCGG TGTCCCGTCA
 AGGTTCTCCG GGAGCGGTTT GGGGACAGAC TTTACTTTGA CCATTTCGTC GCTTCAGCCG
 GAGGACTTCG CCACCTATTA CTGTCATCAG TCATGGAAC CACCTCCCAC ATTTGGCCAG
 GGAACGAAAC TCGAAATCAA G

SEQ IN NO:120 编码抗毒素 B 抗体 1114.g8 VH 区域的多核苷酸序列

GAAGTACAAC TCGTAGAGTC AGGGGGTGGG CTGGTCCAAC CTGGCGGCTC CCTTCGGCTT
 TCGTGTGCCG CCTCGGGATT CACGTTTAGC AATTACGGTA TGGCCTGGGT GAGGCAGGCA
 CCAGGGAAGG GTCTTGAGTG GGTAGCGATC ATCAACTATG ATGCAAGCAC CACCCACTAC
 AGGGATAGCG TCAAGGGACG CTTTACTATC AGCCGGGATA ATGCGAAATC CTCGCTCTAT
 CTGCAGATGA ACTCCCTCAG AGCCGAGGAC ACCGCAGTGT ACTATTGCAC ACGATACGGA
 CGCTCGCACT ATTTCTGACTA TTGGGGACAG GGGACGCTCG TAACTGTCTC G

SEQ IN NO:128 编码抗毒素 B 抗体 1125.g2 VL 区域的多核苷酸序列

GATATACAAA TGACTCAGAG CCCTAGCTCA CTGAGCGCTT CTGTGGGCGA TCGTGTGACA
 ATCACTTGCA AAGCAAGCCA GAACATCTAT ATGTACCTGA ATTGGTACCA GCAAAAACCG
 GGAAAAGCTC CCAAGCGCCT GATTTACAAC ACCAATAAGC TGCATACCGG CGTGCCAAGC
 CGTTTTAGCG GATCTGGCTC TGGAAACGAA TATACACTGA CCATAAGCTC CCTGCAACCG
 GAAGACTTTG CAACTTACTA TTGCCTCCAG CACAAATCCT TCCCCTATAC GTTCGGACAA
 GGGACCAAAC TGGAAATCAA A

SEQ IN NO:130 编码抗毒素 B 抗体 1125.g2 VH 区域的多核苷酸序列

GAAGTGCAGC TGGTCGAAAG CGGCGGAGGA TTGGTGCAAC CTGGTGGCTC TCTTCGCCTG
 TCTTTCGCTG CAAGCGGCTT TACGTTCCGC GATAGCTTTA TGGCTTGGGT GCGACAAGCT
 CCTGGGAAAG GGCTGGAATG GGTGCTAGC ATAAGCTACG AAGGCGACAA GACTTACTAT
 GGGGACTCTG TGAAAGGCCG ATTCACCATT AGCCGAGACA ACGCAAAGAA CTCCCTGTAC
 CTGCAGATGA ACTCCCTGCG TGCCGAAGAT ACCGCCGTGT ACTATTGCGC TAGGCTGACG
 ATCACTACAA GCGGAGATAG CTGGGGACAA GGGACAATGG TGACCGTCTC GAGC

SEQ IN NO:138 编码抗毒素 B 抗体 1129.g1 VL 区域的多核苷酸序列

GACACCCAGA TGACTCAGTC TCCGTCAAGC CTTTCTGCCT CTGTTGGAGA TCGAGTCACA
 ATTACGTGCA AGGCAAGCCA ACACGTGGGT ACCAACGTGG ACTGGTATCA ACAGAAGCCA
 GGAAGGTCC CCAAACTGCT GATCTACGGT GCCAGTATTC GCTATACCGG CGTGCCCTGAT
 CGCTTCACCG GAAGCGGGTC AGGGACCGAT TTCACACTGA CAATCAGCTC CCTGCAACCT
 GAAGACGTGG CTACTTACTA CTGCCTGCAG TACAACATA ATCCCTACAC CTTTGGCCAG
 GGCACCAAAC TGGAGATAAA G

SEQ IN NO:140 编码抗毒素 B 抗体 1129.g1 VH 区域的多核苷酸序列

GAGGTGCAAC TTGTGGAATC AGGAGGTGGC GTGGTTTCAGC CCGGTAGATC ACTTCGTCTG
 AGTTGTGCAA CAAGCGGCTT TATCTTCTCC AACTTCGGGA TGTCTTGGGT TAGACAGGCT
 CCTGGTAAGG GCCTCGAATG GGTGGCTAGT ATTAGCCCAA GCGGGGGAAA CGCCTACTAT
 AGGGACAGCG TGAAAGGACG CTTCACTATC AGCCGAGATA ACTCCAAGAC CACGCTGTAT
 CTGCAGATGA ATAGTCTGAG GGCCGAGGAT ACCGCAGTGT ACTACTGCAC TCGACGGGCC
 TATTCTTCCC CTTTTCCTT TTGGGGACAG GGGACTCTGG TGACAGTCTC GAGC

图8

SEQ IN NO:148 编码抗毒素 B 抗体 1134.g5 VL 区域的多核苷酸序列

GACGTCCAGC TCACTCAATC TCCCTCCTTT CTGTCTGCTT CTGTGGGCGA TCGCGTGACA
 ATAACCTGCA AGGCCTCCAA ATCAATTAGC AACCATCTGG CATGGTATCA GGAGAAGCCT
 GGCAAAGCCA ATAAGCTGCT GATCCACTCC GGCTCAACTC TGCAACCCGG TACCCCAAGC
 CGATTTAGCG GATCTGGGAG CGGAACCGAG TTCACACTTA CCATTAGCTC CCTGCAACCG
 GAGGACTTCG CCACCTATTA CTGCCAGCAA TACGACGAAT ACCCCTATAC GTTCGGCCAA
 GGGACAAGAT TGGAAATCAA G

SEQ IN NO:150 编码抗毒素 B 抗体 1134.g5 VH 区域的多核苷酸序列

GAAGTTCAGC TGCAGGAATC TGGACCTGGC TTGGTGAAAC CAAGCGAGAC ACTTAGTCTC
 ACTTGCACCG TTTCCGGCTT CTCCCTTAAT TCCTACACGA TCACTTGGGT GCGGCAACCA
 CCCGGGAAAG GACTGGAATG GATCGCAGCC ATTAGCGGGG GAGGGAGCAC CTATTTCAAC
 TCGGCTCTCA AGAGCCGCGT GACCATATCC CGTGACACAA GCAAGAGCCA GGTTCCTTG
 AAGCTGAGCT CCGTGACTGC TGCCGATACG GCTGTTTACT ATTGCACCCG ACCTCGCTGG
 TATCCCCGTT CCTATTTCTGA CTACTGGGGA AGAGGCACAC TGGTTACCGT CTCG

SEQ IN NO:158 编码抗毒素 B 抗体 1151.g4 VL 区域的多核苷酸序列

GCGATTCAAA TGACTCAGTC GCCCTCATCG CTTAGCGCGT CCGTCGGAGA TAGAGTGACG
 ATCACGTGCA AAGCATCACA AAATGTCGGG AACAATGTGG CATGGTATCA GCATAAACCG
 GGGAAAGGCAC CAAACTCTT GATCTACTAC GCCAGCAACA GGTTTACTGG TGTCCCGTCA
 AGGTTACCG GAGGGGGTTA CGGGACAGAC TTTACTTTGA CCATTTCGTC GCTTCAGCCG
 GAGGACTTCG CCACCTATTA CTGTCAGAGG GTCTACCAGT CAACGTGGAC ATTTGGCCAG
 GGAACGAAAG TGGAAATCAA G

图9

SEQ IN NO:160 编码抗毒素 B 抗体 1151.g4 VH 区域的多核苷酸序列

GAAGTACAAC TCCAAGAGTC GGGGCCTGGT CTGGTCAAGC CGTCCGAAAC ACTTTCGCTG
 ACGTGACGG TATCAGGATT CTCACTTACA TCATACTACG TCCACTGGGT GAGGCAGCCA
 CCCGGGAAGG GTCTTGAGTG GATGGGCTGC ATTAGAACCG GAGGGAATAC CGAGTACCAG
 AGCGAATTTA AGAGCCGCGT CACTATCAGC CGGGATACGT CCAAAAACCA GGTGTCGCTC
 AAATTGTCCT CCGTGACGGC CGCTGACACC GCAGTGTACT ATTGCGCGCG AGGAACTAT
 GGCTTTGCGT ATTGGGGACA GGGGACGCTC GTAAGTGTCT CG

SEQ IN NO:168 编码抗毒素 B 抗体 1153.g8 VL 区域的多核苷酸序列

GATATACAGA TGACTCAGTC CCCTTCTAGC CTTTCAGCTT CCGTGGGCGA TAGAGTGACT
 ATCACGTGTA AGGCTAGTCA GAACATTAAC AAGTATCTGG ACTGGTACCA GCAGAAACCC
 GGGAAAGGTT CCAAGCTGCT GATCTACAAC ATCCAGTCCC TGCATACAGG CATTCTAGC
 CGGTTTAGCG GATCTGGTTC AGGGACCGAC TTCACCCTGA CAATCAGCTC TCTGCAACCA
 GAAGACGTGG CCACCTATTA CTGCTTCCAG CACAATAGTG GCTGGACTTT TGGACAAGGT
 ACCAGGCTGG AGATCAAA

SEQ IN NO:170 编码抗毒素 B 抗体 1153.g8 VH 区域的多核苷酸序列

GAGGTTTCAGC TGGTGGAATC AGGAGGGGGT CTGGTGCAAC CAGGAGGCTC CCTGAAACTG
 TCTTGCGCCG CAAGCGGCTT TACGTTTACC CAGGCCGCTA TGTTCTGGGT TAGGCAGGCC
 AGTGGGAAGG GTCTTGAAGG CATCGCAAGA ATCAGCACCA AGAGCAACAA TTTCGCTACG
 TACTATCCGG ACTCCGTGAA AGGCCGGTTT ACCATTTCTC GCGATGACAG CAAGAACACC
 GTGTACCTGC AGATGAACAG TCTCAAGACC GAGGACACAG CCGTGTAATA TTGTACTGCT
 CCCGCCTATT ATTACGATGG CACAGTGCCT TTCGCATACT GGGGACAGGG
 TACTTTGGTG ACTGTCTCG

图10

来自以毒素TcdA免疫的4只兔子和以TcdB结合结构(TcdB1234)免疫的5只大鼠的血清滴度。使用涂覆于ELISA板上的TcdA毒素或TcdB结合结构域产生的ELISA数据

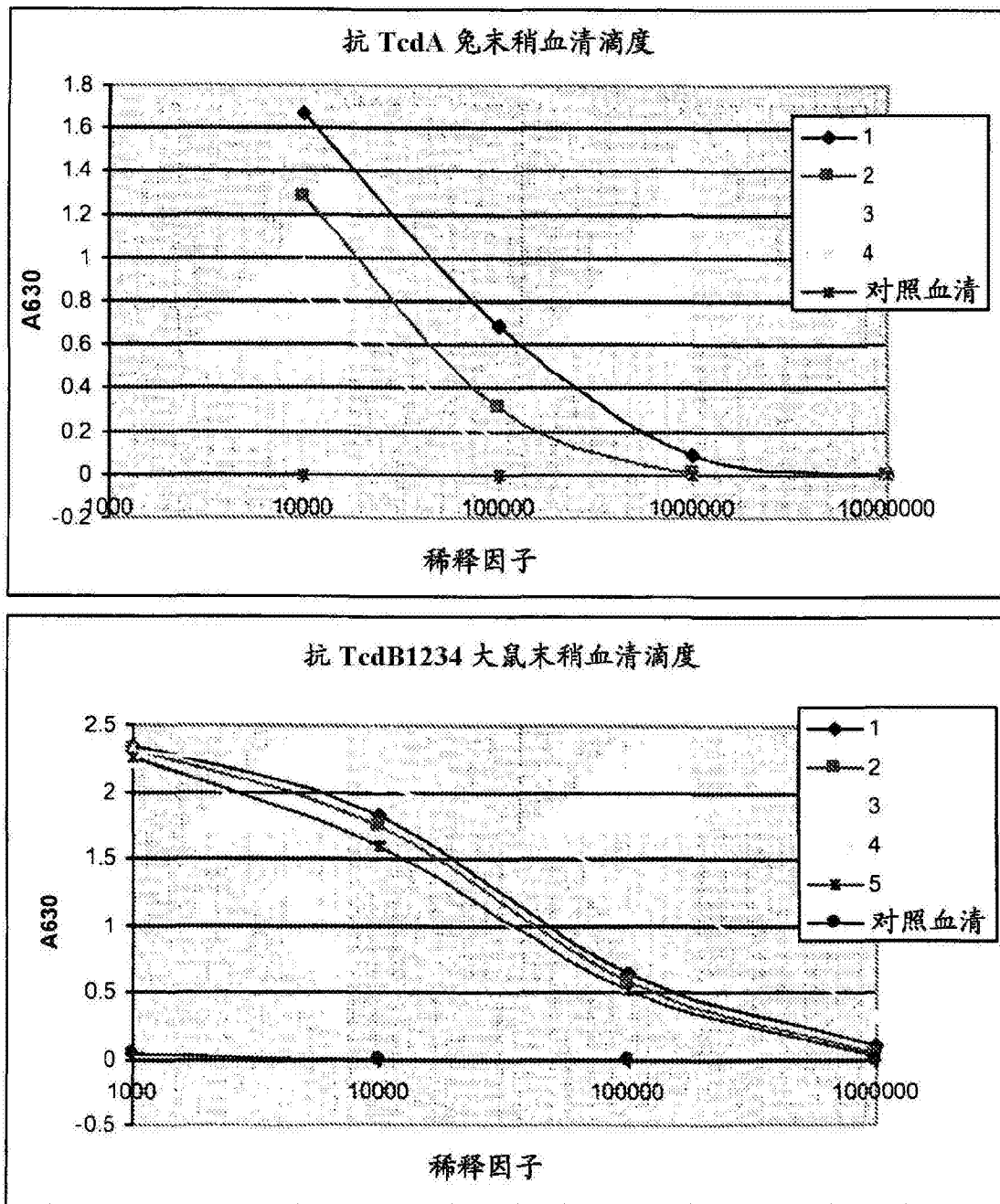


图11

单一Mab的抗TcdA(核糖型 003)体外中和数据(X轴浓度(ng/ml)和Y轴中和%)

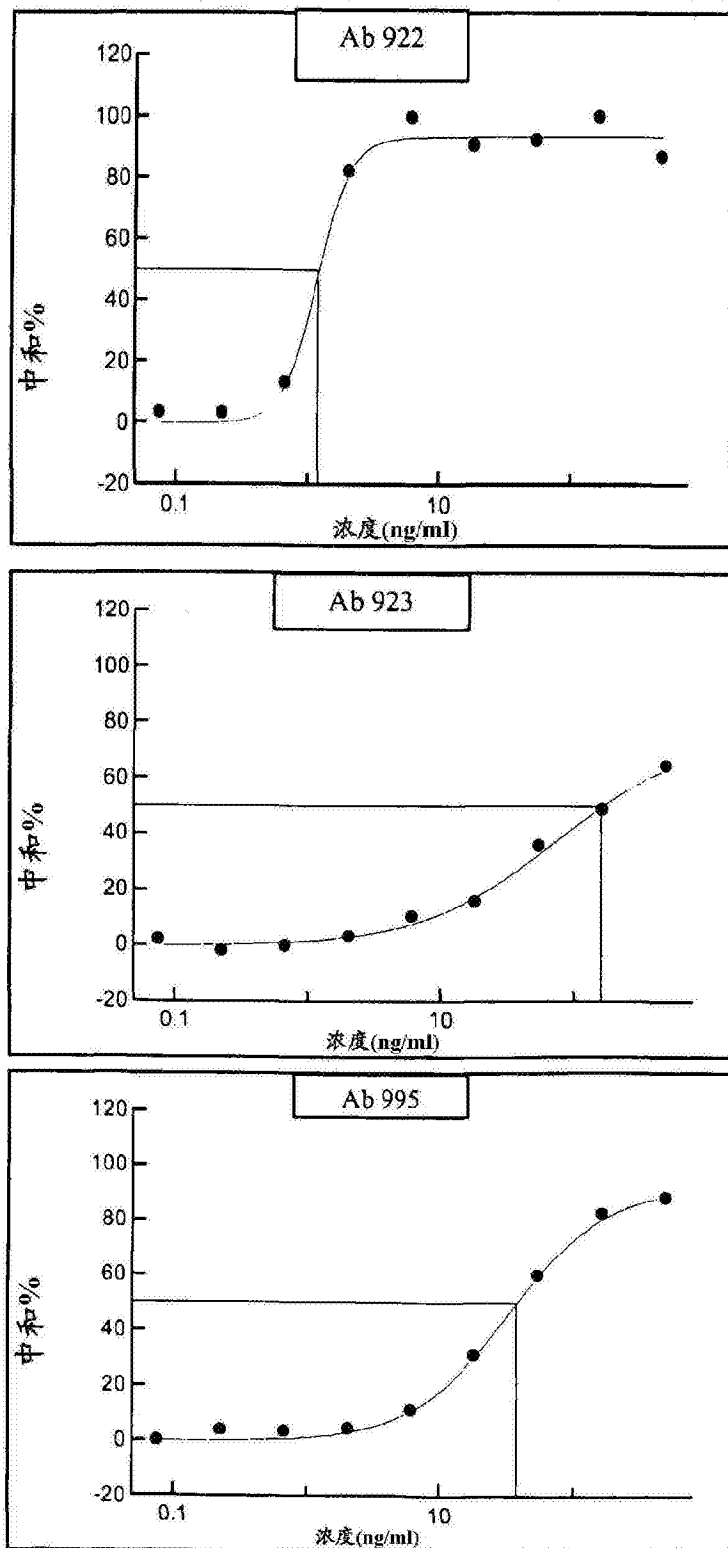


图12

单一 Mab 的抗 TcdA(核糖型 003)体外中和数据(X 轴浓度(ng/ml)和 Y 轴中和%)

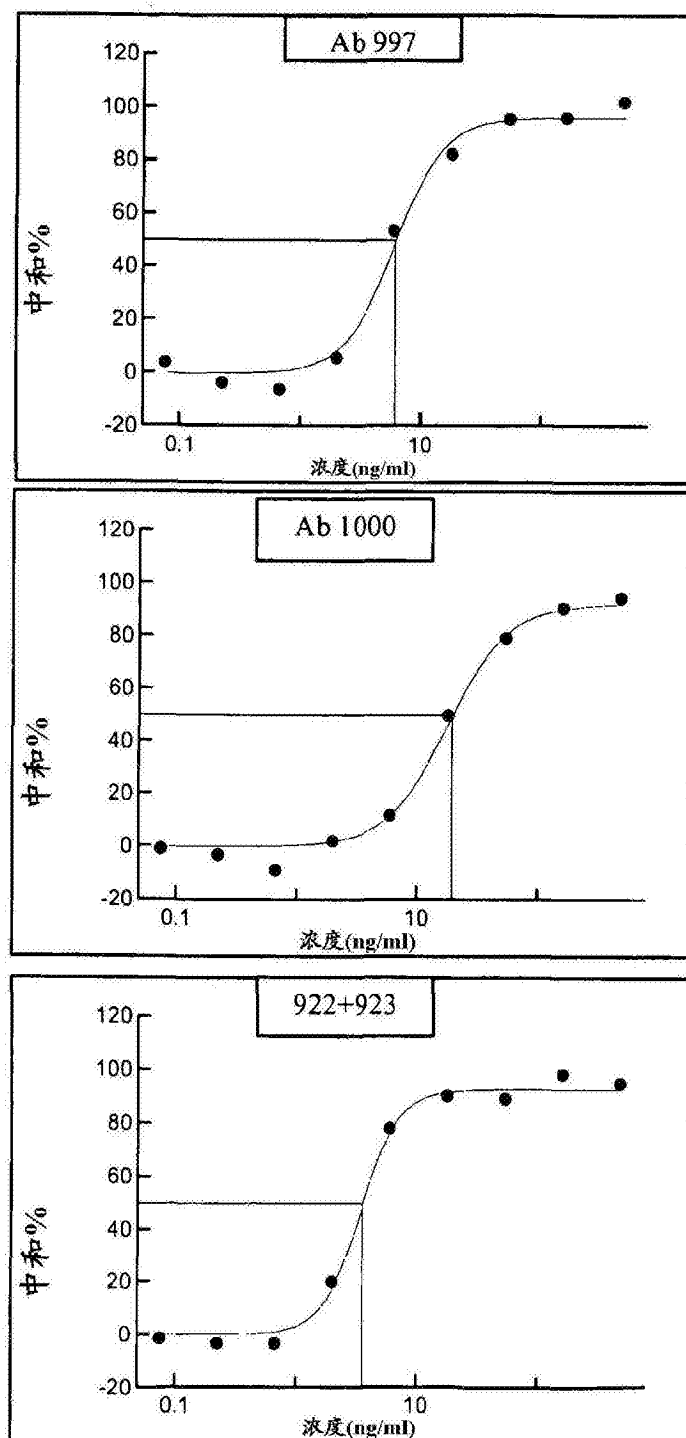


图13

配对 Mab 抗 TcdA(核糖型 003)体外中和数据(X 轴浓度(ng/ml)和 Y 轴中和%)

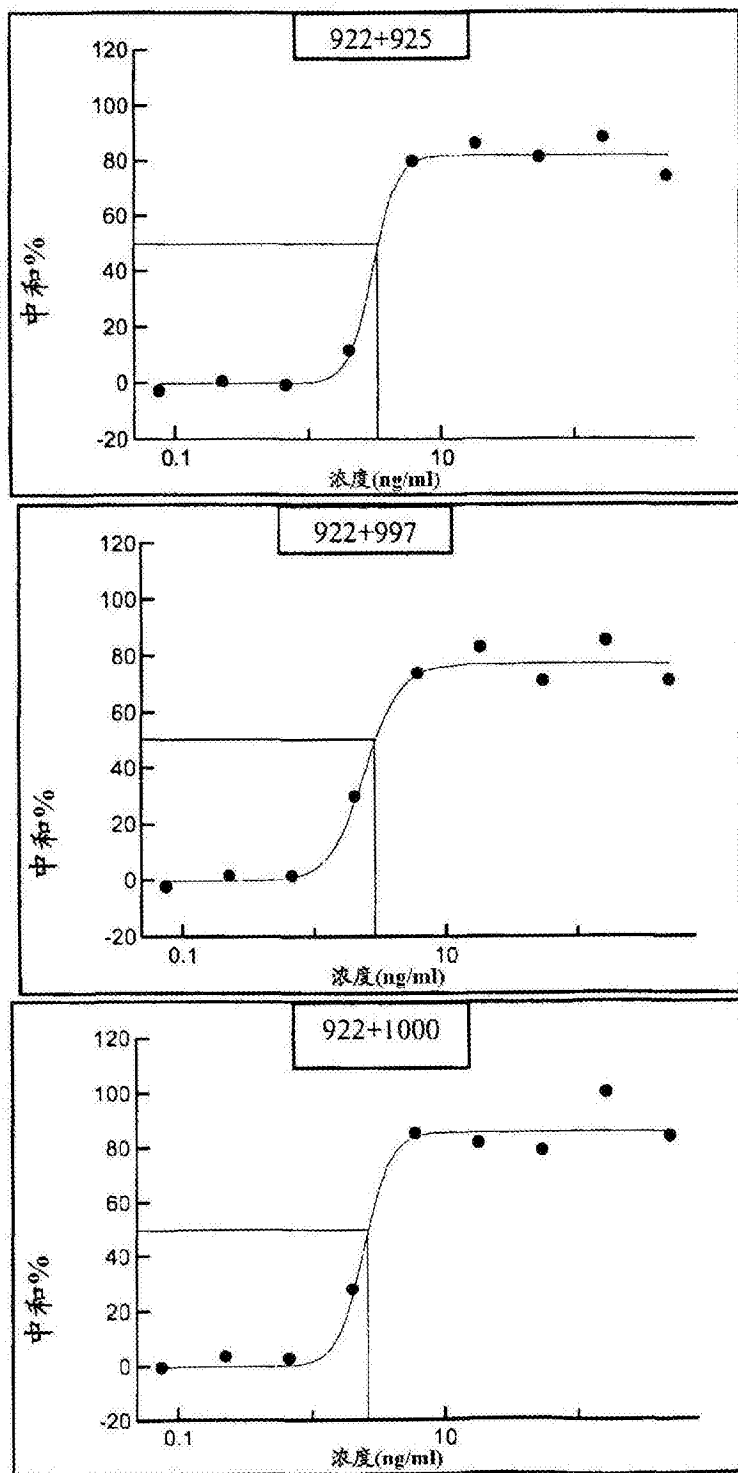


图14

配对Mab的抗TcdA(核糖型 003)体外中和数据 (X轴浓度(ng/ml)和Y轴中和%)

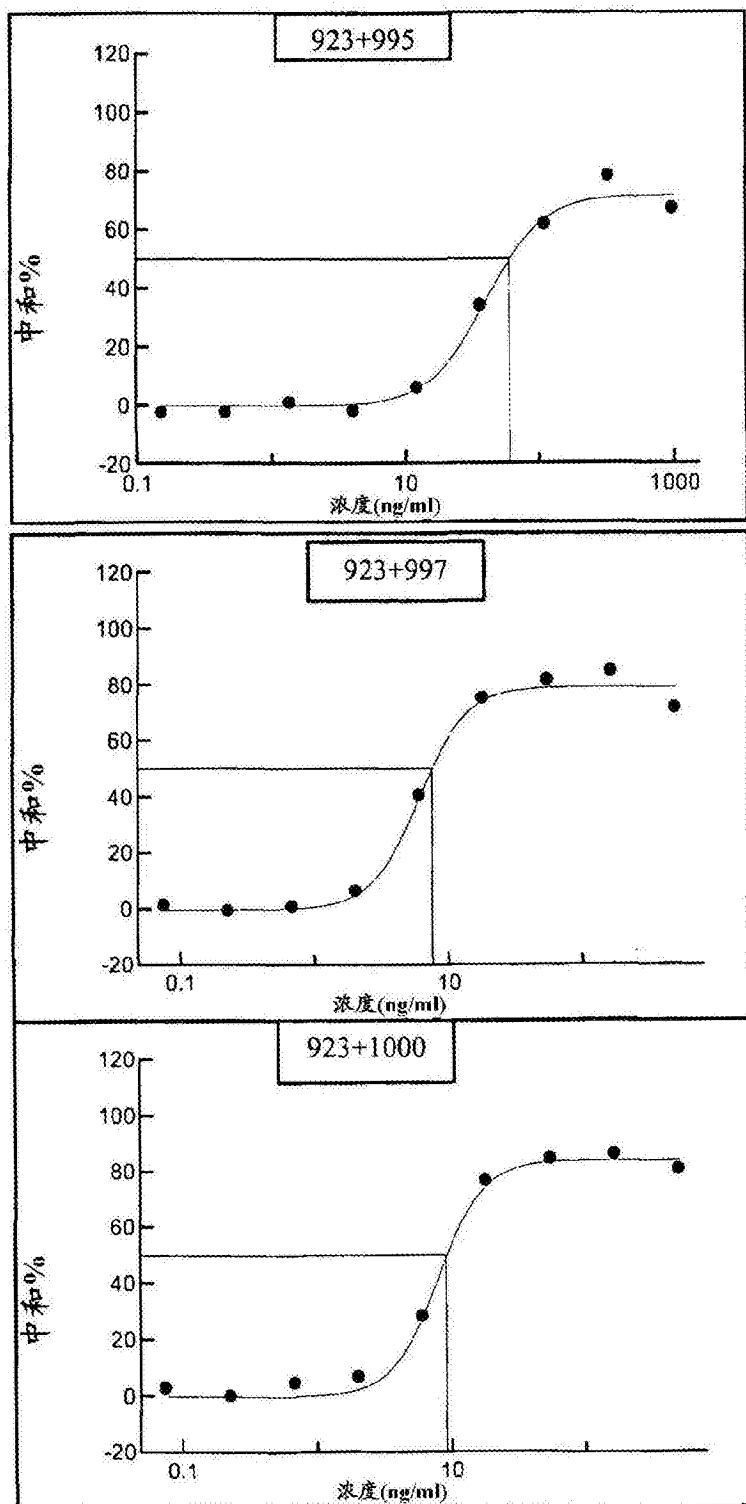


图15

三种Mab混合物的抗 TcdA(核糖型 003)体外中和数据(X 轴浓度(ng/ml)和 Y 轴中和%)

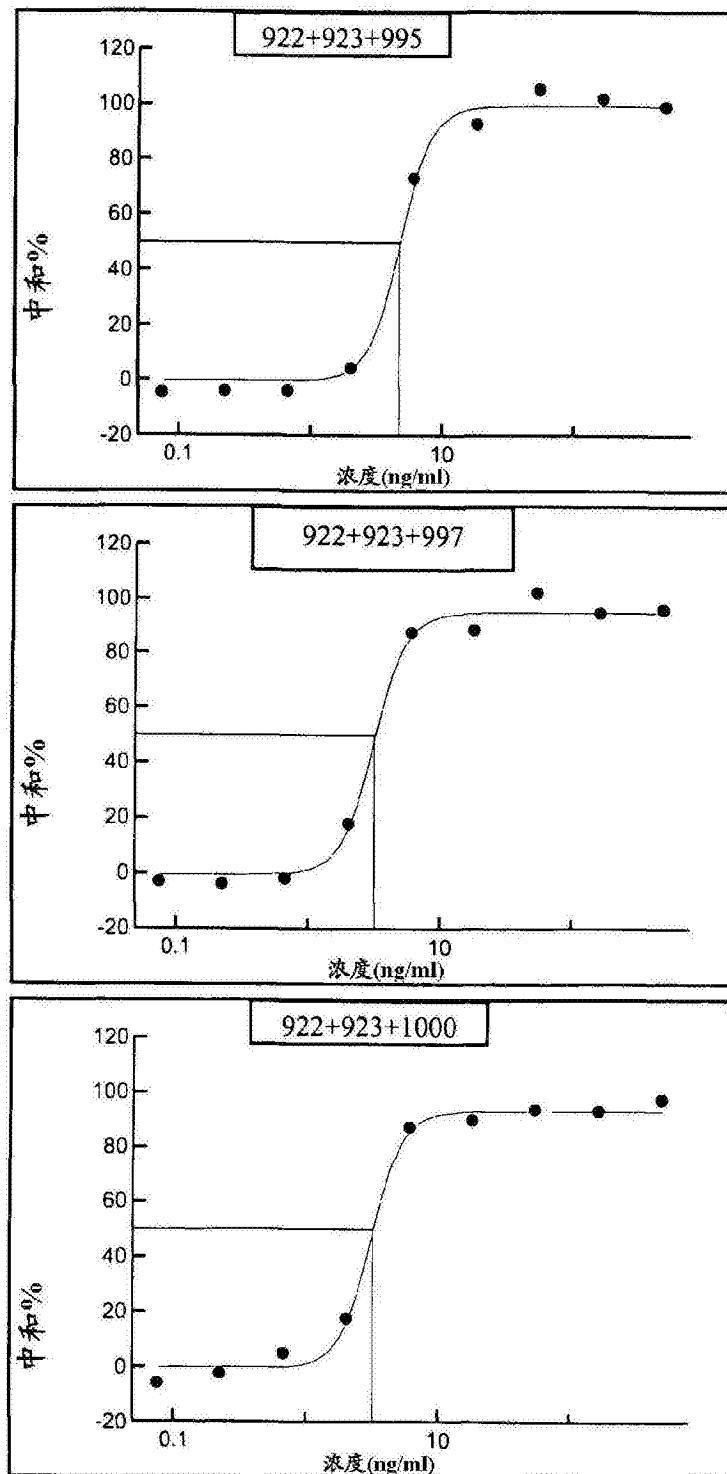


图16

三种Mab混合物的抗 TcdA(核糖型 003)体外中和数据(X 轴浓度(ng/ml)和 Y 轴中和%)

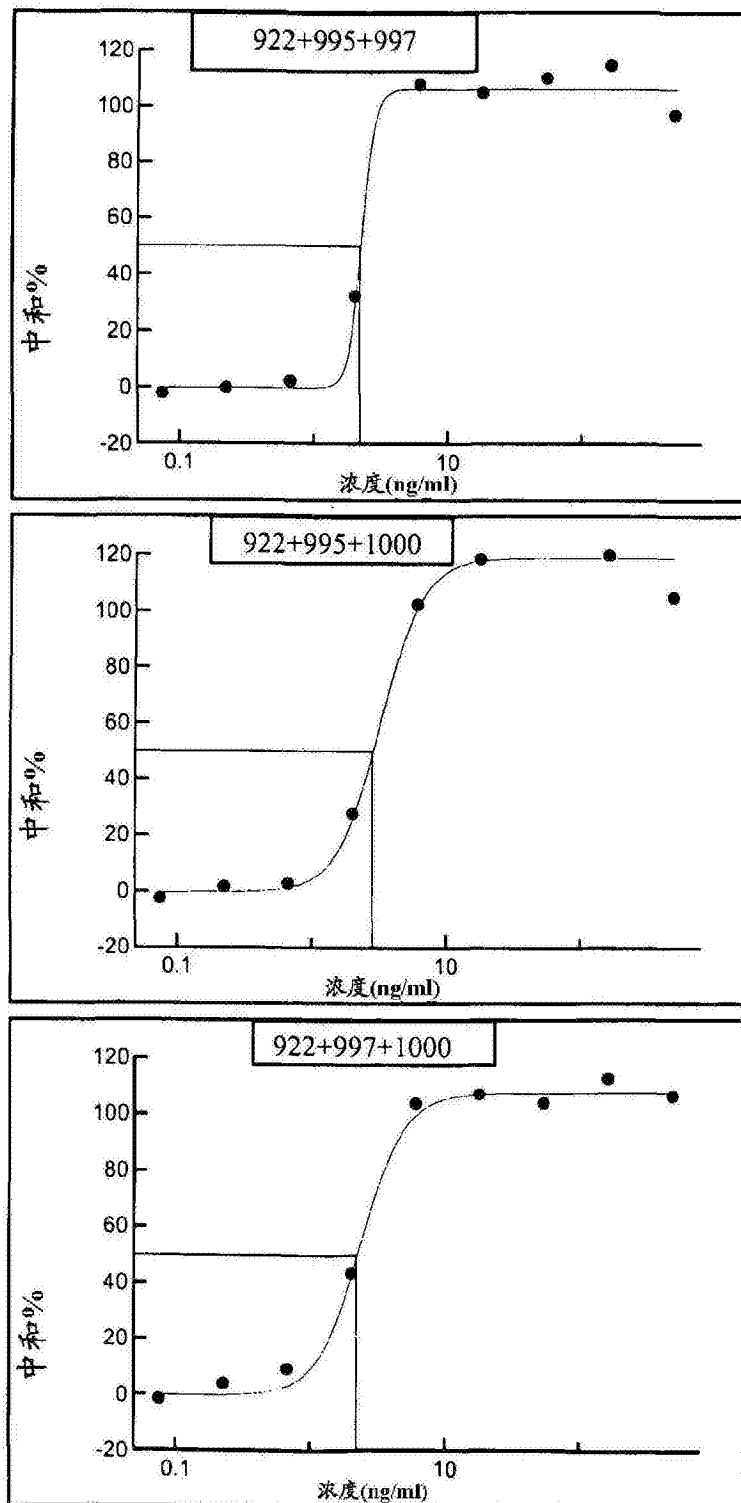


图17

三种Mab混合物的抗TcdA(核糖型 003)体外中和数据(X轴浓度(ng/ml)和Y轴中和%)

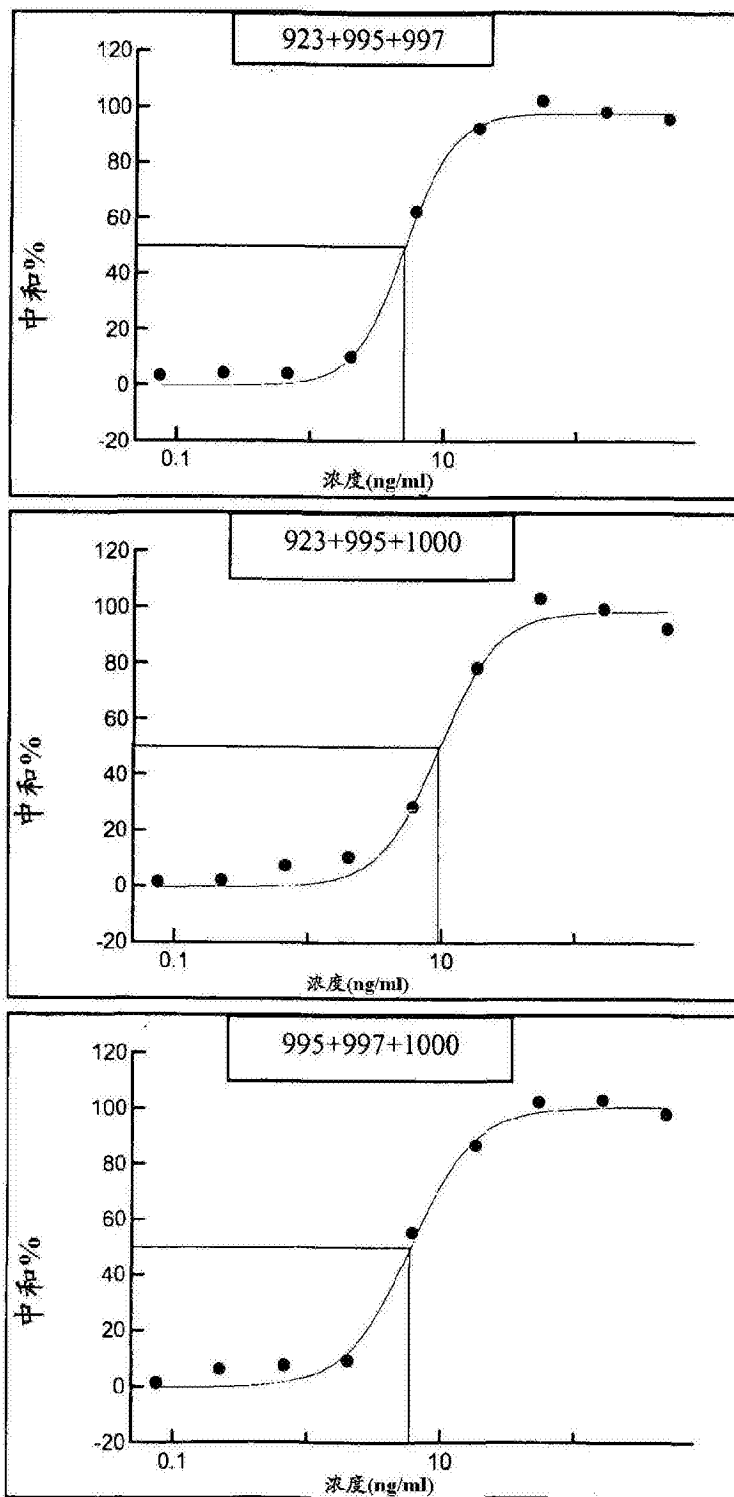


图18

四种和五种Mab混合物的抗 TcdA(核糖型 003)体外中和数据(X 轴浓度(ng/ml)和 Y 轴中和%)

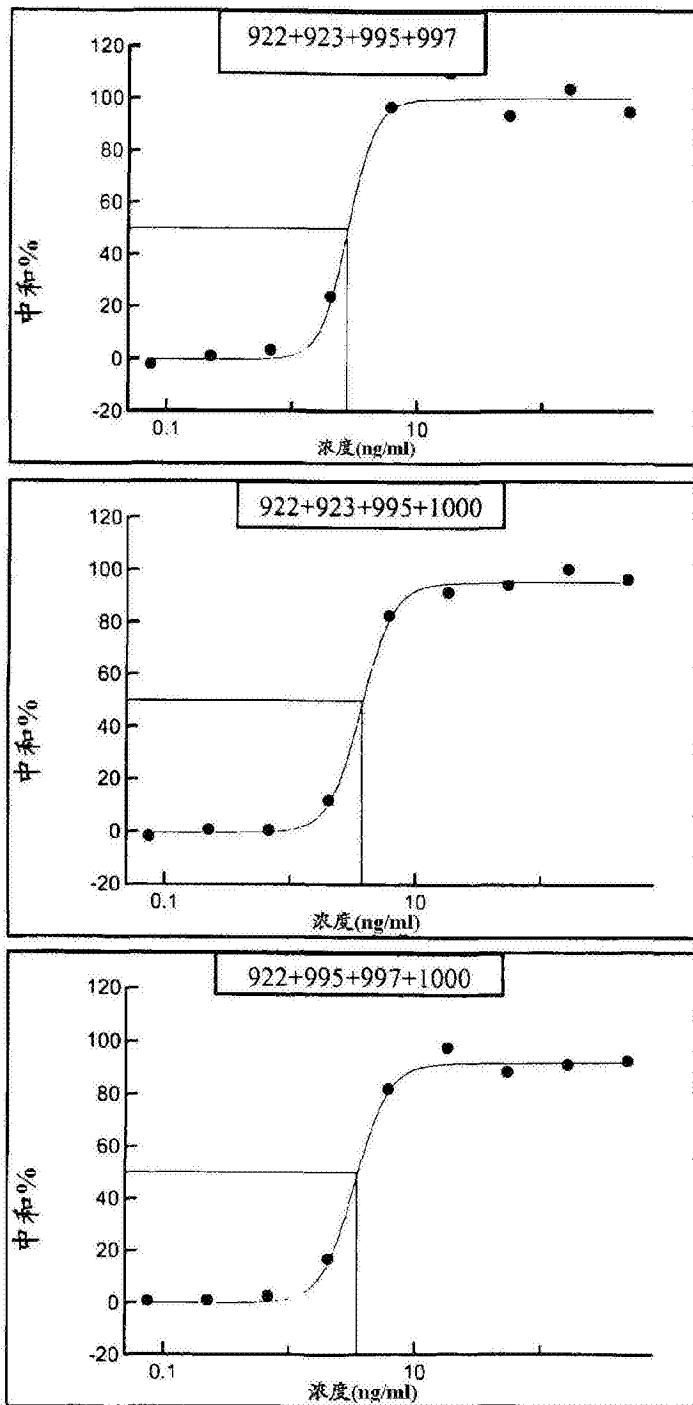


图19

四种和五种Mab的混合物的抗TcdA(核糖型003)体外中和数据(X轴为浓度ng/ml和Y轴中和%)

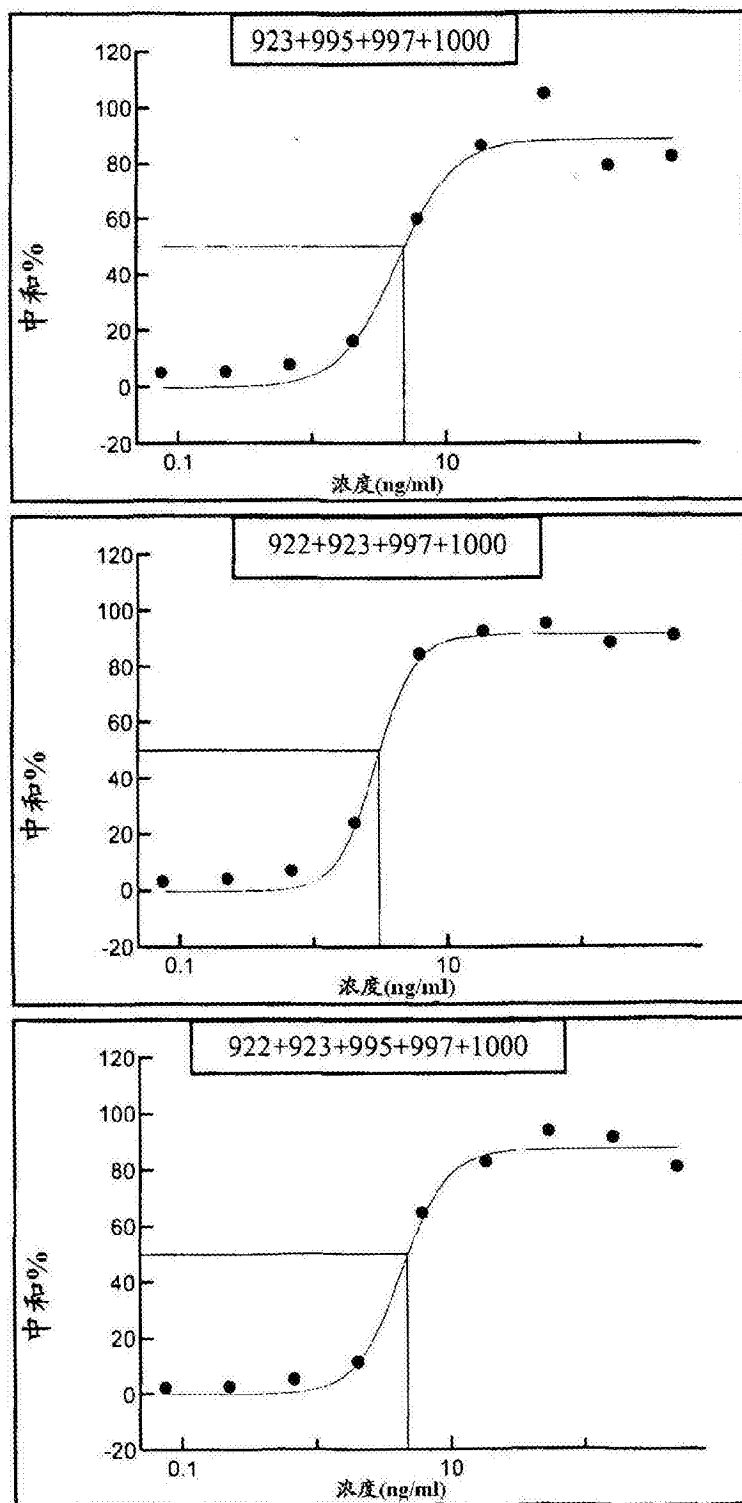


图20

单一和成对 Mab 在不同 TcdA 浓度上的抗 TcdA(核糖型 003)体外中和数据(X 轴为浓度 ng/ml)

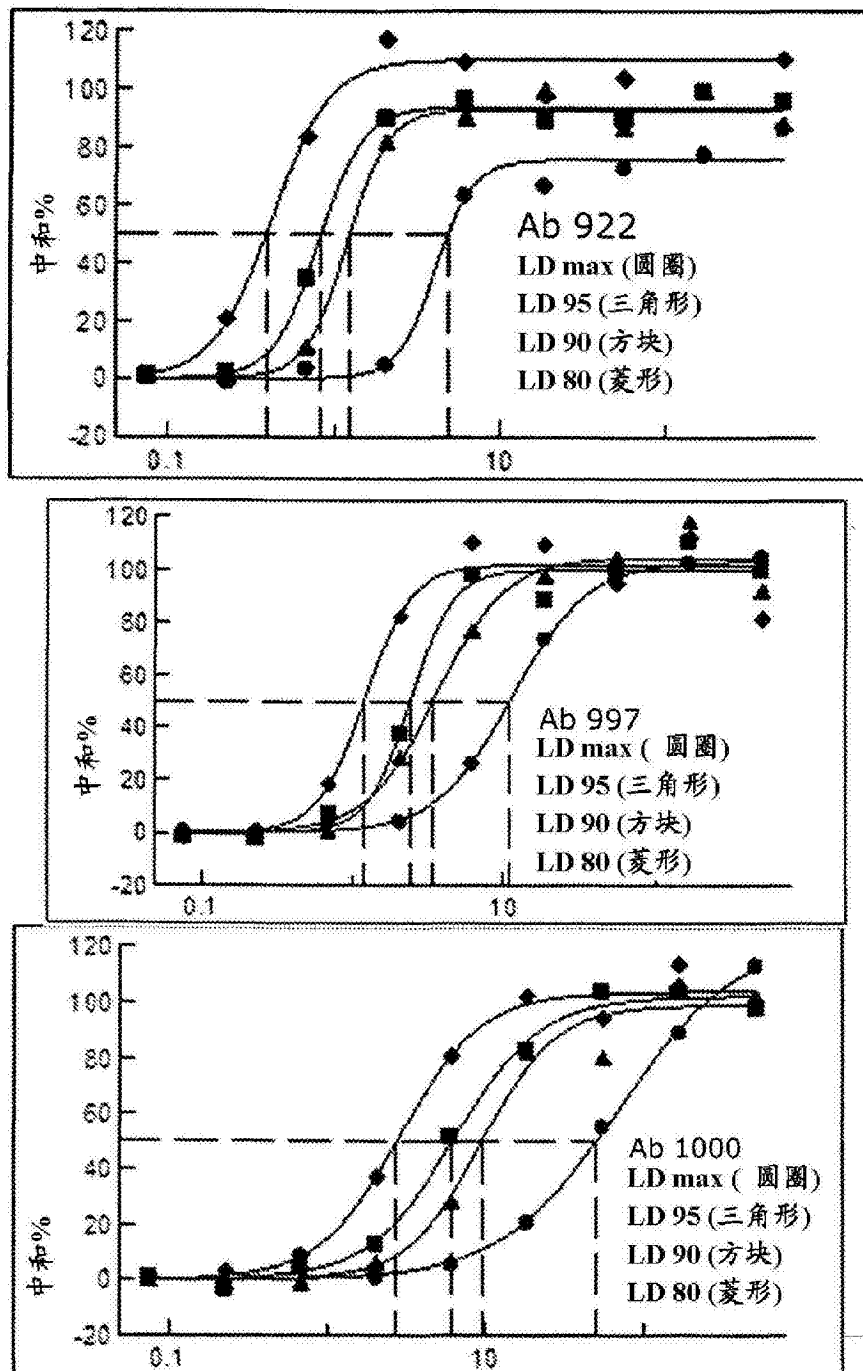


图21

单一和成对 Mab 在不同 TcdA 浓度上的抗 TcdA(核糖型 003)体外中和数据(X 轴为浓度 ng/ml)

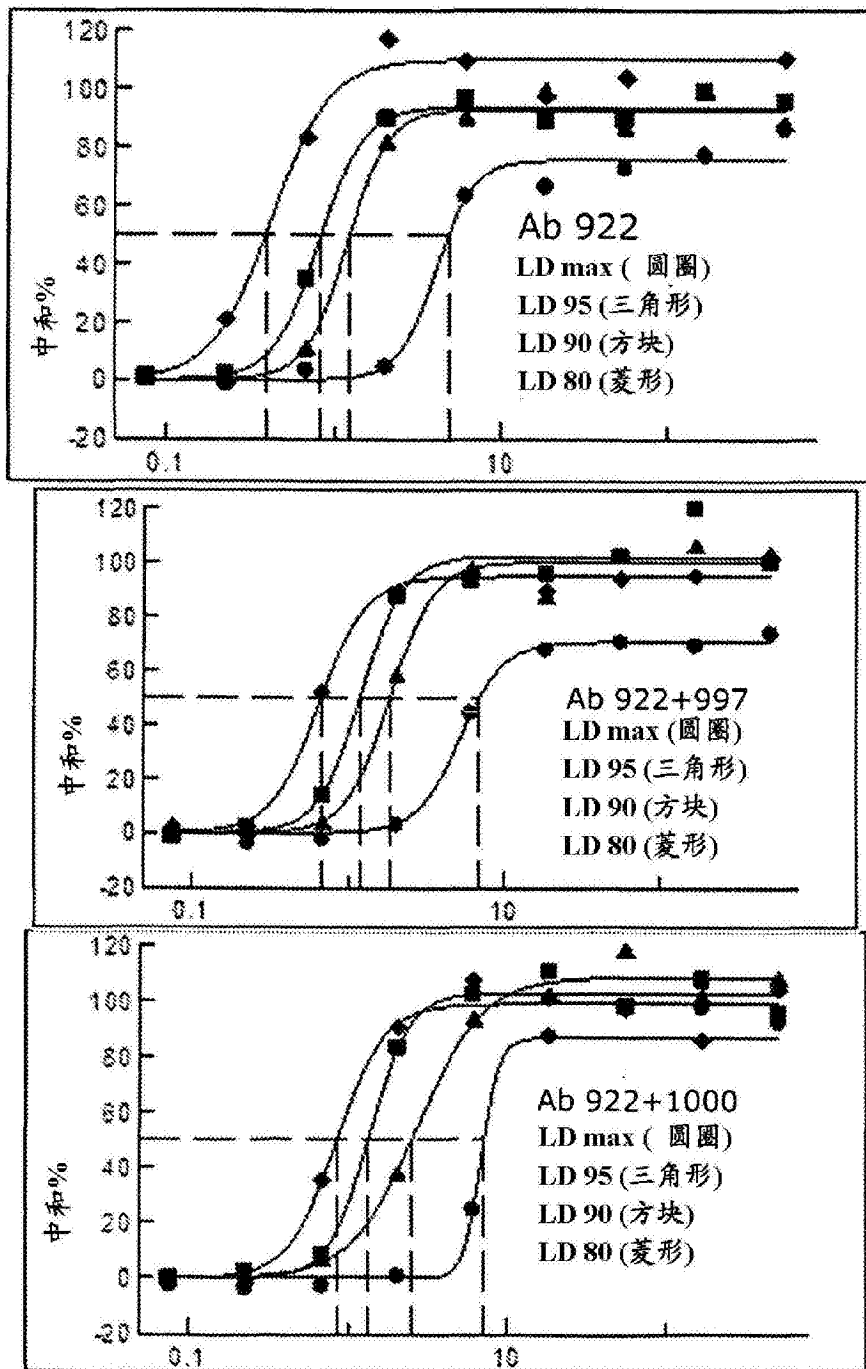


图22

单一和五种Mab的混合物在不同TcdA浓度上的抗TcdA (核糖型003) 体外中和数据 (X轴为浓度ng/ml)

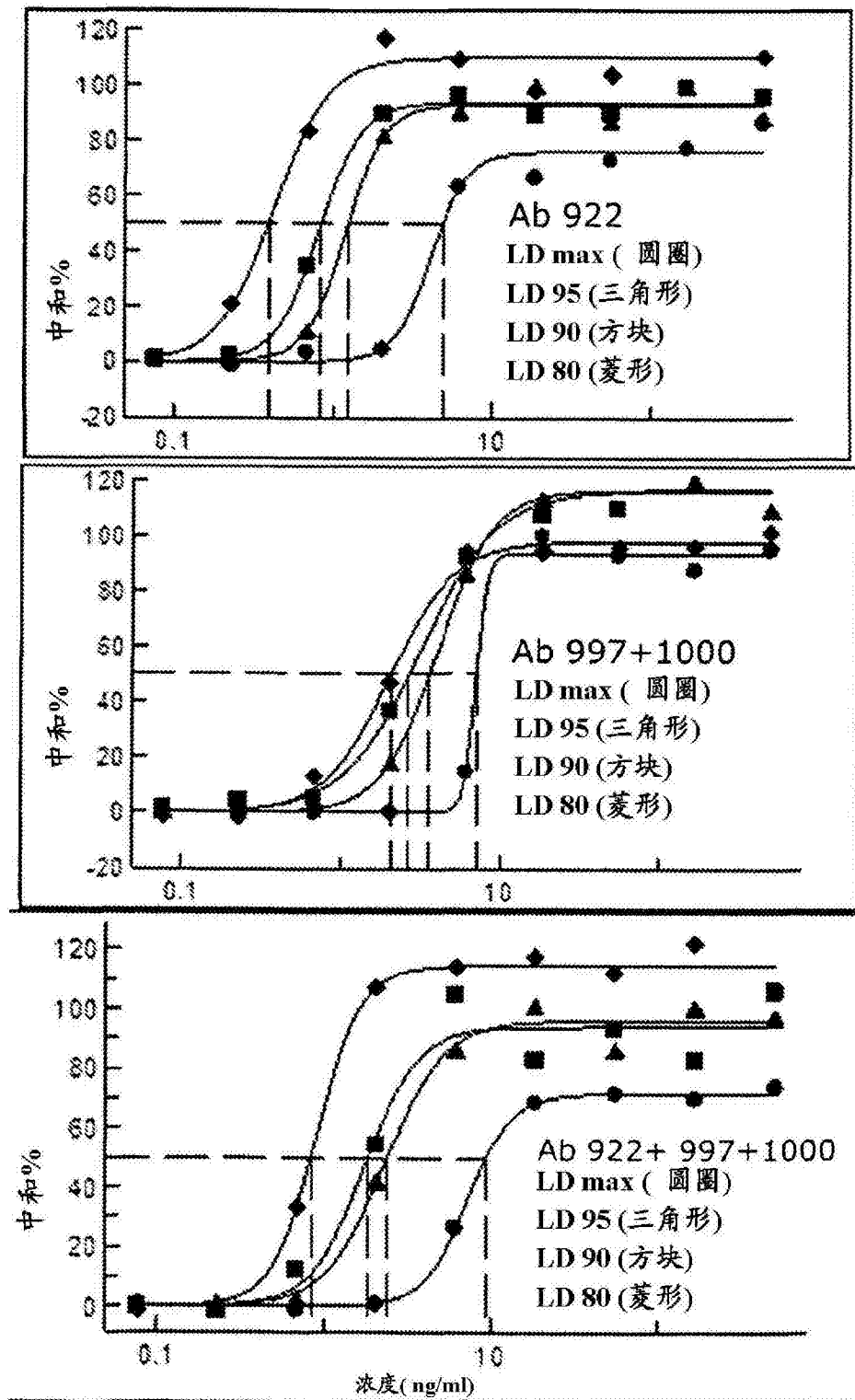


图23

单一和五种Mab的混合物在不同TcdA浓度上的抗TcdA（核糖型003）
体外中和数据（X轴为浓度ng/ml）

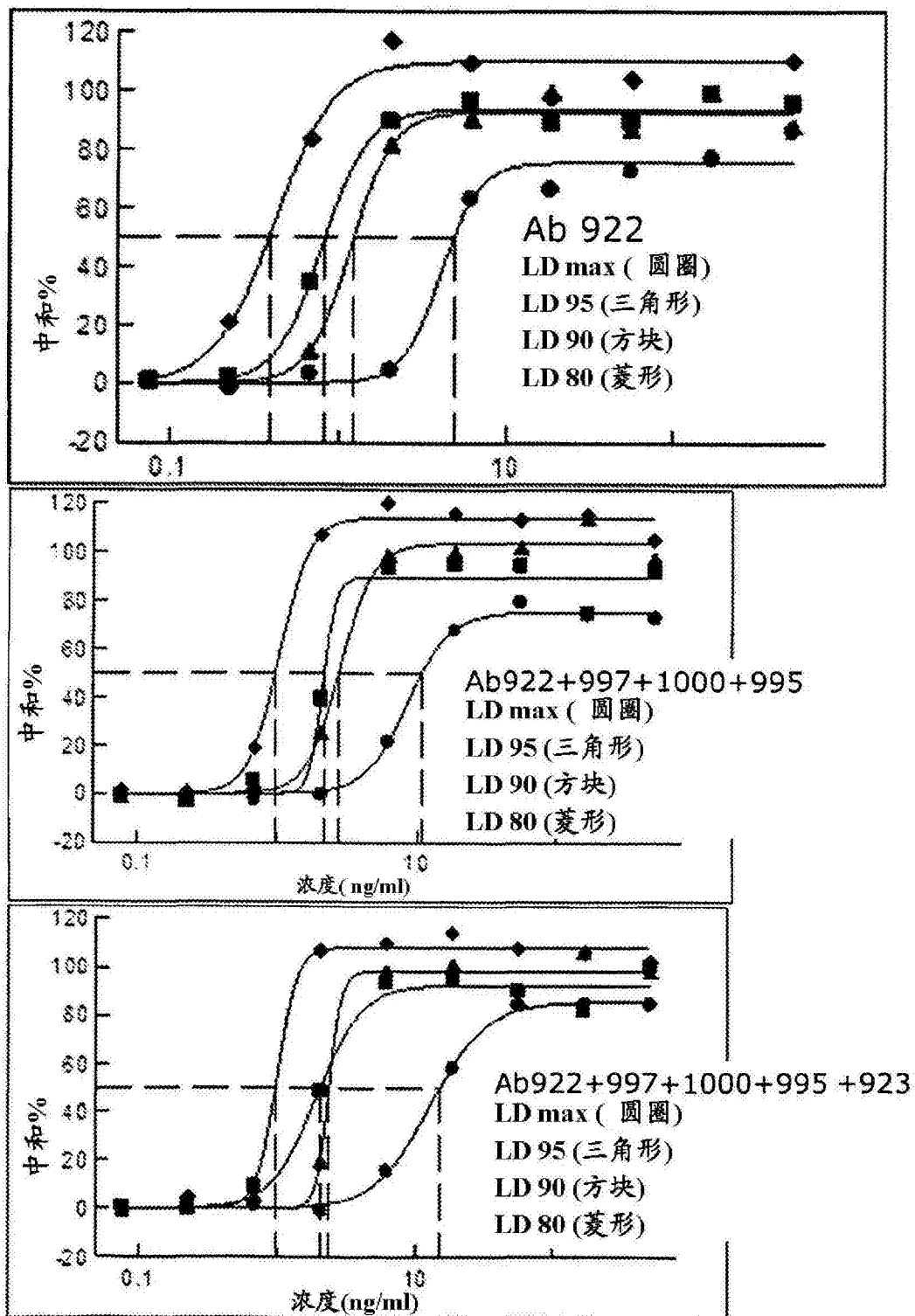


图24

单一 Mab 的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据(分别地对于 1125.g2, 1134.g5 和 927.g2 的 Y 轴中和 X 轴浓度 ng/ml)

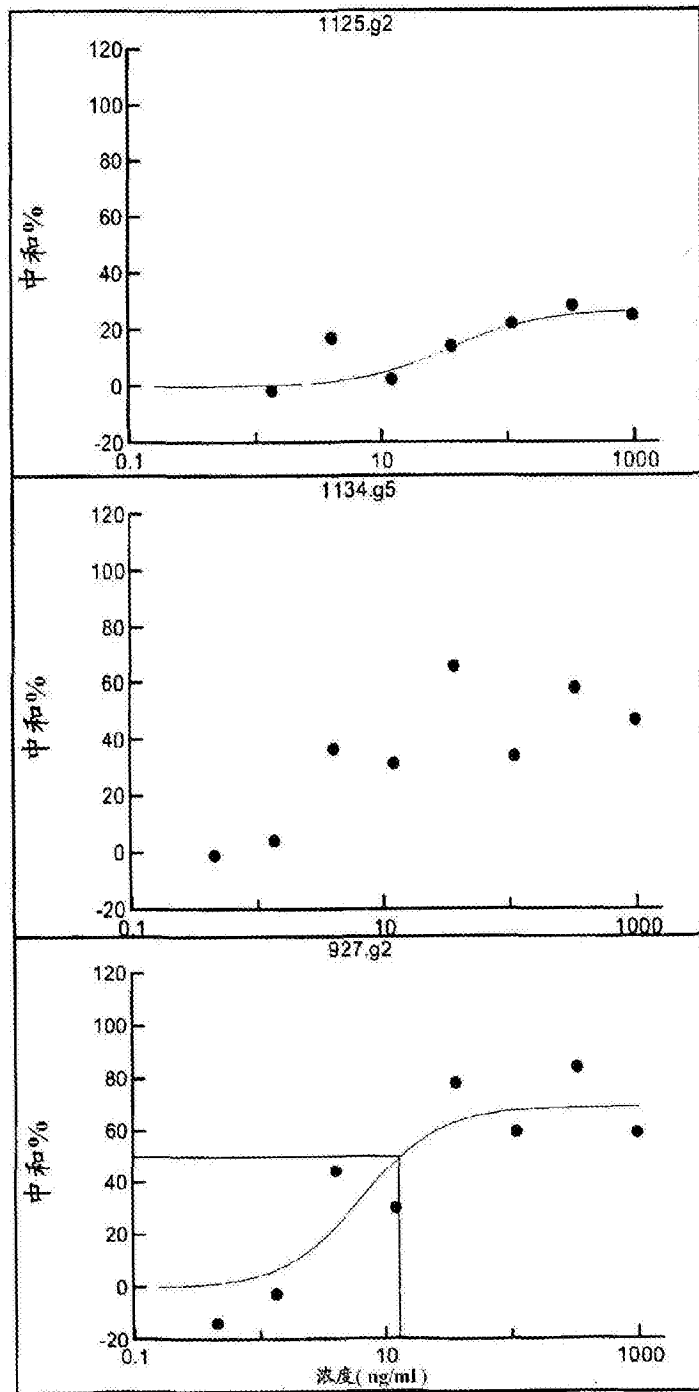


图25

单一 Mab 的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据(分别地对于 1153.g8 和 1102.g4 的 Y 轴中和 X 轴浓度 ng/ml)

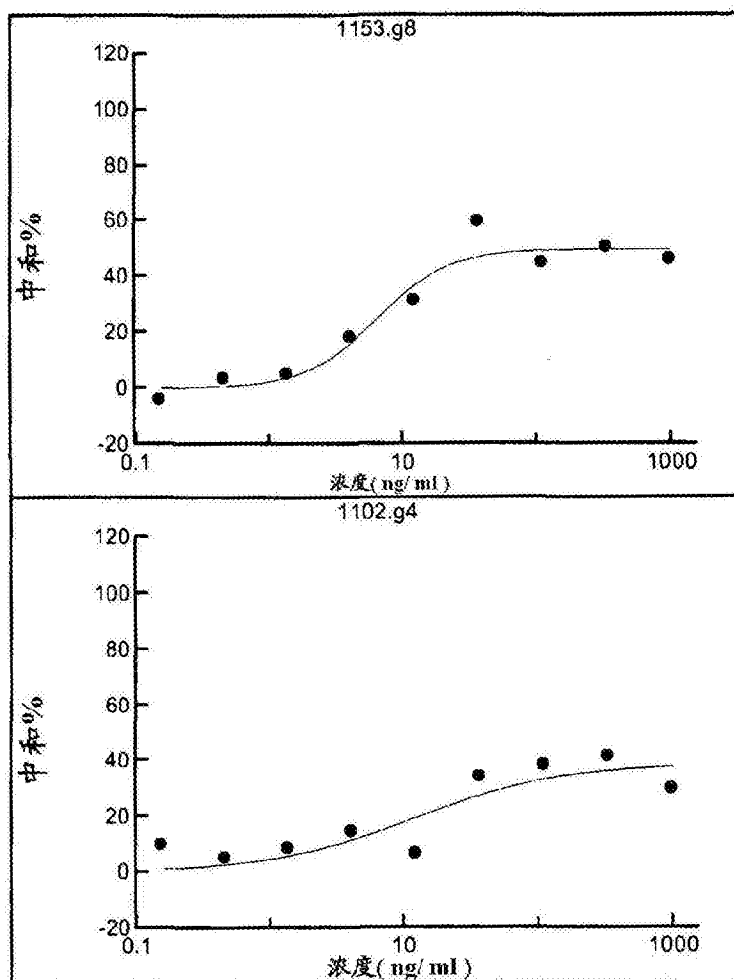


图26

成对 Mab 的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据(分别地对于 927+1099、927+1102、927+1114 的组合的 Y 轴中和 X 轴浓度 ng/ml)

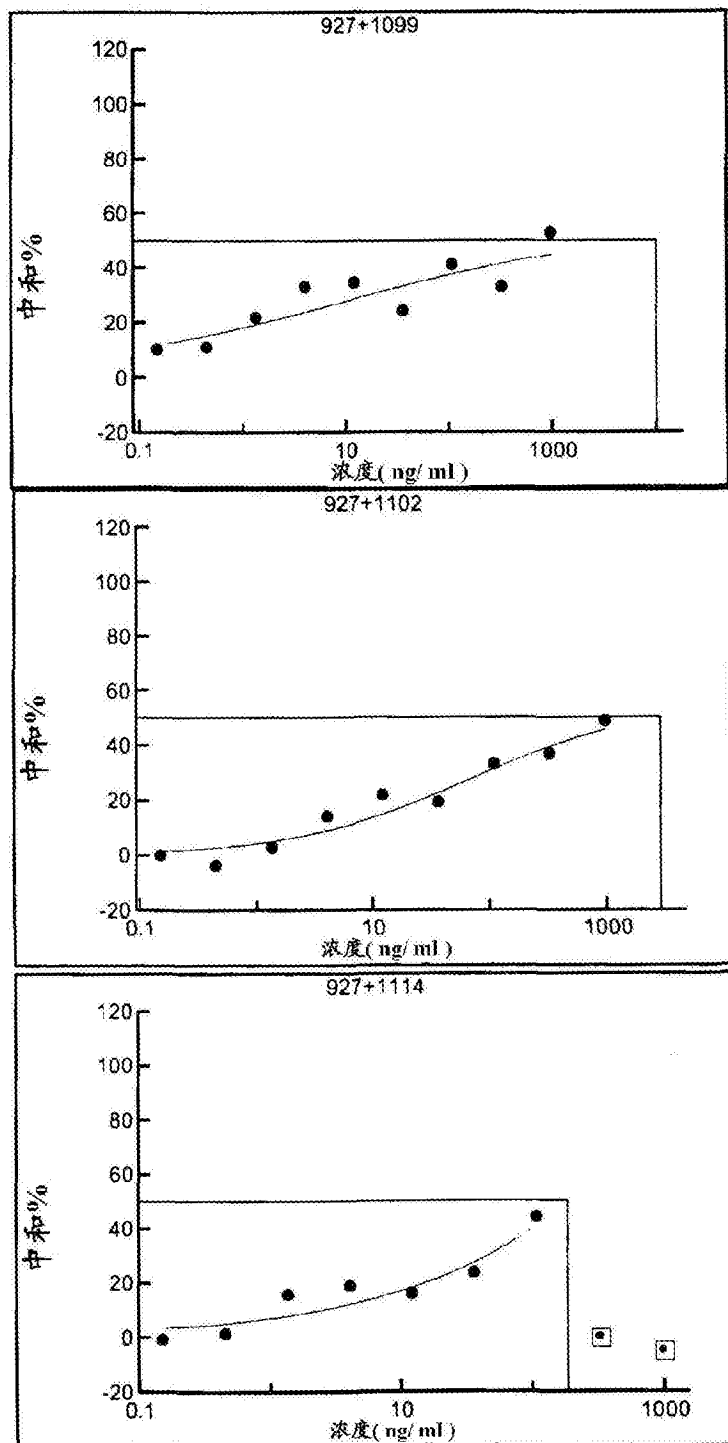


图27

成对 Mab 的抗 TcdB (核糖型 003) 体外中和数据(分别地对于 927+1125、927+1134、1099+1114 的组合的 Y 轴中和 X 轴浓度 ng/ml)

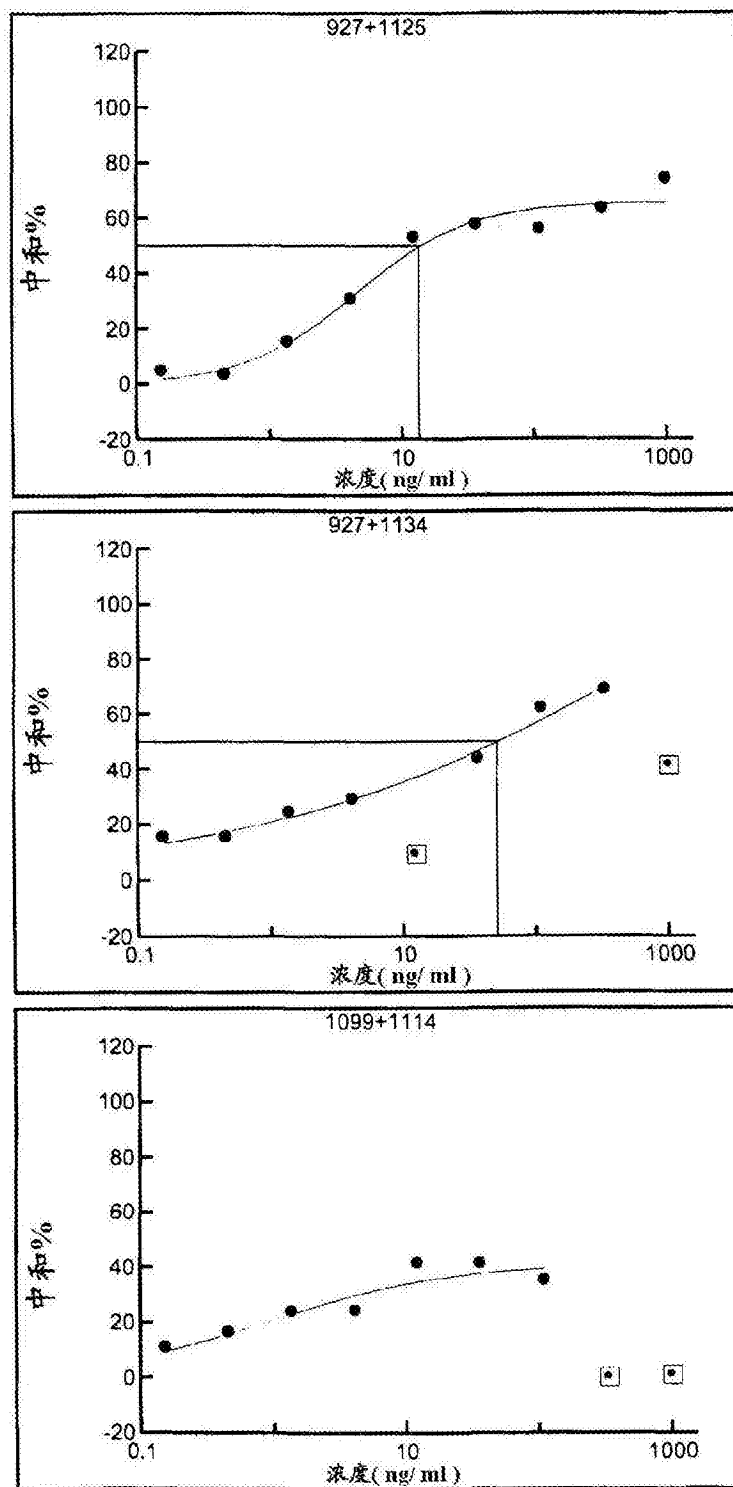


图28

成对 Mab 的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据(分别地对于 1102+1114, 1102+1125, 1114+1134 的组的 Y 轴中和 X 轴浓度 ng/ml)

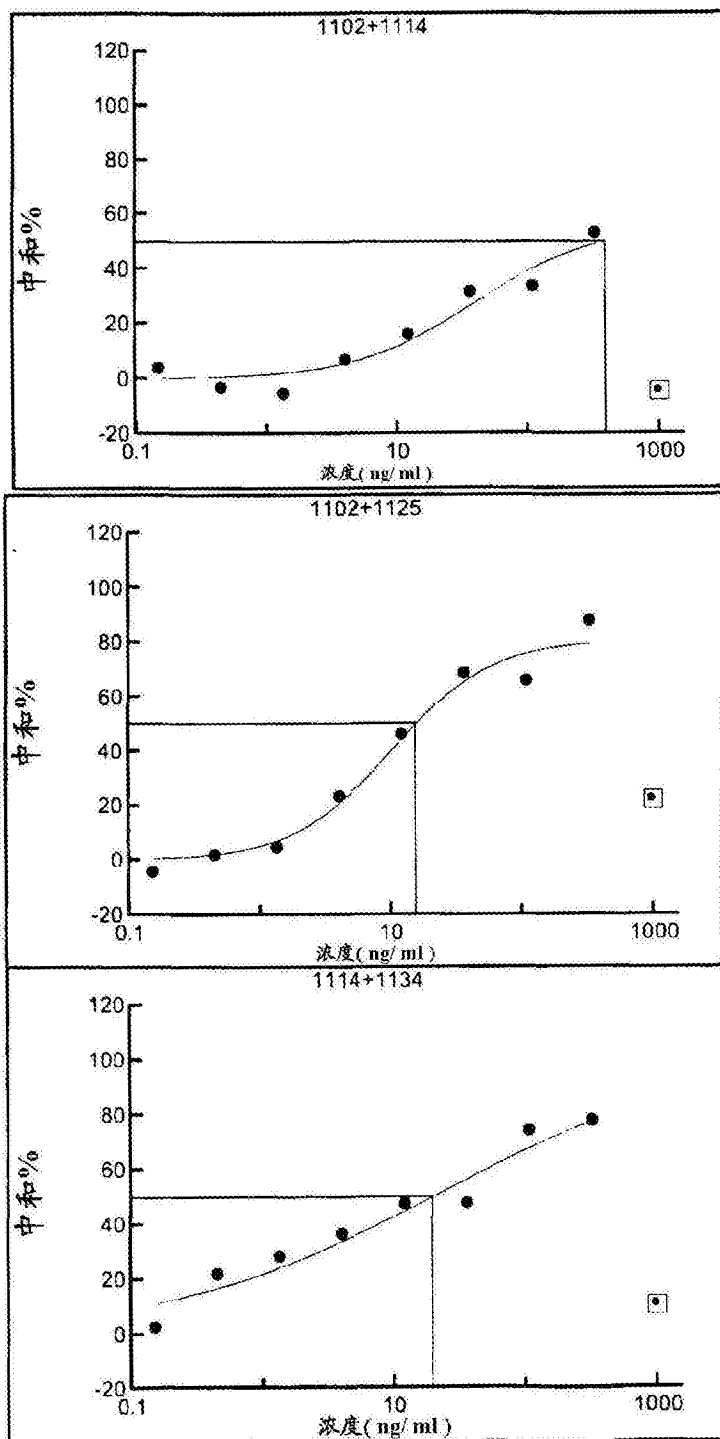


图29

成对 Mab 的抗 TcdB (核糖型 003) 体外中和数据 (分别地对于 1114+1151, 1114+1153, 1125+1134 的组合的 Y 轴中和 X 轴浓度 ng/ml)

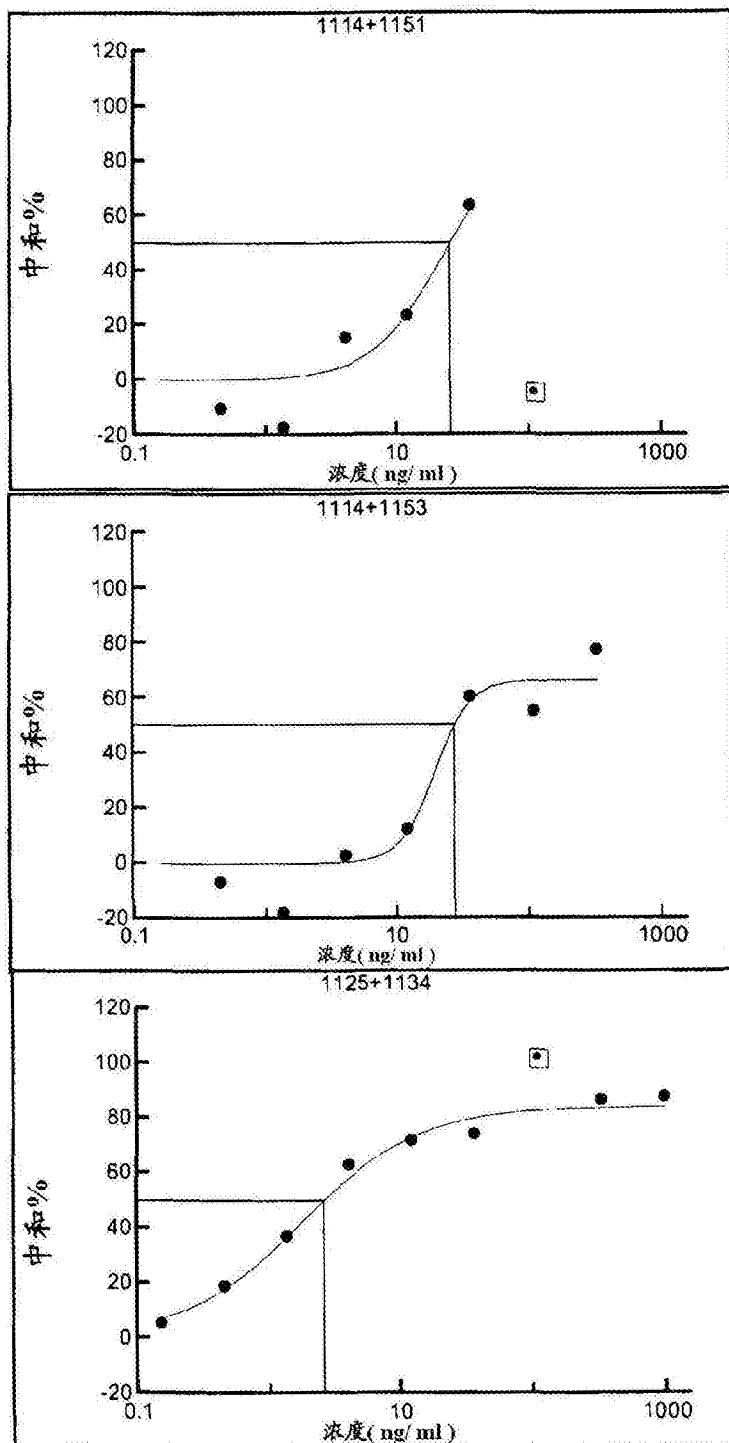


图30

三种 Mab 混合物的抗 TcdB (核糖型 003) 体外中和数据(分别地对于 1125+1134+1114, 1125+1134+927, 1125+1151+1114 的组合的 Y 轴中和 X 轴浓度 ng/ml)

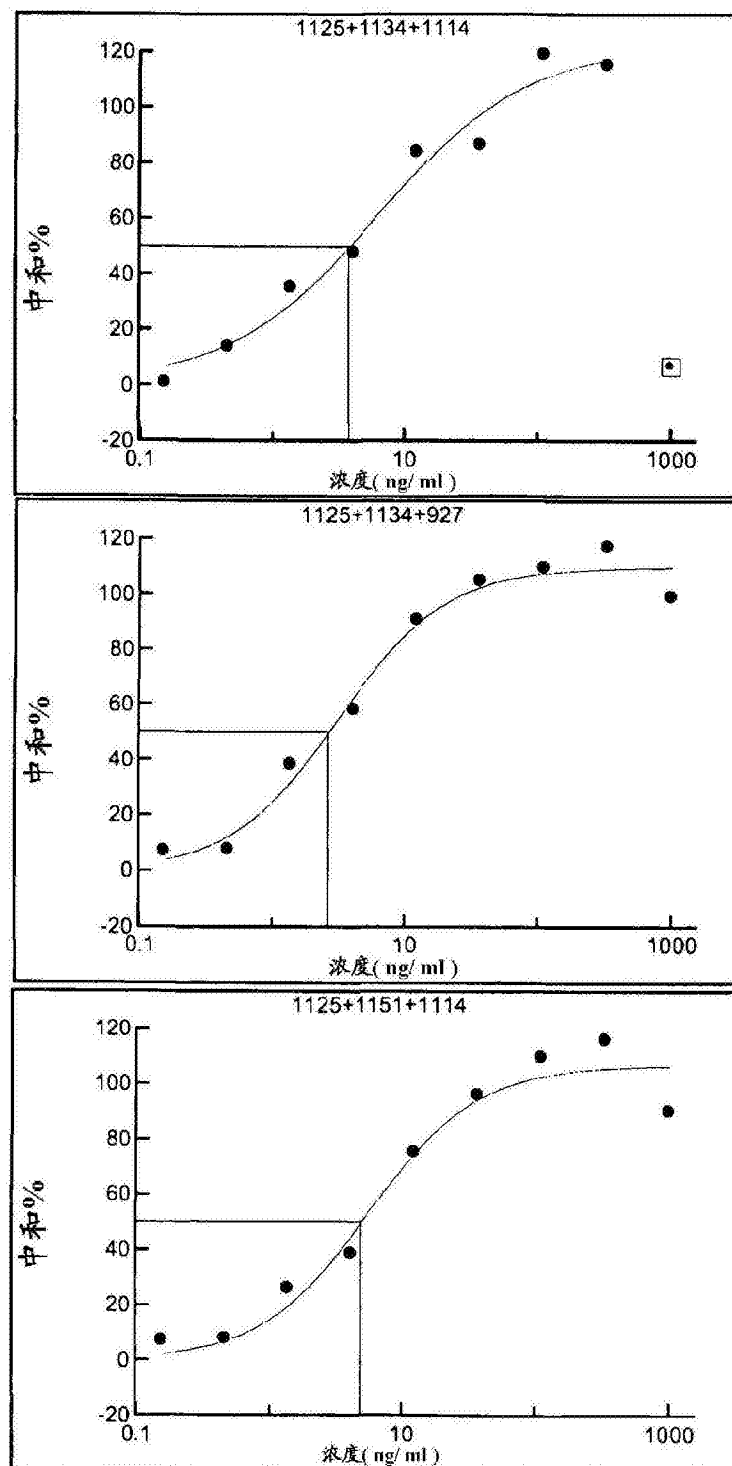


图31

三种 Mab 混合物的抗 TcdB (核糖型 003) 体外中和数据(分别地对于 1125+1151+927, 1125.g2+1134.g2+927.g2 的组合的 Y 轴中和 X 轴浓度 ng/ml)

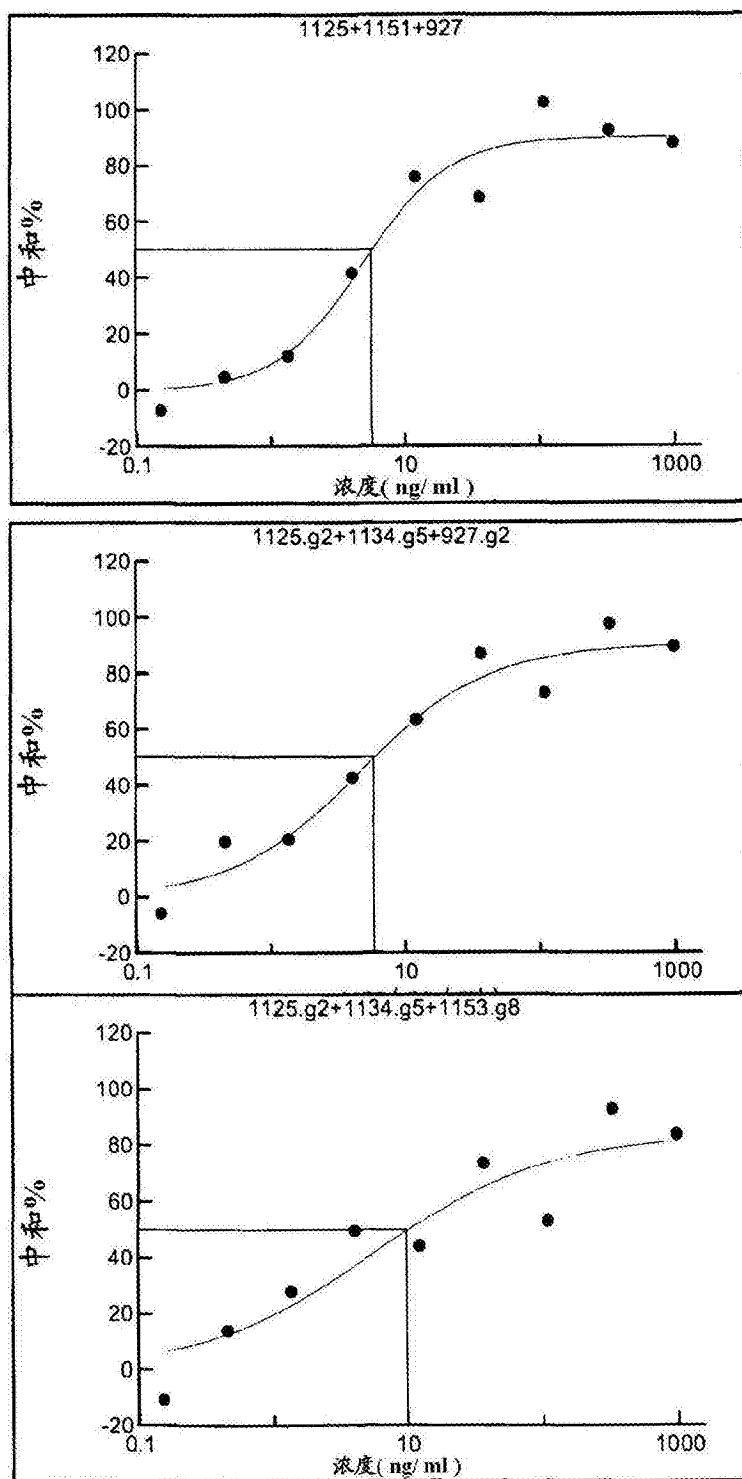


图32

3 种 Mab 的混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

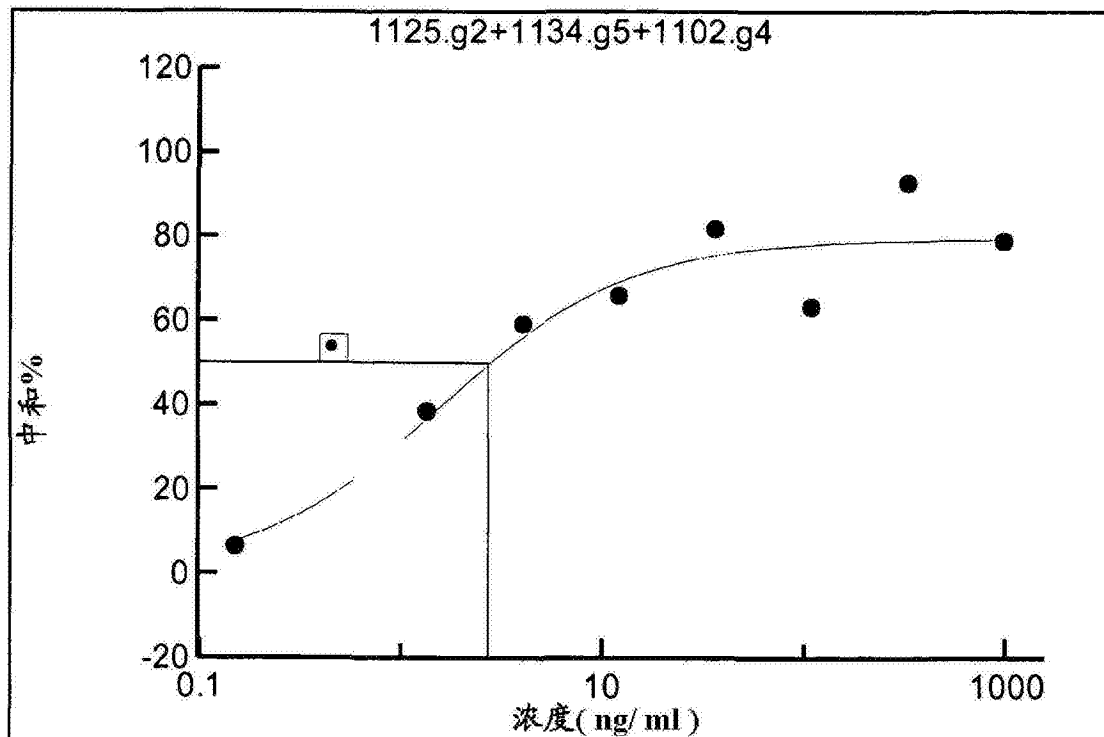


图33

在不同毒素浓度上的两种 Mab 混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

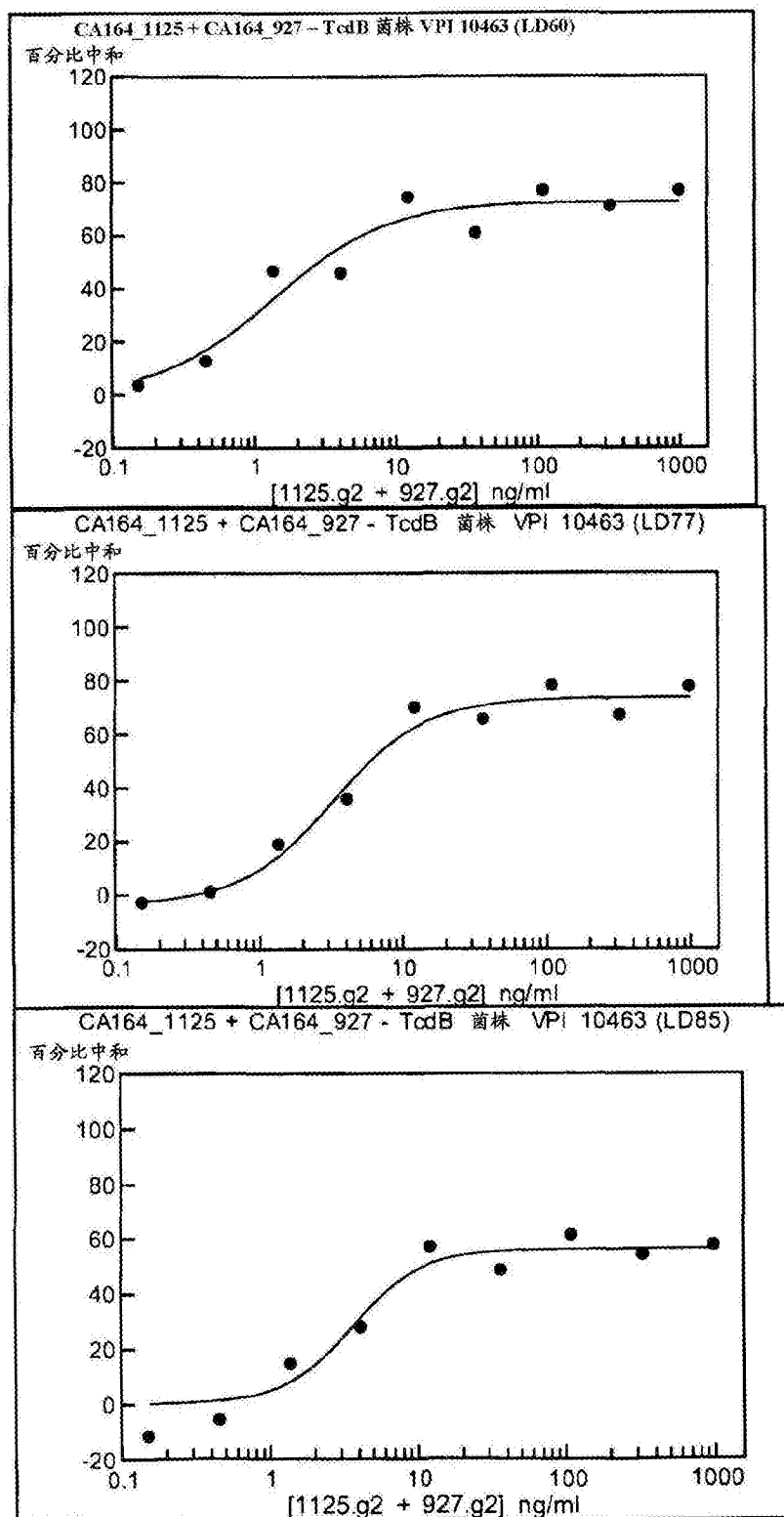


图34

在不同毒素浓度上的两种 Mab 混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

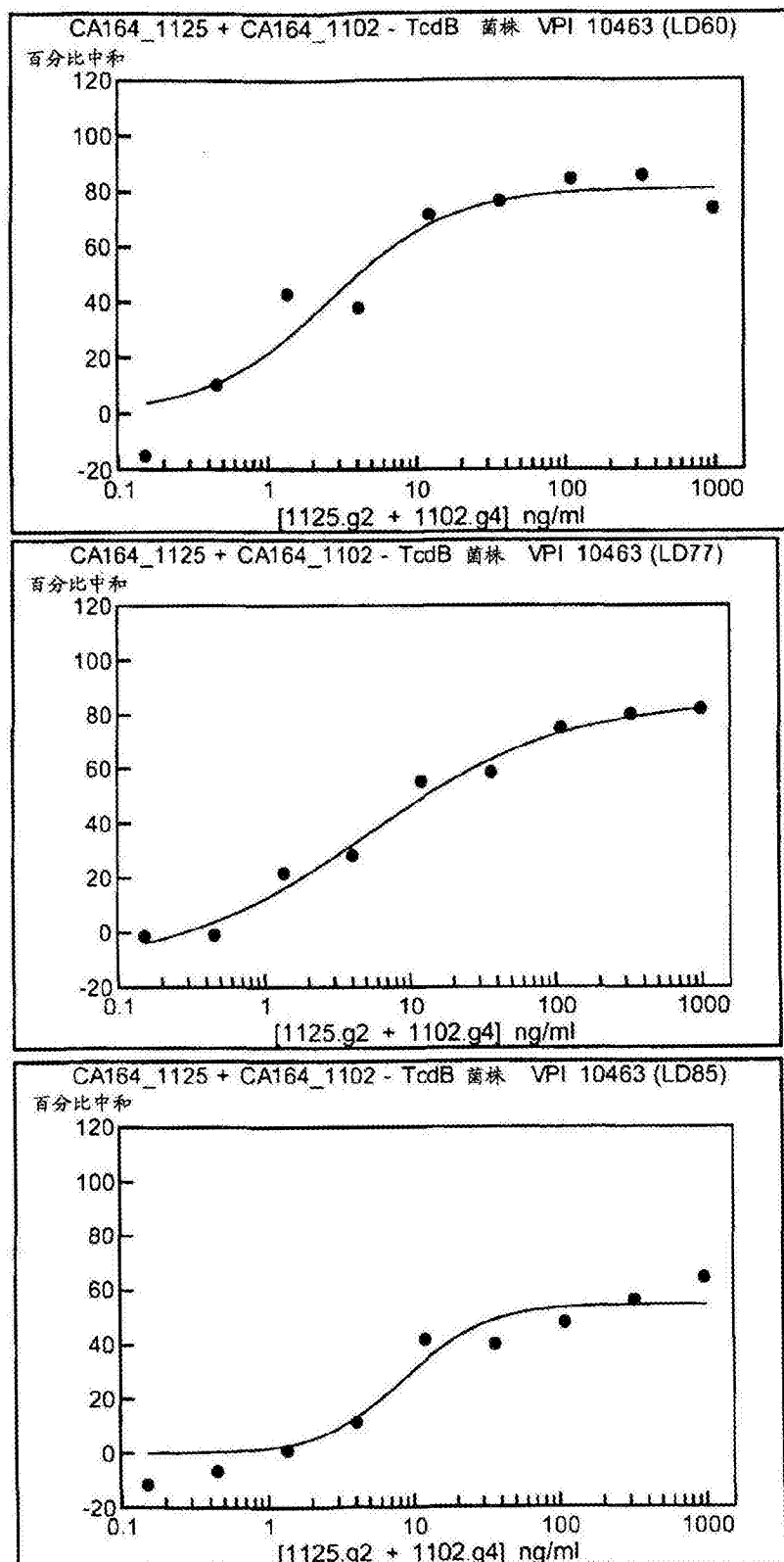


图35

在不同毒素浓度上的两种 Mab 混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

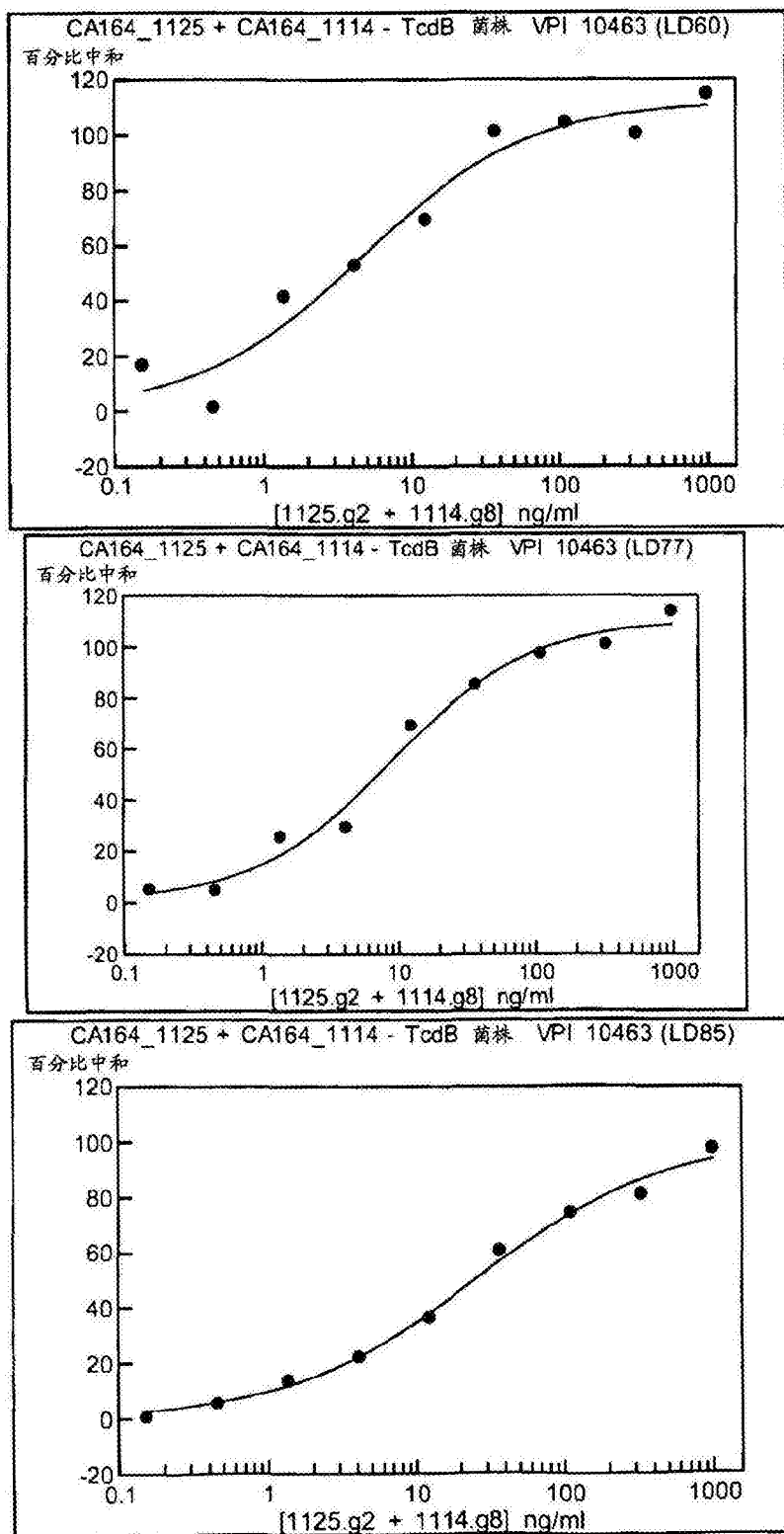


图36

在不同毒素浓度上的两种 Mab 混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

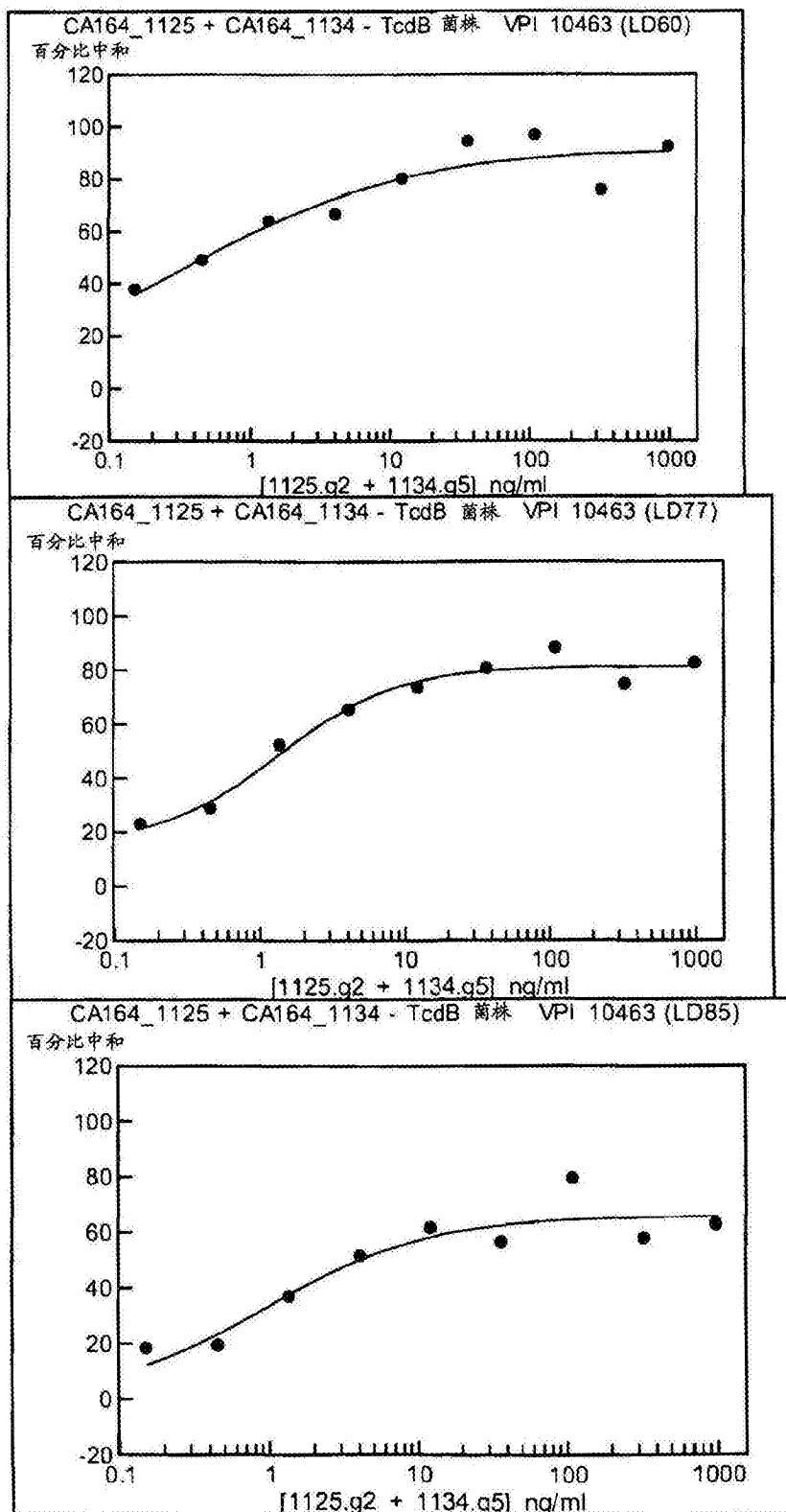


图37

在不同毒素浓度上的两种 Mab 混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

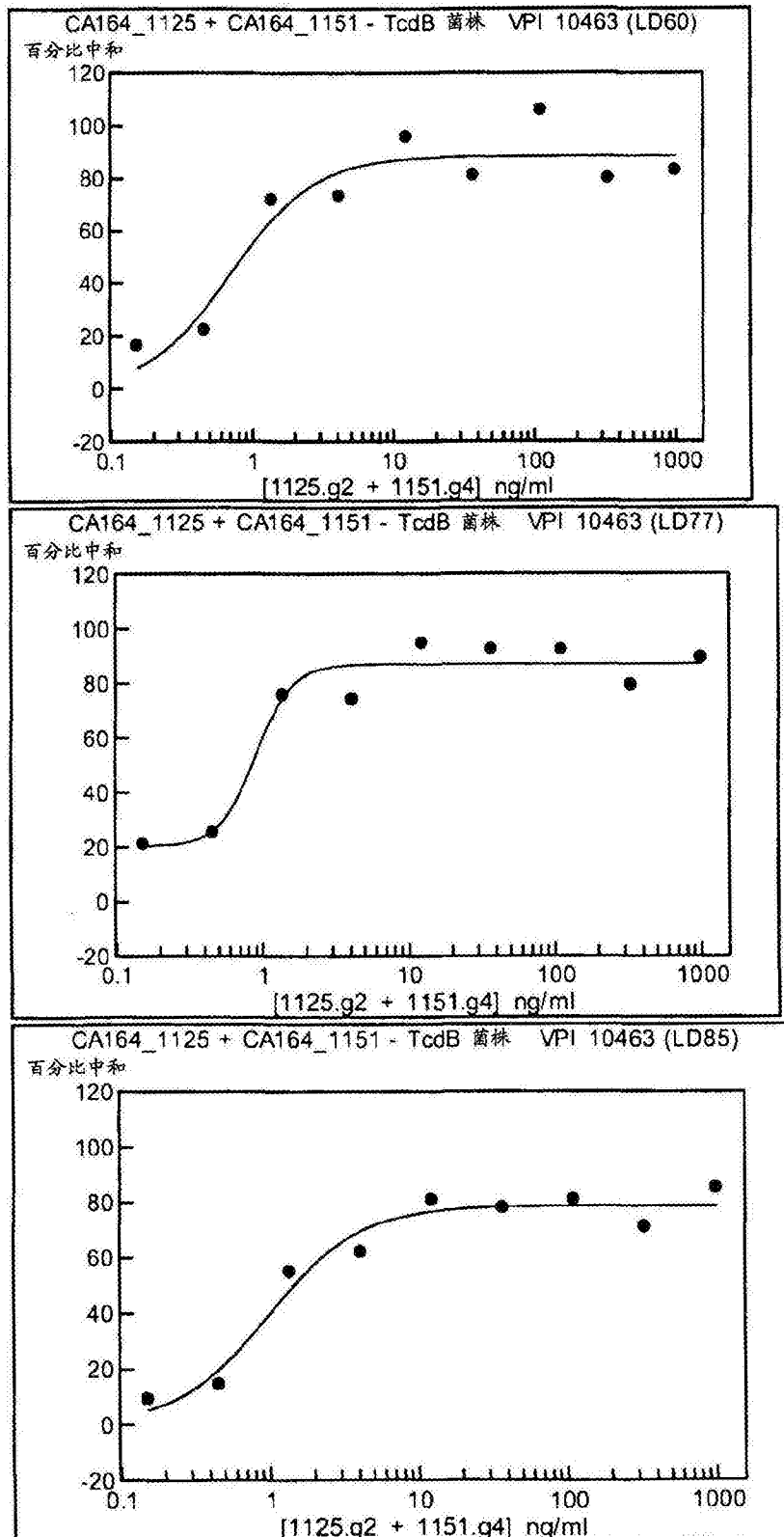


图38

在不同毒素浓度上的两种 Mab 混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

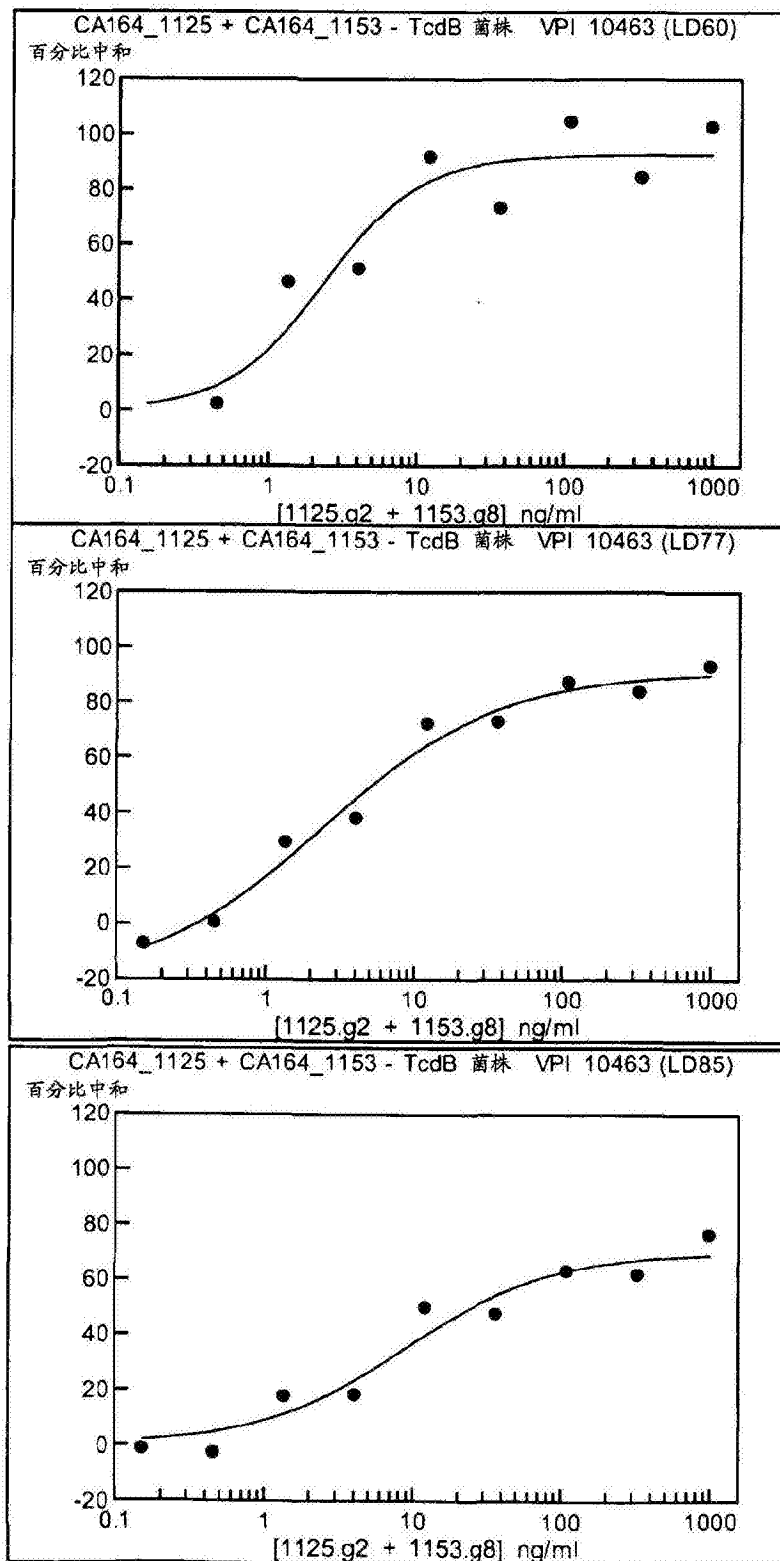


图39

在不同毒素浓度上的两种 Mab 混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

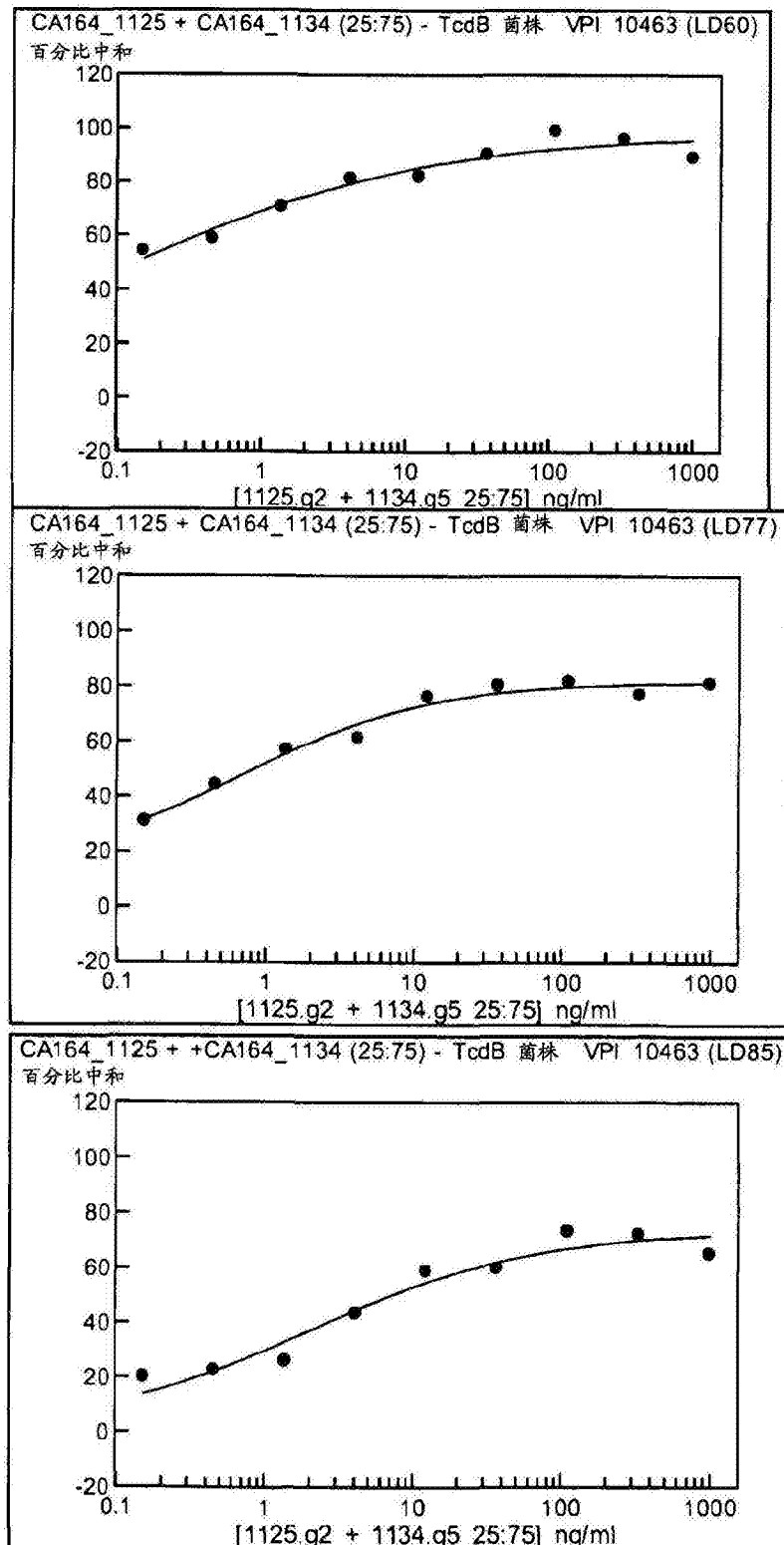


图40

在不同相对 Mab 比率 and 不同毒素浓度下两种 Mab 的混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

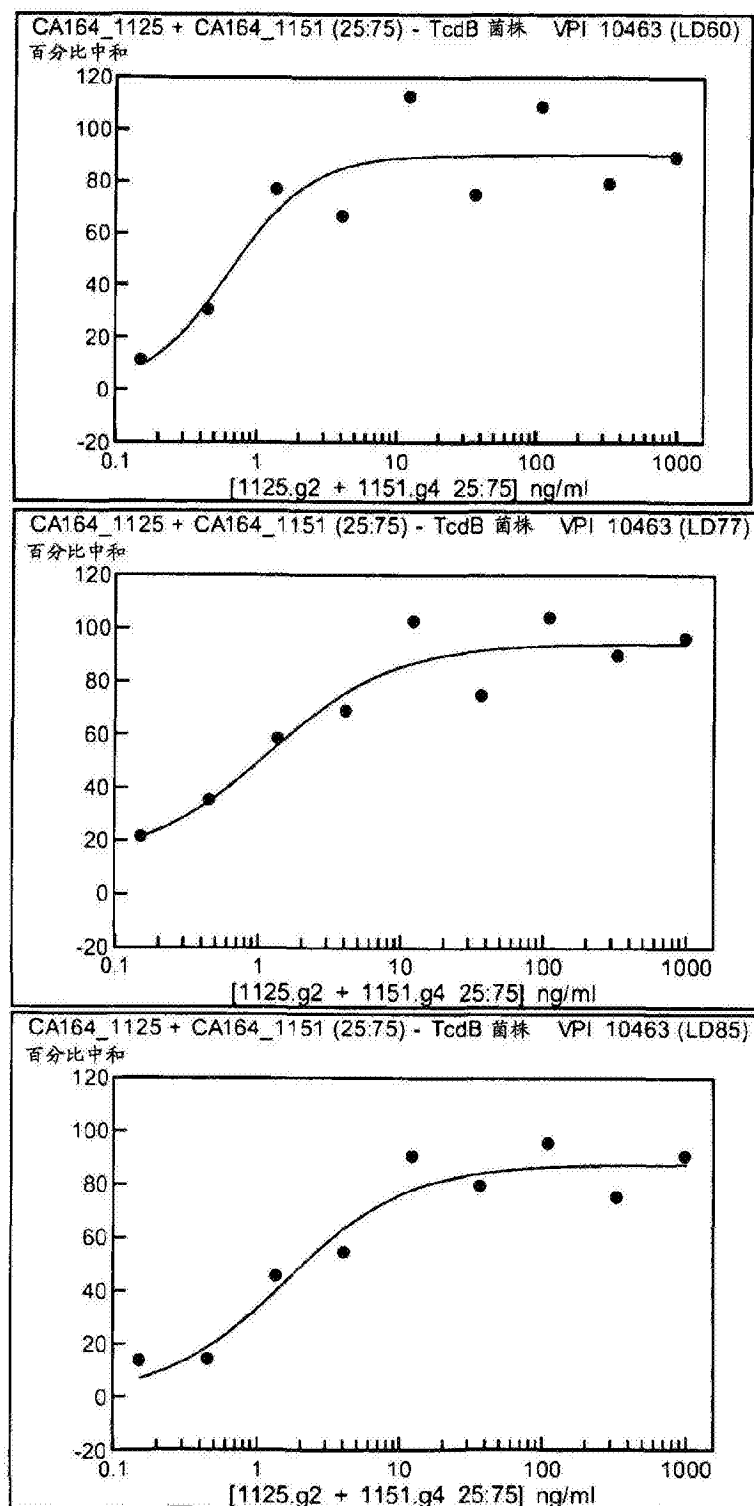


图41

在不同相对 Mab 比率和不同毒素浓度下两种 Mab 的混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

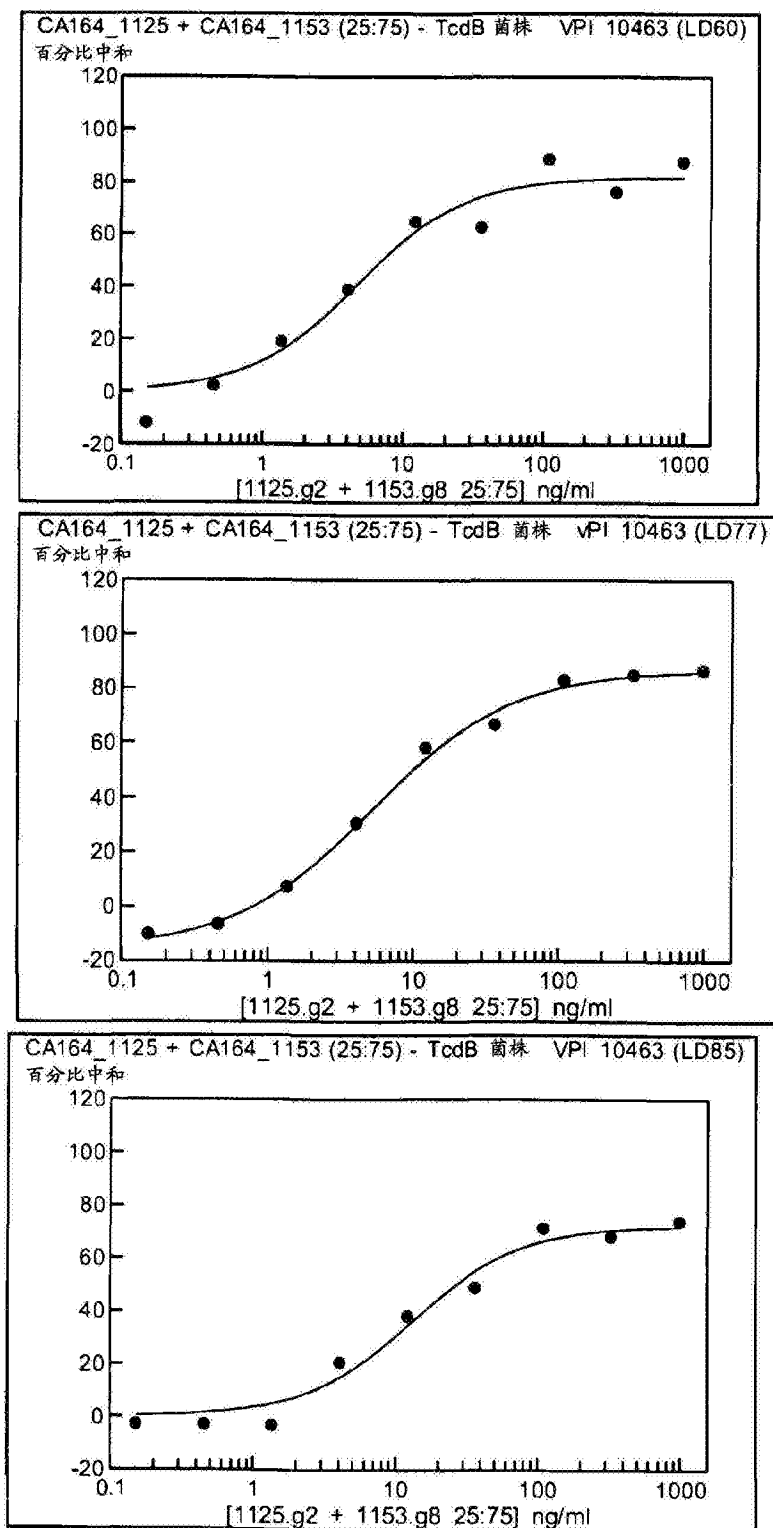


图42

在不同相对 Mab 比率和不同毒素浓度下两种 Mab 的混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

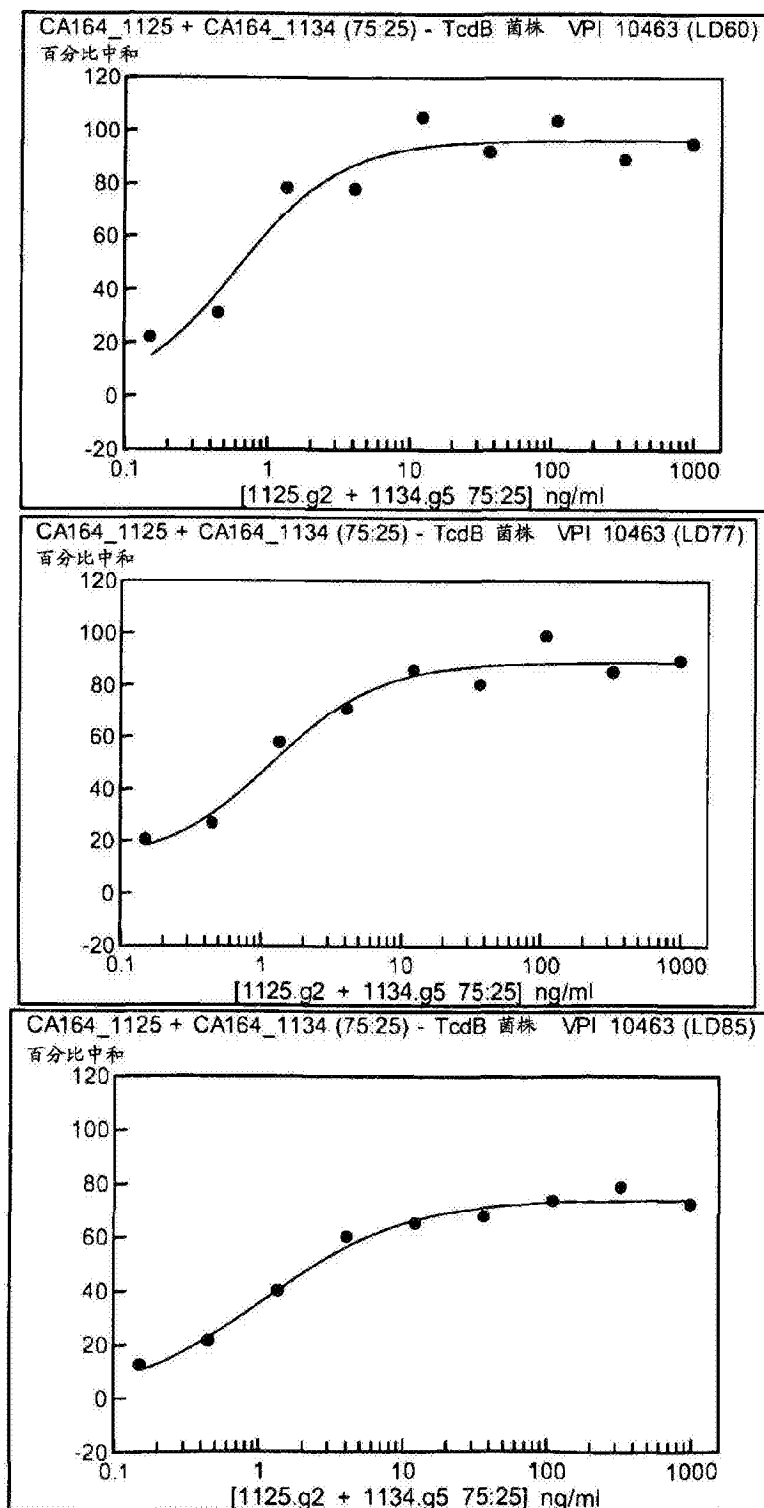


图43

在不同相对 Mab 比率和不同毒素浓度下两种 Mab 的混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

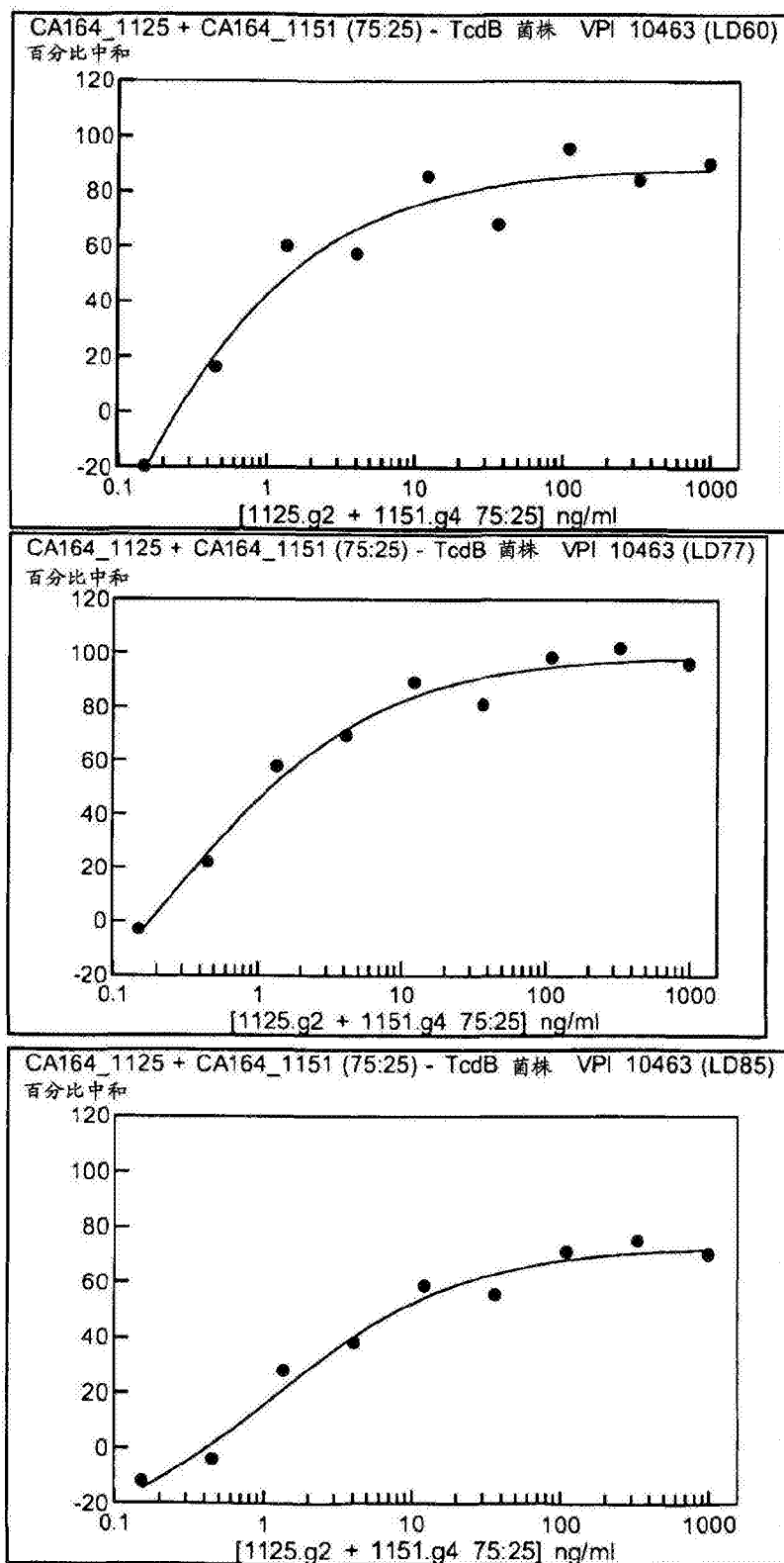


图44

在不同相对 Mab 比率和不同毒素浓度下两种 Mab 的混合物的抗 TcdB (核糖型 003)体外中和数据

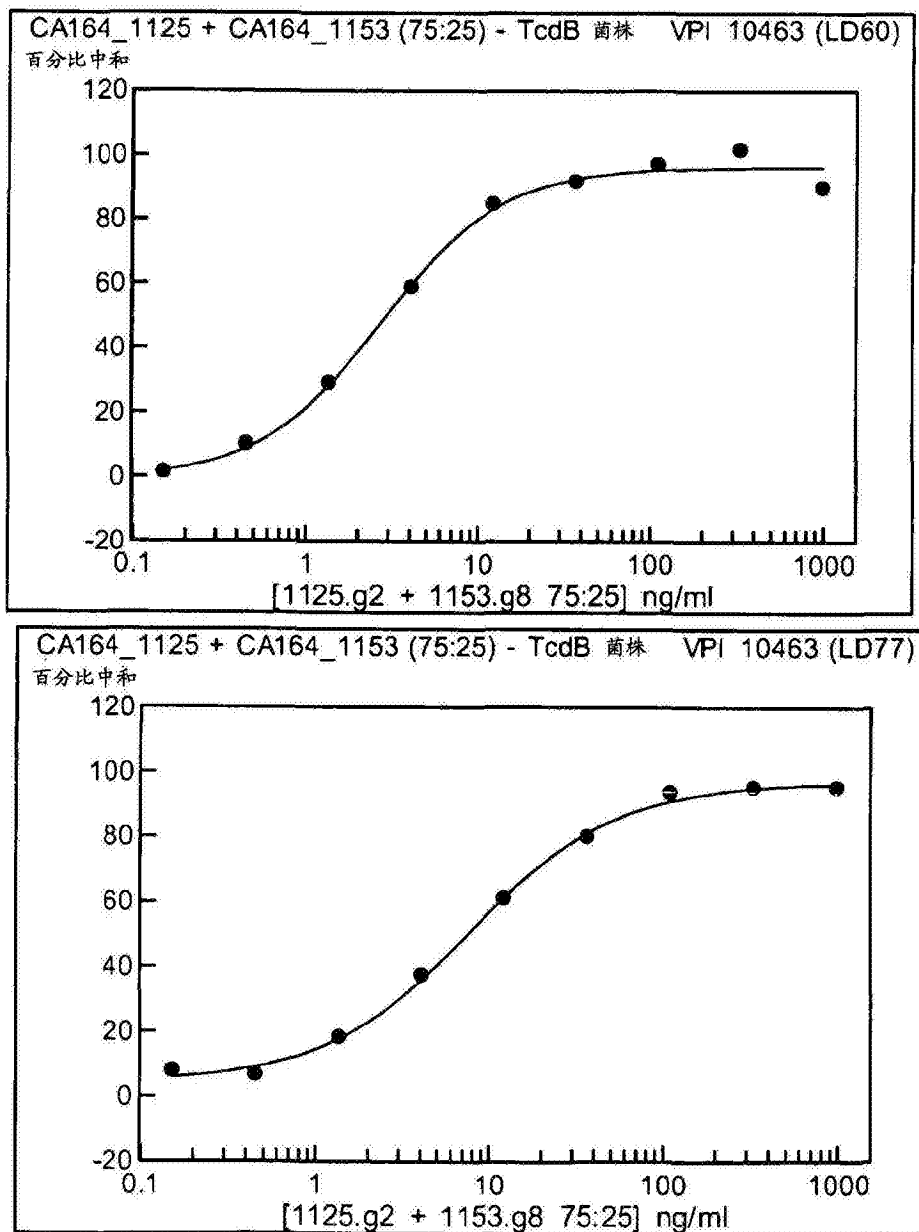
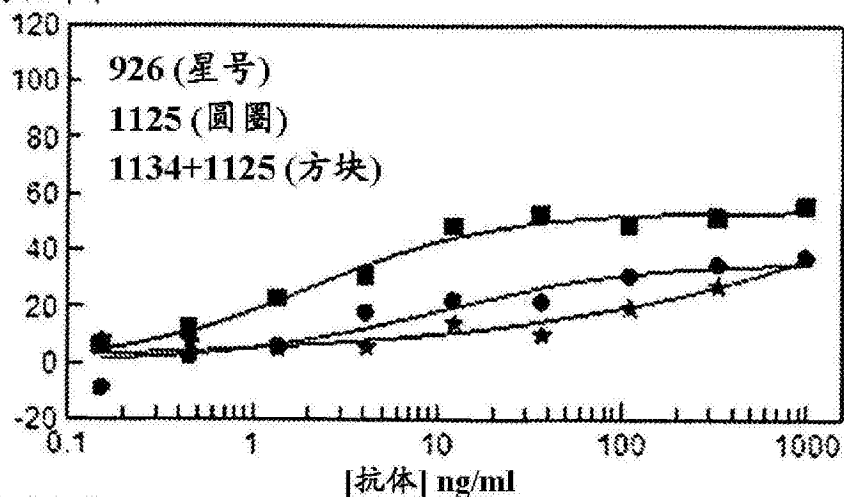


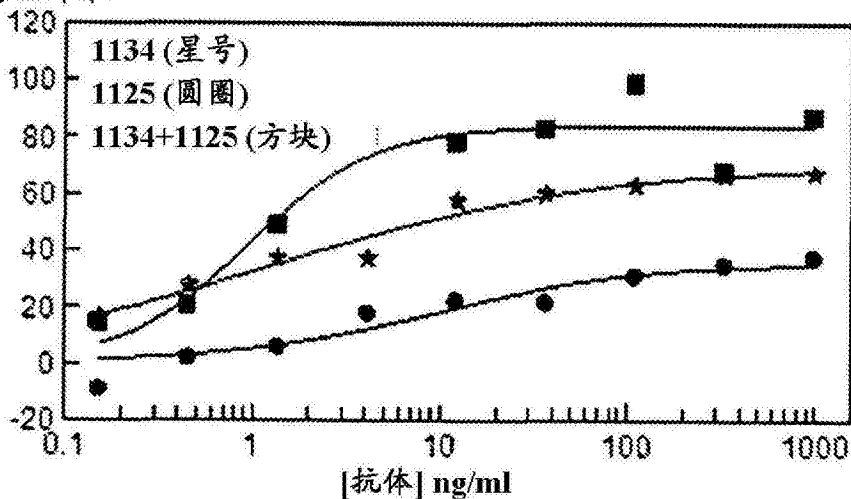
图45

Tcd B 菌株 VPI 10463 中和, 单一抗体和抗体对, 恒定毒素剂量 (LD80)

百分比中和



百分比中和



百分比中和

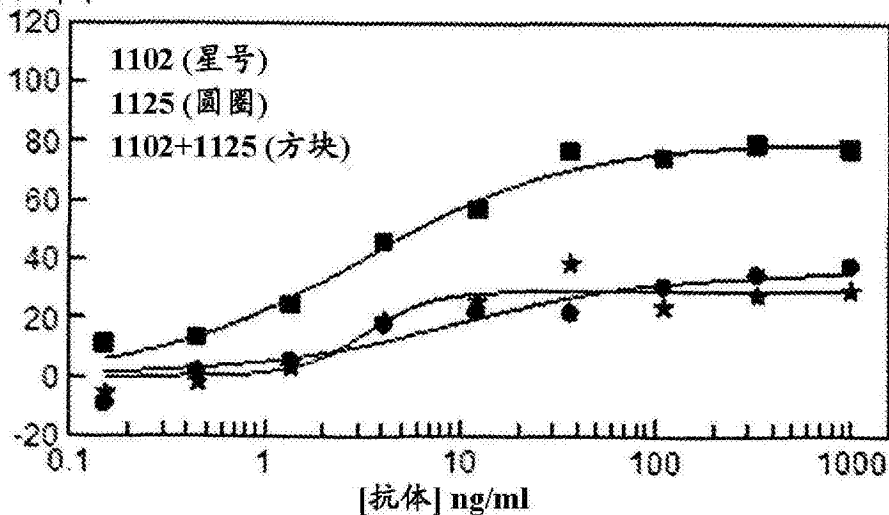
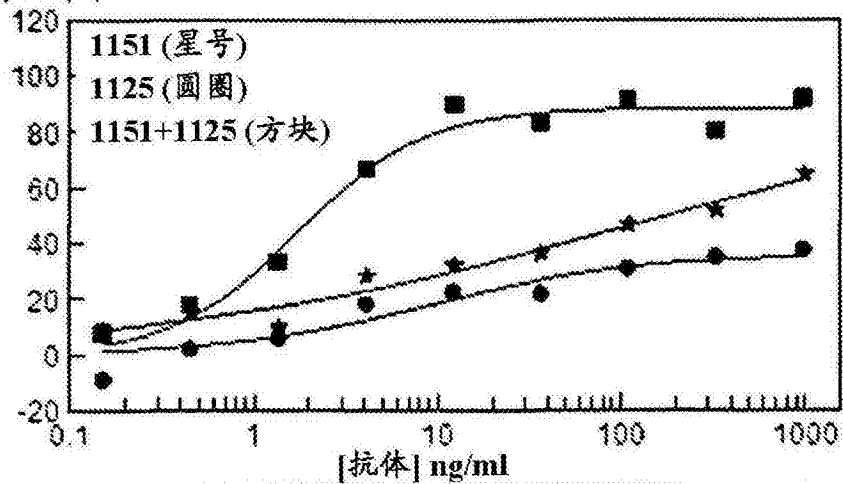


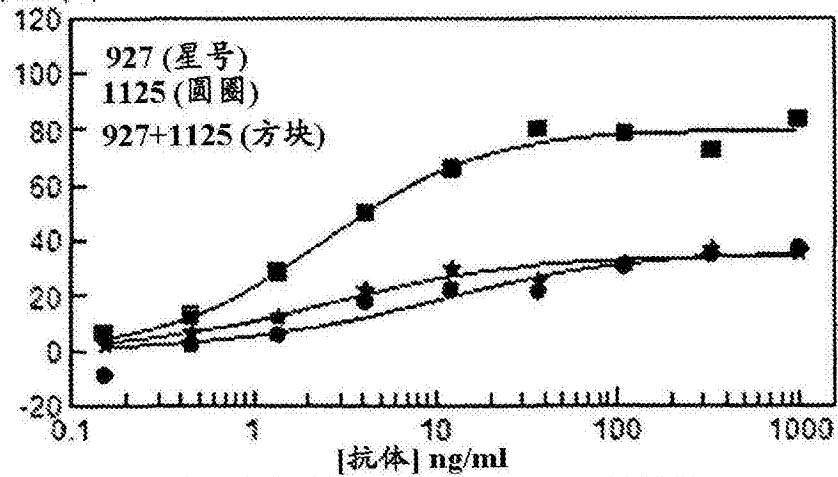
图46

Ted B 中和, 单一抗体和抗体对, 恒定毒素剂量 (LD80)

百分比中和



百分比中和



百分比中和

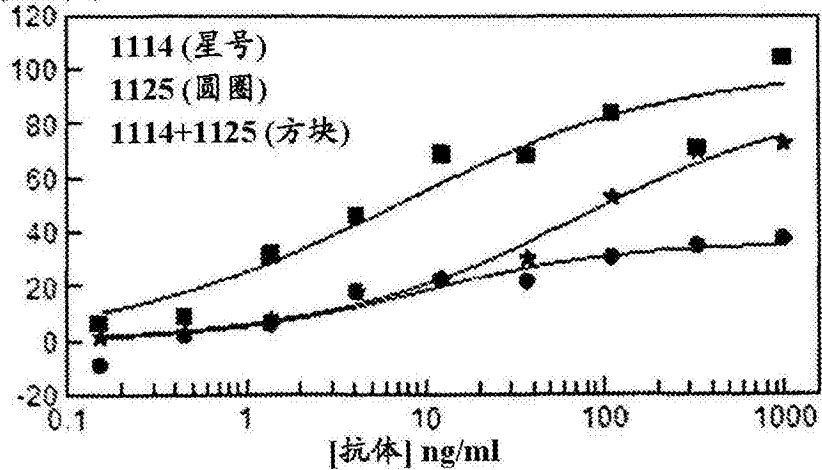


图47

TcdB 中和, 单一抗体和抗体对, 恒定毒素剂量 (LD80)

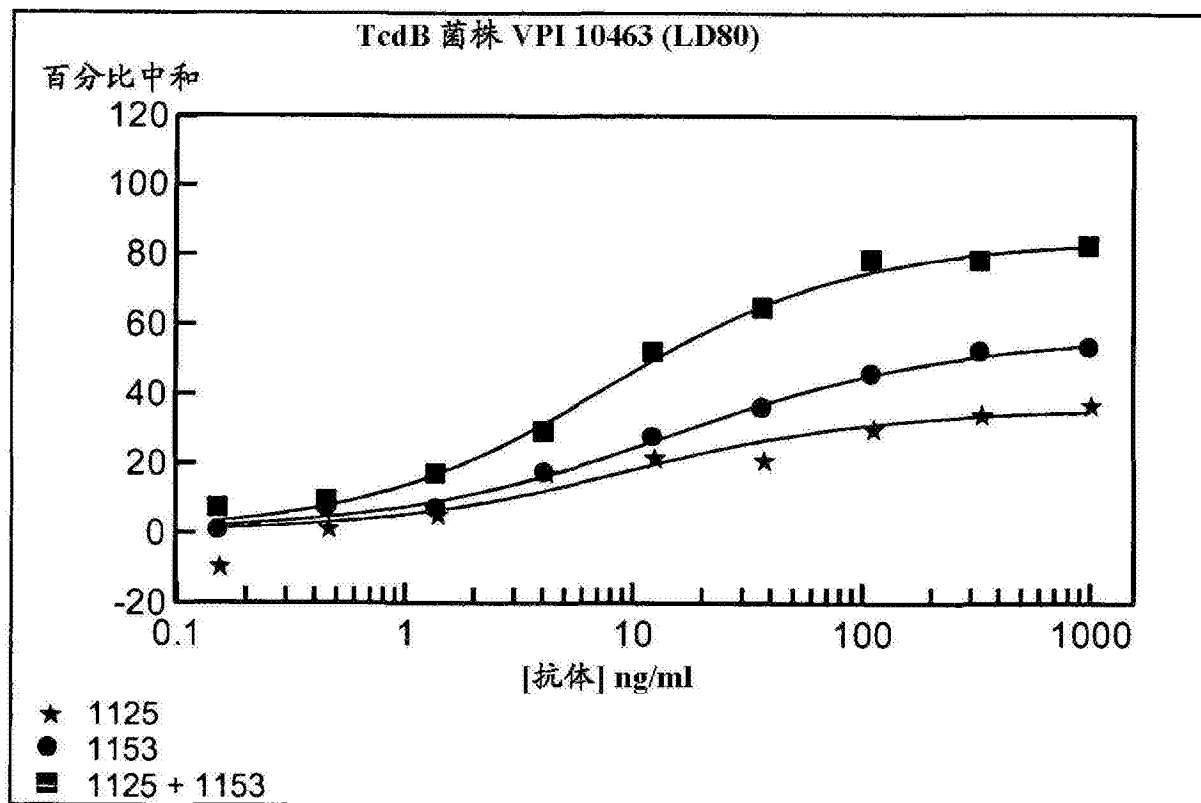


图48

TcdB 中和, 单一抗体和抗体对, 恒定毒素剂量 (straddling)

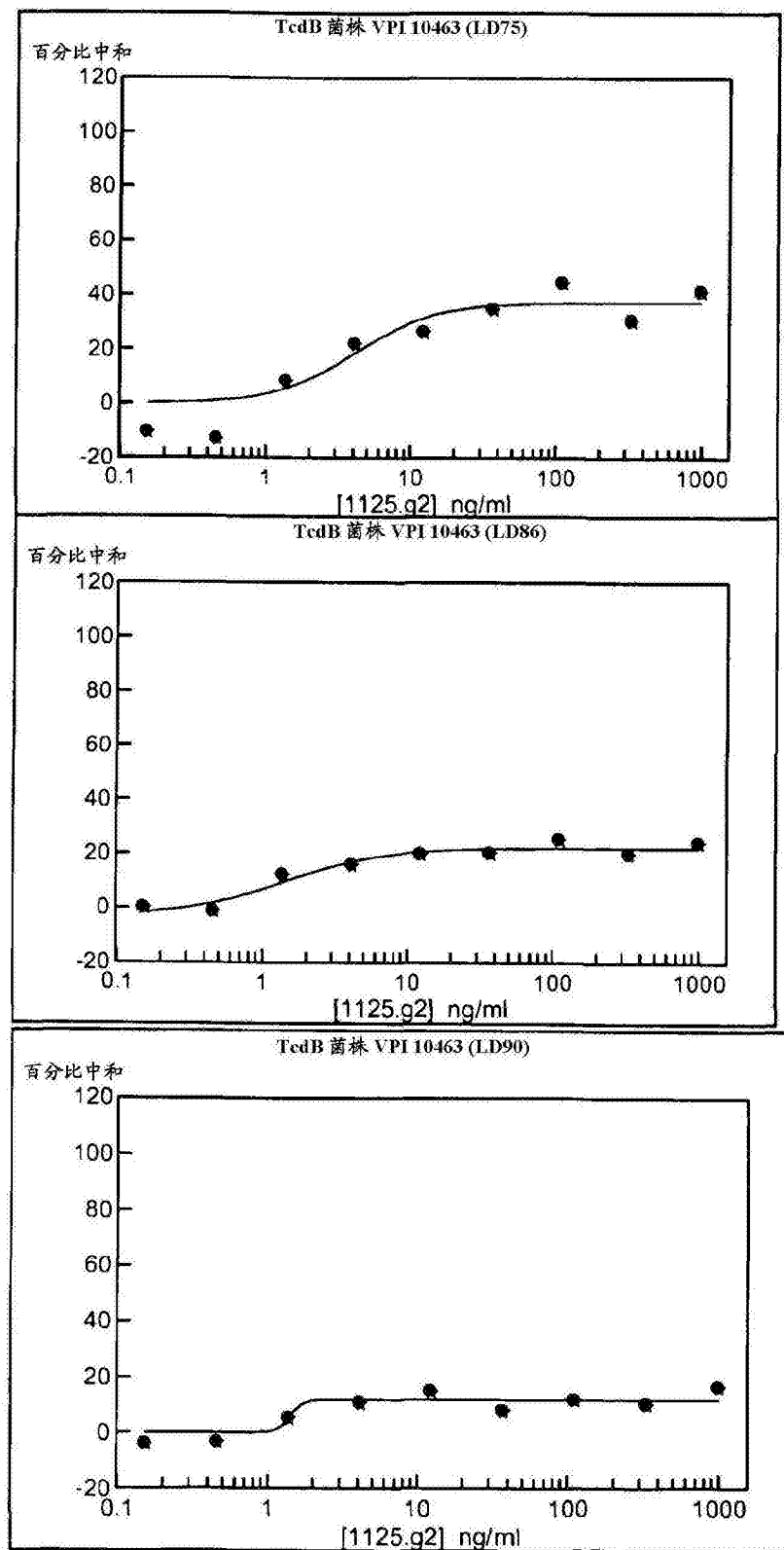


图49

TcdB 中和, 单一抗体和抗体对, 不同毒素剂量(straddling)

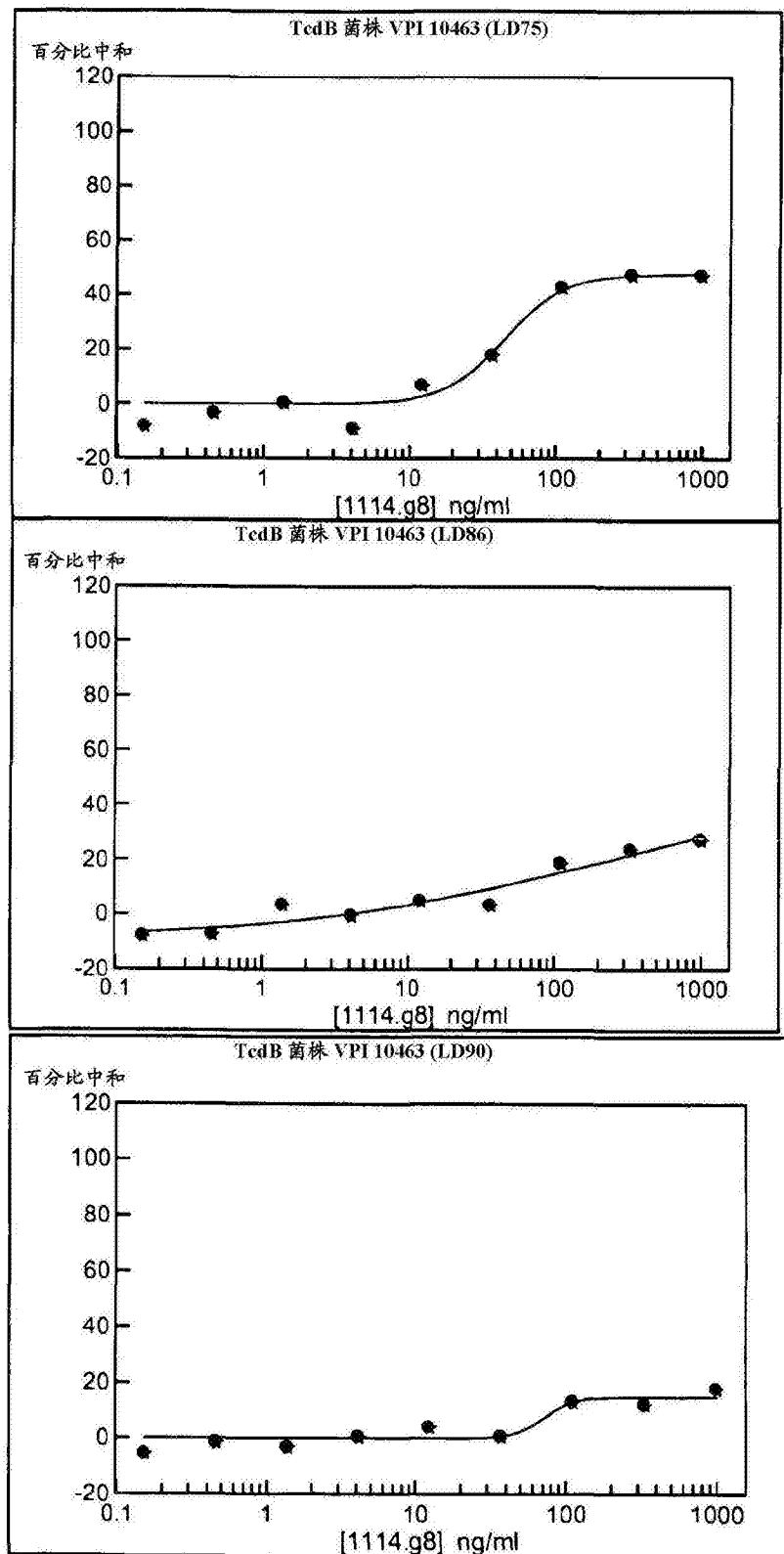


图50

TcdB 中和, 单一抗体和抗体对, 不同毒素剂量 (跨越)

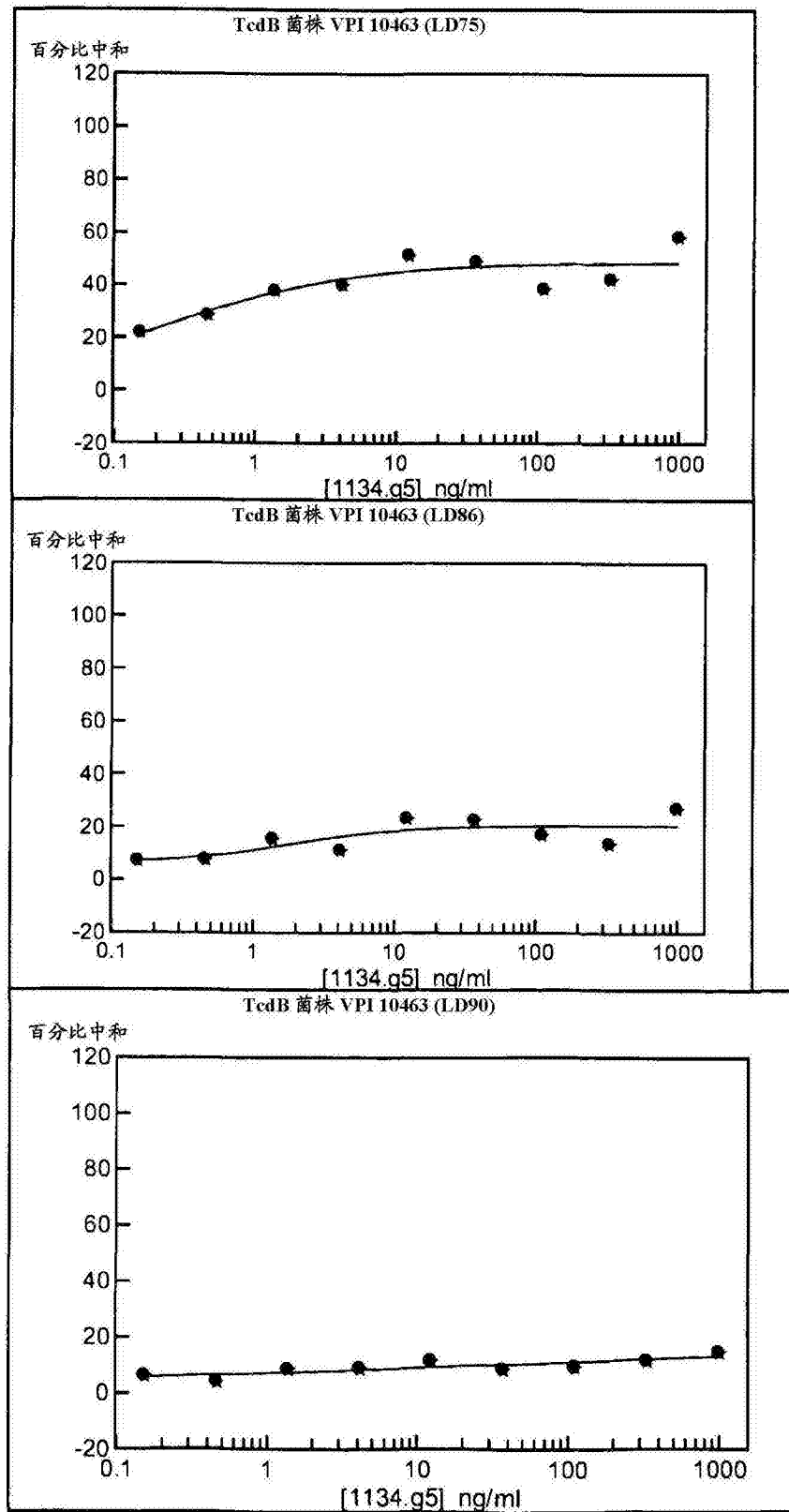


图51

TcdB 中和, 单一抗体和抗体对, 不同毒素剂量 (跨越)

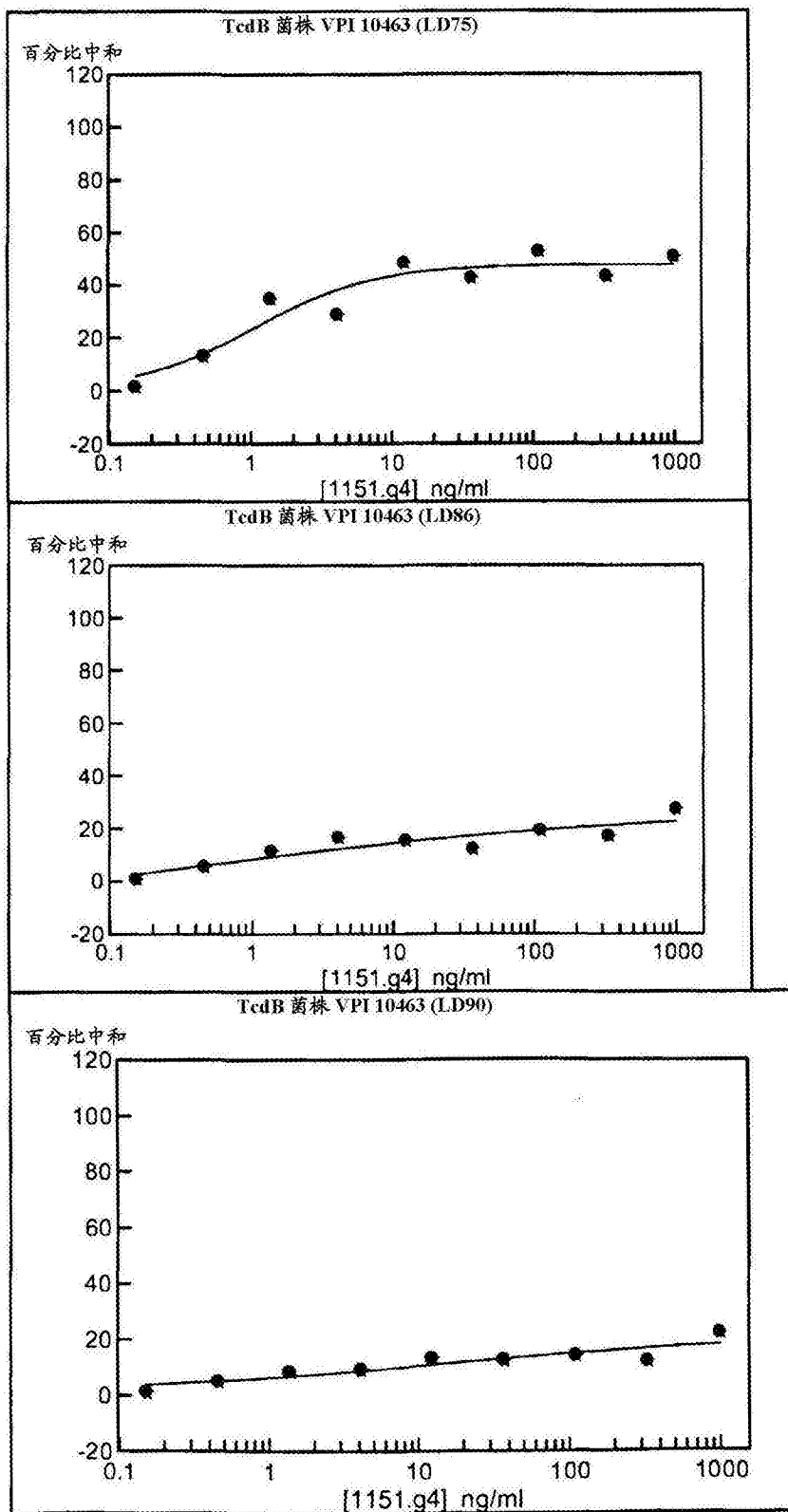


图52

TcdB 中和, 单一抗体和抗体对, 不同毒素剂量(跨越)

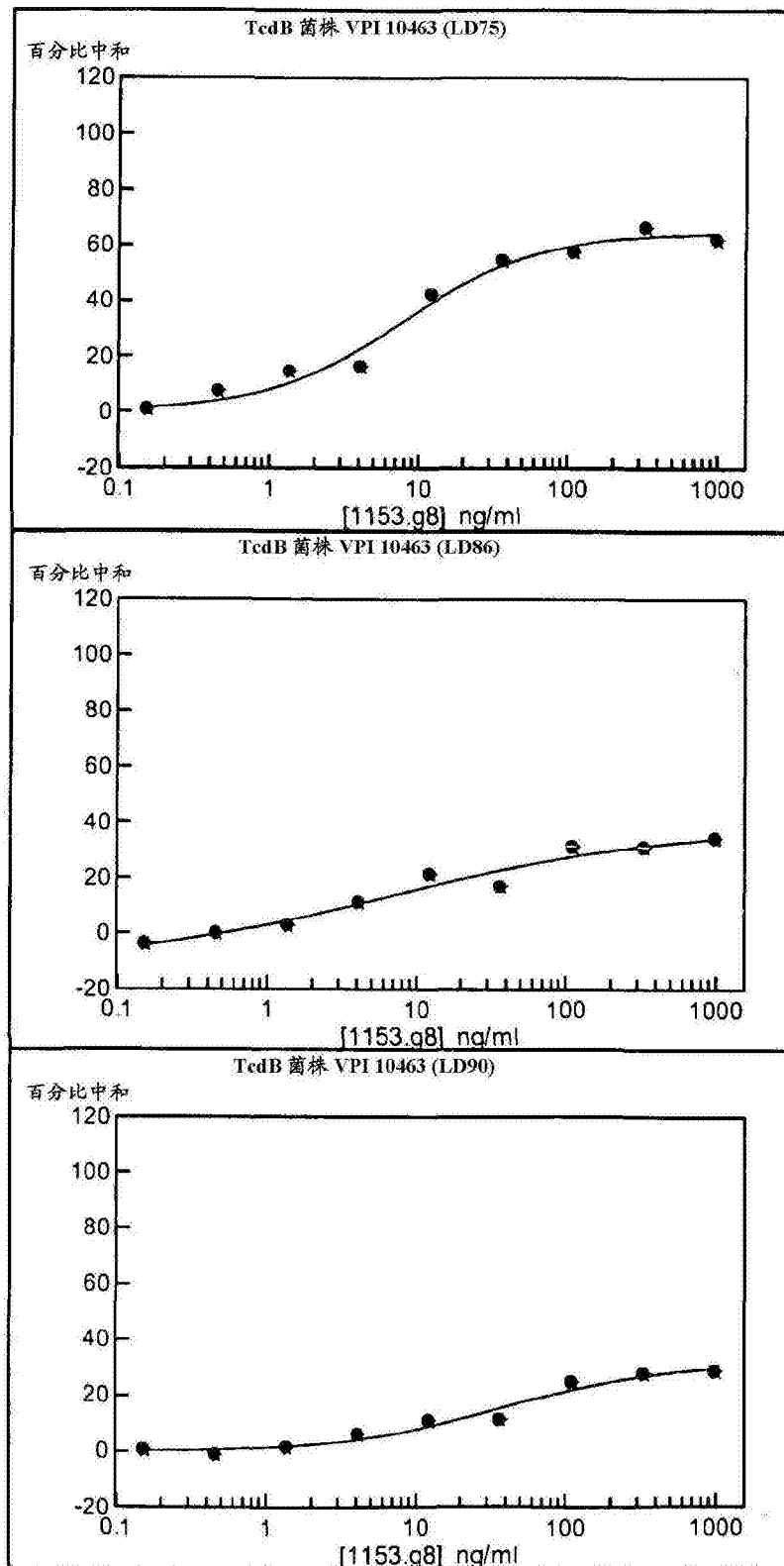


图53

TcdB 中和, 单一抗体和抗体对, 不同毒素剂量(跨越)

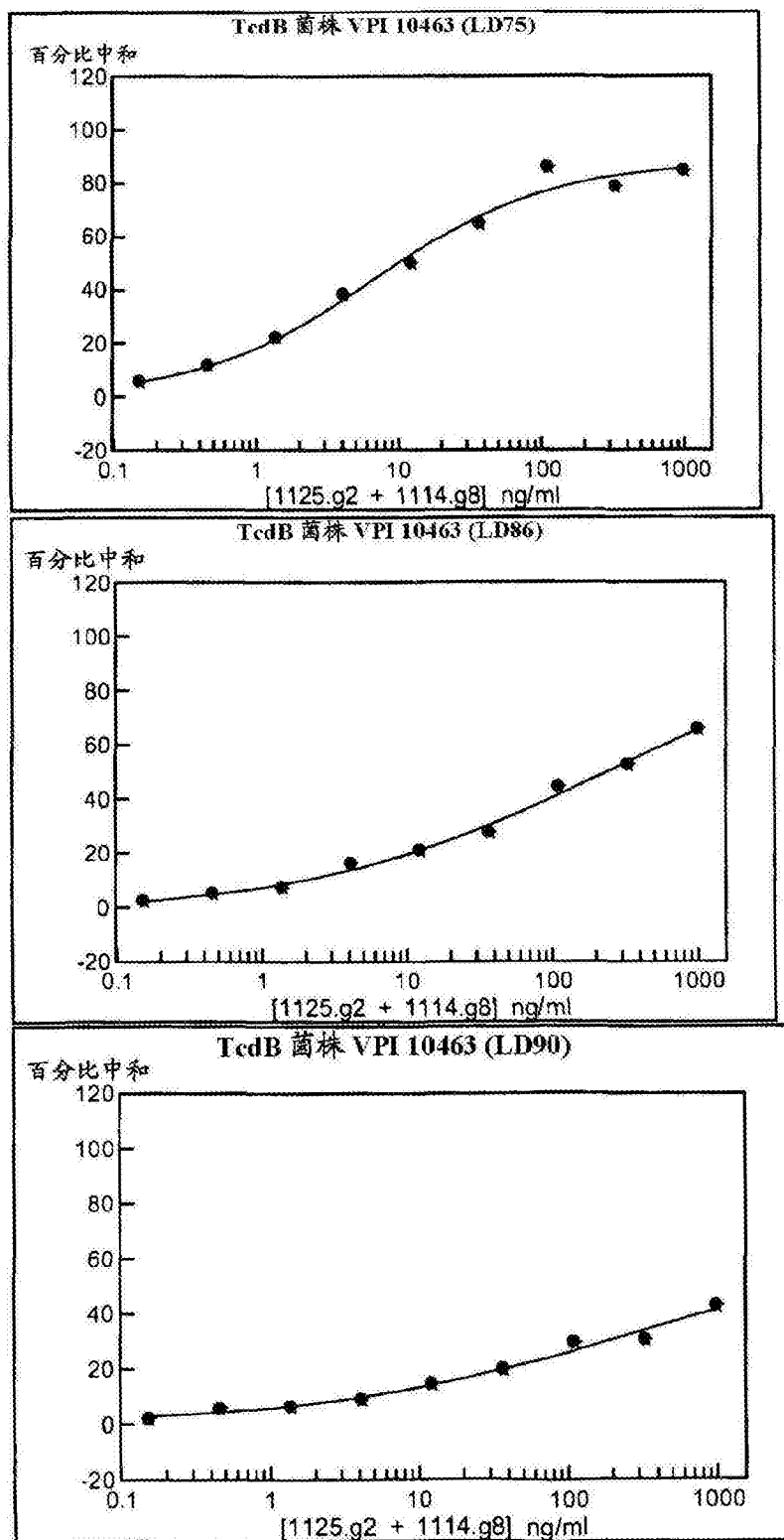


图54

TedB 中和, 单一抗体和抗体对, 不同毒素剂量(跨越)

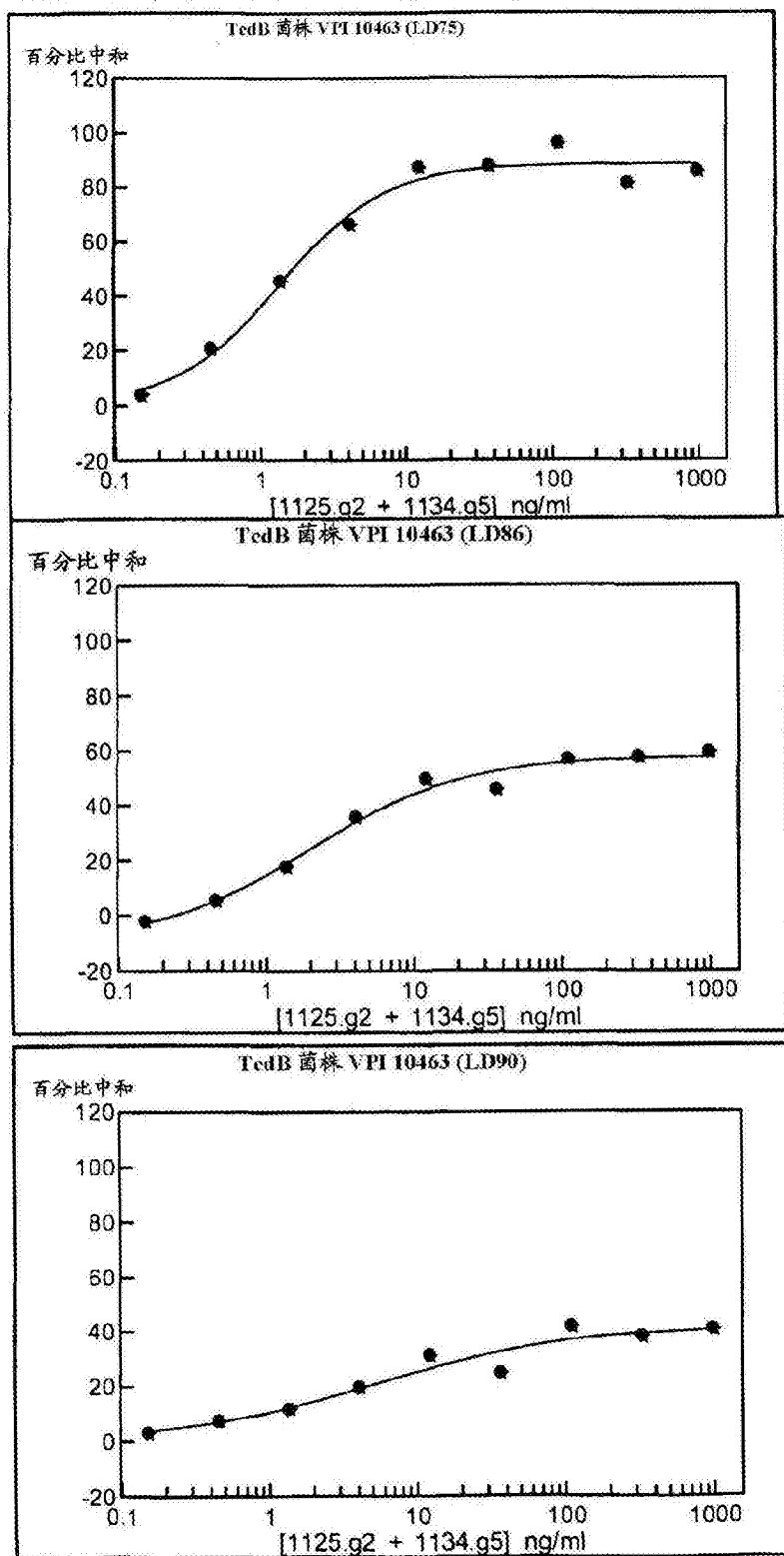


图55

TcdB 中和, 单一抗体和抗体对, 不同毒素剂量 (跨越)

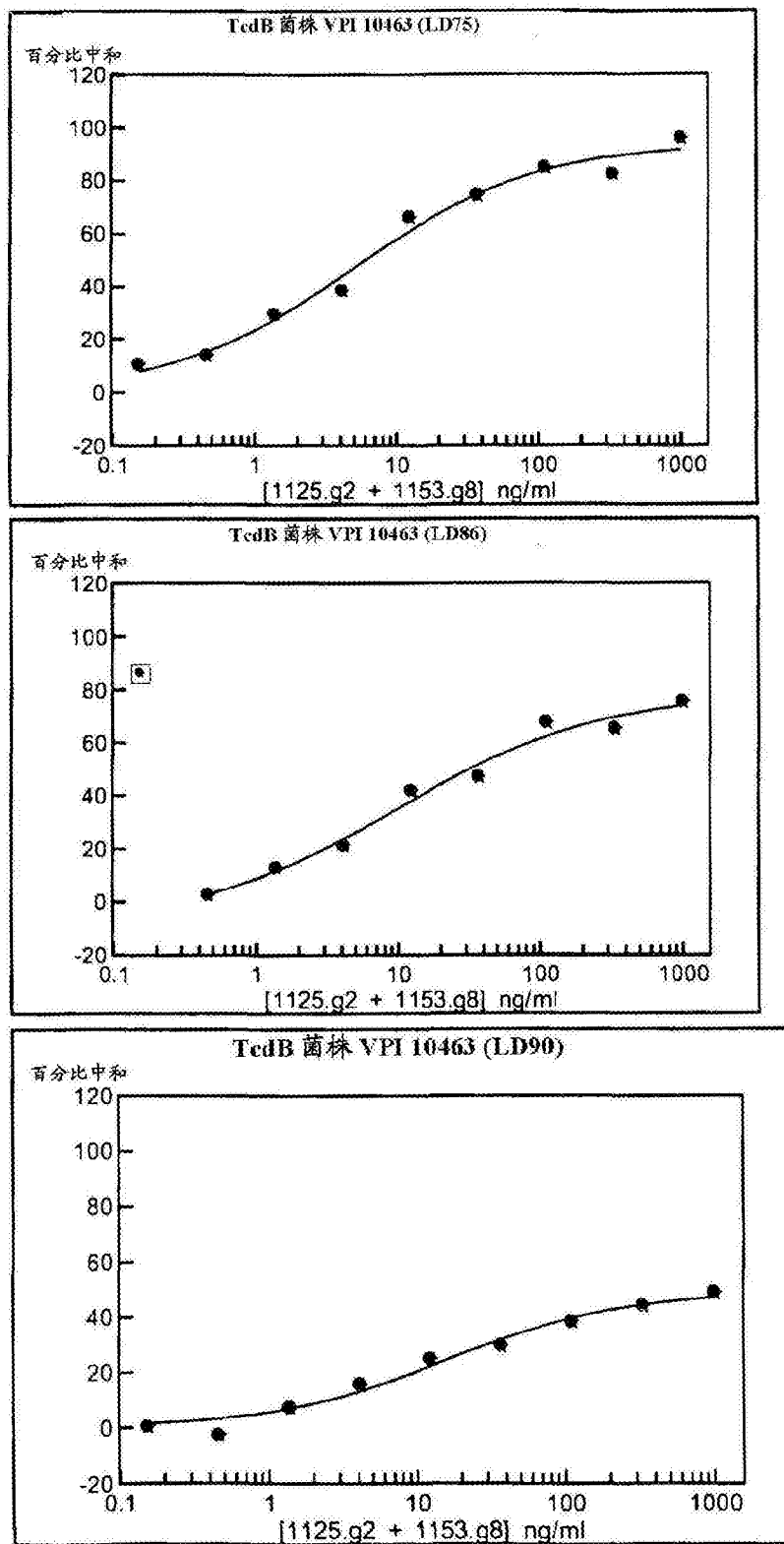


图56

TcdB 中和, 单一抗体和抗体对, 不同毒素剂量 (跨越)

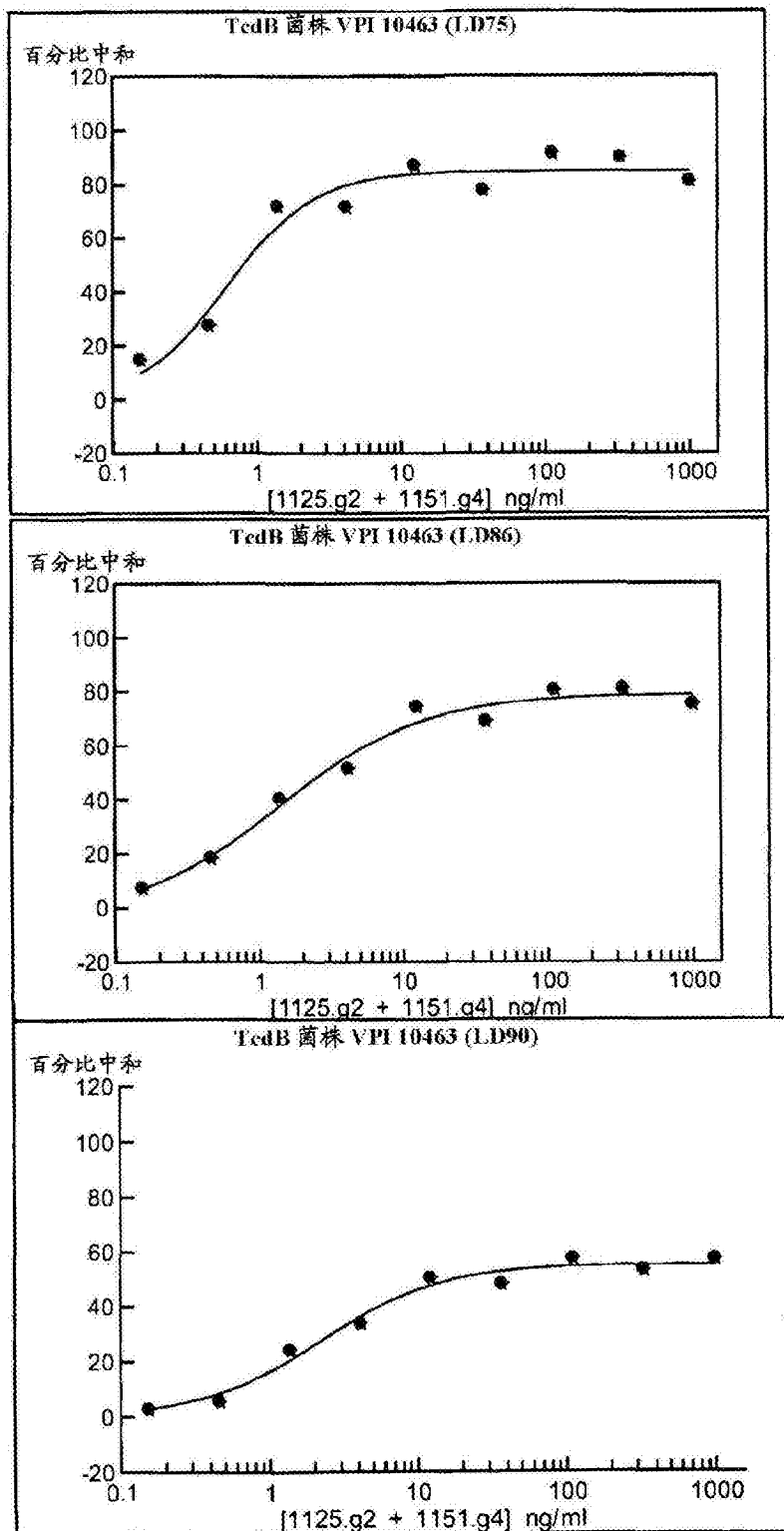


图57

TcdB 中和, 单一抗体和抗体对, 不同毒素剂量 (跨越)

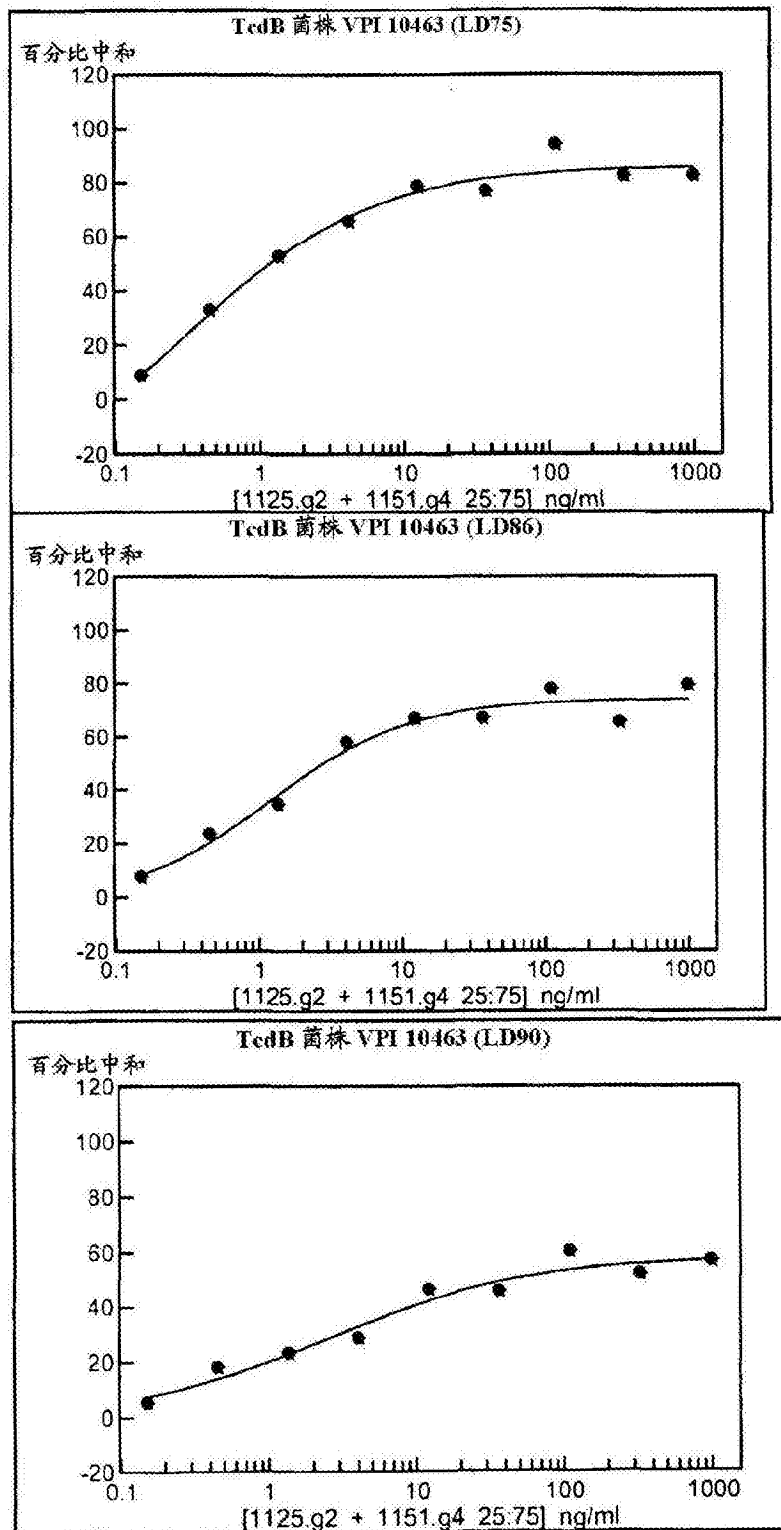


图58

TcdB 中和, 单一抗体和抗体对, 不同毒素剂量 (跨越)

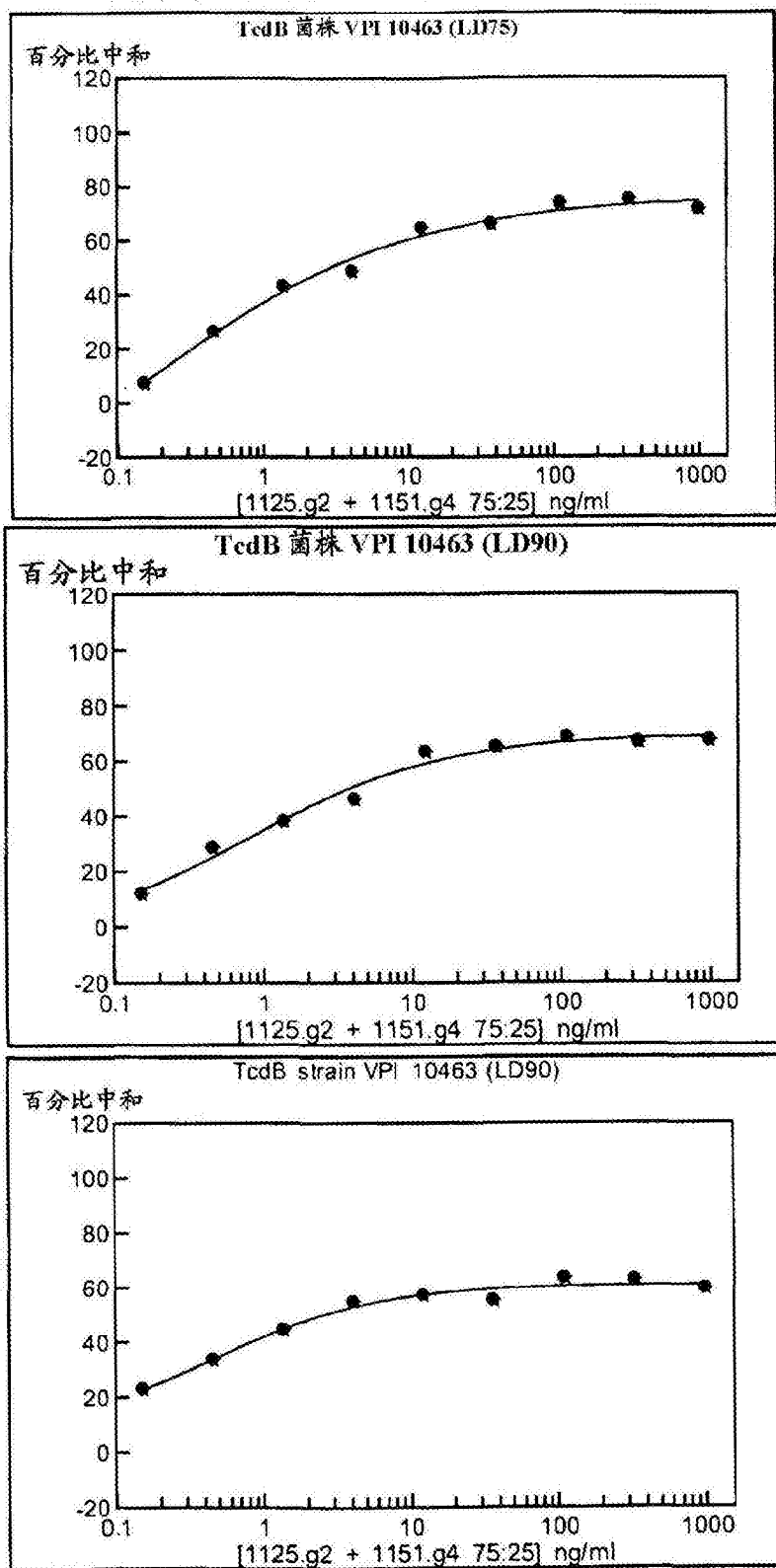


图59

WQTIDGKKYY FNTNTAEAAT GWQTIDGKKY YFNTNTAIAS TGYTIINGKH FYFNTDGIMQ
ICVFKEPNGF EYFAPANTDA NNIEQAILY QNEFLTNGK KYFSGSDSKA VTCWRIINN
KYFNPNNAI AAHLCTINN DKYFSDGI LONGYITIER NNFYFDANNE SKMVTGVFKG
PNGFEYFAPA NTHNNNIECQ AIVYQNKFLT LNCKKYYFDN DSKAVTCWQT IDGKKYYFNL
NTAEAATGWQ TIDGKKYYFN LNTAEAATGW QTIDGKKYYF NTNTFLASTG YTSINGKHFY
FNTDGIMQIG VFKGPNGFEY FAPANTDANN IEGQAILYQN KFLTNGKKY YFGSDSKAVT
GLRTIDGKKY YFNTNTAVAV TCWQTINGKK YYFNTNTSIA STGYTIISGK HFYFNTDGIM
QIGVFKGPDG FEYFAPANTD ANNIEQAIR YQNRFLYLHD NIYYFGNNSK AATGWVTIDG
NRYFEPNTA MGANGYKTID NKNFYFRNGL PQIGVFKGSN GFEYFAPANT DANNIEQAI

RYQNRFLHLL GKIYYFGNNS KAVTCWQTIN GKVYFMPDT AMAAAGGLFE IDGVIYFFGV
DGVKAPGIYG

图60

WQTIDGKKYY FNTNTAEAAAT GWQTIDGKKY YFNTNTAIAAS TGYTIINGKH FYFNTDGIMQ
 ICVFKEGPNCF EYFAPANTDA NNIEGQAILY QNEFLTLNGK KYYFGSDSKA VTCWRIINN
 KYYFNPNNAI AAIHLCTINN DKYYFSYDGI LONGYITIER NNFYFDANNE SKMVTGVFKG
 PNGFEYFAPA NTHNNNIEGQ AIVYQNKFLT LNGKKYYFDN DSKAVTCWQT IDGKKYYFNL
 NTAEAAATGWQ TIDGKKYYFN LNTAEAAATGW QTIDGKKYYF NTNTFIASSTG YTSINGKHFY
 FNTDGIMQIG VFKGPNGFEY FAPANTDANN IEGQAILYQN KFLTTLNGKKY YFGSDSKAVT
 GLRTIDGKKY YFNTNTAVAV TCWQTINGKK YYFNTNTSIA STGYTIISGK HFYFNTDGIM
 QIGVFKGPDG FEYFAPANTD ANNIEGQAIR YQNRFLYLHD NIYYFGNNSK AATGWVTIDG
 NRYYYFEPNTA MGANGYKTID NKNFYFRNGL PQIGVFKGSN GFEYFAPANT DANNIEGQAI

 RYQNRFLHLL GKIYYFGNNS KAVTCWQTIN GKVYYFMPDT AMAAAGGLFE IDGVIYFFGV
 DGVKAPGIYG

TcdB 的氨基酸序列 SEQ ID NO: 172

MSLVNRKQLE KMANVRFRTO EDEYVAILDA LEEYHNMSSEN TVVEKYLKLE DINSLTDIYI
 DTYKKSCRNK ALKKFKEYLV TEVLELKNNN LTPVEKNLHF VWIGGQINDT AINYINQWKD
 VNSDYNVNVF YDSNAFLINT LKKTVVESAI NDTLESFREN LNDPRFDYNG FFRKRMEIYY
 DKQKNFINYY KAQREENPEL IIDDIVKTYL SNEYSKEIDE LNTYIEESLN KITQNSGNDV
 RNFEEFKNGE SFNLYEQELV ERWNLAASD ILRISALKEI GGMVLDVDMV PGIQPDLFES
 IEKPSSVTVD FWEMTKLEAI MKYKEYIPEY TSEHFDMLDE EVQSSFESVL ASKSDKSEIF
 SSLGDMEASP LEVKIAFNSK GIINQGLISV KDSYCSNLIV KQIENRYKIL NNSLNPAISE
 DNDENTTTNT FIDSIMAEAN ADNGRFMMEL GKYLVRVGFFP DVKTTINLSG PEAYAAAYQD
 LLMFKEGSMN IHLIEADLRN FEISKTNISQ STEQEMASLW SFDDARAKAQ FEEYKRNYFE
 GSLCEDDNDL FSQNIIVVDKE YLLEKISSLA RSSERGIYHY IVQLQGDKIS YEAAACNLFAK
 TPYDSVLFQK NIEDSEIAYY YNPGDGEIQE IDKYKIPSII SDRPKIKLTF IGHGKDEFNT
 DIFAGFDVDS LSTEIEAAID LAKEDISPXS IEINLLGCNM FSYVINVEET YPGKLLLKVK

 DKISELMPSI SQDSIIIVSAN QYEVRIINSEG RRELLDHSGE WINKEESIK DISSKEYISF
 NPKENKITVK SKNLPELSTL LQEIIRNNSNS SDIELEEKVM LTECEINVIS NIDTQIVEER
 IEEAKNLTSO SINYIKDEFK LIESISDALC DLKQQNELED SHFISFEDIS ETDEGFSIRE
 INKETGESIF VETEKTIKFE YANHITTEIS KIKGTIFDTV NGKLVKKVNL DTTHEVNTLN
 AAFPIQSLIE YNSSKESLSN LSVAMKVQVY AQLFSTGLNT ITDAAKVVEL VSTALDETID
 LLPTLSEGLP IIATIIDGVS LGAAIKELSE TSDPLLKQEI EAKIGIMAVN LTTATTATIT
 SSLGIASGFS ILLVPLAGIS AGIPSLVNNE LVLRDKATKV VDYFKHVSIV ETEGVFTLLD

DKIMMPQDDL VISEIDFNNN SIVLGKCEIW RMEGGSGHTV TDDIDHFFSA PSITYREPHL
 SIYDVLEVQK EELDLSKDLM VLPNAPNRVF AWETGWTPGL RSLNDGTKL LDRIRDNYEG
 EFYWRYFAFI ADALITTLKP RYEDTNIRIN LDSNTRSFIV PIITTEYIRE KLSYSFYGSG
 GTYALSLSQY NMGINIELSE SDVWIIDVDN VVRDVTIESD KIKKGDLEIG ILSTLSIEEN
 KIILNSHEIN FSGEVNGSNG FVSLTFSILE GINAIIEVDL LSKSYKLLIS GELKILMLNS

 NHIQQKIDYI GFNSELQKNI PYSFVDSEGR ENGFINGSTK EGLFVSELPD VVLISKVYMD
 DSKPSFGYYS NNLKDVKVIT KDNVNILTGY YLKDDIKISL SLTLQDEKTI KLNSVHLDSE
 GVAEILKFMN RKGNNTNTSDS LMSFLESMNI KSIFVNFLOS NIKFILDANF IISGTTSIGQ
 FEFICDENDN IQPYFIKFNT LETNYTLYVG NRQNMIVEPN YDLDDSGDIS STVINFSQKY
 LYGIDSCVNK VVISPNITYD EINITPVYET NNTYPEVIVL DANYINEKIN VNINDLSIRY
 VWSNDGNDFI LMSTSEENKV SQVKIRFVNV FKDKTLANKL SFNFSDKQDV PVSEIILSFT
 PSYYEDGLIG YDLGLVSLYN EKFYINNFGM MVSGLIYIND SLYYFKPPVN NLITGFVTVG
 DDKYYFNPIN GGAASIGETI IDDKNYYFNQ SGVLQTVFVS TEDGFKYFAP ANTLDENLEG
 EAIDFTGKLI IDENIYYFDD NYRGAVENKE LDGEMHYFSP ETGKAFKGLN QIGDYKYYFN
 SDGVMQKGFV SINDNKHYFD DSGVMKVGYT EIDGKHFYFA ENGEMQIGVF NTEDGFKYFA
 HHNEDLGNEE GEEISYSGIL NFNNKIYYFD DSFTAVVGWK DLEDGSKYYF DEDTAEAYIG
 LSLINDGQYY FNDDGIMQVG FVTINDKVYF FSDSGIIESG VQNIIDNIFY IDDNIGIVQIG
 VFDTSDGYKY FAPANTVNDN IYQAVEYSG LVRVGEDVYY FGETYTIETG WIYDMENESD
 KYYFNPETKK ACKGINLIDD IKYYFDEKGI MRTGLISFEN NNYFFNENGE MQFGYINIED
 KMFYFGEDGV MQIGVFNTPD GKYYFAHQNT LDENFEGESI NYTGWLDLDE KRYYFTDEYI
 AATGSVIIDG EEYYFDPDTA QLVISE

图61

Caco-2 单层(跨上皮电阻)数据 - TcdA

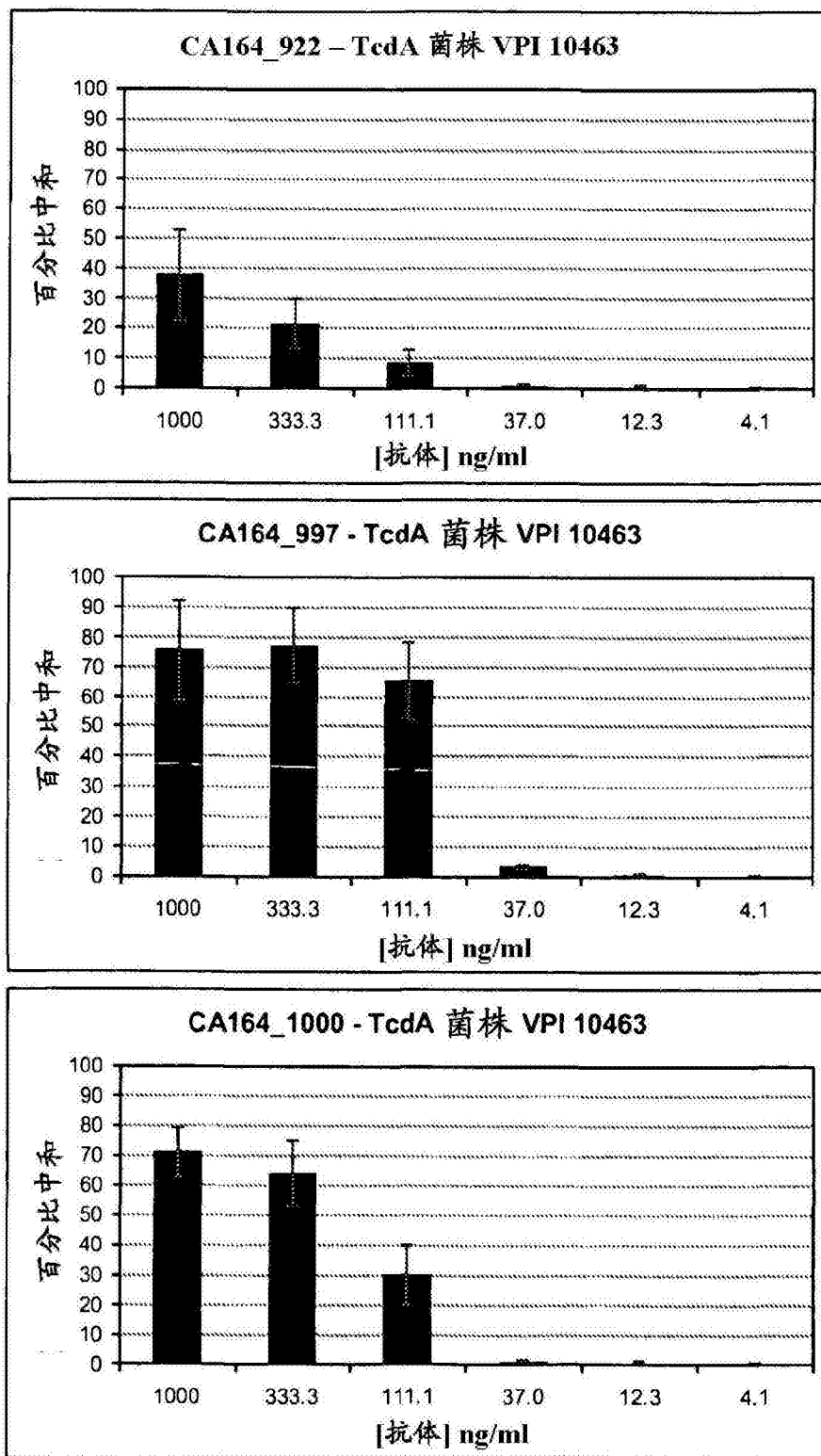


图62

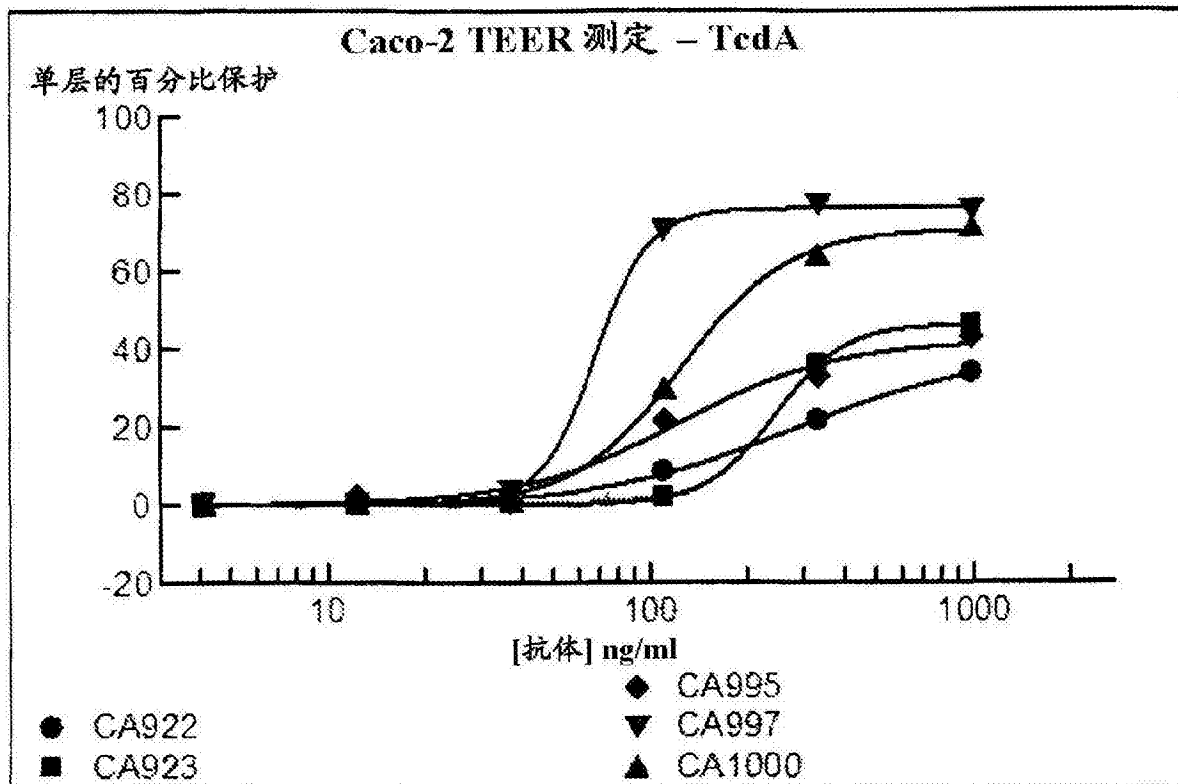
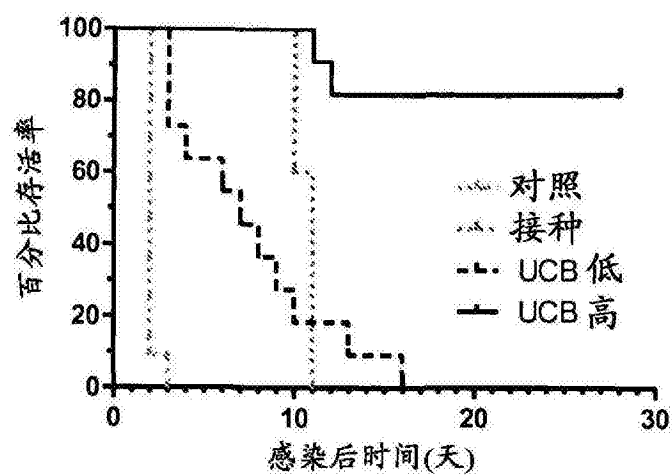


图62A

利用艰难梭菌攻击后仓鼠的存活率。UCB 高和低剂量 3 种 Mab 的混合物: CA997.g1 (50%), CA1125.g2 (25%)和 CA1151.g4 (25%)相对于对照



$P=0.0001$, 两个Mab组之间和Mab与媒介物对照之间.

图63

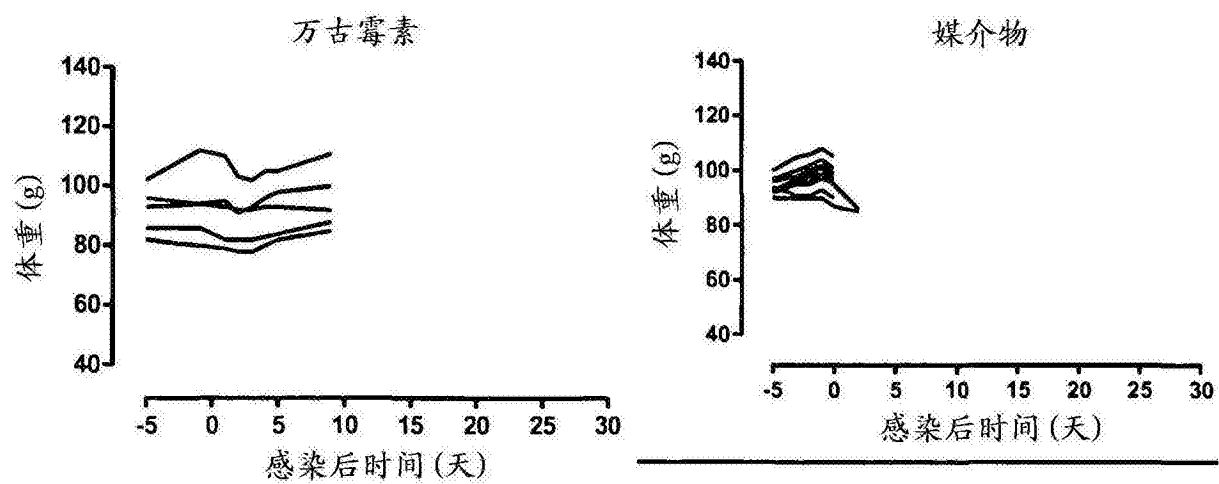
仓鼠体重变化

图64

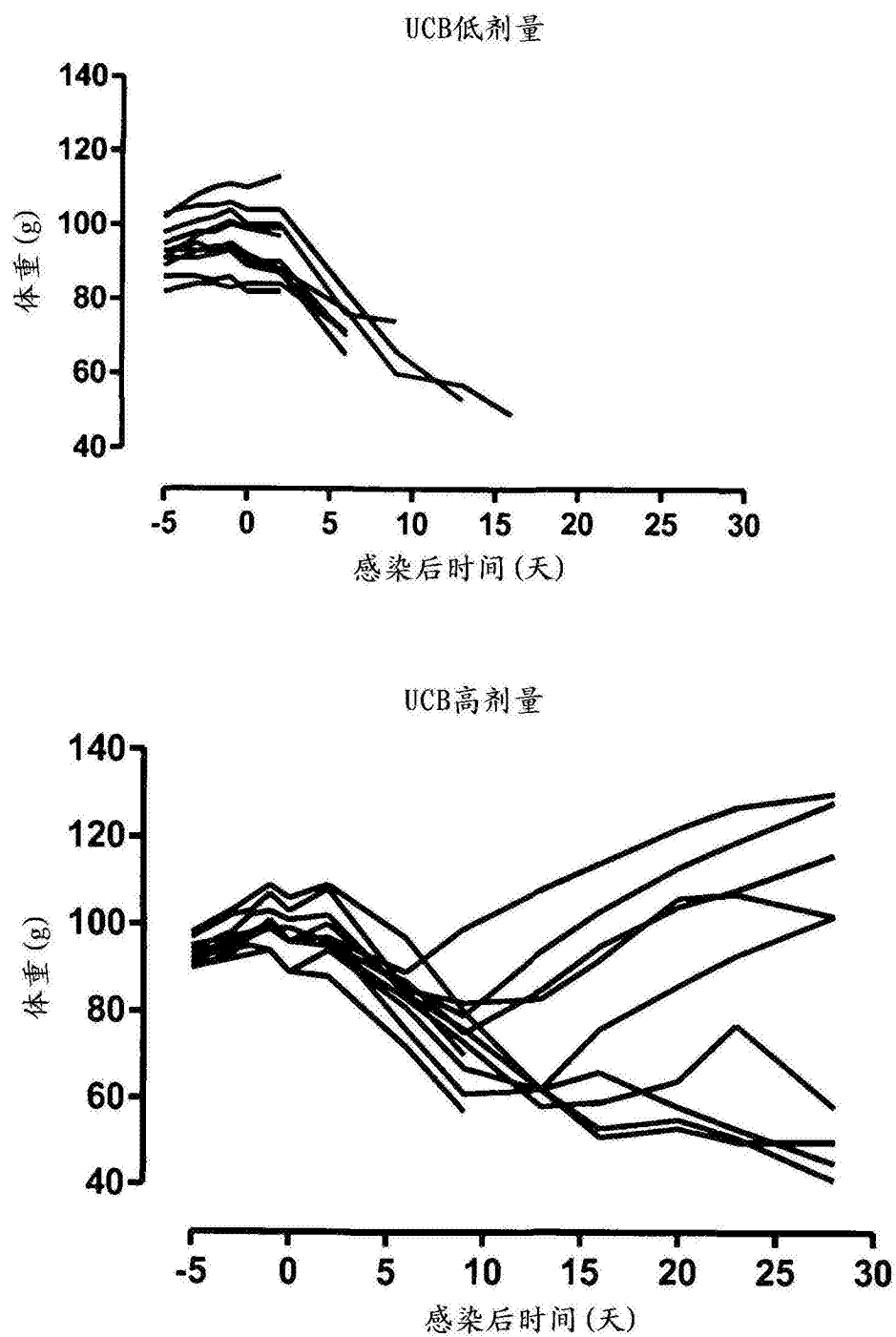


图65

PBS 对照

UCB 高剂量

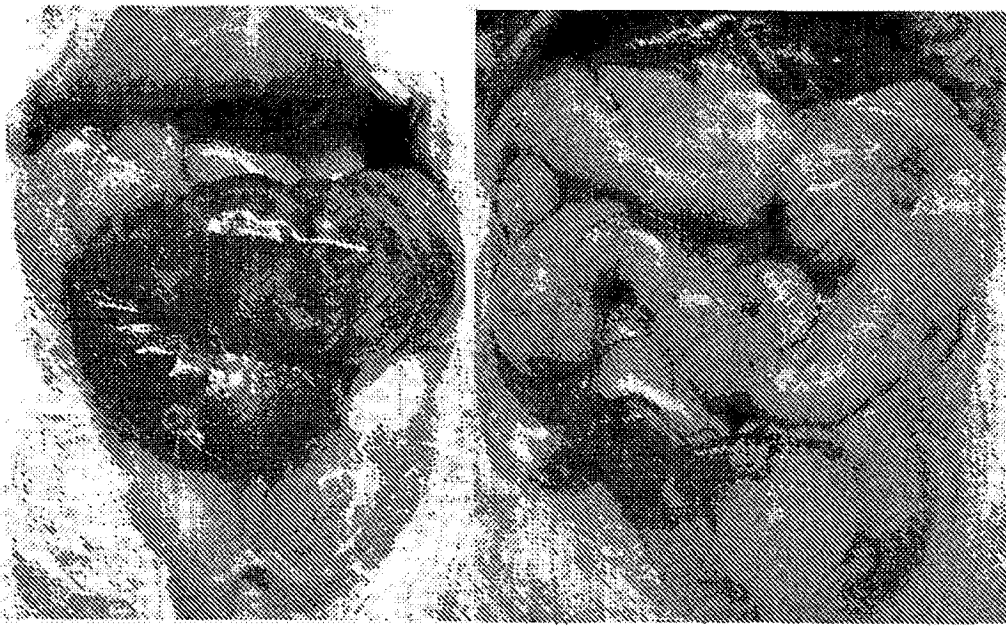


图66

小鼠和仓鼠中人IgG1的血清药代动力学

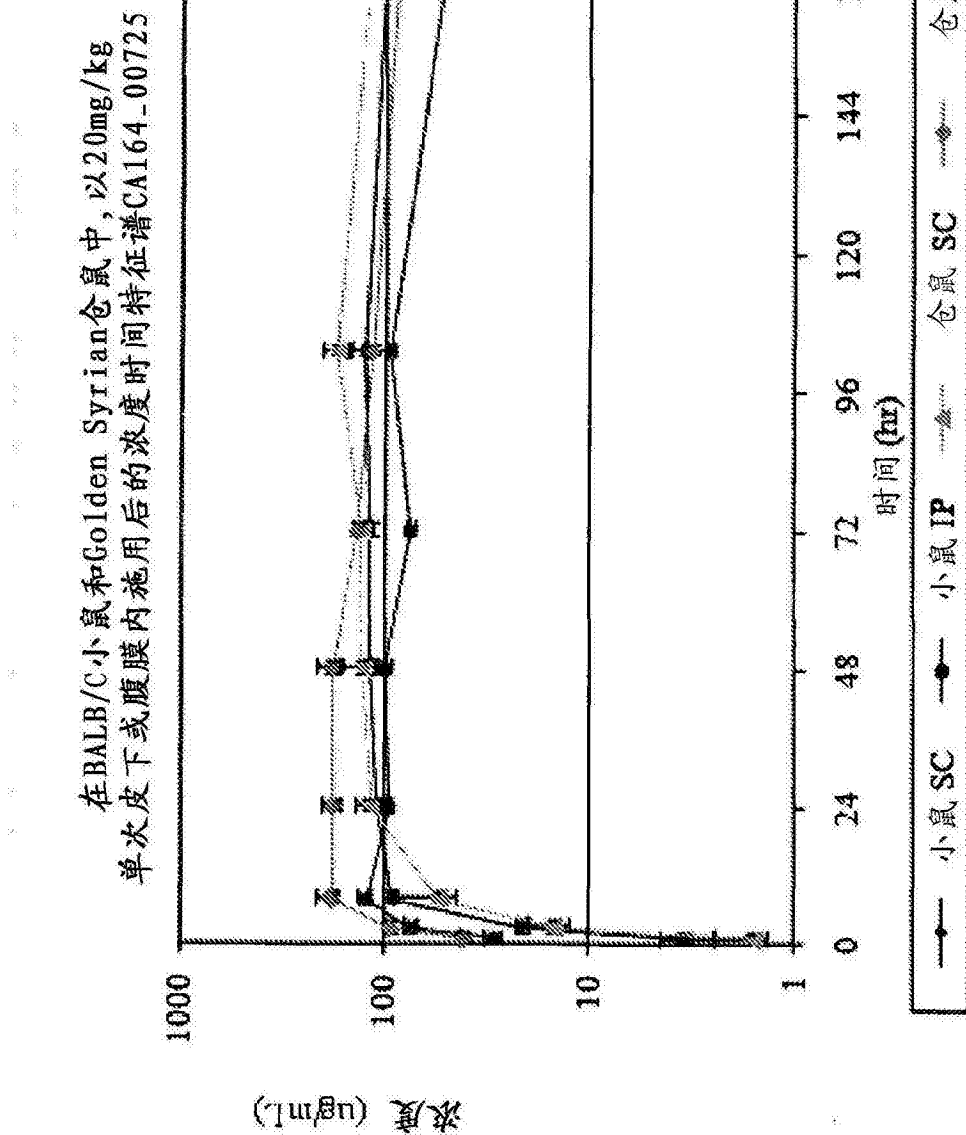


图67

通过涡旋进行的搅拌对PBS, pH7.4中的抗-TcdB IgG1分子的作用 (n=3)

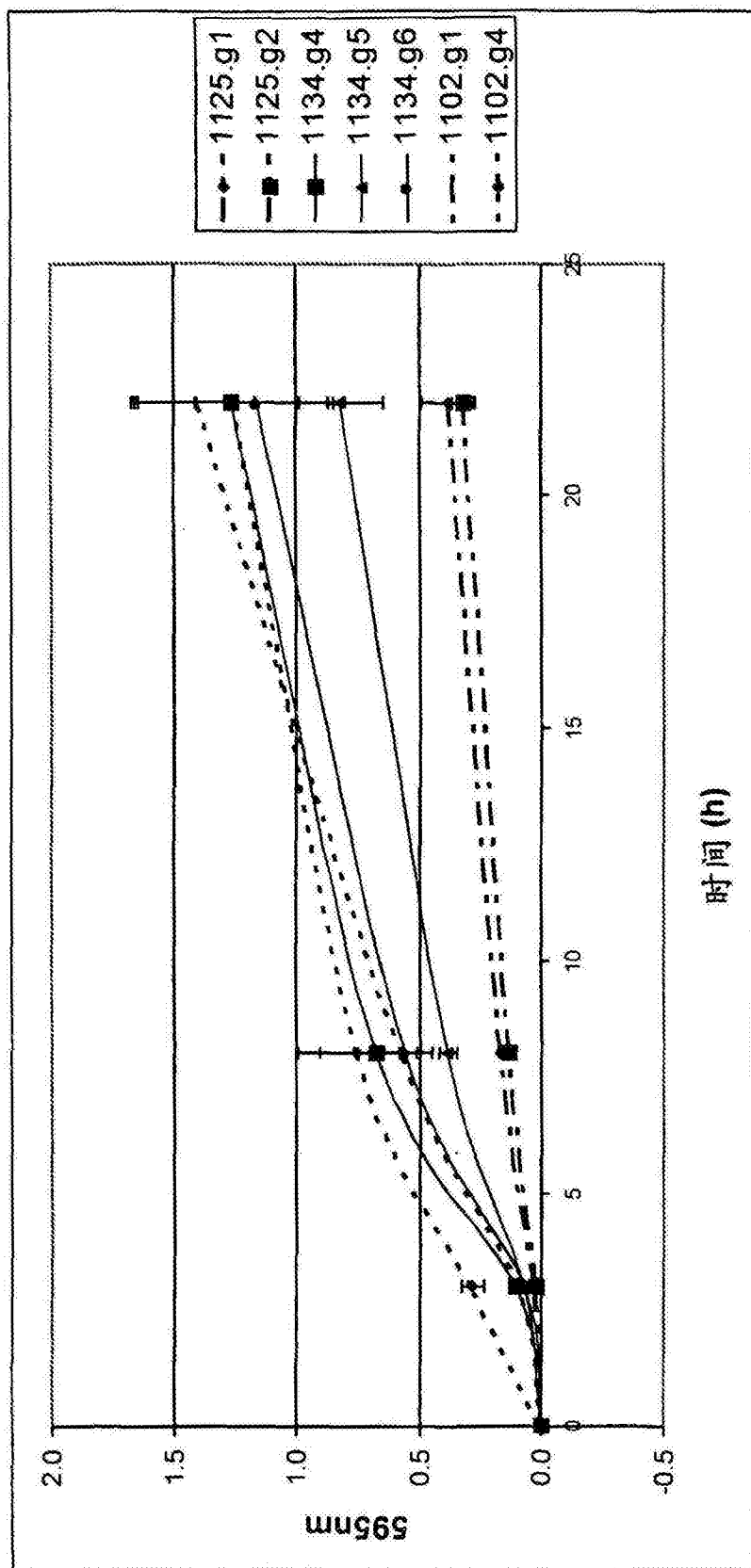


图68

PBS pH7.4 中的抗-TcdA和抗-TcdB IgG1分子的聚集稳定性的比较

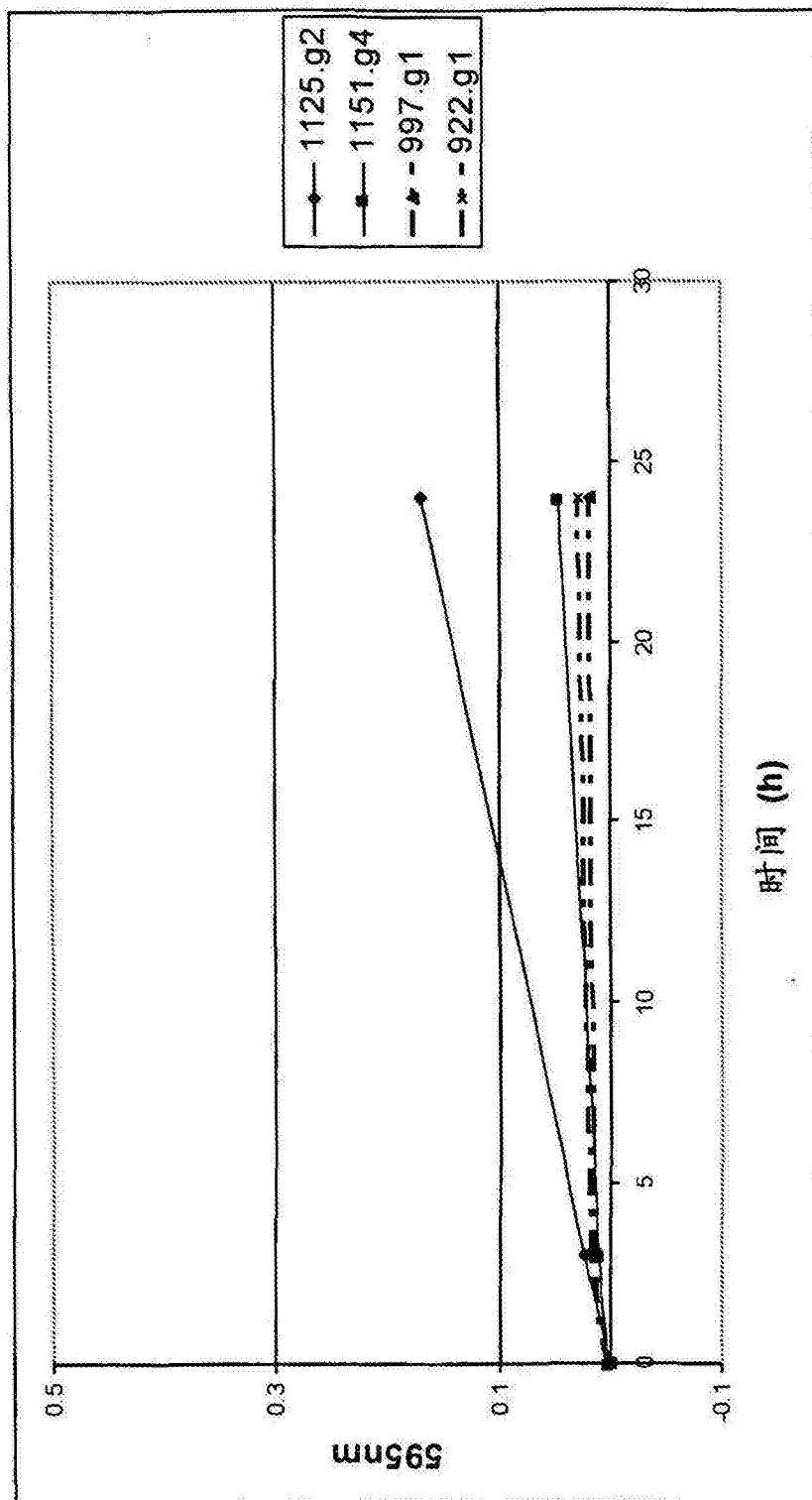


图69

抗核糖型003中和

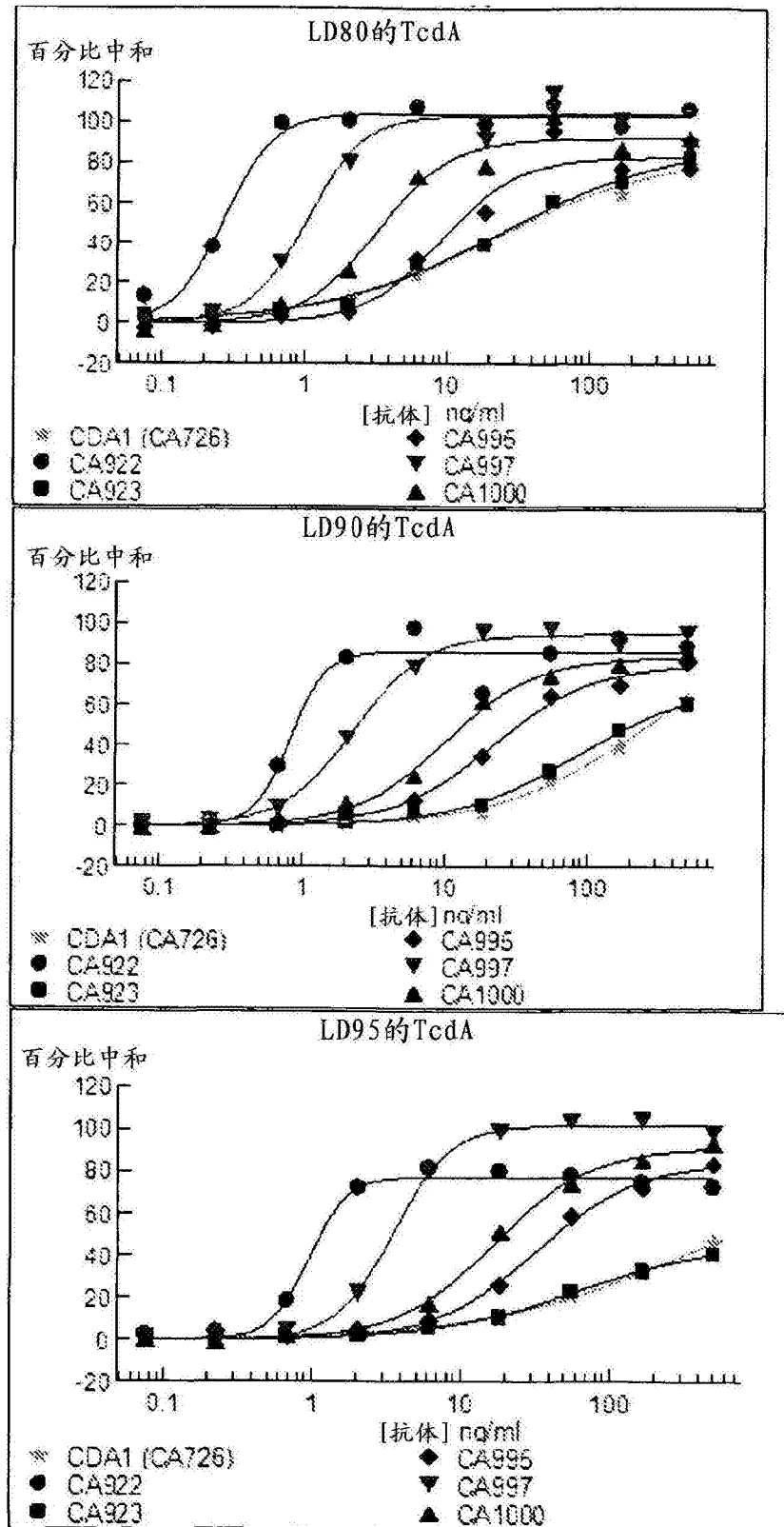


图70

抗核糖型003中和

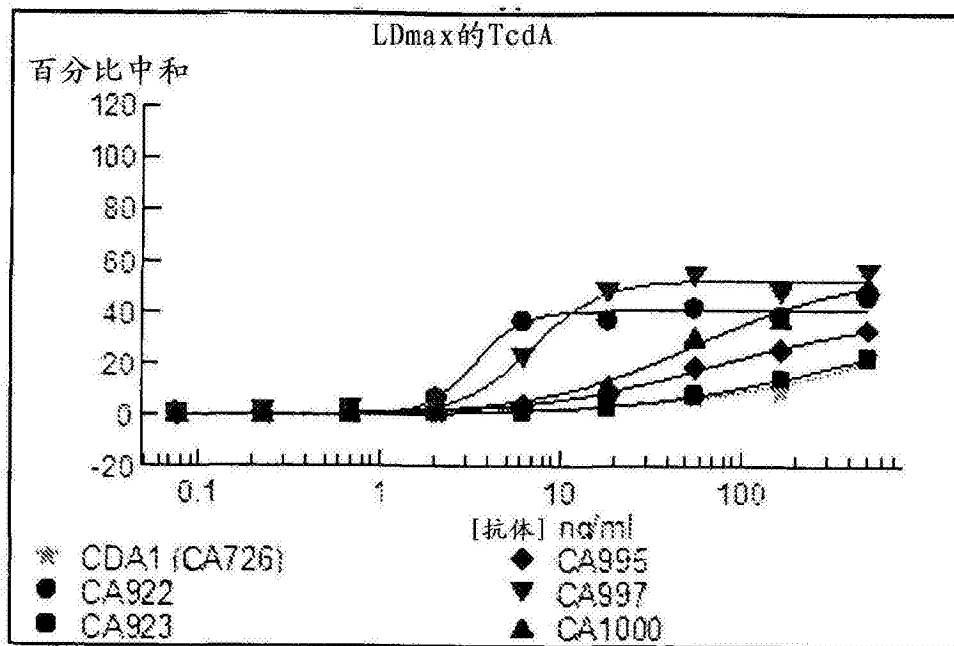


图71

抗核糖型027中和

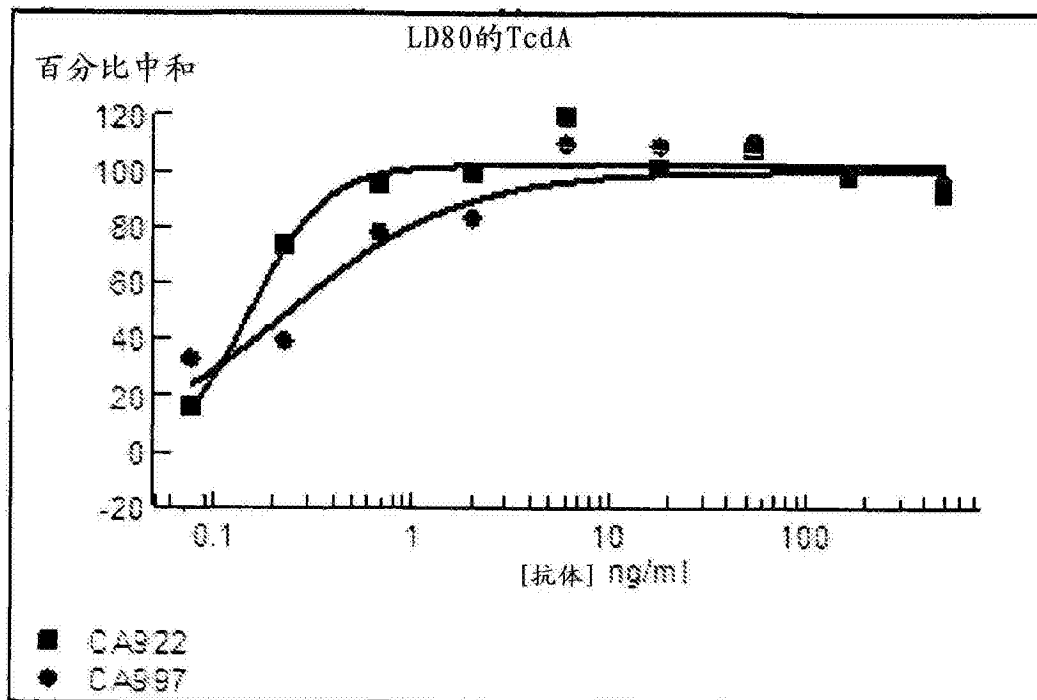


图72

抗核糖型078中和

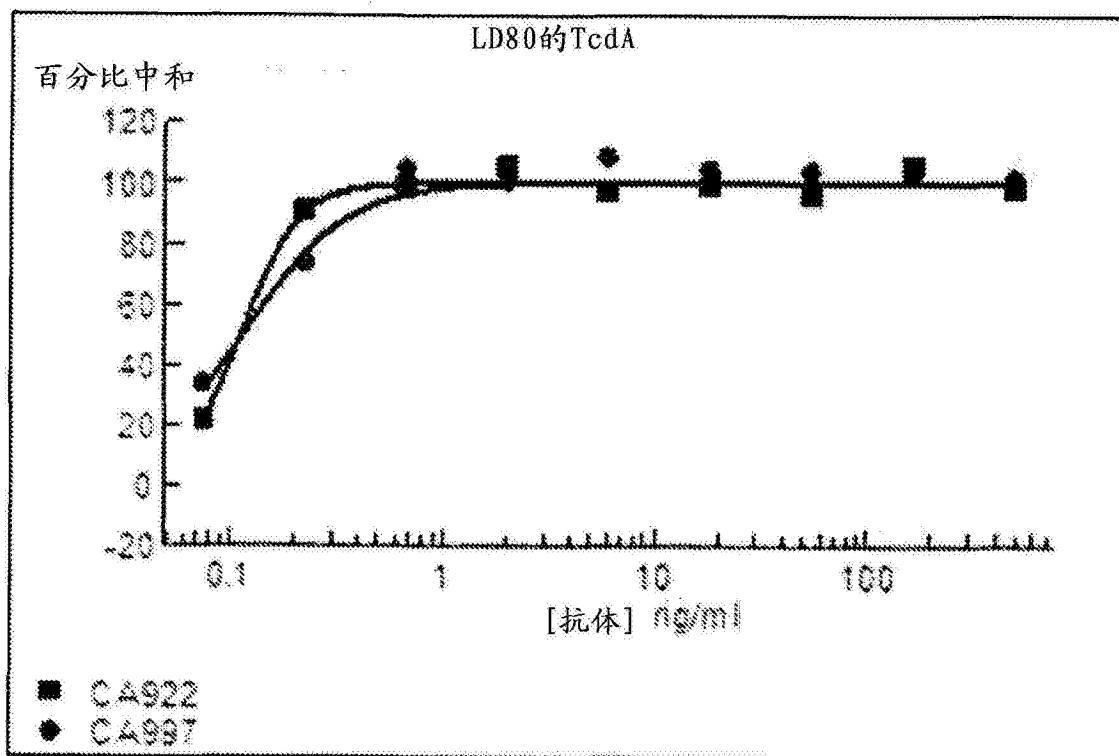


图73