



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I845520 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 06 月 21 日

(21)申請案號：108122349

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 06 月 26 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)

C12N15/64 (2006.01)

A61P25/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/06/26 日本

2018-120476

(71)申請人：日商協和麒麟股份有限公司(日本) KYOWA KIRIN CO., LTD. (JP)

日本

國立大學法人鹿兒島大學(日本) KAGOSHIMA UNIVERSITY (JP)

日本

(72)發明人：高橋信明 TAKAHASHI, NOBUAKI (JP)；中野了輔 NAKANO, RYOSUKE (JP)；

前田彩夏 MAEDA, SAYAKA (JP)；伊東祐二 ITO, YUJI (JP)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

CN 107530426A

WO 2016175307A1

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：20 項 圖式數：6 共 246 頁

(54)名稱

與硫酸軟骨蛋白多醣-5 結合之抗體

(57)摘要

本發明係關於一種與硫酸軟骨蛋白多醣-5(Chondroitin sulfate proteoglycan 5, CSPG5)結合之抗體或該抗體片段、產生該抗體或該抗體片段之融合瘤、包含編碼該抗體或該抗體片段之鹼基序列之核酸、含有包含該核酸之載體之轉形細胞、該抗體或該抗體片段之製造方法、包含該抗體或該抗體片段之組合物、使用該抗體或該抗體片段之檢測或測定存在於腦中之抗原之方法、診斷或治療腦疾病之方法、使抗體之腦滯留性提高之方法、使腦內之抗體量增加之方法等。



公告本

I845520

【發明摘要】

【中文發明名稱】

與硫酸軟骨蛋白多醣-5結合之抗體

【中文】

本發明係關於一種與硫酸軟骨蛋白多醣-5(Chondroitin sulfate proteoglycan 5, CSPG5)結合之抗體或該抗體片段、產生該抗體或該抗體片段之融合瘤、包含編碼該抗體或該抗體片段之鹼基序列之核酸、含有包含該核酸之載體之轉形細胞、該抗體或該抗體片段之製造方法、包含該抗體或該抗體片段之組合物、使用該抗體或該抗體片段之檢測或測定存在於腦中之抗原之方法、診斷或治療腦疾病之方法、使抗體之腦滯留性提高之方法、使腦內之抗體量增加之方法等。

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

與硫酸軟骨蛋白多醣-5結合之抗體

【技術領域】

【0001】 本發明例如關於一種與硫酸軟骨蛋白多醣-5(Chondroitin sulfate proteoglycan 5 ; CSPG5)結合之抗體或該抗體片段、產生該抗體或該抗體片段之融合瘤、包含編碼該抗體或該抗體片段之鹼基序列之核酸、含有包含該核酸之載體之轉形細胞、該抗體或該抗體片段之製造方法、包含該抗體或該抗體片段之組合物、使用該抗體或該抗體片段之檢測或測定存在於腦中之抗原之方法、診斷或治療腦疾病之方法、使抗體之腦滯留性提高之方法、使腦內之抗體量增加之方法等。

【先前技術】

【0002】 自1986年小鼠抗CD3抗體、莫羅莫那(muromonab)-CD3(OKT3)作為最初之抗體醫藥品得到FDA(Food and Drug Administration，美國食品及藥物管理局)批准以來，已開發出為數眾多之抗體醫藥品。1994年，為了降低小鼠抗體所具有之抗原性而將小鼠抗體之可變區與人類抗體之恆定區連結而成的嵌合抗體阿昔單抗(abciximab)得到批准。

【0003】 為了進一步降低抗原性，開發出將對於小鼠抗體之可變區之抗原結合具有重要作用之互補決定區(complementarity determining region，CDR)移植至人類抗體之構架區(frame work region，FR)的人類化抗體技術，1997年人類化抗CD20抗體達利珠單抗(daclizumab)得到批准。

【0004】 又，開始應用使用人類之抗體序列庫之噬菌體顯示(phage display)技術，作為藉由噬菌體顯示技術所取得之最初之抗體，完全人類抗TNF α 抗體阿達木單抗(adalimumab)於2002年得到批准。以CD20、CD52、TNF α 、HER2、EGFR等作為靶抗原之抗體醫藥品已有60個以上之品種得到批准(非專利文獻1)。

【0005】 如上所述，抗體已成為得到廣泛認可之醫藥品型式(format)。在此之前得到批准之抗體醫藥品中大部分係以癌或免疫疾病為對象者，占全部之約75%以上。

【0006】 對於中樞神經疾病之治療，抗體等生物製劑之重要性亦提高，對於阿茲海默症研究了針對類澱粉蛋白 β 之單株抗體；在動物模型中報告有：具有神經保護作用之各種神經滋養因子(腦源性神經滋養因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、膠質細胞源性神經滋養因子(glial-derived neurotrophic factor, GDNF)對於中樞神經疾病顯示出神經保護作用(非專利文獻2)。

【0007】 然而，於中樞神經系統中，報告有：於將抗體投予至末梢之情形時，與將抗體投予至其他器官時相比，傳遞量較低，抗體轉移率(腦脊髓液(cerebrospinal fluid, CSF)中濃度與血清濃度之比)為0.1～0.3%(非專利文獻3～5)。

【0008】 作為於包含腦及脊髓之中樞神經系統中藥劑傳遞量降低之原因，可列舉：稱為血腦障壁(Blood Brain Barrier, BBB)之限制血液與腦之組織液間之物質傳輸的機制。血腦障壁具有利用血管內皮細胞之細胞間接合之物理性、非特異性之控制機制、及利用排出轉運體之基質特異性之排出機制，保護中樞神經系統以免受異物或藥物影響，對於維持恆常性

發揮重要之作用。

【0009】然而，因存在血腦障壁，而難以於中樞神經系統中獲得藥劑投予時之有效濃度，導致藥劑開發變得困難。例如現採用酵素補充療法，針對Hurler綜合症(黏多醣病I型)，將 α -L-艾杜糖醛酸酶進行靜脈內投予，或針對Hunter綜合症(黏多醣病II型)，將艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶進行靜脈內投予，但由於酵素之分子量較大而不會通過血腦障壁，故而未見對於中樞神經症狀之有效性(非專利文獻6~9)。又，報告有：由於定期性地連續投予一定量之重組酵素，而出現中和抗體之產生等副作用(非專利文獻10)。

【0010】又，為了提高腦內濃度，亦嘗試將生物製劑直接投予至脊椎內或腦內。例如報告有為了防止Hunter綜合症(黏多醣病II型)患者之腦損傷之進展，而將艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶投予至患者之腦內的方法(專利文獻1)。然而，向脊椎內或腦內之直接投予之侵入性較高(非專利文獻11)。

【0011】因此，為了提高生物製劑之類之高分子物質之腦內濃度，研究出各種傳遞技術。例如複數次報告有與在腦血管內皮細胞表現之膜蛋白質結合，形成高分子物質與膜蛋白質之複合體，並藉由內噬作用使之通過血腦障壁之方法。

【0012】所報告之技術基本上為利用受體介導胞吞轉送作用(receptor-mediated transcytosis，以下RMT)者，作為成為靶之腦血管內皮表現受體，例如有轉鐵蛋白受體、胰島素受體、類胰島素生長因子受體、及低比重脂蛋白受體家族(LDLRf)等。

【0013】報告有藉由製作抗轉鐵蛋白受體抗體與神經生長因子之融

合蛋白，而經由轉鐵蛋白受體之血腦障壁通過技術。作為使用抗轉鐵蛋白受體抗體之技術，報告有抗轉鐵蛋白受體抗體與抗 β -分泌酶(Beta-Secretase)(BACE1)抗體之雙特異(Bispecific)抗體(專利文獻2及3、以及非專利文獻12及13)、及於抗類澱粉蛋白 β 抗體之羧基末端側融合有抗轉鐵蛋白受體之單價抗體的融合抗體(專利文獻4、非專利文獻14)。

【0014】 關於利用抗轉鐵蛋白受體抗體與抗BACE1抗體之雙特異性抗體之腦傳遞，報告有：於小鼠中以20 mg/kg體重投予抗體時，腦中之抗體吸收量增加至對照之約4倍(非專利文獻13)。

【0015】 又，報告有如下技術：藉由使表面具有抗轉鐵蛋白受體抗體之脂質體內包藥劑，而使藥劑通過血腦障壁。報告有：藉由抗大鼠轉鐵蛋白受體抗體與免疫膠束融合體，大鼠腦中之吸收量增加至約2~5倍(非專利文獻15)。

【0016】 又，報告有如下技術：藉由製作於抗胰島素受體抗體之羧基末端側融合有神經滋養因子、酵素或者抗類澱粉蛋白抗體之融合蛋白，而經由胰島素受體通過血腦障壁(非專利文獻16-19)。

【0017】 報告有於恆河獼猴(Macaca mulatta)中，投予了標記抗人類胰島素受體抗體與GDNF之融合抗體2小時後之腦中之吸收量與GDNF相比，成為約15倍(非專利文獻17)。

【0018】 然而，轉鐵蛋白受體及胰島素受體不僅於腦血管內皮細胞表現，亦於肝臟等全身表現，因此於該等技術中，向中樞神經系統之藥劑傳遞量增大，並且於肝臟等中亦發生藥劑傳遞(非專利文獻20)。進而，由於全身表現抗原，故而抗體之血中半衰期較短(非專利文獻12)。

【0019】 又，報告有針對腦血管內皮膜表現抗原TMEM30A之抗體

(Fc5)顯示出類似RMT之活性(專利文獻5、以及非專利文獻21及22)。Fc5係源自駱馬之單域(single domain)之重鏈抗體之重鏈可變區(Variable domain of Heavy chain of Heavy chain antibody, VHH)抗體，於體外(in vitro)BBB模型及大鼠體內(in vivo)模型中顯示出Fc5與人類Fc融合體相較於對照IgG，腦傳遞增加。

【0020】報告有源自Fc5之單鏈抗體(single chain antibody, scFv)與代謝型麩胺酸受體1型(metabotropic glutamate receptor type I, mGluRI)抗體之融合體相較於對照單鏈抗體與mGluRI抗體之融合體，於大鼠模型中之CSF暴露提高，但增加量為5倍左右(非專利文獻23)。

【0021】又，報告有IgG抗體藉由新生兒Fc受體(neonatal Fc receptor; FcRn)而自腦內向循環血液方向被迅速地排出(非專利文獻24及25)，例如大鼠中之IgG之腦內投予後之腦內半衰期較短為48分鐘(非專利文獻24)。

【0022】CSPG5係跨膜型硫酸軟骨蛋白多醣，主要限定存在於中樞神經系統組織(非專利文獻26、27及28)。於免疫組織化學染色中，關於神經纖維網、樹狀突起及神經纖維之類之神經元(神經細胞)及/或星形膠質細胞確認到染色(非專利文獻28、29、30及36)。大鼠中樞神經系統中之CSPG5之表現係自胎兒期可見，於出生後第3週作為波峰，於成人期減少至波峰水準之約一半(非專利文獻26及30)。

【0023】又，根據CSPG5剔除小鼠之實驗，小腦γ-胺基丁酸(γ-aminobutyric acid; GABA)功能性突觸之成熟需要CSPG5，但浦金埃氏細胞之樹狀突起樹未受到影響(非專利文獻31)。CSPG5於發達中之中樞神經系統組織中以蛋白多醣之形態存在，於成熟之中樞神經系統組織中以非

蛋白多醣之形態存在(非專利文獻28及30)。

【0024】 CSPG5具有120 kDa之核心蛋白。核心蛋白係分成硫酸軟骨素鏈所鍵結之N末端區域；酸性胺基酸叢集；包含類表皮生長因子(epidermal growth factor；EGF)模組之富含半胱胺酸區域；跨膜片段及細胞質區域等5個不同之結構(非專利文獻26及27)。CSPG5之細胞外區域係經由酸性胺基酸叢集而與肌腱蛋白-C(Tenascin-C)及肌腱蛋白-R(Tenascin-R)結合(非專利文獻29、32及33)，而與ErbB3融合蛋白相互作用(非專利文獻34)。又，報告有多個與CSPG5結合之抗體(專利文獻6以及非專利文獻26及35)。

先前技術文獻

專利文獻

【0025】 專利文獻1：國際公開第2012/023623號

專利文獻2：國際公開第2016/081640號

專利文獻3：國際公開第2016/081643號

專利文獻4：國際公開第2014/033074號

專利文獻5：加拿大專利第2623841號說明書

專利文獻6：國際公開第2016/175307號

非專利文獻

【0026】 非專利文獻1：Kyla RR. and Richard CC., Biotechnol Adv, pii: S0734-9750 (16), 30091-X, 2016

非專利文獻2：Pardridge WM., Bioconjugate Chem., 19, 1327-1338, 2008

非專利文獻3：Wang W., et al., Clin. pharmacol. Ther., 84, 548-558,

2008

非專利文獻4：Garg A., et al., AAPSJ., 11, 553-557, 2009

非專利文獻5：Kaj B., et al., Arch. Neurol., 69 (8), 1002-1010,

2012

非專利文獻6：Wraith JE. et al., J. Pediatr. 144 (5), 581-588, 2004

非專利文獻7：Muenzer J. et al., Genet Med. 8 (8), 465-473, 2006

非專利文獻8：Aldurazyme(註冊商標)靜脈滴注液2.9 mg隨附文書
(2016年7月第8版)

非專利文獻9：Elaprase(註冊商標)靜脈滴注液6 mg 隨附文書(2016
年7月第6版)

非專利文獻10：Brooks, D.A .et al., Trends Mol. Med. 9, 450-453,

2003

非專利文獻11：Sorrentino NC.et al., Pediatr Endocrinol Rev. 1,
630-638, 2016

非專利文獻12：Couch JA., et al., Science Translational Medicine,
5, 183ra57, 2013

非專利文獻13：Yu YJ., et al., Science Translational Medicine, 6,
261ra154, 2014

非專利文獻14：Niewoehner J., et al., Neuron. 81, 49-60, 2014

非專利文獻15：Jun Y., et al., Macromol. Biosci. 12, 1209-1219,
2012

非專利文獻16：Pardridge WM. and Boado RJ., Methods in
Enzymology, 503, 269-292, 2012

非專利文獻17：Boado RJ., et al., Drug Metab. Dispos., 37 (12), 2299-2304, 2009

非專利文獻18：Boado RJ., et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 333 (3), 961-969, 2010

非專利文獻19：Boado RJ., et al., Bioconjugate Chem., 1, 97-104, 2012

非專利文獻20：Yun Zhang.et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 313 (3), 1075-1081, 2005

非專利文獻21：Abulrob A., et al., J. Neuyrochem., 95 (4), 1201-1214, 2005

非專利文獻22：Farrington GK., et al., FASEB J., 28, 4764-4778, 2014

非專利文獻23：Webster CI., et al., FASEB J., 30, 1927-1940, 2016

非專利文獻24：Zhang Y., et al., J. Neuroimmunol., 114 (1-2), 168-172, 2001

非專利文獻25：Philip RC., et al., Brain Research, 1534, 13-21, 2013

非專利文獻26：Watanabe E., et al., J. Biol. Chem., 270, 26876-26882, 1995

非專利文獻27：Yasuda Y., et al., Neurosci. Res., 32, 313-322, 1998

非專利文獻28：Aono S., et al., J. Biol. Chem., 275, 337-342, 2000

非專利文獻29：Schumacher S., et al., J. Cell Biol., 136, 895-906, 1997

非專利文獻30：Inatani M., et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 41, 4338-46, 2000

非專利文獻31：Juttner R., et al., Eur. J. Neurosci., 38, 3270-3280, 2013

非專利文獻32：Schumacher S., et al., J. Biol. Chem., 276, 7337-7345, 2001

非專利文獻33：Schumacher S. & Stube E.M., J. Neurochem., 87, 1213-1223, 2003

非專利文獻34：Kinugasa Y., et al., Biochem. Bioph. Res. Co., 321, 1045-1049, 2004

非專利文獻35：Aono S., et al., J. Neurosci. Res., 83, 110-118, 2006

非專利文獻36：Mark A., et al., Nature, 532, 195-200, 2016

【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

【0027】 本發明例如關於一種與CSPG5結合之CSPG5結合分子及使用該分子之方法等。具體而言，本發明之目的在於提供一種與CSPG5結合之抗體或該抗體片段、產生該抗體或該抗體片段之融合瘤、包含編碼該抗體或該抗體片段之鹼基序列之核酸、含有包含該核酸之載體之轉形細胞、該抗體或該抗體片段之製造方法、包含該抗體或該抗體片段之組合物、使用該抗體或該抗體片段之檢測或測定存在於腦中之抗原之方法、診斷或治療腦疾病之方法、使抗體之腦滯留性提高之方法、使腦內之抗體量增加之方法等。

[解決問題之技術手段]

【0028】 作為用以解決上述課題之方法，本發明提供一種與CSPG5結合之CSPG5結合分子及使用該分子之方法、具體而言，提供一種與CSPG5結合之抗體或該抗體片段。

【0029】 即，本發明係關於以下之(1)～(23)。

(1) 一種抗體或該抗體片段，其與硫酸軟骨蛋白多醣-5(CSPG5)結合。

(2) 如(1)記載之抗體或該抗體片段，其中抗體具有腦滯留性。

(3) 如(2)記載之抗體或該抗體片段，其中抗體為具有神經細胞及/或星形膠質細胞結合性之抗體。

(4) 如(1)至(3)中任一項記載之抗體或該抗體片段，其中抗體為選自由下述(a)～(s)所組成之群中之一者；

(a) 重鏈可變區(VH)之互補決定區(CDR)1～3之胺基酸序列分別包含序列編號3、4及5所記載之胺基酸序列，且輕鏈可變區(VL)之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號8、9及10所記載之胺基酸序列的抗體、

(b) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號13、14及15所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號18、19及20所記載之胺基酸序列的抗體、

(c) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號23、24及25所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號28、29及30所記載之胺基酸序列的抗體、

(d) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號33、34及35所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號38、

39及40所記載之胺基酸序列的抗體、

(e) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號43、44及45所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號48、49及50所記載之胺基酸序列的抗體、

(f) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號53、54及55所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號58、59及60所記載之胺基酸序列的抗體、

(g) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號63、64及65所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號68、69及70所記載之胺基酸序列的抗體、

(h) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號73、74及75所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號78、79及80所記載之胺基酸序列的抗體、

(i) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號83、84及85所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號88、89及90所記載之胺基酸序列的抗體、

(j) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號93、94及95所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號98、99及100所記載之胺基酸序列的抗體、

(k) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號103、104及105所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號108、109及110所記載之胺基酸序列的抗體、

(l) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號113、114及115所

記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號118、119及120所記載之胺基酸序列的抗體、

(m) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號123、124及125所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號128、129及130所記載之胺基酸序列的抗體、

(n) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號133、134及135所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號138、139及140所記載之胺基酸序列的抗體、

(o) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號143、144及145所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號148、149及150所記載之胺基酸序列的抗體、

(p) 與上述(a)～(o)所記載之至少1個抗體就向CSPG5結合作競爭之抗體、

(q) 與包含上述(a)～(o)所記載之任一個抗體所結合之表位之表位結合的抗體、

(r) 與和上述(a)～(o)所記載之任一個抗體所結合之表位相同之表位結合的抗體、及

(s) 包含與上述(a)～(o)所記載之任一個抗體之胺基酸序列具有85%以上之同源性之胺基酸序列的抗體。

(5) 如(1)至(4)中任一項記載之抗體或該抗體片段，其中抗體為選自由下述(A)～(P)所組成之群中之一者；

(A) VH之胺基酸序列包含序列編號2所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號7所記載之胺基酸序列的抗體、

(B) VH之胺基酸序列包含序列編號12所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號17所記載之胺基酸序列的抗體、

(C) VH之胺基酸序列包含序列編號22所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號27所記載之胺基酸序列的抗體、

(D) VH之胺基酸序列包含序列編號32所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號37所記載之胺基酸序列的抗體、

(E) VH之胺基酸序列包含序列編號42所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號47所記載之胺基酸序列的抗體、

(F) VH之胺基酸序列包含序列編號52所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號57所記載之胺基酸序列的抗體、

(G) VH之胺基酸序列包含序列編號62所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號67所記載之胺基酸序列的抗體、

(H) VH之胺基酸序列包含序列編號72所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號77所記載之胺基酸序列的抗體、

(I) VH之胺基酸序列包含序列編號82所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號87所記載之胺基酸序列的抗體、

(J) VH之胺基酸序列包含序列編號92所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號97所記載之胺基酸序列的抗體、

(K) VH之胺基酸序列包含序列編號102所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號107所記載之胺基酸序列的抗體、

(L) VH之胺基酸序列包含序列編號112所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號117所記載之胺基酸序列的抗體、

(M) VH之胺基酸序列包含序列編號122所記載之胺基酸序列，且VL

之胺基酸序列包含序列編號127所記載之胺基酸序列的抗體、

(N) VH之胺基酸序列包含序列編號132所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號137所記載之胺基酸序列的抗體、

(O) VH之胺基酸序列包含序列編號142所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號147所記載之胺基酸序列的抗體、及

(P) 包含與上述(A)~(O)所記載之任一個抗體之胺基酸序列具有85%以上之同源性之胺基酸序列的抗體。

(6) 如(1)至(5)中任一項記載之抗體或該抗體片段，其中抗體或該抗體片段為雙特異性抗體。

(7) 如(6)記載之雙特異性抗體，其中雙特異性抗體與CSPG5及存在於腦中之抗原結合。

(8) 如(6)或(7)記載之雙特異性抗體，其中雙特異性抗體包含與CSPG5結合之抗原結合部位、及與存在於腦中之抗原結合之抗原結合部位。

(9) 如(1)至(8)中任一項記載之抗體片段，其中抗體片段為選自由Fab、Fab'、F(ab')₂、單鏈抗體(scFv)、二聚體化V區(diabody)、二硫鍵穩定V區(dsFv)、重鏈抗體之重鏈可變區(VHH)及包含CDR之肽所組成之群中之一者。

(10) 如(1)至(9)中任一項記載之抗體或該抗體片段，其中抗體為基因重組抗體。

(11) 如(1)至(10)中任一項記載之抗體或該抗體片段，其中抗體為選自由小鼠抗體、大鼠抗體、兔抗體、羊駝抗體、駱駝抗體、駱馬抗體、嵌合抗體、人類化抗體及人類抗體所組成之群中之一者。

(12) 一種融合抗體或該融合抗體片段，其係使選自由下述(i)~(iii)所組成之群中之至少一者與如(1)至(11)中任一項記載之與CSPG5結合之抗體或該抗體片段結合而成；

(i) 親水性高分子、

(ii) 兩親媒性高分子、及

(iii) 功能性分子。

(13) 一種融合瘤，其產生如(1)至(12)中任一項記載之抗體、該抗體片段、融合抗體或該融合抗體片段。

(14) 一種核酸，其包含編碼如(1)至(12)中任一項記載之抗體、該抗體片段、融合抗體或該融合抗體片段之鹼基序列。

(15) 一種轉形細胞，其含有包含如(14)記載之核酸之載體。

(16) 一種如(1)至(12)中任一項記載之抗體、該抗體片段、融合抗體或該融合抗體片段之製造方法，其包括：培養如(13)記載之融合瘤或如(15)記載之轉形細胞，自培養液採集如(1)至(12)中任一項記載之抗體、該抗體片段、融合抗體或該融合抗體片段。

(17) 一種組合物，其包含如(1)至(12)中任一項記載之抗體、該抗體片段、融合抗體或該融合抗體片段。

(18) 如(17)記載之組合物，其係存在於腦中之抗原之檢測或測定用之組合物。

(19) 如(17)記載之組合物，其係用以診斷或治療腦疾病之組合物。

(20) 一種檢測或測定存在於腦中之抗原之方法，其使用如(1)至(12)中任一項記載之抗體、該抗體片段、融合抗體或該融合抗體片段、或者如(17)記載之組合物。

(21) 一種診斷或治療腦疾病之方法，其使用如(1)至(12)中任一項記載之抗體、該抗體片段、融合抗體或該融合抗體片段、或者如(17)記載之組合物。

(22) 一種使抗體、該抗體片段、融合抗體或該融合抗體片段之腦滯留性提高之方法，其使用如(1)至(12)中任一項記載之抗體、該抗體片段、融合抗體或該融合抗體片段、或者如(17)記載之組合物。

(23) 一種使腦內之抗體量、該抗體片段量、融合抗體量或該融合抗體片段量增加之方法，其使用如(1)至(12)中任一項記載之抗體、該抗體片段、融合抗體或該融合抗體片段、或者如(17)記載之組合物。

[發明之效果]

【0030】 本發明之CSPG5結合分子藉由與CSPG5特異性地結合而使結合分子本身之腦滯留性增加，不僅如此，用其他靶分子對CSPG5結合分子進行修飾，藉此使靶分子輸送至腦內並使之滯留，藉此可應用於腦疾病之治療。作為本發明之具體之CSPG5結合分子，可列舉抗體或該抗體片段。本發明之抗體或該抗體片段係藉由與腦內之CSPG5結合而具有腦滯留性之抗體或該抗體片段。因此，本發明之抗體或該抗體片段可用作存在於腦中之抗原(CSPG5、或CSPG5及存在於腦中之其他抗原)之檢測或測定用之組合物、腦疾病之診斷用之組合物、及用以治療腦疾病之醫藥組合物。

【圖式簡單說明】

【0031】

圖1(A)～(D)係對組織中之各抗體之濃度進行測定所得之結果。圖1(A)係表示投予抗體3天後之血清中之抗體濃度。縱軸表示抗體濃度

(ng/mL)，橫軸表示所投予之抗體。圖1(B)係表示投予抗體3天後之腦組織中之抗體濃度。縱軸表示抗體濃度(ng/g腦)，橫軸表示所投予之抗體。圖1(C)係表示投予抗體9天後之血清中之抗體濃度。縱軸表示抗體濃度(ng/mL)，橫軸表示所投予之抗體。圖1(D)係表示投予抗體9天後之腦組織中之抗體濃度。縱軸表示抗體濃度(ng/g腦)，橫軸表示所投予之抗體。

圖2(A)及(B)係對組織中之各抗體之濃度進行測定所得之結果。圖2(A)係表示投予抗體7天後之血清中之抗體濃度。縱軸表示抗體濃度(ng/mL)，橫軸表示所投予之抗體。圖2(B)係表示投予抗體7天後之腦組織中之抗體濃度。縱軸表示抗體溶出量(ng/g腦)，橫軸表示所投予之抗體。抗體濃度表示根據莫耳濃度，以單株抗體之分子量(150 kDa)換算所得之值。

圖3(A)～(D)係對組織中之各抗體之濃度進行測定所得之結果。圖3(A)及(C)係表示投予抗體7天後之血清中之抗體濃度。縱軸表示抗體濃度(ng/mL)，橫軸表示所投予之抗體。圖3(B)及(D)係表示投予抗體7天後之腦組織中之抗體濃度。縱軸表示抗體溶出量(ng/g腦)，橫軸表示所投予之抗體。抗體濃度表示根據莫耳濃度，以單株抗體之分子量(150 kDa)換算所得之值。

圖4(A)及(B)係各抗體之小鼠腦轉移性成像評價之結果。圖4(A)係表示投予抗體9天後之腦成像圖像。圖4(B)係表示腦中螢光量經投予抗體之螢光強度修正所得之值之相對於抗AVM抗體之比。縱軸表示相對於抗AVM抗體之比，橫軸表示所投予之抗體。

圖5係CSPG5202 scFv-hG4PE (R409K)、CSPG5219 scFv-hG4PE (R409K)、CSPG5234 scFv-hG4PE (R409K)於hCSPG5/L929 # 09中之內

化分析之結果。橫軸表示抗體濃度(ng/mL)，縱軸表示細胞之活力(%)。虛線之曲線表示作為陰性對照之抗AVM抗體，實線之曲線表示樣本。黑色三角形標記(▲)表示CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)之資料，菱形標記(◇)表示CSPG5219 scFv-hG4PE(R409K)之資料，黑色四邊形標記(■)表示CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)之資料。

圖6係表示CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5219 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)於IMR-32中之內化分析之結果。橫軸表示抗體濃度(ng/mL)，縱軸表示細胞之活力(%)。虛線之曲線表示作為陰性對照之抗AVM抗體，實線之曲線表示樣本。黑色三角形標記(▲)表示CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)之資料，菱形標記(◇)表示CSPG5219 scFv-hG4PE(R409K)之資料，黑色四邊形標記(■)表示CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)之資料。

【實施方式】

【0032】 本發明係關於一種與CSPG5結合之抗原結合分子。更具體而言，本發明係關於一種與CSPG5結合之抗體或該抗體片段。

【0033】 作為本發明之CSPG5結合分子，只要為與CSPG5特異性地結合且該分子會滯留於腦內之分子即可，可任意分子形態，可為蛋白質、核酸、有機合成之低分子化合物/高分子化合物等中之任一種分子。具體而言，可為重組白質或抗體、適體、藉由低分子篩選所獲得之低分子化合物等中之任一者，較佳為列舉抗體及該抗體片段。CSPG5結合分子較佳為與CSPG5之細胞外區域結合之分子。

【0034】 CSPG5係跨膜型硫酸軟骨蛋白多醣。例如，包含訊息序列之人類CSPG5之全長包含539個胺基酸，主要存在於中樞神經系統組織

中，且於中樞神經組織之產生過程中之小腦 γ -胺基丁酸功能性突觸之成熟及分子間相互作用等方面發揮作用。

【0035】 本發明之CSPG5結合分子所結合之CSPG5之動物種類可列舉：小鼠、大鼠、食蟹獼猴及/或人類等，但並不特別地限定於該等種類，可視抗體之用途而選擇適當之動物種類。例如於將本發明之抗體用於人類之醫藥用途之情形時，該抗體較佳為至少與人類CSPG5結合之抗體。

【0036】 於本發明中，作為人類CSPG5，可列舉：包含序列編號160所記載之胺基酸序列或NCBI登錄號NP_006565.2之胺基酸序列之多肽；包含於序列編號160所記載之胺基酸序列或NCBI登錄號NP_006565.2之胺基酸序列中缺失、置換或附加1個以上之胺基酸而成之胺基酸序列，且具有人類CSPG5之功能的多肽；或者包含與序列編號160所記載之胺基酸序列或NCBI登錄號NP_006565.2之胺基酸序列具有60%以上、較佳為80%以上、進而較佳為90%以上、最佳為95%以上之同源性的胺基酸序列，且具有人類CSPG5之功能的多肽等。

【0037】 關於具有於序列編號160所記載之胺基酸序列或NCBI登錄號NP_006565.2所示之胺基酸序列中缺失、置換或附加1個以上之胺基酸而成之胺基酸序列的多肽，可藉由使用定點突變導入法[Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987-1997)、Nucleic acids Research, 10, 6487 (1982)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 6409 (1982)、Gene, 34, 315 (1985)、Nucleic Acids Research, 13, 4431 (1985)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA,

82, 488 (1985)]等，對例如編碼包含序列編號160之胺基酸序列之多肽的DNA導入定點突變而獲得。

【0038】 缺失、置換或附加之胺基酸之數量並無特別限定，較佳為1個～數十個、例如1～20個，更佳為1個～數個、例如1～5個胺基酸。

【0039】 小鼠CSPG5之胺基酸序列[序列編號162或NCBI登錄號NP_038912.3]、及食蟹獼猴CSPG5之胺基酸序列[序列編號164或NCBI登錄號AFE76329.1]亦同樣如此。

【0040】 於本發明中，作為編碼人類CSPG5之基因，可列舉：序列編號159所記載之鹼基序列或NCBI登錄號NM_006574.3之鹼基序列。於本發明中編碼CSPG5之基因亦包括：包含編碼如下多肽之DNA之基因，該多肽包含於序列編號159所記載之鹼基序列或NCBI登錄號NM_006574.3之鹼基序列中缺失、置換或附加1個以上之鹼基而成之鹼基序列，且具有CSPG5之功能；包含編碼如下多肽之DNA之基因，該多肽包含與序列編號159所記載之鹼基序列或NCBI登錄號NM_006574.3之鹼基序列具有至少60%以上之同源性的鹼基序列、較佳為具有80%以上之同源性之鹼基序列、進而較佳為具有95%以上之同源性之鹼基序列，且具有CSPG5之功能之多肽之DNA的基因；或者編碼如下多肽之基因，該多肽包含與包含序列編號159所記載之鹼基序列或NCBI登錄號NM_006574.3之鹼基序列之DNA在嚴格條件下進行雜交之DNA，且具有CSPG5之功能；等。

【0041】 作為在嚴格條件下進行雜交之DNA係指藉由如下方法所獲得之能夠進行雜交之DNA：將包含序列編號159所記載之鹼基序列或NCBI登錄號NM_006574.3之鹼基序列的DNA用於探針之菌落雜交法、噬

菌斑雜交法、南方墨點雜交法或DNA微陣列法等。

【0042】 具體而言，可列舉：使用固定有源自經雜交之菌落或噬菌斑之DNA、或者具有該序列之PCR產物或寡DNA的過濾器或載玻片，於0.7~1.0 mol/L之氯化鈉之存在下，於65℃下進行雜交法[Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987-1997)、DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University, (1995)]後，使用0.1~2倍濃度之Saline Sodium Citrate(SSC)溶液(1倍濃度之SSC溶液之組成包含150 mmol/L氯化鈉、15 mmol/L檸檬酸鈉)，於65℃條件下將過濾器或載玻片洗淨，藉此能夠進行鑑定之DNA。

【0043】 作為能夠進行雜交之DNA，可列舉：與序列編號159所記載之鹼基序列或NCBI登錄號NM_006574.3之鹼基序列具有至少60%以上之同源性之DNA、較佳為具有80%以上之同源性之DNA、進而較佳為具有95%以上之同源性之DNA。

【0044】 小鼠CSPG5之鹼基序列[序列編號161或NCBI登錄號NM_013884.3]、及食蟹獼猴CSPG5之鹼基序列[序列編號163或NCBI登錄號XM_015131074.1]亦同樣如此。

【0045】 作為CSPG5之功能，可列舉：如上述般參與中樞神經組織之產生過程中之小腦γ-胺基丁酸功能性突觸的成熟及分子間相互作用等。

【0046】 關於編碼真核生物之蛋白質之基因之鹼基序列，經常可見基因之多態性。本發明中之編碼CSPG5之基因中亦包括本發明所使用之基因因此種多態性於鹼基序列中產生小規模突變而成之基因。

【0047】 關於本發明中之同源性之數值，除特別標明之情形以外，可為使用業者公知之同源性檢索程式所算出之數值，關於鹼基序列，可列舉：BLAST[J. Mol. Biol., 215, 403 (1990)]中使用預設之參數所算出之數值等，關於胺基酸序列，可列舉：於BLAST2[Nucleic Acids Res., 25, 3389 (1997)、Genome Res., 7, 649 (1997)、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Education/BLASTinfo/information3.html>]中使用預設之參數所算出之數值等。

【0048】 作為預設之參數，G(起始空位罰分(Cost to open gap))於鹼基序列之情形時為5，於胺基酸序列之情形時為11，-E(空位延伸罰分(Cost to extend gap))於鹼基序列之情形時為2，於胺基酸序列之情形時為1，-q(核苷酸錯配罰分(Penalty for nucleotide mismatch))為-3，-r(核苷酸匹配獎分(reward for nucleotide match))為1，-e(期望值(expect value))為10，-W(序列長度(wordsize))於鹼基序列之情形時為11個殘基，於胺基酸序列之情形時為3個殘基，-y[以位數表示之非空位延伸下降值(Dropoff(X) for blast extensions in bits)]於blastn之情形時為20，於blastn以外之程式中為7，-X(以位數表示之空位比對下降值(X dropoff value for gapped alignment in bits))為15，且-Z(以位數表示之最終空位比對下降值(final X dropoff value for gapped alignment in bits))於blastn之情形時為50，於blastn以外之程式中為25 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/html/blastcgihelp.html>)。

【0049】 包含上述各種CSPG5之胺基酸序列之部分序列之多肽可藉由業者公知之方法進行製作。具體而言，可藉由如下方式進行製作：使編碼上述各種CSPG5之胺基酸序列之DNA之一部分缺失，導入包含其之表

現載體而獲得轉形體，將該轉形體進行培養。又，藉由與上述相同之方法，可獲得具有於各種CSPG5之胺基酸序列中缺失、置換或附加1個以上之胺基酸而成之胺基酸序列的多肽。

【0050】 進而，包含各種CSPG5之胺基酸序列之多肽、或具有於各種CSPG5之胺基酸序列中缺失、置換或附加1個以上之胺基酸而成之胺基酸序列之多肽亦可藉由苄基甲氧基羰基(Fmoc)法、第三丁氧羰基(tBoc)法等化學合成法而進行製造。

【0051】 於本發明中，人類CSPG5之細胞外區域係指於序列編號160或NCBI登錄號NP_006565.2所記載之胺基酸序列中自第31號至第423號之胺基酸序列。

【0052】 小鼠CSPG5之細胞外區域係指於序列編號162或NCBI登錄號NP_038912.3所記載之胺基酸序列中自第31號至第423號之胺基酸序列。

【0053】 食蟹獼猴CSPG5之細胞外區域係指於序列編號164或NCBI登錄號AFE76329.1所記載之胺基酸序列中自第31號至第414號之胺基酸序列。

【0054】 關於本發明之抗體與CSPG5之細胞外區域結合之情況，可藉由使用酶聯結免疫吸附劑分析法(ELISA)、流式細胞儀或表面電漿子共振法等，對本發明之抗體對於CSPG5表現細胞或重組CSPG5蛋白之結合性進行測定而確認。又，亦可組合公知之免疫檢測法[Monoclonal Antibodies-Principles and practice, Third edition, Academic Press (1996)、Antibodies-A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)、單株抗體實驗指南、Kodansha Scientific(1987)]等而

進行確認。

【0055】 本發明之CSPG5結合分子係藉由與腦內之CSPG5特異性地結合而具有腦滯留性之分子，例如本發明之抗體係藉由與腦內之CSPG5結合而具有腦滯留性之抗體。又，本發明之抗體係於投予至動物之末梢時，自末梢透過腦之血腦障壁而向腦內轉移，與腦內之CSPG5結合，藉此具有腦滯留性之抗體。本發明之抗體較佳為腦滯留性優異之抗體、或腦滯留性已得到提高之抗體。

【0056】 於本發明中，所謂腦滯留性，係指將對象物投予至受驗動物時，該對象物滯留在腦內之性質。即，意指如下情況：由於選自向腦內之轉移之增加、向腦內之蓄積之增加、自腦內向腦外之轉移之降低、自腦內向腦外之排出之降低、及腦內分解之降低中之至少任一種情況，而該對象物之腦內濃度(或腦內量)增加；或者以能夠檢測到之程度存在一定濃度。

【0057】 本發明中，所謂腦滯留性優異、腦滯留性較高、或腦滯留性已得到提高係意指如下情況：將對象物投予至受驗動物時，與對照組相比，投予後經過相同天數後之該對象物之腦內濃度(或腦內量)增加；或者該對象物於腦內以能夠長期檢測到之程度(量)存在一定濃度。

【0058】 該等現象係因與對照組相比，該對象物向腦內之轉移之增加、向腦內之蓄積之增加、自腦內向腦外之轉移之降低、自腦內向腦外之排出之降低、及腦內分解之降低中之至少任一種情況而產生。

【0059】 本發明中，所謂腦滯留性優異、腦滯留性較高、或腦滯留性已得到提高，例如可列舉：將該對象物投予至受驗動物時，與對照組相比，投予後1～10天、較佳為投予後2～10天、3～10天、更佳為4～10天

之該對象物之腦內濃度(量)較高；或者該對象物之腦內濃度(或腦內量)之峰值出現在投予後第4天以後、較佳為投予後第5天以後、第6天以後、第7天以後、第8天以後、第9天以後、更佳為第10天以後等。

【0060】 腦滯留性優異之抗體、腦滯留性較高之抗體或腦滯留性已得到提高之抗體只要為與對照抗體相比，腦內之抗體濃度(抗體量)較高之抗體、或具備可長期存在於腦內之特徵之抗體，則可為任一種抗體。

【0061】 例如可列舉：具備與對照抗體相比，向腦內之轉移性及/或腦內蓄積性較高之特徵；自腦內向腦外之轉移性、排出性及/或腦內分解性較低之特徵；以及與自腦內向腦外之轉移性、排出性及/或腦內分解性相比，向腦內之轉移性及/或腦內蓄積性較高之特徵等之抗體。

【0062】 因此，作為本發明之抗體或該抗體片段，於將抗體或該抗體片段投予至動物之情形時，可列舉：與對照抗體相比，投予後經過相同天數後之腦內之抗體濃度(或抗體量)較高之抗體或該抗體片段、或者可長期存在於腦內之抗體或該抗體片段等。

【0063】 腦內之抗體濃度(或抗體量)之變化可為任何者，例如可列舉：於測定期間中腦內之抗體濃度暫時達到峰值後，抗體濃度慢慢地降低之情形；腦內之抗體濃度達到峰值後，持續維持該抗體濃度之情形；或者抗體投予後腦內之抗體濃度持續增加之情形等。

【0064】 作為本發明之抗體或該抗體片段，例如係指：於向小鼠投予後第3天或第9天，與對照抗體相比，腦內之抗體濃度或抗體量較高之抗體；於向小鼠投予後第3天至第9天之期間，腦內之抗體濃度或抗體量得到維持、或增加之抗體；或者於向小鼠投予後第9天以後，可明確地確認腦內之存在之抗體等，但並不限定於其等。

【0065】 作為對照抗體，只要為與受驗抗體同種或亞型之抗體，則可為任一種抗體，例如可使用抗阿巴汀(AVM)抗體等。

【0066】 於本發明中，作為腦內，例如可列舉：腦實質、腦室內、腦脊髓液中等，但並不限定於其等。

【0067】 於CSPG5之免疫組織化學染色中，例如關於神經纖維網、樹狀突起及神經纖維之類之神經元(神經細胞)及/或星形膠質細胞確認到染色(非專利文獻28、29及30)。因此，作為本發明之CSPG5結合分子之一態樣，可列舉：藉由特異性地與神經細胞及/或星形膠質細胞上之CSPG5結合而具有神經細胞及/或星形膠質細胞結合性，藉此具有腦滯留性之分子。作為本發明之抗體之一態樣，例如可列舉：藉由與神經細胞及/或星形膠質細胞上之CSPG5結合而具有神經細胞及/或星形膠質細胞結合性，藉此具有腦滯留性之抗體。

【0068】 於本發明中，作為將抗體投予至動物之方法，例如可列舉：靜脈投予、腦室內投予、腹腔內投予、皮下投予、皮內投予、經鼻投予、脊椎內投予等，但並不限定於該等方法。

【0069】 於本發明中，作為測定抗體之腦滯留性之方法，例如可列舉：將抗體投予至動物後，經過數天後回收腦組織，測定均質化並離心分離後之上清液中之抗體濃度，算出每單位腦重量之抗體量之方法；使用所回收之腦組織並使用公知之免疫學方法，對抗體之存在進行檢測之方法；或者將施加有標記之抗體投予至動物，利用體內成像系統經時性地檢測該抗體之存在之方法等。

【0070】 作為本發明之抗體，可列舉：選自由下述(a)～(s)所組成之群中之1個抗體。其等之中，就抗體之腦滯留性及內化能力之方面而

言，較佳為(e)之抗體。

(a) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號3、4及5所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號8、9及10所記載之胺基酸序列的抗體、

(b) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號13、14及15所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號18、19及20所記載之胺基酸序列的抗體、

(c) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號23、24及25所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號28、29及30所記載之胺基酸序列的抗體、

(d) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號33、34及35所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號38、39及40所記載之胺基酸序列的抗體、

(e) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號43、44及45所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號48、49及50所記載之胺基酸序列的抗體、

(f) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號53、54及55所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號58、59及60所記載之胺基酸序列的抗體、

(g) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號63、64及65所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號68、69及70所記載之胺基酸序列的抗體、

(h) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號73、74及75所記

載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號78、79及80所記載之胺基酸序列的抗體、

(i) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號83、84及85所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號88、89及90所記載之胺基酸序列的抗體、

(j) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號93、94及95所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號98、99及100所記載之胺基酸序列的抗體、

(k) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號103、104及105所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號108、109及110所記載之胺基酸序列的抗體、

(l) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號113、114及115所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號118、119及120所記載之胺基酸序列的抗體、

(m) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號123、124及125所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號128、129及130所記載之胺基酸序列的抗體、

(n) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號133、134及135所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號138、139及140所記載之胺基酸序列的抗體、

(o) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號143、144及145所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號148、149及150所記載之胺基酸序列的抗體、

(p) 與上述(a)～(o)所記載之至少1個抗體就向CSPG5結合作競爭之抗體、

(q) 與包含上述(a)～(o)所記載之任一個抗體所結合之表位之表位結合的抗體、

(r) 與和上述(a)～(o)所記載之任一個抗體所結合之表位相同之表位結合的抗體、

(s) 包含與上述(a)～(o)所記載之任一個抗體之胺基酸序列具有85%以上之同源性之胺基酸序列的抗體。

【0071】 作為本發明之抗體，包含具有相對於上述(a)～(o)所記載之任一個抗體之VH之CDR1～3及VL之CDR1～3之胺基酸序列，分別顯示出85%以上、較佳為90%以上之同源性之抗體之VH之CDR1～3及VL之CDR1～3之胺基酸序列的抗體。作為90%以上之同源性，更佳為可列舉：91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%及99%之同源性等。

【0072】 於本發明中，作為上述(a)～(o)所記載之抗體之一態樣，分別可列舉：作為人類抗CSPG5單株抗體之CSPG5115抗體、CSPG5120抗體、CSPG5168抗體、CSPG5201抗體、CSPG5202抗體、CSPG5205抗體、CSPG5206抗體、CSPG5207抗體、CSPG5208抗體、CSPG5214抗體、CSPG5219抗體、CSPG5222抗體、CSPG5227抗體、CSPG5230抗體、CSPG5234抗體等。就抗體之腦滯留性及內化能力之方面而言，其等之中，較佳為CSPG5202抗體。

【0073】 本發明中所謂上述(p)之抗體，係指將上述(a)～(o)所記載之任一個抗體作為第1抗體時，會阻礙該第1抗體與CSPG5之結合之第2抗體。

【0074】 本發明中所謂上述(q)之抗體，係指於將上述(a)～(o)所記載之任一個抗體作為第1抗體、及將第1抗體所結合之表位作為第1表位之情形時，與包含該第1表位之第2表位結合之第2抗體。

【0075】 又，本發明之所謂上述(r)之抗體，係指於將上述(a)～(o)所記載之任一個抗體作為第1抗體、及將第1抗體所結合之表位作為第1表位之情形時，與該第1表位結合之第2抗體。

【0076】 又，作為本發明之抗體，具體而言，亦可列舉：選自由下述(A)～(P)所組成之群中之1個抗體。就抗體之腦滯留性及內化能力之方面而言，其等之中，較佳為(E)之抗體。

(A) VH之胺基酸序列包含序列編號2所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號7所記載之胺基酸序列的抗體、

(B) VH之胺基酸序列包含序列編號12所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號17所記載之胺基酸序列的抗體、

(C) VH之胺基酸序列包含序列編號22所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號27所記載之胺基酸序列的抗體、

(D) VH之胺基酸序列包含序列編號32所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號37所記載之胺基酸序列的抗體、

(E) VH之胺基酸序列包含序列編號42所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號47所記載之胺基酸序列的抗體、

(F) VH之胺基酸序列包含序列編號52所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號57所記載之胺基酸序列的抗體、

(G) VH之胺基酸序列包含序列編號62所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號67所記載之胺基酸序列的抗體、

(H) VH之胺基酸序列包含序列編號72所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號77所記載之胺基酸序列的抗體、

(I) VH之胺基酸序列包含序列編號82所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號87所記載之胺基酸序列的抗體、

(J) VH之胺基酸序列包含序列編號92所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號97所記載之胺基酸序列的抗體、

(K) VH之胺基酸序列包含序列編號102所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號107所記載之胺基酸序列的抗體、

(L) VH之胺基酸序列包含序列編號112所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號117所記載之胺基酸序列的抗體、

(M) VH之胺基酸序列包含序列編號122所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號127所記載之胺基酸序列的抗體、

(N) VH之胺基酸序列包含序列編號132所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號137所記載之胺基酸序列的抗體、

(O) VH之胺基酸序列包含序列編號142所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號147所記載之胺基酸序列的抗體、

(P) 包含與上述(A)～(O)所記載之任一個抗體之胺基酸序列具有85%以上之同源性之胺基酸序列的抗體。

【0077】 作為本發明之抗體，包含具有相對於上述(A)～(O)所記載之任一個抗體之VH及VL之胺基酸序列，分別顯示出85%以上、較佳為90%以上之同源性之抗體之VH及VL之胺基酸序列的抗體。作為90%以上之同源性，更佳為可列舉：91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%及99%之同源性等。

【0078】 於本發明中，作為上述(A)～(O)所記載之抗體之一態樣，分別可列舉：作為人類抗CSPG5單株抗體之CSPG5115抗體、CSPG5120抗體、CSPG5168抗體、CSPG5201抗體、CSPG5202抗體、CSPG5205抗體、CSPG5206抗體、CSPG5207抗體、CSPG5208抗體、CSPG5214抗體、CSPG5219抗體、CSPG5222抗體、CSPG5227抗體、CSPG5230抗體、CSPG5234抗體等。就抗體之腦滯留性及內化能力之方面而言，其等之中，較佳為CSPG5202抗體。

【0079】 本發明中所謂EU索引，係指Sequences of Proteins of Immunological Interest第5版(1991)所示之胺基酸殘基之位置。以下所示之胺基酸殘基之位置於無特別記載之情形時，全部表示EU索引所記載之胺基酸殘基之位置。

【0080】 抗體分子亦稱為免疫球蛋白(Ig)，係其基本結構分別具有稱為重鏈(Heavy chain；H鏈)及輕鏈(Light chain；L鏈)之多肽各兩個之四聚物。

【0081】 又，分別為H鏈係自N末端側由H鏈可變區(亦記載為VH)、H鏈恆定區(亦記載為CH)之各區域所構成，L鏈係自N末端側由L鏈可變區(亦記載為VL)、L鏈恆定區(亦記載為CL)之各區域所構成。

【0082】 關於CH，各亞型均分別已知 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 鏈。CH係進而自N末端側由CH1區、鉸鏈區、CH2區、及CH3區之各區域所構成。

【0083】 所謂區域，係指抗體分子之構成各多肽之功能性結構單元。又，將CH2區與CH3區合併而稱為Fc(片段(Fragment)，可結晶(crystallizable))區域或僅稱為Fc。CL已知有 C_λ 鏈及 C_κ 鏈。

【0084】 CH為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 鏈之抗體之亞型分別指IgA、IgD、

IgE、IgG及IgM。關於各抗體之亞型，有視動物而存在同型者，關於人類，IgA存在IgA1及IgA2之同型，IgG存在IgG1、IgG2、IgG3及IgG4之同型。

【0085】 本發明中之CH1區、鉸鏈區、CH2區、CH3區及Fc區域可藉由EU索引，以自N末端開始之胺基酸殘基之編號進行特定。

【0086】 具體而言，分別將CH1特定為EU索引第118～215號之胺基酸序列，將鉸鏈特定為EU索引第216～230號之胺基酸序列，將CH2特定為EU索引第231～340號之胺基酸序列，將CH3特定為EU索引第341～447號之胺基酸序列，及將Fc區域特定為EU索引第231～447號之胺基酸序列。

【0087】 作為本發明之抗體，亦包含多株抗體、單株抗體及寡株抗體中之任一種抗體。所謂多株抗體，係指不同純系之抗體產生細胞所分泌之抗體分子之群。所謂單株抗體，係單一純系之抗體產生細胞所分泌之抗體，且係指僅識別一個表位(亦稱為抗原決定基)，且構成單株抗體之胺基酸序列(一級序列(primary sequence))均一之抗體。所謂寡株抗體，係指將複數個不同之單株抗體混合而成之抗體分子之群。

【0088】 作為本發明中之單株抗體，可列舉：由融合瘤產生之抗體、或由經包含抗體基因之表現載體轉形而成之轉形體產生之基因重組抗體。

【0089】 所謂表位，可列舉：單株抗體所識別、結合之單一胺基酸序列、包含胺基酸序列之立體結構、藉由轉譯後修飾而經修飾之胺基酸序列及包含該胺基酸序列之立體結構等。

【0090】 作為藉由轉譯後修飾而經修飾之胺基酸序列，可列舉：糖

鏈與具有OH取代基之Tyr及Ser結合而成之O結合型糖鏈、糖鏈與具有NH₂取代基之Gln及Asn結合而成之N結合型糖鏈、以及鏈結有硫酸分子鏈結至具有OH取代基之Tyr及Ser之硫酸基等而成之胺基酸序列。

【0091】 本發明之抗體所結合之CSPG5之表位可藉由如下方式確定：使用使CSPG5之一部分區域缺失所得之缺失體、將CSPG5之一部分區域置換為源自其他蛋白質之區域之突變體、及CSPG5之部分肽片段等而進行抗體之結合實驗。又，亦可使用上述缺失體或突變體之表現細胞而進行抗體之結合實驗。

【0092】 或者，本發明之抗體所結合之CSPG5之表位亦可藉由如下方式確定：將本發明之抗體添加至經蛋白分解酵素消化之CSPG5之肽片段，使用現有之質譜法進行表位定位(epitope mapping)。

【0093】 作為本發明之抗體，亦包含：藉由基因重組技術所製作之小鼠抗體、大鼠抗體、倉鼠抗體、兔抗體、駱馬抗體、駱駝抗體、羊駝抗體、嵌合抗體、人類化抗體(亦稱為「CDR移植抗體」)、人類抗體等基因重組抗體。

【0094】 本發明中所謂嵌合抗體，係指源自VH及VL、與CH及CL不同之動物種類之抗體。包含人類以外之動物(非人類動物)之抗體之VH及VL、與人類抗體之CH及CL之抗體係指人類型嵌合抗體，包含小鼠以外之動物之抗體之VH及VL、與小鼠抗體之CH及CL之抗體係指小鼠型嵌合抗體，其他嵌合抗體亦以相同之方法命名。

【0095】 作為非人類動物，只要為小鼠、大鼠、倉鼠、兔、駱馬、駱駝、羊駝等可製作融合瘤、或可製作抗體噬菌體庫之動物，則可使用任何動物。

【0096】 所謂融合瘤，係指使源自小鼠等之骨髓瘤細胞、與用抗原免疫非人類動物所取得之B細胞進行細胞融合而獲得的產生具有所需抗原特異性之單株抗體之細胞。

【0097】 抗體噬菌體庫係指將免疫球蛋白可變區之基因選殖至噬菌體，於其表面使抗原結合分子表現而製作之庫。所使用之噬菌體可列舉M13噬菌體等，但並不特別限定於此。

【0098】 噬菌體所呈現之抗原結合分子可為任何形態，較佳為scFv、Fab、VHH等抗體片段。

【0099】 本發明中，抗體噬菌體庫亦可為免疫庫、天然庫及合成庫中之任一種庫。

【0100】 免疫庫係指基於源自經抗原免疫之動物、或患者之淋巴細胞之抗體基因所構建的抗體噬菌體庫。天然庫係指基於源自正常動物或健康人之淋巴細胞之抗體基因所構建的抗體噬菌體庫。合成庫係指基因組DNA中之V基因或重組之功能性V基因之CDR經編碼適當長度的無規胺基酸序列之寡核苷酸置換之庫。

【0101】 於以下記載人類型嵌合抗體之製作方法作為嵌合抗體之製作方法。關於其他嵌合抗體，亦可利用相同之方法製作。

【0102】 人類型嵌合抗體可藉由如下方式表現而製造：自產生單株抗體之源自非人類動物細胞之融合瘤取得編碼VH及VL之cDNA，分別插入至具有編碼人類抗體之CH及CL之DNA的動物細胞用表現載體中而構建人類型嵌合抗體表現載體，將之導入至動物細胞。

【0103】 又，亦可藉由如下方式表現而製造：自源自非人類動物之抗體噬菌體庫選殖編碼VH及VL之基因，分別插入至具有編碼人類抗體之

CH及CL之DNA之動物細胞用表現載體中而構建人類型嵌合抗體表現載體，將之導入至動物細胞。

【0104】 所謂人類化抗體，係指將非人類動物抗體之VH及VL之CDR之胺基酸序列移植至人類抗體的VH及VL所對應之CDR所得之抗體。VH及VL之CDR以外之區域係稱為FR。

【0105】 人類化抗體可藉由如下方式表現而製造：構建編碼包含非人類動物抗體之VH之CDR之胺基酸序列、與任意之人類抗體的VH之FR之胺基酸序列的VH之胺基酸序列之cDNA、及編碼包含非人類動物抗體之VL之CDR之胺基酸序列、與任意之人類抗體之VL之FR之胺基酸序列的VL之胺基酸序列之cDNA，分別插入至具有編碼人類抗體之CH及CL之DNA之動物細胞用表現載體中而構建人類化抗體表現載體，將之導入至動物細胞。

【0106】 人類抗體本來係指天然地存在於人類體內之抗體，但亦包含自人類抗體噬菌體庫及人類抗體產生基因轉殖動物獲得之抗體等。

【0107】 人類抗體可藉由用所需抗原免疫保持人類免疫球蛋白基因之小鼠(Tomizuka K. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 97, 722-7, 2000.)而取得。又，可使用自源自人類之B細胞中擴增了抗體基因之噬菌體顯示庫，選擇具有所需結合活性之人類抗體，藉此不進行免疫而取得人類抗體(Winter G. et al., Annu Rev Immunol. 12:433-55. 1994)。

【0108】 進而，可使用EB病毒將人類B細胞進行永生化(immortalization)，藉此製作生產具有所需結合活性之人類抗體之細胞，而取得人類抗體(Rosen A. et al., Nature 267, 52-54. 1977)。

【0109】 人類抗體噬菌體庫係藉由將自人類(健康人或患者)之淋巴

細胞製備之抗體基因插入至噬菌體基因，而於表面表現Fab、scFv、及VHH等抗體片段之噬菌體之庫。可自該庫以對於固定有抗原之基質之結合活性作為指標，回收表現具有所需抗原結合活性之抗體片段之噬菌體。該抗體片段亦可進而藉由基因工程方法，而轉化為包含兩條完整之H鏈及兩條完整之L鏈之人類抗體分子。

【0110】 人類抗體產生基因轉殖動物係指人類抗體基因組入至宿主動物之染色體內之動物。具體而言，向小鼠ES細胞導入人類抗體基因，將該ES細胞向其他小鼠之早期胚移植後使之發育，藉此可製作人類抗體產生基因轉殖動物。

【0111】 自人類抗體產生基因轉殖動物製作人類抗體可藉由如下方式進行：藉由通常之於人類以外之哺乳動物中進行之融合瘤製作方法獲得人類抗體產生融合瘤，加以培養使人類抗體於培養物中產生並蓄積，自該培養物純化出抗體。

【0112】 本發明之抗體包含僅由重鏈構成之重鏈抗體。重鏈抗體係指自駱馬、駱駝、羊駝等駱駝科動物取得之抗體、或基於該抗體所製作之基因重組抗體。

【0113】 本發明中，抗體片段係指抗體之片段，且具有抗原結合活性者。例如可列舉：Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、雙功能抗體(diabody)、dsFv、包含複數個CDR之肽、及VHH等。又，本發明之抗體片段中，只要為於該抗體片段融合有抗體之恆定區或Fc之全長或一部分之抗體片段、包含恆定區或Fc之抗體片段等包含抗體之部分片段且具有CSPG5結合活性者，則包含任意抗體片段。

【0114】 Fab係利用蛋白分解酵素木瓜酶對IgG抗體進行處理所獲得

之片段中(在H鏈之第224號之胺基酸殘基被切斷)，H鏈之N末端側約一半與L鏈整體以雙硫鍵(S-S鍵)結合之分子量約5萬之具有抗原結合活性的抗體片段。

【0115】 F(ab')₂係利用蛋白分解酵素hepsin對IgG進行處理所獲得之片段中(在H鏈之第234號之胺基酸殘基被切斷)，較經由鉸鏈區之S-S鍵而結合有Fab者稍大，分子量約10萬之具有抗原結合活性的抗體片段。

【0116】 Fab'係上述F(ab')₂之鉸鏈區之S-S鍵被切斷之分子量約5萬之具有抗原結合活性的抗體片段。

【0117】 scFv係使用包含4個Gly及1個Ser殘基之連接子(G4S)任意個數相連而成之連接子肽等適當之肽連接子(P)將1條VH與1條VL連結而成的VH-P-VL或VL-P-VH多肽，且係具有抗原結合活性之抗體片段。

【0118】 雙功能抗體係抗原結合特異性相同或不同之scFv形成了二聚體之抗體片段，且係具有對於相同抗原之2價之抗原結合活性或對於不同抗原之特異性抗原結合活性之抗體片段。

【0119】 dsFv係使將VH及VL中之各1個胺基酸殘基置換為半胱胺酸殘基而成之多肽經由該半胱胺酸殘基間之S-S鍵進行結合而成者，且係具有抗原結合活性之抗體片段。

【0120】 包含CDR之肽係包含VH或VL之CDR之至少1個區域以上而構成者，且係具有抗原結合活性之抗體片段。包含複數個CDR之肽可使CDR彼此直接結合或經由適當之肽連接子結合。作為本發明之包含CDR之肽，較佳為列舉包含源自本發明之抗體之6個CDR之肽。

【0121】 該包含CDR之肽可藉由如下方式製造：構建編碼本發明之抗體之VH及VL之CDR的DNA，將該DNA插入至原核生物用表現載體或

真核生物用表現載體，並將該表現載體導入至原核生物或真核生物使之表現。又，該包含CDR之肽亦可藉由Fmoc法、或tBoc法等化學合成法進行製造。

【0122】 VHH係重鏈抗體之可變區，亦稱為奈米抗體(nanobody)。本發明之抗體片段只要為包含上述任一種抗體片段或該部分片段且具有CSPG5結合活性之抗體片段，則包含任一者。

【0123】 本發明中，將具有一個抗原結合部位之抗體或該抗體片段稱為單價抗體。作為單價抗體之型式(format)，可列舉：國際公開第2014/054804號、國際公開第2011/090754號、國際公開第2007/048037號、及國際公開第2012/116927號等所記載之具有一個抗原結合部位之抗體或該抗體片段之型式等。

【0124】 本發明中，將與3個以上之不同抗原或表位結合之1分子之抗體或該抗體片段稱為多特異性抗體。又，本發明中，將與2個不同之抗原或表位結合之1分子之抗體或該抗體片段稱為雙特異性抗體。

【0125】 作為多特異性抗體或雙特異性抗體之型式，可列舉：國際公開第2009/131239號、國際公開第2014/054804號、國際公開第01/077342號、美國專利申請公開2007/0071675號說明書、國際公開2007/024715號、Wu et al., [Nature Biotechnology, 2007, 25 (11), p.1290-1297]、Labrijn et al., [PNAS 2013, vol.110, no.13, p5145-5150]、Jong et al., [<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1002344>]、Kontermann et al., [mAbs 2012, vol.4, issue2, p182-197]、Spiess et al., [Molecular Immunology 67 (2015) 95-106]、Ridgway et al., [Protein engineering, 1996 vol.9 no.7 pp617-621]、國際公開第2009/080251號、

國際公開第2010/151792號及國際公開第2014/033074號等所記載之型式等。

【0126】 作為雙特異性抗體，具體而言，可列舉以下所記載之雙特異性抗體等。

(1) 抗體之兩個重鏈中，對一個重鏈(重鏈A)之CH3加以S354C/T366W之胺基酸修飾，對另一個重鏈(重鏈B)之CH3加以Y349C/T366S/L368A/Y407V之胺基酸修飾而成之雙特異性抗體。

(2) 於抗體之C末端融合有抗體片段之雙特異性抗體。

(3) 於抗體之N末端融合有抗體片段之雙特異性抗體。

【0127】 上述(1)所記載之雙特異性抗體可為包含重鏈A之VH之抗原結合部位與CSPG5結合，包含重鏈B之VH之抗原結合部位與存在於腦中之抗原結合的雙特異性抗體，亦可相反。

【0128】 作為上述(2)所記載之雙特異性抗體，例如可列舉：於構成抗體之兩個重鏈之一者之C末端結合有抗體片段之雙特異性抗體、於構成抗體之兩個重鏈之兩者之C末端結合有抗體片段之雙特異性抗體、於構成抗體之兩個輕鏈之一者之C末端結合有抗體片段之雙特異性抗體、於構成抗體之兩個輕鏈之兩者之C末端結合有抗體片段之雙特異性抗體、於構成抗體之兩個輕鏈之C末端及兩個重鏈之C末端均結合有抗體片段之雙特異性抗體等。再者，亦可於抗體之C末端及抗體片段之間存在適當之連接子。

【0129】 上述(2)所記載之雙特異性抗體所具有之抗體片段較佳為scFv、Fab及VHH等，但並不特別限定於其等。

【0130】 上述(2)所記載之雙特異性抗體可為N末端之抗原結合部位

與CSPG5結合，C末端之抗原結合部位與存在於腦中之抗原結合的雙特異性抗體，亦可相反。

【0131】 上述(3)所記載之雙特異性抗體係指於構成抗體之兩個重鏈或輕鏈之至少任一個之N末端結合有抗體片段之雙特異性抗體。又，亦可於抗體之重鏈及/或輕鏈之N末端與抗體片段之間存在適當之連接子。上述(3)所記載之雙特異性抗體所具有之抗體片段較佳為scFv、Fab及VHH等，但並不特別限定於其等。

【0132】 又，作為上述(3)所記載之雙特異性抗體，可列舉：自重鏈之N末端開始具有VH₁-CH1-VH₂-CH1-鉸鏈-CH2-CH3之結構之雙特異性抗體；及具有上述重鏈結構，且VH₁與VH₂分別與VL形成抗原結合部位之雙特異性抗體等。VH₁及VH₂形成抗原結合部位之VL可為相同之胺基酸序列，亦可為不同之胺基酸序列。

【0133】 本發明中，多特異性抗體或雙特異性抗體只要為與CSPG5結合之多特異性抗體及雙特異性抗體，則可為任何抗體。其中，較佳為與CSPG5及存在於腦中之抗原結合之多特異性抗體或雙特異性抗體，更佳為包含與CSPG5結合之抗原結合部位、及與存在於腦中之抗原結合之抗原結合部位的多特異性抗體或雙特異性抗體。

【0134】 本發明中，所謂存在於腦中之抗原，可列舉：蛋白質、糖鏈、及脂質等，其中，較佳為蛋白質。

【0135】 作為存在於腦中之蛋白質，例如可列舉：普里昂蛋白(Prion)、5T4、AFP、ADAM10、ADAM12、ADAM17、AFP、AXL、BCAM、BSG、C5、C5R、CA9、CA72-4、CADM3、CCL11、CCL2、CCR1、CCR4、CCR5、CCR6、CD2、CD3E、CD4、CD5、CD6、

CD8、CD11、CD18、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD29、
CD30、CD32B、CD33、CD37、CD38、CD40、CD40LG、CD44、
CD47、CD52、CD55SC1、CD56、CD66E、CD71、CD72、CD74、
CD79a、CD79b、CD80、CD86、CD95、CD98、CD137、CD147、
CD138、CD168、CD200、CD248、CD254、CD257、CDH2、CDH3、
CEA、CEACAM1、CEACAM5、CEACAM6、CEACAM8、緊密連接蛋
白(Claudin)3、緊密連接蛋白(Claudin)4、CSF-1、CSF2RA、CSPG-4、
CSPG5、CTLA4、CRF-1、Cripto、CXCR4、CXCR5、DJ-1、DLL4、
DR4、DR5、ED-B、EFNA2、EGFR、EGFRvIII、ETBR、ENPP3、
EPCAM、EphA2、EphA4、EPOR、ERBB2、ERBB3、ERBB4、
FAP α 、FAS、Fc γ RI、FCER2、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、
FLT1、FOLH1、FOLR1、GDF2、GFR、GLP1R、磷脂醯肌醇蛋白聚糖
(glypican)-3、GPNMB、GRP78、HAPLN4、HB-EGF、HGF、HLA-
DR β 、HMGB1、ICAM1、ICAM5、IFNA1、IFNB、IgE、IgE-Fc、
IGF1R、IL10、IL12B、IL13、IL15、IL17A、IL1A、IL1B、IL2RA、
IL4、IL5、IL5RA、IL6、IL6R、IL9、IL2R α 、IL2R β 、IL2R γ 、INSR、
ITGA2、ITGA2B2、ITGB3、ITGA4、ITGB7、ITGA5、ITGAL、
ITGAV、ITGB3、ITGB2、KDR、L1CAM、LAG3、LRP3、間皮素
(mesothelin)、MAG、MMP14、MMP15、MOG、MST1R、MSTN、
MUC1、MUC4、MUC16、MUC5AC、肌肉抑制素(myostatin)、
NECTIN4、NCAN、NGF、NMDAR、NOTCH、NRG1、NRP、OX40、
OX40L、P2Y6、PAR1、PDGFA、PDGFB、PDGFRA、PDGFRB、
PD1、PDL1、PLP1、PSCA、PTPRZ、RET、RGMA、SLAMF7、

SLC44A4、TAG-72、TCR、TGFB1、TGFB2、TGFB3、TIMP2、TLR9、TNF、TNFR、TNFRSF10A、TNFRSF10B、TNFRSF12A、TNFSF13、TNFSF14、TNFSF2、TNFSF7、TREM2、TRAILR2、TRKA、TRKB、TRKC、轉鐵蛋白(Transferrin)、VEGF、VEGFR、VLA-4、CGRP、 α -突觸核蛋白(alpha-synuclein)、TDP-43、Tau、FUS、 β -澱粉樣蛋白(Amyloid-beta)(A β)、APP、BACE1、早老素(Presenilin)、LINGO-1、Nogo、Troy、polyQ、雄激素受體(androgen receptor)、杭丁頓[氏]蛋白(huntingtin)、ataxin 1、ataxin 2、Phospho-Tau、或Phospho-alpha-synuclein等，但並不限定於該等蛋白質。

【0136】作為存在於腦中之糖鏈，例如可列舉：Lewis-x、Lewis-y、或CD15等，但並不限定於該等糖鏈。

【0137】作為存在於腦中之脂質，例如可列舉：GD1a、GD2、GD3、GM1、GM2、GM3或磷脂酰絲胺酸(Phosphatidylserine)等，但並不限定於該等脂質。

【0138】本發明之抗體或該抗體片段亦包括：包含經轉譯後修飾之任何胺基酸之抗體。作為轉譯後修飾，例如可列舉：H鏈之C末端中之離胺酸殘基之缺失[離胺酸·剪切(lysine clipping)]、及多肽之N末端中之麩醯胺殘基向麩胺(puroGlu)之轉化等[Beck et al, Analytical Chemistry, 85, 715-736(2013)]。

【0139】本發明之抗體或該抗體片段亦可進行Fc區域之胺基酸修飾。作為Fc區域之胺基酸修飾，例如可列舉：用以使抗體穩定、或用以控制血中半衰期之胺基酸修飾等。作為Fc區域之胺基酸修飾，具體而言，例如可列舉：國際公開第2006/033386號、國際公開第2006/075668號、國

際公開第2011/122011號、及國際公開第2009/125825號等。

【0140】 本發明之抗體或該抗體片段亦包括：藉由使所需分子與抗體或該抗體片段結合而經過修飾之融合抗體或該融合抗體片段。修飾抗體之方法並無特別限定，只要為可修飾所需之胺基酸殘基及糖鏈者，則可使用任一種方法。

【0141】 例如可列舉：應用化學反應之化學修飾[抗體工程入門，地人書館(1994)；Kolb et al., *Angew Chem Int Ed Engl.* 40. 2004-21, 2001]、利用應用基因重組技術將重組蛋白質表現載體導入至適當之宿主細胞中並使之表現的基因工程方法之修飾等。

本發明中，於對於抗體或該抗體片段藉由化學修飾對其他分子進行修飾之情形時，作為其修飾部位，可列舉抗體或抗體片段之恆定區，尤佳為C末端或S-S鍵結部位之Cys殘基。藉由基因工程方法，亦能夠將之後能夠化學修飾之殘基預先導入至抗體或抗體片段之任意位置。

又，於藉由基因工程方法而直接對其他分子進行修飾之情形時，作為其修飾部位，可列舉：抗體或抗體片段之輕鏈或重鏈之N末端或C末端。

【0142】 本發明中，作為修飾抗體或該抗體片段之分子，例如可列舉：親水性高分子、兩親媒性高分子、功能性分子等。

作為親水性高分子或兩親媒性高分子，例如可列舉：聚氧化烯(polyoxyalkylene)、包含多元醇或多醣之分子等。

【0143】 作為聚氧化烯，例如可列舉：包含直鏈或支鏈之聚乙二醇(polyethylene glycol；PEG)、聚丙二醇、聚丙烯乙二醇等。

【0144】 作為包含多元醇或多醣之分子，例如可列舉：直鏈澱粉、

葡聚糖、聚三葡萄糖、肝糖等葡萄糖聚合而成之直鏈或支鏈狀之多醣等。又，不限於均多醣，亦可為雜多醣類。

【0145】 包含親水性高分子或兩親媒性高分子之分子之分子量並無特別限定，較佳為100 Da以上，例如較佳為100 Da～100 kDa。

【0146】 作為功能性分子，例如可列舉：抗原結合分子、抗體結合分子之片段、藥物、生理活性肽、生理活性蛋白質、核酸、放射性標記化合物、糖鏈、脂質、螢光化合物等。經抗原結合分子等功能性分子修飾之結果為，具有二重特異性之分子係雙特異性抗體。

【0147】 作為抗原結合分子，例如可列舉：抗體、受體、及配位體等。

【0148】 作為抗原結合分子之片段，只要為上述抗原結合分子之片段且具有抗原結合活性者，則可為任何者。

【0149】 作為藥物，例如可列舉：烷基化劑、亞硝基脲劑、代謝拮抗劑、抗病毒劑、抗生素、植物鹼、拓撲異構酶抑制劑、微管蛋白聚合抑制劑、激素治療劑、激素拮抗劑、芳香酶抑制劑、P糖蛋白抑制劑、鉑錯合物衍生物、M期抑制劑或激酶抑制劑等抗癌劑[臨床腫瘤學，癌與化學療法社(1996)]、類固醇劑、非類固醇劑、免疫調節劑、免疫抑制劑、或抗組織胺劑等抗炎症劑[炎症與抗炎症療法，醫齒藥出版股份有限公司(1982)]等。

【0150】 更具體而言，例如可列舉：N2'-去乙醯基-N2'-(3-巰基-1-氧代丙基)美登素(Mertansine)、美坦辛(Emtansine)、阿密磷定(Amifostine)(Ethiol)、順鉑、達卡巴(DTIC)、放線菌素(Actinomycin)、二氯甲基二乙胺(氮芥)、鏈佐星(Streptozocin)、環磷醯胺、異環磷醯胺、

卡莫司汀(BCNU)、環己亞硝脲(Lomustine)(CCNU)、多柔比星(阿德里克素)、表柔比星、吉西他濱(鹽酸吉西他濱(Gemzar))、道諾紅菌素、甲基苄肼(Procarbazine)、絲裂黴素、阿糖胞苷、依託泊苷、5-氟尿嘧啶、氟尿嘧啶、長春花鹼、長春新鹼、博萊黴素、道諾黴素(Daunorubicin)、培洛黴素、雌莫司汀(estramustine)、紫杉醇(泰克索)、歐洲紫杉醇(剋癌易(Taxoteret))、阿地白介素(Aldesleukin)、門冬醯胺酶(Asparaginase)、白消安、卡鉑、奧沙利鉑、奈達帕汀、克拉屈濱、喜樹鹼、10-羥基-7-乙基-喜樹鹼(SN38)、氟尿苷(Floxuridine)、氟達拉濱、羥基脲、依達比星、美司納(Mesna)、伊立替康(CPT-11)、拓撲替康(Nogitecan)、米托蒽醌、托泊替康(Topotecan)、柳培林(leuprolide)、甲地孕酮(Megestrol)、美法侖、巯嘌呤、硫酸羥脲(Hydroxy carbamide)、光輝黴素(Plicamycin)、密妥坦(Mitotane)、培門冬酶(Pegaspargase)、噴司他丁、哌泊溴烷(Pipobroman)、鏈佐星(Streptozocin)、他莫昔芬、戈舍瑞林、亮丙瑞林(Leuporelin)、氟他胺、替尼泊甌、睪內脂(Testolactone)、硫鳥嘌呤(thioguanine)、噻替派、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)、長春瑞濱、氯芥苯丁酸(Chlorambucil)、氫化可體松、潑尼松龍、甲基潑尼松龍、長春地辛、尼莫司汀、司莫司汀(Semustine)、卡培他濱、拓優得(Tomudex)、阿紫胞苷(Azacitidine)、UFT、奧沙利鉑(Oxaloplatin)、吉米沙星(易瑞沙(Iressa))、伊馬替尼(STI571)、埃羅替尼、類FMS酪胺酸激酶(FMS-like tyrosine kinase 3)(Flt3)抑制劑、血管內皮生長因子受體(vascular endothelial growth factor receptor)(VEGFR)抑制劑、纖維母細胞生長因子受體(fibroblast growth factor receptor)(FGFR)抑制劑、特羅凱(Tarceva)等表皮生長因子受體(epidermal growth factor receptor)(EGFR)

抑制劑、根赤殼菌素(Radicicol)、17-烯丙基胺基-17-去甲氧基格爾德黴素、雷帕黴素(Rapamycin)、安吡啶(Amsacrine)、全反式視黃酸、沙利竇邁、來那度胺、阿那曲唑、法屈唑、來曲唑、依西美坦、布西拉明(bucillamine)、硫唑嘌呤、咪唑立賓、環孢靈、雷帕黴素(Rapamycin)、氫化可體松、蓓薩羅丁(Bexarotene)(貝沙羅汀(Targretin))、他莫昔芬、地塞米松、助孕素類、雌激素類、阿那曲唑(阿納托唑)、亮丙瑞林(Leupline)、阿司匹林、吲哚美辛、塞來昔布、硫唑嘌呤、青黴胺、硫代蘋果酸金、馬來酸氯苯那敏、馬來酸氯苯吡胺(Chlorphenamine)、氯雷他定、維生素A酸、砷、硼替佐米、別嘌呤醇(Allopurinol)、卡奇黴素(Calicheamicin)、替伊莫單抗(Ibritumomab Tiuxetan)、貝沙羅汀、Ozogamin、克拉黴素(Clarithromycin)、亞葉酸(leucovorine)、酮康唑(Ketoconazole)、氨魯米特(Aminoglutethimide)、蘇拉明(Suramin)、甲胺喋呤(Methotrexate)、美登木素生物鹼(Maytansinoid)等，亦可為其等之衍生物。

【0151】 作為使藥物與抗體或該抗體片段鍵結之方法，除上述方法以外，亦可列舉：經由戊二醛使藥物與抗體之胺基間鍵結之方法、或者經由水溶性碳二醯亞胺使藥物之胺基與抗體之羧基鍵結之方法等。

【0152】 作為生理活性肽或生理活性蛋白質，例如可列舉：干擾素(IFN)- α 、IFN- β 、IFN- γ 、介白素(IL)-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、IL-23、顆粒球群落刺激因子(G-CSF)、顆粒球/巨噬體菌落刺激因子(GM-CSF)、或巨噬體菌落刺激因子(M-CSF)等使NK細胞、巨噬體、或嗜中性球等免疫活性(適格)細胞活化的細胞激素或生長因子；水合酶、解離酶及異構酶等蛋白分解酵素；酸性神經磷脂酶、葡糖腦苷脂酶等酶；離胺酸、

白喉毒素、或ONTAK等細菌毒素及植物毒素等毒素；具有細胞膜傷害活性之抗菌肽、具有細胞膜結合性或細胞膜透過性之肽、及其等之衍生物等。

【0153】 作為核酸，只要為核苷酸或具有與該核苷酸同等功能之分子聚合而成之分子，則可為任何分子，例如可列舉：siRNA、microRNA、反義RNA、DNA適體等。

【0154】 作為放射性標記化合物，只要為診斷用或治療用用途所使用之核種即可，例如可列舉： ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{35}S 、 ^{51}Cr 、 ^{57}Co 、 ^{18}F 、 ^{153}Gd 、 ^{159}Gd 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ge 、 ^{166}Ho 、 ^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 、 ^{111}In 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{121}I 、 ^{140}La 、 ^{177}Lu 、 ^{54}Mn 、 ^{99}Mo 、 ^{103}Pd 、 ^{142}Pr 、 ^{149}Pm 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{211}At 、 ^{105}Rh 、 ^{97}Ru 、 ^{153}Sm 、 ^{47}Sc 、 ^{75}Se 、 ^{85}Sr 、 ^{99}Tc 、 ^{201}Ti 、 ^{113}Sn 、 ^{117}Sn 、 ^{133}Xe 、 ^{169}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{90}Y 及 ^{65}Zn 等，或包含上述核種之化合物。

【0155】 放射性標記化合物可藉由氯胺T法等而與抗體直接結合。又，亦可使抗體與使放射性標記化合物螯合之物質結合。作為螯合劑，例如可列舉：1,4,7,10-四氮雜環十二烷四乙酸(DOTA)、1-[2-(4-胺基苯基)乙基]-1,4,7,10-四氮雜環十二烷四乙酸(PA-DOTA)、1,4,7,10-四氮雜環十三烷四乙酸(TRITA)及二伸乙基三胺五乙酸(DTPA)等，於本發明之抗體中亦包含經螯合劑修飾之抗體、經由螯合劑標記了放射性標記化合物之修飾化抗體。

【0156】 作為糖鏈，例如可列舉：包含海藻糖、甘露糖、葡萄糖、阿洛糖、醛糖(aldose)、古洛糖(Gulose)、艾杜糖(idose)、半乳糖、塔羅糖、核糖、阿拉伯糖、木糖、來蘇糖、Eritosu、赤藻糖(erythrose)、蘇

糖、纖維雙糖、麥芽糖、異麥芽糖、乳糖、脂阿拉伯甘露聚糖(lipoarabinomannan)、路易斯X型三糖及唾液酸化路易斯X型四糖等之單糖、二糖類或寡醣等。又，亦可為包含作為免疫佐劑所知之糖鏈之天然物，可列舉： $\beta(1\rightarrow3)$ 葡聚糖(香菇多醣、西佐糖)、或 α -半乳糖基神經醯胺(KRN7000)等。

【0157】 作為脂質，例如可列舉：脂肪酸與各種醇之酯及作為其類似體之單純脂質(中性脂質)。例如可列舉：油脂(例如，三醯甘油)、蠟(例如，高級醇之脂肪酸酯)、固醇酯、膽固醇酯、維生素之脂肪酸酯等除脂肪酸與醇以外具有磷酸、糖、硫酸、胺等極性基之複合脂質、例如磷脂質(例如，甘油脂質及鞘磷脂等)及糖脂質(例如，甘油糖脂質及鞘糖脂等)；藉由單純脂質及複合脂質之水解而生成之化合物中，表示脂溶性之衍生脂質、例如脂肪酸、高級醇、脂溶性維生素、類固醇、烴等。

【0158】 作為螢光化合物，例如可列舉：螢光異硫氰酸鹽(FITC)等螢光素系列、異硫氰酸玫瑰紅(RITC)等玫瑰紅系列、Cy3、Cy5、曙紅系列、Alexa Fluor系列及NBD系列等螢光色素、吖啶鎘酯、或咯吩等發光物質以及綠色螢光蛋白質(GFP)等螢光性蛋白質等。

【0159】 本發明之抗體或該抗體片段可直接或經由適當之連接子與上述親水性高分子、兩親媒性高分子或功能性分子結合。作為連接子，例如可列舉：酯、二硫化物、胺及二肽等。

【0160】 於藉由基因工程方法修飾本發明之抗體或該抗體片段而製作融合抗體或融合抗體片段之情形時，使編碼蛋白質之cDNA與編碼抗體之cDNA連結，而構建編碼融合抗體或融合抗體片段之DNA，將該DNA插入至原核生物或真核生物用表現載體，將該表現載體導入至原核生物或

真核生物，使融合抗體或融合抗體片段表現，藉此可製作融合抗體或融合抗體片段。

【0161】 本發明之組合物只要為含有本發明之抗體或該抗體片段之組合物，則可為任何者。此種組合物除抗體或該抗體片段以外，亦可含有適當之載體、穩定劑等添加劑。

【0162】 作為本發明之組合物，例如可列舉：包含本發明之抗體或該抗體片段之檢測用或測定用之組合物等。作為本發明之組合物，例如可列舉：含有本發明之抗體或該抗體片段作為有效成分之醫藥組合物(治療劑)等，且與藥理學上可容許之載體一併製劑化成所需之劑型。

【0163】 本發明中，所謂檢測用或測定用之組合物，包含本發明之抗體或該抗體片段，只要為可檢測或測定本發明之抗體或該抗體片段所特異性地結合之抗原者，則可為任何組合物。作為本發明之抗體或該抗體片段所特異性地結合之抗原，可列舉：CSPG5、或者CSPG5及存在於腦中之抗原等。

【0164】 本發明之抗體或該抗體片段若投予至動物，則與腦內之CSPG5結合而具有滯留於腦中之性質。因此，藉由使用包含該抗體或該抗體片段之檢測用或測定用之組合物，能夠實現該抗體於腦內之維持、或腦內之抗體濃度之提高，而可持續長期檢測或測定CSPG5、或CSPG5及存在於腦中之抗原、及/或高感度地檢測或測定CSPG5、或CSPG5及存在於腦中之抗原。

【0165】 例如，檢測用或測定用之組合物為包含與CSPG5及存在於腦中之抗原結合之雙特異性抗體的組合物時，可長期檢測或測定該雙特異性抗體所結合之CSPG5及存在於腦中之抗原、及/或可高感度地檢測或測

定CSPG5及存在於腦中之抗原。

【0166】 又，例如，於檢測用或測定用之組合物為包含經放射性標記化合物或螢光色素標記之與CSPG5結合的融合抗體或該融合抗體片段之組合物時，可長期檢測或測定CSPG5、及/或可高感度地檢測或測定CSPG5。

【0167】 關於含有本發明之抗體或該抗體片段之醫藥組合物(治療劑)，只要為表現出本發明之抗體或該抗體片段所特異性地結合之抗原的疾病，則可為任一種疾病之治療劑，較佳為腦疾病之治療劑。

【0168】 作為腦疾病，例如可列舉：阿茲海默症、前驅期阿茲海默症、杭丁頓舞蹈症、帕金森症、腦腫瘤、多發性硬化症、肌肉失養症、肌萎縮性側索硬化症、多系統萎縮症、進行性核上性麻痺、黑質線狀體變性症、橄欖體腦橋小腦萎縮症、脊髓延髓肌肉萎縮症、脊髓小腦退化症、腦血管疾病、癲癇、偏頭痛、過動症、克-亞二氏症(Creutzfeldt-Jakob disease)、皮質基底核退化症(corticobasal degeneration)、溶酶體貯積症、抑鬱症、及肌肉緊張不足(Dystonia)等。

【0169】 本發明之抗體或該抗體片段若投予至動物，則與腦內之CSPG5結合，而具有滯留於腦中之性質。因此，藉由使用含有該抗體或該抗體片段之治療劑，能夠實現腦內之該抗體或該抗體片段之長期維持、及腦內之抗體濃度提昇，而可對於上述疾病顯示出治療效果。

【0170】 例如，於治療劑為含有本發明之抗CSPG5抗體之融合抗體之治療劑時，藉由使所融合之分子傳遞至腦內，可發揮基於該分子之治療效果。具體而言，於為含有使藥物或酶等融合於抗CSPG5抗體而成之融合抗體之治療劑時，可藉由藥物或酶而顯示治療效果，於為含有與

CSPG5及存在於腦中之抗原結合之雙特異性抗體的治療劑時，對於與該雙特異性抗體所結合之存在於腦中之抗原相關之腦疾病可顯示出治療效果。

【0171】 又，例如，於治療劑為經低分子藥劑修飾之與CSPG5結合之融合抗體或融合抗體片段時，該低分子藥劑可對於設為靶之腦疾病顯示出治療效果。此時，相較於將該低分子藥劑以單獨成分使用時，使用本發明之治療劑時之治療效果較高，故而較佳。

【0172】 含有本發明之抗體或該抗體片段之治療劑亦可為僅含有作為有效成分之該抗體或該抗體片段者，較理想為通常與藥理學上所容許之1個以上之載體一併混合，而以藉由製藥學之技術領域中所公知之任意方法而製造之醫藥製劑的形式提供。

【0173】 投予路徑較佳為使用治療時最具效果者，例如可列舉：經口投予、或者口腔內、呼吸道內、直腸內、皮下、皮內、肌內、腦室內、脊椎內、鼻腔內、腹腔內或靜脈內等非經口投予，尤佳為可列舉靜脈內或腦室內投予等。作為投予形態，例如可列舉：噴霧劑、膠囊劑、錠劑、散劑、顆粒劑、糖漿劑、乳劑、栓劑、注射劑、軟膏、或貼劑等。

【0174】 投予量或投予次數係根據設為目標之治療效果、投予方法、治療期間、年齡、及體重等而不同，通常成人每天為10 $\mu\text{g/kg}$ ~20 mg/kg 。

【0175】 又，本發明亦包含使用本發明之抗體或該抗體片段並使抗體滯留於腦內之方法、使抗體之腦滯留性提高之方法、及提高腦內之抗體濃度(或抗體量)之方法。

【0176】 又，本發明係關於與CSPG5結合之肽；包含編碼該肽之鹼

基序列之核酸；含有包含該核酸之載體之轉形細胞；包括培養該轉形細胞並自培養液採集上述肽的上述肽之製造方法；包含上述肽之組合物；或使用上述肽或上述組合物，檢測或測定存在於腦中之抗原之方法、診斷或治療腦疾病之方法、使肽之腦滯留性提高之方法、或使腦內之肽量增加之方法。

【0177】 本發明之肽包含肽經修飾而成之融合肽。

【0178】 關於與CSPG5結合之肽之各種用語的定義等只要沒有特別記載，則使用與關於上述與CSPG5結合之抗體所記載之用語的定義等相同者。

【0179】 以下，針對本發明之抗體或該抗體片段之製造方法、疾病之治療方法、及疾病之診斷方法等，具體地進行說明。

【0180】

1. 抗體之製造方法

(1) 抗原之製備

成為抗原之CSPG5或CSPG5表現細胞可藉由將包含編碼CSPG5全長或其部分長度之cDNA的表現載體導入至大腸桿菌、酵母、昆蟲細胞或動物細胞等中而獲得。又，CSPG5亦可藉由自大量地表現CSPG5之各種動物細胞株、動物細胞及動物組織等純化CSPG5而獲得。

【0181】 又，亦可將該等動物細胞株、動物細胞及動物組織等直接用作抗原。進而，亦可藉由Fmoc法或tBoc法等化學合成法製備具有CSPG5之部分序列之合成肽用於抗原。

【0182】 於CSPG5或具有CSPG5之部分序列之合成肽中，亦可於C末端或N末端附加FLAG或His等公知之標籤。

【0183】 本發明中所使用之CSPG5可使用Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)或Current Protocols In Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987-1997)等所記載之方法等，例如藉由以下之方法，使編碼CSPG5之DNA於宿主細胞中表現而進行製造。

【0184】 首先，將包含編碼CSPG5之部分之全長cDNA插入至適當之表現載體之啟動子之下游，藉此製作重組載體。亦可使用基於全長cDNA所製備之包含編碼多肽之部分之適當長度的DNA片段代替上述全長cDNA。繼而，將所獲得之該重組載體導入至適於該表現載體之宿主細胞，藉此可獲得生產多肽之轉形體。

【0185】 作為表現載體，只要為可實現於使用之宿主細胞中自主複製或向染色體中組入，且於可轉錄編碼多肽之DNA之位置含有適當之啟動子者，則可使用任一種。作為宿主細胞，只要為屬於大腸桿菌等艾氏菌屬等之微生物、酵母、昆蟲細胞或動物細胞等可表現目標之基因者，則可使用任一種。

【0186】 於使用大腸桿菌等原核生物作為宿主細胞之情形時，表現載體較佳為於原核生物中能夠自主複製，同時含有啟動子、核糖體結合序列、包含編碼人類CSPG5之部分之DNA、及轉錄終止序列的載體。又，對於該表現載體，轉錄終止序列並非必需，但較佳為於結構基因之正下方配置轉錄終止序列。進而，於該重組載體中亦可含有控制啟動子之基因。

【0187】 作為該表現載體，較佳為使用將作為核糖體結合序列之夏因-達爾加諾序列(Shine-Dalgarno sequence)(亦稱為SD序列)與起始密碼子之間調節為適當距離(例如6～18個鹼基)的質體。

【0188】 又，作為編碼CSPG5之DNA之鹼基序列，可以成為最適合宿主內之表現之密碼子之方式置換鹼基，藉此，可提高目標之CSPG5之生產率。

【0189】 作為表現載體，只要為能夠於所使用之宿主細胞中發揮功能者，則可使用任一種，例如可列舉：pBTrp2、pBTac1、pBTac2(以上為Roche-Diagnostics公司製造)、pKK233-2(Pharmacia公司製造)、pSE280(Invitrogen公司製造)、pGEMEX-1(Promega公司製造)、pQE-8(Qiagen公司製造)、pKYP10(日本專利特開昭58-110600號公報)、pKYP200[Agricultural Biological Chemistry, 48, 669 (1984)]、pLSA1[Agric. Biol. Chem., 53, 277 (1989)]、pGEL1[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 4306 (1985)]、pBluescript II SK(-)(Stratagene公司製造)、pTrs30[由大腸桿菌JM109/pTrS30(FERM BP-5407)製備]、pTrs32[由大腸桿菌JM109/pTrS32(FERM BP-5408)製備]、pGHA2[由大腸桿菌IGHA2(FERM BP-400)製備，日本專利特開昭60-221091號公報]、pGKA2[由大腸桿菌IGKA2(FERM BP-6798)製備，日本專利特開昭60-221091號公報]、pTerm2(美國專利第4,686,191號說明書、美國專利第4,939,094號說明書、美國專利第160,735號說明書)、pSupex、pUB110、pTP5、pC194、pEG400[J. Bacteriol., 172, 2392 (1990)]、pGEX(Pharmacia公司製造)、pET系統(Novagen公司製造)或pME18SFL3等。

【0190】 作為啟動子，只要為於所使用之宿主細胞中能夠發揮功能者，則可為任何者。例如可列舉：trp啟動子(Ptrp)、lac啟動子、PL啟動子、PR啟動子或T7啟動子等源自大腸桿菌或噬菌體等之啟動子。又，例

如可列舉：使2個Ptrp串聯而成之串聯啟動子、tac啟動子、lacT7啟動子或let I啟動子等經人工設計修飾之啟動子等。

【0191】 作為宿主細胞，例如可列舉：大腸桿菌XL1-Blue、大腸桿菌XL2-Blue、大腸桿菌DH1、大腸桿菌MC1000、大腸桿菌KY3276、大腸桿菌W1485、大腸桿菌JM109、大腸桿菌HB101、大腸桿菌No.49、大腸桿菌W3110、大腸桿菌NY49或大腸桿菌DH5 α 等。

【0192】 作為向宿主細胞導入重組載體之方法，只要為向所使用之宿主細胞導入DNA之方法，則可使用任一種方法，例如可列舉：使用鈣離子之方法[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 69, 2110 (1972)、Gene, 17, 107 (1982)、Molecular & General Genetics, 168, 111 (1979)]。

【0193】 於使用動物細胞作為宿主之情形時，作為表現載體，只要為於動物細胞中能夠發揮功能者，則可使用任一種，例如可列舉：pcDNAI、pCDM8(舟越公司製造)、pAGE107[日本專利特開平3-22979號公報；Cytotechnology, 3, 133 (1990)]、pAS3-3(日本專利特開平2-227075號公報)、pCDM8[Nature, 329, 840 (1987)]、pcDNAI/Amp(Invitrogen公司製造)、pcDNA3.1(Invitrogen公司製造)、pREP4(Invitrogen公司製造)、pAGE103[J. Biochemistry, 101, 1307 (1987)]、pAGE210、pME18SFL3、pKANTEX93(國際公開第97/10354號)、N5KG1val(美國專利第6,001,358號說明書)、INPEP4(Biogen-IDEC公司製造)、pCI(Promega公司製造)及Transposon vector(國際公開第2010/143698號)等。

【0194】 作為啟動子，只要為於動物細胞中能夠發揮功能者，則可使用任一種，例如可列舉：巨細胞病毒(CMV)之即刻早期(IE)基因之啟動

子、SV40之初期啟動子、反轉錄病毒之啟動子、金屬硫蛋白啟動子、熱休克啟動子、SR α 啟動子或來源於小鼠白血病病毒(Molony Murine Leukemia Virus)之啟動子或促進子。又，亦可將人類CMV之IE基因之促進子與啟動子一併使用。

【0195】 作為宿主細胞，例如可列舉：人類白血病細胞Namalwa細胞、猴細胞COS細胞、中國·倉鼠卵巢細胞CHO細胞[Journal of Experimental Medicine, 108, 945 (1958); Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 60, 1275 (1968); Genetics, 55, 513 (1968); Chromosoma, 41, 129 (1973); Methods in Cell Science, 18, 115 (1996); Radiation Research, 148, 260 (1997); Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 4216 (1980); Proc. Natl. Acad. Sci., 60, 1275 (1968); Cell, 6, 121 (1975); Molecular Cell Genetics, Appendix I, II (pp. 883-900)]；缺失有二氫葉酸還原酶基因(dhfr)之CHO細胞(CHO/DG44細胞)[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 4216 (1980)]、CHO-K1 (ATCC CCL-61)、DUkXB11 (ATCC CCL-9096)、Pro-5 (ATCC CCL-1781)、CHO-S (Life Technologies、Cat # 11619)、Pro-3、大鼠骨髓瘤細胞YB2/3HL.P2.G11.16Ag.20(或亦稱為YB2/0)、小鼠骨髓瘤細胞NS0、小鼠骨髓瘤細胞SP2/0-Ag14、金倉鼠細胞BHK或HBT5637(日本專利特開昭63-000299號公報)等。

【0196】 作為向宿主細胞導入表現載體之方法，只要為向動物細胞導入DNA之方法，則可使用任一種方法，例如可列舉：電穿孔法[Cytotechnology, 3, 133 (1990)]、磷酸鈣法(日本專利特開平2-227075號公報)或脂轉染法[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7413 (1987)]等。

【0197】 將源自保有組入有以上述方式獲得之編碼CSPG5之DNA之表現載體的微生物或動物細胞等的轉形體於培養基中進行培養，使該CSPG5於培養液中生成蓄積，自該培養液進行採集，藉此可製造CSPG5。將該轉形體於培養基中進行培養之方法可依據宿主之培養所使用之通常方法進行。

【0198】 於以源自真核生物之細胞表現之情形時，可獲得附加有糖或糖鏈之CSPG5。

【0199】 於培養經使用誘導性之啟動子之表現載體轉形之微生物時，亦可視需要將誘導劑(inducer)添加至培養基中。例如，於培養經使用lac啟動子之表現載體轉形之微生物之情形時，亦可將異丙基- β -D-硫代半乳糖苷等添加至培養基中，於培養經使用trp啟動子之表現載體轉形之微生物之情形時，亦可將吡啶丙烯酸等添加至培養基中。

【0200】 作為培養將動物細胞作為宿主所獲得之轉形體之培養基，例如可列舉：通常所使用之RPMI1640培養基[The Journal of the American Medical Association, 199, 519 (1967)]、Eagle之MEM培養基[Science, 122, 501 (1952)]、杜爾貝科改良MEM培養基[Virology, 8, 396 (1959)]、199培養基[Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 73, 1 (1950)]或Iscoe's Modified Dulbecco's Medium(IMDM)培養基或於該等培養基中添加有胎牛血清(FBS)等之培養基等。培養係通常於pH值6~8、30~40℃、5%CO₂存在下等條件下進行1~7天。又，於培養中亦可視需要，將康黴素或青黴素等抗生素添加至培養基中。

【0201】 作為編碼CSPG5之基因之表現方法，例如除直接表現以外，亦可列舉：分泌生產或融合蛋白質表現等方法[Molecular Cloning, A

Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)]。

【0202】 作為CSPG5之生產方法，例如可列舉：於宿主細胞內生產之方法、分泌至宿主細胞外之方法、或於宿主細胞外膜上生產之方法，可藉由改變所使用之宿主細胞或所生產之CSPG5之結構，而選擇適當之方法。

【0203】 於在宿主細胞內或宿主細胞外膜上生產CSPG5之情形時，可藉由使用Paulson等人之方法[J. Biol. Chem., 264, 17619 (1989)]、LOW等人之方法[Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 86, 8227 (1989)、Genes Develop., 4, 1288 (1990)]、日本專利特開平05-336963號公報或國際公開第94/23021號等所記載之方法，而使CSPG5積極地分泌至宿主細胞外。又，亦可利用使用二氫葉酸還原酶基因等之基因擴增系統(日本專利特開平2-227075號公報)而使CSPG5之生產量上升。

【0204】 所獲得之CSPG5例如可以下述方式進行單離、純化。於CSPG5以溶解狀態在細胞內表現之情形時，於培養結束後藉由離心分離而回收細胞，於水系緩衝液中懸浮後，使用超音波破碎機、法式壓碎機、Manton-Gaulin均質機或Dyno磨機等將細胞破碎，而獲得無細胞萃取液。可藉由將該無細胞萃取液進行離心分離而獲得上清液，將通常之蛋白質之單離純化法、即溶劑萃取法、利用硫酸銨等之鹽析法、除鹽法、利用有機溶劑之沈降法、使用二乙胺基乙基(DEAE)-瓊脂糖凝膠、DIAION HPA-75(三菱化學公司製造)等樹脂之陰離子交換層析法、使用S-瓊脂糖凝膠(S-Sepharose)FF(Pharmacia公司製造)等樹脂之陽離子交換層析法、使用丁基瓊脂糖凝膠(Butyl Sepharose)、苯基瓊脂糖凝膠(Phenyl Sepharose)等

樹脂之疏水性層析法、使用分子篩之凝膠過濾法、親和層析法、層析聚焦(Chromatofocusing)法、或等電點電泳等電泳法等方法單獨或組合使用，而自該上清液獲得純化標品。

【0205】 於CSPG5在細胞內形成不溶體而表現之情形時，與上述同樣地回收細胞後將之破碎，進行離心分離，藉此以沈澱組分回收該CSPG5之不溶體。利用蛋白質改性劑將所回收之該CSPG5之不溶體進行可溶化。可藉由對該可溶化液進行稀釋或透析而使該CSPG5恢復到正常之立體結構後，利用與上述相同之單離純化法而獲得多肽之純化標品。

【0206】 於CSPG5或其糖修飾體等衍生物被分泌至細胞外之情形時，可於培養上清液中回收該CSPG5或其糖修飾體等衍生物。可藉由與上述同樣地利用離心分離等方法對該培養物進行處理而取得可溶性組分，藉由使用與上述相同之單離純化法而自該可溶性組分獲得純化標品。

【0207】 又，本發明中所使用之CSPG5亦可藉由Fmoc法或tBoc法等化學合成法進行製造。又，亦可利用Advanced ChemTech公司製造、PerkinElmer公司製造、Pharmacia公司製造、Protein Technology Instrument公司製造、Synthecell-Vega公司製造、Perceptive公司製造或島津製作所公司製造等之肽合成機進行化學合成。

【0208】

(2) 動物之免疫與融合用抗體產生細胞之製備

用(1)中所獲得之抗原來免疫3~20週齡之小鼠、大鼠、兔或倉鼠等動物，採集該動物之脾臟、淋巴結、末梢血中之抗體產生細胞。又，亦可使用駱馬、羊駝、駱駝等動物作為被免疫動物。

【0209】 免疫係藉由將抗原與例如弗氏完全佐劑、或氫氧化鋁凝膠

與百日咳菌疫苗等適當之佐劑一併投予至動物之皮下、靜脈內或腹腔內而進行。於抗原為部分肽之情形時，與牛血清白蛋白(BSA)或匙孔螺血氰蛋白(Keyhole Limpet hemocyanin, KLH)等載體蛋白製作偶聯物，將其用作免疫原。

【0210】 免疫小鼠或大鼠時，抗原之投予係於第1次之投予後，每隔1～2週進行5～10次。於各投予後第3～7天自眼底靜脈叢進行採血，使用酵素免疫測定法[Antibodies-A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)]等，對其血清之抗體效價進行測定。將對於用於免疫之抗原，其血清顯示出充分之抗體效價之動物作為融合用抗體產生細胞之供給源。

【0211】 於抗原之最終投予後第3～7天，自經免疫之動物摘除脾臟等包含抗體產生細胞之組織，採集抗體產生細胞。於使用脾臟細胞之情形時，將脾臟切碎、解開後，進行離心分離，進而去除紅血球而取得融合用抗體產生細胞。

【0212】 針對其他被免疫動物，亦利用相同之方法進行免疫，可取得抗體產生細胞。免疫間隔或最後之免疫至組織之摘除之期間可依照被免疫動物之動物種類而選擇適當之條件。

【0213】

(3) 骨髓瘤細胞之製備

作為骨髓瘤細胞，使用自小鼠獲得之培養細胞株，例如使用8-氮鳥嘌呤耐性小鼠(源自BALB/c)骨髓瘤細胞株P3-X63Ag8-U1(P3-U1)[Current Topics in Microbiology and Immunology, 18, 1 (1978)]、P3-NS1/1-Ag41(NS-1)[European J. Immunology, 6, 511 (1976)]、SP2/0-

Ag14(SP-2)[Nature, 276, 269 (1978)]、P3-X63-Ag8653(653)[J. Immunology, 123, 1548 (1979)]或P3-X63-Ag8(X63)[Nature, 256, 495 (1975)]等。

【0214】該骨髓瘤細胞係於正常培養基[添加有麩醯胺、2-巰基乙醇、健大黴素(Gentamicin)、FBS、及8-氮鳥嘌呤之RPMI1640培養基]中繼代，於細胞融合之3～4天前於正常培養基中繼代，確保融合當天 2×10^7 個以上之細胞數。

【0215】

(4) 細胞融合與單株抗體產生融合瘤之製備

利用最低基礎培養基(Minimum Essential Medium, MEM)或磷酸緩衝生理鹽水(PBS；磷酸二鈉1.83 g、磷酸一鉀0.21 g、食鹽7.65 g、蒸餾水1升、pH值7.2)將(2)中所獲得之融合用抗體產生細胞與(3)中所獲得之骨髓瘤細胞充分洗淨，以細胞數成為融合用抗體產生細胞：骨髓瘤細胞＝5～10：1之方式進行混合，進行離心分離後，去除上清液。

【0216】將沈澱之細胞群充分地解開後，一面加入聚乙二醇-1000(PEG-1000)、MEM培養基及二甲基亞砷之混液一面於37℃下進行攪拌。進而每1～2分鐘添加MEM培養基1～2 mL數次後，添加MEM培養基以使總量成為50 mL。

【0217】離心分離後，將上清液去除。將沈澱之細胞群緩慢地解開後，於HAT培養基[添加有次黃嘌呤、胸苷、及胺嘌呤之正常培養基]中緩慢地使細胞懸浮。將該懸浮液於5%CO₂培養箱中以37℃培養7～14天。

【0218】培養後，將培養上清液之一部分抽出，藉由下述之結合分析法(binding assay)等融合瘤之選擇方法，選擇與CSPG5反應且不會與不

為CSPG5之抗原反應之細胞群。繼而，藉由極限稀釋法進行選殖，選擇確認到穩定且較強之抗體效價者作為單株抗體產生融合瘤。

【0219】

(5) 純化單株抗體之製備

對於經姥鯨烷處理[將2,6,10,14-四甲基十五烷(Pristane)0.5 mL進行腹腔內投予，飼養2週]之8~10週齡之小鼠或裸小鼠，將(4)中所獲得之單株抗體產生融合瘤注射至腹腔內。於10~21天融合瘤發生腹水癌化。

【0220】 自該小鼠採集腹水，進行離心分離，將固形物成分去除後，利用40~50%硫酸銨進行鹽析，利用辛酸沈降法、DEAE-瓊脂糖凝膠管柱、蛋白A-管柱或凝膠過濾管柱進行純化，收集IgG或IgM組分，作為純化單株抗體。

【0221】 又，將(4)中所獲得之單株抗體產生融合瘤於添加有10%FBS之RPMI1640培養基等中進行培養後，藉由離心分離去除上清液，於融合瘤SFM培養基中進行懸浮，並培養3~7天。

【0222】 亦可將所獲得之細胞懸浮液進行離心分離，自所獲得之上清液利用蛋白A-管柱或蛋白G-管柱進行純化，收集IgG組分而獲得純化單株抗體。再者，亦可於融合瘤SFM培養基中添加5% Daigo's GF21。

【0223】 抗體之亞型之確定係使用亞型分型套組(subtype typing kit)，藉由酵素免疫測定法進行。蛋白質量之定量係根據勞立法(Lowry method)或280 nm下之吸光度而算出。

【0224】

(6) 抗體之選擇

抗體之選擇係藉由如以下所示般，使用流式細胞儀，對抗體對於

CSPG5表現細胞之結合性進行測定等而進行。CSPG5表現細胞只要於細胞表面上表現CSPG5，則可為任一種細胞，例如可列舉：動物細胞、動物細胞株及(1)中所獲得之CSPG5強制表現細胞株等。

【0225】 將CSPG5表現細胞分注至96孔板等培養板中後，分注作為第1抗體之血清、融合瘤之培養上清液或純化抗體等受驗物質進行反應。利用包含1～10%牛血清白蛋白(bovine serum albumin)(BSA)之PBS(以下，記為BSA-PBS)等將反應後之細胞充分洗淨後，分注作為第2抗體之經螢光試劑等標記之抗免疫球蛋白抗體進行反應。利用BSA-PBS等充分地洗淨後，使用流式細胞儀測定標記化抗體之螢光量，藉此選擇與CSPG5表現細胞特異性地反應之抗體。

【0226】 又，抗體之選擇亦可藉由使用以下所記載之ELISA或表面電漿子共振，測定單株抗體對於CSPG5表現細胞或CSPG5蛋白等之結合性而進行。CSPG5蛋白可為包含CSPG5之一部分區域之蛋白質，亦可為附加有GST等標籤之蛋白質。

【0227】 ELISA係將CSPG5表現細胞或CSPG5蛋白分注至96孔板等培養板中後，利用BSA-PBS進行阻斷，分注作為第1抗體之血清、融合瘤之培養上清液或純化抗體等受驗物質進行反應。繼而，利用PBS等充分地洗淨後，分注作為第2抗體之經螢光試劑等標記之抗免疫球蛋白抗體進行反應。

【0228】 其後利用PBS等充分地洗淨後，添加顯色試劑。最後利用反應停止液而停止顯色反應，利用微盤讀取器測定各孔中之吸光度，藉此選擇與CSPG5表現細胞或CSPG5蛋白特異性地進行反應之抗體。

【0229】 表面電漿子共振可使用公知之操作說明，將抗體固相化至

適當之感測器晶片，並將CSPG5蛋白設為分析物，藉此測定與CSPG5結合之抗體之親和性。

【0230】 根據所獲得之抗體之親和性，可選擇對於CSPG5蛋白具有所需之親和性之抗體。又，亦可將CSPG5蛋白固相化至感測器晶片，並將抗體設為分析物，而測定與CSPG5結合之抗體之親和性。

【0231】 又，與本發明之抗體競爭與CSPG5結合之抗體可藉由在使用上述流式細胞儀或ELISA之測定系統中添加受驗抗體並使之反應而取得。即，藉由篩選添加有受驗抗體時本發明之抗體與CSPG5之結合受到阻礙之抗體，可取得與本發明之抗體競爭向CSPG5之胺基酸序列、或其立體結構結合之抗體。

【0232】 又，與包括本發明之抗體所結合之表位在內之表位結合的抗體可藉由利用公知之方法而鑑定利用上述篩選方法所取得之抗體之表位，製作包含所鑑定之表位之合成肽、或擬態為表位之立體結構之合成肽等並進行免疫而取得。

【0233】 進而，與和本發明之抗體所結合之表位相同之表位結合的抗體可藉由利用公知之方法而鑑定利用上述篩選方法所取得之抗體之表位，製作包含所鑑定之表位之合成肽、或擬態為表位之立體結構之合成肽等並進行免疫而取得。

【0234】

(7) 藉由噬菌體顯示法取得抗體

(7-1) 抗體噬菌體庫之製作方法

於本發明中，抗體噬菌體庫可使用免疫庫、天然庫及合成庫。以下記載各庫之製作方法。

【0235】 免疫庫係藉由與上述(1)相同之方法，採集源自免疫之動物或患者之淋巴細胞，天然庫係藉由與上述(1)相同之方法，採集源自正常動物或健康人之淋巴細胞，提取RNA，藉由反轉錄反應而合成cDNA。

【0236】 將以該cDNA作為模板並藉由PCR擴增之抗體基因片段插入至噬菌粒載體(Phagemid Vector)，利用該噬菌粒載體將大腸桿菌轉形。若使輔助噬菌體感染所獲得之轉形體，則可獲得抗體基因得到庫化之抗體噬菌體庫。

【0237】 又，合成庫係基因組DNA中之V基因或重組之功能性V基因之CDR經編碼適當長度之無規胺基酸序列之寡核苷酸置換，且利用插入有該V基因之噬菌粒載體將大腸桿菌進行轉形。若使輔助噬菌體感染所獲得之轉形體，則可獲得抗體噬菌體庫。

【0238】 源自淋巴細胞之cDNA、抗體噬菌體庫亦可使用市售品。

【0239】 噬菌粒載體可使用pCANTAB 5E(Amersham Pharmacia公司)、pUC118/pUC119載體(TaKaRa公司)、pBlueScript II噬菌粒載體(Agilent Technologies公司)、及pKSTV-02(Miyazaki et al, J. Biochem., 158(3), 205-215, 2015)等。

【0240】 輔助噬菌體可使用M13KO7輔助噬菌體(Invitrogen公司)、VCSM13抗干擾輔助噬菌體(VCSM13 Interference Resistant Helper Phage)(Agilent Technologies公司)、R408抗干擾輔助噬菌體(Interference Resistant Helper Phage)(Agilent Technologies公司)等。

【0241】 噬菌體顯示中亦可使用噬菌粒載體。有將纖維狀噬菌體之g3p設為呈現分子之肽噬菌體庫(New England Biolabs公司製造等)及將g7p、g8p、g9p設為呈現分子之方法等。

【0242】 又，亦可應用使用T7噬菌體之噬菌體顯示。向T7噬菌體之呈現系統有T7Select載體(Novagen公司)等。

【0243】

(7-2) 抗體噬菌體純系之選擇

自(7-1)中所製作之抗體噬菌體庫選擇抗體噬菌體純系時，可使用以下所示之ELISA法而進行。

【0244】 將CSPG5固相化至免疫試管，利用阻斷緩衝液對試管進行阻斷。於試管之各孔中添加上述(7-1)中所製作之抗體噬菌體庫進行反應。繼而，將孔洗淨，添加經螢光標記之抗噬菌體抗體進行反應後，再次將孔洗淨，添加顯色液。其後，利用反應停止液使顯色反應停止，利用微盤讀取器測定各孔中之吸光度。藉此，選擇與CSPG5結合之抗體噬菌體純系。

【0245】

2. 基因重組抗體之製作

作為基因重組抗體之製作例，以下揭示人類型嵌合抗體及人類化抗體之製作方法。基因重組之小鼠抗體、大鼠抗體、兔抗體、倉鼠抗體、駱駝抗體、駱馬抗體、羊駝抗體、及人類抗體、各種嵌合抗體、以及重鏈抗體等亦可藉由相同之方法進行製作。

【0246】

(1) 基因重組抗體表現用載體之構建

基因重組抗體表現用載體係組入有編碼人類抗體之CH及CL之DNA之動物細胞用表現載體，可藉由將編碼人類抗體之CH及CL之DNA分別選殖至動物細胞用表現載體而構建。

【0247】 人類抗體之恆定區(C區域)可使用任意之人類抗體之CH及CL。例如使用人類抗體之 $\gamma 1$ 亞型之CH及 κ 類型之CL等。編碼人類抗體之CH及CL之DNA可使用cDNA，但亦可使用包含外顯子與內含子之染色體DNA。

【0248】 關於動物細胞用表現載體，只要為可組入編碼人類抗體之C區域之基因並表現者，則可使用任何者。例如使用pAGE107[Cytotechnol., 3, 133 (1990)]、pAGE103[J. Biochem., 101, 1307 (1987)]、pHSG274[Gene, 27, 223 (1984)]、pKCR[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, 1527 (1981)]、pSG1bd2-4[Cytotechnol., 4, 173 (1990)]或pSE1UK1Sed1-3[Cytotechnol., 13, 79 (1993)]等。

【0249】 關於動物細胞用表現載體中之啟動子與促進子，可列舉：SV40之初期啟動子[J. Biochem., 101, 1307 (1987)]、來源於小鼠白血病毒LTR[Biochem. Biophys. Res. Commun., 149, 960 (1987)]或免疫球蛋白H鏈之啟動子[Cell, 41, 479 (1985)]、及促進子[Cell, 33, 717 (1983)]等。

【0250】 關於基因重組抗體表現用載體，就基因重組抗體表現載體之構建容易性、向動物細胞之導入容易性、動物細胞內之抗體H鏈及L鏈之表現量之平衡性均衡等方面而言，可使用抗體H鏈及L鏈存在於同一載體上之類型(串聯型)之基因重組抗體表現用載體[J. Immunol. Methods, 167, 271(1994)]，但亦可使用抗體H鏈及L鏈存在於不同載體上之類型。關於串聯型之基因重組抗體表現用載體，係使用pKANTEX93(國際公開第97/10354號)、pEE18[Hybridoma, 17, 559 (1998)]等。

【0251】

(2) 編碼源自人類以外之動物之抗體之可變區(V區)之cDNA的取得及胺基酸序列之分析

編碼非人類抗體之VH及VL之cDNA之取得及胺基酸序列之分析可以下述方式進行。

【0252】

(2-1) 利用融合瘤法取代抗體之情形

自產生非人類抗體之融合瘤細胞提取mRNA而合成cDNA。將所合成之cDNA選殖至噬菌體或質體等載體而製作cDNA庫。

【0253】 使用編碼非人類抗體之C區域部分或V區部分之DNA作為探針，自上述庫分別單離具有編碼VH或VL之cDNA之重組噬菌體或重組質體。分別確定重組噬菌體或重組質體上之設為目標之非人類抗體之VH或VL的完整鹼基序列，根據鹼基序列分別推測VH或VL之完整胺基酸序列(complete amino acid sequence)。

【0254】 關於製作產生非人類抗體之融合瘤細胞之人類以外之動物，可使用小鼠、大鼠、倉鼠、兔、駱馬、駱駝、或羊駝等，但只要可製作融合瘤細胞，則可使用任何動物。

【0255】 於自融合瘤細胞製備總RNA時，使用硫氰酸胍-三氟乙酸鈹法[Methods in Enzymol., 154, 3 (1987)]、或RNeasy kit(Qiagen公司製造)等套組等。

【0256】 於自總RNA製備mRNA時，使用寡(dT)固定化纖維素管柱法[Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)]、或Oligo-dT30<Super>mRNA Purification(註冊商標)Kit(TAKARA BIO公司製造)等套組等。又，亦可

使用Fast Track mRNA Isolation(註冊商標)Kit(Invitrogen公司製造)、或QuickPrep mRNA Purification(註冊商標)Kit(Pharmacia公司製造)等套組，而自融合瘤細胞製備mRNA。

【0257】於cDNA之合成及cDNA庫之製作時，使用公知之方法[Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)、Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1, John Wiley & Sons (1987-1997)]、或者SuperScript Plasmid System for cDNA Synthesis and Plasmid Cloning(Invitrogen公司製造)或ZAP-cDNA Synthesis(註冊商標)Kit(Stratagene公司製造)等套組等。

【0258】於製作cDNA庫時，關於供組入以自融合瘤細胞提取之mRNA為模板而合成之cDNA的載體，只要為供組入該cDNA之載體，則可使用任何者。例如使用ZAP Express[Strategies, 5, 58 (1992)]、pBluescript II SK(+)[Nucleic Acids Research, 17, 9494 (1989)]、λZAPII(Stratagene公司製造)、λgt10、λgt11[DNA Cloning: A Practical Approach, I, 49 (1985)]、Lambda BlueMid(Clontech公司製造)、λExCell、pT7T3-18U(Pharmacia公司製造)、pCD2[Mol. Cell. Biol., 3, 280 (1983)]或pUC18[Gene, 33, 103 (1985)]等。

【0259】關於供導入由噬菌體或質體載體構建之cDNA庫之大腸桿菌，只要為可導入、表現及維持該cDNA庫者，則可使用任何者。例如使用XL1-Blue MRF'[Strategies, 5, 81 (1992)]、C600[Genetics, 39, 440 (1954)]、Y1088、Y1090[Science, 222, 778 (1983)]、NM522[J. Mol. Biol., 166, 1 (1983)]、K802[J. Mol. Biol., 16, 118 (1966)]或

JM105[Gene, 38, 275 (1985)]等。

【0260】 自cDNA庫選擇編碼非人類抗體之VH或VL之cDNA純系時，使用利用同位素或經螢光標記之探針之菌落・雜交法、或者噬菌斑・雜交法[Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)]等。

【0261】 又，製備引子，以自mRNA合成之cDNA或cDNA庫為模板而進行聚合酶鏈反應法(PCR)法[Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)、Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1, John Wiley & Sons (1987-1997)]，藉此亦可製備編碼VH或VL之cDNA。

【0262】 利用適當之限制酶等切斷所選擇之cDNA後，選殖至pBluescript SK(-)(Stratagene公司製造)等質體，藉由通常所使用之鹼基序列分析方法等而確定該cDNA之鹼基序列。關於鹼基序列分析方法，例如進行雙脫氧法[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 5463 (1977)]等反應後，使用ABI PRISM3700(PE Biosystems公司製造)或A. L. F. DNA定序儀(Pharmacia公司製造)等鹼基序列自動分析裝置等。

【0263】

(2-2) 藉由噬菌體顯示法取得抗體之情形

使用編碼載體部分或V區部分之DNA作為探針，根據所選擇之噬菌體純系之質體載體而分別確定VH或VL之完整鹼基序列，根據鹼基序列而可分別推測VH或VL之完整胺基酸序列。

【0264】 於融合瘤法或噬菌體顯示法之任一種方法中，根據所確定之鹼基序列分別推測VH及VL之完整胺基酸序列，與已知之抗體之VH及

VL之完整胺基酸序列[Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services (1991)]進行比較，藉此分別確認所取得之cDNA是否編碼包含分泌訊息序列之抗體之VH及VL之完整胺基酸序列。

【0265】 關於包含分泌訊息序列之抗體之VH及VL之完整胺基酸序列，與已知之抗體之VH及VL之完整胺基酸序列[Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services (1991)]進行比較，藉此可推測分泌訊息序列之長度及N末端胺基酸序列，進而可知該等所屬之亞群(subgroup)。

【0266】 又，關於VH及VL之各CDR之胺基酸序列，可藉由與已知之抗體之VH及VL之胺基酸序列[Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services (1991)]進行比較而找出。

【0267】 又，使用所獲得之VH及VL之完整胺基酸序列，例如針對SWISS-PROT或PIR-Protein等任意之資料庫，進行BLAST法[J. Mol. Biol., 215, 403 (1990)]等同源性檢索，而可確認VH及VL之完整胺基酸序列是否為新穎者。

【0268】

(3) 人類型嵌合抗體表現載體之構建

將各編碼非人類抗體之VH或VL之cDNA分別選殖至(1)中所獲得之基因重組抗體表現用載體之編碼人類抗體之CH或CL之各基因的上游，藉此可構建人類型嵌合抗體表現載體。

【0269】 為了將編碼非人類抗體之VH或VL之cDNA之3'末端側、與人類抗體之CH或CL之5'末端側連結，而製作以連結部分之鹼基序列編碼

適當之胺基酸，且成為適當之限制酶識別序列之方式設計的VH及VL之cDNA。

【0270】 將所製作之VH及VL之cDNA以其等以適當形式表現的方式分別選殖至(1)中所獲得之基因重組抗體表現用載體之編碼人類抗體之CH或CL的各基因之上游，而構建人類嵌合抗體表現載體。

【0271】 又，亦可使用兩端具有適當之限制酶之識別序列之合成DNA，藉由PCR法分別擴增編碼非人類抗體VH或VL的cDNA，而選殖至(1)中所獲得之基因重組抗體表現用載體。

【0272】

(4) 編碼人類化抗體之V區之cDNA之構建

編碼人類化抗體之VH或VL之cDNA可以下述方式進行構建。

【0273】 分別選擇用以移植非人類抗體之VH或VL之CDR之胺基酸序列的人類抗體之VH或VL之FR之胺基酸序列。關於所選擇之FR之胺基酸序列，只要為源自人類抗體者，則可使用任一者。

【0274】 例如使用登陸於蛋白質資料庫(Protein Data Bank)等資料庫中之人類抗體之FR之胺基酸序列、或者人類抗體之FR之各亞群之共通胺基酸序列[Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services (1991)]等。為了抑制抗體之結合活性之降低，而選擇相對於原本之抗體之VH或VL之FR之胺基酸序列，具有儘可能高之同源性(至少60%以上)之FR的胺基酸序列。

【0275】 繼而，將原本之抗體之CDR之胺基酸序列分別移植至所選擇的人類抗體之VH或VL之FR之胺基酸序列，而分別設計人類化抗體之VH或VL之胺基酸序列。考慮抗體之基因之鹼基序列中可見之密碼子的使

用頻度[Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services (1991)]，將所設計之胺基酸序列轉化為DNA序列，而分別設計編碼人類化抗體之VH或VL之胺基酸序列之DNA序列。

【0276】基於所設計之DNA序列，合成包含100個鹼基左右長度之數條合成DNA，使用其等進行PCR反應。於該情形時，根據PCR反應中之反應效率及可合成之DNA之長度，較佳為針對VH、VL各者，各設計6條合成DNA。

【0277】進而，將適當之限制酶之識別序列導入至位於兩端之合成DNA之5'或3'末端，藉此可容易地將編碼人類化抗體之VH或VL之cDNA選殖至(1)中所獲得之基因重組抗體表現用載體。

【0278】PCR反應後，將擴增產物分別選殖至pBluescript SK(-) (Stratagene公司製造)等質體，藉由與(2)所記載之方法相同之方法而確定鹼基序列，而取得所需之具有編碼人類化抗體之VH或VL之胺基酸序列之DNA序列的質體。

【0279】或者，亦可使用基於所設計之DNA序列，將VH全長及VL全長以各1條之長鏈DNA的形式進行合成所得者代替上述PCR擴增產物。進而，將適當之限制酶之識別序列導入至合成長鏈DNA之兩端，藉此可容易地將編碼人類化抗體之VH或VL之cDNA選殖至(1)中所獲得之基因重組抗體表現用載體。

【0280】

(5) 人類化抗體之V區之胺基酸序列之修飾

人類化抗體若僅將非人類抗體之VH及VL之CDR移植至人類抗體之VH及VL之FR，則其抗原結合活性較原本之非人類抗體降低

[BIO/TECHNOLOGY, 9, 266 (1991)]。

【0281】 關於人類化抗體，於人類抗體之VH及VL之FR之胺基酸序列中，鑑定直接參與與抗原結合之胺基酸殘基、與CDR之胺基酸殘基相互作用之胺基酸殘基、及維持抗體之立體結構且與間接地參與與抗原結合的胺基酸殘基，將該等胺基酸殘基置換為原本之非人類抗體之胺基酸殘基，藉此可使降低之抗原結合活性上升。

【0282】 為了鑑定與抗原結合活性相關之FR之胺基酸殘基，而使用X射線結晶分析[J. Mol. Biol., 112, 535 (1977)]或電腦建模(computer modeling)[Protein Engineering, 7, 1501 (1994)]等，藉此可進行抗體之立體結構之構建及分析。又，關於各抗體，製作數種修飾體，反覆研究各自與抗原結合活性之相關性，並進行試誤，藉此取得具有所需之抗原結合活性之人類化抗體。

【0283】 人類抗體之VH及VL之FR之胺基酸殘基可藉由使用修飾用合成DNA進行(4)所記載之PCR反應而進行修飾。關於PCR反應後之擴增產物，藉由(2)所記載之方法確定鹼基序列以確認實施過目標之修飾。

【0284】

(6) 人類化抗體表現載體之構建

將所構建之編碼基因重組抗體之VH或VL之cDNA分別選殖至(1)中所獲得之基因重組抗體表現用載體之編碼人類抗體之CH或CL的各基因之上游，而可構建人類化抗體表現載體。

【0285】 例如，將適當之限制酶之識別序列導入至構建(4)及(5)中所獲得之人類化抗體之VH或VL時所使用之合成DNA中，位於兩端之合成DNA的5'或3'末端，藉此以其等以適當之形式進行表現之形式分別選殖至

(1)中所獲得之基因重組抗體表現用載體之編碼人類抗體之CH或CL的各基因之上游。

【0286】

(7) 基因重組抗體之短暫性表現

可使用(3)及(6)中所獲得之基因重組抗體表現載體、或修飾其等所得之表現載體而進行基因重組抗體的短暫性表現，從而可有效率地評價所製作之多種人類型嵌合抗體、人類化抗體之抗原結合活性。

【0287】 關於供導入表現載體之宿主細胞，只要為可表現基因重組抗體之宿主細胞，則可使用任何細胞，例如使用COS-7細胞[American Type Culture Collection(ATCC)編號：CRL1651][Methods in Nucleic Acids Res., CRC press, 283 (1991)]。

【0288】 向COS-7細胞導入表現載體時，使用DEAE-葡聚糖法[Methods in Nucleic Acids Res., CRC press (1991)]、或脂轉染法[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7413 (1987)]等。

【0289】 導入表現載體後，培養上清液中之基因重組抗體之表現量及抗原結合活性係使用酶免疫抗體法[Monoclonal Antibodies-Principles and practice, Third edition, Academic Press (1996)、Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)、單株抗體實驗指南、Kodansha Scientific(1987)]等進行測定。

【0290】

(8) 穩定地表現基因重組抗體之轉形株之取得與基因重組抗體之製備

將(3)及(6)中所獲得之基因重組抗體表現載體導入至適當之宿主細胞，藉此可獲得穩定地表現基因重組抗體之轉形株。

向宿主細胞導入表現載體時，使用電穿孔法[日本專利特開平2-257891號公報、Cytotechnology, 3, 133 (1990)]等。

【0291】 關於供導入基因重組抗體表現載體之宿主細胞，只要為可表現基因重組抗體之宿主細胞，則可使用任何細胞。例如使用CHO-K1(ATCC CCL-61)、DUKXB11(ATCC CCL-9096)、Pro-5(ATCC CCL-1781)、CHO-S(Life Technologies、Cat#11619)、大鼠骨髓瘤細胞YB2/3HL.P2.G11.16Ag.20(ATCC編號：CRL1662、或亦稱為YB2/0)、小鼠骨髓瘤細胞NS0、小鼠骨髓瘤細胞SP2/0-Ag14(ATCC編號：CRL1581)、小鼠P3X63-Ag8.653細胞(ATCC編號：CRL1580)、缺失有dhfr之CHO細胞(CHO/DG44細胞)[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 4216 (1980)]等。

【0292】 又，亦可使用：與細胞內糖核苷酸GDP-海藻糖之合成相關之酶等蛋白質、與海藻糖之1位 α 結合至N-糖苷結合複合型糖鏈之還原末端之N-乙醯胺基葡萄糖之6位的糖鏈修飾相關的酶等蛋白質、或者與細胞內糖核苷酸GDP-海藻糖向高爾基體的輸送相關之蛋白質等之活性降低或缺失之宿主細胞、例如缺失有 α 1,6-海藻糖基轉移酶基因之CHO細胞(國際公開第2005/035586號、國際公開第02/31140號)、獲得了凝集素耐性之Lec13[Somatic Cell and Molecular genetics, 12, 55 (1986)]等。

【0293】 導入表現載體後，穩定地表現基因重組抗體之轉形株係藉由在包含G418硫酸鹽(以下，記載為G418)等藥劑之動物細胞培養用培養基中進行培養而選擇(日本專利特開平2-257891號公報)。

【0294】 關於動物細胞培養用培養基，使用RPMI1640培養基(Invitrogen公司製造)、GIT培養基(日本製藥公司製造)、EX-CELL301培

養基(JRH公司製造)、IMDM培養基(Invitrogen公司製造)或融合瘤SFM培養基(Invitrogen公司製造)、或者於該等培養基中添加有FBS等各種添加物之培養基等。

【0295】將所獲得之轉形株於培養基中進行培養，藉此使基因重組抗體於培養上清液中表現蓄積。培養上清液中之基因重組抗體之表現量及抗原結合活性可藉由ELISA法等進行測定。又，可利用dhfr基因擴增系統(日本專利特開平2-257891號公報)等，使轉形株所產生之基因重組抗體之表現量提高。

【0296】基因重組抗體係使用蛋白A-管柱，自轉形株之培養上清液進行純化[Monoclonal Antibodies - Principles and practice, Third edition, Academic Press (1996)、Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)]。又，亦可將凝膠過濾、離子交換層析法及超過濾等蛋白質之純化中所使用之方法組合。

【0297】經純化之基因重組抗體之H鏈、L鏈或抗體分子整體之分子量可使用聚丙烯醯胺凝膠電泳法[Nature, 227, 680 (1970)]、或西方墨點法(Western blotting)法[Monoclonal Antibodies - Principles and practice, Third edition, Academic Press (1996)、Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory(1988)]等進行測定。

【0298】

(9) 抗體片段之製作方法

本發明之抗體片段可依據公知之方法進行製作。本發明之抗體片段可藉由利用酶等切斷依據上述(1)~(8)所記載之方法所製作之抗體而製作，亦可製備編碼所需之抗體片段之鹼基序列，並利用基因工程方法進行

製作。

【0299】

(10) 單價抗體之製作方法

本發明中，單價抗體可利用國際公開第2014/054804號、國際公開第2011/090754號、國際公開第2007/048037號、及國際公開第2012/116927號等所記載之方法等進行製作。

【0300】

(11) 雙特異性抗體或多特異性抗體之製造方法

本發明之雙特異性抗體或多特異性抗體可依據上述抗體之製造方法進行製作。例如，可使用國際公開第2009/131239號、國際公開第2014/054804號、國際公開第01/077342號、美國專利申請公開第2007/0071675號說明書、國際公開第2007/024715、Wu et al., [Nature Biotechnology, 2007, 25(11), p.1290-1297]、Labrijn et al., [PNAS 2013, vol.110, no.13, p5145-5150]、Jong et al., [http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1002344]、Kontermann et al., [mAbs 2012, vol.4, issue2, p182-197]、Spiess et al., [Molecular Immunology 67 (2015) 95-106]、Ridgway et al., [Protein engineering, 1996 vol.9 no.7 pp617-621、國際公開第2009/080251、國際公開第2010/151792及國際公開第2014/033074等所記載之方法進行製作。

【0301】 例如，關於在與存在於腦中之抗原結合之IgG抗體之C末端融合有與CSPG5結合之scFv的雙特異性抗體之表現載體，可利用以下所記載之方法進行製作，亦可依據上述抗體之表現方法及抗體之純化方法而製作該雙特異性抗體。又，除此以外，於抗體之C末端融合有抗體片段之

雙特異性抗體亦可利用相同之方法進行製作。

【0302】 以與存在於腦中之抗原結合之IgG抗體之重鏈恆定區的合成基因作為模板，藉由PCR法而擴增CH1-鉸鏈-CH2-CH3-連接子區域之基因片段。繼而，以與CSPG5結合之抗體之鹼基序列作為模板，使用PCR法等而製備該抗體之VH及VL由適當之連接子結合的scFv區之鹼基序列。利用PCR法等使上述兩個區域結合，將所獲得之基因片段插入至pCI載體等適當之載體。

【0303】 又，藉由使用各種適當模板之PCR法，將與存在於腦中之抗原結合之IgG抗體之輕鏈區域(VL及CL)的基因片段、及該抗體之VH之基因片段進行擴增，插入至上述載體之適當位置。

【0304】 又，本發明之雙特異性抗體亦可藉由化學方法，使包含抗體片段之抗原結合部位與IgG抗體結合而製作。

【0305】

3. 抗體或該抗體片段之活性評價

本發明中，抗體或該抗體片段之活性評價可以下述方式進行。

【0306】

(1) 對於CSPG5之結合活性

本發明之抗體或該抗體片段對於CSPG5之結合活性可使用上述1-(6)所記載之流式細胞儀、ELISA、及表面電漿子共振檢測等而進行測定。又，亦可使用螢光抗體法[Cancer Immunol. Immunother., 36, 373 (1993)]進行測定。

【0307】 於本發明之抗體或該抗體片段為與CSPG5結合之單價抗體之情形時，亦可利用相同之方法測定該單價抗體對於CSPG5之結合活

性。於本發明之抗體或該抗體片段為與CSPG5及存在於腦中之抗原結合之雙特異性抗體或多特異性抗體的情形時，亦可利用相同之方法測定該雙特異性抗體或多特異性抗體對於CSPG5或存在於腦中之抗原之結合活性。

【0308】

(2) 腦滯留性之測定方法

本發明之抗體或該抗體片段之腦滯留性可利用以下所記載之方法進行測定。

【0309】 可列舉：將抗體或該抗體片段投予至動物，經過數天後回收腦組織，測定均質化並離心分離後之上清液中之抗體或該抗體片段的濃度，算出每單位腦重量之抗體或該抗體片段之量的方法；或者使用所回收之腦組織，藉由公知之免疫學方法檢測抗體或該抗體片段之存在的方法等。又，亦可列舉：將施加有藥理學上所容許之標記之抗體或該抗體片段投予至動物，利用體內成像系統而經時性地檢測該抗體或該抗體片段之存在的方法等。

【0310】 腦滯留性所使用之動物可選擇符合本發明之抗體或該抗體片段之用途的適當動物。

【0311】

(3) 抗體依賴性細胞毒性(ADCC)、補體依賴細胞毒性(CDC)之測定方法

本發明之抗體或該抗體片段對於人類CSPG5表現細胞或表現出CSPG5與存在於腦中之抗原之細胞的CDC、或ADCC可藉由公知之測定方法[Cancer Immunol. Immunother., 36, 373 (1993); Current protocols in Immunology, Chapter7. Immunologic studies in humans, Editor, John E,

Coligan et al., John Wiley & Sons, Inc., (1993)]進行測定。

【0312】

4. 控制抗體或抗體片段之效應子(effector)活性之方法

作為控制本發明之抗體或該抗體片段之效應子活性之方法，已知有：控制 $\alpha 1,6$ 結合至N結合複合型糖鏈之還原末端所存在之N-乙醯胺基葡萄糖(GlcNAc)之海藻糖(亦稱為核心海藻糖)之量的方法，該N結合複合型糖鏈結合至抗體或包含Fc之該抗體片段之Fc區域之第297號的天冬醯胺(Asn)(國際公開第2005/035586號、國際公開第2002/31140號、國際公開第00/61739號)；或者藉由修飾抗體或該抗體片段之Fc區域之胺基酸殘基而進行控制的方法等。對於本發明之抗體或該抗體片段，可使用任一種方法而控制效應子活性。

【0313】 所謂效應子活性，係指經由抗體或該抗體片段之Fc區域而引起之抗體依賴性的活性，已知有：ADCC、CDC、或者利用巨噬體或樹狀細胞等吞噬細胞之抗體依賴性吞噬作用(Antibody-dependent phagocytosis；ADP)等。

【0314】 作為效應子活性之測定法，例如可將靶細胞、作為效應子之人類末梢血單細胞(PBMC)、及靶細胞特異性之抗體或該抗體片段進行混合，培養4小時左右後，測定游離出之乳酸脫氫酶(LDH)以作為細胞毒性之指標。除此以外，亦可藉由游離 ^{51}Cr 法或流式細胞儀法等而測定效應子活性。

【0315】 藉由控制抗體之Fc之N結合複合型糖鏈之核心海藻糖的含量，可使抗體或包含Fc之抗體片段之效應子活性增加或降低。作為使結合至與抗體或該抗體片段之Fc結合之N結合複合型糖鏈之海藻糖的含量降低

之方法，可藉由使用缺失有 $\alpha 1,6$ -海藻糖基轉移酶基因之CHO細胞並使抗體或該抗體片段表現，而取得未結合有海藻糖之抗體或該抗體片段。未結合有海藻糖之抗體或該抗體片段具有高ADCC。

【0316】 另一方面，作為使結合至與抗體或該抗體片段之Fc結合之N結合複合型糖鏈之海藻糖的含量增加之方法，可藉由使用導入有 $\alpha 1,6$ -海藻糖基轉移酶基因之宿主細胞並使抗體或該抗體片段表現，而取得結合有海藻糖之抗體或該抗體片段。結合有海藻糖之抗體或該抗體片段具有較未結合有海藻糖之抗體或該抗體片段低之ADCC。

【0317】 又，藉由修飾抗體或該抗體片段之Fc區域之胺基酸殘基，可使ADCC或CDC增加或降低。例如，藉由使用美國專利申請公開第2007/0148165號說明書所記載之Fc區域之胺基酸序列，可使抗體或該抗體片段之CDC增加。

【0318】 又，藉由進行美國專利第6,737,056號說明書、美國專利第7,297,775號說明書或美國專利第7,317,091號說明書所記載之胺基酸修飾，而可增加ADCC或CDC，亦可降低ADCC或CDC。

【0319】 又，於本發明之抗體或該抗體片段中，亦包括對照上述抗體或該抗體片段所包含之恆定區中之胺基酸修飾或糖鏈修飾，例如進行日本專利特開第2013-165716號公報或日本專利特開第2012-021004號公報等所記載之胺基酸修飾，藉此控制對於Fc受體之反應性，由此控制了血中半衰期之抗體或該抗體片段。

【0320】 進而，組合上述方法並用於一個抗體或該抗體片段，藉此可取得效應子活性或血中半衰期得到控制之抗體或該抗體片段。

【0321】

5. 使用本發明之抗體或該抗體片段之疾病之治療方法

本發明之抗體或該抗體片段可用於在腦內表現出CSPG5之動物之腦疾病的治療。

【0322】 作為腦疾病，例如可列舉：阿茲海默症、前驅期阿茲海默症、杭丁頓舞蹈症、帕金森症、腦腫瘤、多發性硬化症、肌肉失養症、肌萎縮性側索硬化症、多系統萎縮症、進行性核上性麻痺、黑質線狀體變性症、橄欖體腦橋小腦萎縮症、脊髓延髓肌肉萎縮症、脊髓小腦退化症、腦血管疾病、癲癇、偏頭痛、過動症、克-亞二氏症、皮質基底核退化症、溶酶體貯積症、抑鬱症、肌肉緊張不足等。

【0323】 本發明之抗體或該抗體片段可治療之腦疾病係根據本發明之抗體或該抗體片段所結合之抗原、及於本發明之融合抗體或融合抗體片段中修飾抗體或該抗體片段之分子的種類等而不同。

【0324】 含有本發明之抗體或該抗體片段之治療劑亦可為僅包含作為有效成分之該抗體或該抗體片段者，但通常與藥理學上所容許之1個以上之載體一併混合，而以藉由製藥學之技術領域中所公知之方法而製造之醫藥製劑的形式提供。

【0325】 作為投予路徑，例如可列舉：經口投予、或者口腔內、呼吸道內、直腸內、皮下、肌內、腦室內、腹腔內投予、皮內投予、經鼻投予、脊椎內投予或靜脈內等非經口投予。作為投予形態，例如可列舉：噴霧劑、膠囊劑、錠劑、散劑、顆粒劑、糖漿劑、乳劑、栓劑、注射劑、軟膏或貼劑等。

【0326】 作為適合經口投予之製劑，可列舉：乳劑、糖漿劑、膠囊劑、錠劑、散劑或顆粒劑等。

【0327】 如乳劑或糖漿劑之液體製備物係使用水、蔗糖、山梨糖醇或果糖等糖類、聚乙二醇或丙二醇等二醇類、芝麻油、橄欖油或大豆油等油類、對羥基苯甲酸酯類等防腐劑或者草莓香料或胡椒薄荷等香料類等作為添加劑而進行製造。

【0328】 膠囊劑、錠劑、散劑或顆粒劑等係使用乳糖、葡萄糖、蔗糖或甘露醇等賦形劑；澱粉或海藻酸鈉等崩解劑；硬脂酸鎂或滑石等潤滑劑；聚乙烯醇、羥丙基纖維素或明膠等結合劑；脂肪酸酯等界面活性劑或者甘油等塑化劑等作為添加劑而進行製造。

【0329】 作為適合非經口投予之製劑，係注射劑、栓劑或噴霧劑等。注射劑係使用包含鹽溶液或葡萄糖溶液、或者上述兩者之混合物之載體等而進行製造。栓劑係使用可可脂、氫化脂肪或羧酸等載體而進行製造。

【0330】 噴霧劑係使用不會刺激接受者之口腔及呼吸道黏膜，且使本發明之抗體或該抗體片段以微細粒子之形式分散而使吸收變得容易的載體等而進行製造。作為載體，例如使用乳糖或甘油等。又，亦可以霧劑或乾粉之形式進行製造。進而，於上述非經口劑中，亦可添加於適合經口投予之製劑中作為添加劑所例示之成分。

【0331】

6. 使用本發明之抗體或該抗體片段之存在於腦中之抗原的檢測或測定方法、或者疾病之診斷方法

使用本發明之抗體或該抗體片段，可檢測或測定CSPG5、或者CSPG5與存在於腦中之抗原。又，藉由檢測或測定CSPG5、或者CSPG5與存在於腦中之抗原，可診斷在腦內表現出CSPG5之動物之腦疾病。

【0332】 作為腦疾病，例如可列舉：阿茲海默症、前驅期阿茲海默症、杭丁頓舞蹈症、帕金森症、腦腫瘤、多發性硬化症、肌肉失養症、肌萎縮性側索硬化症、多系統萎縮症、進行性核上性麻痺、黑質線狀體變性症、橄欖體腦橋小腦萎縮症、脊髓延髓肌肉萎縮症、脊髓小腦退化症、腦血管疾病、癲癇、偏頭痛、過動症、克-亞二氏症、皮質基底核退化症、溶酶體貯積症、抑鬱症、肌肉緊張不足等，本發明之抗體或該抗體片段可診斷之腦疾病係根據本發明之抗體或該抗體片段所結合之抗原、及於本發明之融合抗體或融合抗體片段中修飾抗體或該抗體片段之分子的種類等不同。

【0333】 關於在腦內表現出CSPG5之動物之腦疾病之診斷，例如可藉由免疫學方法，對存在於患者或患病動物之腦內之CSPG5進行檢測或測定而進行。又，可藉由使用流式細胞儀等免疫學方法，對在患者或患病動物之腦內之細胞表現或存在的CSPG5進行檢測而診斷。

【0334】 於使用與CSPG5結合之單價抗體作為本發明之抗體或該抗體片段時，可利用與上述相同之方法測定腦內之CSPG5。於使用與CSPG5及存在於腦中之抗原結合之雙特異性抗體或多特異性抗體作為本發明之抗體或該抗體片段時，可利用與上述相同之方法檢測或測定腦內之CSPG5或存在於腦中之抗原。

【0335】 所謂免疫學方法，係使用施加有標記之抗原或抗體等，對抗體量或抗原量進行檢測或測定之方法。例如使用放射性物質標記免疫抗體法、酵素免疫測定法、螢光免疫測定法、發光免疫測定法、西方墨點法或物理化學方法等。

【0336】 關於放射性物質標記免疫抗體法，例如使抗原或表現出抗

原之細胞等與本發明之抗體或該抗體片段進行反應，進而使施加有放射線標記之抗免疫球蛋白抗體或該抗體片段反應後，利用閃爍計數器等進行測定。

【0337】 關於酵素免疫測定法，例如使抗原或表現出抗原之細胞等與本發明之抗體或該抗體片段進行反應，進而使經酶等施加過標記之抗免疫球蛋白抗體或該抗體片段反應後，添加受質，利用吸光光度計對反應液之吸光度進行測定。例如使用夾層ELISA法等。作為酵素免疫測定法中所使用之標記體，可使用公知[酵素免疫測定法、醫學書院(1987)]之酵素標記。

【0338】 例如使用鹼性磷酸酵素標記、過氧化酵素標記、螢光素酵素標記或生物素標記等。夾層ELISA法係如下方法：使抗體與固相結合後，捕獲作為檢測或測定對象之抗原，使所捕獲之抗原與第2抗體進行反應。

【0339】 於上述ELISA法中，準備會識別欲檢測或測定之抗原，且抗原識別部位不同之2種抗體，之後，預先使第1抗體吸附於培養板(例如96孔板)，繼而利用FITC等螢光物質、過氧化酶等酶或者生物素等預先標記第2抗體。

【0340】 於上述吸附有第1抗體之培養板中，使自體內分離出之細胞或其破碎液、組織或其破碎液、細胞培養上清液、血清、胸水、腹水或眼液等反應後，使第2抗體反應，而進行視標記物質之檢測反應。根據階段性地稀釋濃度已知之抗原所製作之校準曲線，而算出受驗樣品中之抗原濃度。

【0341】 作為用於夾層ELISA法之抗體，可使用多株抗體或單株抗

體中之任一種。又，亦可使用Fab、Fab'或F(ab)₂等抗體片段代替抗體。作為夾層ELISA法中所使用之2種抗體之組合，可為識別不同表位之單株抗體或該抗體片段之組合，亦可為多株抗體與單株抗體或者與該等之抗體片段之組合。

【0342】關於螢光免疫測定法，係利用文獻[Monoclonal Antibodies-Principles and practice, Third edition, Academic Press (1996)、單株抗體實驗指南、Kodansha Scientific (1987)]等所記載之方法進行測定。作為螢光免疫測定法中所使用之標記體，可使用公知[螢光抗體法、Soft science公司(1983)]之螢光標記。例如使用FITC或RITC等。

【0343】關於發光免疫測定法，係利用文獻[生物發光與化學發光臨床檢查42、廣川書店(1998)]等所記載之方法進行測定。作為發光免疫測定法中所使用之標記體，可列舉公知之發光體標記，使用吖啶鎘酯或咯吩等。

【0344】關於西方墨點法，係利用SDS(十二烷基硫酸鈉)-PAGE(聚丙烯醯胺凝膠)[Antibodies - A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory (1988)]區分抗原或表現出抗原之細胞等後，將該凝膠印漬至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜或硝化纖維素膜，使該膜與識別抗原之抗體或該抗體片段進行反應，進而使施加有FITC等螢光物質、過氧化酶等酵素標記或生物素標記等之抗小鼠IgG抗體或結合片段反應後，將該標記進行可視化，藉此進行測定。將一例示於以下。

【0345】使表現出具有CSPG5之胺基酸序列之多肽之細胞或組織溶解，於還原條件下，藉由SDS-PAGE法，將以每區帶之蛋白質量計0.1～

30 μg 進行泳動。將泳動之蛋白質轉移至PVDF膜，於室溫下與包含1～10%BSA之PBS(以下，記載為BSA-PBS)反應30分鐘而進行阻斷操作。

【0346】 此處，使本發明之抗體或該抗體片段反應，利用包含0.05～0.1%之聚氧乙烯山梨醇酐單月桂酸酯(Tween-20)之PBS(以下，記載為Tween-PBS)洗淨，於室溫下，使經過氧化酵素標記之山羊抗小鼠IgG反應2小時。

【0347】 利用Tween-PBS洗淨，使用ECL西方墨點法檢測試劑(Amersham公司製造)等，檢測本發明之抗體或該抗體片段所結合之帶，而檢測具有CSPG5之胺基酸序列之多肽。

【0348】 作為西方墨點法中之檢測所使用之抗體或該抗體片段，可使用可與未保持天然型立體結構之多肽結合之抗體或該抗體片段。

【0349】 關於物理化學方法，例如藉由如下方式進行：使作為抗原之CSPG5與本發明之抗體或該抗體片段結合，藉此形成凝集體，對該凝集體進行檢測。作為除此以外之物理化學方法，亦可使用毛細管法、單向免疫擴散法(single immunodiffusion)、免疫比濁法或乳膠免疫比濁法[臨床檢查法摘要，金原出版(1998)]等。

【0350】 關於乳膠免疫比濁法，係使用使抗體或抗原致敏之粒徑0.1～1 μm 左右之聚苯乙烯乳膠等載體，若藉由相對應之抗原或抗體而引起抗原抗體反應，則反應液中之散射光增加，而透過光減少。將該變化作為吸光度或積分球濁度進行檢測，藉此測定受驗樣品中之抗原濃度等。

【0351】 表現CSPG5之細胞之檢測或測定可使用公知之免疫檢測法，其中，較佳為使用免疫沈降法、免疫細胞染色法、免疫組織染色法或螢光抗體染色法等。

【0352】 免疫沈降法係使表現CSPG5之細胞等與本發明之抗體或該抗體片段反應後，添加對於蛋白G-瓊脂糖凝膠等免疫球蛋白具有特異性結合能力之載體，使抗原抗體複合體沈澱。或者亦可藉由如以下之方法進行。

【0353】 將上述本發明之抗體或該抗體片段固相化至ELISA用96孔板後，藉由BSA-PBS進行阻斷。於抗體為例如融合瘤培養上清液等未被純化之狀態的情形時，事先將抗小鼠免疫球蛋白、抗大鼠免疫球蛋白、蛋白-A或蛋白-G等固相化至ELISA用96孔板，利用BSA-PBS阻斷後，分注融合瘤培養上清液而結合。

【0354】 繼而，去除BSA-PBS，利用PBS充分洗淨後，使表現人類CSPG5之細胞或組織之溶解液進行反應。利用SDS-PAGE用樣品緩衝液，自經充分洗淨後之培養板提取免疫沈澱物，藉由上述之西方墨點法進行檢測。

【0355】 免疫細胞染色法或免疫組織染色法係如下方法：針對表現抗原之細胞或組織等，視情形為了使抗體之通過性變得良好而利用界面活性劑或甲醇等進行處理後，與本發明之抗體進行反應，進而與施加有FITC等螢光標記、過氧化酶等酵素標記或生物素標記等之抗免疫球蛋白抗體或其結合片段進行反應，之後將該標記進行可視化，並利用顯微鏡進行觀察。

【0356】 又，可藉由使螢光標記之抗體與細胞進行反應並利用流式細胞儀進行分析之螢光抗體染色法[Monoclonal Antibodies-Principles and practice, Third edition, Academic Press (1996)、單株抗體實驗指南、Kodansha Scientific (1987)]而進行檢測。尤其是本發明之抗體或該

抗體片段可藉由螢光抗體染色法而檢測保持天然型立體結構並表現之細胞。

【0357】又，於螢光抗體染色法中，使用FMAT8100HTS系統(Applied Biosystems公司製造)等之情形時，可不將所形成之抗體-抗原複合體、與不參與形成抗體-抗原複合體之游離之抗體或抗原分離而測定抗原量或抗體量。

【0358】以下，藉由實施例對本發明具體地進行說明，但本發明並不限定於下述實施例。

實施例

【0359】

[實施例1]抗CSPG5抗體之取得

(1) 利用人類抗體噬菌體庫之抗體之取得

自源自人類PBMC之cDNA，利用PCR擴增VH基因片段及VL基因片段。將VH基因片段及VL基因片段分別插入至噬菌粒載體pCANTAB 5E(Amersham Pharmacia公司製造)，將大腸桿菌TG1(Lucigen公司製造)轉形而獲得質體。使M13KO7輔助噬菌體(Invitrogen公司製造)感染所獲得之質體，藉此獲得VH基因及VL基因得到庫化之人類抗體M13噬菌體庫。

又，同樣地製作向CDR3導入隨機突變所得之合成人類抗體M13噬菌體庫。

【0360】使用該等人類抗體M13噬菌體庫，並使用下述噬菌體顯示法而取得抗CSPG5單株抗體。將下述實施例4之人類CSPG5-FLAG_Fc或小鼠CSPG5-FLAG_Fc固相化至MAXISORP STARTUBE(NUNC公司製

造)，使用SuperBlock阻斷緩衝液(Thermo公司製造)進行阻斷。

【0361】於該試管中使人類抗體M13噬菌體庫於室溫下反應1小時，利用PBS或含有0.1% Tween20之PBS(以下記載為PBS-T)洗淨後，利用0.1 mol/L之甘胺酸-鹽酸鹽緩衝液(Gly-HCl)(pH值2.2)使噬菌體溶出。溶出液係添加三羥甲基胺基甲烷-鹽酸鹽緩衝液(Tris-HCl)(pH值8.5)進行中和。使溶出之噬菌體感染TG1勝任細胞，擴增噬菌體。其後，再次與固相化至MAXISORP STARTUBE之人類CSPG5-FLAG_Fc或小鼠CSPG5-FLAG_Fc進行反應，實施洗淨及溶出。

【0362】反覆該操作，將呈現與人類CSPG5-FLAG_Fc及小鼠CSPG5-FLAG_Fc特異性地結合之scFv之噬菌體進行濃縮。將經濃縮之噬菌體進行單株化，利用ELISA選擇具有對於人類CSPG5-FLAG_Fc及小鼠CSPG5-FLAG_Fc之結合性之純系。

【0363】於ELISA中，將人類CSPG5-FLAG_Fc及小鼠CSPG5-FLAG_Fc固相化至MAXISORP(NUNC公司製造)，使用SuperBlock阻斷緩衝液(Thermo公司製造)進行阻斷。亦準備固相化有Fc之培養板作為陰性對照。

【0364】於各孔中添加各噬菌體純系，於室溫下反應30分鐘後，利用PBS-T將各孔洗淨。繼而，將利用含有10%Block Ace(大日本製藥股份有限公司製造)之PBS-T稀釋經辣根過氧化酵素標記之抗M13抗體(GE healthcare公司製造)所得之溶液添加至各孔中，於室溫下培養30分鐘。利用PBS-T將微盤洗淨3次後，添加3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB)顯色基質液(DAKO公司製造)，於室溫下進行培養。於各孔中添加0.5 mol/L之硫酸而使顯色反應停止，利用微盤讀取器測定波長450 nm(參照波長570 nm)

下之吸光度。

【0365】 針對與人類CSPG5-FLAG_Fc及小鼠CSPG55-FLAG_Fc結合之純系進行序列分析，作為抗CSPG5抗體噬菌粒載體，取得如下15種：pCANTAB_CSPG5115、pCANTAB_CSPG5120、pCANTAB_CSPG5168、pCANTAB_CSPG5201、pCANTAB_CSPG5202、pCANTAB_CSPG5205、pCANTAB_CSPG5206、pCANTAB_CSPG5207、pCANTAB_CSPG5208、pCANTAB_CSPG5214、pCANTAB_CSPG5219、pCANTAB_CSPG5222、pCANTAB_CSPG5227、pCANTAB_CSPG5230及pCANTAB_CSPG5234。

【0366】 將編碼各種抗CSPG5抗體之VH及VL之鹼基序列、以及自該鹼基序列推測之胺基酸序列示於表1。

【0367】

[表1]

純系名	CSPG 5115	C5PG 5120	CSPG 5168	CSPG 5201	CSPG 5202	C5PG 5205	CSPG 5206	CSPG 5207	CSPG 5208	CSPG 5214	CSPG 5219	CSPG 5222	CSPG 5227	CSPG 5230	CSPG 5234
編碼VH(不包含訊息序列)之鹼基序列	序列編號 1	序列編號 11	序列編號 21	序列編號 31	序列編號 41	序列編號 51	序列編號 61	序列編號 71	序列編號 81	序列編號 91	序列編號 101	序列編號 111	序列編號 121	序列編號 131	序列編號 141
VH(不包含訊息序列)之胺基酸序列	序列編號 2	序列編號 12	序列編號 22	序列編號 32	序列編號 42	序列編號 52	序列編號 62	序列編號 72	序列編號 82	序列編號 92	序列編號 102	序列編號 112	序列編號 122	序列編號 132	序列編號 142
HCDR1之胺基酸序列	序列編號 3	序列編號 13	序列編號 23	序列編號 33	序列編號 43	序列編號 53	序列編號 63	序列編號 73	序列編號 83	序列編號 93	序列編號 103	序列編號 113	序列編號 123	序列編號 133	序列編號 143
HCDR2之胺基酸序列	序列編號 4	序列編號 14	序列編號 24	序列編號 34	序列編號 44	序列編號 54	序列編號 64	序列編號 74	序列編號 84	序列編號 94	序列編號 104	序列編號 114	序列編號 124	序列編號 134	序列編號 144
HCDR3之胺基酸序列	序列編號 5	序列編號 15	序列編號 25	序列編號 35	序列編號 45	序列編號 55	序列編號 65	序列編號 75	序列編號 85	序列編號 95	序列編號 105	序列編號 115	序列編號 125	序列編號 135	序列編號 145
編碼VL(不包含訊息序列)之鹼基序列	序列編號 6	序列編號 16	序列編號 26	序列編號 36	序列編號 46	序列編號 56	序列編號 66	序列編號 76	序列編號 86	序列編號 96	序列編號 106	序列編號 116	序列編號 126	序列編號 136	序列編號 146
VL(不包含訊息序列)之胺基酸序列	序列編號 7	序列編號 17	序列編號 27	序列編號 37	序列編號 47	序列編號 57	序列編號 67	序列編號 77	序列編號 87	序列編號 97	序列編號 107	序列編號 117	序列編號 127	序列編號 137	序列編號 147
LCDR1之胺基酸序列	序列編號 8	序列編號 18	序列編號 28	序列編號 38	序列編號 48	序列編號 58	序列編號 68	序列編號 78	序列編號 88	序列編號 98	序列編號 108	序列編號 118	序列編號 128	序列編號 138	序列編號 148
LCDR2之胺基酸序列	序列編號 9	序列編號 19	序列編號 29	序列編號 39	序列編號 49	序列編號 59	序列編號 69	序列編號 79	序列編號 89	序列編號 99	序列編號 109	序列編號 119	序列編號 129	序列編號 139	序列編號 149
LCDR3之胺基酸序列	序列編號 10	序列編號 20	序列編號 30	序列編號 40	序列編號 50	序列編號 60	序列編號 70	序列編號 80	序列編號 90	序列編號 100	序列編號 110	序列編號 120	序列編號 130	序列編號 140	序列編號 150

【0368】**[實施例2]抗體製作****(1) CSPG5 scFv-hG4PE(R409K)表現載體之構建**

為了製作於包含EU編號S228P、L235E及R409K之胺基酸殘基置換之人類IgG4抗體(以下，亦有時簡稱為IgG4修飾體)之Fc區域結合有各抗CSPG5 scFv抗體的scFv-Fc抗體，而構建表現載體。

以噬菌粒載體pCANTAB_CSPG5115為模板，藉由PCR擴增scFv區之基因片段。以重鏈恆定區之合成基因作為模板，藉由PCR擴增鉸鏈-CH2-CH3區之基因片段。將所獲得之基因片段插入至pCI載體(Promega公司製造)，而製作pCI_CSPG5115 scFv-hG4PE(R409K) 載體。

【0369】 利用相同之方法，製作插入有表1所示之各種抗CSPG5抗體之scFv區之基因片段的抗體表現載體，並分別命名為pCI_CSPG5120 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5168 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5201 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5205 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5206 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5207 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5208 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5214 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5219 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5222 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5227 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5230 scFv-hG4PE(R409K)載體、pCI_CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)載體。

【0370】**(2) pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)載體及pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-**

CSPG5202scFv載體之構建

為了製作於人類IgG4修飾體之CL及CH分別結合有抗CSPG5202 scFv抗體之抗體可變區的抗CSPG5202-IgG4抗體、以及於抗AVM-IgG4抗體之C末端側結合有2個抗CSPG5202 scFv抗體之抗AVM-IgG4-CSPG5 dscFv抗體，而構建表現載體。以噬菌粒載體pCANTAB_CSPG5202作為模板，藉由PCR擴增VL及VH之基因片段。以合成基因作為模板，藉由PCR擴增CL及CH之基因片段。將所獲得之基因片段插入至pCI載體 (Promega公司製造)，而製作pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)載體。

【0371】 以抗AVM抗體之可變區作為模板，藉由PCR擴增VL及VH之基因片段，以噬菌粒載體pCANTAB_CSPG5202作為模板，藉由PCR擴增CSPG5202之scFv區之基因片段，以合成基因作為模板，藉由PCR擴增CL及CH1-鉸鏈-CH2-CH3-連接子區之基因片段。

【0372】 將所獲得之基因片段插入至pCI載體(Promega公司製造)，而製作pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv載體。將抗體表現載體之名稱、編碼輕鏈或重鏈之鹼基序列、及自該鹼基序列推測之胺基酸序列示於表2。

【0373】 [表2]

抗體表現載體之名稱	pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)	pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv
編碼輕鏈之鹼基序列 (不包含訊息序列)	序列編號151	序列編號155
輕鏈之胺基酸序列 (不包含訊息序列)	序列編號152	序列編號156
編碼重鏈之鹼基序列 (不包含訊息序列)	序列編號153	序列編號157
重鏈之胺基酸序列 (不包含訊息序列)	序列編號154	序列編號158

【0374】

(3) 抗阿維菌素(Avermectin)抗體之表現載體及pCI_AVM-hLG4PE(R409K)_AVMscFv5載體之構建

製作嵌合抗阿維菌素(AVM)抗體作為陰性對照抗體。用AVM免疫SD大鼠，利用通常之方法確立抗AVM抗體產生融合瘤。以源自該融合瘤之可變區作為模板，藉由PCR擴增VL及VH區域之基因片段。將編碼所合成之人類IgG之 λ 鏈恆定區之鹼基序列及擴增之可變區插入至N5KG4PE載體(國際公開第2002/088186號所記載)，而製作表現載體N5LG4PE_AVM。

【0375】 以合成基因作為模板，藉由PCR擴增CL及CH1-鉸鏈-CH2-CH3-連接子區域之基因片段。又，以N5LG4PE_AVM作為模板，藉由PCR擴增AVM之VH區域、VL區域之基因片段。將所獲得之基因片段插入至pCI載體(Promega公司製造)，而製作pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-AVMscFv5載體。

【0376】

(4) 抗體之製備

使用Expi293(商標)表現系統(Thermo Fisher Scientific公司製造)，將抗體表現質體載體導入至Expi293F細胞(Thermo Fisher Scientific公司製造)並進行培養，利用短暫性表現系統表現出抗體。於載體導入3~4天後回收培養上清液，利用孔徑0.22 μ m之膜過濾器(MILLIPORE公司製造)進行過濾。使用蛋白A(ProteinA)樹脂(MabSelect SuRe、GE healthcare Bioscience公司製造)將該培養上清液中之抗體蛋白質進行親和純化。使用磷酸緩衝液作為洗淨液。藉由20 mM檸檬酸鈉及50 mM NaCl緩衝液(pH值3.4)使蛋白A所吸附之蛋白質溶出，回收至包含1 mol/L Tris-

HCl(pH值8.0)之試管中。繼而，藉由使用Amicon Ultra(MILLIPORE公司製造)之超過濾及NAP管柱(GE healthcare Bioscience公司製造)，將溶出液之溶劑置換為PBS。利用孔徑0.22 μm 之膜過濾器(MILLIPORE公司製造)對所獲得之溶液進行過濾殺菌。測定抗體溶液之280 nm之吸光度，算出純化抗體之濃度。

【0377】 將使實施例2(1)中所製作之載體表現而獲得之抗CSPG5 scFv-Fc抗體分別命名為CSPG5115 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5120 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5168 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5201 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5205 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5206 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5207 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5208 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5214 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5219 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5222 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5227 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5230 scFv-hG4PE(R409K)及CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)。

【0378】 將使實施例2(2)中所製作之pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)載體表現而獲得之抗CSPG5-IgG4抗體命名為CSPG5202 IgG4PE(R409K)，將使pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv載體表現而獲得之抗AVM-IgG4-CSPG5 dscFv雙特異性抗體命名為AVM IgG4PE(R409K)_CSPG5202 dscFv。又，將使實施例2(3)中所製作之N5LG4PE_AVM表現而獲得之抗AVM-IgG4抗體及使實施例2(3)中所製作之pCI_AVM-hLG4PE(R409K)_AVMscFv5載體表現而獲得之抗AVM-IgG4_AVM dscFv雙特異性抗體分別命名為抗AVM抗體、AVM IgG4PE(R409K)_AVM dscFv5。

【0379】

[實施例3]對於CSPG5表現細胞之反應性分析

將編碼人類CSPG5之鹼基序列示於序列編號159，將自該鹼基序列推測之胺基酸序列示於序列編號160，將編碼小鼠CSPG5之鹼基序列示於序列編號161，將自該鹼基序列推測之胺基酸序列示於序列編號162，將編碼猴CSPG5之鹼基序列示於序列編號163，將自該鹼基序列推測之胺基酸序列示於序列編號164。

【0380】 合成人類CSPG5、小鼠CSPG5及猴CSPG5之全長基因序列，將各基因序列插入至pEF6/V5-His(Thermo Fisher Scientific公司製造)載體之BamHI-NotI位點，藉此製作各種CSPG5之膜表現用質體載體pEF6_人類CSPG5、pEF6_小鼠CSPG5及pEF6_猴CSPG5。

【0381】 使用FreeStyle(商標)293表現系統(Thermo Fisher Scientific公司製造)，將各種膜型CSPG5抗原表現載體導入至Expi293F細胞並進行培養，利用短暫性表現系統表現出膜型抗原。使用上述細胞，依據以下之程序並藉由螢光激活細胞分選(FACS)法，分析實施例2中所製作之抗體對於CSPG5表現細胞之反應性。

【0382】 使Expi293F細胞、人類CSPG5/Expi293F細胞、小鼠CSPG5/Expi293F細胞、及猴CSPG5/Expi293F細胞分別於含有0.1%NaN₃、1% FBS之PBS之染色緩衝液(Staining Buffer)(SB)中懸浮，分注至96孔圓底培養板(Becton Dickinson公司製造)中。離心分離(2000 rpm、4℃、2分鐘)後，去除上清液，向沈澱物(pellet)添加實施例2中所獲得之10 µg/mL之各抗體，懸浮後，於冰溫下靜置30分鐘。進而進行離心分離(2000 rpm、4℃、2分鐘)，去除上清液，利用SB將沈澱物(pellet)洗

淨後，添加1 μg/mL之RPE螢光標記山羊抗人類抗體(Southern Bioblot公司製造)，於冰溫下培養30分鐘。利用SB洗淨後，於SB中懸浮，利用流式細胞儀FACS CANTO II(Becton Dickinson公司製造)測定各細胞之螢光強度。再者，使用10 μg/mL之抗AVM抗體作為陰性對照。

【0383】 對檢測結果進行分析，利用幾何平均(geometric mean)算出平均螢光強度(mean fluorescence intensity；MFI)。進而，關於各抗體10 μg/mL濃度時之MFI，算出人類CSPG5/Expi293F細胞與Expi293F細胞(母株)之比率(平均螢光強度比)。利用相同之程序，關於猴CSPG5/Expi293F細胞及小鼠CSPG5/Expi293F細胞，亦算出Expi293F細胞(母株)之平均螢光強度比，將結果示於表3。

【0384】 [表3]

	平均螢光強度比		
	人類CSPG5表現細胞/母株	猴CSPG5表現細胞/母株	小鼠CSPG5表現細胞/母株
抗AVM抗體	0.93	1.00	0.94
CSPG5115scFv-hG4PE(R409K)	3.24	3.56	3.44
CSPG5120scFv-hG4PE(R409K)	18.48	8.01	20.37
CSPG5168scFv-hG4PE(R409K)	5.46	3.36	5.81
CSPG5201scFv-hG4PE(R409K)	2.41	1.73	2.95
CSPG5202scFv-hG4PE(R409K)	6.16	3.69	5.39
CSPG5205scFv-hG4PE(R409K)	28.50	9.58	30.14
CSPG5206scFv-hG4PE(R409K)	4.31	3.40	4.50
CSPG5207scFv-hG4PE(R409K)	4.23	3.87	4.19
CSPG5208scFv-hG4PE(R409K)	16.85	6.96	16.55
CSPG5214scFv-hG4PE(R409K)	2.15	4.03	2.28
CSPG5219scFv-hG4PE(R409K)	4.75	5.74	4.87
CSPG5222scFv-hG4PE(R409K)	2.52	2.82	2.94
CSPG5227scFv-hG4PE(R409K)	5.29	4.09	10.01
CSPG5230scFv-hG4PE(R409K)	3.35	4.45	3.56
CSPG5234scFv-hG4PE(R409K)	14.10	10.43	14.32

【0385】 如表3所示，於所有抗CSPG5抗體中，平均螢光強度比相

對於作為陰性對照之抗AVM抗體增加，對於人類CSPG5/Expi293F細胞、小鼠CSPG5/Expi293F細胞及猴CSPG5/Expi293F細胞顯示出反應性。因此，明確抗CSPG5抗體識別人類CSPG5、小鼠CSPG5及猴CSPG5全部並結合。

【0386】又，關於CSPG5202 IgG4PE(R409K)、CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)及AVM IgG4PE(R409K)_CSPG5202 dscFv，利用相同之程序，對於Expi293F細胞、人類CSPG5/Expi293F細胞、猴CSPG5/Expi293F細胞及小鼠CSPG5/Expi293F細胞分析反應性，結果明確，平均螢光強度比相對於作為陰性對照之抗AVM抗體增加，並與人類CSPG5/Expi293F細胞、小鼠CSPG5/Expi293F細胞及猴CSPG5/Expi293F細胞進行反應。

【0387】

[實施例4]可溶型CSPG5抗原之製作

(1)FLAG_Fc所結合之CSPG5之細胞外區域蛋白質之製作

利用以下所記載之方法，製作於C末端附加有FLAG_Fc之CSPG5之細胞外區域蛋白質作為人類CSPG5及小鼠CSPG5之可溶性抗原。將人類及小鼠CSPG5之細胞外區域之合成基因、及FLAG_Fc之合成基因插入至pCI載體(Promega公司製造)，藉此製作表現於C末端側附加有FLAG_Fc之人類及小鼠CSPG5之細胞外區域之質體載體pCI-人類CSPG5-FLAG_Fc及pCI-小鼠CSPG5-FLAG_Fc。

【0388】將人類CSPG5-FLAG_Fc之鹼基序列示於序列編號165，將自該鹼基序列推測之胺基酸序列示於序列編號166，將小鼠CSPG5-FLAG_Fc之鹼基序列示於序列編號167，將自該鹼基序列推測之胺基酸序

列示於序列編號168。

【0389】 使用Expi293(商標)表現系統(Thermo Fisher Scientific公司製造)，將pCI-人類CSPG5-FLAG_Fc及pCI-小鼠CSPG5-FLAG_Fc分別導入至Expi293F細胞並進行培養，利用短暫性表現系統使蛋白質表現，並利用與實施例2相同之方法進行純化。溶液中之經純化之人類及小鼠CSPG5-FLAG-Fc蛋白質之濃度係藉由280 nm之吸光度所測得。

【0390】

(2)GST所結合之CSPG5之細胞外區域蛋白質之製作

利用以下所記載之方法，製作於C末端附加有GST之CSPG5之細胞外區域蛋白質作為人類CSPG5及小鼠CSPG5之可溶性抗原。將人類及/或小鼠CSPG5之細胞外區域之合成基因、及GST之合成基因插入至pCI載體(Promega公司製造)，而分別製作表現於C末端側附加有GST之人類及小鼠CSPG5之細胞外區域之質體載體pCI-人類CSPG5-GST及pCI-小鼠CSPG5-GST。

【0391】 將人類CSPG5-GST之鹼基序列示於序列編號169，將自該鹼基序列推測之胺基酸序列示於序列編號170，將小鼠CSPG5-GST之鹼基序列示於序列編號171，將自該鹼基序列推測之胺基酸序列示於序列編號172。

【0392】 使用Expi293(商標)表現系統(Thermo Fisher Scientific公司製造)，將pCI-人類CSPG5-GST及pCI-小鼠CSPG5-GST分別導入至Expi293F細胞並進行培養，利用短暫性表現系統表現出蛋白質。於載體導入3~4天後回收培養上清液，利用孔徑0.22 μm 之膜過濾器(MILLIPORE公司製造)進行過濾。

【0393】 使用麩胱甘肽瓊脂糖凝膠(Glutathione Sepharose)4B(GE healthcare Bioscience公司製造)，將該培養上清液中之蛋白質進行親和純化。使用磷酸緩衝液作為洗淨液。藉由50 mmol/L Tris-HCl、10 mmol/L 還原型谷胱甘肽(pH值8.0)使麩胱甘肽瓊脂糖凝膠(Glutathione Sepharose)4B所吸附之蛋白質溶出。

【0394】 繼而，藉由使用Amicon Ultra(MILLIPORE公司製造)之超過濾及NAP管柱(GE healthcare Bioscience公司製造)而將溶液中之溶劑置換為PBS。利用孔徑0.22 μm之膜過濾器(MILLIPORE公司製造)對所獲得之溶液進行過濾殺菌。溶液中之純化之人類及小鼠CSPG5-GST蛋白質之濃度係藉由280 nm之吸光度而測得。

【0395】

[實施例5]藉由表面電漿子共振檢測評價對於CSPG5之結合性

使用Biacore T-100(GE Healthcare)測定實施例2中所製作之抗CSPG5抗體、CSPG5202 IgG4PE(R409K)及AVM IgG4PE(R409K)_CSPG5202 dscFv對於人類CSPG5及小鼠CSPG5之親和性。

【0396】 使用人類抗體捕捉套組，將各抗體固定化至CM5感測器晶片上，將實施例4中所製作之人類CSPG5-GST及小鼠CSPG5-GST作為分析物而評價結合能力。針對所獲得之感測器圖譜，藉由BIA測評軟體進行分析，藉此算出解離常數解離常數(K_D 值)。

【0397】 所有抗體之與人類CSPG5之解離常數為 1×10^{-8} mol/L以下，除CSPG5214 scFv-hG4PE(R409K)以外，16種抗體之解離常數為 1×10^{-9} mol/L以下。根據該等結果顯示出，所有抗體為與人類CSPG5具有

較高親和性之抗體。

【0398】 又，所有抗體之與小鼠CSPG5之解離常數為 1×10^{-8} mol/L 以下。根據該等結果顯示出，所有抗體為不僅與人類CSPG5具有較高親和性，亦與小鼠CSPG5具有較高親和性之抗體。

【0399】

[實施例6]小鼠腦轉移性評價

(1) 抗體量測定

將各抗體以9 mg/kg體重投予至小鼠之尾靜脈(i.v.)，於3天後及9天後進行採血。於採血之同日在麻醉下進行全身灌注後，回收腦組織，對其重量進行測定。

【0400】 又，向所回收之腦組織添加緩衝液溶液，進行均質化，並離心分離後，回收溶出至上清液中之抗體溶液。測定其體積，並且利用AlphaLISA(PerkinElmer公司製造)測定抗體濃度，算出每單位腦重量之抗體量。再者，標準曲線係使用套組附帶之抗體所製作。

【0401】 將投予抗體3天後之血清中抗體濃度示於圖1(A)，將腦組織中之每單位腦重量之抗體量示於圖1(B)，將投予抗體9天後之血清中抗體濃度示於圖1(C)，將腦組織中之每單位腦重量之抗體量示於圖1(D)。

【0402】 如圖1(A)及(C)所示，抗CSPG5 scFv-Fc抗體與陰性對照(抗AVM-IgG4抗體)相比，投予抗體3天後及9天後血清中濃度並無差異。另一方面，如圖1(B)所示，顯示出抗CSPG5 scFv-Fc抗體之腦內抗體量與陰性對照相比，提昇至約4~17倍。又，如圖1(D)所示，顯示出抗CSPG5 scFv-Fc抗體；CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)之腦內抗體量即便於投予抗體9天後，與陰性對照相比，亦提昇至約10倍。

【0403】 繼而，表示在與上述不同之條件下實施之試驗方法及其結果。將各抗體以35 nmol/kg體重投予至小鼠之尾靜脈(i.v.)，於7天後進行採血。於採血之同日在麻醉下進行全身灌注後，回收腦組織，對其重量進行測定。又，向所回收之腦組織添加緩衝液溶液，進行均質化，並離心分離後，回收溶出至上清液中之抗體溶液。測定其體積，並且利用AlphaLISA(PerkinElmer公司製造)測定抗體濃度，算出每單位腦重量之抗體量。抗體濃度表示根據莫耳濃度，以單株抗體之分子量(150 kDa)換算所得之值。再者，標準曲線係使用各抗體所製作。

【0404】 將 抗CSPG5 scFv-Fc抗體；CSPG5227 scFv-hG4PE(R409K)之血清中抗體濃度示於圖2(A)，將腦組織中之每單位腦重量之抗體量示於圖2(B)。顯示出與陰性對照(抗AVM-IgG4抗體)相比，腦內之抗體量增加。

【0405】 又，將 抗CSPG5 scFv-Fc抗體；CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)及抗CSPG5-IgG4抗體；CSPG5202 IgG4PE(R409K)之血清中抗體濃度示於圖3(A)，將腦組織中之每單位腦重量之抗體量示於圖3(B)。

【0406】 如圖3(B)所示，顯示出與陰性對照(抗AVM-IgG4抗體)相比，抗CSPG5 scFv-Fc抗體；CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)之腦內抗體量提昇至約10倍，抗CSPG5-IgG4抗體；CSPG5202 IgG4PE(R409K)之腦內抗體量提昇至約5倍。

【0407】 進而，將抗AVM-IgG4-AVM dscFv雙特異性抗體；AVM IgG4PE(R409K)_AVM dscFv5、及抗AVM-IgG4-CSPG5 dscFv雙特異性抗體；AVM IgG4PE(R409K)_CSPG5202 dscFv之血清中抗體濃度示於圖

3(C)，將每單位腦重量之腦組織中之抗體量示於圖3(D)。

【0408】如圖3(D)所示，顯示出與雙特異性抗體之陰性對照即AVM IgG4PE(R409K)_AVM dscFv5相比，抗AVM-IgG4-CSPG5 dscFv雙特異性抗體；AVM IgG4PE(R409K)_CSPG5202 dscFv之腦內抗體量增加。據此顯示，與CSPG5結合之雙特異性抗體較未與CSPG5結合之雙特異性抗體，可提高腦內抗體量。

【0409】

(2) 成像分析

針對抗CSPG5 scFv-Fc抗體及陰性對照(抗AVM-IgG4抗體)，利用Alexa FluorR 488蛋白質標記套組(Molecular Probes公司製造)進行標記。將標記後之各抗體以9 mg/kg體重投予至小鼠之尾靜脈(i.v.)，於9天後進行採血。

【0410】於採血後在麻醉下進行全身灌注後，回收腦組織，利用IVIS Spectrum(珀金埃爾默公司製造)測定螢光強度。將投予抗體9天後之腦成像圖像示於圖4(A)。將腦中螢光量經投予抗體之螢光強度修正所得之值相對於陰性對照之比示於圖4(B)。

【0411】如圖4(B)所示，顯示出所有抗CSPG5 scFv-Fc抗體與陰性對照相比，均將腦內抗體量提昇至數倍。其中，於抗CSPG5 scFv-Fc抗體；CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)中，如圖4(B)所示，顯示出腦內抗體量提昇至約20倍，如圖4(A)所示，顯示出抗體之分佈遍及腦內全域。

【0412】

[實施例7]抗體內化之評價

使用HilyMax(同仁化學公司製造)，將實施例3中所製作之pEF6_人

類CSPG5導入至源自小鼠結合組織之纖維芽細胞L929[American Type Culture Collection(ATCC)編號：CCL-1]。藉由抗生素殺稻瘟菌素(Blasticidin)(Invitrogen公司製造)選拔基因導入後之細胞後，進行利用極限稀釋法之選殖，而製作於細胞表面表現出人類CSPG5之L929細胞(以下，簡寫為人類CSPG5/L929 # 09)。

【0413】 利用以下所示之方法分析實施例2中所製作之抗體之內化能力。將人類CSPG5/L929 # 09或人類腹部神經胚芽細胞瘤IMR-32[The European Collection of Authenticated Cell Cultures (ECACC)編號：86041809]以 5×10^3 cells/well接種至96孔培養板，於37°C下接著一夜。

【0414】 添加以最終濃度自1 $\mu\text{g/mL}$ 成為100 fg/mL 之範圍之方式經稀釋之抗體、及以最終濃度成為1 $\mu\text{g/mL}$ 之方式經稀釋之皂素標記抗IgG抗體[Hum-ZAP(Advanced Targeting Systems公司製造)]。人類CSPG5/L929 # 09係於48小時後，IMR-32係於72小時後，使用細胞增殖套組II(XTT檢定)(Roche Diagnostics社製)而檢測活細胞。將XTT標記試劑與電子偶合試劑進行混合，以50 $\mu\text{L/well}$ 進行添加。進行4小時反應後，測定於波長490 nm(參照波長630 nm)下之吸光度。於圖5中表示hCSPG5/L929 # 09之資料，於圖6中表示IMR-32之資料。

【0415】 如圖5所示，顯示出CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5219 scFv-hG4PE(R409K)及CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)與陰性對照抗體相比，對於強制表現出CSPG5之L929細胞，抗體濃度依賴性地顯著誘導細胞死亡。

【0416】 又，如圖6所示，顯示出即便於原本表現出CSPG5之IMR-32細胞中，CSPG5202 scFv-hG4PE(R409K)、CSPG5219 scFv-

hG4PE(R409K)及CSPG5234 scFv-hG4PE(R409K)與陰性對照抗體相比，亦抗體濃度依賴性地顯著誘導細胞死亡。

【0417】如上所述，CSPG5結合抗體於強制表現株及細胞株中均與細胞膜上表現之CSPG5結合，確認到內化。

【0418】已使用特定態樣對本發明詳細地進行了說明，但業者明確，能夠不脫離本發明之意圖與範圍而進行各種變更及變化。再者，本申請案係基於2018年6月26日提出申請之日本專利申請(特願2018-120476號)，且藉由引用將其全部內容援用於本文中。

[序列表非關鍵文字]

【0419】序列編號1-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5115之VH之鹼基序列

序列編號2-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5115之VH之胺基酸序列

序列編號3-人工序列之說明：CSPG5115之HCDR1之胺基酸序列

序列編號4-人工序列之說明：CSPG5115之HCDR2之胺基酸序列

序列編號5-人工序列之說明：CSPG5115之HCDR3之胺基酸序列

序列編號6-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5115之VL之鹼基序列

序列編號7-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5115之VL之胺基酸序列

序列編號8-人工序列之說明：CSPG5115之LCDR1之胺基酸序列

序列編號9-人工序列之說明：CSPG5115之LCDR2之胺基酸序列

序列編號10-人工序列之說明：CSPG5115之LCDR3之胺基酸序列

序列編號11-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5120之VH之鹼基序列

序列編號12-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5120之VH之胺基酸序列

序列編號13-人工序列之說明：CSPG5120之HCDR1之胺基酸序列

序列編號14-人工序列之說明：CSPG5120之HCDR2之胺基酸序列

序列編號15-人工序列之說明：CSPG5120之HCDR3之胺基酸序列

序列編號16-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5120之VL之鹼基序列

序列編號17-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5120之VL之胺基酸序列

序列編號18-人工序列之說明：CSPG5120之LCDR1之胺基酸序列

序列編號19-人工序列之說明：CSPG5120之LCDR2之胺基酸序列

序列編號20-人工序列之說明：CSPG5120之LCDR3之胺基酸序列

序列編號21-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5168之VH之鹼基序列

序列編號22-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5168之VH之胺基酸序列

序列編號23-人工序列之說明：CSPG5168之HCDR1之胺基酸序列

序列編號24-人工序列之說明：CSPG5168之HCDR2之胺基酸序列

序列編號25-人工序列之說明：CSPG5168之HCDR3之胺基酸序列

序列編號26-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5168之VL之鹼基序列

序列編號27-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5168之VL之
胺基酸序列

序列編號28-人工序列之說明：CSPG5168之LCDR1之胺基酸序列

序列編號29-人工序列之說明：CSPG5168之LCDR2之胺基酸序列

序列編號30-人工序列之說明：CSPG5168之LCDR3之胺基酸序列

序列編號31-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5201之
VH之鹼基序列

序列編號32-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5201之VH之
胺基酸序列

序列編號33-人工序列之說明：CSPG5201之HCDR1之胺基酸序列

序列編號34-人工序列之說明：CSPG5201之HCDR2之胺基酸序列

序列編號35-人工序列之說明：CSPG5201之HCDR3之胺基酸序列

序列編號36-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5201之
VL之鹼基序列

序列編號37-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5201之VL之
胺基酸序列

序列編號38-人工序列之說明：CSPG5201之LCDR1之胺基酸序列

序列編號39-人工序列之說明：CSPG5201之LCDR2之胺基酸序列

序列編號40-人工序列之說明：CSPG5201之LCDR3之胺基酸序列

序列編號41-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5202之
VH之鹼基序列

序列編號42-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5202之VH之
胺基酸序列

序列編號43-人工序列之說明：CSPG5202之HCDR1之胺基酸序列

序列編號44-人工序列之說明：CSPG5202之HCDR2之胺基酸序列

序列編號45-人工序列之說明：CSPG5202之HCDR3之胺基酸序列

序列編號46-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5202之VL之鹼基序列

序列編號47-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5202之VL之胺基酸序列

序列編號48-人工序列之說明：CSPG5202之LCDR1之胺基酸序列

序列編號49-人工序列之說明：CSPG5202之LCDR2之胺基酸序列

序列編號50-人工序列之說明：CSPG5202之LCDR3之胺基酸序列

序列編號51-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5205之VH之鹼基序列

序列編號52-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5205之VH之胺基酸序列

序列編號53-人工序列之說明：CSPG5205之HCDR1之胺基酸序列

序列編號54-人工序列之說明：CSPG5205之HCDR2之胺基酸序列

序列編號55-人工序列之說明：CSPG5205之HCDR3之胺基酸序列

序列編號56-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5205之VL之鹼基序列

序列編號57-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5205之VL之胺基酸序列

序列編號58-人工序列之說明：CSPG5205之LCDR1之胺基酸序列

序列編號59-人工序列之說明：CSPG5205之LCDR2之胺基酸序列

序列編號60-人工序列之說明：CSPG5205之LCDR3之胺基酸序列

序列編號61-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5206之VH之鹼基序列

序列編號62-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5206之VH之胺基酸序列

序列編號63-人工序列之說明：CSPG5206之HCDR1之胺基酸序列

序列編號64-人工序列之說明：CSPG5206之HCDR2之胺基酸序列

序列編號65-人工序列之說明：CSPG5206之HCDR3之胺基酸序列

序列編號66-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5206之VL之鹼基序列

序列編號67-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5206之VL之胺基酸序列

序列編號68-人工序列之說明：CSPG5206之LCDR1之胺基酸序列

序列編號69-人工序列之說明：CSPG5206之LCDR2之胺基酸序列

序列編號70-人工序列之說明：CSPG5206之LCDR3之胺基酸序列

序列編號71-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5207之VH之鹼基序列

序列編號72-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5207之VH之胺基酸序列

序列編號73-人工序列之說明：CSPG5207之HCDR1之胺基酸序列

序列編號74-人工序列之說明：CSPG5207之HCDR2之胺基酸序列

序列編號75-人工序列之說明：CSPG5207之HCDR3之胺基酸序列

序列編號76-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5207之

VL之鹼基序列

序列編號77-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5207之VL之胺基酸序列

序列編號78-人工序列之說明：CSPG5207之LCDR1之胺基酸序列

序列編號79-人工序列之說明：CSPG5207之LCDR2之胺基酸序列

序列編號80-人工序列之說明：CSPG5207之LCDR3之胺基酸序列

序列編號81-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5208之

VH之鹼基序列

序列編號82-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5208之VH之胺基酸序列

序列編號83-人工序列之說明：CSPG5208之HCDR1之胺基酸序列

序列編號84-人工序列之說明：CSPG5208之HCDR2之胺基酸序列

序列編號85-人工序列之說明：CSPG5208之HCDR3之胺基酸序列

序列編號86-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5208之

VL之鹼基序列

序列編號87-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5208之VL之胺基酸序列

序列編號88-人工序列之說明：CSPG5208之LCDR1之胺基酸序列

序列編號89-人工序列之說明：CSPG5208之LCDR2之胺基酸序列

序列編號90-人工序列之說明：CSPG5208之LCDR3之胺基酸序列

序列編號91-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5214之

VH之鹼基序列

序列編號92-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5214之VH之

胺基酸序列

序列編號93-人工序列之說明：CSPG5214之HCDR1之胺基酸序列

序列編號94-人工序列之說明：CSPG5214之HCDR2之胺基酸序列

序列編號95-人工序列之說明：CSPG5214之HCDR3之胺基酸序列

序列編號96-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5214之

VL之鹼基序列

序列編號97-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5214之VL之

胺基酸序列

序列編號98-人工序列之說明：CSPG5214之LCDR1之胺基酸序列

序列編號99-人工序列之說明：CSPG5214之LCDR2之胺基酸序列

序列編號100-人工序列之說明：CSPG5214之LCDR3之胺基酸序列

序列編號101-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5219之

VH之鹼基序列

序列編號102-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5219之VH

之胺基酸序列

序列編號103-人工序列之說明：CSPG5219之HCDR1之胺基酸序列

序列編號104-人工序列之說明：CSPG5219之HCDR2之胺基酸序列

序列編號105-人工序列之說明：CSPG5219之HCDR3之胺基酸序列

序列編號106-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5219之

VL之鹼基序列

序列編號107-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5219之VL

之胺基酸序列

序列編號108-人工序列之說明：CSPG5219之LCDR1之胺基酸序列

序列編號109-人工序列之說明：CSPG5219之LCDR2之胺基酸序列

序列編號110-人工序列之說明：CSPG5219之LCDR3之胺基酸序列

序列編號111-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5222之
VH之鹼基序列

序列編號112-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5222之VH
之胺基酸序列

序列編號113-人工序列之說明：CSPG5222之HCDR1之胺基酸序列

序列編號114-人工序列之說明：CSPG5222之HCDR2之胺基酸序列

序列編號115-人工序列之說明：CSPG5222之HCDR3之胺基酸序列

序列編號116-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5222之
VL之鹼基序列

序列編號117-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5222之VL
之胺基酸序列

序列編號118-人工序列之說明：CSPG5222之LCDR1之胺基酸序列

序列編號119-人工序列之說明：CSPG5222之LCDR2之胺基酸序列

序列編號120-人工序列之說明：CSPG5222之LCDR3之胺基酸序列

序列編號121-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5227之
VH之鹼基序列

序列編號122-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5227之VH
之胺基酸序列

序列編號123-人工序列之說明：CSPG5227之HCDR1之胺基酸序列

序列編號124-人工序列之說明：CSPG5227之HCDR2之胺基酸序列

序列編號125-人工序列之說明：CSPG5227之HCDR3之胺基酸序列

序列編號126-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5227之VL之鹼基序列

序列編號127-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5227之VL之胺基酸序列

序列編號128-人工序列之說明：CSPG5227之LCDR1之胺基酸序列

序列編號129-人工序列之說明：CSPG5227之LCDR2之胺基酸序列

序列編號130-人工序列之說明：CSPG5227之LCDR3之胺基酸序列

序列編號131-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5230之VH之鹼基序列

序列編號132-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5230之VH之胺基酸序列

序列編號133-人工序列之說明：CSPG5230之HCDR1之胺基酸序列

序列編號134-人工序列之說明：CSPG5230之HCDR2之胺基酸序列

序列編號135-人工序列之說明：CSPG5230之HCDR3之胺基酸序列

序列編號136-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5230之VL之鹼基序列

序列編號137-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5230之VL之胺基酸序列

序列編號138-人工序列之說明：CSPG5230之LCDR1之胺基酸序列

序列編號139-人工序列之說明：CSPG5230之LCDR2之胺基酸序列

序列編號140-人工序列之說明：CSPG5230之LCDR3之胺基酸序列

序列編號141-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5234之VH之鹼基序列

序列編號142-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5234之VH之胺基酸序列

序列編號143-人工序列之說明：CSPG5234之HCDR1之胺基酸序列

序列編號144-人工序列之說明：CSPG5234之HCDR2之胺基酸序列

序列編號145-人工序列之說明：CSPG5234之HCDR3之胺基酸序列

序列編號146-人工序列之說明：不包含訊息序列之編碼CSPG5234之VL之鹼基序列

序列編號147-人工序列之說明：不包含訊息序列之CSPG5234之VL之胺基酸序列

序列編號148-人工序列之說明：CSPG5234之LCDR1之胺基酸序列

序列編號149-人工序列之說明：CSPG5234之LCDR2之胺基酸序列

序列編號150-人工序列之說明：CSPG5234之LCDR3之胺基酸序列

序列編號151-人工序列之說明：編碼pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)之輕鏈(不包含訊息序列)之鹼基序列

序列編號152-人工序列之說明：pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)之輕鏈(不包含訊息序列)之胺基酸序列

序列編號153-人工序列之說明：編碼pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)之重鏈(不包含訊息序列)之鹼基序列

序列編號154-人工序列之說明：pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)之重鏈(不包含訊息序列)之胺基酸序列

序列編號155-人工序列之說明：編碼pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv之輕鏈(不包含訊息序列)之鹼基序列

序列編號156-人工序列之說明：pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-

CSPG5202scFv之輕鏈(不包含訊息序列)之胺基酸序列

序列編號157-人工序列之說明：編碼pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-

CSPG5202scFv之重鏈(不包含訊息序列)之鹼基序列

序列編號158-人工序列之說明：pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-

CSPG5202scFv之重鏈(不包含訊息序列)之胺基酸序列

序列編號159-人工序列之說明：編碼人類CSPG5(包含訊息序列)之

鹼基序列

序列編號160-人工序列之說明：人類CSPG5(包含訊息序列)之胺基

酸序列

序列編號161-人工序列之說明：編碼小鼠CSPG5(包含訊息序列)之

鹼基序列

序列編號162-人工序列之說明：小鼠CSPG5(包含訊息序列)之胺基

酸序列

序列編號163-人工序列之說明：編碼猴CSPG5(包含訊息序列)之鹼

基序列

序列編號164-人工序列之說明：猴CSPG5(包含訊息序列)之胺基酸

序列

序列編號165-人工序列之說明：編碼人類CSPG5-FLAG_Fc(包含訊

息序列)之鹼基序列

序列編號166-人工序列之說明：人類CSPG5-FLAG_Fc(包含訊息序

列)之胺基酸序列

序列編號167-人工序列之說明：編碼小鼠CSPG5-FLAG_Fc(包含訊

息序列)之鹼基序列

序列編號168-人工序列之說明：小鼠CSPG5-FLAG_Fc(包含訊息序

列)之胺基酸序列

序列編號169-人工序列之說明：編碼人類CSPG5-GST(包含訊息序列)之鹼基序列

序列編號170-人工序列之說明：人類CSPG5-GST(包含訊息序列)之胺基酸序列

序列編號171-人工序列之說明：編碼小鼠CSPG5-GST(包含訊息序列)之鹼基序列

序列編號172-人工序列之說明：小鼠CSPG5-GST(包含訊息序列)之胺基酸序列

【序列表】

<110> 日商協和麒麟股份有限公司 (KYOWA KIRIN CO., LTD.)
國立大學法人鹿兒島大學(KAGOSHIMA UNIVERSITY)

<120> 與硫酸軟骨蛋白多醣-5結合之抗體

<130> W527297

<140> TW 108122349

<141> 2019-06-26

<150> JP2018-120476

<151> 2018-06-26

<160> 172

<170> PatentIn第3.5版

<210> 1

<211> 375

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5115之VH之鹼基序列

<400> 1

gagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc actgaaggtc	60
tccgtgcaagg cttctggata cagcttcact gactatatta tacattgggt gcgccaggcc	120
cccgacaaa gtcttgagtg gatgggatgg atcaacggtg gcagtggtgt cccaaaatat	180
tcagacaagt tccagggcag agtcaccatt accagagaca catccgcgaa cacagcctac	240
atggagattc gtagcctggg atctgaagac acggtgtgtg attactgtgc gagagggggg	300
gtttgtagtg gcgataagtg ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg	360
gtcaccgtct cctca	375

<210> 2

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5115之VH之胺基酸序列

<400> 2

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Gly Gly Ser Gly Val Pro Lys Tyr Ser Asp Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Ile Arg Ser Leu Gly Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Val Cys Ser Gly Asp Lys Cys Tyr Tyr Tyr Gly Met
 100 105 110

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

- <210> 3
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5115之HCDR1之胺基酸序列

<400> 3

Asp Tyr Ile Ile His
1 5

<210> 4

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5115之HCDR2之胺基酸序列

<400> 4

Trp Ile Asn Gly Gly Ser Gly Val Pro Lys Tyr Ser Asp Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 5
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5115之HCDR3之胺基酸序列

<400> 5

Gly Gly Val Cys Ser Gly Asp Lys Cys Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 6
<211> 315
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5115之VL之鹼基序列

<400> 6
cagtctgtgt tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
accgtttctg gagataaatt gggggataaa tatagttggg ggtatcaaca gaagcctggc 120
cagtcccttc tatttggtcat ccatcaagat aacaagcggc cctcagggat cctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcgtcgggac ccaggctatg 240

gatgaggctg actattactg ccaggcgtgg gaccgcggcg tggattcgg cggagggacc300

aagctgaccg tccta315

<210> 7

<211> 105

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5115之VL之胺基酸序列

<400> 7

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ser2030

Trp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile His354045

Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser505560

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Val Gly Thr Gln Ala Met65707580

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Arg Gly Val Val Phe859095

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu100105

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5115之LCDRI之胺基酸序列

<400> 8

Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ser Trp
1 5 10

<210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5115之LCDR2之胺基酸序列

<400> 9

Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 10
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5115之LCDR3之胺基酸序列

<400> 10

Gln Ala Trp Asp Arg Gly Val Val
1 5

<210> 11
<211> 345
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5120之VH之胺基序列

<400> 11

gaggtgcagc tgggtcagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctcagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt aactactgga tgacctgggt ccgccaggct 120
ccaggggagg ggccggagtg ggtggccaac ataaatcaag atggaagtca gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgaat 240
ctgcaaaiga acaacctgag agccgaggac acggccctat attactgigc gaaaagtaat 300
gccatggacg tctggggcca agggaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 12
<211> 115
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：不包含訊息序列之CSPG5120之VH之胺基酸序列

<400> 12

Glu Val Gln Leu Val Gln 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

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

Ala Asn Ile Asn Gln Asp Gly Ser Gln Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Ser Asn Ala Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 13
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5120之HCDR1之胺基酸序列

<400> 13

Asn Tyr Trp Met Thr
1 5

<210> 14
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5120之HCDR2之胺基酸序列

<400> 14

Asn Ile Asn Gln Asp Gly Ser Gln Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 15
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5120之HCDR3之胺基酸序列

<400> 15

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser His Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95

Arg Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 18
<211> 16
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5120之LCDRI之胺基酸序列

<400> 18

Arg Ser Ser Glu Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5120之LCDR2之胺基酸序列

<400> 19

Leu Gly Ser His Arg Ala Ser
1 5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT

<213> 人.口序列

<220>

<223> 人.口序列說明：CSPG5120之LCDR3之胺基酸序列

<400> 20

Met Gln Gly Arg Gln Thr Pro Ile Thr
1 5

<210> 21

<211> 351

<212> DNA

<213> 人.口序列

<220>

<223> 人.口序列說明：不包含訊息序列之CSPG5168之VH之鹼基序列

<400> 21

gagggtgcagc tggaggagac tgggggagcc ttgggtcagc ctggagggtc actgagactc 60
tcctgtgcag gctctggatt tatcttcagt aaatatgaaa tgacctgggt cggccaggct 120
ccagggaagg ggcctggagt ggtctcaact atcggtagtc ttggtctgaa gaccttttac 180
acagactccg taaagggcgg gttcaccacc tccagagaca attccaggga cactttatct 240
ctgcaaatgg acaacctgag agtcgaggac acggccatat atttctgtgt gaaaggcggc 300
atacgtcggg cagattactg gggcaaggga accctgggtga ccgtctcctc a 351

<210> 22

<211> 117

<212> PRT

<213> 人.口序列

<220>

<223> 人.口序列說明：不包含訊息序列之CSPG5168之VH之胺基酸序列

<400> 22

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

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

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

Ser Thr Ile Gly Ser Leu Gly Leu Lys Thr Phe Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Val Lys Gly Gly Ile Arg Arg Ala Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 23
<211> 5
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5168之HCDR1之胺基酸序列

<400> 23

Lys Tyr Glu Met Thr
1 5

<210> 24
<211> 17
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5168之HCDR2之胺基酸序列

<400> 24

Thr Ile Gly Ser Leu Gly Leu Lys Thr Phe Tyr Thr Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

- <210> 25
- <211> 8
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 人工序列說明：CSPG5168之HCDR3之胺基酸序列

<400> 25

Gly Gly Ile Arg Arg Ala Asp Tyr
1 5

- <210> 26
- <211> 321
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5168之VL之鹼基序列

<400> 26
gaaatagtga tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 27
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5168之VL之胺基酸序列

<400> 27

Glu Ile Val Met 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 Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr 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 Arg Ser Asn Trp Pro Leu
 85 90 95

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

<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5168之LCDRI之胺基酸序列

<400> 28

gccgattctg ttaaaggctg ttttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat

ctgcagatga acagtctgcg cgcagaagat accgctgtct attactgcgc aaaaaagtgg

aatcttttctg actactgggg ccaaggtagc ctggttacgg ttagcagc

240

300

348

<210> 32

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5201之VH之胺基酸序列

<400> 32

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Lys Trp Asn Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 33
<211> 5
<212> PRT
<213> 人H序列

<220>
<223> 人H序列說明：CSPG5201之HCDR1之胺基酸序列

<400> 33

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 34
<211> 17
<212> PRT
<213> 人H序列

<220>
<223> 人H序列說明：CSPG5201之HCDR2之胺基酸序列

<400> 34

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

Gly

<210> 35
<211> 7
<212> PRT
<213> 人H序列

<220>
<223> 人H序列說明：CSPG5201之HCDR3之胺基酸序列

<400> 35

Lys Trp Asn Leu Phe Asp Tyr
1 5

<210> 36

<211> 333
<212> DNA
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：不包含訊息序列之CSPG5201之VL之鹼基序列

<400> 36
caatcggtc tgaccaacc ggcaagigtc tciggttctc ogggtcaatc aatcagatc 60
tcctgtacgg gtacctctac ggatgtcaac ggctataatt acgtcagctg gtatcagcaa 120
taocgggta aagccccgaa actgattatc tttgatgta gtaaactgcc gtcgggcgtt 180
agcaaccgtt tcagtggctc caaatcaggt gacacggcct ctctgacgat ttccggctctg 240
caggcagaag atgaagctga ctatcattgc agctcttacc gtaggctgcg gttgcctgtc 300
ctgtttgggtg gtggcaccgaa actgaccgtt ctg 333

<210> 37
<211> 111
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：不包含訊息序列之CSPG5201之VL之胺基酸序列

<400> 37

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr
20 25 30

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

Ile Ile Phe Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65707580

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Ser Ser Tyr Arg Arg Leu

859095

Arg Leu Pro Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100105110

<210> 38

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：CSPG5201之LCDR1之胺基酸序列

<400> 38

Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr Asn Tyr Val Ser

1510

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：CSPG5201之LCDR2之胺基酸序列

<400> 39

Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser

15

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：CSPG5201之LCDR3之胺基酸序列

<400> 40

Ser Ser Tyr Arg Arg Leu Arg Leu Pro Val Leu
1 5 10

<210> 41
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5202之VH之鹼基序列

<400> 41
gaagtccaac tgctggaatc gggtaggtgt ctggtgcaac cgggcggctc gctgcgtctg 60
tcattgtgtg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120
ccgggtaaag gtctggaatg ggtagcgca attagtggct ccggcggtag caactattac 180
gccgattctg ttaaaggctg tttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240
ctgcagatga acagtctgcg cgcagaagat accgctgtct attactgcgc aaaaattagt 300
aagacgcagg ggttogacta ctggggccaa ggtacgttgg ttacggttag cagc 354

<210> 42
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5202之VH之胺基酸序列

<400> 42

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

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

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Ile Ser Lys Thr Gln Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 43
<211> 5
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5202之HCDR1之胺基酸序列

<400> 43

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 44
<211> 17
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5202之HCDR2之胺基酸序列

<400> 44

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

Gly

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> 人H序列

<220>
<223> 人H序列說明：CSPG5202之HCDR3之胺基酸序列

<400> 45

Ile Ser Lys Thr Gln Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 46
<211> 339
<212> DNA
<213> 人H序列

<220>
<223> 人H序列說明：不包含訊息序列之CSPG5202之VL之鹼基序列

<400> 46
gacatcgta tgaogcaaag tccggattca ctggctgtta gtctgggcga acgtgctaag 60
atcaactgta aatcctctca aagtgtgctg tatagtctta acaataaaaa ctatctggca 120
tggtaccagc aaaaaccggg tcagccggcg aaactgctga ttactgggc atctaccgt 180
gaatccggtg tcccgatcg cttttcaggc tcgggtagcg gcacggactt caccctgacg 240
atcagttccc tgcaagcgga agatgtggcc gtttattact gtcaacaaag tcggacggcg 300
aggcctacgt tcggtcaagg caccaaagtg gaaatcaaa 339

<210> 47
<211> 113
<212> PRT
<213> 人H序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5202之VL之胺基酸序列

<400> 47

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
 20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95

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

Lys

- <210> 48
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5202之LCDR1之胺基酸序列

<400> 48

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 49
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5202之LCDR2之胺基酸序列

<400> 49

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5202之LCDR3之胺基酸序列

<400> 50

Gln Gln Ser Arg Thr Arg Arg Pro Thr
1 5

<210> 51
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5205之VH之鹼基序列

<400> 51
gaagtcacaac tgctggaatc ggggtggtggt ctggtgcaac cgggcggctc gctgcgtctg 60

tcattgtgctg cgtcgggctt taaccttagc tottatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120

cggggtaaag gtcgtgaatg ggtagcgca attagtggct cggcggttag cacctattac

180

gcgattctg ttaaaggctg tttaccatc tcacggaca actcgaaaaa tacgtgtat

240

ctgcagaiga acagtctgcg cgcagaagat accgtgtct attactggc aaaaactaag

300

ccgaataatg ctttcgacta ctggggccaa ggtacgtgg ttacggttag cagc

354

<210> 52

<211> 118

<212> PRT

<213> 人口序列

<220>

<223> 人口序列說明：不包含訊息序列之CSPG5205之VH之胺基酸序列

<400> 52

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Thr Lys Pro Asn Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 53
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5205之HCDR1之胺基酸序列

<400> 53

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 54
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5205之HCDR2之胺基酸序列

<400> 54

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

Gly

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5205之HCDR3之胺基酸序列

<400> 55

Thr Lys Pro Asn Asn Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 56
<211> 339
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5205之VL之鹼基序列

<400> 56
gacatcgtca tgacgcaaag tcoggattca ctggctgtta gtctgggcga acgtgctacg 60
atcaactgta aatcctctca aagtgtgtgtg tatagctcta acaataaaaa ctatctggca 120
tggtaccagc aaaaacccggg tcagccgcgc aaactgtctga ttactgggc atctaccgt 180
gaatccgggtg tcccgatcg cttttcaggc tgggtagcg gcaaggacti caccctgacg 240
atcagttccc tgcaagcgga agatgtggcc gtttattact gtcaacaaac ggcgactcag 300
ccgcttacgt tgggtcaagg caccaaagtg gaaatcaaa 339

<210> 57
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5205之VL之胺基酸序列

<400> 57
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Thr Ala Thr Gln Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

<210> 58
<211> 17
<212> PRT
<213> 人口序列

<223> 人工序列說明：CSPG5205之LCDRI之胺基酸序列

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

<210>	59
<211>	7
<212>	PRT
<213>	人口序列

<223> 人, 自序列說明: CSPG5205之LCDR2之胺基酸序列

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5205之LCDR3之胺基酸序列

<400> 60

Gln Gln Thr Ala Thr Gln Pro Leu Thr
1 5

<210> 61
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5206之VH之鹼基序列

<400> 61
gaagtccaac tgctggaatc ggggtgtggt ctggtgcaac cgggcggctc gctgcgtctg 60
tcattgtgtg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120
ccgggtaaag gtctggaatg ggtttagcgca attagtggct cgggcggtag cacctattac 180
gccgattctg ttaaaggctg ttttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240
ctgcagatga acagtctgcg cgcagaagat accgctgtct attactgcgc aaaaaagcgg 300
tcgtggcgt tcgactactg gggccaaggt acgtgggta cggttagcag c 351

<210> 62
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5206之VH之胺基酸序列

<400> 62

1133050614-0

<213> 人H序列

<220>

<223> 人H序列說明：CSPG5206之HCDR2之胺基酸序列

<400> 64

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

151015

Gly

<210> 65

<211> 8

<212> PRT

<213> 人H序列

<220>

<223> 人H序列說明：CSPG5206之HCDR3之胺基酸序列

<400> 65

Lys Arg Ser Leu Ala Phe Asp Tyr

15

<210> 66

<211> 333

<212> DNA

<213> 人H序列

<220>

<223> 人H序列說明：不包含訊息序列之CSPG5206之VL之胺基序列

<400> 66

caatoggetc tgacccaacc ggcaagtgtc tctggttctc cgggtcaatc aatcacgata60

tcctgtacgg gtacctctac ggatgtcaac ggctataatt acgtcagctg gtatcagcaa120

tacgcgggta aagccccgaa actgattatc tttgatgtta gttaaagctcc gtcgggcgtt180

agcaaccgct tcagtggctc caaatcaggt gacaccgcct ctctgaagat ttccggctctg240

caggcagaag atgaagctga ctatcattgc agctctttaca atcgttaagag gccgccggtc300

ctgttttggtg gtggcacgaa actgaccgtt ctg

333

<210> 67

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5206之VL之胺基酸序列

<400> 67

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Ile Ile Phe Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Ser Ser Tyr Asn Arg Lys

85 90 95

Arg Pro Pro Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 68

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：CSPG5206之LCDRI之胺基酸序列

<400> 68

Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 69
<211> 7
<212> PRT
<213> 人B序列

<220>
<223> 人B序列說明：CSPG5206之LCDR2之胺基酸序列

<400> 69

Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 70
<211> 11
<212> PRT
<213> 人B序列

<220>
<223> 人B序列說明：CSPG5206之LCDR3之胺基酸序列

<400> 70

Ser Ser Tyr Asn Arg Lys Arg Pro Pro Val Leu
1 5 10

<210> 71
<211> 354
<212> DNA
<213> 人B序列

<220>
<223> 人B序列說明：不包含訊息序列之CSPG5207之VH之鹼基序列

<400> 71
gaagtccaac tgctggaatc gggtaggtggt ctggtgcaac cgggcggctc gctgcgtctg 60

tcatgtgctg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca120

cogggtaaag gtctggaatg ggtagcgca attagtggct cggcggtag cacctattac180

gccgattctg ttaaaggctg ttttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgtgtat240

ctgcagatga acagtctgog cgcagaagat accgtgtct attactgogc aaaatgggct300

cggacttgcg ctttcgacta ctggggccaa ggtacgtgg ttacggttag cagc354

<210> 72

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5207之VH之胺基酸序列

<400> 72

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr202530

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val354045

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val505560

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65707580

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys859095

Ala Lys Trp Ala Arg Thr Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr100105110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 73
<211> 5
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5207之HCDR1之胺基酸序列

<400> 73

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 74
<211> 17
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5207之HCDR2之胺基酸序列

<400> 74

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

Gly

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5207之HCDR3之胺基酸序列

<400> 75

Trp Ala Arg Thr Ser Pro Phe Asp Tyr

15

<210> 76
<211> 333
<212> DNA
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：不包含訊息序列之CSPG5207之VL之鹼基序列

<400> 76
caatcggctc tgacccaacc ggcaagtgtc tctggttctc cgggtcaatc aatcacgata 60
tcctgtacgg gtacctctac ggatgtcaac ggctataatt acgtcagctg gtatcagcaa 120
tacgcgggta aagcccccga actgattatc ttgatgtta gtaaactcc gtcgggcgtt 180
agcaaccgct tcagtggctc caaatcaggt gacaccgct cctgacgat ttccggtctg 240
caggcagaag atgaagctga ctatcattgc agctcttaca cgcagagtag ggcgcgggtc 300
ctgtttgtg gtggcacgaa actgaccgtt ctg 333

<210> 77
<211> 111
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：不包含訊息序列之CSPG5207之VL之胺基酸序列

<400> 77
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Ile Ile Phe Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

505560

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65707580

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Ser Ser Tyr Thr Pro Ser
859095

Arg Ala Arg Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100105110

<210> 78
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5207之LCDR1之胺基酸序列

<400> 78

Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1510

<210> 79
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5207之LCDR2之胺基酸序列

<400> 79

Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser
15

<210> 80
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5207之LCDR3之胺基酸序列

<400> 80

Ser Ser Tyr Thr Pro Ser Arg Ala Arg Val Leu
1 5 10

<210> 81
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5208之VH之鹼基序列

<400> 81
gaagccaac tgctggaatc ggggtggtgt ctggtgcaac cgggcggctc gctgcgtctg 60

tcatgtgctg cgtcgggctt tacctttagc ttttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120

ccgggtaaag gtctggaatg ggcttagcgca attagtggct ccggcggttag cacctattac 180

gccgattctg ttaaaggctg ttttaccatc tcacgogaca actcgaaaaa tacgctgtat 240

ctgcagatga acagtctgcg cgcagaagat accgctgtct attactgogc aaaatatacg 300

agggaggggga gtttcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggtttag cagc 354

<210> 82
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5208之VH之胺基酸序列

<400> 82

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

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

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Tyr Thr Arg Glu Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 83
<211> 5
<212> PRT
<213> 人白序列

<220>
<223> 人白序列說明：CSPG5208之HCDR1之胺基酸序列

<400> 83

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 84
<211> 17
<212> PRT
<213> 人白序列

<220>
<223> 人白序列說明：CSPG5208之HCDR2之胺基酸序列

<400> 84

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

Gly

<210> 85
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5208之HCDR3之胺基酸序列

<400> 85

Tyr Thr Arg Glu Gly Ser Phe Asp Tyr
1 5

<210> 86
<211> 339
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5208之VL之胺基序列

<400> 86
gacatcgtca tgacgcaaag tccggattca ctggctgtta gtctgggcga acgtgctacg 60

atcaactgta aatcctctca aagtgtgctg tatagtctta acaataaaaa ctatctggca 120

tggtaccagc aaaaaccggg tcagccgccg aaactgctga ttactgggc atctaccgt 180

gaatccggtg tcccgatcg ctttcaggc tgggtagcg gcacggactt caccctgacg 240

atcagttccc tgcaagcgga agatgiggcc gtttattact gtcaacaagc gctggagcgg 300

gcgccgacgt tcggtcaagg caccaaagtg gaaatcaaa 339

<210> 87
<211> 113

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5208之VL之胺基酸序列

<400> 87

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Ala Leu Glu Arg Ala Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 88
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5208之LCDRI之胺基酸序列

<400> 88

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 89
<211> 7
<212> PRT
<213> 人白序列

<220>
<223> 人白序列說明：CSPG5208之LCDR2之胺基酸序列

<400> 89

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 90
<211> 9
<212> PRT
<213> 人白序列

<220>
<223> 人白序列說明：CSPG5208之LCDR3之胺基酸序列

<400> 90

Gln Gln Ala Leu Glu Arg Ala Pro Thr
1 5

<210> 91
<211> 354
<212> DNA
<213> 人白序列

<220>
<223> 人白序列說明：不包含訊息序列之CSPG5214之VH之鹼基序列

<400> 91

gaagtccaac tgc tgg aatc ggg tgg tgg t ctgg tgc aac cgg gcg gctc gctgcgtctg60

tcatgtgctg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt ggc tcaaggca120

cggggtaaag gtctggaatg gg ttagcgca attagtggct cggcggttag cacctattac180

gccgattctg ttaaaggctg ttttaccatc tcacgogaca actcgaaaaa tacgtgtat240

ctgcagatga acagtctgcg cgcagaagat accgtgtctt attactgcgc aaaaacggg300

aggactacta tgttogacta ctggggocaa ggtacgtgg ttacggttag cagc354

<210> 92

<211> 118

<212> PRT

<213> 人B序列

<220>

<223> 人B序列說明：不包含訊息序列之CSPG5214之VH之胺基酸序列

<400> 92

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr202530

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val354045

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val505560

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65707580

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys859095

Ala Lys Thr Arg Arg Thr Thr Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr100105110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 93
<211> 5
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5214之HCDR1之胺基酸序列

<400> 93

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 94
<211> 17
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5214之HCDR2之胺基酸序列

<400> 94

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

Gly

<210> 95
<211> 9
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5214之HCDR3之胺基酸序列

<400> 95

Ile Ile Phe Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

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

His Ser Gly Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 98
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5214之LCDR1之胺基酸序列

<400> 98

Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 99
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5214之LCDR2之胺基酸序列

<400> 99

Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 100
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：CSPG5214之LCDR3之胺基酸序列

<400> 100

Ser	Ser	Tyr	Asn	Pro	His	His	Ser	Gly	Val	Leu
1				5					10	

<210> 101

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5219之VH之鹼基序列

<400> 101

gaagtccaac	tgotggaatc	gggtggtggt	ctggtgcaac	cgggcggctc	gctgcgtctg	60
tcattgtctg	cgtcgggctt	tacotttagc	tcttatgcaa	tgtcctgggt	gcgtcaggca	120
cgggtaaaag	gtctggaatg	ggttagcgca	attagtggct	cggcggttag	cacctattac	180
gccgattctg	ttaaaggctg	ttttaccatc	tcaocgcaca	actogaaaaa	tacgtgtgat	240
ctgcagatga	acagtctgcg	cgcagaagat	accgctgtct	attactgcgc	aaaaatgaat	300
tcgtggcgtg	cgttcgacta	ctggggccaa	ggtacgctgg	ttacggttag	cagc	354

<210> 102

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5219之VH之胺基酸序列

<400> 102

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

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

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Met Asn Ser Trp Arg Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 103
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5219之HCDR1之胺基酸序列

<400> 103

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 104
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5219之HCDR2之胺基酸序列

<400> 104

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

Gly

<210> 105
<211> 9
<212> PRT
<213> 人B序列

<220>
<223> 人B序列說明：CSPG5219之HCDR3之胺基酸序列

<400> 105

Met Asn Ser Trp Arg Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 106
<211> 324
<212> DNA
<213> 人B序列

<220>
<223> 人B序列說明：不包含訊息序列之CSPG5219之VL之鹼基序列

<400> 106
gaaatcggtc tgacgcaatc tccgggtacg ctgtccctga gtcggggcga acgtgcaacc 60
ctgtcctgtc gcgcttcgca atccgigagc tctagttatc tggcatggta ccagcaaaaa 120
ccgggtcagg ctccgcgtct gctgatttat ggtgcatcct cacgtgcaac cggtatcccg 180
gacgcgtttt cgggcagcgg ttctggcacg gacttcaccc tgacgatttc ccgcctggaa 240
ccggaagatt ttgccgtgta ttactgtcaa caacttcgga ggaaggggtc gaccttcggt 300
cagggcagca aagtggaaat caaa 324

<210> 107
<211> 108
<212> PRT
<213> 人自序列

<220>
<223> 人自序列說明：不包含訊息序列之CSPG5219之VL之胺基酸序列

<400> 107

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

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

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Arg Arg Lys Gly
 85 90 95

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

<210> 108
<211> 12
<212> PRT
<213> 人自序列

<220>
<223> 人自序列說明：CSPG5219之LCDRI之胺基酸序列

<400> 108

gccgattctg ttaaaggctg ttttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat

240

ctgcagatga acagctctgcg cgcagaagat accgctgtct attactgcgc aaaaattaag

300

cagacggggg ctttogacta ctggggccaa ggtacgtgg ttacggttag cagc

354

<210> 112

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5222之VH之胺基酸序列

<400> 112

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Ile Lys Gln Thr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 113
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5222之HCDR1之胺基酸序列

<400> 113

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 114
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5222之HCDR2之胺基酸序列

<400> 114

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

Gly

<210> 115
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5222之HCDR3之胺基酸序列

<400> 115

Ile Lys Gln Thr Gly Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 116

<211> 339
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5222之VL之鹼基序列

<400> 116
gacatcgta tgacgcaaag tccggattca ctggctgtta gtctgggoga acgtgctaag 60
atcaactgta aatcctctca aagtgtgctg tatagctcta acaataaaaa ctatctggca 120
tggtaccagc aaaaaccggg tcagccgcg aaactgtga ttiactgggc atctaccgt 180
gaatccggtg tcccgtagcg cttttcagga tcgggtagcg gcaaggacit caccctgacg 240
atcagttccc tgcaagcgga agatgtggcc gtttattact gtcaacaact tgtgcagggg 300
ccgccgacgt tcgggtcaagg caccaaagtg gaaatcaaa 339

<210> 117
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5222之VL之胺基酸序列

<400> 117

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65	70	75	80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln			
	85	90	95
Leu Val Gln Gly Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile			
	100	105	110

Lys

<210> 118
<211> 17
<212> PRT
<213> 人H序列

<220>
<223> 人H序列說明：CSPG5222之LCDR1之胺基酸序列

<400> 118

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 119
<211> 7
<212> PRT
<213> 人H序列

<220>
<223> 人H序列說明：CSPG5222之LCDR2之胺基酸序列

<400> 119

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 120

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5222之LCDR3之胺基酸序列

<400> 120

Gln Gln Leu Val Gln Gly Pro Pro Thr
1 5

<210> 121
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5227之VH之胺基酸序列

<400> 121
gaagtccaac tgotggaatc gggtagtggt ctggtgcaac cgggcggctc gctgcgtctg 60
tcattgtctg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120
ccgggtaaag gtctggaatg ggtagcgca attagtggct ccggcggtag cacctattac 180
gccgattctg ttaaaggtag ttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgtgtat 240
ctgcagatga acagtctgog cgcagaagat accgctgtct attactgcgc aaaactgaag 300
cggactcagg gtttcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagc 354

<210> 122
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5227之VH之胺基酸序列

<400> 122

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

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

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Leu Lys Arg Thr Gln Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

- <210> 123
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> 人口序列
- <220>
- <223> 人口序列說明：CSPG5227之HCDR1之胺基酸序列

<400> 123

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

- <210> 124
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> 人口序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5227之HCDR2之胺基酸序列

<400> 124

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

Gly

<210> 125
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5227之HCDR3之胺基酸序列

<400> 125

Leu Lys Arg Thr Gln Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 126
<211> 339
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5227之VL之鹼基序列

<400> 126
gacatcgtca tgacgcaaag tccggattca ctggctgtta gtctgggcga acgtgctacg 60
atcaactgta aatcctctca aagtgtgctg tatagctcta acaataaaaa ctatctggca 120
tggtaccago aaaaaccggg tcagccgcog aaactgctga tttactgggc atctaccogt 180
gaatccggtg tcccggtacg cttttcaggc tcgggtagcg gcaaggactt caccctgaag 240
atcagttccc tgcaagcgga agatgtggcc gtttattact gtcaacaatc gaatcgtctg 300
cctccgacgt tcggtcaagg caccaaagtg gaaatcaaa 339

<210> 127
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5227之VL之胺基酸序列

<400> 127

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
 20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95

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

Lys

<210> 128
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5227之LCDRI之胺基酸序列

<400> 128

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 129
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5227之LCDR2之胺基酸序列

<400> 129

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 130
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5227之LCDR3之胺基酸序列

<400> 130

Gln Gln Ser Asn Arg Leu Pro Pro Thr
1 5

<210> 131
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人.口序列說明：不包含訊息序列之CSPG5230之VH之胺基酸序列

<400> 131
gaagtccaac tgctggaatc gggtggtggt ctggtgcaac cgggcggctc gctgcgtctg 60
tcattgtctg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120
ccgggtaaaag gtctggaatg ggtttagcgca attagtggct cgggcggtag cacctattac 180
gccgattctg ttaaaggctg ttttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgtgttat 240
ctgcagatga acagtctgcg cgcagaagat accgtgtctt attactgcgc aaaatcgacg 300
cgggcgcggt tcgactactg gggccaaggt acgtcgttta cggttagcag c 351

<210> 132
<211> 117
<212> PRT
<213> 人.口序列

<220>
<223> 人.口序列說明：不包含訊息序列之CSPG5230之VH之胺基酸序列

<400> 132

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

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

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Ser Thr Pro Ala Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 133
<211> 5
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5230之HCDR1之胺基酸序列

<400> 133

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 134
<211> 17
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：CSPG5230之HCDR2之胺基酸序列

<400> 134

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

Gly

<210> 135
<211> 8
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>

<223> 人H序列說明：CSPG5230之HCDR3之胺基酸序列

<400> 135

Ser Thr Pro Ala Arg Phe Asp Tyr
1 5

<210> 136
<211> 333
<212> DNA
<213> 人H序列

<220>
<223> 人H序列說明：不包含訊息序列之CSPG5230之VL之胺基序列

<400> 136
caatcggctc tgaccaaac ggcaagtgtc tctggttctc cgggtcaatc aatcacgac 60
tctgttacgg gtacctctac ggatgtcaac ggcataatt acgtcagctg gtatcagcaa 120
tacgcgggta aagccccgaa actgattatc ttgtatgta gtaaactgc gtcgggcgtt 180
agcaaccgct tcagtggctc caaatcaggt gacaccgct cctgacgat ttccggtctg 240
caggcagaag atgaagctga ctatcattgc agctcttacc atacgcggcc tgcgactgtc 300
ctgtttggtg gtggcacgaa actgaccgtt ctg 333

<210> 137
<211> 111
<212> PRT
<213> 人H序列

<220>
<223> 人H序列說明：不包含訊息序列之CSPG5230之VL之胺基酸序列

<400> 137

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr
20 25 30

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

Ile Ile Phe Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

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

Pro Ala Thr Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 138
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5230之LCDRI之胺基酸序列

<400> 138

Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 139
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5230之LCDR2之胺基酸序列

<400> 139

Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 140
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5230之LCDR3之胺基酸序列

<400> 140

Ser Ser Tyr His Thr Arg Pro Ala Thr Val Leu
1 5 10

<210> 141
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5234之VH之胺基酸序列

<400> 141
gaagtccaac tgc tgg aatc ggg tgg tgg t ctggtgcaac cgggcggctc gctgcgtctg 60
tcattgtctg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120
ccgggttaaag gtctggaatg ggttagcgca attagtggct ccggcggtag cacctattac 180
gccgattctg ttaaaggctg ttttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgtgttat 240
ctgcagatga acagtctgcg cgcagaagat accgctgtct attactgcgc aaaaaggcat 300
agttatgcgc ctttcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagc 354

<210> 142
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5234之VH之胺基酸序列

<400> 142

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

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

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 143
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5234之HCDRI之胺基酸序列

<400> 143

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 144
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：CSPG5234之HCDR2之胺基酸序列

<400> 144

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

1 5 10 15

Gly

<210> 145

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：CSPG5234之HCDR3之胺基酸序列

<400> 145

Arg His Ser Tyr Ala Pro Phe Asp Tyr

1 5

<210> 146

<211> 333

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5234之VL之鹼基序列

<400> 146

caatcggctc tgaccaacc ggcaagtgc tctggtctc cgggtcaatc aatcagatc 60

tcctgtacgg gtacctctac ggatgtcaac ggctataatt acgtcagctg gtatcagcaa 120

tacgcgggta aagcccgaa actgattatc ttgatgtta gtaaacgtcc gtcgggcgtt 180

agcaaccgct tcagtggctc caaatcaggt gacaccgct ctctgacgat ttccggtctg 240

caggcagaag atgaagctga ctatcatigc agctcttaca ggccgaaggc taggagtgtc 300

ctgttttggtg gtggcaagaa actgaccgtt ctg

333

<210> 147

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之CSPG5234之VL之胺基酸序列

<400> 147

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Ile Ile Phe Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Ser Ser Tyr Arg Pro Lys

85 90 95

Ala Arg Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 148

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：CSPG5234之LCDRI之胺基酸序列

<400> 148

Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Asn Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 149
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5234之LCDR2之胺基酸序列

<400> 149

Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 150
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：CSPG5234之LCDR3之胺基酸序列

<400> 150

Ser Ser Tyr Arg Pro Lys Ala Arg Ser Val Leu
1 5 10

<210> 151
<211> 660
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)
之輕鏈抗體序列之鹼基序列

<400> 151
gacatcgtea tgaogcaaag tccggattca ctggctgtta gtctggggoga acgtgctacg 60

atcaactgta aatcctctca aagtgtgctg tatagctcta acaataaaaa ctatctggca 120
tggtaccagc aaaaaccggg tcagccgcgc aaactgtga ttactgggc atctaccgt 180
gaatccggtg tcccggaatc cttttcaggc tcgggtagcg gcacggactt caccctgacg 240
atcagttccc tgcaagcgga agatgtggc gtttattact gtcaacaaag tcggacggc 300
aggcctacgt tcggtcaagg caccaaagt gaaatcaaac gtacggtggc tgcaccatct 360
gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc 420
ctgtgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtga taacgccctc 480
caatcgggta actcccagga gagtgcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc 540
ctcagcagca cctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc 600
gaagtcacc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gttcaacag gggagagtgt 660

- <210> 152
- <211> 220
- <212> PRT
- <213> 人 口 序 列
- <220>
- <223> 人 口 序 列 說 明：不 包 含 訊 息 序 列 之pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)
之 輕 鏈 抗 體 序 列 之 胺 基 酸 序 列

<400> 152

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之pCI_CSPG5202-hKG+PE(R409K)
之重鏈抗體序列之鹼基序列

<400> 153
gaagtccaac tgc tgg aatc ggg tgg tgg t ctggtgcaac cgggcggctc gctgcgtctg 60
tc atgtgtg cgtcgggctt taccttttagc tcttatgcaa tgtcctgggt gcgtcaggca 120
ccgggtaaag gtctggaatg ggttagcgca attagtggct ccggcggtag cacctattac 180
gccgattctg ttaaaggctg ttttaccatc tcacgcgaca actcgaaaaa tacgctgtat 240
ctgcagatga acagtctcgc cgcagaagat accgctgtct attactgcgc aaaaattagt 300
aagacgcagg ggttcgacta ctggggccaa ggtacgctgg ttacggttag cagcgttagc 360
accaaggggc catcgtctt cccctggcg cctgtctcca ggagcacctc cgagagcaca 420
gccgccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggtg tcctacagtc ctcaggactc 540
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tcacgcagct tgggcacgaa gacctacacc 600
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agagagttga gtccaaatat 660
ggtccccc at gccaccatg cccagcacct gagttcgagg ggggaccatc agtcttcctg 720
ttcccccaa aaccaagga cactctcatg atctcccgga ccctgaggt cacgtgcgtg 780
gtggtggacg tgagccagga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg 840
gaggtgcata atgccaagac aaagccggg gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg 900
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgaag 960
gtctccaaca aaggcctccc gtctccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020
ccccgagagc cacagggtga caccctgccc ccattcccagg aggagatgac caagaaccag 1080
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc taccacagcg acatgcctg ggagtgggag 1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc cgtgctgga ctccgacggc 1200
tccttcttcc tctacagcaa gctaaccgtg gacaagagca ggtggcagga ggggaatgtc 1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacacagaa gagcctctcc 1320
ctgtctctgg gtaaa 1335

<210> 154
<211> 445

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之pCI_CSPG5202-hKG4PE(R409K)
之重鏈抗體序列之胺基酸序列

<400> 154

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

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

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Ile Ser Lys Thr Gln Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

- <210> 155
- <211> 648
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人工序列說明：不包含訊息序列之
pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv之輕鏈抗體序列之鹼基序列

<400> 155

gagttigtgc ttctcagcc aaactctgtg tctacgaatc tcggaagcac agtcaaactg60

tcttgaagc gcagcactgg taacattgga agcaattatg tgagctggta ccagcagcat120

gaggaagat ctcccaccac tatgatttat agggatgata agagaccaga tggagttcct180

gacaggttct ctggctccat tgacagatct tccgactcag ccctcctgac aatcaataat240

gtgcagactg aagatgaagc tgactacttc tgcagtctt acagtagtgg tattaatatt300

ttcggcgggtg gaaccaagct cactgtccta ggtcagccca aggccgcccc ctcggtcact360

ctgttccgc cctcctctga ggagcttcaa gccacaagg ccacactggt gtgtctcata420

agtgaattct acccgggagc cgtgacagtg gcctggaagg cagatagcag ccccgtaag480

gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc540

tacctgagcc tgacgcctga gcagtggaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg600

catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg gcccctacag aatgttca648

<210> 156

<211> 216

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之
pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv之輕鏈抗體序列之胺基酸序列

<400> 156

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

Thr Val Lys Leu Ser Cys Lys Arg Ser Thr Gly Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Glu Gly Arg Ser Pro Thr Thr Met
 35 40 45

Ile Tyr Arg Asp Asp Lys Arg Pro Asp Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

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

Gly Ile Asn Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
 100 105 110

Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
 115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

- <210> 157
- <211> 2154
- <212> DNA
- <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之
pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv之重鏈抗體序列之鹼基序列

<400> 157	
gaggtgcagc tgggtggaatc tgggggaggc ttagtgcagc ctggaagatc cctgaaacte	60
tcctgtgcag cctcaggatt cactttcagt aactatgcca tggcttgggt ccgcggggt	120
ccaacgaagg gtctggagtg ggtcgcatcc attagtaatg gtggtggtaa cacttactat	180
cgcgactccg tgaagggccg attcactatc tccagagatg atgcaaaaaa caccctatac	240
ctgcaaattg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtgc aagacacggg	300
aattatatat attatgggtc ctctcttgat tactggggcc aaggagtcat ggtcacagtc	360
tcctcagcta gcaccaaggg gccatccgtc ttccccctgg cgccctgctc caggagcacc	420
tccgagagca cagccgccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgaacg	480

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtagaca ccttcccggc tgtcctacag	540
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacg	600
aagacctaca cctgcaacgt agatcacaaag ccagcaaca ccaagggtgga caagagagtt	660
gagtcacaaat atggtccccc atgccacca tgcccagcac ctgagttcga ggggggacca	720
tcagtcttcc tgttcccccc aaaacccaag gacactctca tgatctcccg gacccctgag	780
gtcacgtgcg tggtaggtgga cgtgagccag gaagaccccg aggtccagtt caactggtac	840
gtggatggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gttcaacagc	900
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag	960
tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccgtcctcca tcgagaaaac catctccaaa	1020
gccaaagggc agccccgaga gccacaggtg tacacctgc cccatccca ggaggagatg	1080
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc	1140
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtagtg	1200
gaotccgacg gctccttctt cctctacagc aagctaaccg tggacaagag caggtaggcag	1260
gaggggaatg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacacag	1320
aagagcctct cctgtctctt gggtaggagga ggagggtccg gaggaggagg gtccggtagga	1380
ggtaggtccg aagtccaact gctggaatcg ggtggtggtc tggtagcaacc gggcggtcgc	1440
ctgcgtctgt catgtgtgc gtccggcttt accittagct ctatgcaat gtcttgggtg	1500
cgtaggcac cgggtaaagg tctggaatgg gttagcgcaa ttagtggtc cggcggtagc	1560
acctattacg ccgattctgt taaaggctgt ttaccatct caccgacaa ctgaaaaat	1620
acgtgtatc tgcagatgaa cagtctgcgc gcagaagata ccgtgtcta ttactgcgca	1680
aaaattagta agacgcaggg gttagactac tggggccaag gtacgtggt tacggttagc	1740
agcgttagca ccggaggcgg tggcagcgga ggaggagggt ccggtggggg cggctcggc	1800
ggagggtggt cagacatcgt catgacgcaa agtcggatt cactggctgt tagtgtggc	1860
gaacgtgcta cgatcaactg taaatcctct caaagtgtgc tgtatagctc taacaataaa	1920
aactatctgg catggtacca gcaaaaaccg ggtcagccgc cgaaactgct gatttactgg	1980

gcacctaccc gtaaatccgg tgcctccgat cgtttttcag gctcgggtag cggcaaggac2040

ttcacccctga cgtcaggttc cctgcaagcg gaagatgtgg ccgtttatta ctgtcaacaa2100

agtcggacgc ggaggcctac gttcgggtcaa ggcaccaaag tggaaatcaa aggt2154

<210> 158

<211> 718

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列說明：不包含訊息序列之
pCI_AVM-hLG4PE(R409K)-CSPG5202scFv之重鏈抗體序列之胺基酸序列

<400> 158

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
151015

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
202530

Ala Met Ala Trp Val Arg Arg Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
354045

Ala Ser Ile Ser Asn Gly Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
505560

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65707580

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
859095

Ala Arg His Gly Asn Tyr Ile Tyr Tyr Gly Ser Phe Phe Asp Tyr Trp
100105110

Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115120125

Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr
130						135					140				
Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
145					150					155					160
Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
			165						170					175	
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
		180						185					190		
Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp
	195						200					205			
His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr
	210					215					220				
Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Glu	Gly	Gly	Pro
225					230					235					240
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
			245					250					255		
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp
		260						265					270		
Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
	275						280					285			
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
	290					295					300				
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
305					310					315					320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
450 455 460

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
465 470 475 480

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
485 490 495

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
500 505 510

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
515 520 525

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
530 535 540

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
545 550 555 560

Lys Ile Ser Lys Thr Gln Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
565 570 575

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
580 585 590

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met
595 600 605

Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr
610 615 620

Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys
625 630 635 640

Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu
645 650 655

Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
660 665 670

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
675 680 685

Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Thr Arg
690 695 700

Arg Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
705 710 715

<210> 159
<211> 1617
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：包含訊息序列之人類CSPG5之鹼基序列

<400> 159
atggggcgag cggggggcgg gggccggggc cgggggcgcg cggcacigct gctgtttctg 60
ggggccgcgc tggtcctggc ctctggggcc gtgcgggcgc gtgaggcggg cagcgcggtt 120
gaggccgaag agctggtgaa gggcagcccg gcgtgggagc gccttgccaa cgacacgcgg 180
gaagaagccg gccaccagc ggctggggaa gatgaggcgt cgtggacggc gcccggtggc 240
gagctggccg ggccagaaga ggtgctgcag gagtccgctg cggtgaccgg caccgcctgg 300
ctggaagctg acagcccagg cctgggagga gtgaccgcag aggcgggcag cggcgatgcc 360
caggcccttc cagctacgct ccaggctccc cagcaggtcc tcgggcagtc aatcatgccc 420
cctgccattc ctgaggctac agaggccagc gggccaccct cccccacccc cggcgacaag 480
ctgagcccag cttctgaact cccaaggag agccccttgg aggtttggct gaacctgggg 540
ggcagcacac ccgacctca agggccagag ctgacttacc catttcaggg caccctggag 600
ccccaaccgg catcagatat cattgacatc gactacttcg aaggactgga tggtaggggt 660
cgtggcgcag atctggggag ctccccaggg tcaccaggaa cctcagagaa ccacctgat 720
actgagggag agaccccttc ctggagcctg ctgacttat acgatgattt caccoccttc 780
gatgaatctg atttotacc caccacatcc ttttatgatg acttgatga agaggaggag 840
gaagaggagg atgacaaaga tgcagtagga ggtggagacc tagaagatga aaatgagctt 900
ctagtgccca ctgggaagcc tggctctggg cccgggacag gccagcccac cagtcggtgg 960
catgctgtcc ctccacagca cactctgggg tcggtcctcg gcagcagcat cgcctcagg 1020
ccccgccag gagagccagg cagggacttg gccctcagtg aaaatggcac tgagtgcgc 1080
agtggctttg tgcggcataa cggctcctgc cggtcagtgt gcgacctctt cccaagttac 1140
tgtcacaatg ggggccagtg ctacctggtg gagaacatag gggccttctg caggtgcaac 1200

aagcaggact acatctggca caaggggatg ogctgogagt ccacatcac cgacttcag 1260
gtgatgtgcg tggccgtggg ctgggtgcc ctgctctgc tctgtcttt catgatgacg 1320
gtgtttctttg ccaagaagct ctacctgctc aagacggaga ataccaagct gcgtaggacc 1380
aacaaattcc ggaccccatc tgagctccac aatgataact tctccctctc caccattgcc 1440
gagggctctc acccaaatga tgatcctagt gctccccaca aaatccagga ggttctcaag 1500
tctgtcctga aagaggagga gtcatttaac atccagaact ccctgtgcc caaacttgag 1560
ggtggcaaag gtgaccaggo tgacttgat gtgaactgtc ttcagaataa ttttaacc 1617

<210> 160
<211> 539
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：包含訊息序列之人類CSPG5之胺基酸序列

<400> 160

Met Gly Arg Ala Gly Gly Gly Gly Pro Gly Arg Gly Pro Pro Pro Leu
1 5 10 15

Leu Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro
20 25 30

Ala Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly
35 40 45

Ser Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly
50 55 60

Pro Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly
65 70 75 80

Glu Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu Gln Glu Ser Ala Ala Val Thr
85 90 95

Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Ser Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr
100 105 110

Ala Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln Ala Leu Pro Ala Thr Leu Gln
115 120 125

Ala Pro His Glu Val Leu Gly Gln Ser Ile Met Pro Pro Ala Ile Pro
130 135 140

Glu Ala Thr Glu Ala Ser Gly Pro Pro Ser Pro Thr Pro Gly Asp Lys
145 150 155 160

Leu Ser Pro Ala Ser Glu Leu Pro Lys Glu Ser Pro Leu Glu Val Trp
165 170 175

Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Asp Pro Gln Gly Pro Glu Leu Thr
180 185 190

Tyr Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu Pro Gln Pro Ala Ser Asp Ile Ile
195 200 205

Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp
210 215 220

Leu Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro Asp
225 230 235 240

Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp Asp
245 250 255

Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe Tyr
260 265 270

Asp Asp Leu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Lys Asp Ala
275 280 285

Val Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Glu Leu Leu Val Pro Thr
290 295 300

Gly	Lys	Pro	Gly	Leu	Gly	Pro	Gly	Thr	Gly	Gln	Pro	Thr	Ser	Arg	Trp
305					310					315					320
His	Ala	Val	Pro	Pro	Gln	His	Thr	Leu	Gly	Ser	Val	Pro	Gly	Ser	Ser
			325						330					335	
Ile	Ala	Leu	Arg	Pro	Arg	Pro	Gly	Glu	Pro	Gly	Arg	Asp	Leu	Ala	Ser
			340					345					350		
Ser	Glu	Asn	Gly	Thr	Glu	Cys	Arg	Ser	Gly	Phe	Val	Arg	His	Asn	Gly
		355					360					365			
Ser	Cys	Arg	Ser	Val	Cys	Asp	Leu	Phe	Pro	Ser	Tyr	Cys	His	Asn	Gly
	370					375					380				
Gly	Gln	Cys	Tyr	Leu	Val	Glu	Asn	Ile	Gly	Ala	Phe	Cys	Arg	Cys	Asn
385					390					395					400
Thr	Gln	Asp	Tyr	Ile	Trp	His	Lys	Gly	Met	Arg	Cys	Glu	Ser	Ile	Ile
			405						410					415	
Thr	Asp	Phe	Gln	Val	Met	Cys	Val	Ala	Val	Gly	Ser	Ala	Ala	Leu	Val
			420					425						430	
Leu	Leu	Leu	Leu	Phe	Met	Met	Thr	Val	Phe	Phe	Ala	Lys	Lys	Leu	Tyr
			435				440					445			
Leu	Leu	Lys	Thr	Glu	Asn	Thr	Lys	Leu	Arg	Arg	Thr	Asn	Lys	Phe	Arg
		450				455					460				
Thr	Pro	Ser	Glu	Leu	His	Asn	Asp	Asn	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Ile	Ala
465					470					475					480
Glu	Gly	Ser	His	Pro	Asn	Asp	Asp	Pro	Ser	Ala	Pro	His	Lys	Ile	Gln
				485					490					495	

Glu Val Leu Lys Ser Cys Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln
500 505 510

Asn Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln Ala Asp
515 520 525

Leu Asp Val Asn Cys Leu Gln Asn Asn Leu Thr
530 535

- <210> 161
- <211> 1617
- <212> DNA
- <213> 人, 口序列
- <220>
- <223> 人, 口序列說明：包含訊息序列之小鼠CSPG5之鹼基序列

<400> 161	
atgggccgag ctggaggcgg gggcccggaac tggggggccgc cggcagtgcg gctgcttctg	60
ggggtcacgc tgggtgtcac cgctggggcc gtaccggcac gggaacagg cagtgcgacg	120
gaggctgaag agctgggtgag gaggcagctg gcatgggagt cgcgtgccaa tgacacggg	180
gaggaagccg gcccgccagc agctggggaa gatgagacct cgtggacaga gcggggcagt	240
gagatggctg cgggtgggcc tggggtcggg ccagaggagg cactagaggc atcggtgca	300
gtgactggca ctgcctggct agaggcagat ggcccaggcc tgggtggagt gactgcagag	360
gctggcagtg gcgacgcca gacccttcca gctacgtcc aggtccctga tgaggccctt	420
gggtcatcta caatgcccc tgccatccct gaggctactg aaaccagtgg acctccctcc	480
cctgctgtcc atgataagcc tagtgtaggc cctgaactcc ctaaagagat ccccttgag	540
gttcggctga acctgggagg cagcacacca gagcccactt ttccccttca gggcactctc	600
gagaccaaac cagcctcaga tataattgac attgattact ttgaaggatt ggatagtgag	660
ggtcgtggtg cagacatggg cagcttcccg gggtcaccag gaacctcaga aaatcacct	720
gataccgaag gagagacccc ttctgggagc ctgcttgatt tgtatgatga cttcacccct	780
tttgatgagt ctgatttcta ccccaccaca tctttctatg atgatttga agaggaggaa	840

gaagaggagg aggataagga tacagtagga ggtggagacc tggaagatga aaacgacctt 900
ctcttgcctt ctcaaaagcc tgggtgtggg cctgggacag gacagcccac caaccggtgg 960
catgtgtttc cccacagca tactctgggg atggtacctg gcagcagcat ctctcttagg 1020
ccccgccccg gagatccagg caaggacctg gcctcaggag aaaatggcac agagtgcga 1080
gttggtttcg tcaggcacia tggctcctgc cggtcagtct gtgacctctt tccgagttac 1140
tgtcacaacg ggggccagtg ctacctgtg gagaacatag gggttttctg cagggtgaac 1200
accaggaact acatctggca caaggggatg cgtgtgagt ccatcatcac ggacttcag 1260
gtgatgtcgg tggcgtttg ctcggctgct ctctgtctt tctcctgtt catgatgact 1320
gtgttttttg ccaagaagct ctatctgtc aagactgaga ataccaagct ggggaggacc 1380
aataaattcc ggaccccatc tgagctccac aacgacaact tctccctctc caccatigcc 1440
gagggtcttc atccaaatga cgacccacg gctcccaca aaatccagga cctctcaag 1500
tccgcctga aggaggaaga gtcctttaac atccagaact ccatgtcacc caaacttgag 1560
ggtggcaaag gtgaccagga tgacttgggg gtgaactgtc tgcagaataa cctaacc 1617

- <210> 162
- <211> 539
- <212> PRT
- <213> 氨基酸序列
- <220>
- <223> 氨基酸序列说明：包含訊息序列之小鼠CSPG5之氨基酸序列

<400> 162

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

Leu Leu Leu Leu Gly Val Thr Leu Val Leu Thr Ala Gly Ala Val Pro
20 25 30

Ala Arg Glu Thr Gly Ser Ala Ile Glu Ala Glu Glu Leu Val Arg Ser
35 40 45

Ser Leu Ala Trp Glu Ser Arg Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly
50 55 60

Leu Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Thr Ser Trp Thr Glu Arg Gly Ser
65 70 75 80

Glu Met Ala Ala Val Gly Pro Gly Val Gly Pro Glu Glu Ala Leu Glu
85 90 95

Ala Ser Ala Ala Val Thr Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Gly Pro
100 105 110

Gly Leu Gly Gly Val Thr Ala Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln Thr
115 120 125

Leu Pro Ala Thr Leu Gln Ala Pro Asp Glu Ala Leu Gly Ser Ser Thr
130 135 140

Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu Ala Thr Glu Thr Ser Gly Pro Pro Ser
145 150 155 160

Pro Ala Val His Asp Lys Pro Ser Val Gly Pro Glu Leu Pro Lys Glu
165 170 175

Ile Pro Leu Glu Val Arg Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Glu Pro
180 185 190

Thr Phe Pro Leu Gln Gly Thr Leu Glu Thr Gln Pro Ala Ser Asp Ile
195 200 205

Ile Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Ser Glu Gly Arg Gly Ala
210 215 220

Asp Met Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro
225 230 235 240

Asp Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp
245 250 255

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

Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys Leu Arg Arg Thr Asn Lys Phe Arg
450 455 460

Thr Pro Ser Glu Leu His Asn Asp Asn Phe Ser Leu Ser Thr Ile Ala
465 470 475 480

Glu Gly Ser His Pro Asn Asp Asp Pro Ser Ala Pro His Lys Ile Gln
485 490 495

Asp Pro Leu Lys Ser Arg Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln
500 505 510

Asn Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln Asp Asp
515 520 525

Leu Gly Val Asn Cys Leu Gln Asn Asn Leu Thr
530 535

- <210> 163
 - <211> 1605
 - <212> DNA
 - <213> 人白序列
- <220>
- <223> 人白序列說明：包含訊息序列之食蟹獼猴CSPG5之鹼基序列

<400> 163

atggggcgag ccggggggcgg gggcccgggc cggggggcgc cgccactgct gctgcttctg	60
ggggccgcgc tggtcctggc ctctggggcc gtgccggcgc gtgaggcggg cagcgcggtc	120
gaggccgaag agctggtgaa gggcaggcgc gcgtgggagc cgcgtgccaa cgacacgcga	180
gaagaagccg gcccaccagc ggctggggaa gatgaggcgt cgtggacgcg gcctggcggc	240
gagctggcgc ggccagagga ggtgctgcag gcgaccggca ccgcctggct ggaggctgac	300
aaccagggcc tgggaggagt gacctcagag gcgggtagtg gcgatgccca ggcccttcca	360
gtiacgtcc aggctcccca cgaggctctc gggcagtcag tcatgcccc tgccattcct	420
gaggctacag aagccagcgg gccaccctcc cccaccctg ggcacaacct gagccagct	480

tctgaactcc ccaaggagag cccctiggag gtttggtga aactgggggg cagcacaccc	540
gacctcaag ggccagagcc gacttacctt ttccagggca ccctggagcc ccaaccggca	600
tcagatatca ttgacatcga ctacttccaa ggattggatg gtgagggtcg tggcgagac	660
ctggggagct tcccagggtc accaggaacc tcagagaacc accctgatac tgaggagag	720
accccttccct ggagcctgct tgacttatac gatgatttca cccctttaga tgaatctgat	780
ttctacccca ccacatccct ttacgaigac ttggatgaag aggaggagga ggaggaggat	840
gacaaagatg cagtaggagg tggagaccta gaagatgaaa atgagcttct agtggccact	900
gggaagcccg gtctggggcc cgggacagcc cagcccaaca gtcgatggca tgctgtccct	960
ccacagcaca ctctggggtc ggtccccggc agcagcatcg cctccggcc ccgcccagga	1020
gagccaggca gggacctggc ctccagtga aatggcactg agtccgcag tggctttgtg	1080
cggcataacg gctcctgcg gtcagtgtgc gacctcttc caagtactg tcacaatggc	1140
ggccagtgtc acctggtgga gaacataggg gccttctgca ggtgcaaac acaggactac	1200
atctggcaca aggggatgag ctgcgagtc atcatcaccg acttcaggt gatgtgcgtg	1260
gccgtgggct cagctgcctt cgtcctgtct ctgctcttca tgatgacgt gttcttcgcc	1320
aagaagctct accttctcaa gacggagaac accaagctgc gtaggacca ccaattccgg	1380
acccagctg aactccacaa tgataactt tccctctcca ccattgccga gggtctcac	1440
ccaaatgatg atcctagtgc tccccacaa atccaggagg ctctcaaac ctgcctgaaa	1500
gaggaggagt catttaacat ccagaactcc atgtcgcca aacttgaggg tggcaaaggt	1560
gaccaggtg acttggatgt gaactgtctt cagaataatt taacc	1605

<210> 164
 <211> 535
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列說明：包含訊息序列之食蟹獼猴CSPG5之胺基酸序列

<400> 164

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

Phe Gln Gly Leu Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp Leu Gly Ser Phe
210 215 220

Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro Asp Thr Glu Gly Glu
225 230 235 240

Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp Asp Phe Thr Pro Phe
245 250 255

Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe Tyr Asp Asp Leu Asp
260 265 270

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Lys Asp Ala Val Gly Gly Gly
275 280 285

Asp Leu Glu Asp Glu Asn Glu Leu Leu Val Pro Thr Gly Lys Pro Gly
290 295 300

Leu Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Asn Ser Arg Trp His Ala Val Pro
305 310 315 320

Pro Gln His Thr Leu Gly Ser Val Pro Gly Ser Ser Ile Ala Leu Arg
325 330 335

Pro Arg Pro Gly Glu Pro Gly Arg Asp Leu Ala Ser Ser Glu Asn Gly
340 345 350

Thr Glu Cys Arg Ser Gly Phe Val Arg His Asn Gly Ser Cys Arg Ser
355 360 365

Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly Gly Gln Cys Tyr
370 375 380

Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn Thr Gln Asp Tyr
385 390 395 400

Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile Thr Asp Phe Gln
405 410 415

Val Met Cys Val Ala Val Gly Ser Ala Ala Leu Val Leu Leu Leu Leu
420 425 430

Phe Met Met Thr Val Phe Phe Ala Lys Lys Leu Tyr Leu Leu Lys Thr
435 440 445

Glu Asn Thr Lys Leu Arg Arg Thr Asn Lys Phe Arg Thr Pro Ala Glu
450 455 460

Leu His Asn Asp Asn Phe Ser Leu Ser Thr Ile Ala Glu Gly Ser His
465 470 475 480

Pro Asn Asp Asp Pro Ser Ala Pro His Lys Ile Gln Glu Ala Leu Lys
485 490 495

Ser Cys Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln Asn Ser Met Ser
500 505 510

Pro Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln Ala Asp Leu Asp Val Asn
515 520 525

Cys Leu Gln Asn Asn Leu Thr
530 535

- <210> 165
- <211> 1977
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人工序列說明：包含訊息序列之人類CSPG5-FLAG_Fc之鹼基序列

<400> 165

atggggcgag ccggggggcg ggccccgggc cggggggcgc cggcactgct gctgtttctg 60

ggggccgggc tggtcctggc ctctgggggc gtgcggcgcc gtgaggcggg cagcgcggtt 120

gaggccgaag agctggtgaa gggcagcccg gcgtgggagc cgcctgcca cgcacgcgg	180
gaagaagccg gcccaaccagc ggctggggaa gatgaggcgt cgtggacggc gcccggtggc	240
gagctggccg ggccagaaga ggtgctgcag ggtcggctg cgtgacggc caccgcctgg	300
ctggaagctg acagcccagg cctgggagga gtgaccgcag aggcgggcag cggcgatgcc	360
caggcccttc cagctacgt ccaggctccc cagcaggtcc tcgggcagtc aatcatgcc	420
cctgccattc ctgaggctac agaggccagc gggccacct ccccccccc cggcgacaag	480
ctgagcccag cttctgaact cccaaggag agcccttgg aggtttggct gaacctgggg	540
ggcagcacac ccgacctca agggccagag ctgacttacc catttcaggg caccctggag	600
ccccaaccgg catcagatat cattgacatc gactacttcg aaggactgga tggtaggggt	660
cgtggcgcag atctggggag cttcccaggg tcaccaggaa cctcagagaa ccacctgat	720
actgaggag agaccccttc ctggagcctg ctgacttat acgatgattt caccoccttc	780
gatgaatctg atttctaccc caccacatcc ttttatgatg acttggatga agaggaggag	840
gaagaggagg atgacaaaga tgcagtagga ggtggagacc tagaagatga aaatgagctt	900
ctagtgccca ctgggaagcc tggctgggg cccgggacag gccagcccac cagtcgggtg	960
catgctgtcc ctccacagca cactctgggg tcggtccccg gcagcagcat cgcctcagg	1020
ccccgccag gagagccagg cagggacttg gcctcagtg aaaatggcac tgagtgcgc	1080
agtggctttg tgcggcataa cggctcctgc cggtcagtgt gcgacctctt cccaagttac	1140
tgtcacaatg gcggccagtg ctacctgtg gagaacatag gggccttctg caggtgcaac	1200
acgcaggact acatctggca caaggggatg cgtgcgagt ccacatcac cgaattctct	1260
agagcagact acaaggacga cgatgacaag actagtaca aaactcacac atgcccacg	1320
tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttc tttttcccc aaaacccaag	1380
gacacctca tgatctccg gacctgag gtcacatgc tgggtgtgga cgtgagccac	1440
gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggc tggaggtgca taatgccaag	1500
acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcacgctc	1560
ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtga aggtctccaa caaagccctc	1620

ccagccccca togagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacaggtg 1680
tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg 1740
gtcaaaggtt tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 1800
aacaactaca agaccacgcc tcccggtctg gactccgacg gctccttctt cctctacagc 1860
aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg 1920
catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1977

<210> 166
<211> 659
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：包含訊息序列之人類CSPG5之胺基酸序列

<400> 166

Met Gly Arg Ala Gly Gly Gly Gly Pro Gly Arg Gly Pro Pro Pro Leu
1 5 10 15

Leu Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro
20 25 30

Ala Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly
35 40 45

Ser Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly
50 55 60

Pro Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly
65 70 75 80

Glu Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu Gln Glu Ser Ala Ala Val Thr
85 90 95

Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Ser Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr
100 105 110

Ala	Glu	Ala	Gly	Ser	Gly	Asp	Ala	Gln	Ala	Leu	Pro	Ala	Thr	Leu	Gln
115				120				125							
Ala	Pro	His	Glu	Val	Leu	Gly	Gln	Ser	Ile	Met	Pro	Pro	Ala	Ile	Pro
130				135				140							
Glu	Ala	Thr	Glu	Ala	Ser	Gly	Pro	Pro	Ser	Pro	Thr	Pro	Gly	Asp	Lys
145				150				155				160			
Leu	Ser	Pro	Ala	Ser	Glu	Leu	Pro	Lys	Glu	Ser	Pro	Leu	Glu	Val	Trp
165				170				175							
Leu	Asn	Leu	Gly	Gly	Ser	Thr	Pro	Asp	Pro	Gln	Gly	Pro	Glu	Leu	Thr
180				185				190							
Tyr	Pro	Phe	Gln	Gly	Thr	Leu	Glu	Pro	Gln	Pro	Ala	Ser	Asp	Ile	Ile
195				200				205							
Asp	Ile	Asp	Tyr	Phe	Glu	Gly	Leu	Asp	Gly	Glu	Gly	Arg	Gly	Ala	Asp
210				215				220							
Leu	Gly	Ser	Phe	Pro	Gly	Ser	Pro	Gly	Thr	Ser	Glu	Asn	His	Pro	Asp
225				230				235				240			
Thr	Glu	Gly	Glu	Thr	Pro	Ser	Trp	Ser	Leu	Leu	Asp	Leu	Tyr	Asp	Asp
245				250				255							
Phe	Thr	Pro	Phe	Asp	Glu	Ser	Asp	Phe	Tyr	Pro	Thr	Thr	Ser	Phe	Tyr
260				265				270							
Asp	Asp	Leu	Asp	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Asp	Asp	Lys	Asp	Ala
275				280				285							
Val	Gly	Gly	Gly	Asp	Leu	Glu	Asp	Glu	Asn	Glu	Leu	Leu	Val	Pro	Thr
290				295				300							

Gly Lys Pro Gly Leu Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Ser Arg Trp
305 310 315 320

His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Ser Val Pro Gly Ser Ser
325 330 335

Ile Ala Leu Arg Pro Arg Pro Gly Glu Pro Gly Arg Asp Leu Ala Ser
340 345 350

Ser Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Ser Gly Phe Val Arg His Asn Gly
355 360 365

Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly
370 375 380

Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn
385 390 395 400

Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile
405 410 415

Thr Asp Phe Ser Arg Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Thr Ser
420 425 430

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
435 440 445

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
450 455 460

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
465 470 475 480

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
485 490 495

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
500 505 510

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
515 520 525

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
530 535 540

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
545 550 555 560

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
565 570 575

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
580 585 590

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
595 600 605

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
610 615 620

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
625 630 635 640

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
645 650 655

Pro Gly Lys

- <210> 167
- <211> 1977
- <212> DNA
- <213> 人口序列
- <220>
- <223> 人口序列說明：包含訊息序列之小鼠CSPG5-FLAG_Fc之醣基序列

<400> 167

atgggccgag ctggaggcgg gggcccgac tggggccgc cgcagtgct gctgcttctg	60
ggggtcacgc tgggtgtcac cgtggggcc gtaccggcac gggaaacagg cagtgcgac	120
gaggctgaag agctggtgag gaggagcctg gcctgggagt cgcgtgcaa tgacacggg	180
gaggaagccg gcctgccagc agctggggaa gatgagacct cgtggacaga gggggcagt	240
gagatggctg cgtggggccc tgggtcggg ccagaggagg cactagaggc atcggtgca	300
gtgactggca ctgcctggct agaggcagat gggccaggcc tgggtggagt gactgcagag	360
gctggcagtg ggcacgccc gacccttcca gctacgtcc aggtcctga tgaggccctt	420
gggtcatcta caatgcccc tgcctccct gaggctactg aaaccagtgg acctccctcc	480
cctgctgtcc atgataagcc tagttaggc cctgaactcc cttaaagat ccccttgag	540
gttcggtga acctgggagg cagcacacca gagccactt ttcccttca gggcactctc	600
gagaccaac cagcctcaga tataattgac attgattact ttgaaggatt ggatagtga	660
ggctgtgtg cagacatggg cagcttccg ggtcaccag gaacctcaga aaacacct	720
gataccgaag gagagacccc ttctggagc ctgcttgatt tgtatgatga cttacccct	780
tttgatgagt ctgatttcta cccaccaca tcttctatg atgatttga agaggaggaa	840
gaagaggagg aggataagga tacagtagga ggtggagacc tggaagatga aaacgacctt	900
ctctgccc ctcaaaagcc tgggtgggg cctgggacag gacagccac caacgggtg	960
catgctgttc cccacagca tactctggg atggtacctg gcagcagcat ctctcttagg	1020
cccccccg gagatccagg caaggacctg gcctcaggag aaaatggcac agagtccga	1080
gttggttcg tcaggcaca tggctctgc cgtcagttc gtgacctt tccgagttac	1140
tgtcacaacg gcggccagt ctacctgtg gagaacatag gggcttctg caggtgtaac	1200
accaggact acatctggca caaggggatg cgtgtgagt ccatcatcac ggacttctct	1260
agagcagact acaaggacga cgtgacaag actagtaca aaactcacac atgccaccg	1320
tgccagcac ctgaactct ggggggacg tcagtcttcc tcttcccc aaaaccaag	1380
gacacctca tgatctccg gacctgag gtcacatgc tgggtgga cgtgagccac	1440

gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaaag 1500
acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccctg tggtcagcgt cctcaccgtc 1560
ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc 1620
ccagccccc a tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agcccccgaga accacaggtg 1680
tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg 1740
gtcaaaggct tctatccag cgacatgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 1800
aacaactaca agaccacgcc tccgtgctg gactccgacg gctccttctt cctctacagc 1860
aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg 1920
catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct cctgtctcc gggtaaa 1977

- <210> 168
- <211> 659
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人工序列說明：包含訊息序列之小鼠CSPG5-FLAG_Fc之胺基酸序列

<400> 168

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

Leu Leu Leu Leu Gly Val Thr Leu Val Leu Thr Ala Gly Ala Val Pro
 20 25 30

Ala Arg Glu Thr Gly Ser Ala Ile Glu Ala Glu Glu Leu Val Arg Ser
 35 40 45

Ser Leu Ala Trp Glu Ser Arg Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly
50 55 60

Leu Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Thr Ser Trp Thr Glu Arg Gly Ser
65 70 75 80

Glu	Met	Ala	Ala	Val	Gly	Pro	Gly	Val	Gly	Pro	Glu	Glu	Ala	Leu	Glu	
				85				90						95		
Ala	Ser	Ala	Ala	Val	Thr	Gly	Thr	Ala	Trp	Leu	Glu	Ala	Asp	Gly	Pro	
				100				105						110		
Gly	Leu	Gly	Gly	Val	Thr	Ala	Glu	Ala	Gly	Ser	Gly	Asp	Ala	Gln	Thr	
				115				120						125		
Leu	Pro	Ala	Thr	Leu	Gln	Ala	Pro	Asp	Glu	Ala	Leu	Gly	Ser	Ser	Thr	
				130				135						140		
Met	Pro	Pro	Ala	Ile	Pro	Glu	Ala	Thr	Glu	Thr	Ser	Gly	Pro	Pro	Ser	
145				150							155				160	
Pro	Ala	Val	His	Asp	Lys	Pro	Ser	Val	Gly	Pro	Glu	Leu	Pro	Lys	Glu	
				165							170				175	
Ile	Pro	Leu	Glu	Val	Arg	Leu	Asn	Leu	Gly	Gly	Ser	Thr	Pro	Glu	Pro	
				180							185				190	
Thr	Phe	Pro	Leu	Gln	Gly	Thr	Leu	Glu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Asp	Ile	
				195							200				205	
Ile	Asp	Ile	Asp	Tyr	Phe	Glu	Gly	Leu	Asp	Ser	Glu	Gly	Arg	Gly	Ala	
				210										220		
Asp	Met	Gly	Ser	Phe	Pro	Gly	Ser	Pro	Gly	Thr	Ser	Glu	Asn	His	Pro	
225								230						235		240
Asp	Thr	Glu	Gly	Glu	Thr	Pro	Ser	Trp	Ser	Leu	Leu	Asp	Leu	Tyr	Asp	
				245										250		255
Asp	Phe	Thr	Pro	Phe	Asp	Glu	Ser	Asp	Phe	Tyr	Pro	Thr	Thr	Ser	Phe	
				260										265		270
Tyr	Asp	Asp	Leu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Asp	Lys	Asp	Thr	
				275										280		285

Val Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Asp Leu Leu Leu Pro Ser
290 295 300

Gln Lys Pro Gly Val Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Asn Arg Trp
305 310 315 320

His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Met Val Pro Gly Ser Ser
325 330 335

Ile Ser Leu Arg Pro Arg Pro Gly Asp Pro Gly Lys Asp Leu Ala Ser
340 345 350

Gly Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Val Gly Phe Val Arg His Asn Gly
355 360 365

Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly
370 375 380

Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn
385 390 395 400

Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile
405 410 415

Thr Asp Phe Ser Arg Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Thr Ser
420 425 430

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
435 440 445

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
450 455 460

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
465 470 475 480

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
485 490 495

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
500 505 510

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
515 520 525

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
530 535 540

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
545 550 555 560

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
565 570 575

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
580 585 590

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
595 600 605

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
610 615 620

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
625 630 635 640

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
645 650 655

Pro Gly Lys

<210> 169
<211> 1947

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：包含訊息序列之人類CSPG5-GST之鹼基序列

<400> 169	
atggggcgag cggggggcgg gggccggggc cggggggcgc cgccactgct gctgtttctg	60
ggggccgcgc tggtcctggc ctctggggcc gtgccggcgc gtgaggcggg cagcgcggtt	120
gaggccgaag agctggtgaa gggcagcccg gcgtgggagc cgctgcgcaa cgacacgcgg	180
gaagaagccg gccaccacgc ggcctggggaa gatgaggcgt cgtggacggc gcccggtggc	240
gagctggccg ggccagaaga ggtgctgcag ggtcggctg cggtgaccgg caccgcctgg	300
ctggaagctg acagcccagg cctggggagga gtgaccgcag aggcgggcag cggcgatgcc	360
caggcccttc cagctacgct ccaggctccc caagaggctc tcgggcagtc aatcatgccc	420
cctgccattc ctgaggctac agaggccagc gggccaccct cccccacccc cggcgacaag	480
ctgagcccag cttctgaact ccccaaggag agcccctigg aggtttggt gaacctgggg	540
ggcagcacac ccgacctca agggccagag ctgacttacc catttcaggg caccctggag	600
ccccaaccgg catcagatat cattgacatc gactacttcg aaggactgga tggtaggggt	660
cgtggcgag atctggggag ctccccaggg tcaccaggaa cctcagagaa ccacctgat	720
actgagggag agacccttc ctggagcctg ctgacttat acgatgattt caccoccttc	780
gaigaatctg attctaccc caccacatcc ttttatgatg acttgatga agaggaggag	840
gaagaggagg atgacaaaga tgcagtagga ggtggagacc tagaagatga aaatgagctt	900
ctagtgccca ctgggaagcc tggctgggg cccgggacag gccagcccac cagtccgttg	960
catgctgtcc ctccacagca cactctgggg tcggtccccg gcagcagcat cgcctcagg	1020
ccccgccag gagagccagg cagggacttg gcctccagtg aaaatggcac tgagtccgc	1080
agtggctttg tgcggcataa cggctcctgc cggtcagtgt gcgacctctt cccaagtac	1140
tgtcacaatg gcggccagt ctacctgtg gagaacatag gggccttctg caggtgcaac	1200
acgcaggact acatctggca caaggggatg cgctgcgagt ccacatcac cgacttcggt	1260

accctggaag ttctgttcca ggggcccacg tcccctatac taggttatig gaaaattaag 1320
ggccttgtgc aaccacactcg acttcttttg gaatatctig aagaaaaata tgaagagcat 1380
ttgtatgagc gogatgaagg tgataaatgg cgaaacaaaa agtttgaatt gggtttggag 1440
tttcccaatc ttccctatta tatigatggt gatgttaaatt taacacagtc tatggccatc 1500
atacgttata tagctgacaa gcacaacatg ttgggtggtt gtccaaaaga gctgcagag 1560
atttcaatgc ttgaaggagc ggttttggat attagatacg gtgtttcgag aattgcatat 1620
agtaaagact ttgaaactct caaagttgat ttcttagca agctacctga aatgctgaaa 1680
atgttogaag atcgtttatg tcataaaaca tatttaaatt gtagcatgt aaccatcct 1740
gacttcatgt tgtatgacgc tcttgatgtt gttttataga tggacccaat gtgcctggat 1800
gcgttcccaa aattagtttg ttttaaaaaa cgtattgaag ctatccaca aattgataag 1860
tacttgaaat ccagcaagta tatagcatgg cctttgcagg gctggcaagc cacgtttggt 1920
ggtggcgacc atcctccaaa atcggat 1947

<210> 170
<211> 649
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：包含訊息序列之人類CSPG5-GST之胺基酸序列

<400> 170

Met Gly Arg Ala Gly Gly Gly Gly Pro Gly Arg Gly Pro Pro Pro Leu
1 5 10 15

Leu Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro
 20 25 30

Ala Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly
 35 40 45

Ser Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly
 50 55 60

Pro	Pro	Ala	Ala	Gly	Glu	Asp	Glu	Ala	Ser	Trp	Thr	Ala	Pro	Gly	Gly	
65					70					75					80	
Glu	Leu	Ala	Gly	Pro	Glu	Glu	Val	Leu	Gln	Glu	Ser	Ala	Ala	Val	Thr	
			85						90					95		
Gly	Thr	Ala	Trp	Leu	Glu	Ala	Asp	Ser	Pro	Gly	Leu	Gly	Gly	Val	Thr	
			100					105					110			
Ala	Glu	Ala	Gly	Ser	Gly	Asp	Ala	Gln	Ala	Leu	Pro	Ala	Thr	Leu	Gln	
			115				120					125				
Ala	Pro	His	Glu	Val	Leu	Gly	Gln	Ser	Ile	Met	Pro	Pro	Ala	Ile	Pro	
			130				135				140					
Glu	Ala	Thr	Glu	Ala	Ser	Gly	Pro	Pro	Ser	Pro	Thr	Pro	Gly	Asp	Lys	
145					150					155					160	
Leu	Ser	Pro	Ala	Ser	Glu	Leu	Pro	Lys	Glu	Ser	Pro	Leu	Glu	Val	Trp	
					165				170					175		
Leu	Asn	Leu	Gly	Gly	Ser	Thr	Pro	Asp	Pro	Gln	Gly	Pro	Glu	Leu	Thr	
			180					185					190			
Tyr	Pro	Phe	Gln	Gly	Thr	Leu	Glu	Pro	Gln	Pro	Ala	Ser	Asp	Ile	Ile	
			195				200					205				
Asp	Ile	Asp	Tyr	Phe	Glu	Gly	Leu	Asp	Gly	Glu	Gly	Arg	Gly	Ala	Asp	
			210				215				220					
Leu	Gly	Ser	Phe	Pro	Gly	Ser	Pro	Gly	Thr	Ser	Glu	Asn	His	Pro	Asp	
225					230					235					240	
Thr	Glu	Gly	Glu	Thr	Pro	Ser	Trp	Ser	Leu	Leu	Asp	Leu	Tyr	Asp	Asp	
				245					250					255		

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

Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu Gly Leu Glu
465 470 475 480

Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys Leu Thr Gln
485 490 495

Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn Met Leu Gly
500 505 510

Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu Gly Ala Val
515 520 525

Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser Lys Asp Phe
530 535 540

Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu Met Leu Lys
545 550 555 560

Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn Gly Asp His
565 570 575

Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp Val Val Leu
580 585 590

Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu Val Cys Phe
595 600 605

Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr Leu Lys Ser
610 615 620

Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala Thr Phe Gly
625 630 635 640

Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp
645

<210> 171
<211> 1947
<212> DNA
<213> 人口序列

<220>
<223> 人口序列說明：包含訊息序列之小鼠CSPG5-GST之鹼基序列

<400> 171
atgggccgag ctggaggcgg gggcccgagc tggggccgc cgccagtgt gctgcttctg 60
gggttcacgc tgggtctcac cgctggggcc gtaccggcac gggaaacagg cagtgcgac 120
gaggctgaag agctggtgag gagcagcctg gcatgggagt cgcgtgcaa tgacacgcgg 180
gaggaagccg gcctgccagc agctggggaa gatgagacct cgiggacaga gcggggcagt 240
gagatggctg cgggtggccc tgggtcggg ccagaggagg cactagaggc atcggtgca 300
gtgactggca ctgcctggct agaggcagat ggcccaggcc tgggtggagt gactgcagag 360
gctggcagtg gcgacgccc gaccttcca gctacgtcc aggtcctga tgaggccctt 420
gggtcatcta caatgcccc tgccatccct gaggtactg aaaccagtgg acctccctcc 480
cctgctgtcc atgataagcc tagttaggc cctgaactcc ctaaagagat ccccttgag 540
gttcggctga acctgggagg cagcacacca gagcccactt ttccccttca gggcactctc 600
gagaccaaac cagcctcaga tataatigac attgattact ttgaaggatt ggatagtgag 660
ggctgtgtg cagacatggg cagcttccg gggtcaccag gaacctcaga aaatcacct 720
gataccgaag gagagacccc ttctggagc ctgcttgatt tgtatgatga ctccacct 780
tttgatgagt ctgatttcta ccccaccaca tctttctatg atgatttga agaggaggaa 840
gaagaggagg aggataagga tacagtagga ggtggagacc tggaagatga aaacgacctt 900
ctctgccct ctcaaaagcc tgggtgtggg cctgggacag gacagcccac caaccggigg 960
catgctgttc cccacagca tactctggg atggtacctg gcagcagcat ctctcttagg 1020
ccccgcccc gagatccagg caaggacctg gctcaggag aaaatggcac agagtgcga 1080
gttggtctg tcaggcaca tggctcctgc cggtcagtct gtgacctctt tccgagttac 1140
tgtcacaacg gcggccagt ctacctgtg gagaacatag gggctttctg cagggtgaac 1200

accaggact acatctggca caaggggatg cgcgtgagt ccatcatcac ggacttcggt 1260
accctggaag ttctgttcca ggggcccatg tccctatac taggttattg gaaaattaag 1320
ggccttgtgc aaccocactcg acttcttttg gaatatcttg aagaaaaata tgaagagcat 1380
ttgtatgagc gogatgaagg tgataaatgg cgaacaaaaa agtttgaatt gggttiggag 1440
tttcccaatc ttccattatta tattgaiggt gatgttaaai taacacagtc tatggccatc 1500
atacgttata tagctgacaa gcacaacatg ttgggtgggt gtccaaaaga gcgtgcagag 1560
atttcaatgc ttgaaggagc ggttttggat attagatacg gtgtttcgag aattgcatat 1620
agtaaagact ttgaaactct caaagttgat tticttagca agctacctga aatgctgaaa 1680
atgttcgaag atcgtttatg tcataaaaca tatttaaaig gtgatcatgt aaccatcct 1740
gacttcatgt tgtatgacgc tcttgatgtt gttttataca tggaccaat gtgcctggat 1800
ggttcccaa aattagtttg ttttaaaaaa cgtattgaag ctatccaca aattgataag 1860
tacttgaaat ccagcaagta tatagcatgg cctttgcagg gctggcaagc cacgtttggt 1920
ggtggcgacc atcctccaaa atcggat 1947

- <210> 172
- <211> 649
- <212> PRT
- <213> 人,口序列
- <220>
- <223> 人,口序列說明：包含訊息序列之小鼠CSPG5-GST之胺基酸序列

<400> 172

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

Leu Leu Leu Leu Gly Val Thr Leu Val Leu Thr Ala Gly Ala Val Pro
 20 25 30

Ala Arg Glu Thr Gly Ser Ala Ile Glu Ala Glu Glu Leu Val Arg Ser
 35 40 45

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

Asp Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe
260 265 270

Tyr Asp Asp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Lys Asp Thr
275 280 285

Val Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Asp Leu Leu Leu Pro Ser
290 295 300

Gln Lys Pro Gly Val Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Asn Arg Trp
305 310 315 320

His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Met Val Pro Gly Ser Ser
325 330 335

Ile Ser Leu Arg Pro Arg Pro Gly Asp Pro Gly Lys Asp Leu Ala Ser
340 345 350

Gly Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Val Gly Phe Val Arg His Asn Gly
355 360 365

Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly
370 375 380

Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn
385 390 395 400

Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile
405 410 415

Thr Asp Phe Gly Thr Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Met Ser Pro
420 425 430

Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro Thr Arg Leu
435 440 445

Leu	Leu	Glu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Lys	Tyr	Glu	Glu	His	Leu	Tyr	Glu	Arg
450							455							460	
Asp	Glu	Gly	Asp	Lys	Trp	Arg	Asn	Lys	Lys	Phe	Glu	Leu	Gly	Leu	Glu
465					470					475					480
Phe	Pro	Asn	Leu	Pro	Tyr	Tyr	Ile	Asp	Gly	Asp	Val	Lys	Leu	Thr	Gln
				485					490						495
Ser	Met	Ala	Ile	Ile	Arg	Tyr	Ile	Ala	Asp	Lys	His	Asn	Met	Leu	Gly
			500					505					510		
Gly	Cys	Pro	Lys	Glu	Arg	Ala	Glu	Ile	Ser	Met	Leu	Glu	Gly	Ala	Val
		515					520					525			
Leu	Asp	Ile	Arg	Tyr	Gly	Val	Ser	Arg	Ile	Ala	Tyr	Ser	Lys	Asp	Phe
	530					535					540				
Glu	Thr	Leu	Lys	Val	Asp	Phe	Leu	Ser	Lys	Leu	Pro	Glu	Met	Leu	Lys
545					550					555					560
Met	Phe	Glu	Asp	Arg	Leu	Cys	His	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Gly	Asp	His
				565					570					575	
Val	Thr	His	Pro	Asp	Phe	Met	Leu	Tyr	Asp	Ala	Leu	Asp	Val	Val	Leu
			580					585					590		
Tyr	Met	Asp	Pro	Met	Cys	Leu	Asp	Ala	Phe	Pro	Lys	Leu	Val	Cys	Phe
	595					600						605			
Lys	Lys	Arg	Ile	Glu	Ala	Ile	Pro	Gln	Ile	Asp	Lys	Tyr	Leu	Lys	Ser
	610					615					620				
Ser	Lys	Tyr	Ile	Ala	Trp	Pro	Leu	Gln	Gly	Trp	Gln	Ala	Thr	Phe	Gly
625				630					635						640
Gly	Gly	Asp	His	Pro	Pro	Lys	Ser	Asp							
				645											

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種抗體或該抗體片段，其係與硫酸軟骨蛋白多醣-5(CSPG5)結合之選自由下述(a)～(o)所組成之群中之一者；

(a) 重鏈可變區(VH)之互補決定區(CDR)1～3之胺基酸序列分別包含序列編號3、4及5所記載之胺基酸序列，且輕鏈可變區(VL)之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號8、9及10所記載之胺基酸序列的抗體、

(b) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號13、14及15所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號18、19及20所記載之胺基酸序列的抗體、

(c) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號23、24及25所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號28、29及30所記載之胺基酸序列的抗體、

(d) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號33、34及35所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號38、39及40所記載之胺基酸序列的抗體、

(e) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號43、44及45所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號48、49及50所記載之胺基酸序列的抗體、

(f) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號53、54及55所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號58、59及60所記載之胺基酸序列的抗體、

(g) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號63、64及65所記

載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號68、69及70所記載之胺基酸序列的抗體、

(h) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號73、74及75所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號78、79及80所記載之胺基酸序列的抗體、

(i) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號83、84及85所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號88、89及90所記載之胺基酸序列的抗體、

(j) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號93、94及95所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號98、99及100所記載之胺基酸序列的抗體、

(k) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號103、104及105所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號108、109及110所記載之胺基酸序列的抗體、

(l) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號113、114及115所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號118、119及120所記載之胺基酸序列的抗體、

(m) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號123、124及125所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號128、129及130所記載之胺基酸序列的抗體、

(n) VH之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號133、134及135所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1～3之胺基酸序列分別包含序列編號138、139及140所記載之胺基酸序列的抗體、及

(o) VH之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號143、144及145所記載之胺基酸序列，且VL之CDR1~3之胺基酸序列分別包含序列編號148、149及150所記載之胺基酸序列的抗體。

【第2項】

如請求項1之抗體或該抗體片段，其中抗體具有腦滯留性。

【第3項】

如請求項2之抗體或該抗體片段，其中抗體為具有神經細胞及/或星形膠質細胞結合性之抗體。

【第4項】

如請求項1或2之抗體或該抗體片段，其中抗體為選自由下述(A)~(O)所組成之群中之一者；

(A) VH之胺基酸序列包含序列編號2所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號7所記載之胺基酸序列的抗體、

(B) VH之胺基酸序列包含序列編號12所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號17所記載之胺基酸序列的抗體、

(C) VH之胺基酸序列包含序列編號22所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號27所記載之胺基酸序列的抗體、

(D) VH之胺基酸序列包含序列編號32所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號37所記載之胺基酸序列的抗體、

(E) VH之胺基酸序列包含序列編號42所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號47所記載之胺基酸序列的抗體、

(F) VH之胺基酸序列包含序列編號52所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號57所記載之胺基酸序列的抗體、

(G) VH之胺基酸序列包含序列編號62所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號67所記載之胺基酸序列的抗體、

(H) VH之胺基酸序列包含序列編號72所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號77所記載之胺基酸序列的抗體、

(I) VH之胺基酸序列包含序列編號82所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號87所記載之胺基酸序列的抗體、

(J) VH之胺基酸序列包含序列編號92所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號97所記載之胺基酸序列的抗體、

(K) VH之胺基酸序列包含序列編號102所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號107所記載之胺基酸序列的抗體、

(L) VH之胺基酸序列包含序列編號112所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號117所記載之胺基酸序列的抗體、

(M) VH之胺基酸序列包含序列編號122所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號127所記載之胺基酸序列的抗體、

(N) VH之胺基酸序列包含序列編號132所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號137所記載之胺基酸序列的抗體、及

(O) VH之胺基酸序列包含序列編號142所記載之胺基酸序列，且VL之胺基酸序列包含序列編號147所記載之胺基酸序列的抗體。

【第5項】

如請求項1或2之抗體或該抗體片段，其中抗體或該抗體片段為雙特異性抗體。

【第6項】

如請求項5之抗體或該抗體片段，其中雙特異性抗體與CSPG5及存在

於腦中之抗原結合。

【第7項】

如請求項5之抗體或該抗體片段，其中雙特異性抗體包含與CSPG5結合之抗原結合部位、及與存在於腦中之抗原結合之抗原結合部位。

【第8項】

如請求項1或2之抗體或該抗體片段，其中抗體片段為選自由Fab、Fab'、F(ab')₂、單鏈抗體(scFv)、二聚體化V區(雙功能抗體(diabody))、二硫鍵穩定V區(dsFv)、重鏈抗體之重鏈可變區(VHH)及包含CDR之肽所組成之群中之一者。

【第9項】

如請求項1或2之抗體或該抗體片段，其中抗體為基因重組抗體。

【第10項】

如請求項1或2之抗體或該抗體片段，其中抗體為選自由小鼠抗體、大鼠抗體、兔抗體、羊駝抗體、駱駝抗體、駱馬抗體、嵌合抗體、人類化抗體及人類抗體所組成之群中之一者。

【第11項】

一種融合抗體或該融合抗體片段，其係使選自由下述(i)~(iii)所組成之群中之至少一者與如請求項1至10中任一項之與CSPG5結合之抗體或該抗體片段結合而成；

- (i) 親水性高分子、
- (ii) 兩親媒性高分子、及
- (iii) 功能性分子。

【第12項】

一種融合瘤，其產生如請求項1至10中任一項之抗體或該抗體片段、或者如請求項11之融合抗體或該融合抗體片段。

【第13項】

一種核酸，其包含編碼如請求項1至10中任一項之抗體或該抗體片段、或者如請求項11之融合抗體或該融合抗體片段之鹼基序列。

【第14項】

一種轉形細胞，其係含有載體者，其中該載體包含如請求項13之核酸。

【第15項】

一種如請求項1至10中任一項之抗體或該抗體片段、或者如請求項11之融合抗體或該融合抗體片段之製造方法，其包括：培養如請求項12之融合瘤或如請求項14之轉形細胞，自培養液採集如請求項1至10中任一項之抗體或該抗體片段、或者如請求項11之融合抗體或該融合抗體片段。

【第16項】

一種組合物，其包含如請求項1至10中任一項之抗體或該抗體片段、或者如請求項11之融合抗體或該融合抗體片段。

【第17項】

如請求項16之組合物，其係存在於腦中之抗原之檢測或測定用之組合物。

【第18項】

如請求項16之組合物，其係用以診斷或治療腦疾病之組合物。

【第19項】

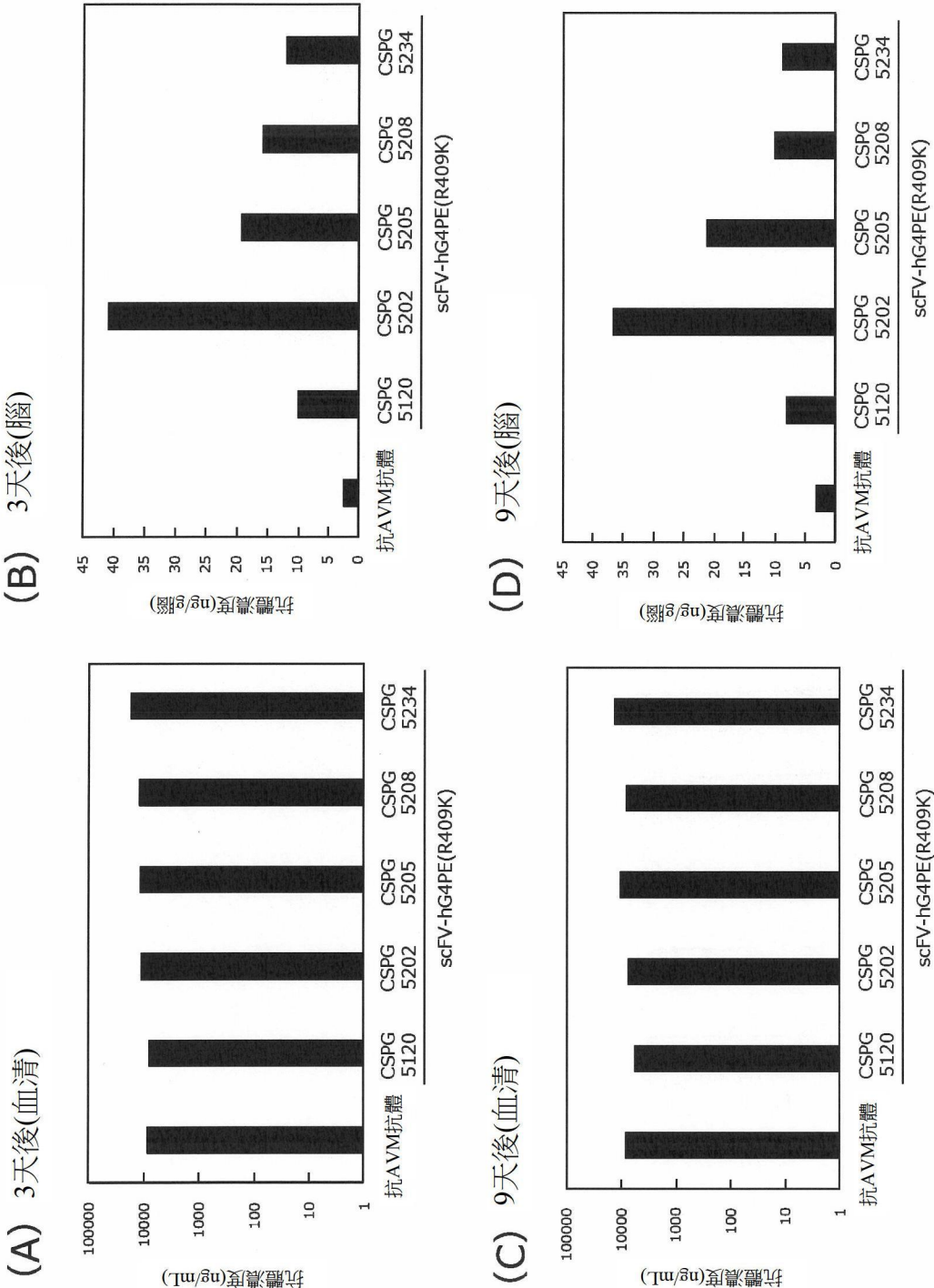
一種使抗體、該抗體片段、融合抗體或該融合抗體片段之腦滯留性

提高之方法，其包括：使用如請求項1至10中任一項之抗體或該抗體片段、如請求項11之融合抗體或該融合抗體片段、或者如請求項16之組合物。

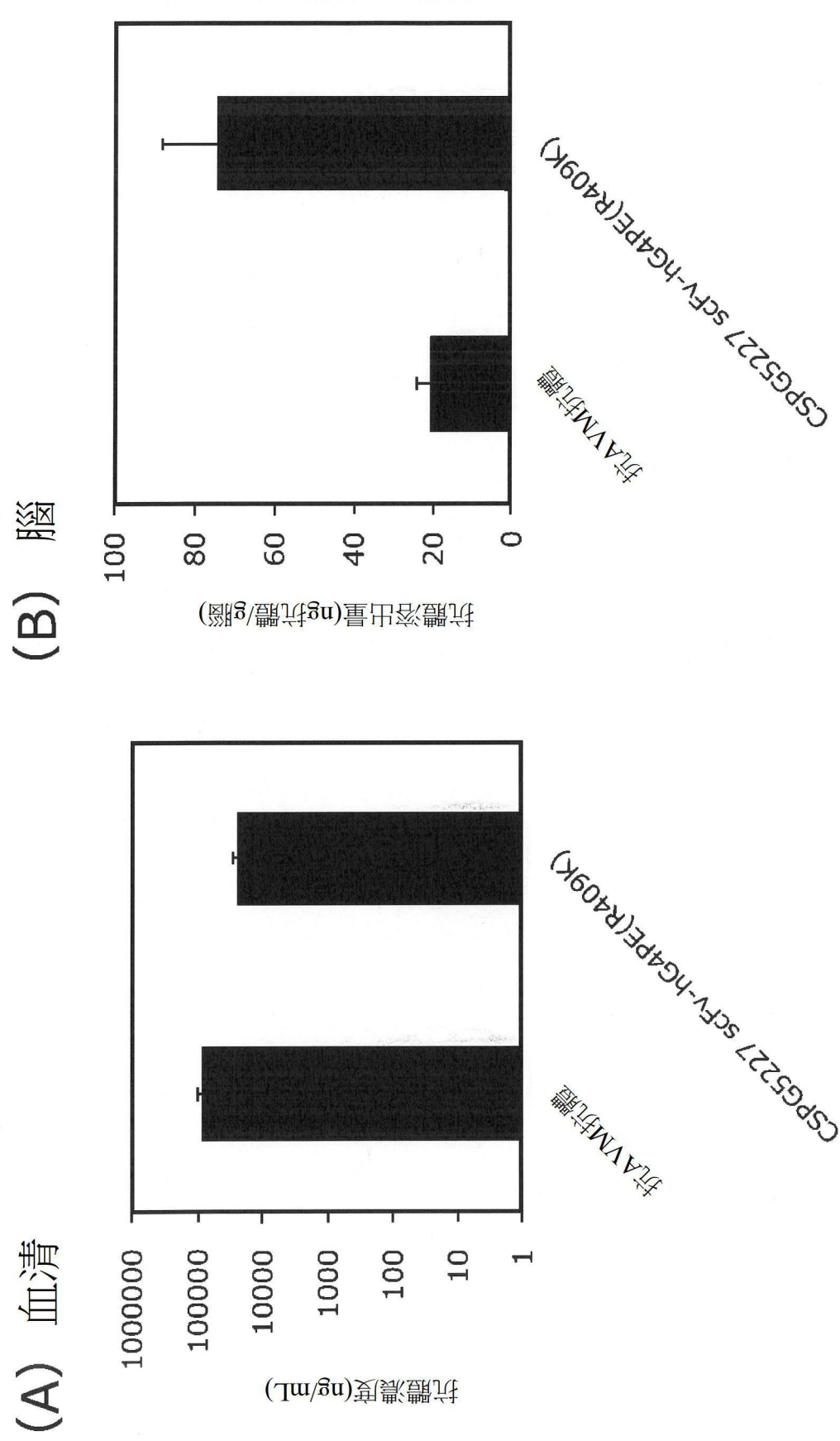
【第20項】

一種使腦內之抗體量、該抗體片段量、融合抗體量或該融合抗體片段量增加之方法，其包括：使用如請求項1至10中任一項之抗體或該抗體片段、如請求項11之融合抗體或該融合抗體片段、或者如請求項16之組合物。

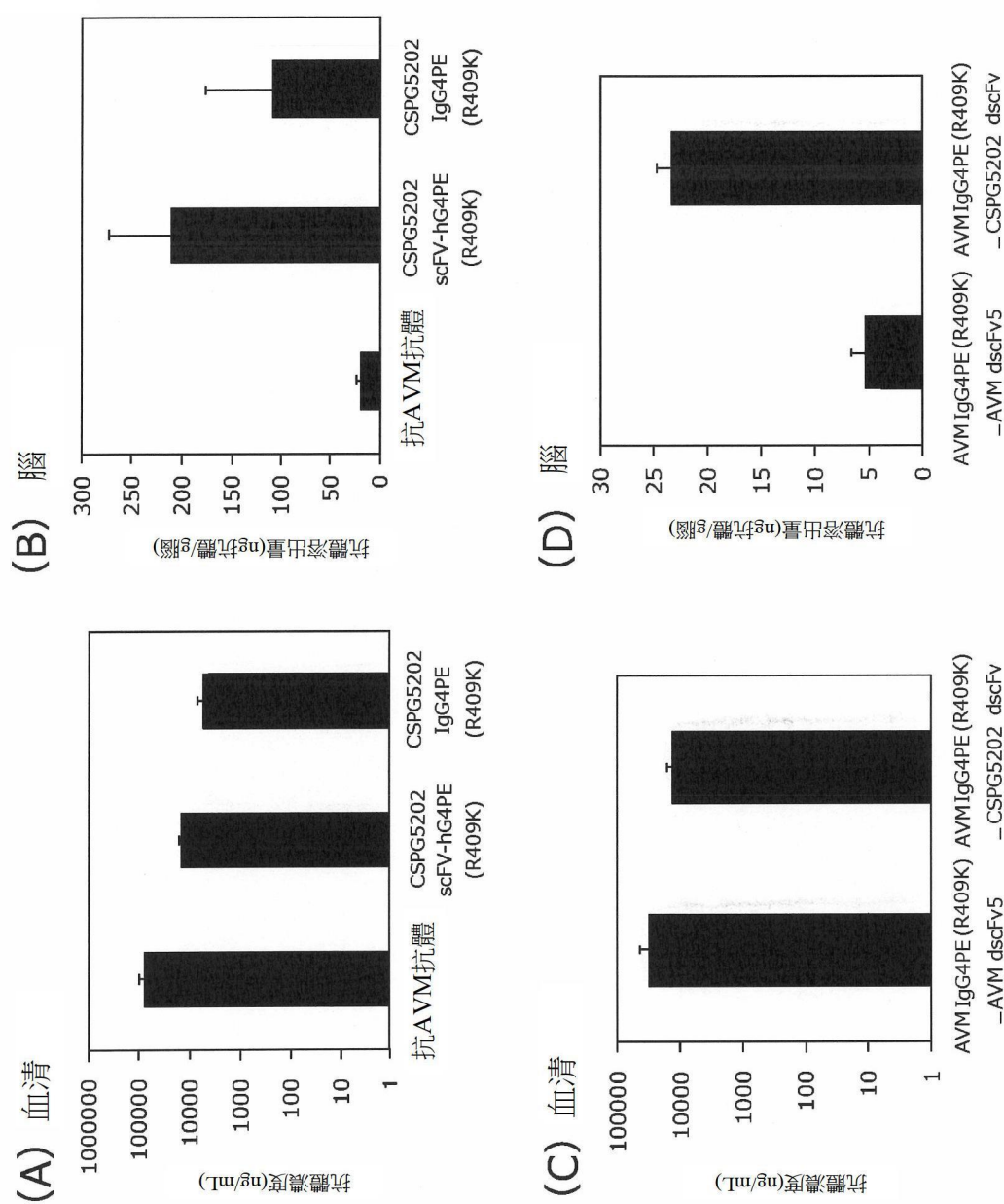
【發明圖式】



【圖1】

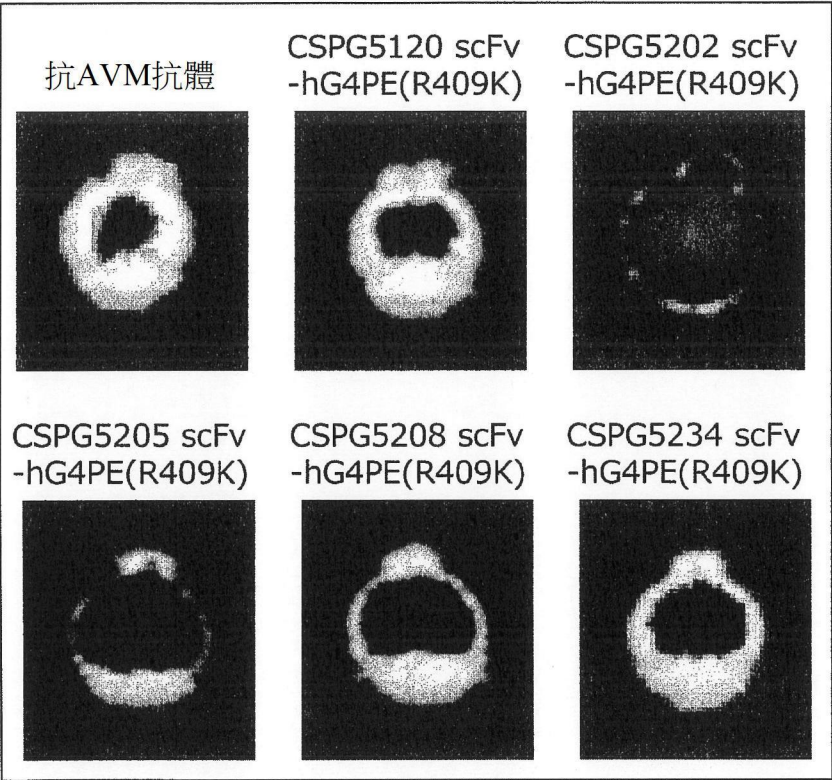


【圖2】

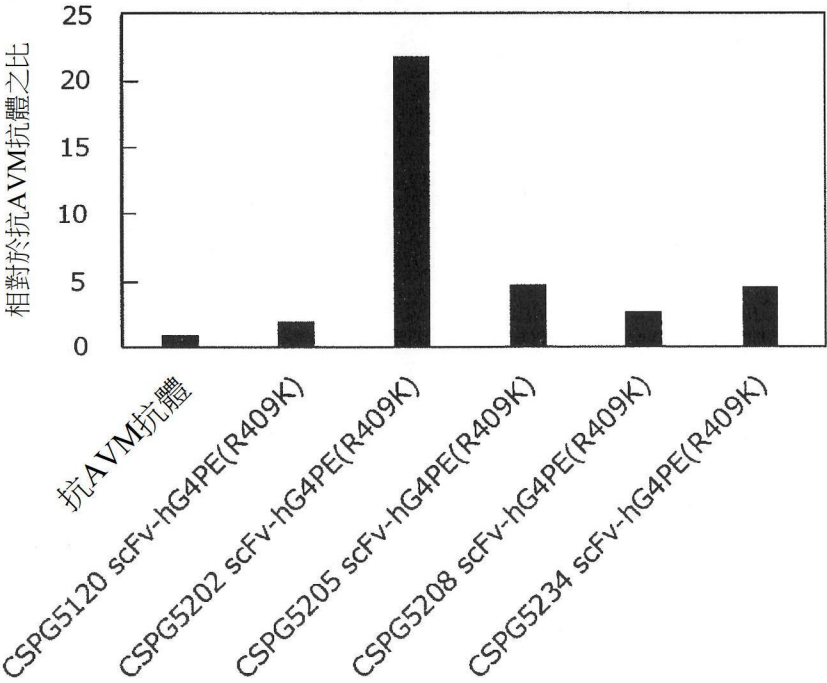


【圖3】

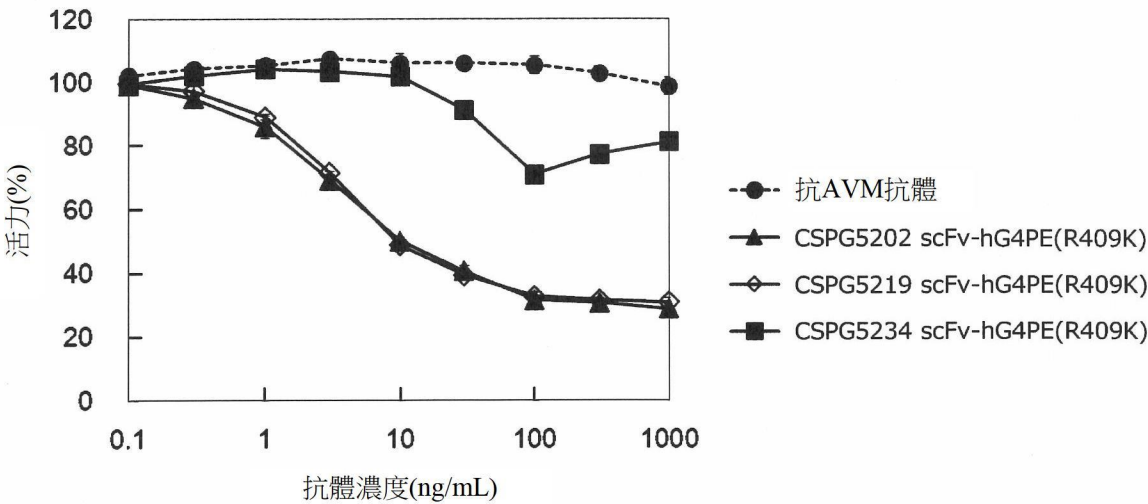
(A)



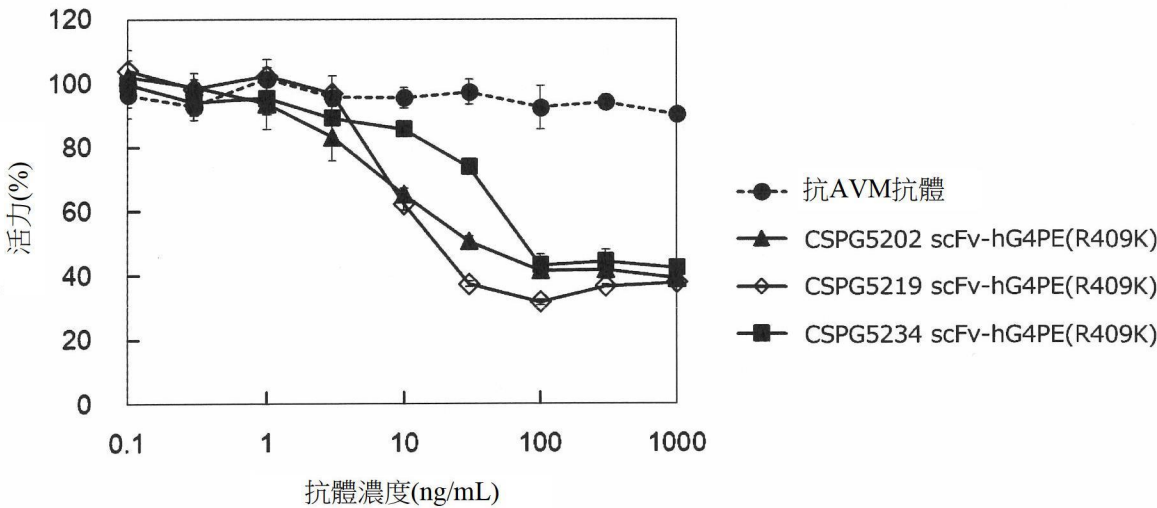
(B)



【圖4】



【圖5】



【圖6】