(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110408644 A
(43)申请公布日 2019.11.05

(21)申请号 201910566412.4

(22)申请日 2012.05.08

(30)优先权数据
61/488,660 2011.05.20 US
61/496,860 2011.06.14 US
61/496,873 2011.06.14 US
61/525,307 2011.08.19 US

(62)分案原申请数据
201280035868.4 2012.05.08

(71)申请人 奥尔德生物控股有限责任公司
地址 美国内华达

(72)发明人 P·D·麦克尼尔 N·詹森
G·L·莱斯尼基 P·齐
J·A·莱瑟姆
L·F·加西亚-马丁内斯

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 11038
代理人 郑天松

(51)Int.Cl.
C12N 15/81(2006.01)
C07K 16/22(2006.01)
C12P 21/08(2006.01)
C12R 1/84(2006.01)

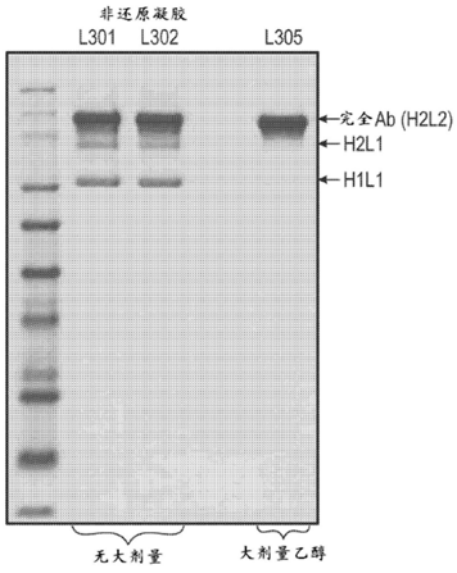
权利要求书1页 说明书136页
序列表164页 附图22页

(54)发明名称

多亚基蛋白质例如抗体在转化的微生物例如巴斯德毕赤酵母中的高纯度产生

(57)摘要

本发明公开了用于在转化的细胞中产生异源多亚基蛋白质的方法。具体地，本公开提供了以更高的产率和减少的非所需副产物产量产生多亚基蛋白质的改进方法，所述多亚基蛋白质包括可能会或可能不会被分泌出的抗体和其它多亚基蛋白质。在示例性实施方案中，转化的细胞为酵母，例如甲醇营养型酵母如巴斯德毕赤酵母。



CN 110408644 A

1.一种产生全长抗体的方法,其包括:

(a)提供包含含有提供所述全长抗体的表达的基因的巴斯德毕赤酵母细胞的生长培养物,和使所述毕赤酵母在所述生长培养物中生长约12-16小时的生长期;

(b)在所述生长期后将乙醇添加至所述培养物,其中乙醇至巴斯德毕赤酵母培养物的添加是单次大剂量添加,所述大剂量导致所述培养物中的乙醇浓度在0.5%与1.5%w/v之间;和

(c)培养所述培养物以产生分泌的所述全长抗体,其中所述培养包括将含有可发酵碳源的进料添加至所述培养物,

其中所述方法相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低具有异常化学计量的抗体复合物的相对丰度。

2.根据权利要求1所述的方法,其中所述大剂量乙醇相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法增加稳定的二硫键的形成。

3.根据权利要求1所述的方法,其中所述抗体包含一个或多个包含至少一个二硫键的多肽。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的方法,其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低一种或多种产物相关变体的相对丰度。

5.根据权利要求1至3中任一项所述的方法,其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低产物相关变体的相对丰度,所述变体具有比所述期望的抗体更高或更低的表观分子量,如通过尺寸排阻色谱法或凝胶电泳所检测的。

6.根据权利要求1至3中任一项所述的方法,其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低具有异常二硫键的抗体复合物的相对丰度。

7.根据权利要求1至3中任一项所述的方法,其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低具有降低的半胱氨酸的抗体复合物的相对丰度。

8.根据权利要求1至3中任一项所述的方法,其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低具有异常糖基化的抗体复合物的相对丰度。

9.根据权利要求3所述的方法,其调节重链间二硫键的形成或稳定性。

10.根据权利要求3或9所述的方法,其调节连接轻链与重链的二硫键的形成或稳定性。

多亚基蛋白质例如抗体在转化的微生物例如巴斯德毕赤酵母中的高纯度产生

[0001] 本申请是2012年5月8日提交的同名发明专利申请201280035868.4的分案申请。

[0002] 相关申请公开

[0003] 本申请要求2011年8月19日提交的美国临时申请序列号61/525,307(代理人案卷号67858.730200)(标题为“MULTI-COPY STRATEGY FOR HIGH-TITER AND HIGH-PURITY PRODUCTION OF MULTI-SUBUNIT PROTEINS SUCH AS ANTIBODIES IN TRANSFORMED MICROBES SUCH AS PICHIA PASTORIS”、2011年5月20日提交的美国临时申请序列号61/488,660(代理人案卷号67858.730300)(标题为“ANTI-CGRP COMPOSITIONS AND USE THEREOF”)、2011年6月14日提交的美国临时申请序列号61/496,860(代理人案卷号67858.760000)(标题为“USE OF ANTI-CGRP ANTIBODIES AND ANTIBODY FRAGMENTS TO PREVENT OR INHIBIT PHOTOPHOBIA IN SUBJECTS IN NEED THEREOF,ESPECIALLY MIGRAINE SUFFERERS”)和2011年6月14日提交的美国临时申请序列号61/496,873(代理人案卷号67858.770000)(标题为“USE OF ANTI-CGRP ANTIBODIES AND ANTIBODY FRAGMENTS TO TREAT DIARRHEA IN SUBJECTS WITH DISEASES OR TREATMENTS THAT RESULT IN ELEVATED CGRP LEVELS”)的权益,这些美国临时申请的每一个通过引用整体并入本文。

[0004] 本申请包括通过EFS-Web以ASCII格式提交的序列表,该序列表创建于2012年5月8日,文件名为“67858o711002.txt”,大小为315,392字节,所述序列表通过引用整体并入本文。

[0005] 领域

[0006] 本公开总体上涉及用于在转化的细胞中产生异源蛋白质的方法。具体地,本公开提供了产生多亚基蛋白质包括抗体和其它多亚基蛋白质的改进方法,所述蛋白质可以是分泌的或可以不是分泌的,具有减少的非所需副产物的产量和/或增加的产率。在示例性实施方案中,转化的细胞是酵母,例如巴斯德毕赤酵母或酿酒酵母。

[0007] 背景

[0008] 常规抗体是由两个相同的轻链和两个相同的重链组成的四聚体蛋白质。对于许多目的,可能难以或不可能以充足的量从天然来源纯化特定类型的纯的人抗体。因此,生物技术和制药公司已转向基于重组DNA的方法来大规模制备抗体。功能性抗体的产生通常不仅包括两个多肽的合成而且还包括许多翻译后事件,包括N末端分泌信号序列的蛋白酶解加工;多肽至四聚体的正确折叠和装配;二硫键的形成;和通常包括特定N联接的糖基化。所有这些事件在真核细胞分泌途径(对于真核细胞是独特的细胞器复合物)中发生。

[0009] 此类复合蛋白质的重组合成通常依赖于高等真核细胞的培养来产生具有生物活性的物质,培养的哺乳动物细胞是很常用的。然而,基于哺乳动物组织培养的产生系统相对于微生物发酵法引起显著增加的费用和并发症。此外,来源于哺乳动物细胞培养的产物可能需要另外的安全性测试来确保不含可能存在于培养细胞或用于培养的动物来源的产品例如血清中的哺乳动物病原体(包括病毒)。

[0010] 现有工作帮助将酵母巴斯德毕赤酵母建立为用于产生功能性抗体的具有成本效

益的平台，所述平台潜在地适用于研究、诊断和治疗用途。参见共同拥有的美国专利7,935,340和7,927,863，所述美国专利的每一个通过引用整体并入本文。用于用于表达重组蛋白质的巴斯德毕赤酵母发酵的设计和最优化(包括细胞密度、液体培养基体积、底物进料速度以及反应的每一个时期的长度的最优化)的方法在文献中也是已知的。参见Zhang等，“Rational Design and Optimization of Fed-Batch and Continuous Fermentations”in Cregg,J.M.,Ed.,2007,Pichia Protocols(第2版),Methods in Molecular Biology,第389卷,Humana Press,Totowa,N.J.,第43-63页。

[0011] 尽管可从培养细胞产生重组多亚基蛋白质，还可产生非所需副产物。例如，培养细胞可产生连同游离单体、具有不正确的化学计量的复合物或具有不期望的或异常的糖基化的蛋白质一起的期望的多亚基蛋白质。期望的多亚基蛋白质的纯化可增加生产成本，并且参与纯化的步骤可减少活性复合物的总产率。此外，即使在纯化后，非所需副产物可以以引起关注的量存在。例如，糖基化副产物可以以在施用后增加免疫反应的风险的量存在，然而异常复合物或聚集体可减小特异性活性并且还可潜在具有免疫原性。

[0012] 概述

[0013] 大多数IgG1抗体分子通过总共16个链内和链间二硫键来稳定。链内二硫键稳定IgG结构域在重链和轻链中的折叠，然而链间二硫键使重链与轻链之间的结合稳定。由于这些键，抗体形成包含两个重链和两个轻链(H2L2)的稳定复合物。然而，由于不正确的二硫键形成，有时在重组抗体制剂中发现产物相关变体，包括具有一个轻链和一个重链的复合物(H1L1)和具有两个重链和一个轻链的复合物(H2L1)。此外，还可形成其中形成额外的链间二硫键(从而导致更多数目的共价连接的亚基)的更高级的复合物。

[0014] 如下文中进一步描述的，申请人现已确立了在从酵母培养物重组产生抗体的过程中减少这些包含异常二硫键的复合物的产生的方法。具体地，所述方法包括将大剂量乙醇添加至培养物中，从而导致减少的H1L1、H2L1和H4L4产物相关变体的产生以及增加的期望的H2L2产物的纯度。H1L1和H2L1复合物可通过非还原变性SDS-PAGE来检测，H4L4复合物可通过尺寸排阻色谱法来检测。通过使用主题方法，可促进适当的二硫键形成，从而导致增加的抗体纯度。这在3种不同的抗体中得以证明，当在添加大剂量乙醇的情况下产生时，所述三种抗体全都显示改善的纯度(图1-6)。这三种抗体不仅在序列上不同而且识别3种不同的抗原。此外，当在所述大剂量乙醇不存在的情况下，相较于第三抗体(图5)，所述抗体中的两种包含更大量的H1L1产物(图1-4)。两种包含更大量的H1L1产物的抗体具有非经典的或额外的二硫键，然而第3种抗体不具有非经典的或额外的二硫键。图1、2和3中例举的抗体在可变轻链结构域中具有额外的链内二硫键，然而图4中例举的抗体在其重链中具有额外的链内二硫键。文献中已报导过表达的蛋白质中二硫键的存在增加宿主的细胞内应激(参见Gasser等，Biotechnology and Bioengineering，第94卷，No.2，第353-61页，2006年6月5日；Inan等，Biotechnology And Bioengineering，第93卷，No.4，第771-78页，2006年3月5日；Li等，Biochem Biophys Res Commun.2010年11月19日；402(3):519-524)。该增加的应激还可导致更低的活力，如图11、12和13中显示的，其中具有额外链内二硫键的两种抗体在“无大剂量”条件下具有更低的活力。大剂量乙醇的添加从而导致增加的活力和增加的纯度。这可以是有用的，特别是在难以表达多个二硫键要表达的蛋白质时。

[0015] 在一个方面，本公开提供了产生多亚基复合物的方法，包括：(a)提供包含含有提

供所述多亚基复合物的亚基的表达的基因的真核细胞的培养物;(b)将大剂量的乙醇添加至所述培养物;和(c)培养所述培养物以产生所述多亚基复合物。

[0016] 大剂量乙醇相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法增加稳定的二硫键的形成。

[0017] 所述多亚基复合物可包含一个或多个包含至少一个二硫键的多肽。

[0018] 所述多亚基复合物包含抗体。

[0019] 所述方法相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法可降低一种或多种产物相关变体的相对丰度。

[0020] 所述方法相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法可降低产物相关变体的相对丰度,所述变体具有比所述期望的多亚基复合物更高或更低的表观分子量,如通过尺寸排阻色谱法或凝胶电泳所检测的。

[0021] 所述方法相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法可降低具有异常化学计量的复合物的相对丰度。

[0022] 所述方法相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法可降低具有异常二硫键的复合物的相对丰度。

[0023] 所述方法相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法可降低具有降低的半胱氨酸的复合物的相对丰度。

[0024] 所述方法相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法可降低具有异常糖基化的复合物的相对丰度。

[0025] 所述方法可调节重链间二硫键的形成或稳定性。

[0026] 所述方法可调节连接轻链与重链的二硫键的形成或稳定性。

[0027] 所述方法相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的方法可降低一种或多种产物相关变体的相对丰度。

[0028] 所述产物相关变体包括H1L1、H2L1和H4L4产物相关变体的一种或多种。

[0029] 所述方法相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法增加所述抗体的纯度。

[0030] 可在步骤(c)之前进行步骤(b)。

[0031] 可在步骤(c)后进行步骤(b)。

[0032] 可同时进行步骤(b)与步骤(c)。

[0033] 步骤(b)可导致所述培养物中的乙醇浓度在约0.01%与约4%(w/v)之间。

[0034] 步骤(b)可导致所述培养物中的乙醇浓度为约0.01%与约4%之间、约0.02%与约3.75%之间、约0.04%与约3.5%之间、约0.08%与约3.25%之间、约0.1%与约3%之间、约0.2%与约2.75%之间、约0.3%与约2.5%之间、约0.4%与约2.25%之间、约0.5%与约1.5%之间、约0.5%与约2%之间、约0.6%与约1.75%之间、约0.7%与约1.5%或约0.8%与约1.25%之间。

[0035] 步骤(b)可导致所述培养物中的乙醇浓度可为至少约0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、0.10%、0.2%、0.3%、0.4%、0.6%、0.6%、0.7%、0.8%或0.9%(w/v)。

[0036] 步骤(b)可导致所述培养物中的乙醇浓度可为至多约4%、3.5%、3%、2.5%、2%、

1.8%、1.6%、1.5%、1.4%、1.3%、1.2%、1.1%、1.0%、0.9%、0.8%、0.7%、0.6%、0.5%、0.4%、0.35%、0.3%、0.25%、0.2%或0.15%(w/v)。

[0037] 步骤(b)可包括将乙醇添加至所述培养物,将包含乙醇的载体添加至所述培养物,将所述细胞添加至培养基或包含乙醇的载体,或替换部分所述培养基。

[0038] 在1至20分钟的时间段内将所述大剂量乙醇添加至培养基。

[0039] 步骤(c)可包括给所述细胞提供氧。

[0040] 所述提供氧包括搅拌所述培养物。

[0041] 所述提供氧包括将所述培养物与包含氧的气体混合物接触。

[0042] 步骤(c)可包括将含有碳源的进料添加至所述培养物。

[0043] 所述进料包含至少一种可发酵碳源。

[0044] 所述进料包含葡萄糖、乙醇、柠檬酸盐、山梨醇、木糖、海藻糖、阿拉伯糖、半乳糖、果糖、蜜二糖、乳糖、麦芽糖、鼠李糖、核糖、甘露糖、甘露醇和棉子糖的一种或多种。

[0045] 所述方法还可在步骤(c)期间将乙醇的浓度维持在上设置点与下设置点之间。

[0046] 所述下设置点为约0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、0.10%、0.2%、0.3%、0.4%、0.6%、0.6%、0.7%、0.8%或0.9%(w/v)。

[0047] 所述上设置点为约4%、3.5%、3%、2.5%、2%、1.8%、1.6%、1.5%、1.4%、1.3%、1.2%、1.1%、1.0%、0.9%、0.8%、0.7%、0.6%、0.5%、0.4%、0.35%、0.3%、0.25%、0.2%或0.15%(w/v)。

[0048] 所述上设置点至多为约1.5%、1.4%、1.3、1.2%或1.1%(w/v)。

[0049] 所述方法还可包括在步骤(c)期间将乙醇浓度维持在设置点。

[0050] 所述设置点为约0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、01.%、01.1%、01.2%、01.3%、01.4%或01.5%(w/v)。

[0051] 步骤(c)可包括将所述培养物中的乙醇浓度维持在约0.01%与约4%之间、约0.02%与约3.75%之间、约0.04%与约3.5%之间、约0.08%与约3.25%之间、约0.1%与约3%之间、约0.2%与约2.75%之间、约0.3%与约2.5%之间、约0.4%与约2.25%之间、约0.5%与约2%之间、约0.6%与约1.75%之间、约0.7%与约1.5%或约0.8%与约1.25%之间。

[0052] 所述培养物中的乙醇浓度通过控制由所述细胞进行的乙醇产生或通过将乙醇添加至所述培养物来维持。

[0053] 控制乙醇产生的步骤可包括控制葡萄糖的浓度、氧的可用度、搅拌的强度、气压、供应的空气或其它气体混合物的流速、培养物粘度、培养物密度、供应的空气或其它气体混合物中氧的浓度以及温度的一项或多项。

[0054] 步骤(a)与步骤(b)之间的时间可少于约72小时、少于约48小时、少于约24小时、少于约12小时、少于约9小时、少于约6小时、少于约5小时、少于约4小时、少于约3小时、少于约90分钟、少于约30分钟、少于约5分钟或少于约1分钟。

[0055] 步骤(b)与步骤(c)之间的时间少于约10小时、少于约9小时、少于约8小时、少于约7小时、少于约6小时、少于约5小时、少于约4小时、少于约3小时、少于约2小时、少于约90分钟、少于约80分钟、少于约70分钟、少于约60分钟、少于约50分钟、少于约40分钟、少于约30分钟、少于约20分钟、少于约10分钟、少于约5分钟或少于约1分钟。

[0056] 步骤(a)的培养物通过向所述培养物添加碳源，以及培养所述培养物直至碳源可被耗尽来产生。

[0057] 所述碳源包括甘油、葡萄糖、乙醇、柠檬酸盐、山梨醇、木糖、海藻糖、阿拉伯糖、半乳糖、果糖、蜜二糖、乳糖、麦芽糖、鼠李糖、核糖、甘露糖、甘露醇和棉子糖的一种或多种。

[0058] 碳源的耗尽通过检测所述真核细胞的代谢活动的减弱来测定。

[0059] 所述真核细胞的代谢活动的所述减弱可通过检测所述真核细胞对氧的消耗的减少，通过检测培养物的pH的升高，通过检测湿细胞团的稳定化，或通过检测培养物中的氨浓度的增加来鉴定。

[0060] 所述真核细胞对氧的消耗的所述减少可通过检测所述培养物中溶解氧的浓度的增加来鉴定。

[0061] 所述真核细胞可包括酵母细胞。

[0062] 所述酵母细胞可包括甲醇营养型酵母。

[0063] 所述甲醇营养型酵母可属于毕赤酵母属。

[0064] 毕赤酵母属的所述甲醇营养型酵母是巴斯德毕赤酵母。

[0065] 毕赤酵母属的所述甲醇营养型酵母选自：安格斯毕赤酵母(Pichia angusta)、季也蒙毕赤氏酵母(Pichia guillermordii)、甲醇毕赤酵母(Pichia methanolica)和因诺托毕赤氏酵母(Pichia inositovera)。

[0066] 提供所述多亚基复合物的表达的基因被整合到一个或多个基因组基因座中。

[0067] 所述基因组基因座的至少一个选自pGAP基因座、3’AOX TT基因座、PpURA5、OCH1、AOX1、HIS4、GAP、pGAP、3’AOX TT、ARG和HIS4 TT基因座。

[0068] 可在诱导型或组成型启动子的控制下表达编码多亚基复合物的所述亚基的基因中的至少一个。

[0069] 所述诱导型启动子选自AOX1、CUP1、四环素诱导型启动子、硫胺酸诱导型启动子以及FLD1启动子。

[0070] 可在选自以下的启动子的控制下表达编码所述多亚基复合物的所述亚基的基因中的至少一个：CUP1、AOX1、ICL1、3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAP)、FLD1、ADH1、醇脱氢酶II、GAL4、PHO3、PHO5以及Pyk启动子、四环素诱导型启动子、硫胺素诱导型启动子、来源于其的嵌合启动子、酵母启动子、哺乳动物启动子、昆虫启动子、植物启动子、爬行动物启动子、两栖动物启动子、病毒启动子和禽类启动子。

[0071] 所述真核细胞可以是二倍体、四倍体细胞或多倍体。

[0072] 所述方法还可包括从所述真核细胞或从培养基纯化所述多亚基复合物。

[0073] 可从所述真核细胞的细胞内组分、细胞质、核质或膜纯化所述多亚基复合物。

[0074] 所述真核细胞可分泌所述多亚基复合物至培养基中。

[0075] 可从所述培养基纯化所述多亚基复合物。

[0076] 所述多亚基复合物可包括单特异性或双特异性抗体。

[0077] 所述多亚基复合物可包括人抗体或人源化抗体或其片段。

[0078] 所述人源化抗体可具有小鼠、大鼠、兔、山羊、绵羊或牛来源。

[0079] 所述人源化抗体可具有兔来源。

[0080] 所述多亚基复合物可包括单价、双价或多价抗体。

[0081] 可通过蛋白A和/或蛋白G亲和从所述培养物纯化所述抗体。

[0082] 可最优化基因的至少一个以在所述真核细胞中表达，所述基因在所述小组的所述真核细胞的至少一个中提供所述多亚基复合物的亚基的表达。

[0083] 所述多亚基复合物可包括抗体并且所述抗体的纯度可通过测量由所述真核细胞产生的抗体的分数来评估，所述抗体可包含在具有预期的表观流体力学半径的抗体复合物中，可包含在具有预期的分子量的抗体复合物中，和/或特异性结合所述抗体的靶。

[0084] 所述多亚基复合物可包括抗体并且所述抗体的产量可通过测定扣除任何产物相关变体的由所述真核细胞产生的抗体的量来评估，所述变体可被异常糖基化，包含在抗体复合物中而非具有预期的表观流体力学半径的复合物中，包含在具有预期的分子量的抗体复合物中，和/或不能特异性结合所述抗体的靶。

[0085] 所述抗体复合物的分子量可通过非还原SDS-PAGE来测定。

[0086] 所述多亚基复合物可包括抗体，所述方法还可包括纯化所述抗体。

[0087] 所述培养细胞产生至少100mg/L、至少150mg/L、至少200mg/L、至少250mg/L、至少300mg/L、100至300mg/L、100至500mg/L、100至1000mg/L、至少1000mg/L、至少1250mg/L、至少1500mg/L、至少约1750mg/L、至少约2000mg/L、至少约10000mg/L或更多的上清液抗体滴度。

[0088] 所述多亚基复合物的一个或多个亚基可从超过一个基因拷贝表达。

[0089] 所述多亚基复合物可包括抗体，所述抗体可从1-10个拷贝的编码所述抗体的轻链的基因和从1-10个拷贝的编码所述抗体的重链的基因表达。

[0090] 可将提供所述多亚基复合物的表达的基因整合到所述细胞的基因组中。

[0091] 提供所述多亚基复合物的表达的基因可包含在染色体外元件、质粒或人工染色体中。

[0092] 所述细胞可包含比提供所述抗体的重链的表达的基因的拷贝更多的提供所述抗体的轻链的表达的基因的拷贝。

[0093] 所述细胞中编码所述抗体的重链的基因的拷贝数和编码所述抗体的轻链的基因拷贝数分别为:2和2、2和3、3和3、3和4、3和5、4和3、4和4、4和5、4和6、5和4、5和5、5和6或5和7。

[0094] 所述细胞中的编码所述抗体的重链的基因的拷贝数和编码所述抗体的轻链的基因的拷贝数分别为:2和1、3和1、4和1、5和1、6和1、7和1、8和1、9和1、10和1、1和2、2和2、3和2、4和2、5和2、6和2、7和2、8和2、9和2、10和2、1和3、2和3、3和3、4和3、5和3、6和3、7和3、8和3、9和3、10和3、1和4、2和4、3和4、4和4、5和4、6和4、7和4、8和4、9和4、10和4、1和5、2和5、3和5、4和5、5和5、6和5、7和5、8和5、9和5、10和5、1和6、2和6、3和6、4和6、5和6、6和6、7和6、8和6、9和6、10和6、1和7、2和7、3和7、4和7、5和7、6和7、7和7、8和7、9和7、10和7、1和8、2和8、3和8、4和8、5和8、6和8、7和8、8和8、9和8、10和8、1和9、2和9、3和9、4和9、5和9、6和9、7和9、8和9、9和9、10和9、1和10、2和10、3和10、4和10、5和10、6和10、7和10、8和10、9和10、10和10。

[0095] 可使步骤(c)的培养物在生产培养基中生长。

[0096] 所述生产培养基可以是基本培养基。

[0097] 所述基本培养基不存在选择剂。

[0098] 所述基本培养基不存在预形成的氨基酸或其它复合生物分子。

[0099] 所述生产培养基可以是复合培养基。

[0100] 所述复合培养基可包含酵母提取物、大豆蛋白胨和其它植物蛋白胨的一种或多种。

[0101] 可使步骤(c)的培养物生长至高细胞密度。

[0102] 所述高细胞密度可以为至少50g/L。

[0103] 所述高细胞密度可以为至少100g/L。

[0104] 所述高细胞密度可以为至少300g/L。

[0105] 所述高细胞密度可以为至少400g/L。

[0106] 所述高细胞密度可以为至少500g/L。

[0107] 所述高细胞密度可以为至少750g/L。

[0108] 可将酵母细胞培养至少20个倍增,并且在至少20个倍增后维持所述多亚基复合物的高水平表达。

[0109] 可将所述步骤(c)的细胞培养至少50个倍增并且在所述至少50个倍增后维持所述多亚基复合物的高水平表达。

[0110] 可将所述步骤(c)的细胞培养至少100个倍增并且在所述至少100个倍增后维持所述多亚基复合物的高水平表达。

[0111] 所述多亚基复合物的至少一个亚基可包含分泌信号。

[0112] 所述多亚基复合物可包含抗体。

[0113] 分泌信号可包含一种或多种选自:SEQ ID NOS:414至437及其任何组合的多肽。

[0114] 所述多亚基复合物可以不是2010年12月1日提交的美国临时申请号61/418,832、2011年12月1日提交的PCT/US11/62963、2011年12月1日提交的美国序列号13/309,295、2011年12月1日提交的美国序列号13/309,153、2011年12月1日提交的美国序列号13/308,665和2011年12月1日提交的美国序列号13/308,831中公开的抗体的任一种。

[0115] 所述多亚基复合物可以不是Ab1-NGF、Ab2-NGF、Ab3-NGF、Ab4-NGF、Ab5-NGF、Ab6-NGF、Ab7-NGF、Ab8-NGF、Ab9-NGF、Ab10-NGF、Ab11-NGF、Ab12-NGF、Ab13-NGF、Ab14-NGF、Ab15-NGF、Ab16-NGF、Ab17-NGF、Ab18-NGF、Ab19-NGF、Ab20-NGF和Ab21-NGF或Fab2或其Fab1片段。

[0116] 所述多亚基复合物可以不包含下列抗体的任一种中包含的互补性决定区(CDR)的至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个或至少全部6个:Ab1-NGF、Ab2-NGF、Ab3-NGF、Ab4-NGF、Ab5-NGF、Ab6-NGF、Ab7-NGF、Ab8-NGF、Ab9-NGF、Ab10-NGF、Ab11-NGF、Ab12-NGF、Ab13-NGF、Ab14-NGF、Ab15-NGF、Ab16-NGF、Ab17-NGF、Ab18-NGF、Ab19-NGF、Ab20-NGF或Ab21-NGF,并且所述抗体任选地具有对于NGF的结合特异性。

[0117] 所述多亚基复合物可以不包含如下序列或不由所述序列组成:分别地SEQ ID NO:51和401的轻链和重链多肽序列、分别地SEQ ID NO:53和402的轻链和重链多肽序列、分别地SEQ ID NO:405和406的轻链和重链多肽序列和分别地SEQ ID NO:407和408的轻链和重链多肽序列。

[0118] 所述多亚基复合物可以不包含抗体,所述抗体含有SEQ ID NO:55、56、57、58、59和60的CDR的至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个或至少全部6个的抗体,并且任选地具有对于NGF的结合特异性。

[0119] 所述多亚基复合物可以不包含本文中在标题为“抗-NGF抗体及其具有对于NGF的结合活性的结合片段”和“编码抗-NGF抗体多肽的多核苷酸”的部分中公开的抗体或抗体编码序列的任一种。在一个方面，本公开提供了产生多亚基复合物的方法，所述方法可包括：培养宿主细胞，提供包含表达所述多亚基复合物的真核细胞的培养物，将大剂量乙醇添加至所述培养物，以及培养所述培养物以产生所述多亚基复合物。多亚基复合物可包含一个或多个二硫键，并且可以是抗体。

[0120] 乙醇大剂量浓度(表示为%w/v)可以在约0.1%与约5%之间，例如至少约0.1%、至少约0.2%、至少约0.3%、至少约0.4%、至少约0.5%、至少约0.6%、至少约0.7%、至少约0.8%、至少约0.9%、至少约1%、高达约1%、高达约1.1%、高达约1.2%、高达约1.3%、高达约1.4%、高达约1.5%、高达约1.6%、高达约1.7%、高达约1.8%、高达约1.9%、高达约2%、高达约3%、高达约4%或高达约5%，例如在约0.1%与约1.9%之间、约0.2%与约1.8%之间、约0.3%与约1.7%之间、约0.4%与约1.6%之间、约0.5%与约1.5%之间、约0.6%与约1.4%之间、约0.7%与约1.3%之间、约0.8%与约1.2%之间或约0.9%与约1.1%之间，例如约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1%、约1.1%、约1.2%、约1.3%、约1.4%、约1.5%、约1.6%、约1.7%、约1.8%、约1.9%、约2%、约2.5%、约3%、约4%或约5%。

[0121] 所述方法还可包括所述期望的多亚基复合物的纯化。

[0122] 在示例性实施方案中，可在添加大剂量乙醇后控制乙醇浓度，这可用于将乙醇浓度维持在期望的设置点或期望的设置点范围内。设置点(表示为%w/v)可以在约0.1%与约4%之间、至少约0.01%、至少约0.02%、至少约0.04%、至少约0.06%、至少约0.08%、至少约0.1%、至少约0.15%、至少约0.2%、至少约0.25%、至少约0.3%、至少约0.35%、至少约0.4%、至少约0.45%、至少约0.5%、至少约0.6%、至少约0.7%、至少约0.8%、至少约0.9%、至少约1%、至少约1.2%、至少约1.4%、至少约1.6%、至少约1.8%、至少约2%、高达约4%、高达约3.75%、高达约3.5%、高达约3.25%、高达约3%、高达约2.75%、高达约2.5%、高达约2.25%、高达约2%、高达约1.75%、高达约1.5%、高达约1.25%、高达约1%、约0.01%与约4%之间、约0.02%与约3.75%之间、约0.04%与约3.5%之间、约0.08%与约3.25%之间、约0.1%与约3%之间、约0.2%与约2.75%之间、约0.3%与约2.5%之间、约0.4%与约2.25%之间、约0.5%与约2%之间、约0.6%与约1.75%之间、约0.7%与约1.5%之间或约0.8%与约1.25%之间。例如，设置点可与大剂量浓度相同或在大剂量浓度的正负1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%，45%、50%、60%、70%、80%、90%或100%内。

[0123] 可通过在发酵过程中控制酵母细胞的乙醇产生来维持乙醇浓度设置点。例如，可通过增加葡萄糖的浓度(例如，增加葡萄糖进料速度)、减少氧的可用度，通过减少搅拌的强度(例如，降低发酵罐输入功率)、减少发酵罐中的气压、减少供应的空气或其它气体混合物的流速、增加培养物的粘性或减少供应空气或其它气体混合物中氧的浓度(例如，如果将使用氧补充的话)来增加乙醇浓度。还可通过增加发酵温度来增加乙醇产生。同样地，可通过减少葡萄糖浓度(例如，减少葡萄糖进料速率)，通过增加氧的可用度，通过增加搅拌的强度(例如，增加发酵罐输入功率)、增加发酵罐中的气压、增加减少供应的空气或其它气体混合物的流速、减小培养物的粘性或增加供应空气或其它气体混合物中氧的浓度(例如，如果将

使用氧补充的话)来增加乙醇浓度。还可通过降低发酵温度来增加乙醇产生。

[0124] 通过使用本公开内容的方法,相对于常规方法,可将非所需副产物的相对丰度相较于初始丰度水平降低至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或降至不可检测的水平。可这样降低其相对丰度的示例性非所需副产物可包括一个或多个具有与期望的多亚基复合物不同的表观分子量的种类。例如,表观分子量可受到化学计量、折叠、复合物装配和/或糖基化影响。例如,这样的非所需副产物可使用尺寸排阻色谱法和/或凝胶电泳来检测,可具有比期望的多亚基复合物更高或更低的表观分子量。在示例性实施方案中,可在还原条件下检测非所需副产物。在其它示例性实施方案中,可在非还原条件下检测非所需副产物。

[0125] 在示例性实施方案中,本公开还提供了以更高产率提供抗体和其它多亚基复合物的重组产生的改进方法和物质组合物。在示例性实施方案中,可使用本文中公开的方法使产率增加至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少100%或更多(相对于常规方法)。

[0126] 在示例性实施方案中,其中可产生多亚基蛋白质的宿主细胞可以是酵母例如毕赤酵母属的种类,例如巴斯德毕赤酵母或另一种甲醇营养型酵母或在酵母菌属的种类中例如酿酒酵母或另一种酵母例如裂殖酵母属(例如,粟酒裂殖酵母(S.pombe))。可用于本发明的甲醇营养型酵母的其它实例包括安格斯毕赤酵母(在本领域中也称为汉逊酵母)、季也蒙毕赤酵母、甲醇毕赤酵母、因诺托毕赤氏酵母、绪方奈川氏酵母(Ogataea nitratoaversa)和波伊德氏假丝酵母(Candida boidnii)。

[0127] 宿主细胞可以是真核细胞例如酵母细胞,例如甲醇营养型酵母,例如毕赤酵母属的酵母。毕赤酵母属示例性甲醇营养型酵母包括巴斯德毕赤酵母、甲醇毕赤酵母和因诺托毕赤氏酵母。宿主细胞可通过交配,例如通过将两个各自包含一个或多个拷贝的至少一个编码多亚基复合物的亚基的基因的二倍体酵母细胞交配来产生。

[0128] 在优选实施方案中,毕赤酵母属的甲醇营养型酵母是巴斯德毕赤醇。宿主细胞可以是二倍体或四倍体细胞。

[0129] 编码期望的多亚基复合物的所述亚基例如所述期望的抗体轻链和/或重链的所述基因的至少一个,可在如下诱导型或组成型启动子的控制下表达,例如CUP1(通过培养基中铜的水平诱导的;参见Koller等,Yeast 2000;16:651-656.)、四环素诱导性启动子(参见例如,Staib等,Antimicrobial Agents And Chemotherapy,Jan.2008,p.146-156)、硫胺素诱导性启动子、AOX1、ICL1、3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAP)、FLD1、ADH1、醇脱氢酶II、GAL4、PHO3、PHO5和Pyk启动子、来源于其的嵌合启动子、酵母启动子、哺乳动物启动子、昆虫启动子、植物启动子、爬行动物启动子、两栖动物启动子、病毒启动子和禽类启动子。

[0130] 宿主细胞可分泌所述期望的多亚基复合物至培养基中。可选择地或此外,可将所述期望的多亚基复合物保留在所述宿主细胞中,以及可从其分离所述期望的多亚基复合物。

[0131] 期望的多亚基复合物可包含抗体,例如单特异性或双特异性抗体。抗体可以是特异性结合任何抗原的抗体。

[0132] 期望的多亚基复合物可以是除了2010年12月1日提交的美国临时申请号61/418,

832、2011年12月1日提交的PCT/US11/62963、2011年12月1日提交的美国序列号13/309,295、2011年12月1日提交的美国序列号13/309,153、2011年12月1日提交的美国序列号13/308,665和2011年12月1日提交的美国序列号13/308,831中公开的抗体(例如,除抗-NGF抗体的任一种外的抗体)的任一种外的抗体。在示例性实施方案中,期望的多亚基复合物可以不是下列抗体的任一种:Ab1-NGF、Ab2-NGF、Ab3-NGF、Ab4-NGF、Ab5-NGF、Ab6-NGF、Ab7-NGF、Ab8-NGF、Ab9-NGF、Ab10-NGF、Ab11-NGF、Ab12-NGF、Ab13-NGF、Ab14-NGF、Ab15-NGF、Ab16-NGF、Ab17-NGF、Ab18-NGF、Ab19-NGF、Ab20-NGF和Ab21-NGF。在示例性实施方案中,期望的多亚基复合物可以是不是下列抗体的任一种的Fab2片段:Ab1-NGF、Ab2-NGF、Ab3-NGF、Ab4-NGF、Ab5-NGF、Ab6-NGF、Ab7-NGF、Ab8-NGF、Ab9-NGF、Ab10-NGF、Ab11-NGF、Ab12-NGF、Ab13-NGF、Ab14-NGF、Ab15-NGF、Ab16-NGF、Ab17-NGF、Ab18-NGF、Ab19-NGF、Ab20-NGF和Ab21-NGF。在其它示例性实施方案中,期望的多亚基复合物可以不是下列抗体的任一种的Fab1片段:Ab1-NGF、Ab2-NGF、Ab3-NGF、Ab4-NGF、Ab5-NGF、Ab6-NGF、Ab7-NGF、Ab8-NGF、Ab9-NGF、Ab10-NGF、Ab11-NGF、Ab12-NGF、Ab13-NGF、Ab14-NGF、Ab15-NGF、Ab16-NGF、Ab17-NGF、Ab18-NGF、Ab19-NGF、Ab20-NGF和Ab21-NGF。在其它示例性实施方案中,期望的多亚基复合物可以不包含抗体,所述抗体包含下列抗体的任一种中包含的互补性决定区(CDR)的至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个或至少全部6个:Ab1-NGF、Ab2-NGF、Ab3-NGF、Ab4-NGF、Ab5-NGF、Ab6-NGF、Ab7-NGF、Ab8-NGF、Ab9-NGF、Ab10-NGF、Ab11-NGF、Ab12-NGF、Ab13-NGF、Ab14-NGF、Ab15-NGF、Ab16-NGF、Ab17-NGF、Ab18-NGF、Ab19-NGF、Ab20-NGF或Ab21-NGF,并且任选地具有对于NGF的结合特异性。例如,期望的多亚基复合物可以不包含或可以不由如下多肽序列组成:分别地SEQ ID NO:51和401的轻链和重链多肽序列、分别地SEQ ID NO:53和402的轻链和重链多肽序列、和/或分别地SEQ ID NO:405和406的轻链和重链多肽序列和/或分别地SEQ ID NO:407和408的轻链和重链多肽序列。作为其它实例,期望的多亚基复合物可以不包含抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:55、56、57、58、59和60的CDR的至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个或至少全部6个的抗体,并且任选地具有对于NGF的结合特异性。

[0133] 期望的多亚基复合物可包含任何类型的抗体。示例性抗体类型包括任何哺乳动物种类例如人、小鼠、大鼠、兔、山羊、绵羊、牛等的抗体。优选,抗体是人抗体或可具有兔来源的人源化抗体。期望的抗体可以是单价、双介或多价抗体。

[0134] 可最优化基因的至少一个以在所述宿主细胞中表达(例如,通过选择优选密码子和/或通过密码子选择改变AT的百分比),所述基因在所述小组的所述宿主细胞的至少一种中提供所述多亚基复合物的亚基例如期望的抗体的轻链和/或重链的表达。

[0135] 所述期望的多亚基复合物例如期望的抗体的纯度可通过测量由所述宿主细胞产生的期望的多亚基复合物的分数和/或通过测量多亚基复合物的特异性活性(例如,特异性结合期望的抗体的靶)来评估,所述多亚基复合物是非糖基化的,包含在具有预期的表观流体力学半径和/或表观分子量(例如通过尺寸排阻色谱法测量的)的复合物中,具有预期的电泳迁移率(例如,通过凝胶电泳,例如SDS-PAGE,和任选地Western印迹所检测)。

[0136] 期望的多亚基复合物可以是抗体,并且所述抗体的产率可通过测定扣除任何产物相关变体的由所述宿主细胞产生的期望抗体的量来评估,所述变体被异常糖基化,包含在除具有预期的表观分子量或流体力学半径的复合物外的抗体复合物中,和/或不能特异性结合所述期望的抗体的靶。

[0137] 主题方法可产生至少100mg/L、至少150mg/L、至少200mg/L、至少250mg/L、至少300mg/L、100至300mg/L、100至500mg/L、100至1000mg/L或超过1000mg/L例如高至1200mg/L、高至10,000mg/L或更高的上清液抗体滴度。

[0138] 在另一个方面,产生期望的多亚基复合物宿主细胞可以是毕赤酵母属的双倍体或四倍体细胞,例如巴斯德毕业赤酵母细胞。可将提供所述期望的多亚基复合物的亚基例如期望的抗体的轻链和重链的表达的基因整合到所述宿主细胞的基因组,和/或可将其包含在染色体外元件、质粒或人工染色体上。

[0139] 在另一个方面,产生期望的多亚基复合物的宿主细胞可经工程化以增加产率和/或纯度,例如如在2011年8月31日提交的美国临时申请序列号61/525,307(代理人案卷号67858.730200)(所述美国临时申请序列通过引用整体并入本文)中进一步描述的。如其中所描述的,可通过改变每细胞编码每一个亚基的基因的拷贝数来极大地改善抗体或其它多亚基复合物的产率和纯度。例如,当其中的多亚基复合物是抗体时,宿主细胞可包含比提供重链的表达的基因的拷贝更多的拷贝的提供轻链的表达的基因。在示例性实施方案中,宿主细胞可包含1-10个拷贝的编码轻链的基因和1-10个拷贝的编码重链的基因。所述宿主细胞中编码重链的基因的拷贝数和编码轻链的基因的拷贝数分别地各自可以为:2和2、2和3、3和3、3和4、3和5、4和3、4和4、4和5、4和6、5和4、5和5、5和6或5和7。重链和轻链基因拷贝数的另外的示例性组合包括达到10个拷贝的重链和/或轻链基因的任意组合,例如H2xL1、H3xL1、H4xL1、H5xL1、H6xL1、H7xL1、H8xL1、H9xL1、H10xL1、H1xL2、H2xL2、H3xL2、H4xL2、H5xL2、H6xL2、H7xL2、H8xL2、H9xL2、H10xL2、H1xL3、H2xL3、H3xL3、H4xL3、H5xL3、H6xL3、H7xL3、H8xL3、H9xL3、H10xL3、H1xL4、H2xL4、H3xL4、H4xL4、H5xL4、H6xL4、H7xL4、H8xL4、H9xL4、H10xL4、H1xL5、H2xL5、H3xL5、H4xL5、H5xL5、H6xL5、H7xL5、H8xL5、H9xL5、H10xL5、H1xL6、H2xL6、H3xL6、H4xL6、H5xL6、H6xL6、H7xL6、H8xL6、H9xL6、H10xL6、H1xL7、H2xL7、H3xL7、H4xL7、H5xL7、H6xL7、H7xL7、H8xL7、H9xL7、H10xL7、H1xL8、H2xL8、H3xL8、H4xL8、H5xL8、H6xL8、H7xL8、H8xL8、H9xL8、H10xL8、H1xL9、H2xL9、H3xL9、H4xL9、H5xL9、H6xL9、H7xL9、H8xL9、H9xL9、H10xL9、H1xL10、H2xL10、H3xL10、H4xL10、H5xL10、H6xL10、H7xL10、H8xL10、H9xL10、H10xL10,其中“H”后的数字标明重链基因的拷贝数,“L”后的数字标明轻链基因的拷贝数。例如,指定数目的重链和轻链基因拷贝可被串联地整合到单个基因座,或整合到多个基因座(所述基因座的任一个或全部可包含超过一个拷贝)。任选地,每一个基因组基因座可包含超过3或4个串联整合的基因拷贝,从而在扩增和/或抗体产生过程中增强拷贝数稳定性。

[0140] 培养最常见地包括给细胞提供能源、氧和营养物。用于用于表达重组蛋白质的巴斯德毕赤酵母发酵的设计和最优化(包括细胞密度、液体培养基体积、底物进料速度以及反应的每一个时期的长度的最优化)的方法在文献中也是已知的。参见Zhang等,“Rational Design and Optimization of Fed-Batch and Continuous Fermentations”in Cregg,J.M.,Ed.,2007,Pichia Protocols(第2版),Methods in Molecular Biology,第389卷,Humana Press,Totowa,N.J.,第43-63页。可给培养物提供包含氧的气体混合物,例如补充有氧或未补充氧的空气。可将酵母培养物培养在可以为基本培养基,可以不存在选择剂和/或可以不存在预形成的氨基酸或其它复合生物分子的培养基中。培养基还可以是复合培养基(例如,包含酵母提取物和/或植物蛋白胨)。培养基可包含氮源(例如,甲胺氯、NH4SO4、酵

母提取物、大豆蛋白胨、其它植物蛋白胨等)。示例性基本培养基包括基本葡萄糖培养基(MD)(1.34%酵母氮源基础(YNB)(无氨基酸)、4×10^{-5}%生物素和2%葡萄糖)、缓冲的基本甘油复合培养基(BMGY)(1%酵母提取物、2%蛋白胨、1%甘油、1.34%YNB(无氨基酸)、4×10-5%生物和100mM磷酸钾(pH 6.0))。培养基可包含一种或多种盐(例如氯化钠、氯钙、氯化镁和磷酸盐)、缓冲剂(例如磷酸钾、Tris或HEPES)、核苷(例如腺苷和胸苷)、抗生素(例如,添加以抑制污染物的生长和/或维持可选择标记)、痕量元素以及葡萄糖或另一种能源。还可以对于本领域技术人员来说是已知的适当的浓度包含任何补充物和替代物。

[0141] 可使培养物生长至高细胞密度,例如至少50g/L、至少100g/L、至少300g/L、至少400g/L、至少500g/L或至少700g/L。这些培养物密度是举例说明性的而非限定性的,并且适合的培养物密度可由本领域技术人员来容易地确定。

[0142] 可将酵母细胞培养至少20个倍增并且在所述至少20个倍增后维持所述抗体的高水平表达。

[0143] 可将酵母细胞培养至少50个倍增并且在所述至少50个倍增后维持所述抗体的高水平表达。

[0144] 可将酵母细胞培养至少100个倍增并且在所述至少100个倍增后维持所述抗体的高水平表达。

[0145] 在另一个方面,本公开提供了包含按照前述方法的任何方法产生的稳定的二倍体毕赤酵母属酵母培养物的培养基,其中培养基可包含所述期望的抗体的表达水平,所述表达水平可以为至少约50mg/L、100mg/L、500mg/L、750mg/L、1000mg/L、1250mg/L、1500mg/L、1750mg/L、2000mg/L或更高。这些产率值是举例说明性的而非限定性的。任选地,可以例如使用、Zhang等(2007)(同上)中描述的方法和一般途径最优化产率。例如,可通过改变温度、pH、培养基组成(例如,碳源、碳源浓度、两种或更多种碳源的混合物、氮源和浓度、盐和营养物(包括KH_2PO_4、K_2HPO_4、$MgSO_4$、硫酸钾、柠檬酸钠、硫酸钾、柠檬酸钠、痕量金属例如氯化钴、硫酸铜、碘化钠、硫酸镁、钼酸钠、硼酸、氯化锌、硫酸亚铁、维生素例如生物素、肌醇、硫胺素、蛋白胨、酵母提取物、酪蛋白氨基酸、尿素、磷酸铵或其它铵离子、L-精氨酸-盐酸盐))、时间、培养物密度、充氧以及其它影响产率的其它因素来最优化产率。例如,期望的多亚基复合物的产率、表达和/或纯度可在一些情况下通过将温度维持在期望的设置点例如约15℃至约30℃(例如约17℃至约25℃)的设置点上来进行改善。不希望被理论束缚,假设控制温度可通过折叠和翻译后加工途径来帮助细胞内运输,和/或可减小细胞蛋白酶的活性。同样地,期望的多亚基复合物的产率、表达和/或纯度可在一些情况下通过将培养基的pH维持在期望的设置点例如pH 3至pH 8(例如pH 4至pH 7)的设置点上来进行改善。

[0146] 在另一个方面,本公开提供了包含按照前述方法的任何方法产生的稳定的二倍体巴斯德毕赤酵母的培养基,所述方法将所述期望的抗体表达进入培养基,其中所述培养物中的所述二倍体细胞的细胞密度可以为至少约50g/L、100g/L、300g/L、400g/L、500g/L、700g/L或更多。这些培养物密度是举例说明性的而非限定性的,适当的培养物密度可由本领域技术人员来容易地确定。

[0147] 所述抗体或其它多亚基蛋白质的至少一个亚基可包含分泌信号,例如S.chicken溶菌酶(CLY)信号肽;CLY-L8;酿酒酵母转化酶(SUC2)信号肽;MF-α(Prepro);MF-α(Pre)-apv;MF-α(Pre)-apv-SLEKR;MF-α(Prepro)-(EA)3;αF信号肽;KILM1信号肽;可抑制的酸性

磷酸酶(PHO1)信号肽;黑曲霉GOX信号肽;西方许旺酵母葡糖淀粉酶基因(GAM1)信号肽;无前导序列的人血清白蛋白(HSA)信号肽;具有前导序列的人血清白蛋白(HSA)信号肽;ISN信号肽;IFN信号肽;HGH信号肽;植物血细胞凝集素(PHA);Silkworm溶菌酶;人溶菌酶(LYZ1);活化素受体1型;活化素受体II型受体;巴斯德毕赤酵母免疫球蛋白结合蛋白(PpBiP);人抗体3D6轻链前导序列;及其任意组合。

[0148] 宿主细胞可通过交两个二倍体酵母细胞交配来产生,所述酵母细胞各自包含一个或多个拷贝的编码所述抗体或其它多亚基蛋白质的一个或多个亚基的基因。

[0149] 附图简述

[0150] 图1A-B.通过在葡萄糖进料开始之前在从其产生抗体的酵母培养物中添加大剂量乙醇来改善重组产生的Ab-A的纯度。在97小时的培养后收集抗体,通过蛋白A亲和进行纯化,随后使用非还原性凝胶(图1A)拆分期望的完全抗体(箭头,“完全Ab(H2L2)”)与不期望的产物相关变体,通过SDS-PAGE来评估纯度。基于它们的分子量、对于蛋白A的亲和力以及下文中进一步描述的其它研究,将具有异常化学计量的复合物鉴定为包含一个重链和一个轻链(箭头,“H1L1”)的“半抗体”种类和包含两个重链和一个轻链(“H2L1”)的复合物。可通过在抗体产生过程中大剂量添加乙醇来极大减小H2L1和H1L1复合物的相对丰度。比较图1A的泳道2-3(无大剂量)与泳道5(具有大剂量)。图1B显示在还原条件下处理的相同样品,所述处理将每一个完全抗体H1L1和H2L1复合物分离成单个重链和轻链,从而确认H1L1和H2L1复合物由全长重链和轻链组成。图1A-B中的泳道顺序:泳道1:分子量标准;泳道2和3:在不大剂量添加乙醇的情况下从发酵培养物制备的对照样品;泳道4:无样品;样品5:在大剂量添加乙醇的情况下从发酵培养物制备的样品。

[0151] 图1C-E显示沿着非还原凝胶的长度绘制的凝胶条带强度(图1A,分别地泳道2、3和5);箭头鉴定对应于H1L1种类的峰。图1F将图1C-E中显示的H1L1峰中包含的面积绘制成表,显示了H1L1复合物的相对丰度的约90%的降低。H2L1复合物丰度因与完全抗体峰的不完全拆分而未被定量。

[0152] 图2A-B和3A-B显示通过向酵母培养物添加大剂量乙醇产生的Ab-A的纯度的改善的重现性。在87或86小时的培养后(分别地图2和3)收集抗体,通过蛋白A亲和进行纯化,随后使用非还原凝胶通过SDS-PAGE评估纯度。再次通过大剂量乙醇添加来降低H1L1和H2L1复合物(箭头)的丰度。将图2A的泳道3(无大剂量)与泳道2(具有大剂量)相比较,将图3A的泳道4-6(无大剂量)与泳道2和4(具有大剂量)相比较。图2B显示在还原条件下处理的与图2A中相同的样品,再次确认观察到的产物相关变体由全长重链和轻链组成。图2A-B中的泳道顺序:泳道1:分子量标准;泳道2:在大剂量添加乙醇的情况下从发酵培养物制备的样品;泳道3:在不大剂量添加乙醇的情况下从发酵培养物制备的对照样品。图3A中的泳道顺序:泳道1:分子量标准;泳道2和4:在大剂量添加乙醇的情况下从发酵培养物制备的样品;泳道3:无样品;泳道5-7:在不大剂量添加乙醇的情况下从发酵培养物制备的对照样品。

[0153] 图2C和2D显示沿着非还原凝胶的长度绘制的凝胶条带强度(图2A,分别地泳道2和3);箭头鉴定对应于H1L1种类的峰。图2E和3B将图2C和图3A中显示的H1L1峰中包含的面积绘制成表,显示了图2A中的H1L1复合物的相对丰度的约85%的降低,和图3A中的H1L1复合物的相对丰度的约87%的平均降低。

[0154] 图4A-D.通过在发酵过程的生产期之前大剂量添加乙醇也改善第二重组抗体(”

Ab-B”)的纯度。在67小时(“T67)或87小时(“T87”)的培养(分别地,图4A-B和4C-D)后收集发酵培养液体培养基的样品,通过蛋白A亲和纯化抗体。随后,使用非还原凝胶通过SDS-PAGE评估纯度(图4A和4C)。在两个评估的时间点上,相对于未接受大剂量乙醇添加的对照培养物,在接受大剂量乙醇添加的制备的发酵培养物中半抗体种类(H1L1)和H2L1复合物的丰度大大降低。将图4A的泳道2-3(无大剂量)与泳道6-7(具有大剂量)相比较,以及将图4C的泳道2-3(无大剂量)与泳道6-7(具有大剂量)相比较。图4B和4D显示在还原条件下处理的相同样品。图4A-D的泳道顺序:泳道1:分子量标准;泳道2-3:在不大剂量添加乙醇的情况下从发酵培养物制备的对照样品;泳道4-5:无样品;泳道6-7:在大剂量添加乙醇的情况下从发酵培养物制备的样品。

[0155] 图4E和4F将分别在图4A(T67)和4C(T87)中显示的H1L1峰中包含的面积绘制成表,显现了乙醇的大剂量添加产生图4A中显示的较早时间点上H1L1复合物的相对丰度的约73%的降低和图4C中显示的较晚时间点上H1L1复合物相对丰度的约34%的平均降低。

[0156] 图5A-B.通过在发酵过程的生产期之前大剂量添加乙醇也改善第三重组抗体(”Ab-C”)的纯度。在86小时的培养(图5A)后收集抗体,通过蛋白A亲和纯化抗体,随后,使用非还原凝胶通过SDS-PAGE评估纯度(图5A)。即使在不大剂量添加乙醇的情况下在Ab-C产物中H1L1和H2L1复合物不太丰富,留了更少的改善空间。然而,相对于未接受大剂量乙醇添加的对照培养物,在接受大剂量乙醇添加的发酵培养物中半抗体种类(H1L1)和H2L1复合物的丰度显著降低。将图5A的泳道5-6(无大剂量)与泳道3(具有大剂量)相比较。图5B显示在还原条件下处理的相同样品。图5A-B的泳道顺序:泳道1:分子量标准;泳道2:无样品;泳道3:在接受大剂量乙醇添加的情况下从发酵培养物制备的对照样品;泳道4:无样品;泳道5-6:从未接受大剂量乙醇添加的发酵培养物制备的对照样品。

[0157] 图5C将图5A中显示的H1L1峰中包含的面积绘制成表,显示了通过大剂量添加乙醇产生的H1L1复合物的相对丰度的约61%的平均降低。

[0158] 图6A-F显示通过尺寸排阻色谱法产生的图1-3中显示的Ab-A制剂的相对纯度。在每一个小组中,主峰包含含有两个重链和两个轻链(H2L2)的完全抗体。通过该方法未能将H1L1种类与主峰相区分(据认为归因于通过在使用的条件下保留的非共价缔合产生的H1L1二聚体形成)。然而,检测到其它不期望的产物相关变体,包括更高分子量的种类(主峰的左边)和更低分子量的种类(主峰的右边)。检测到被认为对应于包含两个完全抗体(H4L4)的抗体二聚体的主峰(箭头),并且这类抗体的相对丰度在从接受大剂量乙醇添加的发酵培养物制备的样品中降低。将图6A、6C和6E(无大剂量)与图6B、6D和6F(具有大剂量)相比较。

[0159] 图7概述了通过图6中显示的6个Ab-A样品和5个另外的样品的SEC检测的产物相关变体的量的定量。对于每一个鉴定的样品(第1列),显示了运行设置号(第2列,标识平行进行的发酵运行)、添加的大剂量(10g/L或无,第3列)和在获取和处理培养样品前消耗的培养时间(第4列)以及在主峰中检测到的蛋白质的分数(“SEC主峰%”,第5列)。生长期结束时乙醇的大剂量添加使主峰中包含的平均百分比从80.3%增加至90.6%。

[0160] 图8概述了通过图4中显示的Ab-B抗体样品的SEC检测到的产物相关变体的量的定量。对于每一个发酵运行(第1列),显示了在生长期结束时添加的大剂量(10g/L或无,第2列),和在获取和处理培养样品前消耗的培养时间(第3列)以及主峰中检测到的蛋白质的分数(“SEC主峰%”,第4列)。总体纯度增加,主峰在T67时从76%增加至79%,在T87时从60%

增加至73％。

[0161] 图9概述了通过图5中显示的Ab-C抗体样品的SEC检测到的产物相关变体的量的定量。对于每一个鉴定的发酵运行(第1列)，显示了添加的大剂量(10g/L或无，第2列)，和在获取和处理样品前消耗的培养时间(第3列)以及主峰中检测到的蛋白质的分数(“SEC主峰％”，第4列)。在总体纯度上几乎无差异，如通过该方法检测到的，在利用大剂量乙醇或不利用大剂量乙醇的情况下约89％的产物包含在主峰中。这显然归因于即使在不添加大剂量乙醇的情况下Ab-C抗体的高初始纯度。此外，SEC未将H1L1种类与完全抗体相区分，相应地归因于大剂量乙醇的该种类的减少的产生未反映在SEC结果中。

[0162] 图10概述了包含高量或低量H1L1条带的Ab-A样品中的游离重链(不存在对第二重链的二硫键)的量的质谱测量的结果。如所预期的，游离重链的量与H1L1条带的量相关，确认了其身份为包含一个重链和一个轻链并且不存在对第二重链的二硫键。

[0163] 图11-13显示了大剂量乙醇添加与细胞活力之间的关系。大剂量乙醇的添加通常改善细胞活力以及Ab-A抗体(图11)和Ab-B抗体(图12)的抗体纯度。这些结果表明细胞活力的改善可至少部分负责通过大剂量乙醇添加产生的抗体纯度的改善。与这些结果一致，Ab-C抗体培养物显示比Ab-A和Ab-B培养物更高的抗体纯度和细胞活力(图13)。显然，因为Ab-C抗体产生性培养物的活力在这些实验中已经很高，所以几乎没有改善的空间，并且培养物在大剂量添加乙醇的情况下显示几无改善。在图11-13，实心条棒表示无大剂量乙醇添加，然而空心条棒表示乙醇的大剂量添加。从在1.5小时(在该时间上收集样品以进行纯度分析)取样的发酵培养物测定活力(如在先前载片中鉴定的)。

[0164] 图14显示宽范围的乙醇大剂量浓度可产生抗体纯度的相同改善。在大剂量添加5g/L(0.5％w/v)至15g/L(1.5％w/v)的乙醇的情况下产生Ab-A，通过蛋白A亲和进行纯化，随后通过非还原SDS-PAGE分析纯度。每一个培养物在第63小时(图14A)和第86小时(图14B)显示相似的低H2L1和H1L1复合物水平。图14A-B中的泳道顺序：泳道1：分子量标准；泳道2和7：5g/L大剂量；泳道3和5：10g/L大剂量；泳道4和6：15g/L大剂量。

[0165] 图15显示溶解氧剧增与乙醇大剂量添加之间过去的时间可进行相当大的变化，然而产生相似的抗体纯度的改善。在大剂量添加10g/L(1％w/v)的乙醇的情况下产生Ab-A，通过蛋白A亲和进行纯化，随后通过非还原SDS-PAGE分析纯度(图15A)。“饥饿期”(溶解氧剧增(表明培养物中碳源的耗尽)与大剂量添加乙醇之间的时间)在0与3小时之间变化。每一个培养物显示相似的低H2L1和H1L1复合物的水平，无论饥饿期的持续时间多长，这表明抗体纯度对饥饿期的不存在或至少达到3小时的饥饿期相对不敏感。在还原凝胶上分析相同样品(图15B)。图15A-B中的泳道顺序：泳道1：分子量标准；泳道2-4：无样品；泳道5：0小时饥饿期；泳道6：3小时饥饿期。

[0166] 图16显示平衡期(大剂量乙醇添加与开始进料之间的时间)对抗体纯度的作用。在大剂量添加10g/L(1％w/v)的乙醇的情况下产生Ab-B抗体，通过蛋白A亲和进行纯化，随后通过非还原SDS-PAGE分析纯度(图16A)。平衡期的持续时间为0、30或60分钟。60分钟的平衡期导致更低的抗体纯度(更高的H2L1和H1L1复合物丰度)。对于60分钟的平衡期，特别在培养早期(在第23小时，图16B)，培养物活力也显著下降；到培养结束时(在第85小时，图16C)，活力略有改善。图16A中的泳道顺序：泳道1：分子量标准；泳道2和4：无样品；泳道3：30分钟的平衡；泳道5和6：60分钟的平衡时间；泳道7和8：0分钟的平衡时间。在图16B-C中，实心条

棒表示0分钟的平衡期，阴影线条棒表示30分钟的平衡期，空心条棒表示60分钟的平衡期。

[0167] 详细描述

[0168] 申请人已意外地发现从酵母表达的多亚基复合物的纯度可通过向培养基添加大剂量乙醇来极大地改善。已显示乙醇的单次大剂量添加在长达至少97小时的持续生产时期中改善纯度。

[0169] 本公开提供了主题方法和组合物，所述方法和组合物以增加的纯度和减少的一种或多种非所需副产物的产量提供抗体和其它多亚基复合物的重组产生。在示例性实施方案中，相对于期望的多亚基复合物，不期望的产物可显示如下的一项或多项：改变的化学计量、异常糖基化、表观分子量的差异、二硫键的差异、流体力学半径的差异、一个或多个亚基的片段和/或截短形式。非所需副产物可同样地显示一个或多个另外的差异。非所需副产物还可通过它们对制剂的作用，例如特异性活性的水平、免疫原性的改变，或对期望的多亚基复合物的物理构造和/或功能的其它作用来检测。

[0170] 例如，当期望的多亚基复合物是抗体时，非所需副产物可包括H1L1或“半抗体”种类(即，包含重链和轻链，其中重链未通过二硫键连接至另一个重链)，和/或H2L1种类(即，包含两个重链和一个轻链，但不存在第二轻链)。

[0171] 然而不希望被理论束缚，假设乙醇浓度的快速增加(这可通过大剂量添加乙醇来产生)可引起基因表达的持续改变，这赋予了正确折叠和装配的多亚基复合物的持续改善和/或增加了不正确折叠或错误装配的多亚基复合物的加工，从而导致多亚基复合物的改善的纯度。此外，已显示改善的抗体纯度与培养物中酵母的改善的活力相关，并且在此基础上申请人假设改善的活力可负责(至少部分)改善的纯度，然而该理论无意是限定性的。

[0172] 在优选实施方案中，异源多亚基复合物是抗体或抗体片段，例如人源化抗体，其由两个重链亚基和两个轻链亚基组成。优选宿主细胞包括酵母，特别优选酵母包括甲醇营养型酵母菌株，例如巴斯德毕赤酵母、多形汉森酵母(安格斯毕赤酵母)、季也蒙毕赤酵母、甲醇毕赤酵母、因诺托毕赤氏酵母等等(参见，例如，美国专利4,812,405、4,818,700、4,929,555、5,736,383、5,955,349、5,888,768和6,258,559，所述美国专利的每一个通过引用整体并入本文)。宿主细胞可通过本领域已知的方法例如转化、交配、芽孢形成等来产生。

[0173] 在优选实施方案中，宿主细胞可包含超过一个拷贝的编码异源蛋白质亚基的基因的一个或多个基因。例如，可将多拷贝的亚基基因以串联方式整合到一个或多个染色体基因座。患联整合的基因拷贝在产生多亚基复合物的培养过程中优选以稳定拷贝数得以保留。例如，在上述实例中，对于包含3至4个串联整合的拷贝的轻链和重链抗体基因的巴斯德毕赤酵母菌株，基因拷贝数通常是稳定的。

[0174] 优选将编码异源蛋白质亚基的基因的一个或多个基因整合到宿主细胞的一个或多个染色体基因座。任何适当的染色体基因座可用于整合，包括基因间序列、启动子序列、编码序列、终止序列、调控序列等。可用于巴斯德毕赤酵母的示例性染色体基因座包括PpURA5;OCH1;AOX1;HIS4和GAP。还可将编码基因整合到一个或多个随机染色体基因座而非被靶向的基因座。在优选实施方案中，染色体基因座选自pGAP基因座、3’AOX TT和HIS4 TT基因座。在另外的示例性实施方案中，可将编码异源蛋白质亚基的基因可包含在一个或多个染色体外元件例如一个或多个质粒或人工染色体中。

[0175] 在示例性实施方案中，多亚基蛋白质可包含2、3、4、5、6或更多个非相同的亚基。此

外,每一个亚基可在每一个多亚基蛋白质中存在1次或多次。例如,多亚基蛋白质可以是多特异性抗体例如包含两个不相同的轻链和两个不相同的重链的双特异性抗体。

[0176] 可从单顺反子基因、多顺反子基因或其任意组合表达亚基。每一个多顺反子基因可包含多个拷贝的相同亚基,或可包含一个或多个拷贝的每一种不同的亚基。

[0177] 可用于操作巴斯德毕赤酵母的示例性方法(包括培养、转化和交配的方法)公开于公布的申请包括U.S.20080003643、U.S.20070298500和U.S.20060270045中以及Higgins,D.R.和Cregg,J.M.,Eds.1998.Pichia Protocols.Methods in Molecular Biology.Humana Press,Totowa,N.J.和Cregg,J.M.,Ed.,2007,Pichia Protocols(第2版),Methods in Molecular Biology.Humana Press,Totowa,N.J.(将上述资料的每一份资料通过引用整体并入本文)中。

[0178] 可使用的示例性表达盒由整合至编码分泌信号的序列的甘油醛脱氢酶基因(GAP基因)启动子、随后待表达的基因的序列、随后编码巴斯德毕赤酵母转录终止信号(来自巴斯德毕赤酵母醇氧化酶I基因(AOX1)的转录终止信号)的序列组成。Zeocin抗性标记基因可提供通过选择抗更高水平的Zeocin的转化子,来富集在菌株中包含多个整合的拷贝的表达载体的菌株的方法。类似地,G418或卡那霉素抗性标记基因可用于提供通过选择抗更高水平的遗传霉素或卡那霉素的转化子,来富集在菌株中包含多个整合的拷贝的表达载体的菌株的方法。

[0179] 可使用的宿主菌株包括营养缺陷型巴斯德毕赤酵母或其它毕赤酵母属菌株,例如在met1、lys3、ura3和ade1或其它营养缺陷型相关基因中具有突变的菌株。优选突变不能以任何可评估的频率产生回复子并且优选地是部分突变体或甚至更优选是完全缺失突变体。优选地,原养型二倍体或四倍体菌株可通过将互补组的营养缺陷型菌株交配来产生。

[0180] 二倍体巴斯德毕赤酵母菌株的转化以及巴斯德毕赤酵母有性周期的遗传操作可如Pichia Protocols(1998,2007)(同上)中所述来进行。

[0181] 在转化之前,每一个表达载体可通过与靶基因组基因座(例如,GAP启动子序列)同源的区域内的限制性内切酶切割进行线性化来指导载体至宿主细胞的靶基因座内的整合。随后可通过电穿孔或其它方法将每一个载体的样品单个地转化进入期望的菌株的培养物,成功的转化体可通过可选择标记例如抗生素抗性或营养缺陷型的互补作用来选择。可挑拣分离株,在选择条件下将其划线培养以产生单个菌落,随后通过对从每一个菌株提取的基因组DNA进行Southern印迹或PCR测定来检查,以确认编码多亚基复合物(例如,期望的抗体)的亚基的基因的拷贝数。任选地,预期的亚基基因产物的表达可以例如通过FACS、Western印迹、菌落转移检测和免疫印迹和本领域已知的其它方法来确认。任选地,额外地多次转化二倍体分离株以将额外的异源基因例如额外拷贝数的相同亚基和/或额外拷贝数的不同亚基整合在不同的基因座中。随后将二倍体菌株交配以产生能够合成多蛋白复合物的二倍体菌株(或更高倍体的菌株)。每一个预期的亚基基因的存在可通过Southern印迹、PCR和本领域已知的其它检测方法来确认。当期望的多蛋白复合物是抗体时,其表达还可通过菌落转移检测/免疫印迹法(Wung等Biotechniques 21 808-812(1996)和/或通过FACS来确认。

[0182] 任选地重复该转化方案以将异源基因靶向第二基因座中,所述第异源基因可以是与被靶向第一基因座的基因相同的或不同的基因。当待整合到第二基因座中的构建体编码

与由第一基因座编码的序列相同或高度相似的蛋白质时，可改变其序列减少不期望的至第一基因座中的整合的概率。例如，待整合到第二基因座中的序列相对于整合到第一基因座的序列，可具有启动子序列、终止序列、密码子选择的差异和/或其它可耐受的序列差异。

[0183] 为了交配巴斯德毕赤酵母二倍体菌株，将待杂交的每一个菌株一起涂板在交配板上。例如，可通过将每一个待交配的菌株在适合于其生长的板上划线培养来方便地同时进行多个交配，可将交配伴侣在第二块板(优选该板是丰富培养基例如YPD)上划线培养。通常地，在于30℃温育1或2天后，可将两块板以交叉的方式模印涂板至交配板上，这导致每一对菌株被共涂板并且在一对原始脉线的交叉点上具有交配的可能的交叉影线械。随后可温育(例如，在30℃)交配板以刺激两个菌株之间的交配开始。在约2天后，可将交配板上的细胞划线培养，涂板，或模印涂板至对期望的二倍体菌株具有选择性的培养基上(例如，当交配的菌株具有互补自养作用时，可使用省却培养基或基本培养基板)。可温育(例如，在30℃)这些板进行适当的持续时间(例如，约3天)以允许期望的二倍体菌株选择性生长。可挑拣产生的菌落，将其划线以分离单个菌落，纯化每一个二倍体菌落。

[0184] 用于本发明的方法的表达载体还可包括酵母特异性序列，包括用于鉴定转化酵母菌的可选择营养缺陷型或药物标记。药物标记还可用于在酵母宿主细胞中扩增载体的拷贝数，例如通过在浓度升高的药物中培养一群细胞，从而选择表达升高的水平的抗性基因的转化体来进行扩增。

[0185] 在示例性实施方案中，将编码异源蛋白质亚基的基因的一个或多个基因偶联至诱导型启动子。适当的示例性启动子包括醇氧化酶1基因启动子、甲醛脱氢酶基因(FLD;参见美国公布No.2007/0298500)和本领域已知的其它诱导型启动子。醇氧化酶1基因启动子在最常用的碳源例如葡萄糖、甘油或乙醇上在酵母生长过程中被严格抑制，但在甲醇上在生长过程中被高度诱导(Tschopp等，1987;属于Stroman,D.W.等的美国专利No.4,855,231)。为了产生外来蛋白质，最初将菌株生长在抑制性碳源上，以产生生物质，随后转移至甲醇(作为唯一(或主要)碳源和能源)来诱导外来基因的表达。该调控系统的一个有利方面是可通过在抑制性条件下生长来维持利用外来基因(其表达产物对于细胞是有害的)转化的巴斯德毕赤酵母菌株。

[0186] 在另一个示例性实施方案中，可将异源基因的一个或多个基因偶联至其表达水平在适当的条件下被上调的调控型启动子。示例性调控启动子包括CUP1启动子(被培养基中的铜的水平诱导的)、四环素诱导性启动子、硫胺素诱导性启动子、AOX1启动子和FLD1启动子。

[0187] 虽然本发明公的大部分开内容描述抗体的产生，但本文中描述的方法可被容易地改造来同样地适用于其它多亚基复合物。不希望受理论限制，据信多亚基复合物的产率和纯度可受到亚基的浓度和化学计量的巨大影响，这转而受到负责产生每一种亚基的基因的表达水平的影响。本文中公开的方法可被容易地用于改善任何重组多亚基复合物(包含两个或更多个不同亚基)的产率和/或纯度。此外，本方法不限于产生多蛋白质复合物，而且还可被容易地改造来适用于核糖核蛋白(RNP)复合物(包括端粒酶、hnRNP、核糖体、snRNP、信号识别颗粒、原核和真核RNA酶P复合物)，以及包含多个不同蛋白质和/或RNA亚基的任何其它复合物。表达多亚基复合物的宿主细胞可通过本领域已知的方法来产生。例如，一小组包含不同基因拷贝数的组合的二倍体或四倍体酵母细胞可通过将包含不同拷贝数的单个亚

基基因(其拷贝数优选在交配前是已知的)的细胞交配来产生。

[0188] 定义

[0189] 应当理解本发明不限于描述的具体方法、方案、细胞系、动物的种或属以及试剂，因为这可变化。还应理解本文中使用的术语仅仅是为了描述特定实施方案，无意限定仅由所附权利要求限定的本发明的范围。

[0190] 如本文中所用，除非上下文中另外清楚地指出，否则单数形式"一个/一种"、"和"以及"所述"包括复数所指物。因此，例如，"一个/一种细胞"包括多个这样的细胞并且"所述蛋白质"包括指一种或多种蛋白质以及本领域技术人员已知的其等同物，等等。除非明确地另有所指，否则本文中使用的所有技术和道学术语具有与本发明所属的领域内的技术人员通常理解的含义相同的含义。

[0191] 大剂量添加:在本公开中，“大剂量添加”通常是指与培养细胞(例如，在培养基中)接触的物质(例如乙醇)的浓度的快速改变。例如，可以以单次添加、超过一次添加的连续添加和/或在一段时间内(例如，在约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、90或120分钟的时间内)进行的输注的方式将物质添加至培养细胞。还可通过部分或完全更换培养基，例如通过浓缩细胞(使用离心、过滤、沉降或其它方法)，除去部分或全部培养基，随后添加物质，或通过将细胞添加至含有物质的培养基中来添加物质。可将物质与载体(例如，培养基、水、盐水等)混合。例如，乙醇的大剂量添加可包括将纯的或高浓度乙醇(例如，100％、95％、70％、50％、60％、40％、30％、20％等)以足以产生期望的浓度的量添加至培养基中。作为另一个实例，可将细胞添加至含有乙醇的培养基，例如通过将含有细胞的接种物添加至含乙醇的培养基。

[0192] 大剂量浓度:在本公开中，“大剂量浓度”通常是指因物质(例如，乙醇)的大剂量添加而导致的浓度。

[0193] 具有交配能力的酵母的种:在本发明中，这意欲广泛地包括可在培养中生长的任何二倍体或四倍体酵母。这样的种类的酵母可以以单倍体、二倍体或其它多倍体形式存在。给定倍性的细胞可在适当的条件下以该形式增殖无限的世代数。二倍体细胞还可生成孢子来形成单倍体细胞。连续交配可通过二倍体菌株的进一步交配或融合来导致四倍体菌株。本发明涉及单倍体酵母以及例如通过交配或融合(例如，原生质球融合)产生的二倍体或其它多倍体酵母细胞的用途。

[0194] 在本发明的一个实施方案中，具有交配能力的酵母是酵母菌科(Saccharomycetaceae)的成员，其包括阿斯霉属(Arxiozyma)、类盘酵母属(Ascobotryozyma)、固囊酵母属(Citeromyces)、德巴利酵母属(Debaryomyces)、德克酵母属(Dekkera)、假囊酵母属(Eremothecium)、伊萨酵母属(Issatchenkia)、酿酒酵母属(Kazachstania)、克鲁维酵母属(Kluyveromyces)、柯达菌属(Kodamaea)、娄德罗菌属(Lodderomyces)、管囊酵母属(Pachysolen)、毕赤酵母属、酵母菌属、子囊酵母属(Saturnispora)、四盾酵母属(Tetrapisispora)、有孢圆酵母属(Torulaspora)、拟威尔酵母属(Williopsis)和接合糖酵母菌(Zygosaccharomyces)。潜在地用于本发明的其它类型的酵母包括子囊菌酵母属(Yarrowia)、红冬孢酵母属(Rhodosporidium)、念珠菌属(Candida)、汉逊酵母属(Hansenula)、线黑粉(Filobasium)、锁掷酵母属(Sporidiobolus)、布勒掷孢酵母属(Bullera)、白冬孢酵母属(Leucosporidium)和线黑粉菌属

(Filobasidella)。

[0195] 在本发明的优选实施方案中,具有交配能力的酵母是毕赤酵母属的成员或为另一种甲基营养生物。在本发明的其它优选实施方案中,毕赤酵母属的具有交配能力的酵母是下列种之一:巴斯德毕赤酵母、甲醇毕赤酵母和汉逊酵母(安格斯毕赤酵母)。在本发明的特别优选实施方案中,毕赤酵母属的具有交配能力的酵母是巴斯德毕赤酵母种。

[0196] 单倍体酵母细胞:具有单个拷贝的其正常基因组(染色体)组型的每一个基因的细胞。

[0197] 多倍体酵母细胞:具有超过一个拷贝的其正常基因组(染色体)组型的细胞。

[0198] 二倍体酵母细胞:具有两个拷贝(等位基因)的其正常基因组组型的基本上每一个基因的细胞,通常通过两个二倍体细胞的融合(交配)过程形成的。

[0199] 四倍体酵母细胞:具有4个拷贝(等位基因)的其正常基因组组型的基本上每一个基因的细胞,通常通过两个二倍体细胞的融合(交配)过程形成的。四倍体可具有2、3、4或更多个不同的表达盒。这样的四倍体可通过选择性交配纯合异宗配合二倍体a/a与α/α二倍体在酿酒酵母中获得和通过单倍体的连续交配(以获得营养缺陷型二倍体)在毕赤酵母属中获得。例如,可将[met his]单倍体与[ade his]单倍体交配以获得二倍体[his];和可将[met arg]单倍体与[ade arg]单倍体交配以获得二倍体[arg];随后可将二倍体[his]与二倍体[arg]交配以获得四倍体原养型。本领域技术人员应理解二倍体细胞的有益效果和用途也可适用于四倍体细胞。

[0200] 酵母交配:两个酵母细胞籍以融合以形成单个酵母细胞的过程。融合细胞可以是单倍体细胞或具有更高倍性的细胞(例如,将两个二倍体细胞交配以产生四倍体细胞)。

[0201] 减数分裂:二倍体酵母细胞藉以经历减容分裂以形成4个单倍性孢子产物。每一孢子随后可萌发并且形成单倍体营养生长细胞系。

[0202] 可选择标记:可选择标记是赋予接受该基因(如例如通过转化事件)的细胞生长表型(物理生长特征)的基因或基因片段。可选择标记允许细胞在其中不接受该可选择标记基因不能生长的条件下在选择生长培养基中存活和生长。可选择标记通常分成几个类型,包括阳性可选择标记基因例如赋予细胞对抗生素或其它药物、温度(当将两个温度敏感型("ts")突变体杂交或转化ts突变体时)的抗性的基因;阴性可选择标记基因例如生物合成基因,所述生物合成基因赋予细胞在不含被不具有该生物合成基因的细胞需要的特定营养物的培养基中生长的能力,或诱变的生物合成基因,所述诱变的生物合成基因使得细胞不能通过不具有野生型基因的细胞生长;等。适当的标记包括但不限于:ZEO、NEO(G418)、LYS3、MET1、MET3a、ADE1、ADE3、URA3等。

[0203] 整合的:共价地连接至生物体的染色体中的遗传元件(通常地异源遗传元件)。

[0204] 串联整合的:两个或更多个拷贝的被整合在染色体中相邻位置中的遗传元件。两个或更多个拷贝不必定向;例如对于转录的基因,一些拷贝可从Watson链转录,其它拷贝可从Crick链转录。

[0205] 宿主细胞:在本公开内容的上下文中,术语宿主细胞是指包含异源基因的细胞(例如,真核细胞,例如毕赤酵母属细胞)。例如,异源基因可提供期望的多亚基复合物的亚基的表达,参与蛋白质折叠(例如,伴侣分子)、表达或分泌的基因和/或另一种期望的基因。可将异源基因整合到真核细胞的基因组中或包含在染色体外元件例如质粒或人工染色体内。

[0206] 表达载体:这些DNA载体包含有利于外来基因在靶宿主细胞内表达的元件。方便地,首先在细菌宿主例如大肠杆菌(E.coli)中进行用于转化的DNA的产生和序列的操作,并且通常载体可包括有利于这样操作的序列,包括细菌复制起始点和适当的细菌选择标记。选择标记编码在选择性培养基中生长的转化的宿主细胞存活或生长所必需的蛋白质。未用包含选择基因的载体转化的宿主细胞在培养基上不能存活。常见选择基因编码蛋白质,所述蛋白质(a)赋予对抗生素或其它毒素的抗性,(b)补充营养缺陷性不足或(c)提供不可从复合培养基获得的至关重要的营养物。用于酵母转化的示例性载体和方法描述于例如Burke,D.,Dawson,D.,&Stearns,T.(2000).Methods in yeast genetics:a Cold Spring Harbor Laboratory course manual.Plainview,N.Y.:Cold Spring Harbor Laboratory Press(将所述文献通过引用整体并入本文)中。

[0207] 用于本发明的方法的表达载体还可包括酵母特异性序列,包括用于鉴定转化的酵母菌株的可选择营养缺陷或药物标记。药物标记还可用于选择载体拷贝数在酵母宿主细胞中的扩增。

[0208] 编码目标序列的多肽通常有效地连接至转录和翻译调控序列,所述调控序列提供多肽在酵母细胞中的表达。这些载体元件可包括但不限于下列元件的一个或多个:增强子元件、启动子和转录终止序列。还可包含用于多肽分泌的序列,例如信号序列等。酵母复制起始点是任选的,因为表达载体通常被整合到酵母基因组中。

[0209] 虽然是任选地,但在本发明的一个实施方案中,将多亚基复合物的一个或多个亚基有效地连接至或融合至分泌序列,所述分泌序列提供表达的多肽至培养基中的分泌,所述分泌序列可有利于异源多亚基复合物的收集和纯化。甚至更优选地,分泌信号例如通过选择优选密码子和/或通过密码子选择改变AT百分比来提供来自宿主细胞(例如,酵母二倍体细胞)的多肽的最优化分泌。在本领域已知分泌效率和/或稳定性可通过选择分泌序列来实现,并且最佳分泌序列在不同蛋白质之间可变化(参见,例如,Koganesawa等,Protein Eng.2001Sep;14(9):705-10,将所述文献通过引用整体并入本文)。许多潜在适当的分泌信号在本领域是已知的并且可容易地测试它们对特定异源多亚基复合物的产率和/或纯度的作用。可潜在地使用任何分泌序列,包括存在于酵母和其它物种的分泌型蛋白质中的那些分泌序列以及工程化分泌信号。可使用的示例性分泌序列包括:鸡溶菌酶(CLY)信号肽(MRSLLILVLCFLPLAALG(SEQ ID NO:414))、CLY-L8(MRLLLLLLLLPLAALG(SEQ ID NO:415))、酿酒酵母转化酶(SUC2)信号肽(MLLQAFLFLLAGFAAKISA(SEQ ID NO:416))、MF-α(Prepro)(MRFPSIFTAVLFAASSALA-APVNTTTE-EGVSLEKR(SEQ ID NO:417))、MF-α(Pre)-apv(MRFPSIFTAVLFAASSALA-APV(SEQ ID NO:418))、MF-α(Pre)-apv-SLEKR(MRFPSIFTAVLFAASSALA-APVSLEKR(SEQ ID NO:419))、MF-α(Prepro)-(EA)3(MRFPSIFTAVLFAASSALA-APVNTTTE-EGVSLEKR-EAEAEA(SEQ ID NO:420))、αF信号肽(MRFPSIFTAVLFAASSALA-APVNTTTE-DETAQIPAEAVIGYSDLEGDFDVAVLPFSNSTNNGLLFINTTIASIAAKE-EGVSLEKR(SEQ ID NO:421))、KILM1信号肽(MTKPTQVLVRSVSILFFITLLHLVVALNDVAGPAETAPVSLLPR(SEQ ID NO:422))、可抑制的酸性磷酸酶(PHO1)信号肽(MFSPILSLEIILALATLQSVFA(SEQ ID NO:423))、黑曲霉GOX信号肽(MQTLLVSSLVVSLAAALPHYIR(SEQ ID NO:424))、西方许旺酵母葡糖淀粉酶基因(GAM1)信号肽(MIFLKLIKSIVIGLGLVSAIQA(SEQ ID NO:425))、具有前导序列的人血清白蛋白(HSA)信号

肽(MKWVTFISLLFLFSSAYSRGVFRR(SEQ ID NO:426))、具有前导序列的人血清白蛋白(HSA)信号肽(MKWVTFISLLFLFSSAYS(SEQ ID NO:427))、ISN信号肽(MALWMRLLPLLALLALWGPDPAAA(SEQ ID NO:428))、IFN信号肽(MKYTSYILAFQLCIVLGSLGCDLP(SEQ ID NO:429))、HGH信号肽(MAADSQTPWLLTFSLLCLLWPQEPGA(SEQ ID NO:430))、植物血细胞凝集素(PHA)(MKKNRMMMMIWSVGVVWMLLLVGGSYG(SEQ ID NO:431))、蚕溶菌酶(MQKLIIFALVVLCVGSEA(SEQ ID NO:432))、人溶菌酶(LYZ1)(MKALIVLGLVLLSVTVQG(SEQ ID NO:433))、活化素受体1型(MVDGVMILPVLIMIALPSPS(SEQ ID NO:434))、活化素受体II型受体(MGAAAKLAFAVFLISCSSG(SEQ ID NO:435))、巴斯德毕赤酵母免疫球蛋白结合蛋白(PpBiP)(MLSLKPSWLTLAALMYAMLLVVVPFAKPVRA(SEQ ID NO:436))和人抗体3D6轻链前导序列(MDMRVPAQLLGLLLLWLPGAKC(SEQ ID NO:437))。参见Hashimoto等,Protein Engineering第11卷no.2第75-77页,1998;Oka等,Biosci Biotechnol Biochem.1999Nov;63(11):1977-83;Gellissen等,FEMS Yeast Research 5(2005)1079-1096;Ma等,Hepatology.2005Dec;42(6):1355-63;Raemaekers等,Eur J Biochem.19990ct 1;265(1):394-403;Koganesawa等,Protein Eng.(2001)14(9):705-710;Daly等,Protein Expr Purif.2006Apr;46(2):456-67;Damasceno等,Appl Microbiol Biotechnol(2007)74:381-389和Felgenhauer等,Nucleic Acids Res.1990Aug 25;18(16):4927,所述文献的每一篇文献通过引用整体并入本文)。还可将多亚基复合物分泌进入培养基而无需有效地连接至或融合至分泌信号。例如,已显示当在巴斯德毕赤酵母中表达时(即使未有效地连接至或融合至分泌信号的情况下)时,一些异源多肽被分泌进入培养基。此外,可使用本领域已知的方法从宿主细胞(所述细胞,例如,可以是优选的,如果较少分泌复合物的话)纯化多亚基复合物。

[0210] 可从培养基回收包含期望的多亚基复合物的培养基或细胞。任选地,可纯化分泌的蛋白质。例如可使用机械、化学、酶促和/或渗透法(例如,利用液氮冷冻,使用匀浆器,原生质球化,超声处理,在玻璃珠存在的情况下搅拌,使用去垢剂等)裂解包含期望的多亚基复合物的细胞。可使用本领域已知的方法浓缩、过滤、透析期望的多亚基复合物等。可基于例如其分子质量(例如,尺寸排阻色谱法)、等电点(例如,等电聚焦)、电泳迁移率(例如,凝胶电泳)、疏水相互作用层析(例如,HPLC)、电荷(例如,离子交换层析)、亲和力(例如,在抗体的情况下,结合蛋白A、蛋白G,和/或期望的抗体所结合的表位)和/或糖基化状态(例如,通过外源凝集素结合亲和力检测的)纯化期望的多亚基复合物。可进行多个纯化步骤来获得期望水平的纯度。在示例性实施方案中,期望的多亚基复合物可包含免疫球蛋白恒定结构域并且可使用蛋白A或蛋白G亲和、尺寸排阻色谱法以及对外源凝集素的结合的不存在(以除去糖基化形式)来纯化。任选地,可添加蛋白酶抑制剂例如苯甲磺酰氟(PMSF)来在纯化过程中抑制蛋白水解消化。

[0211] 当被置于与另一个核酸序列的功能性关系中时,核酸是“有效地连接的”。例如,如果信号序列的DNA表达为参与多肽的分泌的前蛋白,则其有效地连接于多肽的DNA;如果启动子或增强子影响序列的转录,则其有效地连接至编码序列。一般而言,"有效地连接的"意指被连接的DNA序列是邻接的,以及在分泌前导序列的情况下,是邻接的并且在读框内。然而,增强子不必是邻接的。连接可通过在方便的限制性位点上连接或可选择地通过对于本领域技术人员来说是熟悉的PCR/重组法(Gateway® Technology;Invitrogen,Carlsbad Calif.)来实现。如果这样的位点不存在,则可按照常规实践使用合成寡核苷酸接头或连接

体。期望的核酸(包括包含有效连接的序列的核酸)还可通过化学合成产生。

[0212] 启动子是位于结构基因(通常在约100至1000bp内)的起始密码子上游(5')的非翻译序列,其控制与它们有效连接的特定核酸序列的转录和翻译。这样的启动子分成几个种类:诱导型、组成型和阻抑启动子(所述启动子响应阻抑物的不存在而升高转录的水平)。诱导型启动子可响应培养条件下的一些变化(例如营养物的存在或不存在或温度的变化)而起始升高水平的从在它们控制之下的DNA的转录。

[0213] 酵母启动子片段还可用作用于表达载体至酵母基因组的相同位点中的同源重组和整合的位点;可选择地可选择标记用作同源重组的位点。毕赤酵母属的转化描述于Cregg等(1985)Mol.Cell.Biol.5:3376-3385(将所述文献通过引用整体并入本文)中。

[0214] 来自毕赤酵母属的适当的启动子的实例包括CUP1(通过培养基中铜的水平诱导的)、四环素诱导性启动子、硫胺素诱导性启动子、AOX1启动子(Cregg等(1989)Mol.Cell.Biol.9:1316-1323)、ICL1启动子(Menendez等(2003)Yeast 20(13):1097-108)、3-磷酸甘油醛脱氢酶启动子(GAP)(Waterham等(1997)Gene 186(1):37-44);and FLD1启动子(Shen等(1998)Gene 216(1):93-102)。GAP启动子是强组成型启动子,CUP1、AOX和FLD1启动子是诱导型启动子。每一个前述参考资料通过引用整体并入本文。

[0215] 其它酵母启动子包括ADH1、醇脱氢酶II、GAL4、PHO3、PHO5、Pyk和来源于其的嵌合启动子。此外,非酵母启动子可用于本发明例如哺乳动物、昆虫、植物、爬行动物、两栖动物、病毒和禽类启动子。最常见地,启动子将包含哺乳动物启动子(潜在地对于表达的基因是内源性的)或将包含在酵母系统中提供高效转录的酵母或病毒启动子。

[0216] 目标多肽不仅可直接重组产生,而且还可作为与异源多肽例如信号序列或在成熟蛋白质或多肽的N末端上具有特定切割位点的其它多肽的融合多肽产生。一般而言,信号序列可以是载体的组件,或其可以是被插入载体的多肽编码序列的部分。优选地选择的异源信号序列是被识别的并且通过可在宿主细胞内获得的标准途径之一加工的序列。酿酒酵母α因子前-原信号已证明在多种重组蛋白从巴斯德毕赤酵母的分泌中是有效的。其它酵母信号序列包括α交配因子信号序列、转化酶信号序列和来源于其它分泌的酵母多肽的信号序列。此外,这些信号肽序列可被工程化以在二倍体酵母表达系统中提供增强的分泌。其它目标分泌信号还包括哺乳动物信号序列,所述信号序列对于待分泌的蛋白质可以是同源的,或对于待分泌的蛋白质可以是天然序列。信号序列包括前肽序列,在一些情况下可包括原肽序列。许多这样的信号序列在本领域是已知的,包括在免疫球蛋白链上发现的信号序列,例如K28前毒素原序列、PHA-E、FACE、人MCP-1、人血清白蛋白信号序列、人Ig重链、人Ig轻链等。例如,参见Hashimoto等Protein Eng 11(2)75(1998);和Kobayashi等Therapeutic Apheresis 2(4)257(1998),所述文献的每一篇通过引用整体并入本文。

[0217] 转录可通过将转录激活因子序列插入载体来增强。这些激活因子是DNA的顺式作用元件,通常为约10至300bp,其作用于启动子以增强其转录。转录增强子相对地不依赖于方向和位置,发现于转录单位的5'和3',位于内含子中以及位于编码序列本身内。可将增强子在编码序列的5'或3'位置上剪接进入表达载体,但优选位于启动子的5'位置。

[0218] 用于真核宿主细胞的表达载体还可包含终止转录和稳定mRNA所必需的序列。这样的序列通常可获自翻译终止密码子的3',其存在于真核或病毒DNA或cDNA的非翻译区中。这些区域包含转录为mRNA的非翻译部分中的多腺苷酸化片段的核苷酸区段。

[0219] 包含上文所列的组件的一个或多个的适当载体的构建使用标准连接技术或PCR/重组法。切割、裁剪分离的质粒或DNA片段，以期望产生所需质粒的形式或通过重组法再连接所述片段。为了进行确认构建的质粒中的正确序列的分析，将连接混合物用于转化宿主细胞，适当时通过抗生素抗性(例如，氨苄青霉素或Zeocin)选择成功的转化体。从转化体制备质粒，通过限制性内切核酸酶消化分析质粒和/或对质粒进行测序。

[0220] 作为对片段的限制和连接的替代，基于att位点和重组酶的重组法可用于将DNA序列插入载体。这样的方法例如由Landy(1989)Ann.Rev.Biochem.58:913-949进行了描述；并且对于本领域技术人员来说是已知的。这样的方法利用通过λ与大肠杆菌编码的重组蛋白的混合物介导的分子间DNA重组。重组发生在相互作用的DNA分子上的特异性附着(att)位点之间。关于att位点的描述，参见Weisberg和Landy(1983)Site-Specific Recombination in Phage Lambda,in Lambda II,Weisberg,ed.(Cold Spring Harbor,N.Y.:Cold Spring Harbor Press)，第211-250页。转换侧翼连接重组位点的DNA区段，以便在重组后，att位点是由每一个亲代载体供给的序列组成的杂交序列。重组可在具有任何拓扑结构的DNA之间发生。每一个前述参考资料通过引用整体并入本文。

[0221] 可通过将目标序列连接至适当的载体中来将Att位点引入目标序列；通过使用特异性引物产生包含att B位点的PCR产物；产生克隆进入包含att位点的适当载体中的cDNA文库；等等。

[0222] 单顺反子和多顺反子基因。单顺反子基因编码包含仅翻译成单一蛋白质的遗传信息的RNA。多顺反子基因编码包含翻译超过一种蛋白质的遗传信息的mRNA。多顺反子基因中编码的蛋白质可具有相同的或不同的序列或其组合。二顺反子或双顺反子是指编码两种蛋白质的多顺反子。多顺反子基因任选地包括一个或多个内核糖体进入位点(IRES)元件来有促进不依赖于帽的翻译起始，所述元件可位于可这样的位置中，所述位置可不依赖于键合至mRNA分子的5'末端的5'-帽结构来驱动下游蛋白质编码区的翻译。可使用任何已知的IRES序列(例如，病毒、真核生物或人工来源的)。例如，可使用基因间区域(IGR)中的蟋蟀麻痹病毒IRES序列，如Thompson等(2001)PNAS 98:12972-12977中所描述的。任选地，IRES功能可通过遗传改变，例如通过引起eIF2激酶GCN2的组合成型表达或中断两个断裂的起始密码子tRNA(met)基因(同前)来赋予。

[0223] 折叠，如本文中所用，是指多肽和蛋白质的三维结构，其中氨基酸残基之间的相互作用用于稳定结构。虽然非共价相互作用在决定结构中是非常重要的，但目标蛋白质通常具有通过两个半胱氨酸残基形成的分子内和/或分子间共价二硫键。对于天然存在的蛋白质和多肽或其衍生物和变体，正确折叠通常是导致最佳生物活性的排列，并且可方便地通过活性(例如配体结合、酶促活性等)的测定来监测。

[0224] 在一些情况下，例如当期望的产物是合成来源时，基于生物活性的测定意义不大。这样的分子的正确折叠可基于物理性质、活力考虑、建模研究等来确定。

[0225] 表达宿主还可通过引入编码一种或多种增强折叠和二硫键形成的酶即折叠酶、伴侣蛋白等的序列来进行修饰。这样的序列可使用本领域已知的载体、标记等来在酵母宿主细胞中组成型地或诱导型地表达。优选，通过靶向方法将序列(包括足以进行期望的表达模式的转录调控元件)稳定地整合在酵母基因组中。

[0226] 例如，真核PDI不仅是蛋白质半胱氨酸氧化和二硫键异构化的高效催化剂而且还

显示伴侣蛋白活性。PDI的共表达可有利于具有多个二硫键的活性蛋白质产生。还有利的是BIP(免疫球蛋白重链结合蛋白)、亲环素等的表达。在本发明的一个实施方案中,可从通过交配产生的酵母表达多亚基复合物,其中每一个单倍体亲代菌株表达不同的折叠酶,例如一个菌株可表达BIP,另一个菌株可表达PDI或其组合。

[0227] 术语"期望的蛋白质"或"靶蛋白质"可互换使用并且通常是指异源多亚基蛋白质例如本文中描述的抗体(例如,人源化抗体)或其结合部分。

[0228] 术语"抗体"包括具有与表位拟合或识别表位的特定形状的任何含多肽链的分子结构,其中一个或多个非共价结合相互作用稳定分子结构与表位之间的复合。原型抗体分子是免疫球蛋白,来自所有来源例如人、啮齿类动物、兔、牛、绵羊、猪、狗、其它哺乳动物、鸡、其它禽类等的所有类型的免疫球蛋白IgG、IgM、IgA、IgE、IgD等被认为是"抗体"。用于产生用作根据本发明的起始材料的抗体的优选来源是兔。许多抗体编码序列已被描述;其它抗体可利用本领域公知的方法产生。其实例包括嵌合抗体、人抗体和其它非人哺乳动物抗体、人源化抗体、单链抗体例如scFv、骆驼体、纳米抗体、IgNAR(来源于鲨鱼的单链抗体)、小模块免疫药物(SMIP)和抗体片段例如Fab、Fab'、$F(ab')_2$等。参见Streltsov V A,等,Structure of a shark IgNAR antibody variable domain and modeling of an early-developmental isotype,Protein Sci.2005November;14(11):2901-9.Epub 2005年9月30日;Greenberg A S,等,A new antigen receptor gene family that undergoes rearrangement and extensive somatic diversification in sharks,Nature.1995年3月9日.9;374(6518):168-73;Nuttall S D,等,Isolation of the new antigen receptor from wobbegong sharks,and use as a scaffold for the display of protein loop libraries,Mol Immunol.2001年8月;38(4):313-26;Hamers-Casterman C,等,Naturally occurring antibodies devoid of light chains,Nature.1993年6月3日;363(6428):446-8;Gill D S,等,Biopharmaceutical drug discovery using novel protein scaffolds,Curr Opin Biotechnol.2006年12月;17(6):653-8.Epub 2006年10月19日。将每一个上述参数资料通过引用整体并入本文。

[0229] 例如,抗体或抗原结合片段可通过遗传工程产生。在该技术中,与其它方法一样,抗体产生性细胞对期望的抗原或免疫原敏感。从抗体产生性细胞分离的信使RNA用作使用PCR扩增产生cDNA的模板。通过将扩增的免疫球蛋白cDNA的适当区段插入表达载体来产生载体的文库,每一个载体包含保留初始抗原特异性的一个重链基因和一个轻链基因。通过将重链基因文库与轻链基因文库组合来构建重组文库。这导致共表达重链和轻链(类似于抗体分子的Fab片段或抗原结合片段)的克隆的文库。将携带这些基因的载体共转染入宿主细胞。当将抗体基因合成引入转染的宿主时,重链和轻链蛋白质自组装以产生可通过利用抗原或免疫原的筛查来检测的活性抗体。

[0230] 目标抗体编码序列包括由天然序列编码的那些序列,以及因遗传密码的简并性而在序列上与公开的核酸不相同的核酸及其变体。变体多肽可包括氨基酸(aa)置换、添加或缺失。氨基酸置换可以是保守氨基酸置换,或消除非必需氨基酸,例如以改变糖基化位点或使错折叠减少至最低程度(通过一个或多个对于功能不是必需的半胱氨酸残基的置换或缺失)的置换。可这样设计变体以使其保留蛋白质的特定区域(例如,功能结构域、催化氨基酸残基等)的生物活性或具有增强的所述生物活性。变体还包括本文中公开的多肽的片段,特

别地生物活性片段和/或对应于功能结构域的片段。用于克隆的基因的体外诱变的技术是已知的。还包括在主题发明中的是已使用常规分子生物学技术修饰以改善它们对蛋白水解消化的抗性或最优化溶解度性质或使它们更适合作为治疗剂的多肽。

[0231] 嵌合抗体可通过重组方法，通过将获自一个物种的抗体产生性细胞的可变轻链和重链区(V_L和V_H)与来自另个物种的抗体产生性细胞的恒定轻链和重链区组合来进行制备。通常地，嵌合抗体利用啮齿类动物或兔可变区和人恒定区，以产生具有大部分人结构域的抗体。这样的嵌合抗体的产生在本领域是公知的，并且可通过标准方法(如例如美国专利No.5,624,659(通过引用并入本文)中所描述的)来实现。还预期本发明的嵌合抗体的人恒定区可选自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgG5、IgG6、IgG7、IgG8、IgG9、IgG10、IgG11、IgG12、IgG13、IgG14、IgG15、IgG16、IgG17、IgG18或IgG19恒定区。

[0232] 人源化抗体经工程化以包含甚至更多人样免疫球蛋白结构域，并且仅包含动物来源的抗体的互补性决定区。这通过仔细检查单克隆抗体的可变区的高变环的序列，将它们与人抗体链的结构拟合来实现。虽然表面上复杂，但过程在实践上简单明了。参见，例如美国专利No.6,187,287(通过引用整体并入本文)。人源化抗体的方法先前已在公布的美国专利No.7935340(将其公开内容通过引用整体并入本文)中进行了描述。在一些情况下，是否需要额外的兔框架残基来维持活性的确定是必需的。在一些情况下，人源化抗体仍然需要保留一些至关重要的兔框架残基来使亲和力或活性的损失减小至最低程度。在这些情况下，必需将来自人种系序列的单个或多个框架氨基酸变回原始兔氨基酸以具有期望的活性。实验性测定这些变化以鉴定哪个兔残基是保持亲和力和活性所必需的。

[0233] 除了完整的免疫球蛋白(或它们的重组对应部分)外，可合成包含表位结合位点(例如，Fab'、F(ab')$_2$或其它片段)的免疫球蛋白片段。"片段"或最小免疫球蛋白可使用重组免疫球蛋白技术来设计。例如用于本发明的"Fv"免疫球蛋白可通过合成融合的可变轻链区和可变重链区来产生。抗体的组合也是有益的，例如双链抗体，其包含两个不同的Fv特异性。在本发明的另一个实施方案中，免疫球蛋白片段包括SMIP(小分子免疫药物)、骆驼体、纳米抗体和IgNAR。

[0234] 免疫球蛋白及其片段可被翻译后修饰来例如添加效应物部分例如化学连接体、可检测部分例如荧光染料、酶、毒素、底物、生物发光物质、放射性物质、化学发光部分等，或特异性结合部分例如链霉抗生物素蛋白、抗生物素蛋白或生物素等可用于本发明的本发明的方法和组合物。其它效应分子的实例提供于下文中。

[0235] 产物相关变体：存在于期望的产物的制剂中并且与期望的产物相关的除期望的产物(例如，期望的多亚基复合物)外的产物。示例性产物相关变体包括截短的或延长的肽，具有与期望的糖基化不同的糖基化的产物(例如，如果糖基化产物是期望的，则任何糖基化产物可被认为是产物相关变体)，具有异常化学计量的复合物，不正确装配，异常二硫键，异常或不完全折叠，聚集，蛋白酶切割或其它异常。示例性产物相关变体可显示分子质量(例如，通过尺寸排阻色谱法检测的)、等电点(例如，通过等电聚焦检测的)、电泳迁移率(例如，通过电泳检测的)、磷酸化状态(例如，通过质谱检测的)、荷质比(例如，通过质谱检测的)、蛋白水解片段的质量或身份(例如，通过质谱或凝胶电泳检测的)、疏水性(例如，通过HPLC检测的)、电荷(例如，通过离子交换层析检测的)、亲和力(例如，在抗体的情况下，通过对蛋白A、蛋白G和/或期望的抗体所结合的表位的结合检测的)以及糖基化状态(例如，通过外源凝

集素结合亲和力检测的)的一项或多项的改变。当期望的蛋白质是抗体时,术语产物相关变体可包括糖-重链和/或半抗体种类(下文中描述的)。

[0236] 示例性产物相关变体包括包含异常二硫键的变体形式。例如,大多数IgG1抗体分子通过总共16个链内和链间二硫键来稳定,所述二硫键在重链和轻链中稳定IgG结构域的折叠,而链间二硫键稳定重链与轻链之间的缔合。其它抗体类型同样地包含特定性稳定链内和链间二硫键。此外,一些抗体(包括本文中公开的Ab-A和Ab-B)包含称为非经典二硫键的额外二硫键。因此,异常链间二硫键可因稳定共价连接的不存在和/或对额外亚基的二硫连接而导致异常的复杂的化学计量。此外,异常二硫键(无论链间还是链内)可降低抗体的结构稳定性,这可导致减小的活性、减小的稳定性、增加的形成聚集体的倾向和/或增加的免疫原性。包含异常二硫键的产物相关变体可以以多种方式检测,包括非还原变性SDS-PAGE、毛细管电泳、cIEX、质谱法(任选针利用化学修饰来产生游离半胱氨酸的质量漂移)、尺寸排阻色谱法、HPLC、光散射的改变以及本领域已知的任何其它适当的方法。参见,例如,The Protein Protocols Handbook 2002,第V部分,581-583,DOI:10.1385/1-59259-169-8:581;

[0237] 半抗体、半抗体种类或H1L1是指蛋白质复合物,所述蛋白质复合物包括单个抗体重链和单个抗体轻链,但在第二抗体重链与第二抗体轻链之间不存在共价键。两个半抗体可在一些条件下保持非共价缔合(其可产生与完全抗体相似的行为,例如通过尺寸排阻色谱法测定的表观分子量)。类似地,H2L1是指包括两个抗体重链和单个抗体轻链,但不存在对第二抗体轻链的共价连接的蛋白质复合物;这些复合物还可以与另一个抗体轻链非共价缔合(并且同样地产生与完全抗体相似的行为)。与完全抗体一样,半抗体种类和H2L1种类可在还原条件下解离成单个重链和轻链。半抗体种类和H2L1种类可在非还原SDS-PAGE凝胶上被检测为以比完全抗体更低的表观分子量迁移的种类,例如H1L1以约一半的完全抗体的表观分子量(例如,约75kDa)迁移。

[0238] 糖-重链变体是指有时存在于抗体制剂中并且包含至少部分Fc序列的糖基化产物相关变体。糖-重链变体的特征在于可通过SDS-PAGE观察的减小的电泳迁移率(相对于正常重链)、外源凝集素结合亲和力、对抗-Fc抗体的结合以及及如通过尺寸排阻色谱法测定的包含糖-重链变体的抗体复合物的显著更高的分子量。参见2011年8月31日提交的美国临时申请序列号61/525,307(代理人案卷号67858.730200)(将其通过引用整体并入本文)。

[0239] 术语"长时间稳定地表达期望的分泌的异源多肽的多倍体酵母"是指在阈值表达水平上(通常至少50-500mg/L(在培养约90小时后)和优选显著更大)分泌所述多肽至少数天至1周,更优选至少1个月,更优选至少1-6个月,更优选超过1年的酵母培养物。

[0240] 术语"分泌期望量的重组多肽的多倍体酵母培养物"是指稳定地或长期分泌至少50-500mg/L、最优选500-1000mg/L或更多的培养物。

[0241] 如果多核苷酸序列按照遗传密码的翻译产生多肽序列(即,多核苷酸序列"编码"多肽序列,则多核苷酸序列"对应"于多肽序列,如果两个序列编码相同多肽序列,则一个多核苷酸序列"对应"于另一个多核苷酸序列。

[0242] DNA构建体的"异源"区或结构域是未被天然地发现与更大的分子结合的更大DNA分子内的DNA的可辨认区段。因此,当异源区域编码哺乳动物基因时,基因通常侧翼连接有在来源生物的基因组中不侧翼连接哺乳动物基因组DNA的DNA。异源区的另一个实例是其中

未天然地发现编码序列本身的构建体(例如,其中基因组编码序列包含内含子的cDNA,或具有与天然基因不同的密码子的合成序列)。等位基因变型或天然存在的突变事件不产生本文中定义的DNA的异源区域。

[0243] "编码序列"是(根据遗传密码)对应于或编码蛋白质或肽序列的密码子的框内序列。两个编码序列彼此对应,如果序列或它们的互补序列编码相同氨基酸序列的话。与适当的调控序列连接的编码序列可被转录并且翻译成多肽。多腺苷酸化信号和转录终止序列通常位于编码序列的3'。"启动子序列"是能够结合细胞中的RNA聚合酶并且起始下游(3'方向)编码序列的转录的DNA调控区。启动子序列任选地包含用于进行编码序列的转录的调控分子(例如,转录因子)的结合的额外位点。当RNA聚合酶结合细胞中的启动子并且将编码序列转录成mRNA时,编码序列处于启动子序列的"控制之下"或"有效地连接至启动子,所述mRNA随后被翻译成由编码序列编码的蛋白质。

[0244] 载体被用于将外来序列例如DNA、RNA或蛋白质引入生物或宿主细胞。常见载体包括重组病毒(用于多核苷酸)和脂质体(用于多肽)。"DNA载体"是可将另一个多核苷酸区段连接至其以进行连接区段的复制的复制子,例如质粒、噬菌体或粘粒。"表达载体"是包含可指导适当的宿主细胞进行多肽合成的调控序列的DNA载体。这通常意指结合RNA聚合酶并且起始mRNA的转录的启动子,以及引导mRNA至多肽的翻译的核糖体结合位点和起始信号。将多核苷酸序列在适当的位点和按正确的读框整合到表达载体,随后利用载体转化适当的宿主细胞使得能够产生由所述多核苷酸序列编码的多肽。

[0245] 多核苷酸序列的"扩增"是多个拷贝的特定核酸序列的体外产生。扩增序列通常以DNA的形式存在。多种用于进行这样的扩增的技术描述于下列综述论述(将所述综述论述的每一篇通过引用整体并入本文):Van Brunt 1990,Bio/Technol.,8(4):291-294;以及Gill和Ghaemi,Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.2008Mar;27(3):224-43中。聚合酶链式反应或PCR是核酸扩增的原型,并且此处PCR的使用应当被认为是其它适当扩增技术的范例。

[0246] 大多数脊椎动物(包括哺乳动物)的抗体的一般结构现已得到良好的理解(Edelman,G.M.,Ann.N.Y.Acad.Sci.,190:5(1971))。常规抗体由两个分子量约23,000道尔顿("轻链")的相同多肽轻链和两个分子量约53,000-70,000("重链")的相同重链组成。4个链通过"Y"构型中的二硫键连接在一起,在所述"Y"构型中轻链括入始于"Y"构型的口部的重链。"Y"构型的"分支"部分称为F_{ab}区;"Y"构型的茎部分称为F_c区。氨基酸序列取向从"Y"构型的顶部的N末端延伸至每一个链的底部的C末端。N末端具有拥有对于引发其的抗原的特异性的可变区,并且在长度上为约100个氨基酸,在轻链与重链之间以及抗体间存在微小变异。

[0247] 可变区在每一条链中连接至延续链的剩余长度的恒定区,并且特定种类的抗体内的恒定区不随抗体的特异性(即,引发其的抗原)而变化。存在5个已知大类的决定免疫球蛋白分子的种类的恒定区(对应于γ、μ、α、δ、ε重链恒定区的IgG、IgM、IgA、IgD和IgE)。恒定区和中类决定抗体的随后效应子功能,包括补体的活化(Kabat,E.A.,Structural Concepts in Immunology and Immunochemistry,第2版,第413-436页,Holt,Rinehart,Winston(1976))以及其它细胞反应(Andrews,D.W.,等,Clinical Immunobiology,第1-18页,W.B.Sanders(1980);Kohl,S.,等,Immunology,48:187(1983));然而可变区决定其与哪个

抗原反应。轻链被分类为κ和λ。可将每一个重链种类与κ或λ轻链配对。轻链与重链彼此共价键合，并且当免疫球蛋白通过杂交瘤或通过B细胞产生时，两个重链的“尾”部分通过共价二硫键彼此键合。

[0248] 措辞”可变区″或″VR″是指抗体中每一对轻链和重链内直接参与抗体对抗原的结合的结构域。每一个重链在一个末端具有可变结构域(V_H)，随后许多恒定结构域。每一个轻链在一个末端具有可变结构域(V_L)并且在其另一末端具有恒定结构域;轻链的恒定结构域与重链的第一恒定结构域对齐，并且轻链可变结构域与重链的可变结构域对齐。

[0249] 措辞”互补性决定区″、″高变区″或″CDR″是指抗体的轻链或重链的可变区内发现的高变区或互补性决定区(CDR)的一个或多个(See Kabat,E.A.等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,National Institutes of Health,Bethesda,Md.,(1987))。这些表达包括如由Kabat等定义的高变区(″Sequences of Proteins of Immunological Interest,″Kabat E.,等,US Dept.of Health and Human Services,1983)或抗体的三维结构中的高变环(hypervariable loop)(Chothia和Lesk,J Mol.Biol.196901-917(1987))。每一条链中的CDR通过框架区保持紧密靠近，并且与来自另一条链的CDR一起促成了抗原结合位点的形成。在CDR内，存在已被描述为选择性决定区(SDR)的选择氨基酸，所述氨基酸代表了在抗体-抗原相互作用中由CDR使用的至关重要的接触残基(Kashmiri,S.,Methods,36:25-34(2005))。

[0250] 措辞”框架区″或″FR″是指抗体的轻链和重链的可变区内的框架区的一个或多个(参见Kabat,E.A.等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,National Institutes of Health,Bethesda,Md.,(1987))。这些表达包括插入在抗体的轻链和重链的可变区内的CDR之间的那些氨基酸序列区。

[0251] 抗-NGF抗体及其具有对于NGF的结合活性的片段

[0252] 抗体Ab1

[0253] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合和/或抑制或预防疼痛的治疗有效量，使用单独的或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合的抗体Ab1或其片段，或结合与Ab1所结合的表位相同的或与之重叠的表位的抗体或抗体片段(例如下文中所示的)治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法。在一个实施方案中，本发明包括具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列的嵌合抗体:ALVMTQTPSSVSAAVGGTVTINCQASQNIYSNLAWYQQRPGQRPKLLIYGASNLDAGVPSRFRGSGSGTEYTLTISDLECDDVGTYYCQSAFDSDSTENTFGGGTEVVVKR(SEQ ID NO:1)。

[0254] 本发明任选地涉及利用单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法，其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列的嵌合抗体:ALVMTQTPSSVSAAVGGTVTINCQASQNIYSNLAWYQQRPGQRPKLLIYGASNLDAGVPSRFRGSGSGTEYTLTISDLECDDVGTYYCQSAFDSDSTENTFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:2)。

[0255] 本发明任选地涉及单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法，其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列的嵌合抗体：

[0256] QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYAMSWVRQAPGKGLEWIGVITSIGSTVYASWAKGRFTISKTSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARGYDDYDEMTYFNIWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:3)。

[0257] 本发明任选地涉及单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列的嵌合抗体:

[0258] QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYAMSWVRQAPGKGLEWIGVITSIGSTVYASWAKGRFTISKTSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARGYDDYDEMTYFNIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:4)。

[0259] 本发明任选地涉及单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包含对应于SEQ ID NO:1的可变轻链序列或SEQ ID NO:2的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:7的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:3的可变重链序列或SEQ ID NO:4的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0260] 本发明任选地涉及单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体是具有对于NGF的结合特异性的片段。在本发明的一个实施方案中,本发明的抗体包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:4的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0261] 在本发明的其它实施方案中,用于治疗或预防疼痛的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:1的可变轻链序列或SEQ ID NO:2的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:7的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0262] 本发明任选地涉及单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性的片段,其包含对应于SEQ ID NO:3的可变重链序列或SEQ ID NO:4的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0263] 本发明还任选地涉及包括本文中描述的抗体片段的一个或多个的抗体片段。在本发明的一个实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的一个、二个、三个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:1的可变轻链区、SEQ ID NO:3的可变重链区、SEQ ID NO:1的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:7)以及SEQ ID NO:3的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:8、SEQ

ID NO:9和SEQ ID NO:10)。

[0264] 在本发明的特别优选实施方案中,嵌合抗-NGF抗体是Ab1,其包含SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:4或可选择地由SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:4组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0265] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,本文中使用的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段或结合与Ab1所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab1而言,Fab片段包括SEQ ID NO:1的可变轻链序列和SEQ ID NO:3的可变重链序列。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:1和/或SEQ ID NO:3的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0266] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,Fab片段可通过Ab1的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab1或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0267] 抗体Ab2

[0268] 本发明任选地涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性的嵌合或人源化抗体,其中抗体是抗体Ab2或其片段,或结合与Ab2所结合的表位相同的或与之重叠的表位的抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个实施方案中,本发明包括具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列的嵌合或人源化抗体:DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYGASNLDAGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQSAFDSDSTENTFGGGTKVEIKR(SEQ ID NO:11)。

[0269] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列的嵌合或人源化抗体:DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYGASNLDAGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQSAFDSDSTENTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:12)。

[0270] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列的嵌合或人源化抗体:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGVITSIGSTVYASSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYDDYDEMTYFNIWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:13)。

[0271] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列的嵌合或人源化抗体:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGVITSIGSTVYASSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYDDYDEMTYFNIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLN

GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:14)。

[0272] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:11的可变轻链序列或SEQ ID NO:12的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:17的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:13的可变重链序列或SEQ ID NO:14的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0273] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,本发明的抗体包含SEQ ID NO:11或SEQ ID NO:12的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0274] 在本发明的其它实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段任选地包含对应于SEQ ID NO:11的可变轻链序列或SEQ ID NO:12的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:17的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0275] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段任选地包含对应于SEQ ID NO:13的可变重链序列或SEQ ID NO:14的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的多肽序列一个或多个,或可选择地由其组成。

[0276] 本发明还任选地涉及包括本文中描述的抗体片段的一个或多个的抗体片段。在本发明的一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:11的可变轻链区、SEQ ID NO:13的可变重链区、SEQ ID NO:11的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:17)和SEQ ID NO:13的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20)。

[0277] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗-NGF抗体是Ab2,其包含SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:14或可选择地由SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:14组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0278] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段或结合与Ab2所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab2而言,Fab片段包括SEQ ID NO:11的可变轻链序列和SEQ ID NO:13的可变重链序列。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:11和/或SEQ ID NO:13的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0279] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,Fab片段可通过Ab2的酶促

降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab2或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0280] 抗体Ab3

[0281] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合而未明显抑制NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性的嵌合或人源化抗体,其中抗体是Ab3或其片段,或结合与Ab3所结合的表位相同的或与之重叠的表位的抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个实施方案中,本发明包括具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列的嵌合抗体:AVLTQTPSPVSAAMGDTVTIKCQSSQSVYKNNYLSWYQQKPGQPPRLLIYDASNLPSGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCLGDYDDDADNAFGGGTEVVVKR(SEQ ID NO:21)。

[0282] 本发明还包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:AVLTQTPSPVSAAMGDTVTIKCQSSQSVYKNNYLSWYQQKPGQPPRLLIYDASNLPSGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCLGDYDDDADNAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:22)。

[0283] 本发明还包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYVMIWVRQAPGKGLEYIGITWSAGTYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKITSPTTEDTATYFCAGGGGSIYDIWGPGTLVTVSS(SEQ ID NO:23)。

[0284] 本发明还包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYVMIWVRQAPGKGLEYIGITWSAGTYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKITSPTTEDTATYFCAGGGGSIYDIWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:24)。

[0285] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:21的可变轻链序列或SEQ ID NO:22的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:27的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:23的可变重链序列或SEQ ID NO:24的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0286] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的具有对于NGF的结合特

异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中，本发明的抗体包含SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:22的多肽序列，或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:24的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0287] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:21的可变轻链序列或SEQ ID NO:22的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:27的多肽序列的一个或多个，或可选择地由其组成。

[0288] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:23的可变重链序列或SEQ ID NO:24的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30的多肽序列的一个或多个，或可选择地由其组成。

[0289] 本发明还任选地涉及包括本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的一个或多个的抗体片段。在本发明的一个实施方案中，具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成：SEQ ID NO:21的可变轻链区、SEQ ID NO:23的可变重链区、SEQ ID NO:21的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:27)和SEQ ID NO:23的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30)。

[0290] 在本发明的特别优选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗-NGF抗体是Ab3，其包含SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:24或可选择地由SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:24组成，并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0291] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中，用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段或结合与Ab3所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段，或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab3而言，Fab片段包括SEQ ID NO:21的可变轻链序列和SEQ ID NO:23的可变重链序列。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:21和/或SEQ ID NO:23的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0292] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中，Fab片段可通过Ab3的酶促降解(例如，木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中，抗-NGF抗体例如Ab3或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0293] 抗体Ab4

[0294] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合而未明显抑制NGF与p75的缔合的治疗有效量，单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法，其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性的嵌合或人源化抗体，其中抗体是抗体Ab4或其片段，或结合与Ab4所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个实施方案中，本发明包括用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的

可变轻链序列：

[0295] DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQSSQSVYKNNYLSWYQQKPGKAPKLLIYDASNLPSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCLGDYDDDADNAFGGGTKVEIKR(SEQ ID NO:31)。

[0296] 本发明还包括用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列：DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQSSQSVYKNNYLSWYQQKPGKAPKLLIYDASNLPSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCLGDYDDDADNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:32)。

[0297] 本发明还包括用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSYVMIWVRQAPGKGLEYIGITWSAGTYYASSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGGGSIYDIWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:33)。

[0298] 本发明还包括用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSYVMIWVRQAPGKGLEYIGITWSAGTYYASSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGGGSIYDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:34)。

[0299] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体，所述抗体包含对应于SEQ ID NO:31的可变轻链序列或SEQ ID NO:32的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36和SEQ ID NO:37的多肽序列的一个或多个，和/或对应于SEQ ID NO:33的可变重链序列或SEQ ID NO:34的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39和SEQ ID NO:40的多肽序列的一个或多个，或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中，本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部)，或可选择地由其组成。

[0300] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中，本发明的抗体包含SEQ ID NO:31或SEQ ID NO:32的多肽序列，或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:33或SEQ ID NO:34的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0301] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:31的可变轻链序列或SEQ ID NO:32的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36和SEQ ID NO:37的多肽序列的一个或多个，或可选择地由其组成。

[0302] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:33的可变重链序列或SEQ ID NO:

34的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39和SEQ ID NO:40的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0303] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:31的可变轻链区、SEQ ID NO:33的可变重链区、SEQ ID NO:31的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36和SEQ ID NO:37)和SEQ ID NO:33的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39和SEQ ID NO:40)。

[0304] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合和人源化抗-NGF抗体是Ab4,其包含SEQ ID NO:32和SEQ ID NO:34或可选择地由SEQ ID NO:32和SEQ ID NO:34组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0305] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段或结合与Ab14所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab4而言,Fab片段包括SEQ ID NO:31的可变轻链序列和SEQ ID NO:33的可变重链序列。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:31和/或SEQ ID NO:33的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0306] 在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab4的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab4或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0307] 抗体Ab5

[0308] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体任选地包括抗体Ab5或其片段,或结合与Ab5所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个实施方案中,本发明包括具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列的嵌合抗体:AYDMTQTPASVEVAVGGTVTIKCQASQSIYSNLAWYQQRPGQPPKLLIYDASTLESGVPSRFKGSGSGTEYTLTISGVECADAASYYCQQGFTVSDIDNAFGGGTEVVVKR(SEQ ID NO:41)。

[0309] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:AYDMTQTPASVEVAVGGTVTIKCQASQSIYSNLAWYQQRPGQPPKLLIYDASTLESGVPSRFKGSGSGTEYTLTISGVECADAASYYCQQGFTVSDIDNAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:42)。

[0310] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列:QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSNYAVGWVRQAPGKGLEWIGIIGRNGNTWYASWARGRFTISKTSTTVDLKITSPTSEDTATYFCARGYGRSVAYYVFNIWGPGTLVTVSS(SEQ ID NO:43)。

[0311] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSNYAVGWVRQAPGKGLEWIGIIGRNGNTWYASWARGRFTISKTSTTVDLKITSPTSEDTATYFCARGYGRSVAYYVFNIWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:44)。

[0312] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:41的可变轻链序列或SEQ ID NO:42的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46和SEQ ID NO:47的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:43的可变重链序列或SEQ ID NO:44的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49和SEQ ID NO:50的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体或其片段任选地包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0313] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,本发明的抗体包含SEQ ID NO:41或SEQ ID NO:42的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:43或SEQ ID NO:44的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0314] 在本发明的其它实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:41的可变轻链序列或SEQ ID NO:42的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46和SEQ ID NO:47的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0315] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:43的可变重链序列或SEQ ID NO:44的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49和SEQ ID NO:50的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0316] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:41的可变轻链区、SEQ ID NO:43的可变重链区、SEQ ID NO:41的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46和SEQ ID NO:47)和SEQ ID NO:43的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49和SEQ ID NO:50)。

[0317] 在本发明的特别优选实施方案中,任选地包括的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗-NGF抗体是Ab5,其包含SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:44或可选择地由SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:44组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0318] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,用于治疗或预防疾病和疼痛相关

病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段或结合与Ab5所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或抗体片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab5而言,Fab片段包括SEQ ID NO:41的可变轻链序列和SEQ ID NO:43的可变重链序列。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:41和/或SEQ ID NO:43的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0319] 在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab5的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab5或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0320] 抗体Ab6

[0321] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体任选地包括Ab6或其片段,或结合与Ab6所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个实施方案中,本发明包括具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列的嵌合或人源化抗体:DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQQGFTVSDIDNAFGGGTKVEIKR(SEQ ID NO:51)。

[0322] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQQGFTVSDIDNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:52)。

[0323] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKGLEWVGIIGRNGNTWYASSARGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYGRSVAYYVFNIWGPGTLVTVSS(SEQ ID NO:53)。

[0324] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKGLEWVGIIGRNGNTWYASSARGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYGRSVAYYVFNIWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:54)。

[0325] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:51的可变轻链序列或SEQ ID NO:52的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:53的可变重链序列或SEQ ID NO:54的重链序列的互补性决定

区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体或其片段任选地包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0326] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:51或SEQ ID NO:52的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:53或SEQ ID NO:54的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0327] 在本发明的其它实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:51的可变轻链序列或SEQ ID NO:52的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0328] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:53的可变重链序列或SEQ ID NO:54的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0329] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:51的可变轻链区、SEQ ID NO:53的可变重链区、SEQ ID NO:51的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57)和SEQ ID NO:53的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60)。

[0330] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗-NGF抗体是Ab6,其包含SEQ ID NO:52和SEQ ID NO:54或可选择地由SEQ ID NO:52和SEQ ID NO:54组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0331] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段或结合与Ab6所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab6而言,Fab片段包括SEQ ID NO:51的可变轻链序列和SEQ ID NO:53的可变重链序列。本发明的该任选实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:51和/或SEQ ID NO:53的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0332] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab6的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab6或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0333] 抗体Ab7

[0334] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或

与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法，其中抗体包括Ab7或其片段，或结合与Ab7所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个实施方案中，本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体，所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列：ADVVMTQTPASVSQPVGGTVTIKCQASEDIYNLLAWYQQKPGQPPKLLIYSASTLASGVPSRFKGSGSGTEYTLTISGLECADAATYYCQNNYLVTTYGVAFGGGTEVVVKR(SEQ ID NO:61)。

[0335] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体，所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列：ADVVMTQTPASVSQPVGGTVTIKCQASEDIYNLLAWYQQKPGQPPKLLIYSASTLASGVPSRFKGSGSGTEYTLTISGLECADAATYYCQNNYLVTTYGVAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:62)。

[0336] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体，所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列：QEQLKESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEYIGYIDTDTSAYYASWVKGRFTISRTSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARSYAAYGGYPATFDPWGPGTLVTVSS(SEQ ID NO:63)。

[0337] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体，所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列：QEQLKESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEYIGYIDTDTSAYYASWVKGRFTISRTSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARSYAAYGGYPATFDPWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:64)。

[0338] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体，所述抗体包含对应于SEQ ID NO:61的可变轻链序列或SEQ ID NO:62的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66和SEQ ID NO:67的多肽序列的一个或多个，和/或对应于SEQ ID NO:63的可变重链序列或SEQ ID NO:64的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69和SEQ ID NO:70的多肽序列的一个或多个，或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中，本发明的抗体或其片段任选地包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部)，或可选择地由其组成。

[0339] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:61或SEQ ID NO:62的多肽序列，或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:63或SEQ ID NO:64的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0340] 在本发明的其它实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:61的可变轻链序列或SEQ ID NO:62的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66和SEQ ID NO:

67的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0341] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:63的可变重链序列或SEQ ID NO:64的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69和SEQ ID NO:70的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0342] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:61的可变轻链区、SEQ ID NO:63的可变重链区、SEQ ID NO:61的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66和SEQ ID NO:67)和SEQ ID NO:63的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69和SEQ ID NO:70)。

[0343] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗-NGF抗体是Ab7,其包含SEQ ID NO:62和SEQ ID NO:64或可选择地由SEQ ID NO:62和SEQ ID NO:64组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0344] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段或结合与Ab7所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab7而言,Fab片段包括SEQ ID NO:61的可变轻链序列和SEQ ID NO:63的可变重链序列。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:61和/或SEQ ID NO:63的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0345] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab7的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab7或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0346] 抗体Ab8

[0347] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括Ab8或其片段,或结合与Ab8所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或片段(例如下文中所示的)。在一个实施方案中,本发明包括具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列的嵌合或人源化抗体:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASEDIYNLLAWYQQKPGKVPKLLIYSASTLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQNNYLVTTYGVAFGGGTKVEIKR(SEQ ID NO:71)。

[0348] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASEDIYNLLAWYQQKPGKVPKLLIYSASTLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQNNYLVTTYGVAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:72)。

[0349] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,

所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列:QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMIWVRQAPGKGLEYIGYIDTDTSAYYASSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARSYAAYGGYPATFDPWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:73)。

[0350] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMIWVRQAPGKGLEYIGYIDTDTSAYYASSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARSYAAYGGYPATFDPWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ IDNO:74)。

[0351] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:71的可变轻链序列或SEQ ID NO:72的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:77的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:73的可变重链序列或SEQ ID NO:74的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:80的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0352] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:71或SEQ ID NO:72的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:73或SEQ ID NO:74的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0353] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:71的可变轻链序列或SEQ ID NO:72的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:77的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0354] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:73的可变重链序列或SEQ ID NO:74的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:80的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0355] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:71的可变轻链区、SEQ ID NO:73的可变重链区、SEQ ID NO:71的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:77)和SEQ ID NO:73的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:80)。

[0356] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗-NGF抗体是Ab8,其包含SEQ ID NO:72和SEQ ID NO:74或可选择地由SEQ ID NO:72和SEQ ID NO:74组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0357] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab8而言,Fab片段包括SEQ ID NO:71的可变轻链序列和SEQ ID NO:73的可变重链序列或结合与Ab8所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:71和/或SEQ ID NO:73的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0358] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab8的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab8或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0359] 抗体Ab9

[0360] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括Ab9或其片段,或结合与Ab9所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个任选实施方案中,本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列:AYDMTQTPASVSAAVGGTVTIKCQASENIGSYLAWYQQKPGQPPELLIYRASTLASGVPSRFKGSGSGTQFTLTISGVECADAATYYCQQGYNSENLDNAFGGGTEVVVKR(SEQ ID NO:81)。

[0361] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:AYDMTQTPASVSAAVGGTVTIKCQASENIGSYLAWYQQKPGQPPELLIYRASTLASGVPSRFKGSGSGTQFTLTISGVECADAATYYCQQGYNSENLDNAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:82)。

[0362] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列:QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLSMYSMGWVRQAPGKGLEYIGWISYGGTAYYASWAKGRFTISKTSTTVELKITSPTIEDTATYFCARETPVNYYLDIWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:83)。

[0363] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLSMYSMGWVRQAPGKGLEYIGWISYGGTAYYASWAKGRFTISKTSTTVELKITSPTIEDTATYFCARETPVNYYLDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:84)。

[0364] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体，所述抗体包含对应于SEQ ID NO:81的可变轻链序列或SEQ ID NO:82的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87的多肽序列的一个或多个，和/或对应于SEQ ID NO:83的可变重链序列或SEQ ID NO:84的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90的多肽序列的一个或多个，或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个任选实施方案中，本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部)，或可选择地由其组成。

[0365] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:81或SEQ ID NO:82的多肽序列，或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:83或SEQ ID NO:84的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0366] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:81的可变轻链序列或SEQ ID NO:82的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87的多肽序列的一个或多个，或可选择地由其组成。

[0367] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:83的可变重链序列或SEQ ID NO:84的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90的多肽序列的一个或多个，或可选择地由其组成。

[0368] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段，其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中，具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成：SEQ ID NO:81的可变轻链区、SEQ ID NO:83的可变重链区、SEQ ID NO:81的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87)和SEQ ID NO:83的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90)。

[0369] 在本发明的特别优选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗-NGF抗体是Ab9，其包含SEQ ID NO:82和SEQ ID NO:84或可选择地由SEQ ID NO:82和SEQ ID NO:84组成，并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0370] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中，用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段，或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab9而言，Fab片段包括SEQ ID NO:81的可变轻链序列和SEQ ID NO:83的可变重链序列或结合与Ab9所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:81和/或SEQ ID NO:83的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0371] 在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab9的酶促降解(例如，木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个任选实施方案中，抗-NGF抗体例如Ab9或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK

293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0372] 抗体Ab10

[0373] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括Ab10或其片段,或结合与Ab10所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个任选实施方案中,本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列:AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASENIGSYLAWYQQKPGKVPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQGYNSENLDNAFGGGTKVEIKR(SEQ ID NO:91)。

[0374] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASENIGSYLAWYQQKPGKVPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQGYNSENLDNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:92)。

[0375] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列:QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSMYSMGWVRQAPGKGLEYIGWISYGGTAYYASSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARETPVNYYLDIWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:93)。

[0376] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSMYSMGWVRQAPGKGLEYIGWISYGGTAYYASSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARETPVNYYLDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:94)。

[0377] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:91的可变轻链序列或SEQ ID NO:92的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:93的可变重链序列或SEQ ID NO:94的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0378] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:91或SEQ ID NO:92的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案

中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:93或SEQ ID NO:94的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0379] 在本发明的其它实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:91的可变轻链序列或SEQ ID NO:92的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0380] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:93的可变重链序列或SEQ ID NO:94的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0381] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:91的可变轻链区、SEQ ID NO:93的可变重链区、SEQ ID NO:91的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97)和SEQ ID NO:93的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100)。

[0382] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗-NGF抗体是Ab10,其包含SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:94或可选择地由SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:94组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0383] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab10而言,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段包括SEQ ID NO:91的可变轻链序列和SEQ ID NO:93的可变重链序列或结合与Ab10所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:91和/或SEQ ID NO:93的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0384] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab10的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab10或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0385] 抗体Ab11

[0386] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括Ab11或其片段,或结合与Ab11所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个任选实施方案中,本发明包括具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列的嵌合抗体:AFELTQTPSSVEAAVGGTVTIKCQASQNIVTNLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISDLECADAATYFCQ

SYDGFNSAGFGGGTEVVVKR(SEQ ID NO:101)。

[0387] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:AFELTQTPSSVEAAVGGTVTIKCQASQNIVTNLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISDLECADAATYFCQSYDGFNSAGFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:102)。

[0388] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列:QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSGYDMSWVRQAPGKGLEYIGLISYDGNTYYATWAKGRFTISKTSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARSLYAGPNAGIGPFNIWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:103)。

[0389] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,所述抗体具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSGYDMSWVRQAPGKGLEYIGLISYDGNTYYATWAKGRFTISKTSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARSLYAGPNAGIGPFNIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:104)。

[0390] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:101的可变轻链序列或SEQ ID NO:102的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:107的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:103的可变重链序列或SEQ ID NO:104的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:109和SEQ ID NO:110的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体或其片段任选地包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0391] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:101或SEQ ID NO:102的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:103或SEQ ID NO:104的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0392] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:101的可变轻链序列或SEQ ID NO:102的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:107的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0393] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:103的可变重链序列或SEQ ID NO:104的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:109和SEQ ID NO:110的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0394] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段，其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中，具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成：SEQ ID NO:101的可变轻链区、SEQ ID NO:103的可变重链区、SEQ ID NO:101的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:107)和SEQ ID NO:103的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:109和SEQ ID NO:110)。

[0395] 在本发明的特别优选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗-NGF抗体是Ab11，其包含SEQ ID NO:102和SEQ ID NO:104或可选择地由SEQ ID NO:102和SEQ ID NO:104组成，并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0396] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中，用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段，或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab11而言，Fab片段包括SEQ ID NO:101的可变轻链序列和SEQ ID NO:103的可变重链序列或包括结合与Ab11所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:101和/或SEQ ID NO:103的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0397] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab11的酶促降解(例如，木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个任选实施方案中，抗-NGF抗体例如Ab11或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0398] 抗体Ab12

[0399] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量，单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法，其中抗体包括Ab12或其片段，或结合与Ab12所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个任选实施方案中，本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列：AFQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQNIVTNLAWYQQKPGKVPKLLIYGASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQSYDGFNSAGFGGGTKVEIKR(SEQ ID NO:111)。

[0400] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列：AFQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQNIVTNLAWYQQKPGKVPKLLIYGASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQSYDGFNSAGFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:112)。

[0401] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列：QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSLSGYDMSWVRQAPGKGLEWVGLISYDGNTYYATSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARSLYAGPNAGIGPFNIWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:113)。

[0402] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSLSGYDMSWVRQAPGKGLEWVGLISYDGNTYYATSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARSLYAGPNAGIGPFNIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:114)。

[0403] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体，所述抗体包含对应于SEQ ID NO:111的可变轻链序列或SEQ ID NO:112的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117的多肽序列的一个或多个，和/或对应于SEQ ID NO:113的可变重链序列或SEQ ID NO:114的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120的多肽序列的一个或多个，或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个任选实施方案中，本发明的抗体或其片段任选地包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部)，或可选择地由其组成。

[0404] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:111或SEQ ID NO:112的多肽序列，或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:113或SEQ ID NO:114的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0405] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:111的可变轻链序列或SEQ ID NO:112的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117的多肽序列的一个或多个，或可选择地由其组成。

[0406] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:113的可变重链序列或SEQ ID NO:114的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120的多肽序列的一个或多个，或可选择地由其组成。

[0407] 本发明还任选地涉及包括本文中描述的抗体片段的一个或多个的抗体片段。在本发明的一个任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:111的可变轻链区、SEQ ID NO:113的可变重链区、SEQ ID NO:111的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117)和SEQ ID NO:113的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120)。

[0408] 在本发明的特别优选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗-NGF抗体是Ab12，其包含SEQ ID NO:112和SEQ ID NO:114或可选择地由SEQ ID NO:112和SEQ ID NO:114组成，并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0409] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中，用于治疗或预防疾病和疼痛相关

病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab12而言,Fab片段包括SEQ ID NO:111的可变轻链序列和SEQ ID NO:113的可变重链序列或包括结合与Ab12所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段。本发明的该任选实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:111和/或SEQ ID NO:113的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0410] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab12的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗-NGF抗体例如Ab12或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0411] 抗体Ab13

[0412] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括Ab13或其片段,或结合与Ab13所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个实施方案中,本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列:AAVLTQTPSPVSAAVGGTVSISCQSSQNVYKNNYLSWYQQKPGQPPKLLIYKASTLASGVPSRFKGGGSGTDFTLTISDVQCDAAATYYCAGGYTSSSDNAFGGGTEVVVKR(SEQ ID NO:121)。

[0413] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:AAVLTQTPSPVSAAVGGTVSISCQSSQNVYKNNYLSWYQQKPGQPPKLLIYKASTLASGVPSRFKGGGSGTDFTLTISDVQCDAAATYYCAGGYTSSSDNAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:122)。

[0414] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列:QSVEASGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSTYWMSWVRQAPGKGLEWIGDIYFSNEETNYASWAKGRFTISKTSTTVDLNVISPTTEDTATYFCARGSPDVDIGIDMWGPGTLVTVSS(SEQ ID NO:123)。

[0415] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:QSVEASGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSTYWMSWVRQAPGKGLEWIGDIYFSNEETNYASWAKGRFTISKTSTTVDLNVISPTTEDTATYFCARGSPDVDIGIDMWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:124)。

[0416] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:121的可变轻链序列或SEQ ID NO:122的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126和SEQ ID NO:127的多肽序列的一个或

多个,和/或对应于SEQ ID NO:123的可变重链序列或SEQ ID NO:124的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:129和SEQ ID NO:130的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0417] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:121或SEQ ID NO:122的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:123或SEQ ID NO:124的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0418] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:121的可变轻链序列或SEQ ID NO:122的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126和SEQ ID NO:127的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0419] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:123的可变重链序列或SEQ ID NO:124的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:129和SEQ ID NO:130的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0420] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:121的可变轻链区、SEQ ID NO:123的可变重链区、SEQ ID NO:121的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126和SEQ ID NO:127)和SEQ ID NO:123的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:129和SEQ ID NO:130)。

[0421] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗-NGF抗体是Ab13,其包含SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:124或可选择地由SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:124组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0422] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab13而言,Fab片段包括SEQ ID NO:121的可变轻链序列和SEQ ID NO:123的可变重链序列,或包括结合与Ab13所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段。本发明的该任选实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:121和/或SEQ ID NO:123的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0423] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab13的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab13或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0424] 抗体Ab14

[0425] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量，单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法，其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性的嵌合抗体，其中抗体为Ab14或其片段，或结合与Ab14所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个任选实施方案中，本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列：DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSQNVYKNNYLSWYQQKPGKVPKLLIYKASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCAGGYTSSSDNAFGGGTKVEIKR(SEQ ID NO:131)。

[0426] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列：DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSQNVYKNNYLSWYQQKPGKVPKLLIYKASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCAGGYTSSSDNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:132)。

[0427] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSTYWMSWVRQAPGKGLEWVGDIYFSNEETNYASSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSPDVDIGIDMWGPGTLVTVSS(SEQ ID NO:133)。

[0428] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSTYWMSWVRQAPGKGLEWVGDIYFSNEETNYASSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSPDVDIGIDMWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:134)。

[0429] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体，所述抗体包含对应于SEQ ID NO:131的可变轻链序列或SEQ ID NO:132的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136和SEQ ID NO:137的多肽序列的一个或多个，和/或对应于SEQ ID NO:133的可变重链序列或SEQ ID NO:134的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:138、SEQ ID NO:139和SEQ ID NO:140的多肽序列的一个或多个，或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个任选实施方案中，本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部)，或可选择地由其组成。

[0430] 本发明还任选地涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:131或SEQ ID NO:132的多肽序列，或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:133或SEQ ID NO:134的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0431] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对

于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:131的可变轻链序列或SEQ ID NO:132的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136和SEQ ID NO:137的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0432] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:133的可变重链序列或SEQ ID NO:134的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:138、SEQ ID NO:139和SEQ ID NO:140的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0433] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:131的可变轻链区、SEQ ID NO:133的可变重链区、SEQ ID NO:131的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136和SEQ ID NO:137)和SEQ ID NO:133的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:138、SEQ ID NO:139和SEQ ID NO:140)。

[0434] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗-NGF抗体是Ab14,其包含SEQ ID NO:132和SEQ ID NO:134或可选择地由SEQ ID NO:132和SEQ ID NO:134组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0435] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab14而言,Fab片段包括SEQ ID NO:131的可变轻链序列和SEQ ID NO:133的可变重链序列,或结合与Ab14所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:131和/或SEQ ID NO:133的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0436] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab14的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗-NGF抗体例如Ab14或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0437] 抗体Ab15

[0438] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合而不显著地抑制NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性的嵌合抗体,其中抗体为Ab15或其片段(例如下文中所示的),或包括结合与Ab15所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段。在一个实施方案中,本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列:AAVLTQTPSPVSAAVGDTVTIKCQSSQSVYKNNYLSWYQQKPGQPPKLLIYDASNLPSGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCLGDYDDDTDNGFGGGTEVVVKR(SEQ ID NO:141)。

[0439] 本发明还包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:AAVLTQTPSPVSAAVGDTVTIKCQSSQ

SVYKNNYLSWYQQKPGQPPKLLIYDASNLPSGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCLGDYDDDTDNGFG GGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:142)。

[0440] 本发明还包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列:QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTV SGIDLSSYAMIWVRQAPGKGLEYIGIIWSGGTYYATWAKGRFTISKTSTTVDLQITSPTTEDAATYFCAAGGGSIY DVWGPGTLVTVSS(SEQ ID NO:143)。

[0441] 本发明还包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGID LSSYAMIWVRQAPGKGLEYIGIIWSGGTYYATWAKGRFTISKTSTTVDLQITSPTTEDAATYFCAAGGGSIYDVWG PGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:144)。

[0442] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:141的可变轻链序列或SEQ ID NO:142的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146和SEQ ID NO:147的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:143的可变重链序列或SEQ ID NO:144的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:149和SEQ ID NO:150的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0443] 本发明还涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:141或SEQ ID NO:142的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:143或SEQ ID NO:144的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0444] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:141的可变轻链序列或SEQ ID NO:142的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146和SEQ ID NO:147的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0445] 在本发明的其它实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:143的可变重链序列或SEQ ID NO:144的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:149和SEQ ID NO:150的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0446] 本发明还涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更

多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:141的可变轻链区、SEQ ID NO:143的可变重链区、SEQ ID NO:141的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146和SEQ ID NO:147)和SEQ ID NO:143的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:149和SEQ ID NO:150)。

[0447] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗-NGF抗体是Ab15,其包含SEQ ID NO:142和SEQ ID NO:144或可选择地由SEQ ID NO:142和SEQ ID NO:144组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0448] 在本发明的其它特别优选实施方案中,用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab15而言,Fab片段包括SEQ ID NO:141的可变轻链序列和SEQ ID NO:143的可变重链序列,或包括结合与Ab15所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:141和/或SEQ ID NO:143的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0449] 在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab15的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗-NGF抗体例如Ab15或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0450] 抗体Ab16

[0451] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合而不显著地抑制NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性的嵌合抗体,其中抗体为Ab16或其片段(例如下文中所示的),或包括结合与Ab16所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段。在一个实施方案中,本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列:ALVMTQTPSSTSEPVGGTVTINCQASQNIGNDLSWYQQKPGQPPELLIYSTSKLATGVPKRFSGSRSGTQFTLTISDLECDDAATYYCLGVYSYISDDGNAFGGGTEVVVKR(SEQ ID NO:151)。

[0452] 本发明还包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:ALVMTQTPSSTSEPVGGTVTINCQASQNIGNDLSWYQQKPGQPPELLIYSTSKLATGVPKRFSGSRSGTQFTLTISDLECDDAATYYCLGVYSYISDDGNAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:152)。

[0453] 本发明还包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链链序列:QSVEEFGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLNNYAMTWVRQAPGKGLEWIGIIGSIGTTYYASWAKGRFFISKTSTTVDLKIISPTTEDTATYFCARDAGVTVDGYGYYFNIWGPGTLVTVSS(SEQ ID NO:153)。

[0454] 本发明还包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链链序列:QSVEEFGGRLVTPGTPLT

LTCTVSGFSLNNYAMTWVRQAPGKGLEWIGIIGSIGTTYYASWAKGRFFISKTSTTVDLKIISPTTEDTATYFCAR
DAGVTVDGYGYYFNIWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:154)。

[0455] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:151的可变轻链序列或SEQ ID NO:152的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:156和SEQ ID NO:157的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:153的可变重链序列或SEQ ID NO:154的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:158、SEQ ID NO:159和SEQ ID NO:160的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0456] 本发明还涉及用于治疗疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:151或SEQ ID NO:152的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:153或SEQ ID NO:154的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0457] 在本发明的其它实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:151的可变轻链序列或SEQ ID NO:152的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:156和SEQ ID NO:157的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0458] 在本发明的其它实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:153的可变重链序列或SEQ ID NO:154的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:158、SEQ ID NO:159和SEQ ID NO:160的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0459] 本发明还涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:151的可变轻链区、SEQ ID NO:153的可变重链区、SEQ ID NO:151的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:156和SEQ ID NO:157)和SEQ ID NO:153的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:158、SEQ ID NO:159和SEQ ID NO:160)。

[0460] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗-NGF抗体是Ab16,其包含SEQ ID NO:152和SEQ ID NO:154或可选择地由SEQ ID NO:152和SEQ ID NO:154组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0461] 在本发明的其它特别优选实施方案中,用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab16而言,Fab片段包括SEQ ID NO:151的可变轻链序列和SEQ ID NO:153的可

变重链序列,或包括结合与Ab16所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或另一种双价或单价抗体片段。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:151和/或SEQ ID NO:153的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0462] 在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab16的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗-NGF抗体例如Ab16或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0463] 抗体Ab17

[0464] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性的嵌合抗体,其中抗体为Ab17或其片段(例如下文中所示的),或包括结合与Ab17所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段。在一个实施方案中,本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列:AIEMTQTPFSVSAAVGGTVTIKCQASQTISNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASNLESGVPSRFKGSGSGTQFTLTISDLECDDAATYYCQQGYTISNVDNNVFGGGTEVVVKR(SEQ ID NO:161)。

[0465] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:AIEMTQTPFSVSAAVGGTVTIKCQASQTISNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASNLESGVPSRFKGSGSGTQFTLTISDLECDDAATYYCQQGYTISNVDNNVFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:162)。

[0466] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列:QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCAASGFSLTGYNLVWVRQAPGKGLEWIGFISYGDTTYYASWAKGRFTISKTSTTVTLTITDLQPSDTGTYFCARETANTYDYGIWGPGTLVTVSS(SEQ ID NO:163)。

[0467] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCAASGFSLTGYNLVWVRQAPGKGLEWIGFISYGDTTYYASWAKGRFTISKTSTTVTLTITDLQPSDTGTYFCARETANTYDYGIWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:164)。

[0468] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:161的可变轻链序列或SEQ ID NO:162的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:165、SEQ ID NO:166和SEQ ID NO:167的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:163的可变重链序列或SEQ ID NO:164的重链序列的互补性

决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:169和SEQ ID NO:170的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0469] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:161或SEQ ID NO:162的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:163或SEQ ID NO:164的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0470] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:161的可变轻链序列或SEQ ID NO:162的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:165、SEQ ID NO:166和SEQ ID NO:167的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0471] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:163的可变重链序列或SEQ ID NO:164的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:169和SEQ ID NO:170的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0472] 本发明还涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:161的可变轻链区、SEQ ID NO:163的可变重链区、SEQ ID NO:161的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:165、SEQ ID NO:166和SEQ ID NO:167)和SEQ ID NO:163的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:169和SEQ ID NO:170)。

[0473] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗-NGF抗体是Ab17,其包含SEQ ID NO:162和SEQ ID NO:164或可选择地由SEQ ID NO:162和SEQ ID NO:164组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0474] 在本发明的其它特别地优选的任选实施方案中,用于治疗或预防疾病和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab17而言,Fab片段包括SEQ ID NO:161的可变轻链序列和SEQ ID NO:163的可变重链序列,或包括结合与Ab15所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价或双价抗体片段。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:161和/或SEQ ID NO:163的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0475] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab17的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab17或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0476] 抗体Ab18

[0477] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量，单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法，其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性的嵌合抗体，其中抗体为Ab18或其片段(例如下文中所示的)，或包括结合与Ab18所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段。在一个实施方案中，本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列：DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQTISNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQGYTISNVDNNVFGGGTKVEIKR(SEQ ID NO:171)。

[0478] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列：DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQTISNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQGYTISNVDNNVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:172)。

[0479] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSGYNLVWVRQAPGKGLEWVGFISYGDTTYYASSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARETANTYDYGIWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:173)。

[0480] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSGYNLVWVRQAPGKGLEWVGFISYGDTTYYASSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARETANTYDYGIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:174)。

[0481] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体，所述抗体包含对应于SEQ ID NO:171的可变轻链序列或SEQ ID NO:172的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:176和SEQ ID NO:177的多肽序列的一个或多个，和/或对应于SEQ ID NO:173的可变重链序列或SEQ ID NO:174的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:179和SEQ ID NO:180的多肽序列的一个或多个，或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部)，或可选择地由其组成。

[0482] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:171或SEQ ID NO:172的多肽序列，或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个任选实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:173或SEQ ID NO:174的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0483] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对

于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:171的可变轻链序列或SEQ ID NO:172的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:176和SEQ ID NO:177的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0484] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:173的可变重链序列或SEQ ID NO:174的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:179和SEQ ID NO:180的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0485] 本发明还涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:171的可变轻链区、SEQ ID NO:173的可变重链区、SEQ ID NO:171的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:176和SEQ ID NO:177)和SEQ ID NO:173的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:179和SEQ ID NO:180)。

[0486] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗-NGF抗体是Ab18,其包含SEQ ID NO:172和SEQ ID NO:174或可选择地由SEQ ID NO:172和SEQ ID NO:174组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0487] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab18而言,Fab片段包括SEQ ID NO:171的可变轻链序列和SEQ ID NO:173的可变重链序列,或包括结合与Ab18所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或抗体片段。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:171和/或SEQ ID NO:173的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0488] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab18的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab18或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0489] 抗体Ab19

[0490] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性的嵌合抗体,其中抗体为Ab19或其片段(例如下文中所示的),或包括结合与Ab19所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段。在一个实施方案中,本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列:AAVLTQTPSPVSAAVGGTVSISCQSSQNVYKNNYLSWYQQKPGQPPKLLIYKASTLASGVPSRFKGSGSGTDFTLTISDVQCDAAATYYCAGGYSSSSDNAFGGGTEVVVKR(SEQ ID NO:181)。

[0491] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:AAVLTQTPSPVSAAVGGTVSIS

CQSSQNVYKNNYLSWYQQKPGQPPKLLIYKASTLASGVPSRFKGSGSGTDFTLTISDVQCDAAATYYCAGGYSSSSDNAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:182)。

[0492] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列:QSVEASGGRLVMPGGSLTLTCTASGFSLSTYWMSWVRQAPGKGLEWIGDIYFSNEETNYATWAKGRFTISKTSTTVDLNVISPTTEDTATYFCARGSPDVEIAIDMWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:183)。

[0493] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:QSVEASGGRLVMPGGSLTLTCTASGFSLSTYWMSWVRQAPGKGLEWIGDIYFSNEETNYATWAKGRFTISKTSTTVDLNVISPTTEDTATYFCARGSPDVEIAIDMWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:184)。

[0494] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:181的可变轻链序列或SEQ ID NO:182的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:185、SEQ ID NO:186和SEQ ID NO:187的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:183的可变重链序列或SEQ ID NO:184的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:189和SEQ ID NO:190的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0495] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:181或SEQ ID NO:182的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:183或SEQ ID NO:184的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0496] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:181的可变轻链序列或SEQ ID NO:182的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:185、SEQ ID NO:186和SEQ ID NO:187的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0497] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:183的可变重链序列或SEQ ID NO:184的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:189和SEQ ID NO:190的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0498] 本发明还涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个任选实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组

成:SEQ ID NO:181的可变轻链区、SEQ ID NO:183的可变重链区、SEQ ID NO:181的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:185、SEQ ID NO:186和SEQ ID NO:187)和SEQ ID NO:183的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:189和SEQ ID NO:190)。

[0499] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合抗-NGF抗体是Ab19,其包含SEQ ID NO:182和SEQ ID NO:184或可选择地由SEQ ID NO:182和SEQ ID NO:184组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0500] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab19而言,Fab片段包括SEQ ID NO:181的可变轻链序列和SEQ ID NO:183的可变重链序列,或包括结合与Ab19所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或抗体片段。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:181和/或SEQ ID NO:183的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0501] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab19的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab19或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0502] 抗体Ab20

[0503] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性的嵌合抗体,其中抗体为Ab20或其片段(例如下文中所示的),或包括结合与Ab20所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段。在一个实施方案中,本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSQNVYKNNYLSWYQQKPGKVPKLLIYKASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCAGGYTSSSDNAFGGGTKVEIKR(SEQ ID NO:191)。

[0504] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSQNVYKNNYLSWYQQKPGKVPKLLIYKASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCAGGYTSSSDNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:192)。

[0505] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSTYWMSWVRQAPGKGLEWVGDIYFSNEETNYATSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSPDVEIAIDMWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:193)。

[0506] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSTYWMSWVRQAPGKGLEWVGDIYFSNEETNYATSAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSPDVEIAIDMWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL

TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:194)。

[0507] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:191的可变轻链序列或SEQ ID NO:192的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:195、SEQ ID NO:196和SEQ ID NO:197的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:193的可变重链序列或SEQ ID NO:194的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:199和SEQ ID NO:200的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部),或可选择地由其组成。

[0508] 本发明还任选地涉及具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:191或SEQ ID NO:192的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:193或SEQ ID NO:194的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0509] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:191的可变轻链序列或SEQ ID NO:192的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:195、SEQ ID NO:196和SEQ ID NO:197的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0510] 在本发明的其它任选实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:193的可变重链序列或SEQ ID NO:194的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:199和SEQ ID NO:200的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0511] 本发明还涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:191的可变轻链区、SEQ ID NO:193的可变重链区、SEQ ID NO:191的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:195、SEQ ID NO:196和SEQ ID NO:197)和SEQ ID NO:193的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:199和SEQ ID NO:200)。

[0512] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗-NGF抗体是Ab20,其包含SEQ ID NO:192和SEQ ID NO:194或可选择地由SEQ ID NO:192和SEQ ID NO:194组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0513] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab20而言,Fab片段包括SEQ ID NO:191的可变轻链序列和SEQ ID NO:193的可变重链序列。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:191和/或SEQ ID NO:193的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0514] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab20的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗-NGF抗体例如Ab20或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0515] 抗体Ab21

[0516] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,单独地或与另一种活性剂例如NSAID或阿片类镇痛药结合地治疗疼痛和特定疼痛相关障碍的方法,其中抗体包括具有对于NGF的结合特异性的嵌合抗体,其中抗体为Ab21或其片段,或结合与Ab5所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种抗体或抗体片段(例如下文中所示的)。在一个实施方案中,本发明包括具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变轻链序列的嵌合或人源化抗体:DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQQGFTVSDIDNAFGGGTKVEIKR(SEQ ID NO:51)。

[0517] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列:DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQQGFTVSDIDNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:401)。

[0518] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的可变重链序列:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKGLEWVGIIGRNGNTWYASSARGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYGRSVAYYVFNIWGPGTLVTVSS(SEQ ID NO:53)。

[0519] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗体,其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKGLEWVGIIGRNGNTWYASSARGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYGRSVAYYVFNIWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:402)。

[0520] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体,所述抗体包含对应于SEQ ID NO:51的可变轻链序列或SEQ ID NO:401的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57的多肽序列的一个或多个,和/或对应于SEQ ID NO:53的可变重链序列或SEQ ID NO:402的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60的多肽序列的一个或多个,或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中,本发明的抗体或其片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包

括它们全部),或可选择地由其组成。

[0521] 本发明还任选地涉及具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:51或SEQ ID NO:401的多肽序列,或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:53或SEQ ID NO:402的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0522] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:51的可变轻链序列或SEQ ID NO:401的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0523] 在本发明的其它任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:53的可变重链序列或SEQ ID NO:402的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60的多肽序列的一个或多个,或可选择地由其组成。

[0524] 本发明还涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段,其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中,具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:51的可变轻链区、SEQ ID NO:53的可变重链区、SEQ ID NO:51的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57)和SEQ ID NO:53的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60)。

[0525] 在本发明的特别优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗-NGF抗体是Ab21,其包含SEQ ID NO:401和SEQ ID NO:402或可选择地由SEQ ID NO:401和SEQ ID NO:402组成,并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0526] 在本发明的其它特别地任选的优选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段包含具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段,或可选择地由所述片段组成。就抗体Ab21而言,Fab片段包括SEQ ID NO:51的可变轻链序列和SEQ ID NO:53的可变重链序列或结合与Ab5所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或单价抗体片段。本发明的该实施方案还涉及所述Fab中的SEQ ID NO:51和/或SEQ ID NO:53的添加、缺失和变体(同时保持对于NGF的结合特异性)。

[0527] 在本文(下文)中描述的本发明的一个任选实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过Ab21的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗-NGF抗体例如Ab21或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0528] 抗体片段Fab1

[0529] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量,使用抗体片段Fab1或其片段(例如下文中所示的)治疗疼痛的方法。在一个实施方案中,本发明任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab抗体片段,其具有对于NGF的结合特异性

并且具有包含下文中所示序列的轻链序列：

[0530] DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQQGFTVSDIDNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:405)。

[0531] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab抗体片段，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKGLEWVGIIGRNGNTWYASSARGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYGRSVAYYVFNIWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTH(SEQ ID NO:406)。

[0532] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体片段，所述抗体片段包含对应于SEQ ID NO:51的可变轻链序列或SEQ ID NO:405的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57的多肽序列的一个或多个，和/或对应于SEQ ID NO:53的可变重链序列或SEQ ID NO:406的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60的多肽序列的一个或多个，或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部)，或可选择地由其组成。

[0533] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:51或SEQ ID NO:405的多肽序列，或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个任选实施方案中，本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:53或SEQ ID NO:406的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0534] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含对应于SEQ ID NO:51的可变轻链序列或SEQ ID NO:405的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57的多肽序列的一个或多个，或可选择地由其组成。

[0535] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段包含对应于SEQ ID NO:53的可变重链序列或SEQ ID NO:406的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60的多肽序列的一个或多个，或可选择地由其组成。

[0536] 本发明还涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段，其包括本文中描述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中，具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成:SEQ ID NO:51的可变轻链区、SEQ ID NO:53的可变重链区、SEQ ID NO:51的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57)和SEQ ID NO:53的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60)。

[0537] 在本发明的特别优选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的嵌合或人源化抗-NGF抗体是Fab1，其包含SEQ ID NO:405和SEQ ID NO:406，或结合与Fab1所结合

的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或抗体片段，并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。在本发明的一个实施方案中，抗体片段Fab1可通过Ab21的酶促降解(例如，木瓜蛋白酶)产生。

[0538] 抗体片段Fab2

[0539] 本发明涉及以抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合的治疗有效量，使用抗体片段Fab2或其片段(例如下文中所示的)治疗疼痛的方法。在一个实施方案中，本发明包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab抗体片段，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的轻链序列的：DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQQGFTVSDIDNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:407)。

[0540] 本发明还任选地包括用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab抗体片段，其具有对于NGF的结合特异性并且具有包含下文中所示序列的重链序列的：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKGLEWVGIIGRNGNTWYASSARGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYGRSVAYYVFNIWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTH(SEQ ID NO:408)。

[0541] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和特定疼痛相关病况的抗体片段，所述抗体片段包含对应于SEQ ID NO:51的可变轻链序列或SEQ ID NO:407的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57的多肽序列的一个或多个，和/或对应于SEQ ID NO:53的可变重链序列或SEQ ID NO:408的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60的多肽序列的一个或多个，或这些多肽序列的组合。在本发明的另一个实施方案中，本发明的抗体片段包含CDR、可变重链和可变轻链序列以及上文中所示的重链和轻链序列的一个或多个的组合(包括它们全部)，或可选择地由其组成。

[0542] 本发明还任选地涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段。在本发明的一个实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:51或SEQ ID NO:407的多肽序列，或可选择地由所述多肽序列组成。在本发明的另一个实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的本发明的抗体片段包含SEQ ID NO:53或SEQ ID NO:408的多肽序列或可选择地由所述多肽序列组成。

[0543] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段包含对应于SEQ ID NO:51的可变轻链序列或SEQ ID NO:407的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57的多肽序列的一个或多个，或可选择地由其组成。

[0544] 在本发明的其它任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段包含对应于SEQ ID NO:53的可变重链序列或SEQ ID NO:408的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60的多肽序列的一个或多个，或可选择地由其组成。

[0545] 本发明还涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段，其包括本文中描

述的抗体片段的一个或多个。在本发明的一个实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体的片段包含下列抗体片段的1个、2个、3个或更多个(包括全部)或可选择地由其组成：SEQ ID NO:51的可变轻链区、SEQ ID NO:53的可变重链区、SEQ ID NO:51的可变轻链区的互补性决定区(SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57)和SEQ ID NO:53的可变重链区的互补性决定区(SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60)。

[0546] 在本发明的特别优选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗-NGF抗体是Fab2，其包含SEQ ID NO:407和SEQ ID NO:408，或结合与Fab2所结合的表位相同的或与之重叠的表位的另一种Fab或抗体片段，并且具有本文中所示的生物活性的至少一种。

[0547] 在本文(下文)中描述的本发明的另一个任选实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本发明的一个实施方案中，抗体片段Fab2可通过使用在本文中在实施例中所示的方案在巴斯德毕赤酵母中表达来实现。

[0548] 在另一个任选实施方案中，抗体片段可以以下列非限定形式的一个或多个形式存在：Fab、Fab'、$F(ab')_2$、Fv和单链Fv抗体形式。在优选实施方案中，本文中所述的抗-NGF抗体还包含含有下文中所示序列的κ恒定轻链序列：

[0549] VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:412)。

[0550] 在另一个优选的任选实施方案中，本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗-NGF抗体还包含含有下文中所示序列的γ-1恒定重链多肽序列：

[0551] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:413)。

[0552] 在另一个任选实施方案中，本发明涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的分离抗-NGF抗体，其包含选自如下序列的V_H多肽序列：SEQ ID NO:3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、133、143、153、163、173、183、193或402或其变体，并且还包含选自如下序列的V_L多肽序列：SEQ ID NO:1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171、181、191或401或其变体，其中所述V_H或V_L多肽中的框架残基(FR残基)的一个或多个已被另一个氨基酸残基置换，从而导致特异性结合NGF的抗-NGF抗体。本发明涉及用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的这些抗体的人源化和嵌合形式。嵌合抗体包括来源于IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgG5、IgG6、IgG7、IgG8、IgG9、IgG10、IgG11、IgG12、IgG13、IgG14、IgG15、IgG16、IgG17、IgG18或IgG19恒定区的Fc。

[0553] 在本发明的一个实施方案中，在本文中提及的人源化过程开始之前，抗体或V_H或V_L多肽源自或选自一个或多个兔B细胞群体。

[0554] 在本发明的另一个实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗-NGF抗

体及其片段不具有对于p75或TrkA的结合特异性。在本发明的其它实施方案中，涉及了用于治疗疼痛的方法，包括使用抗-NGF抗体及其片段抑制NGF与p75和/或TrkA缔合。在本发明的另一个实施方案中，涉及用于治疗疼痛的方法，包括使用抗-NGF抗体及其片段抑制NGF与TrkA和/或其多聚体的缔合和/或拮抗其生物学作用。在本发明的另一个实施方案中，涉及用于使用治疗疼痛的方法，包括使用抗-NGF抗体及其片段抑制NGF与p75和/或其多聚体的缔合以及NGF与TrkA和/或其多聚体的缔合，和拮抗p75和TrkA的生物学作用。

[0555] 如上文中所提及的，可对抗体和其部分进行翻译后修饰以添加效应物部分例如化学接头、可检测部分例如荧光染料、酶、底物、生物发光物质、放射性物质和化学发光部分或功能性部分例如链霉抗生物素蛋白、抗生物素蛋白、生物素、细胞毒素、细胞毒性剂和放射性物质。

[0556] 关于可检测的部分，其它示例性酶包括但不限于辣根过氧化物酶、乙酰胆碱酯酶、碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶和萤光素酶。其它示例性荧光物质包括但不限于罗丹明、荧光素、异硫氰酸荧光素、伞形花内酯、二氯三嗪胺、藻红蛋白和丹磺酰氯。其它示例性化学发光部分包括但不限于鲁米诺。其它示例性生物发光物质包括但不限于萤光素和水母荧光蛋白。其它示例性放射性物质包括但不限于碘125(^{125}I)、碳14(^{14}C)、硫35(^{35}S)、氚(^{3}H)和磷32(^{32}P)。

[0557] 关于功能性部分，示例性细胞毒性剂包括但不限于甲氨蝶呤、氨基蝶呤、6-巯嘌呤、6-巯鸟嘌呤、阿糖胞苷、5-氟脲嘧啶达卡巴嗪；烷化剂例如氮芥、硫喷妥苯丁酸氮芥(thioepa chlorambucil)、美法仑、卡莫司汀(BSNU)、丝裂霉素C、SimSun;(CCNU)、1-甲基亚硝脲、环磷酰胺、氮芥、白消安、二溴甘露醇、链脲霉素、丝裂霉素C、顺二氯二氨基铂(cis-dichlorodiamine platinum)(II)(DDP)顺铂和顺铂(伯尔定)；蒽环类，包括柔红霉素(先前称为道诺霉素)、多柔比星、地托比星、洋红霉素、伊达比星、表柔比星、米托蒽醌和比生群；抗生素类，包括更生霉素(放线菌素D)、博来霉素、卡奇霉素、光辉霉素和安曲霉素(AMC)；以及抗有丝分裂剂例如长春花生物碱类、长春新碱和长春碱。其它细胞毒素剂包括紫杉醇(泰素)、蓖麻毒素、假单胞菌外毒素、吉西他滨、细胞松弛素B、短杆菌肽D、溴乙啶、依米丁、依托泊苷、鬼臼噻吩甙、秋水仙碱、二羟基蒽二酮、1-去氢睾丸素、糖皮质激素、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛尔、嘌呤霉素、丙卡巴肼、羟基脲、门冬酰胺酶、皮质类固醇、米托坦(O,P'-(DDD))、干扰素及这些细胞毒素剂的混合物。

[0558] 其它细胞毒性剂包括但不限于化学治疗剂例如卡铂、顺铂、紫杉醇、吉西他滨、卡奇霉素、多柔比星、5-氟尿嘧啶、丝裂霉素C、放线菌素D、环磷酰胺、长春新碱和博来霉素。可将来自植物和细菌的毒性酶例如蓖麻毒素、白喉毒素和假单胞菌属(Pseudomonas)毒素缀合至人源化或嵌合抗体或其结合片段，以产生细胞类型特异性杀伤试剂(Youle等，Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 77:5483(1980)；Gilliland等，Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 77:4539(1980)；Krolick等，Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 77:5419(1980))。

[0559] 其它细胞毒性剂包括如由Goldenberg在美国专利No.6,653,104中描述的细胞毒性核糖核酸酶。本发明的实施方案还涉及放射免疫缀合物，其中在使用或不使用复合物形成剂的情况下将发射α、β粒子的放射性核素稳定地偶联至抗体，或其结合片段。这样的放射性核素包括β发射体例如磷-32(^{32}P)、钪-47(^{47}Sc)、铜-67(^{67}Cu)、镓-67(^{67}Ga)、钇-88(^{88}Y)、钇-90(^{90}Y)、碘-125(^{125}I)、碘-131(^{131}I)、钐-153(^{153}Sm)、镥-177(^{177}Lu)、铼-186(^{186}Re)或铼-

188(^{188}Re)，和α-发射体例如砹-211(^{211}At)、铅-212(^{212}Pb)、铋-212(^{212}Bi)或-213(^{213}Bi)或锕-225(^{225}Ac)。

[0560] 其它示例性放射性物质包括但不限于碘125(^{125}I)、碳14(^{14}C)、硫35(^{35}S)、氚(^{3}H)和磷32(^{32}P)。

[0561] 关于功能性部分，示例性细胞毒性剂包括但不限于甲氨蝶呤、氨基蝶呤、6-巯嘌呤、6-巯鸟嘌呤、阿糖胞苷、5-氟脲嘧啶达卡巴嗪；烷化剂例如氮芥、硫喷妥苯丁酸氮芥、美法仑、卡莫司汀(BSNU)、丝裂霉素C、SimSun；(CCNU)、1-甲基亚硝脲、环磷酰胺、氮芥、白消安、二溴甘露醇、链脲霉素、丝裂霉素C、顺二氯二氨基铂(II)(DDP)顺铂和顺铂(伯尔定)；蒽环类，包括柔红霉素(先前称为道诺霉素)、多柔比星、地托比星、洋红霉素、伊达比星、表柔比星、米托蒽醌和比生群；抗生素类，包括更生霉素(放线菌素D)、博来霉素、卡奇霉素、光辉霉素和安曲霉素(AMC)；以及抗有丝分裂剂例如长春花生物碱类、长春新碱和长春碱。其它细胞毒素剂包括紫杉醇(泰素)、蓖麻毒素、假单胞菌外毒素、吉西他滨、细胞松弛素B、短杆菌肽D、溴乙啶、依米丁、依托泊苷、鬼臼噻吩甙、秋水仙碱、二羟基蒽二酮、1-去氢睾丸素、糖皮质激素、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛尔、嘌呤霉素、丙卡巴肼、羟基脲、门冬酰胺酶、皮质类固醇、米托坦(O,P'-(DDD))、干扰素及这些细胞毒素剂的混合物。

[0562] 其它细胞毒性剂包括但不限于化学治疗剂例如卡铂、顺铂、紫杉醇、吉西他滨、卡奇霉素、多柔比星、5-氟尿嘧啶、丝裂霉素C、放线菌素D、环磷酰胺、长春新碱和博来霉素。可将来自植物和细菌的毒性酶例如蓖麻毒素、白喉毒素和假单胞菌属毒素缀合至人源化或嵌合抗体或其结合片段，以产生细胞类型特异性杀伤试剂(Youle,等，Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 77:5483(1980)；Gilliland,等，Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 77:4539(1980)；Krolick,等，Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 77:5419(1980))。

[0563] 其它细胞毒性剂包括如由Goldenberg在美国专利No.6,653,104中描述的细胞毒性核糖核酸酶。本发明的实施方案还涉及放射免疫缀合物，其中在使用或不使用复合物形成剂的情况下将发射α、β粒子的放射性核素稳定地偶联至抗体，或其结合片段。这样的放射性核素包括β发射体例如磷-32(^{32}P)、钪-47(^{47}Sc)、铜-67(^{67}Cu)、镓-67(^{67}Ga)、钇-88(^{88}Y)、钇-90(^{90}Y)、碘-125(^{125}I)、碘-131(^{131}I)、钐-153(^{153}Sm)、镥-177(^{177}Lu)、铼-186(^{186}Re)或铼-188(^{188}Re)和α-发射体例如砹-211(^{211}At)、铅-212(^{212}Pb)、铋-212(^{212}Bi)或-213(^{213}Bi)或锕-225(^{225}Ac)。

[0564] 用于将抗体或其结合片段缀合至可检测的部分等的方法在本领域是已知的，例如由Hunter等，Nature 144:945(1962)；David等，Biochemistry 13:1014(1974)；Pain等，J.Immunol.Meth.40:219(1981)和Nygren,J.,Histochem.and Cytochem.30:407(1982)描述的那些方法。

[0565] 本文中描述的实施方案还包括与本文中所示的抗体、抗体片段、双体抗体、SMIP、骆驼体、纳米抗体、IgNAR、多肽、可变区和CDR具有显著同源性的变体和等同物。这些变体和等同物可包含例如保守置换突变(即，相似氨基酸对一个或多个氨基酸的置换)。例如，保守置换是指相相同的一般种类中的另一个氨基酸对氨基酸的置换，例如用另一个酸性氨基酸置换一个酸性氨基酸，用另一个碱性氨基酸置换一个碱性氨基酸，或用另一个中性氨基酸置换一个中性氨基酸。期望进行保守氨基酸置的情形在本领域是公知的。

[0566] 在另一个任选实施方案中，本发明涉及与本文中所示的抗体片段、可变区和CDR的

多肽序列的任一个或多个具有至少90％或更大的序列同源性的多肽序列。更优选地，本发明涉及与本文中所示的抗体片段、可变区和CDR的多肽序列的任一个或多个具有至少95％或更大的序列同源性，更优选至少98％或更大的序列同源性，更优选至少99％或更大的序列同源性的多肽序列。用于测定核酸与氨基酸序列之间的同源性的方法对于本领域技术人员来说是公知的。

[0567] 在另一个任选实施方案中，本发明还涉及还具有抗-NGF活性的本文中所示的抗体片段、可变区和CDR的上述多肽同源物。抗-NGF活性的非限定性实例示于本文中。

[0568] 在另一个任选实施方案中，本发明还涉及结合前述序列的任何序列的抗独特型抗体的产生和用途。在示例性实施方案中，可给已接受抗-NGF抗体的受试者施用这样的抗独特型抗体来调节、减小或中和抗-NGF抗体的作用。这样的抗独特型抗体还可用于治疗特征在于抗-NGF抗体的存在的自身免疫疾病。这样的抗独特型抗体的其它示例性用途是用于检测本发明的抗-NGF抗体，例如以监测存在于受试者的血液或其它体液中的抗-NGF抗体的水平。

[0569] 本发明还涉及抗-NGF抗体，其包括用本文中描述的其它多核苷酸序列的任何序列置换本文中描述的多肽或多核苷酸序列的任何序列。例如，但不限于其，本发明涉及包含本文中描述的可变轻链和可变重链序列的任一个组合的抗体，并且还涉及因本文中描述的其它CDR序列的任何CDR序列置换本文中描述的CDR序列的任何CDR序列而产生的抗体。

[0570] 编码抗-NGF抗体多肽的多核苷酸

[0571] 抗体Ab1

[0572] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab1多肽)中产生用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体Ab1多肽(所述抗体多肽具有对于NGF的结合特异性，其抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。在本发明的一个实施方案中，本发明的多核苷酸包含下列编码SEQ ID NO:1的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0573] GCCCTTGTGATGACCCAGACTCCATCCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAACATTTACAGCAATTTAGCCTGGTATCAACAGAGACCAGGGCAGCGTCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAATCTGGATGCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAGAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGACGATGTTGGCACTTACTACTGTCAAAGTGCTTTTGATAGTGATAGTACTGAAAATACTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT(SEQ ID NO:201)。

[0574] 在本发明的一个任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含下列编码SEQ ID NO:2的轻链多肽序列的多核苷酸序列或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0575] GCCCTTGTGATGACCCAGACTCCATCCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAACATTTACAGCAATTTAGCCTGGTATCAACAGAGACCAGGGCAGCGTCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAATCTGGATGCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAGAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGACGATGTTGGCACTTACTACTGTCAAAGTGCTTTTGATAGTGATAGTACTGAAAATACTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACC

CATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ IDNO:202)。

[0576] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含下列编码SEQ ID NO:3的可变重链多肽序列的多核苷酸序列或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0577] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGCTTCTCCCTCAGTAGCTATGCAATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTACTAGTATTGGTAGCACAGTCTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGACCACGGTGGATCTGAAAATCACCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGCTACGATGACTATGATGAGATGACCTACTTTAACATCTGGGGCCAGGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGC(SEQ ID NO:203)。

[0578] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含下列编码SEQ ID NO:4的重链多肽序列的多核苷酸序列或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0579] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGCTTCTCCCTCAGTAGCTATGCAATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTACTAGTATTGGTAGCACAGTCTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGACCACGGTGGATCTGAAAATCACCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGCTACGATGACTATGATGAGATGACCTACTTTAACATCTGGGGCCAGGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:204)。

[0580] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:1的轻链可变序列或SEQ ID NO:2的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207的多核苷酸序列的一个或多个。

[0581] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:3的重链可变序列或SEQ ID NO:4的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:210的多核苷酸序列的一个或多个。

[0582] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中，编码具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成：编码SEQ ID NO:1的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:201；编码SEQ ID NO:2的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:202：编码SEQ ID NO:3的重链可变序列的多核苷酸203；编码SEQ ID NO:4的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:204；编码SEQ ID NO:1的轻链可变序列或SEQ ID NO:2的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207)；以及编码SEQ ID NO:3的重链可变序列或SEQ ID NO:4的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:210)。

[0583] 在本发明的优选任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸。就抗体Ab1而言，编码全长Ab1抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:2的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:202和编码SEQ ID NO:4的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:204，或由所述多核苷酸组成。

[0584] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中，或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中，用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab1的酶促降解(例如，木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中，抗-NGF抗体例如Ab1或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab1多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0585] 抗体Ab2

[0586] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab2多肽)中，产生用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体Ab2多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合，具有对于NGF的结合特异性，其)的用途。在本发明的一个实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:11的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0587] gacatccagatgacccagtctccttccaccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGGCCAGTCAGAACATTTACAGCaacTTAGCCtggtatcagcagaaaccaggaaaagcccctaagctcctgatctatGGTGCATCCAATCTGGATGCTggagtcccatcaaggttcTCTGGCAGTGGATCTGGGACAGAGtacactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttactactgcCAAAGTGCTTTTGATAGTGATAGTACTGAAaacACTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt(SEQ ID NO:211)。

[0588] 在本发明的一个任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:12的轻链多肽序列的多核苷酸序列或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0589] gacatccagatgacccagtctccttccaccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGGCCAGTCAGAACATTTACAGCaacTTAGCCtggtatcagcagaaaccaggaaaagcccctaagctcctgatc

tatGGTGCATCCAATCTGGATGCTggagtcccatcaaggttcTCTGGCAGTGGATCTGGGACAGAGtacactctca
ccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttactactgcCAAAGTGCTTTTGATAGTGATAGTACTGAAaa
cACTttcggcggaggaaccaaggtggaaaTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCT
GATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTAC
AGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC
CTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACC
CATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:212)。

[0590] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:13的可变重链多肽序列的多核苷酸序列或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0591] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgc
agcctctggattcaccgtcagtAGCTATGCAATGAGCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtc
GGAGTCATTACTAGTATTGGTAGCACAGTCTACGCGAGCagcGCGAAAGGCcgattcaccatctccagagacaatt
ccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtgctagaGGCTA
CGATGACTATGATGAGATGACCTACTTTAACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGC(SEQ ID
NO:213)。

[0592] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:14的重链多肽序列的多核苷酸序列或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0593] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgc
agcctctggattcaccgtcagtAGCTATGCAATGAGCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtc
GGAGTCATTACTAGTATTGGTAGCACAGTCTACGCGAGCagcGCGAAAGGCcgattcaccatctccagagacaatt
ccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtgctagaGGCTA
CGATGACTATGATGAGATGACCTACTTTAACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACC
AAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGG
TCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC
GGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA
AAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACC
CAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG
GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCA
GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT
CTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG
TACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC
CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA
CTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ
ID NO:214)。

[0594] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:11的轻链可变序列或SEQ ID NO:12的轻链序

列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:216和SEQ ID NO:217的多核苷酸序列的一个或多个。

[0595] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:13的重链可变序列或SEQ ID NO:14的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:218、SEQ ID NO:219和SEQ ID NO:220的多核苷酸序列的一个或多个。

[0596] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:11的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:211;编码SEQ ID NO:12的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:212:编码SEQ ID NO:13的重链可变序列的多核苷酸213;编码SEQ ID NO:14的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:214;编码SEQ ID NO:11的轻链可变序列或SEQ ID NO:12的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:216和SEQ ID NO:217);以及编码SEQ ID NO:13的重链可变序列或SEQ ID NO:14的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:218、SEQ ID NO:219和SEQ ID NO:220)。

[0597] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab2而言,编码全长Ab2抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:12的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:212和编码SEQ ID NO:14的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:214,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0598] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab2的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab2或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab2多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0599] 抗体Ab3

[0600] 本发明还涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab3多肽)中,产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab3多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合而不显著抑制NGF与p75的缔合)的用途。本发明还涉及编码具有对于NGF的结合特异性抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:21的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0601] GCAGCCGTGCTGACCCAGACACCATCGCCCGTGTCTGCAGCTATGGGAGACACAGTCACCATCAAGTGCCAGTCCAGTCAGAGTGTTTATAAGAACAACTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAGGCTC

CTGATCTATGATGCATCCAATCTGCCATCTGGGGTCCCATCACGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCA
CTCTCACCATCAGCGGCGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGATTATGATGATGATGCTGA
TAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT(SEQ ID NO:221)。

[0602] 在本发明的一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:22的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0603] GCAGCCGTGCTGACCCAGACACCATCGCCCGTGTCTGCAGCTATGGGAGACACAGTCACCATCAAGTG
CCAGTCCAGTCAGAGTGTTTATAAGAACAACTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAGGCTC
CTGATCTATGATGCATCCAATCTGCCATCTGGGGTCCCATCACGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCA
CTCTCACCATCAGCGGCGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGATTATGATGATGATGCTGA
TAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA
TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG
TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG
CACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC
ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:222)。

[0604] 在本发明的另一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:23的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0605] CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGT
CTCTGGATTCTCCCTCAGTAGCTATGTAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGA
ATCACTTGGAGTGCTGGTACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCA
CGGTGGATCTGAAAATCACCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCGGAGGTGGTGGTAGTAT
TTATGATATTTGGGGCCCGGGCACCCTGGTCACCGTCTCGAGC(SEQ ID NO:223)。

[0606] 在本发明的一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:24的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0607] CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGT
CTCTGGATTCTCCCTCAGTAGCTATGTAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGA
ATCACTTGGAGTGCTGGTACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCA
CGGTGGATCTGAAAATCACCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCGGAGGTGGTGGTAGTAT
TTATGATATTTGGGGCCCGGGCACCCTGGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTG
GCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGG
TGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACT
CTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAC
AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCC
CAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCg
GACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC
GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCC
TCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCC
CATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAG
GAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG
AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTA

CAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG CACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:224)。

[0608] 在本发明的其它任选实施方案中,编码具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:21的轻链可变序列或SEQ ID NO:22的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:226和SEQ ID NO:227的多核苷酸序列的一个或多个。

[0609] 在本发明的其它实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:23的重链可变序列或SEQ ID NO:24的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:229和SEQ ID NO:230的多核苷酸序列的一个或多个。

[0610] 本发明还涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:21的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:221;编码SEQ ID NO:22的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:222:编码SEQ ID NO:23的重链可变序列的多核苷酸223;编码SEQ ID NO:24的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:224;编码SEQ ID NO:21的轻链可变序列或SEQ ID NO:22的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:226和SEQ ID NO:227);以及编码SEQ ID NO:23的重链可变序列或SEQ ID NO:24的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:229和SEQ ID NO:230)。

[0611] 在本发明的优选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab3而言,编码全长Ab3抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:22的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:222和编码SEQ ID NO:24的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:224,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0612] 本发明的另一个实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab3的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab3或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab3多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0613] 抗体Ab4

[0614] 本发明还涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab4多肽)中,产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab4多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合而不显著抑制NGF与p75的缔合)的用途。本发明还涉及编码具有对于

NGF的结合特异性抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:31的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0615] gacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGTCCAGTCAGAATGTTTATAAGAACAACTACTTATCCtggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctcctgatctatAAGGCATCCACTCTGGCATCTggggtcccatctcgtttcagtggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtGCAGGCGGTTATACCAGTAGTAGTGATAATGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt(SEQ ID NO:231)。

[0616] 在本发明的一个实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:32的轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0617] gacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGTCCAGTCAGAATGTTTATAAGAACAACTACTTATCCtggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctcctgatctatAAGGCATCCACTCTGGCATCTggggtcccatctcgtttcagtggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtGCAGGCGGTTATACCAGTAGTAGTGATAATGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaaTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:232)。

[0618] 在本发明的另一个实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:33的可变重链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0619] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccgtcagtAGCTATGTAATGATCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagTACATCGGAATCACTTGGAGTGCTGGTACATACTACGCGAGCAGTGCGAAAGGCcgattcaccatctccagagacaattccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtGCTGGAGGTGGTGGTAGTATCTATGATATTtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGC(SEQ ID NO:233)。

[0620] 在本发明的一个实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:34的重链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0621] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccgtcagtAGCTATGTAATGATCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagTACATCGGAATCACTTGGAGTGCTGGTACATACTACGCGAGCAGTGCGAAAGGCcgattcaccatctccagagacaattccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtGCTGGAGGTGGTGGTAGTATCTATGATATTtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC

GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCA
GCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC
AGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCC
CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG
AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT
CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG
GCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:234)。

[0622] 在本发明的其它实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:31的轻链可变序列或SEQ ID NO:32的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236和SEQ ID NO:237的多核苷酸序列的一个或多个。

[0623] 在本发明的其它实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:33的重链可变序列或SEQ ID NO:34的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239和SEQ ID NO:240的多核苷酸序列的一个或多个。

[0624] 本发明还涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:31的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:231;编码SEQ ID NO:32的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:232:编码SEQ ID NO:33的重链可变序列的多核苷酸233;编码SEQ ID NO:34的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:234;编码SEQ ID NO:31的轻链可变序列或SEQ ID NO:32的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236和SEQ ID NO:237)的多核苷酸;以及编码SEQ ID NO:33的重链可变序列或SEQ ID NO:34的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239和SEQ ID NO:240)。

[0625] 在本发明的优选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab4而言,编码全长Ab4抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:32的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:232和编码SEQ ID NO:34的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:234,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0626] 本发明的另一个实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab4的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab4或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或

微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab4多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0627] 抗体Ab5

[0628] 本发明还涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab5多肽)中,产生用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab5多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:41的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0629] GCCTATGATATGACCCAGACTCCAGCCTCTGTGGAGGTAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAAGTGCCAGGCCAGTCAGAGCATTTACAGCAATTTAGCCTGGTATCAGCAGAGACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCACTCTGGAATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCGGCGTGGAGTGTGCCGATGCTGCCTCTTACTACTGTCAACAGGGTTTTACTGTTAGTGATATTGATAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT(SEQ ID NO:241)。

[0630] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:42的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0631] GCCTATGATATGACCCAGACTCCAGCCTCTGTGGAGGTAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAAGTGCCAGGCCAGTCAGAGCATTTACAGCAATTTAGCCTGGTATCAGCAGAGACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCACTCTGGAATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCGGCGTGGAGTGTGCCGATGCTGCCTCTTACTACTGTCAACAGGGTTTTACTGTTAGTGATATTGATAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:242)。

[0632] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:43的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0633] CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGATTCTCCCTCAGTAACTATGCAGTGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAATCATTGGTCGTAATGGTAACACATGGTACGCGAGCTGGGCAAGAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGACCACGGTGGATCTGAAAATCACCAGTCCGACAAGCGAGGACACGGCCACATATTTCTGTGCCAGAGGATATGGCCGTAGTGTTGCTTATTACGTCTTTAACATCTGGGGCCCAGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGC(SEQ ID NO:243)。

[0634] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:44的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0635] CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGATTCTCCCTCAGTAACTATGCAGTGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAATCATTGGTCGTAATGGTAACACATGGTACGCGAGCTGGGCAAGAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGACCACGGTGGATCTGAAAATCACCAGTCCGACAAGCGAGGACACGGCCACATATTTCTGTGCCAGAGGATATGGCCGTAGTGTTGCTTATTACGTCTTTAACATCTGGGGCCCAGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCA

TCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT
ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCT
ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC
TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACA
CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC
CCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC
AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACC
GTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAA
AGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACA
TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGG
CTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTG
ATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:
244)。

[0636] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:41的轻链可变序列或SEQ ID NO:42的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246和SEQ ID NO:247的多核苷酸序列的一个或多个。

[0637] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:43的重链可变序列或SEQ ID NO:44的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249和SEQ ID NO:250的多核苷酸序列的一个或多个。

[0638] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:41的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:241;编码SEQ ID NO:42的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:242:编码SEQ ID NO:43的重链可变序列的多核苷酸243;编码SEQ ID NO:44的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:244;编码SEQ ID NO:41的轻链可变序列或SEQ ID NO:42的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246和SEQ ID NO:247);以及编码SEQ ID NO:43的重链可变序列或SEQ ID NO:44的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249和SEQ ID NO:250)。

[0639] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab5而言,编码全长Ab5抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:42的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:242和编码SEQ ID NO:44的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:244,或可选择地由所述

多核苷酸组成。

[0640] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中，或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中，Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab5的酶促降解(例如，木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中，抗-NGF抗体例如Ab5或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab5多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0641] 抗体Ab6

[0642] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab6多肽)中，产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab6多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:51的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0643] gacatccagatgacccagtctccttccaccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGGCCAGTCAGAGCATTTACAGCAATcttGCCtggtatcagcagaaaccaggaaaagcccctaagctcctgatctatGATGCATCCACTCTGGAATCTggagtcccatcaaggttcagcGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttactactgcCAACAGGGTTTTACTGTTAGTGATATTGATAATGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt(SEQ ID NO:251)。

[0644] 在本发明的一个任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:52的轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0645] gacatccagatgacccagtctccttccaccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGGCCAGTCAGAGCATTTACAGCAATcttGCCtggtatcagcagaaaccaggaaaagcccctaagctcctgatctatGATGCATCCACTCTGGAATCTggagtcccatcaaggttcagcGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttactactgcCAACAGGGTTTTACTGTTAGTGATATTGATAATGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaaTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:252)。

[0646] 在本发明的另一个任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:53的可变重链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0647] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccgtcagtAACTATGCAGTGGGCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtcGGAATCATTGGTCGTAATGGTAACACATGGTACGCGAGCtctGCAAGAGGCcgattcaccatctccagagacaattccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtgctagaGGATATGGCCGTAGTGTTGCTTATTACGTCTTTAACATCtggggcccagggaccctcgtcaccgtcTCGAGC(SEQ ID

NO:253)。

[0648] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:54的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0649] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccgtcagtAACTATGCAGTGGGCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtcGGAATCATTGGTCGTAATGGTAACACATGGTACGCGAGCtctGCAAGAGGCcgattcaccatctccagagacaattccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtgctagaGGATATGGCCGTAGTGTTGCTTATTACGTCTTTAACATCtggggcccagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:254)。

[0650] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:51的轻链可变序列或SEQ ID NO:52的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256和SEQ ID NO:257的多核苷酸序列的一个或多个。

[0651] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:53的重链可变序列或SEQ ID NO:54的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:258、SEQ ID NO:259和SEQ ID NO:260的多核苷酸序列的一个或多个。

[0652] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:51的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:251;编码SEQ ID NO:52的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:252:编码SEQ ID NO:53的重链可变序列的多核苷酸253;编码SEQ ID NO:54的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:254;编码

SEQ ID NO:51的轻链可变序列或SEQ ID NO:52的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256和SEQ ID NO:257);以及编码SEQ ID NO:53的重链可变序列或SEQ ID NO:54的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:258、SEQ ID NO:259和SEQ ID NO:260)。

[0653] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab6而言,编码全长Ab6抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:52的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:252和编码SEQ ID NO:54的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:254,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0654] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab6的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab6或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab6多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0655] 抗体Ab7

[0656] 本发明任选地还涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab7多肽)中,产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab7多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:61的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0657] GCCGATGTTGTGATGACCCAGACTCCAGCCTCCGTGTCTCAACCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAAGTGCCAGGCCAGTGAGGACATTTATAACTTATTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATTCTGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCGGCCTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCAAAACAATTATCTTGTTACTACTTATGGTGTTGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT(SEQ ID NO:261)。

[0658] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:62的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0659] GCCGATGTTGTGATGACCCAGACTCCAGCCTCCGTGTCTCAACCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAAGTGCCAGGCCAGTGAGGACATTTATAACTTATTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATTCTGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCGGCCTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCAAAACAATTATCTTGTTACTACTTATGGTGTTGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC

ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:262)。

[0660] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:63的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0661] CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGTACAGTCTCTGGATTCTCCCTCAGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGATACATTGATACTGATACTAGCGCATACTACGCGAGCTGGGTGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAACCTCGACCACGGTGGATCTCAAAATCACTAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGATCTTATGCTGCTTATGGTGGTTATCCTGCTACTTTTGATCCCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCGAGC(SEQ ID NO:263)。

[0662] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:64的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0663] CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGTACAGTCTCTGGATTCTCCCTCAGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGATACATTGATACTGATACTAGCGCATACTACGCGAGCTGGGTGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAACCTCGACCACGGTGGATCTCAAAATCACTAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGATCTTATGCTGCTTATGGTGGTTATCCTGCTACTTTTGATCCCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:264)。

[0664] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:61的轻链可变序列或SEQ ID NO:62的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:265、SEQ ID NO:266和SEQ ID NO:267的多核苷酸序列的一个或多个。

[0665] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:63的重链可变序列或SEQ ID NO:64的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:268、SEQ ID NO:269和SEQ ID

NO:270的多核苷酸序列的一个或多个。

[0666] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:61的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:261;编码SEQ ID NO:62的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:262:编码SEQ ID NO:63的重链可变序列的多核苷酸263;编码SEQ ID NO:64的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:264;编码SEQ ID NO:61的轻链可变序列或SEQ ID NO:62的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:265、SEQ ID NO:266和SEQ ID NO:267);以及编码SEQ ID NO:63的重链可变序列或SEQ ID NO:64的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:268、SEQ ID NO:269和SEQ ID NO:270)。

[0667] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab7而言,编码全长Ab7抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:62的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:262和编码SEQ ID NO:64的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:264,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0668] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab7的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab7或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab7多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0669] 抗体Ab8

[0670] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab8多肽)中,产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab8多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还任选地涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:71的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0671] gacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGGCCAGTGAGGACATTTACAACTTATTGGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctcctgatctatTCTGCATCCACTCTGGCATCTggggtcccatctcgtttcagtGGCAGTGGATCTGGGACAgatTACactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCAAAACAACTATCTTGTTACTACTTATGGTGTTGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt(SEQ ID NO:271)。

[0672] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:72的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0673] gacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGGCCAGTGAGGACATTTACAACTTATTGGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctcctgatctatTCTGCATCCACTCTGGCATCTggggtcccatctcgtttcagtGGCAGTGGATCTGGGACAgatTACactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCAAAACAACTATCTTGTTACTACTTATGGTGTTGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaaTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:272)。

[0674] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:73的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0675] caggtacagctggtggagtctggtggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcttctggattcaccttcagtAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGATACATTGATACTGATACTAGCGCATACTACGCAAGCagtGTGAAAGGCcgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtacctgcaaatgtctagcctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgctagaTCTTATGCTGCTTATGGTGGTTATCCTGCTACTTTTGATCCCtggggccaaggtaccctcgtcaccgtcTCGAGC(SEQ ID NO:273)。

[0676] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:74的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0677] caggtacagctggtggagtctggtggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcttctggattcaccttcagtAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGATACATTGATACTGATACTAGCGCATACTACGCAAGCagtGTGAAAGGCcgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtacctgcaaatgtctagcctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgctagaTCTTATGCTGCTTATGGTGGTTATCCTGCTACTTTTGATCCCtggggccaaggtaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:274)。

[0678] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具

有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸，包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成：对应于编码SEQ ID NO:71的轻链可变序列或SEQ ID NO:72的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:275、SEQ ID NO:276和SEQ ID NO:277的多核苷酸序列的一个或多个。

[0679] 在本发明的其它任选实施方案中，编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸，包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成：对应于编码SEQ ID NO:73的重链可变序列或SEQ ID NO:74的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:278、SEQ ID NO:279和SEQ ID NO:280的多核苷酸序列的一个或多个。

[0680] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中，编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成：编码SEQ ID NO:71的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:271；编码SEQ ID NO:72的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:272：编码SEQ ID NO:73的重链可变序列的多核苷酸273；编码SEQ ID NO:74的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:274；编码SEQ ID NO:71的轻链可变序列或SEQ ID NO:72的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:275、SEQ ID NO:276和SEQ ID NO:277)；以及编码SEQ ID NO:73的重链可变序列或SEQ ID NO:74的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:278、SEQ ID NO:279和SEQ ID NO:280)。

[0681] 在本发明的优选任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸，或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab8而言，编码全长Ab8抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:72的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:272和编码SEQ ID NO:74的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:274，或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0682] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中，或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中，Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab8的酶促降解(例如，木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中，抗-NGF抗体例如Ab8或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab8多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0683] 抗体Ab9

[0684] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab9多肽)中，产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab9多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还任选地涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:81的可变轻链多肽序

列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0685] GCCTATGATATGACCCAGACTCCAGCCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAAGTG CCAGGCCAGTGAGAACATTGGTAGCTACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCGAACTCCTGATC TACAGGGCGTCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCA CCATCAGCGGCGTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCAACAGGGTTATAATAGTGAGAATCTTGATAA TGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT(SEQ ID NO:281)。

[0686] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:82的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0687] GCCTATGATATGACCCAGACTCCAGCCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAAGTG CCAGGCCAGTGAGAACATTGGTAGCTACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCGAACTCCTGATC TACAGGGCGTCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCA CCATCAGCGGCGTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCAACAGGGTTATAATAGTGAGAATCTTGATAA TGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCT GATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTAC AGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC CTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACC CATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:282)。

[0688] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:83的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0689] CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGT CTCTGGAATCGACCTCAGTATGTATTCAATGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGA TGGATTAGTTATGGTGGTACTGCATATTACGCGAGCTGGGCGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGACCA CGGTGGAGCTGAAGATCACCAGTCCGACAATCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGAGACTCCTGTTAA TTATTATTTGGACATTTGGGGCCAGGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGC(SEQID NO:283)。

[0690] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:84的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0691] CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGT CTCTGGAATCGACCTCAGTATGTATTCAATGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGA TGGATTAGTTATGGTGGTACTGCATATTACGCGAGCTGGGCGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGACCA CGGTGGAGCTGAAGATCACCAGTCCGACAATCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGAGACTCCTGTTAA TTATTATTTGGACATTTGGGGCCAGGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC CCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCG AACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTC AGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCAC CGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaT CTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCA GCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC

AGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCC
CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG
AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT
CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG
GCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:284)。

[0692] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:81的轻链可变序列或SEQ ID NO:82的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:286和SEQ ID NO:287的多核苷酸序列的一个或多个。

[0693] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:83的重链可变序列或SEQ ID NO:84的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:288、SEQ ID NO:289和SEQ ID NO:290的多核苷酸序列的一个或多个。

[0694] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:81的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:281;编码SEQ ID NO:82的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:282:编码SEQ ID NO:83的重链可变序列的多核苷酸283;编码SEQ ID NO:84的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:284;编码SEQ ID NO:81的轻链可变序列或SEQ ID NO:82的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:286和SEQ ID NO:287);以及编码SEQ ID NO:83的重链可变序列或SEQ ID NO:84的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:288、SEQ ID NO:289和SEQ ID NO:290)。

[0695] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab9而言,编码全长Ab9抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:82的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:282和编码SEQ ID NO:84的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:284,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0696] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab9的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab9或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab9多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0697] 抗体Ab10

[0698] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab10多肽)中,产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab10多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还任选地涉及编码具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:91的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0699] GCCTATGATatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGGCCAGTGAGAACATTGGTAGCTACTTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctcctgatctatAGGGCtTCCACTCTGGCATCTggggtcccatctcgtttcagtggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCAACAGGGTTAcAATAGTGAGAATCTTGATAATGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt(SEQ ID NO:291)。

[0700] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:92的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0701] GCCTATGATatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGGCCAGTGAGAACATTGGTAGCTACTTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctcctgatctatAGGGCtTCCACTCTGGCATCTggggtcccatctcgtttcagtggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCAACAGGGTTAcAATAGTGAGAATCTTGATAATGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaaTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:292)。

[0702] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:93的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0703] caggtacagctggtggagtctggtggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcttctggattcaccttcagtATGTATTCAATGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGATGGATTAGTTATGGTGGTACTGCATACTACGCTAGCAGCGCTAAGGGCcgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtacctgcaaatgtctagcctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgctagaGAGACTCCTGTTAATTACTACTTGGACATTtggggccaaggtaccctcgtcaccgtcTCGAGC(SEQ ID NO:293)。

[0704] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:94的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成::

[0705] caggtacagctggtggagtctggtggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcttctggattcaccttcagtATGTATTCAATGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGATGGATTAGTTATGGTGGTACTGCATACTACGCTAGCAGCGCTAAGGGCcgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtacctgcaaatgtctagcctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgctagaGAGACTCCTGTTAATTACTACTTGGACATTtggggccaaggtaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCT

ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC
TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACA
CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC
CCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC
AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACC
GTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAA
AGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACA
TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGG
CTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTG
ATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:
294)。

[0706] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:91的轻链可变序列或SEQ ID NO:92的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:295、SEQ ID NO:296和SEQ ID NO:297的多核苷酸序列的一个或多个。

[0707] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:93的重链可变序列或SEQ ID NO:94的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:298、SEQ ID NO:299和SEQ ID NO:300的多核苷酸序列的一个或多个。

[0708] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:91的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:291;编码SEQ ID NO:92的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:292:编码SEQ ID NO:93的重链可变序列的多核苷酸293;编码SEQ ID NO:94的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:294;编码SEQ ID NO:91的轻链可变序列或SEQ ID NO:92的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:295、SEQ ID NO:296和SEQ ID NO:297);以及编码SEQ ID NO:93的重链可变序列或SEQ ID NO:94的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:298、SEQ ID NO:299和SEQ ID NO:300)。

[0709] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab10而言,编码全长Ab10抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:92的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:292和编码SEQ ID NO:94的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:294,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0710] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、

NSO或HEK-293细胞中，或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中，Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab10的酶促降解(例如，木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中，抗-NGF抗体例如Ab10或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab10多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0711] 抗体Ab11

[0712] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab11多肽)中，产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab11多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还任选地涉及编码具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:101的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0713] GCATTCGAATTGACCCAGACTCCATCCTCCGTGGAGGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAAGTGCCAGGCCAGTCAGAACATTGTTACCAATTTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTATTTCTGTCAGAGCTATGATGGTTTTAATAGTGCTGGGTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT(SEQ ID NO:301)。

[0714] 在本发明的一个任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:102的轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0715] GCATTCGAATTGACCCAGACTCCATCCTCCGTGGAGGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAAGTGCCAGGCCAGTCAGAACATTGTTACCAATTTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTATTTCTGTCAGAGCTATGATGGTTTTAATAGTGCTGGGTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:302)。

[0716] 在本发明的另一个任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:103的可变重链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0717] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCTCCCTCAGTGGCTACGACATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGGCTGGAATACATCGGACTCATTAGTTATGATGGTAACACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGACCACGGTGGATCTGAAAATCACCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAAGTCTTTATGCTGGTCCTAATGCTGGTATCGGACCGTTTAACATCTGGGGCCAGGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGC(SEQ ID NO:303)。

[0718] 在本发明的一个任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:

104的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0719] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGC CTCTGGATTCTCCCTCAGTGGCTACGACATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGGCTGGAATACATCGGA CTCATTAGTTATGATGGTAACACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGACCA CGGTGGATCTGAAAATCACCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAAGTCTTTATGCTGG TCCTAATGCTGGTATCGGACCGTTTAACATCTGGGGCCAGGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAG GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGC TGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAA CTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAA GGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCA CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTC CAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC ACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTC CGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:304)。

[0720] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:101的轻链可变序列或SEQ ID NO:102的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:305、SEQ ID NO:306和SEQ ID NO:307的多核苷酸序列的一个或多个,或可选择地由所述多核苷酸序列组成。

[0721] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:103的重链可变序列或SEQ ID NO:104的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:308、SEQ ID NO:309和SEQ ID NO:310的多核苷酸序列的一个或多个。

[0722] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:101的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:301;编码SEQ ID NO:102的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:302:编码SEQ ID NO:103的重链可变序列的多核苷酸303;编码SEQ ID NO:104的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:304;编码SEQ ID NO:101的轻链可变序列或SEQ ID NO:102的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:305、SEQ ID NO:306和SEQ ID NO:307);以及编码SEQ ID NO:103的重链

可变序列或SEQ ID NO:104的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:308、SEQ ID NO:309和SEQ ID NO:310)。

[0723] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab11而言,编码全长Ab11抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:102的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:302和编码SEQ ID NO:104的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:304,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0724] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab11的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab11或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab11多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0725] 抗体Ab12

[0726] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab12多肽)中,产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab12多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还任选地涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:111的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0727] GCATTCcagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGGCCAGTCAGAACATTGTTACCAAcTTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctcctgatctatGGTGCATCCACTCTGGCATCTggggtcccatctcgtttcagtggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCAGAGCTATGATGGTTTcAATAGTGCTGGTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt(SEQ ID NO:311)。

[0728] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:112的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0729] GCATTCcagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGGCCAGTCAGAACATTGTTACCAAcTTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctcctgatctatGGTGCATCCACTCTGGCATCTggggtcccatctcgtttcagtggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCAGAGCTATGATGGTTTcAATAGTGCTGGTttcggcggaggaaccaaggtggaaaTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:312)。

[0730] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:

113的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0731] caggtacagctggtggagtctggtggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcttctggattcTCCCTCagtGGCTACGACATGAGCtgggtccgtcaggctccaggcaagggactggagtgggtgGGACTCATTAGTTATGATGGTAACACATACTACGCGACCtccGCGAAAGGCcgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtacctgcaaatgtctagcctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgctagaAGTCTTTATGCTGGTCCTAATGCTGGTATCGGACCGTTTAACATCtggggccaaggtaccctcgtcaccgtcTCGAGC(SEQ ID NO:313)。

[0732] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:114的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0733] caggtacagctggtggagtctggtggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcttctggattcTCCCTCagtGGCTACGACATGAGCtgggtccgtcaggctccaggcaagggactggagtgggtgGGACTCATTAGTTATGATGGTAACACATACTACGCGACCtccGCGAAAGGCcgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtacctgcaaatgtctagcctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgctagaAGTCTTTATGCTGGTCCTAATGCTGGTATCGGACCGTTTAACATCtggggccaaggtaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:314)。

[0734] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:111的轻链可变序列或SEQ ID NO:112的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:315、SEQ ID NO:316和SEQ ID NO:317的多核苷酸序列的一个或多个。

[0735] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:113的重链可变序列或SEQ ID NO:114的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:318、SEQ ID NO:319和SEQ ID NO:320的多核苷酸序列的一个或多个。

[0736] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病

况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中，编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成：编码SEQ ID NO:111的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:311；编码SEQ ID NO:112的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:312：编码SEQ ID NO:113的重链可变序列的多核苷酸313；编码SEQ ID NO:114的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:314；编码SEQ ID NO:111的轻链可变序列或SEQ ID NO:112的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:315、SEQ ID NO:316和SEQ ID NO:317)；以及编码SEQ ID NO:113的重链可变序列或SEQ ID NO:114的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:318、SEQ ID NO:319和SEQ ID NO:320)。

[0737] 在本发明的优选任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸，或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab12而言，编码全长Ab12抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:112的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:312和编码SEQ ID NO:114的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:314，或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0738] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中，或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中，Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab12的酶促降解(例如，木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中，抗-NGF抗体例如Ab12或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab12多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0739] 抗体Ab13

[0740] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab13多肽)中，产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab13多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还任选地涉及编码具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:121的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0741] GCCGCCGTGCTGACCCAGACTCCATCTCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCAGCATCAGTTGCCAGTCCAGTCAGAATGTTTATAAGAACAACTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTACAAGGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCGGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGCTGCTGCCACTTACTACTGTGCAGGCGGTTATACCAGTAGTAGTGATAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT(SEQ ID NO:321)。

[0742] 在本发明的一个任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:122的轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0743] GCCGCCGTGCTGACCCAGACTCCATCTCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCAGCATCAGTTGCCAGTCCAGTCAGAATGTTTATAAGAACAACTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTC

CTGATCTACAAGGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCGGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGCTGCTGCCACTTACTACTGTGCAGGCGGTTATACCAGTAGTAGTGA
TAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA
TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG
TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG
CACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC
ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTA(SEQ ID NO:322)。

[0744] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:123的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0745] CAGTCGGTGGAGGCGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGC
CTCTGGATTCTCCCTCAGTACCTACTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGA
GACATTTATTTTAGTAATGAAGAAACAAACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTTACCATCTCCAAAACCTCGA
CCACGGTGGATCTGAATGTCATCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGTTCTCCTGA
TGTTGATATTGGTATAGATATGTGGGGCCCGGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGC(SEQ ID NO:323)。

[0746] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:124的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0747] CAGTCGGTGGAGGCGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGC
CTCTGGATTCTCCCTCAGTACCTACTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGA
GACATTTATTTTAGTAATGAAGAAACAAACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTTACCATCTCCAAAACCTCGA
CCACGGTGGATCTGAATGTCATCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGTTCTCCTGA
TGTTGATATTGGTATAGATATGTGGGGCCCGGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCG
GTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT
TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACA
GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC
AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT
GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCT
CATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAAC
TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTG
TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGC
CCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCC
CCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG
CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC
CTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG
CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:324)。

[0748] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:121的轻链可变序列或SEQ ID NO:122的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:325、SEQ ID NO:326和SEQ ID NO:327的多核苷酸序列的一个或多个。

[0749] 在本发明的其它任选实施方案中，编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸，包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成：对应于编码SEQ ID NO:123的重链可变序列或SEQ ID NO:124的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:328、SEQ ID NO:329和SEQ ID NO:330的多核苷酸序列的一个或多个。

[0750] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中，编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成：编码SEQ ID NO:121的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:321；编码SEQ ID NO:122的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:322：编码SEQ ID NO:123的重链可变序列的多核苷酸323；编码SEQ ID NO:124的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:324；编码SEQ ID NO:121的轻链可变序列或SEQ ID NO:122的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:325、SEQ ID NO:326和SEQ ID NO:327)；以及编码SEQ ID NO:123的重链可变序列或SEQ ID NO:124的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:328、SEQ ID NO:329和SEQ ID NO:330)。

[0751] 在本发明的优选任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸，或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab13而言，编码全长Ab13抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:122的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:322和编码SEQ ID NO:124的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:324，或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0752] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中，或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中，Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab13的酶促降解(例如，木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中，抗-NGF抗体例如Ab13或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab13多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0753] 抗体Ab14

[0754] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab14多肽)中，产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab14多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还任选地涉及编码具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:131的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0755] gacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGTCCAGTCAGAATGTTTATAAGAACAACTACTTATCCtggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctcctgatctatAAGGCATCCACTCTGGCATCTggggtcccatctcgtttcagtggcagtggatctgggacagatttca

ctctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtGCAGGCGGTTATACCAGTAGTAGTGA TAATGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt(SEQ ID NO:331)。

[0756] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:132的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0757] gacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttg cCAGTCCAGTCAGAATGTTTATAAGAACAACTACTTATCCtggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctc ctgatctatAAGGCATCCACTCTGGCATCTggggtcccatctcgtttcagtggcagtggatctgggacagatttca ctctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtGCAGGCGGTTATACCAGTAGTAGTGA TAATGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaaTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG CACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:332)。

[0758] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:133的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0759] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgc agcctctggattcaccgtcagtACCTACTGGATGAGCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtc ggaGACATTTAcTTTAGTAATGAAGAAACAAACTACGCGAGCAGCGCGAAAGGCcgattcaccatctccagagaca attccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtgctagaGG TTCTCCTGATGTTGATATTGGTATAGATATGtggggcccagggaccctcgtcaccgtcTCGAGC(SEQ ID NO:333)。

[0760] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:134的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0761] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgc agcctctggattcaccgtcagtACCTACTGGATGAGCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtc ggaGACATTTAcTTTAGTAATGAAGAAACAAACTACGCGAGCAGCGCGAAAGGCcgattcaccatctccagagaca attccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtgctagaGG TTCTCCTGATGTTGATATTGGTATAGATATGtggggcccagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAG GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGC TGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAA CTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAA GGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCA CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTC CAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC ACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTC

CGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:334)。

[0762] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:131的轻链可变序列或SEQ ID NO:132的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:335、SEQ ID NO:336和SEQ ID NO:337的多核苷酸序列的一个或多个。

[0763] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:133的重链可变序列或SEQ ID NO:134的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:338、SEQ ID NO:339和SEQ ID NO:340的多核苷酸序列的一个或多个。

[0764] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:131的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:331;编码SEQ ID NO:132的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:332:编码SEQ ID NO:133的重链可变序列的多核苷酸333;编码SEQ ID NO:134的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:334;编码SEQ ID NO:131的轻链可变序列或SEQ ID NO:132的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:335、SEQ ID NO:336和SEQ ID NO:337);以及编码SEQ ID NO:133的重链可变序列或SEQ ID NO:134的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:338、SEQ ID NO:339和SEQ ID NO:340)。

[0765] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab14而言,编码全长Ab14抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:132的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:332和编码SEQ ID NO:134的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:334,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0766] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab14的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab14或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab14多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0767] 抗体Ab15

[0768] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括

给所述个体施用抗体Ab15多肽)中,产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab15多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合而不显著抑制NGF与p75的缔合)的用途。本发明还涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:141的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0769] GCAGCCGTGCTGACCCAGACACCATCGCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGACACAGTCACCATCAAGTG CCAGTCCAGTCAGAGTGTTTATAAGAACAACTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTC CTGATCTATGATGCATCCAATCTGCCATCTGGGGTCCCATCACGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCA CTCTCACCATCAGCGGCGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGATTATGATGATGATACTGA TAATGGTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT(SEQ ID NO:341)。

[0770] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:142的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0771] GCAGCCGTGCTGACCCAGACACCATCGCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGACACAGTCACCATCAAGTG CCAGTCCAGTCAGAGTGTTTATAAGAACAACTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTC CTGATCTATGATGCATCCAATCTGCCATCTGGGGTCCCATCACGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCA CTCTCACCATCAGCGGCGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGATTATGATGATGATACTGA TAATGGTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG CACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:342)。

[0772] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:143的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0773] CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGT CTCTGGAATCGACCTCAGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGA ATCATTTGGAGTGGTGGCACCTACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGACCACGG TGGATCTGCAAATCACCAGTCCGACAACCGAGGACGCGGCCACCTATTTCTGTGCCGCAGGTGGTGGTAGTATTTA TGATGTTTGGGGCCCGGGCACCCTGGTCACCGTCTCGAGC(SEQ ID NO:343)。

[0774] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:144的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0775] CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGT CTCTGGAATCGACCTCAGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGA ATCATTTGGAGTGGTGGCACCTACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGACCACGG TGGATCTGCAAATCACCAGTCCGACAACCGAGGACGCGGCCACCTATTTCTGTGCCGCAGGTGGTGGTAGTATTTA TGATGTTTGGGGCCCGGGCACCCTGGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA cCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA CGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTA CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAG

CACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGAC
CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC
GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA
CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCAT
CGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAG
ATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA
GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAG
CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC
AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:344)。

[0776] 在本发明的其它实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:141的轻链可变序列或SEQ ID NO:142的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:345、SEQ ID NO:346和SEQ ID NO:347的多核苷酸序列的一个或多个。

[0777] 在本发明的其它实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:143的重链可变序列或SEQ ID NO:144的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:348、SEQ ID NO:349和SEQ ID NO:350的多核苷酸序列的一个或多个。

[0778] 本发明还涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:141的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:341;编码SEQ ID NO:142的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:342:编码SEQ ID NO:143的重链可变序列的多核苷酸343;编码SEQ ID NO:144的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:344;编码SEQ ID NO:141的轻链可变序列或SEQ ID NO:142的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:345、SEQ ID NO:346和SEQ ID NO:347);以及编码SEQ ID NO:143的重链可变序列或SEQ ID NO:144的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:348、SEQ ID NO:349和SEQ ID NO:350)。

[0779] 在本发明的优选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab15而言,编码全长Ab15抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:142的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:342和编码SEQ ID NO:144的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:344,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0780] 本发明的另一个实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸

后Ab15的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab15或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab15多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0781] 抗体Ab16

[0782] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab16多肽)中,产生用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab16多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合而不显著抑制NGF与p75的缔合)的用途。本发明还涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:151的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0783] GCCCTGGTGATGACCCAGACTCCATCCTCCACGTCTGAACCAGTGGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCTAGTCAGAATATTGGTAACGACCTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCGAGCTCCTAATCTATTCTACATCCAAACTGGCAACTGGGGTCCCAAAGCGGTTCAGTGGCAGCAGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGTGTTTATAGTTATATTAGTGATGATGGTAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT(SEQ ID NO:351)。

[0784] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:152的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0785] GCCCTGGTGATGACCCAGACTCCATCCTCCACGTCTGAACCAGTGGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCTAGTCAGAATATTGGTAACGACCTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCGAGCTCCTAATCTATTCTACATCCAAACTGGCAACTGGGGTCCCAAAGCGGTTCAGTGGCAGCAGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGTGTTTATAGTTATATTAGTGATGATGGTAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:352)。

[0786] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:153的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0787] CAGTCGGTGGAGGAGTTCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGATTCTCCCTCAATAACTATGCAATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGGATCATTGGTAGTATTGGTACCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCTTCATCTCCAAAACCTCGACCACTGTGGATCTGAAAATCATTAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGATGCTGGCGTTACTGTTGATGGTTATGGCTACTACTTTAACATCTGGGGCCCAGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGC(SEQ ID NO:353)。

[0788] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:154的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0789] CAGTCGGTGGAGGAGTTCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACCGT

CTCTGGATTCTCCCTCAATAACTATGCAATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGG
ATCATTGGTAGTATTGGTACCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCTTCATCTCCAAAACCTCGACCA
CTGTGGATCTGAAAATCATTAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGATGCTGGCGTTAC
TGTTGATGGTTATGGCTACTACTTTAACATCTGGGGCCCAGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA
AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGC
TGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC
TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAA
CTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAA
GGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC
AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCA
CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTC
CAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC
ACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA
GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTC
CGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:354)。

[0790] 在本发明的其它实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:151的轻链可变序列或SEQ ID NO:152的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:355、SEQ ID NO:356和SEQ ID NO:357的多核苷酸序列的一个或多个。

[0791] 在本发明的其它实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:153的重链可变序列或SEQ ID NO:154的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:358、SEQ ID NO:359和SEQ ID NO:360的多核苷酸序列的一个或多个。

[0792] 本发明还涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:151的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:351;编码SEQ ID NO:152的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:352:编码SEQ ID NO:153的重链可变序列的多核苷酸353;编码SEQ ID NO:154的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:354;编码SEQ ID NO:151的轻链可变序列或SEQ ID NO:152的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:355、SEQ ID NO:356和SEQ ID NO:357);以及编码SEQ ID NO:153的重链可变序列或SEQ ID NO:154的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:358、SEQ ID NO:359和SEQ ID NO:360)。

[0793] 在本发明的优选实施方案中，本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸，或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab16而言，编码全长Ab16抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:152的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:352和编码SEQ ID NO:154的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:354，或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0794] 本发明的另一个实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中，或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中，Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab16的酶促降解(例如，木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中，抗-NGF抗体例如Ab16或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab16多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0795] 抗体Ab17

[0796] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab17多肽)中，产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab17多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合而不显著抑制NGF与p75的缔合)的用途。本发明还任选地涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:161的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0797] GCCATCGAAATGACCCAGACTCCATTCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAAGTGCCAGGCCAGTCAGACCATTAGCAACTACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAATCTGGAATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCAACAGGGTTATACTATCAGTAATGTTGATAACAATGTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT(SEQ ID NO:361)。

[0798] 在本发明的一个任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:162的轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0799] GCCATCGAAATGACCCAGACTCCATTCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCAAGTGCCAGGCCAGTCAGACCATTAGCAACTACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAATCTGGAATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCAACAGGGTTATACTATCAGTAATGTTGATAACAATGTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:362)。

[0800] 在本发明的另一个任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:163的可变重链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0801] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGGGATCCCTGACACTCACCTGCGCAGC

CTCTGGATTCTCCCTCACTGGCTACAACTTGGTCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGA
TTCATTAGTTATGGTGATACCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGACCA
CGGTGACTCTGACGATCACCGATCTGCAACCTTCAGACACGGGCACCTATTTCTGTGCCAGAGAGACTGCTAATAC
TTATGATTATGGCATCTGGGGCCCAGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGC(SEQ ID NO:363)。

[0802] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:164的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0803] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGGGATCCCTGACACTCACCTGCGCAGC
CTCTGGATTCTCCCTCACTGGCTACAACTTGGTCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGA
TTCATTAGTTATGGTGATACCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGACCA
CGGTGACTCTGACGATCACCGATCTGCAACCTTCAGACACGGGCACCTATTTCTGTGCCAGAGAGACTGCTAATAC
TTATGATTATGGCATCTGGGGCCCAGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC
CCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCG
AACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTC
AGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG
AATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCAC
CGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaT
CTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC
GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCA
GCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC
AGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCC
CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG
AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT
CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG
GCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:364)。

[0804] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:161的轻链可变序列或SEQ ID NO:162的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:365、SEQ ID NO:366和SEQ ID NO:367的多核苷酸序列的一个或多个。

[0805] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:163的重链可变序列或SEQ ID NO:164的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:368、SEQ ID NO:369和SEQ ID NO:370的多核苷酸序列的一个或多个。

[0806] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:161的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID

NO:361;编码SEQ ID NO:162的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:362:编码SEQ ID NO:163的重链可变序列的多核苷酸363;编码SEQ ID NO:164的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:364;编码SEQ ID NO:161的轻链可变序列或SEQ ID NO:162的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:365、SEQ ID NO:366和SEQ ID NO:367);以及编码SEQ ID NO:163的重链可变序列或SEQ ID NO:164的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:368、SEQ ID NO:369和SEQ ID NO:370)。

[0807] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab17而言,编码全长Ab17抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:162的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:362和编码SEQ ID NO:164的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:364,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0808] 本发明的另一个实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的任选实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab17的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab17或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab17多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0809] 抗体Ab18

[0810] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab18多肽)中,产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab18多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:171的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0811] gacatccagatgacccagtctccttccaccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgtCAGGCtAGTCAGACCATTAGCAACTACTTAGCCtggtatcagcagaaaccaggaaaagcccctaagctcctgatctatGGTGCATCCAATCTGGAATCTggagtcccatcaaggttcagcggcagtggatctggaacagaattcactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttactactgtCAACAGGGTTATACTATCAGTAATGTTGATAACAATGTTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt(SEQ ID NO:371)。

[0812] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:172的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0813] gacatccagatgacccagtctccttccaccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgtCAGGCtAGTCAGACCATTAGCAACTACTTAGCCtggtatcagcagaaaccaggaaaagcccctaagctcctgatctatGGTGCATCCAATCTGGAATCTggagtcccatcaaggttcagcggcagtggatctggaacagaattcactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttactactgtCAACAGGGTTATACTATCAGTAATGTTGATAACAATGTTttcggcggaggaaccaaggtggaaaTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG

TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG CACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:372)。

[0814] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:173的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0815] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgc agcctctggattcaccgtcagtGGCTACAACTTGGTCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtc GGATTCATTAGTTATGGTGATACCACATACTACGCtAGCTCTGCTAAAGGCcgattcaccatctccagagacaatt ccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtgctagaGAGAC TGCTAATACTTATGATTATGGCATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGC(SEQ ID NO:373)。

[0816] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:174的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0817] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgc agcctctggattcaccgtcagtGGCTACAACTTGGTCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtc GGATTCATTAGTTATGGTGATACCACATACTACGCtAGCTCTGCTAAAGGCcgattcaccatctccagagacaatt ccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtgctagaGAGAC TGCTAATACTTATGATTATGGCATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCA TCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACA CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACC GTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAA AGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACA TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGG CTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTG ATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:374)。

[0818] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:171的轻链可变序列或SEQ ID NO:172的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:375、SEQ ID NO:376和SEQ ID NO:377的多核苷酸序列的一个或多个。

[0819] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:173的重链可变序列或SEQ ID NO:174的重链

序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:378、SEQ ID NO:379和SEQ ID NO:380的多核苷酸序列的一个或多个。

[0820] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:171的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:371;编码SEQ ID NO:172的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:372:编码SEQ ID NO:173的重链可变序列的多核苷酸373;编码SEQ ID NO:174的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:374;编码SEQ ID NO:171的轻链可变序列或SEQ ID NO:172的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:375、SEQ ID NO:376和SEQ ID NO:377);以及编码SEQ ID NO:173的重链可变序列或SEQ ID NO:174的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:378、SEQ ID NO:379和SEQ ID NO:380)。

[0821] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab18而言,编码全长Ab18抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:172的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:372和编码SEQ ID NO:174的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:374,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0822] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab18的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab18或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab18多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0823] 抗体Ab19

[0824] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab19多肽)中,产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab19多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还任选地涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:181的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0825] GCCGCCGTGCTGACCCAGACTCCATCTCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCAGCATCAGTTGCCAGTCCAGTCAGAATGTTTATAAGAACAACTATTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTACAAGGCTTCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGCTGCTGCCACTTACTACTGTGCAGGCGGTTATAGTAGTAGTAGTGATAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT(SEQ ID NO:381)。

[0826] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:

182的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0827] GCCGCCGTGCTGACCCAGACTCCATCTCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCAGCATCAGTTG CCAGTCCAGTCAGAATGTTTATAAGAACAACTATTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTC CTGATCTACAAGGCTTCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA CTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGCTGCTGCCACTTACTACTGTGCAGGCGGTTATAGTAGTAGTAGTGA TAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG CACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:382)。

[0828] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:183的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0829] CAGTCGGTGGAGGCGTCCGGGGGTCGTCTGGTCATGCCTGGAGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGC CTCTGGATTCTCCCTCAGTACCTACTGGATGTCCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGA GACATTTATTTTAGTAATGAGGAAACAAACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTTACCATCTCCAAAACCTCGA CCACGGTGGATCTGAATGTCATCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCAAGAGGTTCTCCTGA TGTTGAGATTGCTATAGATATGTGGGGCCAGGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGC(SEQ ID NO:383)。

[0830] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:184的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0831] CAGTCGGTGGAGGCGTCCGGGGGTCGTCTGGTCATGCCTGGAGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGC CTCTGGATTCTCCCTCAGTACCTACTGGATGTCCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGA GACATTTATTTTAGTAATGAGGAAACAAACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTTACCATCTCCAAAACCTCGA CCACGGTGGATCTGAATGTCATCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCAAGAGGTTCTCCTGA TGTTGAGATTGCTATAGATATGTGGGGCCAGGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACA GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCT CATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTG TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCC CCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:384)。

[0832] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以

下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:181的轻链可变序列或编码SEQ ID NO:182的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:385、SEQ ID NO:386和SEQ ID NO:387的多核苷酸序列的一个或多个。

[0833] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:183的重链可变序列或SEQ ID NO:184的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:388、SEQ ID NO:389和SEQ ID NO:390的多核苷酸序列的一个或多个。

[0834] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:181的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:381;编码SEQ ID NO:182的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:382:编码SEQ ID NO:183的重链可变序列的多核苷酸383;编码SEQ ID NO:184的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:384;编码SEQ ID NO:181的轻链可变序列或SEQ ID NO:182的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:385、SEQ ID NO:386和SEQ ID NO:387);以及编码SEQ ID NO:183的重链可变序列或SEQ ID NO:184的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:388、SEQ ID NO:389和SEQ ID NO:390)。

[0835] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab19而言,编码全长Ab19抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:182的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:382和编码SEQ ID NO:184的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:384,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0836] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的任选实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab19的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab19或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab19多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0837] 抗体Ab20

[0838] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab20多肽)中,产生用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab20多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还任选地涉及编码具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:191的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0839] gacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttg cCAGTCCAGTCAGAATGTTTATAAGAACAACTACTTATCCtggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctc ctgatctatAAGGCATCCACTCTGGCATCTggggtcccatctcgtttcagtggcagtggatctgggacagatttca ctctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtGCAGGCGGTTATACCAGTAGTAGTGA TAATGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt(SEQ ID NO:391)。

[0840] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:192的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0841] gacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttg cCAGTCCAGTCAGAATGTTTATAAGAACAACTACTTATCCtggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctc ctgatctatAAGGCATCCACTCTGGCATCTggggtcccatctcgtttcagtggcagtggatctgggacagatttca ctctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtGCAGGCGGTTATACCAGTAGTAGTGA TAATGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaaTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG CACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:392)。

[0842] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:193的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0843] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgc agcctctggattcaccgtcagtACCTACTGGATGAGCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtc ggaGACATTTAcTTTAGTAATGAAGAAACAAACTACGCGACCAGCGCGAAAGGCcgattcaccatctccagagaca attccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtgctagaGG TTCTCCTGATGTTGAGATTGCTATAGATATGtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGC(SEQ ID NO:393)。

[0844] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:194的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0845] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgc agcctctggattcaccgtcagtACCTACTGGATGAGCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtc ggaGACATTTAcTTTAGTAATGAAGAAACAAACTACGCGACCAGCGCGAAAGGCcgattcaccatctccagagaca attccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtgctagaGG TTCTCCTGATGTTGAGATTGCTATAGATATGtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAG GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGC TGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAA CTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAA GGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCA CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTC

CAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC ACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTC CGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ ID NO:394)。

[0846] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:191的轻链可变序列或SEQ ID NO:192的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:395、SEQ ID NO:396和SEQ ID NO:397的多核苷酸序列的一个或多个。

[0847] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:193的重链可变序列或SEQ ID NO:194的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:398、SEQ ID NO:399和SEQ ID NO:400的多核苷酸序列的一个或多个。

[0848] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:191的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:391;编码SEQ ID NO:192的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:392:编码SEQ ID NO:193的重链可变序列的多核苷酸393;编码SEQ ID NO:194的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:394;编码SEQ ID NO:191的轻链可变序列或SEQ ID NO:192的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:395、SEQ ID NO:396和SEQ ID NO:397);以及编码SEQ ID NO:193的重链可变序列或SEQ ID NO:194的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:398、SEQ ID NO:399和SEQ ID NO:400)。

[0849] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab20而言,编码全长Ab20抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:192的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:392和编码SEQ ID NO:194的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:394,或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0850] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中,或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中,Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab20的酶促降解(例如,木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中,抗-NGF抗体例如Ab20或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中

表达Ab20多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0851] 抗体Ab21

[0852] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab21多肽)中,产生具有对于NGF的结合特异性的抗体Ab21多肽(所述抗体多肽抑制NGF与TrkA的缔合和NGF与p75的缔合)的用途。本发明还任选地涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体多肽的多核苷酸。在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:51的可变轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0853] gacatccagatgacccagtctccttccaccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcCAGGCCAGTCAGAGCATTTACAGCAATcttGCCtggtatcagcagaaaccaggaaaagcccctaagctcctgatctatGATGCATCCACTCTGGAATCTggagtcccatcaaggttcagcGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttactactgcCAACAGGGTTTTACTGTTAGTGATATTGATAATGCTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt(SEQ ID NO:251)。

[0854] 在本发明的一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:401的轻链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0855] GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCCAGTCAGAGCATTTACAGCAATCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCACTCTGGAATCTGGAGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTACTACTGCCAACAGGGTTTTACTGTTAGTGATATTGATAATGCTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ ID NO:403)。

[0856] 在本发明的另一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:53的可变重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0857] gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccgtcagtAACTATGCAGTGGGCtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtcGGAATCATTGGTCGTAATGGTAACACATGGTACGCGAGCtctGCAAGAGGCcgattcaccatctccagagacaattccaagaacaccctgtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtattactgtgctagaGGATATGGCCGTAGTGTTGCTTATTACGTCTTTAACATCtggggcccagggaccctcgtcaccgtcTCGAGC(SEQ ID NO:253)。

[0858] 在本发明的一个任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:402的重链多肽序列的多核苷酸序列,或可选择地由所述多核苷酸序列组成:

[0859] GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCGTCAGTAACTATGCAGTGGGCTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAATCATTGGTCGTAATGGTAACACATGGTACGCGAGCTCTGCAAGAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACCCTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTACTGTGCTAGAGGATATGGCCGTAGTGTTGCTTACTACGTCTTTAACATCTGGGGCCCAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACC

AAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGG
TCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC
GGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA
AAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACC
CAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG
GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCA
GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT
CTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG
TACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC
CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA
CTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA(SEQ
ID NO:404)。

[0860] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:51的轻链可变序列或SEQ ID NO:401的轻链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256和SEQ ID NO:257的多核苷酸序列的一个或多个。

[0861] 在本发明的其它任选实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸,包含以下多核苷酸序列或可选择地由以下多核苷酸序列组成:对应于编码SEQ ID NO:53的重链可变序列或SEQ ID NO:402的重链序列的互补性决定区(CDR,或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:258、SEQ ID NO:259和SEQ ID NO:260的多核苷酸序列的一个或多。

[0862] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成:编码SEQ ID NO:51的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:251;编码SEQ ID NO:401的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:403:编码SEQ ID NO:53的重链可变序列的多核苷酸253;编码SEQ ID NO:402的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:404;编码SEQ ID NO:51的轻链可变序列或SEQ ID NO:401的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256和SEQ ID NO:257);以及编码SEQ ID NO:53的重链可变序列或SEQ ID NO:402的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:258、SEQ ID NO:259和SEQ ID NO:260)。

[0863] 在本发明的优选任选实施方案中,本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸,或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体Ab21而言,编码全长Ab21抗体的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:401的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:403和编码SEQ ID NO:402的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:404,或可选择地

由所述多核苷酸组成。

[0864] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中，或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的任选实施方案中，Fab片段可通过在于适当的宿主中表达全长多核苷酸后Ab21的酶促降解(例如，木瓜蛋白酶)产生。在本发明的另一个实施方案中，抗-NGF抗体例如Ab21或其Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK 293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Ab21多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0865] 抗体片段Fab2

[0866] 本发明还任选地涉及下文中所示的多核苷酸用于在治疗个体的疼痛的方法(包括给所述个体施用抗体Ab1多肽)中，产生用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段Fab2多肽(所述抗体片段Fab2多肽抑制NGF与TrkA和p75的缔合)的用途。本发明还涉及编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段多肽的多核苷酸。在本发明的一个任选实施方案中，本发明的Fab多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:407的轻链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0867] GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCCAGTCAGAGCATTTACAGCAATCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCACTCTGGAATCTGGAGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTACTACTGCCAACAGGGTTTTACTGTTAGTGATATTGATAATGCTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG(SEQ IDNO:409)。

[0868] 在本发明的另一个任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含以下编码SEQ ID NO:408的重链多肽序列的多核苷酸序列，或可选择地由所述多核苷酸序列组成：

[0869] GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCGTCAGTAACTATGCAGTGGGCTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAATCATTGGTCGTAATGGTAACACATGGTACGCGAGCTCTGCAAGAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACCCTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTACTGTGCTAGAGGATATGGCCGTAGTGTTGCTTACTACGTCTTTAACATCTGGGGCCCAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACTAG(SEQ ID NO:410)。

[0870] 在本发明的其它任选实施方案中，编码具有对于NGF的结合特异性的Fab抗体片段

的多核苷酸，包含以下多核苷酸序列：对于应编码SEQ ID NO:51的轻链可变序列或SEQ ID NO:409的轻链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256和SEQ ID NO:257的多核苷酸序列的一个或多个。

[0871] 在本发明的其它任选实施方案中，编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的Fab抗体片段的多核苷酸，包含以下多核苷酸序列：对应于编码SEQ ID NO:53的重链可变序列或SEQ ID NO:410的重链序列的互补性决定区(CDR，或高变区)的多核苷酸的SEQ ID NO:258、SEQ ID NO:259和SEQ ID NO:260的多核苷酸序列的一个或多个。

[0872] 本发明还任选地涉及包括编码本文中描述的用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的抗体片段的多核苷酸序列的一个或多个的多核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中，编码用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况的具有对于NGF的结合特异性的抗体片段的多核苷酸包含以下编码抗体片段的多核苷酸的一个、二个、三个或更多个(包括其全部)或可选择地由以下多核苷酸组成：编码SEQ ID NO:51的轻链可变序列的多核苷酸SEQ ID NO:251；编码SEQ ID NO:407的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:409：编码SEQ ID NO:53的重链可变序列的多核苷酸253；编码SEQ ID NO:408的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:410；编码SEQ ID NO:51的轻链可变序列或SEQ ID NO:407的轻链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256和SEQ ID NO:257)；以及编码SEQ ID NO:53的重链可变序列或SEQ ID NO:408的重链序列的互补性决定区的多核苷酸(SEQ ID NO:258、SEQ ID NO:259和SEQ ID NO:260)。

[0873] 在本发明的优选任选实施方案中，本发明的多核苷酸包含编码具有对于NGF的结合特异性的Fab(片段抗原结合)片段的多核苷酸，或可选择地由所述多核苷酸组成。就抗体片段Fab2而言，编码全长Fab片段的多核苷酸包含编码SEQ ID NO:407的轻链序列的多核苷酸SEQ ID NO:409和编码SEQ ID NO:408的重链序列的多核苷酸SEQ ID NO:410，或可选择地由所述多核苷酸组成。

[0874] 本发明的另一个任选实施方案涉及这些被整合到用于在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK-293细胞中，或真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如毕赤酵母)中表达的表达载体的多核苷酸。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。在本文(下文)中描述的本发明的一个实施方案中，Fab片段可通过在哺乳动物细胞例如CHO、NSO或HEK293细胞、真菌、昆虫、植物或微生物系统例如酵母细胞(例如二倍体酵母例如二倍体毕赤酵母)和其它酵母菌株中表达Fab2多核苷酸来产生。适当的毕赤酵母的种包括但不限于巴斯德毕赤酵母。

[0875] 在一个实施方案中，本发明任选地涉及分离的多核苷酸，所述多核苷酸包含编码选自SEQ ID NO:3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、133、143、153、163、173、183、193或402的抗-NGF V_H抗体氨基酸序列或编码其变体的多核苷酸，在所述变体中至少一个框架残基(FR残基)已被存在于兔抗-NGF抗体V_H多肽中的对应位置上的氨基酸置换或已进行了保守氨基酸置换。

[0876] 在另一个任选实施方案中，本发明涉及分离的多核苷酸，所述多核苷酸包含编码1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171、181、191或401的抗-NGF V_L抗体氨基酸序列，或编码其变体的多核苷酸序列，在所述变体中，至少一个框架

残基(FR残基)已被存在于兔抗-NGF抗体V_L多肽中的对应位置上的氨基酸置换或已进行了保守氨基酸置换。

[0877] 在另一个任选实施方案中,本发明涉及一个或多个异源多核苷酸,所述多核苷酸包含编码SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:411和SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:51和SEQ ID NO:53,SEQ ID NO:61和SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:71和SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:91和SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:111和SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:121和SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:131和SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:141和SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:151和SEQ ID NO:153、SEQ ID NO:161和SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:171和SEQ ID NO:173、SEQ ID NO:181和SEQ ID NO:183、SEQ ID NO:191和SEQ ID NO:193或SEQ ID NO:401和SEQ ID NO:403中包含的多肽的序列。

[0878] 在另一个任选实施方案中,本发明任选地涉及分离的多核苷酸,所述多核苷酸表达包含至少一个来源于抗-NGF抗体的CDR多肽的多肽,其中所述表达的多肽单独地特异性结合NGF或当与另一个多核苷酸序列结合表达时特异性结合NGF,所述另一个多核苷酸序列表达包含至少一个来源于抗-NGF抗体(所述抗体用于治疗或预防疼痛和疼痛相关病况)的CDR多肽的多肽,其中所述至少一个CDR选自SEQ ID NO:1、3、11、13、21、23、31、33、41、43、51、53、61、63、71、73、81、83、91、93、101、103、111、113、121、123、131、133、141、143、151、153、161、163、171、173、181、183、191、193、401或SEQ ID NO:403的V_L或V_H多肽中包含的那些CDR。

[0879] 还涉及包含所述多核苷酸的宿主细胞和载体。

[0880] 本发明还任选地涉及包含编码可变重链和轻链多肽序列以及单个互补性决定区(CDR,或高变区)(如本文中所示的)的多核苷酸序列的载体,以及包含所述载体序列的宿主细胞。在本发明的一个实施方案中,宿主细胞是酵母细胞。在本发明的另一个实施方案中,酵母宿主细胞属于毕赤酵母属。

实施例

[0881] 以下实施例被提供来为本领域技术人员提供如何制备和使用本发明的完整公开内容和说明,并且无意限定被当作本发明的内容的范围。已进行了努力来确保使用的数值(例如量、温度、浓度等)的准确性,但应当允许一定的实验误差和偏差。除非另有所指,否则部分是按重量计的部分,分子量是平均分子量,温度以摄氏度表示;并且压力为大气压或接近大气压。

[0882] 实施例1

[0883] 本实施例描述了改善从培养的巴斯德毕赤酵母细胞产生的重组抗体的纯度的培养方法。当在培养过程中添加大剂量乙醇时,所得的抗体显示不期望的产物相关变体的浓度的极大降低。

[0884] 方法

[0885] 为了产生接种物,使用由以下营养物(以w/v给出百分比)组成的培养基培养二倍体巴斯德毕赤酵母:酵母提取物3%、无水葡萄糖2%、YNB 1.34%、生物素0.004%和100mM

磷酸钾(pH 6.0)。用于运行L355、L357、L358、L359和L360的接种培养基由以下营养物(以w/v给出百分比)组成:酵母提取物3%、甘油2%、YNB 1.34%、生物素0.004%、200mM磷酸钾(pH 6.0)。将接种物在30℃和300rpm于振荡培养箱中生长约24至29小时。随后将10%的接种物添加至含有1L无菌生长培养基的Labfors 2.5L工作体积容器中。生长培养基由以下营养物组成:硫酸钾18.2g/L、磷酸二氢铵36.4g/L、磷酸氢二钾12.8g/L、硫酸镁七水合物3.72g/L、柠檬酸钠二水合物10g/L、甘油40g/L、酵母提取物30g/L、PTM1痕量金属4.35mL/L和止泡剂204 1.67mL/L。PTM1痕量金属溶液由以下成分组成:硫酸铜五水合物6g/L、碘化钠0.08g/L、硫酸锰水合物3g/L、钼酸钠水合物0.2g/L、硼酸0.02g/L、氯化钴0.5g/L、氯化锌20g/L、硫酸亚铁七水合物65g/L、生物素0.2g/L和硫酸5mL/L。酵母菌株经工程化以从4个整合的基因组拷贝的重链编码序列(SEQ ID NO:441)和3个拷贝的轻链编码序列(SEQ ID NO:440)表达Ab-A抗体。将重链基因拷贝整合到pGAP基因座(3个拷贝)和HIS4 TT基因座(1个拷贝),同时将3个轻链基因拷贝整合到pGAP基因座。抗体链基因拷贝各自处于GAP启动子的控制之下。生物反应器过程控制参数设置如下:搅拌1000rpm、气流1.35标准升/分钟、温度28℃,使用氢氧化铵控制pH(为6)。不提供氧气补充。

[0886] 在添加接种物后,将发酵培养物生长约12至16小时(“生长期”)。当培养基中的初始甘油被消耗时,生长期终止,这可通过溶解氧(“DO”)剧增(溶解氧浓度的突然增加)来检测。随后将培养物在运行L306的溶解氧剧增后饥饿约3小时。对于其它运行,在DO剧增后立即添加大剂量乙醇。随后将大剂量乙醇添加至反应器以提供1%乙醇(w/v)的终浓度。同样地处理对照培养物,除省略大剂量乙醇添加外。使发酵培养物平衡15至30分钟(“平衡期”)。平衡期后,以30g/L/hr的恒定速率添加进料40分钟(“转化期”)。对于余下的培养物(“生产期”),使用乙醇传感探针(Raven Biotech)检测乙醇浓度,所述探针用于控制进料速度,当乙醇浓度低于设置点时将进料速度设置在15g/L/hr,或当乙醇浓度高于设置点时将进料速度设置在7.5g/L/hr。在其中15g/L/hr的高进料速率不足以高至将乙醇维持在设置点(这在L315发酵运行中发生)的情况下,将高进料速度设置至22.5g/L/hr,同时将低进料速度设置至15g/L/hr。无论大剂量乙醇是否已被添加至培养物(通过酵母产生乙醇使得达到设置点而无需添加大剂量乙醇),相同的设置点得以维持。进料由以下组分组成:酵母提取物50g/L,无水葡萄糖500g/L,硫酸镁七水合物3g/L,PTM1痕量金属12mL/L和柠檬酸钠二水合物0.5g/L。这些实验的总发酵时间通常为85小时至97小时,虽然也可使用更长和更短的时间。

[0887] 在生产期后,向发酵培养物中分别添加PEI(聚乙烯亚胺)和EDTA(乙二胺四乙酸)至0.05%w/v和3mM的终浓度。随后在离心机中离心培养物,通过蛋白A亲和从培养上清液纯化抗体。简而言之,用相同体积的平衡缓冲液(20mM组氨酸pH6)稀释约20mL的来自收获的发酵液的0.2μ澄清的上清液。随后将20mL的该稀释发酵液加载至预平衡的1mL HiTrap MabSelect Sure柱(GE,Piscataway,NJ)上。随后使用40倍柱体积的平衡缓冲液洗涤柱子。使用不连续梯度将结合至柱子的抗体洗脱至100%洗脱缓冲液(100mM柠檬酸pH 3.0)中。收集1mL级分,立即使用100μL的2M Tris缓冲液pH 8.0中和。通过测量280nM处的吸光度来测定含蛋白质级分,将含蛋白质级分汇合。

[0888] 利用SDS-PAGE分析蛋白A纯化的抗体的纯度。对于非还原样品,按照制造商的说明书,使用含有4%-12%聚丙烯酰胺梯度的预铸聚丙烯酰胺凝胶(NuPAGE® Bis-Tris Gels),使用NuPAGE® MES SDS电泳缓冲液和NuPAGE® LDS样品缓冲液(全部来自

Invitrogen,Carlsbad,Ca.)进行SDS-PAGE。随后通过考马斯蓝染色显现蛋白质。除在上样前按照制造商的制造商的说明书使用NuPAGE®样品还原剂(Invitrogen,Carlsbad,Ca.)还原样品外,以相同方式处理还原样品。

[0889] 结果

[0890] 为了测定大剂量乙醇添加在培养过程中对抗体纯度的作用,在生长期结束时和生产期之前,在添加或不添加大剂量的乙醇至1%(10g/L)的终浓度的情况下从酵母培养物产生抗体Ab-A。生产期持续97小时(图1)、87小时(图2)或86小时(图3)。随后从培养基收集每一个培养物产生的抗体,通过蛋白A亲和层析进行纯化。

[0891] 将SDS-PAGE用于检测完全抗体、"半抗体"或H1L1复合物(包含一个重链和一个轻链)和H2L1复合物(包含两个重链和一个轻链)的相对丰度。在添加大剂量乙醇的情况下产生的H1L1和H2L1复合物的丰度在培养物中显著降低。该改善在图1A中显示的3个实验中得以重现,将泳道2和3(具有大剂量)与5(无大剂量)相比较;图2A,将泳道2(具有大剂量)与3(无大剂量)相比较;图3A,将泳道2和4(具有大剂量)与泳道5-7(无大剂量)相比较。在还原条件下,将H1L1、H2L1和完全抗体种类各自分离成单个重链和轻链,从而将75kDa条带的身份确认为由通过二硫键连接的一个轻链和一个重链组成(图1B和2B;泳道顺序分别与图1A和1B相同)。

[0892] 随后使用ImageJ定量H1L1种类的丰度的降低以沿着非还原凝胶的长度绘制凝胶条带密度(图1C-E和2C-D,分别地对应于图1A的泳道2、3和5以及图2A的泳道2和3,图3B对应于图3A的泳道2和4-6)。定量H1L1峰下面积,将结果制表于图1F、2E和3B中。基于这些测量,在抗体产生之前添加大剂量乙醇使75kDa条带的相对丰度降低约90%(图1A中),降低约85%(图2A中)和降低约87%(图3A中)。

[0893] 概括而言,这些结果显示通过向培养物中添加大剂量的乙醇,H1L1种类的浓度被大大降低,从而导致H1L1种类的产生减少约85%至90%。

[0894] 实施例2

[0895] 本实施例通过显示当在两种另外的抗体的生产过程中使用时,相同的方法产生相似的抗体纯度改善,扩展了实施例1中获得的结果。

[0896] 方法

[0897] 使用实施例1中描述的方法重组地产生抗体Ab-B和Ab-C。从经工程化包含4个拷贝的重链编码序列(SEQ ID NO:439)和3个拷贝的轻链编码序列(SEQ ID NO:438)的酵母菌株表达抗体Ab-C。从反应器采集样品,在67小时(T67)或87小时(T87)(对于Ab-B抗体)和86小时(T86)(对于Ab-C抗体)的总发酵时间后收集含抗体培养上清液,通过蛋白A亲和进行纯化,利用实施例1中描述的SDS-PAGE进行分析。

[0898] 结果

[0899] 在生长期结束时和在生产期之前,在添加或不添加大剂量乙醇至1%的终浓度的情况下,产生抗体Ab-B(图4)和Ab-C(图5)。对于在不添加大剂量乙醇的情况下产生的抗体,H1L1或半抗体种类以及H2L1种类各自被观察为明显的条带(图4A,泳道6和7;图4C,泳道6和7;图5A,泳道5和6)。对于在添加大剂量的乙醇的情况下产生的培养物,这些条带的强度被大大地减弱(图4A,泳道2-3;图4C,泳道2-3;图5A,泳道3)。在还原条件下,H1L1和H2L1条带被分离成单个重链和轻链,从而将这些种类的身份确认为由全长重链和轻链组成(图4B、4D

和5B;条带顺序分别与图4A、4D和5A中相同)。

[0900] 随后使用ImageJ定量H1L1种类的丰度的降低,以沿着非还原凝胶的长度绘制凝胶条带密度。图4E和4F分别将图4A(T67)和4C(T87)中显示的H1L1峰中包含的面积绘制成表,显示了大剂量乙醇添加产生图4A显示的早期时间点上的H1L1复合物的相对丰度的约73%的降低和图4C显示的晚期时间点上H1L1复合物的相对丰度的约34%的平均降低。类似地,图5C将图5A中显示的H1L1峰内包含的面积绘制成表,显示了大剂量乙醇添加导致H1L1复合物的相对丰度的61%的平均降低。

[0901] 概括而言,这些结果显示对于两个另外的对于不同的靶具有结合特异性的抗体,通过向培养物大剂量添加乙醇使得H1L1和H2L1种类的浓度降低约61%至73%。

[0902] 实施例3

[0903] 本实施例进一步描述通过在培养过程中添加大剂量的乙醇从培养的巴斯德毕赤酵母细胞产生的重组抗体的改善的纯度。除了极大地降低H1L1和H2L1种类的丰度外,本实施例还显示其它产物相关变体的浓度的降低。

[0904] 方法

[0905] 如实施例1和2中所述,从巴斯德毕赤酵母培养物制备和纯化重组抗体Ab-A、Ab-B和Ab-C。在生长期结束时和在生产期之前,在大剂量添加乙醇至1%(w/v)的终浓度的情况下和不添加大剂量乙醇的情况下产生抗体。为了分析蛋白A纯化的抗体制剂的纯度,使用尺寸排阻高效液相色谱(SE-HPLC)。简而言之,使用利用UV检测仪的Agilent(Santa Clara,CA)1200Series HPLC。为了进行样品分离,使用与来自Tosoh Bioscience(King of Prussia,PA)的TSKgel Guard SW_{XL}6x40mm连接的TSKgel 3000SW_{XL} 7.8x300mm柱子。以等度模式,利用0.5mL/min的流速将100mM磷酸钠、200mM氯化钠pH 6.5的溶液用作流动相,在UV 215nm处监测吸光度。在注射样品之前,平衡柱子直至获得稳定的基线。使用流动相将样品稀释至1mg/mL的浓度,注射30μL体积。为了监控柱子性能,使用BioRad(Hercules,CA)凝胶过滤标准。

[0906] 结果

[0907] 在酵母中表达实施例1中描述的Ab-A抗体制剂和使用相同方法产生的另外的制剂,通过蛋白A亲和进行纯化,使用尺寸排阻色谱法(SEC)进行分析其纯度。在使用的条件下,与完全抗体共洗脱(这被认为归因于半抗体的对之间的非共价缔合)的半抗体(H1L1)种类。然而,该方法允许评价相对于其它产物相关变体(例如具有异常化学计量、片段、糖基化形式和聚集体的这类复合物)的纯度。

[0908] 显示了未大剂量添加乙醇(图6A,6C和6E)或大剂量添加乙醇(图6B,6D和6F)的情况下产生的Ab-A样品的SE-HPLC数据。检测到由两个完全抗体(包含4个重链和4个轻链)的聚集体组成的产物相关变体(箭头),其丰度在大剂量添加的情况下产生的样品中平均起来降低。图7显示通过测定主峰(包含完全抗体)中包含的抗体制剂的百分比进行的Ab-A的纯度的定量。大剂量乙醇添加使主峰中包含的平均比分比从80.3%增加至90.6%。

[0909] 对实施例2中描述的Ab-B和Ab-C抗体制剂进行相似的分析,分别于图8和9中进行定量。Ab-B抗体的总体纯度得以改善,主峰中的平均分数在T67时从76%增加至79%(),以及在T87时从60%增加至73%。对于Ab-C抗体,在通过该方法评估的抗体纯度上几乎不存在可检测的差异,这显然归因于即使在不进行大剂量添加的情况下Ab-C抗体的高初始纯度。

[0910] 概括而言，这些结果显示向培养物中大剂量添加乙醇，除半抗体种类以外，还可降低其它产物相关变体的浓度。

[0911] 实施例4

[0912] 本实施例描述了75kDa产物相关变体的身份为仅包含一个抗体重链和一个抗体轻链的半抗体种类的进一步确认。该假说基于若干观察。首先，75kDa条带存在于蛋白A纯化的样品(参见实施例1)中，表明其包含抗体重链的至少蛋白A结合部分。其次，75kDa条带在通过SDS-PAGE(参见，例如，图1A，泳道2-3)分析的非还原样品中占优势，但在还原条件下相同样品不包含具有可比较的强度的任何条带(除预期的轻链和重链外)，这表明75kDa条带不包括除抗体重链和轻链(或其它具有相同电泳迁移率的种类)外的任何组分。第三，75kDa条带从还原样品的消失还表明其组分通过至少一个二硫键连接。第四，SEC分析已显示75kDa种类与完全抗体的共洗脱，从而强烈地表明75kDa种类可非共价地自我缔合，以形成完全抗体(或具有相同表观流体力学半径的另一种复合物)。最后，约75kDa的表观分子量(通过参照电泳标准测定的)，连同该复合物仅由全长抗体链构成的观察(来自变性凝胶)一起，与仅包含一个重链和一个轻链的复合物一致，但与其它复合物不一致。

[0913] 方法

[0914] 将质谱法用于检测不同样品中的不存在重链间二硫键(通过在氨基酸220和223上发现的)的重链的相对丰度。将250微克的每一种样品添加至Eppendorf管。将适当量(～450μL)的变性缓冲液(6M盐酸胍、1mM EDTA、0.25M Tris，pH 7.5)添加至管以获得500μL的终体积和0.5mg/mL的样品浓度。将12.5微升的2M碘乙酰胺添加至每一种样品中以烷基化任何游离半胱氨酸。随后涡旋样品，在室温下于黑暗中温育30±5分钟。随后使用利用消化缓冲液(0.1M Tris-HCl，pH 7.5)预平衡的NAP-5柱对样品进行脱盐。将每一种样品溶液添加至分离(预平衡的)柱，使其进入柱床。将1毫升消化缓冲液添加至每一个体积，将洗脱液收集在Eppendorf管中。将样品分成含有约50μg材料的相同等分试样(5个200μL的等分试样)。将烷基化和脱盐的等分试样在-20℃贮存直至使用。将1个等分试样的每一种样品(烷基化的和脱盐的)用于每一次消化。以1:25w:w的胰蛋白酶:蛋白质(4μL)将0.5mg/mL的胰蛋白酶溶液添加至每一个样品等分试样。将全部胰蛋白酶管在37±2℃温育4小时。温育后，通过向每一个管中添加1μL三氟乙酸来淬灭酶促消化。随后将样品分成两个相同的部分(用于还原和非还原反应)。在1M DTT存在的情况下，将一半样品在37±2℃还源1小时。将还原和非还原样品的内容物转移至HPLC小瓶，置于自动采样器中以进行分析。

[0915] 在以阳离子模式使用电喷射离子化(ESI)的Micromass Q-TOF Ultima质谱仪上收集MS和MS/MS数据。以MS模式从m/z 200-1950获得数据。在分析前，使用对覆盖范围从m/z 175至1285的[Glu^1]-血纤蛋白肽的碎片离子的5阶拟合校准质谱仪。调整注射体积以获得约20皮摩的蛋白质的柱上负荷。

[0916] 结果

[0917] 基于上述观察，申请人假设75kDa条带是包含通过二硫键彼此共价连接的一个抗体重链和一个抗体轻链的“半抗体”种类，并且成对的半抗体复合物可非共价地缔合以形成具有与完全抗体(两个重链和两个轻链)相同的化学计量但在两个重链之间不存在二硫键(“未连接的重链”)的复合物。在此基础上，可预测75kDa条带的相对丰度可与未连接的重链的相对比例(通过使用胰蛋白酶消化的抗体样品的质谱分析测定的)相关。

[0918] 用于本研究的目标肽片段是分别由氨基酸217-242组成的重链(T17H)的T17胰蛋白酶片段。氨基酸220和223负责抗体重链之间的二硫键。通常地,可通过测定胰蛋白酶消化后还原样品中的烷基化半胱氨酸残基对非烷基化残基的比率来进行游离半胱氨酸分析。然而,烷基化种类在两组材料中都不存在。假设目标肽片段T17H的两个半胱氨酸残基彼此键合,或半胱氨酸被抗体的四极结构保护。在任一情况下,半胱氨酸残基不易被接近以进行烷基化。相反地,分析法是利用两组中的非还原种类对还原种类的比率来计算百分比差异。观察到非还原样品在分子量上具有2Da的减少,表明二硫键合。该行为被利用来计算游离T17H的百分比。非还原T17H种类的理论质量为2727.41Da(Cys220与Cys223之间的二硫键)和2729.41Da(对于还原肽)。

[0919] 分析还原和非还原样品的代表性电荷状态的提取离子色谱图。非还原与还原样品之间的计数比率计算游离T17H种类为2.3%(在大剂量添加乙醇的情况下产生的抗体中),和26.1%(在不大剂量添加乙醇的情况产生的样品中)。这些结果示于图9的表格形式中。

[0920] 因此,不存在重链间二硫键的重链的丰度在不大剂量添加乙醇的情况下产生的样品中极大地增加,进一步将该种类的身份确认为包含一个重链和一个轻链但不存在重链间二硫键。此外,比预期的质量轻2Da的种类的检测表明H1L1种类中的重链可包含可干扰其本身的正常重链间二硫键的形成的额外二硫键。

[0921] 实施例5

[0922] 本实施例显示细胞活力与抗体纯度之间的相关性。乙醇大剂量的添加通常改善细胞的活力以及Ab-A和Ab-B抗体的抗体纯度。此外,即使在不大剂量添加的情况下已显示高纯度的Ab-C抗体还显示更高的培养物活力。综上所述,这些结果表明因乙醇的大剂量添加而引起的抗体纯度的改善至少部分归因于增加的培养物活力。

[0923] 方法

[0924] 使用Cellometer(Nexcelom)测定培养物活力。用PBS稀释培养物样品以便终细胞计数在1×10^7至5×10^7个细胞/mL内。随后处理一半的样品以在75℃的条件下加热10分钟,作为碘化丙啶(PI)染色的阳性对照。随后将未处理的样品和处理的样品与PI(20uL的样品+20uL的PI)混合。随后将样品置于载片盒中,通过计数未发射荧光的细胞的数目,随后除以细胞总数来测定活力。死亡的细胞已吸收碘化丙啶,并且发荧光,这样阳性对照热杀死的样品应当显示低于1%的活细胞。

[0925] 结果

[0926] 测定如实施例1和2中所述在大剂量添加乙醇或不大剂量添加乙醇的情况下生长的抗体产生性培养物的细胞活力。如上所述,向酵母培养物中大剂量添加乙醇(参见实施例1-2和图1-4)极大地改善了Ab-A和Ab-B抗体的纯度。大剂量乙醇的添加同样地改善了这些培养物的细胞活力。对于Ab-A抗体,活力平均从91.9%提高至97.2%(图11),然而对于Ab-B抗体,活力平均从84.8%提高至95.1%(图12)。由于即使在不大剂量添加乙醇的情况下产生的Ab-C抗体的既有高纯度,因大剂量乙醇添加而导致的该抗体的纯度的改善更加不显著(参见实施例3和图5)。与高细胞活力与更高的抗体纯度相关的观察一致,Ab-C抗体培养物在不大剂量添加乙醇的情况下显示高细胞活力(平均95.8%),乙醇的大剂量添加(96.8%)几乎不改变所述细胞活力。

[0927] 综上所述,这些结果表明因大剂量乙醇添加而导致的抗体纯度的改善可部分(或

至少与之相关)由细胞活力的改善引起。

[0928] 实施例6

[0929] 本实施例显示抗体纯度的类似改善可通过改变大剂量乙醇浓度来获得。

[0930] 方法

[0931] 除乙醇的大剂量添加为5g/L(0.5%w/v)、10g/L(1%w/v)或15g/L(1.5%w/v)外,如实施例1所述产生Ab-A抗体。在63和86小时从培养基纯化抗体样品,通过蛋白A亲和进行纯化,随后如在实施例1中一样,通过非还原SDS-PAGE分析纯度。

[0932] 结果

[0933] 无论添加的大剂量浓度(0.5%至1.5%w/v)是多少,在两个测试的时间点63小时(图14A)和86小时(图,14B)上,抗体纯度同样较高。H1L1和H2L1种类的检测的水平在每一种培养物中类似地较低。

[0934] 这些结果表明当改变乙醇大剂量浓度时可获得抗体纯度的改善。

[0935] 实施例7

[0936] 本实施例显示当改变溶解氧剧增与大剂量乙醇至培养物的添加之间的“饥饿期”的持续时间时,可获得抗体纯度的类似改善。

[0937] 方法

[0938] 除饥饿期的持续时间(溶解氧剧增(表明培养物中碳源的耗尽)与乙醇的大剂量添加之间的时间)为0小时或3小时外,如实施例1中一样产生Ab-A抗体。从培养基纯化抗体样品,通过蛋白A亲和进行纯化,随后如实施例1中一样通过非还原SDS-PAGE分析纯度。

[0939] 结果

[0940] 无论0与3小时之间的饥饿期的变化如何(图15A,比较泳道5(0小时饥饿)与6(3小时饥饿)),抗体纯度同样较高。H1L1和H2L1种类的检测的水平在每一种培养物中类似地较低。

[0941] 这些结果表明抗体纯度的改善可通过改变饥饿期的持续时间来获得。

[0942] 实施例8

[0943] 本实施例测试通过改变添加大剂量乙醇与开始向培养物添加进料时之间的“平衡期”的持续时间对抗体纯度的作用。

[0944] 方法

[0945] 除平衡期的持续时间(添加大剂量乙醇与开始向培养物进料时之间的时间)为0、30或60分钟外,如实施例2中一样产生Ab-B抗体。此外,从其产生Ab-B抗体的酵母菌株包含3个拷贝而非4个拷贝的轻链基因。从培养基纯化抗体样品,通过蛋白A亲和进行纯化,随后如实施例1中一样通过非还原SDS-PAGE分析纯度。还使用实施例5中描述的方法评估活力。

[0946] 结果

[0947] 对于0或30分钟的平衡期(图16A,泳道7和8(0分钟的平衡时间)和泳道3(30分钟的平衡时间),抗体纯度同样较高。然而,H1L1和H2L1种类的可检测的水平在具有60分钟平衡期的培养中上升(图16A,泳道5和6)。

[0948] 在23小时和85小时的时间点上评估每一个培养物的活力。对于60分钟的平衡期,活力在23小时为75%至80%,然而在相同的时间点,对于0和30分钟的平衡期,活力为约88-90%(图16B)。随后,在85小时,活力已得到改善,但对于60分钟的平衡期相对于0和30分钟

平衡期活力略有降低(图16C)。

[0949] 这些结果表明当使平衡期改变至少0和30分钟时,可获得抗体纯度的改善,然而对于60分钟或更长时间的平衡期活力和纯度的一些损失可发生(尽管纯度相对于无大剂量乙醇添加的对照培养物仍可得以改善)。

[0950] 本发明的不同举例说明性实施方案的上述说明无意是穷举的或将本发明限定于公开的精确形式。虽然仅为了举例说明在本文中描述了本发明的具体实施方案和实例,但不同的等同的变动在本发明的范围内是可能的,如相关领域内的技术人员将承认的。除了上述实例以外,本文中提供的本发明的教导还可用于其它目的。

[0951] 可以以除上述说明和实例中特别描述的方式外的方式实践本发明。根据上述教导,本发明的许多变动和变化是可能的,从而在所附权利要求的范围内。

[0952] 可根据上述说明对本发明进行这些和其它改变。一般而言,在以下权利要求中,使用的术语不应当解释为将本发明限定于说明书和权利要求中公开的具体实施方案。因此,本发明不限于本公开内容,相反地本发明的范围完全由以下权利要求确定。

[0953] 与用于获得抗原特异性B细胞的克隆性群体的方法相关的某些教导公开于2006年5月19日提交的美国临时专利申请号60/801,412中,所述美国临时专利申请的公开内容通过引入整体并入本文。

[0954] 与维持抗原结合亲和力的兔来源的单克隆抗体和优选序列修饰相关的某些教导公开于对应于2008年5月21日提交的标题为“Novel Rabbit Antibody Humanization Methods and Humanized Rabbit Antibodies”的国际公布号WO/2008/144757的国际申请号PCT/US2008/064421,将所述国际申请的公开内容通过引用整体并入本文。

[0955] 与使用具有交配能力的酵母和对应的方法产生抗体或其片段相关的某些教导公开于2006年5月8日提交的美国专利申请号11/429,053(美国专利申请公布No.US2006/0270045)中,所述美国专利申请的公开内容通过引用整体并入本文。

[0956] 将本文中引用的每一个文件(包括专利、专利申请、期刊论文、文摘、手册、书或其它公开内容),包括背景、概述、详述和实施例中引用的每一个文件的完整公开内容通过引用整体并入本文。

[0957] 本说明书还包括下列内容:

[0958] 1.一种产生多亚基复合物的方法,其包括:

[0959] (a)提供包含含有提供所述多亚基复合物的亚基的表达的基因的真核细胞的培养物;

[0960] (b)将大剂量的乙醇添加至所述培养物;和

[0961] (c)培养所述培养物以产生所述多亚基复合物。

[0962] 2.根据实施方式1所述的方法,其中所述大剂量乙醇相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法增加稳定的二硫键的形成。

[0963] 3.根据实施方式1所述的方法,其中所述多亚基复合物包含一个或多个包含至少一个二硫键的多肽。

[0964] 4.根据实施方式1所述的方法,其中所述多亚基复合物包含抗体。

[0965] 5.根据实施方式1至4中任一项所述的方法,其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低一种或多种产物相关变体的相对丰度。

[0966] 6.根据实施方式1至4中任一项所述的方法，其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低产物相关变体的相对丰度，所述变体具有比所述期望的多亚基复合物更高或更低的表观分子量，如通过尺寸排阻色谱法或凝胶电泳所检测的。

[0967] 7.根据实施方式1至4中任一项所述的方法，其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低具有异常化学计量的复合物的相对丰度。

[0968] 8.根据实施方式1至4中任一项所述的方法，其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低具有异常二硫键的复合物的相对丰度。

[0969] 9.根据实施方式1至4中任一项所述的方法，其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低具有降低的半胱氨酸的复合物的相对丰度。

[0970] 10.根据实施方式1至4中任一项所述的方法，其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低具有异常糖基化的复合物的相对丰度。

[0971] 11.根据实施方式4所述的方法，其调节重链间二硫键的形成或稳定性。

[0972] 12.根据实施方式4或11所述的方法，其调节连接轻链与重链的二硫键的形成或稳定性。

[0973] 13.根据实施方式4或11至12中任一项所述的方法，其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低一种或多种产物相关变体的相对丰度。

[0974] 14.根据实施方式13所述的方法，其中所述产物相关变体包括H1L1、H2L1和H4L4产物相关变体的一种或多种。

[0975] 15.根据实施方式4或11至14中任一项所述的方法，其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述方法增加所述抗体的纯度。

[0976] 16.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中在步骤(c)之前进行步骤(b)。

[0977] 17.根据实施方式1至15中任一项所述的方法，其中在步骤(c)后进行步骤(b)。

[0978] 18.根据实施方式1至15中任一项所述的方法，其中将步骤(b)与步骤(c)同时进行。

[0979] 19.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中步骤(b)导致所述培养物中的乙醇浓度在约0.01％与约4％(w/v)之间。

[0980] 20.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中步骤(b)导致所述培养物中的乙醇浓度在约0.01％与约4％之间、约0.02％与约3.75％之间、约0.04％与约3.5％之间、约0.08％与约3.25％之间、约0.1％与约3％之间、约0.2％与约2.75％之间、约0.3％与约2.5％之间、约0.4％与约2.25％之间、约0.5％与约1.5％之间、约0.5％与约2％之间、约0.6％与约1.75％之间、约0.7％与约1.5％或约0.8％与约1.25％之间。

[0981] 21.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中步骤(b)导致所述培养物中的乙醇浓度为至少约0.01％、0.02％、0.03％、0.04％、0.05％、0.06％、0.07％、0.08％、0.09％、0.10％、0.2％、0.3％、0.4％、0.6％、0.6％、0.7％、0.8％或0.9％(w/v)。

[0982] 22.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中步骤(b)导致所述培养物中的乙醇浓度为至多约4％、3.5％、3％、2.5％、2％、1.8％、1.6％、1.5％、1.4％、1.3％、1.2％、1.1％、1.0％、0.9％、0.8％、0.7％、0.6％、0.5％、0.4％、0.35％、0.3％、0.25％、0.2％或0.15％(w/v)。

[0983] 23.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中步骤(b)包括将乙醇添加至所述

培养物，将包含乙醇的载体添加至所述培养物，将所述细胞添加至培养基或包含乙醇的载体，或替换部分所述培养基。

[0984] 24.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中在1至20分钟的时间段内将所述大剂量乙醇添加至所述培养基。

[0985] 25.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中步骤(c)包括给所述细胞提供氧。

[0986] 26.根据实施方式25所述的方法，其中所述提供氧包括搅拌所述培养物。

[0987] 27.根据实施方式25或26所述的方法，其中所述提供氧包括将所述培养物与包含氧的气体混合物接触。

[0988] 28.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中步骤(c)包括将含有碳源的进料添加至所述培养物。

[0989] 29.根据实施方式28所述的方法，其中所述进料包含至少一种可发酵碳源。

[0990] 30.根据实施方式28所述的方法，其中所述进料包含葡萄糖、乙醇、柠檬酸盐、山梨醇、木糖、海藻糖、阿拉伯糖、半乳糖、果糖、蜜二糖、乳糖、麦芽糖、鼠李糖、核糖、甘露糖、甘露醇和棉子糖的一种或多种。

[0991] 31.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其进一步包括在步骤(c)期间将乙醇的浓度维持在上设置点与下设置点之间。

[0992] 32.根据实施方式31所述的方法，其中所述下设置点为约0.01％、0.02％、0.03％、0.04％、0.05％、0.06％、0.07％、0.08％、0.09％、0.10％、0.2％、0.3％、0.4％、0.6％、0.6％、0.7％、0.8％或0.9％(w/v)。

[0993] 33.根据实施方式31或32所述的方法，其中所述上设置点为约4％、3.5％、3％、2.5％、2％、1.8％、1.6％、1.5％、1.4％、1.3％、1.2％、1.1％、1.0％、0.9％、0.8％、0.7％、0.6％、0.5％、0.4％、0.35％、0.3％、0.25％、0.2％或0.15％(w/v)。

[0994] 34.根据实施方式31或32所述的方法，其中所述上设置点至多为约1.5％、1.4％、1.3、1.2％或1.1％(w/v)。

[0995] 35.根据实施方式1至30中任一项所述的方法，其进一步包括在步骤(c)期间将乙醇浓度维持在设置点。

[0996] 36.根据实施方式35所述的方法，其中所述设置点为约0.1％、0.2％、0.3％、0.4％、0.5％、0.6％、0.7％、0.8％、0.9％、01.％、01.1％、01.2％、01.3％、01.4％或01.5％(w/v)。

[0997] 37.根据实施方式1至30中任一项所述的方法，其中步骤(c)包括将所述培养物中的乙醇浓度维持在约0.01％与约4％之间、约0.02％与约3.75％之间、约0.04％与约3.5％之间、约0.08％与约3.25％之间、约0.1％与约3％之间、约0.2％与约2.75％之间、约0.3％与约2.5％之间、约0.4％与约2.25％之间、约0.5％与约2％之间、约0.6％与约1.75％之间、约0.7％与约1.5％或约0.8％与约1.25％之间。

[0998] 38.根据实施方式21至27中任一项所述的方法，其中所述培养物中的乙醇浓度通过控制由所述细胞进行的乙醇产生或通过将乙醇添加至所述培养物来维持。

[0999] 39.根据实施方式28所述的方法，其中控制乙醇产生的步骤包括控制葡萄糖的浓度、氧的可用度、搅拌的强度、气压、供应的空气或其它气体混合物的流速、所述培养物粘

度、培养物密度、所述供应的空气或其它气体混合物中氧的浓度以及温度的一项或多项。

[1000] 40.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中步骤(a)与步骤(b)之间的时间少于约72小时、少于约48小时、少于约24小时、少于约12小时、少于约9小时、少于约6小时、少于约5小时、少于约4小时、少于约3小时、少于约90分钟、少于约30分钟、少于约5分钟或少于约1分钟。

[1001] 41.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中步骤(b)与步骤(c)之间的时间少于约10小时、少于约9小时、少于约8小时、少于约7小时、少于约6小时、少于约5小时、少于约4小时、少于约3小时、少于约2小时、少于约90分钟、少于约80分钟、少于约70分钟、少于约60分钟、少于约50分钟、少于约40分钟、少于约30分钟、少于约20分钟、少于约10分钟、少于约5分钟或少于约1分钟。

[1002] 42.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中所述步骤(a)的培养物通过向所述培养物添加碳源，以及培养所述培养物直至所述碳源被耗尽来产生。

[1003] 43.根据实施方式42所述的方法，其中所述碳源包括以下的一种或多种：甘油、葡萄糖、乙醇、柠檬酸盐、山梨醇、木糖、海藻糖、阿拉伯糖、半乳糖、果糖、蜜二糖、乳糖、麦芽糖、鼠李糖、核糖、甘露糖、甘露醇和棉子糖。

[1004] 44.根据实施方式42或43所述的方法，其中碳源的耗尽通过检测所述真核细胞的代谢活动的减弱来测定。

[1005] 45.根据实施方式44所述的方法，其中所述真核细胞的代谢活动的所述减弱通过检测所述真核细胞对氧的消耗的减少，通过检测培养物的pH的升高，通过检测湿细胞团的稳定化，或通过检测培养物中的氨浓度的增加来鉴定。

[1006] 46.根据实施方式45所述的方法，其中所述真核细胞对氧的消耗的所述减少通过检测所述培养物中溶解氧的浓度的增加来鉴定。

[1007] 47.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中所述真核细胞包括酵母细胞。

[1008] 48.根据实施方式47所述的方法，其中所述酵母细胞包括甲醇营养型酵母。

[1009] 49.根据实施方式48所述的方法，其中所述甲醇营养型酵母属于毕赤酵母属。

[1010] 50.根据实施方式49所述的方法，其中毕赤酵母属的所述甲醇营养型酵母是巴斯德毕赤酵母。

[1011] 51.根据实施方式49所述的方法，其中毕赤酵母属的所述甲醇营养型酵母选自：安格斯毕赤酵母、季也蒙毕赤氏酵母、甲醇毕赤酵母和因诺托毕赤氏酵母。

[1012] 52.根据实施方式49所述的方法，其中提供所述多亚基复合物的表达的基因被整合到一个或多个基因组基因座中。

[1013] 53.根据实施方式49所述的方法，其中所述基因组基因座的至少一个选自pGAP基因座、3'AOX TT基因座、PpURA5、OCH1、AOX1、HIS4、GAP、pGAP、3'AOX TT、ARG和HIS4 TT基因座。

[1014] 54.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中在诱导型或组成型启动子的控制下表达编码所述多亚基复合物的所述亚基的基因中的至少一个。

[1015] 55.根据实施方式54所述的方法，其中所述诱导型启动子选自AOX1、CUP1、四环素诱导型启动子、硫胺酸诱导型启动子以及FLD1启动子。

[1016] 56.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中在选自以下的启动子的控制下

表达编码所述多亚基复合物的所述亚基的基因中的至少一个:CUP1、AOX1、ICL1、3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAP)、FLD1、ADH1、醇脱氢酶II、GAL4、PHO3、PHO5以及Pyk启动子、四环素诱导型启动子、硫胺素诱导型启动子、来源于其的嵌合启动子、酵母启动子、哺乳动物启动子、昆虫启动子、植物启动子、爬行动物启动子、两栖动物启动子、病毒启动子和禽类启动子。

[1017] 57.根据前述实施方式中任一项所述的方法,其中所述真核细胞是二倍体、四倍体细胞或多倍体。

[1018] 58.根据前述实施方式中任一项所述的方法,其进一步包括从所述真核细胞或从所述培养基纯化所述多亚基复合物。

[1019] 59.根据实施方式58所述的方法,其中从所述真核细胞的细胞内组分、细胞质、核质或膜纯化所述多亚基复合物。

[1020] 60.根据实施方式58所述的方法,其中所述真核细胞分泌所述多亚基复合物至所述培养基中。

[1021] 61.根据实施方式60所述的方法,其中从所述培养基纯化所述多亚基复合物。

[1022] 62.根据前述实施方式中任一项所述的方法,其中所述多亚基复合物包括单特异性或双特异性抗体。

[1023] 63.根据前述实施方式中任一项所述的方法,其中所述多亚基复合物包括人抗体或人源化抗体或其片段。

[1024] 64.根据实施方式63所述的方法,其中所述人源化抗体具有小鼠、大鼠、兔、山羊、绵羊或牛来源。

[1025] 65.根据实施方式62所述的方法,其中所述人源化抗体具有兔来源。

[1026] 66.根据前述实施方式中任一项所述的方法,其中所述多亚基复合物包括单价、双价或多价抗体。

[1027] 67.根据实施方式4或实施方式61至66中任一项所述的方法,其中通过蛋白A和/或蛋白G亲和从所述培养物纯化所述抗体。

[1028] 68.根据前述实施方式中任一项所述的方法,其中最优化基因的至少一个以在所述真核细胞中表达,所述基因在所述小组的所述真核细胞的至少一个中提供所述多亚基复合物的亚基的表达。

[1029] 69.根据前述实施方式中任一项所述的方法,其中所述多亚基复合物包含抗体并且所述抗体的纯度通过测量由所述真核细胞产生的抗体的分数来评估,所述抗体包含在具有预期的表观流体力学半径的抗体复合物中,包含在具有预期的分子量的抗体复合物中,和/或特异性结合所述抗体的靶。

[1030] 70.根据前述实施方式中任一项所述的方法,其中所述多亚基复合物包含抗体并且所述抗体的产量通过测定扣除任何产物相关变体的由所述真核细胞产生的抗体的量来评估,所述变体被异常糖基化,包含在除具有预期的表观流体力学半径的复合物外的所述抗体复合物中,包含在具有预期的分子量的抗体复合物中,和/或不能特异性结合所述抗体的靶。

[1031] 71.根据实施方式58或59所述的方法,其中所述抗体复合物的分子量通过非还原SDS-PAGE来测定。

[1032] 72.根据前述实施方式中任一项所述的方法,其中所述多亚基复合物包含抗体,所

述方法还包括纯化所述抗体。

[1033] 73.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中所述培养细胞产生至少100mg/L、至少150mg/L、至少200mg/L、至少250mg/L、至少300mg/L、100至300mg/L、100至500mg/L、100至1000mg/L、至少1000mg/L、至少1250mg/L、至少1500mg/L、至少约1750mg/L、至少约2000mg/L、至少约10000mg/L或更多的上清液抗体滴度。

[1034] 74.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中所述多亚基复合物的一个或多个亚基从超过一个基因拷贝表达。

[1035] 75.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中所述多亚基复合物包含抗体，所述抗体从1-10个拷贝的编码所述抗体的轻链的基因和从1-10个拷贝的编码所述抗体的重链的基因表达。

[1036] 76.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中将提供所述多亚基复合物的表达的基因整合到所述细胞的基因组中。

[1037] 77.根据实施方式1-75中任一项所述的方法，其中提供所述多亚基复合物的表达的基因包含在染色体外元件、质粒或人工染色体中。

[1038] 78.根据实施方式76或77所述的方法，其中所述细胞包含比提供所述抗体的重链的表达的所述基因的拷贝更多的提供所述抗体的轻链的表达的所述基因的拷贝。

[1039] 79.根据实施方式76或76所述的方法，其中所述细胞中编码所述抗体的重链的所述基因的拷贝数和编码所述抗体的轻链的所述基因的拷贝数各自是:2和2、2和3、3和3、3和4、3和5、4和3、4和4、4和5、4和6、5和4、5和5、5和6或5和7。

[1040] 80.根据实施方式76或77所述的方法，其中所述细胞中的编码所述抗体的重链的所述基因的拷贝数和编码所述抗体的轻链的所述基因的拷贝数分别为:2和1、3和1、4和1、5和1、6和1、7和1、8和1、9和1、10和1、1和2、2和2、3和2、4和2、5和2、6和2、7和2、8和2、9和2、10和2、1和3、2和3、3和3、4和3、5和3、6和3、7和3、8和3、9和3、10和3、1和4、2和4、3和4、4和4、5和4、6和4、7和4、8和4、9和4、10和4、1和5、2和5、3和5、4和5、5和5、6和5、7和5、8和5、9和5、10和5、1和6、2和6、3和6、4和6、5和6、6和6、7和6、8和6、9和6、10和6、1和7、2和7、3和7、4和7、5和7、6和7、7和7、8和7、9和7、10和7、1和8、2和8、3和8、4和8、5和8、6和8、7和8、8和8、9和8、10和8、1和9、2和9、3和9、4和9、5和9、6和9、7和9、8和9、9和9、10和9、1和10、2和10、3和10、4和10、5和10、6和10、7和10、8和10、9和10、10和10。

[1041] 81.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中使所述步骤(c)的培养物在生产培养基中生长。

[1042] 82.根据实施方式81所述的方法，其中所述生产培养基是基本培养基。

[1043] 83.根据实施方式81所述的方法，其中所述基本培养基不存在选择剂。

[1044] 84.根据实施方式81所述的方法，其中所述基本培养基不存在预形成的氨基酸或其它复合生物分子。

[1045] 85.根据实施方式81所述的方法，其中所述生产培养基是复合培养基。

[1046] 86.根据实施方式85所述的方法，其中所述复合培养基包含酵母提取物、大豆蛋白胨和其它植物蛋白胨的一种或多种。

[1047] 87.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中使所述步骤(c)的培养物生长至高细胞密度。

[1048] 88.根据实施方式87所述的方法，其中所述高细胞密度为至少50g/L。

[1049] 89.根据实施方式87所述的方法，其中所述高细胞密度为至少100g/L。

[1050] 90.根据实施方式87所述的方法，其中所述高细胞密度为至少300g/L。

[1051] 91.根据实施方式87所述的方法，其中所述高细胞密度为至少400g/L。

[1052] 92.根据实施方式87所述的方法，其中所述高细胞密度为至少500g/L。

[1053] 93.根据实施方式87所述的方法，其中所述高细胞密度为至少750g/L。

[1054] 94.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中将酵母细胞培养至少20个倍增，并且在至少20个倍增后维持所述多亚基复合物的高水平表达。

[1055] 95.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中将所述步骤(c)的细胞培养至少50个倍增并且在所述至少50个倍增后维持所述多亚基复合物的高水平表达。

[1056] 96.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中将所述步骤(c)的细胞培养至少100个倍增并且在所述至少100个倍增后维持所述多亚基复合物的高水平表达。

[1057] 97.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中所述多亚基复合物的至少一个亚基包含分泌信号。

[1058] 98.根据实施方式97所述的方法，其中所述多亚基复合物包含抗体。

[1059] 99.根据实施方式97或98所述的方法或组合物，其中分泌信号包含一种或多种选自:SEQ ID NOS:414至437及其任何组合的多肽。

[1060] 100.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中所述多亚基复合物不是2010年12月1日提交的美国临时申请号61/418,832、2011年12月1日提交的PCT/US11/62963、2011年12月1日提交的美国序列号13/309,295、2011年12月1日提交的美国序列号13/309,153、2011年12月1日提交的美国序列号13/308,665和2011年12月1日提交的美国序列号13/308,831中公开的抗体中的任一种。

[1061] 101.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中所述多亚基复合物不是Ab1-NGF、Ab2-NGF、Ab3-NGF、Ab4-NGF、Ab5-NGF、Ab6-NGF、Ab7-NGF、Ab8-NGF、Ab9-NGF、Ab10-NGF、Ab11-NGF、Ab12-NGF、Ab13-NGF、Ab14-NGF、Ab15-NGF、Ab16-NGF、Ab17-NGF、Ab18-NGF、Ab19-NGF、Ab20-NGF和Ab21-NGF或Fab2或其Fab1片段。

[1062] 102.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中所述多亚基复合物不包含以下抗体的任一种中包含的互补性决定区(CDR)的至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个或至少全部6个:Ab1-NGF、Ab2-NGF、Ab3-NGF、Ab4-NGF、Ab5-NGF、Ab6-NGF、Ab7-NGF、Ab8-NGF、Ab9-NGF、Ab10-NGF、Ab11-NGF、Ab12-NGF、Ab13-NGF、Ab14-NGF、Ab15-NGF、Ab16-NGF、Ab17-NGF、Ab18-NGF、Ab19-NGF、Ab20-NGF或Ab21-NGF，并且所述抗体任选地具有对于NGF的结合特异性。

[1063] 103.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中所述多亚基复合物不包含如下序列或不由所述序列组成:分别地SEQ ID NO:51和401的轻链和重链多肽序列、分别地SEQ ID NO:53和402的轻链和重链多肽序列、分别地SEQ ID NO:405和406的轻链和重链多肽序列和分别地SEQ ID NO:407和408的轻链和重链多肽序列。

[1064] 104.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中所述多亚基复合物不包含抗体，所述抗体含有SEQ ID NO:55、56、57、58、59和60的CDR的至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少4个、至少5个或至少全部6个的抗体，并且任选地具有对于NGF的结合特异性。

[1065] 105.根据前述实施方式中任一项所述的方法，其中所述多亚基复合物不包含本文中在标题为“抗-NGF抗体及其具有对于NGF的结合活性的结合片段”和“编码抗-NGF抗体多肽的多核苷酸”的部分中公开的抗体或抗体编码序列的任一种。

[1066] 本说明书还包括下列内容：

[1067] 11.根据项目3或9至10中任一项所述的方法，其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述相同方法降低一种或多种产物相关变体的相对丰度。

[1068] 12.根据项目11所述的方法，其中所述产物相关变体包括H1L1、H2L1和H4L4产物相关变体的一种或多种。

[1069] 13.根据项目3或9至12中任一项所述的方法，其相对于在所述大剂量乙醇不存在的情况下进行的所述方法增加所述抗体的纯度。

[1070] 14.根据前述项目中任一项所述的方法，其中步骤(c)包括给所述细胞提供氧。

[1071] 15.根据项目14所述的方法，其中所述提供氧包括搅拌所述培养物。

[1072] 16.根据项目14或15所述的方法，其中所述提供氧包括将所述培养物与包含氧的气体混合物接触。

[1073] 17.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述可发酵碳源包括葡萄糖或半乳糖。

[1074] 18.根据项目17所述的方法，其中所述进料包含葡萄糖。

[1075] 19.根据项目17所述的方法，其中所述进料包含葡萄糖、柠檬酸盐、山梨醇、木糖、海藻糖、阿拉伯糖、半乳糖、果糖、蜜二糖、乳糖、麦芽糖、鼠李糖、核糖、甘露糖、甘露醇和棉子糖的一种或多种。

[1076] 20.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述步骤(a)的培养物通过向所述培养物添加碳源，以及培养所述培养物直至所述碳源被耗尽来产生。

[1077] 21.根据项目20所述的方法，其中所述碳源包括以下的一种或多种：葡萄糖、乙醇、柠檬酸盐、山梨醇、木糖、海藻糖、阿拉伯糖、半乳糖、果糖、蜜二糖、乳糖、麦芽糖、鼠李糖、核糖、甘露糖、甘露醇和棉子糖。

[1078] 22.根据项目20或21所述的方法，其中碳源的耗尽通过检测所述巴斯德毕赤酵母细胞的代谢活动的减弱来测定。

[1079] 23.根据项目22所述的方法，其中所述巴斯德毕赤酵母细胞的代谢活动的所述减弱通过检测所述巴斯德毕赤酵母细胞对氧的消耗的减少，通过检测培养物的pH的升高，通过检测湿细胞团的稳定化，或通过检测培养物中的氨浓度的增加来鉴定。

[1080] 24.根据项目23所述的方法，其中所述巴斯德毕赤酵母细胞对氧的消耗的所述减少通过检测所述培养物中溶解氧的浓度的增加来鉴定。

[1081] 25.根据前述项目中任一项所述的方法，其中提供所述抗体的表达的基因被整合到一个或多个基因组基因座中。

[1082] 26.根据项目25所述的方法，其中所述基因组基因座的至少一个选自pGAP基因座、3’AOX TT基因座、PpURA5、OCH1、AOX1、HIS4、GAP、pGAP、3’AOX TT、ARG和HIS4 TT基因座。

[1083] 27.根据前述项目中任一项所述的方法，其中在诱导型或组成型启动子的控制下表达编码所述抗体的所述亚基的基因两者，其中所述启动子不是乙醇诱导型启动子。

[1084] 28.根据项目27所述的方法，其中所述诱导型启动子选自AOX1、CUP1、四环素诱导

型启动子、硫胺酸诱导型启动子以及FLD1启动子。

[1085] 29.根据前述项目中任一项所述的方法，其中在选自以下的启动子的控制下表达编码所述抗体的所述亚基的基因两者：CUP1、AOX1、ICL1、3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAP)、FLD1、ADH1、醇脱氢酶II、GAL4、PHO3、PHO5以及Pyk启动子、四环素诱导型启动子、硫胺素诱导型启动子、来源于其的嵌合启动子、酵母启动子、哺乳动物启动子、昆虫启动子、植物启动子、爬行动物启动子、两栖动物启动子、病毒启动子和禽类启动子，其中所述启动子不是乙醇诱导型启动子。

[1086] 30.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述巴斯德毕赤酵母细胞是二倍体、四倍体细胞或多倍体。

[1087] 31.根据前述项目中任一项所述的方法，其进一步包括从所述巴斯德毕赤酵母细胞或从所述培养基纯化所述抗体。

[1088] 32.根据项目31所述的方法，其中从所述巴斯德毕赤酵母细胞的细胞内组分、细胞质、核质或膜纯化所述抗体。

[1089] 33.根据项目31所述的方法，其中所述巴斯德毕赤酵母细胞分泌所述抗体至所述培养基中。

[1090] 34.根据项目33所述的方法，其中从所述培养基纯化所述抗体。

[1091] 35.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述抗体包括单特异性或双特异性抗体。

[1092] 36.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述抗体包括人抗体或人源化抗体或其片段。

[1093] 37.根据项目36所述的方法，其中所述人源化抗体具有小鼠、大鼠、兔、山羊、绵羊或牛来源。

[1094] 38.根据项目36所述的方法，其中所述人源化抗体具有兔来源。

[1095] 39.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述抗体包括单价、双价或多价抗体。

[1096] 40.根据前述项目中任一项所述的方法，其中通过蛋白A和/或蛋白G亲和从所述培养物纯化所述抗体。

[1097] 41.根据前述项目中任一项所述的方法，其中对基因的至少一个进行最优化以在所述巴斯德毕赤酵母细胞中表达，所述基因提供所述抗体的亚基的表达。

[1098] 42.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述抗体的纯度通过测量由所述巴斯德毕赤酵母细胞产生的抗体的分数来评估，所述抗体包含在具有预期的表观流体力学半径的抗体复合物中，包含在具有预期的分子量的抗体复合物中，和/或特异性结合所述抗体的靶。

[1099] 43.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述抗体的产量通过测定扣除任何产物相关变体的由所述巴斯德毕赤酵母细胞产生的抗体的量来评估，所述变体被异常糖基化，包含在除具有预期的表观流体力学半径的复合物外的所述抗体复合物中，包含在具有预期的分子量的抗体复合物中，和/或不能特异性结合所述抗体的靶。

[1100] 44.根据项目31或32所述的方法，其中所述抗体复合物的分子量通过非还原SDS-PAGE来测定。

[1101] 45.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述方法还包括纯化所述抗体。

[1102] 46.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述培养细胞产生至少100mg/L、至少150mg/L、至少200mg/L、至少250mg/L、至少300mg/L、100至300mg/L、100至500mg/L、100至1000mg/L、至少1000mg/L、至少1250mg/L、至少1500mg/L、至少约1750mg/L、至少约2000mg/L、至少约10000mg/L或更多的上清液抗体滴度。

[1103] 47.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述抗体的一个或多个亚基从超过一个基因拷贝表达。

[1104] 48.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述抗体从1-10个拷贝的编码所述抗体的轻链的基因和从1-10个拷贝的编码所述抗体的重链的基因表达。

[1105] 49.根据前述项目中任一项所述的方法，其中将提供所述抗体的表达的基因整合到所述细胞的基因组中。

[1106] 50.根据前述项目中任一项所述的方法，其中提供所述抗体的表达的基因包含在染色体外元件、质粒或人工染色体中。

[1107] 51.根据项目49或50所述的方法，其中所述细胞包含比提供所述抗体的重链的表达的所述基因的拷贝更多的提供所述抗体的轻链的表达的所述基因的拷贝。

[1108] 52.根据项目49或50所述的方法，其中所述细胞中编码所述抗体的重链的所述基因的拷贝数和编码所述抗体的轻链的所述基因的拷贝数各自是:2和2、2和3、3和3、3和4、3和5、4和3、4和4、4和5、4和6、5和4、5和5、5和6或5和7。

[1109] 53.根据项目49或50所述的方法，其中所述细胞中的编码所述抗体的重链的所述基因的拷贝数和编码所述抗体的轻链的所述基因的拷贝数分别为:2和1、3和1、4和1、5和1、6和1、7和1、8和1、9和1、10和1、1和2、2和2、3和2、4和2、5和2、6和2、7和2、8和2、9和2、10和2、1和3、2和3、3和3、4和3、5和3、6和3、7和3、8和3、9和3、10和3、1和4、2和4、3和4、4和4、5和4、6和4、7和4、8和4、9和4、10和4、1和5、2和5、3和5、4和5、5和5、6和5、7和5、8和5、9和5、10和5、1和6、2和6、3和6、4和6、5和6、6和6、7和6、8和6、9和6、10和6、1和7、2和7、3和7、4和7、5和7、6和7、7和7、8和7、9和7、10和7、1和8、2和8、3和8、4和8、5和8、6和8、7和8、8和8、9和8、10和8、1和9、2和9、3和9、4和9、5和9、6和9、7和9、8和9、9和9、10和9、1和10、2和10、3和10、4和10、5和10、6和10、7和10、8和10、9和10、10和10。

[1110] 54.根据前述项目中任一项所述的方法，其中使所述步骤(c)的培养物在生产培养基中生长。

[1111] 55.根据项目54所述的方法，其中所述生产培养基是基本培养基。

[1112] 56.根据项目54所述的方法，其中所述基本培养基不存在选择剂。

[1113] 57.根据项目54所述的方法，其中所述基本培养基不存在预形成的氨基酸或其它复合生物分子。

[1114] 58.根据项目54所述的方法，其中所述生产培养基是复合培养基。

[1115] 59.根据项目58所述的方法，其中所述复合培养基包含酵母提取物、大豆蛋白胨和其它植物蛋白胨的一种或多种。

[1116] 60.根据前述项目中任一项所述的方法，其中使所述步骤(c)的培养物生长至高细胞密度。

[1117] 61.根据项目60所述的方法，其中所述高细胞密度为至少50g/L。

[1118] 62.根据项目60所述的方法，其中所述高细胞密度为至少100g/L。

[1119] 63.根据项目60所述的方法，其中所述高细胞密度为至少300g/L。

[1120] 64.根据项目60所述的方法，其中所述高细胞密度为至少400g/L。

[1121] 65.根据项目60所述的方法，其中所述高细胞密度为至少500g/L。

[1122] 66.根据项目60所述的方法，其中所述高细胞密度为至少750g/L。

[1123] 67.根据前述项目中任一项所述的方法，其中将巴斯德毕赤酵母细胞培养至少20个倍增，并且在至少20个倍增后维持所述抗体的高水平表达。

[1124] 68.根据前述项目中任一项所述的方法，其中将所述步骤(c)的巴斯德毕赤酵母细胞培养至少50个倍增并且在所述至少50个倍增后维持所述抗体的高水平表达。

[1125] 69.根据前述项目中任一项所述的方法，其中将所述步骤(c)的巴斯德毕赤酵母细胞培养至少100个倍增并且在所述至少100个倍增后维持所述抗体的高水平表达。

[1126] 70.根据前述项目中任一项所述的方法，其中所述抗体的至少一个亚基包含分泌信号。

[1127] 71.根据项目70所述的方法，其中分泌信号包含一种或多种选自:SEQ ID NOS:414至437及其任何组合的多肽。

序列表

<110> Patti McNeill
Leon F. Garcia-Martinez
Nicole Janson
Gary Lesnicki
Pei Qi
John Latham

<120> 多亚基蛋白质例如抗体在转化的微生物例如巴斯德毕赤酵母中的高纯度产生

<130> 67858.711002

<150> 61/525,307
<151> 2011-08-19
<150> 61/496,860
<151> 2011-06-14
<150> 61/496,873
<151> 2011-06-14
<150> 61/418,832
<151> 2010-12-01

<160> 441

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1
<211> 111
<212> PRT
<213> 穴兔

<400> 1

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

<210> 2
<211> 217
<212> PRT
<213> 合成
<400> 2

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

<210> 3
<211> 118
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 3

```
Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
```

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

<210> 4
<211> 448
<212> PRT
<213> 合成
<400> 4

Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
1 5 10 15
Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ala
20 25 30
Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45
Val Ile Thr Ser Ile Gly Ser Thr Val Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60
Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr
65 70 75 80
Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Tyr
85 90 95
Asp Asp Tyr Asp Glu Met Thr Tyr Phe Asn Ile 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 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 5

<211> 11

<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 5
Gln Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala
1 5 10
<210> 6
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 6
Gly Ala Ser Asn Leu Asp Ala
1 5
<210> 7
<211> 12
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 7
Gln Ser Ala Phe Asp Ser Asp Ser Thr Glu Asn Thr
1 5 10
<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 8
Ser Tyr Ala Met Ser
1 5
<210> 9
<211> 16
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 9
Val Ile Thr Ser Ile Gly Ser Thr Val Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15
<210> 10
<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 10
Gly Tyr Asp Asp Tyr Asp Glu Met Thr Tyr Phe Asn Ile

1 5 10

<210> 11
<211> 111
<212> PRT
<213> 合成
<400> 11

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

<210> 12
<211> 217
<212> PRT
<213> 合成
<400> 12

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

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 13
<211> 121
<212> PRT
<213> 合成
<400> 13

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

<210> 14
<211> 451
<212> PRT
<213> 合成

<400> 14

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

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 15
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 15
Gln Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 16
Gly Ala Ser Asn Leu Asp Ala
1 5

<210> 17
<211> 12
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 17

Gln Ser Ala Phe Asp Ser Asp Ser Thr Glu Asn Thr
1 5 10

<210> 18
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 18
Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 19
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成
<400> 19
Val Ile Thr Ser Ile Gly Ser Thr Val Tyr Ala Ser Ser Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 20
<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 20
Gly Tyr Asp Asp Tyr Asp Glu Met Thr Tyr Phe Asn Ile
1 5 10

<210> 21
<211> 111
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 21
Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Met Gly Asp
1 5 10 15
Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Lys Asn Asn
20 25 30
Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln
65 70 75 80
Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Asp Tyr Asp Asp Asp

85 90 95
Ala Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110

<210> 22
<211> 217
<212> PRT
<213> 合成
<400> 22

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

<210> 23
<211> 113
<212> PRT

<213> 穴兔

<400> 23

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

<210> 24

<211> 443

<212> PRT

<213> 合成

<400> 24

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

130 135 140

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

<210> 25
<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 25
Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Lys Asn Asn Tyr Leu Ser
1 5 10
<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 26
Asp Ala Ser Asn Leu Pro Ser
1 5
<210> 27
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 27
Leu Gly Asp Tyr Asp Asp Asp Ala Asp Asn Ala
1 5 10
<210> 28
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 28
Ser Tyr Val Met Ile
1 5
<210> 29
<211> 15
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 29
Ile Thr Trp Ser Ala Gly Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15
<210> 30
<211> 8
<212> PRT
<213> 穴兔

<400> 30
Gly Gly Gly Ser Ile Tyr Asp Ile
1 5
<210> 31
<211> 112
<212> PRT
<213> 合成
<400> 31
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Lys Asn
20 25 30
Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
65 70 75 80
Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Asp Tyr Asp Asp
85 90 95
Asp Ala Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110
<210> 32
<211> 218
<212> PRT
<213> 合成
<400> 32
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Lys Asn
20 25 30
Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
65 70 75 80
Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Asp Tyr Asp Asp
85 90 95

Asp Ala Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 33
<211> 115
<212> PRT
<213> 合成
<400> 33

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

<210> 34
<211> 445

<212> PRT
<213> 合成
<400> 34

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Val Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile
35 40 45
Gly Ile Thr Trp Ser Ala Gly Thr Tyr Tyr Ala Ser Ser Ala Lys Gly
50 55 60
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
65 70 75 80
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly
85 90 95
Gly Gly Gly Ser Ile Tyr Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205
Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu 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 His Glu Asp Pro Glu Val Lys
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 Tyr Ala 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 Ala Leu Pro Ala Pro 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
Arg 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
Gln 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 Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 35
<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 35
Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Lys Asn Asn Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 36
Asp Ala Ser Asn Leu Pro Ser
1 5

<210> 37
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 37

Leu Gly Asp Tyr Asp Asp Asp Ala Asp Asn Ala
1 5 10

<210> 38
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 38
Ser Tyr Val Met Ile
1 5

<210> 39
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成
<400> 39
Ile Thr Trp Ser Ala Gly Thr Tyr Tyr Ala Ser Ser Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 40
<211> 8
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 40
Gly Gly Gly Ser Ile Tyr Asp Ile
1 5

<210> 41
<211> 111
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 41
Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Val Ala Val Gly
1 5 10 15
Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Tyr Ser Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Glu Cys
65 70 75 80
Ala Asp Ala Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Phe Thr Val Ser Asp

85 90 95
Ile Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110

<210> 42
<211> 217
<212> PRT
<213> 合成
<400> 42
Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Val Ala Val Gly
1 5 10 15
Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Tyr Ser Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Glu Cys
65 70 75 80
Ala Asp Ala Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Phe Thr Val Ser Asp
85 90 95
Ile Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg Thr
100 105 110
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 43
<211> 118
<212> PRT

<213> 穴兔

<400> 43

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

<210> 44

<211> 448

<212> PRT

<213> 合成

<400> 44

Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
1 5 10 15
Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr Ala
20 25 30
Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45
Ile Ile Gly Arg Asn Gly Asn Thr Trp Tyr Ala Ser Trp Ala Arg Gly
50 55 60
Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr
65 70 75 80
Ser Pro Thr Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Tyr
85 90 95
Gly Arg Ser Val Ala Tyr Tyr Val Phe Asn Ile Trp Gly Pro 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 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 45
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 45
Gln Ala Ser Gln Ser Ile Tyr Ser Asn Leu Ala
1 5 10
<210> 46
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 46
Asp Ala Ser Thr Leu Glu Ser
1 5
<210> 47
<211> 12
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 47
Gln Gln Gly Phe Thr Val Ser Asp Ile Asp Asn Ala
1 5 10
<210> 48
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 48
Asn Tyr Ala Val Gly
1 5
<210> 49
<211> 16
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 49
Ile Ile Gly Arg Asn Gly Asn Thr Trp Tyr Ala Ser Trp Ala Arg Gly
1 5 10 15
<210> 50
<211> 13
<212> PRT

<213> 穴兔
<400> 50
Gly Tyr Gly Arg Ser Val Ala Tyr Tyr Val Phe Asn Ile
1 5 10
<210> 51
<211> 111
<212> PRT
<213> 合成
<400> 51
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Tyr Ser Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Phe Thr Val Ser Asp
85 90 95
Ile Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110
<210> 52
<211> 217
<212> PRT
<213> 合成
<400> 52
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Tyr Ser Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Phe Thr Val Ser Asp

85 90 95
Ile Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 53
<211> 121
<212> PRT
<213> 合成
<400> 53
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Ile Ile Gly Arg Asn Gly Asn Thr Trp Tyr Ala Ser Ser Ala Arg
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Gly Tyr Gly Arg Ser Val Ala Tyr Tyr Val Phe Asn Ile Trp Gly
100 105 110
Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 54

<211> 451
<212> PRT
<213> 合成
<400> 54

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

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 55
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 55

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

<210> 56
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 56

Asp Ala Ser Thr Leu Glu Ser
1 5

<210> 57
<211> 12

<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 57
Gln Gln Gly Phe Thr Val Ser Asp Ile Asp Asn Ala
1 5 10
<210> 58
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 58
Asn Tyr Ala Val Gly
1 5
<210> 59
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成
<400> 59
Ile Ile Gly Arg Asn Gly Asn Thr Trp Tyr Ala Ser Ser Ala Arg Gly
1 5 10 15
<210> 60
<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 60
Gly Tyr Gly Arg Ser Val Ala Tyr Tyr Val Phe Asn Ile
1 5 10
<210> 61
<211> 112
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 61
Ala Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Gln Pro Val
1 5 10 15
Gly Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asn
20 25 30
Leu Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Gly Leu Glu
65 70 75 80
Cys Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Tyr Leu Val Thr
85 90 95
Thr Tyr Gly Val Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110

<210> 62
<211> 218
<212> PRT
<213> 合成
<400> 62

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

<210> 63
<211> 120
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 63

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

<210> 64
<211> 450
<212> PRT
<213> 合成
<400> 64

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

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

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 65
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 65
Gln Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asn Leu Leu Ala
1 5 10

<210> 66
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 66
Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 67
<211> 12
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 67
Gln Asn Asn Tyr Leu Val Thr Thr Tyr Gly Val Ala
1 5 10

<210> 68
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 68
Ser Tyr Ala Met Ile
1 5

<210> 69
<211> 16
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 69

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

<210> 70
<211> 14
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 70

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

<210> 71
<211> 111
<212> PRT
<213> 合成
<400> 71

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

<210> 72
<211> 217
<212> PRT
<213> 合成
<400> 72

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

Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Tyr Leu Val Thr Thr
85 90 95
Tyr Gly Val Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 73
<211> 122
<212> PRT
<213> 合成
<400> 73

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

Arg Ser Tyr Ala Ala Tyr Gly Gly Tyr Pro Ala Thr Phe Asp Pro Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 74
<211> 452
<212> PRT
<213> 合成
<400> 74

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asp Thr Asp Thr Ser Ala Tyr Tyr Ala Ser Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Ser Tyr Ala Ala Tyr Gly Gly Tyr Pro Ala Thr Phe Asp Pro Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

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

<210> 75
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 75
Gln Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asn Leu Leu Ala
1 5 10

<210> 76
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔

<400> 76
Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5
<210> 77
<211> 12
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 77
Gln Asn Asn Tyr Leu Val Thr Thr Tyr Gly Val Ala
1 5 10
<210> 78
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 78
Ser Tyr Ala Met Ile
1 5
<210> 79
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成
<400> 79
Tyr Ile Asp Thr Asp Thr Ser Ala Tyr Tyr Ala Ser Ser Val Lys Gly
1 5 10 15
<210> 80
<211> 14
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 80
Ser Tyr Ala Ala Tyr Gly Gly Tyr Pro Ala Thr Phe Asp Pro
1 5 10
<210> 81
<211> 111
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 81
Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15
Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Gly Ser Tyr

20 25 30

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

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

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

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

Leu Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110

<210> 82

<211> 217

<212> PRT

<213> 合成

<400> 82

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

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

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

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

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

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

Leu Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215
<210> 83
<211> 115
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 83
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
1 5 10 15
Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Met Tyr Ser
20 25 30
Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly
35 40 45
Trp Ile Ser Tyr Gly Gly Thr Ala Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60
Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Glu Leu Lys Ile Thr
65 70 75 80
Ser Pro Thr Ile Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Glu Thr
85 90 95
Pro Val Asn Tyr Tyr Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 84
<211> 445
<212> PRT
<213> 合成
<400> 84
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
1 5 10 15
Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Met Tyr Ser
20 25 30
Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly
35 40 45
Trp Ile Ser Tyr Gly Gly Thr Ala Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Glu Leu Lys Ile Thr
65 70 75 80
Ser Pro Thr Ile Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Glu Thr
85 90 95
Pro Val Asn Tyr Tyr Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205
Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu 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 His Glu Asp Pro Glu Val Lys
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 Tyr Ala 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 Ala Leu Pro Ala Pro 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
Arg 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

Gln 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 Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 85
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 85

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

<210> 86
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 86

Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 87
<211> 12
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 87

Gln Gln Gly Tyr Asn Ser Glu Asn Leu Asp Asn Ala
1 5 10

<210> 88
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 88

Met Tyr Ser Met Gly
1 5

<210> 89
<211> 16

<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 89
Trp Ile Ser Tyr Gly Gly Thr Ala Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15
<210> 90
<211> 10
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 90
Glu Thr Pro Val Asn Tyr Tyr Leu Asp Ile
1 5 10
<210> 91
<211> 111
<212> PRT
<213> 合成
<400> 91
Ala Tyr Asp Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Gly Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Asn Ser Glu Asn
85 90 95
Leu Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110
<210> 92
<211> 217
<212> PRT
<213> 合成
<400> 92
Ala Tyr Asp Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Gly Ser Tyr

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

<210> 93
<211> 118
<212> PRT
<213> 合成
<400> 93
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Met Tyr
20 25 30
Ser Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Tyr Gly Gly Thr Ala Tyr Tyr Ala Ser Ser Ala Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

65 70 75 80
Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr Pro Val Asn Tyr Tyr Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 94
<211> 448
<212> PRT
<213> 合成
<400> 94

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Met Tyr
20 25 30
Ser Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Tyr Gly Gly Thr Ala Tyr Tyr Ala Ser Ser Ala Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr Pro Val Asn Tyr Tyr Leu Asp Ile 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 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 95

<211> 11

<212> PRT

<213> 穴兔

<400> 95

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

<210> 96

<211> 7

<212> PRT

<213> 穴兔
<400> 96
Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5
<210> 97
<211> 12
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 97
Gln Gln Gly Tyr Asn Ser Glu Asn Leu Asp Asn Ala
1 5 10
<210> 98
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 98
Met Tyr Ser Met Gly
1 5
<210> 99
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成
<400> 99
Trp Ile Ser Tyr Gly Gly Thr Ala Tyr Tyr Ala Ser Ser Ala Lys Gly
1 5 10 15
<210> 100
<211> 10
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 100
Glu Thr Pro Val Asn Tyr Tyr Leu Asp Ile
1 5 10
<210> 101
<211> 109
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 101
Ala Phe Glu Leu Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Glu Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

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

<210> 102
<211> 215
<212> PRT
<213> 合成
<400> 102

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

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

<210> 103
<211> 120
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 103

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

<210> 104
<211> 450
<212> PRT
<213> 合成
<400> 104

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

50 55 60

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 105
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 105
Gln Ala Ser Gln Asn Ile Val Thr Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 106
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 106
Gly Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 107
<211> 10
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 107
Gln Ser Tyr Asp Gly Phe Asn Ser Ala Gly
1 5 10

<210> 108
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 108
Gly Tyr Asp Met Ser

1 5

<210> 109
<211> 16
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 109

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

<210> 110
<211> 15
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 110

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

<210> 111
<211> 109
<212> PRT
<213> 合成
<400> 111

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

<210> 112
<211> 215
<212> PRT
<213> 合成
<400> 112

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

<210> 113
<211> 123
<212> PRT
<213> 合成
<400> 113

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

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

<210> 114
<211> 453
<212> PRT
<213> 合成
<400> 114

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

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

<210> 115
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 115

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Val Thr Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 116
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 116
Gly Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 117
<211> 10
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 117
Gln Ser Tyr Asp Gly Phe Asn Ser Ala Gly
1 5 10

<210> 118
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 118
Gly Tyr Asp Met Ser
1 5

<210> 119
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成
<400> 119
Leu Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Thr Ser Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 120
<211> 15
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 120
Ser Leu Tyr Ala Gly Pro Asn Ala Gly Ile Gly Pro Phe Asn Ile
1 5 10 15

<210> 121
<211> 112

<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 121

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

<210> 122
<211> 218
<212> PRT
<213> 合成
<400> 122

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

130 135 140

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

<210> 123
<211> 117
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 123

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

<210> 124
<211> 447
<212> PRT
<213> 合成
<400> 124

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

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

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

<210> 125
<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 125
Gln Ser Ser Gln Asn Val Tyr Lys Asn Asn Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 126
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 126
Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 127
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 127
Ala Gly Gly Tyr Thr Ser Ser Ser Asp Asn Ala
1 5 10

<210> 128
<211> 5
<212> PRT

<213> 穴兔
<400> 128
Thr Tyr Trp Met Ser
1 5
<210> 129
<211> 17
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 129
Asp Ile Tyr Phe Ser Asn Glu Glu Thr Asn Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 130
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 130
Gly Ser Pro Asp Val Asp Ile Gly Ile Asp Met
1 5 10
<210> 131
<211> 112
<212> PRT
<213> 合成
<400> 131
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Asn Val Tyr Lys Asn
20 25 30
Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Thr Ser
85 90 95
Ser Ser Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110
<210> 132

<211> 218
<212> PRT
<213> 合成
<400> 132

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

<210> 133
<211> 120
<212> PRT
<213> 合成
<400> 133

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

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

<210> 134
<211> 450
<212> PRT
<213> 合成
<400> 134

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

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

<210> 135

<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 135
Gln Ser Ser Gln Asn Val Tyr Lys Asn Asn Tyr Leu Ser
1 5 10
<210> 136
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 136
Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5
<210> 137
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 137
Ala Gly Gly Tyr Thr Ser Ser Ser Asp Asn Ala
1 5 10
<210> 138
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 138
Thr Tyr Trp Met Ser
1 5
<210> 139
<211> 17
<212> PRT
<213> 合成
<400> 139
Asp Ile Tyr Phe Ser Asn Glu Glu Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Ala Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 140
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔

<400> 140
Gly Ser Pro Asp Val Asp Ile Gly Ile Asp Met
1 5 10
<210> 141
<211> 112
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 141
Ala Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15
Asp Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Lys Asn
20 25 30
Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val
65 70 75 80
Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Asp Tyr Asp Asp
85 90 95
Asp Thr Asp Asn Gly Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110
<210> 142
<211> 218
<212> PRT
<213> 合成
<400> 142
Ala Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15
Asp Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Lys Asn
20 25 30
Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val
65 70 75 80
Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Asp Tyr Asp Asp
85 90 95

Asp Thr Asp Asn Gly Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 143
<211> 112
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 143

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

<210> 144
<211> 442
<212> PRT
<213> 合成

<400> 144

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

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
305 310 315 320
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
325 330 335
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
340 345 350
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
355 360 365
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
370 375 380
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
405 410 415
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
420 425 430
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 145
<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 145
Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Lys Asn Asn Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 146
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 146
Asp Ala Ser Asn Leu Pro Ser
1 5

<210> 147
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 147
Leu Gly Asp Tyr Asp Asp Asp Thr Asp Asn Gly
1 5 10

<210> 148
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 148
Ser Tyr Ala Met Ile
1 5
<210> 149
<211> 15
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 149
Ile Ile Trp Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15
<210> 150
<211> 8
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 150
Gly Gly Gly Ser Ile Tyr Asp Val
1 5
<210> 151
<211> 112
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 151
Ala Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Thr Ser Glu Pro Val Gly
1 5 10 15
Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Gln Asn Ile Gly Asn Asp
20 25 30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Glu Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Thr Ser Lys Leu Ala Thr Gly Val Pro Lys Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Arg Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80
Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Val Tyr Ser Tyr Ile Ser
85 90 95
Asp Asp Gly Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg

100 105 110

<210> 152
<211> 218
<212> PRT
<213> 合成
<400> 152

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

<210> 153
<211> 120
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 153

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

<210> 154
<211> 450
<212> PRT
<213> 合成
<400> 154

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

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

450

<210> 155
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 155
Gln Ala Ser Gln Asn Ile Gly Asn Asp Leu Ser
1 5 10
<210> 156
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 156
Ser Thr Ser Lys Leu Ala Thr
1 5
<210> 157
<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 157
Leu Gly Val Tyr Ser Tyr Ile Ser Asp Asp Gly Asn Ala
1 5 10
<210> 158
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 158
Asn Tyr Ala Met Thr
1 5
<210> 159
<211> 16
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 159
Ile Ile Gly Ser Ile Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15
<210> 160
<211> 15
<212> PRT

<213> 穴兔
<400> 160
Asp Ala Gly Val Thr Val Asp Gly Tyr Gly Tyr Tyr Phe Asn Ile
1 5 10 15
<210> 161
<211> 112
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 161
Ala Ile Glu Met Thr Gln Thr Pro Phe Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15
Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80
Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Thr Ile Ser Asn
85 90 95
Val Asp Asn Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110
<210> 162
<211> 218
<212> PRT
<213> 合成
<400> 162
Ala Ile Glu Met Thr Gln Thr Pro Phe Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15
Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80
Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Thr Ile Ser Asn

85 90 95
Val Asp Asn Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 163
<211> 115
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 163

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

<210> 164

<211> 445
<212> PRT
<213> 合成
<400> 164

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

Arg 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

Gln 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 Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 165
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 165

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

<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 166

Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 167
<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔

<400> 167
Gln Gln Gly Tyr Thr Ile Ser Asn Val Asp Asn Asn Val
1 5 10
<210> 168
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 168
Gly Tyr Asn Leu Val
1 5
<210> 169
<211> 16
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 169
Phe Ile Ser Tyr Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15
<210> 170
<211> 10
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 170
Glu Thr Ala Asn Thr Tyr Asp Tyr Gly Ile
1 5 10
<210> 171
<211> 112
<212> PRT
<213> 合成
<400> 171
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Thr Ile Ser Asn
85 90 95
Val Asp Asn Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 172
<211> 218
<212> PRT
<213> 合成
<400> 172

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

<210> 173
<211> 118

<212> PRT
<213> 合成
<400> 173

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

<210> 174
<211> 448
<212> PRT
<213> 合成
<400> 174

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Gly Tyr
20 25 30
Asn Leu Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Phe Ile Ser Tyr Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Ser Ala Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr Ala Asn Thr Tyr Asp Tyr Gly Ile 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 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 175
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 175
Gln Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 176
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 176
Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 177
<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 177
Gln Gln Gly Tyr Thr Ile Ser Asn Val Asp Asn Asn Val
1 5 10

<210> 178
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 178
Gly Tyr Asn Leu Val
1 5

<210> 179
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成
<400> 179
Phe Ile Ser Tyr Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Ser Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 180
<211> 10

<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 180
Glu Thr Ala Asn Thr Tyr Asp Tyr Gly Ile
1 5 10
<210> 181
<211> 112
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 181
Ala Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15
Gly Thr Val Ser Ile Ser Cys Gln Ser Ser Gln Asn Val Tyr Lys Asn
20 25 30
Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
50 55 60
Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Val
65 70 75 80
Gln Cys Asp Ala Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Ser Ser
85 90 95
Ser Ser Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110
<210> 182
<211> 218
<212> PRT
<213> 合成
<400> 182
Ala Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15
Gly Thr Val Ser Ile Ser Cys Gln Ser Ser Gln Asn Val Tyr Lys Asn
20 25 30
Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
50 55 60
Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Val
65 70 75 80

Gln Cys Asp Ala Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Ser Ser
85 90 95
Ser Ser Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 183
<211> 117
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 183

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

<210> 184
<211> 447
<212> PRT
<213> 合成
<400> 184

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

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

<210> 185
<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 185
Gln Ser Ser Gln Asn Val Tyr Lys Asn Asn Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 186
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 186
Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 187
<211> 11
<212> PRT

<213> 穴兔
<400> 187
Ala Gly Gly Tyr Ser Ser Ser Ser Asp Asn Ala
1 5 10
<210> 188
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 188
Thr Tyr Trp Met Ser
1 5
<210> 189
<211> 17
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 189
Asp Ile Tyr Phe Ser Asn Glu Glu Thr Asn Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 190
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 190
Gly Ser Pro Asp Val Glu Ile Ala Ile Asp Met
1 5 10
<210> 191
<211> 112
<212> PRT
<213> 合成
<400> 191
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Asn Val Tyr Lys Asn
20 25 30
Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Thr Ser
85 90 95
Ser Ser Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 192
<211> 218
<212> PRT
<213> 合成
<400> 192

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

<210> 193
<211> 120
<212> PRT
<213> 合成
<400> 193

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

<210> 194
<211> 450
<212> PRT
<213> 合成
<400> 194

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

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

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 195
<211> 13
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 195
Gln Ser Ser Gln Asn Val Tyr Lys Asn Asn Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 196
<211> 7
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 196
Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 197
<211> 11
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 197
Ala Gly Gly Tyr Thr Ser Ser Ser Asp Asn Ala
1 5 10

<210> 198
<211> 5
<212> PRT
<213> 穴兔
<400> 198
Thr Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 199
<211> 17
<212> PRT
<213> 合成
<400> 199

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

<210> 200
<211> 11
<212> PRT
<213> 合成
<400> 200
Gly Ser Pro Asp Val Glu Ile Ala Ile Asp Met
1 5 10

<210> 201
<211> 333
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 201
gcccttgtga tgacccagac tccatcctcc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcacc 60
atcaattgcc aggccagtca gaacatttac agcaatttag cctggtatca acagagacca 120
gggcagcgtc ccaagctcct gatctatggt gcatccaatc tggatgctgg ggtcccatcg 180
cggttcagag gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcga cctggagtgt 240
gacgatgttg gcacttacta ctgtcaaagt gcttttgata gtgatagtac tgaaaatact 300
ttcggcggag ggaccgaggt ggtggtcaaa cgt 333

<210> 202
<211> 654
<212> DNA
<213> 合成
<400> 202
gcccttgtga tgacccagac tccatcctcc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcacc 60
atcaattgcc aggccagtca gaacatttac agcaatttag cctggtatca acagagacca 120
gggcagcgtc ccaagctcct gatctatggt gcatccaatc tggatgctgg ggtcccatcg 180
cggttcagag gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcga cctggagtgt 240
gacgatgttg gcacttacta ctgtcaaagt gcttttgata gtgatagtac tgaaaatact 300
ttcggcggag ggaccgaggt ggtggtcaaa cgtacggtag cggccccatc tgtcttcatc 360
ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420
aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480
aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540
accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600
catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttag 654

<210> 203
<211> 354

<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 203
cagtcgctgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagtct ctggcttctc cctcagtagc tatgcaatga gctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatggat cggagtcatt actagtattg gtagcacagt ctacgcgagc 180
tgggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggatct gaaaatcacc 240
agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gaggctacga tgactatgat 300
gagatgacct actttaacat ctggggccag gggaccctcg tcaccgtctc gagc 354
<210> 204
<211> 1347
<212> DNA
<213> 合成
<400> 204
cagtcgctgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagtct ctggcttctc cctcagtagc tatgcaatga gctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatggat cggagtcatt actagtattg gtagcacagt ctacgcgagc 180
tgggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggatct gaaaatcacc 240
agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gaggctacga tgactatgat 300
gagatgacct actttaacat ctggggccag gggaccctcg tcaccgtctc gagcgcctcc 360
accaagggcc catcggtctt ccccctggca ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca 420
gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 540
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 600
tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagttga gcccaaatct 660
tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 720
gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 780
acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 840
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta cgccagcacg 900
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 960
aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc 1020
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 1080
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 1140
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1200
tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1260
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1320
agcctctccc tgtctccggg taaatga 1347
<210> 205
<211> 33

<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 205
caggccagtc agaacattta cagcaattta gcc 33
<210> 206
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 206
ggtgcatcca atctggatgc t 21
<210> 207
<211> 36
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 207
caaagtgctt ttgatagtga tagtactgaa aatact 36
<210> 208
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 208
agctatgcaa tgagc 15
<210> 209
<211> 48
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 209
gtcattacta gtattggtag cacagtctac gcgagctggg cgaaaggc 48
<210> 210
<211> 39
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 210
ggctacgatg actatgatga gatgacctac tttaacatc 39
<210> 211
<211> 333
<212> DNA
<213> 合成
<400> 211

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggccagtca gaacatttac agcaacttag cctggtatca gcagaaacca 120
ggaaaagccc ctaagctcct gatctatggt gcatccaatc tggatgctgg agtcccatca 180
aggttctctg gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttacta ctgccaaagt gcttttgata gtgatagtac tgaaaacact 300
ttcggcggag gaaccaaggt ggaaatcaaa cgt 333

<210> 212
<211> 654
<212> DNA
<213> 合成
<400> 212

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggccagtca gaacatttac agcaacttag cctggtatca gcagaaacca 120
ggaaaagccc ctaagctcct gatctatggt gcatccaatc tggatgctgg agtcccatca 180
aggttctctg gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttacta ctgccaaagt gcttttgata gtgatagtac tgaaaacact 300
ttcggcggag gaaccaaggt ggaaatcaaa cgtacggtag cggccccatc tgtcttcatc 360
ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420
aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480
aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540
accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600
catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttag 654

<210> 213
<211> 363
<212> DNA
<213> 合成
<400> 213

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt agctatgcaa tgagctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtcggagtc attactagta ttggtagcac agtctacgcg 180
agcagcgcga aaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac cctgtatctt 240
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacact gctgtgtatt actgtgctag aggctacgat 300
gactatgatg agatgaccta ctttaacatc tggggccaag ggaccctcgt caccgtctcg 360
agc 363

<210> 214
<211> 1356
<212> DNA
<213> 合成
<400> 214

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggGtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt agctatgcaa tgagctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtcggagtc attactagta ttggtagcac agtctacgcg 180
agcagcgcga aaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac cctgtatctt 240
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacact gctgtgtatt actgtgctag aggctacgat 300
gactatgatg agatgaccta ctttaacatc tggggccaag ggaccctcgt caccgtctcg 360
agcgcctcca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480
tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagttgag 660
cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga actcctgggg 720
ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780
cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900
gccagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccag cccccatcga gaaaaccatc 1020
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggag 1080
gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 1140
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1200
gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1260
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1320
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 1356

<210> 215
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 215
caggccagtc agaacattta cagcaactta gcc 33

<210> 216
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 216
ggtgcatcca atctggatgc t 21

<210> 217
<211> 36
<212> DNA
<213> 穴兔

<400> 217
caaagtgctt ttgatagtga tagtactgaa aacact 36
<210> 218
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 218
agctatgcaa tgagc 15
<210> 219
<211> 48
<212> DNA
<213> 合成
<400> 219
gtcattacta gtattggtag cacagtctac gcgagcagcg cgaaaggc 48
<210> 220
<211> 39
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 220
ggctacgatg actatgatga gatgacctac tttaacatc 39
<210> 221
<211> 336
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 221
gcagccgtgc tgacccagac accatcgccc gtgtctgcag ctatgggaga cacagtcacc 60
atcaagtgcc agtccagtca gagtgtttat aagaacaact acttatcctg gtatcagcag 120
aaaccagggc agcctcccag gctcctgatc tatgatgcat ccaatctgcc atctggggtc 180
ccatcacggt tcagcggcag tggatctggg acacagttca ctctcaccat cagcggcgtg 240
cagtgtgacg atgctgccac ttactactgt ctaggcgatt atgatgatga tgctgataat 300
gctttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgt 336
<210> 222
<211> 657
<212> DNA
<213> 合成
<400> 222
gcagccgtgc tgacccagac accatcgccc gtgtctgcag ctatgggaga cacagtcacc 60
atcaagtgcc agtccagtca gagtgtttat aagaacaact acttatcctg gtatcagcag 120
aaaccagggc agcctcccag gctcctgatc tatgatgcat ccaatctgcc atctggggtc 180

ccatcacggt tcagcggcag tggatctggg acacagttca ctctcaccat cagcggcgtg 240
cagtgtgacg atgctgccac ttactactgt ctaggcgatt atgatgatga tgctgataat 300
gctttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 360
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 657

<210> 223
<211> 339
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 223

cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagtct ctggattctc cctcagtagc tatgtaatga tctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatacat cggaatcact tggagtgctg gtacatacta cgcgagctgg 180
gcgaaaggcc gattcaccat ctccaaaacc tcgtcgacca cggtggatct gaaaatcacc 240
agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgccg gaggtggtgg tagtatttat 300
gatatttggg gcccgggcac cctggtcacc gtctcgagc 339

<210> 224
<211> 1332
<212> DNA
<213> 合成
<400> 224

cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagtct ctggattctc cctcagtagc tatgtaatga tctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatacat cggaatcact tggagtgctg gtacatacta cgcgagctgg 180
gcgaaaggcc gattcaccat ctccaaaacc tcgtcgacca cggtggatct gaaaatcacc 240
agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgccg gaggtggtgg tagtatttat 300
gatatttggg gcccgggcac cctggtcacc gtctcgagcg cctccaccaa gggcccatcg 360
gtcttccccc tggcaccctc ctccaagagc acctctgggg gcacagcggc cctgggctgc 420
ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg acggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc 480
agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtcctcag gactctactc cctcagcagc 540
gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc acccagacct acatctgcaa cgtgaatcac 600
aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gttgagccca aatcttgtga caaaactcac 660
acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc 720
ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg 780
gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 840
cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacgcca gcacgtaccg tgtggtcagc 900

gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc 960
aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga 1020
gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc 1080
ctgacctgcc tggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1140
gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga cggctccttc 1200
ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca 1260
tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct 1320
ccgggtaaat ga 1332

<210> 225
<211> 39
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 225
cagtccagtc agagtgttta taagaacaac tacttatcc 39

<210> 226
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 226
gatgcatcca atctgccatc t 21

<210> 227
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 227
ctaggcgatt atgatgatga tgctgataat gct 33

<210> 228
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 228
agctatgtaa tgatc 15

<210> 229
<211> 45
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 229
atcacttgga gtgctggtac atactacgcg agctgggcga aaggc 45

<210> 230

<211> 24
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 230
ggtggtggta gtatttatga tatt 24
<210> 231
<211> 336
<212> DNA
<213> 合成
<400> 231
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc agtccagtca gagtgtctat aagaacaact acttatcctg gtatcagcag 120
aaaccaggaa aagcccctaa gctcctgatc tatgatgcat ccaatctgcc atctggagtc 180
ccatcaaggt tcagcggcag tggatctgga acagaattca ctctcaccat cagcagcctg 240
cagcctgatg attttgcaac ttattactgc ctaggcgatt atgatgatga tgctgataat 300
gctttcggcg gaggaaccaa ggtggaaatc aaacgt 336
<210> 232
<211> 657
<212> DNA
<213> 合成
<400> 232
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc agtccagtca gagtgtctat aagaacaact acttatcctg gtatcagcag 120
aaaccaggaa aagcccctaa gctcctgatc tatgatgcat ccaatctgcc atctggagtc 180
ccatcaaggt tcagcggcag tggatctgga acagaattca ctctcaccat cagcagcctg 240
cagcctgatg attttgcaac ttattactgc ctaggcgatt atgatgatga tgctgataat 300
gctttcggcg gaggaaccaa ggtggaaatc aaacgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 360
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 657
<210> 233
<211> 345
<212> DNA
<213> 合成
<400> 233
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt agctatgtaa tgatctgggt ccgtcaggct 120

ccagggaagg ggctggagta catcggaatc acttggagtg ctggtacata ctacgcgagc 180
agtgcgaaag gccgattcac catctccaga gacaattcca agaacaccct gtatcttcaa 240
atgaacagcc tgagagctga ggacactgct gtgtattact gtgctggagg tggtggtagt 300
atctatgata tttggggcca agggaccctc gtcaccgtct cgagc 345

<210> 234
<211> 1338
<212> DNA
<213> 合成
<400> 234

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt agctatgtaa tgatctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagta catcggaatc acttggagtg ctggtacata ctacgcgagc 180
agtgcgaaag gccgattcac catctccaga gacaattcca agaacaccct gtatcttcaa 240
atgaacagcc tgagagctga ggacactgct gtgtattact gtgctggagg tggtggtagt 300
atctatgata tttggggcca agggaccctc gtcaccgtct cgagcgcctc caccaagggc 360
ccatcggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg 420
ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480
ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 540
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600
aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agcccaaatc ttgtgacaaa 660
actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc 720
ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg 780
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acgccagcac gtaccgtgtg 900
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960
gtctccaaca aagccctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1080
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200
tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320
ctgtctccgg gtaaatga 1338

<210> 235
<211> 39
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 235

cagtccagtc agaatgttta taagaacaac tacttatcc 39

<210> 236

<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 236
aaggcatcca ctctggcatc t 21
<210> 237
<211> 32
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 237
gcaggcggtt ataccagtag tagtgataat gc 32
<210> 238
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 238
agctatgtaa tgatc 15
<210> 239
<211> 45
<212> DNA
<213> 合成
<400> 239
atcacttgga gtgctggtac atactacgcg agcagtgcga aaggc 45
<210> 240
<211> 24
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 240
ggtggtggta gtatctatga tatt 24
<210> 241
<211> 333
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 241
gcctatgata tgacccagac tccagcctct gtggaggtag ctgtgggagg cacagtcacc 60
atcaagtgcc aggccagtca gagcatttac agcaatttag cctggtatca gcagagacca 120
gggcagcctc ccaagctcct gatctatgat gcatccactc tggaatctgg ggtcccatcg 180
cggttcaaag gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcgg cgtggagtgt 240
gccgatgctg cctcttacta ctgtcaacag ggttttactg ttagtgatat tgataatgct 300

ttcggcggag ggaccgaggt ggtggtcaaa cgt 333

<210> 242

<211> 654

<212> DNA

<213> 合成

<400> 242

gcctatgata tgacccagac tccagcctct gtggaggtag ctgtgggagg cacagtcacc 60
atcaagtgcc aggccagtca gagcatttac agcaatttag cctggtatca gcagagacca 120
gggcagcctc ccaagctcct gatctatgat gcatccactc tggaatctgg ggtcccatcg 180
cggttcaaag gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcgg cgtggagtgt 240
gccgatgctg cctcttacta ctgtcaacag ggttttactg ttagtgatat tgataatgct 300
ttcggcggag ggaccgaggt ggtggtcaaa cgtacggtag cggccccatc tgtcttcatc 360
ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420
aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480
aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540
accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600
catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttag 654

<210> 243

<211> 354

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 243

cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagtct ctggattctc cctcagtaac tatgcagtgg gctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatggat cggaatcatt ggtcgtaatg gtaacacatg gtacgcgagc 180
tgggcaagag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggatct gaaaatcacc 240
agtccgacaa gcgaggacac ggccacatat ttctgtgcca gaggatatgg ccgtagtgtt 300
gcttattacg tctttaacat ctggggccca ggcaccctcg tcaccgtctc gagc 354

<210> 244

<211> 1347

<212> DNA

<213> 合成

<400> 244

cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagtct ctggattctc cctcagtaac tatgcagtgg gctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatggat cggaatcatt ggtcgtaatg gtaacacatg gtacgcgagc 180
tgggcaagag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggatct gaaaatcacc 240
agtccgacaa gcgaggacac ggccacatat ttctgtgcca gaggatatgg ccgtagtgtt 300
gcttattacg tctttaacat ctggggccca ggcaccctcg tcaccgtctc gagcgcctcc 360

accaagggcc catcggtctt ccccctggca ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca 420
gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 540
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 600
tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagttga gcccaaatct 660
tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 720
gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 780
acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 840
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta cgccagcacg 900
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 960
aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc 1020
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 1080
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 1140
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1200
tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1260
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1320
agcctctccc tgtctccggg taaatga 1347

<210> 245
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 245
caggccagtc agagcattta cagcaattta gcc 33

<210> 246
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 246
gatgcatcca ctctggaatc t 21

<210> 247
<211> 36
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 247
caacagggtt ttactgttag tgatattgat aatgct 36

<210> 248
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔

<400> 248
aactatgcag tgggc 15
<210> 249
<211> 48
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 249
atcattggtc gtaatggtaa cacatggtac gcgagctggg caagaggc 48
<210> 250
<211> 39
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 250
ggatatggcc gtagtgttgc ttattacgtc tttaacatc 39
<210> 251
<211> 333
<212> DNA
<213> 合成
<400> 251
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggccagtca gagcatttac agcaatcttg cctggtatca gcagaaacca 120
ggaaaagccc ctaagctcct gatctatgat gcatccactc tggaatctgg agtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttacta ctgccaacag ggttttactg ttagtgatat tgataatgct 300
ttcggcggag gaaccaaggt ggaaatcaaa cgt 333
<210> 252
<211> 654
<212> DNA
<213> 合成
<400> 252
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggccagtca gagcatttac agcaatcttg cctggtatca gcagaaacca 120
ggaaaagccc ctaagctcct gatctatgat gcatccactc tggaatctgg agtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttacta ctgccaacag ggttttactg ttagtgatat tgataatgct 300
ttcggcggag gaaccaaggt ggaaatcaaa cgtacggtag cggccccatc tgtcttcatc 360
ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420
aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480
aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540

accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600
catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttag 654
<210> 253
<211> 363
<212> DNA
<213> 合成
<400> 253
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt aactatgcag tgggctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtcggaatc attggtcgta atggtaacac atggtacgcg 180
agctctgcaa gaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac cctgtatctt 240
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacact gctgtgtatt actgtgctag aggatatggc 300
cgtagtgttg cttattacgt ctttaacatc tggggcccag ggaccctcgt caccgtctcg 360
agc 363
<210> 254
<211> 1356
<212> DNA
<213> 合成
<400> 254
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt aactatgcag tgggctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtcggaatc attggtcgta atggtaacac atggtacgcg 180
agctctgcaa gaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac cctgtatctt 240
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacact gctgtgtatt actgtgctag aggatatggc 300
cgtagtgttg cttattacgt ctttaacatc tggggcccag ggaccctcgt caccgtctcg 360
agcgcctcca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480
tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagttgag 660
cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga actcctgggg 720
ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780
cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900
gccagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccag cccccatcga gaaaaccatc 1020
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggag 1080
gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 1140
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1200

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1260
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1320
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 1356
<210> 255
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 255
caggccagtc agagcattta cagcaatctt gcc 33
<210> 256
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 256
gatgcatcca ctctggaatc t 21
<210> 257
<211> 36
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 257
caacagggtt ttactgttag tgatattgat aatgct 36
<210> 258
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 258
aactatgcag tgggc 15
<210> 259
<211> 48
<212> DNA
<213> 合成
<400> 259
atcattggtc gtaatggtaa cacatggtac gcgagctctg caagaggc 48
<210> 260
<211> 39
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 260
ggatatggcc gtagtgttgc ttattacgtc tttaacatc 39

<210> 261
<211> 336
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 261
gccgatgttg tgatgaccca gactccagcc tccgtgtctc aacctgtggg aggcacagtc 60
accatcaagt gccaggccag tgaggacatt tataacttat tggcctggta tcagcagaaa 120
ccagggcagc ctcccaagct cctgatctat tctgcatcca ctctggcatc tggggtccca 180
tcgcggttca aaggcagtgg atctgggaca gagtacactc tcaccatcag cggcctggag 240
tgtgccgatg ctgccactta ctactgtcaa aacaattatc ttgttactac ttatggtgtt 300
gctttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgt 336
<210> 262
<211> 657
<212> DNA
<213> 合成
<400> 262
gccgatgttg tgatgaccca gactccagcc tccgtgtctc aacctgtggg aggcacagtc 60
accatcaagt gccaggccag tgaggacatt tataacttat tggcctggta tcagcagaaa 120
ccagggcagc ctcccaagct cctgatctat tctgcatcca ctctggcatc tggggtccca 180
tcgcggttca aaggcagtgg atctgggaca gagtacactc tcaccatcag cggcctggag 240
tgtgccgatg ctgccactta ctactgtcaa aacaattatc ttgttactac ttatggtgtt 300
gctttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 360
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 657
<210> 263
<211> 360
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 263
caggagcagc tgaaggagtc cgggggtcgc ctggtcacgc ctgggacacc cctgacactc 60
acctgtacag tctctggatt ctccctcagt agctatgcaa tgatctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggaata catcggatac attgatactg atactagcgc atactacgcg 180
agctgggtga aaggccgatt caccatctcc agaacctcga ccacggtgga tctcaaaatc 240
actagtccga caaccgagga cacggccacc tatttctgtg ccagatctta tgctgcttat 300
ggtggttatc ctgctacttt tgatccctgg ggcccaggca ccctggtcac cgtctcgagc 360
<210> 264

<211> 1353
<212> DNA
<213> 合成
<400> 264
caggagcagc tgaaggagtc cgggggtcgc ctggtcacgc ctgggacacc cctgacactc 60
acctgtacag tctctggatt ctccctcagt agctatgcaa tgatctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggaata catcggatac attgatactg atactagcgc atactacgcg 180
agctgggtga aaggccgatt caccatctcc agaacctcga ccacggtgga tctcaaaatc 240
actagtccga caaccgagga cacggccacc tatttctgtg ccagatctta tgctgcttat 300
ggtggttatc ctgctacttt tgatccctgg ggcccaggca ccctggtcac cgtctcgagc 360
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 660
aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 720
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacgcc 900
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1353
<210> 265
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 265
caggccagtg aggacattta taacttattg gcc 33
<210> 266
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 266
tctgcatcca ctctggcatc t 21

<210> 267
<211> 36
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 267
caaaacaatt atcttgttac tacttatggt gttgct 36
<210> 268
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 268
agctatgcaa tgatc 15
<210> 269
<211> 48
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 269
tacattgata ctgatactag cgcatactac gcgagctggg tgaaaggc 48
<210> 270
<211> 36
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 270
tcttatgctg cttatggtgg ttatcctgct actttt 36
<210> 271
<211> 333
<212> DNA
<213> 合成
<400> 271
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggccagtga ggacatttac aacttattgg cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagctcct gatctattct gcatccactc tggcatctgg ggtcccatct 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat tacactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaac aactatcttg ttactactta tggtgttgct 300
ttcggcggag gaaccaaggt ggaaatcaaa cgt 333
<210> 272
<211> 654
<212> DNA
<213> 合成

<400> 272

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggccagtga ggacatttac aacttattgg cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagctcct gatctattct gcatccactc tggcatctgg ggtcccatct 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat tacactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaac aactatcttg ttactactta tggtgttgct 300
ttcggcggag gaaccaaggt ggaaatcaaa cgtacggtag cggccccatc tgtcttcatc 360
ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420
aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480
aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540
accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600
catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttag 654

<210> 273
<211> 366
<212> DNA
<213> 合成

<400> 273

caggtacagc tggtggagtc tggtggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cttctggatt caccttcagt agctatgcaa tgatctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggaata catcggatac attgatactg atactagcgc atactacgca 180
agcagtgtga aaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtacctg 240
caaatgtcta gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgctag atcttatgct 300
gcttatggtg gttatcctgc tacttttgat ccctggggcc aaggtaccct cgtcaccgtc 360
tcgagc 366

<210> 274
<211> 1359
<212> DNA
<213> 合成

<400> 274

caggtacagc tggtggagtc tggtggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cttctggatt caccttcagt agctatgcaa tgatctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggaata catcggatac attgatactg atactagcgc atactacgca 180
agcagtgtga aaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtacctg 240
caaatgtcta gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgctag atcttatgct 300
gcttatggtg gttatcctgc tacttttgat ccctggggcc aaggtaccct cgtcaccgtc 360
tcgagcgcct ccaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 420
tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480
gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 540
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 600

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt 660
gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 720
gggggaccgt cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 780
acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 840
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 900
tacgccagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 960
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1020
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1080
gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1140
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1200
cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1260
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1320
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga 1359

<210> 275
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 275
caggccagtg aggacattta caacttattg gcc 33

<210> 276
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 276
tctgcatcca ctctggcatc t 21

<210> 277
<211> 36
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 277
caaaacaact atcttgttac tacttatggt gttgct 36

<210> 278
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 278
agctatgcaa tgatc 15

<210> 279
<211> 48

<212> DNA
<213> 合成
<400> 279
tacattgata ctgatactag cgcatactac gcaagcagtg tgaaaggc 48
<210> 280
<211> 42
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 280
tcttatgctg cttatggtgg ttatcctgct acttttgatc cc 42
<210> 281
<211> 333
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 281
gcctatgata tgacccagac tccagcctcc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcacc 60
atcaagtgcc aggccagtga gaacattggt agctacttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggcagcctc ccgaactcct gatctacagg gcgtccactc tggcatctgg ggtcccatcg 180
cggttcaaag gcagtggatc tgggacacag ttcactctca ccatcagcgg cgtggagtgt 240
gccgatgctg ccacttacta ctgtcaacag ggttataata gtgagaatct tgataatgct 300
ttcggcggag ggaccgaggt ggtggtcaaa cgt 333
<210> 282
<211> 654
<212> DNA
<213> 合成
<400> 282
gcctatgata tgacccagac tccagcctcc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcacc 60
atcaagtgcc aggccagtga gaacattggt agctacttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggcagcctc ccgaactcct gatctacagg gcgtccactc tggcatctgg ggtcccatcg 180
cggttcaaag gcagtggatc tgggacacag ttcactctca ccatcagcgg cgtggagtgt 240
gccgatgctg ccacttacta ctgtcaacag ggttataata gtgagaatct tgataatgct 300
ttcggcggag ggaccgaggt ggtggtcaaa cgtacggtag cggccccatc tgtcttcatc 360
ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420
aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480
aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540
accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600
catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttag 654
<210> 283
<211> 345

<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 283
cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagtct ctggaatcga cctcagtatg tattcaatgg gctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatacat cggatggatt agttatggtg gtactgcata ttacgcgagc 180
tgggcgaagg gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggagct gaagatcacc 240
agtccgacaa tcgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gagagactcc tgttaattat 300
tatttggaca tttggggcca ggggaccctc gtcaccgtct cgagc 345
<210> 284
<211> 1338
<212> DNA
<213> 合成
<400> 284
cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagtct ctggaatcga cctcagtatg tattcaatgg gctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatacat cggatggatt agttatggtg gtactgcata ttacgcgagc 180
tgggcgaagg gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggagct gaagatcacc 240
agtccgacaa tcgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gagagactcc tgttaattat 300
tatttggaca tttggggcca ggggaccctc gtcaccgtct cgagcgcctc caccaagggc 360
ccatcggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg 420
ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480
ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 540
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600
aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agcccaaatc ttgtgacaaa 660
actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc 720
ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg 780
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acgccagcac gtaccgtgtg 900
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960
gtctccaaca aagccctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1080
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200
tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320
ctgtctccgg gtaaatga 1338
<210> 285
<211> 33

<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 285
caggccagtg agaacattgg tagctactta gcc 33
<210> 286
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 286
agggcgtcca ctctggcatc t 21
<210> 287
<211> 36
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 287
caacagggtt ataatagtga gaatcttgat aatgct 36
<210> 288
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 288
atgtattcaa tgggc 15
<210> 289
<211> 48
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 289
tggattagtt atggtggtac tgcatattac gcgagctggg cgaagggc 48
<210> 290
<211> 30
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 290
gagactcctg ttaattatta tttggacatt 30
<210> 291
<211> 333
<212> DNA
<213> 合成
<400> 291

gcctatgata tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggccagtga gaacattggt agctacttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagctcct gatctatagg gcttccactc tggcatctgg ggtcccatct 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaacag ggttacaata gtgagaatct tgataatgct 300
ttcggcggag gaaccaaggt ggaaatcaaa cgt 333

<210> 292
<211> 654
<212> DNA
<213> 合成
<400> 292

gcctatgata tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggccagtga gaacattggt agctacttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagctcct gatctatagg gcttccactc tggcatctgg ggtcccatct 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaacag ggttacaata gtgagaatct tgataatgct 300
ttcggcggag gaaccaaggt ggaaatcaaa cgtacggtag cggccccatc tgtcttcatc 360
ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420
aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480
aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540
accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600
catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttag 654

<210> 293
<211> 354
<212> DNA
<213> 合成
<400> 293

caggtacagc tggtggagtc tggtggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cttctggatt caccttcagt atgtattcaa tgggctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggaata catcggatgg attagttatg gtggtactgc atactacgct 180
agcagcgcta agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtacctg 240
caaatgtcta gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgctag agagactcct 300
gttaattact acttggacat ttggggccaa ggtaccctcg tcaccgtctc gagc 354

<210> 294
<211> 1347
<212> DNA
<213> 合成
<400> 294

caggtacagc tggtggagtc tggtggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cttctggatt caccttcagt atgtattcaa tgggctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggaata catcggatgg attagttatg gtggtactgc atactacgct 180
agcagcgcta agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtacctg 240
caaatgtcta gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgctag agagactcct 300
gttaattact acttggacat ttggggccaa ggtaccctcg tcaccgtctc gagcgcctcc 360
accaagggcc catcggtctt cccccctggca ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca 420
gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 540
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 600
tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagttga gcccaaatct 660
tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 720
gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 780
acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 840
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta cgccagcacg 900
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 960
aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc 1020
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 1080
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 1140
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1200
tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1260
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1320
agcctctccc tgtctccggg taaatga 1347

<210> 295
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 295
caggccagtg agaacattgg tagctactta gcc 33

<210> 296
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 296
agggcttcca ctctggcatc t 21

<210> 297
<211> 36
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 297

caacagggtt acaatagtga gaatcttgat aatgct 36

<210> 298

<211> 15

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 298

atgtattcaa tgggc 15

<210> 299

<211> 48

<212> DNA

<213> 合成

<400> 299

tggattagtt atggtggtac tgcatactac gctagcagcg ctaagggc 48

<210> 300

<211> 30

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 300

gagactcctg ttaattacta cttggacatt 30

<210> 301

<211> 327

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 301

gcattcgaat tgacccagac tccatcctcc gtggaggcag ctgtgggagg cacagtcacc 60

atcaagtgcc aggccagtca gaacattgtt accaatttag cctggtatca acagaaacca 120

gggcagcctc ccaagctcct gatctatggt gcatccactc tggcatctgg ggtctcatcg 180

cggttcaaag gcagtggatc tgggacacag ttcactctca ccatcagcga cctggagtgt 240

gccgatgctg ccacttattt ctgtcagagc tatgatggtt ttaatagtgc tgggttcggc 300

ggagggaccg aggtggtggt caaacgt 327

<210> 302

<211> 648

<212> DNA

<213> 合成

<400> 302

gcattcgaat tgacccagac tccatcctcc gtggaggcag ctgtgggagg cacagtcacc 60

atcaagtgcc aggccagtca gaacattgtt accaatttag cctggtatca acagaaacca 120

gggcagcctc ccaagctcct gatctatggt gcatccactc tggcatctgg ggtctcatcg 180

cggttcaaag gcagtggatc tgggacacag ttcactctca ccatcagcga cctggagtgt 240

gccgatgctg ccacttattt ctgtcagagc tatgatggtt ttaatagtgc tgggttcggc 300
ggagggaccg aggtggtggt caaacgtacg gtagcggccc catctgtctt catcttcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttag 648

<210> 303
<211> 360
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 303

cagtcgctgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagcct ctggattctc cctcagtggc tacgacatga gctgggtccg ccaggctcca 120
ggaaaggggc tggaatacat cggactcatt agttatgatg gtaacacata ctacgcgacc 180
tgggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggatct gaaaatcacc 240
agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gaagtcttta tgctggtcct 300
aatgctggta tcggaccgtt taacatctgg ggccagggga ccctcgtcac cgtctcgagc 360

<210> 304
<211> 1353
<212> DNA
<213> 合成
<400> 304

cagtcgctgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagcct ctggattctc cctcagtggc tacgacatga gctgggtccg ccaggctcca 120
ggaaaggggc tggaatacat cggactcatt agttatgatg gtaacacata ctacgcgacc 180
tgggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggatct gaaaatcacc 240
agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gaagtcttta tgctggtcct 300
aatgctggta tcggaccgtt taacatctgg ggccagggga ccctcgtcac cgtctcgagc 360
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 660
aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 720
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 780
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacgcc 900
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1353

<210> 305
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 305
caggccagtc agaacattgt taccaattta gcc 33

<210> 306
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 306
ggtgcatcca ctctggcatc t 21

<210> 307
<211> 30
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 307
cagagctatg atggttttaa tagtgctggg 30

<210> 308
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 308
ggctacgaca tgagc 15

<210> 309
<211> 48
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 309
ctcattagtt atgatggtaa cacatactac gcgacctggg cgaaaggc 48

<210> 310
<211> 45

<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 310
agtctttatg ctggtcctaa tgctggtatc ggaccgttta acatc 45
<210> 311
<211> 327
<212> DNA
<213> 合成
<400> 311
gcattccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggccagtca gaacattgtt accaacttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagctcct gatctatggt gcatccactc tggcatctgg ggtcccatct 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcagagc tatgatggtt tcaatagtgc tggtttcggc 300
ggaggaacca aggtggaaat caaacgt 327
<210> 312
<211> 648
<212> DNA
<213> 合成
<400> 312
gcattccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggccagtca gaacattgtt accaacttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagctcct gatctatggt gcatccactc tggcatctgg ggtcccatct 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcagagc tatgatggtt tcaatagtgc tggtttcggc 300
ggaggaacca aggtggaaat caaacgtacg gtagcggccc catctgtctt catcttcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttag 648
<210> 313
<211> 369
<212> DNA
<213> 合成
<400> 313
caggtacagc tggtggagtc tggtggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cttctggatt ctccctcagt ggctacgaca tgagctgggt ccgtcaggct 120
ccaggcaagg gactggagtg ggtgggactc attagttatg atggtaacac atactacgcg 180

acctccgcga aaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtacctg 240
caaatgtcta gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgctag aagtctttat 300
gctggtccta atgctggtat cggaccgttt aacatctggg gccaaggtac cctcgtcacc 360
gtctcgagc 369

<210> 314
<211> 1362
<212> DNA
<213> 合成
<400> 314

caggtacagc tggtggagtc tggtggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cttctggatt ctccctcagt ggctacgaca tgagctgggt ccgtcaggct 120
ccaggcaagg gactggagtg ggtgggactc attagttatg atggtaacac atactacgcg 180
acctccgcga aaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtacctg 240
caaatgtcta gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgctag aagtctttat 300
gctggtccta atgctggtat cggaccgttt aacatctggg gccaaggtac cctcgtcacc 360
gtctcgagcg cctccaccaa gggcccatcg gtcttccccc tggcaccctc ctccaagagc 420
acctctgggg gcacagcggc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg 480
acggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta 540
cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc 600
acccagacct acatctgcaa cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga 660
gttgagccca aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc 720
ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc 780
cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag 840
ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 900
cagtacgcca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 960
aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1020
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc 1080
cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtcaaagg cttctatccc 1140
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1200
cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag 1260
agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac 1320
cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1362

<210> 315
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 315

caggccagtc agaacattgt taccaactta gcc 33

<210> 316

<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 316
ggtgcatcca ctctggcatc t 21
<210> 317
<211> 29
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 317
cagagctatg atggtttcaa tagtgctgg 29
<210> 318
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 318
ggctacgaca tgagc 15
<210> 319
<211> 48
<212> DNA
<213> 合成
<400> 319
ctcattagtt atgatggtaa cacatactac gcgacctccg cgaaaggc 48
<210> 320
<211> 45
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 320
agtctttatg ctggtcctaa tgctggtatc ggaccgttta acatc 45
<210> 321
<211> 336
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 321
gccgccgtgc tgacccagac tccatctccc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcagc 60
atcagttgcc agtccagtca gaatgtttat aagaacaact acttatcctg gtatcagcag 120
aaaccagggc agcctcccaa gctcctgatc tacaaggcat ccactctggc atctggggtc 180
ccatcgcggt tcaaaggcgg tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcgacgtg 240
cagtgtgacg ctgctgccac ttactactgt gcaggcggtt ataccagtag tagtgataat 300

gctttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgt 336

<210> 322

<211> 656

<212> DNA

<213> 合成

<400> 322

gccgccgtgc tgacccagac tccatctccc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcagc 60
atcagttgcc agtccagtca gaatgtttat aagaacaact acttatcctg gtatcagcag 120
aaaccagggc agcctcccaa gctcctgatc tacaaggcat ccactctggc atctggggtc 180
ccatcgcggt tcaaaggcgg tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcgacgtg 240
cagtgtgacg ctgctgccac ttactactgt gcaggcggtt ataccagtag tagtgataat 300
gctttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 360
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgtta 656

<210> 323

<211> 351

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 323

cagtcggtgg aggcgtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagcct ctggattctc cctcagtacc tactggatga gctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatggat cggagacatt tattttagta atgaagaaac aaactacgcg 180
agctgggcga aaggccgatt taccatctcc aaaacctcga ccacggtgga tctgaatgtc 240
atcagtccga caaccgagga cacggccacc tatttctgtg ccagaggttc tcctgatgtt 300
gatattggta tagatatgtg gggcccgggc accctcgtca ccgtctcgag c 351

<210> 324

<211> 1344

<212> DNA

<213> 合成

<400> 324

cagtcggtgg aggcgtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagcct ctggattctc cctcagtacc tactggatga gctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatggat cggagacatt tattttagta atgaagaaac aaactacgcg 180
agctgggcga aaggccgatt taccatctcc aaaacctcga ccacggtgga tctgaatgtc 240
atcagtccga caaccgagga cacggccacc tatttctgtg ccagaggttc tcctgatgtt 300
gatattggta tagatatgtg gggcccgggc accctcgtca ccgtctcgag cgcctccacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt 660
gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacgc cagcacgtac 900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1080
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200
gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320
ctctccctgt ctccgggtaa atga 1344

<210> 325
<211> 39
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 325
cagtccagtc agaatgttta taagaacaac tacttatcc 39

<210> 326
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 326
aaggcatcca ctctggcatc t 21

<210> 327
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 327
gcaggcggtt ataccagtag tagtgataat gct 33

<210> 328
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔

<400> 328
acctactgga tgagc 15
<210> 329
<211> 51
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 329
gacatttatt ttagtaatga agaaacaaac tacgcgagct gggcgaaagg c 51
<210> 330
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 330
ggttctcctg atgttgatat tggtatagat atg 33
<210> 331
<211> 336
<212> DNA
<213> 合成
<400> 331
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc agtccagtca gaatgtttat aagaacaact acttatcctg gtatcagcag 120
aaaccaggga aagtccctaa gctcctgatc tataaggcat ccactctggc atctggggtc 180
ccatctcgtt tcagtggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 240
cagcctgaag atgttgcaac ttattactgt gcaggcggtt ataccagtag tagtgataat 300
gctttcggcg gaggaaccaa ggtggaaatc aaacgt 336
<210> 332
<211> 657
<212> DNA
<213> 合成
<400> 332
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc agtccagtca gaatgtttat aagaacaact acttatcctg gtatcagcag 120
aaaccaggga aagtccctaa gctcctgatc tataaggcat ccactctggc atctggggtc 180
ccatctcgtt tcagtggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 240
cagcctgaag atgttgcaac ttattactgt gcaggcggtt ataccagtag tagtgataat 300
gctttcggcg gaggaaccaa ggtggaaatc aaacgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 360
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540

agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 657
<210> 333
<211> 360
<212> DNA
<213> 合成
<400> 333
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggGtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt acctactgga tgagctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtcggagac atttacttta gtaatgaaga aacaaactac 180
gcgagcagcg cgaaaggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa caccctgtat 240
cttcaaatga acagcctgag agctgaggac actgctgtgt attactgtgc tagaggttct 300
cctgatgttg atattggtat agatatgtgg ggcccaggga ccctcgtcac cgtctcgagc 360
<210> 334
<211> 1353
<212> DNA
<213> 合成
<400> 334
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggGtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt acctactgga tgagctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtcggagac atttacttta gtaatgaaga aacaaactac 180
gcgagcagcg cgaaaggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa caccctgtat 240
cttcaaatga acagcctgag agctgaggac actgctgtgt attactgtgc tagaggttct 300
cctgatgttg atattggtat agatatgtgg ggcccaggga ccctcgtcac cgtctcgagc 360
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 660
aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 720
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacgcc 900
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1353

<210> 335

<211> 39

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 335

cagtccagtc agaatgttta taagaacaac tacttatcc 39

<210> 336

<211> 21

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 336

aaggcatcca ctctggcatc t 21

<210> 337

<211> 33

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 337

gcaggcggtt ataccagtag tagtgataat gct 33

<210> 338

<211> 15

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 338

acctactgga tgagc 15

<210> 339

<211> 51

<212> DNA

<213> 合成

<400> 339

gacatttact ttagtaatga agaaacaaac tacgcgagca gcgcgaaagg c 51

<210> 340

<211> 33

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 340

ggttctcctg atgttgatat tggtatagat atg 33

<210> 341

<211> 336
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 341
gcagccgtgc tgacccagac accatcgccc gtgtctgcag ctgtgggaga cacagtcacc 60
atcaagtgcc agtccagtca gagtgtttat aagaacaact acttatcctg gtatcagcag 120
aaaccagggc agcctcccaa gctcctgatc tatgatgcat ccaatctgcc atctggggtc 180
ccatcacggt tcagcggcag tggatctggg acacagttca ctctcaccat cagcggcgtg 240
cagtgtgacg atgctgccac ttactactgt ctaggcgatt atgatgatga tactgataat 300
ggtttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgt 336
<210> 342
<211> 657
<212> DNA
<213> 合成
<400> 342
gcagccgtgc tgacccagac accatcgccc gtgtctgcag ctgtgggaga cacagtcacc 60
atcaagtgcc agtccagtca gagtgtttat aagaacaact acttatcctg gtatcagcag 120
aaaccagggc agcctcccaa gctcctgatc tatgatgcat ccaatctgcc atctggggtc 180
ccatcacggt tcagcggcag tggatctggg acacagttca ctctcaccat cagcggcgtg 240
cagtgtgacg atgctgccac ttactactgt ctaggcgatt atgatgatga tactgataat 300
ggtttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 360
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 657
<210> 343
<211> 336
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 343
cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagtct ctggaatcga cctcagtagc tatgcaatga tctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatacat cggaatcatt tggagtggtg gcacctacta cgcgacctgg 180
gcgaaaggcc gattcaccat ctccaaaacc tcgaccacgg tggatctgca aatcaccagt 240
ccgacaaccg aggacgcggc cacctatttc tgtgccgcag gtggtggtag tatttatgat 300
gtttggggcc cgggcaccct ggtcaccgtc tcgagc 336
<210> 344
<211> 1329

<212> DNA
<213> 合成
<400> 344
cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcacagtct ctggaatcga cctcagtagc tatgcaatga tctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatacat cggaatcatt tggagtggtg gcacctacta cgcgacctgg 180
gcgaaaggcc gattcaccat ctccaaaacc tcgaccacgg tggatctgca aatcaccagt 240
ccgacaaccg aggacgcggc cacctatttc tgtgccgcag gtggtggtag tatttatgat 300
gtttggggcc cgggcaccct ggtcaccgtc tcgagcgcct ccaccaaggg cccatcggtc 360
ttcccctgg caccctcctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 420
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 480
ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 540
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 600
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 660
tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg gggggaccgt cagtcttcct cttccccca 720
aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 780
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 840
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacgccagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 900
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 960
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1020
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1080
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1140
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc 1200
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1260
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1320
ggtaaatga 1329
<210> 345
<211> 39
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 345
cagtccagtc agagtgttta taagaacaac tacttatcc 39
<210> 346
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 346
gatgcatcca atctgccatc t 21
<210> 347

<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 347
ctaggcgatt atgatgatga tactgataat ggt 33
<210> 348
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 348
agctatgcaa tgatc 15
<210> 349
<211> 45
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 349
atcatttgga gtggtggcac ctactacgcg acctgggcga aaggc 45
<210> 350
<211> 24
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 350
ggtggtggta gtatttatga tgtt 24
<210> 351
<211> 336
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 351
gccctggtga tgacccagac tccatcctcc acgtctgaac cagtgggagg cacagtcacc 60
atcaattgcc aggctagtca gaatattggt aacgacctat cctggtatca gcagaaacca 120
gggcagcctc ccgagctcct aatctattct acatccaaac tggcaactgg ggtcccaaag 180
cggttcagtg gcagcagatc tgggacacag ttcactctca ccatcagcga cctggagtgt 240
gacgatgctg ccacttacta ctgtctaggt gtttatagtt atattagtga tgatggtaat 300
gctttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgt 336
<210> 352
<211> 657
<212> DNA
<213> 合成
<400> 352

gccctggtga tgacccagac tccatcctcc acgtctgaac cagtgggagg cacagtcacc 60
atcaattgcc aggctagtca gaatattggt aacgacctat cctggtatca gcagaaacca 120
gggcagcctc ccgagctcct aatctattct acatccaaac tggcaactgg ggtcccaaag 180
cggttcagtg gcagcagatc tgggacacag ttcactctca ccatcagcga cctggagtgt 240
gacgatgctg ccacttacta ctgtctaggt gtttatagtt atattagtga tgatggtaat 300
gctttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 360
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 657

<210> 353
<211> 360
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 353

cagtcggtgg aggagttcgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcaccgtct ctggattctc cctcaataac tatgcaatga cctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggagtggat cgggatcatt ggtagtattg gtaccacata ctacgcgagc 180
tgggcgaaag gccgattctt catctccaaa acctcgacca ctgtggatct gaaaatcatt 240
agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gagatgctgg cgttactgtt 300
gatggttatg gctactactt taacatctgg ggcccaggca ccctcgtcac cgtctcgagc 360

<210> 354
<211> 1353
<212> DNA
<213> 合成
<400> 354

cagtcggtgg aggagttcgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60
tgcaccgtct ctggattctc cctcaataac tatgcaatga cctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggagtggat cgggatcatt ggtagtattg gtaccacata ctacgcgagc 180
tgggcgaaag gccgattctt catctccaaa acctcgacca ctgtggatct gaaaatcatt 240
agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gagatgctgg cgttactgtt 300
gatggttatg gctactactt taacatctgg ggcccaggca ccctcgtcac cgtctcgagc 360
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 660
aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacgcc 900
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1353

<210> 355
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 355
caggctagtc agaatattgg taacgaccta tcc 33

<210> 356
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 356
tctacatcca aactggcaac t 21

<210> 357
<211> 39
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 357
ctaggtgttt atagttatat tagtgatgat ggtaatgct 39

<210> 358
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 358
aactatgcaa tgacc 15

<210> 359
<211> 48
<212> DNA
<213> 穴兔

<400> 359
atcattggta gtattggtac cacatactac gcgagctggg cgaaaggc 48
<210> 360
<211> 45
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 360
gatgctggcg ttactgttga tggttatggc tactacttta acatc 45
<210> 361
<211> 336
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 361
gccatcgaaa tgacccagac tccattctcc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcacc 60
atcaagtgcc aggccagtca gaccattagc aactacttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggcagcctc ccaagctcct gatctatggt gcatccaatc tggaatctgg ggtcccatcg 180
cggttcaaag gcagtggatc tgggacacag ttcactctca ccatcagcga cctggagtgt 240
gacgatgctg ccacttacta ctgtcaacag ggttatacta tcagtaatgt tgataacaat 300
gttttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgt 336
<210> 362
<211> 657
<212> DNA
<213> 合成
<400> 362
gccatcgaaa tgacccagac tccattctcc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcacc 60
atcaagtgcc aggccagtca gaccattagc aactacttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggcagcctc ccaagctcct gatctatggt gcatccaatc tggaatctgg ggtcccatcg 180
cggttcaaag gcagtggatc tgggacacag ttcactctca ccatcagcga cctggagtgt 240
gacgatgctg ccacttacta ctgtcaacag ggttatacta tcagtaatgt tgataacaat 300
gttttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 360
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 657
<210> 363
<211> 345
<212> DNA
<213> 穴兔

<400> 363

cagtcgctgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggggatccct gacactcacc 60
tgcgcagcct ctggattctc cctcactggc tacaacttgg tctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggagtggat cggattcatt agttatggtg ataccacata ctacgcgagc 180
tgggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtgactct gacgatcacc 240
gatctgcaac cttcagacac gggcacctat ttctgtgcca gagagactgc taatacttat 300
gattatggca tctggggccc aggcaccctc gtcaccgtct cgagc 345

<210> 364

<211> 1338

<212> DNA

<213> 合成

<400> 364

cagtcgctgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggggatccct gacactcacc 60
tgcgcagcct ctggattctc cctcactggc tacaacttgg tctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggagtggat cggattcatt agttatggtg ataccacata ctacgcgagc 180
tgggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtgactct gacgatcacc 240
gatctgcaac cttcagacac gggcacctat ttctgtgcca gagagactgc taatacttat 300
gattatggca tctggggccc aggcaccctc gtcaccgtct cgagcgcctc caccaagggc 360
ccatcggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg 420
ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480
ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 540
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600
aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agcccaaatc ttgtgacaaa 660
actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc 720
ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg 780
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acgccagcac gtaccgtgtg 900
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960
gtctccaaca aagccctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1080
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200
tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320
ctgtctccgg gtaaatga 1338

<210> 365

<211> 33

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 365
caggccagtc agaccattag caactactta gcc 33
<210> 366
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 366
ggtgcatcca atctggaatc t 21
<210> 367
<211> 39
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 367
caacagggtt atactatcag taatgttgat aacaatgtt 39
<210> 368
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 368
ggctacaact tggtc 15
<210> 369
<211> 48
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 369
ttcattagtt atggtgatac cacatactac gcgagctggg cgaaaggc 48
<210> 370
<211> 30
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 370
gagactgcta atacttatga ttatggcatc 30
<210> 371
<211> 336
<212> DNA
<213> 合成
<400> 371
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc aggctagtca gaccattagc aactacttag cctggtatca gcagaaacca 120

ggaaaagccc ctaagctcct gatctatggt gcatccaatc tggaatctgg agtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tggaacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttacta ctgtcaacag ggttatacta tcagtaatgt tgataacaat 300
gttttcggcg gaggaaccaa ggtggaaatc aaacgt 336

<210> 372
<211> 657
<212> DNA
<213> 合成
<400> 372

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc aggctagtca gaccattagc aactacttag cctggtatca gcagaaacca 120
ggaaaagccc ctaagctcct gatctatggt gcatccaatc tggaatctgg agtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tggaacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttacta ctgtcaacag ggttatacta tcagtaatgt tgataacaat 300
gttttcggcg gaggaaccaa ggtggaaatc aaacgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 360
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 657

<210> 373
<211> 354
<212> DNA
<213> 合成
<400> 373

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggGtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt ggctacaact tggtctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtcggattc attagttatg gtgataccac atactacgct 180
agctctgcta aaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac cctgtatctt 240
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacact gctgtgtatt actgtgctag agagactgct 300
aatacttatg attatggcat ctggggccaa gggaccctcg tcaccgtctc gagc 354

<210> 374
<211> 1347
<212> DNA
<213> 合成
<400> 374

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggGtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt ggctacaact tggtctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtcggattc attagttatg gtgataccac atactacgct 180

agctctgcta aaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac cctgtatctt 240
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacact gctgtgtatt actgtgctag agagactgct 300
aatacttatg attatggcat ctggggccaa gggaccctcg tcaccgtctc gagcgcctcc 360
accaagggcc catcggtctt ccccctggca ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca 420
gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 540
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 600
tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagttga gcccaaatct 660
tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 720
gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 780
acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 840
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta cgccagcacg 900
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 960
aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc 1020
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 1080
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 1140
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1200
tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1260
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1320
agcctctccc tgtctccggg taaatga 1347

<210> 375
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 375
caggctagtc agaccattag caactactta gcc 33

<210> 376
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 376
ggtgcatcca atctggaatc t 21

<210> 377
<211> 39
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 377
caacagggtt atactatcag taatgttgat aacaatgtt 39

<210> 378

<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 378
ggctacaact tggtc 15
<210> 379
<211> 48
<212> DNA
<213> 合成
<400> 379
ttcattagtt atggtgatac cacatactac gctagctctg ctaaaggc 48
<210> 380
<211> 30
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 380
gagactgcta atacttatga ttatggcatc 30
<210> 381
<211> 336
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 381
gccgccgtgc tgacccagac tccatctccc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcagc 60
atcagttgcc agtccagtca gaatgtttat aagaacaact atttatcctg gtatcagcag 120
aaaccagggc agcctcccaa gctcctgatc tacaaggctt ccactctggc atctggggtc 180
ccatcgcggt tcaaaggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcgacgtg 240
cagtgtgacg ctgctgccac ttactactgt gcaggcggtt atagtagtag tagtgataat 300
gctttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgt 336
<210> 382
<211> 657
<212> DNA
<213> 合成
<400> 382
gccgccgtgc tgacccagac tccatctccc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcagc 60
atcagttgcc agtccagtca gaatgtttat aagaacaact atttatcctg gtatcagcag 120
aaaccagggc agcctcccaa gctcctgatc tacaaggctt ccactctggc atctggggtc 180
ccatcgcggt tcaaaggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcgacgtg 240
cagtgtgacg ctgctgccac ttactactgt gcaggcggtt atagtagtag tagtgataat 300
gctttcggcg gagggaccga ggtggtggtc aaacgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 360

atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 657

<210> 383
<211> 351
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 383

cagtcggtgg aggcgtccgg gggtcgtctg gtcatgcctg gaggatccct gacactcacc 60
tgcacagcct ctggattctc cctcagtacc tactggatgt cctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatggat cggagacatt tattttagta atgaggaaac aaactacgcg 180
acctgggcga aaggccgatt taccatctcc aaaacctcga ccacggtgga tctgaatgtc 240
atcagtccga caaccgagga cacggccacc tatttctgtg caagaggttc tcctgatgtt 300
gagattgcta tagatatgtg gggccagggc accctcgtca ccgtctcgag c 351

<210> 384
<211> 1344
<212> DNA
<213> 合成
<400> 384

cagtcggtgg aggcgtccgg gggtcgtctg gtcatgcctg gaggatccct gacactcacc 60
tgcacagcct ctggattctc cctcagtacc tactggatgt cctgggtccg ccaggctcca 120
gggaaggggc tggaatggat cggagacatt tattttagta atgaggaaac aaactacgcg 180
acctgggcga aaggccgatt taccatctcc aaaacctcga ccacggtgga tctgaatgtc 240
atcagtccga caaccgagga cacggccacc tatttctgtg caagaggttc tcctgatgtt 300
gagattgcta tagatatgtg gggccagggc accctcgtca ccgtctcgag cgcctccacc 360
aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt 660
gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacgc cagcacgtac 900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1080

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200
gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320
ctctccctgt ctccgggtaa atga 1344

<210> 385
<211> 39
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 385
cagtccagtc agaatgttta taagaacaac tatttatcc 39

<210> 386
<211> 21
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 386
aaggcttcca ctctggcatc t 21

<210> 387
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 387
gcaggcggtt atagtagtag tagtgataat gct 33

<210> 388
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 388
acctactgga tgtcc 15

<210> 389
<211> 51
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 389
gacatttatt ttagtaatga ggaaacaaac tacgcgacct gggcgaaagg c 51

<210> 390
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔

<400> 390
ggttctcctg atgttgagat tgctatagat atg 33
<210> 391
<211> 336
<212> DNA
<213> 合成
<400> 391
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc agtccagtca gaatgtttat aagaacaact acttatcctg gtatcagcag 120
aaaccaggga aagtccctaa gctcctgatc tataaggcat ccactctggc atctggggtc 180
ccatctcgtt tcagtggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 240
cagcctgaag atgttgcaac ttattactgt gcaggcggtt ataccagtag tagtgataat 300
gctttcggcg gaggaaccaa ggtggaaatc aaacgt 336
<210> 392
<211> 657
<212> DNA
<213> 合成
<400> 392
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc agtccagtca gaatgtttat aagaacaact acttatcctg gtatcagcag 120
aaaccaggga aagtccctaa gctcctgatc tataaggcat ccactctggc atctggggtc 180
ccatctcgtt tcagtggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 240
cagcctgaag atgttgcaac ttattactgt gcaggcggtt ataccagtag tagtgataat 300
gctttcggcg gaggaaccaa ggtggaaatc aaacgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 360
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 657
<210> 393
<211> 360
<212> DNA
<213> 合成
<400> 393
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt acctactgga tgagctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtcggagac atttacttta gtaatgaaga aacaaactac 180
gcgaccagcg cgaaaggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa caccctgtat 240
cttcaaatga acagcctgag agctgaggac actgctgtgt attactgtgc tagaggttct 300

cctgatgttg agattgctat agatatgtgg ggccaaggga ccctcgtcac cgtctcgagc 360

<210> 394

<211> 1353

<212> DNA

<213> 合成

<400> 394

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggGtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt acctactgga tgagctgggt ccgtcaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtcggagac atttacttta gtaatgaaga aacaaactac 180

gcgaccagcg cgaaaggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa caccctgtat 240

cttcaaatga acagcctgag agctgaggac actgctgtgt attactgtgc tagaggttct 300

cctgatgttg agattgctat agatatgtgg ggccaaggga ccctcgtcac cgtctcgagc 360

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 660

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacgcc 900

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1353

<210> 395

<211> 39

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 395

cagtccagtc agaatgttta taagaacaac tacttatcc 39

<210> 396

<211> 21

<212> DNA

<213> 穴兔

<400> 396
aaggcatcca ctctggcatc t 21
<210> 397
<211> 33
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 397
gcaggcggtt ataccagtag tagtgataat gct 33
<210> 398
<211> 15
<212> DNA
<213> 穴兔
<400> 398
acctactgga tgagc 15
<210> 399
<211> 51
<212> DNA
<213> 合成
<400> 399
gacatttact ttagtaatga agaaacaaac tacgcgacca gcgcgaaagg c 51
<210> 400
<211> 33
<212> DNA
<213> 合成
<400> 400
ggttctcctg atgttgagat tgctatagat atg 33
<210> 401
<211> 217
<212> PRT
<213> 合成
<400> 401

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Phe Thr Val Ser Asp
85 90 95
Ile Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 402
<211> 451
<212> PRT
<213> 合成
<400> 402

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

Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Ala Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 403

<211> 654

<212> DNA

<213> 合成

<400> 403

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc aggccagtca gagcatttac agcaatcttg cctggtatca gcagaaacca 120

ggaaaagccc ctaagctcct gatctatgat gcatccactc tggaatctgg agtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gatgattttg caacttacta ctgccaacag ggttttactg ttagtgatat tgataatgct 300

ttcggcggag gaaccaaggt ggaaatcaaa cgtacggtag cggccccatc tgtcttcatc 360

ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420

aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480

aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540

accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600

catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttag 654

<210> 404

<211> 1356

<212> DNA

<213> 合成

<400> 404

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt aactatgcag tgggctgggt ccgtcaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtcggaatc attggtcgta atggtaacac atggtacgcg 180

agctctgcaa gaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac cctgtatctt 240

caaatgaaca gcctgagagc tgaggacact gctgtgtatt actgtgctag aggatatggc 300

cgtagtgttg cttactacgt ctttaacatc tggggcccag ggaccctcgt caccgtctcg 360

agcgcctcca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacgc gagagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga actcctgggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900
gccagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccag cccccatcga gaaaaccatc 1020
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggag 1080
gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 1140
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1200
gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1260
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1320
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 1356

<210> 405
<211> 217
<212> PRT
<213> 合成
<400> 405

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

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215
<210> 406
<211> 228
<212> PRT
<213> 合成
<400> 406
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Ile Ile Gly Arg Asn Gly Asn Thr Trp Tyr Ala Ser Ser Ala Arg
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Gly Tyr Gly Arg Ser Val Ala Tyr Tyr Val Phe Asn Ile Trp Gly
100 105 110
Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Ala Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His
225

<210> 407
<211> 217
<212> PRT
<213> 合成
<400> 407

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

<210> 408
<211> 228
<212> PRT
<213> 合成
<400> 408

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

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

<210> 409
<211> 654
<212> DNA
<213> 合成
<400> 409
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggccagtca gagcatttac agcaatcttg cctggtatca gcagaaacca 120
ggaaaagccc ctaagctcct gatctatgat gcatccactc tggaatctgg agtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttacta ctgccaacag ggttttactg ttagtgatat tgataatgct 300

ttcggcggag gaaccaaggt ggaaatcaaa cgtacggtag cggccccatc tgtcttcatc 360
ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420
aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480
aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540
accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600
catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttag 654

<210> 410
<211> 687
<212> DNA
<213> 合成
<400> 410

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt aactatgcag tgggctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtcggaatc attggtcgta atggtaacac atggtacgcg 180
agctctgcaa gaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac cctgtatctt 240
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacact gctgtgtatt actgtgctag aggatatggc 300
cgtagtgttg cttactacgt ctttaacatc tggggcccag ggaccctcgt caccgtctcg 360
agcgcctcca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480
tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacgc gagagttgag 660
cccaaatctt gtgacaaaac tcactag 687

<210> 411
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人
<400> 411

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

85 90 95
Ala Ala Trp Arg Phe Ile Arg Ile Asp Thr Ala Cys Val Cys Val Leu
100 105 110
Ser Arg Lys Ala Val Arg Arg Ala
115 120
<210> 412
<211> 105
<212> PRT
<213> 智人
<400> 412
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
1 5 10 15
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
20 25 30
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
35 40 45
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
50 55 60
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
65 70 75 80
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
85 90 95
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105
<210> 413
<211> 330
<212> PRT
<213> 智人
<400> 413
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 414
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 414

Met Arg Ser Leu Leu Ile Leu Val Leu Cys Phe Leu Pro Leu Ala Ala
1 5 10 15
Leu Gly
<210> 415
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 415
Met Arg Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Ala Ala Leu Gly
1 5 10 15
<210> 416
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 416
Met Leu Leu Gln Ala Phe Leu Phe Leu Leu Ala Gly Phe Ala Ala Lys
1 5 10 15
Ile Ser Ala
<210> 417
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 417
Met Arg Phe Pro Ser Ile Phe Thr Ala Val Leu Phe Ala Ala Ser Ser
1 5 10 15
Ala Leu Ala Ala Pro Val Asn Thr Thr Thr Glu Glu Gly Val Ser Leu
20 25 30
Glu Lys Arg
35
<210> 418
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 分泌肽
<400> 418
Met Arg Phe Pro Ser Ile Phe Thr Ala Val Leu Phe Ala Ala Ser Ser
1 5 10 15
Ala Leu Ala Ala Pro Val
20
<210> 419
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 419
Met Arg Phe Pro Ser Ile Phe Thr Ala Val Leu Phe Ala Ala Ser Ser
1 5 10 15
Ala Leu Ala Ala Pro Val Ser Leu Glu Lys Arg
20 25
<210> 420
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 420
Met Arg Phe Pro Ser Ile Phe Thr Ala Val Leu Phe Ala Ala Ser Ser
1 5 10 15
Ala Leu Ala Ala Pro Val Asn Thr Thr Thr Glu Glu Gly Val Ser Leu
20 25 30
Glu Lys Arg Glu Ala Glu Ala Glu Ala
35 40
<210> 421
<211> 85
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 421
Met Arg Phe Pro Ser Ile Phe Thr Ala Val Leu Phe Ala Ala Ser Ser

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

<210> 422
<211> 44
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 422
Met Thr Lys Pro Thr Gln Val Leu Val Arg Ser Val Ser Ile Leu Phe
1 5 10 15
Phe Ile Thr Leu Leu His Leu Val Val Ala Leu Asn Asp Val Ala Gly
20 25 30
Pro Ala Glu Thr Ala Pro Val Ser Leu Leu Pro Arg
35 40

<210> 423
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 423
Met Phe Ser Pro Ile Leu Ser Leu Glu Ile Ile Leu Ala Leu Ala Thr
1 5 10 15
Leu Gln Ser Val Phe Ala
20

<210> 424
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 分泌肽
<400> 424
Met Gln Thr Leu Leu Val Ser Ser Leu Val Val Ser Leu Ala Ala Ala
1 5 10 15
Leu Pro His Tyr Ile Arg
20
<210> 425
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 425
Met Ile Phe Leu Lys Leu Ile Lys Ser Ile Val Ile Gly Leu Gly Leu
1 5 10 15
Val Ser Ala Ile Gln Ala
20
<210> 426
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 426
Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
1 5 10 15
Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg
20
<210> 427
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 427
Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
1 5 10 15
Tyr Ser

<210> 428
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 428
Met Ala Leu Trp Met Arg Leu Leu Pro Leu Leu Ala Leu Leu Ala Leu
1 5 10 15
Trp Gly Pro Asp Pro Ala Ala Ala
20
<210> 429
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 429
Met Lys Tyr Thr Ser Tyr Ile Leu Ala Phe Gln Leu Cys Ile Val Leu
1 5 10 15
Gly Ser Leu Gly Cys Asp Leu Pro
20
<210> 430
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 430
Met Ala Ala Asp Ser Gln Thr Pro Trp Leu Leu Thr Phe Ser Leu Leu
1 5 10 15
Cys Leu Leu Trp Pro Gln Glu Pro Gly Ala
20 25
<210> 431
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽

<400> 431
Met Lys Lys Asn Arg Met Met Met Met Ile Trp Ser Val Gly Val Val
1 5 10 15
Trp Met Leu Leu Leu Val Gly Gly Ser Tyr Gly
20 25
<210> 432
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 432
Met Gln Lys Leu Ile Ile Phe Ala Leu Val Val Leu Cys Val Gly Ser
1 5 10 15
Glu Ala
<210> 433
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 433
Met Lys Ala Leu Ile Val Leu Gly Leu Val Leu Leu Ser Val Thr Val
1 5 10 15
Gln Gly
<210> 434
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 434
Met Val Asp Gly Val Met Ile Leu Pro Val Leu Ile Met Ile Ala Leu
1 5 10 15
Pro Ser Pro Ser
20
<210> 435
<211> 19
<212> PRT

<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 435
Met Gly Ala Ala Ala Lys Leu Ala Phe Ala Val Phe Leu Ile Ser Cys
1 5 10 15
Ser Ser Gly
<210> 436
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 436
Met Leu Ser Leu Lys Pro Ser Trp Leu Thr Leu Ala Ala Leu Met Tyr
1 5 10 15
Ala Met Leu Leu Val Val Val Pro Phe Ala Lys Pro Val Arg Ala
20 25 30
<210> 437
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工
<220>
<223> 分泌肽
<400> 437
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15
Leu Pro Gly Ala Lys Cys
20
<210> 438
<211> 651
<212> DNA
<213> 人工
<220>
<223> 人源化抗体
<400> 438
gctatccaga tgacccagtc tccttcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggccagtca gagcattaac aatgagttat cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatagg gcatccactc tggcatctgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag ggttatagtc tgaggaacat tgataatgct 300
ttcggcggag ggaccaaggt ggaaatcaaa cgtacggtgg ctgcaccatc tgtcttcatc 360
ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420
aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480
aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540
accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600
catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg t 651

<210> 439
<211> 1350
<212> DNA
<213> 穴兔
<220>
<223> 人源化抗体
<400> 439

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggGtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt ctccctcagt aactactacg tgacctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtcggcatc atctatggta gtgatgaaac cgcctacgct 180
acctccgcta taggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac cctgtatctt 240
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacact gctgtgtatt actgtgctag agatgatagt 300
agtgactggg atgcaaagtt caacttgtgg ggccaaggga ccctcgtcac cgtctcgagc 360
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 660
aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 720
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacgcc 900
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1350

<210> 440

<211> 660
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人源化抗体
<400> 440
caagtgctga cccagtctcc atcctccctg tctgcatctg taggagacag agtcaccatc 60
aattgccagg ccagtcagag tgtttatcat aacacctacc tggcctggta tcagcagaaa 120
ccagggaaag ttcctaagca actgatctat gatgcatcca ctctggcatc tggggtccca 180
tctcgtttca gtggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagcctgcag 240
cctgaagatg ttgcaactta ttactgtctg ggcagttatg attgtactaa tggtgattgt 300
tttgttttcg gcggaggaac caaggtggaa atcaaacgta cggtggctgc accatctgtc 360
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 480
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540
agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600
gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 660
<210> 441
<211> 1326
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人源化抗体
<400> 441
gaggtgcagc ttgtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggGtc cctgagactc 60
tcctgtgcag tctctggaat cgacctcagt ggctactaca tgaactgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtcggagtc attggtatta atggtgccac atactacgcg 180
agctgggcga aaggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaccac ggtgtatctt 240
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacact gctgtgtatt tctgtgctag aggggacatc 300
tggggccaag ggaccctcgt caccgtctcg agcgcctcca ccaagggccc atcggtcttc 360
cccctggcac cctcctccaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc 420
aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc 480
gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg 540
accgtgccct ccagcagctt gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc 600
agcaacacca aggtggacgc gagagttgag cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc 660
ccaccgtgcc cagcacctga actcctgggg ggaccgtcag tcttcctctt cccccCaaaa 720
cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg 780
agccacgaag accctgaggt caagttcaac tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat 840
gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac gccagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc 900

accgtcctgc accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa 960
gccctcccag cccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca 1020
caggtgtaca ccctgccccc atcccgggag gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc 1080
tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag 1140
ccggagaaca actacaagac cacgcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc 1200
tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc 1260
gtgatgcatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt 1320
aaatga 1326

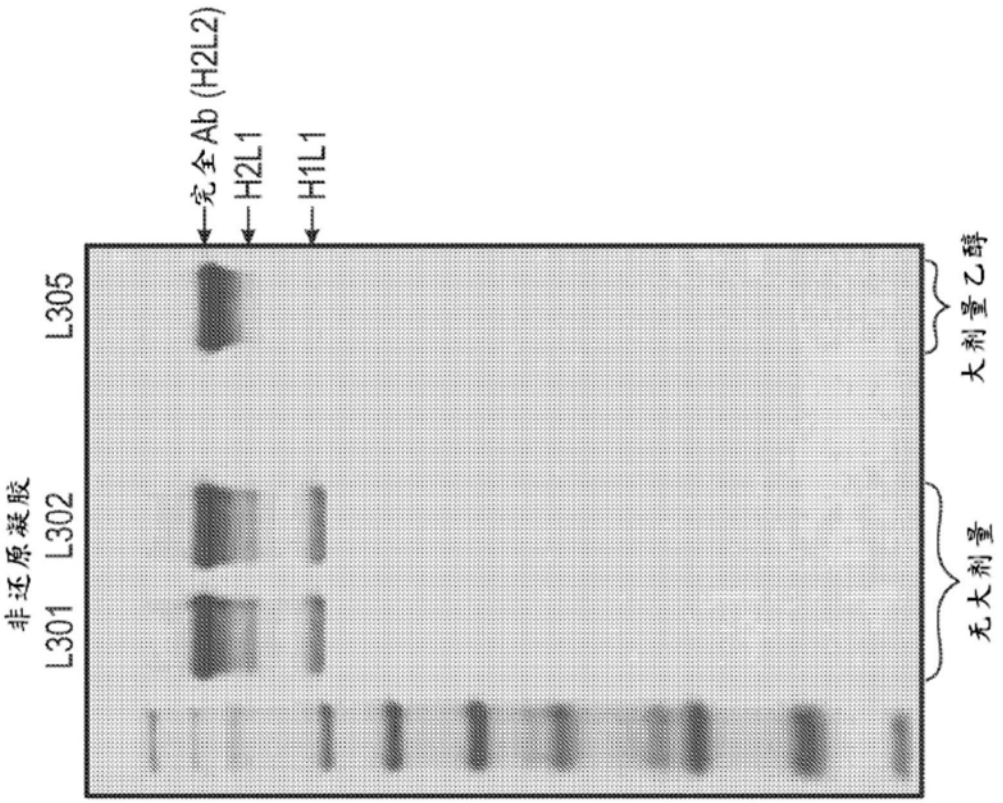

完全Ab (H2L2)
H2L1
H1L1
非还原凝胶
L301
L302
L305
无大剂量
大剂量乙醇

图1A

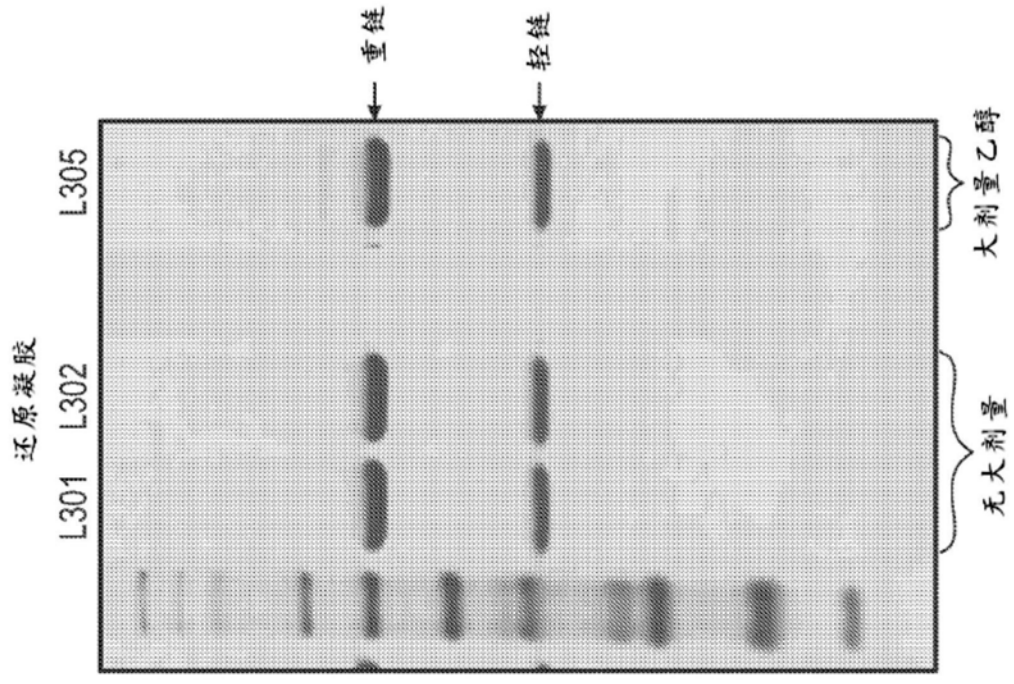

重链
轻链
还原凝胶
L301
L302
L305
无大剂量
大剂量乙醇

图1B

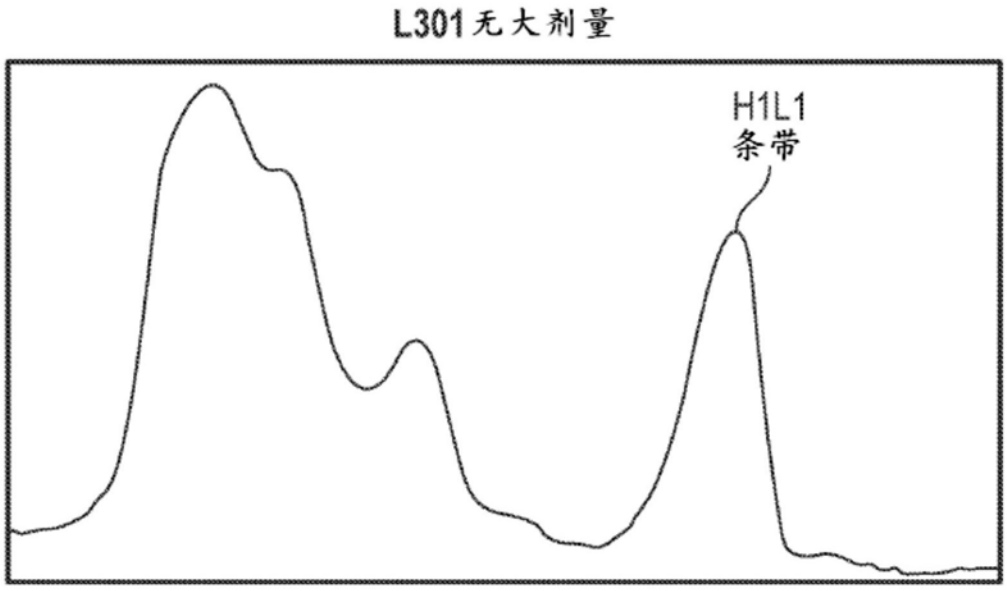


图1C

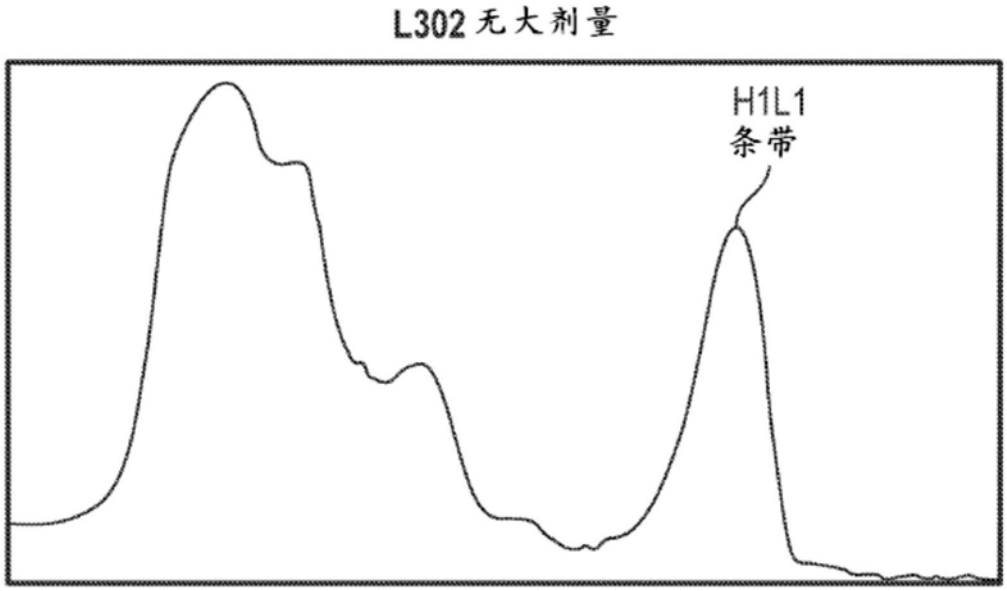


图1D

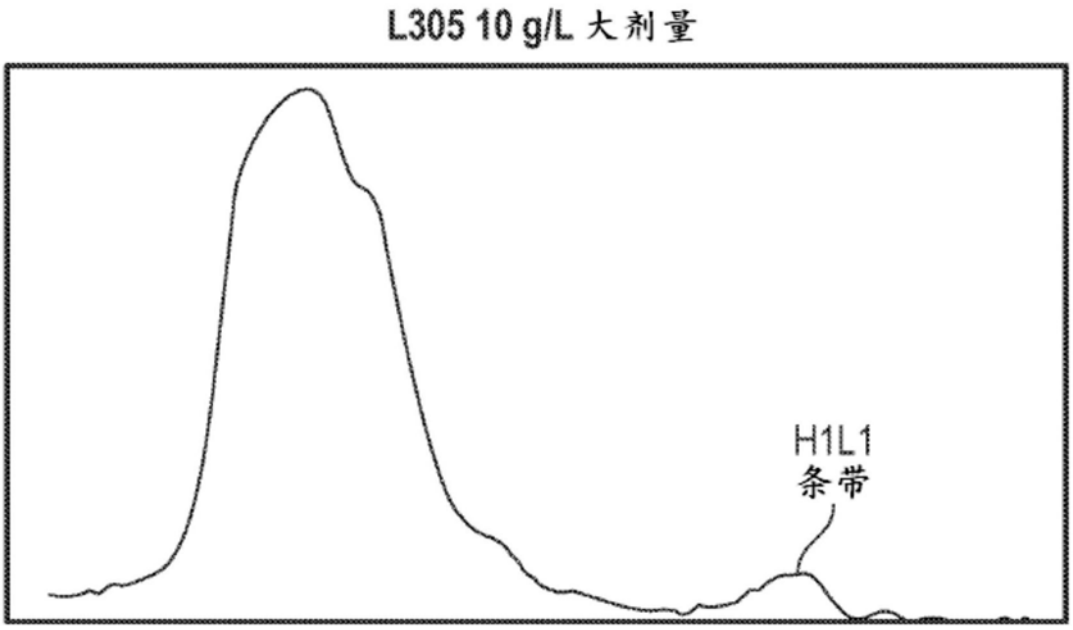


图1E

H1L1 丰度

运行	大剂量	H1L1 条带
L301	无	8034
L302	无	7993
L305	10 g/L	798

图1F

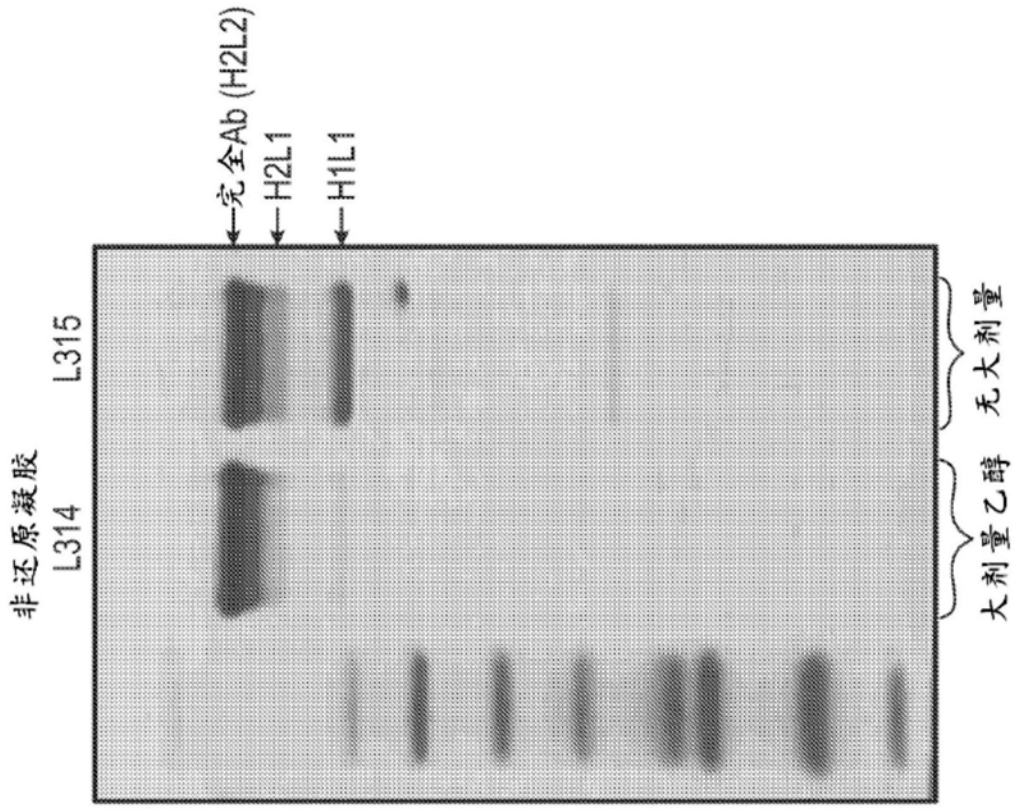

完全Ab (H2L2)
H2L1
H1L1
非还原凝胶
L314
L315
大剂量乙醇
无大剂量

图2A

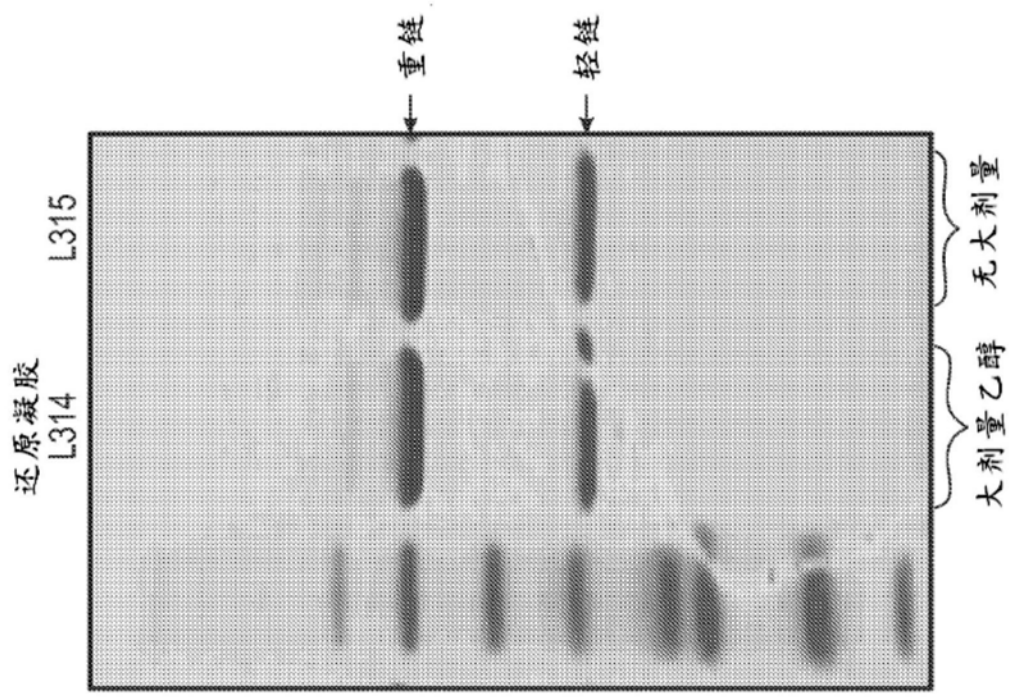

重链
轻链
还原凝胶
L314
L315
大剂量乙醇
无大剂量

图2B

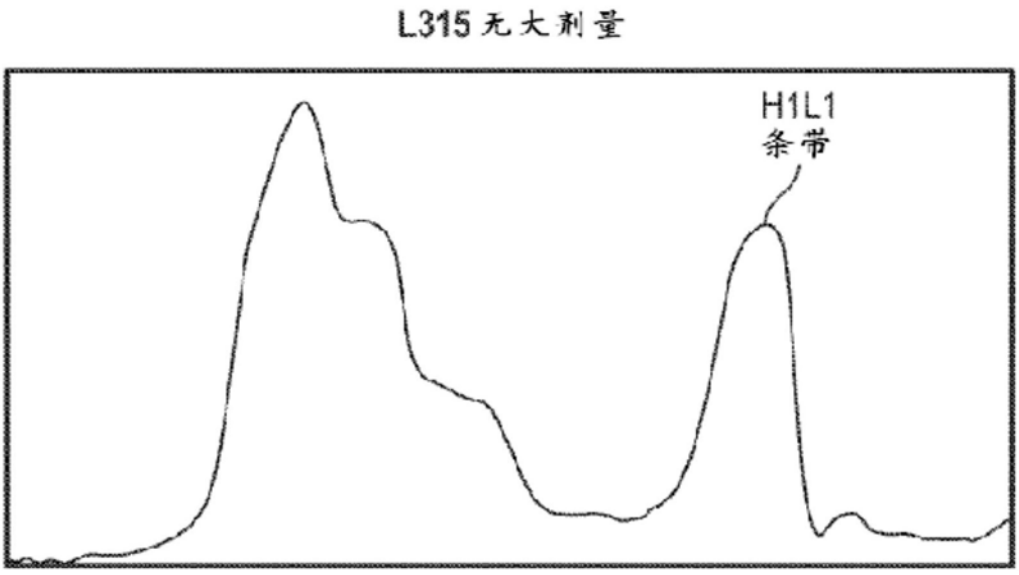


图2C

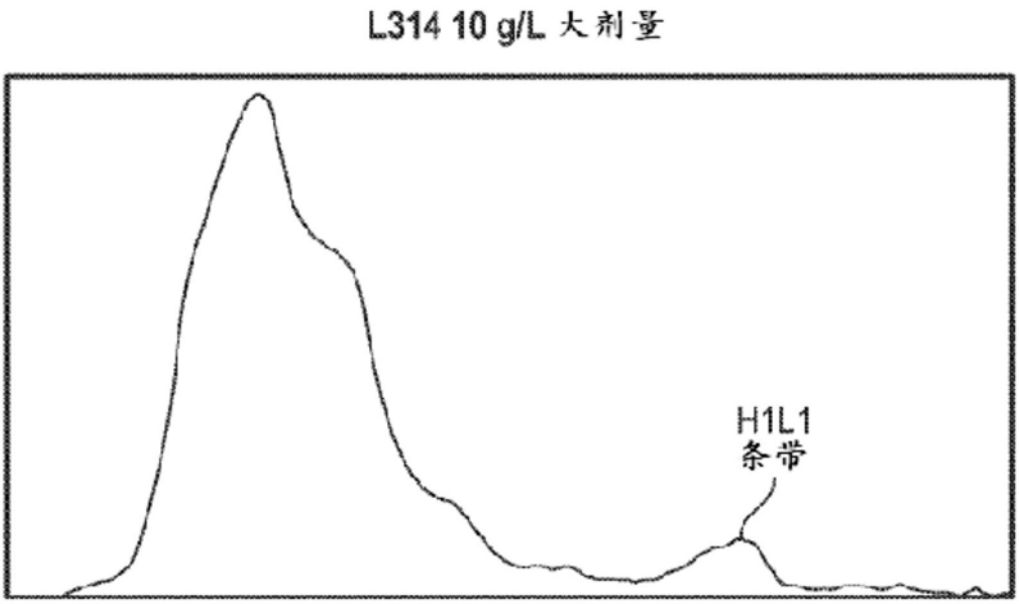


图2D

H1L1 丰度

运行	大剂量	H1L1条带
L314	10 g/L	9417
L315	无	1371

图2E

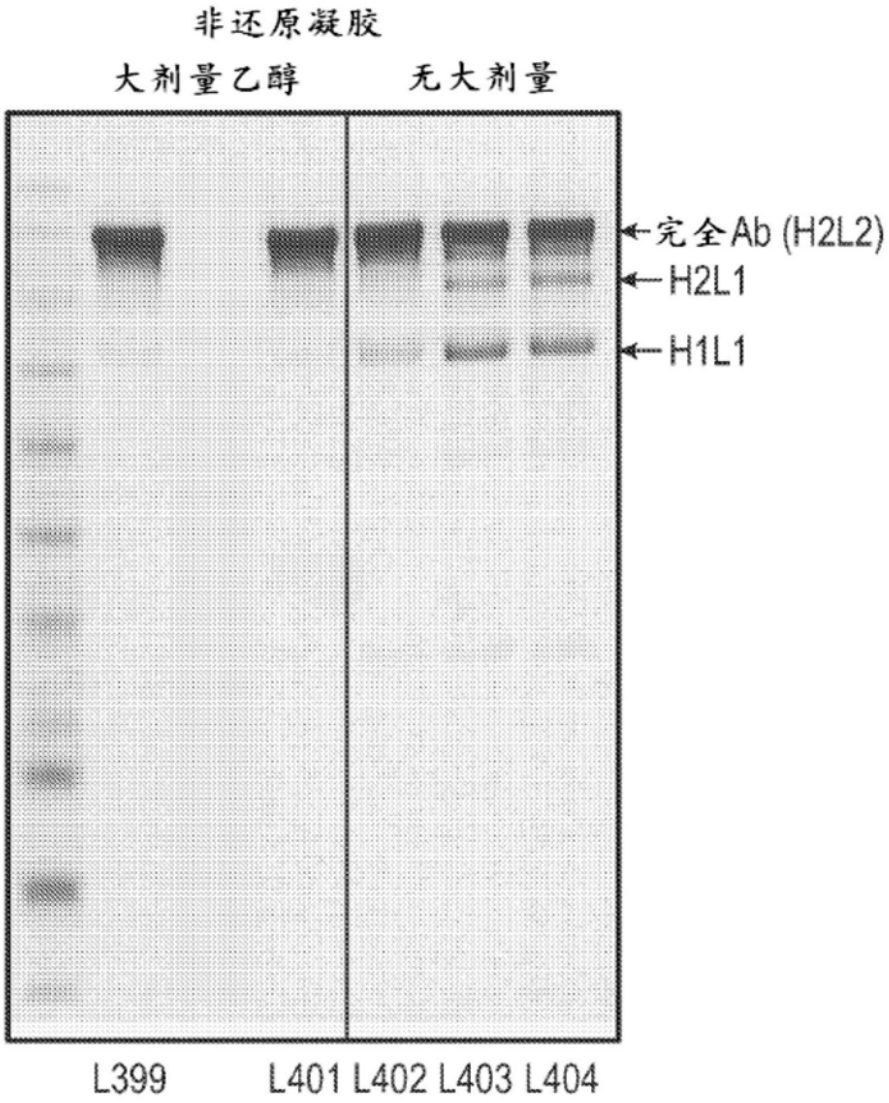


图3A

H1L1丰度

运行	时间点	大剂量乙醇	H1L1条带
L399	T86	10 g/L	917
L401	T86	10 g/L	647
L402	T86	无	3089
L403	T86	无	7597
L404	T86	无	7574

图3B

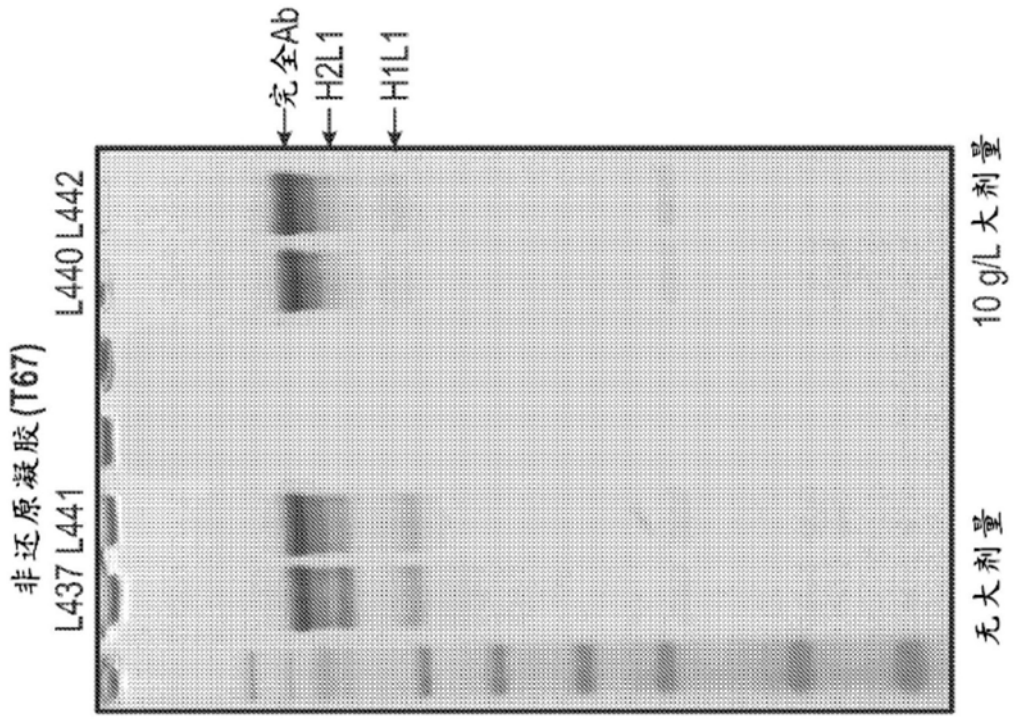


图4A

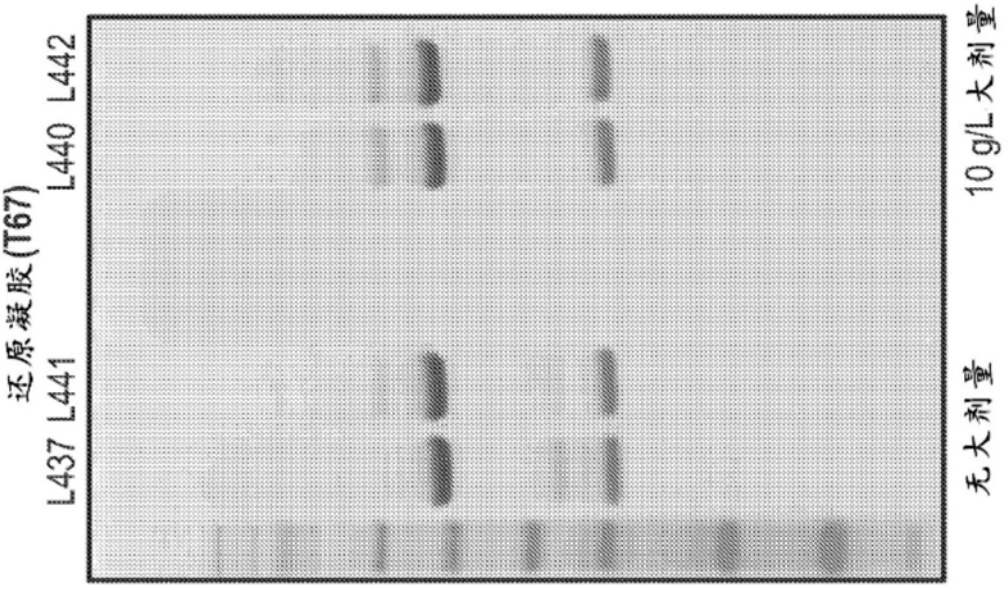

还原凝胶(T67)
L437 L441 L440 L442
无大剂量
10 g/L 大剂量

图4B

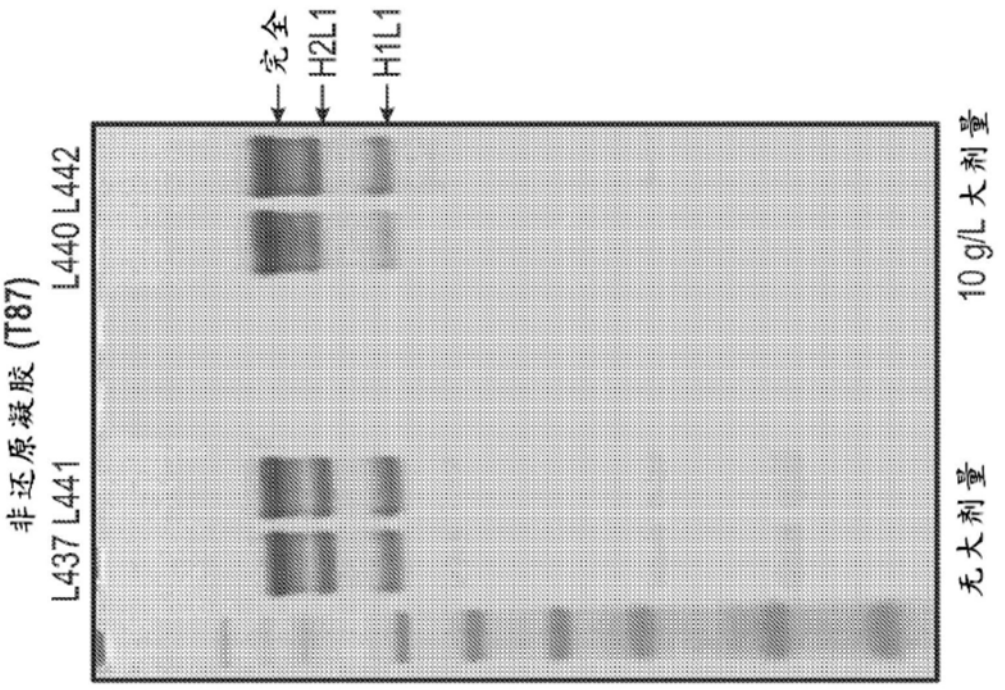

非还原凝胶 (T87)
L437 L441 L440 L442
完全
H2L1
H1L1
无大剂量
10 g/L 大剂量

图4C

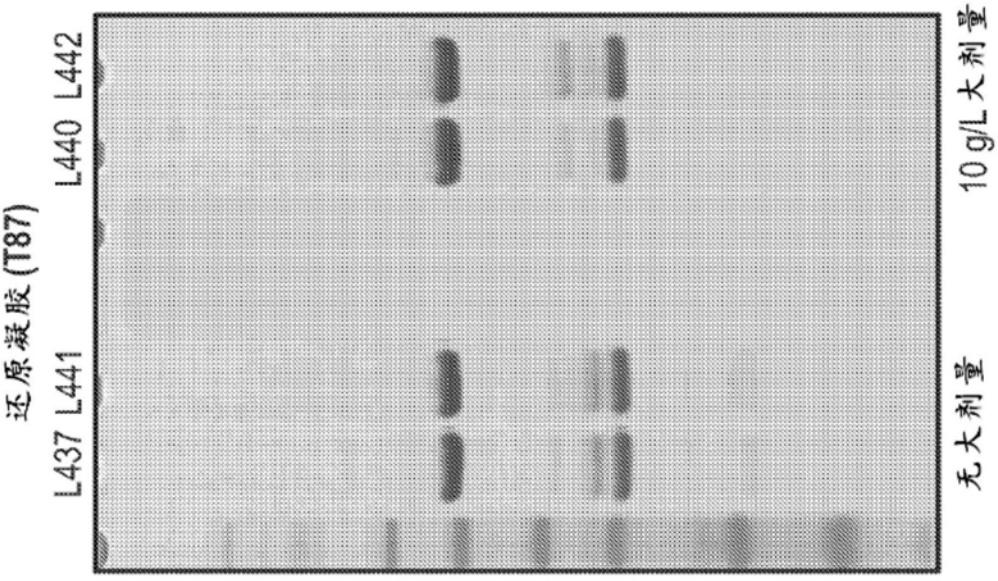


图4D

H1L1 丰度 (T67)

运行	时间点	大剂量乙醇	H1L1 条带
L437	T67	无	9427
L441	T67	无	7283
L440	T67	10 g/L	1220
L442	T67	10 g/L	3269

图4E

H1L1 丰度 (T87)

运行	时间点	大剂量乙醇	H1L1 条带
L437	T86	无	10360
L441	T86	无	12022
L440	T86	10 g/L	6140
L442	T86	10 g/L	8726

图4F

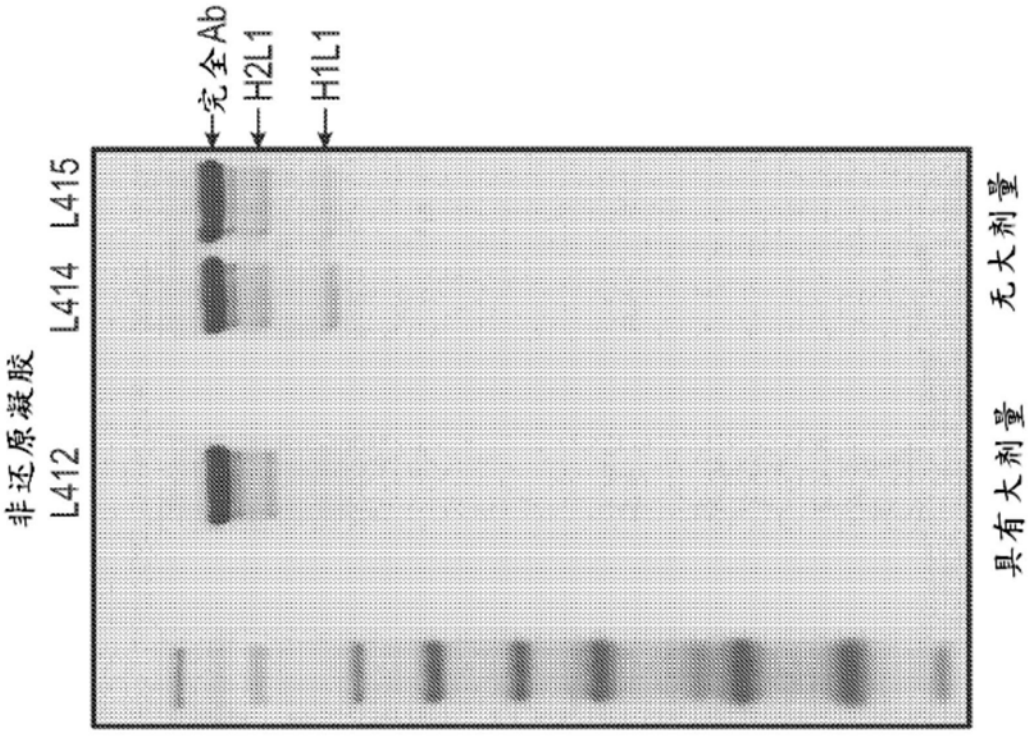


图5A

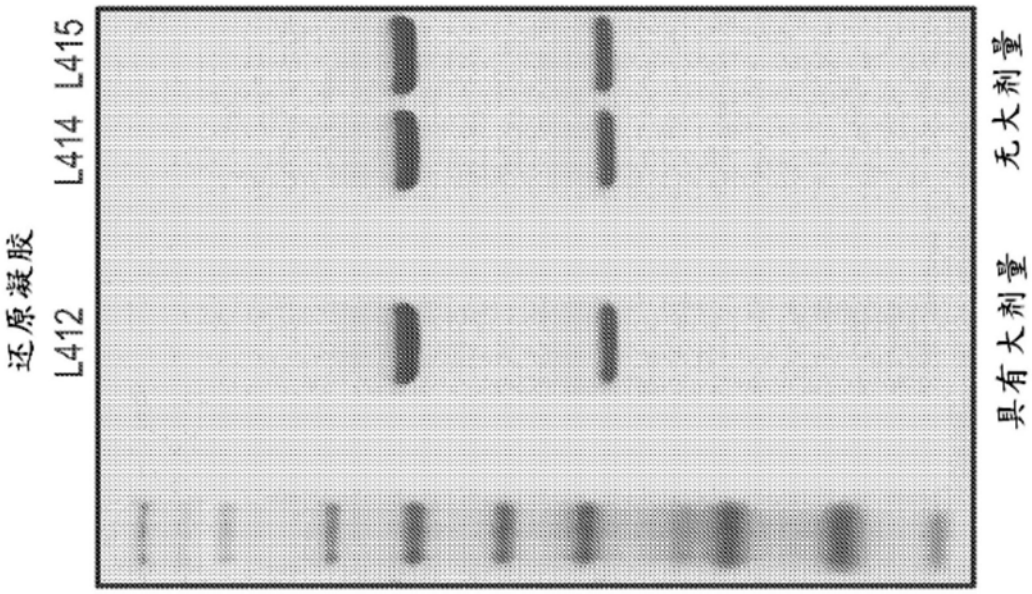


图5B

H1L1 丰度

运行	时间点	大剂量乙醇	H1L1 条带
L412	T86	10 g/L	1177
L414	T86	无	3770
L415	T86	无	2219

图5C

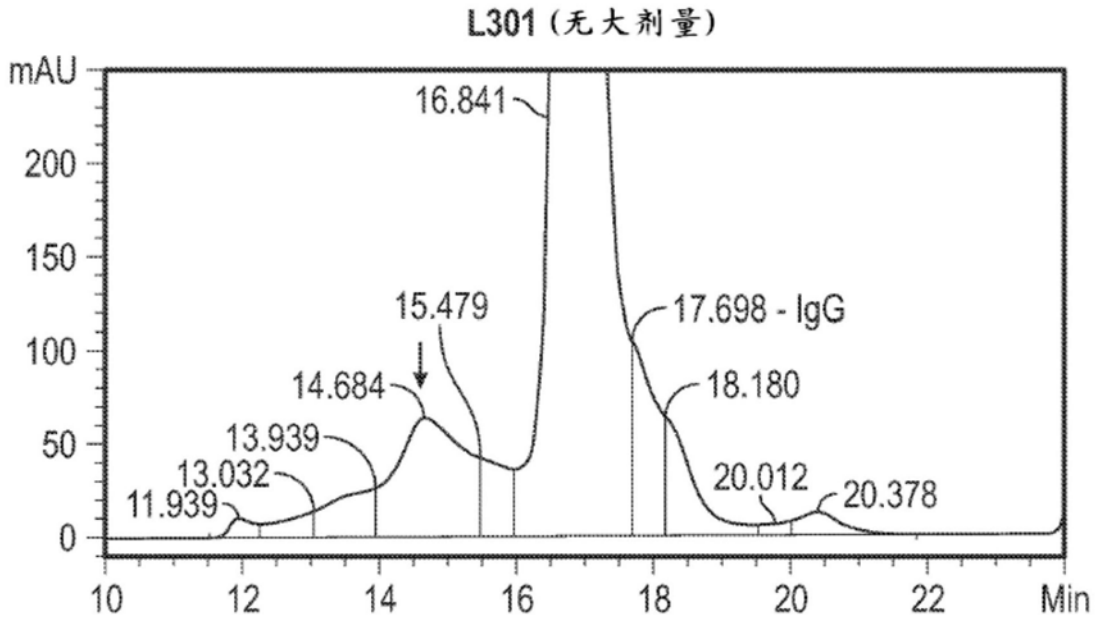

L301（无大剂量）
mAU
200
150
100
50
0
16.841
15.479
17.698 - IgG
14.684
18.180
13.939
13.032
20.012
20.378
11.939
10
12
14
16
18
20
22
Min

图6A

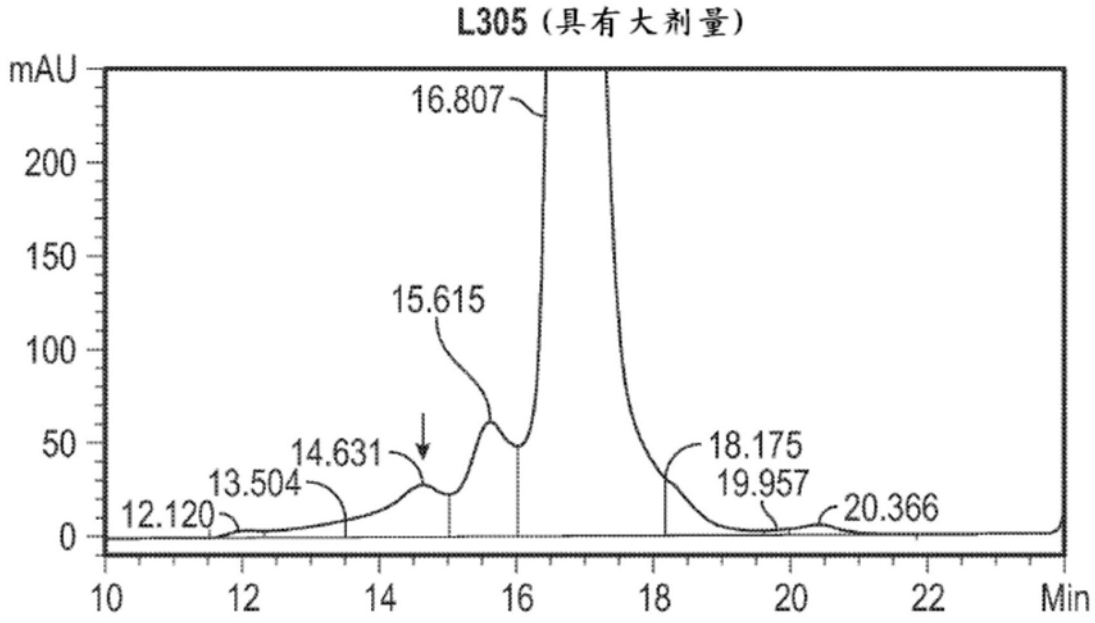

L305（具有大剂量）
mAU
200
150
100
50
0
16.807
15.615
14.631
18.175
13.504
19.957
12.120
20.366
10
12
14
16
18
20
22
Min

图6B

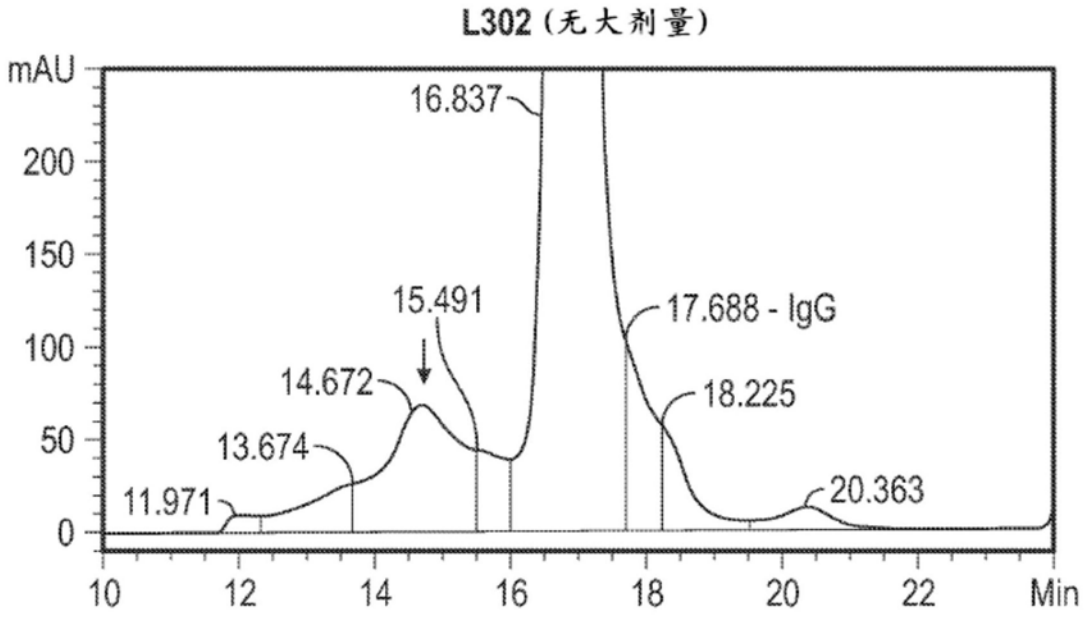

L302 (无大剂量)
mAU
200
150
100
50
0
16.837
15.491
14.672
13.674
11.971
17.688 - IgG
18.225
20.363
10
12
14
16
18
20
22
Min

图6C

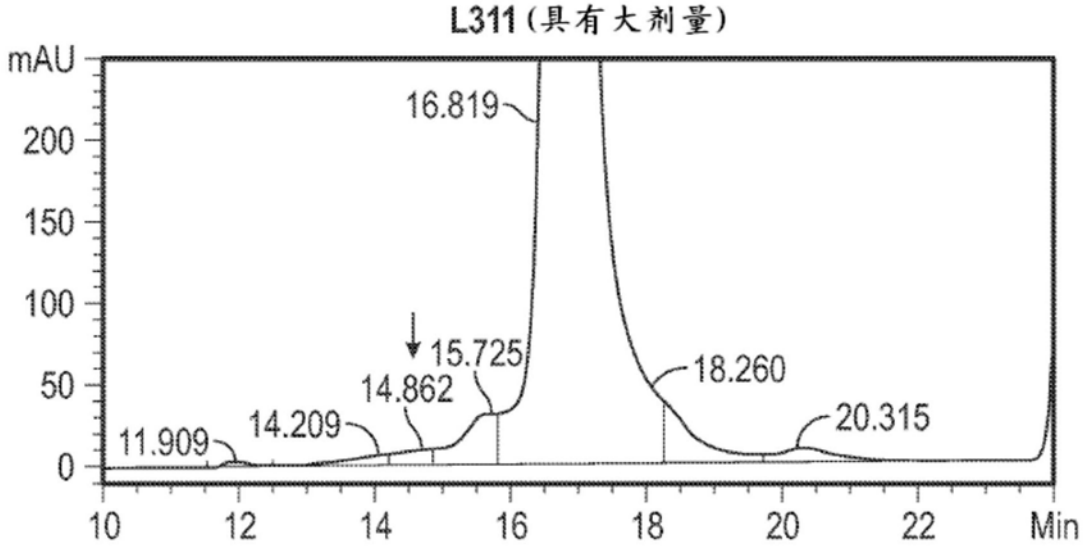

L311 (具有大剂量)
mAU
200
150
100
50
0
16.819
15.725
14.862
14.209
11.909
18.260
20.315
10
12
14
16
18
20
22
Min

图6D

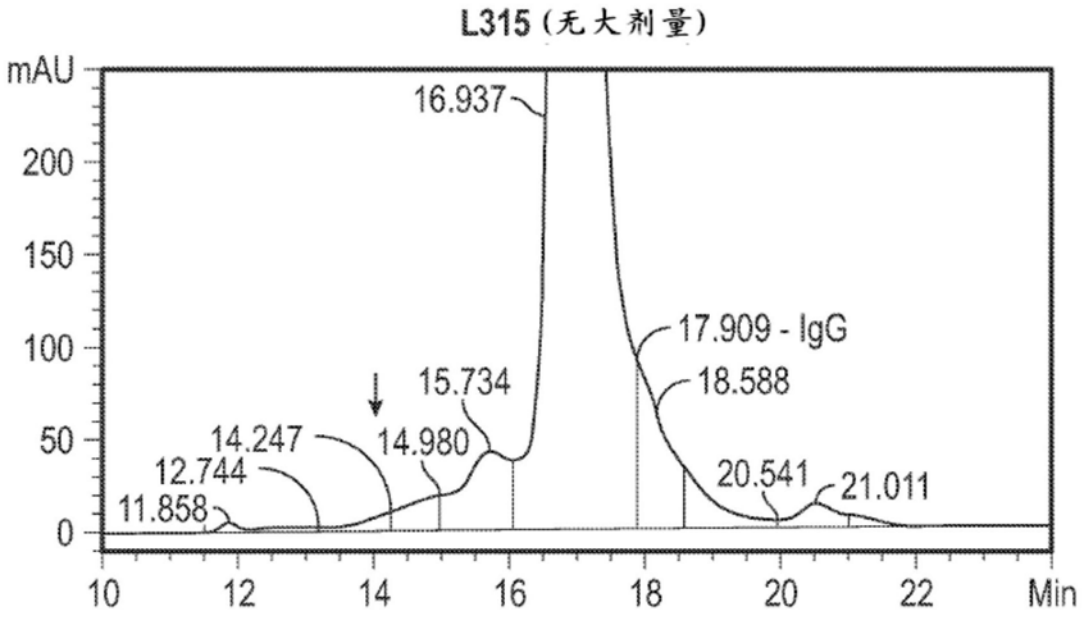

L315 (无大剂量)
mAU
200
150
100
50
0
16.937
17.909 - IgG
18.588
15.734
14.247
14.980
12.744
11.858
20.541
21.011
10
12
14
16
18
20
22
Min

图6E

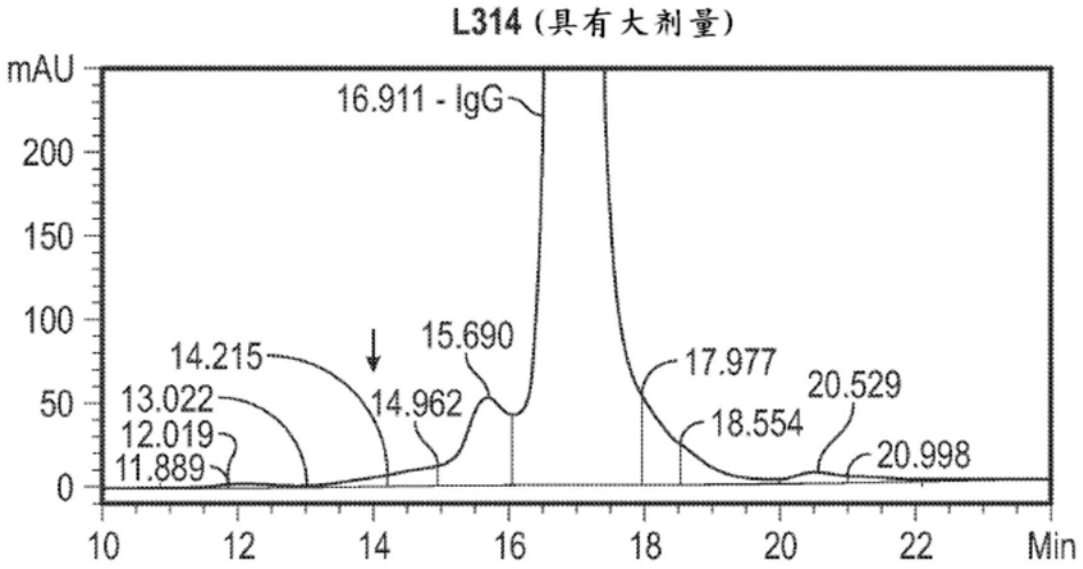

L314 (具有大剂量)
mAU
200
150
100
50
0
16.911 - IgG
14.215
15.690
17.977
20.529
13.022
14.962
18.554
12.019
11.889
20.998
10
12
14
16
18
20
22
Min

图6F

运行编号	运行设置	大剂量乙醇	取样的过去的发酵时间	SEC主峰%(期望的抗体)
L301	1	无	T97	78%
L302	1	无	T97	79%
L305	**1**	**10 g/L**	**T97**	**90%**
L311	**2**	**10 g/L**	**T97**	**94%**
L315	3	无	T87	87%
L314	**3**	**10 g/L**	**T87**	**91%**
L399	**4**	**10 g/L**	**T86**	**91%**
L401	**4**	**10 g/L**	**T86**	**87%**
L402	4	无	T86	93%
L403	4	无	T86	74%
L404	4	无	T86	71%

图7

运行编号	大剂量乙醇	取样的过去的发酵时间	SEC主峰%(期望的抗体)
L437	无	T67	71%
L441	无	T67	81%
L440	10 g/L	T67	80%
L442	10 g/L	T67	80%
L437	无	T87	59%
L441	无	T87	61%
L440	10 g/L	T87	77%
L442	10 g/L	T87	68%

图8

运行编号	大剂量乙醇	取样的过去的发酵时间	SEC主峰%(期望的抗体)
L412	10 g/L	T85	89%
L414	无	T85	88%
L415	无	T85	89%

图9

观察到的H1L1条带	相对半抗体(T17H肽)百分比
+	2.3%
++++	26.1%

图10

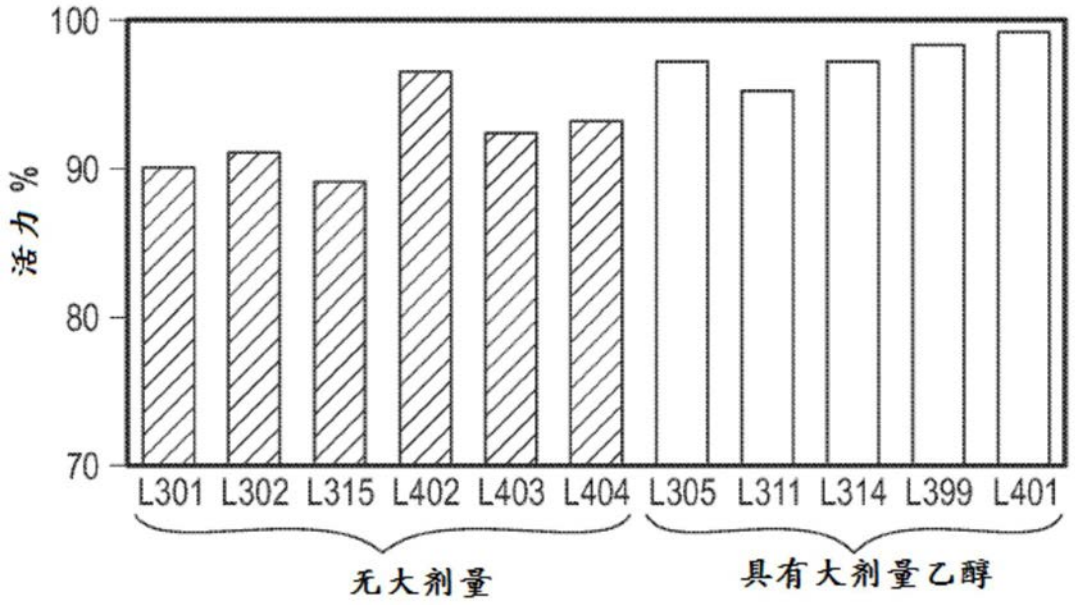

100
90
80
70
活力 %
L301 L302 L315 L402 L403 L404 L305 L311 L314 L399 L401
无大剂量
具有大剂量乙醇

图11

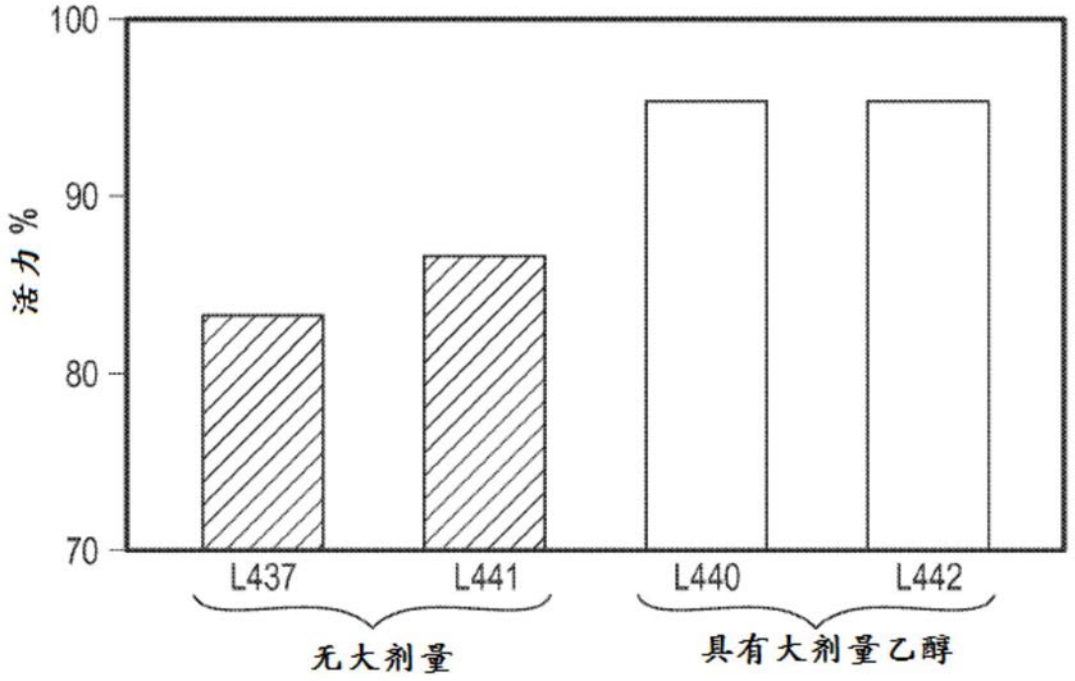

100
90
80
70
活力 %
L437 L441 L440 L442
无大剂量
具有大剂量乙醇

图12

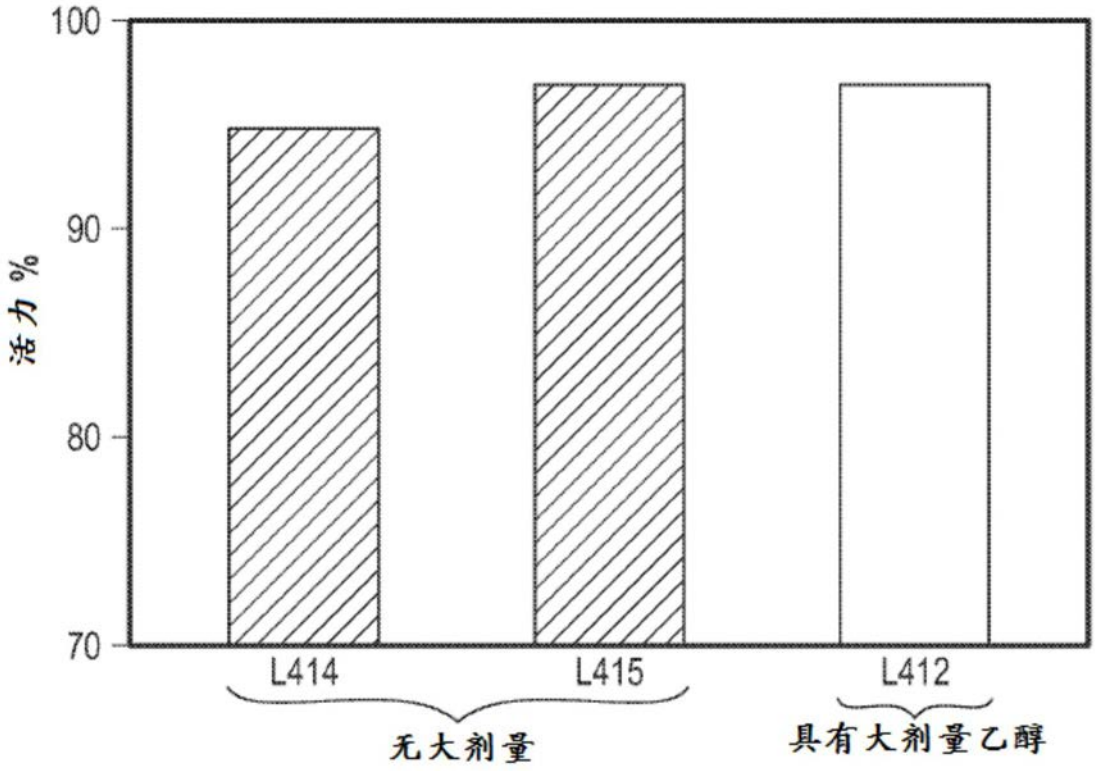

100
90
80
70
活力 %
L414
L415
L412
无大剂量
具有大剂量乙醇

图13

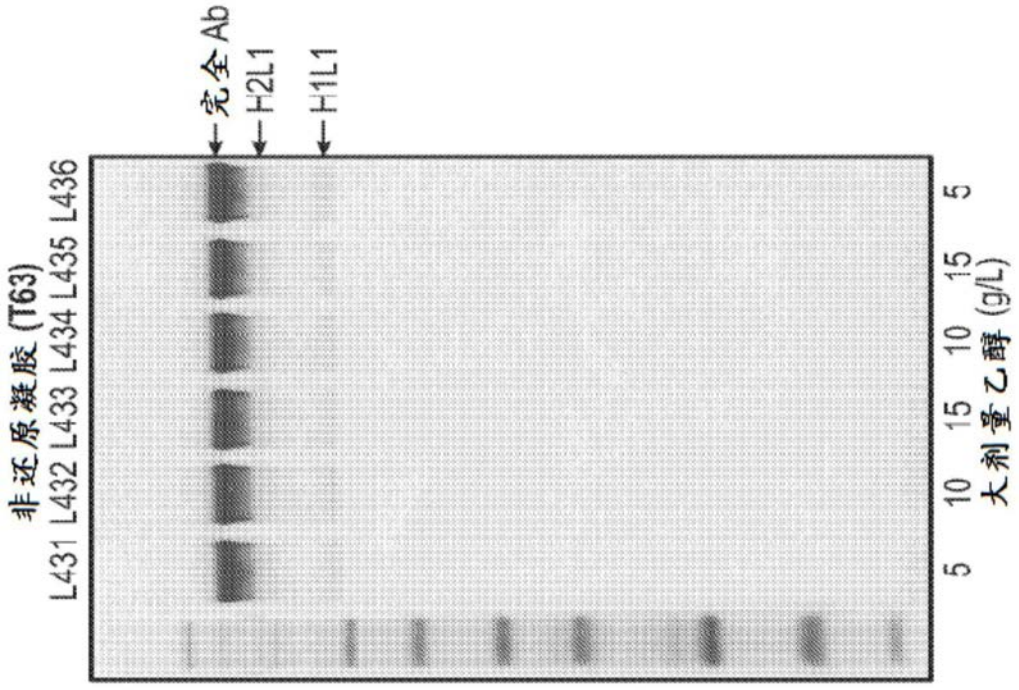

完全 Ab
H2L1
H1L1
非还原凝胶 (T63)
L431 L432 L433 L434 L435 L436
5 10 15
大剂量乙醇 (g/L)
5 10 15

图14A

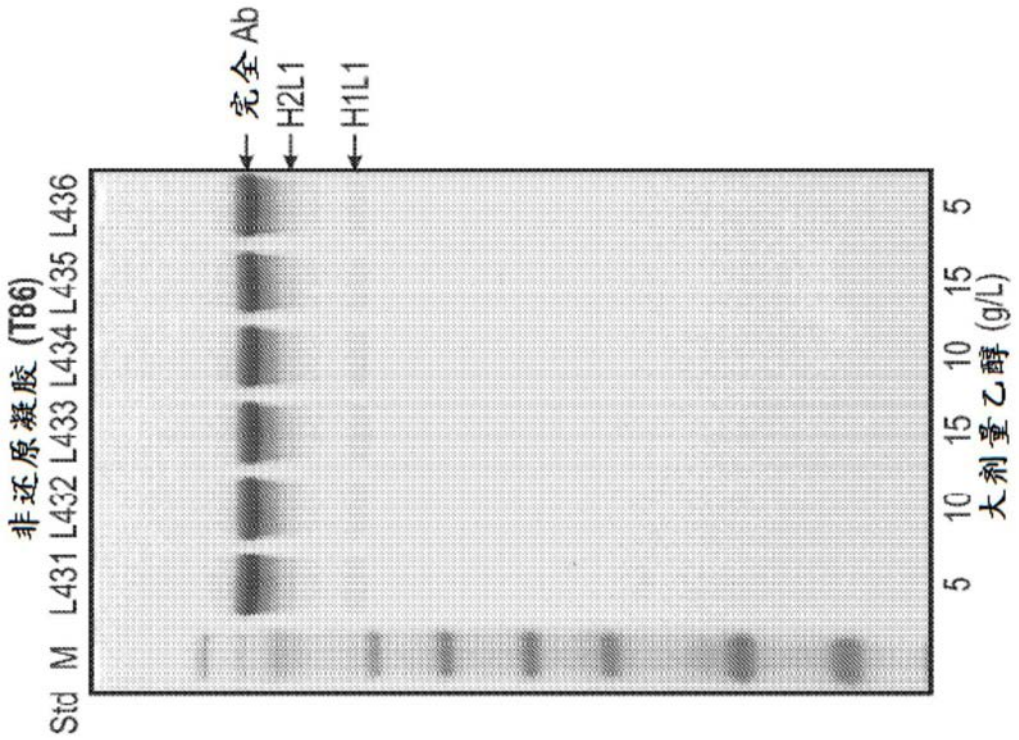

完全Ab
H2L1
H1L1
非还原凝胶 (T86)
Std M L431 L432 L433 L434 L435 L436
5 10 15 10 15 5
大剂量乙醇 (g/L)

图14B

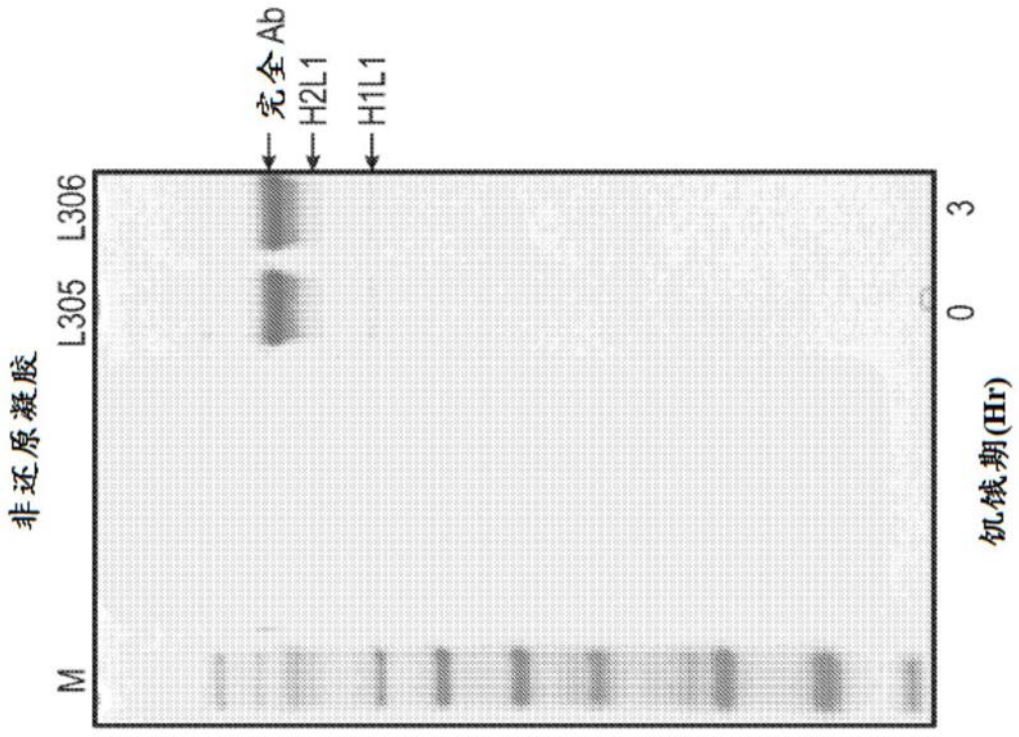

完全Ab
H2L1
H1L1
非还原凝胶
M L305 L306
0 3
饥饿期(Hr)

图15A

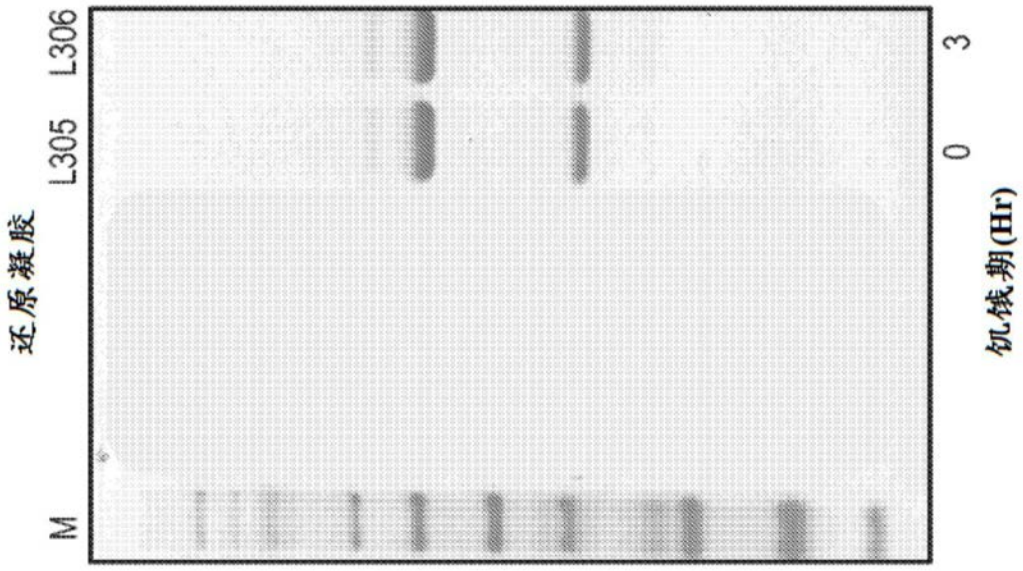


图15B

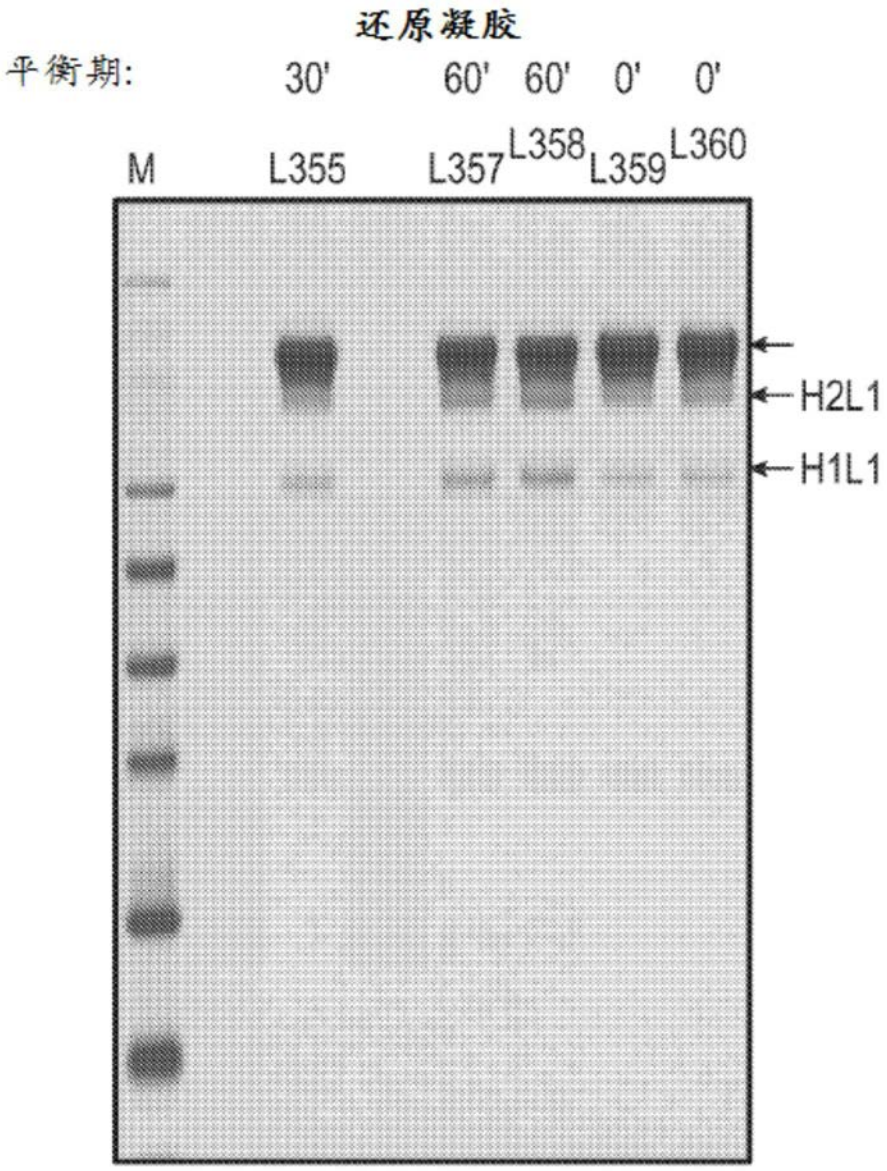


图16A

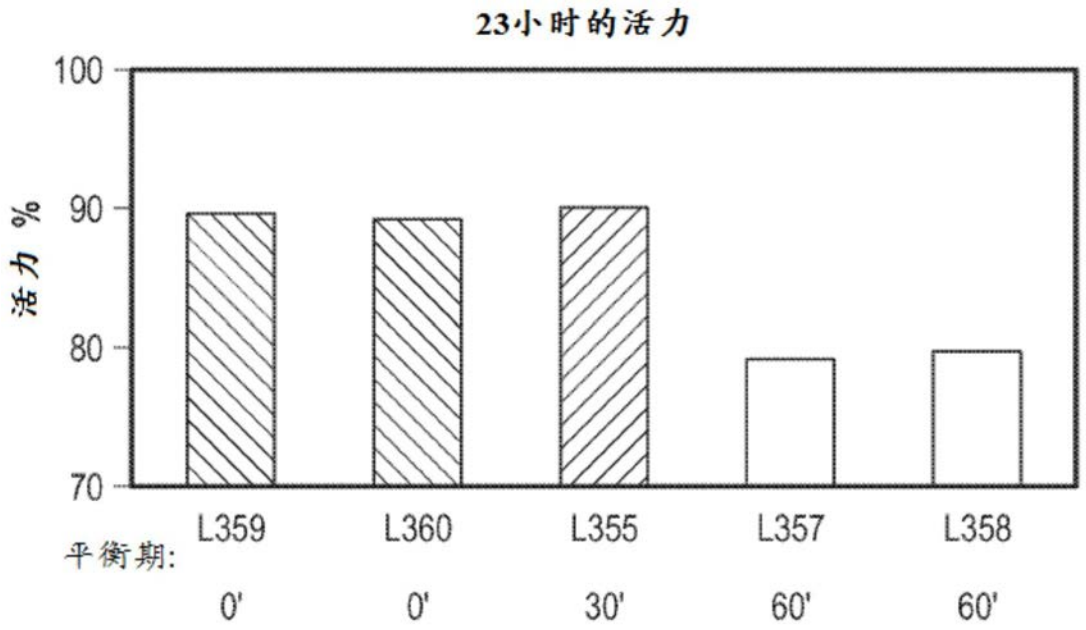

23小时的活力
100
90
80
70
活力 %
L359
L360
L355
L357
L358
平衡期:
0'
0'
30'
60'
60'

图16B

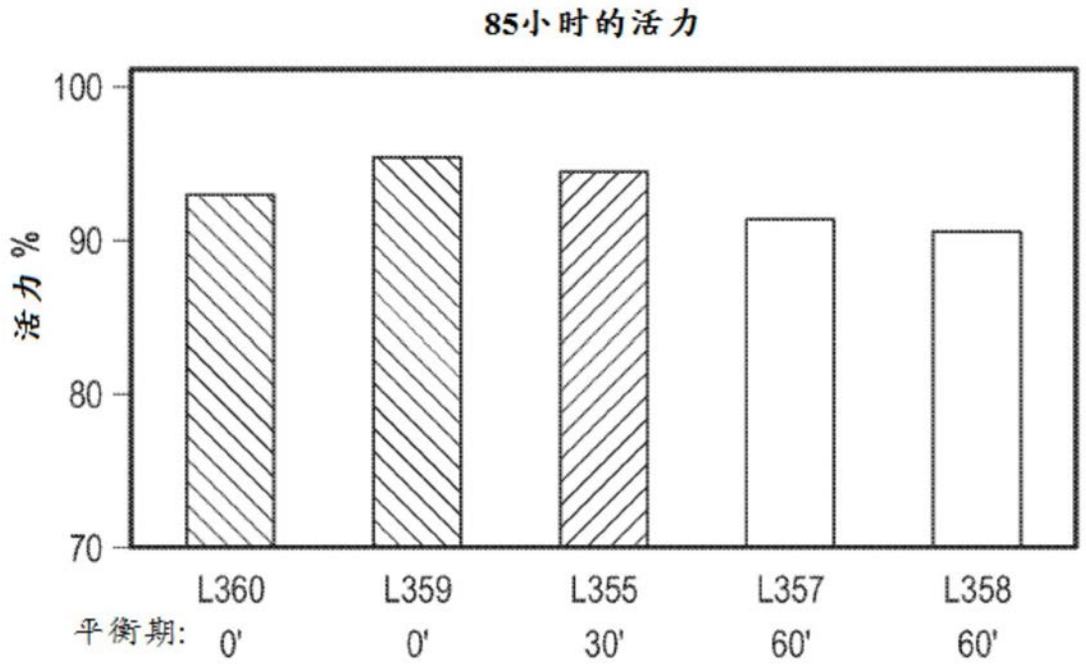

85小时的活力
100
90
80
70
活力 %
L360
L359
L355
L357
L358
平衡期:
0'
0'
30'
60'
60'

图16C